

NY

# 中华人民共和国农业行业标准

NY/T xxxx.5—xxxx

---

## 农药登记环境影响试验生物试材培养

### 第5部分：大型溞

Guidance on the housing and care of organisms used for environmental

impact test of pesticide registration—Part 5: *Daphnia magna*

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX发布

XXXX-XX-XX实施

---

中华人民共和国农业农村部发布

## 前 言

NY/T ×××× 《农药登记环境影响试验生物试材培养》，分为 8 部分：

- 第 1 部分：蜜蜂；
- 第 2 部分：日本鹌鹑；
- 第 3 部分：斑马鱼；
- 第 4 部分：家蚕；
- 第 5 部分：大型溞；
- 第 6 部分：近头状伪蹄形藻；
- 第 7 部分：浮萍；
- 第 8 部分：赤子爱胜蚓。

本部分是 NY/T ×××××的第 5 部分。

本部分按照 GB/ T 1.1-2009 给出的规则起草。

请注意本部分的某些内容可能涉及专利，本部分的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本部分由农业农村部种植业管理司提出并归口。

本部分起草单位：

本部分主要起草人：

# 农药登记环境影响试验生物试材培养

## 第 5 部分：大型溞

### 1 范围

本部分规定了农药登记环境影响试验用大型溞的引入、验收、纯化、保种、驯养等技术方法，常见异常症状与处理措施，以及记录资料要求。

本部分适用于大型溞 (*Daphnia magna*) 的实验室培养，其他品种的溞类可参照使用，如蚤状溞 (*Daphnia pulex*)。

### 2 规范性引用文件

下列文件对于本部分的应用是必不可少的。凡是标注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本部分。凡是不注日期的引用文件，其最新版本(包括所有的修改单)适用于本部分。

GB/T 31270.13 化学农药环境安全评价试验准则 第13部分：溞类急性活动抑制试验

GB/T 5749 生活饮用水卫生标准

NY/T 3152.5 微生物农药 环境风险评价试验准则 第5部分：溞类毒性试验

NY/T xxxx 化学农药 大型溞繁殖试验准则

### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本部分。

#### 3.1

**孤雌生殖** parthenogenesis

卵不经受精而发育成新个体，也称单性生殖。

#### 3.2

**两性生殖** bisexual reproduction

经受精作用进行的有性生殖，通常指配子生殖，即两性生殖细胞结合，产生合子，由合子发育成新个体。

#### 3.3

**休眠卵** resting egg

两性生殖形成的受精卵通常需要休眠一段时间后才能发育，称休眠卵，又称冬卵。

#### 3.4

**纯化** purification

通过纯种分离，使所有生物个体均来自一个亲本的培养过程。本部分指纯化后，所获得的大型溞均

来源于同一只雌性蚤。

### 3.5

#### 复壮 rejuvenation

对已衰退的菌种或群体（本部分指大型蚤）进行纯种分离和选择性培养，使其中未衰退的个体获得大量繁殖，重新成为纯种群体的措施。

### 4 引入与验收

4.1 应从专业的大型蚤研究或培养机构引入蚤种，并由其提供品系证明。

4.2 新引入的大型蚤到达实验室后，在开展相关试验前应进行品系确认。大型蚤的生物学背景信息和形态特征参见附录 A。

4.3 蚤种应来自同一个纯化培养群，即为同一只母蚤所产的同批次蚤，否则，引入后应在实验室内进行纯化培养。

### 5 纯化、保种与驯养

#### 5.1 纯化

挑选出体大、健康的幼蚤若干只，分别加入到盛有培养液的容器中进行单个培养。选择繁殖量大的母蚤，收集其所产的第 3 胎、第 4 胎或第 5 胎幼蚤，建立纯化群。

#### 5.2 保种

5.2.1 从纯化培养的大型蚤中选出一部分进行连续的群体培养，以种群延续为目的，不用于试验。

5.2.2 保种培养期间，每周清理 1 次幼蚤。每 2 周~ 3 周更新 1 次保种批次。

#### 5.3 常规培养与驯养

5.3.1 选用保种培养的幼蚤进行常规培养和繁殖，以获得供试幼蚤。供试幼蚤应满足以下条件：

——为实验室内培养 3 代以上的非头胎幼蚤（< 24 h）；

——其母蚤应在与试验条件（光照、温度、培养液）一致的环境下驯养一段时间。通常，急性毒性试验至少驯养 48 h，繁殖试验至少驯养 3 周。

5.3.2 常规培养过程中应定期更新培养批次。收集单个培养容器中的第 3 胎、第 4 胎或第 5 胎幼蚤代替其母蚤，作为新的培养批次。

### 6 培养方法

#### 6.1 培养容器

6.1.1 培养容器应采用玻璃或其他化学惰性材料制成，无毒、无害、无放射性、耐腐蚀、耐冲击。容器内壁应光滑，且便于观察。尽量避免硅酮管、硅胶密封圈等材料与培养液接触。容器上方可覆盖保鲜膜或有机玻璃盖等，减少水分蒸发，避免污染。

6.1.2 不同来源、不同培养批次的蚤应安置在不同编号的容器中单独培养。

## 6.2 培养液

6.2.1 推荐使用配方明确的重组水，例如 ISO 标准稀释水、Elendt M4 和 Elendt M7 培养液（配制方法见 GB/T 31270.13 附录 B）。配制重组水的试剂应至少为分析纯等级，配制用水应为蒸馏水或去离子水（电导率 $\leq 10 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ）。

6.2.2 除配方明确的重组水外，也可使用自来水等其他水源。自来水应满足 GB/T 5749 的要求，其他类型的培养水源应至少每 6 个月检测 1 次水质，满足 GB/T 31270.13、NY/T 3152.5 和 NY/T xxxx 《化学农药 大型蚤繁殖试验准则》等相关试验准则的要求。

6.2.3 每周检测水质。培养液应满足 pH 为 6~9（以  $7.8 \pm 0.4$  为宜），硬度为 140 mg/L~250 mg/L（以  $\text{CaCO}_3$  计）（大型蚤以外的其他蚤类可适当降低水质硬度）。此外，如使用自来水，应额外检测残留氯含量（要求  $< 10 \mu\text{g/L}$ ）；如使用其他类型的培养水源，应额外测定电导率（ $\leq 500 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ）、总有机碳（TOC， $< 2 \text{ mg/L}$ ）等水质指标。

6.2.4 使用前，应将培养液进行充分曝气（至少 24 h），使其溶解氧含量 $\geq 3 \text{ mg/L}$ 。

6.2.5 培养期间如需更换培养液（尤其是当两种培养液的 pH 等水质指标相差较大时），应设置适应期。在适应期内，通过逐渐增加新培养液比例的方式使大型蚤慢慢适应新的培养液。适应期约需 1 个月。

## 6.3 饵料与饲喂

6.3.1 推荐使用绿藻作为饵料。可以使用单种藻类的藻细胞溶液，也可使用混合藻液。

6.3.2 饲喂前宜对藻液进行浓缩处理。将培养好的新鲜藻液进行离心（例如 5000 rpm，10 min）处理，用蒸馏水重新悬浮后继续离心。反复离心 3 次~4 次，用少量培养液重新悬浮后，冷藏，备用。

6.3.3 每日至少饲喂 1 次。饲喂量以投喂后培养液颜色呈淡苹果绿色为宜。

6.3.4 每次饲喂时，观察大型蚤的生长状态，及时清除死亡的或不健康的个体以及残渣等。纯化培养和驯养过程中，喂食前宜先移除新生幼蚤。

## 6.4 更换培养液

视需要更换培养液，一般至少每周更换 1 次，换水体积以培养液的  $1/3 \sim 1/2$  为宜。对于保种培养的大型蚤，宜每周更换 10%~20% 培养液。

## 6.5 母蚤或幼蚤转移

6.5.1 更换培养批次、更换培养液或收集试验用蚤过程中，需对母蚤或幼蚤进行转移。

6.5.2 转移母蚤时，可采用塑料吸管，并剪去吸管尖端，以保证母蚤自由通过。

6.5.3 转移幼蚤时，宜采用筛网分离法，以避免产生机械损伤。准备两个不同孔径的尼龙筛，上层筛子孔径约 1 mm，仅能使幼蚤通过；下层筛子孔径更小（ $< 0.5 \text{ mm}$ ），幼蚤无法通过。操作过程中，使下层

筛网部分浸没在培养液中，从而保证幼蚤始终不会离开培养液；将留在上层筛网中的母蚤及时加入到培养液中。幼蚤和母蚤分离后，可用塑料吸管进行转移（确保吸管顶端的孔径可使幼蚤自由通过）。

## 6.6 培养条件

6.6.1 保持良好的培养条件，使大型蚤的繁殖保持孤雌生殖状态。

### 6.6.2 环境条件

水温应维持在 18℃~22℃。光照周期 16h 光/8h 暗，光照强度低于 1500 lux，或者在室内自然光照条件下培养。保种培养期间可适当降低环境条件要求，但水温不宜超过 25℃。

### 6.6.3 培养密度

驯养密度以每容器（例如 1L~2L 烧杯）中 10 只~30 只蚤为宜。纯化培养过程为单只单容器培养。保种培养可在较大的容器（例如鱼缸）中进行，密度不宜超过 60 只/L。

## 7 常见异常症状与处理措施

### 7.1 常见异常状况主要包括：

- 出现两性生殖，培养系统中可见休眠卵和/或雄性蚤（形态特征参见附录 A）；
- 10 日龄后仍未产蚤或每次产蚤数量极少；
- 生长缓慢、蜕皮不干净；
- 游动缓慢、浮于液面；
- 体色异常；
- 出现大量死胎或死亡幼蚤，单日死亡率超过 20%或每天均出现大批量死亡等。

7.2 当培养过程中出现异常状况，在对大型蚤进行纯化与复壮的过程中，可采取以下措施改善培养条件，包括：

- 改善环境条件，例如严格控制水温、养殖密度、水质条件等；
- 改善喂食条件，例如适当提高喂食量，选择便于进食的、细胞个体较小的藻类作为饵料，添加适量酵母或来源明确且无污染的植物汁液等作为营养补充。

7.3 当采取上述措施后大型蚤的生长状况仍未恢复正常时，应重新引种。

## 8 记录资料

对每批次保种培养、纯化和常规培养的大型蚤，实验室均应保存完整的培养记录，相关原始记录表格设计参见附录 B。主要记录资料包括：

- 引入与验收记录；
- 保种培养记录；
- 纯化记录；

- 常规培养/驯养与领用记录；
- 培养液配制记录；
- 饵料（藻液）培养与制备记录；
- 水质检测记录（外部检测报告，必要时）；
- 环境条件与水质监测记录等。

## 附录 A

### (资料性附录)

#### 大型蚤的生物学背景与形态特征

##### A.1 生物学背景

大型蚤属甲壳纲枝角目蚤科，广泛分布于世界各地，是农药登记环境影响试验中推荐的模式生物。大型蚤为滤食性水生无脊椎生物，属不连续生长模式（蜕皮生长）。幼蚤经蜕皮 3 次~4 次至性成熟。理想的实验室条件下，大型蚤为孤雌生殖方式。20℃条件下，约 6d~8d 达到性成熟，8d~10d 开始产卵，10d~14d 产第 2 胎，之后约每隔 2d 产 1 胎。第 4 胎后产卵间隔逐渐延长，产卵数量逐渐下降。当温度或食物等发生变化或受到其他环境因子胁迫时可能会出现有性生殖，培养系统中可见雄性蚤和休眠卵。休眠卵形成后不久，会随着母蚤蜕皮而沉于水底。

##### A.2 形态特征

###### A.2.1 雌性蚤

A.2.1.1 雌性蚤体长 2.2 mm ~ 6.0 mm，呈宽卵形，后半部比前半部略狭（参见图 A.1 A 和图 A.1 B）。身体为黄色或淡红色，稍透明。壳刺较短，有时几乎完全消失。壳面有菱形花纹。头部宽而低，头顶圆钝，无盔。

A.2.1.2 吻部稍突出（参见图 A.1 C）。壳弧发达，在壳弧的背前方，各侧都有两条短的纵行褶纹。盲囊一对，长而弯。复眼不大，位于头顶。单眼小，位于第一触角的正上方。

A.2.1.3 第一触角短而粗（参见图 A.1 C）；角丘尚膨大。第二触角向后伸展时，游泳刚毛的末端不能达到壳瓣的后缘。触角基肢以及内、外肢都被有细毛。

A.2.1.4 后腹部较大，向后逐渐收削，在肛门之后的背侧显著凹陷（参见图 A.1 D）。肛刺明显地分为前后两列。肛刺的数目变异很大，凹陷前 9-12 个不等，偶尔 5-6 个，凹陷后 6-10 个。腹突 4 个，第一个腹突比第二个长一倍，第二个又比第三个长一倍，第四个最短。后三个腹突的背侧沿缘部分均带细刚毛。

A.2.1.5 尾爪略弯曲，有微弱的栉刺 2 列，前列有小刺 8-12 个，后列 16-18 个，略长（参见图 A.1 E）。栉刺列后还有梳毛列。

###### A.2.2 休眠卵

休眠卵有卵鞍保护。卵鞍长而大，内储黑色卵圆形休眠卵 2 个。休眠卵前后斜卧，其长轴与卵鞍的长轴成一定角度（参见图 A.1 F）。

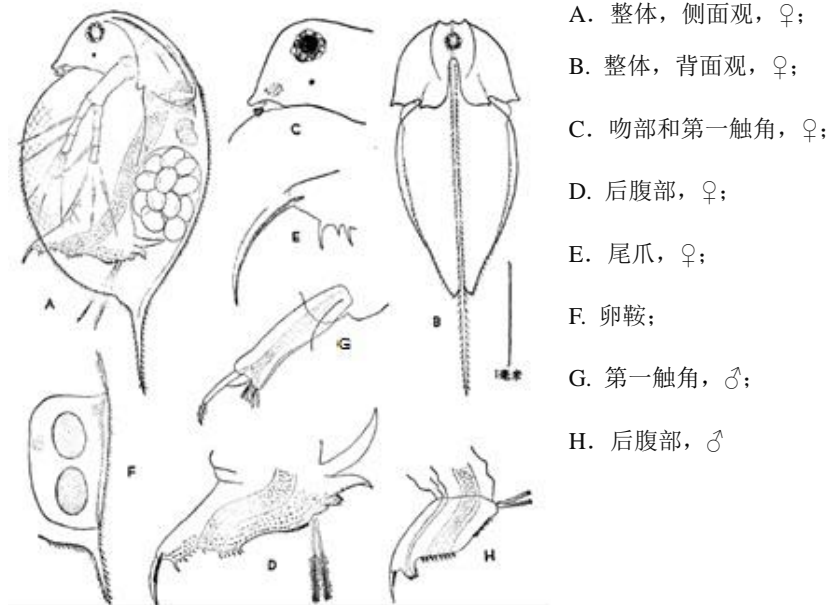
###### A.2.3 雄性蚤

A.2.3.1 雄性蚤体长约 1.75 mm ~ 2.50 mm，壳瓣狭长，背缘平直，前缘与腹缘密生较长的刚毛。前腹较圆而突出。壳刺很短。头部向下弯曲，复眼特别大。吻十分钝。



A.2.3.2 第一触角很长，两端略短（参见图 A.1 G）。前末角有一根长刚毛；后末角约有 9 根嗅毛。两者之间有一根短的触毛。第一胸肢有一个钩和一根长鞭毛。腹突不明显。

A.2.3.3 后腹部在肛门开口处有肛刺 10 个左右，末背角呈大的侧突，周缘有细毛（参见图 A.1 H）。输精管开孔于侧突之间。



- A. 整体，侧面观，♀；
- B. 整体，背面观，♀；
- C. 吻部和第一触角，♀；
- D. 后腹部，♀；
- E. 尾爪，♀；
- F. 卵鞍；
- G. 第一触角，♂；
- H. 后腹部，♂

图 A.1 大型溞 (*Daphnia magna* Straus) 形态特征

**附 录 B**  
**(资料性附录)**  
**记录表格示例**

- 引入与验收记录参见表 B.1;
- 保种培养记录参见表B.2;
- 纯化记录参见表B.3;
- 常规培养/驯养与领用记录参见表B.4;
- 培养液配制记录参见表B.5;
- 藻液培养记录参见表B.6;
- 浓缩藻液制备记录参见表B.7;
- 环境条件与水质监测记录参见表B.8。

表 B.1 引入与验收记录

|        |   |
|--------|---|
| 名称     |   |
| 品种     |   |
| 引入日期   |   |
| 引入数量   |   |
| 引入来源   |   |
| 验收内容   | 品系证书：有 <input type="checkbox"/> 无 <input type="checkbox"/><br>外观与状态确认：<br><br>其他： |
| 实验室内批次 |   |
| 放置位置   |   |
| 接收人/日期 |   |
| 品系确认   | 抽样数量：<br><br>确认方法：<br><br>确认结论：   |
| 操作者/日期 |   |

表 B.2 保种培养记录

| 保种培养批次 <sup>a</sup> : |         |   |              |          |  |    |
|-----------------------|---------|---|--------------|----------|--|----|
| 引入批次 <sup>a</sup>     |         | 母液批次 <sup>a</sup>   | 房间号/<br>容器编号 | 培养液      | 光照   |    |
|                       |         |   |              |          | <input type="checkbox"/> 自然光照<br><input type="checkbox"/> 人工光照<br>—光照周期: |    |
| 日期                    | 水温 (°C) | 饲喂  | 是否换水         | 生长状态是否正常 | 操作者/日期   | 备注 |
|                       |         | <input type="checkbox"/> 藻液<br><input type="checkbox"/> 酵母<br><input type="checkbox"/> 藻液+酵母<br><input type="checkbox"/> 其他 |              |          |  |    |
|                       |         | <input type="checkbox"/> 藻液<br><input type="checkbox"/> 酵母<br><input type="checkbox"/> 藻液+酵母<br><input type="checkbox"/> 其他 |              |          |  |    |
|                       |         | <input type="checkbox"/> 藻液<br><input type="checkbox"/> 酵母<br><input type="checkbox"/> 藻液+酵母<br><input type="checkbox"/> 其他 |              |          |  |    |

<sup>a</sup>: 批次编号中应包含相应的日期, 即: 引入批次应包含引入日期, 其余批次应包含该批次从上一批次中分离出来的日期。

表 B.3 纯化记录

| 引入批次 <sup>a</sup> |         | 母液批次 <sup>a</sup> | 培养液 | 开始纯化日期 | 光照  |      |        |
|-------------------|---------|-------------------|-----|--------|---|------|--------|
|                   |         |                   |     |        | <input type="checkbox"/> 自然光照<br><input type="checkbox"/> 人工光照<br>—光照周期:  |      |        |
| 日期                | 水温 (°C) | 纯化批次 <sup>b</sup> |     |        | 饲喂  | 是否换水 | 操作者/日期 |
|                   |         |                   |     |        |   |      |        |
|                   |         |                   |     |        | <input type="checkbox"/> 藻液<br><input type="checkbox"/> 酵母<br><input type="checkbox"/> 藻液+酵母<br><input type="checkbox"/> 其他 |      |        |
|                   |         |                   |     |        | <input type="checkbox"/> 藻液<br><input type="checkbox"/> 酵母<br><input type="checkbox"/> 藻液+酵母<br><input type="checkbox"/> 其他 |      |        |
|                   |         |                   |     |        | <input type="checkbox"/> 藻液<br><input type="checkbox"/> 酵母<br><input type="checkbox"/> 藻液+酵母<br><input type="checkbox"/> 其他 |      |        |

<sup>a</sup>: 批次编号中应包含相应的日期, 即: 引入批次应包含引入日期, 其余批次应包含该批次从上一批次中分离出来的日期;

<sup>b</sup>: 批次编号中应包含开始纯化日期和容器编号。

表 B.4 常规培养/驯养与领用记录

| 培养批次 <sup>a</sup> : |                      |        |   |  |      |  |
|---------------------|----------------------|--------|---|--|------|--|
| 引入批次 <sup>a</sup>   | 母蚤批次 <sup>a</sup>    | 培养液    | 房间号或培养仪器编号  |  | 容器编号 | 光照 <sup>b</sup>  |
|                     |                      |        |   |  |      | <input type="checkbox"/> 自然光照<br><input type="checkbox"/> 人工光照<br>—光照周期: |
| 日期                  | 水温 <sup>c</sup> (°C) | 是否移出幼蚤 | 饲喂 <sup>d</sup>   |  | 是否换水 | 幼蚤用途 <sup>e</sup>  |
|                     |                      |        | <input type="checkbox"/> 藻液<br><input type="checkbox"/> 酵母<br><input type="checkbox"/> 藻液+酵母<br><input type="checkbox"/> 其他 |  |      |  |
|                     |                      |        | <input type="checkbox"/> 藻液<br><input type="checkbox"/> 酵母<br><input type="checkbox"/> 藻液+酵母<br><input type="checkbox"/> 其他 |  |      |  |
|                     |                      |        | <input type="checkbox"/> 藻液<br><input type="checkbox"/> 酵母<br><input type="checkbox"/> 藻液+酵母<br><input type="checkbox"/> 其他 |  |      |  |

<sup>a</sup>: 批次编号中应包含相应的日期, 即: 引入批次应包含引入日期, 其余批次应包含该批次从上一批次中分离出来的日期;  
<sup>b</sup>: 应额外建立光照周期检查记录  
<sup>c</sup>: 记录两次记录间的温度范围 (最低温~最高温);  
<sup>d</sup>: 选择“其他”时应注明具体种类; 应优先选择产氧类饵料如绿藻藻液;  
<sup>e</sup>: 记录培养过程中幼蚤的处理方式, 包括: 1, 清除; 2, 用于下一批次培养, 记录批次信息; 3, 用于试验, 记录试验研究号, 并增加领用人员签字。

表 B.5 培养液配制记录<sup>a</sup>

| 培养液名称：<br>贮备液 I 批号：  |            |               |  |   | 贮备液 II 批号：         |                       |            |            |
|--|------------|---------------|--|---|--------------------|-----------------------|------------|------------|
| 组分   | 来源 (批号、厂家) | 称取量 (g)       | 定容量 (mL)<br><input type="checkbox"/> 蒸馏水 <input type="checkbox"/> 去离子水 | 操作者<br>/日期  | 成分                 | 贮备液 I 编号：<br>取药量 (mL) | 定容量 (mL)   | 操作者<br>/日期 |
|  |            | 天平编号：         | 容量瓶编号：   |   |                    | 移液器编号：                | 容量瓶编号：     |            |
|  |            |               |  |   |                    |                       |            |            |
|  |            |               |  |   |                    |                       |            |            |
|  |            |               |  |   |                    |                       |            |            |
|  |            |               |  |   |                    |                       |            |            |
|  |            |               |  |   |                    |                       |            |            |
| 备注：(如灭菌操作、配制后储存地点、储存条件、储存有效期等)   |            |               |  |   |                    |                       |            |            |
| 培养液名称/批次：  |            |               |  |   |                    |                       |            |            |
| 组分   |            |               |  |   | 取液量 (mL)<br>移液器编号： | 加水体积 (mL)<br>容量瓶编号：   | 操作者<br>/日期 |            |
| 贮备液 II 批号  |            |               |  |   |                    |                       |            |            |
| 常量<br>营养<br>贮<br>备<br>液  | 组分         | 来源<br>(批号/厂家) | 称取量 (g)<br>天平编号：   | 定容量(mL)<br><input type="checkbox"/> 蒸馏水 <input type="checkbox"/> 去离子水<br>容量瓶编号： | 操作者<br>/日期         |                       |            |            |
|  |            |               |  |   |                    |                       |            |            |
|  |            |               |  |   |                    |                       |            |            |
|  |            |               |  |   |                    |                       |            |            |
| 混合维生素贮备液批次 <sup>a</sup> ：(配制记录额外设计记录表格)  |            |               |  |   |                    |                       |            |            |
| <sup>a</sup> ：以 Elendt M4 和 Elendt M7 培养液为例，其他培养液如水生 4 号以及混合维生素贮备液的配制等可参照此表设计；<br><sup>b</sup> ：应额外设计混合维生素贮备液配制记录表格。 |            |               |  |   |                    |                       |            |            |

表 B.6 藻液培养记录

| 批次 | 藻种     | 接种用藻批号 | 培养基 <sup>a</sup> | 放置位置/容器编号 | 光照条件   |
|----|--------|--------|------------------|-----------|--------|
| 日期 | 培养状态检查 |        |                  |           | 操作者/日期 |
|    |        |        |                  |           |        |
|    |        |        |                  |           |        |
|    |        |        |                  |           |        |

<sup>a</sup>: 配制记录参考表 B.4。

表 B.7 浓缩藻液制备记录

| 日期 | 藻液来源<br>(批次) | 镜检状态<br>是否正常 | 离心处理仪器编号/转<br>速/单次离心时间 | 离心次数/<br>重悬浮溶剂<br>名称 | 浓缩藻液批次 <sup>a</sup> /<br>保存条件/保存位<br>置 | 操作者/日期 |
|----|--------------|--------------|------------------------|----------------------|--|--------|
|    |              |              |                        |                      |  |        |
|    |              |              |                        |                      |  |        |
|    |              |              |                        |                      |  |        |

<sup>a</sup>: 批次编号中应包含相应的制备日期。

表 B.8 环境条件与水质监测记录

| 日期 | 批次 | 溶解氧含量<br>(%ASV)/<br>仪器编号 | pH<br>/<br>仪器编号 | 总硬度<br>(mg/L <sup>a</sup> )/<br>仪器编号 | 残留氯含量 <sup>b</sup><br>(µg/L)/<br>仪器编号 | 电导率 <sup>c</sup><br>µS·cm <sup>-1</sup> /<br>仪器编号 | 总有机碳 <sup>c,d</sup><br>(mg/L) /<br>仪器编号 | 操作者<br>/<br>日期 |
|----|----|--------------------------|-----------------|--------------------------------------|---------------------------------------|---|---|----------------|
|    |    |                          |                 |                                      |                                       |   |   |                |
|    |    |                          |                 |                                      |                                       |   |   |                |
|    |    |                          |                 |                                      |                                       |   |   |                |

<sup>a</sup>: 以 CaCO<sub>3</sub> 计;  
<sup>b</sup>: 培养液为自来水时需测定;  
<sup>c</sup>: 使用重组水、自来水以外的其他类型的培养水源时需测定;  
<sup>d</sup>: 可用化学需氧量 (COD) 指标替代该指标。

## 参 考 文 献

- [1] Organisation for Economic Co-operation and Development. Testing Guideline 202: *Daphnia sp.*, Acute Immobilisation Test[R]. Paris: OECD, 2004.
- [2] Organisation for Economic Co-operation and Development. Testing Guideline 211: *Daphnia magna* Reproduction Test[R]. Paris: OECD, 2012.
- [3] B.罗特, 张甬元. 试验用大型溞(*Daphnia magna*)的培养方法[J]. 环境科学 (3): 30-32.
- [4] 蒋燮治, 堵南山. 中国动物志 节肢动物门甲壳纲淡水枝角类[M]. 北京: 科学出版社, 1979: 309.
-