

中华人民共和国国家标准

GB/T 21854—2008

化学品 鱼类早期生活阶段毒性试验

Chemicals—Fish early-life stage toxicity test



080927000211

2008-05-12 发布

2008-09-01 实施



中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会

2008年10月17日
发布

前 言

本标准等同采用经济合作与发展组织(OECD)化学品测试导则 No. 210(1992 年)《鱼类早期生活阶段毒性试验》(英文版)。

本标准做了下列编辑性修改:

——将术语和定义从原文的附录调整为正文内容;

——推荐鱼种增加稀有鮡鲫(*Gobiocypris rarus*),并相应增加其驯养、繁殖、试验条件、周期等资料;

——试验系统中增加了亲鱼驯养和设备的内容。

本标准的附录 A、附录 B、附录 C、附录 D 和附录 E 为资料性附录。

本标准由全国危险化学品管理标准化技术委员会(SAC/TC 251)提出并归口。

本标准负责起草单位:环境保护部化学品登记中心。

本标准参加起草单位:上海市环境科学研究院、上海市检测中心、环境保护部南京环境科学研究所。

本标准主要起草人:卢玲、周红、沈英娃、梁丹涛、胡双庆、殷浩文、刘济宁。

化学品 鱼类早期生活阶段毒性试验

1 范围

本标准规定了化学品鱼类早期生活阶段毒性试验的方法概述、试验准备、试验程序、质量保证与质量控制、数据与报告。

本标准适用于确定化学品对受试生物在早期生活阶段的致死和亚致死效应,以评价对其他鱼种的慢性致死效应和亚致死效应。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

最低可观察效应浓度 **lowest observed effect concentration, LOEC**

与对照相比,对试验生物产生显著($p < 0.05$)效应的最低受试物浓度。

2.2

无可观察效应浓度 **no observed effect concentration, NOEC**

试验中直接低于 LOEC 的受试物设置浓度。

3 受试物信息

- a) 结构式;
- b) 纯度;
- c) 水中溶解度;
- d) 蒸气压;
- e) 水解离常数(pK_a);
- f) 正辛醇/水的分配系数(P_{ow});
- g) 在水中、光中、试验条件下的稳定性;
- h) 相同鱼种的急性毒性试验结果;
- i) 快速生物降解性试验结果;
- j) 在试验液中受试物的可靠定量分析方法及其精确度、检测限。

4 方法概述

4.1 原理

将处于早期生活阶段的鱼(或胚胎)暴露于一定浓度范围的受试物水溶液中,在流水条件或半静态条件下进行试验。开始试验时,将受精卵放入试验容器中,至对照组中所有的鱼都能自由摄食时方可结束试验。通过评价致死和亚致死效应,以及与对照组值的比较来测定受试物的最低可观察效应浓度(LOEC)、无可观察效应浓度(NOEC)。

4.2 参比物

无推荐参比物。

5 仪器和设备

溶解氧测定仪;

- 水硬度计；
- pH 计；
- 分析天平；
- TOC 分析仪；
- 温度控制仪；
- 水质测定仪器；
- 受试物分析仪器；
- 样品前处理仪器设备；
- 化学惰性材料制成的水族工具；
- 连续配制和分配系统；
- 实验室常用玻璃器皿。

6 试验准备

6.1 受试鱼类

6.1.1 鱼种的选择

推荐使用的淡水鱼种为稀有鮡鲫(*Gobiocypris rarus*)和斑马鱼(*Brachydanio rerio*)等,详见表 1 和表 2。

使用其他鱼种时,试验条件应作相应调整,并在报告中说明鱼种选择理由和试验方法。

表 1 推荐的受试鱼种

淡 水	咸 水
斑马鱼 <i>Brachydanio rerio</i> 稀有鮡鲫 <i>Gobiocypris rarus</i> 虹鳟鱼 <i>Oncorhynchus mykiss</i> 黑头软口鲮 <i>Pimephales promelas</i> 青鳉 <i>Oryzias latipes</i>	鳉 <i>Cyprinodon variegates</i>

表 2 其他经充分证明且已使用的鱼种示例

淡 水	咸 水
银大麻哈鱼 <i>Oncorhynchus kisutch</i> 大鳞大麻哈鱼 <i>Oncorhynchus tshawytscha</i> 鳟 <i>Salmo trutta</i> 鲑 <i>Salmo salar</i> 溪红点鲑 <i>Salvelinus fontinalis</i> 湖红点鲑 <i>Salvelinus namaycush</i> 白斑狗鱼 <i>Esox lucius</i> 白亚口鱼 <i>Catostomus commersoni</i> 蓝鳃鱼 <i>Lepomis macrochirus</i> 斑鲷 <i>Ictalurus punctatus</i> 乔氏鲮 <i>Jordanella floridae</i> 刺鱼 <i>Gasterosteus aculeatus</i> 鲤鱼 <i>Cyprinus carpio</i>	月银汉鱼 <i>Menidia menidia</i> 半岛银汉鱼 <i>Menidia peninsulae</i>

6.1.2 亲鱼的驯养

亲鱼驯化条件的资料见附录 A 和附录 D。

在繁殖前,亲鱼应在符合下列条件的环境中驯养 14 d 以上:

温度:与试验鱼种相适宜;
 光照:每天 12 h~16 h 光照;
 溶解氧:不小于 80%空气饱和值;
 疾病处理:不做任何疾病处理;
 喂养:每天喂食,提供多样化的饵料。

6.2 试验用水

6.2.1 水质

可用曝气除氯的自来水,高质量的天然水或标准稀释水。

稀释水必须保证对照组试验鱼的存活率达到附录 B 的要求。整个试验期间水质应保持恒定。定期取样分析。每隔三个月测定重金属,主要的阴、阳离子,农药,总有机碳以及悬浮物等指标。合格稀释水的化学特性如附录 C 所列。

6.2.2 试验溶液

流水式试验中,必须具备受试物贮备液连续分配和稀释系统。试验期间定期检查贮备液和稀释水的流量变化应不大于 10%。每 24 h 流量应不小于试验容器容积 5 倍。

必要时可使用溶剂或分散剂(助溶剂)。

半静态试验中,将存活的受精卵或仔鱼移入新试验液,或将受试生物留在试验容器内,更新 2/3 以上试验溶液。

7 试验程序

7.1 准备

7.1.1 试验容器

用全玻璃、不锈钢或其他化学惰性材质制成,其尺寸应符合负荷的要求。在试验区域内随机摆放,在每个试验区域中的每个处理组最好也能随机设计,避免不必要的干扰。

7.1.2 胚胎和仔鱼的处理

试验开始时,将胚胎和仔鱼暴露在置于大容器中的更小的玻璃容器或不锈钢容器中,小容器的侧壁或底部有网以便试验液流经容器。这些小容器悬在臂上,通过臂的上下移动且总保持生物体被浸没来保证试验液非紊流地流经小容器。支撑鲑鱼受精卵的架子或者网子需要有足够大的孔径,以保证仔鱼孵化后能够落进大容器中。

仔鱼孵出后,将大容器内用于放卵的容器、格栅或网移开。转移仔鱼时,不得暴露于空气,也不得用网具捞取。转移仔鱼的时机因种类不同而不同,是否转移应根据需要而定。

7.1.3 暴露条件

- 持续时间:卵受精后开始试验。胚盘开始分裂前,将胚胎浸在试验液中。试验持续到对照组鱼能自由摄食。试验持续时间取决于所选鱼种(见附录 B)。
- 负荷:受精卵的数量应满足统计学的需要。受精卵随机分配于各浓度组,每个浓度组 60 粒卵,平均分配到两个平行组。保证试验液的溶解氧浓度不低于 60%空气饱和值。流水式试验中,24 h 流量的负荷率不超过 0.5 g/L,容器内溶液的负荷率不超过 5 g/L。
- 光照和温度:光照周期和水温应适合受试生物(见附录 B)。
- 喂食:对不同生长阶段的鱼适时适量投饵。及时清除剩余食物和粪便。喂食方案见附录 A。

7.1.4 试验浓度

根据急性毒性试验结果 96 h LC_{50} 值设定试验浓度范围,试验最高浓度组不超过 96 h LC_{50} 值或 10 mg/L。

以几何级数浓度系列设置 5 个受试物浓度,浓度的间隔系数不大于 3.2。限度试验的浓度组设置

可少于 5 个浓度。浓度设置少于 5 个时需说明理由。

避免使用助溶剂,如必须使用,其所用浓度不大于 0.1 mL/L,且应保持相同。

在试验系列中必须设置一个稀释水对照组,如果试验中使用了助溶剂,还需要设置一个助溶剂对照组。

7.2 试验操作

7.2.1 分析测量的频次

试验期间,定期 5 次测定受试物浓度。试验持续时间超过 1 个月,每周测定一次。必要时对样品进行过滤(0.45 μm 孔径)或离心。

试验期间,测量所有试验容器中的溶解氧、pH、总硬度、盐度、温度。每周测量一次溶解氧、盐度和温度。试验开始和结束时,测量 pH 和硬度。对一个试验容器中的温度进行连续测定。

7.2.2 胚胎发育阶段

准确地记录试验开始时胚胎发育所处的时期。可保存部分清洁的卵作样本。

7.2.3 孵出和存活

每天观察一次孵出与存活情况,并记录数量。移走死亡的胚胎、仔鱼和稚鱼。移走死亡个体时应避免碰周围的卵或仔鱼或对其造成物理伤害。各生活阶段的死亡判断标准如下:

- 卵:特别是在早期阶段,由于蛋白质的凝固作用和(或)沉降作用,引起半透明状显著丧失(变为不透明)兼有颜色上的变化。
- 胚胎:没有身体运动或心脏停止搏动。
- 仔鱼和稚鱼:静止不动、无呼吸运动、无心脏跳动、中枢神经系统呈白色不透明、对机械刺激无反应等一种或多种症状。

7.2.4 异常表征记录

根据试验周期和出现畸形的类型,定期记录畸形仔鱼或鱼的数量。关注某些鱼种自然发生的胚胎和仔鱼畸形,及其在对照组中占的百分数。及时清除死亡的畸形个体。

7.2.5 异常行为记录

根据试验周期定期记录异常行为,如呼吸急促、不协调的游动、反常的静止和异常的摄食等。

7.2.6 重量称量

试验结束时对所有存活的鱼进行称重,建议逐一进行,对于特别小的鱼,以试验容器为组整组称量干重(60℃烘 24 h)。

7.2.7 长度测量

在试验结束时,建议逐一测量鱼体长度;测量指标可用标准长(即体长)或全长。如尾鳍腐烂或腐蚀,应采用标准长。

8 质量保证与质量控制

有效的试验应满足以下的条件:

- a) 试验期间,溶解氧浓度应为 60%~100%的空气饱和值;
- b) 试验期间任何时候,各试验容器之间或各连续时间内的水温差不能超过 $\pm 1.5^{\circ}\text{C}$,且应在受试生物适宜的温度范围内(附录 B 和附录 E);
- c) 受试物浓度保持在平均测量值的 $\pm 20\%$ 范围内;
- d) 在对照组和相应的溶剂对照组中,受精卵的总存活率必须不小于附录 B 中规定的限定值;
- e) 使用助溶剂时,应设置溶剂对照以证实其对受试生物在早期生活阶段的存活无显著影响,及其他任何不利影响。助溶剂的所有浓度应不大于 0.1 mL/L。

9 数据与报告

9.1 数据处理

9.1.1 统计参数

- a) 累计死亡率；
- b) 试验结束时的健康鱼数；
- c) 开始孵出及全部孵出的时间；
- d) 每天孵出仔鱼数；
- e) 存活个体的长度及重量；
- f) 畸形仔鱼数；
- g) 呈现异常行为的鱼数。

9.1.2 统计分析方法

允许对试验容器的数量、浓度组数目、试验开始时受精卵数、测量参数等试验设计进行合理调整，建议统计包括试验设计和分析。

方差分析或列联表方法分析浓度组间的变异。对于平行组间差异很小的数据，可使用邓恩特 (Dunnett's) 方法对各个浓度组与对照组之间的结果进行多重比较。

9.2 试验报告

试验报告应包括下列内容：

- a) 受试物：
 - 物理属性、物理-化学特性(如相关)；
 - 化学标识数据。
- b) 受试生物：
 - 学名、品系、来源、受精卵的收集方法及其随后的处理。
- c) 试验条件：
 - 所用试验程序(如半静态或流水式，负荷)；
 - 光照周期；
 - 试验设计(如试验容器及其平行的数目，每个平行中的胚胎数)；
 - 制备贮备液的方法及试液更新的频率；若使用助溶剂，须给出其成分和浓度；
 - 受试浓度的实测值和标准差，分析测量方法以及测量值与受试物实际浓度相关性的证据；
 - 稀释水特性：pH、硬度、温度、溶解氧浓度、残留氯水平(若测定)，总有机碳、悬浮物、试验介质的盐度(若测定)以及其他测定数据；
 - 试验容器内的水质，pH、硬度、温度和溶解氧浓度；
 - 喂食的详细内容(如食物种类、来源、喂食量和喂食频率)。
- d) 试验结果：
 - 对照组总存活率及是否符合该鱼种的有关标准(附录 B 和附录 E)；
 - 关于胚胎、仔鱼和稚鱼的死亡和(或)存活数据，以及总死亡和(或)存活率；
 - 孵出天数及孵出数目；
 - 长度及重量数据；
 - 形态异常的发生率及描述；
 - 有行为效应的发生率及描述；
 - 数据的统计分析及处理；
 - 所测定的每个反应的无可观察效应浓度(NOEC)；

- 所测定的每个反应的最低可观察效应浓度(LOEC)($p=0.05$)；
- 所有有效的浓度-反应数据及曲线。

e) 结果讨论：

结果讨论,并对偏离测试标准之处加以说明。当试验溶液中所测受试物毒性浓度大小与分析方法的检测限接近时,对结果的阐述应当慎重。

附 录 A
(资料性附录)

推荐的亲鱼和受试鱼及其喂养、繁殖操作要求

推荐的亲鱼和受试鱼及其喂养、繁殖操作要求见表 A.1。

表 A.1 推荐的亲鱼和受试鱼及其喂养、繁殖操作要求

种 类	食 物					孵化后 转移时间 (如适用)	首次喂食 时间
	繁殖亲鱼	初孵仔鱼	稚 鱼				
			种类	数量	频率		
淡水鱼 <i>Gobiocypris rarus</i> 稀有鮡鲫	FBS, BSN48	不需要 ^a	BSN48	适量	(2~3) 次/d	不必	产卵后 4 d~5 d
<i>Brachydanio rerio</i> 斑马鱼	BSN48, 片状食物	原生动物 ^b , 蛋白质 ^c	BSN48			不必	产卵后 6 d~7 d
<i>Oncorhynchus mykiss</i> 虹鳟鱼	鲑鱼食物	不需要 ^a	鲑鱼酵母	4% 体 重/d	(2~4) 次/d	孵化后或者 能游泳后的 14 d~16 d	孵化后或 者能游泳后 的 19 d
<i>Pimephales promelas</i> 黑头软口鲮	FBS	BSN	BSN48		没有限制	第一次孵化 90%后	孵化的 2 d 内
<i>Oryzias latipes</i> 青鳉	片状食物	BSN, 片状 食物(或者 原生动物 或轮虫)	BSN48, 片状食物 (或轮虫)		BSN 1 次/d; 片状食物 2 次/d 或者片 状食物加轮 虫 1 次/d	从孵化 到游泳	孵化/游泳 后的 24 h 内
咸水鱼 <i>Cyprinodon variegates</i> 鳉	FBS 或片 状食物	BSN	BSN48		(2~3) 次/d	不适用	第一次孵化 后的 1 d 内
注: FBS 冷冻的卤虫(又称盐水丰年虫, <i>Artemia</i> sp.) 成体; BSN 卤虫幼体, 刚孵出的(无节幼体); BSN48 卤虫幼体, 孵出约 48 h。							
^a 卵黄囊仔鱼(或称早期仔鱼)不需食物; ^b 混合培养过滤; ^c 经发酵的小颗粒。							

附 录 B
(资料性附录)

推荐鱼种的试验条件、周期和存活率

推荐鱼种的试验条件、周期和存活率见表 B.1。

表 B.1 推荐鱼种的试验条件、周期和存活率

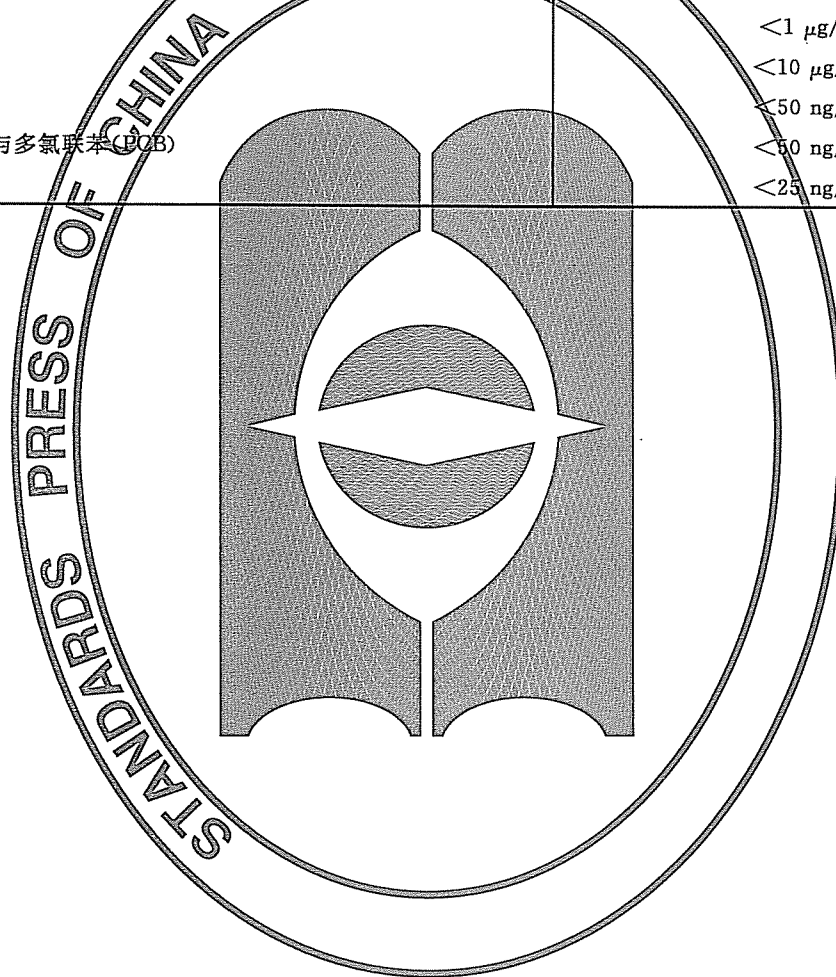
试验种类	试 验 条 件			推荐的试 验周期	对照组的存活率 最小百分值/%	
	温度/℃	盐度/‰	光照周期/h		孵化率	鱼苗存活率
淡水鱼 <i>Brachydanio rerio</i> 斑马鱼	25±2		12~16 ^g	孵出后 30 d		70
<i>Gobiocypris rarus</i> 稀有鮡鲫	25±2		12~16 ^g	对照组自由摄食后 2 周 (或孵出后 28 d)	>66	70
<i>Pimephales promelas</i> 黑头软口鲦	25±2		16	试验开始后 32 d (或孵出后 28 d)	>66	70
<i>Oncorhynchus mykiss</i> 虹鳟鱼	10±2 ^a 12±2 ^{b,d}		c	对照组自由摄食后 2 周 (或孵出后 60 d)	>66	70
<i>Oryzias latipes</i> 青鳉	24±1 ^a 23±2 ^{b,e}		12~16 ^g	孵出后 30 d		80
咸水鱼 <i>Cyprinodon variegatus</i> 鳉	25±2	15~30 ^f	12~16 ^g	试验开始后 32 d (或孵出后 28 d)	>75	80
^a 对于胚胎； ^b 对于仔鱼和稚鱼； ^c 对于仔鱼孵化后的一周内不能光照，除了对它们进行检查时，然后在试验过程中采用柔和光照(12 h~16 h)； ^d 特殊品系的虹鳟鱼必须使用其他的温度，亲鱼和卵使用的温度应当相同； ^e 取代以前试验提出的温度控制要求； ^f 对于任何试验都应当满足变化范围在±2‰； ^g 同一试验中，光照周期应保持恒定。						

附 录 C
(资料性附录)
合格稀释水的化学特性

合格稀释水的化学特性见表 C.1。

表 C.1 合格稀释水的化学特性

物 质	含 量
颗粒物	<20 mg/L
总有机碳	<2 mg/L
游离氨	<1 μg/L
残留氯	<10 μg/L
总有机磷农药	<50 ng/L
总有机氯农药与多氯联苯(PCB)	<50 ng/L
总有机氯	<25 ng/L



附录 D

(资料性附录)

其他已有良好记录的亲鱼和受试鱼喂养、繁殖操作要求

其他已有良好记录的亲鱼和受试鱼喂养、繁殖操作要求见表 D.1。

表 D.1 其他已有良好记录的亲鱼和受试鱼喂养、繁殖操作要求^c

种 类	食 物					孵化后 转移时间 (如适用)	首次喂食 时间
	繁殖亲鱼	初孵仔鱼	稚 鱼				
			种类	数量	频率		
淡水鱼 <i>Oncorhynchus kisutch</i> 银大麻哈鱼	鲑鱼食物	不需要 ^a	鲑鱼酵母	4%体 重/d	(2~4) 次/d	孵化后或者 能游泳后的 26 d~36 d	转移时能 游泳后
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i> 大鳞大麻哈鱼	鲑鱼食物	不需要	鲑鱼酵母	4%体重/d	(2~4) 次/d	孵化后或者 能游泳后的 26 d~36 d	能游泳时孵 化后的 23 d
<i>Salmo trutta</i> 鳟	鲑鱼食物	不需要	鲑鱼酵母	4%体重/d	5 次/d	孵化后或者 能游泳后的 21 d	能游泳时
<i>Salmo salar</i> 鲑	鲑鱼食物	不需要	鲑鱼酵母	4%体重/d	5 次/d	孵化后或者 能游泳后的 21 d	能游泳时
<i>Salvelinus fontinalis</i> 溪红点鲑	鲑鱼食物	不需要	鲑鱼酵母	4%体重/d	5 次/d	孵化后或者 能游泳后的 21 d	能游泳时
<i>Salvelinus namaycush</i> 湖红点鲑	鲑鱼食物	不需要	鲑鱼酵母	4%体重/d	5 次/d	孵化后或者 能游泳后的 21 d	能游泳时
<i>Esox lucius</i> 白斑狗鱼	活小鲦鱼	BSN48	仔鱼			每天转移 出孵化鱼	孵化后或者 游泳卵黄囊 阶段的 1 周
<i>Catostomus commersoni</i> 白亚口鱼	FBS	不需要	BSN48		3 次/d	所有胚胎孵化 后转移一次	孵化后或者 能游泳后的 7 d~8 d

表 D.1 (续)

种 类	食 物				孵 化 后 转移时间 (如适用)	首次喂食 时间
	繁殖亲鱼	初孵仔鱼	稚 鱼			
			种类	频率		
淡水鱼 <i>Lepomis macrochirus</i> 蓝鳃鱼	FBS, 鲑鱼食物	BSN	BSN48	3 次/d		游泳时
<i>Ictalurus punctatus</i> 斑 鲶	鲇鱼食物	改进的 Oregon	改进的 Oregon	至少 3 次/d	26 ℃时的 6 d~7 d ^c	能游泳时的 48 h 内
<i>Jordanella floridae</i> 乔氏鲮	FBS, 片状食物, BSN	BSN48, 片状食物或者原生动物/轮虫 ^b	BSN48, 片状食物	<i>Artemia nauplii</i> 1 次/d, 片状食物 2 次/d 或片状食物和原生动物/轮虫 1 次/d	从孵化到游泳	孵化后的 24 h 内
<i>Gasterosteus aculeatus</i> 刺 鱼	吡甲四环素 FBS	<i>Brachionus rubens</i> (轮虫)	BSN48, 热带鱼薄片饲料	BSN48 (2~3) 次/d, 热带鱼薄片饲料 1 次/d	孵化后 几小时	孵化后的 24 h 内
<i>Cyprinus carpio</i> 鲤鱼	专用鲤鱼食物, 冻干线虫或鲑鱼食物	BSN	BSN48, 泥土, 鲑鱼酵母, 片状食物	(3~4) 次/d	一旦孵化完成	孵化后的 36 h~48 h
咸水鱼 <i>Menidia menidia</i> 月银汉鱼	BSN48, 片状食物	1 d~8 d 9 d~11 d 11 d 后	^b BSN48 和 ^b BSN48	3 次/d 2 次/d	不适用	第一次孵化后的 24 h 内
<i>Menidia peninsulae</i> 半岛银汉鱼	BSN48, 片状食物	1 d~8 d 9 d~11 d 11 d 后	^b BSN48 和 ^b BSN48	3 次/d 2 次/d	不适用	第一次孵化后的 24 h 内

注 1: BSN 卤虫幼体, 刚孵出的(无节幼体);

注 2: BSN48 卤虫幼体, 孵出约 48 h;

注 3: FBS 冷冻的卤虫(又称盐水丰年虫, *Artemia* sp.) 成体。

^a 卵黄囊仔鱼不需食物;

^b 轮虫-*Brachionus plicatilis*;

^c 使用内径 6 mm 的玻璃虹吸管处理鱼体。

附 录 E
(资料性附录)

其他已有良好记录鱼种的试验条件、周期和存活率

其他已有良好记录鱼种的试验条件、周期和存活率见表 E.1。

表 E.1 其他已有良好记录鱼种的试验条件、周期和存活率

试验种类	试验条件		推荐的试验周期	对照组的存活率 最小百分值/%	
	温度/℃	光照周期/h		孵化率	鱼苗存活率
淡水鱼 <i>Oncorhynchus kisutch</i> 银大麻哈鱼	10 ^a , 12 ^b	c	孵出后 60 d	>66	70
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i> 大鳞大麻哈鱼	10 ^a , 12 ^b	c	孵出后 60 d	>66	70
<i>Salmo trutta</i> 鳟	10	c	孵出后 60 d	>66	70
<i>Salmo salar</i> 鲑	10	c	孵出后 60 d	>66	70
<i>Salvelinus fontinalis</i> 溪红点鲑	10	c	孵出后 60 d	>66	70
<i>Salvelinus namaycush</i> 湖红点鲑	12~18	16	孵出后 60 d	>66	70
<i>Esox lucius</i> 白斑狗鱼	7	c	试验开始后 32 d	>66	70
<i>Catostomus commersoni</i> 白亚口鱼	15	16	试验开始后 32 d	>66	80
<i>Lepomis macrochirus</i> 蓝鳃鱼	28	16	试验开始后 32 d		75
<i>Ictalurus punctatus</i> 斑鲶	26	16	试验开始后 32 d		65(全部)
<i>Jordanella floridae</i> 乔氏鲈	24~26	16			
<i>Gasterosteus aculeatus</i> 刺鱼	18~20	12~16	28 d	80	80
<i>Cyprinus carpio</i> 鲤鱼	21~25	12~16	孵出后 28 d	>80	75

表 E.1 (续)

试验种类	试验条件		推荐的试验周期	对照组的存活率 最小百分值/%	
	温度/℃	光照周期/h		孵化率	鱼苗存活率
咸水鱼 <i>Menidia menidia</i> ^d 月银汉鱼	22~25	13	28 d	>80	60
<i>Menidia peninsulae</i> ^d 半岛银汉鱼	22~25	13	28 d	>80	60
^a 对于胚胎； ^b 对于仔鱼和稚鱼； ^c 对于仔鱼孵化后的一周内不能光照，除了对它们进行检查时，然后在试验过程中采用柔和光照(12 h~16 h 光照周期，同一试验中光照周期应保持恒定)； ^d 盐度 20‰。					

参 考 文 献

- [1] ASTM (1988). Standard Guide for Conducting Early Life-Stage Toxicity Tests with Fishes. American Society for Testing and Materials. E 1241-88. 26pp.
- [2] Brauhn J. L. and Schoettger R. A. (1975). Acquisition and Culture of Research Fish: Rainbow trout, Fathead minnows, Channel catfish and Bluegills. p. 54, Ecological Research Series, EPA-660/3-75-011, Duluth, Minnesota.
- [3] Brungs W. A. and Jones B. R. (1977). Temperature Criteria for Freshwater Fish: Protocol and Procedures. p. 128, Ecological Research Series EPA-660/3-77-061, Duluth, Minnesota.
- [4] Hansen D. J. and Parrish P. R. (1977). Suitability of sheepshead minnows (*Cyprindon variegatus*) for life-cycle toxicity tests. In Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation (edited by F. L. Mayer and J. L. Hamelink), pp. 117-126, ASTM STP 634.
- [5] McKim J. M., Eaton J. G. and Holcombe G. W. (1978). Metal toxicity to embryos and larvae of eight species of freshwater fish-II: Copper. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 19, 608-616.
- [6] Rand G. M. and Petrocelli S. R. (1985). Fundamentals of Aquatic Toxicology. Hemisphere Publication Corporation, New York.
- [7] US EPA (1972). Recommended Bioassay Procedure for Fathead Minnows, *Pimephales promelas* (Rafinesque), Chronic Tests. p. 13, National Water Quality Laboratory, Duluth, Minnesota.
- [8] US EPA (1972). Recommended Bioassay Procedure for Bluegill, *Lepomis macrochirus* (Rafinesque), Partial Chronic Tests. p. 11, National Water Quality Laboratory, Duluth, Minnesota.
- [9] Dunnett C. W. (1955). A multiple comparisons procedure for comparing several treatments with a control. J. Amer. Statist. Assoc., 50, 1096-1121.
- [10] Dunnett C. W. (1964). New tables for multiple comparisons with a control. Biometrics, 20, 482-491.
- [11] McClave J. T., Sullivan J. H. and Pearson J. G. (1980). Statistical Analysis of Fish Chronic Toxicity Test Data. Proceedings of 4th Aquatic Toxicology Symposium, ASTM, Philadelphia.
-