蔡小宇, 姜锦林, 单正军,等. 草甘膦对大型溞的急性和慢性毒性效应研究[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(10):1903-1908.
CAI Xiao-yu, JIANG Jin-lin, SHAN Zheng-jun, et al. Acute and chronic toxicity of glyphosate to *Daphnia magna*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(10): 1903-1908.

草甘膦对大型溞的急性和慢性毒性效应研究

蔡小宇[1,2], 姜锦林[1*], 单正军[1*], 卜元卿[1], 续卫利[1], 周洁莲[1]

(1.环境保护部南京环境科学研究所, 国家环境保护农药环境评价与污染控制重点实验室, 南京 210042; 2.南京信息工程大学环境科学与工程学院, 南京 210044)

摘 要:选取 99.5%草甘膦原药,研究其对大型溞的急性毒性和 21 d 慢性毒性效应,观察其对大型溞生长和繁殖指标的影响。急性毒性试验结果表明,草甘膦对大型溞的 48h-EC_{50} 为 151.057 mg·L^{-1},其对溞类的毒性为低毒;慢性毒性试验结果表明,草甘膦对大型溞的初次产幼溞时间、产幼溞数量、产幼溞胎数以及存活个体的平均体长都有显著的影响,其中,3.125 mg·L^{-1} 的暴露浓度可以显著减少大型溞产幼溞数量和产幼溞胎数。综合考虑各项指标,21 d 最低可观测效应浓度(LOEC)值为 3.125 mg·L^{-1},无可观测效应浓度(NOEC)值为 1.56 mg·L^{-1}。此外,研究还发现在草甘膦暴露浓度为 25 mg·L^{-1} 时,可以显著延长大型溞首次产卵时间,但未发现草甘膦暴露对大型溞初次蜕壳时间以及蜕壳次数有何显著性影响。研究结果表明,草甘膦在一定程度上对大型溞的生长和繁殖具有抑制效应。

关键词:草甘膦;大型溞;急性毒性;慢性毒性;繁殖
中图分类号:X503.22 **文献标志码**:A **文章编号**:1672-2043(2016)10-1903-06 doi:10.11654/jaes.2016-0375

Acute and chronic toxicity of glyphosate to *Daphnia magna*

CAI Xiao-yu[1,2], JIANG Jin-lin[1*], SHAN Zheng-jun[1*], BU Yuan-qing[1], XU Wei-li[1], ZHOU Jie-lian[1]

(1.Key Laboratory of Pesticide Environmental Assessment and Pollution Control, Nanjing Institute of Environmental Sciences, Ministry of Environmental Protection, Nanjing 210042, China; 2.School of Environmental Science and Engineering, Nanjing University of Information Science and Technology, Nanjing 210044, China)

Abstract: Glyphosate is widely used in agriculture as a broad spectrum herbicide.With the increasing of application, it′s effects on aquatic organisms have also been widely concerned. 99.5% glyphosate technical was selected to assess the acute toxicity to *Daphnia magna* and the chronic effects on the growth and reproduction after 21-d exposure.The results of acute toxicity test showed that glyphosate had low acute toxicity against *Daphnia magna*, the 48h-EC_{50} was 151.057 mg·L^{-1}. The results of chronic test showed that the first reproduction time, the number of total offspring per female, the number of brood per female and the body length of *Daphnia magna* were significantly affected when exposure to glyphosate at the concentration of 3.125 mg·L^{-1}, the number of total offspring per female and number of brood per female of *Daphnia magna* were significantly reduced. Taking into account of each index in this experiment, the 21-d lowest observed effect concentration(LOEC) was 3.125 mg·L^{-1} and the no observed effect concentration(NOEC) was 1.56 mg·L^{-1}. In addition, when exposed to glyphosate at 25 mg·L^{-1}, the first reproduction time of *Daphnia magna* could be dramaticlly prolonged. However, the first molting time and the number of molting of *Daphnia magna* had not been observed during the 21-d glyphosate exposure. The results suggested that glyphosate had inhibiting effects on the growth and reproduction of *Daphnia magna*.

Keywords: glyphosate; *Daphnia magna*; acute toxicity; chronic toxicity; breeding

收稿日期:2016-03-23
基金项目:环保公益性行业科研专项(201309026)
作者简介:蔡小宇(1991—),女,硕士研究生,研究方向为环境毒理学。E-mail:781584994@qq.com
* **通信作者**:姜锦林 E-mail:jjl@nies.org;单正军 E-mail:szj@nies.org

草甘膦,又称镇草宁、农达、草干膦、膦甘酸,1971年由 Monsanto 公司开发出在世界农业中具有划时代意义的广谱除草剂[1]。草甘膦的作用机理是通过其有效成分抑制 5-烯醇丙酮草莽酸-3-膦酸盐的合成酶活性[2-3]。其通过茎叶吸收后传导到植物各部位,可防除单子叶和双子叶、一年生和多年生、草本和灌木等 40 多科的植物,广泛用于橡胶、桑、茶、果园及甘蔗地。随着转基因抗草甘膦作物的发展,它在全球的使用面积正以每年 20%的速度递增,成为具有典型代表性的农药产品,因此草甘膦对环境及有益生物的影响受到广泛关注[4-6]。学者调查发现,草甘膦对水生生物、两栖类动物、土壤生物及哺乳动物都具有相应的毒性影响[7]。

大型溞(*Daphnia magna*)属于节肢动物门、甲壳纲、枝角类,是常见的小型浮游甲壳动物[8]。它是水生浮游动物的代表,是连接水生食物链的重要中间体,对净化水体有重要作用,其初级生产量直接影响水生生态系统的结构功能[9-10]。作为目前国内外水生生物毒理学研究的标准测试生物,大型溞被广泛应用于水生生物毒性试验和评价。

目前,国内关于草甘膦为代表的有机磷类灭生性除草剂的毒性研究多局限于对水生生物的毒性效应及环境安全性研究,如:对中华大蟾蜍的慢性毒性研究,以及对旋链角毛藻和盐生杜氏藻的毒性兴奋效应研究[3,11-12]。国外的相关研究主要集中在该类农药对斑马鱼的神经毒性效应研究,对土壤根际细菌群落的影响,在孕期和哺乳期草甘膦的暴露对小鼠后代的神经毒性研究[13-15]等,鲜见对大型溞的长期慢性影响研究。本研究主要考察 99.5%草甘膦原药对大型溞的急性毒性和 21 d 慢性毒性效应,观察大型溞各个繁殖和生长指标变化,为保护水生生态系统和人群健康与安全提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验生物

受试大型溞为本实验室培养的同一健康亲溞孤雌生殖 3 代以上的幼溞,溞龄 24 h 以内,要求个体状况健康、活泼、体型均匀。根据 OECD211 准则[16-17],用 M4 培养液培养大型溞使其状态稳定[18]。培养液 pH 为(7.8±0.2),溶解氧保持 80%左右,培养温度(20±2)℃,光强 18 $\mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$,光暗比 16 h:8 h,培养密度为每只溞 50 mL 培养液[19]。用绿藻及酵母作为饵料定期投放,喂食密度控制在每 1 mL 培养液含 2.0×10^5~3.0×10^5 个藻类细胞。每 2~3 d 更换一次培养液,同时清洗干净培养器皿[20]。

在试验开始之前的三周内,选取 20~30 只体型较大、卵泡较多、反应敏捷的母溞放置在 1 L 的烧杯中,并用新鲜藻类喂食,毒性试验需选用这些母溞生产的 2~5 代并且溞龄在 6~24 h 内健康活泼的幼溞,其重铬酸钾敏感度测定结果符合 ISO 标准[21]。

1.2 供试药剂

99.5%草甘膦原药,来自阿拉丁公司,白色粒剂,化学名称 N-(膦羧甲基)甘氨酸,分子式 $C_3H_8NO_5P$,分子量 169.07,分析标准 99.5%,CAS 登录号:1071-83-6。

1.3 试验方法

1.3.1 急性毒性试验

根据 OECD202 标准方法[22]进行 48 h 急性毒性暴露试验。通过预实验,得出 99.5%草甘膦原药对溞类 100%活动受抑制的最低浓度和全不抑制的最高浓度,进而确定正式试验的浓度范围。在 100~225 $mg \cdot L^{-1}$ 内以 1.144 7 为等比设置 6 个浓度组,分别为 100、114.47、131.034、150、171.70、196.54 $mg \cdot L^{-1}$。同时设置不加农药的空白对照组。将 99.5%草甘膦原药取出 0.25 g 加入到 250 mL 的容量瓶中,用蒸馏水定容至标线配制成 1 $g \cdot L^{-1}$ 的母液。试验时,用 100 mL 的烧杯配置不同浓度的草甘膦原药溶液,每个烧杯中加入 5 只 6~24 h 的幼溞,每个浓度设置 4 个平行,于 24 h 和 48 h 后观察并记录大型溞的受抑制情况。饵料和试液在急性毒性暴露的过程中不需要投放与更换。重铬酸钾作为参比物质的实验结果符合《化学农药环境安全评价试验准则》[23]规定的试验要求,其对大型溞的 24 h-EC_{50} 为 0.94 $mg \cdot L^{-1}$。

1.3.2 慢性毒性试验

参照 OECD211 标准方法[17]进行 21 d 慢性毒性暴露试验。根据 99.5%草甘膦原药对大型溞急性毒性的试验结果,获得供试农药对大型溞 48 h 的半数抑制浓度 EC_{50};综合各项因素,选择在浓度 50 $mg \cdot L^{-1}$ 内以 2 为等比设置 6 个浓度梯度,每个浓度设置 10 个平行,以曝气脱氯的自来水作为空白对照组。本次试验设置的浓度组分别为 0、1.56、3.125、6.25、12.5、25、50 $mg \cdot L^{-1}$。试验前将室温调至 20 ℃,打开光照,将 99.5%草甘膦原药取出 0.1 g 加入到 100 mL 的容量瓶中,用蒸馏水定容至标线配制成 1 $g \cdot L^{-1}$ 的母液。试验时,用 100 mL 烧杯配置不同浓度的草甘膦原药溶液,在每只烧杯中放入 1 只健康活泼的 6~24 h 的幼溞,于光

暗比为 16 h∶8 h、(20±2)℃的条件下连续培养 21 d，16 h 在容器的水面上光照强度不超过 15~20 μE·m^{-2}·s^{-1}。试验期间采用半静态试验系统[24-25]，为保证试验期间药剂浓度为起始浓度的 80%以上，需每隔 1 d 更换一次试验溶液。在慢性毒性试验过程中，大型溞的生存、蜕壳、怀卵和繁殖情况必须每天记录，并及时移除褪下的壳以及繁殖的幼溞。在试验期间，每天用一种或多种新鲜藻细胞喂食，或者一周喂食 3 次。慢性毒性试验结束时，将大型溞置于体视镜下观察并拍照，测量溞体的长度和记录其形态的变化，计算出大型溞的平均首次蜕壳时间、平均蜕壳次数、平均首次产幼溞时间、平均产幼溞数量和产幼溞胎数以及大型溞 21 d 的平均体长[26]。

1.4 数据处理

用 SPSS17.0 统计软件处理 48 h 急性毒性试验数据，得到 48 h-EC_{50} 值。用 SPSS17.0 和 Origin8.5 统计软件处理慢性毒性试验数据，对各慢性毒性终点值变化做显著性分析，得到最敏感指标出现显著性变化的暴露浓度，并计算各个繁殖毒性终点指标的 NOEC 值。

2 结果与分析

2.1 99.5%草甘膦原药对大型溞的急性毒性

试验过程中试液溶解氧需在 8.0 mg·L^{-1} 以上，pH7.5 左右。经试验观察，空白对照组的大型溞无死亡现象，生长状况良好。不同浓度受药处理组的大型溞，在接触 99.5%草甘膦后都受到了不同程度抑制，抑制溞表现状态为白色胀大并沉于水底。

99.5%草甘膦原药对大型溞的 48 h 半抑制浓度为 151.057 mg·L^{-1}(表 1)。按照国家环境保护局《化学农药环境安全评价试验准则》[23]关于农药对大型溞的毒性分级标准，该药对溞类属于低毒农药。

表 1 99.5%草甘膦原药对大型溞的急性毒性

Table 1 Acute toxicity of 99.5% glyphosate technical to *D.magna*

项目	24 h	48 h
EC_{50}/mg·L^{-1}	>196.54	151.057
95%置信限/mg·L^{-1}		144.546~157.912

2.2 99.5%草甘膦对大型溞慢性毒性

2.2.1 对大型溞初次脱壳时间的影响

由图 1 可见，大型溞在各个浓度的初次蜕壳时间基本上都在第 1 d，个别几只大型溞在第 2 d 初次蜕壳。在试验设定的这几个浓度范围中，99.5%草甘膦原药暴露对大型溞初次蜕壳时间影响不显著。

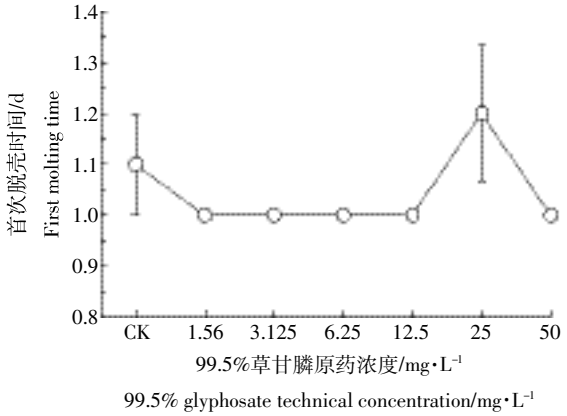


图 1 99.5%草甘膦原药对大型溞初次脱壳时间的影响

Figure 1 Effects of 99.5% glyphosate technical on time of the first molting of *D.magna* after 21 d exposure

2.2.2 对大型溞蜕壳次数的影响

由图 2 可见，大型溞在各个浓度的平均蜕壳次数在 10 次左右，在实验的这几个浓度范围中，99.5%草甘膦原药暴露对大型溞的蜕壳次数影响不显著。

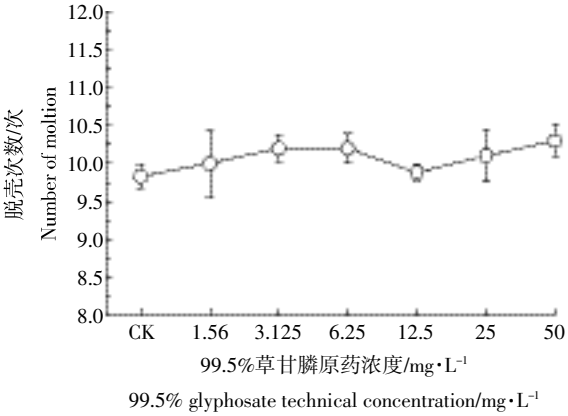


图 2 99.5%草甘膦原药对大型溞脱壳次数的影响

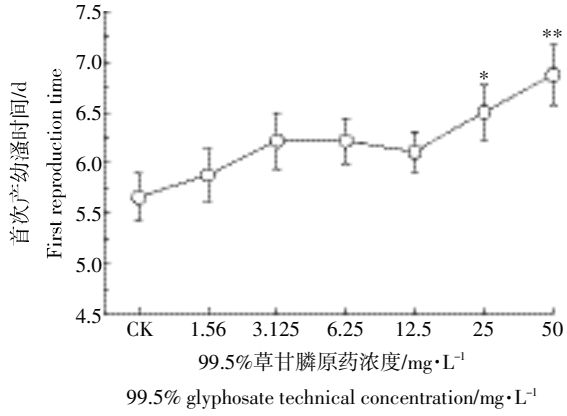
Figure 2 Effects of 99.5% glyphosate technical on number of molting of *D.magna* after 21 d exposure

2.2.3 对大型溞首次产幼溞时间的影响

由图 3 可见，99.5%草甘膦原药暴露能延迟大型溞的首次产幼溞时间。从图上看，整体呈现一个缓慢上升的过程。当 99.5%草甘膦原药的浓度为 25 mg·L^{-1} 时，大型溞首次产幼溞时间显著延长(P<0.05)；浓度为 50 mg·L^{-1} 时，大型溞的首次产幼溞时间极显著延长(P<0.01)。

2.2.4 大型溞存活个体产幼溞数量的影响

由图 4 可见，99.5%草甘膦原药暴露能降低平均每只大型溞的产幼溞数量。从图上看，整体呈现一个



* 表示不同处理间差异显著(P<0.05);** 表示不同处理间差异极显著(P<0.01)。下同

图 3 99.5%草甘膦原药对大型溞首次产幼溞时间的影响

Figure 3 Effects of 99.5% glyphosate technical on time of the first reproduction of *D.magna* after 21 d exposure

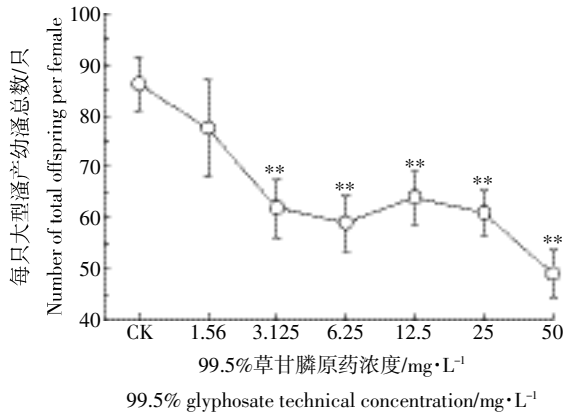


图 4 99.5%草甘膦原药对大型溞存活个体产幼溞数量的影响

Figure 4 Effects of 99.5% glyphosate technical on number of total offspring per female of *D.magna* after 21 d exposure

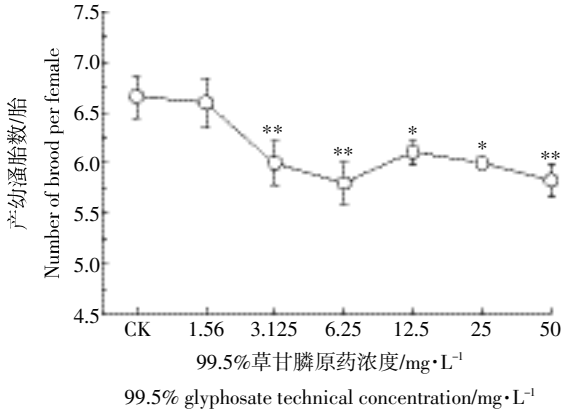


图 5 99.5%草甘膦原药对大型溞存活个体产幼溞胎数的影响

Figure 5 Effects of 99.5% glyphosate technical on number of brood per female of *D.magna* after 21 d exposure

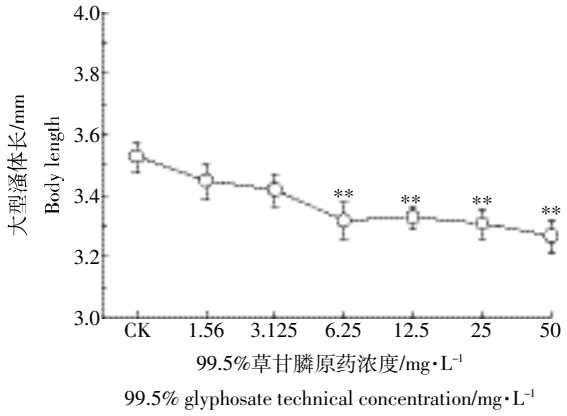


图 6 99.5%草甘膦原药对大型溞存活个体平均体长的影响

Figure 6 Effects of 99.5% glyphosate technical on body length of *D.magna* after 21 d exposure

下滑的趋势,在浓度为 3.125~50 mg·L⁻¹ 时,大型溞产幼溞数量极显著减少(P<0.01)。该项数据只统计了存活至实验结束时的大型溞所产幼溞的数量。

2.2.5 对大型溞存活个体产幼溞胎数的影响

由图 5 可见,99.5%草甘膦原药暴露能降低平均每只大型溞的产幼溞胎数。当 99.5%草甘膦浓度为 12.5、25 mg·L⁻¹ 时,大型溞产幼溞胎数显著减少(P<0.05);浓度为 3.125、6.25、50 mg·L⁻¹ 时,大型溞产幼溞胎数极显著减少(P<0.01)。

2.2.6 对大型溞存活个体平均体长的影响

由图 6 可见,99.5%草甘膦原药暴露缩短了平均每只大型溞的体长。当浓度为 6.25 mg·L⁻¹ 时,99.5%草甘膦暴露 21 d 后大型溞的体长极显著缩短(P<0.01)。

3 讨论

除草剂是具有选择毒性的农药,与杀虫剂相比对非靶生物的致死率普遍较低,导致人们不太关注除草剂对非靶生物的影响[27]。然而在农业耕作过程中所施用的除草剂仅有少部分被植物吸收,大部分被喷施在与作物同一生境的动物体表或残留在土壤和水体中,对水体和农业生态系统造成污染[28]。

许杨贵等[29]研究了水环境中草甘膦和三价砷对大型溞的联合毒性,结果表明草甘膦对大型溞单一毒性的 48 h 半抑制浓度为 49.62 mg·L⁻¹, 属于低毒物质,与本研究草甘膦对溞类的毒性为低毒一致。根据 Thai-Hoang Le 等[30]的研究结果,草甘膦对大型溞的 CYP314 细胞色素无明显影响, 而 CYP314 细胞色素控制大型溞的脱壳机能。由本研究可知,草甘膦对大

型溞的首次脱壳时间和脱壳次数的影响都不显著，与前者的研究结果一致。在本研究中，草甘膦暴露组浓度的大型溞 21 d 产幼溞数量整体呈下降趋势，同时首次产幼溞时间在浓度为 25 mg·L^{-1} 时呈显著性增加（平均首次产幼溞时间为 6.5 d 左右），在浓度为 50 mg·L^{-1} 时极显著性增加（平均产幼溞时间为 6.8 d 左右），说明草甘膦在一定浓度范围内减少大型溞的产幼溞数量，延长了首次产幼溞时间。这与 Thai-Hoang Le 等[30]研究的草甘膦对大型溞卵黄蛋白原的影响相吻合，该研究表明草甘膦的使用降低了卵黄蛋白原的合成，而卵黄蛋白原是胚胎和幼体早期发育主要的营养来源。Thai-Hoang Le 等[30]还研究了草甘膦对大型溞血红蛋白、芳香烃受体核转位蛋白及 CYP4 的影响，结果表明随着草甘膦浓度的增加其值都呈显著下降趋势，进而对大型溞个体产生影响。本研究的结果也证实草甘膦对大型溞的个体生长存在抑制作用。本研究中，草甘膦暴露浓度为 1.56、3.125 mg·L^{-1} 时，大型溞的产幼溞时间间隔为 1 d，浓度为 6.25、12.5 mg·L^{-1} 时产幼溞时间间隔为 2 d，浓度为 25、50 mg·L^{-1} 时产幼溞时间间隔延长至 3 d；而张欣等[31]的研究中丁草胺、吡嘧磺隆和苄嘧磺隆三种除草剂不同浓度暴露下，大型溞的产幼溞时间间隔都是 2.5~3.5 d，没有显著性差异，说明草甘膦能延长大型溞的产幼溞时间间隔。此外，有些除草剂则对大型溞的产幼溞时间间隔没有影响。

OECD 准则虽然在水生生物毒性研究方面已形成了标准的测试方法，但在考虑后代的质量和胚胎发育的测试上具有一定的局限性[32]。本试验结束后，慢性毒性处理组母溞无死亡现象，但母溞在产卵过程中，几个处理组都出现了幼溞死亡或畸形现象，从而推测草甘膦长期暴露会对大型溞产生不可逆的伤害。所以，如果大型溞生存于本试验浓度的自然环境中，其种群数量将受到影响。对于大型溞发生畸形和胚胎早脱的机理，还需要更进一步的研究。同样，人们也应该关注包括草甘膦在内的其他除草剂以及杀虫剂对生态环境产生的风险。

4 结论

99.5%草甘膦属于低毒农药其暴露对大型溞的首次蜕壳时间影响不显著，但在某种程度上增加了蜕壳次数，延迟了大型溞的首次产幼溞时间，降低了平均每只大型溞的产幼溞胎数和数量，影响了大型溞的个体尺寸。99.5%草甘膦原药暴露对大型溞的产幼溞数量和产幼溞胎数这两项指标很敏感，而对大型溞的体长比较敏感，首次产幼溞时间敏感度相对较差一些。因此，综合考虑各项繁殖毒性终点指标，该农药对大型溞的最低可观测有效应浓度（LOEC）值为 3.125 mg·L^{-1}，无可观测有效应浓度（NOEC）值为 1.56 mg·L^{-1}。鉴于草甘膦在我国使用非常广泛，虽然其对大型溞急性抑制毒性较低，但本研究表明草甘膦在较低浓度下便能显著影响大型溞的各项慢性毒性终点，因此建议对该农药登记大田使用前进行田间试验和环境生物影响风险评估，特别要关注其对浮游甲壳类生物的影响。

参考文献：

[1] 苏少泉. 草甘膦述评[J]. 农药, 2005, 44(4): 145-149.
SU Shao-quan. Glyphosate review[J]. *Chinese Journal of Pesticides*, 2005, 44(4): 145-149.

[2] 卢 信, 赵炳梓, 张佳宝, 等. 除草剂草甘膦的性质及环境行为综述[J]. 土壤通报, 2005, 36(5): 785-789.
LU Xin, ZHAO Bing-zi, ZHANG Jia-bao, et al. Property and environmental behavior of herbicide glyphosate[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2005, 36(5): 785-789.

[3] 朱国念, 楼正云, 孙锦荷. 草甘膦对水生生物的毒性效应及环境安全性研究[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2000, 26(3): 309-312.
ZHU Guo-nian, LOU Zheng-yun, SUN Jin-he. Study on toxicity and environmental safety of glyphosate to aquatic organisms[J]. *Journal of Zhejiang University(Agric & Life Sci)*, 2000, 26(3): 309-312.

[4] 屠予钦, 袁会珠, 黄宏英, 等. 农药的科学使用问题与农药应用工艺学[J]. 植物保护学报, 1996, 23(3): 275-280.
TU Yu-qin, YUAN Hui-zhu, HUANG Hong-ying, et al. Scientific use of pesticides on the basis of pesticide application technology[J]. *Acta-Phytophylacica Sinica*, 1996, 23(3):275-280.

[5] Klevorn T, Wysse D. Effect of soil temperature and moisture on glyphosate and potoassimilate distribution quack grass(agropyronrepens)[J]. *Weed Science*, 1984, 32(3): 402-407.

[6] 傅定一. 草甘膦的第二次机遇[J]. 农药, 2002, 41(10): 1-5.
FU Ding-yi. The second revolution of glyphosate[J]. *Chinese Journal of Pesticldes*, 2002, 41(10): 1-5.

[7] Mann R M, Bidwell J R. The toxicity of glyphosate and several glyphosate for mulations to four species of Southwestern Australian frogs[J]. *Arch Environ Contam Toxicol*, 1999, 36(2): 193-199.

[8] 周垂帆, 李 莹, 张晓勇, 等. 草甘膦毒性研究进展[J]. 生态环境学报, 2013, 22(10): 1737-1743.
ZHOU Chui-fan, LI Ying, ZHANG Xiao-yong, et al. Research advance in ecotoxicity of glyphosate[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2013, 22(10): 1737-1743.

[9] 刘建梅, 刘济宁, 陈英文, 等. 四溴双酚 A 和三溴苯酚对大型溞的急性和慢性毒性[J]. 环境科学学报, 2015, 35(6): 1946-1954.

LIU Jian-mei, LIU Ji-ning, CHEN Ying-wen, et al. Acute and chronic toxicity of tetrabromobisphenol A and tribromophenol to *Daphnia magna* [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2015, 35(6): 1946-1954.

[10] 张丽彬, 王金鑫, 王启山, 等. 浮游动物在生物操纵法除藻中的作用研究[J]. 生态环境, 2007, 16(6): 1648-1653.
ZHANG Li-bin, WANG Jin-xin, WANG Qi-shan, et al. Effect of zooplankton on removing algae in bio-manipulation[J]. *Ecology and Environment*, 2007, 16(6): 1648-1653.

[11] 肖永红, 廖永强, 周昌旭, 等. 除草剂草甘膦对中华大蟾蜍的慢性毒性[J]. 四川动物, 2007, 26(2): 430-433.
XIAO Yong-hong, LIAO Yong-qiang, ZHOU Chang-xu, et al. Chronic toxicities of herbicide glyphosate on bufogargarizans[J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2007, 26(2): 430-433.

[12] 张 哲, 王江涛, 谭丽菊. 草甘膦对旋链角毛藻和盐生杜氏藻的毒性兴奋效应[J]. 生态毒理学报, 2010, 5(5): 685-691.
ZHANG Zhe, WANG Jiang-tao, TAN Li-ju. Stimulation effect of glyphosate on chaetoceroscurvisetus and dunalleliasalina[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2010, 5(5): 685-691.

[13] Molli M Newman, Nigel Hoilett, Nicola Lorenz, et al. Glyphosate effects on soil rhizosphere-associated bacterial communities[J]. *Science of the Total Environment*, 2016, 543: 155-160.

[14] Cristina E, Gallegos, Mariana Bartos, et al. Exposureto a glyphosate-based herbicide during pregnancy and lactation induces neurobehavioral alterations in rat offspring[J]. *Neuro Toxicology*, 2016, 53: 20-28.

[15] Roy N M, Carneiro B, Ochs J. Glyphosate induces neurotoxicity in zebrafish[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2016, 42: 45-54.

[16] OECD. Test Guideline No. 211. Effects on biotic systems test: *Daphnia magna* reproduction test[S]. Paris: OECD Publishing, 2008.

[17] OECD. Test Guideline No. 211. Test guidelines for testing of chemicals: *Daphnia magna* reproduction test[S]. Paris: OECD Publishing, 1998.

[18] Elendt B P, Bias W R. Trace nutrient deficiency in *Daphnia magna* cultured in standard medium for toxicity testing: Effects of the optimization of culture conditions on life history parameters of *D. magna*[J]. *Water Research*, 1990, 24(9): 1157-1167.

[19]Bogdan K G, Gillbert J J. Body size and food size in freshwater zooplankton[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1984, 81(20): 6427-6431.

[20] Stauber J L, Florence T M. The effect of culture medium on metal toxicity to the marine diatom *Nitzschiaclosterium* and freshwater green alga *Chlorella pyrenidosa*[J]. *Water Research*, 1989, 23(7): 907-911.

[21] 周永欣, 章宗涉. 水生生物毒性试验方法[M]. 北京: 农业出版社, 1989.
ZHOU Yong-xin, ZHANG Zong-she. Biological aquatic toxicity test method[M]. Beijing: Agriculture Press, 1989.

[22] OECD. Test Guideline No. 202. Test guidelines for testing of chemicals: *Daphnia* sp. Acute immobilization test[S]. Paris: OECD Publishing, 2004.

[23] 国家环保局. 化学农药环境安全评价试验准则[J]. 农药科学与管理, 1990(2): 1-5.
NEPA. Experimental guideline for environmental safety evaluation of chemical pesticide[J]. *Pesticide Science and Management*, 1990(2): 1-5.

[24] U. S. EPA guidelines for deriving numerical water quality criteria for the protection of aquatic organism and their uses[S]. Washington: National Technical Information Service, 1985.

[25] Paul C F, Grothe D W, Scheuring J C. Chronic toxicity of 4-Nitrophenol to D. magnastraus under static-renewal and flow-through conditions[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1957, 36(5): 730-737.

[26] 朱昱璇, 姜锦林, 单正军, 等. 抑食肼对大型溞的急慢性毒性效应研究[J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(12): 2309-2314.
ZHU Yu-xuan, JIANG Jin-lin, SHAN Zheng-jun, et al. Acute and chronic toxic of RH-5849 to *Daphnia magna*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(12): 2309-2314.

[27] 黄顶成, 尤民生, 侯有明, 等. 化学除草剂对农田生物群落的影响[J]. 生态学报, 2005, 25(6): 1451-1458.
HUANG Ding-cheng, YOU Min-sheng, HOU You-ming, et al. Effect of chemical herbicides on bio-communities in agroecosystems[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(6): 1451-1458.

[28] 吴春华, 陈 欣. 农药对农区生物多样性的影响[J]. 应用生态学报, 2004, 15(2): 341-344.
WU Chun-hua, CHEN Xin. Impact of pesticides on biodiversity in agricultural areas[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(2): 341-344.

[29] 许杨贵, 李 晶, 秦俊豪, 等. 水环境中草甘膦和三价砷对大型溞的联合毒性评价[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(11): 2076-2082.
XU Yang-gui, LI Jing, QIN Jun-hao, et al. Joint toxicity of glyphosate and As(Ⅲ) to *Daphnia magna* in aquatic environment[J]. *Joural of Agro-Environment Science*, 2015, 34(11): 2076-2082.

[30] Le T H, Lim E S, Lee S K, et al. Effects of glyphosate and methidathion on the expression of the Dhb, Vtg, Arnt, CYP4 and CYP314 in *Daphnia magna*[J]. *Chemosphere*, 2010, 79(1): 67-71.

[31] 张 欣, 赵 文, 徐 峰. 三种除草剂对大型溞 *Daphnia magna* 存活、生长和繁殖的影响[J]. 农药学学报, 2009, 11(1): 121-125.
ZHANG Xin, ZHAO Wen, XU Feng. Effect of three herbicides on the survival, growth and reproduction of *Daphnia magna*[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2009, 11(1): 121-125.

[32] 胡芳华, 宋文华, 丁 峰, 等. 三唑酮对大型溞的 21 天慢性毒性效应[J]. 生态毒理学报, 2012, 7(2): 171-176.
HU Fang-hua, SONG Wen-hua, DING Feng, et al. 21-d Chronic toxicity of triadimefon to *Daphnia magna*[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2012, 7(2): 171-176.