

DOI: 10.5846/stxb201707261350

黄克强, 席贻龙, 朱韩, 张丙行, 潘玲. 不同藻密度下布洛芬浓度对萼花臂尾轮虫生命表统计学参数的影响. 生态学报, 2019, 39(3): - .

Huang K Q, Xi Y L, Zhu H, Zhang B X, Pan L. Effects of varying ibuprofen concentrations on life table demography of *Brachionus calyciflorus* under different *Scenedesmus obliquus* densities. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(3): - .

不同藻密度下布洛芬浓度对萼花臂尾轮虫生命表统计学参数的影响

黄克强, 席贻龙*, 朱韩, 张丙行, 潘玲

安徽师范大学生命科学学院, 安徽省重要生物资源的保护和利用研究省级重点实验室, 皖江城市带退化生态系统的恢复与重建安徽省协同创新中心, 芜湖 241000

摘要: 在不同斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 密度 (1.0×10^6 、 2.0×10^6 个细胞/mL 和 4.0×10^6 个细胞/mL) 下, 研究了不同浓度的 (0、1、10、100、1000 $\mu\text{g/L}$ 和 5000 $\mu\text{g/L}$) 布洛芬对萼花臂尾轮虫 (*Brachionus calyciflorus*) 生命表统计学参数的影响。结果表明, 与各藻密度下的对照组相比, 当藻密度为 1.0×10^6 个细胞/mL 时, 100—5000 $\mu\text{g/L}$ 布洛芬处理组中轮虫的生命期望和平均寿命显著缩短, 100 $\mu\text{g/L}$ 布洛芬处理组中轮虫的世代时间显著缩短, 1.0 $\mu\text{g/L}$ 布洛芬处理组中轮虫的净生殖率显著提高, 10—5000 $\mu\text{g/L}$ 布洛芬处理组中轮虫的后代混交率显著提高。当藻密度为 2.0×10^6 个细胞/mL 时, 10—5000 $\mu\text{g/L}$ 布洛芬处理组中轮虫的生命期望和平均寿命显著缩短, 1000 $\mu\text{g/L}$ 和 5000 $\mu\text{g/L}$ 布洛芬处理组中轮虫的世代时间显著缩短, 1、10、1000 $\mu\text{g/L}$ 和 5000 $\mu\text{g/L}$ 布洛芬处理组中轮虫的种群内禀增长率显著提高, 1 $\mu\text{g/L}$ 和 1000 $\mu\text{g/L}$ 布洛芬处理组中轮虫的后代混交率显著提高。当藻密度为 4.0×10^6 个细胞/mL 时, 10—5000 $\mu\text{g/L}$ 布洛芬处理组中轮虫的生命期望、平均寿命和世代时间显著缩短。藻密度对轮虫的世代时间、净生殖率和种群内禀增长率有显著性影响 ($P < 0.05$), 布洛芬浓度对轮虫的生命期望、平均寿命、世代时间、净生殖率和种群内禀增长率有显著性影响 ($P < 0.05$), 藻密度和布洛芬浓度的交互作用对轮虫的生命期望、平均寿命和后代混交率有显著性影响 ($P < 0.05$)。在实验设置的布洛芬浓度范围内, 2.0×10^6 个细胞/mL 藻密度下, 轮虫的生命期望、平均寿命和世代时间与布洛芬浓度之间均具有显著的剂量—效应关系 ($P < 0.05$); 4.0×10^6 个细胞/mL 藻密度下, 轮虫的生命期望、平均寿命和净生殖率与布洛芬浓度之间均具有显著的剂量—效应关系 ($P < 0.05$)。

关键词: 轮虫; 布洛芬; 食物密度; 存活; 生殖; 种群增长

Effects of varying ibuprofen concentrations on life table demography of *Brachionus calyciflorus* under different *Scenedesmus obliquus* densities

HUANG Keqiang, XI Yilong*, ZHU Han, ZHANG Bingxing, PAN Ling

Center of Cooperative Innovation for Recovery and Reconstruction of Degraded Ecosystem in Wanjiang City Belt, Provincial Key Laboratory of Conservation and Utilization of Important Biotic Resources in Anhui Province, College of Life Sciences, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China

Abstract: The levels of emerging chemicals have increased dramatically during the last two decades, posing problems for human and environmental health. The lack of a rigorous control of pharmaceutical discharges into natural water bodies is a concern for limnologists and ecotoxicologists because of the possible harmful effects of these chemicals on non-target organisms. The present study was performed to assess the chronic toxicity of a pollutant to an aquatic organism under different food densities and to screen out sensitive endpoints for monitoring ibuprofen pollution with rotifers as test animals. In particular, we studied the effects of varying ibuprofen concentrations (0, 1, 10, 100, 1000, and 5000 $\mu\text{g/L}$) on the life table demographic parameters, including life expectancy at hatching, average lifespan, generation time, net

基金项目: 国家自然科学基金 (31470015); 安徽省高校生物环境与生态安全省级重点实验室专项基金 (2004sys003)

收稿日期: 2017-07-26; **网络出版日期:** 2018-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: ylx1965@126.com

reproductive rate, intrinsic rate of population increase, and proportion of the sexual offspring of *Brachionus calyciflorus* fed on different densities (1.0×10^6 , 2.0×10^6 , and 4.0×10^6 cells/mL) of *Scenedesmus obliquus*. The results showed that compared to the controls, 100—5000 $\mu\text{g/L}$ of ibuprofen significantly decreased the life expectancy at hatching and average lifespan, 100 $\mu\text{g/L}$ of ibuprofen decreased the generation time, but 1.0 $\mu\text{g/L}$ of ibuprofen increased the net reproductive rate, and 10—5000 $\mu\text{g/L}$ of ibuprofen increased the proportion of sexual offspring of *B. calyciflorus* under the algal density of 1.0×10^6 cells/mL. When *S. obliquus* density was 2.0×10^6 cells/mL, 10—5000 $\mu\text{g/L}$ of ibuprofen decreased the life expectancy at hatching and average lifespan, 1000 and 5000 $\mu\text{g/L}$ of ibuprofen decreased the generation time, but 1, 10, 1000, and 5000 $\mu\text{g/L}$ of ibuprofen increased the intrinsic rate of population increase, and 1 and 1000 $\mu\text{g/L}$ of ibuprofen increased the proportion of sexual offspring. When *S. obliquus* density was 4.0×10^6 cells/mL, 100—5000 $\mu\text{g/L}$ of ibuprofen decreased the life expectancy at hatching, average lifespan, and generation time. The *S. obliquus* density had significant effects on the generation time, net reproductive rate, and intrinsic rate of population increase ($P < 0.05$). The ibuprofen concentration had significant effects on the life expectancy at hatching, average lifespan, generation time, net reproductive rate, and intrinsic rate of population increase ($P < 0.05$). The interaction between *S. obliquus* density and ibuprofen concentration had significant effects on the life expectancy at hatching, average lifespan, and proportion of sexual offspring ($P < 0.05$). When the *S. obliquus* density of 2.0×10^6 cells/mL was used in association with the range of tested ibuprofen concentrations, significant dose-effect relationships were observed between the ibuprofen concentrations and life expectancy at hatching, average lifespan, and generation time, and these relationships could be described as $y = 2.419 \times 10^{-6}x^2 - 0.015x + 79.818$, $y = 2.419 \times 10^{-6}x^2 - 0.015x + 67.818$, and $y = 1.229 \times 10^{-6}x^2 - 0.007x + 57.941$, respectively. When the *S. obliquus* density was 4.0×10^6 cells/mL, significant dose-effect relationships were observed between the ibuprofen concentrations and life expectancy at hatching, average lifespan, and net reproductive rate, and these relationships could be described as $y = 2.483 \times 10^{-7}x^2 - 0.005x + 77.624$, $y = 2.483 \times 10^{-7}x^2 - 0.005x + 65.624$, and $y = -5.434 \times 10^{-7}x^2 + 0.002x + 14.530$, respectively.

Key Words: rotifer; ibuprofen; food level; survival; reproduction; population growth

长期以来,学者们在污染物毒性生物监测等研究中更多地关注常规的“优先”污染物,特别是那些持久性有机物、重金属、农药、化工产品及其中间产物。然而,这些化学品仅仅是整个环境风险评价体系中的一部分,另一类数量巨大、生物活性复杂的新兴污染物很少被提及和研究,而这类新兴污染物中绝大部分是目前被大量使用的人用和兽用药物^[1]。

布洛芬,又名异丁苯丙酸(或 2-4-异丁基苯基丙酸),其制剂称芬必得(布洛芬缓释剂)、大亚克芬或美林(口服液)等,属于新兴污染物,为非甾体抗炎药(NSAID),被广泛用于治疗风湿性疾病、疼痛和发烧,具有较高的治疗剂量(600—1200 mg/d)。但是,由于人们在服用后该药物以母体化合物(游离或缀合的)或以代谢物的形式排泄至显著程度(70%—80%的治疗剂量),而现有的污水处理技术又不能有效地去除它们,由此导致其在水体中长期低剂量存在,造成“假性”持久性污染^[2]。布洛芬在我国地表水环境中的浓度水平较高,在辽河流域和珠江广州河段的最大检出浓度分别可达 246 ng/L 和 1417 ng/L^[3-4],低于或接近对英国河流(432—5044 ng/L)^[5]及加拿大大西洋沿岸河流(6400 ng/L)^[6]的报道。水体中的布洛芬对生态环境和人类健康具有一定的风险^[7]。

有关布洛芬对水生动物的慢性毒性作用已有一些报道。在个体和种群水平上,部分学者研究了布洛芬对日本青鳉(*Oryzias latipes*)^[8-9]、海洋虾类(*Litopenaeus*)^[10]、淡水腹足类(*Planorbis carinatus*)^[11]、枝角类(*Daphnia magna* 和 *Moina macrocopa*)^[9, 12-13]、轮虫(萼花臂尾轮虫和 *B. havanaensis*)^[14]和水螅(*Hydra vulgaris* 和 *H. attenuata*)^[15-16]形态、生长、存活、摄食、生殖、种群增长和性激素平衡等的影响;在细胞水平上,Parolini 等^[17]和 Contardo-Jara 等^[18]研究了布洛芬对淡水双壳类(*Dreissena polymorpha*)的细胞遗传毒性;在分子水平上,Heckmann 等^[12]和 Wang 等^[13]研究了布洛芬对与大型溞解毒相关的基因表达的影响。

轮虫具有世代时间短、个体小、繁殖快速、易培养、对常见的毒物敏感性强等特点,已广泛被应用于水生生态

毒理学研究^[19-20]。已有的研究表明,污染物对轮虫的生态毒性效应常因水体中藻类等食物密度的不同而存在差异^[21-24],但布洛芬等抗炎药物对轮虫的生态毒性与食物密度之间的关系如何?不同食物密度下与环境相关浓度的布洛芬对轮虫的生态毒性是什么?所有这些问题仍有待研究。为此,本文以淡水中常见的萼花臂尾轮虫为受试生物,采用生命表试验方法,探究布洛芬浓度对轮虫生命表统计学参数的影响及其与藻密度间的关系,旨在筛选出敏感的指标用于水环境中布洛芬污染的生物监测,为探明布洛芬影响轮虫存活、生殖和种群增长的规律积累资料。

1 材料与方法

1.1 轮虫的来源和培养

受试生物萼花臂尾轮虫采于芜湖市镜湖,实验室内进行克隆培养。培养液为 EPA,由 96 mg NaHCO₃、60 mg CaSO₄、60 mg MgSO₄和 4 mg KCl 溶解于 1 L 蒸馏水中配制而成^[25];食物为斜生栅藻,以 HB-4 培养基^[26]培养,当其处于指数增长期时离心浓缩并经显微计数后使用。实验前,将轮虫置于(25±1)℃、自然光照(光照强度约 130 lx, L:D 约 12:12)的恒温培养箱内进行为期 1 周的预培养。期间,每天投喂密度分别为 1.0×10⁶、2.0×10⁶个细胞/mL 和 4.0×10⁶个细胞/mL 的斜生栅藻并更换轮虫培养液一次,同时通过去除一部分个体使轮虫种群始终处于指数增长期。

1.2 测试液的配置

实验用布洛芬钠(ibuprofen sodium salt)购于 Sigma 公司,分析纯(纯度≥98%)。测试液按照母液稀释法配制。实验前用蒸馏水配置 0.2 g/L 的原液,再用蒸馏水稀释成 20 mg/L 的母液,于 4℃ 冰箱中保存使用;母液每 3 d 配置 1 次。实验时用曝气自来水将其配置成所需浓度的测试液。由于在 pH 7.0 或更高的水中布洛芬钠解离成 C₁₃H₁₇O₂⁻和 Na⁺,因此本文所指的布洛芬浓度为 C₁₃H₁₇O₂⁻浓度^[12]。

1.3 慢性毒性试验

试验设 1、10、100、1000 μg/L 和 5000 μg/L 等 5 个布洛芬浓度,以及 1.0×10⁶、2.0×10⁶个细胞/mL 和 4.0×10⁶个细胞/mL 等 3 个斜生栅藻密度,各藻密度下另设置 1 个对照组,每组设置 3 个重复。实验时,将孵化出的龄长 4 h 内的轮虫幼体挑出,放入 8 mL 玻璃杯中作为受试母体,并加入 5 mL 测试液(其中分别含有相应密度的斜生栅藻),每个玻璃杯中放置 10 只轮虫幼体。实验在(25±1)℃、自然光照的恒温培养箱中进行。实验过程中,每间隔 12 h 观察 1 次并记录母体的存活数和孵化出的幼体数,移去死亡个体,并将新生的幼体移至另一玻璃杯中继续培养,待其产卵后确定雌体类型,用于计算轮虫一生所产全部后代中的混交雌体比例。每间隔 24 h 更换 1 次含有相应密度的藻类的测试液。实验进行至轮虫母体全部死亡为止。

1.4 研究参数的定义与计算方法

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, $R_0 = \sum l_x m_x$ 。世代时间(T):完成一个世代所需要的时间, $T = \sum l_x m_x / R_0$ 。种群内禀增长率(r_m):种群在特定试验条件下的最大增长率;根据方程 $r_m = \ln R_0 / T$ 在粗略计算的基础上,再根据方程

$\sum_{x=0}^n e^{-rx} l_x m_x = 1$ 计算求得种群内禀增长率的精确值。后代混交率:全部后代中混交雌体所占的比例。

1.5 数据统计和分析

采用 SPSS 16.0 分析软件对数据进行分析。使用 Kaplan-Meier 分析各藻密度下布洛芬浓度对轮虫存活率的影响。对所得数据作正态性检验后,对符合正态分布的各组数据通过单因素方差分析(one-way ANOVA)和多重比较(LSD 检验)分析各布洛芬浓度组与空白对照组间的差异显著性,通过双因素方差分析检测布洛芬浓度、藻密度及其相互作用对轮虫各生命表统计学参数的影响;对轮虫各生命表统计学参数与布洛芬浓度之间的关系进行回归分析。

2 结果与分析

2.1 不同藻密度下布洛芬对萼花臂尾轮虫存活率和繁殖率的影响

各藻密度下,布洛芬密度对轮虫的存活率均无显著性影响($P>0.05$)。当藻密度为 1.0×10^6 和 2.0×10^6 个细胞/mL 时,轮虫的繁殖率峰值均在 $5000\text{ }\mu\text{g/L}$ 的布洛芬中最高,分别为 2.85 个后代/雌体/12h 和 3.74 个后代/雌体/12h;当藻密度为 4.0×10^6 个细胞/mL 时,轮虫的繁殖率峰值在 $100\text{ }\mu\text{g/L}$ 的布洛芬中最高,为 3.90 个后代/雌体/12h(图 1)。

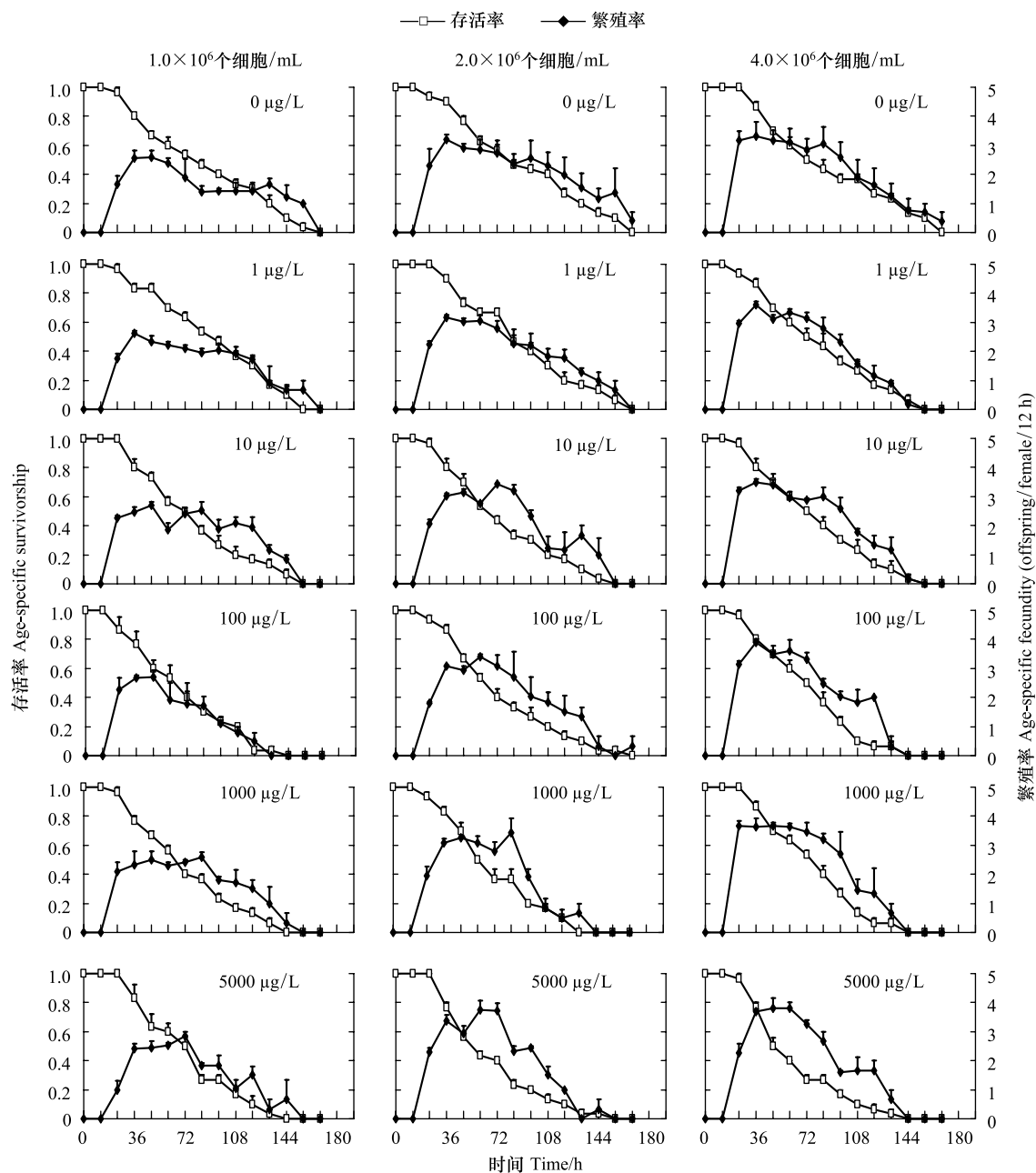


图 1 不同藻密度和布洛芬浓度下萼花臂尾轮虫的存活率和繁殖率

Fig.1 Survivorship and fecundity of *Brachionus calyciflorus* exposed to different concentrations of ibuprofen at three algal densities

2.2 不同藻密度下布洛芬对轮虫生命表统计学参数的影响

当藻密度为 1.0×10^6 个细胞/mL 时,布洛芬浓度对轮虫的生命期望、平均寿命、世代时间、净生殖率和后代

混交率均有显著性影响($P<0.05$)。与对照组相比,100—5000 $\mu\text{g/L}$ 布洛芬处理组中轮虫的生命期望和平均寿命显著缩短,100 $\mu\text{g/L}$ 布洛芬处理组中轮虫的世代时间显著缩短,1.0 $\mu\text{g/L}$ 布洛芬处理组中轮虫的净生殖率显著提高,10—5000 $\mu\text{g/L}$ 布洛芬处理组中轮虫的后代混交率显著提高(表 1)。

当藻密度为 2.0×10^6 个细胞/mL 时,布洛芬浓度对轮虫的生命期望、平均寿命、世代时间、种群内禀增长率和后代混交率均有显著性影响($P<0.05$)。与对照组相比,10—5000 $\mu\text{g/L}$ 布洛芬处理组中轮虫的生命期望和平均寿命显著缩短,1000 $\mu\text{g/L}$ 和 5000 $\mu\text{g/L}$ 布洛芬处理组中轮虫的世代时间显著缩短,1、10、1000 $\mu\text{g/L}$ 和 5000 $\mu\text{g/L}$ 布洛芬处理组中轮虫的种群内禀增长率显著提高,1 $\mu\text{g/L}$ 和 1000 $\mu\text{g/L}$ 布洛芬处理组中轮虫的后代混交率显著提高(表 1)。

当藻密度为 4.0×10^6 个细胞/mL 时,布洛芬浓度对轮虫的生命期望、平均寿命和世代时间均有显著性影响($P<0.05$)。与对照组相比,10—5000 $\mu\text{g/L}$ 布洛芬处理组中轮虫的生命期望、平均寿命和世代时间轮虫显著缩短(表 1)。

表 1 不同藻密度和布洛芬浓度下萼花臂尾轮虫的生命表统计学参数(均数 $\pm$ 标准误差)

Table 1 Life table demographic parameters of *Brachionus calyciflorus* exposed to different concentrations of ibuprofen at three algal densities

藻密度 Algal density/ ($\times 10^6$ 个细胞/mL)	布洛芬浓度 Ibuprofen concn. / ($\mu\text{g/L}$)	生命期望 Life expectancy at hatching /h	平均寿命 Average l ifespan /h	世代时间 Generation time/h	净生殖率 Net reproduction rate /(offspring/ female/life)	内禀增长率 Intrinsic rate of population increase/h	后代混交率 Proportion of sexual offspring
1.0	0	83.2 $\pm$ 2.1	71.2 $\pm$ 2.1	57.4 $\pm$ 0.7	8.9 $\pm$ 1.1	0.0377 $\pm$ 0.0021	0.058 $\pm$ 0.002
	1.0	88.8 $\pm$ 1.2	76.8 $\pm$ 1.2	61.7 $\pm$ 3.1	12.1 $\pm$ 0.4 *	0.0406 $\pm$ 0.0017	0.084 $\pm$ 0.004
	10.0	75.6 $\pm$ 3.2	63.6 $\pm$ 3.2	55.8 $\pm$ 1.5	10.8 $\pm$ 0.4	0.0427 $\pm$ 0.0008	0.122 $\pm$ 0.005 *
	100.0	65.6 $\pm$ 3.8 *	53.6 $\pm$ 3.8 *	47.9 $\pm$ 2.6 *	8.3 $\pm$ 0.9	0.0444 $\pm$ 0.0036	0.130 $\pm$ 0.015 *
	1000.0	70.0 $\pm$ 2.8 *	58.0 $\pm$ 2.8 *	53.8 $\pm$ 1.2	9.6 $\pm$ 0.0	0.0420 $\pm$ 0.0009	0.116 $\pm$ 0.011 *
	5000.0	70.8 $\pm$ 1.2 *	58.8 $\pm$ 1.2 *	56.6 $\pm$ 3.3	8.9 $\pm$ 0.9	0.0389 $\pm$ 0.0043	0.132 $\pm$ 0.011 *
2.0	0	85.6 $\pm$ 1.4	73.6 $\pm$ 1.4	60.8 $\pm$ 2.6	12.3 $\pm$ 1.8	0.0409 $\pm$ 0.0007	0.107 $\pm$ 0.004
	1.0	86.4 $\pm$ 3.0	74.4 $\pm$ 3.0	58.5 $\pm$ 1.9	14.4 $\pm$ 0.7	0.0456 $\pm$ 0.0012 *	0.153 $\pm$ 0.016 *
	10.0	72.8 $\pm$ 1.1 *	60.8 $\pm$ 1.1 *	55.8 $\pm$ 1.2	12.0 $\pm$ 0.3	0.0445 $\pm$ 0.0012 *	0.098 $\pm$ 0.011
	100.0	72.0 $\pm$ 2.5 *	60.0 $\pm$ 2.5 *	55.5 $\pm$ 3.0	11.7 $\pm$ 1.3	0.0440 $\pm$ 0.0010	0.113 $\pm$ 0.003
	1000.0	68.0 $\pm$ 0.4 *	56.0 $\pm$ 0.4 *	51.9 $\pm$ 1.2 *	11.0 $\pm$ 0.2	0.0462 $\pm$ 0.0013 *	0.139 $\pm$ 0.009 *
	5000.0	64.8 $\pm$ 2.1 *	52.8 $\pm$ 2.1 *	51.2 $\pm$ 1.0 *	11.0 $\pm$ 0.1	0.0469 $\pm$ 0.0011 *	0.101 $\pm$ 0.011
4.0	0	85.2 $\pm$ 2.5	73.2 $\pm$ 2.5	57.8 $\pm$ 2.2	15.6 $\pm$ 2.6	0.0469 $\pm$ 0.0023	0.115 $\pm$ 0.007
	1.0	78.0 $\pm$ 5.4	66.0 $\pm$ 5.4	54.1 $\pm$ 1.7	14.4 $\pm$ 1.0	0.0493 $\pm$ 0.0004	0.099 $\pm$ 0.032
	10.0	75.2 $\pm$ 2.1 *	63.2 $\pm$ 2.1 *	53.1 $\pm$ 0.3 *	14.1 $\pm$ 0.8	0.0498 $\pm$ 0.0011	0.107 $\pm$ 0.020
	100.0	70.8 $\pm$ 1.4 *	58.8 $\pm$ 1.4 *	50.4 $\pm$ 0.3 *	14.2 $\pm$ 0.5	0.0526 $\pm$ 0.0006	0.105 $\pm$ 0.014
	1000.0	74.0 $\pm$ 0.8 *	62.0 $\pm$ 0.8 *	51.6 $\pm$ 0.1 *	16.0 $\pm$ 0.7	0.0537 $\pm$ 0.0010	0.089 $\pm$ 0.009
	5000.0	60.4 $\pm$ 0.8 *	48.4 $\pm$ 0.8 *	49.4 $\pm$ 2.3 *	10.7 $\pm$ 0.6	0.0481 $\pm$ 0.0034	0.092 $\pm$ 0.033

* 表示与同一食物密度下的对照组相比有显著性差异

双因素方差分析结果表明,藻密度对轮虫的世代时间、净生殖率和种群内禀增长率有显著性影响($P<0.05$),布洛芬浓度对轮虫的生命期望、平均寿命、世代时间、净生殖率和种群内禀增长率有显著性影响($P<0.05$),藻密度和布洛芬浓度的交互作用对轮虫的生命期望、平均寿命和后代混交率有显著性影响($P<0.05$)(表 2)。3 个藻密度间,轮虫的世代时间在 1.0×10^6 个细胞/mL 的藻密度下显著长于 4.0×10^6 个细胞/mL 下,净生殖率和种群内禀增长率均随着藻密度的升高而升高。各布洛芬浓度和对照组之间,100—5000 $\mu\text{g/L}$ 的布洛芬显著缩短了轮虫的生命期望、平均寿命和世代时间,5000 $\mu\text{g/L}$ 的布洛芬显著降低了轮虫的净生殖率,1—1000 $\mu\text{g/L}$ 的布洛芬显著降低了轮虫的种群内禀增长率。

表 2 藻密度和布洛芬浓度对萼花臂尾轮虫生命表统计参数的影响(双因素方差分析)

Table 2 Effects of algal density and ibuprofen concentration on life table demographic parameters of *Brachionus calyciflorus* (Two-way ANOVA)

参数 Parameter	差异源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F 值	P 值
生命期望 Life expectancy at hatching	食物密度(A)	27.25	2	13.63	0.77	$P>0.05$
	布洛芬浓度(B)	2922.45	5	584.49	33.06	$P<0.01$
	A×B	478.35	10	47.84	2.71	$P<0.05$
	误差	636.48	36	17.68		
平均寿命 Average lifespan	食物密度(A)	27.25	2	13.63	0.77	$P>0.05$
	布洛芬浓度(B)	2922.45	5	584.49	33.06	$P<0.01$
	A×B	478.35	10	47.84	2.71	$P<0.05$
	误差	636.48	36	17.68		
世代时间 Generation time	食物密度(A)	97.40	2	48.70	4.33	$P<0.05$
	布洛芬浓度(B)	445.24	5	89.05	7.91	$P<0.01$
	A×B	209.13	10	20.91	1.86	$P>0.05$
	误差	405.11	36	11.25		
净生殖率 Net reproduction rate	食物密度(A)	172.21	2	86.10	28.30	$P<0.01$
	布洛芬浓度(B)	59.02	5	11.81	3.88	$P<0.01$
	A×B	49.19	10	4.92	1.62	$P>0.05$
	误差	109.52	36	3.04		
内禀增长率 Intrinsic rate of population increase	食物密度(A)	0.00	2	0.00	33.17	$P<0.01$
	布洛芬浓度(B)	0.00	5	3.51×10^{-5}	3.16	$P<0.05$
	A×B	8.65×10^{-5}	10	8.65×10^{-6}	0.78	$P>0.05$
	误差	0.00	36	1.11×10^{-5}		
后代混交率 Proportion of sexual offspring	食物密度(A)	0.003	2	0.001	2.074	$P>0.05$
	布洛芬浓度(B)	0.003	5	0.001	0.927	$P>0.05$
	A×B	0.019	10	0.002	2.907	$P<0.01$
	误差	0.024	36	0.001		

2.3 不同藻密度下轮虫生命表统计学参数与布洛芬浓度间的关系

回归分析结果显示,在实验设置的布洛芬浓度范围内,在 2.0×10^6 个细胞/mL 藻密度下,轮虫的生命期望、平均寿命和世代时间与布洛芬浓度之间均具有显著的剂量—效应关系($P<0.05$)。 4.0×10^6 个细胞/mL 藻密度下,轮虫的生命期望、平均寿命和净生殖率与布洛芬浓度之间均具有显著的剂量—效应关系($P<0.05$) (表 3)。

表 3 各藻密度(个细胞/mL)下萼花臂尾轮虫的生命期望、平均寿命、世代时间和净生殖率与布洛芬浓度($\mu\text{g/L}$)间的关系

Table 3 The relationships between life expectancy at hatching, average lifespan, generation time as well as net reproduction rate of *Brachionus calyciflorus* cultured at three algal densities and ibuprofen concentration

藻密度 Algal density	参数 Parameters	回归方程 Regressive equation	显著性差异 Significant test
2.0×10^6	生命期望	$y=2.419\times 10^{-6}x^2-0.015x+79.818$	$R^2=0.536, P<0.01$
	平均寿命	$y=2.419\times 10^{-6}x^2-0.015x+67.818$	$R^2=0.536, P<0.01$
	世代时间	$y=1.229\times 10^{-6}x^2-0.007x+57.941$	$R^2=0.462, P<0.05$
4.0×10^6	生命期望	$y=2.483\times 10^{-7}x^2-0.005x+77.624$	$R^2=0.551, P<0.01$
	平均寿命	$y=2.483\times 10^{-7}x^2-0.005x+65.624$	$R^2=0.551, P<0.01$
	净生殖率	$y=-5.434\times 10^{-7}x^2+0.002x+14.530$	$R^2=0.439, P<0.05$

3 讨论

3.1 布洛芬浓度和藻密度对浮游动物存活和生殖的影响

已有研究表明,较高浓度的布洛芬对枝角类和轮虫的存活产生不利的影响。如 80.0 mg/L 的布洛芬使大型溞(*D. magna*)的存活率显著降低,100.0 mg/L 的布洛芬使大型溞无法存活^[9,12];12.5 mg/L 的布洛芬使萼花臂尾轮虫的平均寿命显著缩短,25.0 mg/L 的布洛芬使哈瓦那臂尾轮虫(*B. havanaensis*)的平均寿命显著缩短^[14]。本研究结果也表明,较高浓度的布洛芬使萼花臂尾轮虫的生命期望和平均寿命显著缩短,藻密度由 1.0×10^6 个细胞/mL 升高至 2.0×10^6 个细胞/mL 和 4.0×10^6 个细胞/mL 使布洛芬对轮虫存活的最低可观察效应浓度(LOEC)降低(由 100 $\mu\text{g/L}$ 降低至 10 $\mu\text{g/L}$)。

较高浓度的布洛芬对枝角类和轮虫的生殖也具有不利的影响。如 50.0 mg/L 的布洛芬使多刺裸腹溞(*M. macrocopa*)的净生殖率显著降低^[12],25.0 mg/L 的布洛芬使萼花臂尾轮虫的净生殖率显著降低,6.25—25.0 mg/L 的布洛芬使哈瓦那臂尾轮虫的净生殖率显著降低^[14]。与上述结果不同的是,本研究所测试的大多数浓度的布洛芬对轮虫的净生殖率均无显著的影响,这可能与所测试的布洛芬最高浓度(5000 $\mu\text{g/L}$)较低有关。此外,当斜生栅藻密度为 1.0×10^6 个细胞/mL 时,1.0 $\mu\text{g/L}$ 的布洛芬使轮虫的净生殖率显著高于对照组。究其原因,可能与布洛芬具有雌激素活性^[12]有关。一些已被证明具有环境雌激素效应的、较低浓度的污染物也可以促进轮虫的生殖,如 20—320 $\mu\text{g/L}$ 的艾氏剂、0.5—50.0 $\mu\text{g/L}$ 的十氯丹和 100—900 $\mu\text{g/L}$ 的 Zn^{2+} 显著提高了萼花臂尾轮虫的净生殖率^[24, 27-28]。

3.2 藻密度和布洛芬浓度对浮游动物种群增长影响

有研究发现,50.0 $\mu\text{g/L}$ 的布洛芬使大型溞的种群增长率显著降低^[12-13],12.5—25.0 mg/L 的布洛芬使哈瓦那臂尾轮虫的种群增长率显著降低^[14],但 0.0125 mg/mL 的氯霉素、0.2500 mg/mL 和 0.5000 mg/mL 的盐酸氟哌酸均显著地促进褶皱臂尾轮虫(*B. plicatilis*)的种群增长^[29],6.25 $\mu\text{g/mL}$ 的红霉素和氯霉素均显著地促进萼花臂尾轮虫的种群增长^[30]。当藻密度为 2.0×10^6 个细胞/mL 时,除了 0.3 mg/L 外,其他浓度的 Zn^{2+} 显著提高了萼花臂尾轮虫的种群内禀增长率;当藻密度为 4.0×10^6 个细胞/mL 时,0.1、0.3 mg/L 和 0.7 mg/L 的 Zn^{2+} 显著提高了萼花臂尾轮虫的种群内禀增长率^[24]。当藻密度为 2.0×10^6 个细胞/mL 和 4.0×10^6 个细胞/mL 时,各浓度的利福平均显著提高了萼花臂尾轮虫的种群内禀增长率^[23]。本研究所测试的布洛芬浓度均对萼花臂尾轮虫的种群增长具有促进作用,促进作用的显著性与否取决于藻类食物密度。当藻密度为 1.0×10^6 个细胞/mL 和 4.0×10^6 个细胞/mL 时,布洛芬浓度对轮虫的种群增长率均无显著性影响;但当藻密度为 2.0×10^6 个细胞/mL 时,1、10、1000 $\mu\text{g/L}$ 和 5000 $\mu\text{g/L}$ 的布洛芬显著提高了轮虫的种群内禀增长率。一定浓度的布洛芬等水体污染物对轮虫种群增长的促进作用,可能与其所具有的雌激素效应有关。

3.3 藻密度和布洛芬浓度对轮虫有性生殖的影响

混交雌体的产生是轮虫有性生殖的开始,对轮虫产生休眠卵以适应不利的环境条件具有重要的意义。已有的研究表明,一定浓度的、具有雌激素活性的水体污染物,如 500 $\mu\text{g/L}$ 的邻苯二甲酸二丁酯(DBP)、50 $\mu\text{g/L}$ 和 500 $\mu\text{g/L}$ 的邻苯二甲酸二异辛酯(DEHP)以及 500 $\mu\text{g/L}$ 的邻苯二甲酸丁苄酯(BBP)使萼花臂尾轮虫的后代混交率显著升高^[31];各藻密度下,各浓度的利福平都使萼花臂尾轮虫的后代混交率显著升高^[23]。本研究结果表明,布洛芬对轮虫后代混交率的显著促进作用取决于藻类食物密度。当藻密度为 1.0×10^6 个细胞/mL 时,10—5000 $\mu\text{g/L}$ 的布洛芬显著提高了轮虫的后代混交率;随着藻密度的升高,布洛芬对轮虫后代混交率的显著促进作用逐渐消失。

3.4 轮虫各生命表统计学参数对污染物的敏感性

轮虫各生命表统计学参数对污染物的敏感性常因污染物种类的不同而异。储昭霞^[32]、Rao 和 Sarma^[21]、Xi 和 Hu^[33] 均发现,轮虫种群内禀增长率是低浓度水体污染物毒性检测的一个很敏感指标;Ferrando 等^[34] 发现净生殖率和种群增长率是比世代时间和生命期望更敏感的指标;Janssen 等^[35]、徐晓平等^[36] 和 Araujo 等^[37]

发现种群内禀增长率并不总是最敏感的指标,净生殖率有时具有更低的 LOEC 值;翟盼等^[23]发现各藻密度下,轮虫后代混交率是最敏感的指标。本研究结果表明,轮虫生命表统计学参数对布洛芬污染的敏感性与藻密度有关。在较低的藻密度(1.0×10^6 个细胞/mL)下,轮虫的净生殖率最敏感;在中等藻密度(2.0×10^6 个细胞/mL)下,轮虫的种群内禀增长率和后代混交率较敏感;而在较高的藻密度(4.0×10^6 个细胞/mL)下,轮虫的生命期望、平均寿命和世代时间较敏感。

参考文献 (References):

- [1] 王丹,隋倩,赵文涛,吕树光,邱兆富,余刚. 中国地表水环境中药物和个人护理品的研究进展. 科学通报, 2014, 59(9): 743-751.
- [2] Ternes T A, Joss A, Siegrist H. Peer reviewed: scrutinizing pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment. Environmental Science & Technology, 2004, 38(20): 392A-399A.
- [3] Peng X Z, Yu Y Y, Tang C M, Tan J H, Huang Q X, Wang Z D. Occurrence of steroid estrogens, endocrine-disrupting phenols, and acid pharmaceutical residues in urban riverine water of the Pearl River Delta, South China. Science of the Total Environment, 2008, 397(1/3): 158-166.
- [4] Wang L, Ying G G, Zhao J L, Yang X B, Chen F, Tao R, Liu S, Zhou L J. Occurrence and risk assessment of acidic pharmaceuticals in the Yellow River, Hai River and Liao River of north China. Science of the Total Environment, 2010, 408(16): 3139-3147.
- [5] Ashton D, Hilton M, Thomas K V. Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. Science of the Total Environment, 2004, 333(1/3): 167-184.
- [6] Brun G L, Bernier M, Losier R, Doe K, Jackman P, Lee H B. Pharmaceutically active compounds in Atlantic Canadian sewage treatment plant effluents and receiving waters, and potential for environmental effects as measured by acute and chronic aquatic toxicity. Environmental Toxicology and Chemistry, 2006, 25(8): 2163-2176.
- [7] Burkhardt-Holm P. Endocrine disruptors and water quality: a state-of-the-art review. International Journal of Water Resources Development, 2010, 26(3): 477-493.
- [8] Flippin J L, Huggett D, Foran C M. Changes in the timing of reproduction following chronic exposure to ibuprofen in Japanese medaka, *Oryzias latipes*. Aquatic Toxicology, 2007, 81(1): 73-78.
- [9] Han S Y, Choi K, Kima J, Ji K, Kim S, Ahn B, Yun J, Choi K, Khim J S, Zhang X W, Giesy J P. Endocrine disruption and consequences of chronic exposure to ibuprofen in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) and freshwater cladocerans *Daphnia magna* and *Moina macrocopa*. Aquatic Toxicology, 2010, 98(3): 256-264.
- [10] Alfaro-Montoya J. The effect of ibuprofen on female and male reproduction of the open thelyca marine shrimp, *Litopenaeus*. Aquaculture Research, 2015, 46(1): 105-116.
- [11] Pounds N, Maclean S, Webley M, Pascoe D, Hutchinson T. Acute and chronic effects of ibuprofen in the mollusc *Planorbis carinatus* (*Gastropoda: Planorbidae*). Ecotoxicology and Environmental Safety, 2008, 70(1): 47-52.
- [12] Heckmann L H, Callaghan A, Hooper H L, Connon R, Hutchinson T H, Maund S J, Sibly R M. Chronic toxicity of ibuprofen to *Daphnia magna*: effects on life history traits and population dynamics. Toxicology Letters, 2007, 172(3): 137-145.
- [13] Wang L, Peng Y, Nie X P, Pan B B, Ku P J, Bao S. Gene response of CYP360A, CYP314, and GST and whole-organism changes in *Daphnia magna* exposed to ibuprofen. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2016, 179: 49-56.
- [14] González-Pérez B K, Sarma S S S, Nandini S. Effects of selected pharmaceuticals (ibuprofen and amoxicillin) on the demography of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus havanaensis* (Rotifera). Egyptian Journal of Aquatic Research, 2016, 42(3): 341-347.
- [15] Pascoe D, Karntanut W, Müller C T. Do pharmaceuticals affect freshwater invertebrates? A study with the cnidarian *Hydra vulgaris*. Chemosphere, 2003, 51(6): 521-528.
- [16] Quinn B, Gagné F, Blaise C. An investigation into the acute and chronic toxicity of eleven pharmaceuticals (and their solvents) found in wastewater effluent on the cnidarian, *Hydra attenuata*. Science of the Total Environment, 2008, 389(2/3): 306-314.
- [17] Parolini M, Binelli A, Cogni D, Riva C, Provini A. An *in vitro* biomarker approach for the evaluation of the ecotoxicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). Toxicology in Vitro, 2009, 23(5): 935-942.
- [18] Contardo-Jara V, Lorenz C, Pflugmacher S, Nützmann G, Kloas W, Wiegand C. Exposure to human pharmaceuticals carbamazepine, ibuprofen and bezafibrate causes molecular effects in *Dreissena polymorpha*. Aquatic Toxicology, 2011, 105(3/4): 428-437.
- [19] Snell T W, Janssen C R. Rotifers in ecotoxicology: a review. Hydrobiologia, 1995, 313(1): 231-247.
- [20] Snell T W, Joaquim-Justo C. Workshop on rotifers in ecotoxicology. Hydrobiologia, 2007, 593(1): 227-232.

- [21] Rao R T, 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.
- [22] Azuara-García R, Sarma S S S, Nandini S. The combined effects of zinc and alga on the life table demography of *Anuraeopsis fissa* and *Brachionus rubens* (Rotifera). *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 2006, 41(4): 559-572.
- [23] 翟盼, 温新利, 陈治文, 赵政, 李海洋, 席貽龙. 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.
- [24] 赵清清, 席貽龙, 李志超, 潘玲. 不同藻密度下 Zn^{2+} 浓度对萼花臂尾轮虫实验种群增长参数的影响. *生态学报*, 2015, 35(12): 4026-4033.
- [25] Weber C I. Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents to Freshwater and Marine Organisms. EPA/600/4-90/027F. Washington DC: US Environmental Protection Agency, 1993.
- [26] 章宗涉, 黄祥飞. 淡水浮游生物研究方法. 北京: 科学出版社, 1991.
- [27] 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.
- [28] 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.
- [29] 王金秋, 周叶平, 林隽姬, 王天宇. 王金秋. 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.
- [30] 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.
- [31] 赵兰兰, 席貽龙, 黄林, 查春旺. 邻苯二甲酸酯类物质对萼花臂尾轮虫种群增长和有性生殖的影响. *动物学报*, 2007, 53(2): 250-256.
- [32] 储昭霞, 席貽龙, 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.
- [33] Xi Y L, Hu H Y. Effect of thiophanate-methyl on the reproduction and survival of the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2003, 71(4): 722-728.
- [34] Ferrando M D, Sancho E, Andreu-Moliner E. Chronic toxicity of fenitrothion to an algae (*Nannochloris oculata*), a rotifer (*Brachionus calyciflorus*), and the cladoceran (*Daphnia magna*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1996, 35(2): 112-120.
- [35] Janssen C R, Persoone G, Snell T W. Cyst-based toxicity tests. VIII. Short-chronic toxicity tests with the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Aquatic Toxicology*, 1994, 28(3/4): 243-258.
- [36] 徐晓平, 席貽龙, 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.
- [37] 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.