

DOI: 10.5846/stxb201610192135

项贤领, 朱晔麟, 徐秋磊, 朱凌云, 席贻龙. 盐酸四环素浓度和食物密度对萼花臂尾轮虫生活史特征的综合影响. 生态学报, 2017, 37(22): 7718-7728.

Xiang X L, Zhu Y L, Xu Q L, Zhu L Y, Xi Y L. Comprehensive effects of tetracycline hydrochloride concentration on life history traits of *Brachionus calyciflorus* under different food densities. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37(22): 7718-7728.

盐酸四环素浓度和食物密度对萼花臂尾轮虫生活史特征的综合影响

项贤领^{1,2,*}, 朱晔麟¹, 徐秋磊¹, 朱凌云¹, 席贻龙^{1,2}

1 安徽师范大学生命科学学院, 芜湖 241000

2 安徽省高校“生物环境与生态安全”省级重点实验室, 芜湖 241000

摘要:近年来, 抗生素的环境污染问题已引起人们的广泛关注, 其在环境中的残留可对水生态系统的结构和功能产生重要影响。迄今, 盐酸四环素浓度和食物密度对轮虫生活史特征的影响研究尚未见报道。以萼花臂尾轮虫 (*Brachionus calyciflorus*) 为受试动物, 研究了在不同斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 密度下, 不同浓度的盐酸四环素 (Tetracycline hydrochloride) 对萼花臂尾轮虫生活史特征的影响。结果表明, 食物密度和盐酸四环素浓度对轮虫的生命期望、净生殖率、世代时间、内禀增长率、平均寿命和后代混交率, 以及食物密度和盐酸四环素浓度间交互作用对除了内禀增长率外的其他 5 个统计学参数均具有显著影响。在各食物密度下, 轮虫的特定年龄繁殖率峰值随着盐酸四环素浓度的增加呈现先增加后降低的趋势; 盐酸四环素对轮虫生长和繁殖参数的影响呈现“低促高抑”的特点。3 个食物密度下, 高浓度的盐酸四环素显著提高了萼花臂尾轮虫的后代混交率, 且在 1.0×10^6 个/mL 藻密度下毒物浓度与轮虫后代混交率间具有显著的剂量-效应关系。食物密度的高低显著影响盐酸四环素对萼花臂尾轮虫的毒性效应。

关键词: 盐酸四环素; 食物密度; 萼花臂尾轮虫; 生命表; 生活史特征

Comprehensive effects of tetracycline hydrochloride concentration on life history traits of *Brachionus calyciflorus* under different food densities

XIANG Xianling^{1,2,*}, ZHU Yelin¹, XU Qiulei¹, ZHU Lingyun¹, XI Yilong^{1,2}

1 College of Life Sciences, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China

2 Key Laboratory of Biotic Environment and Ecological Safety in Anhui Province, Wuhu 241000, China

Abstract: Increasing attention has been paid to the challenging issue of environmental pollution by antibiotics in recent years, and the structure and functioning of aquatic ecosystems could be disturbed by residues remaining in the environment. To date, however, few attempts have been made to investigate the effects of tetracycline hydrochloride on life history traits of rotifers under different food densities. In this study, the effects of tetracycline hydrochloride concentration on life table demography of *Brachionus calyciflorus* under different *Scenedesmus obliquus* densities were studied. The results showed that tetracycline hydrochloride concentration and food density had significant effects on life expectancy at hatching, net reproductive rate, generation time, intrinsic rate of population increase, average lifespan, and proportion of sexual offspring of *B. calyciflorus*. In addition, the interaction of tetracycline hydrochloride concentration and food density had a marked influence on five demographic parameters, except for the intrinsic rate of population increase, in rotifers. The peak of age-

基金项目: 国家自然科学基金(31470015, 31200324); 安徽省自然科学基金(1208085QC47, 1708085MC79); “重要生物资源保护和利用研究”安徽省重点实验室专项基金

收稿日期: 2016-10-19; 修订日期: 2017-02-17

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xiangxianling@163.com

specific fecundity in *B. calyciflorus* increased to a maximum and then decreased with increasing concentration of tetracycline hydrochloride under each food density. The effects of tetracycline hydrochloride on the growth and reproduction of *B. calyciflorus* presented a pattern of hormesis. Mixis rate of offspring in rotifers increased at the high concentration of tetracycline hydrochloride under the three food densities, and there were significant dose-effect relationships between tetracycline hydrochloride concentration and the proportion of sexual offspring at the 1.0×10^6 cells/mL food density. Levels of food density played an important role in the poisoning effects of tetracycline hydrochloride on *B. calyciflorus*.

Key Words: Tetracycline hydrochloride; food density; *Brachionus calyciflorus*; life table; life history trait

四环素类抗生素(Tetracyclines, TCs)是由放线菌合成的一类广谱抗生素,其对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、立克次体和衣原体等致病微生物均具有较强的抑制和灭杀作用^[1]。因其具有价廉、高效和广谱等优点,四环素作为兽药和饲料添加剂而被广泛应用于养殖业和畜牧业^[2-4]。研究表明,四环素类抗生素进入生物体内后,不能被机体完全吸收,其中有 30%—90%会再以母体化合物或代谢产物的形式随排泄物释放到环境中^[5-9],而目前使用的污水处理技术并不能完全消除抗生素残留,进而对人体健康和水生态系统构成长期潜在危害^[2]。

目前,我国长江三角洲、珠江三角洲等地区的地表水、地下水和畜禽水产养殖废水中都可检出四环素^[10-12],且其在全球水环境中的浓度有逐渐升高的趋势^[13-15]。研究表明,残留在环境中的四环素可以诱导环境中的微生物产生耐药性,从而使得抗性基因在非靶生物间扩散和传播,且在河流和污水处理厂的出入水与活性污泥中均检测到高水平的编码四环素抗性基因^[16-19],这给公共健康带来极大隐患。抗生素的长期超量使用还会对浮游动植物和其他水生生物产生影响,最终改变水生态系统的结构和功能^[20-21]。基于发光细菌的微毒(Microtox)急性毒性试验研究表明,盐酸四环素(Tetracycline hydrochloride, TCH)在 5 大类 20 种常用抗生素中毒性最强^[22]。研究表明,四环素能够抑制绿藻蛋白质的合成,并通过抑制叶绿体内合成酶的活性,对藻类生长产生抑制作用^[20, 23-24]。此外,四环素还能够影响浮游动物的生长与繁殖^[25-26],抑制水生动物多种酶的活性,如 β -半乳糖苷酶,并造成鱼类等较严重的 DNA 损伤。

轮虫(Rotifer)是广泛分布于各类水体中的浮游动物四大类群之一。因其体型微小、繁殖迅速、世代时间短和对污染物变化敏感等特点,轮虫已作为模式动物在环境监测和生态毒理学研究中发挥着重要作用^[27]。美国环保局已于 1991 年正式把萼花臂尾轮虫(*Brachionus calyciflorus*)和褶皱臂尾轮虫(*B. plicatilis*)分别作为淡水和海水污染的测试生物列入国家测试标准^[28]。自 20 世纪 70 年代以来,已有诸多研究以轮虫为受试生物开展了重金属^[29-33]、有机氯农药^[34-39]、有机磷农药^[40-41]和拟除虫菊酯类农药^[42]等化合物的急、慢性毒性实验^[43]。随着抗生素在畜牧业和水产养殖业中的广泛应用,开展轮虫对抗生素的应激响应研究显得尤为重要。已有学者证实,轮虫的生长与繁殖对抗生素浓度的变化非常敏感,大多呈现出“低促高抑”的双重效应^[21, 44-46]。然而,有关盐酸四环素对轮虫生活史特征的影响研究尚鲜有报道,仅见 Araujo 和 McNair^[47]开展了盐酸四环素对萼花臂尾轮虫和褶皱臂尾轮虫的生活史参数和种群增长的影响研究,结果表明,四环素对萼花臂尾轮虫的寿命和繁殖力均具有显著影响,其中总生殖率对抗生素浓度的变化最为敏感,其对盐酸四环素的 1%抑制浓度(IC_1)为 3.91 mg/L,上述影响随着四环素浓度的加大呈明显的加剧趋势。

作为重要的初级生产者,藻类在水体中可有效加速污染物降解,减缓毒物对浮游动物的毒害作用,因而,污染物对浮游动物的毒性作用会常常受到食物密度等因素的制约^[34]。近年来,食物密度和污染物浓度对轮虫种群增长的交互作用正逐渐引起了人们的关注^[48]。大量研究表明,水体污染物可抑制轮虫的种群增长,而较高的食物密度则能够降低毒物对轮虫种群增长的抑制作用^[49-53]。迄今,不同食物密度下盐酸四环素对轮虫生活史特征的影响研究尚未见报道。

本文以萼花臂尾轮虫为对象,采用生命表统计方法,研究了 3 个食物密度下的不同四环素浓度对萼花臂尾轮虫生命表参数的影响,旨在了解亚致死浓度的盐酸四环素对轮虫生长和繁殖的影响及其与藻类密度间的

交互关系,揭示浮游动物种群动态对抗生素的生态学响应,并为水环境的监测和化学污染物对水生生物的影响提供更为详实的参考资料。

1 材料与方法

1.1 轮虫的来源与培养

实验用萼花臂尾轮虫采自安徽省芜湖市镜湖。采集后的轮虫单克隆培养及后续实验均于 $(25\pm 1)^\circ\text{C}$ 、自然光照条件下(光照强度约 130 lx)的恒温培养箱中进行。培养液采用 EPA 配方^[54],每天投喂以 HB-4 培养基^[55]培养的处于指数增长期的斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*),离心浓缩后使用。培养时间在 1 个月以上。实验前,对萼花臂尾轮虫进行为期两周的预培养,期间每天更换 50% 轮虫培养液,并投喂密度分别为 1.0×10^6 、 2.0×10^6 、 4.0×10^6 个/mL 的斜生栅藻为食物,保持轮虫种群处于指数增长状态。

1.2 测试液的配置

实验所用的盐酸四环素购自生工生物工程上海(股份)有限公司,纯度为 USP Grade(>98.5%)。测试液按母液稀释法配置,实验前用蒸馏水配置 1.0 g/L 的母液,置于 4 °C 冰箱中备用。实验时用 EPA 将其配制成为所需浓度的测试液。

1.3 急性毒性实验

根据正式毒性实验前的预备实验结果将盐酸四环素设置为 60.0、80.0、100.0、120.0、140.0、160.0 mg/L 共 6 个浓度梯度,另设 1 个空白对照组。实验在特制的容积为 6 mL 的玻璃杯(使用前在相应浓度溶液中浸泡 48 h)中进行,每杯放入 10 只龄长小于 4 h 的轮虫幼体和 5 mL 测试液,内含密度分别为 1.0×10^6 、 2.0×10^6 、 4.0×10^6 个/mL 的斜生栅藻,每个浓度组设置 3 个重复,共计 63 组(7 个测试液浓度 \times 3 个食物密度 \times 3 个重复)。实验 24 h 后分别观察记录每个玻璃杯中轮虫的死亡数目,采用概率单位法求得盐酸四环素对萼花臂尾轮虫的 24 h LC_{50} 值。

1.4 生命表实验

根据急性毒性实验得出的 LC_{50} 值,将盐酸四环素浓度设置为 0、0.5、1.5、4.5、13.5、40.5 mg/L 等 6 个浓度梯度,每组均设 3 个重复,共计 54 组(6 个盐酸四环素浓度 \times 3 个食物密度 \times 3 个重复)。测试液的配制方法如前所述。实验时,分别由预培养的各轮虫中随机挑取若干携卵非混交雌体的轮虫母体置于与预培养时条件相同的烧杯内继续培养;4 h 后,取 10 只龄长小于 4 h 的轮虫幼体置于容积为 6 mL 的玻璃杯中,每杯添加体积为 5 mL、内含密度分别为 1.0×10^6 、 2.0×10^6 、 4.0×10^6 个/mL 斜生栅藻的各相应浓度盐酸四环素溶液(共 54 个玻璃杯)。实验开始后,每 12 h 观察记录各玻璃杯中轮虫母体的存活情况及所孵化的幼体数,随即移出所孵化的幼体置于干净的玻璃杯中并于相同条件下继续培养,待其产卵后确定其雌体类型,用于计算轮虫后代中的混交雌体百分率。实验期间,每 12 h 悬浮一次沉积于杯底的藻类食物,每 24 h 更换一次测试液。实验持续到所有轮虫母体全部死亡时为止。

1.5 研究参数定义与计算

特定年龄存活率(l_x): X 年龄组开始时存活个体百分数;特定年龄繁殖率(m_x): X 年龄组平均每个个体所产的雌性后代数;生命期望值(e_0):每个个体出生时能活多久的估计值;净生殖率(R_0):种群经过一个世代后的

净增长率, $R_0 = \sum_0^{\infty} l_x m_x$;世代时间(T):完成一个世代所需要的时间, $T = \frac{\sum l_x m_x x}{R_0}$;种群内禀增长率(r_m):

种群在特定实验条件下的最大增长率;根据方程 $r_m = \frac{\ln R_0}{T}$ 在粗略计算的基础上,再根据方程 $\sum_{x=0}^n e^{-r_m x} l_x m_x = 1$

在 Excel 中试算求得种群内禀增长率的精确值;平均寿命:所有轮虫母体的平均存活时间;后代混交率:所有雌性后代中混交雌体所占的比例。

1.6 数据处理

采用 SPSS 22.0 分析软件和 Excel 对数据进行分析,对所得数据作正态性分布检验后,对符合正态分布的各组数据通过双因素方差分析(Two-way ANOVA)检查食物密度、污染物浓度及两者间的交互作用对各参数影响的显著性,并对盐酸四环素浓度与各参数之间的关系进行回归分析;采用多重比较(LSD 检验)分析各参数的平均数在各组间(食物密度间和盐酸四环素浓度间)的差异显著性。

2 结果

2.1 不同藻密度下盐酸四环素对萼花臂尾轮虫的急性毒性

急性毒性实验结果显示,在(25±1) °C、自然光照的条件下,当食物密度分别为 1.0×10^6 、 2.0×10^6 、 4.0×10^6 个/mL 时,盐酸四环素对萼花臂尾轮虫幼体的 24 h LC_{50} 值分别是 107.95、116.92 mg/L 和 111.23 mg/L,三者间无显著差异($P > 0.05$),其 95% 的置信限分别为 100.34—113.69、110.62—123.51 mg/L 和 104.21—118.34 mg/L。

2.2 不同藻密度下盐酸四环素对萼花臂尾轮虫存活率和繁殖率的影响

3 个食物密度和 6 个盐酸四环素浓度下萼花臂尾轮虫的特定年龄存活率(l_x)和特定年龄繁殖率(m_x)如图 1 所示。在对照组及低浓度的盐酸四环素(0 mg/L 和 0.5 mg/L)存在下,随着食物浓度的增加,轮虫的全部死亡时间逐渐推迟,而其他浓度的盐酸四环素(1.5、13.5、40.5 mg/L)下,轮虫的全部死亡时间则随着食物密度的增加而逐渐提前。在对照组及低浓度(0、0.5、1.5 mg/L)的盐酸四环素条件下,投喂中等食物密度(2.0×10^6 个/mL)的轮虫出现死亡的时间最迟,而在高浓度的盐酸四环素(4.5、13.5、40.5 mg/L)条件下,低食物密度(1.0×10^6 个/mL)下的轮虫开始死亡的时间最迟。

在对照组及各盐酸四环素浓度下,轮虫的特定年龄繁殖率高峰值均随着食物密度的增加而增大;在各食物密度下,轮虫的特定年龄繁殖率高峰值在低浓度(0.5—4.5 mg/L)的盐酸四环素浓度下逐渐增加,而高浓度(13.5 mg/L 和 40.5 mg/L)的盐酸四环素则降低了特定年龄繁殖率高峰值。在盐酸四环素胁迫下(除 4.5 mg/L 外),轮虫的特定年龄繁殖率高峰值出现的时间在 1.0×10^6 个/mL 食物密度组最迟,而在 2.0×10^6 个/mL 食物密度组最早。

2.3 不同藻密度下盐酸四环素对萼花臂尾轮虫生命表参数的影响

双因素方差分析表明,食物密度和盐酸四环素浓度对轮虫的生命期望、净生殖率、世代时间、内禀增长率、平均寿命和后代混交率,以及食物密度和盐酸四环素浓度间交互作用对除了内禀增长率外的其他 5 个统计学参数均具有显著影响($P < 0.05$)(表 1)。多重比较分析结果(表 2)表明,与对照组相比,在各食物密度下,盐酸四环素对萼花臂尾轮虫的生命期望、净生殖率、世代时间、平均寿命和后代混交率都具有显著影响。如表 2 所示,当食物密度为 1.0×10^6 个/mL 时,1.5 mg/L 浓度盐酸四环素显著提高了轮虫的生命期望和平均寿命,1.5、4.5、13.5 mg/L 的盐酸四环素显著提高了轮虫的净生殖率,0.5 mg/L 和 1.5 mg/L 的盐酸四环素显著增加了轮虫的世代时间,13.5 mg/L 和 40.5 mg/L 的盐酸四环素显著提高了轮虫的混交率。在 2.0×10^6 个/mL 食物密度下,0.5 mg/L 的盐酸四环素显著提高了轮虫的生命期望、世代时间和平均寿命,而 4.5 mg/L 和 40.5 mg/L 的盐酸四环素却显著降低了轮虫的生命期望;4.5 mg/L 的盐酸四环素显著提升了轮虫的净生殖率,但 40.5 mg/L 的盐酸四环素显著降低了轮虫的净生殖率和平均寿命;40.5 mg/L 浓度盐酸四环素极显著提高了轮虫的混交率。当食物密度为 4.0×10^6 个/mL 环境下,除 0.5 mg/L 浓度外,其他浓度盐酸四环素显著缩短了轮虫的生命期望;4.5 mg/L 的盐酸四环素极显著提高了轮虫的净生殖率;1.5 和 13.5 mg/L 的盐酸四环素显著缩短了轮虫的世代时间;1.5、13.5、40.5 mg/L 的盐酸四环素显著缩短了轮虫的平均寿命;40.5 mg/L 的盐酸四环素极显著地提高了轮虫的后代混交率。

在对照组(0 mg/L)中, 2.0 个/mL 和 4.0×10^6 个/mL 的食物密度显著增加了萼花臂尾轮虫的生命期望、净生殖率、内禀增长率和平均寿命;0.5 mg/L 的盐酸四环素下, 2.0×10^6 个/mL 的食物密度显著增加了萼花臂尾

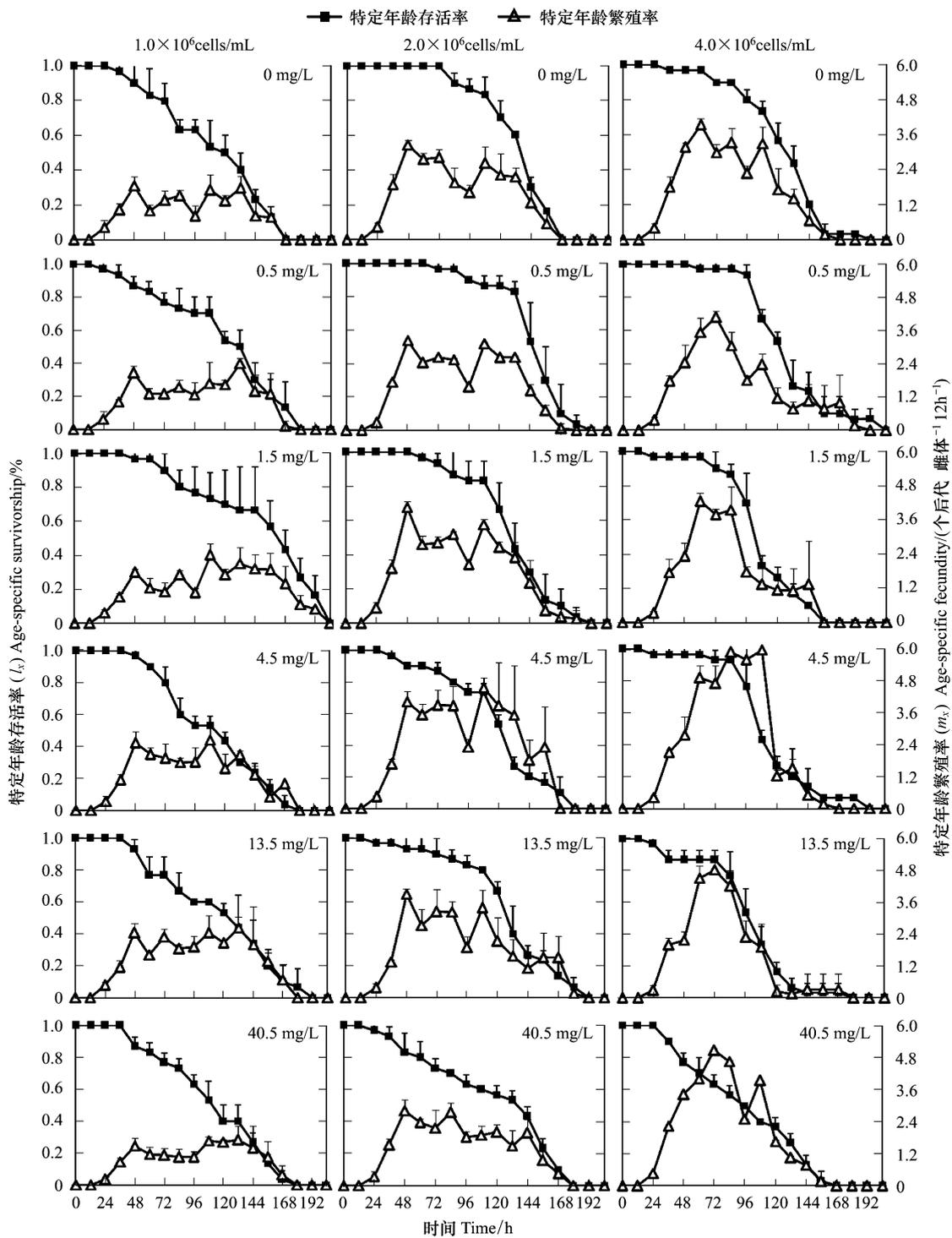


图 1 不同藻密度和盐酸四环素浓度下萼花臂尾轮虫的特定年龄存活率和特定年龄繁殖率

Fig.1 The age-specific survivorship (square) and fecundity curves (triangle) of *B. calyciflorus* at six TCH concentrations and three algal densities

轮虫的生命期望、净生殖率、内禀增长率和平均寿命,而世代时间和后代混交率在各食物密度间无显著差异; 1.5 mg/L 的盐酸四环素下, 1.0×10^6 个/mL 的食物密度显著增加了萼花臂尾轮虫的生命期望、世代时间和平均寿命,而净生殖率和内禀增长率在 2.0×10^6 个/mL 食物密度下最高; 4.5 mg/L 的盐酸四环素下, 2.0×10^6 个/mL 和 4.0×10^6 个/mL 的食物密度显著增加了萼花臂尾轮虫的净生殖率和内禀增长率,而其他各参数在各食物密度间无显著差异; 在 13.5 mg/L 的盐酸四环素下, 2.0×10^6 个/mL 和 4.0×10^6 个/mL 的食物密度显著增加了萼

花臂尾轮虫的净生殖率和内禀增长率,而 1.0×10^6 个/mL 和 2.0×10^6 个/mL 的食物密度显著提高了萼花臂尾轮虫的生命期望和平均寿命, 1.0×10^6 个/mL 的食物密度下轮虫的世代时间和后代混交率最高; 40.5 mg/L 的盐酸四环素下, 2.0×10^6 个/mL 和 4.0×10^6 个/mL 的食物密度显著增加了萼花臂尾轮虫的净生殖率,而 1.0×10^6 个/mL 和 2.0×10^6 个/mL 的食物密度显著提高了萼花臂尾轮虫的生命期望、世代时间和平均寿命, 4.0×10^6 个/mL 的食物密度下轮虫的内禀增长率和后代混交率最高。

表 1 食物密度和盐酸四环素浓度及其交互作用对萼花臂尾轮虫生命表统计学参数的影响

Table 1 Effects of food density, tetracycline hydrochloride (TCH) concentration and their interaction on life table demographic parameters of *B. calyciflorous*

参数和差异源 Parameter and source	平方和 SS Sum of square	自由度 <i>df</i> Degree of freedom	均方 MS Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
生命期望 Life expectancy at hatching					
食物密度 Food density (A)	3181.29	2	1590.65	21.42	<0.01
盐酸四环素浓度 TCH concentration (B)	3250.11	5	650.02	8.75	<0.01
A×B	3846.15	10	384.61	5.18	<0.01
Error	2672.88	36	74.25		
净生殖率 Net reproduction rate					
食物密度 Food density (A)	932.26	2	466.13	113.95	<0.01
盐酸四环素浓度 TCH concentration (B)	304.34	5	60.87	14.88	<0.01
A×B	210.86	10	21.09	5.15	<0.01
Error	147.26	36	4.09		
世代时间 Generation time					
食物密度 Food density (A)	1285.64	2	642.82	49.10	<0.01
盐酸四环素浓度 TCH concentration (B)	200.04	5	40.01	3.06	<0.05
A×B	1001.57	10	100.16	7.65	<0.01
Error	471.29	36	13.09		
内禀增长率 Intrinsic rate of population increase					
食物密度 Food density (A)	0.00175	2	0.00088	61.67	<0.01
盐酸四环素浓度 TCH concentration (B)	0.00025	5	0.00005	3.49	<0.05
A×B	0.00023	10	0.00002	1.64	>0.05
Error	0.00051	36	0.00001		
平均寿命 Mean lifespan					
食物密度 Food density (A)	2959.57	2	1479.79	20.05	<0.01
盐酸四环素浓度 TCH concentration (B)	3115.65	5	623.13	8.45	<0.01
A×B	4043.31	10	404.33	5.48	<0.01
Error	2656.32	36	73.79		
后代混交率 Mixis rate of offspring					
食物密度 Food density (A)	0.07	2	0.03	18.38	<0.01
盐酸四环素浓度 TCH concentration (B)	0.16	5	0.03	17.79	<0.01
A×B	0.18	10	0.02	9.72	<0.01
Error	0.07	36	0.00		

回归分析显示,当食物密度为 1.0×10^6 个/mL 时,盐酸四环素浓度与轮虫的净生殖率、内禀增长率和后代混交率间均具有显著的剂量-效应关系;当食物密度为 4.0×10^6 个/mL 时,盐酸四环素浓度与轮虫的生命期望期间具有显著的剂量-效应关系(表 3)。在食物密度为 2.0×10^6 个/mL 的条件下,盐酸四环素浓度与轮虫的生命表参数间均不存在显著的剂量-效应关系。

表 2 不同食物密度/($\times 10^6$ 个/mL)和盐酸四环素浓度/(mg/L)下萼花臂尾轮虫生命表统计学参数(均数 \pm 标准误)*Table 2 Life table demographic parameters of *B. calyciflorus* exposed to different concentrations of TCH at three food densities (Mean \pm SE)

参数 Parameters	食物密度 Food densities	盐酸四环素浓度 TCH concentrations					
		0	0.5	1.5	4.5	13.5	40.5
e_0 (h)	1	105.20 \pm 12.94 ^{Bb}	116.00 \pm 8.51 ^{Bb}	145.00 \pm 2.40 ^{Aa}	107.60 \pm 3.67 ^{Ab}	114.00 \pm 8.40 ^{Ab}	113.20 \pm 2.50 ^{Ab}
	2	130.40 \pm 2.77 ^{Ab}	142.40 \pm 9.77 ^{Aa}	127.20 \pm 9.8A ^{Bbc}	116.00 \pm 1.83 ^{Acd}	125.60 \pm 6.61 ^{Abcd}	114.80 \pm 3.67 ^{Ad}
	4	120.40 \pm 12.26 ^{ABa}	124.00 \pm 3.46 ^{Ba}	104.40 \pm 7.3 ^{Bbc}	106.80 \pm 7.3 ^{Ab}	94.80 \pm 1.2 ^{Bbc}	93.20 \pm 4.54 ^{Bc}
R_0 (个)	1	9.23 \pm 1.08 ^{Bde}	11.12 \pm 1.21 ^{Ced}	14.93 \pm 2.19 ^{Ba}	12.52 \pm 0.71 ^{Bbc}	13.85 \pm 1.17 ^{Bab}	8.34 \pm 0.99 ^{Bc}
	2	19.93 \pm 0.53 ^{Ab}	22.72 \pm 0.72 ^{Aab}	22.45 \pm 1.96 ^{Aab}	24.39 \pm 3.04 ^{Aa}	20.81 \pm 2.97 ^{Aab}	14.78 \pm 1.97 ^{Ac}
	4	20.87 \pm 3.48 ^{Ab}	19.48 \pm 1.92 ^{Bb}	17.50 \pm 1.29 ^{Bb}	27.79 \pm 3.6 ^{Aa}	17.26 \pm 1.3 ^{ABb}	17.43 \pm 2.16 ^{Ab}
T (h)	1	77.04 \pm 4.64 ^{Ac}	84.68 \pm 6.62 ^{Aab}	98.15 \pm 4.98 ^{Aa}	75.89 \pm 0.37 ^{Ac}	83.30 \pm 1.14 ^{Ab}	82.57 \pm 3.81 ^{Abc}
	2	78.12 \pm 1.84 ^{Ab}	84.53 \pm 5.81 ^{Aa}	78.07 \pm 3.76 ^{Bb}	80.67 \pm 3.98 ^{Aab}	80.26 \pm 1.37 ^{Bab}	80.90 \pm 1.46 ^{Aab}
	4	75.00 \pm 4.05 ^{Aa}	73.90 \pm 3.67 ^{Aab}	68.74 \pm 0.87 ^{Cbc}	75.92 \pm 3.33 ^{Aa}	68.10 \pm 1.14 ^{Cc}	70.56 \pm 3.8 ^{Babc}
r_m (d ⁻¹)	1	0.0371 \pm 0.005 ^{Bab}	0.0370 \pm 0.003 ^{Bab}	0.0378 \pm 0.002 ^{Ca}	0.0419 \pm 0.001 ^{Ba}	0.0418 \pm 0.002 ^{Ba}	0.0320 \pm 0.003 ^{Cb}
	2	0.0502 \pm 0.0003 ^{Aab}	0.0545 \pm 0.013 ^{Aa}	0.0526 \pm 0.002 ^{Aab}	0.0513 \pm 0.002 ^{Aab}	0.0485 \pm 0.002 ^{Aab}	0.0433 \pm 0.004 ^{Bb}
	4	0.0504 \pm 0.002 ^{Aab}	0.0493 \pm 0.002 ^{ABb}	0.0488 \pm 0.002 ^{Bb}	0.0533 \pm 0.004 ^{Aa}	0.0482 \pm 0.008 ^{Ab}	0.0498 \pm 0.009 ^{Aab}
ML(h)	1	93.20 \pm 12.94 ^{Bb}	104.00 \pm 8.51 ^{Bb}	133.20 \pm 1.03 ^{Aa}	95.60 \pm 3.67 ^{Ab}	102.00 \pm 8.40 ^{Ab}	101.20 \pm 2.50 ^{Ab}
	2	118.40 \pm 2.77 ^{Ab}	130.40 \pm 9.77 ^{Aa}	115.20 \pm 9.8 ^{ABb}	104.00 \pm 1.83 ^{Abc}	113.60 \pm 6.61 ^{Abc}	102.80 \pm 3.67 ^{Ac}
	4	108.40 \pm 12.6 ^{ABab}	112.00 \pm 3.46 ^{Ba}	92.40 \pm 7.3 ^{Bcd}	98.80 \pm 7.62 ^{Abc}	82.80 \pm 1.2 ^{Bd}	81.20 \pm 20.45 ^{Bd}
M(%)	1	0.19 \pm 0.01 ^{Bc}	0.21 \pm 0.06 ^{Abc}	0.20 \pm 0.01 ^{Ac}	0.28 \pm 0.02 ^{Abc}	0.45 \pm 0.02 ^{Aa}	0.31 \pm 0.02 ^{Bb}
	2	0.19 \pm 0.01 ^{Bb}	0.18 \pm 0.02 ^{Ab}	0.15 \pm 0.05 ^{Ab}	0.16 \pm 0.03 ^{Ab}	0.16 \pm 0.02 ^{Bb}	0.29 \pm 0.04 ^{Ba}
	4	0.27 \pm 0.04 ^{Ab}	0.17 \pm 0.01 ^{Ac}	0.16 \pm 0.02 ^{Ac}	0.19 \pm 0.02 ^{Ac}	0.22 \pm 0.04 ^{Bc}	0.42 \pm 0.02 ^{Aa}

* 多重比较方法(最小显著差数法);不同字母分别表示同列(A, B和C)或同行(a, b, c, d和e)存在显著性差异(5%),字母从前到后表示平均数逐渐减小;表中符号的含义如下: e_0 :生命期望, Life expectancy at hatching; R_0 :净生殖率, Net reproductive rate; T :世代时间, Generation time; r_m :内禀增长率, Intrinsic rate of population growth; ML:平均寿命, Mean lifespan; M:后代混交率, Mixis rate of offspring

表 3 各食物密度下萼花臂尾轮虫的生命表参数(Y)与盐酸四环素浓度(X, mg/L)间的关系

Table 3 The relationships between TCH concentrations and life table demographic parameters of *B. calyciflorus* at different food densities

食物密度 Food densities	参数 Parameters	回归方程 Regressive equation	显著性差异 Significant test
1.0×10^6 个/mL	净生殖率	$Y = -0.008 X^2 + 0.336 X + 11.422$	$R^2 = 0.377, P < 0.05$
	内禀增长率	$Y = -0.000016 X^2 + 0.0007 X + 0.2027$	$R^2 = 0.584, P < 0.01$
	后代混交率	$Y = -0.00056 X^2 + 0.0307 X + 0.2027$	$R^2 = 0.723, P < 0.01$
4.0×10^6 个/mL	生命期望	$Y = 0.046 X^2 - 2.80 X + 118.163$	$R^2 = 0.578, P < 0.01$

3 讨论

抗生素类药物被广泛应用于人类的疾病治疗与预防,同时也作为牲畜用药和生长促进剂在农业、水产和畜牧业中普遍使用。急性毒性研究表明,盐酸四环素对秀丽线虫(*Caenorhabditis elegans*)的24h半致死浓度 LC_{50} 为82.9 mg/L^[56],对浮游动物大型蚤(*Daphnia magna*)的最大无观察效应浓度(NOEC)为340 mg/L^[25]。本研究中,当食物密度分别为 1.0×10^6 、 2.0×10^6 、 4.0×10^6 个/mL时,盐酸四环素对萼花臂尾轮虫的24h LC_{50} 值分别是107.95、116.92、111.23 mg/L。可见,萼花臂尾轮虫对盐酸四环素的敏感性较秀丽线虫弱,但比浮游动物大型蚤敏感。因而,在水环境生物监测尤其是对盐酸四环素的生物监测中,萼花臂尾轮虫是较为理想的受试生物。

有关环境中残留的抗生素对浮游生物的影响,目前主要表现为低浓度暴露可以促进种群的生长与繁殖,此后随着暴露浓度的增大转为抑制作用^[44, 46]。例如,低浓度(0.0125 mg/mL)的氯霉素和低剂量组(0.25 mg/mL和0.50 mg/mL)的烟酸氟哌酸可促进褶皱臂尾轮虫的种群增长,随着染毒浓度的升高(0.0250 mg/mL和

0.0500 mg/mL 的氯霉素及 0.75 mg/mL 和 1.00 mg/mL 的烟酸氟哌酸),褶皱臂尾轮虫的种群增长则受到不同程度的抑制作用^[44]。当红霉素和氯霉素浓度为 6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时可促进萼花臂尾轮虫的种群增长,当浓度增加到 12.5—50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,则有不同程度的抑制作用,且抑制作用随着浓度的增大而增大,当浓度达到 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,抑制作用最为明显。本研究中,在各食物密度下,轮虫的特定年龄繁殖率(m_x) 峰值均随着盐酸四环素浓度的增加呈现先增加后降低的趋势;在食物密度 1.0×10^6 个/mL 的情况下,1.5、4.5、13.5 mg/L 3 个浓度的盐酸四环素均显著提高了萼花臂尾轮虫的净生殖率(R_0),而 40.5 mg/L 浓度则降低了萼花臂尾轮虫的净生殖率;食物密度为 2.0×10^6 、 4.0×10^6 个/mL 时,4.5 mg/L 的盐酸四环素显著提高了轮虫的净生殖率(R_0),但随着染毒浓度的升高,轮虫的净生殖率有不同程度的降低。同样,在 1.0×10^6 个/mL 和 2.0×10^6 个/mL 的食物密度下,低浓度(0.5 mg/L 或 1.5 mg/L)的盐酸四环素延长了萼花臂尾轮虫的生命期望、世代时间和平均寿命,这进一步验证了在低浓度污染物下藻密度的上升有利于轮虫对毒物毒性的降解,而暴露于高浓度污染物下的轮虫对毒物的实际摄入量增加,导致毒性影响显著提高。这一结果与 Chopra 等^[1]、Araujo 等^[47] 和 Huang 等^[57] 的研究结果基本一致,即毒物对轮虫的生长和繁殖具有“低促高抑”的特点。这种“毒性兴奋效应”的双相剂量—反应现象已在各类生物、各类毒物及各类生命现象中都有发现,其范围几乎涵盖了包括重金属化合物、氰化物、多环芳烃、多氯联苯、有机砷化物以及农药和一些抗生素在内的所有有毒物质^[58]。

萼花臂尾轮虫为营周期性孤雌生殖的单巢目轮虫,在环境适宜时其非混交雌体以孤雌生殖的方式进行繁殖,此时的种群后代混交率极低或没有混交雌体产生;当受到混交刺激时,非混交雌体以减数分裂的方式产生混交卵,轮虫进入有性生殖繁殖方式,后代混交率提高。有性生殖可使轮虫种群以休眠卵的形式渡过不利的环境条件,并通过基因重组增加了种群遗传多样性,从而提高轮虫种群对环境变化的适应能力。引起轮虫由无性生殖转向有性生殖产生的因素包括诸多外源性因素(如光照周期、低温刺激、培养液 pH 值、食物密度、种群密度、生育酚、保幼激素、增塑剂、重金属和农药等)及内源性因素(如遗传因素、母体的年龄和孤雌生殖的累积世代数)^[59-60]。有关抗生素的研究表明,2.0—10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的利福平各浓度均显著提高了萼花臂尾轮虫的后代混交率;在各藻密度下,后代混交率与利福平浓度间均具有剂量—效应关系,表明萼花臂尾轮虫的有性生殖显著受到利福平毒性的胁迫影响。本研究中,在 3 个食物密度下盐酸四环素浓度为 40.5 mg/L 时,以及 1.0×10^6 个/mL 的食物密度下 13.5 mg/L 的盐酸四环素均显著提高了萼花臂尾轮虫的后代混交率,且盐酸四环素浓度与轮虫后代混交率间具有显著的剂量—效应关系。可见,盐酸四环素像利福平一样可有效促进萼花臂尾轮虫有性生殖的发生。

萼花臂尾轮虫是滤食性浮游动物。当轮虫暴露于低浓度污染物时,藻密度的上升加大了其对毒物毒性的降解,进而降低了毒物对轮虫的影响;此外,藻密度的上升也提高了轮虫的摄食率,从而增加了轮虫对毒物的抵抗力,促进了轮虫的种群增长^[48]。然而,当轮虫暴露于高浓度污染物时,由于轮虫滤水率的增加进而导致实际摄入毒物剂量的增加,这使得毒物对轮虫的毒性影响显著提高^[21]。本研究中,在对照组及低浓度的盐酸四环素(0 mg/L 和 0.5 mg/L)存在下,随着食物浓度的增加,轮虫的全部死亡时间逐渐推迟,而其他浓度的盐酸四环素(1.5、13.5、40.5 mg/L)下,轮虫的全部死亡时间则随着食物密度的增加而逐渐提前。在对照组及低浓度(0、0.5、1.5 mg/L)的盐酸四环素条件下,投喂中等食物密度(2.0×10^6 个/mL)的轮虫出现死亡的时间最迟,而在高浓度的盐酸四环素(4.5、13.5、40.5 mg/L)条件下,低食物密度(1.0×10^6 个/mL)下的轮虫开始死亡的时间最迟。双因素方差分析表明,除了 4.5 mg/L 的盐酸四环素对萼花臂尾轮虫各生命表参数在食物密度间基本未见显著性差异外,在对照组及低浓度的盐酸四环素(0 mg/L 和 0.5 mg/L)中, 2.0×10^6 个/mL 和 4.0×10^6 个/mL 的食物密度显著增加了萼花臂尾轮虫的生命期望、净生殖率、内禀增长率和平均寿命;而在 1.5、13.5、40.5 mg/L 的盐酸四环素下, 4.0×10^6 个/mL 的食物密度显著降低了萼花臂尾轮虫的生命期望、世代时间和平均寿命。因此,食物密度可显著影响污染物浓度对浮游动物的毒性效应,且低污染物浓度下高食物密度表现为有利影响,而高污染物浓度下的高食物密度则加剧了毒性效应。藻密度对盐酸四环素毒性的干扰作用还有待进一步研究。

参考文献 (References):

- [1] Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2001, 65(2): 232-260.
- [2] 周启星, 罗义, 王美娥. 抗生素的环境残留、生态毒性及抗性基因污染. *生态毒理学报*, 2007, 2(3): 243-251.
- [3] Bowman S M, Drzewiecki K E, Mojica E R E, Zielinski A M, Siegel A, Aga D S, Berry J O. Toxicity and reductions in intracellular calcium levels following uptake of a tetracycline antibiotic in *Arabidopsis*. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(20): 8958-8964.
- [4] 李伟明, 鲍艳宇, 周启星. 四环素类抗生素降解途径及其主要降解产物研究进展. *应用生态学报*, 2012, 23(8): 2300-2308.
- [5] Chee-Sanford J C, Mackie R I, Koike S, Krapac I G, Lin Y F, Yannarell A C, Maxwell S, Aminov R I. Fate and transport of antibiotic residues and antibiotic resistance genes following land application of manure waste. *Journal of Environmental Quality*, 2009, 38(3): 1086-1108.
- [6] Sarmah A K, Meyer M T, Boxall A B A. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere*, 2006, 65(5): 725-759.
- [7] Snyder S A, Westerhoff P, Yoon Y, Sedlak D L. Pharmaceuticals, personal care products, and endocrine disruptors in water: implications for the water industry. *Environmental Engineering Science*, 2003, 20(5): 449-469.
- [8] Munir M, Wong K, Xagorarakis I. Release of antibiotic resistant bacteria and genes in the effluent and biosolids of five wastewater utilities in Michigan. *Water Research*, 2011, 45(2): 681-693.
- [9] 王慧珠, 罗义, 徐文青, 周启星, 汤保华, 王媛媛. 四环素和金霉素对水生生物的生态毒性效应. *农业环境科学学报*, 2008, 27(4): 1536-1539.
- [10] Hirsch R, Termes T, Haberer K, Kratz K L. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *Science of the Total Environment*, 1999, 225(1/2): 109-118.
- [11] 姜蕾, 陈书怡, 杨蓉, 任重远, 尹大强. 长江三角洲地区典型废水中抗生素的初步分析. *环境化学*, 2008, 27(3): 371-374.
- [12] 那广水, 陈彤, 张月梅, 顾佳, 刘春阳, 张琳, 姚子伟. 中国北方地区水体中四环素族抗生素残留现状分析. *中国环境监测*, 2009, 25(6): 78-80.
- [13] Westerhoff P, Yoon Y, Snyder S, Wert E. Fate of endocrine-disruptor, pharmaceutical, and personal care product chemicals during simulated drinking water treatment processes. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(17): 6649-6663.
- [14] Pomati F, Castiglioni S, Zuccato E, Fanelli R, Vigetti D, Rossetti C, Calamari D. Effects of a complex mixture of therapeutic drugs at environmental levels on human embryonic cells. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(7): 2442-2447.
- [15] Papa E, Fick J, Lindberg R, Johansson M, Gramatica P, Andersson P L. Multivariate chemical mapping of antibiotics and identification of structurally representative substances. *Environmental Science & Technology*, 2007, 41(5): 1653-1661.
- [16] Auerbach E A, Seyfried E E, McMahon K D. Tetracycline resistance genes in activated sludge wastewater treatment plants. *Water Research*, 2007, 41(5): 1143-1151.
- [17] Rysz M, Alvarez P J J. Amplification and attenuation of tetracycline resistance in soil bacteria: aquifer column experiments. *Water Research*, 2004, 38(17): 3705-3712.
- [18] Hu J Y, Shi J C, Chang H, Li D, Yang M, Kamagata Y. Phenotyping and genotyping of antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolated from a natural river basin. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(9): 3415-3420.
- [19] Chee-Sanford J C, Aminov R I, Krapac I J, Garrigues-Jeanjean N, Mackie R I. Occurrence and diversity of tetracycline resistance genes in lagoons and groundwater underlying two swine production facilities. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(4): 1494-1502.
- [20] 徐冬梅, 王艳花, 饶桂维. 四环素类抗生素对淡水绿藻的毒性作用. *环境科学*, 2013, 34(9): 3386-3390.
- [21] 翟盼, 温新利, 陈治文, 赵政, 李海洋, 席贻龙. 抗生素利福平对萼花臂尾轮虫生命表参数的影响. *中国环境科学*, 2016, 36(6): 1886-1894.
- [22] Backhaus T, Grimme L H. The toxicity of antibiotic agents to the luminescent bacterium *Vibrio fischeri*. *Chemosphere*, 1999, 38(14): 3291-3301.
- [23] Halling-Sørensen B. Algal toxicity of antibacterial agents used in intensive farming. *Chemosphere*, 2000, 40(7): 731-739.
- [24] Kasai K, Kanno T, Endo Y, Wakasa K, Tozawa Y. Guanosine tetra- and pentaphosphate synthase activity in chloroplasts of a higher plant: association with 70S ribosomes and inhibition by tetracycline. *Nucleic Acids Research*, 2004, 32(19): 5732-5741.
- [25] Wollenberger L, Halling-Sørensen B, Kusk K O. Acute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 2000, 40(7): 723-730.

- [26] Ferreira C S G, Nunes B A, de Melo Henriques-Almeida J M, Guilhermino L. Acute toxicity of oxytetracycline and florfenicol to the microalgae *Tetraselmis chuii* and to the crustacean *Artemia parthenogenetica*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, 67(3): 452-458.
- [27] Wallace R L, Snell T W. Rotifera//Thorp J H, Covich A P, eds. *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*. New York: Academic Press, 1991: 187-248.
- [28] ASTM. Standard guide for acute toxicity tests with the rotifer *Brachionus*. *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia, PA, USA: American Society for Testing and Material, 1991: E1440-91.
- [29] Sarma S S S, Brena-Bustamante P, Nandini S. Body size and population growth of *Brachionus patulus* (Rotifera) in relation to heavy metal (copper and mercury) concentrations. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 2008, 43(5): 547-553.
- [30] Ramírez-Pérez T, Sarma S S S, Nandini S. Effects of mercury on the life table demography of the rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifera). *Ecotoxicology*, 2004, 13(6): 535-544.
- [31] Gama-Flores J L, Castellanos-Paez M E, Sarma S S S, Nandini S. Effect of pulsed exposure to heavy metals (copper and cadmium) on some population variables of *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifera: Brachionidae: Monogononta). *Hydrobiologia*, 2007, 593(1): 201-208.
- [32] 许丹丹, 席贻龙, 马杰, 葛雅丽. Cd^{2+} 对角突臂尾轮虫和曲腿龟甲轮虫的急性毒性和生命表统计学参数的影响. *生态学报*, 2011, 31(17): 4874-4880.
- [33] Xu X P, Xi Y L, Huang L, Xiang X L. The life-table demographic response of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* to multi-metal (Cu, Zn, Cd, Cr, and Mn) mixture interaction. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2014, 93(2): 165-170.
- [34] Rao T R, Sarma S S S. Demographic parameters of *Brachionus patulus* Muller (Rotifera) exposed to sublethal DDT concentrations at low and high food levels. *Hydrobiologia*, 1986, 139(3): 193-200.
- [35] Fernandez-Casalderrey A, Ferrando M D, Andreu-Moliner E. Demographic parameters of *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifers) exposed to sublethal endosulfan concentrations. *Hydrobiologia*, 1991, 226(2): 103-110.
- [36] Zha C W, Xi Y L, Huang L, Zhao L L. Effect of sublethal exposure to chlordecone on life history characteristics of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2007, 78(1): 79-83.
- [37] Huang L, Xi Y L, Zha C W, Zhao L L, Wen X L. Effects of dieldrin and 17β -estradiol on life history characteristics of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Journal of Freshwater Ecology*, 2012, 27(3): 381-392.
- [38] Huang L, Xi Y L, Zha C W, Wen X L. Responses in the population growth and reproduction of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* to four organochlorine pesticides. *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology*, 2013, 49(1): 79-85.
- [39] Xu X P, Xi Y L, Chu Z X, Xiang X L. Effects of DDT and dicofol on population growth of *Brachionus calyciflorus* under different algal (*Scenedesmus obliquus*) densities. *Journal of Environmental Biology*, 2014, 35(5): 907-916.
- [40] 储昭霞, 席贻龙, 徐晓平, 葛雅丽, 董丽丽, 陈芳. 除草剂草甘膦对萼花臂尾轮虫生活史特征的影响. *应用生态学报*, 2005, 16(6): 1142-1145.
- [41] Ke L X, Xi Y L, Zha C W, Dong L L. Effects of three organophosphorus pesticides on population growth and sexual reproduction of rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(3): 182-185.
- [42] 徐晓平, 席贻龙, 储昭霞, 陈芳. 溴氰菊酯对萼花臂尾轮虫实验种群动态的影响. *动物学报*, 2005, 51(2): 251-256.
- [43] Snell T W, Janssen C R. Rotifers in ecotoxicology: a review. *Hydrobiologia*, 1995, 313(1): 231-247.
- [44] 王金秋, 周叶平, 林隽姬, 王天宇. 两种抗生素对褶皱臂尾轮虫种群增长的影响. *复旦学报: 自然科学版*, 2008, 47(3): 347-353.
- [45] 葛晨霞, 董晓庆, 裴怀全, 朱成成. 抗生素对圆形臂尾轮虫携带细菌和种群生长的影响. *安徽农业科学*, 2010, 38(29): 16274-16275, 16303-16303.
- [46] 张雄. 蓝藻和抗生素对萼花臂尾轮虫种群生态学的影响研究[D]. 武汉: 中南民族大学, 2012.
- [47] Araujo A, McNair J N. Individual- and population-level effects of antibiotics on the rotifers, *Brachionus calyciflorus* and *B. plicatilis*. *Hydrobiologia*, 2007, 593(1): 185-199.
- [48] 姚胜, 席贻龙, 赵兰兰, 杨冬青. 三氯杀螨醇浓度和食物密度对萼花臂尾轮虫种群增长的影响. *生态学杂志*, 2008, 27(4): 578-582.
- [49] Flores J L G, Sarma S S S, Araiza M A F. Combined effects of *Chlorella* density and methyl parathion concentration on the population growth of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1999, 62(6): 769-775.
- [50] Gama-Flores J L, Sarma S S S, Nandini S. Acute and chronic toxicity of the pesticide methyl parathion to the rotifer *Brachionus angularis* (Rotifera) at different algal (*Chlorella vulgaris*) food densities. *Aquatic Ecology*, 2004, 38(1): 27-36.

- [51] Girling A E, Pascoe D, Janssen C R, Peither A, Wenzel A, Schäfer H, Neumeier B, Mitchell G C, Taylor E J, Maund S J, Lay J P, Jüttner I, Crossland N O, Stephenson R R, Persoone G. Development of methods for evaluating toxicity to freshwater ecosystems. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2000, 45(2): 148-176.
- [52] Sarma S S S, Nandini S, Flores J L G. Effect of methyl parathion on the population growth of the rotifer *Brachionus patulus* (O. F. Müller) under different algal food (*Chlorella vulgaris*) densities. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2001, 48(2): 190-195.
- [53] Sarma S S S, Ramírez-Pérez T, Nandini S, Peñalosa-Castro I. Combined effects of food concentration and the herbicide 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid on the population dynamics of *Brachionus patulus* (Rotifera). *Ecotoxicology*, 2001, 10(2): 91-99.
- [54] Peltier W H, Weber C I. Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms. EPA/600/485/013. Cincinnati: United States Environmental Protection Agency, 1985.
- [55] 黎尚豪, 朱蕙, 夏宜琤, 俞敏娟, 林坤二, 刘昆山, 乐正亚, 陈云霞. 单细胞绿藻的大量培养试验. *水生生物学集刊*, 1959, (4): 462-472.
- [56] 于振洋, 张晶, 张洪昌, 尹大强. 盐酸四环素对秀丽线虫(*C. elegans*)的急性与多代毒性研究. *生态毒理学报*, 2010, 5(3): 320-326.
- [57] Huang L, Xi Y L, Zha C W, Zhao L L. Effect of aldrin on life history characteristics of rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2007, 79(5): 524-528.
- [58] Mattson M P, Calabrese E J. *Hormesis: A Revolution in Biology, Toxicology and Medicine*. New York: Humana Press, 2009.
- [59] 陈芳. 萼花臂尾轮虫混交雌体繁殖生物学研究[D]. 芜湖: 安徽师范大学, 2005.
- [60] 石娟, 席贻龙, 杨琳璐, 汪圣广, 陈枫华, 苏田娟. 不同藻密度下 Cd^{2+} 浓度对萼花臂尾轮虫生命表统计学参数的影响. *应用生态学报*, 2010, 21(6): 1614-1620.