

诸氏鲮虾虎鱼 毒理学评价
第 3 部分：生长抑制

Mugilogobius chulae—Toxicology evaluation—
Part 3: Growth inhibition

地方标准信息服务平台

2021 - 10 - 18 发布

2022 - 01 - 18 实施

目 次

前言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 原理 1

5 方法 2

6 器材 2

7 评价步骤 2

8 质量控制 3

9 结果与报告 4

10 诸氏鲮虾虎鱼安乐死 5

11 实验室废弃物处理 5

附录 A（资料性） 诸氏鲮虾虎鱼生长抑制评价原始记录表 6

地方标准信息服务平台

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

DB44/T 2340《诸氏鲮虾虎鱼 毒理学评价》分为四个部分：

- 第1部分：急性毒性；
- 第2部分：摄食抑制；
- 第3部分：生长抑制；
- 第4部分：生殖毒性。

本文件是DB44/T 2340的第3部分。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由广东省科学技术厅提出并组织实施。

本文件由广东省实验动物标准化技术委员会（GD/TC 93）归口。

本文件起草单位：广东省实验动物监测所。

本文件主要起草人：李建军、黄韧、朱才毅、余露军、赖素群、林忠婷、陈小曲、曾进、蔡磊。

地方标准信息服务平台

诸氏鲮虾虎鱼 毒理学评价 第3部分：生长抑制

1 范围

本文件规定了诸氏鲮虾虎鱼毒理学评价中生长抑制的原理、方法、器材、评价步骤、质量控制、结果与报告、安乐死和实验室废弃物处理等要求。

本文件适用于直接或间接排入海洋、入海河口的污染物及受纳水体的生长抑制毒性评价。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 18420.2-2009 海洋石油勘探开发污染物生物毒性 第2部分：检验方法

SN/T 3592 实验室化学药品和样品废弃物处理的标准指南

DB44/T 2340.1-2021 诸氏鲮虾虎鱼 毒理学评价 第1部分：急性毒性

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

生长抑制 growth inhibition

实验鱼接触外源物质后，在一定期间内其生长受到抑制的毒性效应。

3.2

特定生长率 specific growth rate, SGR

实验鱼在试验期间的日增重速率。

3.3

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

与空白对照相比，对受试生物产生显著 ($p < 0.05$) 效应的最低受试物浓度。

[来源：GB/T 21828-2008, 2.4]

3.4

无可见效应浓度 no observed effect concentration, NOEC

实验生物暴露在一组不同浓度的试验溶液一定时间后，通过观察实验生物的不良影响，并比较试验组与对照组统计分析结果，判定出对实验生物无显著影响 ($p > 0.05$) 的最大浓度。

[来源：GB/T 18420.2-2009, 3.2]

4 原理

一定浓度的有毒物质暴露下，诸氏鲮虾虎鱼的摄食行为和代谢水平会受到影响，从而对其生长速度产生不同程度的抑制效应。将幼鱼期的诸氏鲮虾虎鱼暴露于亚致死浓度范围的受试物溶液中，试验周期

为14 d，测量试验开始和结束时的诸氏鲮虾虎鱼体重，通过回归模型来估计抑制x%生长率的浓度（如 EC_x ），并统计分析最低可观察效应浓度（LOEC）以及无可见效应浓度（NOEC），以评价受试物对诸氏鲮虾虎鱼的生长抑制效应。

5 方法

分为静态毒性试验、半静态毒性试验和流水毒性试验。

试验期间受试物实测浓度与配制浓度偏差超过20%或受试物稳定性不明确时，宜采用半静态毒性试验或流水毒性试验。

6 器材

6.1 主要仪器设备

6.1.1 饲养诸氏鲮虾虎鱼以及饵料生物的养殖箱、水处理设备等。

6.1.2 测定环境因子的溶氧仪、盐度计、pH计、温度计等。

6.1.3 电子天平、高速搅拌器、生物显微镜、游标卡尺、惰性材料容器、量筒、胶头滴管、手抄网等。

6.2 诸氏鲮虾虎鱼

宜采用45日龄~75日龄诸氏鲮虾虎鱼，其质量应符合DB44/T 2340.1-2021中6.2.1的规定。

6.3 受试物

按照DB44/T 2340.1—2021中6.3的规定执行。

6.4 饵料

卤虫无节幼体，质量应符合DB44/T 2340.1-2021中6.2.3.2的规定。

7 评价步骤

7.1 样品准备

7.1.1 稀释水

按照DB44/T 2340.1-2021中7.1.1的规定执行。

7.1.2 贮备液配制

按照DB44/T 2340.1-2021中7.1.2的规定执行。

7.2 预试验

设置5个等比浓度组和一个空白对照组。若使用助溶剂应增设助溶剂对照组，助溶剂的浓度应与试验组中助溶剂最高浓度一致，助溶剂的最高浓度不超过0.1%。可采用较大的等比系数，可不设平行组。每个容器放5尾~10尾诸氏鲮虾虎鱼。观察并记录诸氏鲮虾虎鱼96 h的死亡情况，确定死亡率不超过10%（ LC_{10} ）的受试物浓度范围。

7.3 正式试验

7.3.1 试验浓度设定

根据预试验或受试物毒性数据,设置至少5个等比浓度组和1个空白对照组,等比系数不宜大于2.0,最高浓度不大于96 h LC₁₀。若使用助溶剂应增设助溶剂对照组,助溶剂的浓度应与试验组中助溶剂的最高浓度一致,助溶剂的最高浓度不超过0.1%。各试验组设3个平行。

7.3.2 诸氏鲮虾虎鱼的测量和移入

7.3.2.1 试验开始前5 h~24 h应停止投喂驯养鱼。

7.3.2.2 随机抽取30尾实验鱼,逐尾测量体长(精度:0.1 mm),测量结果记录于附录A中的表A.3,体长变异系数应小于15%;并称量其总湿重,测量结果记录于附录A中的表A.4。

7.3.2.3 用手抄网在驯养箱中随机捞取诸氏鲮虾虎鱼,从低浓度组开始依次向高浓度组分放,每个容器10尾,在30 min内完成。

7.3.3 试验周期

试验周期为14 d。

7.3.4 试验环境条件

养殖密度每升不超过10尾,其它要求按DB44/T 2340.1-2021中7.4.3的规定执行。

7.3.5 诸氏鲮虾虎鱼投喂

每天投喂2次卤虫无节幼体,每次过量投喂(每尾鱼投喂200个~300个卤虫),投喂1 h后捞出剩余卤虫无节幼体。

7.3.6 试验溶液更换

静态毒性试验不更换试验溶液。

半静态毒性试验每48 h至少更换一次试液,每次更换量不少于原试液体积的3/4。宜采用虹吸方式吸出原液,缓慢加入新液,操作过程中应避免触碰诸氏鲮虾虎鱼。

流水毒性试验应根据受试物的稳定性,每24 h至少更换一次贮备液。一个试验容器24 h的流量至少为该容器内试验溶液体积的5倍。试验期间流速变幅不大于10%。

7.3.7 观察和记录

试验开始和试验结束时分别测量水温、溶解氧、pH值、盐度,测定结果记录于附录A的表A.2中。

每24 h至少观察一次诸氏鲮虾虎鱼的体色、体形、活动状态、死亡等毒性效应,观察结果记录在附录A的表A.2中。用胶头滴管轻吹诸氏鲮虾虎鱼无反应的判为死亡个体。应及时移出死亡个体。

流水毒性试验每24 h至少应测量一次流速,测定结果记录于附录A的表A.2中。

试验结束前24 h停止投喂,称量各试验组存活鱼的总湿重或逐尾称量湿重,记录于附录A的表A.4中。

8 质量控制

有效的试验应符合以下条件：

- 试验结束时对照组的诸氏鲮虾虎鱼死亡率不超过 10%；
- 试验结束时对照组实验鱼的平均增重应超过 100%；
- 原始记录应完整，包括样品名称、编号、试验时间、评价依据、驯养记录等。

9 结果与报告

9.1 结果计算

9.1.1 特定生长率的计算

试验期间各试验组的特定生长率（SGR）按式（1）计算。

$$SGR = [(\ln W_t - \ln W_0) / t] \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

式中：

W_t ——终末体重；

W_0 ——初始体重；

t ——试验天数。

死亡率超过10%的试验组不计算特定生长率。

9.1.2 生长抑制率的计算

试验期间各试验组的生长抑制率 H 按式（2）计算。

$$H = \frac{R_0 - R_t}{R_0} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

式中：

R_0 ——对照组诸氏鲮虾虎鱼的特定生长率；

R_t ——试验组诸氏鲮虾虎鱼的特定生长率。

9.1.3 NOEC 和 LOEC 的计算

按照GB/T 18420.2-2009中9.2.2.3规定的方法计算。

9.1.4 EC_x的计算

按照GB/T 18420.2-2009中9.2.3规定的方法计算。

9.2 评价报告

评价报告应包括下列内容：

- a) 受试样品的名称、来源、保存方法、保存时间等；
- b) 诸氏鲮虾虎鱼来源、日龄、体长、驯养情况；
- c) 试验条件：
 - 1) 试验方式，如半静态毒性试验或流水式毒性试验，以及曝气、密度等；
 - 2) 贮备液和试验溶液配制方法、浓度；
 - 3) 各试验容器诸氏鲮虾虎鱼的数量；

4) 试验溶液配制后和试验结束时的环境指标, 如水温、溶氧、盐度、pH 等。

d) 结果:

- 1) 对照组和各浓度组诸氏鲮虾虎鱼的死亡率;
- 2) 试验期间受试物对诸氏鲮虾虎鱼的毒性效应;
- 3) 生长抑制 EC_{50} 、NOEC 和 LOEC, 及其计算方法;
- 4) 试验期间可能会影响试验结果的因素。

10 诸氏鲮虾虎鱼安乐死

按照DB44/T 2340.1-2021中第10章的规定执行。

11 实验室废弃物处理

按照SN/T 3592的规定执行。

地方标准信息服务平台

表A.2 试验观察和环境因子测定原始记录表

样品名称：样品编号：评价日期：

样品表观性状：评价依据：记录时间：

毒性效应（a）毒性效应（b）

毒性效应（c）毒性效应（d）

注：根据观察结果，可增加毒性效应编号。

组别		存活数	水温 ℃	pH	盐度 ‰	D0 mg/L	流速 L/s	毒性效应
对照组	A							
	B							
	C							
组 1： mg/L	A							
	B							
	C							
组 2： mg/L	A							
	B							
	C							
组 3： mg/L	A							
	B							
	C							
组 4： mg/L	A							
	B							
	C							
组 5： mg/L	A							
	B							
	C							

注：“毒性效应”列填入的数字和字母分别表示出现死亡以外的毒性效应的鱼数及该效应的编号。

评价人（签名）：

复核人（签名）：

A.3 体长测量原始记录表

体长测量原始记录见表A.3。

表A.3 体长测量原始记录表

样品名称：样品编号：评价日期：

样品外观性状：评价依据：记录时间：

序号	体长 mm	序号	体长 mm	序号	体长 mm
1		11		21	
2		12		22	
3		13		23	
4		14		24	
5		15		25	
6		16		26	
7		17		27	
8		18		28	
9		19		29	
10		20		30	

评价人（签名）：复核人（签名）：

A.4 体重测量原始记录表

体重测量原始记录见表A.4。

地方标准信息服务平台

表A.4 体重测量原始记录表

样品名称：样品编号：评价日期：

样品外观性状：评价依据：记录时间：

指标		示例1：对 照组			示例2：试 验组1			试验组 2			试验组 3			试验组 4			试验组 5		
初始平均湿重/g																			
14 d 个 体 湿 重 /g	1																		
	2																		
	3																		
	4																		
	5																		
	6																		
	7																		
	8																		
	9																		
	10																		
14 d 平均湿重/g																			

评价人（签名）：复核人（签名）：

地方标准信息服务平台

地方标准信息服务平台

广东省地方标准
诸氏鲮虾虎鱼 毒理学评价
第3部分：生长抑制
DB44/T 2340.3—2021

*

广东省标准化研究院组织印刷
广州市海珠区南田路563号1304室
邮政编码：510220
电话：020-84250337