

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897-20141113002

马丽, 吴民耀, 王宏元. 7种金属离子对中国林蛙和中华大蟾蜍蝌蚪的急性毒性比较研究[J]. 生态毒理学报, 2015, 10(3): 230-237

Ma L, Wu M Y, Wang H Y. Comparison study on the acute toxicity of 7 metal ions on the *Rana chensinensis* and *Bufo gargarizans* tadpoles [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2015, 10(3): 230-237 (in Chinese)

7种金属离子对中国林蛙和中华大蟾蜍蝌蚪的急性毒性比较研究

马丽, 吴民耀, 王宏元*

陕西师范大学秦巴山区可持续发展协同创新中心 西安 710119

收稿日期: 2014-11-13 录用日期: 2015-01-27

摘要: 为评估 Cu^{2+} , Hg^{2+} , Cr^{6+} , Cd^{2+} , Li^+ , Al^{3+} 和 Co^{2+} 7种金属离子对中国林蛙(*Rana Chensinensis*)和中华大蟾蜍(*Bufo gargarizans*)蝌蚪的急性毒性效应, 采用生物毒性试验方法对中国林蛙和中华大蟾蜍 36期蝌蚪, 进行上述7种金属离子的急性毒性试验, 分别测定了这7种金属离子对中国林蛙蝌蚪和中华大蟾蜍蝌蚪的半数致死浓度(LC_{50})。此外, 分析了中国林蛙和中华大蟾蜍 36期蝌蚪的肥满度、肝指数等形态指标。结果显示, Cu^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Cr^{6+} 、 Cd^{2+} 、 Li^+ 、 Al^{3+} 、 Co^{2+} 对中国林蛙蝌蚪的 96 h- LC_{50} 分别为 $0.270 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $0.803 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $2.375 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $7.351 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $11.273 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $17.265 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $20.973 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。对中华大蟾蜍蝌蚪的 96 h- LC_{50} 分别 $0.593 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $0.593 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $2.827 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $2.592 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $12.656 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $14.020 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $57.435 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。中国林蛙蝌蚪对 Cu^{2+} 、 Cr^{6+} 、 Li^+ 、 Co^{2+} 4种金属离子的敏感性相对较高, 而中华大蟾蜍蝌蚪对 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Al^{3+} 3种金属离子的敏感性相对较高。形态指标的差异是中国林蛙与中华大蟾蜍蝌蚪对同一金属离子敏感性差异的原因之一。

关键词: 中国林蛙蝌蚪; 中华大蟾蜍蝌蚪; 金属离子; LC_{50}

文章编号: 1673-5897(2015)3-230-08 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Comparison Study on the Acute Toxicity of 7 Metal Ions on the *Rana chensinensis* and *Bufo gargarizans* Tadpoles

Ma Li, Wu Minyao, Wang Hongyuan*

Co-Innovation Center for Qinba regions' sustainable development, College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China

Received 13 November 2014 accepted 27 January 2015

Abstract: The purpose of this paper is to evaluate the acute toxicity of Cu^{2+} , Hg^{2+} , Cr^{6+} , Cd^{2+} , Li^+ , Al^{3+} and Co^{2+} on the *Rana chensinensis* and *Bufo gargarizans* tadpoles at Gosner stage 36. The median lethal concentration (LC_{50}) values at 7 kinds of metal ions to the *R. chensinensis* and *B. gargarizans* tadpoles were calculated, respectively. In addition, morphological characters (fatness, liver index) of *R. chensinensis* and *B. gargarizans* tadpoles were determined. The results showed that 96 h- LC_{50} of Cu^{2+} , Hg^{2+} , Cr^{6+} , Cd^{2+} , Li^+ , Al^{3+} and Co^{2+} for the *R. chensinensis* tadpoles were $0.270 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $0.803 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $2.375 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $7.351 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $11.273 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $17.265 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and $20.973 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively. While the 96 h- LC_{50} for the *B. gargarizans* tadpoles were $0.593 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $0.593 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $2.827 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $2.592 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $12.656 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $14.020 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and $57.435 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively. The sensitivity of the *R.*

基金项目:“秦巴山区可持续发展协同创新中心”资助

作者简介:马丽(1988-),女,硕士研究生,研究方向:发育生物学,E-mail: mali6212164@snnu.edu.cn

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: hongyuanwang@snnu.edu.cn

chensinensis to Cu^{2+} , Cr^{6+} , Li^+ and Co^{6+} were higher than those of *B. gargarizans* tadpoles. In contrast, the sensitivity of the *B. gargarizans* to Hg^{2+} , Cd^{2+} and Al^{3+} were higher than those of *R. chensinensis* tadpoles. Different morphological characters of the *R. chensinensis* and *B. gargarizans* tadpoles are one of the factors for their different sensitivity to the same metal ions.

Keywords: *Rana chensinensis* tadpoles; *Bufo gargarizans* tadpoles; metal ion; LC_{50}

随着人类对煤炭、石油和天然气等能源消耗的持续增长,以及人类的大量活动如矿山开采,金属冶炼、加工,农药化肥的使用等均造成环境中重金属含量增加^[1]。重金属以多种物理和化学形态存在于水体、土壤和大气等环境中,并在环境中产生迁移和积累^[2-3],其中,水体重金属污染是当今世界上最严重的环境问题之一。水体重金属污染使得水生生态系统长期处于一种被干扰状态,影响水生生物的生存繁殖及生态系统的结构,并进而影响到人类的的生活和健康。

目前,重金属离子对水生生物的毒性研究主动要集中于鱼类、双贝类和两栖动物^[4-7]。两栖动物是联系水生和陆生环境的关键物种,在生态系统中占有重要的位置,其胚胎和幼体的发育均在水域中进行,水域污染物会直接影响它们的发育和变态^[4,8]。两栖动物幼体鳃和皮肤的渗透性强,对水质的反应极为敏感^[9],是水体污染生物监测中的重要指示动物^[10-11]。虽然有关重金属离子对两栖动物的毒性研究已有一些相关报道,但是就不同物种对多种金属离子敏感差异的比较研究还较匮乏。

中国林蛙(*Rana chensinensis*)和中华大蟾蜍(*Bufo gargarizans*)均是我国的广布物种,以二者为对象进行毒理学研究更有利于将实验室研究与野外监测相结合,从而为环境污染的生态风险评估提供更为客观的信息。本试验以中国林蛙(*R. chensinensis*)和中华大蟾蜍(*B. gargarizans*)蝌蚪为试验动物,研究铜离子(Cu^{2+})、汞离子(Hg^{2+})、铬离子(Cr^{6+})、镉离子(Cd^{2+})、锂离子(Li^+)、铝离子(Al^{3+})和钴离子(Co^{2+})对中国林蛙和中华大蟾蜍蝌蚪的急性毒性,以评估7种金属离子的毒性效应,及不同物种对金属离子污染的敏感差异性,旨在丰富金属离子的水生生物毒理学基础数据,为水生生态系统保护标准的制定提供参考信息。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 试验材料

中华大蟾蜍卵和中国林蛙卵均于2013年3月采自秦岭北坡的西安市长安区大峪水库周围小水潭(109°06'52"E, 34°01'00"N),海拔723 m。将卵带回实

验室,于室温下孵化为蝌蚪,根据Gosner^[12]的分期标准对蝌蚪进行分期,36期蝌蚪后肢五趾分开^[13],肉眼可见,易于分期辨认,且其各部形态发育基本成熟稳定^[14],因此试验选取发育至36期的蝌蚪作为试验材料。

1.2 试验试剂及溶液配制

试验所用化合物硝酸铝($\text{Al}(\text{NO}_3)_3$)、铬酸铵($(\text{NH}_4)_2\text{CrO}_4$)、氯化汞(HgCl_2)、硝酸钴($\text{Co}(\text{NO}_3)_2$)、硝酸铜($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$)、氯化锂(LiCl)、氯化镉(CdCl_2)为分析纯(纯度 $\geq 99\%$,购自Sigma化学试剂公司),试验前用双蒸水配制成离子质量浓度为 $1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的母液,置于 $4\ ^\circ\text{C}$ 环境中保存备用,试验开始时稀释为所需金属离子质量浓度的暴露溶液。

1.3 试验条件

对中国林蛙蝌蚪和中华大蟾蜍蝌蚪采用室温下曝气3 d的自来水作为试验用水,试验所用容器为 $40\ \text{cm}\times 20\ \text{cm}\times 20\ \text{cm}$ (长 \times 宽 \times 高)的玻璃缸,每容器盛试验液4 L,随机放入36期的中国林蛙蝌蚪和中华大蟾蜍蝌蚪各30例。试验用水pH值约7.0,硬度(CaCO_3)为 $(90\pm 5)\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,水温为 $(18\pm 2)\ ^\circ\text{C}$,自然光照周期条件下培养,试验期间不投食。为保证试验质量浓度的准确性,每24 h更换全部试验液。

1.4 试验方法

选择几种较大的金属离子浓度范围进行预实验,根据最小的全致死浓度和最大的零致死浓度确定正式试验的浓度范围。7种金属离子均设置8个暴露浓度组(表1),另设自来水空白对照组,每组均为30只蝌蚪。为避免蝌蚪发生同类相食现象及死亡蝌蚪毒性分泌物对正常蝌蚪产生影响^[15],暴露前后12 h连续观察,之后每间隔4 h观察1次。当蝌蚪沉于水底,用玻璃棒多次刺激其尾部无反应时则判断为死亡,及时将死亡蝌蚪捞出,记录24 h、48 h、72 h、96 h死亡蝌蚪的数目。

1.5 形态学指标测量与分析

采用电子游标卡尺(桂林广陆电子数显游标卡尺,测量范围150 mm,精确度0.01 mm)测定蝌蚪全长、体长和尾长;采用SartoriusBS124S型电子天平

表 1 7 种金属离子的急性毒性暴露浓度
Table 1 Concentrations of 7 metal ions in the acute exposure tests

物种 Species	金属离子浓度/(mg·L ⁻¹) Concentrations of 7 metal ions/(mg·L ⁻¹)							
	Cu ²⁺	Hg ²⁺	Cr ⁶⁺	Cd ²⁺	Li ⁺	Al ³⁺	Co ²⁺	
中国林蛙 <i>R. chensinensis</i>	1	0.064	0.201	0.468	5.600	3.470	13.500	11.786
	2	0.128	0.602	0.520	6.720	4.858	14.850	17.679
	3	0.192	0.701	1.040	7.840	6.246	16.200	20.626
	4	0.256	0.802	1.560	8.400	6.940	17.550	23.572
	5	0.320	0.903	2.080	8.960	10.410	18.900	26.519
	6	0.384	1.003	2.680	9.520	13.880	20.250	29.465
	7	0.448	1.103	3.640	10.080	17.350	21.600	35.358
	8	0.512	1.204	4.680	12.320	20.280	24.300	41.251
中华大蟾蜍 <i>B. gargarizans</i>	1	0.320	0.410	2.080	1.120	4.858	10.800	17.679
	2	0.384	0.502	2.600	2.240	6.246	12.150	29.465
	3	0.448	0.542	2.860	3.360	6.940	12.690	41.251
	4	0.512	0.582	3.120	4.480	9.022	13.230	53.037
	5	0.576	0.602	3.380	5.200	10.410	13.500	58.930
	6	0.640	0.702	3.640	6.720	13.880	14.310	88.395
	7	0.960	0.802	4.160	7.840	17.350	14.850	117.860
	8	1.280	1.003	4.680	8.960	20.820	16.200	147.325

(精确度 0.001 g)测定蝌蚪体质量;在 Zeiss Discovery V12 型体视显微镜下剥离出蝌蚪的肝脏,通过电子天平测定肝质量。肥满度和肝指数分别根据下列公式计算:

$$\text{肥满度} = \text{体质量} / \text{全长} \times 100$$

$$\text{肝指数} = \text{肝质量} / \text{体质量} \times 100^{[16]}$$

1.6 数据处理与分析

所有试验数据均采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析。采用概率单位法求得 7 种金属离子分别对中国林蛙蝌蚪和中华大蟾蜍蝌蚪的半数致死浓度(LC₅₀)及 95% 置信区间^[17-18]。安全浓度(SC)参照 SC = 0.01 × 96 h-LC₅₀ 计算^[19]。蝌蚪肝指数以平均值 ± 标准差表示,数据采用 t 检验(t-test)进行比较分析 ($P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著)。

2 结果 (Results)

2.1 7 种金属离子对中国林蛙和中华大蟾蜍蝌蚪的急性毒性

急性毒性试验过程中,对照组蝌蚪游动正常,无死亡现象,试验组蝌蚪的死亡个数均随着金属离子质量浓度的增加而增加,并与暴露时间的延长呈正相关。7 种金属离子对中国林蛙和中华大蟾蜍蝌蚪的 24 h-LC₅₀、48 h-LC₅₀、72 h-LC₅₀ 和 96 h-LC₅₀ 如表 2

所示。

7 种金属离子对中国林蛙蝌蚪的 24 h-LC₅₀、48h-LC₅₀、72 h-LC₅₀ 和 96 h-LC₅₀ 大小排列顺序均为: $\text{Co}^{2+} > \text{Al}^{3+} > \text{Li}^{+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Cr}^{6+} > \text{Hg}^{2+} > \text{Cu}^{2+}$ 。试验所得 Cu^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Cr^{6+} 、 Cd^{2+} 、 Li^{+} 、 Al^{3+} 和 Co^{2+} 对中国林蛙蝌蚪的 96 h-LC₅₀ 分别为 0.270 mg·L⁻¹、0.803 mg·L⁻¹、2.375 mg·L⁻¹、7.351 mg·L⁻¹、11.273 mg·L⁻¹、17.265 mg·L⁻¹ 和 20.973 mg·L⁻¹, 依据安全浓度计算公式,得出上述 7 种金属离子对中国林蛙蝌蚪的安全浓度分别为 0.00270 mg·L⁻¹、0.00803 mg·L⁻¹、0.023 75 mg·L⁻¹、0.07351 mg·L⁻¹、0.11273 mg·L⁻¹、0.17265 mg·L⁻¹ 和 0.20973 mg·L⁻¹。

7 种金属离子对中华大蟾蜍蝌蚪 24 h-LC₅₀ 和 48h-LC₅₀ 大小排列顺序为: $\text{Co}^{2+} > \text{Li}^{+} > \text{Al}^{3+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Cr}^{6+} > \text{Hg}^{2+} > \text{Cu}^{2+}$, 72 h-LC₅₀ 和 96 h-LC₅₀ 大小排列顺序分别为: $\text{Co}^{2+} > \text{Li}^{+} > \text{Al}^{3+} > \text{Cr}^{6+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Hg}^{2+} > \text{Cu}^{2+}$, $\text{Co}^{2+} > \text{Al}^{3+} > \text{Li}^{+} > \text{Cr}^{6+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Hg}^{2+} = \text{Cu}^{2+}$ 。试验所得 Cu^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Cr^{6+} 、 Cd^{2+} 、 Li^{+} 、 Al^{3+} 和 Co^{2+} 对中华大蟾蜍蝌蚪的 96 h-LC₅₀ 分别 0.593 mg·L⁻¹、0.593 mg·L⁻¹、2.827 mg·L⁻¹、2.592 mg·L⁻¹、12.656 mg·L⁻¹、14.02 mg·L⁻¹ 和 57.435 mg·L⁻¹, 依据安全浓度计算公式,得出上述 7 种金属离子对中华大蟾蜍蝌蚪的安全浓度分别为 0.00593 mg·L⁻¹、

0.00593 mg · L⁻¹、0.02827 mg · L⁻¹、0.02592 mg · L⁻¹、0.12656 mg · L⁻¹、0.14020 mg · L⁻¹ 和 0.57435 mg · L⁻¹。

2.2 7 种金属离子对中国林蛙和中华大蟾蜍蝌蚪的毒性比较

根据所获得的 7 种金属离子对中国林蛙和中华大蟾蜍蝌蚪的安全浓度,分析比较 7 种金属离子对

两个不同物种蝌蚪的毒性大小,结果见图 1。由图可知,7 种金属离子对中国林蛙和中华大蟾蜍蝌蚪的毒性大小表现一致,即 Cu²⁺ 和 Hg²⁺ 对蝌蚪的毒性作用最大,Cr⁶⁺ 和 Cd²⁺ 次之,Li⁺、Al³⁺ 和 Co²⁺ 的毒性作用相对较小。但是,通过安全浓度的比较可知,Hg²⁺,Cd²⁺,Cr⁶⁺ 和 Al³⁺ 对中华大蟾蜍蝌蚪的毒

表 2 7 种金属离子对中国林蛙和中华大蟾蜍蝌蚪的 LC₅₀

Table 2 LC₅₀ values of 7 metal ions for *R. chensinensis* and *B. gargarizans* tadpoles

	中国林蛙 <i>R. chensinensis</i>				中华大蟾蜍 <i>B. gargarizans</i>			
	半数致死浓度及 95% 置信区间/(mg · L ⁻¹)							
	LC ₅₀ and 95% Confidence Interval/(mg · L ⁻¹)							
	24h	48h	72h	96h	24h	48h	72h	96h
Cu ²⁺	0.480 (0.453~ 0.508)	0.467 (0.440~ 0.494)	0.359 (0.336~ 0.383)	0.270 (0.247~ 0.293)	1.073 (0.973~ 1.188)	0.742 (0.662~ 0.829)	0.645 (0.566~ 0.728)	0.593 (0.514~ 0.673)
Hg ²⁺	1.278 (1.219~ 1.344)	1.162 (1.115~ 1.215)	0.955 (0.915~ 0.996)	0.803 (0.761~ 0.844)	0.813 (0.759~ 0.875)	0.688 (0.638~ 0.740)	0.646 (0.597~ 0.697)	0.593 (0.543~ 0.644)
Cd ²⁺	13.782 (12.255~ 15.900)	11.069 (10.150~ 12.258)	8.474 (7.600~ 9.311)	7.351 (6.337~ 8.209)	4.695 (4.182~ 5.213)	3.419 (2.874~ 3.948)	2.745 (2.172~ 3.290)	2.592 (2.006~ 3.145)
Cr ⁶⁺	4.954 (4.518~ 5.443)	4.459 (4.073~ 4.889)	3.389 (3.080~ 3.726)	2.375 (2.095~ 2.669)	3.707 (3.561~ 3.859)	3.235 (3.093~ 3.379)	2.913 (2.762~ 3.059)	2.827 (2.674~ 2.974)
Li ⁺	21.075 (18.900~ 23.586)	18.069 (16.212~ 20.181)	14.016 (12.414~ 15.757)	11.273 (9.693~ 12.917)	23.732 (21.248~ 26.681)	17.982 (16.228~ 19.988)	15.230 (13.657~ 16.973)	12.656 (11.179~ 14.225)
Al ³⁺	22.284 (21.197~ 23.511)	21.350 (20.327~ 22.481)	19.361 (18.395~ 20.368)	17.265 (16.266~ 17.265)	16.046 (15.578~ 16.588)	14.966 (14.581~ 15.394)	14.306 (13.942~ 14.693)	14.020 (13.657~ 14.398)
Co ²⁺	40.492 (37.561~ 43.871)	28.637 (26.471~ 30.893)	23.893 (21.637~ 26.113)	20.973 (18.581~ 23.243)	138.962 (124.849~ 154.358)	95.851 (85.304~ 107.271)	73.676 (63.928~ 83.908)	57.435 (47.573~ 67.388)

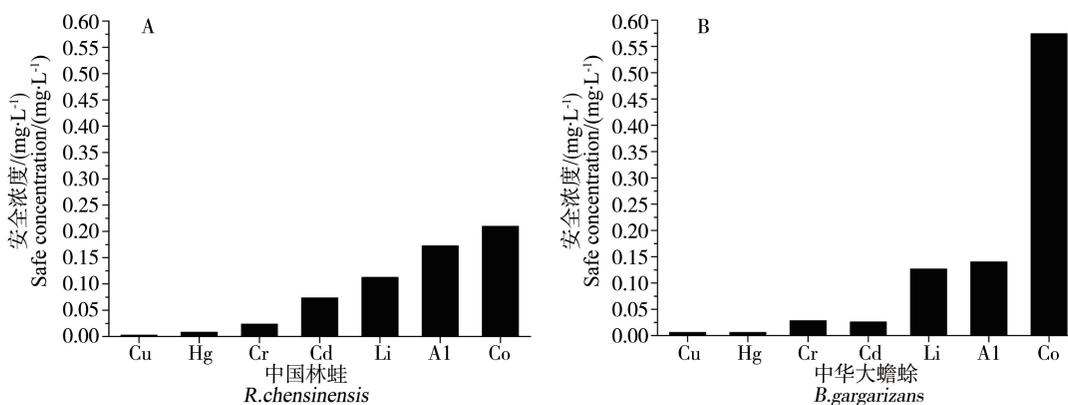


图 1 7 种金属离子对中国林蛙蝌蚪(A)和中华大蟾蜍蝌蚪(B)的安全浓度

Fig. 1 Safe concentration of 7 metal ions for *R. chensinensis* (A) and *B. gargarizans* (B) tadpoles

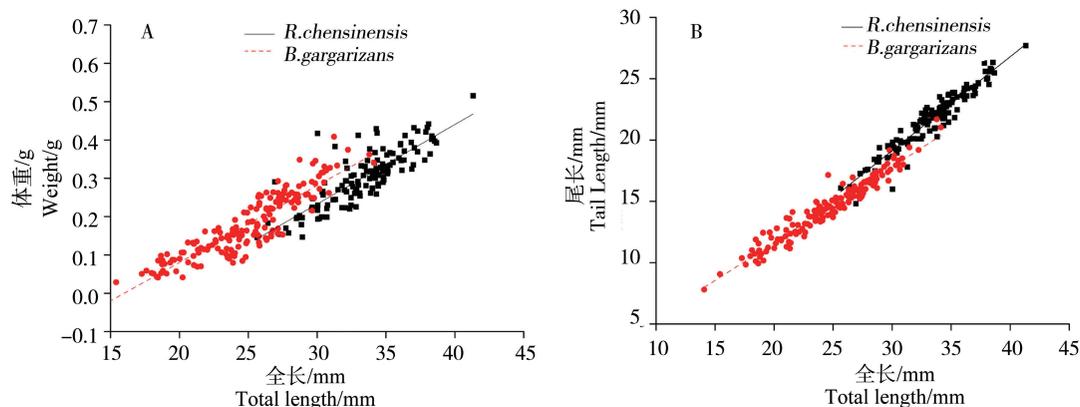


图2 中国林蛙和中华大蟾蜍蝌蚪体重全长(A)、尾长全长(B)散点图

Fig. 2 Distribution of weight in function of total length (A) and tail length in function of total length (B) of *R. chensinensis* and *B. gargarizans* tadpoles

性作用较中国林蛙蝌蚪大,而 Cu^{2+} 、 Li^{+} 和 Co^{2+} 对中国林蛙蝌蚪的毒性较中华大蟾蜍蝌蚪的毒性大。

2.3 中国林蛙和中华大蟾蜍蝌蚪的形态指标比较

由图2数据计算可知,中华大蟾蜍蝌蚪的肥满度为 0.8 ± 0.01 ,中国林蛙的肥满度为 0.7 ± 0.02 。与中华大蟾蜍蝌蚪相比,中国林蛙蝌蚪的尾长较长。图3显示,中国林蛙蝌蚪和中华大蟾蜍蝌蚪的肝指数分别是 3.6 ± 0.2 和 2.5 ± 0.1 ,中国林蛙蝌蚪的肝指数显著大于中华大蟾蜍蝌蚪的肝指数 ($P < 0.05$)。

3 讨论 (Discussion)

根据急性毒性试验所获得的 LC_{50} 可以有效地评估水体化学污染物对水生生物的毒性效应。本试

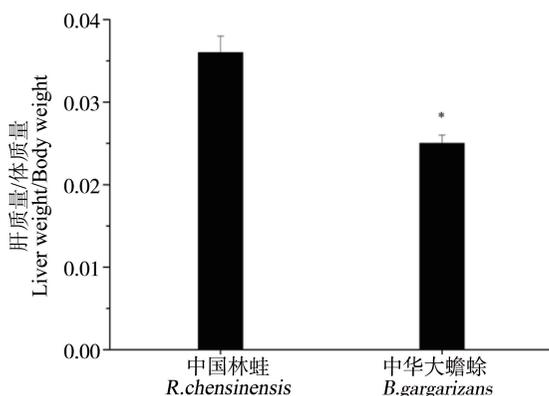


图3 中国林蛙和中华大蟾蜍蝌蚪的肝指数

* 表示二者之间有显著差异 ($P < 0.05$)

Fig. 3 Liver index of *R. chensinensis* and *B. gargarizans* tadpoles

Asterisk indicates statistically significant difference compared to *R. chensinensis* ($P < 0.05$)

验得出 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 等7种金属离子对中国林蛙和中华大蟾蜍蝌蚪的毒性大小均为: Cu^{2+} 和 Hg^{2+} 最大, Cr^{6+} 和 Cd^{2+} 次之, Li^{+} 、 Al^{3+} 和 Co^{2+} 相对较小,表明蝌蚪对不同金属离子的敏感性有差异。李春瑜^[20]等报道, Cu^{2+} 对海陆蛙蝌蚪的毒性大于 Cd^{2+} 。Sunita^[21]的研究表明, Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ni^{3+} 、 Cd^{2+} 四种金属离子中, Cu^{2+} 对紫贻贝胚胎的毒性最强, Cd^{2+} 最弱。Martin等^[22]研究表明, Hg^{2+} 和 Cu^{2+} 对贻贝胚胎的毒性最大,而 Cd^{2+} 和 Cr^{6+} 次之。相关资料显示, Cu^{2+} 进入细胞后与 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 等二价阳离子竞争与酶的结合部位,导致酶活性的改变,进而诱导一系列生化反应异常,引起代谢紊乱^[23-25]; Cr^{6+} 的毒性主要是通过其强氧化性和渗透生物膜的能力所引起^[26],而在两栖类体内 Cr^{6+} 可被转变为毒性较弱的 Cr^{3+} ^[27],分析认为,蝌蚪对不同金属离子敏感性的差异与不同类型金属离子在蝌蚪体内的代谢机制和毒性机理存在差异有关。

本研究结果表明, Cu^{2+} 对中国林蛙蝌蚪的 24 h、48 h、72 h、96 h- LC_{50} 分别为 $0.480 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.467 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.359 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.270 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。此外,试验结果表明, Cu^{2+} 和 Hg^{2+} 对中华大蟾蜍蝌蚪的毒性相同。上述结果与已有研究结果不完全一致,例如,石戈等^[28]报道, Cu^{2+} 对中国林蛙蝌蚪 24 h、48 h、72 h- LC_{50} 分别为 $0.131 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.105 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.038 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;王寿兵等^[29]的研究表明, Cu^{2+} 对中国林蛙蝌蚪的 24 h、48 h、72 h、96 h- LC_{50} 分别为 $8.13 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $7.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $6.38 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $3.80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。卢祥云等^[30]对中华大蟾蜍蝌蚪的急性毒性研究结果显示, Hg^{2+} 的毒性大于

Cu^{2+} 的毒性。根据已有研究^[31-36],这些差异性主要是由于蝌蚪所处发育阶段和暴露试验条件的不同所导致。

本文所测试的7种金属离子均对蝌蚪有一定的毒性,但中国林蛙和中华大蟾蜍蝌蚪对同一离子的敏感性存在差异。 Cu^{2+} 、 Cr^{6+} 、 Li^+ 和 Co^{6+} 对中华大蟾蜍蝌蚪的96 h- LC_{50} 分别是中国林蛙蝌蚪96 h- LC_{50} 的2.196、1.114、1.123、3.213倍,表明中国林蛙蝌蚪对上述4种金属离子的敏感性较中华大蟾蜍蝌蚪好。而 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 和 Al^{3+} 对中国林蛙蝌蚪的96 h- LC_{50} 分别是对中华大蟾蜍蝌蚪96 h- LC_{50} 的1.354、2.836和1.231倍。有研究表明, Hg^{2+} 易于透过皮肤和鳃渗入动物体内,累积并对机体造成损伤^[37]。而处于相同发育时期的中华大蟾蜍蝌蚪个体的肥满度高于中国林蛙蝌蚪的肥满度,提示其生理状况较好,代谢活跃,从而表现出对 Hg^{2+} 具有相对较高的敏感性。根据 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 和 Al^{3+} 的生理特性,可以认为中华大蟾蜍蝌蚪对 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 和 Al^{3+} 的敏感性较中国林蛙蝌蚪的好是由不同物种形态、代谢、遗传特征的差异引起它们对污染物胁迫敏感性的不同。 Cd^{2+} 进入机体后主要分布在肝脏,通过肝脏进行解毒代谢^[37],中国林蛙蝌蚪的肝指数较大,提示其解毒能力也就相对较强,这是中国林蛙蝌蚪对 Cd^{2+} 耐受性较强的原因之一。此外,中国林蛙蝌蚪尾长全长比高于比中华大蟾蜍蝌蚪长的尾长全长比,提示二者的游动速度也有所差异,最终将表现出体内能量物质存储等方面的差异性,这些差异都是造成二者对同一金属离子敏感度不同的原因。当然,最终机制的确定需要进行生理代谢和遗传等方面的深入研究。

通讯作者简介:王宏元(1974-),男,博士,讲师,主要从事发育生物学和生态毒理学方面的研究工作。

参考文献(References):

- [1] 彭玉龙,王永敏,覃蔡清,等.重庆主城区降水中重金属的分布特征及其沉降量[J].环境科学,2014,35(7):2490-2496
Peng Y L, Wang Y M, Qin C Q, et al. Concentrations and deposition fluxes of heavy metals in precipitation in core urban areas, Chongqing [J]. Environment Science, 2014, 35(7): 2490-2496 (in Chinese)
- [2] Toppi L S, Gabbriellini R. Response to cadmium in higher plants [J]. Environmental and Experimental Botany, 1999, 41(2): 105-130
- [3] 黄益宗,郝晓伟,雷鸣,等.重金属污染土壤修复技术及其修复实践[J].农业环境科报,2013,32(3):409-417
Huang Y Z, Hao X W, Lei M, et al. The remediation technology and remediation practice of heavy metals contaminated soil [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2013, 32(3): 409-417 (in Chinese)
- [4] Chen T H, Gross J A, Karasov W H. Adverse effects of chronic copper exposure in larval northern leopard frogs (*RANA PIPIENS*) [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2007, 26(7): 1470-1475
- [5] Lv Y T. Effect of zinc on the growth and development of larvae of bay scallop *argopecten irradians* [J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 1988, 7(4): 318-326
- [6] Ramachandran S, Patel T R, Colbo M H. Effect of copper and cadmium on three Malaysian tropical estuarine invertebrate larvae [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 1997, 36(2): 183-188
- [7] Ricardo B, Edouard H, Matthias N L. Seaman. Effects of storage temperature and duration on toxicity of sediments assessed by the *Crassostrea gigas* oyster embryo bioassay [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 1998, 17(10): 2100-2105
- [8] 柴丽红,王宏元,吴民耀,等.氟对不同发育时期中华大蟾蜍蝌蚪的急性毒性研究[J].安全与环境学报,2013,13(4):5-9
Chai L H, Wang H Y, Wu M Y, et al. On the acute toxicity of fluoride to the larvae of *Bufo gargarizans* at different developmental stages [J]. Journal of Safety and Environment, 2013, 13(4): 5-9 (in Chinese)
- [9] Kerby J L, Richards-Hrdlicka K L, Storf A, et al. An examination of amphibian sensitivity to environmental contaminants: are amphibians poor canaries [J]. Ecology Letters, 2010, 13(1): 60-67
- [10] Hopkins W A. Amphibians as models for studying environmental change [J]. ILAR Journal, 2007, 48(3): 270-277
- [11] 秦晓飞,秦占芬,徐晓白.前哨动物在环境污染物人体健康风险评估中的应用[J].生态毒理学报,2007,2(4):476-480
Qin X F, Qin Z F, Xu X B. Application of sentinel animals to human health risk assessment of environmental contaminants [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2007, 2(4): 270-277 (in Chinese)
- [12] Gosner K L. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification [J]. Herpetologica, 1960, 16(3): 183-190
- [13] Sarah S, Bina Perl R G, Anna R, et al. Larval morphology

- and development of the Malagasy frog *Mantidactylus betsileanus* [J]. *Salamandra*, 2013, 49(4): 186–200
- [14] 廉静, 李丕鹏, 陆宇燕, 等. 辽宁产中华大蟾蜍和花背蟾蜍蝌蚪形态特征的比较和分析[J]. *四川动物*, 2009, 28(4): 499–504
- Lian J, Li P P, Lu Y Y, et al. Comparison and analysis of tadpoles between *Bufo gargarizans* and *B. raddei* from Liaoning [J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2009, 28(4): 499–504 (in Chinese)
- [15] Saka M. Examination of an amphibian-based assay using the larvae of *Xenopus laevis* and *Ambystoma mexicanum* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2003, 55(1): 38–45
- [16] 刘静, 柴丽红, 吴民耀, 等. 中华蟾蜍蝌蚪变态过程中甲状腺的组织学变化[J]. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2012, 40(3): 7–12
- Liu J, Chai L H, Wu M Y, et al. Changes of thyroid gland histological structures during the metamorphosis of *Bufo gargarizans* tadpole [J]. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 2012, 40(3): 7–12 (in Chinese)
- [17] McGrath P, Seng W L, Willett C. et al. Determination of LD₅₀ and assessment of drug induced developmental toxicity in zebrafish [J]. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 2008, 58(2): 150–150
- [18] Han S S, Chow W K. Calculating FED and LC₅₀ for testing toxicity of materials in bench-scale tests with a cone calorimeter [J]. *Polymer Testing*, 2005, 24(7): 920–924
- [19] 周永欣, 章宗涉. 水生生物毒性试验方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1989
- Zhou Y X, Zhang Z S. *Methods of Toxicity Test to Aquatic Organisms* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1989 (in Chinese)
- [20] 李春瑜. 重金属铜、镉对海陆蛙蝌蚪毒性作用的初步研究[D]. 海南师范大学, 2013
- Li C Y. Preliminary study on toxicity of copper and cadmium on *Fejervaya cancrivora* tadpoles [D]. Hai Nan Normal University, 2013 (in Chinese)
- [21] Sunita R N, John L, Fitzpatrick N F, et al. Toxicity of dissolved Cu, Zn, Ni and Cd to developing embryos of the blue mussel (*Mytilus trossolus*) and the protective effect of dissolved organic carbon [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2009, 149(3): 340–348
- [22] Martin M, Osborn K E, Billig P, et al. Toxicities of ten metals to *Crassostrea gigas* and *Mytilus edulis* embryos and Cancer magister larvae [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 1981, 12(9): 305–308
- [23] 王爱国, 陈学敏, 鲁文清, 等. 低硒高镉对大鼠组织中谷胱甘肽过氧化物酶活性影响的动态观察[J]. *中国地方病学杂志*, 1995, 14(6): 337–340
- Wang A G, Chen X M, Lu W Q, et al. Dynamic observation of effect of low-dose selenium and high-dose cadmium on activity of Glutathione Peroxiase in rat tissues [J]. *Chinese Journal of Endemiology*, 1995, 14(6): 337–340 (in Chinese)
- [24] Vogiatzis A K, Loumbourdis N S. A study of glycogen, lactate, total fats, protein, and glucose concentration in the liver of the frog *Rana ridibunda*, after exposure to cadmium for 30 days [J]. *Environmental Pollution*, 1999, 104(3): 335–340
- [25] Papadimitriou E, Loumbourdis N S. Exposure of the frog *Rana ridibunda* to copper: Impact on two biomarkers, lipid peroxidation and glutathione [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2002, 69(6): 885–891
- [26] Roy J I. Environmental contaminants encyclopedia chromium (in general) entry [EB/OL]. National park service (1997-07-01) [1998-03-01]. <http://www.nature.nps.gov/hazardssafety/toxic/index.cfm>
- [27] Khangarot B. S, Ray P. K. Sensitivity of toad tadpoles, *Bufo melanostictus* (Schneider) to heavy metals [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1987, 38(3): 523–527
- [28] 石戈, 王健鑫, 武佳, 等. Cu²⁺ 和 Cr⁶⁺ 对中国林蛙蝌蚪的急性毒性[J]. *东北师大学报(自然科学版)*, 2007, 39(2): 116–121
- Shi G, Wang J X, Wu J, et al. Acute toxicity of Cu²⁺ and Cr⁶⁺ to *Rana chensinensis* tadpoles [J]. *Journal of Northeast Normal University (Natural Science Edition)*, 2007, 39(2): 116–121 (in Chinese)
- [29] 王寿兵, 郭锐, 屈云芳, 等. Cu 对中国林蛙蝌蚪的急性毒性[J]. *应用生态学报*, 1998, 9(3): 309–312
- Wang S B, Guo R, Qu Y F, et al. Acute toxicity of Cu²⁺ to *Rana chensinensis* tadpole [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1998, 9(3): 309–312
- [30] 卢祥云, 张燕萍, 吴海东, 等. 汞离子和铜离子对中华大蟾蜍蝌蚪联合毒性研究[J]. *四川动物*, 2006, 25(2): 379–381
- Lu X Y, Zhang Y P, Wu H D, et al. Study on joint toxicity of mercury ion and copper ion to *Bufo gargarizans* tadpole [J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2006, 25(2): 379–381 (in Chinese)
- [31] Li X Y, Xiao N, Zhang, Y H. Toxic effects of octylphenol on the expression of genes in liver identified by suppression subtractive hybridization of *Rana chensinensis* [J]. *Ecotoxicology*, 2014, 23(1): 1–10

- [32] Formicki G, Stawarz R, Lukac N, et al. Combined effects of cadmium and ultraviolet radiation on mortality and mineral content in common frog (*Rana temporaria*) larvae [J]. Journal of Environmental Science and Health. Part A: Toxic/Hazardous substances & Environmental Engineering, 2008, 43(10): 1174—1183
- [33] 马瑜, 李勃, 张育辉. 敌百虫对中国林蛙蝌蚪生长发育的毒性效应[J]. 生态毒理学报, 2014, 9(3): 531—537
- Ma Y, Li B, Zhang Y H. Toxicity effect of trichlorfon on the growth and development of tadpoles *Rana chensinensis* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, 9(3): 531—537 (in Chinese)
- [34] Ken O, Osamu T, Akihiko K, et al. Metal ion—responsive transgenic *Xenopus laevis* as an environmental monitoring animal [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2003, 13(3): 153—161
- [35] Marcantonio A S, Tavares R M J, Franca F M, et al. Toxicity of zinc sulphate for tadpoles of bullfrogs (*Lithobates catesbeianus*): acute toxicity, chronic toxicity and hematological parameters [J]. Boletim do Instituto de Pesca, 2011, 37(2): 143—154
- [36] 李勃, 王维君, 李忻怡, 等. 铬对中国林蛙蝌蚪生长发育的毒性效应[J]. 生态学杂志, 2013, 32(3): 648—654
- Li B, Wang W J, Li X Y, et al. Toxic effect of Chromium on the growth and development of *Rana Chensinensis* tadpoles [J]. Chinese Journal of Ecology, 2013, 32(3): 648—654 (in Chinese)
- [37] Phillip L W, Robert C J, Stephen M R, et al. Principles of Toxicology [M]. The United States of America: A Wiley—Interscience Publication, 2000: 325—343 ◆