

环境激素氰戊菊酯和有机锡对轮虫生活史特征的影响*

朱玮阁, 李孙根, 吕林兰, 杨家新**

(南京师范大学生命科学学院, 南京 210046)

摘 要: 采用单“克隆”培养和群体培养的方法, 研究了具有环境雌激素效应药物氰戊菊酯(Fenvalerate)和雌性雄性化激素效应药物三丁基氯化锡(TBTC)对蓼花臂尾轮虫(*Brachionus calyciflorus*)生命周期中各发育阶段的历时以及种群增长的影响. 结果表明, 氰戊菊酯和TBTC对蓼花臂尾轮虫的生长发育和种群增长有明显的效应. 氰戊菊酯使生殖期延长(200和1000 $\mu\text{g/L}$), 生殖后期缩短, 平均寿命也缩短(除1000 $\mu\text{g/L}$), 总产卵量和种群增长率升高; 而经TBTC处理生殖前期延长(1和5 $\mu\text{g/L}$), 生殖期和生殖后期缩短, 平均寿命也缩短, 总产卵量和种群增长率较对照组也有下降. 批次携卵量也受到两种药物的影响. 且蓼花臂尾轮虫的总产卵量随着氰戊菊酯和TBTC的浓度呈曲线相关, 氰戊菊酯: $Y = -0.6745X^2 + 6.6884X + 5.855$ ($R^2 = 0.7027$); TBTC: $Y = 0.2054X^2 - 2.3178X + 16.666$ ($R^2 = 0.6535$). 研究表明环境雌激素氰戊菊酯和雌性雄性化激素TBTC对蓼花臂尾轮虫生活史特征影响表现出一定差异.

关键词: 蓼花臂尾轮虫; 氰戊菊酯; TBTC; EDCs; 生命周期; 种群增长

Effects of Fenvalerate and TBTC (EDCs) on life history characteristics of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus*

ZHU Weige, LI Sungen, LU Linlan & YANG Jiaxin

(Institute of Aquatic Sciences, College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, P.R.China)

Abstract: Recent reports suggested that when certain contaminants may present in aquatic ecosystem at levels, it would disrupt endocrine functions of a variety of aquatic invertebrates. For this hypothesis, we sought to determine whether the estrogenic compound Fenvalerate and androgenic compound TBTC can individually inhibit the development and reproductive output of the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus*. The present study focused on the life history characteristics of *B. calyciflorus* under effects of different concentrations of Fenvalerate and TBTC. The result showed that Fenvalerate and TBTC had significant effects on the durations of different development stages of *B. calyciflorus* and the characteristics of its population growth. Treatment with Fenvalerate at the concentrations of 200 and 1000 $\mu\text{g/L}$ significantly lengthened the duration of reproductive period. However, the duration of pre-reproductive, post-reproductive periods and the lifespan were shortened. In treatment with 1 and 5 $\mu\text{g/L}$ TBTC, the number of eggs and population growth rate were also increased compared to the control, however, the pre-productive period was significantly lengthened, and the reproductive, post-reproductive periods and the lifespan were significantly shortened compared to the control. The total number of eggs and population growth rate were both decreased significantly when the rotifer was exposed to 0.001 and 1–5 $\mu\text{g/L}$ of the above contaminants, and the number of eggs was curve-related with the concentrations of Fenvalerate and TBTC (Fenvalerate: $Y = -0.6745X^2 + 6.6884X + 5.855$ ($R^2 = 0.7027$); TBTC: $Y = 0.2054X^2 - 2.3178X + 16.666$ ($R^2 = 0.6535$)). Consequently, Fenvalerate and TBTC showed differently effects on the durations of different development stages of *B. calyciflorus* and the characteristics of its population growth.

Keywords: *Brachionus calyciflorus*; Fenvalerate; TBTC; EDCs; life span; population growth

* 国家自然科学基金项目(30570260)和江苏省自然科学基金项目(BK2007225)联合资助. 2008–10–23 收稿; 2009–01–07 修改稿. 朱玮阁, 女, 1983 年生, 硕士研究生; E-mail: zhuweige@yahoo.cn.

** 通讯作者; E-mail: yangjx@njnu.edu.cn.

目前,大量具有内分泌干扰效应的化学物质溢流入水体,引起生物机体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危害.轮虫作为水域环境的重要类群之一,由于其具有分布广、个体小、生命周期和世代时间短、生殖速度快等优点,以及特殊的生活史和休眠卵商业可得使轮虫生态毒理学实验程序实现了标准化,利用轮虫,尤其是萼花臂尾轮虫进行淡水生态毒理学的研究越来越多.研究涉及的试验终点包括环境毒物对种群增长、游泳能力和摄食行为、混交率、酯酶活性和热休克蛋白的诱导表达等的影响以及微宇宙中捕食者和被食者之间的关系等^[1-4].国内外已有若干关于环境因子和污染物对轮虫生活史特征影响的研究^[5-8],如十指臂尾轮虫(*Brachionus patulus*)的平均生命跨度、种群增长率都受到铅离子的影响,有机磷酸酯农药敌匹硫磷(diazinon)会对褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*)生活史各参数和休眠卵孵化率的影响,除草剂草甘膦也会影响萼花臂尾轮虫的生活史特征.但从环境激素(EDCs)类别(雄性激素效应和雌性激素效应)角度研究轮虫生活史应答特征鲜有报道.本研究旨在探讨具有环境雌性和雄性激素效应的药物对萼花臂尾轮虫生命周期各发育阶段是否会产生影响、激素效应应答的差异,以及对生命周期历时的影响,从而考察以轮虫各发育阶段历时和种群增长作为检测环境激素内分泌干扰的敏感指标的可靠性,为环境激素对轮虫繁殖生物学影响的研究和生态毒理学研究提供新的思路.

1 材料与方法

1.1 实验材料

轮虫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、个体大、携带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.培养过程每天投喂浓度为 2×10^6 cells/ml的HB₄培养基培养的蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*),投喂前用轮虫培养液在4000转/min下反复离心冲洗几次.轮虫培养液采用EPA配方^[9](去离子水配制,含NaHCO₃ 96mg/L, CaSO₄·2H₂O 60mg/L, MgSO₄ 60mg/L, KCl 4mg/L, pH 7.5左右),轮虫培养条件为光照强度约4000lx,昼长比L:D=16:8,温度25±1℃,实验前对轮虫进行预培养.

氰戊菊酯和TBTC(纯度分别≥99.8%, 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10000mg/L的母液,实验时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8、40、200、1000和5000μg/L;TBTC的浓度为0.001、0.01、0.1、1和5μg/L.

1.2 单“克隆”培养实验

从实验室纯化培养的萼花臂尾轮虫中挑取单个活泼健壮的新生幼体(龄期<2-4h)放入24孔塑料培养板中,每孔盛不同浓度药物水平的新鲜培养液0.8ml.实验过程共设5个实验浓度,1个空白对照,其中每个浓度水平设10个平行,蛋白核小球藻的浓度为 2×10^6 ~ 3×10^6 cells/ml,实验在光照培养箱中进行,培养条件同上.实验过程每3-4h观察一次,24h更换一次培养液.分别记录轮虫第一次产卵和产幼时间,最后一次产卵和产幼时间及轮虫的产卵数,并及时将幼体移走以免影响观察结果,实验至全部个体死亡为止.

1.3 群体培养实验

实验挑取20只新生幼体分别放入盛有不同浓度药物的12孔细胞培养板中,每孔含培养液2ml.群体培养实验共设5个平行和1个空白对照.蛋白核小球藻的投喂浓度和培养条件均同上,每天更换新的培养液,实验过程每12h观察一次,记录所产后代数并及时移走幼体,实验至全部个体死亡为止.

1.4 实验终点及计算方法

各主要发育阶段历时:胚胎发育期(从卵产出到幼体孵出所经历的时间);繁殖前期(指从幼体孵出到其产出第1枚卵所经历的时间);繁殖期(指从第1枚卵产出到最后1枚卵产出所经历的时间);繁殖后期(指轮虫产出最后1枚卵到其死亡所经历的时间);平均寿命(为繁殖前期、繁殖期和繁殖后期之和)以及每雌产卵量和种群增长率(为种群在单位时间内的增长率).以上各发育阶段历时计算方法皆参照Walz、Korstad和Schmid-Araya的方法^[10-12].实际观察值均采用平均值±标准误差表示.数据处理通过统计软件SPSS 13.0进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),并采用LSD法进行多重比较.

2 结果与分析

2.1 氟戊菊酯和TBTC对轮虫生命周期各主要发育阶段历时的影响

氟戊菊酯处理后蓼花臂尾轮虫生殖期、生殖后期和平均寿命均受到显著影响(表1)。方差分析显示, 生殖期仅在200和1000μg/L浓度组较对照组明显延长($P<0.05$), 其它浓度组与对照组无显著差异($P>0.05$)。而各浓度组的生殖后期均较对照组明显缩短, 平均寿命较对照组也均明显缩短(1000μg/L浓度组除外)($P<0.05$)。且生殖期和平均寿命在1000μg/L浓度组与其它浓度组存在组间差异($P<0.05$)。

蓼花臂尾轮虫生殖前期、生殖期、生殖后期和平均寿命也明显受到TBTC的影响(表1)。方差分析显示, TBTC处理较对照组蓼花臂尾轮虫的生殖前期(1和5μg/L)明显延长, 而生殖期和生殖后期明显缩短, 平均寿命也明显缩短($P<0.05$), 且生殖期历时和平均寿命存在组间差异($P<0.05$)。

表1 不同浓度氟戊菊酯和TBTC对蓼花臂尾轮虫各发育阶段历时和平均寿命的影响
Tab.1 Duration of developmental stages and mean lifespan of *B. calyciflorus* at different Fenvalerate and TBTC concentrations (mean±SD)

| | 胚胎发育(h) | 生殖前期(h) | 生殖期(h) | 生殖后期(h) | 平均寿命(h) |
|-----------------|------------|-------------|----------------|--------------|----------------|
| A: 氟戊菊酯浓度(μg/L) | | | | | |
| 对照 | 14.32±1.03 | 30.71±3.12 | 129.57±10.55 | 58.88±3.16 | 219.15±11.08 |
| 8 | 12.00±2.08 | 24.42±4.58 | ☆105.59±8.34 | 26.75±8.65* | ☆156.76±21.25* |
| 40 | 17.26±9.33 | 23.74±3.30 | ☆118.44±8.10 | 30.75±8.57* | ☆172.93±4.17* |
| 200 | 13.38±2.77 | 26.83±5.51 | ★157.34±23.89* | 22.92±5.29* | ☆207.09±22.66* |
| 1000 | 16.92±3.96 | 20.50±8.85 | ★166.35±16.41* | 32.80±10.39* | ★219.65±18.86 |
| 5000 | 16.25±3.25 | 20.17±9.75 | ☆107.95±24.14 | 34.60±21.01* | ☆162.72±34.95* |
| B: TBTC浓度(μg/L) | | | | | |
| 对照 | 15.41±2.01 | 31.04±3.60 | 135.37±8.06 | 61.80±4.01 | 228.21±10.81 |
| 0.001 | 13.26±4.15 | 43.37±10.28 | ☆85.14±6.11* | 33.16±6.03* | 161.67±14.74* |
| 0.01 | 13.91±7.39 | 38.90±10.09 | ☆84.24±8.23* | 32.11±10.54* | 155.26±28.85* |
| 0.1 | 14.00±3.00 | 36.79±4.53 | ☆86.56±9.74* | 22.78±5.88* | ☆146.13±8.39* |
| 1 | 16.61±2.98 | 45.87±9.15* | ☆91.23±10.55* | 44.30±11.86* | ★181.41±16.82* |
| 5 | 19.26±7.94 | 45.78±8.96* | ★61.53±4.74* | 42.73±11.97* | ☆150.05±16.60* |

* 表示处理组与对照组存在显著差异($P<0.05$), ★☆表示组间差异显著。

2.2 氟戊菊酯和TBTC对轮虫产卵量和种群繁殖率的影响

蓼花臂尾轮虫产卵量仅在1000μg/L氟戊菊酯浓度组显著高于对照组($P<0.05$)(图1a)。而TBTC各浓度组轮虫产卵量都显著低于对照组(除0.01μg/L, 图1b)($P<0.05$)。统计结果显示, 与对照组比较(平均24.68%), 氟戊菊酯提高了轮虫携多个卵的频次(平均28.57%), 而TBTC相反(平均17.47%)。且在实验设置的药物浓度范围内, 轮虫的总产卵量随着氟戊菊酯和TBTC浓度的变化两者曲线相关。氟戊菊酯: $Y=-0.6745X^2+6.6884X+5.855(R^2=0.7027)$; TBTC: $Y=0.2054X^2-2.3178X+16.666(R^2=0.6535)$ 。

24h时, 氟戊菊酯各浓度组的种群繁殖率均达到一高峰, 较对照组(36h)繁殖高峰明显提前, 且种群增长率也显著高于对照组($P<0.05$)。对照组种群繁殖率在36–60h较处理组高, 但后期又降低(图2a)。TBTC处理对蓼花臂尾轮虫的繁殖高峰时间较对照组无显著差异, 但种群增长率于繁殖高峰却显著低于对照组($P<0.05$)。96h后0.001、0.01、0.1和1μg/L TBTC处理组繁殖率高于对照组, 但无显著差异($P>0.05$)(图2b)。72h后, 氟戊菊酯和TBTC各浓度组的种群繁殖率总体均呈下降趋势。

3 讨论

3.1 氟戊菊酯和TBTC对轮虫生命周期各主要发育阶段历时的影响

对暴露于环境激素类似物中甲壳动物的发育时间和蜕皮会受到干扰的研究很多, 如苯并芘(BaP)、邻苯二酸二-(2-乙基己基)酯(DEHP)等内分泌干扰物会抑制桡足类近亲真宽水蚤(*Eurytemor affinis*)无节幼体

的发育^[13]. 汤氏纺锤水蚤(*Acartia tonsa*)和日本虎足水蚤(*Tigriopus japonicus*)幼体发育也受到内分泌干扰物的影响, 幼体阶段和性成熟阶段推迟^[14-15]. 具有雌激素活性的外源物质疏丹、酞酸二乙酯和PCB29会显著延长水蚤完成4次蜕皮时间^[16].

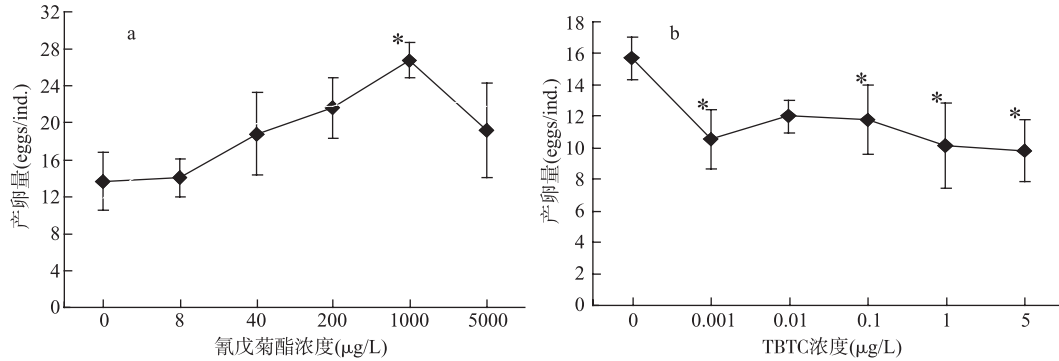


图1 不同浓度氰戊菊酯(a)和TBTC(b)处理后蓼花臂尾轮虫总产卵量

(*表示处理组与对照组存在显著差异)

Fig.1 The total number of eggs produced by *B. calyciflorus* at different Fenvalerate(a) and TBTC concentration(b)

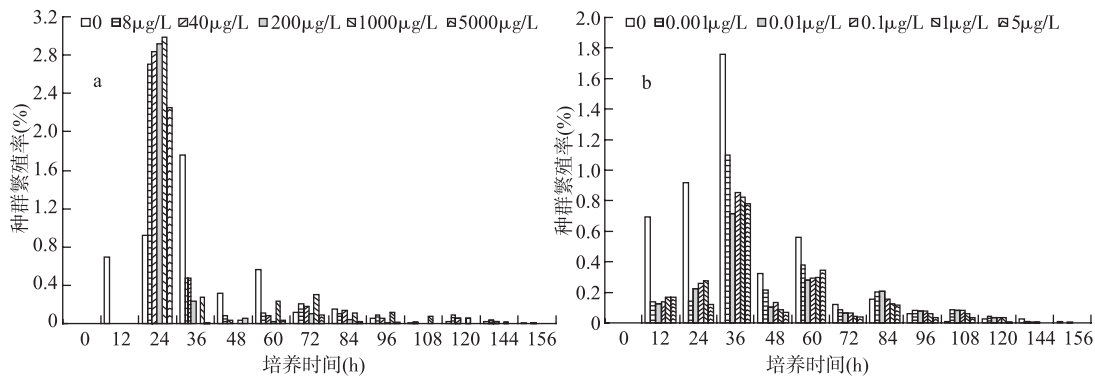


图2 不同浓度氰戊菊酯(a)和TBTC(b)处理后蓼花臂尾轮虫的繁殖率

Fig.2 The reproduction rate of *B. calyciflorus* at different Fenvalerate(a) and TBTC concentration(b)

有关各种环境因子和污染物(如除草剂、杀虫剂和重金属等)对轮虫生命周期各发育阶段历时的研究国内外有较多报道, 而就内分泌干扰水平评价环境激素类污染物对其影响的报道目前却很少. 谢志浩等研究发现塔玛亚历山大藻(*Alexandrium tamarense*)毒素对褶皱臂尾轮虫生命周期各发育阶段历时有明显的影响^[17]. 储朝霞等对轮虫生活史特征的影响的研究也表明轮虫的胚胎发育时间和幼体阶段会受到草甘膦的影响^[5]. Marcial等对褶皱臂尾轮虫生活史参数如产第一枚卵的时间和第一枚卵孵化时间、生殖期以及平均寿命的研究发现, 当敌匹硫磷的浓度达5mg/L时会延迟其产卵时间, 暴露于2.5mg/L或更高浓度第一次产卵时间比对照组延迟, 平均寿命也受到影响, 十指臂尾轮虫平均生命跨度、平均寿命都受到铅离子浓度水平、混浊度以及二者之间相互作用的影响^[7-8].

许多水生生物种的早期生命阶段对毒物的敏感性较晚期发育阶段高, 胚胎发育(生活史的第一阶段)在各种浮游动物包括轮虫、枝角类和桡足类都被认为是比较敏感的指示终点^[18-19]. 本实验结果显示氰戊菊酯和TBTC对蓼花臂尾轮虫的生命周期各发育阶段会产生影响, 且对生命晚期发育阶段影响更为显著. 与对照组相比, 氰戊菊酯对蓼花臂尾轮虫生殖期(200和1000μg/L)、生殖后期及平均寿命有显著的影响

($P < 0.05$), 而对胚胎发育时间和生殖前期历时无明显影响(表1); TBTC对生殖前期(1和5 $\mu\text{g/L}$)、生殖期、生殖后期和平均寿命均有显著影响, 但对胚胎发育时间也无影响, 这与Marcial等对褶皱臂尾轮虫的胚胎发育观察结果相反, 其实验结果认为在褶皱臂尾轮虫各生活史参数中, 第一枚卵的孵化时间(即胚胎发育时间)最敏感^[8]. 且与对照组比较TBTC的生殖前期历时延长, 即幼体发育阶段延长, 生殖期和生殖后期历时缩短, 平均寿命也缩短. 而氰戊菊酯生殖前期历时缩短, 生殖期在0.2和1 mg/L 较对照组延长, 这与以往观察结果相近^[5,7,19]. 可见, 一定浓度范围内环境雌激素氰戊菊酯和雄激素TBTC对生命周期各发育阶段历时的影响存在一定的差异, 且低浓度下轮虫的生殖期历期和平均寿命与高浓度下轮虫的生殖期历期和平均寿命也有所差异, 轮虫生活史各特征参数可以作为监测环境激素的可行性指标.

3.2 环境激素影响蓼花臂尾轮虫种群增长的原因分析

内分泌干扰物影响轮虫种群增长的研究已有报道, 某些脊椎动物激素和类固醇激素都会对褶皱臂尾轮虫和蓼花臂尾轮虫的携卵量造成影响^[20-21]; 蓼花臂尾轮虫培养基中添加维生素, 在一定浓度范围会使卵雌比升高^[22]; 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^[23]. 本实验用氰戊菊酯通过激活雌激素受体显示拟雌激素活性, 而TBTC抑制雄激素向雌激素的转化显示雄激素活性.

因首次生殖龄长(第一次产卵和产幼时间)、生殖频率(生殖期历时)和批次携卵量会影响轮虫的种群增长率, 所以种群增长率与轮虫的发育时间密切相关^[24]. 胡好远等认为外界环境因素通过影响胚胎发育时间, 从而影响轮虫的种群增长率^[25]. 也有学者认为轮虫种群的增殖速率不仅与其净生殖率有关, 而且与胚胎发育速率、生命的早期阶段历时有关. 在轮虫孤雌生殖的过程中, 繁殖前期历时和胚胎发育时间会影响其种群增长速率^[24]. 研究还发现草甘膦对蓼花臂尾轮虫胚胎发育期和幼体阶段有显著影响, 从而对其净生殖率和种群内禀增长率也产生影响^[5]. 生命表和种群增长实验表明, 铅离子影响轮虫平均生命跨度, 进而影响其种群增长率, 随浓度的提高和暴露时间的延长, 蓼花臂尾轮虫的种群增长会受到抑制^[7].

本实验发现, 随暴露时间延长, 轮虫种群增长率呈下降趋势, 且各浓度间存在差异. Gama-Flores等也认为轮虫暴露时间和浓度对种群增长都很重要^[26]. 不同浓度的氰戊菊酯促进了轮虫的生长发育, 使轮虫的繁殖前期缩短, 种群繁殖率高峰期提前出现(种群增长率较对照组低), 繁殖后期较对照组明显缩短, 而TBTC繁殖前期与之相反(各浓度组种群增长率高于对照组), 最终可能影响了蓼花臂尾轮虫的总产卵量和种群增长率的不一; 许多学者对毒物对蓼花臂尾轮虫生殖影响的研究发现, 胚胎发育期和繁殖前期的延长可能是导致轮虫种群繁殖率降低的主要原因之一^[5-6,24], 而本实验表明蓼花臂尾轮虫的胚胎发育期和繁殖前期对氰戊菊酯和TBTC的反应并不明显, 需对环境激素类药物的不同反应进一步进行探讨; 平均寿命的变化也可能间接影响轮虫的种群增长与衰减, 这与以往研究一致^[7,26]. 且氰戊菊酯显著增加轮虫携多个卵的频次, 而TBTC相反, 也可能是影响其产卵量和种群增长的原因之一, 因种群密度和产卵率的正负相关会影响种群增长或衰退^[27]. 由此可见, 种群增长率能较敏感地揭示氰戊菊酯和TBTC对蓼花臂尾轮虫种群动态的影响与轮虫发育阶段历时的关系, 不仅与胚胎发育时间有关, 且受到生殖前期、生殖期历时和批次产卵量等的影响, 是一个很有效的指标.

总之, 本实验研究发现: 一定浓度的氰戊菊酯能缩短蓼花臂尾轮虫的生殖后期历时, 显著提高轮虫的总产卵量和种群增长率; TBTC使生殖前期延长, 轮虫总产卵量和种群增长率降低. 可能轮虫吞噬后对其内分泌系统的生理机能产生了影响, 扰乱了轮虫体内正常受体分子的结合, 从而对轮虫的生理机能造成了影响. 这些影响因素的作用最终导致了轮虫各发育阶段历时的差异, 产卵量和种群增长率的变化. 由于不清楚轮虫的激素代谢及调节机理, 因此应进一步研究轮虫的内分泌学, 尤其是生殖内分泌学, 其具体的作用机制有待于进一步研究.

4 参考文献

- [1] Preston BL, Snell TW, Robertson TL *et al.* Use of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* in screening assay for potential endocrine disruptors. *Environ Toxicol Chem*, 2000, **19**: 2923-2928.
- [2] Snell TW, Joaquim-Justo C. Workshop on rotifers in ecotoxicology. *Hydrobiologia*, 2007, **593**: 227-232.

- [3] 杨家新, 黄祥飞. 藻类食物对萼花臂尾轮虫繁殖的影响. 湖泊科学, 1998, **10**(1): 42-48.
- [4] 杨家新, 黄祥飞. 密度和温度对萼花臂尾轮虫产卵量和混交雌体的影响. 湖泊科学, 1996, **8**(4): 367-372.
- [5] 储昭霞, 席貽龙, 徐晓平等. 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.
- [6] Xi YL, Hu HY. Effect of thiophanate-methyl on the reproduction and survival of the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* pallas. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2003, **71**: 722-728.
- [7] García-García G, Picazo-Paez EA, Nandini S *et al.* Combined effects of sediment and lead (PbCl₂) on the demography of *Brachionus patulus* (Rotifera: Brachionidae). *Hydrobiologia*, 2007, **593**: 209-218.
- [8] Marcial HS, Hagiwara A. Effect of diazinon on life stages and resting egg hatchability of rotifer *Brachionus plicatilis*. *Hydrobiologia*, 2007, **593**: 219-225.
- [9] USEPA. Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms. In: Peltier WH, Weber CI eds. EPA/ 600/ 485/ 013. US, Washington DC: Environ Protect Agency, 1985: 216.
- [10] Walz N. Individual culture and experimental population dynamics of *Keratella cochlearis* (Rotatoria). *Hydrobiologia*, 1983, **107**: 35-45.
- [11] Korstad J. Life history characteristics of *Brachionus plicatilis* (Rotifera) fed different algae. *Hydrobiologia*, 1989, **186/187**: 43-50.
- [12] Schmid-Araya J. The effect of food concentration on the life histories of *Brachionus plicatilis* (O. F. M.) and *Encentrum linnhei* Scott. *Archiv für Hydrobiologie*, 1991, **121**: 87-102.
- [13] Forget-Leray J, Landriau I, Minier C *et al.* Impact of endocrine toxicants on survival, development, and reproduction of the estuarine copepod *Eurytemora affinis* (Pope). *Ecotoxicol Environ Saf*, 2005, **60**(3): 288-294.
- [14] Marcial HS, Hagiwara A, Snell TW. Estrogenic compounds affect development of harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus*. *Environ Toxicol Chem*, 2003, **22**: 3025-3030.
- [15] Wollenberger L, Breitholtz M, Kusk KO *et al.* Inhibition of larval development of the marine copepod *Acartia tonsa* by four synthetic musk substances. *Sci Tot Environ*, 2003, **305**(1-3): 53-64.
- [16] Zou E, Fingerman M. Effects of estrogenic xenobiotics on molting of the water flea, *Daphnia magna*. *Ecotoxicol Environ Saf*, 1997, **38**(3): 281-285.
- [17] 谢志浩, 肖 慧, 蔡恒江等. 赤潮藻塔玛亚历山大藻对褶皱臂尾轮虫生活史特征的影响. 应用生态学报, 2007, **18**(12): 2865-2869.
- [18] Rand GM, Wells PG, McCarthy LS. Introduction to aquatic toxicology. In: Rand GM ed. Fundamentals of aquatic toxicology, seconded. Taylor & Francis, London, 1995: 3-67.
- [19] Marcial HS, Hagiwara A, Snell TW. Effects of some pesticides on reproduction of rotifer *Brachionus plicatilis* Muller. *Hydrobiologia*, 2005, **546**: 569-575.
- [20] Radix P, Severin G, Schramm KW *et al.* Reproduction disturbances of *Brachionus calyciflorus* (rotifer) for the screening of environmental endocrine disrupters. *Chemosphere*, 2002, **47**: 1097-1101.
- [21] Gallardo WG, 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 WG, 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] 杨家新. 维生素E对萼花臂尾轮虫繁殖的影响. 生态学报, 2004, **24**: 251-256.
- [24] Day K, Kaushik NK. An assessment of the chronic toxicity of the synthetic pyrethrod, fenvalerate to *Daphnia galeatimendoeate*, using life table. *Environmental Pollution*, 1987, **13**: 13-26.
- [25] 胡好远, 席貽龙, 耿 红. 温度对三品系角突臂尾轮虫生活史策略的影响. 水生生物学报, 2004, **28**(3): 284-288.
- [26] Gama-Flores JL, Castellanos-Paez ME, Sarma SSS *et al.* Effect of pulsed exposure to heavy metals (copper and cadmium) on some population variables of *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifera: Brachionidae: Monogononta). *Hydrobiologia*, 2007, **593**: 201-208.
- [27] Sarma SSS, Gulati RD, Nandini S. Factors affecting egg-ratio in planktonic rotifers. *Hydrobiologia*, 2005, **546**: 361-373.