

So sánh độ nhạy cảm giữa ấu trùng tôm sú *Penaeus monodon* và copepod *Acaria tonsa* trong thử nghiệm độ độc cấp tính

ThS. Đoàn Đăng Phi Công, CN. Lê Đăng Hòa
Viện Dầu khí Việt Nam

Tóm tắt

Nghiên cứu này nhằm đánh giá độ nhạy cảm của 2 loài sinh vật *Penaeus monodon* và *Acaria tonsa* bằng thử nghiệm độ độc cấp tính trên một số chất độc chuẩn. Kết quả thử nghiệm độ độc cho thấy các chất độc chuẩn có tác dụng gây độc tương đối giống nhau với các sinh vật nghiên cứu (các chất có độ độc giảm dần như sau: $AgNO_3 > PCP > CuSO_4 \sim 3,5\text{-DCP} \sim CdCl_2 > ZnSO_4 > DSS > K_2Cr_2O_7 > Phenol > KCl$) và có giá trị $LC50$ từ 0,16 - 611,30mg/l (đối với *Acaria tonsa*) và từ 0,19 - 714,89mg/l (đối với *Penaeus monodon*). Trong đó, cả 2 loài (*Acaria tonsa*/*Penaeus monodon*) đều có độ nhạy cảm thấp nhất đối với KCl và cao nhất với $AgNO_3$, tỷ lệ độ nhạy cảm đối với các chất độc chuẩn từ 0,7 - 4,9 lần (trung bình khoảng 2,25 lần). Từ kết quả của nghiên cứu này, có thể đề xuất giá trị chuyển đổi để xây dựng thang chuẩn đánh giá độ độc cấp tính trên đối tượng sinh vật bản địa Việt Nam là ấu trùng tôm sú *Penaeus monodon* từ thang chuẩn đã có trên thế giới đối với copepod *Acaria tonsa*.

1. Mở đầu

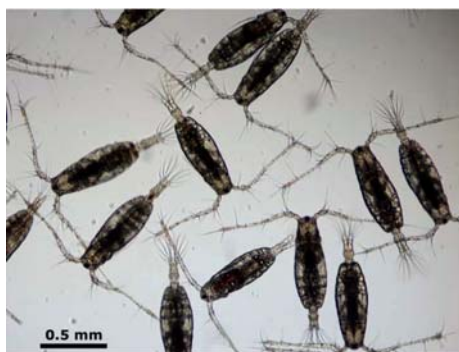
Thử nghiệm độc tính sinh thái trong đó có thử nghiệm độ độc là công cụ được sử dụng rộng rãi trên thế giới và ở Việt Nam nhằm quản lý việc sử dụng và thải bỏ các hóa chất ra môi trường. Trong những năm gần đây, Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển An toàn và Môi trường Dầu khí (CPSE) - Viện Dầu khí Việt Nam đã thực hiện nhiều nghiên cứu ứng dụng các sinh vật bản địa trong thử nghiệm độ độc pha nước. Việc sử dụng ấu trùng tôm sú *Penaeus monodon* làm đối tượng thử nghiệm đã đảm bảo tính thực tiễn và phù hợp với điều kiện môi trường Việt Nam. Hiện nay, việc tạm thời áp dụng các thang chuẩn quốc tế để đánh giá kết quả thử nghiệm độ độc trên đối tượng sinh vật Việt Nam đã gây ra những bất cập nhất định vì điều kiện thử nghiệm và độ nhạy cảm của các loài sinh vật khác nhau. Vì vậy, trong nghiên cứu này, nhóm tác giả đã sử dụng copepod *Acaria tonsa* (thuộc nhóm giáp xác) - là đối tượng được sử dụng rộng rãi trong thử nghiệm độ độc trên thế giới, đặc biệt là ở các nước ôn đới và đã có thang chuẩn đánh giá để làm đối tượng so sánh.

2. Đối tượng và phương pháp thử nghiệm

2.1. Đối tượng thử nghiệm

2.1.1. Sinh vật thử nghiệm

Các sinh vật thử nghiệm sử dụng trong nghiên cứu bao gồm ấu trùng tôm sú *Penaeus monodon* và copepod *Acaria tonsa*. Ấu trùng tôm sú *Penaeus monodon* thu thập tại các trại nuôi tôm sú giống tại Cần Thơ ở giai đoạn hậu ấu trùng 6 - 8 ngày tuổi (pos 6 - 8). Các mẫu tôm sú giống được kiểm tra chất lượng về bệnh học và nuôi thuần chủng tại phòng thí nghiệm khoảng 5 - 7 ngày trước khi tiến hành thử nghiệm. Copepod *Acaria tonsa* là loài thuộc bộ chân kiếm được nuôi và sử dụng rộng rãi trong nhiều thập kỷ, được coi là loài chuẩn trong thử nghiệm



Hình 1. *Acaria tonsa*



Hình 2. *Penaeus monodon*

độ độc. Loài *Acaria tonsa* dùng trong thử nghiệm đã được thu thập ở Viện Tài nguyên Thủy sản Quốc gia Đan Mạch. Copepods ở giai đoạn trưởng thành được dùng để làm thí nghiệm, độ tuổi thích hợp cho thử nghiệm là 10 - 28 ngày sau khi nở.

2.1.2. Các hóa chất nghiên cứu

Các chất độc chuẩn sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: 4 hợp chất hữu cơ là Dodecyl sodium sulfate (SDS), Phenol, Pentachlorophenol (PCP), 3,5-Dichlorophenol và 6 hợp chất vô cơ là Cadmium chloride ($CdCl_2$), Potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$), Copper sulfate ($CuSO_4$), Potassium Chloride (KCl), Silver Nitrate ($AgNO_3$), Zinc sulfate ($ZnSO_4$). Các hóa chất này do Sigma-Arllich và Merck sản xuất theo tiêu chuẩn hóa chất phân tích.

2.2. Phương pháp thử nghiệm độ độc

2.2.1. Phương pháp thử nghiệm độ độc trên *Acaria tonsa*

Phương pháp thử nghiệm độ độc trên *Acaria tonsa* thực hiện dựa trên tiêu chuẩn ISO 14669:1999 (ISO, 1999) [34] và được thực hiện tại Phòng Thí nghiệm biển SINTEF, Trondheim, Na Uy [14].

Acaria tonsa cho tiếp xúc với dãy nồng độ chất thử nghiệm từ thấp đến cao. Sử dụng 3 bình thử nghiệm là các bình tam giác dung tích 50ml cho mỗi nồng độ. Thí nghiệm được đặt ở nhiệt độ $20 \pm 2,0^\circ C$, độ mặn $3,0 \pm 0,02\%$, hàm lượng oxy hòa tan $> 4mg/l$ và không cho ăn trong thời gian thử nghiệm. Sau 48 giờ, xác định số sinh vật chết/không hoạt động và tính giá trị LC50 - 48 giờ - nồng độ chất thử tại đó tỷ lệ sống bị ức chế 50% sau 48 giờ.

2.2.2. Phương pháp thử nghiệm độ độc trên ấu trùng tôm sú *Penaeus monodon*

Thử nghiệm độ độc pha nước trên đối tượng ấu trùng tôm sú *Penaeus monodon* được thực hiện theo hướng dẫn



Hình 3. Hệ thống thử nghiệm độ độc trên *Acaria tonsa*



Hình 4. Hệ thống thử nghiệm độ độc trên ấu trùng tôm sú *Penaeus monodon*

HD.CPSE.SH.06 [7], phù hợp với tiêu chuẩn APHA 8740 A-D [10] được thực hiện tại Phòng Sinh học, CPSE.

Penaeus monodon cho tiếp xúc với dãy nồng độ chất thử nghiệm từ thấp đến cao. Mỗi nồng độ sử dụng 10 - 20 cốc thủy tinh 50ml chứa 20ml môi trường, mỗi cốc chứa 1 cá thể sinh vật. Thí nghiệm được đặt ở nhiệt độ $26 \pm 2,0^\circ C$, độ mặn $3,0 \pm 0,2\%$, hàm lượng oxy hòa tan $\geq 4 mg/l$ và không cho ăn trong thời gian thử nghiệm. Sau 96 giờ, xác định số sinh vật chết/không hoạt động và tính giá trị LC50 - 96 giờ - nồng độ chất thử tại đó tỷ lệ sống bị ức chế 50% sau 96 giờ.

2.2.3. Phương pháp xác định độ nhạy cảm [1, 4, 5]

Độ nhạy cảm của sinh vật đối với các chất thử nghiệm thể hiện khả năng đáp ứng của sinh vật khi có sự thay đổi nồng độ của chất thử. Tùy thuộc vào đặc điểm của các chất thử mà sinh vật có sự đáp ứng khác nhau. Từ các kết quả thử nghiệm độ độc của các chất độc chuẩn lên các loài sinh vật *Acaria tonsa* và *Penaeus monodon*, xác định tính nhạy cảm của các sinh vật này đối với các chất độc được đánh giá bằng thông số độ nhạy cảm. Độ nhạy cảm được định nghĩa là độ thay đổi tỷ lệ chết của sinh vật thử nghiệm khi nồng độ chất độc thay đổi 1ppm (mg/l). Theo định nghĩa này, độ nhạy cảm chính là hệ số a của phương trình hồi quy tuyến tính:

$$y = ax + b$$

Trong đó:

y: là tỷ lệ chết của sinh vật;

x: là nồng độ chất độc.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả thử nghiệm độ độc trên copepod *Acaria tonsa* và ấu trùng tôm sú *Penaeus monodon*

Kết quả thử nghiệm độ độc của các chất độc chuẩn trên *Acaria tonsa* được trình bày ở Bảng 2 và Hình 5 được đánh giá theo thang chuẩn phân loại độ độc pha nước của OCNS (OSPAR) (Bảng 1). Các chất độc chuẩn sử dụng được chia thành 2 nhóm: hữu cơ và vô cơ. Các chất độc chuẩn hữu cơ có độ độc trải dài từ nhóm A đến C, được sắp xếp theo thứ tự độ độc giảm dần: pentachlorophenol > 3,5-dichlorophenol > dodecyl sodium sulphate > phenol;

trong đó, chất có độ độc cao nhất là pentachlorophenol (LC50 - 48 giờ = 0,1957mg/l) và thấp nhất là phenol (LC50 - 48 giờ = 43,33mg/l). Các chất độc chuẩn vô cơ có độ độc trải dài từ nhóm A đến D, được sắp xếp theo thứ tự độ độc giảm dần: $AgNO_3 > CdCl_2 \sim CuSO_4 > ZnSO_4 > K_2Cr_2O_7 > KCl$; trong đó, chất có độ độc cao nhất là $AgNO_3$ (LC50 - 48 giờ = 0,1642mg/l) và thấp nhất là KCl (LC50 - 48 giờ = 611,3mg/l). Theo thang phân loại của OCNS, độ độc của các chất độc chuẩn nghiên cứu trên *Acaria tonsa* trải dài từ nhóm A đến nhóm D với 5 chất thuộc nhóm A (3,5-dichlorophenol, pentachlorophenol, $CdCl_2$, $CuSO_4$, $AgNO_3$), 2 chất độc thuộc nhóm B (dodecyl sodium sulphate, $ZnSO_4$), 2 chất độc thuộc nhóm C (phenol, $K_2Cr_2O_7$) và 1 chất độc thuộc nhóm D (KCl).

Đối với kết quả thử nghiệm độ độc trên *Penaeus monodon*, các chất độc chuẩn hữu cơ có độ độc trải dài từ A đến C, được xếp theo thứ tự độ độc giảm dần: pentachlorophenol > 3,5-dichlorophenol > dodecyl sodium sulphate > phenol; trong đó, chất có độ độc cao nhất là pentachlorophenol (LC₅₀ - 96 giờ = 0,2235mg/l) và thấp nhất là phenol (LC₅₀ - 96 giờ = 47,33mg/l). Các chất độc chuẩn vô cơ có độ độc trải dài từ nhóm A đến D, được sắp xếp theo thứ tự độ độc giảm dần: $AgNO_3 > CuSO_4 \sim CdCl_2 > ZnSO_4 > K_2Cr_2O_7 > KCl$; trong đó, chất có độ độc cao nhất là $AgNO_3$ (LC₅₀ - 96 giờ = 0,191mg/l), chất ít độc nhất là KCl (LC₅₀ - 96 giờ = 714,9mg/l). Theo phân loại của OCNS, độ độc của các chất độc chuẩn nghiên cứu trên *Penaeus monodon* trải dài từ nhóm A đến nhóm D với 2 chất độc thuộc nhóm A (pentachlorophenol, $AgNO_3$), 4 chất độc

thuộc nhóm B (3,5-dichlorophenol, $CdCl_2$, $CuSO_4$, $ZnSO_4$), 3 chất độc thuộc nhóm C (dodecyl sodium sulphate, phenol, $K_2Cr_2O_7$) và 1 chất độc thuộc nhóm D (KCl).

Kết quả thử nghiệm độ độc của nhóm chất hữu cơ đã phản ánh được kiểu gây độc của các hóa chất thử nghiệm theo phân loại của Verhaar và cộng sự [31, 32]. Các hóa chất thuộc nhóm có kiểu gây độc ngăn cản quá trình phosphoryl hóa (pentachlorophenol) là độc nhất (nhóm IV) với đặc điểm ức chế quá trình tổng hợp ATP bằng cách tác động vào màng trong của ti thể làm cho các ion H^+ dễ thấm qua màng gây phá vỡ gradien ion H^+ [13]. 3,5-dichlorophenol và dodecyl sodium sulphate có kiểu gây độc thuộc nhóm hóa chất tạo phản ứng sinh học (nhóm III), nhóm chất này chỉ có tính độc sau nhóm IV và có đặc điểm gây độc bằng cách tạo phản ứng không đặc hiệu với các cấu trúc hóa học khác có trong các phân tử sinh học hoặc chúng được chuyển hóa thành các dạng có độc tính cao hơn. Phenol thuộc nhóm II gọi là nhóm chất gây mê phân cực có đặc điểm gây độc do tạo các ion H^+ có tính acid, nhóm này có tính độc thấp, chỉ cao hơn nhóm chất gây mê không phân cực (nhóm I) [31, 32].

Đối với chất độc chuẩn vô cơ, các kim loại nặng như Cu, Zn, Cr là những nguyên tố vi lượng cần thiết nhưng khi ở nồng độ cao sẽ gây độc cho cơ thể sinh vật như: ức chế hoạt động của enzyme, phá hoại cấu trúc và chức năng của các cơ quan trong tế bào như lysosome, ti thể... Theo Vaal và cộng sự, độ độc của các kim loại nặng như Cd có thể bằng độ độc nhóm IV của các hóa chất hữu cơ theo

phân loại về kiểu gây độc của Verhaar và cộng sự. Ngoài ra, KCl là muối của kim loại kiềm, có độ độc không cao nhưng được sử

Bảng 1. Phân loại sơ bộ độc tính dựa trên độ độc pha trầm tích theo hệ thống phân loại OCNS

Phân nhóm sơ bộ	A (Kém nhất)	B	C	D	E (Tốt nhất)
LC50 (mg/kg)	< 10	10 - 100	> 100 - 1.000	> 1.000 - 10.000	> 10.000

Bảng 2. Tóm tắt kết quả thử nghiệm độ độc của các chất độc chuẩn trên *Acaria tonsa* và *Penaeus monodon*

TT	Chất độc chuẩn	<i>Acaria tonsa</i>			<i>Penaeus monodon</i>		
		Giá trị LC50 - 48 giờ (mg/l)	Khoảng tin cậy 95% (mg/l)	Nhóm phân loại	Giá trị LC50 - 96 giờ (mg/l)	Khoảng tin cậy 95% (mg/l)	Nhóm phân loại
1	3,5-DCP	0,42	0,35 - 0,51	A	2,08	1,81 - 2,35	B
2	DSS	3,34	3,0 - 3,72	B	22,08	20,16 - 24,01	C
3	PCP	0,20	0,18 - 0,22	A	0,22	0,21 - 0,24	A
4	Phenol	43,33	39,29 - 47,79	C	47,33	41,75 - 52,92	C
5	$AgNO_3$	0,16	0,15 - 0,18	A	0,19	0,17 - 0,21	A
6	$CdCl_2$	0,47	0,37 - 0,59	A	1,85	1,49 - 2,21	B
7	$CuSO_4$	0,59	0,50 - 0,62	A	1,68	1,26 - 2,09	B
8	$K_2Cr_2O_7$	19,79	17,90 - 21,88	C	25,59	24,62 - 26,56	C
9	KCl	611,30	573,1 - 652,0	D	714,90	675,8 - 754,0	D
10	$ZnSO_4$	2,83	2,52 - 3,18	B	4,50	4,27 - 4,74	B

dùng làm chất độc chuẩn rất phổ biến, phù hợp với môi trường thử nghiệm là nước biển [23].

Khi so sánh kết quả thử nghiệm độ độc của các chất độc chuẩn trên *Acaria tonsa* và *Penaeus monodon*, thứ tự sắp xếp độ độc trình bày ở Bảng 2 cho thấy không có sự khác biệt lớn. Các chất CuSO_4 , CdCl_2 và 3,5-dichlorophenol có sự thay đổi vị trí sắp xếp khi so sánh giữa 2 loài sinh vật thử nghiệm nhưng giá trị LC50 có sự chênh lệch không cao: từ 0,42 - 0,59mg/l đối với *Acaria tonsa* và 1,68 - 2,08mg/l đối với *Penaeus monodon*. Kết quả trên cho thấy các chất độc chuẩn sử dụng có tác dụng gây độc tương đối giống nhau đối với 2 loài sinh vật này.

3.2. Xác định và so sánh độ nhạy cảm của *Acaria tonsa* và *Penaeus monodon*

Dựa vào các kết quả thử nghiệm độ độc của các chất độc chuẩn 3,5-dichlorophenol, dodecyl sodium

sulphate (DSS), pentachlorophenol, phenol, CdCl_2 , CuSO_4 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, KCl, AgNO_3 và ZnSO_4 trên *Acaria tonsa* và *Penaeus monodon* đã trình bày, nhóm tác giả tiến hành xác định độ nhạy cảm của các sinh vật này đối với từng chất độc chuẩn bằng cách xác định hệ số góc a của phương trình hồi quy tuyến tính $y = ax + b$ (trong đó, y: tỷ lệ chết, x: nồng độ hóa chất). Kết quả về độ nhạy cảm của *Acaria tonsa* và *Penaeus monodon* được trình bày ở Bảng 3.

Đối với *Acaria tonsa*, khi nồng độ của các chất độc chuẩn thay đổi 1mg/l thì mức độ ức chế khả năng sống của sinh vật này có sự chênh lệch rất lớn, cao nhất là hơn 270% đối với AgNO_3 và thấp nhất là 0,06% đối với KCl. Độ nhạy cảm của các chất độc chuẩn đối với *Acaria tonsa* được sắp xếp theo thứ tự giảm dần: $\text{AgNO}_3 > \text{PCP} > \text{CuSO}_4 > 3,5\text{-DCP} > \text{CdCl}_2 > \text{ZnSO}_4 > \text{DSS} > \text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 > \text{Phenol} > \text{KCl}$.

Tương tự, đối với *Penaeus monodon*, khi nồng độ của các chất độc chuẩn thay đổi 1mg/l thì mức độ ức chế khả năng sống của sinh vật này cũng có sự chênh lệch rất lớn, cao nhất là hơn 300% đối với AgNO_3 và thấp nhất là 0,07% đối với KCl. Độ nhạy cảm của các chất độc chuẩn đối với *Penaeus monodon* được sắp xếp theo thứ tự giảm dần: $\text{AgNO}_3 > \text{PCP} > 3,5\text{-DCP} > \text{CdCl}_2 > \text{CuSO}_4 > \text{ZnSO}_4 > \text{DSS} > \text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 > \text{Phenol} > \text{KCl}$. Điều này tương đối phù hợp với kết quả đánh giá độ độc ở phần trên.

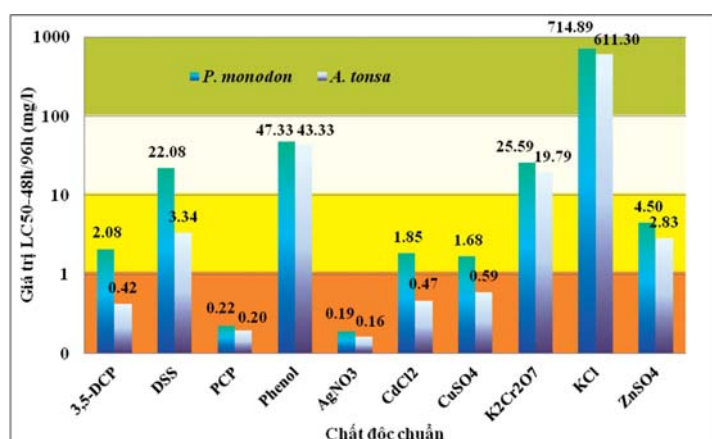
Tỷ lệ về độ nhạy cảm đối với các chất độc chuẩn nghiên cứu giữa *Acaria tonsa* và *Penaeus monodon* khác nhau tùy thuộc vào chất độc chuẩn và biến thiên từ 0,71 (PCP) đến 4,93 lần (CuSO_4), trung bình là 2,25 lần, có nghĩa *Acaria tonsa* có độ nhạy cảm trung bình đối với các chất nghiên cứu cao hơn khoảng 2,25 lần so với *Penaeus monodon*.

Tùy thuộc vào loại hóa chất mà các sinh vật nghiên cứu có kết quả khác nhau, vì vậy tỷ lệ về độ nhạy cảm của 2 loài sinh vật nghiên cứu cũng có thể được chia thành các nhóm sau:

- Nhóm có giá trị < 1 (từ 0,71 - 0,89), độ nhạy cảm của *Acaria tonsa* không nhỏ hơn nhiều so với *Penaeus monodon*, bao gồm các 3 chất PCP, AgNO_3 và KCl.

- Nhóm có giá trị > 1 (từ 1,24 - 1,65), độ nhạy cảm của *Acaria tonsa* không lớn hơn nhiều so với *Penaeus monodon* bao gồm 3 chất $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, Phenol và ZnSO_4 .

- Nhóm có giá trị > 3 (từ 3,02 - 4,93), độ nhạy cảm của *Acaria tonsa* cao hơn rất nhiều so với của



Hình 5. So sánh kết quả thử nghiệm độ độc của các chất độc chuẩn trên *Acaria tonsa* và *Penaeus monodon*

Bảng 3. Độ nhạy cảm của *Acaria tonsa* và *Penaeus monodon* đối với các chất độc chuẩn

TT	Chất độc chuẩn	Độ nhạy cảm (%)		Tỷ lệ độ nhạy cảm AT/PM* (lần)
		<i>Acaria tonsa</i>	<i>Penaeus monodon</i>	
1	3,5-DCP	66,29	21,95	3,02
2	DSS	9,67	2,07	4,67
3	PCP	152,62	214,06	0,71
4	Phenol	1,01	0,80	1,26
5	AgNO ₃	274,92	315,66	0,87
6	CdCl ₂	65,71	19,95	3,29
7	CuSO ₄	84,69	17,19	4,93
8	K ₂ Cr ₂ O ₇	2,39	1,93	1,24
9	KCl	0,06	0,07	0,89
10	ZnSO ₄	17,37	10,55	1,65
Trung bình				2,25

*AT/PM: *Acaria tonsa*/*Penaeus monodon*

Penaeus monodon, bao gồm 4 chất 3,5-DCP, CdCl₂, DSS và CuSO₄.

Kết quả trên cho thấy *Acaria tonsa* có độ nhạy cảm đối với các hóa chất nghiên cứu cao hơn so với *Penaeus monodon*. Tùy thuộc vào từng chất độc chuẩn mà mức độ chênh lệch về độ nhạy cảm của 2 loài này khác nhau.

4. Kết luận

Các kết quả nghiên cứu đánh giá độ độc của một số chất độc chuẩn trên các đối tượng thử nghiệm độ độc pha nước là copepod *Acaria tonsa* và ấu trùng tôm sú *Penaeus monodon*. So sánh độ nhạy cảm của 2 loài sinh vật này, nhóm tác giả kết luận:

- Các chất độc chuẩn có tác dụng gây độc tương đối giống nhau đối với 2 loài sinh vật thử nghiệm là *Acaria tonsa* và *Penaeus monodon*. Kết quả thử nghiệm độ độc được sắp xếp theo thứ tự giảm dần: AgNO₃ > PCP > CdCl₂ ~ 3,5-DCP ~ CuSO₄ > ZnSO₄ > DSS > K₂Cr₂O₇ > Phenol > KCl.

- *Acaria tonsa* có độ nhạy cảm trung bình đối với các chất nghiên cứu cao hơn khoảng 2,25 lần so với *Penaeus monodon*. Tùy thuộc vào từng chất độc chuẩn mà mức độ chênh lệch về độ nhạy cảm của 2 loài này khác nhau.

Tài liệu tham khảo

1. Đặng Văn Giáp. *Phân tích dữ liệu khoa học bằng chương trình MS-Excel*. Nhà xuất bản Giáo dục. 1997.

2. Đoàn Đặng Phi Công và nnk. *Báo cáo tổng kết đề tài khoa học cấp Ngành "Nghiên cứu xây dựng thang chuẩn phân loại mức độ độc trong pha trầm tích của các hóa chất, chất thải dựa trên kết quả kiểm định với đối tượng ấu trùng tôm sú nhằm phục vụ công tác quản lý môi trường biển Việt Nam"*. CPSE. 2008.

3. Hoàng Nguyễn và nnk. *Báo cáo tổng kết đề tài khoa học cấp Ngành "Nghiên cứu ứng dụng mô hình Charm phục vụ công tác đánh giá rủi ro môi trường trong việc sử dụng hoá chất cho các hoạt động dầu khí biển"*. CPSE. 2006.

4. Hoàng Thái Lộc và nnk. *Báo cáo tổng kết đề tài khoa học cấp Ngành "Nghiên cứu ứng dụng các phương pháp xác định độ độc, khả năng phân rã sinh học và tích tụ sinh học của một số hóa chất sử dụng trong công nghiệp dầu khí biển ở Việt Nam nhằm phục vụ công tác quản lý môi trường"*. CPSE. 2004.

5. Phan Hiếu Hiền. *Phương pháp bố trí thí nghiệm và xử lý số liệu (thống kê thực nghiệm)*. Nhà xuất bản Nông nghiệp Tp. HCM. 2001.

6. Tổng công ty Dầu khí Việt Nam. *Hướng dẫn thực hiện các quy định về bảo vệ môi trường liên quan đến sử dụng và thải hoá chất, dung dịch khoan trong các hoạt động dầu khí ngoài khơi Việt Nam*. 2005.

7. CPSE. *HD.CPSE.SH.06. Hướng dẫn xác định độ độc cấp tính của hóa phẩm dầu khí trên ấu trùng tôm sú Penaeus monodon*. 2011.

8. CPSE. *Phương pháp Biotest*. 1994.

9. Alexandra Lacroix, Alice Hontela. *A comparative assessment of the adrenotoxic effects of cadmium in two teleost species, rainbow trout, Oncorhynchus mykiss and yellow perch Perca flavescens*. *Aquatic toxicology*. 2004; 67: p. 13 - 21.

10. American Public Health Association (APHA). *Standard Methods for Examination of Water and Wasterwater*. 21st edition. 2005.

11. Brian S.Anderson, Sarah Lowe, Bryn M.Phillips, John W.Hunt, Jenefer Vorhees, Sara Clack, Ronald S. Tjeerdema. *Relative sensitivities of toxicity test protocols with the amphipods Eohaustorius estuarius and Ampelisca abdita*. *Ecotoxicity and Environmental Safety*. 2008; 69: p. 24 - 31.

12. Bat, Levent, Murat Sezgin, Ayse Gundogdu, Mehmet Culha. *Toxicity of Zinc, Copper and Lead to Idotes baltica (Crustacea, Isopoda)*. *Tr. J. of Biology*. 1999; 23: p. 465 - 472.

13. A.P.Bearden and T.W.Schultz. *Structure-activity relationships for Pimephales and Tetrahymena: A mechanism of action approach*. *Environmental toxicology and chemistry*. 1997; 16: p. 1311-1317.

14. Bjorn Henrik Hansen, Dag Altin. *Report for ecotoxicity testing of Acartia tonsa - Ten standard chemicals tested for comparison with other relevant species*. SINTEF Materials and Chemistry. 2011.

15. V.Bryant, D.M.Newbery, D.S.McLusky & R.Campbell. *Effect of temperature and salinity on the toxicity of nickel and zinc to two estuarine invertebrates (Corophium volutator, Macoma balthica)*. *Marine Ecology - Progress series*. 1985; 24: p. 139 - 153.

16. Canadian Executing Agency. *A generic protocol for conducting tropical acute toxicity tests with fish and invertebrates*. ASEAN-Canada Cooperative Programme on Marine Science - Phase II (CPMS-II). 1993.

17. CEFAS. *Criteria for accepting alternative toxicity data to support an HOCNF application*. 2003.

18. CEFAS. *Guidelines for the UK revised offshore chemical notification scheme*. March 2000.
19. CEFAS. *Guidelines to UK offshore chemical notification scheme including the classification of chemicals that cannot be ranked by the charm model*. July 2006.
20. Christine L.Russom, Steven P.Bradbury, Steven J.Broderius, Dean E.Hammermeister and Robert A. Drummond. *Predicting modes of toxic action from chemical structure: Acute toxicity in the fathead minnow (*Pimephales promelas*)*. *Environmental toxicology and chemistry*. 1997; 16(5): p. 948 - 967.
21. Crosby, G.Donald. *Environmental toxicology and chemistry*. Oxford University Press. 1998.
22. P.B.Dorn, J.C.Raia, J.H.Rodgers Jr., K.M.Jop, K.L.Dickson. *Hexavalent chromium as a reference toxicant in effluent toxicity tests*. *Environmental toxicology and chemistry*. June 1987; 6(6): p. 435 - 444.
23. Environment Canada. *Environmental protection series - Guidance document on control of toxicity test precision using reference toxicants*. Report EPS 1/RM/12. August, 1990.
24. EPA. *Environmental assessment of final effluent limitations guidelines and standards for synthetic - Based drilling fluids and other*. Non - Aqueous drilling fluids in the oil and gas extraction point source category. December, 2000.
25. Fernando Martínez-Jerónimo, Guillermo Muñoz-Mejía. *Evaluation of the sensitivity of three cladoceran species widely distributed in Mexico to three reference toxicants*. *Journal of Environmental Science and Health*. 2007; 42(10): p. 1417 - 1424.
26. Gary M.Rand. *Fundamentals of aquatic toxicology - Effects, environmental fate and risk assessment*, Second Edition. 1995.
27. Gendusa, C.Tony, Beitinger, L.Thomas, Rodgers H.John. *Toxicity of hexavalent chromium from aqueous and sediment sources to pimephales promelas and Ictalurus punctatus*. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. 1993; 50: p. 144 - 152.
28. Hodgson, Ernest. *A text book of modern toxicology*. Third Edition, Wiley-Interscience Publication. 2004.
29. Hoffman, J.David, Barnett A.Rattner, G.Allen Burton, John Cains. *Handbook of ecotoxicology*. Second Edition. Lewis Publishers. 2003.
30. Joel R.Coats. *Mechanisms of toxic action and structure - activity relationships for organochlorine and synthetic pyrethroid Insecticides*. *Environmental Health Perspective*. 1990; 87: p. 255 - 262.
31. Manon Vaal, Jan Tjalling van der Wal, Janneke Hoekstra, Joop Hermens. *Variation the sensitivity of aquatic species in relation to the classification of environmental pollutants*. *Chemosphere*. 1997; 35(6): p. 1311 - 1327.
32. Manon Vaal, Jan Tjalling van der Wal, Joop Hermens, Janneke Hoekstra. *Pattern analysis of the variation in the sensitivity of aquatic species to toxicants*. *Chemosphere*. 1997; 35(6): p. 1291 - 1309.
33. Margaret W.Toussaint, Tommy R.Shedd, William H.van der Shalie and Gerald R.Leach. *A comparison of standard acute toxicity tests with rapid-screening toxicity tests*. *Environmental toxicology and chemistry*. 1995; 14(5): p. 907 - 915.
34. Matias Medina, Carlos Barata. *Static-renewal culture of *Acartia tonsa* (Copeppoda: Calanoida) for ecotoxicological testing*. *Aquaculture*. 2004; 229: p. 203 - 213.
35. OECD Series on Testing and Assessment, No. 54. *Current approaches in the statistical analysis of ecotoxicity data: A guidance to application*. ENV/JM/MONO. 2006; 18.
36. OSPAR Commission 2005. *Protocols on methods for the testing of chemicals used in the offshore oil industry*.
37. Rick D.Cardwell, Charles E.Woelke, Mark I.Carr and Eugene Sanborn. *Appraisal of a reference toxicant for estimating the quality of oyster larvae*. *Bulletin of environmental contamination & toxicology*, by Springer-Verlag New York, Inc. 1977; 18(6).
38. Stanislav Patin. *Environmental Impact of the offshore oil and gas industry*. Ecomonitor Publishing, East Northport, New York. 1999.
39. The Pesticide Action Network (PAN) pesticide database. <http://www.pesticideinfo.org/>.
40. USEPA. Environmental Protection Agency. *Effluent limitations guidelines and new source performance standards for the oil and gas extraction point source category; OMB approval under the paperwork reduction act: technical amendment; Final Rule*. *Federal Register*. January 22, 2001; 66 (14): p. 41. Western Australian Department of Minerals and Energy. *Petroleum information series - Guidelines sheet 3: The use and management of drilling fluids and cuttings*.
42. Wright, A. David, Pamela Welbourn. *Environmental toxicology*. Cambridge environmental chemistry series, Cambridge University Press. 2002.