

# 亚致死浓度的盐酸四环素对萼花臂尾轮虫存活、生殖和种群增长的影响

孙帆 葛乐乐 白琰 江姗 席贻龙\*

安徽师范大学生态与环境学院, 皖江流域退化生态系统的恢复与重建省部共建协同创新中心 芜湖 241000

**摘要:** 盐酸四环素是一种广谱抗生素, 但其对轮虫存活、生殖和种群增长等的影响尚未知。本文应用生命表实验方法研究了不同浓度[0 (对照组)、2.5、5、10、20、40 和 80 mg/L]的盐酸四环素对萼花臂尾轮虫 (*Brachionus calyciflorus*) 存活、生殖和种群增长的影响。单因素方差分析表明, 盐酸四环素浓度对轮虫的生命期望、世代时间、净生殖率和种群内禀增长率均具有显著性影响 ( $P < 0.05$ ), 但对后代混交率无显著性影响 ( $P > 0.05$ )。多重比较 (最小显著差数法) 显示, 与对照组相比, 2.5 ~ 40 mg/L 盐酸四环素处理组中轮虫的生命期望和世代时间分别显著延长了 35% ~ 52% 和 13% ~ 24% ( $P < 0.01$ ), 净生殖率显著提高了 17% ~ 37% ( $P < 0.05$ ); 80 mg/L 盐酸四环素处理组中轮虫的净生殖率和内禀增长率分别显著降低了 20.35% 和 8.69% ( $P < 0.05$ )。回归分析表明, 盐酸四环素浓度与轮虫的生命期望、世代时间、净生殖率和内禀增长率之间均具有显著的剂量-效应关系。在监测较低浓度的盐酸四环素生态效应时, 生命期望、世代时间和净生殖率具有相同的敏感性; 而在监测较高浓度的盐酸四环素生态效应时, 净生殖率和内禀增长率具有相同的敏感性。

**关键词:** 盐酸四环素; 萼花臂尾轮虫; 生活史特征; 慢性毒性

中图分类号: Q958 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2021) 03-377-07

## Effects of Sublethal Concentration of Tetracycline Hydrochloride on Survival, Reproduction and Population Growth of *Brachionus calyciflorus*

SUN Fan GE Le-Le BAI Yan JIANG Shan XI Yi-Long\*

Center of Cooperative Innovation for Recovery and Reconstruction of Degraded Ecosystem in Wanjiang Basin Co-funded by Anhui Province and Ministry of Education of the People's Republic of China, School of Ecology and Environment, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China

**Abstract:** Tetracycline hydrochloride (TCH) is a broad-spectrum antibiotic. This study investigated the effects of TCH at concentrations of 0 (control), 2.5, 5, 10, 20, 40 and 80 mg/L on the survival, reproduction and population growth of *Brachionus calyciflorus* by means of life-table experiment. One-way ANOVA showed that TCH concentration had significant effects on life expectancy at hatching, generation time, net reproductive

**基金项目** 国家自然科学基金项目 (No. 31971562), 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 (No. 2004sys003);

\* 通讯作者, E-mail: ylx1965@126.com;

**第一作者介绍** 孙帆, 男, 硕士研究生; 研究方向: 水生态毒理学; E-mail: 19965395327@163.com.

收稿日期: 2020-10-12, 修回日期: 2021-03-04 DOI: 10.13859/j.cjz.202103007

rate and intrinsic rate of population increase of the rotifers ( $P < 0.05$ ), but did not have a marked effect on proportion of sexual offspring ( $P > 0.05$ ). Multiple comparison of the least significant difference (LSD) showed that compared to the control, treatments with TCH at 2.5 - 40 mg/L prolonged significantly life expectancy at hatching and generation time by 35% - 52% and 13% - 24%, respectively ( $P < 0.01$ ), and increased net reproductive rate by 17% - 37% ( $P < 0.05$ ), while that at 80 mg/L decreased net reproductive rate and intrinsic rate of population increase of the rotifers by 20.35% and 8.69%, respectively ( $P < 0.05$ ) (Table 1). Regression analysis showed that there were significant dose-effect relationships between TCH concentration ( $x$ , mg/L) and life expectancy at hatching ( $y_1$ ), generation time ( $y_2$ ), net reproductive rate ( $y_3$ ) as well as intrinsic rate of population increase of the rotifers ( $y_4$ ), and the relationships could be described as  $y_1 = -0.029x^2 + 1.843x + 144.669$ ,  $y_2 = -0.007x^2 + 0.476x + 73.521$ ,  $y_3 = -0.003x^2 + 0.138x + 19.936$  and  $y_4 = -1.594 \times 10^{-5}x^2 + 7.37 \times 10^{-7}x + 1.197$ , respectively (Table 2). When monitoring the ecological effects of lower TCH concentrations, the life expectancy at hatching, the generation time and the net reproductive rate had the same sensitivity, but when monitoring those of higher TCH concentrations, both the net reproduction rate and the intrinsic rate of population increase had the same sensitivity.

**Key words:** Tetracycline hydrochloride; *Brachionus calyciflorus*; Life history characteristics; Chronic toxicity

四环素类抗生素是由放线菌合成的一类广谱抗生素,对革兰氏阳性和阴性菌、立克次体和衣原体等致病微生物具有较强的抑制和灭杀作用(Chopra et al. 2001)。因具有价廉、高效和广谱等优点,四环素类抗生素在世界人用和兽用抗生素中用量排列第二;在我国,它是最常规使用的5类抗生素之一,被作为兽药和饲料添加剂广泛用于养殖业和畜牧业(李伟明等 2012, Zhang et al. 2015)。据统计,2013年,四环素类抗生素在我国的用量达  $1.2 \times 10^7$  kg (Zhang et al. 2015)。四环素类抗生素进入生物体后,不能被机体完全吸收,30% ~ 90%会以母体化合物或代谢产物的形式随排泄物释放到环境中(Snyder et al. 2003, Chee-Sanford et al. 2009)。近年来,四环素类抗生素在全球众多的地表水、地下水和畜禽水产养殖废水中被频繁检出(Zhang et al. 2015, Kim et al. 2016);在我国已检测的各类水体中,天津海河表层水中四环素类抗生素的残留浓度最高,达 113.9 ng/L (Bu et al. 2013)。四环素类抗生素在对水环境造成污染的同时,也对水生生物造成潜在的危害。已有研究表明,四环素类抗生素能够抑制绿藻蛋白质的合成,并通过抑制叶绿体内合成

酶的活性对藻类生长产生抑制作用(Halling-Sørensen 2000, 徐冬梅等 2013);四环素类抗生素还影响枝角类的生长和繁殖(Wollenberger et al. 2000)。

盐酸四环素(tetracycline hydrochloride, TCH)是一种常用的四环素类抗生素。基于发光细菌的微毒急性毒性实验表明,盐酸四环素在5大类20种常用抗生素中毒性最强(Backhaus et al. 1999)。已有研究表明,盐酸四环素可对藻类(徐冬梅等 2013)、原生动物(张辰笈 2018)、轮虫(Araujo et al. 2007, 项贤领等 2017)、枝角类(Gallina et al. 2008)和线虫(于振洋等 2010)等产生急性、慢性和遗传毒性等。

轮虫是浮游动物的重要类群之一。轮虫以藻类和细菌等为食物,同时又是鱼类和虾蟹等甲壳动物幼体的开口饵料和优质食物,在水生态系统的物质循环和能量流动过程中具有重要的作用。作为重要的水污染监测模式生物,因具有个体小、易培养、世代时间短和繁殖速率高等特点,轮虫在水环境监测和水生态毒理学研究中发挥着重要作用。美国环保局于1991年正式把萼花臂尾轮虫(*Brachionus calyciflorus*)和褶皱臂尾轮虫(*B. plicatilis*)分别作为淡水

和海水污染的测试生物列入国家测试标准 (Snell et al. 1995, Won et al. 2017)。本文以萼花臂尾轮虫为受试生物, 研究了盐酸四环素对其生命表统计学参数的影响, 旨在揭示该种抗生素对轮虫动物种群的影响规律, 并为评价其对水生生物的潜在风险提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验所用的萼花臂尾轮虫由采于芜湖市龙窝湖底泥中的轮虫休眠卵孵化并经克隆培养获得, 培养时间在 3 个月以上。培养过程中, 以美国环保局推荐的测试用水 (简称 EPA) (US EPA 1985) 为轮虫培养液, 以水生 4 号培养基 (黎尚豪等 1959) 培养的、处于指数增长期的斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 为饵料, 斜生栅藻经离心浓缩、显微计数后使用。实验前, 将轮虫置于  $(24 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、自然光照的恒温培养箱内进行 1 周以上的预培养; 在此期间, 每天投喂密度为  $1.5 \times 10^9$  个细胞/L 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。

实验用盐酸四环素 (纯度  $\geq 98\%$ ) 购于生物工程 (上海) 股份有限公司。实验前用 EPA 配制 0.1 g/L 的母液, 再按母液稀释法配制不同浓度的测试液。测试液每天新鲜配制以确保其质量。

### 1.2 急性毒性实验

为选择合适的慢性实验测试液浓度, 生命表实验之前, 先进行 24 h 急性毒性实验。急性毒性实验前, 在  $1.5 \times 10^9$  个细胞/L 藻密度下进行预实验; 然后根据预实验结果, 将盐酸四环素浓度按等差间距设置为 100、120、140、160、180 mg/L 共 5 个浓度, 另设一个对照组 (盐酸四环素浓度为 0)。实验在 8 ml 玻璃杯中进行, 每杯中放入 10 只龄长在 4 h 以内的轮虫幼体和 5 ml 测试液, 每组设置 3 个重复。实验在  $(24 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、无光照的培养箱中进行, 24 h 后观察记录每个玻璃杯中轮虫的死亡数目, 采用机率单

位法获得 24 h 半数致死浓度 ( $\text{LC}_{50}$  值)。

### 1.3 生命表实验

根据急性毒性实验得出的 24 h 半数致死浓度 ( $\text{LC}_{50}$  值), 将盐酸四环素浓度设置为 2.5、5、10、20、40 和 80 mg/L, 另设一个对照组, 即盐酸四环素浓度为 0 mg/L。实验在 8 ml 玻璃杯内进行, 每杯加入 5 ml 测试液 (内含  $1.5 \times 10^9$  个细胞/L 的斜生栅藻) 和 10 只萼花臂尾轮虫幼体 (龄长  $< 4$  h), 每组设 3 个重复。实验开始后, 每天更换测试液一次 (内含  $1.5 \times 10^9$  个细胞/L 的斜生栅藻)。实验过程中, 每间隔 12 h 观察并记录 1 次母体的存活数和孵化出的幼体数, 移去死亡个体, 并将新孵化出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。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 ( $l_x$ ): 进入  $x$  年龄时存活个体百分数; 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 ( $e_0$ ): 每个个体出生时存活时间的估计值; 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,  $T = \sum l_x m_x x / R_0$ ; 种群内禀增长率 ( $r_m$ ): 种群在特定实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  $\sum_{x=0}^n e^{-rx} l_x m_x = 1$  在 Excel 中算得种群内禀增长率的精确值; 后代混交率: 所有雌性后代中混交雌体所占的比例。

### 1.5 统计分析

实验数据用平均值  $\pm$  标准误 (Mean  $\pm$  SE) 表示。采用 SPSS 19.0 分析软件和 Excel 2003 对数据进行分析。使用 Kaplan-Meier 分析不同盐酸四环素浓度对轮虫存活率的影响。对所得的各生命表统计学参数作正态性检验后, 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)

分析各处理组与对照组间的差异显著性, 对各参数与盐酸四环素浓度之间的关系进行回归分析。

## 2 结果

### 2.1 盐酸四环素对轮虫的急性毒性

急性毒性实验结果显示, 在  $(24 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、无光照、食物密度为  $1.5 \times 10^9$  个细胞/L 的条件下, 盐酸四环素对萼花臂尾轮虫幼体的 24 h 半

数致死浓度 (LC<sub>50</sub> 值) 是 120.055 mg/L, 95% 的置信限为 107.825 ~ 126.823 mg/L。

### 2.2 盐酸四环素对轮虫存活率和繁殖率的影响

与对照组相比, 2.5 ~ 40 mg/L 盐酸四环素处理组中轮虫的存活率显著提高 ( $P < 0.05$ ); 各盐酸四环素处理组中轮虫繁殖率峰值大小无显著性差异, 但 80 mg/L 盐酸四环素处理组中轮虫繁殖率峰值出现的时间推迟 12 h (图 1)。

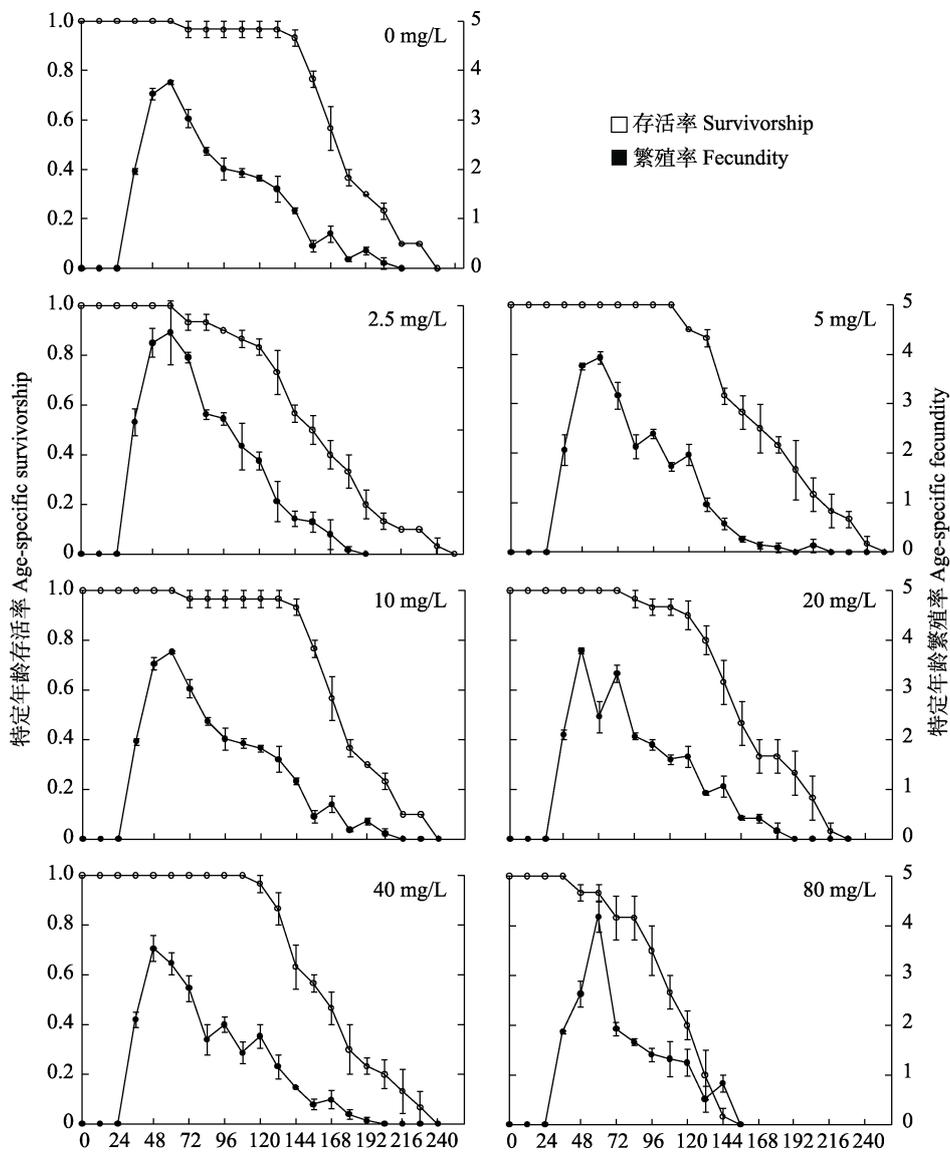


图 1 暴露于不同浓度盐酸四环素溶液中的萼花臂尾轮虫存活率和繁殖率

Fig. 1 Survivorship and fecundity of *Brachionus calyciflorus* exposed to different concentrations of tetracycline hydrochloride

### 2.3 盐酸四环素对轮虫生命表统计学参数的影响

单因素方差分析结果表明, 盐酸四环素浓度对轮虫的生命期望、世代时间、净生殖率和种群内禀增长率均具有显著性影响 ( $P < 0.05$ ), 但对后代混交率无显著性影响 ( $P > 0.05$ )。和对照组相比, 2.5 ~ 40 mg/L 盐酸四环素处理组中轮虫的生命期望和世代时间分别显著延长了 35% ~ 52% 和 13% ~ 24% ( $P < 0.01$ ), 净生殖率显著提高了 17% ~ 37% ( $P < 0.05$ ); 80 mg/L 盐酸四环素处理组中轮虫的净生殖率和内禀增长率分别显著降低了 20.35% 和 8.69% ( $P < 0.05$ ) (表 1)。

回归分析显示, 盐酸四环素浓度与轮虫的生命期望、世代时间、净生殖率和内禀增长率

间均具有显著的剂量-效应关系 (表 2)。

### 3 讨论

已有研究结果表明, 较高浓度的硫酸链霉素、盐酸四环素、酒石酸泰乐霉素 (Araujo et al. 2007)、阿莫西林 (González-Pérez et al. 2016) 和盐酸土霉素 (Jiang et al. 2018) 对萼花臂尾轮虫、哈瓦那臂尾轮虫 (*B. havanaensis*) 和褶皱臂尾轮虫的存活、生殖和种群增长具有抑制作用, 较低浓度的利福平 (翟盼等 2016)、盐酸土霉素 (Jiang et al. 2018) 和诺氟沙星 (朱韩等 2019) 对萼花臂尾轮虫的存活、生殖和种群增长具有促进作用。与盐酸土霉素的影响 (Jiang et al. 2018) 一致, 本研究发现, 盐酸四环素对萼花臂尾轮虫存活、生殖和种群增长

表 1 暴露于不同浓度盐酸四环素溶液中的萼花臂尾轮虫生命表统计学参数  
Table 1 Life-table demographic parameters of *Brachionus calyciflorus* exposed to different concentrations of tetracycline hydrochloride

盐酸四环素浓度(mg/L)	生命期望 Life expectancy at hatching (h)	世代时间 Generation time (h)	净生殖率 Net reproductive rate (offspring/female/life)	内禀增长率 Intrinsic rate of population increase (d)	后代混交率 Proportion of sexual offspring (%)
0	116.0 ± 6.9	67.3 ± 2.4	17.2 ± 1.3	1.198 ± 0.010	0.38 ± 0.38
2.5	156.8 ± 3.9**	76.1 ± 1.6**	20.2 ± 0.7*	1.188 ± 0.034	0.63 ± 0.43
5.0	171.6 ± 4.2**	77.4 ± 1.0**	22.4 ± 0.3**	1.214 ± 0.022	0.29 ± 0.14
10.0	176.0 ± 2.8**	84.1 ± 1.5**	23.7 ± 0.6**	1.191 ± 0.005	0.13 ± 0.13
20.0	159.2 ± 7.6**	78.3 ± 2.2**	20.3 ± 0.3*	1.181 ± 0.013	0.16 ± 0.16
40.0	167.2 ± 4.5**	79.2 ± 0.5**	20.5 ± 1.5*	1.178 ± 0.024	0.34 ± 0.34
80.0	106.8 ± 5.9	66.6 ± 2.4	13.7 ± 1.3*	1.094 ± 0.028**	0.00 ± 0.00

与对照组 (0 mg/L) 相比有显著性差异: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。

Significantly different from the controls (0 mg/L): \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ .

表 2 萼花臂尾轮虫部分生命表统计学参数 (y) 与盐酸四环素浓度 (x, mg/L) 间的关系

Table 2 The relationships between some life-table demographic parameters (y) of *Brachionus calyciflorus* and tetracycline hydrochloride concentrations (x, mg/L)

参数 Parameters	回归方程 Regressive equation	显著性检验 Significant test
生命期望 Life expectancy at hatching	$y = -0.029x^2 + 1.843x + 144.669$	$R^2 = 0.597, P < 0.01$
世代时间 Generation time	$y = -0.007x^2 + 0.476x + 73.521$	$R^2 = 0.331, P < 0.01$
净生殖率 Net reproductive rate	$y = -0.003x^2 + 0.138x + 19.936$	$R^2 = 0.581, P < 0.01$
内禀增长率 Intrinsic rate of population increase	$y = -1.594 \times 10^{-5}x^2 + 7.37 \times 10^{-7}x + 1.197$	$R^2 = 0.544, P < 0.01$

也呈现出“低促高抑”的特点。

“低促高抑”是毒理学研究中普遍存在的剂量-反应关系，常被称为“毒物兴奋效应 (hormesis)” (Calabrese 2008)。“低促高抑”将显著影响水体中轮虫的种群密度，进而影响物质和能量沿着水生食物链由低营养级向高营养级的传递，最终破坏生态平衡。

Araujo 等 (2007) 的研究结果表明，当以  $3 \times 10^9$  个细胞/L 普通小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 投喂轮虫时，5.6 ~ 2 000 mg/L 范围内的盐酸四环素对萼花臂尾轮虫的存活和生殖无显著的促进作用。本研究结果与其并不一致。究其原因，可能与所使用的轮虫品系、所投喂的藻类的种类和生物量不同有关。已有研究结果已经表明，食物密度影响盐酸土霉素对萼花臂尾轮虫存活、生殖和种群增长的“低促高抑”幅度 (Jiang et al. 2018)。

有关抗生素影响轮虫存活、生殖和种群增长的机制，目前尚不清楚。就较高浓度的抗生素的抑制作用而言，多数学者将其归结为抗生素的毒性作用 (Araujo et al. 2007, 王金秋等 2008, 张雄 2012, González-Pérez et al. 2016, 项贤领等 2017, Jiang et al. 2018)。Wollenberger 等 (2000) 在研究盐酸土霉素等抗生素对大型溞 (*Daphnia magna*) 存活和生殖的影响时认为，较高浓度的抗生素通过对藻类的毒性作用从而间接地对枝角类的存活和生殖起抑制作用。鉴于  $1 \mu\text{g/L}$  浓度级别的盐酸四环素即可抑制乃至杀灭培养液中的细菌和藻类，我们认为较高浓度抗生素的抑制作用可能主要源于其毒性作用。

就较低浓度的抗生素对轮虫存活、生殖和种群增长的促进作用而言，三个主要的机制先后被提出。首先，利福平和盐酸土霉素等抗生素通过有效杀灭轮虫体内和喂食的藻类中可能存在的一些有害细菌，从而促进了轮虫的存活、生殖和种群增长 (翟盼等 2016, Jiang et al. 2018)。其次，较低浓度的利福平等抗生素的促进作用被部分归因于其雌激素效应 (翟盼等

2016)。再次，毒物兴奋效应 (Calabrese 2008) 被用于解释较低浓度的抗生素对轮虫存活、生殖和种群增长的促进作用 (项贤领等 2017)。包括盐酸四环素等在内的较低浓度的抗生素究竟是通过哪个或哪几个机制促进轮虫存活、生殖和种群增长，仍需进一步研究。

萼花臂尾轮虫等单巢纲轮虫具有典型的周期性孤雌生殖繁殖方式。通常情况下，它们主要以孤雌生殖的方式繁殖，但在特定的条件下，如较低的食物质量和较高的种群密度下进行有性生殖，产生休眠卵，以度过不利的环境条件。已有研究表明，在  $1.0 \times 10^9$ 、 $2.0 \times 10^9$  和  $4.0 \times 10^9$  个细胞/L 的斜生栅藻密度下，2.0 ~ 10.0 mg/L 的利福平均显著提高萼花臂尾轮虫的后代混交率 (翟盼等 2016)，13.5 ~ 40.5 mg/L、40.5 mg/L 和 40.5 mg/L 的盐酸四环素也显著地提高萼花臂尾轮虫的后代混交率 (项贤领等 2017)。与上述研究结果不同的是，在相同斜生栅藻密度下，盐酸土霉素浓度对萼花臂尾轮虫的后代混交率却无显著性影响 (Jiang et al. 2018)。与 Jiang 等 (2018) 的研究结果相一致，本研究结果表明， $1.5 \times 10^9$  个细胞/L 的斜生栅藻密度下，盐酸四环素浓度对萼花臂尾轮虫的后代混交率也无显著性影响。看来，轮虫有性生殖的发生幅度可能与抗生素的种类和浓度等有关。

从现有的研究结果来看，萼花臂尾轮虫各生命表统计学参数对抗生素污染的敏感性因抗生素种类和食物密度的不同而存在着差异 (Araujo et al. 2007, González-Pérez et al. 2016, 翟盼等 2016, Jiang et al. 2018, 朱韩等 2019)。本研究结果表明，当以萼花臂尾轮虫为受试生物监测较低浓度的盐酸四环素的生态效应时，生命期望、世代时间和净生殖率具有相同的敏感性；而在监测较高浓度的盐酸四环素生态效应时，净生殖率和内禀增长率具有相同的敏感性。

总之，亚致死浓度的盐酸四环素对轮虫的存活、生殖和种群增长具有“低促高抑”特点。

自然水体中, 盐酸四环素主要通过抑制藻类等的生长而抑制轮虫的存活、生殖和种群增长。

## 参 考 文 献

- Araujo A, Mcnair J N. 2007. Individual- and population-level effects of antibiotics on the rotifers, *Brachionus calyciflorus* and *B. plicatilis*. *Hydrobiologia*, 593(1): 185–199.
- Backhaus T, Grimme L H. 1999. The toxicity of antibiotic agents to the luminescent bacterium *Vibrio fischeri*. *Chemosphere*, 38(14): 3291–3301.
- Bu Q, Wang B, Huang J, et al. 2013. Pharmaceuticals and personal care products in the aquatic environment in China: A review. *Journal of Hazardous Materials*, 262(1): 189–211.
- Calabrese J E. 2008. Hormesis: why it is important to toxicology and toxicologists. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(7): 1451–1474.
- Chee-Sanford J C, Mackie R I, Koike S, et al. 2009. Fate and transport of antibiotic residues and antibiotic resistance genes following land application of manure waste. *Journal of Environmental Quality*, 38(3): 1086–1108.
- Chopra I, Roberts M. 2001. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 65(2): 232–260.
- Gallina G, Poltronieri C, Merlanti R, et al. 2008. Acute toxicity evaluation of four antibacterials with *Daphnia magna*. *Veterinary Research Communications*, 32(suppl 1): 287–290.
- González-Pérez B K, Sarma S S S, Nandini S. 2016. Effects of selected pharmaceuticals (ibuprofen and amoxicillin) on the demography of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus havanaensis* (Rotifera). *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 42(3): 341–347.
- Halling-Sørensen B. 2000. Algal toxicity of antibacterial agents used in intensive farming. *Chemosphere*, 40(7): 731–739.
- Jiang S, Xi Y L, Zhu H, et al. 2018. Combined effects of oxytetracycline concentration and algal food level on the life-table demography of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). *Annal de Limnologie: International Journal of Limnology*, 54: 28. <https://doi.org/10.1051/limn/2018020>.
- Kim Y, Lee K-B, Choi K. 2016. Effect of runoff discharge on the environmental levels of 13 veterinary antibiotics: A case study of Han River and Kyungahn Stream, South Korea. *Marine Pollution Bulletin*, 107(1): 347–354.
- Snell T W, Janssen C R. 1995. Rotifers in ecotoxicology: a review. *Hydrobiologia*, 313/314(1): 231–247.
- Snyder S A, Westerhoff P, Yoon Y, et al. 2003. Pharmaceuticals, personal care products, and endocrine disruptors in water: Implications for the water industry. *Environmental Engineering Science*, 20(5): 449–469.
- US EPA. 1985. Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms // Peltier W H, Weber C I. EPA/600/4-85/013 US Environment Protect Agency, Washington, DC, 216.
- Wollenberger L, Halling-Sørensen B, Kusk K O. 2000. Acute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 40(7): 723–730.
- Won E J, Han J, Kim D H, et al. 2017. Rotifers in ecotoxicology // Hagiwara A, Yoshinaga T. Rotifers: Aquaculture, Ecology, Gerontology, and Ecotoxicology. Tokyo: Springer, 149–176.
- Zhang Q Q, Ying G G, Pan C G, et al. 2015. A comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China: Source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance. *Environmental Science & Technology*, 49(11): 6772–6782.
- 翟盼, 温新利, 陈治文, 等. 2016. 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*, 36(6): 1886–1894.
- 黎尚豪, 夏宜铮, 俞敏娟, 等. 1959. 单细胞绿藻的批量培养. *水生生物学报*, 4(6): 462–472.
- 李伟明, 鲍艳宇, 周启星. 2012. 四环素类抗生素降解途径及其主要降解产物研究进展. *应用生态学报*, 23(8): 2300–2308.
- 王金秋, 周叶平, 林隽姬, 等. 2008. 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*, 47(3): 347–353.
- 项贤领, 朱晔璘, 徐秋磊, 等. 2017. 盐酸四环素浓度和食物密度对萼花臂尾轮虫生活史特征的综合影响. *生态学报*, 37(22): 7718–7728.
- 徐冬梅, 王艳花, 饶桂维. 2013. 四环素类抗生素对淡水绿藻的毒性作用. *环境科学*, 34(9): 3386–3390.
- 于振洋, 张晶, 张洪昌, 等. 2010. 盐酸四环素对秀丽线虫(*C. elegans*)的急性与多代毒性研究. *生态毒理学学报*, 5(3): 320–326.
- 张辰笈, 丁霜, 赵也, 等. 2018. 四环素及盐酸四环素对尾草履虫的毒性效应研究. *中国农学通报*, 34(24): 46–49.
- 张雄. 2012. 蓝藻和抗生素对萼花臂尾轮虫种群生态学的影响研究. 武汉: 中南民族大学硕士学位论文.
- 朱韩, 席贻龙, 徐秋磊, 等. 2019. 不同藻密度下诺氟沙星对萼花臂尾轮虫生命表统计学参数的影响. *生态毒理学学报*, 14(3): 163–173.