

Toxic Effects of 7 Petrochemical Characteristic Contaminants on *Ruditapes philippinarum*

Tiejun Li, Bo Zhang, Bin Xue, Chenghu Yang, Juju You, Yuanming Guo*

Key Laboratory of Sustainable Utilization of Technology Research for Fishery Resource of Zhejiang Province,
Marine Fisheries Research Institute of Zhejiang, Zhoushan Zhejiang

Email: litiejun1982@126.com, *guoyuanming@msn.com

Received: Jun. 26th, 2018; accepted: Jul. 6th, 2018; published: Jul. 13th, 2018

Abstract

To assess the toxicological effects of specific petrochemical pollutants on *Ruditapes philippinarum* and provide a reference for petrochemical pollution accident evaluation, acute toxicity tests were performed from October to November in 2017. The results showed that the *Ruditapes philippinarum* was sensitive to the pollutants and the terra cotta radicans were not. The 96 hLC₅₀ values of ethylbenzene, toluene, *m*-xylene, *p*-xylene, *o*-xylene, benzene and trichloromethane for *Ruditapes philippinarum* were 53.8 mg/L, 69.3 mg/L, 61.4 mg/L, 66.2 mg/L, 62.9 mg/L, 137.7 mg/L, and 128.5 mg/L respectively. The safety concentrations were 0.54 mg/L, 0.69 mg/L, 0.61 mg/L, 0.66 mg/L, 0.63 mg/L, 1.38 mg/L and 1.28 mg/L respectively. The toxicity is ethylbenzene > *m*-xylene > *o*-xylene > *p*-xylene > toluene > chloroform > benzene. The 96 hLC₅₀ of specific petrochemical pollutants on *Ruditapes philippinarum* was significantly associated with the Kow value. The greater of Kow value, the lower of 96 hLC₅₀ and the greater the toxicity.

Keywords

Petrochemical Industry, Characteristic Pollutants, *Ruditapes philippinarum*, Acute Toxicity, Kow

7种石化特征污染物对菲律宾蛤仔的毒性效应

李铁军, 张博, 薛彬, 杨承虎, 尤炬炬, 郭远明*

浙江省海洋水产研究所, 浙江省海洋渔业资源可持续利用技术研究重点实验室, 浙江 舟山
Email: litiejun1982@126.com, *guoyuanming@msn.com

收稿日期: 2018年6月26日; 录用日期: 2018年7月6日; 发布日期: 2018年7月13日

*通讯作者。

摘要

2017年10~11月,本文选取海洋生物菲律宾蛤仔,研究了7种石化工业特征污染物对菲律宾蛤仔的急性毒性试验。通过以上试验来评价毒物对菲律宾蛤仔的毒性,为石化污染事故评价提供参考。对菲律宾蛤仔急性毒性试验结果表明本试验毒物对菲律宾蛤仔均为高毒,菲律宾蛤仔对试验毒有较高的耐受性。乙基苯、甲苯、间二甲苯、对二甲苯、邻二甲苯、苯和三氯甲烷对菲律宾蛤仔半致死质量浓度96h LC₅₀值依次为53.8 mg/L、69.3 mg/L、61.4 mg/L、66.2 mg/L、62.9 mg/L、137.7 mg/L和128.5 mg/L;其安全浓度分别为0.54 mg/L、0.69 mg/L、0.61 mg/L、0.66 mg/L、0.63 mg/L、1.38 mg/L和1.28 mg/L。毒性大小为乙基苯 > 间二甲苯 > 邻二甲苯 > 对二甲苯 > 甲苯 > 三氯甲烷 > 苯。菲律宾蛤仔96 hLC₅₀与受试毒物K_{ow}呈显著相关,受试毒物K_{ow}越大,菲律宾蛤仔96 hLC₅₀值越小,该毒物毒性越大。

关键词

石化工业, 特征污染物, 菲律宾蛤仔, 急性毒性, K_{ow}

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*),是一种价廉味美的海产小型双壳贝类,是我国经济型水产品之一。近些年国内外很多学者对菲律宾蛤仔进行了深入研究。胡莹等研究了菲律宾蛤仔对0#柴油和南海流花原油的生物富集动力学特征,发现菲律宾蛤仔对南海流花原油的生物富集能力比0#柴油强,而内脏对石油烃的生物富集能力高于肌肉[1]。陈丽竹等研究了菲律宾蛤仔对三价和五价无机砷的富集转化规律[2]。Aicha Gharbi等研究了菲律宾蛤仔于盐度变化后的亮氨酸氨肽酶(LAP)活性的变化,研究了菲律宾蛤仔对盐度胁迫的响应。NS Hurtado研究了西班牙西北部原生芸香与引入菲律宾蛤仔(软体动物,双壳纲,蝶科)杂交的遗传和细胞学证据[3]。A Marques等研究了菲律宾蛤仔中的金属生物富集和氧化应激剖面对其作为河口金属污染生物指示剂的适宜性的认识[4]。T Liu从蛤仔获得了基因HSP70和HSP90的全长cDNA,并研究了这两个基因在苯并芘时的转录反应[5]。EJ Won通过系列的研究表明,在使用金属浓度和生物标志物的环境监测研究中,菲律宾蛤仔的鳃,地幔和消化腺是潜在的靶组织[6]。但是对于菲律宾蛤仔的生物毒性研究较少且多集中在重金属方面,对于石化工业相关污染物毒性效应研究涉及较少。本试验选取7种石化工业特征污染物(乙基苯、甲苯、间二甲苯、对二甲苯、邻二甲苯、苯、三氯甲烷)对菲律宾蛤仔进行急性毒性研究,以期为养殖环境评价和相关污染事故处理提供参考依据。

2. 材料与方法

2.1. 受试生物及试验药剂

本实验用菲律宾蛤仔是2017年10月06日~11月30日期间从浙江省舟山市临城丰茂菜场购买,并立即运回浙江省海洋水产研究所室内暂养在清洗过的聚乙烯塑料缸(容积30 L),自然光照,不投饵,24 h换水1/3。挑选无伤病的健壮个体作为实验对象,壳长(4.95±0.46)cm、暂养4~5天备用。

试验毒物为选取的石化工业特征污染物乙基苯、甲苯、间二甲苯、对二甲苯、邻二甲苯、苯、三氯

甲烷(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。氯化钠(优级纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

2.2. 试验用水及容器

试验用海水取自浙江省海水增养殖基地——浙江省舟山市普陀区西轩岛附近的海域, 经过 72 h 沉淀、二级砂滤, 经测定所用海水中不含有试验用石化工业特征污染物乙基苯、甲苯、间二甲苯、对二甲苯、邻二甲苯、苯、三氯甲烷。室内开空调保持室温 22℃。水温 18.9℃~19.2℃, 盐度 27.6~29.2, pH 7.86~8.12, DO > 7.8 mg/L。

试验容器为 50 cm×30 cm×30 cm 的有机玻璃缸, 实验前, 所有用于实验的玻璃缸、工具等均以重铬酸钾溶液浸泡 24 h 后用水反复冲洗, 最后用纯净水冲洗干净备用。

2.3. 试验方法

试验方法按照《近海污染生态调查和生物监测(GB 17378.7-2007 海洋监测规范第 7 部分)》[7]进行, 经过相关文献查阅以及预实验初步选定试验浓度范围, 记录并观察 96h 内菲律宾蛤仔的反应情况。实验用 2 L 水, 放入 10 只菲律宾蛤仔。

依据预实验所得出的结果, 按照浓度等差间距法[8] [9], 将乙基苯设 50 mg/L、60 mg/L、70 mg/L、80 mg/L、90 mg/L 5 个浓度组, 甲苯设 60 mg/L、70 mg/L、80 mg/L、90 mg/L、100 mg/L 5 个浓度组; 间二甲苯设 50 mg/L、70 mg/L、90 mg/L、110 mg/L、130 mg/L 5 个浓度组; 对二甲苯设 50 mg/L、70 mg/L、90 mg/L、110 mg/L、130 mg/L 5 个浓度组; 邻二甲苯设 50 mg/L、70 mg/L、90 mg/L、110 mg/L、130 mg/L 5 个浓度组; 苯设 140 mg/L、150 mg/L、160 mg/L、170 mg/L、180 mg/L 5 个浓度组; 三氯甲烷设 120 mg/L、130 mg/L、140 mg/L、150 mg/L、160 mg/L 5 个浓度组; 每个浓度分别设置 2 个平行组, 一个空白对照组[10]。试验期间使用未染毒的网兜 10 min 内将菲律宾蛤仔转移至试验玻璃钢内, 试验周期为 96 h。

试验期间不投饵、每 24 h 换水 1/3。试验 96 h 内连续观察并记录菲律宾蛤仔每组死亡数量、未死亡和濒死的生理反应并记录平均死亡情况。实验中, 用玻璃棒触碰菲律宾蛤仔身体无任何反应表示菲律宾蛤仔已完全死亡, 及时将死亡的菲律宾蛤仔捞出。

2.4. 数据处理

根据乙基苯、甲苯、间二甲苯、对二甲苯、邻二甲苯、苯和三氯甲烷这 7 种石化工业特征污染物对菲律宾蛤仔的急性毒性实验结果, 借助 SPASS20.0 建立不同观察时段死亡概率单位 - 质量浓度直线回归方程, 并采用直线内插法分别计算的试验毒物在 12 h、24 h、48 h 和 96 h 的半致死浓度值(LC₅₀)及 96 h LC₅₀ 95%置信区间。并采用安全浓度 SC 来计算各实验药物的安全浓度。

公式: SC= 96 hLC₅₀ × 0.01 [11]。

3. 结果与讨论

3.1. 菲律宾蛤仔的中毒症状

菲律宾蛤仔从市场买回挑选体格健壮的先进行暂养。暂养时水深刚没过菲律宾蛤仔。菲律宾蛤仔会隔段时间探头。每日换水都将死亡的菲律宾蛤仔捡出, 以防止死亡的菲律宾蛤仔污染水质, 干扰实验结果。暂养期间菲律宾蛤仔成活很好, 仅有少数死亡。试验时挑选生命体征比较活跃的个体进行。试验中观察发现菲律宾蛤仔在不同的毒物以及不同的浓度下表现出不同的中毒症状。试验初始阶段, 菲律宾蛤仔空白对照组和低浓度组的反应基本一致, 菲律宾蛤仔在玻璃缸底部保持正常的状态, 有动静则会闭口。相比较高浓度组别, 菲律宾蛤仔会迅速闭口保持不动, 随着时间的延长, 菲律宾蛤仔会开口摇动触须直

至死亡。死亡状态的菲律宾蛤仔，蛤肉模糊，伴有恶臭，表现出明显的中毒症状。

3.2.7 种石化特征污染物对菲律宾蛤仔的急性毒性的剂量效应

由(表 1)可见 7 种石化工业特征污染物(乙基苯、甲苯、间二甲苯、对二甲苯、邻二甲苯、苯、三氯甲烷)对菲律宾蛤仔的急性毒性效应都随着试验质量浓度的提高和试验时间的延长表现出明显的增强趋势。但是可以看出不同试验的石化工业特征污染物对菲律宾蛤仔的急性毒性影响有很大差距。

实验结果显示，较明显的是毒性强度不同，乙基苯的毒性强度最大， 96 hLC_{50} 95%置信区间[35.7~61.9] mg/L；间二甲苯、对二甲苯和邻二甲苯毒性强度接近， 96 hLC_{50} 95%置信区间分别为[42.2~74.6] mg/L、[48.4~79.1] mg/L、[44.4~75.7] mg/L；与乙基苯相比毒性强度稍弱一些；甲苯的 96 hLC_{50} 95%置信区间[54.7~76.7] mg/L，相对乙于苯、间二甲苯、对二甲苯和邻二甲苯来说，甲苯的毒性更弱一些；对二氯苯和苯的毒性强度相接近， 96 hLC_{50} 95%置信区间[114.7~135.5] mg/L；苯的毒性强度最弱， 96 hLC_{50} 95%置信区间[122.9~144.9] mg/L；这 7 种石化工业特征污染物的毒性强度大小为乙基苯 > 对二甲苯 > 邻二甲苯 > 间二甲苯 > 甲苯 > 对二氯苯>苯。

从试验不同时间下的平均死亡率看，菲律宾蛤仔开始死亡的时间也不同，实验开始的 24 h 内，毒物苯没有出死亡现象，而其它 6 种毒物在此期间均出现死亡；试验开始在 48 h 内苯实验组最高浓度组的平均死亡率为 40%，而其它毒物最高浓度组的平均死亡率都高于 40%；试验开始 72 h 内各实验组最高浓度组的平均死亡率都大于或等于 65%；实验开始在 96 h 内各实验组最高浓度组的平均死亡率都达到 100%。

3.3.7 种石化特征污染物对菲律宾蛤仔安全质量浓度评价

由(表 2)可见，7 种石化特征污染物相同观察时段不同试验质量浓度梯度组间的致死效果存在显著差异，所建的死亡概率单位 - 质量浓度回归方程均显示出较好地拟合度和相关性($P < 0.05$)，这表明菲律宾蛤仔的死亡率和毒物试验质量浓度密切相关。

乙基苯、甲苯、间二甲苯、对二甲苯、邻二甲苯、苯和三氯甲烷对菲律宾蛤仔半致死质量浓度 96 hLC_{50} 值依次为 53.8 mg/L、69.3 mg/L、61.4 mg/L、66.2 mg/L、62.9 mg/L、137.7 mg/L 和 128.5 mg/L (表 2)。根据国家环保局相关规定， $96\text{ hLC}_{50} > 100\text{ mg/L}$ 、 $1000\text{~}10,000\text{ mg/L}$ 、 $100\text{~}1000\text{ mg/L}$ 、 $1\text{~}100\text{ mg/L}$ 、 $<1.0\text{ mg/L}$ 分别为微毒、低毒、中毒、高毒、剧毒污染物[12]。按照这一等级的划分，本实验中毒物乙基苯、甲苯、间二甲苯、对二甲苯、邻二甲苯、苯和三氯甲烷对菲律宾蛤仔毒性为高毒。其安全浓度分别为 0.54 mg/L、0.69 mg/L、0.61 mg/L、0.66 mg/L、0.63 mg/L、1.38 mg/L 和 1.28 mg/L。均高于《渔业水质标准(GB11607-1989)》[13]规定的数值(石油类 $\leq 0.05\text{ mg/L}$)，表明菲律宾蛤仔对这 7 种石化工业特征污染物具有较高的耐受性。7 种石化工业特征污染物对菲律宾蛤仔毒性依次为乙基苯 > 间二甲苯 > 邻二甲苯 > 对二甲苯 > 甲苯 > 三氯甲烷 > 苯。根据急性毒性实验结果可以看出这 7 种石化工业特征污染物对菲律宾蛤仔均具有急性毒性。

3.4. 菲律宾蛤仔 96 hLC_{50} 与 KOW 的关系

本章节试验以菲律宾蛤仔为受试生物，以半致死浓度评价了 7 种石化工业特征污染物(苯、甲苯、间二甲苯、邻二甲苯、对二甲苯、乙基苯、三氯甲烷)对菲律宾蛤仔的急性毒性效应。结合菲律宾蛤仔 96 hLC_{50} 与受试毒物 KOW 分析受试石化特征污染物对海洋生物的毒性效应。菲律宾蛤仔 96 hLC_{50} 与受试毒物 KOW 的关系如(图 1)所示。从散点图可以看出菲律宾蛤仔 96 hLC_{50} 与受试毒物 KOW 显著相关，受试毒物 KOW 越大，菲律宾蛤仔 96 hLC_{50} 值越小，该毒物毒性越大。散点图中有几个点有偏离，说明还有其他因素影响受试毒物的毒性。

Table 1. The acute toxicity of seven kinds of Characteristic Pollutants in the Petrochemical Industry on *Ruditapes philippinarum* at intervals of time at different dose**表 1. 不同时段 7 种石化工业特征污染物对菲律宾蛤仔的急性毒性**

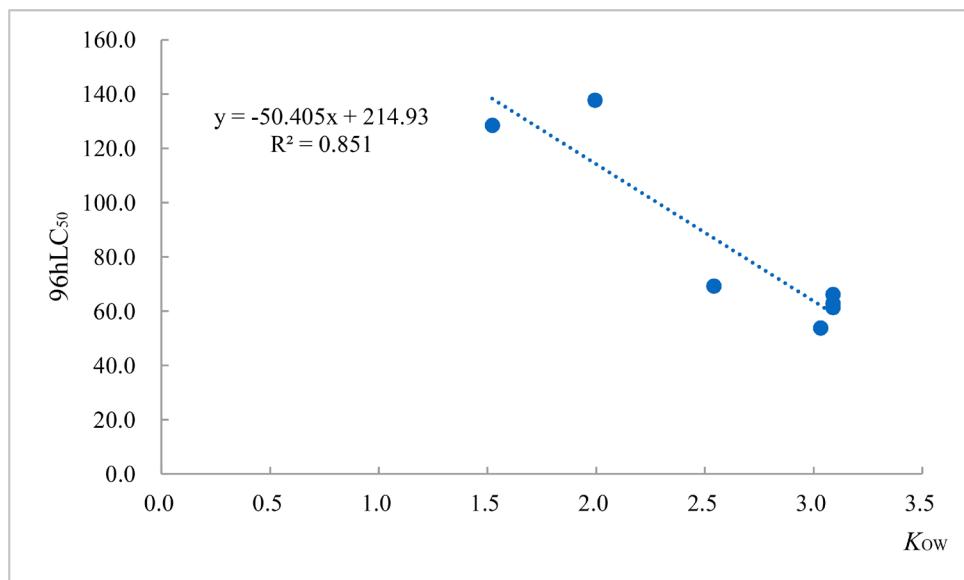
毒物	毒物浓度 mg/L	不同试验时间下的平均死亡率%				96 hLC ₅₀ 95%置信区间 / (mg/L)
		24 h	48 h	72 h	96 h	
对照组	0	0	0	0	0	
乙基苯	50	5	20	25	45	35.7~61.9
	60	10	30	40	65	
	70	20	30	50	75	
	80	20	40	60	90	
	90	40	50	65	100	
甲苯	60	5	15	35	35	54.7~76.7
	70	10	25	50	50	
	80	15	30	65	70	
	90	20	40	70	80	
	100	40	70	85	100	
间二甲苯	50	5	10	30	45	42.2~74.6
	70	10	20	30	60	
	90	10	50	50	80	
	110	20	60	60	90	
	130	40	70	80	100	
对二甲苯	50	10	25	35	40	48.4~79.1
	70	10	30	45	50	
	90	20	35	60	75	
	110	20	45	80	90	
	130	45	50	90	100	
邻二甲苯	50	10	20	35	40	44.4~75.7
	70	10	35	40	60	
	90	25	40	50	80	
	110	30	45	70	90	
	130	45	60	80	100	
苯	140	0	0	30	40	122.9~144.9
	150	5	10	30	50	
	160	10	20	45	70	
	170	30	30	60	90	
	180	30	40	85	100	
三氯甲烷	120	5	10	30	35	114.7~135.5
	130	10	20	40	50	
	140	20	30	55	75	
	150	20	40	70	85	
	160	40	60	75	100	

Table 2. Analysis of feature of the acute toxicity of seven kinds of Characteristic Pollutants in the Petrochemical Industry on *Ruditapes philippinarum* at intervals of time at different dose
表 2. 不同观察时间段 7 种石化特征污染物对菲律宾蛤仔急性毒性特征分析

毒物	时间/h	回归方程	r	df	F	LC50/(mg/L)	安全浓度(mg/L)
乙基苯	24	$Y = -3.252 + 0.033X$	0.990	4	0.303	99.8	0.54
	48	$Y = -2.164 + 0.025X$	0.980	4	0.431	88.3	
	72	$Y = -2.200 + 0.030X$	0.981	4	0.412	72.2	
	96	$Y = -2.878 + 0.053X$	0.962	4	0.605	53.8	
甲苯	24	$Y = -3.688 + 0.033X$	0.995	4	0.201	110.4	0.69
	48	$Y = -3.295 + 0.036X$	0.953	4	0.684	91.2	
	72	$Y = -2.550 + 0.036X$	0.994	4	0.226	71.4	
	96	$Y = -3.686 + 0.053X$	0.910	4	0.996	69.3	
间二甲苯	24	$Y = -2.699 + 0.018X$	0.978	4	0.457	149.9	0.61
	48	$Y = -2.434 + 0.024X$	0.942	4	0.774	100.9	
	72	$Y = -1.662 + 0.021X$	0.894	4	1.104	80.6	
	96	$Y = -1.938 + 0.032X$	0.903	4	1.042	61.4	
对二甲苯	24	$Y = -2.344 + 0.016X$	0.936	4	0.817	145.7	0.66
	48	$Y = -1.601 + 0.013X$	0.879	4	1.197	119.1	
	72	$Y = -1.856 + 0.025X$	0.942	4	0.775	75.7	
	96	$Y = -2.128 + 0.032X$	0.904	4	1.037	66.2	
邻二甲苯	24	$Y = -2.324 + 0.017X$	0.981	4	0.418	136.9	0.63
	48	$Y = -1.736 + 0.016X$	0.908	4	1.012	109.4	
	72	$Y = -1.696 + 0.020X$	0.880	4	1.188	84.4	
	96	$Y = -2.051 + 0.033X$	0.940	4	0.786	62.9	
苯	24	$Y = -7.936 + 0.045X$	0.940	4	0.792	177.5	1.38
	48	$Y = -7.350 + 0.042X$	0.963	4	0.601	173.4	
	72	$Y = -5.687 + 0.038X$	0.915	4	0.966	149.9	
	96	$Y = -7.859 + 0.057X$	0.931	4	0.855	137.7	
三氯甲烷	24	$Y = -5.476 + 0.032X$	0.990	4	0.297	170.1	1.28
	48	$Y = -5.641 + 0.037X$	0.999	4	0.082	154.5	
	72	$Y = -4.359 + 0.032X$	0.999	4	0.095	136.5	
	96	$Y = -7.436 + 0.058X$	0.955	4	0.669	128.5	

4. 结论

通过对菲律宾蛤仔的急性毒性试验, 得出乙基苯、甲苯、间二甲苯、对二甲苯、邻二甲苯、苯和三氯甲烷对菲律宾蛤仔半致死质量浓度 96 hLC₅₀ 值依次为 53.8 mg/L、69.3 mg/L、61.4 mg/L、66.2 mg/L、62.9 mg/L、137.7 mg/L 和 128.5 mg/L; 安全浓度分别为 0.54 mg/L、0.69 mg/L、0.61 mg/L、0.66 mg/L、

**Figure 1.** The relationship between 96h LC₅₀ and K_{OW} in *Ruditapes philippinarum***图 1.** 菲律宾蛤仔 96 hLC₅₀ 与 K_{OW} 的关系

0.63 mg/L、1.38 mg/L 和 1.28 mg/L；毒性依次为乙基苯 > 间二甲苯 > 邻二甲苯 > 对二甲苯 > 甲苯 > 三氯甲烷 > 苯；本实验受试毒物对菲律宾蛤仔毒性为高毒，且菲律宾蛤仔对受试毒物有较高的耐受性。菲律宾蛤仔 96 hLC₅₀ 与受试毒物 KOW 呈显著相关，受试毒物 KOW 越大，菲律宾蛤仔 96 hLC₅₀ 值越小，该毒物毒性越大。

基金项目

浙江省科学技术厅公益技术应用研究(2017C33142)；浙江省科学技术厅公益技术应用(2017C32089)。

参考文献

- [1] 胡莹, 马胜伟, 陈海刚, 等. 菲律宾蛤仔对 0~#柴油和南海流花原油的生物富集动力学特征[J]. 南方水产科学, 2017, 13(3): 90-96.
- [2] 陈丽竹, 王丹, 曹瑞文, 等. 菲律宾蛤仔对三价和五价无机砷的富集转化规律[J]. 海洋通报, 2017, 36(3): 326-332.
- [3] Hurtado, N.S., Pérez-García, C., Morán, P., et al. (2011) Genetic and Cytological Evidence of Hybridization between Native *Ruditapes decussatus* and Introduced *Ruditapes philippinarum* (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) in NW Spain. *Aquaculture*, **311**, 123-128. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.12.015>
- [4] Marques, A., Piló, D., Carvalho, S., et al. (2017) Metal Bioaccumulation and Oxidative Stress Profiles in *Ruditapes philippinarum*—Insights towards Its Suitability as Bioindicator of Estuarine Metal Contamination. *Ecological Indicators*. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.10.072>
- [5] Liu, T., Pan, L., Cai, Y., et al. (2015) Molecular Cloning and Sequence Analysis of Heat Shock Proteins 70 (HSP70) and 90 (HSP90) and Their Expression Analysis When Exposed to Benzo(a)pyrene in the Clam *Ruditapes philippinarum*. *Gene*, **555**, 108-118. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2014.10.051>
- [6] Won, E.-J., Kim, K.-T., Choi, J.-Y., et al. (2016) Target Organs of the Manila Clam *Ruditapes philippinarum* for Studying Metal Accumulation and Biomarkers in Pollution Monitoring: Laboratory and *In-Situ* Transplantation Experiments. *Environmental Monitoring & Assessment*, **188**, 478. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5485-y>
- [7] 国家质量技术监督局发布. 海洋监测规范第 7 部分: 近海污染生态调查和生物监测: GB 17378.7-1998 [S]. 北京: 中国标准出版社出版, 1999.
- [8] 包杰, 姜宏波, 程慧, 等. 氨氮对中华小长臂虾的急性毒性及非特异性免疫指标的影响[J]. 水生生物学报, 2017, 41(3): 516-522.

-
- [9] 陈仕梅, 禹娜, 周宇阳, 等. Cd~(2+), Zn~(2+)和 Cu~(2+)对 *Physocypria kraepelini*(介形纲)的急性毒性实验[J]. 微体古生物学报, 2010, 27(2): 118-124.
 - [10] 查智辉, 许文军, 谢建军, 等. 几种常见水产药品对日本黄姑鱼幼鱼的急性毒性试验[J]. 水生态学杂志, 2010, 03(5): 66-71.
 - [11] 孙振兴, 孙鹏. 两种水温条件下镉对菲律宾蛤仔的急性毒性[J]. 海洋通报, 2010, 29(3): 316-319.
 - [12] 孙婕. 小型鱼监测污染源废水毒性的时效应研究[D]: [硕士学位论文]. 长春: 吉林农业大学, 2013.
 - [13] 中华人民共和国国家标准——渔业水质标准(GB11607-89) [J]. 环境保护, 1989(12): 27-29.

Hans 汉斯

知网检索的两种方式:

1. 打开知网首页 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2373-1443, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>
期刊邮箱: ojfr@hanspub.org