

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20171022001

沙婧婧, 戴媛媛, 潘玉龙, 等. 轮虫在生态毒理学中的研究进展[J]. 生态毒理学报, 2018, 13(3): 56-70

Sha J J, Dai Y Y, Pan Y L, et al. Research progress in using rotifers in ecotoxicological studies [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2018, 13(3): 56-70 (in Chinese)

轮虫在生态毒理学中的研究进展

沙婧婧^{1,2,3}, 戴媛媛⁴, 潘玉龙^{1,2,3}, 李娟^{1,2,3}, 徐兆东^{1,2,3}, 张继民^{1,2,3,*}

1. 国家海洋局北海环境监测中心, 青岛 266033
2. 国家海洋局海洋溢油鉴别与损害评估技术重点实验室, 青岛 266033
3. 山东省海洋生态环境与防灾减灾重点实验室, 青岛 266033
4. 天津渤海水产研究所 中国水产科学院渤海研究中心, 天津 300457

收稿日期: 2017-10-22 录用日期: 2018-03-23

摘要: 轮虫是浮游动物中的重要类群, 因具有生活周期短、对毒物的敏感性高、有两性生殖方式、易培养和实用性强等优势特征, 已被用作生态毒理学实验中重要的模式生物, 颇有研究前景。本文简介了轮虫作为受试生物的特点及其生活史, 并从实验方法、污染物种类、测试指标等角度对近几十年来轮虫在生态毒理学中的应用现状、主要成果和最新进展作了概述, 主要包括轮虫在常规毒性评价中的应用; 急性毒性、慢性毒性以及对其行为的影响效应; 综述了几类典型环境污染物, 例如重金属、UV 辐射、持久性有机污染物以及农药化合物的胁迫对轮虫的毒性效应, 特别对目前存在的问题、研究热点及今后需要加强研究的方向进行了讨论和展望, 以期应用轮虫生态毒理学进行环境污染及风险评估提供参考。

关键词: 轮虫; 生态毒理学; 毒性效应; 研究进展

文章编号: 1673-5897(2018)3-056-15 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Research Progress in Using Rotifers in Ecotoxicological Studies

Sha Jingjing^{1,2,3}, Dai Yuanyuan⁴, Pan Yulong^{1,2,3}, Li Juan^{1,2,3}, Xu Zhaodong^{1,2,3}, Zhang Jimin^{1,2,3,*}

1. North China Sea Environmental Monitoring Center, State Oceanic Administration, Qingdao 266033, China
2. Key Laboratory of Marine Spill Oil Identification and Damage Assessment Technology, State Oceanic Administration, Qingdao 266033, China
3. Shandong Provincial Key Laboratory of Marine Ecological Environment and Disaster Prevention and Mitigation, Qingdao 266033, China
4. The Bohai Sea Fisheries Research Center of China Academy of Fishery Sciences, Tianjin Bohai Sea Fisheries Research Institute, Tianjin 300457, China

Received 22 October 2017 accepted 23 March 2018

Abstract: The rotifers act as an important group in zooplankton, which have been often adopted as the model testing organism of ecotoxicological experiments with a promising prospect, due to their advantages of short life cycle, high sensitivity to toxic substances, sexual reproduction mode, easy cultivation and practicability, etc. This article

基金项目: 国家重点研发计划“海洋环境安全保障”重点专项(2016YFC1402305); 国家重点研发计划项目经费资助项目(2016YFC0503602); 山东省海洋生态环境与防灾减灾重点实验室开放基金资助项目(201602); 国家海洋局海洋溢油鉴别与损害评估技术重点实验室开放基金项目(201701)

作者简介: 沙婧婧(1987-), 女, 博士, 工程师, 研究方向为生态毒理学, E-mail: shajingjing@bhj.gov.cn

* **通讯作者** (Corresponding author), E-mail: zhangjimjin@bhj.gov.cn

briefly introduced the characteristics and life history of rotifers, and reviewed their application status, main achievements and research progress in ecotoxicology area in terms of test methods, types of pollutants and test indicators for recent decades. The review summarized the application of rotifers in conventional toxicity evaluation, for instance, acute toxicity effect, chronic toxicity effect and behavioral toxicity effect. Then we reviewed the toxic effects of several kinds of typical environmental pollutants such as heavy metals, UV radiation, persistent organic pollutants (POPs) and pesticide compounds on the rotifers. The emphasis is placed on existing problems, future research hotspots and perspectives so as to provide references for the application of rotifers in ecotoxicology for the environmental pollution and risk assessment.

Keywords: rotifer; ecotoxicology; toxicity; research advance

海洋浮游动物是海洋生态系统的重要组成部分,其群落结构的多样性和稳定性对海洋生态系统影响甚远。轮虫(Rotifera)是海洋生态系统中最主要的次级生产者之一,起着关键性的承上启下作用,自身所独具的众多优势特征颇有研究前景,其生活周期短,且具有两性生殖方式,具有对毒物的敏感性、超强的实用性和培养的简易性,已经成为研究水生生态学、物种形成、进化与性别演变、种群动力学以及生态毒理学重要的模式生物^[1]。经济合作与发展组织(Organization for Economic Cooperation and Development, OECD)将轮虫视作无脊椎动物中进行环境毒性测试最有前途的分类群^[2]。因此,针对污染物对轮虫的生态毒理效应进行探讨研究对于海洋生态系统的修复和保护具有重要意义。

在过去的几十年里,国内外学者对轮虫在环境污染及其他胁迫因素下的实验研究大幅增加,尤其在它们的生态功能、地理系统发育、基因组学领域以及行为、生理生化和分子响应方面,展开了一系列的研究^[1,3-8]。作为水生浮游动物的主要种类,轮虫的生态毒理学研究获得较大发展,特别是学者们^[4,5,9]开始更多地关注对轮虫的分子和生理生化水平的影响,并取得了一些成果。通过基因表达的分析使得学者们能够更深入地掌握毒性效应的分子机制。轮虫可以作为毒物及其代谢产物风险评估的有用工具,且能通过其发现毒物最终进入水生生态系统的方式。在内分泌干扰方面,相比于桡足类和枝角类,轮虫对雄激素和抗雄激素物质特别敏感^[10-11]。且相对于桡足类和枝角类等水生浮游动物,轮虫具有实验周期短、成本低等优势。总体来说,对轮虫的生物毒性测试和基因表达研究相结合,让我们能够更加全面地了解污染物作用的毒性机制。本综述的目的是为了界定在生态毒理学研究中,轮虫作为重要的水生无脊椎动物模式生物的特征和潜能。本文

对轮虫在生态毒理学研究中的应用情况进行综述并加以展望,以期为轮虫在生态毒理学研究中的应用提供参考和拓宽思路。

1 轮虫的特点及其生活史 (The characteristics and life history of rotifers)

1.1 轮虫的特点

轮虫是一种微小的多细胞动物,有些种类营底栖、附着或固着生活,无游泳能力或游泳能力极弱、有些种类则营浮游或兼性浮游生活,在水中自由游动。轮虫身体不分节,但具有两侧对称的特征,具有假体腔,因此大多数动物学家将轮虫归属为假体腔动物(Pseudocoelomata)。根据轮虫胚胎发育过程和超微结构的差异,轮虫动物门(Rotifera)可分为单巢纲(Monogononta)、双巢纲(Digononta)和尾盘纲(Seisonidea),单巢纲分游泳目(Ploima)和簇轮虫目(Flosculariacea),大约有90%的轮虫属于单巢纲。轮虫属于后生水生生物,在17世纪后期的列文·虎克时期即被人了解,通常体长在100~1000 μm之间,最小的仅有40 μm左右,最大的可达到4 mm,迄今已知约2150种^[12]。

轮虫由于个体较小,培养所用的水体体积小,甚至可以用微升加以培养,因此可用很微量的测试物来进行毒理学评价。轮虫雌雄异体,雄性个体小,仅有纤毛环和精巢,专为有性生殖交配。雌性较为常见,个体大。轮虫的内部器官比较齐全,具备神经、消化、排泄、生殖等器官系统,如图1所示。轮虫最主要的三大特征为:轮盘、咀嚼器和原肾管。根据以上特征,就能够明显地将轮虫与其他水生动物区别开来^[13]。

作为受试生物,轮虫在生态毒理学研究中具有比其他浮游动物更明显的优势,能够作为水质变化的敏感的生物指示物。这些优势包括个体体型较小、世代时间短、生殖速度快、能缩短毒性试验时间、对很多有毒物质都具有较强的敏感性、主要进行孤

雌生殖、培养技术易行、具有较高的种群密度和种群增长率等,详见表1所列。轮虫属全球分布,实验材料可得性强,且轮虫休眠卵已能进行商业化生产,同批次得到的休眠卵能使试验材料基本生理状况保持一致,减小实验误差。休眠卵能够存储较长时间,可在需要的时候随时孵化进行生态毒理学实验。这些特征使得轮虫被作为评估环境污染物对生态环境影响的重要模式生物。

轮虫分布广、繁殖快、大小适中、易培养,是水产养殖中常用的动物性饵料,目前广泛应用于生产性培养的是褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*)^[12]。轮虫是中上层水体中鱼类和其他经济动物的理想开口饵料,虽然它们体型微小,但因为其庞大的种群规模,以及快速增长的高周转率和一定条件下的孤雌生殖,大大增加了其在水生系统中的次级生产力。轮虫由于其高代谢活动,可以从浮游生物和颗粒有机质中高效率再生得到营养作为食物^[23],因而在水生生态系统的结构组成、物质循环和能量传递过程中具有重要的作用。轮虫对毒物的敏感性高,且生命表简单,能大大缩短试验时间,从而减轻劳动强度和降低成本。实验表明,利用轮虫2 d种群增长研究环境毒物的影响,可与网纹溞(*Ceriodaphnia quadrangula*)7 d生命表测试相当,且灵敏度更高,而实验人员劳动强度和资金投入仅占使用网纹溞作为受试生物^[16]的70%^[16]。国外学者 Persoone 和 Janssen^[24]发现轮虫对杀虫剂的毒性敏感性比大型溞(*Daphnia magna*)更加敏感。美国和一些欧洲国家已经把褶皱臂尾轮虫和蓼花臂尾轮虫(*Brachionus calyciflorus*)作为海水和淡水中污染物的生态毒理受试生物,用于监测化工和农药生产厂家排放污水的毒性。此外,运用不同种类的轮虫进行毒性试验也可作为适合生物测试系统的一个综合性多层次的方法^[25]。

1.2 轮虫的生殖方式及生活史

褶皱臂尾轮虫的生殖方式有孤雌生殖和有性生殖2种,2种生殖方式可交替进行。轮虫雌体在适宜的生态条件下均进行孤雌生殖,所产的卵不需要受精,立即发育孵化为雌体,这种卵称非混交卵(又名夏卵),产非混交卵的雌体称非混交雌体。非混交雌体和非混交卵的细胞核中都含有双倍的染色体;当环境条件恶化时,如饥饿、密度过高、缺氧、水质突变等,一些轮虫开始进行有性生殖。有性生殖过程具有实现基因重组,增加种群遗传多样性特点,这有助于提高轮虫种群对环境变化的适应能力。其世代

周期短,繁殖速度快,能在较短时间里获得实验所需要的数量,可快速进行轮虫生命表研究、进行种群参数分析。非混交雌体所产的卵在成熟前经减数分裂,卵细胞核内的染色体为单倍体,这种卵称为混交卵,未经受精的混交卵发育为雄体,经受精的混交卵称受精卵(又被称为冬卵或休眠卵)^[26]。休眠卵一端有空隙,体积比夏卵大,卵壳厚,一般呈橘黄色,其有厚的卵壳保护,能抵抗干燥、低温、高温或水质变化等不利的环境条件,且具有应对污染物胁迫较强的抵抗力。休眠卵沉到水底待休眠期满且温度、溶氧、渗透压等水质环境条件适宜时才发育孵化出非混交雌体^[1, 12-13]。

2 轮虫在常规毒性评价中的应用 (Application of rotifers in conventional toxicity evaluation)

最常用的常规的毒性评价实验方法有2种:即急性和慢性毒性试验。急性毒性实验是研究在较短时间内毒物对轮虫的毒性效应,一般以存活率作为指标;而慢性毒性实验是在急性毒性实验的基础上进行的,当毒物在特定时间内对轮虫的毒性较小时,

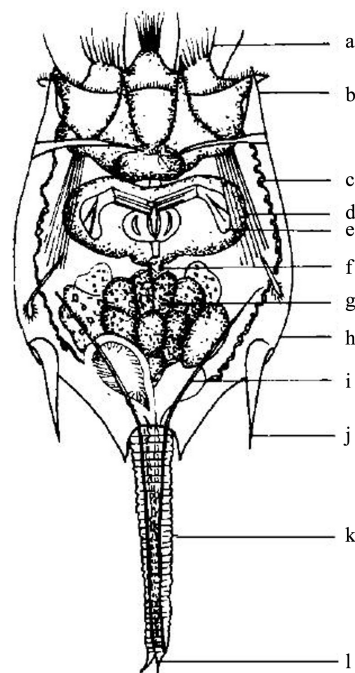


图1 轮虫雌体模式图^[14]

注: a. 头冠纤毛; b. 前棘刺; c. 原肾管; d. 肌肉; e. 咀嚼器; f. 食道; g. 胃; h. 被甲; i. 伸缩泡; j. 后棘刺; k. 足; l. 趾。

Fig. 1 Structure pattern of female rotifer^[14]

Note: a. corona cilia; b. front caltrop spine; c. nephridial canal; d. muscle; e. trophi; f. esophagus; g. stomach; h. carapace; i. contractile vacuole; j. back caltrop spine; k. foot; l. toe.

其毒性作用可能是缓慢的,一般不会在短时间内使其致死,只是导致其机体的生理生化和行为异常,但最终的结果会使其出现生长发育迟缓、繁殖量下降、雌雄比例变化、个体死亡、种群密度下降等症状^[1]。目前,在常规毒性实验评价中,对于淡水污染物评价最常应用的受试生物是萼花臂尾轮虫,海水污染物评价则多用褶皱臂尾轮虫。美国试验材料学会(American Society for Testing and Materials, ASTM) (ASTM, 1991)也已将萼花臂尾轮虫和褶皱臂尾轮虫分别作为淡水和海水的标准测试生物^[27]。

2.1 急性毒性实验

轮虫急性毒性实验最初主要致力于对致死率的研究。急性毒性实验通常用半数致死浓度(LC₅₀)作为首选的实验终点,并在轮虫实验中广泛使用^[28-29]。

国外学者首先展开了一系列对轮虫的急性毒性实验研究。1989年, Couillard 等^[30]测定了6种重金属离子对萼花臂尾轮虫的24 h-LC₅₀; 1991年, Snell 等^[31]以萼花臂尾轮虫为受试生物,通过测定24 h-LC₅₀,对多达28种化学物质进行急性毒性评估; 1992年, Fernandez 等^[32]对多种农药进行了急性毒性评价,测定了甲基对硫磷、杀草丹、马拉硫磷、硫丹、二嗪农对萼花臂尾轮虫的24 h-LC₅₀; 1994年, Liber 等^[33]通过12 h和24 h急性毒性实验,研究了2,3,4,6-四氯酚和五氯苯酚对矩形龟甲轮虫(*Keratella quadrala*)和萼花臂尾轮虫的毒性作用。从以上研究可以看出,轮虫致死率测试终点多集中在24 h。由于轮虫生命周期短,生殖速度快,短时间内会产出下一代,这会一定程度上对结果的准确性产生很大的影响。因此,

表1 轮虫在生态毒理学实验研究中的优势

Table 1 Advantages of rotifers in experimental studies

轮虫特征 Characteristics of rotifers	实验研究优势 Advantages in experimental studies	参考文献 References
个体小 Small size	可在容积相对较小(微升)的条件下进行培养和实验,更易于观察毒物的毒性效应,可操作性强,成本低 Culture and experiment can be carried out under the condition of relatively small volume (micro-litre), which makes it easier to observe the toxicity effect of poison, and has strong operability and low cost.	[1, 13]
组织结构简单 Simple structure	其简单的组织结构使一些复杂研究可通过简单实验方法分析,便于进行生理生化水平、富集定位、定量分析等研究 Its simple structure enables some complex studies to be analyzed by simple experimental methods, so as to facilitate studies on physiological and biochemical levels, enrichment positioning, quantitative analysis and other studies.	[1, 12, 14-16]
敏感性高 High sensibility	轮虫对毒物的敏感性一般比其他受试动物高5~10倍,可用于监测多种环境污染物 Rotifers are generally 5-10 times more sensitive to poisons than other animals and can be used to monitor a variety of environmental pollutants.	
生命周期短 Short life cycle	相对短的生命周期大大缩短了观察产生多世代效应的时间 The relatively short life cycle significantly shortens the time it takes to observe the effects of multiple generations.	[16-19]
遗传同质性 Genetic homogeneity	轮虫一般进行非减数分裂的孤雌生殖,后代基因是相同的,有助于实现遗传同质性、种群快速增长、高密度和实验的可重复性 Rotifers generally undergo non-meiotic parthenogenesis, and the offspring genes are the same, which is conducive to the rapid growth of genetic homogeneity, high density and repeatability of experiments.	[4, 18, 20-21]
变异性 Variability	变异可使轮虫种群避开不利生态因子,具变异的后代能获得比现存基因适应性更好的基因型,对轮虫的生存和进化是有益的 The variation can enable rotifers to avoid adverse ecological factors, and the offspring with variation can obtain better genotypes than the existing genes, which is beneficial to the survival and evolution of rotifers.	[4, 22]
休眠卵 Resting eggs	休眠期使得轮虫具有应对一系列环境污染物胁迫的更强的抗药性,且休眠卵方便贮存,可在需要的时候随时孵化进行实验 The dormant period makes rotifers more resistant to the stress of a series of environmental pollutants. The resting eggs are easy to store and can be incubated at any time when needed.	[12-13, 19, 21]
分布广 Widespread	采样容易,研究成果具有显著的推广价值 Sampling is easy, and the research results have significant value in promotion.	[1, 12-13]

目前多采用 24 h-LC₅₀ 作为轮虫急性毒性测试的实验终点,而探索易于操作并能适当延长试验周期的轮虫毒性试验方法仍然具有重要的生态毒理学意义。1999 年,金解敏等^[34]研究了铜、锌离子对褶皱臂尾轮虫的急性毒性作用,为我国轮虫毒理学的发展奠定了基础,但与国外相比,还存在较大差距;2007 年,谢钦铭等^[35]研究了孔雀石绿、高锰酸钾和甲醛 3 种药物对褶皱臂尾轮虫的急性毒性,结果显示,这 3 种药物对褶皱臂尾轮虫的毒性作用均随浓度的升高而增强。随着多年来的不断探索,对国际上统一的轮虫急性毒性实验标准化方法的应用日趋规范和成熟。美国试验材料学会(ASTM)将轮虫作为海水监测生物列入国家标准,并且已形成了一套完善的参考标准及规范的操作流程^[36]。据此,测试条件的持续时间和测试种的年龄均可达到标准化。

然而,实际环境中存在的复合污染作用机理复杂,影响因素较多,越来越多的研究希望通过设置不同毒物配比方式,评价不同污染物对轮虫的联合毒性效应,寻找其作用规律,以期为联合毒性评价研究积累理论数据。2015 年,沙婧婧等^[37]以多溴联苯醚中的 BDE-47 和 BDE-209 作为胁迫因子,以褶皱臂尾轮虫为受试生物,研究其单一及联合急性毒性效应。二者联合作用时,分别采用浓度 1:1 和毒性 1:1 进行试验,应用水生毒理联合效应 Marking 相加指数法评价二者对轮虫的联合毒性,2 种试验配比方式得到的结果类似,96 h 内随着暴露时间的增加,BDE-47 和 BDE-209 对其联合毒性作用从协同作用转变为轻微的拮抗作用;2016 年,Zhang 等^[38]为探究重金属复合污染对轮虫的毒性影响,以萼花臂尾轮虫为受试动物,选择 Cu²⁺、Zn²⁺、Cd²⁺、Cr⁶⁺ 和 Mn²⁺ 等 5 种重金属,采用相加指数法开展了其 24 h 联合急性毒性作用的评价研究。目前,国内外专家学者们已逐渐重视并积极开展对轮虫联合毒性作用方面的研究。对于致毒机理不尽相同的混合污染物而言,在评价其联合毒性效应时,都需进行具体的实验研究后方可定论,不能简单由单一急性毒性相加来判断其毒性。联合急性毒性实验结果不仅丰富了轮虫生态毒理学研究的基础资料,同时也为开展评价复合污染的生态风险提供理论数据和科学参考。急性毒性实验中,类似 LC₅₀ 的实验终点还有 LT₅₀,为半数致死时间,即在给定毒物浓度的条件下杀死半数测试物种数量所需要的时间^[39]。但如果污水中的有毒物质浓度太低,轮虫不能在特定的时间内达到

50% 的死亡率。此种情况下,就会进一步采用慢性毒性实验方法。

2.2 慢性毒性实验

慢性毒性是指以低剂量外来化合物长期给予实验动物接触,观察其对实验动物所产生的毒性效应。慢性毒性试验的目的是确定外来化合物的毒性下限,即长期接触该化合物可以引起机体危害的阈剂量和无作用剂量,了解其毒作用特点、靶器官和毒性机制,且观察受试生物是否具有毒性作用的可逆性^[40-42]。轮虫的慢性毒性实验在个体水平、基因表达、生理生化、种群和群落水平也有一系列的指标。个体水平的反应,包括复杂的生理(食物选择、消费、同化等)和行为(游泳速度改变、麻木、垂直迁移等)的相互作用。基因毒性方面,毒物进入轮虫体内后,随着暴露时间的延长,会引起轮虫遗传物质结构和功能的改变,从而对相关基因的表达产生影响^[9]。生理生化方面,变化较为显著的酶活性测试结果往往可从毒物对褶皱臂尾轮虫的亚急性、慢性实验中获得^[43]。轮虫在毒物胁迫下的大多数生命表参数和种群统计学参数呈现出的变化,是对有毒物质产生作用的重要响应。种群增长率和最大种群密度是毒物胁迫作用下的 2 个显著的生物指标^[11, 44]。在绝大多数情况下,有毒物质能够降低测试物种的最大种群密度。轮虫的最大种群密度和种群增长率在实验室条件下常用于慢性毒性试验的结果衡量。例如,铜对褶皱臂尾轮虫繁殖的抑制在出现死亡个体之前就已经显现^[1]。Snell 和 Hicks^[45]应用褶皱臂尾轮虫作为受试生物,进行慢性毒性实验,研究比较聚苯乙烯纳米粒子在自然海水和人工海水中的生态毒性,研究表明,毒性效应与颗粒大小有关,较大的颗粒(≥ 100 nm)会诱导轮虫在胃肠中积累颗粒直到排泄,而较小的颗粒(50 nm)则可能由细胞摄入,可从轮虫母体转移到卵子,致使其生育率和摄食率的下降,从而导致了最大种群密度和种群增长率的降低。同样地,Jeong 等^[6]通过慢性毒性实验,也检测到了轮虫暴露在含纳米颗粒等微塑料的水体中,其体内活性氧产生和抗氧化剂反应会受到显著影响。目前,利用轮虫评价环境激素效应已应为学术界普遍关注的热点问题。我国有学者以淡水水体中普遍存在的萼花臂尾轮虫为受试动物,研究了 4 种环境激素,包括双酚 A(bisphenolA)、阿特拉津(atrazine)、西维因(carbaryl)和久效磷(monocrotophos)对萼花臂尾轮虫的生活史、无性生殖和有性生殖的影响^[46]。众多学者

们之所以选择轮虫作为慢性毒性实验研究的模式生物,主要是由于其本身的研究优势和在水生态系统种群动态中起重要作用,以及在生态毒理学中具有标准化和可靠的实验方法。

为能在较短的时间内经济而灵敏地检测出毒物对轮虫的生殖毒性,1992年,Snell等^[17]提出轮虫短期慢性毒性实验方法,在体积为12 mL的轮虫培养液中(内含食物)接种6个0~2 h内的轮虫幼体,于25℃下摇动培养48 h,然后计数培养液中的轮虫,以种群增长率作为实验终点。1994年,Janssen等^[47]在1 mL的轮虫培养液中接种5只轮虫幼体,于25℃下培养72 h。发现以此得到的种群增长率比2 d种群增长实验所得到的更接近最大值。据此,2002年,Radix等^[48]应用该方法研究了环境雌激素壬基酚(nonylphenol)等对萼花臂尾轮虫生殖的影响;2004年,Xi和Feng^[49]也以此方法研究了除草剂草甘膦(glyphosate)和甲基托布津(thiophanate-methyl)对萼花臂尾轮虫有性生殖和无性生殖的影响。Preston和Snell^[50]提出与以上的静态研究方法相似的4 d轮虫休眠卵产量实验方法,在12 mL轮虫培养液中接种6只轮虫幼体,静态培养96 h后计数其中轮虫休眠卵总数,以轮虫的休眠卵产量作为实验终点。这些短期慢性毒性实验方法在短时间内检测出毒物的毒性,能为进一步探讨毒物影响轮虫生殖的机制提供参考数据。

2.3 对轮虫行为的影响

用行为学分析评估污染物的生物毒性作用有着独特的优势,因为行为反应迅速^[51-53]。例如测定鱼的行为已经在许多检测项目中成为可接受的方法^[54]。总体来说,在轮虫的生态毒理学研究中仅少数的研究使用其行为特征作为实验指标。然而,由于其行为的变化是高度一致的,因此,使用的行为测试标准也非常适用于急性毒性实验。Janssen等^[55]在淡水轮虫萼花臂尾轮虫对于特定毒物的实验中,发现轮虫的游泳速度、路径、曲折度、活动周期与毒性物质铜、五氯苯酚(PCP)、3,4-二氯苯胺(DCA)和林丹存在一定的剂量-效应关系,即随着有毒物质浓度的增加,游泳行为通常会受到抑制。Ramírez-Pérez等^[56]研究了汞对轮虫游泳行为的影响。Snell和Joaquim-Justo^[57]指出,当接触到有毒物质后,轮虫通常降低游泳速度,最终下沉。而有些化学物质则只是增加了轮虫游泳的曲折度^[58-59]。以上现象对理解一个潜在的有毒物质可以影响和干扰个体乃至整个

生态系统功能尤其重要。用行为测试获得的2 h-EC₅₀与用同种测试物种从传统的急性毒理测试中获得的24 h-LC₅₀是一样的数量级。相对于获得半致死浓度(LC₅₀),轮虫的行为(如游泳速度)变化可能在更短的实验时间内即可得到。研究表明,轮虫游泳行为特性的变化可以被视为敏感而快速的检测毒物胁迫作用的指标。此外,回避行为经常发生水平低于公布的基于许多水质标准的半致死浓度(LC₅₀)^[57]。回避可以改变轮虫的生存和繁衍,导致轮虫丰度的降低和将能量转移到更高的营养级。

低浓度或无毒的化学物质,包括低浓度的重金属和农药,已被证明能够扰乱有机体化学信息的传输^[38]。扰乱化学信息系统所需的浓度通常较低^[60]。2种类型的轮虫行为反应通常被选用于检测污染物的毒性效应:游泳活动(即游泳的速度和曲折度)^[61]和摄食^[62]。对毒物最敏感的阶段是有性生殖阶段^[50]。然而,通过对物种之间的比较研究发现,没有任何一个单一物种能够对所有化合物都具有最高敏感度^[63]。

传统的生态毒理学研究通常以给定的暴露时间来描述剂量-效应关系而忽略暴露过程和之后潜在的毒性影响。Chen等^[64]在农药乐果的毒性作用下对萼花臂尾轮虫进行摄食行为评估,不仅在暴露时间内,也在暴露后的时段内评估。当轮虫暴露于0.2 mg·L⁻¹和1.0 mg·L⁻¹的农药时,随着暴露时间的延长,能够明显观察到3阶段的阶梯式胁迫作用,即轮虫的摄食行为历经了“应激兴奋(stimulation)”、“适应与调整(acclimation)”以及“毒性作用”(toxic effects)3个阶段。而高浓度组1.8 mg·L⁻¹的乐果对轮虫在整个作用过程中只造成了一步的“毒性作用”,没有发现阶段变化趋势,可以很明显地观察到乐果对轮虫摄食行为的抑制作用,推测可能是该浓度已经超过了轮虫的忍耐阈值,使得身体机能受到了损害,无法产生应激兴奋或适应。此外,尽管轮虫的摄食行为在暴露结束后有一定的恢复,但在暴露结束后8 h摄食速率甚至会受到更大抑制。这种暴露后的潜在抑制效应与暴露浓度和时间有关。研究表明,农药乐果对轮虫摄食行为的影响具有高度的过程依赖性,可在暴露过程中引起逐步的胁迫作用,在暴露后造成潜在的毒性。抗癌药物作为一种新兴的环境污染物受到越来越多的关注。以类似的研究方法,2017年,学者们研究了抗癌药物伊马替尼(imatinib)对萼花臂尾轮虫摄食行为的影响^[65]。此研究也充分考虑到了药物暴露之后和再暴露的影响。

通过提高伊马替尼的浓度来评估轮虫的摄食行为。尽管过滤和摄食速率在暴露结束后有一定程度的恢复,但是显著的摄食抑制效应仍旧持续存在。在再次暴露过程中,摄食行为受到的抑制作用低于第一次暴露,推测这说明轮虫可能对同一种毒素产生了一定的耐受性。对轮虫体内的乙酰胆碱酯酶(AchE)的活性和活性氧(ROS)水平也进行了检测。伊马替尼在暴露过程中和再暴露时抑制了 AchE 活性,而在再暴露过程中 ROS 水平显著提升。上述研究提供了新的综合评价毒物潜在环境风险的方法。

3 环境污染胁迫对轮虫的毒性影响 (Toxicity of environmental pollutants to rotifers)

3.1 重金属

作为水体中常见的污染物之一,重金属离子具有在水体中难降解、存留时间长等特性,不仅能直接危害水生生物,且能通过食物链的富集作用对更高营养级的消费者构成威胁,最终危害人类健康,对生态系统造成严重的损害^[66]。因此,对水生生物进行重金属毒性研究有着十分重要的意义。早在 20 世纪 70 年代初,学者们就开始采用轮虫作为受试生物来评价重金属对水体的污染^[67-68]。之后,相关研究呈现猛增之势。Builkema^[69]首次尝试应用轮虫作为受试生物评价重金属离子毒性,获得理想效果。痕量金属可以维持生物体内重要酶代谢功能的正常发挥、体内生物大分子的结构和功能、参与生物体内的信号传导等,是正常代谢所必需的;但是当其存在过多时,就会对生物体构成危害,如诱导轮虫体内产生过量的活性氧,构成氧化胁迫(oxidative stress),最终导致细胞的异常凋亡或坏死。而那些非必需重金属如锡、铅、银等,由于基本上不具有生物功能,当其痕量存在时,即可对轮虫产生毒害作用^[70]。不同重金属对同一种轮虫的毒性存在很大差异。铜等 5 种金属对无甲腔轮虫(*Lecane inermis*)的毒性大小依次是铜>铝>铁>锌>锡>锰^[71]。而不同种类的轮虫对同一种重金属的抵抗力也有所不同。Arias-Almeida 和 Rico-Martínez^[72]发现,相对于臂尾属和腔轮属的轮虫而言,大肚须足轮虫(*Euchlanis dilatata*)对镉、铅和汞的毒性都更加敏感。此外,重金属对轮虫的慢性毒性随着重金属浓度的升高而愈发显著。相关研究显示,Cd²⁺和 Cu²⁺随着浓度的升高均对蓼花臂尾轮虫的存活率、繁殖率、净生殖率和内禀增长率有更加显著的抑制作用,而混交百分率和休眠卵数量也明显增加^[66]。Sarma 等^[73]也发现轮虫的种群数量会随

着水体中 Cu²⁺和 Cd²⁺的浓度增大而显著减少。重金属还能够影响轮虫体内抗逆蛋白等的表达。分别暴露于一定浓度的 Cu²⁺和 Cd²⁺,经过 24 h 后,轮虫(*B. koreanus*)热休克蛋白(sp90 α -1 和 sp70)mRNA 水平均显著上调^[74]。目前的研究多集中于单一重金属对轮虫的毒性影响,重金属复合污染对轮虫的毒性影响,特别是慢性毒性效应研究方面国内外报道相对较少^[75-77],因此,这方面的研究还有待加强。另外,水体中重金属多是以低剂量状态存在的,但长期低剂量重金属暴露对轮虫的毒性影响一直没有引起足够的重视,只在较少的一些研究中被提及。如 Sarma 等^[78]研究发现,当轮虫(*L. quadridentata*)暴露于一系列 Cu²⁺浓度(0.31~5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)中,轮虫种群增长与铜浓度之间呈现一种双相剂量-反应曲线,即低浓度刺激和高浓度抑制。相似的作用结果也在蓼花臂尾轮虫暴露在低浓度 Zn²⁺的实验研究中发现^[79]。近年来,污染物的低剂量兴奋效应(Hormesis)已成为生态毒理学的热点,这种现象在低剂量重金属对轮虫的毒性作用中是否普遍存在亟需加强研究和证明。

3.2 紫外线(UV)辐射

臭氧层能够吸收日光中大部分的紫外线 B 波段(UV-B),臭氧层减薄会使照射到地表的 UV-B 辐射增多。UV-B(280~320 nm)辐射增强能够引起一系列全球性变化和对生物产生生态学和生理学影响。Preston 等^[80]首先研究了 UV-B 辐射对毒物效应的影响,探究 UV-B 辐射是否能够提高蓼花臂尾轮虫对五氯苯酚(PCP)或汞急性毒性的敏感性。研究表明,在一定持续时间的 UV-B 辐射和一定浓度的毒物作用下,UV-B 辐射使得 PCP 和汞对 *B. calyciflorus* 的毒性提升了高达 5 倍,还观察到 LC₅₀ 下降幅度达 60%,且使 *B. calyciflorus* 的繁殖能力受到抑制。冯蕾等^[81]研究发现,UV-B 辐射对褶皱臂尾轮虫和壶状臂尾轮虫(*Brachionus urceus*)2 种轮虫都有严重的伤害作用,且当辐射强度达一定强度阈值会对其产生急性致死作用。UV-B 辐射还会对轮虫的种群数量、雌体抱卵率和种群增殖率都有显著影响。高剂量 UV-B 辐射对轮虫的种群数量和雌体抱卵率有显著的抑制作用,甚至可导致整个种群的灭绝^[82]。此外,UV-B 辐射增强对褶皱臂尾轮虫的摄食也有显著的抑制作用,随着 UV-B 辐射剂量的增大,轮虫对多种饵料单胞藻的滤水率和摄食率都表现出显著下降的趋势^[83]。陈芝丹等^[84]采用急性致死、单个体

和群体培养实验,研究了紫外线照射对褶皱臂尾轮虫运动、存活分布与繁殖的影响,发现随着照射时间的增长,轮虫的运动能力下降并产生急性致死效应,死亡率与照射时间关系符合 Sigmoid 模型。紫外线照射下,轮虫的生存数据符合 Weibull 分布,寿命、生殖期、生殖期的平均繁殖率均显著下降,种群增长也呈下降趋势。群体培养与单个体培养结果相似,卵密度、幼体密度和种群增长率均随照射时间的延长而显著下降。近年来,学者们运用紫外线辐射(UV)对褶皱臂尾轮虫进行诱变处理,随着 UV 辐射剂量的增加,轮虫的孵化率、挂卵率呈下降趋势,个体发育大小出现显著变化。目前推测有以下原因:一是 UV 辐射改变了轮虫的基因型;二是 UV 辐射的伤害作用使部分轮虫的活动能力下降,从而使其摄食量减少,用于生殖的营养减少,表现为产出较小的卵,孵化出较小的轮虫个体^[85]。

3.3 持久性有机污染物(POPs)

持久性有机污染物(persistent organic pollutants, POPs)是指长期存在于环境中,具有高生物蓄积性、高致癌和难降解等特性的有机污染物,能够在食物链中逐级放大,危害环境和人类健康。持久性有机污染物邻苯二甲酸酯(phthalate acid esters, PAEs)是世界上广泛使用的人工合成有机物,主要用作塑料增塑剂。目前 PAEs 引起的环境污染已受到全球性的关注。美国国家环保局(USEPA)将邻苯二甲酸二异辛酯(DEHP)等 6 种 PAEs 列为优先控制的有毒污染物^[86]。赵兰兰等^[87]运用轮虫特有的 3 d 种群增长和 4 d 休眠卵产量实验方法研究发现,一定浓度的邻苯二甲酸二丁酯(DBP)、邻苯二甲酸二异辛酯(DEHP)和邻苯二甲酸丁苄酯(BBP)均能够显著影响蓼花臂尾轮虫的种群增长、混交雌体的产生和休眠卵产量。Zhang 等^[88]研究了全氟辛烷磺酸(PFOS)和全氟辛酸(PFOA)对蓼花臂尾轮虫的毒性效应,二者是工业生产中常用的添加剂,也是水体中广泛存在的持久性有机污染物全氟化合物(perfluorochemicals, PFCs)。PFCs 是一种新型的持久性有机污染物,近几年已成为国内外生态毒理学领域研究的热点。虽然 PFCs 在自然水体中的浓度很低,但是,通过食物链的传递和放大,仍然会对高等动物包括人类造成极大的危害^[88]。通过 28 d 的种群增长实验得到 PFOS 和 PFOA 能降低轮虫种群密度和提高混交雌体百分率,且能够导致轮虫产体积更小的卵,这说明二者所造成的毒性风险可以由母体传给后代,

也证明了二者对轮虫在个体和种群水平上均有不利影响。全氟羧酸(perfluorinated carboxylic acids, PFCAs)也是全氟化合物(PFCs)中的一类典型代表,多种 PFCs 可以在环境中最终转化为 PFCAs 类物质及其盐类。2014 年, Wang 等^[89]研究了全氟羧酸对蓼花臂尾轮虫的急性、慢性毒性效应,观察了对其生长发育的影响,实验得到, PFCAs(二碳~六碳)中的三氟乙酸(TFA)、五氟丙酸(PFPrA)、七氟丁酸(PFBA)、九氟戊酸(PFPeA)和十一氟己酸(PFHxA)对蓼花臂尾轮虫的 24-h LC₅₀ 分别为 70、80、110、130 和 140 mg·L⁻¹。PFCAs 对轮虫的急性毒性随着碳链长度的增加而降低。还发现 PFCAs 能够显著降低蓼花臂尾轮虫的种群增长率,提高混交率、体型和卵的大小。多溴联苯醚(polybrominated diphenyl ethers, PBDEs)也是一类新型的持久性有机污染物,常作为阻燃剂被广泛应用于塑料、纺织品、建筑材料以及家用电器等领域。大量 PBDEs 通过各种途径最终进入海洋,使海洋环境中的 PBDEs 浓度急剧上升,对海洋生物的影响也日趋加大。因此,近年来世界各国政府及学者对 PBDEs 污染方面的关注日益增多^[90]。2015 年, Sha 等^[90-91]针对 PBDEs 的毒性效应展开研究,选择在海洋环境和海洋生物体内广泛存在的低溴代的 BDE-47 和高溴代的 BDE-209 作为胁迫因子,以褶皱臂尾轮虫作为受试生物,研究了 2 种 PBDEs 对褶皱臂尾轮虫的急性毒性、个体形态、运动行为、种群增长、抗氧化酶活力、脂质过氧化及 DNA 损伤的影响,系统研究 BDE-47 和 BDE-209 胁迫对于轮虫个体及种群的影响,试图找出响应胁迫的规律性,分析轮虫抗氧化防御系统(antioxidant system)对 2 种 PBDEs 亚致死胁迫的响应,并从分子水平上分析了 PBDEs 对轮虫 DNA 的损伤,对可能的毒性作用机理进行了初步探讨,以期从种群、个体、生理生化、分子等不同生物组织层次和多个方面入手,评估各指标是否可以作为 PBDEs 毒性评估的有效途径和监测手段。Wang 等^[92]研究了 BDE-47 胁迫对褶皱臂尾轮虫的生殖毒性效应并基于抗氧化防御系统的机理进行了初步探讨, BDE-47 对轮虫胁迫 24 h 之后,利用透射电镜(TEM)观察卵巢组织,结果显示, BDE-47 胁迫后,轮虫的卵巢组织形态结构受到明显的损伤,表现为卵黄腺形态皱缩,核结构畸形,卵巢组织内部脂质小滴数量明显减少。卵黄腺结构被破坏,导致雌体轮虫生殖能力的下降,进而体现在种群水平上;在生理生化水平上,基于 ROS 理论的

氧化应激作用机制的研究发现, BDE-47 胁迫会导致褶皱臂尾轮虫体内 ROS 水平的升高进而引发氧化胁迫毒性效应, 氧化胁迫干扰了轮虫机体的解毒作用以及与谷胱甘肽代谢相关的抗氧化酶, 包括谷胱甘肽硫转移酶(glutathione S-transferase, GST)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx)、谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)的活性和还原型谷胱甘肽(gultathione-SH, GSH)的含量; Zhang 等^[93]针对轮虫体内氧化应激机制对 BDE-47 和 BDE-209 诱导褶皱臂尾轮虫生殖与发育毒性效应的作用机制进行了探讨研究, 发现这 2 种 PBDEs 均能诱导褶皱臂尾轮虫卵巢细胞内 ROS 水平的上升从而产生氧化胁迫, 且与 BDE-209 相比, BDE-47 能引发更严重的氧化胁迫。研究表明, 当 ROS 水平达到产生氧化胁迫的水平时, 便会激活抗氧化系统中抗氧化酶 sod 和 cat 基因的表达以及影响 Ca^{2+} 平衡和 cam 基因的表达水平, 以期通过基于 Ca^{2+} 信号通路的氧化应激作用机制的调控以消除或减弱 BDE-47 和 BDE-209 对褶皱臂尾轮虫造成的氧化胁迫。

3.4 农药

除了以上 3 种胁迫条件, 研究较多的还有农药, 各种种类的农药也可对轮虫个体及种群造成不同程度的影响。现在被用于农作物生产中的绝大部分农药都是有机农药, 其中, 市场上流行的主要有: 有机氯农药、有机磷农药和氨基甲酸酯类农药^[94-95]。有机氯农药具有稳定的化学性质, 难以被化学降解及生物降解, 对生物具有生殖毒性、内分泌干扰毒性、神经系统及免疫系统抑制毒性等, 能够对生态环境及人体健康构成严重威胁^[94]。储昭霞^[96]应用轮虫生态毒理学中的短期慢性毒性实验方法——72 h 种群增长实验和 96 h 休眠卵产量实验, 研究了 DDT、三氯杀螨醇、硫丹和林丹等 4 种具雌激素活性的有机氯农药对萼花臂尾轮虫无性生殖和有性生殖的影响, 结果表明, 这 4 种有机氯农药能够显著影响轮虫的种群增长和混交雌体的产生及受精作用。对轮虫混交雌体产生的抑制作用很可能是环境雌激素效应的表现, 研究指出以轮虫的生殖来评价污染物的雌激素活性是一种简捷、经济又灵敏的方法。有机磷农药的神经系统的生物毒性作用机理为抑制有机体乙酰胆碱酯酶的活性, 从而引起乙酰胆碱代谢紊乱。其毒性作用主要体现在对生物个体生理状况与繁殖的影响, 可抑制水生生物的生长、摄食和呼吸过程。此外, 有机磷农药可对生殖过程产生影响, 抑制繁

殖, 减少后代数量, 并对胚胎有致畸作用, 同时能够导致生物体内分泌功能失调, 影响性腺发育和激素分泌^[94-95]。谢钦铭等^[97]研究发现, 褶皱臂尾轮虫的孵化率随着 2 种有机磷农药敌百虫和久效磷浓度的增加而降低, 孵化时间也随之延长, 2 种有机磷农药对褶皱臂尾轮虫的 48 h 半致死浓度(LC_{50})分别是 $2.8767 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.0534 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。陆正和等^[98]研究得到, 有机磷农药杀螟硫磷对轮虫 24 h 急性毒性半致死浓度为 $9.57 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 慢性毒性实验中, 随着杀螟硫磷浓度升高, 轮虫幼体期延长, 生殖期缩短, 寿命缩短, 生殖量下降, 种群增长随浓度增加而减缓; 其休眠卵数量和孵化率明显下降。吕林兰等^[99]研究了有机磷农药乐果对萼花臂尾轮虫生殖的影响, 结果表明, 萼花臂尾轮虫净生殖率是检测乐果毒性的最敏感指标。氨基甲酸酯类农药是一种高效、低毒、低残留的农药, 它的作用机理和有机磷农药相似, 都是抑制昆虫乙酰胆碱酯酶和羧酸酯酶的活性, 影响昆虫正常的神经传导而将其毒害。同时, 氨基甲酸酯类农药也可抑制水生生物的生理过程和繁殖^[94]。刘剑锋^[100]采用生态毒理学方法, 研究了特定环境下 2 种氨基甲酸酯类农药杀虫剂西维因(carbaryl)和异丙威(isoprocarb)对萼花臂尾轮虫生长和繁殖的影响, 通过单个体生命表实验方法, 发现一定浓度的西维因和异丙威均能够显著降低(缩短)轮虫的平均寿命、世代时间、净生殖率和内禀增长率; 应用群体培养法, 得到二者对轮虫的携卵雌体数/非携卵雌体数、受精率、休眠卵产量、种群增长率、混交率以及休眠卵孵化率均产生显著影响, 其中, 休眠卵产量是最为敏感的指标。可见, 轮虫的生殖参数和种群参数是检测农药生态毒性的一个重要指标, 积累的毒性数据资料可以为利用轮虫评价农药的潜在风险提供依据。

4 展望 (Prospect)

轮虫在生态毒理学研究中具有非常高的应用价值, 是水生生态毒理学新兴领域大有前景的受试生物之一, 已被国际上公认为水生生态毒理学实验研究所采用的无脊椎动物中的代表生物, 适用于海洋或淡水环境。预计未来轮虫将在生态毒理学和环境基因组学中发挥越来越重要的作用, 主要有以下几个原因: 首先, 关于轮虫类群的遗传信息积累, 特别是关于它的基因组和转录特征方面的研究^[4], 将大大有助于未来环境基因组学的发展。轮虫在环境温和时均进行孤雌生殖, 可维持自身基因型的稳定性,

因而当外源基因嵌入轮虫基因组后,便会稳定地整合于基因组中,连续传代保持着高度一致的基因型,外源基因便可传代,持续表达特定的生物活性产物。2013年,Nature上发布了有关蛭形目轮虫基因组的研究报道^[101],提出蛭形轮虫可选择性整合其他物种如细菌、真菌及动植物体内的DNA片段,这将益于其生存发展的某些基因合并到自身基因组内为自身及后代所用。这与生物界对外源DNA片段极具抵御性的其他多细胞动物相比,轮虫是整合外来基因、表达外源蛋白的极佳模式生物体;其次,由于公众和监管部门对于水环境污染问题具有持续较高的关注,需要一种易培养的无脊椎动物类群,而轮虫易培养且不污染水质,对外界水环境介质变化具有敏感性,这对于水污染风险评估和生态毒理学机理的研究十分必要;第三,轮虫分布广泛,取材简便,可以建立全球多个实验室之间轮虫生态毒理学的合作,这将有助于进行更多的综合性研究。例如,由Denk-amp等^[4]设计的EST(expressed sequence tags)工程所贡献的*B. plicatilis*的基因转录组资源可用于未来全球范围的基因表达实验。与其他水生无脊椎动物相比,轮虫具有庞大的数据库和标准化的方法,这有利于选择轮虫作为代表性的模式物种。总之,轮虫的生物学特性,使之成为水生动物的模式生物,其体积小、繁殖力高、生命周期短、分布广、易培养、具有独特的生活史、在生态及分类学上具有代表性,这些都大大增强了轮虫在水生生态毒理学和毒理基因组学的应用潜力^[1]。此外,轮虫在药品污染水环境的风险评估方面也有重要用途,因为其对某些药品成分的敏感性高于其他浮游生物^[57]。轮虫在基因表达分析方面具有很大的优势。

目前,各国专家学者对于轮虫开展了一系列的生态毒理学实验,取得了显著成效,但有些方面仍需要更多的研究。对于未来开展环境污染对轮虫的生态毒理效应研究提出以下展望:(1)加强生态毒性效应相关的基因分析和环境基因组研究。轮虫应激基因表达的定量分析可用于评估毒理效应,从而研究毒性作用的分子机制,这种深层次的研究在未来更有发展前景。例如,2017年,Kim等^[102]从海洋轮虫*B. plicatilis*转录组中发现了28个细胞色素P450基因且分析了它们的表达,试图阐明轮虫*B. plicatilis*对毒物的分子防御机制。目前,萼花臂尾轮虫具有针对不同毒物测试所获得的信息量最大的数据库。下一步更多的研究应该用来比较轮虫种间(即

遗传或地理种群之间)和种内对环境污染敏感性差异。这种差异相差的幅度需要与实验室测试中其他条件的差异性和培养的不稳定性所造成的随机变化相比较^[103-104]。(2)研究需要更多地在蛋白质组学和生理生化水平上了解轮虫机体功能的应激机制。随着生物技术的发展,污染物对蛋白质及酶等生物大分子的毒性作用机理逐渐被关注。针对不同的研究目的选取不同测试指标,进而在不同水平上进行毒性评估和机理研究。近年来发展起来的许多生物标志物,如氧化应激酶、基因毒性、溶酶体改变、免疫活性以及胆碱酯酶活性等常被用于轮虫生态毒理学研究^[105-108],能够提供更完整、更可靠的信息,且多指标全面表征逐步代替单一指标测试,以更全面准确地评估污染物对轮虫的毒性影响,然而对于轮虫针对不同特定毒物的特异性生物标志物的筛选研究还有待进一步完善。(3)需要不断统一协调和规范轮虫的标准测试方法,使得数据信息之间便于比较^[29]。目前,在轮虫行为测试方面仍存在争议^[57],例如在亚致死剂量水平,轮虫的一些行为变化是否在亚致死剂量水平上可以作为检测毒物毒性的依据,其是否能够主动回避毒物,如何在实验中避免这种影响所造成的差异,这些问题仍需要进一步研究。(4)重视污染物对轮虫毒性作用的过程依赖性影响。污染物对轮虫暴露、暴露后、再暴露的研究是一种新的综合评价毒物毒性效应潜在风险的方法。传统的毒理学研究通常以给定的暴露时间来描述剂量-效应关系而忽略暴露之后的潜在毒性影响。近几年来的一些研究也表明了毒物对轮虫的影响具有高度的过程依赖性,在暴露过程中引起逐步的胁迫,在暴露后继续存在潜在的胁迫^[64-65]。因此,未来针对轮虫的生态毒理学研究应充分考虑到毒物暴露之后和再暴露的影响。

通讯作者简介:张继民(1976—),男,海洋生物学硕士,研究员,主要研究方向为海洋生物学、海洋生态评价与溢油生态损害评估研究,主持国家课题3项,获省部级科研成果奖励3项,编制国家标准1项,出版专著4部,发表学术论文10余篇。

参考文献(References):

- [1] Dahms H U, Hagiwara A, Lee J-S. Ecotoxicology, eco-physiology, and mechanistic studies with rotifers [J]. *Aquatic Toxicology*, 2011, 101(1): 1-12
- [2] OECD. Detailed review paper on aquatic arthropods in life-cycle toxicity tests with an emphasis on developmen-

- tal, reproductive and endocrine disruptive effects. OECD series on testing and assessment, No.55, ENV/JM/MONO (2006) 22 [R]. Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development, 2006
- [3] Köhler H R, Kloas W, Schirling M, et al. Sex steroid receptor evolution and signaling in aquatic invertebrates [J]. *Ecotoxicology*, 2007, 16: 131-143
- [4] Denekamp N Y, Thorne M A, Clark M S, et al. Discovering genes associated with dormancy in the monogonont rotifer *Brachionus plicatilis* [J]. *BMC Genomics*, 2009, 10 (1): 108-124
- [5] Kaneko G, Yoshinaga T, Yanagawa Y, et al. Molecular characterization of Mn-superoxide dismutase and gene expression studies in dietary restricted *Brachionus plicatilis*, rotifers [J]. *Hydrobiologia*, 2005, 546(1): 117-123
- [6] Jeong C B, Won E J, Kang H M, et al. Microplastic size-dependent toxicity, oxidative stress induction, and p-JNK and p-p38 activation in the monogonont rotifer (*Brachionus koreanus*) [J]. *Environmental Science and Technology*, 2016, 50(16): 8849-8857
- [7] Nishiguchi T, Cho K, Yasutomi M, et al. Intracellular haemolytic agents of *Heterocapsa circularisquama* exhibit toxic effects on *H. circularisquama* cells themselves and suppress both cell-mediated haemolytic activity and toxicity to rotifers (*Brachionus plicatilis*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2016, 179: 95-102
- [8] Olah Z, Bush A I, Aleksza D, et al. Novel *in vivo* experimental viability assays with high sensitivity and throughput capacity using a bdelloid rotifer [J]. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 2017, 144: 115-122
- [9] Snell T W, Brogdon S E, Morgan M B. Gene expression profiling in ecotoxicology [J]. *Ecotoxicology*, 2003, 12: 475-483
- [10] Marcial H S, Hagiwara A, Snell T W. Estrogenic compounds affect development of harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus* [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2003, 22(12): 3025-3030
- [11] Marcial H S, Hagiwara A, Snell T W. Effect of some pesticides on reproduction of rotifer *Brachionus plicatilis* Müller [J]. *Hydrobiologia*, 2005, 546(1): 569-575
- [12] Wallace R L, Snell T W, Ricci C, et al. Rotifera. 1, Biology, Ecology and Systematics [M]. Backhuys Publishers, 2006: 79-62
- [13] 陈世杰. 单细胞藻、轮虫培养技术要点[J]. *福建水产*, 2004(4): 52-56
Chen S J. Key points for the cultivation of unicellular algae and rotifers [J]. *Journal of Fujian Fisheries*, 2004(4): 52-56 (in Chinese)
- [14] 王家楫. 中国淡水轮虫志[M]. 北京: 科学出版社, 1961: 38-41
Wang J J. Freshwater Rotifers Records of China [M]. Beijing: Science Press, 1961: 38-41 (in Chinese)
- [15] Ponce M, Giraldez I, Calero S, et al. Toxicity and biochemical transformation of selenium species in rotifer (*Brachionus plicatilis*) enrichments [J]. *Aquaculture*, 2017, DOI: 10.1016/j.aquaculture. 2017. 10. 040
- [16] Snell T W, Moffat B D. A 2-d life cycle test with the rotifer *Brachionus calyciflorus* [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1992, 11(9): 1249-1257
- [17] Sarma S S S, Rao T R. The combined effects of food and temperature on the life history parameters of *Brachionus patulus* MULLER (Rotifera) [J]. *International Review of Hydrobiology*, 1991, 76(2): 225-239
- [18] Luna-Andrade A, Aguilar-Duran R, Nandini S, et al. Combined effects of copper and microalgal (*Tetraselmis suecica*) concentrations on the population growth of *Brachionus plicatilis*, Müller (Rotifera) [J]. *Water Air & Soil Pollution*, 2002, 141(1-4): 143-153
- [19] Zhang L, Niu J, Wang Y. Full life-cycle toxicity assessment on triclosan using rotifer *Brachionus calyciflorus* [J]. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 2016, 127: 30-35
- [20] Xu X P, Xi Y L, Huang L, et al. Effects of multi-metal (Cu, Zn, Cd, Cr, and Mn) mixtures on the reproduction of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2015, 95 (6): 714-720
- [21] Preston B L, Snell T W. Full life-cycle toxicity assessment using rotifer resting egg production: Implications for ecological risk assessment [J]. *Environmental Pollution*, 2001, 114(3): 399-406
- [22] Gómez A, Carvalho G R, Lunt D H. Phylogeography and regional endemism of a passively dispersing zooplankton: Mitochondrial DNA variation in rotifer resting egg banks [J]. *Proceedings. Biological Sciences/The Royal Society*, 2000, 267(1458): 2189-2197
- [23] Snell T W, Janssen C R. Rotifers in Ecotoxicology: A review [M]. *Rotifera VII*. Springer, 1996: 231-247
- [24] Persoone G, Janssen C R. Freshwater Invertebrate Toxicity Tests [M]// *Handbook of Ecotoxicology*. Blackwell Publishing Ltd., 1993: 51-65
- [25] 李金彪, 宋全山. 生物饵料培养技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999: 32-34
Li J B, Song Q S. Biological Bait Culture Technology [M]. Beijing: Agricultural Press of China, 1999: 32-34 (in Chinese)
- [26] Jamieson B G M, Adiyodi K. Reproductive Biology of Invertebrates [M]. Wiley, 1999: 247-252
- [27] ASTM. Standard Guide for Acute Toxicity Tests with the

- Rotifer *Brachionus*. Annual Book of ASTM Standards, E1440 [M]. Philadelphia, PA, USA: American Society for Testing and Material, 1991: 1104
- [28] Boudou A, Ribeyre F. Aquatic Ecotoxicology: Fundamental Concepts and Methodologies. Volume I [M]. CRC Press, 1989: 159-161
- [29] Marcial H S, Hagiwara A. Acute toxic concentrations of endocrine disrupting compounds on the copepod, the cladoceran, and the rotifer [J]. Bulletin of the Faculty of Fisheries-Nagasaki University (Japan), 2008, 89: 57-59
- [30] Couillard Y, Ross P, Pinel-Alloul B. Acute toxicity of six metals to the rotifer *Brachionus calyciflorus*, with comparisons to other freshwater organisms [J]. Toxicity Assessment, 1989, 4(4): 451-462
- [31] Snell T W, Moffat B D, Janssen C, et al. Acute toxicity tests using rotifers. IV. Effects of cyst age, temperature, and salinity on the sensitivity of *Brachionus calyciflorus* [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 1991, 21(3): 308-317
- [32] Fernandez C, Ferrando M D, Andreu M E. Acute toxicity of several pesticides to rotifer (*Brachionus calyciflorus*) [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 1992, 48(1): 14-17
- [33] Liber K, Solomon K R. Acute and chronic toxicity of 2,3,4,6-tetrachlorophenol and pentachlorophenol to daphnia and rotifers [J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1994, 26: 212-221
- [34] 金解敏, 杨家新, 陈立侨. 铜锌离子对褶皱臂尾轮虫的急性毒性试验[J]. 水产科技情报, 1999, 26(3): 121-123
Jin J M, Yang J X, Chen L Q. The acute toxicity test of copper and zinc ion on rotifer *Brachionus plicatilis* [J]. Information on Fishery Science and Technology, 1999, 26(3): 121-123 (in Chinese)
- [35] 谢钦铭, 赵伟伟. 三种药物对褶皱臂尾轮虫的急性毒性[J]. 南昌大学学报: 理科版, 2007, 31(1): 100-102
Xie Q M, Zhao W W. The acute toxicity of the three drugs on rotifer *Brachionus plicatilis* [J]. Journal of Nanchang University: Science, 2007, 31(1): 100-102 (in Chinese)
- [36] ASTM. Standard Guide for Acute Toxicity Test with the Rotifer *Brachionus* [S]. Philadelphia: ASTM, 2004: 23-26
- [37] 沙婧婧, 王悠, 王鸿, 等. 2种多溴联苯醚(BDE-47、BDE-209)对褶皱臂尾轮虫单一和联合毒性效应研究[J]. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2015, 46(9): 69-77
Sha J J, Wang Y, Wang H, et al. Study on single and joint toxic effects of two PBDEs (BDE-47, BDE-209) on rotifer *Brachionus plicatilis* [J]. Journal of Ocean University of China: Natural Science, 2015, 46(9): 69-77 (in Chinese)
- [38] Zhang L, Niu J, Wang Y. Full life-cycle toxicity assessment on triclosan using rotifer *Brachionus calyciflorus* [J]. Ecotoxicology & Environmental Safety, 2016, 127: 30-35
- [39] Dahms H, Hellio C. Laboratory Bio-assays for Screening Marine Antifouling Compounds [M]// Advances in Marine Antifouling Coatings and Technologies. Woodhead Publishing, 2009: 107-111
- [40] Ferrando M D, Janssen C R, Andreu E, et al. Ecotoxicological studies with the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus*, II. An assessment of the chronic toxicity of lindane and 3,4-dichloroaniline using life tables [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 1994, 28(3): 244-255
- [41] Goddard M J, Krewski D. The future of mechanistic research in risk assessment: Where are we going and can we get there from here? [J]. Toxicology, 1995, 102(1-2): 53-70
- [42] Simmons J E. Chemical mixtures: Challenge for toxicology and risk assessment [J]. Toxicology, 1995, 105(2-3): 111-119
- [43] De Araujo A B, Snell T W, Hagiwara A. Effect of unionized ammonia, viscosity and protozoan contamination on the enzyme activity of the rotifer *Brachionus plicatilis* [J]. Aquaculture Research, 2000, 31(4): 359-365
- [44] Marcial H S, Hagiwara A. Effect of diazinon on life stages and resting egg hatchability of rotifer *Brachionus plicatilis* [J]. Hydrobiologia, 2007, 593(1): 219-225
- [45] Snell T W, Hicks D G. Assessing toxicity of nanoparticles using *Brachionus manjavacas* (Rotifera) [J]. Environmental Toxicology, 2011, 26(2): 146-152
- [46] 陆正和. 四种环境激素对萼花臂尾轮虫生活史及生殖影响[D]. 南京: 南京师范大学, 2013: 76-82
Lu Z H. Effects of four kinds of environmental hormones on the life history and reproduction of rotifer *Brachionus calyciflorus* [D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2013: 76-82 (in Chinese)
- [47] Janssen C R, Persoone G, Snell T W. Cyst-based toxicity tests. VIII. Short-chronic toxicity tests with the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* [J]. Aquatic Toxicology, 1994, 28(3-4): 243-258
- [48] Radix P, Severin G, Schramm K W, et al. Reproduction disturbances of *Brachionus calyciflorus* (rotifer) for the screening of environmental endocrine disrupters [J]. Chemosphere, 2002, 47(10): 1097-1101
- [49] Xi Y L, Feng L K. Effects of thiophanate-methyl and glyphosate on asexual and sexual reproduction in the rotifer *Brachionus calyciflorus*, Pallas [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2004, 73(4): 644-651

- [50] Preston B L, Snell T W. Full life-cycle toxicity assessment using rotifer resting egg production: Implications for ecological risk assessment [J]. *Environmental Pollution*, 2001, 114(3): 399-406
- [51] Gómez A, Cecchine G, Snell T W. Effect of pentachlorophenol on predator-prey interaction of two rotifers [J]. *Aquatic Toxicology*, 1997, 37(4): 271-282
- [52] Preston B L, Snell T W, Dusenbery D B. The effects of sublethal pentachlorophenol exposure on predation risk in freshwater rotifer species [J]. *Aquatic Toxicology*, 1999, 47(2): 93-105
- [53] Wallace R L. Rotifers: Exquisite metazoans [J]. *Integrative and Comparative Biology*, 2002, 42(3): 660-667
- [54] de Paiva Magalhaes D, da Cunha R A, dos Santos J A A, et al. Behavioral response of zebrafish *Danio rerio* Hamilton 1822 to sublethal stress by sodium hypochlorite: Ecotoxicological assay using an image analysis biomonitoring system [J]. *Ecotoxicology*, 2007, 16(5): 417-422
- [55] Janssen C, Ferrando M, 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
- [56] Ramírez-Pérez T, Sarma S, Nandini S. Effects of mercury on the life table demography of the rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifera) [J]. *Ecotoxicology*, 2004, 13(6): 535-544
- [57] Snell T W, Joaquim-Justo C. Workshop on rotifers in ecotoxicology [J]. *Hydrobiologia*, 2007, 593(1): 227-232
- [58] 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
- [59] Charoy C, Janssen C, Persoone G, et al. The swimming behaviour of *Brachionus calyciflorus* (rotifer) under toxic stress. I. The use of automated trajectometry for determining sublethal effects of chemicals [J]. *Aquatic Toxicology*, 1995, 32(4): 271-282
- [60] Lüring M, Scheffer M. Info-disruption: Pollution and the transfer of chemical information between organisms [J]. *Trends in Ecology and Evolution*, 2007, 22(7): 374-379
- [61] Charoy C, Janssen C R. The swimming behaviour of *Brachionus calyciflorus* (rotifer) under toxic stress: II. Comparative sensitivity of various behavioural criteria [J]. *Chemosphere*, 1999, 38(14): 3247-3260
- [62] Snell T W. Rotifer ingestion test for rapid assessment of toxicity [J]. *Small-scale Freshwater Toxicity Investigations*, 2005, 422(149): 323-335
- [63] Snell T W, Janssen C R. Rotifers in ecotoxicology: A review [J]. *Hydrobiologia*, 1995, 313(1): 231-247
- [64] Chen J, Guo R. The process-dependent impacts of dime-thoate on the feeding behavior of rotifer [J]. *Chemosphere*, 2015, 119: 318-325
- [65] Yan Z, Yan K, He X, et al. The impact assessment of anti-cancer drug imatinib on the feeding behavior of rotifers with an integrated perspective: Exposure, post-exposure and re-exposure [J]. *Chemosphere*, 2017, 185: 423-430
- [66] 李大命, 杨家新. Cd²⁺对萼花臂尾轮虫的毒性研究[J]. *水利渔业*, 2008, 28(2): 105-107
- Li D M, Yang J X. Study on the toxicity of Cd²⁺ to the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* [J]. *Reservoir Fisheries*, 2008, 28(2): 105-107 (in Chinese)
- [67] Buikema A L, Cairns J, Sullivan G W. Evaluation of *Philodina acuticornis* (Rotifera) as a Bioassay Organism for Heavy Metals [M]. Wiley Online Library, 1974: 216-222
- [68] 王明华. 镉在海洋浮游食物链上的传递及其生理生化效应[D]. 厦门: 厦门大学, 2007: 131-136
- Wang M H. The transfer of cadmium or nickel along the Planktonic food-chain and its physio-biochemical effect [D]. Xiamen: Xiamen University, 2007: 131-136 (in Chinese)
- [69] Buikema A L, John C, Sullivan G W. Evaluation of *Philodina acuticornis* (Rotifera) as a bioassay organism for heavy metals [J]. *Jawra Journal of the American Water Resources Association*, 2010, 10(4): 648-661
- [70] Schaefer E D, Pipes W O. Temperature and the toxicity of chromate and arsenate to the rotifer, *Philodina roseola* [J]. *Water Research*, 1974, 7(12): 1781-1790
- [71] Klimek B, Fiałkowska E, Kocerbasoroka W, et al. The toxicity of selected trace metals to lecanis inermis rotifers isolated from activated sludge [J]. *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology*, 2013, 91(3): 330-333
- [72] Arias-Almeida J C, Rico-Martínez R. Toxicity of cadmium, lead, mercury and methyl parathion on *Euchlanis dilatata* Ehrenberg 1832 (Rotifera: Monogononta) [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2011, 87(2): 138-142
- [73] Sarma S, Martinez-Jeronimo F, Ramirez-Perez T, et al. Effect of cadmium and chromium toxicity on the demography and population growth of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera) [J]. *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 2006, 41(4): 543-558
- [74] Jung M Y, Lee Y M. Expression profiles of heat shock protein gene families in the monogonont rotifer *Brachionus koreanus*, — Exposed to copper and cadmium [J].

- Toxicology and Environmental Health Sciences, 2012, 4 (4): 235-242
- [75] Lujan-Luna G, Rios-Arana J V, Walsh E J, et al. Effects of As-Ni, As-Pb, and Cr-Cu mixtures on population dynamics of the rotifer *Platyonus patulus* [C]. American Chemical Society Southwest Regional Meeting, 2009: 151-158
- [76] Xu X P, Xi Y L, Huang L, et al. The life-table demographic response of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* to multi-metal (Cu, Zn, Cd, Cr, and Mn) mixture interaction [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2014, 93(2): 165-170
- [77] Xu X P, Xi Y L, Huang L, et al. Effects of multi-metal (Cu, Zn, Cd, Cr, and Mn) mixtures on the reproduction of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2015, 95 (6): 714-720
- [78] Sarma S S S, Corraljácquez F I, Nandini S, et al. Population level indicators of stress: Effects of two heavy metals (copper and mercury) on the growth of *Lecane quadridentata* (Ehrenberg, 1830) (Rotifera: Lecanidae) [J]. Journal of Environmental Science & Health Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering, 2010, 45 (1): 32-36
- [79] Schampelaere K A C D, Janssen C R. Cross-phylum extrapolation of the *Daphnia magna*, chronic biotic ligand model for zinc to the snail *Lymnaea stagnalis*, and the rotifer *Brachionus calyciflorus* [J]. Science of the Total Environment, 2010, 408(22): 5414-5422
- [80] Preston B L, Snell T W, Kneisel R. UV-B exposure increases acute toxicity of pentachlorophenol and mercury to the rotifer *Brachionus calyciflorus* [J]. Environmental Pollution, 1999, 106(1): 23-31
- [81] 冯蕾, 唐学玺, 王仁君, 等. UV-B 辐射对 2 种海水轮虫的致死效应[J]. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2006, 36(3): 421-426
- Feng L, Tang X X, Wang R J, et al. The lethal effect of UV-B radiation on two species of marine rotifers [J]. Journal of Ocean University of China: Natural Science Edition, 2006, 36(3): 421-426 (in Chinese)
- [82] 韩洪蕾, 冯蕾, 李鑫, 等. UV-B 辐射增强对褶皱臂尾轮虫种群增殖的影响[J]. 海洋环境科学, 2008, 26(6): 530-533
- Han H L, Feng L, Li X, et al. Effects of UV-B radiation on the population growth of the rotifer *Brachionus plicatilis* [J]. Marine Environmental Science, 2008, 26(6): 530-533 (in Chinese)
- [83] 冯蕾, 韩洪蕾, 唐学玺. UV-B 辐射增强对褶皱臂尾轮虫摄食的影响[J]. 海洋环境科学, 2007, 26(3): 229-231
- Feng L, Han H L, Tang X X. Effects of UV-B radiation on the feeding of the rotifer *Brachionus plicatilis* [J]. Marine Environmental Science, 2007, 26(3): 229-231 (in Chinese)
- [84] 陈芝丹, 朱艺峰, 徐同成. 紫外线照射对褶皱臂尾轮虫运动、存活分布与繁殖的影响[J]. 宁波大学学报: 理工版, 2008, 21(4): 485-490
- Chen Z D, Zhu Y F, Xu T C. The effects of UV irradiation on the movement, survival distribution and reproduction of the rotifer *Brachionus plicatilis* [J]. Journal of Ningbo University: Science and Engineering, 2008, 21(4): 485-490 (in Chinese)
- [85] 郭峰, 刘学东, 蔡泽平, 等. UV 辐射及化学诱变剂对褶皱臂尾轮虫的诱变选育[J]. 热带海洋学报, 2010, 29(4): 76-81
- Guo F, Liu X D, Cai Z P, et al. The effects of UV radiation and chemical mutagens on the mutagenesis of the rotifer *Brachionus plicatilis* [J]. Journal of Tropical Oceanography, 2010, 29(4): 76-81 (in Chinese)
- [86] 周文敏. 环境优先污染物[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1989: 147-149
- Zhou W M. Priority Control Pollutants in the Environment [M]. Beijing: Environmental Science Press of China, 1989: 147-149 (in Chinese)
- [87] 赵兰兰, 席贻龙, 黄林, 等. 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[J]. 动物学报, 2007, 53(2): 250-256
- Zhao L L, Xi Y L, Huang L, et al. Effects of phthalate acid esters on population growth and sexual reproduction of rotifers *Brachionus calyciflorus* [J]. Acta Zoologica Sinica, 2007, 53(2): 250-256 (in Chinese)
- [88] Zhang L, Niu J, Li Y, et al. Evaluating the sub-lethal toxicity of PFOS and PFOA using rotifer *Brachionus calyciflorus* [J]. Environmental Pollution, 2013, 180(3): 34-40
- [89] Wang Y, Niu J, Zhang L, et al. Toxicity assessment of perfluorinated carboxylic acids (PFCAs) towards the rotifer *Brachionus calyciflorus* [J]. Science of the Total Environment, 2014, 492: 266-270
- [90] Sha J, Wang Y, Chen H, et al. Using population demographic parameters to assess impacts of two polybrominated diphenyl ethers (BDE-47, BDE-209) on the rotifer *Brachionus plicatilis* [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2015, 119: 106-115
- [91] Sha J, Wang Y, Lv J, et al. Effects of two polybrominated diphenyl ethers (BDE-47, BDE-209) on the swimming behavior, population growth and reproduction of the rotifer *Brachionus plicatilis* [J]. Journal of Environmental Sciences, 2015, 28: 54-63
- [92] Wang H, Tang X, Sha J, et al. The reproductive toxicity on the rotifer *Brachionus plicatilis* induced by BDE-47

- and studies on the effective mechanism based on antioxidant defense system changes [J]. *Chemosphere*, 2015, 135(3): 129-137
- [93] Zhang J, Wang Y, Zhou B, et al. Reproductive effects of two polybrominated diphenyl ethers on the rotifer *Brachionus plicatilis* [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2016, 97(2): 198-202
- [94] Karami-Mohajeri S, Abdollahi M. Toxic influence of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates: A systematic review [J]. *Human and Experimental Toxicology*, 2011, 30(9): 1119-1140
- [95] Van Dyk J S, Pletschke B. Review on the use of enzymes for the detection of organochlorine, organophosphate and carbamate pesticides in the environment [J]. *Chemosphere*, 2011, 82(3): 291-307
- [96] 储昭霞. 四种有机氯农药对萼花臂尾轮虫生殖的影响 [D]. 芜湖: 安徽师范大学, 2006: 143-146
Chu Z X. Effects of four types of organochlorine pesticides on the reproduction of the rotifer *Brachionus plicatilis* [D]. Wuhu: Anhui Normal University, 2006: 143-146 (in Chinese)
- [97] 谢钦铭, 赵美珠. 二种有机磷农药对褶皱臂尾轮虫的急性毒性[J]. *江西科学*, 2006, 24(5): 297-300
Xie Q M, Zhao M Z. The acute toxicity of two organophosphorus pesticide to *Brachionus plicatilis* [J]. *Jiangxi Science*, 2006, 24(5): 297-300 (in Chinese)
- [98] 陆正和, 阎斌伦, 吴建新, 等. 杀螟硫磷对褶皱臂尾轮虫毒性效应研究[J]. *海洋环境科学*, 2009, 28(6): 719-721
Lu Z H, Yan B L, Wu J X, et al. Study on toxicity effect of fenitrothion on *Brachionus plicatilis* [J]. *Marine Environmental Science*, 2009, 28(6): 719-721 (in Chinese)
- [99] 吕林兰, 朱丹丹, 董学兴. 环境激素乐果对萼花臂尾轮虫生殖的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2014, 33(1): 57-62
Lv L L, Zhu D D, Dong X X. The effects of environmental hormone dimethoate on the reproduction of rotifer *Brachionus calyciflorus* [J]. *Journal of Agro-Environmental Science*, 2014, 33(1): 57-62 (in Chinese)
- [100] 刘剑锋. 西维因和异丙威对萼花臂尾轮虫毒性效应的研究[D]. 武汉: 中南民族大学, 2015: 91-93
Liu J F. Studies about toxic effects of carbaryl and isoprocarb on rotifer *Brachionus calyciflorus* [D]. Wuhan: Central South Nationalities University, 2015: 91-93 (in Chinese)
- [101] Flot J F, Hespels B, Li X, et al. Genomic evidence for asexual evolution in the bdelloid rotifer *Adineta vaga* [J]. *Nature*, 2013, 500(7463): 453
- [102] Kim H S, Han J, Kim H J, et al. Identification of 28 cytochrome P450 genes from the transcriptome of the marine rotifer *Brachionus plicatilis* and analysis of their expression [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D Genomics and Proteomics*, 2017, 23: 376-382
- [103] Lajus D L, Graham J H, Kozhara A V. Developmental instability and the stochastic component of total phenotypic variance [M]// Polak M. *Developmental Instability: Causes and Consequences*. 2003: 343-363
- [104] Gärtner K. A third component causing random variability beside environment and genotype. A reason for the limited success of a 30 year long effort to standardize laboratory animals? [J]. *Laboratory Animals*, 1990, 24(1): 71-77
- [105] Kang H M, Jeong C B, Kim M S, et al. The role of the p38-activated protein kinase signaling pathway-mediated autophagy in cadmium-exposed monogonont rotifer *Brachionus koreanus* [J]. *Aquatic Toxicology*, 2017, 194: 46-56
- [106] Huang Y, Liu J, Pang T, et al. Growth inhibitory and antifeedant effects of sublethal concentrations of toosendanin on the rotifer *Brachionus plicatilis* [J]. *Biomass and Bioenergy*, 2017, 99: 31-37
- [107] Hernándezruiz E, Alvaradoflores J, Rubiofranchini I, et al. Adverse effects and bioconcentration of chromium in two freshwater rotifer species [J]. *Chemosphere*, 2016, 158: 107-115
- [108] Kang H M, Jeong C B, Lee Y H, et al. Cross-reactivities of mammalian MAPKs antibodies in rotifer and copepod: Application in mechanistic studies in aquatic ecotoxicology [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2016, 151(2): 224-231 ◆