

杀虫剂西维因对萼花臂尾轮虫急性毒性和生活史参数的影响

刘剑锋, 耿红*, 贺萌

(中南民族大学生命科学院, 武汉 430074)

摘要: 采用生态毒理学方法, 研究了(25±1)℃下, 杀虫剂西维因对萼花臂尾轮虫的急性毒性影响以及慢性染毒对轮虫生命史参数的影响。结果表明: 西维因对轮虫 24 h 急性毒性半致死浓度为 4.868 mg·L⁻¹, 95% 置信区间为 4.538~5.229 mg·L⁻¹; 慢性毒性实验结果显示, 除产卵量外, 西维因对轮虫的主要发育阶段历时、平均寿命、净生殖率、生命期望、内禀增长率以及世代时间均有显著影响($P<0.05$)。与对照组相比, 西维因显著降低(缩短)轮虫平均寿命、净生殖率和内禀增长率, 且高浓度的西维因对平均寿命和内禀增长率的影响更为显著; 幼体阶段历时和胚胎发育时间均随西维因浓度的升高而延长; 除 2.2 mg·L⁻¹ 的西维因对轮虫世代时间无显著影响外, 其他各浓度均显著缩短轮虫世代时间($P<0.05$)。

关键词: 西维因; 萼花臂尾轮虫; 半致死浓度; 生活史参数

中图分类号: X171.5 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2014)12-2315-06 doi:10.11654/jaes.2014.12.006

Effects of Carbaryl on Acute Toxicity and Life Cycle Parameters of *Brachionus calyciflorus*

LIU Jian-feng, GENG Hong*, HE Meng

(College of Life Sciences, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China)

Abstract: Carbaryl (C₁₂H₁₁NO₂), a carbamate insecticide, has been used worldwide since 1956. Previous studies have been focused on mammals, amphibians, and fishes. However, little information was available on rotifers. In this study, we used freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus*, as a model species, which is distributed widely in lakes, rivers, and ponds, to examine the ecotoxicity of carbaryl on small aquatic animals. Rotifer was originally collected from South Lake, Wuhan in 2013, and cultured continuously in the laboratory ever since. The acute effects of carbaryl on the life cycle of rotifer *Brachionus calyciflorus* was studied under laboratory conditions at (25±1)℃. The results showed that the 24 h LC₅₀ value of carbaryl was 4.868 mg·L⁻¹ for *B. calyciflorus*, and exhibited a probit model equation: Probit (P) = 6.465X - 4.444, with 95% confidence interval of 4.538~5.229 mg·L⁻¹. The chronic toxicity showed that carbaryl had an obvious impact on main developmental stages, average life span, net reproduction rate, intrinsic rate of increase and generation time of rotifer except its spawning. Compared with the control group, carbaryl significantly reduced the average life span, net reproduction rate and intrinsic rate of increase, with greater effects on life span and intrinsic rate of increase at high concentrations. Larval stage length and embryonic development time extended with increasing carbaryl concentrations. Carbaryl significantly shortened the generation time of the rotifer, except at 2.2 mg·L⁻¹.

Keywords: carbaryl; *Brachionus calyciflorus*; median lethal concentration; life cycle parameters

杀虫剂西维因(Carbaryl)是氨基甲酸酯类农药的典型代表, 此类农药具有高效、低毒、低残留的特点, 因而成为继有机氯、有机磷农药之后被广泛使用的又

一农药。在促进作物生长的同时, 农药及其残留物也会进入大气、水体和土壤, 破坏生态环境, 进而引起动、植物的病变, 并且通过食物链的传递和放大, 最终对人身健康产生危害。已有研究表明, 西维因会损害人的免疫系统, 而且会影响男性精液质量^[1-2]。

轮虫是水生态系统中重要组成成分之一, 因具有易培养、生长繁殖快、世代周期短、分布广以及对毒物敏感等特点, 而成为生态毒理学研究常用的受试动物

收稿日期: 2014-07-23

基金项目: 国家自然科学基金(30700088, 31200361)

作者简介: 刘剑锋(1992—), 男, 山东临沂人, 硕士研究生, 主要研究方向为淡水生态学、生态毒理学。E-mail: 845190699@qq.com

* 通信作者: 耿红 E-mail: genghong@mail.scuec.edu.cn

之一^[3],其中最常用的就是萼花臂尾轮虫(*Brachionus calyciflorus*)。美国环保局已将萼花臂尾轮虫作为淡水测试生物列入国家测试标准^[4]。

目前有关西维因毒性研究的报道较少,且主要集中在哺乳动物,蝌蚪、蟾蜍、鱼等大中型两栖或水体动物^[5-10],但对轮虫的影响几乎未见报道。本文选用萼花臂尾轮虫为受试动物,在实验室条件下,研究西维因对其急性毒性的影响以及慢性染毒对轮虫生命表参数的影响,以便进一步了解西维因的毒性强度,并为环保部门制定相关的农药排放标准提供参考。

1 材料与方法

1.1 轮虫的来源与预培养

萼花臂尾轮虫取自武汉市南湖水体中,在实验室中单个体“克隆”培养,培养时间6个月以上。实验前将轮虫置于(25±1)℃的光照培养箱中进行至少1周的预培养,培养基采用EPA配方^[11],培养用容器为50 mL烧杯。预培养期间,每天投喂密度约为2.0×10⁶ cells·mL⁻¹的小球藻并更换一次新鲜培养液,同时除去一部分个体;每隔12 h悬浮一次沉积于烧杯底部的藻液。

1.2 饵料

本实验所用饵料为小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*),购自武汉水生研究所。小球藻培养液采用SE培养基,于光照培养箱中摇床培养,离心浓缩后放入4℃冰箱,以备实验时使用。设置培养箱的光照周期L:D=12:12,光照强度2000 lx,温度25℃。

1.3 实验药品

西维因(Carbaryl),分析标准纯,98%。购自上海阿拉丁试剂有限公司。

1.4 急性毒性实验

实验前,以10 mL无水乙醇为助溶剂、EPA为溶剂,将西维因配制成浓度为100 mg·L⁻¹的母液,常温避光保存。实验时再用EPA将母液稀释成所需浓度。

从预培养体系中随机吸取携带非混交卵的轮虫个体若干,在相同的条件下继续培养,约4 h后,收集大小相当的健康幼体。根据预实验结果,将西维因浓度设置为2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 mg·L⁻¹共6个浓度梯度,另外设1个空白对照(只加EPA);每个浓度设4个平行,每个平行使用10个轮虫个体。由于本次急性毒性实验目的只是计算24 h半致死浓度,且预实验时未发现无水乙醇对轮虫产生可见影响,故不再单独设置乙醇对照组。

实验在恒温无光的培养箱中进行,培养温度为(25±1)℃,实验期间不喂食。24 h后,在解剖镜下观察轮虫存活情况,以轮虫纤毛停止摆动且内脏活动停止为死亡标准。采用SPSS16.0软件中的Probit模块计算24 h半致死浓度(24 h LC₅₀)。

1.5 生命表实验

从预培养的烧杯中随机吸取带非混交卵的轮虫个体若干个置于培养皿(含密度为2.0×10⁶ cells·mL⁻¹的小球藻)中继续培养,2~4 h后收集孵化出的轮虫幼体。实验设置6个处理组、1个空白对照和1个乙醇对照;每组重复4次,每个重复用10个幼体。根据急性毒性实验得出的24 h LC₅₀,设置处理组的浓度分别为4.0、3.4、2.8、2.2、1.6、1.0 mg·L⁻¹。

实验在特制的24孔板中进行,每孔约2 mL,每孔放1个幼体并滴加1 mL内含密度为2.0×10⁶ cells·mL⁻¹小球藻的测试液。实验在25℃、无光照的恒温培养箱中进行。

开始实验的48 h内,从第8 h开始,大约每2 h观察一次,记录每个个体产第一枚非混交卵的时间和每个个体产出第一个后代的时间;之后每12 h观察一次,并记录母体存活情况、产卵数、孵化出的幼体数,并移出幼体;当母体不再产卵后,每4 h观察一次,记录母体死亡时间。实验进行至母体全部死亡^[12]。实验期间,每12 h悬浮一次沉积于底部的藻类;每24 h更换测试液并投喂密度为2.0×10⁶ cells·mL⁻¹的小球藻。

1.6 相关参数的定义与计算方法

①幼体阶段:个体从出生到产生第一枚非混交卵的阶段;

②胚胎发育阶段:卵从出现到孵化出幼体时的阶段;

③生殖期:从第一枚卵产出到最后一枚卵产出的阶段;

④平均寿命:轮虫幼年期、生殖期和生殖后期所经历时间之和;

⑤净生殖率(R_0)= $\sum l_x m_x$;

⑥内禀增长率(r_m)= $\ln R_0 / T$;

⑦世代时间(T)= $(\sum x l_x m_x) / R_0$;

⑧生命期望(e_x)= T_x / n_x ;

⑨ $L_x = (n_x + n_{x+1}) / 2$

式中: l_x 为存活率; m_x 为各年龄段的出生率; L_x 为从 x 期到 $(x+1)$ 期的平均存活数; T_x 指进入 x 龄期的全部个体进入 x 期以后的存活个体总数; n_x 指特定时间的存活数。

1.7 数据处理与软件分析

所得部分实验数据在 Excel 中计算, 并采用 SPSS16.0 软件对数据进行单因素方差分析(One-Way ANOVA)和 *t* 检验, 以此来分析各浓度组以及助溶剂组与空白对照组的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 西维因对蓼花臂尾轮虫的急性毒性影响

根据急性毒性试验结果得出的数据, 经 SPSS16.0 软件计算得出, 在(25±1) °C、没有光照且不喂食的条件下, 西维因对蓼花臂尾轮虫幼体的 24 h 半致死浓度为 4.868 mg·L⁻¹, 95% 置信区间为 4.538~5.229 mg·L⁻¹。

2.2 西维因对轮虫主要发育阶段历时、平均寿命以及产卵量的影响

根据表 1 中的数据, 单因素方差分析结果表明, 除产卵量外, 西维因对其他各种参数均有显著影响($P<0.05$)。在实验浓度范围内, 幼体阶段历时、胚胎发育时间均随西维因浓度的升高而延长; 与对照组相比, 高浓度组(4.0、3.4 mg·L⁻¹)对平均寿命的影响极为显著($P<0.01$), 明显缩短平均寿命; *t* 检验分析结果表明, 与空白组相比, 助溶剂组对各项参数的影响均不显著($P>0.05$)。

2.3 西维因对轮虫存活率和繁殖率的影响

从图 1(a)可以看出, 与对照组相比, 不同浓度的西维因对蓼花臂尾轮虫的存活率均产生影响, 较对照组明显下降, 且随西维因浓度的增加存活率降低。实验开始的前 60 h 内, 对照组和处理组均无死亡个体产生; 从第 72 h 开始, 较高浓度的处理组(4.0、3.4 mg·L⁻¹)首先出现死亡个体, 而对照组出现死亡个体

的时间最晚(第 108 h); 在第 144 h 时, 较高浓度的处理组(4.0、3.4、2.8 mg·L⁻¹)中个体全部死亡, 其他组持续到第 156 h 全部死亡; 另外发现, 在第 108~132 h 期间, 不管是对照组还是处理组, 轮虫存活率急剧下降, 表明此时轮虫身体各项机能已经开始退化。

从图 1(b)可以看出, 除了 2.8 mg·L⁻¹ 浓度组外, 其他各组均在第 48 h 到达繁殖高峰期(2.8 mg·L⁻¹ 浓度下为第 36 h); 与空白对照组相比, 除乙醇对照组外, 其他处理组均对繁殖率峰值有显著影响($P<0.05$); 过了峰值之后, 各实验组繁殖率开始呈下降趋势, 高浓度组(2.8、3.4、4.0 mg·L⁻¹)在第 108 h 后不再进行繁殖, 而低浓度组(1.0 mg·L⁻¹)与对照组的繁殖一直延续到第 132 h 才结束。

2.4 西维因对轮虫种群增长参数的影响

单因素方差分析结果表明(表 2), 在实验浓度范围内, 西维因对蓼花臂尾轮虫种群增长参数有显著影响($P<0.05$)。与对照组相比, 在实验浓度范围内, 高西维因浓度对轮虫净生殖率影响不显著, 而低浓度组(1.0、1.6、2.2、2.8 mg·L⁻¹)时, 轮虫净生殖率显著下降($P<0.05$); 4.0 mg·L⁻¹ 的西维因显著缩短轮虫的生命期望($P<0.05$); 低浓度西维因(1.0、1.6、2.2 mg·L⁻¹)对轮虫内禀增长率无显著影响, 而高浓度组(2.8、3.4、4.0 mg·L⁻¹)显著降低轮虫内禀增长率($P<0.05$); 除了 2.2 mg·L⁻¹ 的西维因对轮虫世代时间无显著影响外, 其他各浓度均显著缩短轮虫世代时间($P<0.05$); *t* 检验结果表明, 与对照组相比, 乙醇对轮虫各项种群增长参数均无显著影响($P>0.05$)。

回归分析结果表明, 蓼花臂尾轮虫的内禀增长率和生命期望随西维因浓度的增大而减小, 世代时间、

表 1 不同浓度西维因对轮虫主要发育阶段历时、平均寿命以及产卵量的影响(平均值±标准误)

Table 1 Duration of developmental stages, mean lifespan and spawning of rotifer at different concentrations of carbaryl (Mean±SE)

药物浓度/mg·L ⁻¹ Drug concentration	幼体阶段历时/h Larval stage duration	胚胎发育时间/h Embryonic development time	生殖期/h Reproductive period	平均寿命/h Mean lifespan	产卵量/ind Spawning
空白对照	16.6±2.3	10.3±2.4	115.1±3.3	138.5±4.2	23.9±2.1
乙醇对照	16.6±1.7	10.6±1.7	114.8±2.8	138.0±3.8	22.0±2.3
1.0	17.0±2.0	11.4±1.7	103.8±2.1*	134.2±3.7*	21.6±1.7
1.6	16.7±2.1	12.1±2.1*	94.6±4.2*	129.6±3.9*	22.0±2.8
2.2	17.8±1.8*	11.6±1.2	102.0±1.9*	131.1±4.6*	22.1±2.2
2.8	18.7±0.9*	13.0±1.9*	94.7±1.6*	133.0±4.1*	21.5±1.9
3.4	18.8±1.6*	14.3±1.0*	98.0±2.2*	124.0±3.9**	22.7±2.3
4.0	19.9±1.7*	14.8±1.5*	100.2±2.6*	126.9±4.0**	23.4±2.6

注: * 表示与同列的对照组相比, 差异显著($P<0.05$); ** 表示与同列的对照组相比, 差异极显著($P<0.01$)。

Note: * and ** indicate significant differences from the controls within a column at $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively.

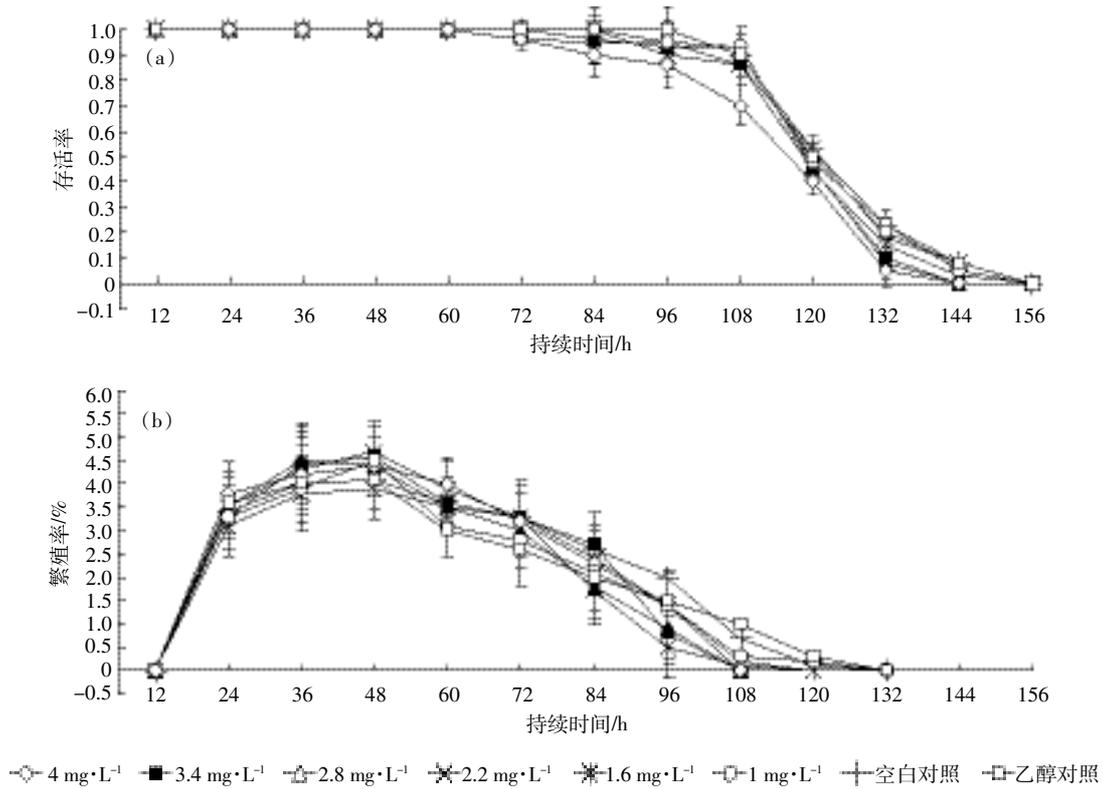


图1 西维因对轮虫特定年龄存活率和繁殖率的影响(平均值±标准误)

Figure 1 Effects of carbaryl on age-specific survival and reproduction rate of *Brachionus calyciflorus* (Mean±SE)

表2 不同浓度的西维因对萼花臂尾轮虫生命表统计学参数的影响(平均值±标准误)

Table 2 Effects of different concentrations of carbaryl on life table demographic parameters of *B. calyciflorus* (Mean±SE)

西维因浓度 Concentration/mg·L ⁻¹	净生殖率 R ₀ /ind	生命期望 e ₀ /h	内禀增长率 r _m /h ⁻¹	世代时间 T/h
空白对照	23.68±0.19	122.70±1.56	0.059 9±0.000 3	57.46±2.14
乙醇对照	23.57±0.37	122.10±0.53	0.059 3±0.001 3	55.91±1.44
1.0	21.41±0.35*	121.50±2.21	0.058 4±0.000 7	53.61±1.70*
1.6	21.94±0.41*	120.30±1.28	0.059 0±0.000 3	51.57±1.19*
2.2	21.43±0.27*	118.50±0.78	0.058 3±0.001 0	55.39±2.01
2.8	21.50±0.40*	118.20±1.31	0.056 1±0.001 7*	51.71±0.83*
3.4	22.46±0.33	117.30±2.06	0.055 2±0.000 9*	53.24±1.76*
4.0	22.81±0.31	112.50±2.83*	0.055 1±0.000 4*	52.99±1.21*

注:*表示与同列的对照组相比,差异显著(P<0.05)。

Note: *indicates significant difference from the controls within a column(P<0.05).

净生殖率与西维因浓度呈显著的曲线相关(表3)。

3 讨论

已有研究结果显示,西维因对鲢鱼^[5]的72 h LC₅₀值为17.5 mg·L⁻¹;对彩虹鳟鱼^[8]、蝌蚪^[7]和蟾蜍^[8]的96 h LC₅₀值分别为1.88、6.2、12.3 mg·L⁻¹;对蚯蚓^[13]24、48、72 h的半致死浓度分别为324.2、15.8、2.5 mg·L⁻¹。本实验中,西维因对萼花臂尾轮虫的24 h LC₅₀值为4.868 mg·L⁻¹。由此可见:在暴露时间相同的情况下,

表3 萼花臂尾轮虫生命表参数与西维因浓度(X/mg·L⁻¹)间的关系

Table 3 Relationship between life table parameters of *B. calyciflorus* and carbaryl concentration

参数 Parameters	回归方程 Regression equation	显著性检验 Sig. test
净生殖率	Y ₁ =0.425X ² -1.899X+23.704	R ² =0.945, P<0.05
生命期望	Y ₂ =-2.32X+123.62	R ² =0.899, P<0.01
内禀增长率	Y ₃ =-0.01X+0.06	R ² =0.884, P<0.01
世代时间	Y ₄ =0.937X ² -4.660X+57.283	R ² =0.920, P<0.05

蓼花臂尾轮虫对西维因的敏感性最强;同一物种的不同发育阶段以及不同的暴露时间均能明显影响该物种对西维因的敏感性。

生命表动态实验不仅能够很好地研究种群生态学,而且对生态毒理的评价也有重要的意义^[14]。由于群体研究实验很难得到特定年龄的存活率和繁殖率,本实验中轮虫的慢性毒性部分的研究采用单个体培养实验来进行。在毒理学实验中,有毒物质通过简单扩散,不仅能通过轮虫皮肤进入其体内并对体内各组织器官产生直接的毒性效应^[15-16],而且作为饵料的小球藻同样会吸收培养液中的有毒物质从而对轮虫产生间接的毒性效应。这就使得轮虫面临来自水环境和摄食两方面的毒性效应,从而对存活率和繁殖率产生影响^[17]。由于轮虫所摄入的能量大部分会用于机体的存活和繁殖,在受到外界污染物胁迫的条件下,其存活和繁殖指标首先会作出相应的反应^[18]。这也是本研究选用存活率和繁殖率作为指标的重要原因之一。

比较以往的研究,发现轮虫各生命表统计学参数常因污染物的种类不同而表现出不同的敏感性。Ferrando 等^[19]发现,与世代时间和生命期望相比,种群增长率和净生殖率是更为敏感的指标;Xi 和 Hu^[20]、Rao 和 Sarma^[21]认为,轮虫的内禀增长率是监测水体低浓度污染最敏感的指标;Yang 等^[22]和 Janssen 等^[23]发现,在一些低浓度的环境激素下,最敏感的指标是休眠卵,而内禀增长率变化却不明显。本研究中,从生命表参数随西维因浓度的变化趋势来看,世代时间是最为敏感的指标,在西维因浓度很低的情况下便出现显著缩短的现象。

许多研究表明,一定浓度的农药能使蓼花臂尾轮虫的生命期望和世代时间明显缩短,使轮虫的净生殖率和内禀增长率显著降低^[19-26]。与以往研究结果一致,本研究中,4.0 mg·L⁻¹的西维因显著缩短蓼花臂尾轮虫的生命期望和世代时间,2.8~4.0 mg·L⁻¹的西维因显著降低轮虫的内禀增长率,1.6~2.8 mg·L⁻¹的西维因显著降低了轮虫的净生殖率。

与之前的研究相比,本实验使我们对西维因的毒性强度有了进一步的了解,并在一定程度上弥补了氨基甲酸酯类农药对水生生物毒性数据的不足,为西维因的科学合理使用提供了依据。然而,本实验完全是在室内条件进行的,且研究的仅是单一污染物对蓼花臂尾轮虫的毒性影响,但在自然水体中蓼花臂尾轮虫通常暴露于多组分污染物共存的混合体系,而非简单的单一体系。对于体系毒性是否因为组分间的相互作

用而增强、减弱或者未受影响不能做出准确判定。为了更为真实地反映污染物对轮虫的毒性影响,联合毒性效应值得我们关注和深入研究。

4 结论

(1)24 h 急性毒性实验结果表明,蓼花臂尾轮虫对西维因的敏感性要明显强于以往研究中其他受试动物,进一步证明了将蓼花臂尾轮虫作为生态毒理学中常用的受试动物是一个很好的选择。

(2)生命表实验结果表明,西维因均能不同程度地延长蓼花臂尾轮虫的生殖前期和胚胎发育期,并缩短生殖期历时以及平均寿命;西维因对轮虫的产卵量没有显著影响;西维因对轮虫的繁殖率峰值有显著影响,但没有表现出明显的剂量关系;在实验浓度范围内,蓼花臂尾轮虫的内禀增长率和生命期望随西维因浓度的增大而减小;轮虫世代时间、净生殖率与西维因浓度呈显著的曲线相关。

(3)对于最敏感指标,与以往许多研究不同,在本实验所研究的指标中,世代时间是最为敏感的指标。进一步表明相同物种对不同污染物的敏感性不同,甚至是同一物种的不同品系对同一污染物的敏感性也不一样。

参考文献:

- [1] 夏彦恺,王心如.氨基甲酸酯和拟除虫菊酯农药暴露的男性生殖毒性的研究[D].南京:南京医科大学,2007:96.
XIA Yan-kai, WANG Xin-ru. Male reproductive toxicities of exposure to carbamate and pyrethroid pesticides[D]. Nanjing: Nanjing Medical University, 2007:96.
- [2] 任晓梅.农药的致突变作用的研究进展[J].农业与技术,2013(6):27.
REN Xiao-mei. The developments in mutagenesis research of pesticides[J]. *Agriculture and Technology*, 2013(6):27.
- [3] Terry W S, Colin R J. Rotifers in ecotoxicology: A review[J]. *Hydrobiologia*, 1995, 313-314(1):231-247.
- [4] ASTM. Standard guide for acute toxicity tests with the rotifer *B. Cratichionus*. Annual Book of ASTM Standards. Vo 1. 11104, E1440. Philadelphia, PA[S]. USA: American Society for Testing and Material, 1991.
- [5] Arunachalam S, Jeyalakshmi K, Aboobucker S. Toxic and sublethal effects of carbaryl on a freshwater catfish, *Mystus vittatus* (Bloch)[J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1980, 9(3):307-316.
- [6] Peter M, Marian A V, Pandian T J. Acute and chronic effects of carbaryl on survival, growth, and metamorphosis in the bullfrog (*Ranatigrina*)[J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1983(12):271-275.
- [7] Dwyer F J, Maye F L, Sappington L C, et al. Assessing contaminant sensitivity of endangered and threatened aquatic species; Part 1. Acute toxicity of five chemicals[J]. *Archives of Environmental Contamination and*

- Toxicology*, 2005, 48(2):143-154.
- [8] 徐晋康, 田长青. 农药西维因的毒性研究[J]. 卫生研究, 1980(1):85-90.
- XU Jin-kang, TIAN Chang-qing. Toxicity research of carbaryl[J]. *Hygiene Research*, 1980(1):85-90.
- [9] Cerben S, Kraak M H S. Combined and single effects of pesticide carbaryl and toxic microcystis aeruginosa on the life history of *daphnia pulicaria*[J]. *Hydrobiologia*, 2010, 643(1):129-138.
- [10] Manish R P. Evaluation of cytotoxicity, genotoxicity and teratogenicity of two carbamate insecticides, propoxur and carbaryl using flounder gill cells and zebrafish embryos[D]. Shandong Province: Ocean University of China, 2013:48-56.
- [11] USEPA. Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms//Peltier W H, Weber C R, eds. EPA/600/485/013. Washington DC: US, Environmental Protection Agency, 1985:216.
- [12] 杨家新, 黄祥飞. 密度和温度对蓼花臂尾轮虫产卵量和混交雌体的影响[J]. 湖泊科学, 1996, 8(4):367-372.
- YANG Jia-xin, HUANG Xiang-fei. Effects of density and temperature on spawning and mictic female of *Brachionus calyciflorus*[J]. *Lake Science*, 1996, 8(4):367-372.
- [13] 乔广浩. 杀虫剂西维因对土壤动植物的生态毒性评价[D]. 辽宁: 辽宁师范大学, 2010:21-24.
- QIAO Guang-hao. Eco-toxicity assessment of insecticide carbaryl to soil fauna and flora[D]. Liaoning: Liaoning Normal University, 2010:21-24.
- [14] Kammenga J, Laskowski R. Demography in ecotoxicology[M]. London, New York: Wiley and Sons, 2000.
- [15] Preston B L, Snell T W. Full life-cycle toxicity assessment using rotifer resting egg production: Implications for ecological risk assessment[J]. *Environmental Pollution (Barking, Essex)*: 1987, 2001, 114(3):399-406.
- [16] 沈建忠. 动物毒理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002:28-32.
- SHEN Jian-zhong. Animal toxicology[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2002:28-32.
- [17] Wheelock C E, Baumgartner T A, Newman J W, et al. Effect of nutritional state on Hsp 60 levels in the rotifer *Brachionus plicatilis* following toxicant exposure[J]. *Aquatic Toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 2002, 61(1-2):89-93.
- [18] 李博. 生态学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000:70-83.
- LI Bo. Ecology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000:70-83.
- [19] Ferrando M D, Sancho E, Andreu-Moliner E. Chronic toxicity of fenitrothion to an algae (*Nannochloropsis oculata*), a rotifer (*Brachionus calyciflorus*), and the cladoceran (*Daphnia magna*) [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1996, 35(2):112-120.
- [20] Xi Y L, Hu H Y. Effect of thiophanate methyl on the reproduction and survival of the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2003, 71(4):722-728.
- [21] 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 [J]. *Hydrobiologia*, 1986, 139(3):193-200.
- [22] Yang J X, Snell T W. Effects of progesterone, testosterone, and estrogen on sexual reproduction of the rotifer *Brachionus calyciflorus* [J]. *International Review of Hydrobiology*, 2010, 95(6):441-449.
- [23] Janssen C R, Ferrando M D, Persoone G. Ecotoxicological studies with the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus*: IV. Rotifer behavior as a sensitive and rapid sublethal test criterion [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1994, 28(3):244-255.
- [24] 吕林兰, 杨家新, 匡腾蛟, 等. 氟他胺对蓼花臂尾轮虫的毒性影响[J]. 淡水渔业, 2012, 42(4):63-65, 90.
- LÜ Lin-lan, YANG Jia-xin, KUANG Teng-jiao, et al. Toxic effects of flutamide on *Brachionus calyciflorus* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2012, 42(4):63-65, 90.
- [25] Huang L, Liu C L, Wei C T, et al. Acute toxicity of two pyrethroids insecticides on *Brachionus calyciflorus* [J]. *Plant Diseases and Pests*, 2011, 2(3):62-64, 68.
- [26] 陆正和, 赵宝坤, 杨家新. 双酚 A 对蓼花臂尾轮虫毒性及生活史的影响[J]. 生态学报, 2012, 32(21):6828-6835.
- LU Zheng-he, ZHAO Bao-kun, YANG Jia-xin. Effects of bisphenol A on the toxicity and life history of the rotifer *Brachionus calyciflorus* [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(21):6828-6835.