

内分泌干扰物氰戊菊酯和有机锡对 萼花臂尾轮虫生殖的影响

朱玮阁, 郭瑞昕, 杨家新*

(南京师范大学生命科学学院 南京 210046)

摘要: 25℃, 投喂密度为 $(2 \sim 3) \times 10^6$ cells/ml 的蛋白核小球藻, 采用单“克隆”培养的方法对萼花臂尾轮虫 (*Brachionus calyciflorus*) 进行慢性毒性实验, 分别比较具有环境雌性和雄性激素效应的药物氰戊菊酯 (Fenvalerate) 和三丁基氯化锡 (TBTC) 对萼花臂尾轮虫亲代单次携卵量、总产卵量和后代数、以及亲代和 F_1 代的混交比率的影响。结果表明: 氰戊菊酯处理组, 亲代单次携 2 和 3 个卵的频次在浓度达 400 $\mu\text{g/L}$ 时都显著高于对照组 ($p < 0.05$), 而亲代单次携 1 个卵的频次都显著低于对照组 ($p < 0.05$)。各浓度组总产卵量都显著高于对照组 ($p < 0.05$), 后代数也明显增高。氰戊菊酯在两个最低实验浓度 (0.64 $\mu\text{g/L}$ 和 3.2 $\mu\text{g/L}$) 就会对亲代混交率和子一代混交率、 MF/AF 存在显著影响。TBTC 处理组在浓度 0.0016、0.008 $\mu\text{g/L}$ 和 1 $\mu\text{g/L}$ 亲代单次携 1 个卵的频次显著高于对照组, 而携 3 个和 4 个卵的频次显著低于对照组 ($p < 0.01$)。亲代总产卵量和所产后代数在 TBTC 各处理组都显著低于对照组 (0.0016 $\mu\text{g/L}$ 除外) ($p < 0.05$)。而子一代的混交率、 MF/AF 等都显著低于对照组 ($p < 0.05$)。实验表明氰戊菊酯和 TBTC 对萼花臂尾轮虫的生殖具有明显的内分泌干扰效应。

关键词: 氰戊菊酯; 三丁基氯化锡; 萼花臂尾轮虫; 单次携卵量; 混交率

文章编号: 1000-0933(2009)07-3605-08 中图分类号: Q178 文献标识码: A

Effect of endocrine disruptors fenvalerate and TBTC on reproduction of rotifer *Brachionus calyciflorus*

ZHU Wei-Ge, GUO Rui-Xin, YANG Jia-Xin*

College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(7): 3605 ~ 3612.

Abstract: Endocrine disruptors (EDs) are a structurally diverse group of compounds that may adversely affect the health of humans, wildlife and fisheries, or their progeny by interaction with the endocrine system. Many EDs have been detected in aquatic environments, many of which are capable of disrupting endocrine functions of a variety of aquatic invertebrates. In the present study, the estrogenic compound Fenvalerate and androgenic compound TBTC were screened for their effect on the batch carrying eggs every parental rotifer (P), total numbers of eggs, offspring production, and mictic female production of the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus*. Treatment with Fenvalerate at concentrations (except 3.2 $\mu\text{g/L}$) significantly increased the frequency of carrying 3 eggs ($p < 0.05$). Treatments with Fenvalerate at concentrations of 3.2 $\mu\text{g/L}$ to 2000 $\mu\text{g/L}$ significantly increased the total number of eggs production compared to controls ($p < 0.05$). Treatment with TBTC at 0.0016, 0.04, 0.2 and 1 $\mu\text{g/L}$ resulted in a significantly higher frequency of females carrying 3 and 4 eggs compared to control ($p < 0.05$), but the frequency of carrying 1 egg was lower than control. The total number of eggs and offspring were all significantly lower than control (0.0016 $\mu\text{g/L}$ excluded) ($p < 0.05$). Moreover, the ratios of mictic female ($MF\%$) of parents and the first generation (F_1) were also affected by Fenvalerate and TBTC. $MF\%$ of parents and F_1 was significantly lower than control only in the two lowest concentrations of Fenvalerate at 0.64 $\mu\text{g/L}$ and 3.2 $\mu\text{g/L}$ ($p <$

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30570260); 江苏省自然科学基金项目(BK2007225)

收稿日期: 2008-04-12; 修订日期: 2008-12-05

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yangjx@njnu.edu.cn

0.01), but there was no difference between treatments and control in higher concentrations, and no effect on MF/AF (mictic females/amictic females) of the F_1 as well. The concentrations of TBTC only over $5\mu\text{g/L}$ significantly affected the $MF\%$ of parental compared to control ($p < 0.01$), but $MF\%$ of F_1 was obviously affected at all concentrations except $0.2\mu\text{g/L}$. The MF/AF of parents and F_1 were quite similar. TBTC had a negative effect on total number of eggs and offspring, whereas Fenvalerate increased them. Consequently, we can conclude that Fenvalerate and TBTC significantly affect the reproduction of rotifers through mechanisms that are not well understood.

Key Words: fenvalerate; TBTC; *Brachionus calyciflorus*; batch carrying eggs; mictic female production

人类生产生活过程中,大量具有内分泌干扰效应的化学物质(环境激素)溢流入水体,干扰水生生物机体中激素正常水平的维持,引起内分泌紊乱和生殖失常,对机体正常生理活动和种群发展与维持造成很大的危害。已有学者选择不同营养级水平具有代表性的生物(微藻、原生动物、轮虫、枝角类和桡足类、鱼类等)作为实验动物,开展环境激素研究并取得成效^[1~5]。如防污剂三丁基锡(TBT)导致软体动物的阴茎和输精管发生异常,并向雄性发展^[6],影响褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*)种群增长等^[7]。人工合成雌激素 17α -己烯雌酚(17α -ethinylestradiol)会引起水蚤(*Daphnia*)雄性分化和桡足类(Copepoda)性别比例失调^[6,8]。内分泌干扰物对稀有鮡鲫(*Gobiocypris rarus*)生命早期暴露处理后繁殖生物学参数的变化和卵黄蛋白原的诱导效应也有研究^[4]。然而,鱼类等动物个体较大,生活周期相对较长,不易进行实验室驯养,尤其不利于世代毒性效应研究^[5],因此,迫切需要引入一种适宜的受试动物更简单、快速的来监测化学物质是否干扰水生生物的内分泌。

轮虫作为水域环境的重要类群,在水域生态系统食物链的能量传递和物质转换方面发挥着重要作用。且其具有个体小、生命周期和世代时间短、生殖速度快等优点,以及特殊的生活史(孤雌生殖和有性生殖世代交替)为其成为研究环境激素内分泌干扰效应的潜在受试动物奠定了基础^[9]。国内外已有许多关于污染物对轮虫行为毒性和生殖毒性的研究,采用的实验终点主要包括种群增长率、混交率、摄食和游泳速率以及热休克蛋白的诱导表达等等^[10,11],而国内应用蓼花臂尾轮虫作为内分泌干扰的一种监测生物尚未有研究。本研究旨在探讨具有环境雌性激素效应和雄性激素效应的药物对蓼花臂尾轮虫生殖的影响,看亲代单次携卵量、总产卵量和后代数以及亲代和子代混交率等参数是否可以作为检测环境激素内分泌干扰的敏感指标,为研究环境激素对轮虫繁殖生物学的影响奠定基础以及为轮虫生态毒理学研究提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 轮虫的采集与培养

样品采自于江苏省淡水水产研究所养殖池塘,解剖镜下镜检,挑取游泳速度快,个体较大并携非混交卵的雌体作为起始材料,实验室条件下进行单“克隆”培养。轮虫培养基采用 EPA 配方^[12](用去离子水配制,含 NaHCO_3 96mg/L, $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 60mg/L, MgSO_4 60mg/L, KCl 4mg/L, pH 7.5 左右)。每天投喂蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*),小球藻的培养条件同杨家新^[13]。投喂前用轮虫培养液在 4000r/min 下反复离心冲洗几次,再用轮虫培养液将小球藻浓度调至 $(2 \sim 3) \times 10^6$ cells/ml。轮虫的培养条件为:光照强度约 4000lx,昼长比 L:D = 16:8,温度 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 。培养期间,每天更换 1 次培养液并检查轮虫的产卵状况。

1.2 实验药品的配制

氰戊菊酯($\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{ClNO}_3$, 纯度 99.8%)和三丁基氯化锡($\text{C}_{12}\text{H}_{27}\text{ClSn}$, 纯度 96.2%)购于 Sigma-Aldrich 公司。用丙酮溶液(分析纯)作为溶剂分别将其配置成 10 000mg/L 的母液,实验时按照等比法用轮虫培养液和离心浓缩的小球藻配制不同浓度梯度的实验溶液,其中氰戊菊酯的浓度为 0.64、3.2、16、80、400 $\mu\text{g/L}$ 和 2000 $\mu\text{g/L}$;TBTC 的浓度为 0.0016、0.008、0.04、0.2、1 $\mu\text{g/L}$ 和 5 $\mu\text{g/L}$ 。

1.3 轮虫的实验培养与参数记录

从实验室纯化培养的蓼花臂尾轮虫中挑取单个活泼健壮的新生幼体(龄期 $< 2 \sim 4\text{h}$)放入不同药物水平

的培养孔中培养(0.8ml 新鲜轮虫培养基/孔)。实验设 1 组空白对照,每个浓度水平设 10 组平行,培养条件同上。实验过程每 3h 观察 1 次,24h 更换 1 次培养基。分别记录每个亲代单次携卵量、混交雌体数、后代数等,并及时用微吸管把轮虫幼体吸入正常培养基培育至携卵,根据卵的大小、形状和颜色对雌体类型进行鉴别。

1.4 实验指标的选择与计算

实验以亲代单次携卵量、总产卵量和后代数以及亲代和 F_1 代混交雌体比率和 MF/AF 为实验终点。

实验指标的计算:

$$MF\% = MF / (MF + AF) \times 100\%$$

式中, MF 为混交雌体; AF 为非混交雌体; MF/AF 为混交雌体数/非混交雌体数

1.5 数据分析

应用统计软件 SPSS13.0 对实验数据进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),LSD 法对各激素水平进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 亲代单次携卵量

本实验结果表明(图 1):随氟戊菊酯浓度的升高亲代携 2、3 和 4 个卵的频次都比对照组高,方差分析(LSD)结果显示,氟戊菊酯对亲代携 2 个和 3 个卵频次的影响较为明显,浓度在 0.64、3.2、400 $\mu\text{g/L}$ 和 2000 $\mu\text{g/L}$ 时,亲代携 2 个卵的频次显著高于对照组($p < 0.05$),亲代携 3 个卵的频次在氟戊菊酯各浓度水平(除 3.2 $\mu\text{g/L}$)也都显著高于对照组($p < 0.05$),而携 1 个卵的频次显著低于对照组($p < 0.05$)。

如图 2 所示 TBTC 对蓼花臂尾轮虫亲代单次携卵数量的影响,各处理组亲代携 1 个卵的频次(除 5 $\mu\text{g/L}$ 外)都高于对照组,而携 3 个和 4 个卵的频次相反。方差分析结果显示,TBTC 浓度为 0.0016、0.04、0.2 $\mu\text{g/L}$ 和 1 $\mu\text{g/L}$ 时,亲代携 3 个和 4 个卵的频次都显著低于对照组($p < 0.05$),且在浓度为 0.0016 $\mu\text{g/L}$ 和 0.04 $\mu\text{g/L}$ 时亲代携 1 个卵的频次与对照差异极显著($p < 0.01$),亲代携 1 和 4 个卵的频次在各个浓度组之间也有一定的差异性($p < 0.05$)。

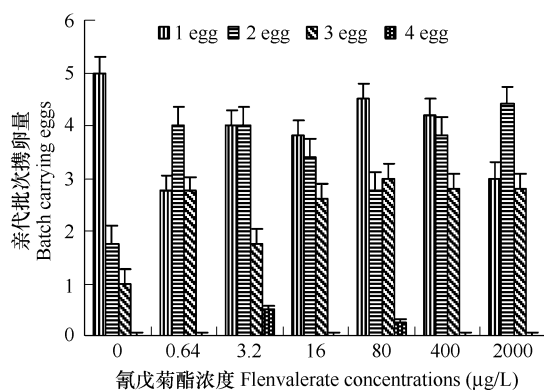


图 1 氟戊菊酯对蓼花臂尾轮虫亲代批次携卵量的影响

Fig. 1 The effect of Fenvalerate on the batch carrying eggs (P)

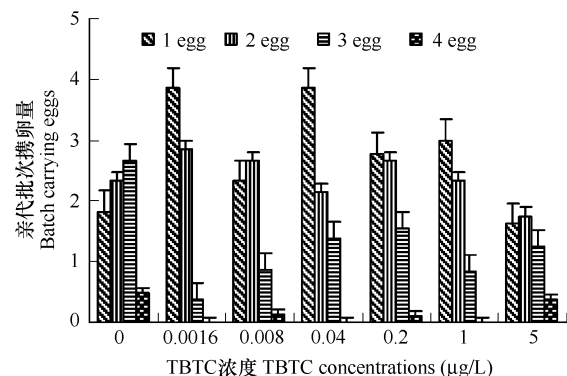


图 2 TBTC 对蓼花臂尾轮虫亲代批次携卵量的影响

Fig. 2 The effect of TBTC on the batch carrying eggs (P)

2.2 亲代和子代混交率

氟戊菊酯处理可以提高蓼花臂尾轮虫的混交率(图 3)。与对照组比较,氟戊菊酯在低浓度组(0.64 $\mu\text{g/L}$ 和 3.2 $\mu\text{g/L}$)对亲代混交率和 F_1 代混交率影响较为显著($p < 0.05$),且浓度 0.64 $\mu\text{g/L}$ 时差异极显著($p < 0.01$),多重比较表明,氟戊菊酯在浓度 0.64 $\mu\text{g/L}$ 组与 2000 $\mu\text{g/L}$ 浓度组的差异极为显著($p < 0.01$);但较高浓度水平的氟戊菊酯对亲代和子代混交率没有显著影响($p > 0.05$)。

TBTC 对蓼花臂尾轮虫亲代和子代混交率的影响在较高浓度时较为显著(如图 4)。方差分析显示,TBTC 最高浓度组(5 $\mu\text{g/L}$)亲代混交率显著高于对照组($p < 0.01$)。各浓度水平的 TBTC(除 0.2 $\mu\text{g/L}$)对蓼花臂尾

轮虫子代混交率的影响与对照组比较差异都极显著($p < 0.01$),但各浓度组间没有显著差异($p > 0.05$)。

2.3 亲代和子代 MF/AF

氰戊菊酯和TBTC对亲代和子代MF/AF的影响如表1。亲代MF/AF只在氰戊菊酯两个最低实验浓度时与对照组存在显著性差异($p < 0.05$),且两个最低处理组与其它组之间也存在显著性差异。但氰戊菊酯对子代MF/AF没有显著影响。TBTC仅在5μg/L时亲代MF/AF显著高于对照组($p < 0.05$),而子代MF/AF在0.0016、0.008、0.04μg/L和5μg/L时都与对照组存在显著差异。

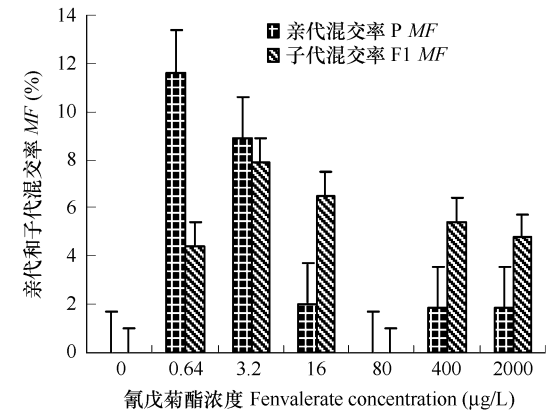


图3 氰戊菊酯对蓼花臂尾轮虫亲代和子代混交率的影响

Fig.3 The effect of Fenvalerate on the MF% of parents and F₁

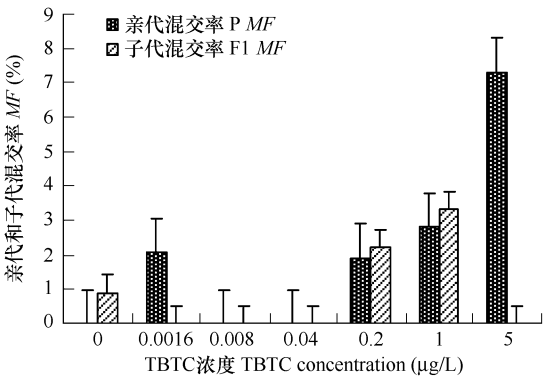


图4 TBTC对蓼花臂尾轮虫亲代和子代混交率的影响

Fig.4 The effect of TBTC on the MF% of parents and F₁

表1 氰戊菊酯和TBTC处理对亲代和子代MF/AF影响LSD法多重比较的结果

Table 1 The multiple comparisons(LSD) of Parental and Offspring MF/AF exposing Fenvalerate and TBTC

自变量 Dependent variable	药物浓度 Chemical concentrations(μg/L)		均差 Mean difference	标准误 Std. error	尾概率 Sig.	95% 置信限 Confidence interval
氰戊菊酯 Fenvalerate						
亲代(P) <i>MF/AF</i>	0	0.64	-0.11	0.04	0.015	-0.197 ~ -0.024
		3.2	-0.13	0.04	0.003	-0.206 ~ -0.046
	0.64	80	0.11	0.04	0.015	0.024 ~ 0.197
		2000	0.09	0.04	0.043	0.003 ~ 0.176
	3.2	16	0.08	0.04	0.034	0.007 ~ 0.159
		80	0.13	0.04	0.003	0.046 ~ 0.206
		400	0.09	0.04	0.022	0.014 ~ 0.175
		2000	0.11	0.04	0.012	0.025 ~ 0.186
三丁基氯化锡 TBTC						
亲代(P) <i>MF/AF</i>	5	0	0.10	0.04	0.021	0.016 ~ 0.193
		0.008	0.10	0.05	0.028	0.012 ~ 0.198
		0.04	0.10	0.04	0.021	0.016 ~ 0.193
子代(F1) <i>MF/AF</i>	0	0.0016	0.12	0.05	0.024	0.017 ~ 0.231
		0.008	0.12	0.06	0.031	0.013 ~ 0.236
		0.04	0.12	0.05	0.024	0.017 ~ 0.231
		5	0.12	0.05	0.020	0.021 ~ 0.227

* 表示多重比较后各浓度组之间存在显著差异 Sig. <0.05 demonstrate the mean difference is significant at the 0.05 level

2.4 亲代总产卵量和后代数

图5可以看出:氰戊菊酯处理组,亲代总产卵数量都高于对照组(最高达21.75个)。方差分析结果显示,亲代总产卵量除最低实验浓度组(0.64μg/L)与对照组无显著差异外,其它各浓度处理组都显著高于对照

组($p < 0.05$),且药物浓度在 $80 \sim 2000 \mu\text{g/L}$ 时,亲代总产卵量与对照组比较差异极显著($p < 0.01$)。氰戊菊酯浓度仅在 $400 \mu\text{g/L}$ 和 $2000 \mu\text{g/L}$ 时,后代数与对照组之间差异较显著($p < 0.05$),且 $2000 \mu\text{g/L}$ 时差异极显著($p < 0.01$)。

图 6 可以看出:TBTC 在浓度 $0.008 \sim 5 \mu\text{g/L}$ 时显著降低了萼花臂尾轮虫亲代总产卵量和后代数($p < 0.05$),且后代数在 $0.2 \sim 5 \mu\text{g/L}$ 浓度组时与对照组比较差异极显著($p < 0.01$)。

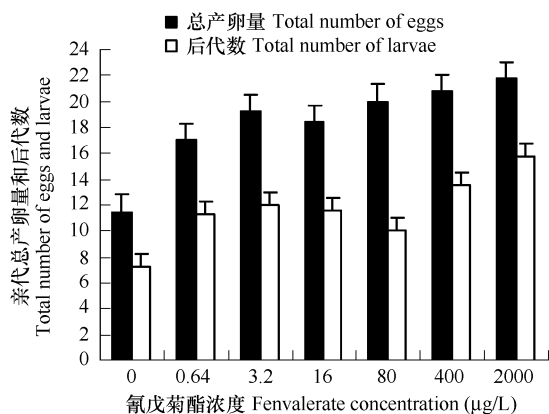


图 5 氰戊菊酯对萼花臂尾轮虫亲代总产卵量和后代数的影响

Fig. 5 The effects of Fenvalerate on the total number of eggs and larvae production (P)

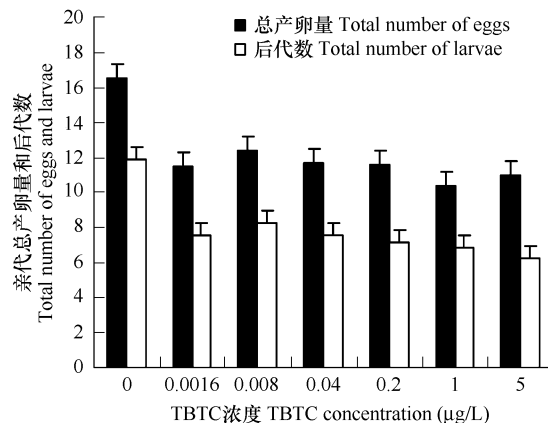


图 6 TBTC 对萼花臂尾轮虫亲代总产卵量和后代数的影响

Fig. 6 The effects of TBTC on the total number of eggs and larvae production (P)

3 讨论

3.1 氰戊菊酯和 TBTC 对生殖的影响

氰戊菊酯作为一种新型农药,由于其高效、低毒而被广泛应用。它通过激活雌激素受体显示拟雌激素活性,可影响支持细胞的功能来干扰下丘脑-性腺轴的调节作用使精子发生过程受损,降低精子活力和密度、增加畸形精子数量,损伤精子 DNA 等,并影响生殖激素水平,具有生殖毒性。有机锡化合物广泛应用于工业、农业和化工等部门,主要用作船舶的防污涂料、杀虫剂和杀菌剂等。有机锡化合物和 ER 同族受体 RXR (视黄醇类 X 受体)有很高的亲和力,通过抑制芳香酶而抑制雄激素向雌激素的转化,从而导致雌性个体生殖失败,幼体数目减少,雌性雄性化现象不断发生^[14]。关于拟除虫菊酯类农药和有机锡对水生生物生殖毒性的研究已有报道^[15~17]。菊酯类农药对轮虫、原生动物、甲壳动物等种群动态影响的研究表明轮虫的种群丰度与拟除虫菊酯的浓度密切相关。有机锡会导致玉黍螺 (*Littorina littorea*) 和泥螺 (*Ilyanassa obsoleta*) 睾酮分泌降低。

3.2 对亲代单次携卵量的影响

研究显示,大型溞 (*Daphnia magna*) 作为监测水域生态系统污染的标准受试动物,其生殖相关的实验终点与水域生态系统的内分泌扰乱密切相关。端足类钩虾 (*Gammarus pulex*) 的慢性毒性实验也表明 μg 级的 17α -乙炔雌二醇 (EE_2) 就会使其种群数量增多^[18]。与轮虫内分泌干扰相关研究结果表明,一些脊椎动物激素 (如生长激素 (GH)、雌二醇 (E_2)、保幼激素等 (JH)) 都会使褶皱臂尾轮虫携卵量受到影响,在萼花臂尾轮虫培养基中添加 VE,一定浓度范围会使卵雌比升高^[19,20];某些类固醇激素,如乙炔雌二醇、睾酮 (testosterone) 也会对萼花臂尾轮虫的生殖力造成影响^[21]。

Gallardo 曾报道生长激素 (GH) 和 γ -丁氨酸 (GABA) 能够影响亲代携卵量,从而提高了轮虫种群增长率。本实验结果也表明萼花臂尾轮虫的单次携卵数量会受到氰戊菊酯和 TBTC 的影响,这与 Gallardo 等的观测一致^[22,23]。从氰戊菊酯对萼花臂尾轮虫批次携卵量的影响看,亲代携 2 个和 3 个卵的频次在多个浓度都明显高于对照组,而携 1 个卵的次数比对照组低,说明氰戊菊酯可以提高萼花臂尾轮虫携较多卵的频次。而 TBTC 处理组使亲代携 3 个和 4 个卵的频次都显著低于对照组,说明 TBTC 对萼花臂尾轮虫携多个卵的次数存在抑

制作用,进而会对其种群增长产生抑制作用,这与 TBT 对大型蚤生殖的抑制一致^[17]。所以本实验结果认为以轮虫单次携卵量作为内分泌干扰的指标具有潜在的应用价值。

3.3 对亲代和子代混交率的影响

以往研究结果表明,外源性激素处理褶皱臂尾轮虫其种群的降低或增长明显受到刺激物对孤雌生殖的抑制效应。如保幼激素(JH, 0.5、0.5 mg/L), 17 β -雌二醇(E₂, 50 mg/L), γ -丁氨酸(GABA, 0.5、5 和 50 mg/L) 都会明显引发混交雌体的产生^[21]。Gallardo 进一步研究发现 5 和 50 μ g/ml JH 处理母体会明显提高轮虫子代混交雌体的产生^[23]。人工合成促性腺激素释放激素(GnRH) 在 0.05 μ l/ml 的水平时就会诱导混交雌体的产生^[24]。

氰戊菊酯慢性毒性实验显示,亲代和子代的混交率都高于对照组,但仅在低浓度时与对照存在显著差异。可能蓼花臂尾轮虫的有性生殖比孤雌生殖更为敏感,微量水平的药物对蓼花臂尾轮虫的有性生殖就会造成影响^[25],这与五氯酚(PCP)和毒死蜱(chlorpyrifos)反而在较低浓度显著降低了其有性生殖率一致^[26]。TBTC 仅在 5 μ g/L 时才会使亲代混交率明显高于对照组,而子代混交率在各浓度组都明显低于对照组,这与 Gross 对钩虾慢性毒性实验结果一致,即乙炔雌二醇使其混交雌体数量增高,而雄激素与之相反^[18]。其对于一代的有性生殖的抑制作用,可能是由于更新培养基冲淡了某些化学信号,使雄雌体的产生受到抑制^[27]。总之,亲代和子代混交雌体的产生对环境雌激素和雄激素的不同效应可能涉及到轮虫的周期性繁殖,有性生殖的产生可能受到内分泌机制的控制^[28],因此混交雌体的产生可作为探测环境激素对其内分泌扰乱的有效指标。

3.4 对亲代和子代 MF/AF 的影响

研究表明,外源雌激素会引起水蚤雌性后代数量增多,有机锡类也会导致螺类和桡足类后代性别比例失调^[9]; Marcial 等用 0.01 ~ 100 mg/L 雌二醇处理桡足类,发现其对生殖力没有任何影响,但雌性比例相对增多, F₁ 代的生殖也会受到一定影响^[10]。关于内分泌干扰物和类固醇激素对蓼花臂尾轮虫生殖和 MF/AF 的比率的影响也已有相关报道,如某些雌激素会蓼花臂尾轮虫 MF/AF 比率降低,但壬基酚与之相反^[21,29]。

本实验结果显示,氰戊菊酯两个低浓度组与对照组之间差异显著,说明有性生殖更为敏感。TBTC 在各浓度组与对照都存在显著差异,可能是由于 TBTC 具有雌性雄化的作用,从而对产雄雌体的诱导有一定的作用。Gilbert 曾指出,蓼花臂尾轮虫混交雌体的产生是由外界环境刺激引起的^[30]。从氰戊菊酯和 TBTC 对蓼花臂尾轮虫的影响看,内源雌性和雄性激素的产生可能在某些外源因素控制之下,并对不同激素的刺激有放大作用,使内源激素受体结合受到扰乱,从而在蓼花臂尾轮虫混交雌体的产生中发挥一定的作用。虽然并不清楚某些激素在轮虫体内是否存在,但在培养基中添加激素类似物对轮虫生殖的影响表明其存在的可能性,因此 MF/AF 也可以作为轮虫对环境激素扰乱的指示参数。

3.5 对亲代总产卵量和后代数的影响

环境激素对生殖的影响主要表现为生殖能力的变化,包括生殖能力降低、孵化率降低、子代成活率下降等,如环境激素会影响桡足类的生殖力,使每个雌体产生的幼体数量明显增加。如环境激素类物质对桡足类汤氏纺锤水蚤(*Acartia tonsa*) 和日本虎足水蚤(*Tigriopus japonicus*) 幼体发育有一定的影响,桡足类近亲真宽水蚤(*Eurytemora affinis*) 子代发育也取决于雌激素的浓度^[31]。

本研究发现,氰戊菊酯处理显著提高了亲代总产卵量和后代数,在 80 ~ 2000 μ g/L 时总的产卵量都显著高于对照组,可以看出氰戊菊酯会提高轮虫生命周期总的产卵量,进而提高其种群数量,这与 Sugumar 和 Clément 等的观测结果一致^[24,32];而 TBTC 与之相反,与其对大型蚤生殖的研究结果一致^[6]。所以与轮虫种群增长有关的实验指标可以作为监测环境激素对生殖扰乱的适宜的实验终点。

实验室条件检测某一生物种属的内分泌扰乱是评价环境激素对整个水域生态系统中的水生生物种群和群落不利影响的第一步。已有研究检测到褶皱臂尾轮虫混交雌体体表具有一分子量为 29 kDa 的糖蛋白,这种糖蛋白被雄性头冠的化学感受器识别而发生交配行为,轮虫的受精和休眠卵产生可能受到内分泌机制的调控,但在蓼花臂尾轮虫还未见相关报道^[33]。潜在的环境内分泌干扰物对轮虫生殖的影响已有研究,因大多无

脊椎动物激素种属间存在交叉效应,某些生理系统激素调节进化比较保守,萼花臂尾轮虫体内也可能存在相似调节因子,具有此类激素的受体或与之相同或相似的内源或外源激素,从而对其生殖和发育造成一定的影响。外源性激素的存在会对轮虫的生活史周期产生一定的影响,也会对轮虫的生殖行为产生干扰,且外源环境激素对萼花臂尾轮虫生殖的影响很可能会通过胁迫或与轮虫内源激素反应来实现,因此各生殖参数的变化可作为其监测内分泌干扰的有效方法^[34-36]。

总之,环境激素(环境雌激素效应类和雄激素效应类)对萼花臂尾轮虫孤雌生殖(非混交雌体比率)和有性生殖(混交雌体比率)的调控是否与内分泌干扰有关,环境激素类物质是否会对单次携卵量、总产卵量和后代数产生抑制或促进作用需要进一步深入的分析与评判。

References:

- [1] Baldwin W S, LeBlanc G A. Identification of multiplesteroids hydroxylases in *Daphnia magna* and their modulation by xenobiotics. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1994, 13 (7): 1013—1021.
- [2] Tang X X, Xu J Y, Li Y Q. Biological study on the toxicity of organophosphorus pesticide to microalgae. VI. Toxicity effect of parathion on four kinds of marine microalga. *Marine Environmental Science*, 1998, 17(1): 1—6.
- [3] Ke L X, Xi Y L, Zha C W, *et al.* Effects of methamidophos and 17 β -estradiol on the dynamics of experimental population of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(1): 157—162.
- [4] Zhong X P, Xu Y, Liang Y, Liao T, *et al.* Effects of diethylstilbestrol exposure in early life stage on development and reproduction in rare minnow, *Gobiocypris Rarus*. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2005, 29(6): 667—672.
- [5] Wang J J, Xu C, Tu Y J, *et al.* Experimental research and application of zebrafish and embryos in toxicology. *Asian Journal of Ecotoxicolog*, 2007, 2(2): 123—135.
- [6] Zou E, Fingerman M. Endocrine disruption of sexual development, reproduction and growth in crustaceans by environmental organic contaminants: current perspectives. *Curr. Top. Pharmacol*, 2003, 7: 69—80.
- [7] Dang Z C, Yu C Y, Li Y Q. Effect of TBT on rotifer *Brachionus plicatilis*, *Marine Environmental Science*, 1993, 2: 6—11.
- [8] Breitholtz M, Bengtsson B E. Oestrogens have no hormonal effect on the development and reproduction of the harpacticoid copepod *Nitocra spinipes*. *Mar. Pollut. Bull*, 2001, 42: 879—886.
- [9] Preston B L, Snell T W. Full life-cycle toxicity assessment using rotifer resting egg production: implications for ecological risk assessment. *Environmental Pollution*, 2001, 114: 399—406.
- [10] Marcial S H, Hagiwara A, Snell T W. Effect of some pesticides on reproduction of rotifer *Brachionus plicatilis*. *Hydrobiologia*, 2005, 546: 569—575.
- [11] Judith V, Rios-Aranal, Gardea-Torresdey J, *et al.* Walsh. Heat shock protein 60 (HSP60) response of *Platyonus patulus* (Rotifera; Monogononta) to combined exposures of arsenic and heavy metals. *Hydrobiologia*, 2005, 546: 577—585.
- [12] American Society for testing and Materials. Standard Guide for Acute Toxicity Test with the Rotifer *Brachionus*. ASTM, 2002, vol. 11.05, method E 1440, 806—813.
- [13] Yang J X, Huang X F. Effect of density and temperature on the egg and mictic female production by *Brachionus calyciflorus* (Rotifera; Monogononta). *Journal of Lake Sciences*, 1996, 8(4): 367—372.
- [14] Jobling S, Tyler C R. Endocrine disruption, parasites and pollutants in wild freshwater fish. *Parasitology*, 2003, (suppl): 126, S103-8.
- [15] Xu X P, Xi Y L, Chu Z X. Effect of deltamethrin on experimental population dynamics of freshwater rotifers *Brachionus calyciflorus*. *Acta Zoologica Sinica*, 2005, 51(2): 251—256.
- [16] Wendt-Rasch L, Friberg-Jensen U, Woin P, *et al.* Effects of the pyrethroid insecticide cypermethrin on a freshwater community studied under field conditions. II. Direct and indirect effects on the species composition. *Aquatic Toxicology*, 2003, 63: 373—389.
- [17] Gooding M P, Wilson V S, Folmar L C, *et al.* The biocide tributyltin reduces the accumulation of testosterone as fatty acid esters in the mud snail *Ilyanassa obsoleta*. *Environ. Health Perspect*, 2003, 111: 426—430.
- [18] Gross M Y, Maycock D S, Thorndyke C, *et al.* Abnormalities in sexual development of the amphipod *Gammarus pulex* (L.) found below sewage treatment works. *Environ. Toxicol. Chem*, 2001, 20: 1792—1797.
- [19] Yang J X, The effect of vitamin E on reproduction of *Brachionus calyciflorus* (rotifer; monogononta). *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24: 251—256.
- [20] Radix P, Severin G, Schramm K W, *et al.* Reproduction disturbances of *Brachionus calyciflorus* (rotifer) for the screening of environmental endocrine disrupters. *Chemosphere*, 2002, 47: 1097—1101.

- [21] Gallardo W G, Hagiwara A, Tomita Y, *et al.* Effect of some vertebrate and invertebrate hormones on the population growth, mictic female production, and body size of the marine rotifer *Brachionus plicatilis* Muller. *Hydrobiologia*, 1997, 358: 113 — 120.
- [22] Gallardo W G, Hagiwarac, A, Tomita, Y, *et al.* Effect of growth hormone and γ -aminobutyric acid on *Brachionus plicatilis* (Rotifera) reproduction at low food or high ammonia levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1999, 240(2): 179 — 191.
- [23] Gallardo W G, Hagiwara A, Tomita Y, *et al.* 2000a. Effect of juvenile hormone and serotonin (5-HT) on mixis induction of the rotifer *Brachionus plicatilis* Muller. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 2000, 252: 97 — 107.
- [24] Sugumar V, Munuswamy N. Induction of population growth, mictic female production and body size by treatment of a synthetic GnRH analogue in the freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Aquaculture*, 2006, 258: 529 — 534.
- [25] Snell T W, Carmona M J. Comparative toxicant sensitivity of sexual and asexual reproduction in the rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 1995, 14(3): 415 — 420.
- [26] Preston B L, Snell T W, Robertson T L, *et al.* Use of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* in screening assay for potential endocrine disruptors. *Environ. Toxicol. Chem.*, 2000, 19: 2923 — 2928.
- [27] Hino A, Hirano R. Ecological studies on the mechanism of bisexual reproduction in the rotifer *Brachionus plicatilis*-I: General aspects of bisexual reproduction inducing factors. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 1976, 42: 1093 — 1099.
- [28] Gallardo W G, Hagiwara A, Hara K, *et al.* GABA, 5-HT and amino acids in the rotifers *Brachionus plicatilis* and *Brachionus rotundiformis*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 2000, 127A: 301 — 307.
- [29] Snell T W. Chemical ecology of rotifers. *Hydrobiologia*, 1998, 387 — 388: 267 — 276.
- [30] Gilbert J J. Mictic female production in the rotifer *Brachionus calyciflorus*. *J. Exp. Zool.*, 1963, 53: 113 — 124.
- [31] Forget-Leray J, Landriau I, Minier C, *et al.* Impact of endocrine toxicants on survival, development, and reproduction of the estuarine copepod *Eurytemora affinis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2005, 60: 288 — 294.
- [32] Clément P, Wurdak E, Amsellem J. Behaviour and ultrastructure of sensory organs in rotifers. *Hydrobiologia*, 1983, 104: 89 — 130.
- [33] Snell T W, Rico-Martinez R, Kelly L N. Identification of a sex pheromone from a rotifer. *Mar. Biol.*, 1995, 123: 347 — 353.
- [34] Girling A E, Pascoe D, Janssen C R, *et al.* Development of methods for evaluating toxicity to freshwater ecosystems. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 2000, 45: 148 — 76.
- [35] Preston B L, Snell T W, Robertson T L, *et al.* Use of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* in screening assay for potential endocrine disruptors. *Environ. Toxicol. Chem.*, 2000, 19: 2923 — 2928.
- [36] Snell T W, Célia. Joaquim-Justo. Workshop on rotifers in ecotoxicology. *Hydrobiologia*, 2007, 593: 227 — 232.

参考文献:

- [2] 唐学玺, 徐家英, 李永祺. 久效磷农药对海洋微藻致毒性生物学研究 VI. 对硫磷对四种海洋微藻的毒性效应. *海洋环境科学*, 1998, 14(2): 1 ~ 5.
- [3] 柯丽霞, 席贻龙, 查春旺. 甲胺磷和 17 β -雌二醇对蓼花臂尾轮虫实验种群动态的影响. *应用生态学报*, 2008, 19(1): 157 ~ 162.
- [4] 钟雪萍, 徐盈, 梁勇, 等. 稀有鮰鲫生命早期的己烯雌酚暴露对生殖发育与繁殖的影响. *水生生物学报*, 2005, 29(6): 667 ~ 672.
- [5] 王佳佳, 徐超, 屠云杰, 等. 斑马鱼及其胚胎在毒理学中的实验研究与应用进展. *生态毒理学报*, 2007, 2(2): 123 ~ 135.
- [7] 党志超, 于春燕, 李永祺. 三丁基锡对褶皱臂尾轮虫的影响. *海洋环境科学*, 1993, 2: 6 ~ 11.
- [13] 杨家新, 黄祥飞. 温度和密度对蓼花臂尾轮虫产卵量和混交雌体形成的影响. *湖泊科学*, 1996, 8(4): 367 ~ 372.
- [15] 徐晓平, 席贻龙, 储昭霞. 溴氰菊酯对蓼花臂尾轮虫实验种群动态的影响. *动物学报*, 2005, 51(2): 251 ~ 256.
- [19] 杨家新. 维生素 E 对蓼花臂尾轮虫繁殖的影响. *生态学报*, 2004, 24(8): 251 ~ 256.