

## 粉煤灰污染影响萼花臂尾轮虫 (*Brachionus calyciflorus*) 种复合体空间分布的原因\*

薛颖昊, 席贻龙\*\*, 张 根

(安徽师范大学生命科学学院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:** 为探讨粉煤灰污染影响萼花臂尾轮虫 (*Brachionus calyciflorus*) 种复合体在灰湖、汀棠湖和凤鸣湖分布的生态学机制, 本文研究了曝气自来水(对照)、20%、40%、60%、80% 和 100% 的澄清灰湖水对采自三湖泊中的轮虫姐妹种 I 和汀棠湖中的轮虫姐妹种 II 的种群增长率、混交雌体数/非混交雌体数、携卵雌体数/不携卵雌体数和休眠卵产量的影响。结果显示, 无论实验用水中的澄清灰湖水含量如何, 来自三湖泊的轮虫姐妹种 I 均具有较高的种群增长率 ( $0.52 \sim 0.85 \text{ d}^{-1}$ ) 和休眠卵产量 ( $1.60 \sim 12.11 \text{ ind.}/(4 \text{ d} \cdot 5 \text{ ml})$ ), 这为轮虫的扩散、种群的建立和种群间的基因交流提供了可能。汀棠湖轮虫姐妹种 II 种群中的混交雌体数/非混交雌体数和休眠卵产量均极低, 对照组中的混交雌体数/非混交雌体数和休眠卵产量均为 0, 这是存在于汀棠湖和凤鸣湖中的轮虫姐妹种 II 无法通过扩散而出现在灰湖中的主要原因。澄清灰湖水的含量仅对汀棠湖中两轮虫姐妹种的种群增长率具有显著的影响。各浓度的澄清灰湖水使轮虫姐妹种 I 的种群增长率显著高于对照组, 60%、80% 和 100% 的澄清灰湖水使轮虫姐妹种 II 的种群增长率显著高于对照组, 这表明粉煤灰污染导致已报道的相关水体中轮虫种群密度的下降并非由于其中所含的污染物(较高浓度的碱性氧化物、硫化物和金属元素等)和水体 pH 值的改变等对轮虫的直接毒性作用。

**关键词:** 粉煤灰污染; 萼花臂尾轮虫; 种复合体; 生殖; 空间分布

## Impact on spatial distribution of *Brachionus calyciflorus* species complex by coal ash pollution

XUE Yinghao, XI Yilong & ZHANG Gen

(College of Life Sciences, Anhui Normal University, Provincial Key Laboratory of Biotic Environment and Ecological Safety in Anhui, Wuhu 241000, P. R. China)

**Abstract:** In order to analyze the ecological mechanism and the effect of coal ash pollution on distribution of *Brachionus calyciflorus* species complex in three lakes (Lake Hui, Lake Tingtang and Lake Fengming), the effects of aerated tap-water (control), and 20%, 40%, 60%, 80% and 100% volume fractions of settled coal ash water diluted by aerated tap-water on population growth rates, ratios mictic females/amictic females, ovigerous females/non-ovigerous females, and resting egg productions of sibling species I have been collected from Lake Hui, Lake Tingtang and Lake Fengming and sibling species II have been collected from Lake Tingtang. The results showed that regardless of the volume fraction of settled coal ash water, sibling species I collected from all the three lakes had higher population growth rates ( $0.52 \sim 0.85 \text{ d}^{-1}$ ) and resting egg productions ( $1.60 \sim 12.11 \text{ ind.}/(4 \text{ d} \cdot 5 \text{ ml})$ ) which made possible for population spread, population establishment and gene flow. Sibling species II collected from Lake Tingtang had much lower ratio mictic females/amictic females and resting egg production, and in the aerated tap-water, both of them were zero, which might be the main reason for that sibling species II living in Lake Tingtang and Lake Fengming could not spread into Lake Hui. The volume fraction of settled coal ash water significantly affects only the population growth rates of both two sibling

\* 国家自然科学基金项目(30770352、30499341)、安徽省优秀青年基金项目(08040106904)、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项目(2004sys003)和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项目联合资助。2011-01-07 收稿;2011-04-09 收修改稿。薛颖昊,男,1984年生,硕士研究生;E-mail:xueshan\_0512@163.com.

\*\* 通信作者;E-mail:ylxi1965@yahoo.com.cn.

species collected from Lake Tingtang. All the volume fractions of settled coal ash water made the population growth rate of sibling species I higher than that in the control, and 60%, 80% and 100% settled coal ash water made the population growth rate of sibling species II higher than that in the control, which indicated that the decreased rotifer density in natural water bodies polluted by coal ash did not attribute to the direct toxicity of elevated metal, salt concentrations, and pH level.

**Keywords:** Coal ash pollution; *Brachionus calyciflorus*; species complex; reproduction; spatial distribution

粉煤灰 (coal ash) 是煤炭燃烧的剩余固体颗粒物, 其中含有大量碱性氧化物、硫化物和金属元素等污染物, 可能会对环境造成污染<sup>[1]</sup>. 粉煤灰与水作用后, 其中所含的污染物随水流向环境中迁移, 造成水体中污染物浓度升高, 甚至超过对生物体的急性或慢性毒性阈值<sup>[2]</sup>. 粉煤灰污染降低了水生植物和动物物种多样性<sup>[3]</sup>, 使水环境中的鱼类和两栖类出现组织病理化、生理功能紊乱以及形态发育和行为异常<sup>[4]</sup>. 粉煤灰污染严重破坏了印度德里 Yamuna 河浮游动物群落结构, 降低了水体中浮游动物尤其是轮虫和原生动物的密度<sup>[5]</sup>; 但粉煤灰污染导致轮虫种群密度下降是否与其中的污染物对轮虫的直接毒性作用有关尚待研究.

为探讨粉煤灰污染对轮虫种群遗传分化的影响, 张根等<sup>[6]</sup>曾以安徽芜湖市境内的粉煤灰污染水体 (灰湖) 与未污染水体 (凤鸣湖和汀棠湖) 中的萼花臂尾轮虫 (*Brachionus calyciflorus*) 为对象, 通过 rDNA ITS 序列测定和分析, 在灰湖萼花臂尾轮虫中仅发现一个姐妹种, 而两对照湖泊均发现两个姐妹种. 就三个湖泊共有的轮虫姐妹种 I 而言, 粉煤灰污染水体与未污染水体萼花臂尾轮虫种群间保持较高水平的基因流, 种群分化不明显. 作者推测, 灰湖萼花臂尾轮虫中仅发现一个姐妹种可能是由于粉煤灰污染对轮虫姐妹种产生的定向选择作用. 但同域性分布的轮虫姐妹种 II 为何不能通过扩散作用而出现在灰湖中? 究竟是由于其没有通过有性生殖产生休眠卵而进行扩散还是由于扩散后的休眠卵孵化出的轮虫个体不能适应灰湖水环境? 而轮虫姐妹种 I 的情况是否与其相反? 所有这些都均需进一步研究. 本文以萼花臂尾轮虫复合体为对象, 比较研究了其在不同含量澄清灰湖水中的孤雌生殖和有性生殖, 分析了粉煤灰污染影响萼花臂尾轮虫复合体空间分布以及轮虫种群密度的可能原因.

## 1 材料与方 法

### 1.1 研究水体

灰湖 (30°16'12"N, 118°12'36"E) 是芜湖市发电厂湿法排灰的储灰池, 于 2000 年在原自然水体的基础上扩建而成, 库容量为  $3.05 \times 10^6 \text{ m}^3$ ; 汀棠湖 (31°12'36"N, 118°13'12"E) 位于芜湖市汀棠公园内, 用作景观水域, 同时兼用于鱼类养殖; 凤鸣湖 (31°30'00"N, 118°13'48"E) 位于芜湖市郊, 主要用于鱼类养殖. 三个湖泊平均水深分别为 6、1.5 和 1.2 m, 水体面积分别为 21.12、13.47 和 40.27  $\text{hm}^2$ .

灰湖水体呈现较强的碱性, pH 达到 9.82; 可溶性总氮含量低于凤鸣湖和汀棠湖, 可溶性总磷与氨氮含量均高于凤鸣湖和汀棠湖. 凤鸣湖和汀棠湖水体叶绿素 a 含量分别高出灰湖 4.5 和 4 倍. 参照《地表水环境质量标准》(GB 3838—2002) 中的 V 类水基本项目标准限值和集中式生活饮用水地表水源地特定项目标准限值, 灰湖中 As、B、Mo、Se 和 V 元素分别超过规定限值的 2、4、5、8 和 6 倍, Al、Cr、Li 和 Se 元素含量明显高于对照湖泊; 三个湖泊水体中 Sb 元素含量均超过限值<sup>[6]</sup>.

### 1.2 轮虫的来源及培养

2009 年 3—4 月, 在三个湖泊中分别采集萼花臂尾轮虫, 实验室内于 22°C 下进行“克隆”培养; 培养液为新鲜配制的 Gilbert 培养液<sup>[7]</sup>; 食物为 HB-4 培养基<sup>[8]</sup>培养的、处于指数增长期的斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*).

根据张根等<sup>[6]</sup>的研究结果, 本研究所使用的萼花臂尾轮虫姐妹种 I 包括 9 个来自汀棠湖的克隆、11 个来自灰湖的克隆和 10 个来自凤鸣湖的克隆, 姐妹种 II 包括 9 个来自汀棠湖的克隆.

### 1.3 3 d 种群增长和 4 d 休眠卵产量实验

实验参照 Radix 等<sup>[9]</sup>和 Snell 等<sup>[10]</sup>的方法, 在容积为 5 ml 的玻璃试管中进行. 以澄清灰湖水为原液, 用曝气自来水对其进行一定比例稀释后获得的实验用水分别为 20%、40%、60%、80% 和 100% 的澄清灰湖水, 并设 1 个空白对照 (曝气自来水); 各实验用水和曝气自来水的 pH 依次为 8.57、8.90、9.26、9.53、9.80 和

7.57. 实验开始时,从每个轮虫克隆中随机吸取10个龄长小于2h的轮虫幼体放入玻璃试管中,并添加配制好的各特定稀释率的澄清灰湖水(内含 $2.0 \times 10^6$  cells/ml的斜生栅藻)至5ml;各湖泊、各姐妹种中的每个轮虫克隆作为一个重复(汀棠湖、灰湖和凤鸣湖轮虫姐妹种I分别包括9个、11个和10个重复,汀棠湖姐妹种II包括9个重复).实验在温度为 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 的恒温培养箱中进行.实验过程中,每间隔12h悬浮一次沉积于试管底部的藻类食物,每间隔24h更换一次内含 $2.0 \times 10^6$  cells/ml斜生栅藻的实验用水.72h后,对每个试管中轮虫的携卵非混交雌体、携卵混交雌体和不带卵雌体分别进行计数,然后全数返回原培养器皿继续培养,24h后对混交雌体所携带的休眠卵及试管底部沉积的休眠卵进行计数.

#### 1.4 雌体类型的划分和鉴别

参照杨家新等的方法<sup>[11]</sup>.

#### 1.5 有关参数的定义和计算方法

种群增长率 $r = (\ln N_t - \ln N_0) / t$ ,  $N_t$ 和 $N_0$ 分别为实验结束和实验开始时的种群密度, $t = 3 \text{ d}$ <sup>[9]</sup>;混交雌体数/非混交雌体数:携卵雌体中混交雌体数与非混交雌体数的比值<sup>[9]</sup>;携卵雌体数/不携卵雌体数:携卵的雌体数与不携卵的雌体数的比值<sup>[9]</sup>;休眠卵产量:5ml培养液中的轮虫在4d内所产的休眠卵数量<sup>[10]</sup>.

#### 1.6 数据的分析与处理

采用SPSS 16.0软件和Excel对各生命表统计学参数进行统计分析;所有实验数据先进行正态分布检验,对符合正态分布的参数通过单因素方差分析(one-way ANOVA)和多重比较(LSD检验)分析各浓度组与空白对照组间以及各浓度组之间的差异显著性;对汀棠湖姐妹种II和姐妹种I种群参数间的差异进行独立样方 $t$ -检验.

## 2 结果

### 2.1 三湖泊轮虫姐妹种I的孤雌生殖和有性生殖

无论实验用水中的澄清灰湖水含量如何,三个湖泊轮虫姐妹种I均具有较高的种群增长率( $0.52 \sim 0.85 \text{ d}^{-1}$ )、混交雌体数/非混交雌体数( $0.12 \sim 0.75$ )和休眠卵产量( $1.60 \sim 12.11 \text{ ind.}/(4 \text{ d} \cdot 5 \text{ ml})$ ).除汀棠湖轮虫姐妹种I的种群增长率外,澄清灰湖水含量对各湖泊轮虫姐妹种I的所有生殖参数均无显著影响( $P > 0.05$ ).汀棠湖轮虫姐妹种I的种群增长率在对照组中最低(表1),而20%、60%和80%的澄清灰湖水中轮虫的种群增长率与40%和100%的澄清灰湖水中的无显著差异.汀棠湖轮虫姐妹种I的种群增长率与澄清灰湖水含量显著相关( $R^2 = 0.302, P < 0.01$ ).

当实验用水为60%和80%的澄清灰湖水时,三湖泊间轮虫姐妹种I种群中的混交雌体数/非混交雌体数均存在显著差异( $P < 0.05$ ),且均以凤鸣湖轮虫种群中的混交雌体数/非混交雌体数显著高于汀棠湖和灰湖,而后两个湖泊间无显著差异(表1).

### 2.2 汀棠湖轮虫两姐妹种的孤雌生殖和有性生殖

无论实验用水中的澄清灰湖水含量如何,汀棠湖轮虫姐妹种II种群中的混交雌体数/非混交雌体数和休眠卵产量均较低;尤其是对照组中,混交雌体数/非混交雌体数和休眠卵产量均为0.在汀棠湖轮虫姐妹种II的所有种群参数中,仅种群增长率受澄清灰湖水含量的影响显著( $P < 0.05$ ).其中,60%、80%和100%澄清灰湖水中的种群增长率显著高于对照组和20%澄清灰湖水中的种群增长率(表1).汀棠湖轮虫姐妹种II的种群增长率与澄清灰湖水含量显著相关( $R^2 = 0.169, P < 0.01$ ).

两姐妹种间,除了对照组中的种群增长率、80%澄清灰湖水中的混交雌体数/非混交雌体数和休眠卵产量、各组中的携卵雌体数/不携卵雌体数无显著差异外,其他各组中轮虫各种群参数均以姐妹种I显著大于姐妹种II(表1).

## 3 讨论

### 3.1 粉煤灰污染影响萼花臂尾轮虫种复合体空间分布的原因

一般认为,在隔离水体间,单巢目轮虫可以通过休眠卵借助风力和水禽等介质进行扩散.因此,在原栖息的水体中单巢目轮虫有性生殖的发生以及通过有性生殖所产生的休眠卵的数量是决定其能否进行有效

表 1 澄清灰湖水含量对芡花臂尾轮虫种群参数的影响

Tab. 1 Effects of volume fraction of settled coal ash water on population parameters of *B. calyciflorus*

灰湖水含量	姐妹种	种群增长率/ $d^{-1}$	混交雌体数/ 非混交雌体数	携卵雌体数/ 不携卵雌体数	休眠卵产量/ (ind./ (4 d · 5 ml))
0	汀棠湖 II	0.34 ± 0.05	0.00 ± 0.00 *	1.49 ± 0.56	0.00 ± 0.00 *
	汀棠湖 I	0.52 ± 0.08	0.14 ± 0.06	0.95 ± 0.18	2.11 ± 0.98
	灰湖 I	0.69 ± 0.05	0.21 ± 0.11	0.90 ± 0.15	1.60 ± 0.79
	凤鸣湖 I	0.67 ± 0.07	0.25 ± 0.14	0.66 ± 0.11	6.50 ± 2.61
20%	汀棠湖 II	0.34 ± 0.05 *	0.02 ± 0.02 *	0.59 ± 0.06	0.00 ± 0.00 *
	汀棠湖 I	0.72 ± 0.03	0.23 ± 0.06	0.80 ± 0.08	9.89 ± 4.14
	灰湖 I	0.72 ± 0.06	0.24 ± 0.09	0.69 ± 0.11	6.30 ± 3.61
	凤鸣湖 I	0.55 ± 0.09	0.75 ± 0.39	0.89 ± 0.09	6.11 ± 3.28
40%	汀棠湖 II	0.37 ± 0.06 *	0.03 ± 0.03 *	0.87 ± 0.14	0.10 ± 0.10 *
	汀棠湖 I	0.68 ± 0.04	0.19 ± 0.06	0.81 ± 0.15	10.78 ± 4.25
	灰湖 I	0.75 ± 0.07	0.12 ± 0.06	0.58 ± 0.10	3.90 ± 2.00
	凤鸣湖 I	0.70 ± 0.06	0.41 ± 0.20	0.60 ± 0.10	12.70 ± 5.19
60%	汀棠湖 II	0.50 ± 0.05 *	0.02 ± 0.01 *	0.60 ± 0.06	0.00 ± 0.00 *
	汀棠湖 I	0.72 ± 0.01	0.12 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.76 ± 0.06	12.11 ± 4.48
	灰湖 I	0.81 ± 0.05	0.15 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.70 ± 0.09	4.10 ± 1.63
	凤鸣湖 I	0.70 ± 0.06	0.35 ± 0.10 <sup>b</sup>	0.90 ± 0.08	6.40 ± 1.66
80%	汀棠湖 II	0.58 ± 0.04 *	0.04 ± 0.03	0.74 ± 0.08	0.10 ± 0.10
	汀棠湖 I	0.79 ± 0.06	0.13 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.83 ± 0.08	3.00 ± 1.67
	灰湖 I	0.77 ± 0.07	0.14 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.72 ± 0.09	5.20 ± 2.27
	凤鸣湖 I	0.74 ± 0.31	0.41 ± 0.12 <sup>b</sup>	0.81 ± 0.07	8.40 ± 2.92
100%	汀棠湖 II	0.52 ± 0.05 *	0.00 ± 0.00 *	0.74 ± 0.09	0.00 ± 0.00 *
	汀棠湖 I	0.85 ± 0.05	0.15 ± 0.06	0.71 ± 0.05	7.33 ± 3.10
	灰湖 I	0.78 ± 0.05	0.22 ± 0.07	0.62 ± 0.05	2.90 ± 1.25
	凤鸣湖 I	0.76 ± 0.04	0.32 ± 0.09	0.80 ± 0.09	9.50 ± 3.73

\* 表示汀棠湖两姐妹种间具有显著差异;不同小写字母表示同一澄清灰湖水浓度下轮虫姐妹种 I 的某一生殖参数在三个湖泊种群间具显著差异 ( $P < 0.05$ ).

扩散的首要因素,而扩散到新的水体中的休眠卵能否孵化以及孵化出的轮虫个体对水环境的适应性则是决定轮虫种群建立的重要条件.就本研究中的轮虫姐妹种 II 而言,尽管其种群在包括 100% 澄清灰湖水在内的各实验用水中均能增长,但无论实验用水中的澄清灰湖水含量如何,汀棠湖轮虫姐妹种 II 种群中的混交雌体数/非混交雌体数和休眠卵产量均较低;尤其是对照组中,混交雌体数/非混交雌体数和休眠卵产量均为 0;这意味着轮虫姐妹种 II 无法在隔离的水体间进行有效的扩散;这或许是存在于汀棠湖和凤鸣湖中的轮虫姐妹种 II 没有通过扩散而出现在灰湖中的主要原因.另外,即使个别休眠卵通过扩散进入灰湖水体中且成功孵化,较少的个体数量和较低的种群增长率势必造成其在有限的食物资源竞争中被淘汰<sup>[6]</sup>.

基因流是一个群体迁移至另一个群体时将某基因带到新的群体产生的基因流动.据此,粉煤灰污染水体与未污染水体中芡花臂尾轮虫姐妹种 I 种群间保持较高水平的基因流意味着三湖泊间轮虫种群存在着迁移.本研究中,汀棠湖和凤鸣湖轮虫姐妹种 I 在曝气自来水中、灰湖轮虫姐妹种 I 在各浓度的澄清灰湖水中均具有一定的休眠卵产量,为该种轮虫的扩散提供了重要的物质基础;而三个湖泊中的轮虫姐妹种 I 在各实验用水中所具有的较高的种群增长率和混交雌体数/非混交雌体数为轮虫种群在扩散水体中的建立和种群间的基因交流提供了保证.

### 3.2 粉煤灰污染导致轮虫种群密度下降的原因

已有研究表明,粉煤灰污染严重破坏了印度德里 Yamuna 河浮游动物群落结构,降低了水体中浮游动物

尤其是轮虫和原生动物的密度<sup>[5]</sup>。但粉煤灰污染导致轮虫种群密度下降是否与其中的污染物对轮虫的直接毒性作用有关尚不清楚。本研究中,各浓度的澄清灰湖水使轮虫姐妹种 I 的种群增长率显著高于对照组,60%、80% 和 100% 的澄清灰湖水使轮虫姐妹种 II 的种群增长率也显著高于对照组,这表明粉煤灰污染导致轮虫种群密度下降并非由于其中所含的污染物(较高浓度的碱性氧化物、硫化物和金属元素等)和水体 pH 值的改变等对轮虫的直接毒性作用,而可能是悬浮的粉煤灰颗粒对轮虫摄食和消化等的影响、粉煤灰污染导致的可食性藻类密度的降低所致。

### 3.3 粉煤灰污染对轮虫生殖的影响和污染监测的敏感指标

大多数水体污染物对轮虫种群增长的影响表现为抑制作用,少数污染物如除草剂草甘膦等则表现为促进作用<sup>[12]</sup>。与草甘膦的作用相似,本研究中,各浓度的澄清灰湖水对轮虫姐妹种 I 的种群增长具有明显的促进作用,60%、80% 和 100% 的澄清灰湖水对轮虫姐妹种 II 的种群增长亦具有明显的促进作用;这也首次表明同一水体中分布的轮虫姐妹种对粉煤灰污染的敏感性存在着差异。

众多的研究均表明,种群增长率是用来监测水体污染物毒性的一个较敏感的指标。但也有研究发现,轮虫的有性生殖(以混交雌体百分率和休眠卵产量等为指标)通常比无性生殖(以种群增长率为指标)对污染物更敏感<sup>[9-10, 13-16]</sup>。然而,本研究结果表明,仅轮虫的无性生殖对粉煤灰污染较敏感。

## 4 参考文献

- [1] Singh H, Kolay PK. Analysis of coal ash for trace elements and their geo-environmental implications. *Water Air and Soil Pollution*, 2009, **198**: 87-94.
- [2] Burton WH, Pinkney AE. Yellow perch larval survival in the Zekiah Swamp watershed(Wicomico River, Maryland) relative to the potential effects of a coal ash storage facility. *Water Air and Soil Pollution*, 1994, **72**: 235-249.
- [3] Brieger G, Well JR, Hunter D. Plant and animal species composition and heavy metal content in fly ash ecosystems. *Water Air and Soil Pollution*, 1992, **63**: 87-103.
- [4] Rowe CL, Hopkins WA, Congdon JD. Ecotoxicological implications of aquatic disposal of coal combustion residues in the United States; a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2002, **80**(3): 207-276.
- [5] Walia A, Mehra NK. A seasonal assessment of the impact of coal fly ash disposal on the river Yamuna, Delhi, II. biology. *Water Air and Soil Pollution*, 1998, **103**: 315-339.
- [6] 张根, 席贻龙, 薛颖昊等. 基于 rDNA ITS 序列探讨粉煤灰污染对萼花臂尾轮虫种群遗传多样性的影响. 生物多样性, 2010, **18**(3): 241-250.
- [7] Gilbert JJ. Mictic female production in rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Journal of Experimental Zoology*, 1963, **153**(2): 113-124.
- [8] 黎尚豪, 朱蕙, 夏宜琤等. 单细胞绿藻的大量培养实验. 水生生物学集刊, 1959, **4**: 462-472.
- [9] Radix P, Severin G, Schramm KW *et al.* Reproduction disturbances of *Brachionus calyciflorus* (rotifer) for the screening of environmental endocrine disruptors. *Chemosphere*, 2002, **47**: 1097-1101.
- [10] Snell TW, Carmona MJ. Comparative toxicity sensitivity of sexual and asexual reproduction in the rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1995, **14**(3): 415-420.
- [11] 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.
- [12] Xi YL, Feng LK. Effects of thiophanate-methyl and glyphosate on asexual and sexual reproduction in the rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2004, **73**(4): 644-651.
- [13] Versteeg DJ, Stanton DT, Pence MA *et al.* Effects of surfactants on the rotifer *Brachionus calyciflorus* in a chronic toxicity test and in the development of QSARS. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1997, **16**(5): 1051-1058.
- [14] Preston BL, Snell TW, Roberston TL *et al.* Use of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* in screening assay for potential endocrine disruptors. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2000, **19**: 2923-2928.
- [15] Preston BL, Snell TW. Full life cycle toxicity assessment using rotifer resting egg production; implications for ecological risk assessment. *Environmental Pollution*, 2001, **114**: 399-406.
- [16] Marcial HS, Hagiwara A, Snell TW. Effect of some pesticides on reproduction of rotifer *Brachionus plicatilis* Müller. *Hydrobiologia*, 2005, **546**: 569-575.