

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T xxxx—xxxx

化学农药 大型溞繁殖试验准则

Chemical Pesticides—Guideline on *Daphnia magna* Reproduction

Test

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

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

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准技术内容参考了经济合作与发展组织（OECD）化学品测试导则No.211《大型溞繁殖试验》。

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

本标准由农业农村部种植业管理司提出并归口。

本标准起草单位：农业农村部农药检定所

本标准主要起草人：

化学农药 大型溞繁殖试验准则

1 范围

本标准规定了大型溞繁殖试验的试验材料与条件、主要仪器设备、试验步骤、质量控制、数据分析、试验报告等基本要求。

本标准适用于为化学农药登记而进行的大型溞繁殖试验，其他类型的农药可参照使用。

2 规范性引用文件

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

GB/T 31270.12 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；

NY/T 3273 难处理农药水生生物毒性试验指南。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

繁殖量（Reproductive Output）

试验期间亲溞所产存活的幼溞数。

3.2

最低可观察效应浓度（Lowest Observed Effect Concentration, *LOEC*）

在一定暴露期内，与对照相比，对受试大型溞（繁殖量和死亡率）产生显著影响的最低被试物浓度。

3.3

无可观察效应浓度（No Observed Effect Concentration, *NOEC*）

在一定暴露期内，与对照相比，对受试大型溞未产生显著影响的最高被试物浓度。

3.4

x%效应浓度（x% Effective Concentration, *EC_x*）

引起 x% 大型溞繁殖量下降的被试物浓度，用 *EC_x* 表示。

3.5

内禀增长率（Intrinsic Rate of Population Increase）

综合繁殖量、特定种龄死亡率等表征种群增长能力的参数。在稳定状态的种群中为零。对于增长的种群为正值，衰退的种群为负值。

4 试验概述

将被试物按等比配制一系列不同浓度的试验药液，将出生 24h 内的非头胎幼雌蚤（亲蚤）暴露于被试物溶液中开始试验。从亲蚤开始繁殖第 1 批幼蚤开始，每天记录每只亲蚤所产幼蚤的存活数与死亡数，以及死胎数。试验周期为 21d。试验结束时，对每只存活亲蚤繁殖的存活幼蚤总数和每只亲蚤从头胎开始每天所产的存活幼蚤数进行统计分析，确定 *NOEC*、*LOEC* 和 *EC_x*，评价被试物对大型蚤繁殖能力的影响。

5 材料和条件

5.1 供试生物

5.1.1 供试生物为大型蚤（*Daphnia magna* Straus）。试验用蚤应为出生 24 h 内的非头胎蚤，应来源于同一母系，且母蚤保种培养期间未表现出任何受胁迫现象，例如死亡率高、出现雄蚤和冬卵、头胎延迟、体色异常等。

5.1.2 试验用蚤应在试验条件下驯养至少 3 周。驯养期间，大型蚤的日常培养条件如光照、温度、饲喂量等须与试验条件一致。

5.1.3 若试验所用培养液与日常培养液不同，试验前应设置至少 1 个月驯养期。驯养期间，将大型蚤从原培养液中取出，转入含 30% 新培养液的培养液中，然后逐步增大新培养液的比例到 60%，最后到 100%。

5.2 被试物

农药原药或制剂。试验前应收集被试物的基本信息，包括但不限于以下数据：

——结构式，纯度；

——溶解性，蒸气压；

——光化学稳定性，在试验条件下的稳定性；

——*pK_a* 值，正辛醇/水的分配系数（*P_{ow}*）；

——大型蚤急性毒性试验结果（GB/T 31270.13 -2014）等。

5.3 培养液

5.3.1 大型蚤繁殖试验宜使用 Elendt M4 和 Elendt M7 培养液（见附录 A），也可使用其他能够满足大型蚤培养要求的培养液。当被试物含金属离子时，不能使用 Elendt M4 和 Elendt M7 培养液。

5.3.2 培养液中含有不明确添加成分的，尤其是含有碳组分时，应在试验报告中详细说明。

5.3.3 添加藻类食物之前应测定培养液中的总有机碳（TOC）和（或）化学需氧量（COD），

TOC 应小于 2 mg/L。

5.4 饲喂

5.4.1 饲料选择

试验期间应选用经充分浓缩的活的藻细胞悬浮液作为亲溞食物，如：小球藻 (*Chlorella vulgaris*)、羊角月芽藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata*) (原名 *Selenastrum capricornutum*) 或近具刺链带藻 (*Desmodesmus subspicatus*) (原名 *Scenedesmus subspicatus*)。浓缩藻细胞悬浮液可通过先离心，再用蒸馏水或去离子水对其进行重悬浮的方法获得。

5.4.2 饲喂量

5.4.2.1 大型溞饲喂量宜为每天每溞 0.1 mg C~0.2 mg C。饲喂量在试验期间可保持不变，也可在初期稍低，随着亲溞的生长逐渐增加，但始终应保持在上述饲喂量范围内。

5.4.2.2 藻细胞悬浮液的碳含量可通过测量藻细胞数或吸光度 (替代测定指标) 来计算。各实验室应建立碳含量与替代测定指标之间的线性图 (参见附录 B)。该线性图应至少每年校准一次，当藻类的培养条件发生变化时，应增加校准频率。

5.4.3 饲喂频率

5.4.3.1 宜每天饲喂。半静态试验中，至少应每周饲喂 3 次 (例如更换试验药液时)。

5.4.3.2 尽量使用充分浓缩的藻细胞悬浮液，减少食物添加对暴露浓度的稀释。流水式试验中，应报告此类偏差。

5.5 负载率

5.5.1 半静态试验中，亲溞应分开培养，即每个容器 1 只，容器中试验药液体积为 50 mL~100 mL。

5.5.2 为了满足被试物浓度分析的需要，可适当增加试验药液体积，也可将各平行试验药液合并后进行分析。

5.5.3 若试验药液体积超过 100 mL，需加大饲喂量，使其满足饲喂量标准。

5.6 光照条件

光照/黑暗时间比为 16h : 8h。水面处光强 15 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ ~20 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 或者 1000 Lx~1500 Lx。

5.7 温度条件

试验药液的温度应控制在 18 $^{\circ}\text{C}$ ~22 $^{\circ}\text{C}$ 范围内。对于同一试验，温度变化范围不应超过 2 $^{\circ}\text{C}$ 。宜增加一个试验容器专门用于实际水温监测。

5.8 其他条件

试验开始和试验期间溶解氧浓度应大于 3 mg/L。pH 应在 6~9 范围内，对于同一试验，变

化范围不应超过 1.5 个单位。硬度应大于 140 mg/L（以 CaCO₃ 计）。试验期间无需曝气。

6 主要仪器设备

- 电子天平（感量 0.0001g 以上）；
- 光照培养箱；
- 显微镜；
- 人工气候室；
- pH 计；
- 溶解氧测定仪；
- 温湿度记录仪；
- 照度计；
- 硬度计；
- TOC 测定仪或 COD 测定仪等。

7 试验步骤

7.1 预试验

7.1.1 根据试验需要，正式试验前可开展预试验。预试验浓度范围可参考被试物及其类似化合物对蚤类或其他水生生物的毒性资料等设置。预试验宜设置 5 个处理组和 1 个对照组，每个处理组和对照组 5 个平行。试验周期为 21 d。当试验结果能够预估出效应水平时，也可提前结束试验。

7.1.2 对于难溶于水的农药，可用少量对大型蚤毒性较小的有机溶剂、乳化剂或分散剂助溶，但用量不应超过 100 mg/L（或 0.1 mL/L）。

7.2 正式试验

7.2.1 正式试验应至少设置 5 个浓度组，按几何级数排列，公比 ≤ 3.2 。设置 1 个空白对照组。若使用助溶剂或分散剂，还应增设有有机溶剂或分散剂对照组，有机溶剂或分散剂等浓度组和对照组中的浓度应保持一致。

7.2.2 试验浓度的设置应满足以下要求：

- a) 估算 EC_x 时，试验浓度应涵盖 EC_x ，并且，应有足够多的有效浓度用于计算 EC_x 及其置信区间；
- b) 估算 NOEC 时，最低试验浓度应该足够低，以使繁殖量不能显著低于对照组；
- c) 估算 LOEC 时，最高试验浓度应该足够高，以使繁殖量显著低于对照组。

7.2.3 对于半静态试验，每一处理组和对照组应至少 10 只蚤，单只培养。对于流水式试验，

每一处理组和对照组 40 只蚤，分配至 4 个平行中，每个平行 10 只蚤；或者 20 只蚤，平均分配至 2 个或多个平行（如 4 个平行每组 5 只）。

7.2.4 试验开始时，应将亲蚤随机分配至各试验容器中。

7.2.5 试验周期为 21d。

7.3 限度试验

7.3.1 限度试验设置 1 个处理组、1 个对照组，必要时，还包括一个溶剂对照组。

7.3.2 处理组浓度为 10 mg a.i./L 或最大溶解度浓度（二者取较低值）。

7.3.3 若采用流水式试验方法，限度试验中可适当减少平行数量。

7.4 染毒

7.4.1 用培养液将被试物配制成一系列不同浓度的试验药液，加入到试验容器中。

7.4.2 用直径适宜的吸管加入试验用蚤，每皿 1 只，随机放入光照培养箱或人工气候室中开始试验。

7.5 培养液更换频率

7.5.1 培养液的更换频率取决于被试物的稳定性，但至少每周更换 3 次。若被试物在最长的更换周期内（如 3 d）不稳定（超出配制浓度的 80%~120%或低于初始测定浓度的 80%），应增加更换频率，或使用流水式系统。

7.5.2 半静态试验中更换试验药液时，应采用直径适宜的吸管将亲蚤从旧试验药液转移至新配制的试验药液中。转移时，应尽可能不改变试验药液体积。

7.6 观察与测定

7.6.1 亲蚤死亡率

试验期间应每天记录亲蚤的死亡情况。大型蚤死亡的判定标准是：静止不动，或轻晃试验容器 15 s 内未观察到附肢或后腹活动。

7.6.2 繁殖量

记录头胎时间及之后几胎的出生时间。从头胎开始，应每天从试验容器中移出幼蚤，并记录存活幼蚤数、死亡幼蚤数、死胎数，以及出现雄蚤（雄蚤的鉴别参见附录 C）和冬卵的情况等。

7.6.3 其他参数

7.6.3.1 试验结束时宜测定亲蚤体长（不包括尾刺）。

7.6.3.2 宜测定的其他参数还包括：每只亲蚤的产蚤总数、每只亲蚤每胎产蚤数、雄蚤数、冬卵数和内禀增长率（如可能）。

7.6.4 水质测定

测定对照组、最高浓度组中新换培养液及旧培养液的溶解氧浓度、温度、硬度、pH 值，至少每周测定一次。

7.6.5 被试物浓度检测

7.6.5.1 试验期间应定期测定被试物浓度。

7.6.5.2 半静态试验中，被试物浓度偏差能保持在配制浓度的 $\pm 20\%$ 范围内时，可在试验第 1 周更换试验药液前后至少测定一次最高和最低浓度组的新、旧溶液的浓度。之后至少每周测定一次。

7.6.5.3 半静态试验中，被试物浓度偏差无法保持在配制浓度的 $\pm 20\%$ 范围内时，须分析所有浓度组新、旧试验药液浓度。当有充分的证据表明初始浓度是可重复且稳定的（保持在初始测定 80%~120%范围内），则第 2 周~3 周内的浓度检测可仅测最高和最低浓度组浓度。试验药液更换前的旧液可仅测定各浓度组的其中 1 个平行。

7.6.5.4 流水式试验中，应每天检查试验用培养液及贮备液的流速。试验第一周，应增加随机采样次数（至少 3 次）进行浓度检测。

7.6.5.5 试验期间，若被试物浓度偏差保持在设定浓度或初始测定浓度的 $\pm 20\%$ 范围内，试验结果可以设定浓度或初始浓度表示。若被试物浓度偏差超出设定浓度和初始测定浓度的 $\pm 20\%$ ，试验结果应以时间加权平均浓度值表示（计算方法参见附录 D）。

8 质量控制

质量控制应同时满足以下条件：

- 试验结束时，对照组亲溞死亡率不能超过 20%；
- 试验结束时，对照组每只存活亲溞所产存活幼溞的平均值应 ≥ 60 只；
- 试验结束时，对照组每只亲溞所产存活幼溞的平均值的变异系数应 $\leq 25\%$ ；
- 当试验中雄性幼溞数量表现为敏感指标时，对照组中雄溞的数量不能超过 5%。

9 数据分析

9.1 数据整理

9.1.1 繁殖量指标应基于每个平行中亲溞所产的存活幼溞总数来计算。

9.1.2 若亲溞在试验期间意外死亡（因意外导致的与供试物无关的死亡）或偶然死亡（不知道原因的与供试物无关的死亡），或转化成雄溞，则数据分析过程中应排除此平行。

9.1.3 采用以下 2 个反应变量统计繁殖效应的 *LOEC*、*NOEC* 或 *EC_x*：

a) 试验期间每只非偶然、意外死亡的亲蚤所产存活幼蚤总数，包括由于剂量效应死亡的亲蚤和存活的亲蚤所产存活幼蚤总数；

b) 每只存活亲蚤所产存活幼蚤总数。

9.1.4 从 9.1.3 部分两种计算方法得到的结果中，选择最小的 *LOEC*、*NOEC* 或者 *EC_x* 表示试验结果。

9.2 统计方法

9.2.1 采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 及多重比较检验方法对处理组与空白对照组之间的差异进行比较。数据的方差齐性和正态分布性检验可采用 Shapiro-Wilk 检验、Levene's 检验等 ($p=0.05$) 方法。

9.2.2 当数据满足方差齐性和正态分布性时，采用 Dunnett's 检验或 step-down Jonckheere-Terpstra 检验、Williams 检验方法 (试验数据表现出剂量效应趋势时)，否则，宜选用非参数检验法 (如 Bonferroni-U-检验、Jonckheere-Terpstra 趋势检验)。

9.2.3 当限度试验数据满足方差齐性和正态分布性时，采用学生 T 检验方法比较处理组与对照组之间的差异，否则，宜采用方差不齐时的 T 检验方法 (如 Welch 检验)，或非参数检验法 (如 Mann-Whitney-U 检验)。

9.2.4 若设置了溶剂对照组，应首先采用 T 检验、Mann-Whitney 检验等对溶剂对照组和空白对照组的统计指标进行差异显著性比较 ($p=0.05$)。当差异不显著时，将两组数据合并后再与处理组进行比较；当差异显著时，应仅使用溶剂对照组数据进行统计分析。

10 试验报告

试验报告应至少包括下列内容：

a) 被试物

——通用名、标称值、剂型、样品批号、外观、重量、生产日期、有效日期、来样日期、生产企业、生产企业地址、储存条件等；

——有效成分的基本信息，包括中英文通用名称、美国化学文摘号 (CAS 号)、化学名称、分子式、结构式、相对分子量、外观、溶解度、稳定性等内容，并注明出处。

b) 供试生物：中文学名、拉丁名称和来源。

c) 试验条件，包括：

——试验程序 (半静态或流水式试验，体积，负载率等)；

——温度、光照周期与光强；

- 试验设计（平行数，每一平行受试大型溞数量）；
- 所用培养液；
- 附加有机物，包括：成分、来源、制备方法、贮备液中的 TOC/COD，试验培养液 TOC/COD 的估算值；
- 饲喂的详细资料，包括数量和食物类型（包括：藻名、品系、培养条件）等；
- 储备液和试验药液的制备方法和更换频率，包括任何有机溶剂、分散剂的使用等。

d) 试验结果，包括：

- 关于被试物稳定性的试验结果；
- 被试物浓度分析结果，分析方法的回收率与检测限等；
- 水质测定结果（pH、温度、溶解氧、TOC 和/或 COD、硬度等）；
- 每只亲溞所产存活幼溞数；
- 亲溞死亡数及其死亡时间；
- 对照组繁殖量的变异系数（基于试验结束时每只存活亲溞所产存活幼溞总数）；
- 被试物胁迫下每只非偶然/意外死亡的亲溞所产存活幼溞总数的剂量效应曲线；
- LOEC*、*NOEC* 及其统计分析方法及相关统计参数（例如 *p* 值）。并说明该结果为基于试验期间每只非偶然/意外死亡的亲溞所产存活幼溞总数还是每只存活亲溞所产存活幼溞总数统计而来；
- 如可能，*EC_x* 及其置信区间（如 90% 或者 95%），以及剂量-效应曲线、曲线斜率及其标准误差；
- 其他可观察或测定的生物学效应：如：亲溞生长情况等，并对观察到的结果予以解释；
- 试验偏离及相关的解释说明。

附录 A

(规范性附录)

Elendt M4 和 Elendt M7 培养液

A.1 贮备液的配制

先用合格的去离子水、蒸馏水或反向渗透水（电导率 $<10\ \mu\text{S}/\text{cm}$ ）配制贮备液（I），再用贮备液（I）制备贮备液（II）（见表 A.1）。

A.2 M4 和 M7 培养液的配制

用贮备液（II）、表 A.2 指定的常量元素和维生素配制 Elendt M4 和 Elendt M7。

表 A.1 贮备液（I）、贮备液（II）的配制

组分		浓度 (mg/L)	与 M4 培养液 的浓度关系	贮备液 II 将贮备液 I 加入到水中的量 (mL/L)	
				Elendt M4	Elendt M7
贮备液 I (单一物质)	H ₃ BO ₃	57190	20000 倍	1.0	0.25
	MnCl ₂ ·4H ₂ O	7210	20000 倍	1.0	0.25
	LiCl	6120	20000 倍	1.0	0.25
	RbCl	1420	20000 倍	1.0	0.25
	SrCl ₂ ·6H ₂ O	3040	20000 倍	1.0	0.25
	NaBr	320	20000 倍	1.0	0.25
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	1260	20000 倍	1.0	0.25
	CuCl ₂ ·2H ₂ O	335	20000 倍	1.0	0.25
	ZnCl ₂	260	20000 倍	1.0	1.0
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	200	20000 倍	1.0	1.0
	KI	65	20000 倍	1.0	1.0
	Na ₂ SeO ₃	43.8	20000 倍	1.0	1.0
NH ₄ VO ₃	11.5	20000 倍	1.0	1.0	
Fe-EDTA 溶液 ^a		—	1000 倍	20.0	5.0

^a: 分别制备 5000 mg/L Na₂EDTA 和 1991 mg/L FeSO₄, 等比混合后立即灭菌, 即得到 Fe-EDTA 溶液。

表 A.2 Elendt M4 和 Elendt M7 的配制*

组分	浓度 (mg/L)	与 Elendt M4 培养液 的浓度关系	为制备 Elendt M4 和 Elendt M7 培养液，水中加入各组分 的量 (mL/L)		
			Elendt M4	Elendt M7	
贮备液 II (微量元素混合液)	—	20 倍	50	50	
常量营养储备液 (单一物质)	CaCl ₂ •2H ₂ O	293800	1000 倍	1.0	1.0
	MgSO ₄ •7H ₂ O	246600	2000 倍	0.5	0.5
	KCl	58000	10000 倍	0.1	0.1
	NaHCO ₃	64800	1000 倍	1.0	1.0
	Na ₂ SiO ₃ •9H ₂ O	50000	5000 倍	0.2	0.2
	NaNO ₃	2740	10000 倍	0.1	0.1
	KH ₂ PO ₄	1430	10000 倍	0.1	0.1
	K ₂ HPO ₄	1840	10000 倍	0.1	0.1
混合维生素贮备液 ^a	—	10000 倍	0.1	0.1	
<p>^a: 为制备混合维生素贮备液，1L 水中加入的 3 种维生素的量分别为：盐酸硫胺（维生素 B₁）750 mg，氰钴胺（维生素 B₁₂）10 mg，钙长石（维生素 H）7.5mg。制备后，混合维生素贮备液应小瓶分装并冷藏保存，在使用前加入到培养液中。</p>					

附录 B

(资料性附录)

总有机碳 (TOC) 分析与藻细胞悬浮液中 TOC 的线性图绘制

B.1 藻细胞悬浮液 TOC 含量的线性图绘制

B.1.1 藻细胞悬浮液的 TOC 含量可采用替代参数 (藻细胞计数或吸光度测定), 通过绘制线性图的方法进行间接测定。

B.1.2 通过离心, 将藻细胞从不同浓度的藻细胞悬浮液中分离, 然后用蒸馏水重新悬浮, 每个样本三个平行。

B.1.3 测定藻细胞悬浮液和蒸馏水的 TOC 浓度和替代参数 (藻细胞计数或吸光度测定)。

B.1.4 计算藻细胞悬浮液的 TOC 浓度时, 应扣除蒸馏水中的检出浓度。

B.1.5 线性图的线性范围应满足碳含量测定范围的需求, 如图 B.1、B.2、B.3 (范例, 不能用于试验, 各实验室须建立实验室内的碳含量与替代参数之间的线性图)。

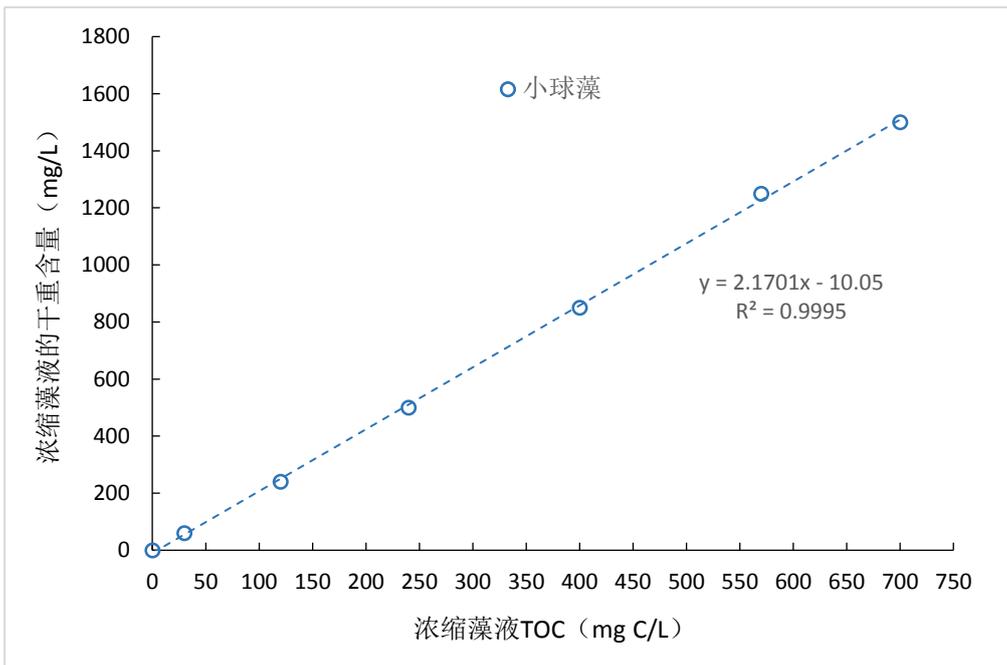


图 B.1 藻细胞悬浮液的 TOC 浓度与替代参数测定值示意图

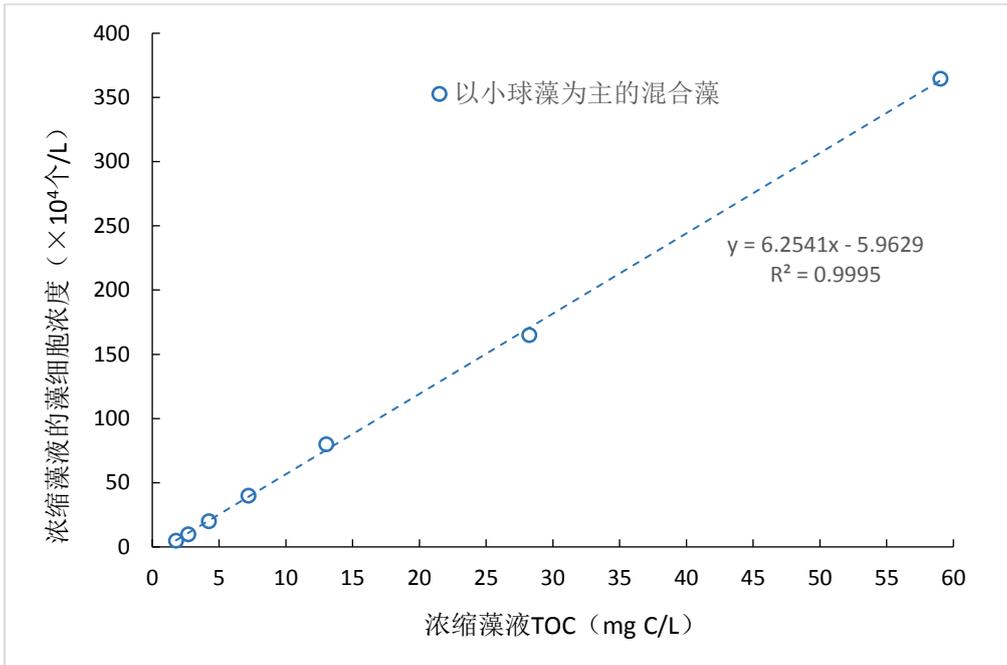


图 B.2 藻细胞悬浮液的 TOC 浓度与替代参数测定值示意图

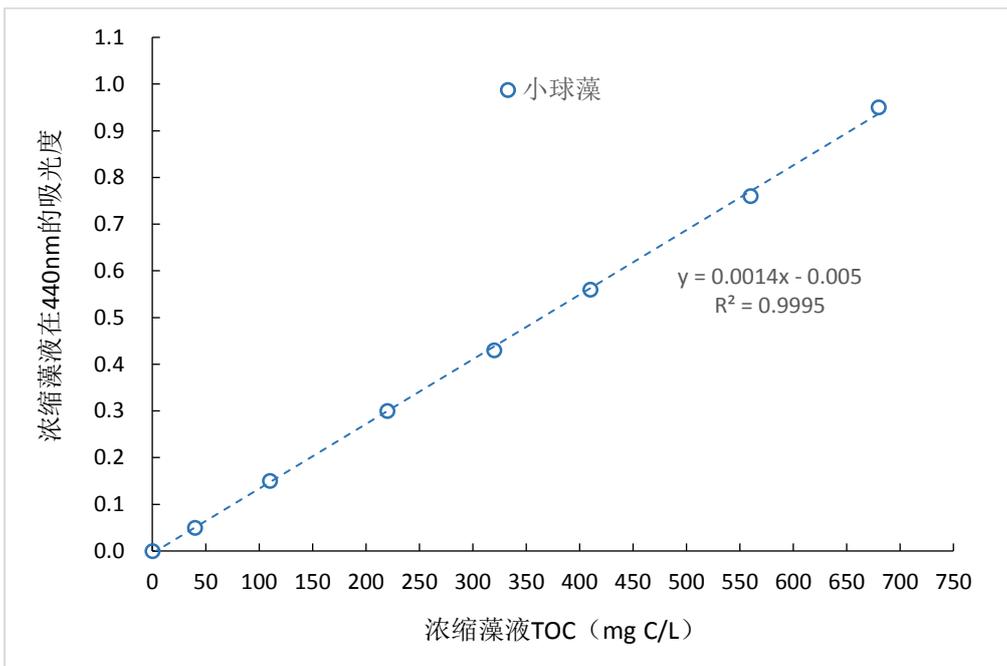


图 B.3 藻细胞悬浮液的 TOC 浓度与替代参数测定值示意图

附录 C

(资料性附录)

幼蚤性别鉴定指南

根据形态学特征区分大型蚤的性别。用吸管将幼蚤转移至有少量培养液的培养皿中。培养液体积可尽可能小，以防止幼蚤移动。在立体显微镜（ $10\times\sim 60\times$ ）下观察幼蚤的第一触角，雄蚤的第一触角明显长于雌蚤（如图 C.1 所示）。



图 C.1 蚤龄为 24h 的雄蚤（左）和雌蚤（右）。

注：如圆圈中所示，雄蚤的第一触角比雌蚤长。

附录 D

(资料性附录)

时间-加权平均值的计算

D.1 时间-加权平均值的计算

D.1.1 时间-加权平均浓度的简单示例见图 D.1，图 D.1 中：

- 试验周期为 7 天，在第 0 天、第 2 天、第 4 天更换培养液；
- 假定浓度呈指数衰减过程下降，之字形线代表任意时间点的浓度；
- 6 个方形点代表在每一个更换周期开始与结束时的测定浓度；
- 粗实线表示时间-加权浓度。

D.1.2 用式 (1) 计算每一个培养液更换周期内指数曲线下的面积，数据示例见表 D.1。

$$\text{面积} = \frac{\text{浓度}0 - \text{浓度}1}{\ln(\text{浓度}0) - \ln(\text{浓度}1)} * x \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中：

- x ——培养液更换周期内的天数；
- 浓度 0——培养液更换周期开始时的测定浓度；
- 浓度 1——培养液更换周期结束时的测定浓度；
- $\text{Ln}(\text{浓度}0)$ ——浓度 0 的自然对数；
- $\text{Ln}(\text{浓度}1)$ ——浓度 1 的自然对数；

D.1.3 计算时间-加权平均浓度：用试验周期内指数曲线下方的总面积除以总天数(如 21 天)。

D.2 当被试物在培养液中的降解过程遵循指数衰减以外的其他过程，也可采用与之相应的面积计算方法。在缺乏相关信息和数据的情况下，首选指数衰减模型。

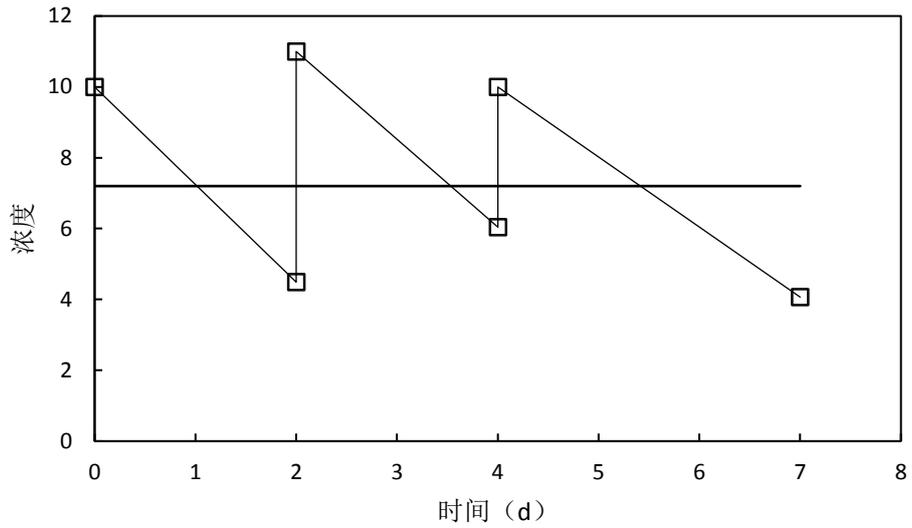


图 D.1 时间-加权平均浓度的示例

表 D.1 时间-加权平均计算

换液次数	间隔天数 (d)	浓度0	浓度1	$\ln(\text{浓度0})$	$\ln(\text{浓度1})$	面积
1	2	10	4.493	2.303	1.503	13.767
2	2	11	6.037	2.398	1.798	16.544
3	3	10	4.066	2.303	1.403	19.781
共计	7d					总面积: 50.092
						时间-加权平均: 7.156

参考文献

- [1] OECD (2012), Guidelines for the Testing of Chemicals, Test No.211, *Daphnia magna* Reproduction Test, Adopted 2 October 2012.
-