

DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20190730003

姚凯, 牛晓娟, 王徐, 等. 镉暴露对中华大蟾蜍蝌蚪生长发育的影响及其遗传毒性[J]. 生态毒理学报, 2020, 15(4): 233-239

Yao K, Niu X J, Wang X, et al. Growth and genotoxicity effects induced by strontium exposure in tadpoles of *B. gargarizans* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2020, 15(4): 233-239 (in Chinese)

## 镉暴露对中华大蟾蜍蝌蚪生长发育的影响及其遗传毒性

姚凯\*, 牛晓娟, 王徐, 李彩云

贵州师范大学生命科学学院, 贵阳 550025

收稿日期: 2019-07-30 录用日期: 2019-10-16

**摘要:** 为探究镉(Sr)对两栖动物的毒性效应,研究了不同浓度(0, 0.2, 2 和 20 mmol·L<sup>-1</sup>) SrCl<sub>2</sub> 处理对中华大蟾蜍蝌蚪生长发育及遗传毒性的影响。结果表明, 0.2 mmol·L<sup>-1</sup> Sr<sup>2+</sup> 对肝细胞谷胱甘肽 S 转移酶(GST)和过氧化氢酶(CAT)活性及金属硫蛋白(MT)含量没有显著影响。MT 含量在 2 mmol·L<sup>-1</sup> 处理组最高, 在 20 mmol·L<sup>-1</sup> 处理组低于对照组。这表明, Sr<sup>2+</sup> 处理能诱导机体合成 MT 量的增加, 但长时间高浓度处理会导致机体合成 MT 能力的损害。GST 和 CAT 活性随着 Sr<sup>2+</sup> 暴露浓度上升而提高, 表明环境中高浓度 Sr<sup>2+</sup> 可引起蝌蚪的氧化应激反应。低浓度的 Sr<sup>2+</sup> 处理对中华大蟾蜍蝌蚪不产生明显的遗传毒性, 并且对生长发育有一定的促进作用; 高浓度的 Sr<sup>2+</sup> 处理下, 蝌蚪红细胞 DNA 的损伤程度显著增加, 蝌蚪的生长发育受到显著抑制。

**关键词:** 镉; 中华大蟾蜍; 蝌蚪; 遗传毒性; 生理毒性; 发育

文章编号: 1673-5897(2020)4-233-07 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

## Growth and Genotoxicity Effects Induced by Strontium Exposure in Tadpoles of *B. gargarizans*

Yao Kai\*, Niu Xiaojuan, Wang Xu, Li Caiyun

School of Life Sciences, Guizhou Normal University, Guiyang 550025, China

Received 30 July 2019 accepted 16 October 2019

**Abstract:** The toxic effect of strontium (Sr) on tadpole of *B. gargarizans* was investigated at three concentrations of SrCl<sub>2</sub>, i.e., 0.2, 2 and 20 mmol·L<sup>-1</sup>, respectively. Results show that low concentration of Sr<sup>2+</sup> (0.2 mmol·L<sup>-1</sup>) does not produce significant effect on activities of glutathione S-transferase (GST) and catalase (CAT) enzymes and content of metallothionein (MT). The highest content of MT in hepatocytes was found in 2 mmol·L<sup>-1</sup> Sr<sup>2+</sup> treatment, while the content of MT in 20 mmol·L<sup>-1</sup> Sr<sup>2+</sup> treatment group was lower than that in the control. These results suggest that Sr<sup>2+</sup> treatment could induce the synthesis of MT *in vivo*, but the synthesis of MT of tadpoles could be damaged by prolonged and high concentration of Sr<sup>2+</sup> treatment. The increasing activities of GST and CAT enzymes with Sr<sup>2+</sup> concentration suggest that high concentration of Sr<sup>2+</sup> in the environment could induce oxidative stress in tadpoles. Low Sr<sup>2+</sup> concentration did not cause obvious genotoxicity to tadpoles. However, the growth and development of tadpoles increase under low Sr<sup>2+</sup> concentration. The DNA damage of tadpoles increased and the growth and development of tadpoles were significantly inhibited under high Sr<sup>2+</sup> concentration.

基金项目: 贵州省社会发展攻关项目(黔科合 SY 字[2012]3056)

第一作者: 姚凯(1980—), 男, 博士, 研究方向为环境科学, E-mail: sc.catcher@hotmail.com

\* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: sc.catcher@hotmail.com

**Keywords:** strontium; *B. gargarizans*; tadpoles; genotoxicity; physiological toxicity; development

锶(Sr)与钙同为碱土金属元素,具有相似的物理化学性质,在一些代谢过程中锶能够替代钙的功能<sup>[1-3]</sup>。贵州省温泉出水锶含量为 0.2 ~ 20.9 mg · L<sup>-1</sup>,呈正态分布,其中,约 57% 的温泉出水锶含量在 1 ~ 5 mg · L<sup>-1</sup> 的范围内,主要以氯化物的形式存在。贵州温泉平均锶含量是贵州地表水平均锶含量的 7.5 倍,是世界淡水平均锶含量的 47 倍<sup>[4]</sup>。近年贵州省温泉业的兴起对地方经济做出贡献,但同时也对环境安全造成潜在的威胁。温泉业除带来大量生活污水外,温泉水还把较高浓度的锶元素搬运到地表并积累,对动植物都具有一定的影响。两栖动物是联系水生和陆生环境的特殊物种,其幼体鳃和皮肤薄且渗透性强,对水质变化极为敏感<sup>[5]</sup>,是水体环境监测的重要的指示生物<sup>[6]</sup>。中华大蟾蜍(*B. gargarizans*)是我国的广布种,在不同海拔生境中均大量出现。研究表明,中华大蟾蜍的胚胎和幼体对水体中的铜、铝、汞和镉等金属污染物比较敏感<sup>[7-9]</sup>,因此,可作为进行生态毒理学研究及水体环境评价的理想物种。对中华大蟾蜍蝌蚪在不同浓度 Sr<sup>2+</sup> 处理下,其遗传和生化相关指标及生长发育的变化情况进行了研究,旨在探讨 Sr<sup>2+</sup> 对中华大蟾蜍蝌蚪的毒性效应,为评估温泉开发对水生动物影响及水体环境监测提供参考依据。

## 1 材料与方法 (Materials and methods)

### 1.1 材料

实验用中华大蟾蜍蝌蚪于 2019 年 4 月下旬采集于贵阳市渔洞峡,根据 Gosner<sup>[10]</sup> 的蝌蚪发育分期标准,采集处于发展第 36 期的蝌蚪。选择这个阶段是因为 36 期是蝌蚪后肢外化的开始,而个体脚趾的出现发生在蝌蚪发育的第 37 期。因此,这个发育阶段是蛙类从水生生物向陆生生物转变的重要阶段。采集的蝌蚪被置于约 20 L 的水箱中培养,培养水体为曝气自来水与河水的混合体,培养温度为 18 °C,每 3 天更换一次水。使用鸡蛋黄做为饲料进行喂养。培养 2 d 后,选择大小相近和活动力强者用于试验。试验设置对照组和 3 个处理组,即在培养水体中分别添加 0、0.2、2 和 20 mmol · L<sup>-1</sup> 的 SrCl<sub>2</sub>, 每组 5 个平行,每个平行中放置 30 只蝌蚪。处理 30 d 后,对蝌蚪的生长发育指标、遗传和生化指标进行测定。

### 1.2 生长发育指标分析

根据 Veronez 等<sup>[11]</sup> 的方法并略做修改进行蝌蚪的形态学分析。用游标卡尺测量蝌蚪的体长、尾长和总长度,并称量蝌蚪的体重;记录腿的发生和异常情况。最后,根据 Gosner<sup>[10]</sup> 提供的简化表,对试验中的蝌蚪发育阶段进行评估。

### 1.3 彗星试验

形态试验结束后,用 1 ml · L<sup>-1</sup> 的利多卡因麻醉蝌蚪。用肝素化的注射器穿刺尾静脉采集血样,用于彗星试验。血液样本在 RPMI 1640 培养基中稀释至 1 : 120 (V/V), 并立即使用。试验根据 Veronez 等<sup>[11]</sup> 的方法进行,在 100 倍光学显微镜下随机分析每个重复中的 100 个细胞,以观测彗星尾部的长度。根据 DNA 从细胞核迁移的程度,采用视觉分类法对 100 个细胞进行分析。将处理后的细胞分为 5 个伤害等级:0 为无损伤,1 为低损伤(尾长小于核),2 为中等损伤(尾长在 1 倍到 2 倍核直径之间),3 为严重损伤(尾长大于核直径 2 倍)和 4 为细胞凋亡<sup>[12]</sup>。根据观测结果计算蝌蚪的 DNA 损伤指数(DI),即用每个损伤类别观察到的细胞核数量乘以其各自损伤类别(0 ~ 4) 的 值 之 和, 结 果 以 每 个 实 验 组 的 平 均 DNA 损伤指数表示。

### 1.4 谷胱甘肽 S 转移酶(GST)、过氧化氢酶(CAT)活性和金属硫蛋白(MT)含量测定

采集血液后,将蝌蚪杀死并取出肝脏进行酶活性及蛋白含量分析。肝脏在磷酸盐缓冲溶液(pH 7.0)中冰浴研磨为匀浆后,在 18 000 r · min<sup>-1</sup> 下离心 30 min,获得的上清液用于酶活性和蛋白浓度分析。GST(EC 2.5.1.18)的活性使用含有 1 mmol · L<sup>-1</sup> 的 1-氯-2,4-二硝基苯(CDNB)和 1 mmol · L<sup>-1</sup> 的谷胱甘肽(GSH)的磷酸盐缓冲溶液(pH 7.0)作为反应混合物测定,在 412 nm 下测定 OD 值以计算酶活性。CAT (EC 1.11.1.6)活性通过测定 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度的下降来计算,在反应缓冲液中含有 10 mmol · L<sup>-1</sup> 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、1 mmol · L<sup>-1</sup> Tris-HCl 和 5 mmol · L<sup>-1</sup> EDTA,在 405 nm 处测定 OD 值的变化以计算酶活性。MT 含量测定采用镉血红蛋白饱和法<sup>[13]</sup>。按照每分子 MT 结合 6 个镉(Cd)原子换算成 MT 的含量。MT 含量计算公式为:MT(μmol · g<sup>-1</sup>) = Cd(μg · g<sup>-1</sup>) / 112.4/6。

### 1.5 数据分析

用 Excel 和 SPSS 15.0 (IBM, Chicago, USA) 软件

进行数据处理与分析,数据以平均值±SD 的形式表现,组间差异进行显著性 *t* 检验,以  $P<0.05$  作为显著性依据。文中所有的插图均用 Origin 9.0 (Origin-Lab, Hampton, USA)绘制。

**2 结果 (Results)**

**2.1  $Sr^{2+}$  处理对中华大蟾蜍蝌蚪生长发育的影响**

由表 1 可知,经过 30 d 处理后,对照组有 77.6% 的蝌蚪发育到 42 ~ 46 阶段。而在  $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $Sr^{2+}$  处理组,进入 42 ~ 46 阶段的蝌蚪占总数的 88.7%,并且有 41.6% 的蝌蚪进入到发育的 46 阶段,后腿完全发育和尾部完全被吸收,即变态发育过程完全结束。 $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $Sr^{2+}$  处理组的蝌蚪,与对照组相比,表现出发育迟滞的现象,分别只有 59.9% 和 48.5% 的蝌蚪进入到 42 ~ 46 阶段。

经过 30 d 处理后,每处理组 5 个平行各随机选取 5 只蝌蚪测量生长指标。结果表明(表 2), $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $Sr^{2+}$  处理组和对照组蝌蚪长度和体重并没有明显的区别。但是, $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $Sr^{2+}$  处理组的蝌蚪的生长受到了显著的抑制,长度和体重都要低于对照组,且处理浓度越高,蝌蚪生长受抑制的现象越明显。

**2.2  $Sr^{2+}$  处理对中华大蟾蜍蝌蚪红细胞 DNA 损伤的影响**

经过 30 d 处理后,每处理组 5 个平行各随机选取 7 只蝌蚪进行 DNA 损伤等级检测。由表 3 可知,随着  $Sr^{2+}$  处理浓度的上升,处于高 DNA 损伤等级的

**表 1 不同浓度  $Sr^{2+}$  处理 30 d 后中华大蟾蜍蝌蚪的发育状况 (%)**

Table 1 Frequency of developmental stages in *B. gargarizans* tadpoles under different concentrations of  $Sr^{2+}$  treatments for 30 d (%)

阶段 Stage	$Sr^{2+}$ 处理 Sr <sup>2+</sup> treatment			
	0	$0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$
38	0	0	0	4.7
39	0	0	10.7	12.4
40	8.3	6.1	14.2	14.3
41	14.1	5.2	15.2	20.1
42	0	3.2	9.6	11.8
43	15.1	7.9	11.0	15.6
44	18.2	17.3	0	10.5
45	18.5	18.7	12.1	0
46	35.8	41.6	27.2	10.6

**表 2 不同浓度  $Sr^{2+}$  处理 30 d 后中华大蟾蜍蝌蚪的生长指标**

Table 2 Biometrical data of *B. gargarizans* tadpoles under different concentrations of  $Sr^{2+}$  treatments for 30 d

处理 Treatment	长度/mm Length/mm			鲜重/g Wet weight/g
	总长 Total	体长 Body	尾长 Tail	
0	$26.2 \pm 0.3^a$	$10.1 \pm 0.4^a$	$16.1 \pm 0.6^a$	$0.21 \pm 0.03^{ab}$
$0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$25.7 \pm 0.3^a$	$9.3 \pm 0.2^b$	$16.4 \pm 0.2^a$	$0.24 \pm 0.02^a$
$2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$22.6 \pm 0.5^b$	$8.1 \pm 0.2^c$	$14.5 \pm 0.5^{ab}$	$0.19 \pm 0.02^{bc}$
$20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$19.3 \pm 0.8^c$	$6.5 \pm 0.5^d$	$12.8 \pm 0.7^b$	$0.12 \pm 0.03^c$

注:上标不同小写字母的数值表示同一测试时间不同处理组间差异显著( $P<0.05$ ),余同。

Note: The values of different lowercase letters in the superscript indicate that the differences between the groups are significant at the same test time ( $P<0.05$ ); the same below.

**表 3 不同浓度  $Sr^{2+}$  处理 30 d 后中华大蟾蜍蝌蚪的红细胞 DNA 损伤等级 (%)**

Table 3 Classes of DNA damage in erythrocytes of *B. gargarizans* tadpoles under different concentrations of  $Sr^{2+}$  treatments for 30 d (%)

处理 Treatment	DNA 损伤等级 DNA damage class				
	0	1	2	3	4
0	$85.3^a$	$7.6^c$	$7.1^b$	$0^b$	$0^b$
$0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$84.8^a$	$5.9^c$	$9.3^b$	$0^b$	$0^b$
$2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$75.1^{ab}$	$18.2^b$	$6.5^b$	$0^b$	$0.2^b$
$20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$47.6^b$	$27.7^a$	$17.8^a$	$4.8^a$	$2.1^a$

红细胞数目上升,在  $20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{Sr}^{2+}$  处理组的蝌蚪分别有 4.8% 的红细胞 DNA 达到第 3 伤害等级,有 2.1% 的红细胞 DNA 达到第 4 伤害等级,而在其他 3 个组几乎没有蝌蚪的红细胞 DNA 达到第 3 和第 4 伤害等级。由图 1 所示,  $0.2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{Sr}^{2+}$  处理组和对照组蝌蚪红细胞的 DNA 损伤指数没有显著差异。但是,  $2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{Sr}^{2+}$  处理组的蝌蚪,与对照组相比 DI 指数显著上升,且处理浓度越高,DI 指数越高。

### 2.3 $\text{Sr}^{2+}$ 处理对中华大蟾蜍蝌蚪 GST、CAT 活性和 MT 含量的影响

蝌蚪肝脏内的 GST 和 CAT 活性在  $\text{Sr}^{2+}$  处理下表现出相似的变化规律(图 2),即  $0.2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{Sr}^{2+}$  处理组和对照组没有显著差异,但是在  $2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{Sr}^{2+}$  处理组的 GST 和 CAT 的活性均显著上升。在  $0.2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  处理组, GST 和 CAT 的活性分别是对照组的 0.98 倍和 1.01 倍;在  $2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  处理组, GST 和 CAT 的活性分别是对照组的 1.49 倍和 1.13 倍;在  $20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  处理组, GST 和 CAT 的活性分别是对照组的 3.90 倍和 1.74 倍。

如图 3 所示,处理 30 d 后,对照组蝌蚪的 MT 含量为  $4.26 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ,  $0.2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{Sr}^{2+}$  处理组的 MT 含量为对照组的 1.03 倍,与对照组没有显著差异;  $2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{Sr}^{2+}$  处理组的 MT 含量为对照组的 1.55 倍,较对照组显著上升;  $20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{Sr}^{2+}$  处理组的 MT 含量为对照组的 0.74 倍,较对照组显著下降。

### 3 讨论 (Discussion)

两栖动物是动物从水生向陆生的过渡类群,在脊椎动物演化过程中占据着特殊的地位。两栖动物的胚胎和幼体发育都在水体中完成,水体中的污染物会对它们的发育和变态产生直接影响<sup>[7]</sup>。通过试验发现,不同浓度的镉暴露会对中华大蟾蜍蝌蚪的生长发育产生不同的效应。较高浓度的镉暴露会对蝌蚪肝脏产生毒性效应,并抑制其发育和生长。其可能的作用过程如图 4 所示。

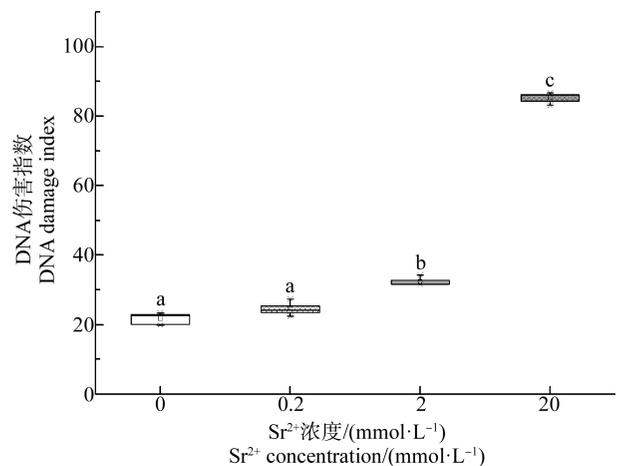


图 1 不同浓度  $\text{Sr}^{2+}$  处理 30 d 后中华大蟾蜍蝌蚪的红细胞 DNA 损伤指数

Fig. 1 Index of DNA damage in erythrocytes of *B. gargarizans* tadpoles under different concentrations of  $\text{Sr}^{2+}$  treatments for 30 d

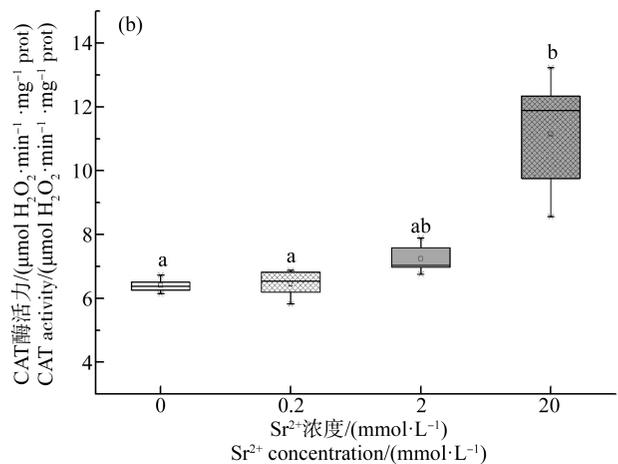
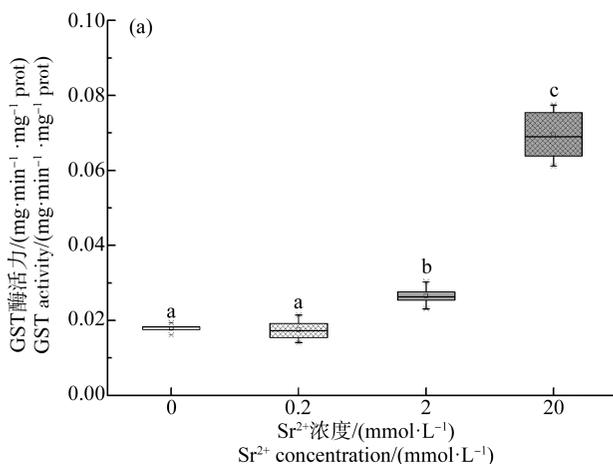


图 2 不同浓度  $\text{Sr}^{2+}$  处理 30 d 后中华大蟾蜍蝌蚪肝脏的谷胱甘肽 S 转移酶 (GST) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性

Fig. 2 The glutathione S-transferase (GST) and catalase (CAT) activity in liver of *B. gargarizans* tadpoles under different concentrations of  $\text{Sr}^{2+}$  treatments for 30 d

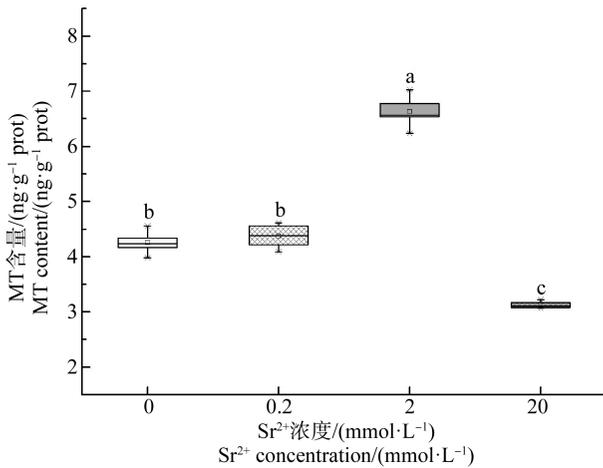


图 3 不同浓度 Sr<sup>2+</sup> 处理 30 d 后中华大蟾蜍蝌蚪肝脏的金属硫蛋白 (MT) 含量

Fig. 3 The metallothionein (MT) content in liver of *B. gargarizans* tadpoles under different concentrations of Sr<sup>2+</sup> treatments for 30 d

肝脏是维持动物体内重金属稳态的重要器官, 在能量和蛋白代谢方面也有重要作用。而肝脏发生的代谢紊乱会导致两栖动物变态过程的延迟<sup>[14]</sup>。低浓度的 Sr<sup>2+</sup> 暴露条件下, 中华大蟾蜍肝脏内的 GST 活性、MT 含量和 CAT 活性较对照组并没有显著变化, 这表明低浓度 Sr<sup>2+</sup> 暴露并没有引起蝌蚪机体的毒性反应。在此条件下, 蝌蚪红细胞 DNA 的损伤情况与对照组相比也没有显著差异。另一方面, 蝌蚪的发育和生长指标显示, 低浓度的 Sr<sup>2+</sup> 处理对蝌蚪的发育有一定的促进作用, 这可能是因为低浓度的 Sr<sup>2+</sup> 可以促进动物细胞的生长和分裂所致。刘存岐等<sup>[15]</sup>研究发现, 低浓度的 Sr<sup>2+</sup> 促进了中国对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 糠虾的成活与变态。

中等浓度 Sr<sup>2+</sup> 暴露条件下, 蝌蚪体内 GST 活性和 MT 含量显著上升, 这表明 2 mmol·L<sup>-1</sup> Sr<sup>2+</sup> 暴露能够引起蝌蚪机体明显的毒性反应。Van der Oost 等<sup>[16]</sup>对鱼类的研究和 Veronez 等<sup>[11]</sup>对牛蛙蝌蚪的研

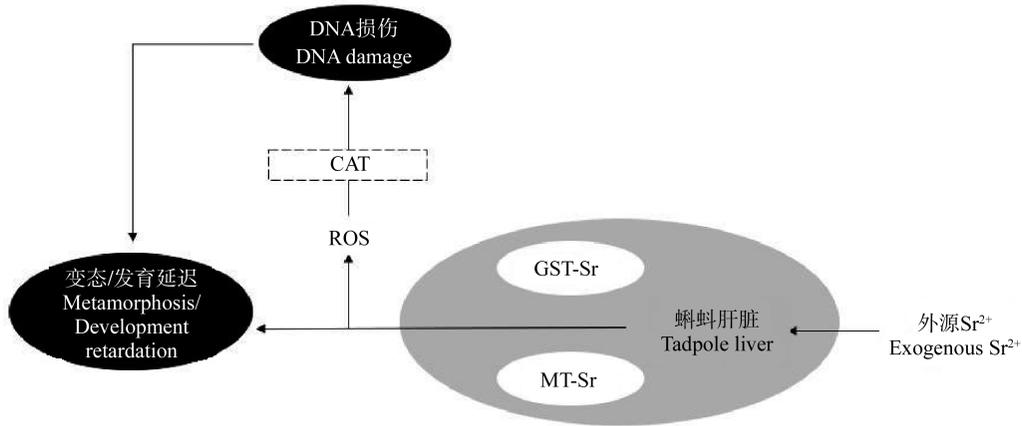


图 4 外源 Sr<sup>2+</sup> 在蝌蚪体内的作用途径

注: ROS 表示活性氧。

Fig. 4 The action pathway of exogenous Sr<sup>2+</sup> in *B. gargarizans* tadpole

Note: ROS stands for reactive oxygen species.

究也有类似的结果。在动物肝脏内, GST 能够对各种外源毒害物质起到解毒和中和作用, 使其更容易溶于水分并排出体外, 是动物体内重要的防御物质<sup>[17]</sup>。MT 在动物受到金属胁迫时在肝脏中合成, 并且与金属胁迫存在一定的时间、剂量-效应关系。MT 作为机体中毒后诱导产生的解毒蛋白, 可以在细胞内与金属结合, 降低毒害金属与其他细胞组织的亲和能力, 从而起到解毒的作用。动物体的 MT 含量已被作为水环境监测中重金属胁迫的重要生态毒理学指标<sup>[18-19]</sup>。此外, 蝌蚪体内 CAT 活性也有较为显著的上升, 这表明 GST 和 MT 的作用并不能完

全消除中等浓度 Sr<sup>2+</sup> 暴露产生的毒害作用, 中等浓度 Sr<sup>2+</sup> 暴露在动物体内引起了氧化应激反应, 产生了过量的活性氧 (ROS)。已有研究表明, 金属毒性与细胞的氧化胁迫密切相关, 可导致有机体脂质过氧化水平上升<sup>[20-22]</sup>。CAT 是参与抗氧化防御系统的重要酶, 其作用是去除胁迫过程中产生的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 将其代谢为 O<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>O<sup>[23]</sup>。CAT 等活性氧清除酶活性的增加, 能保护动植物细胞在逆境中细胞膜和遗传物质不受 ROS 的破坏。不过彗星分析的结果表明, 在中等浓度的 Sr<sup>2+</sup> 暴露条件下, 蝌蚪红细胞 DNA 的损伤程度并不严重。但是, 蝌蚪的发育和生

长还是受到了显著的抑制,这可能与  $\text{Sr}^{2+}$  能够影响动物体内多种生理过程有关。有研究表明,  $\text{Sr}^{2+}$  能够在动物体内与  $\text{Ca}^{2+}$  发生竞争作用,抑制钙的吸收<sup>[3]</sup>和钙依赖性酶的活性<sup>[24-25]</sup>,从而使蝌蚪的发育迟滞。外界条件对蝌蚪变态发育的影响会对蝌蚪种群的稳定造成严重的后果,变态是无尾两栖动物生活史的一个重要环节,变态率的高低直接影响着陆生成体蛙的数量<sup>[26]</sup>。环境中高浓度的锶有可能导致两栖动物变态发育过程的延长,使其体型减小且运动能力减弱,更容易受到捕食,从而可能成为导致种群数量下降的重要原因。

高浓度  $\text{Sr}^{2+}$  暴露条件下,中华大蟾蜍肝脏中的 GST 活性显著增加。在  $\text{Sr}^{2+}$  处理下, CAT 也表现出与 GST 相似的反应规律。然而 MT 含量甚至要低于对照组,这是因为在较高浓度  $\text{Sr}^{2+}$  长时间处理下,蝌蚪机体整体代谢机能下降,从而使 MT 合成能力减弱。GST、CAT 和 MT 变化的差异,也表明动物体应对金属毒性时,酶活性调控和保护蛋白合成方面有着不同变化规律。从彗星试验的结果看,高浓度的  $\text{Sr}^{2+}$  暴露诱导中华大蟾蜍蝌蚪红细胞 DNA 损伤的加剧。Zocche 等<sup>[27]</sup>在煤矿区对史密斯树蛙(*Hypsiboas faber*)蝌蚪红细胞 DNA 损伤的研究也有相似的结果。这表明,金属对蝌蚪细胞 DNA 的损伤作用可能是一种普遍的现象。而且,随着  $\text{Sr}^{2+}$  处理浓度的升高,红细胞 DNA 的损伤水平也上升,这说明,随着有机体吸收和富集  $\text{Sr}^{2+}$  的增加,对细胞 DNA 的危害也越大。这也说明, GST、CAT 和 MT 等对金属毒害的保护作用有一定的限度。在此条件下,中华大蟾蜍蝌蚪的生长和发育也受到了强烈的抑制。

综上所述,低浓度的  $\text{Sr}^{2+}$  能在一定程度上促进中华大蟾蜍蝌蚪的发育,但是较高浓度的  $\text{Sr}^{2+}$  暴露对中华大蟾蜍蝌蚪的生长发育产生迟滞作用、对细胞 DNA 产生损害作用,并对细胞产生氧化胁迫和生理毒害。所以,环境中大量的锶元素有可能对水生动物和两栖动物的生长发育产生危害,并进一步影响其种群数量。研究结果可为评估温泉开发对水生动物影响以及温泉产业发展的生态风险评价提供参考依据。

#### 参考文献 (References):

- [1] Moyon C, Roblin G. Occurrence of interactions between individual  $\text{Sr}^{2+}$ - and  $\text{Ca}^{2+}$ - effects on maize root and shoot growth and  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Mg}^{2+}$  contents, and membrane potential: Consequences on predicting  $\text{Sr}^{2+}$ -impact [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2013, 260(6): 770-779
- [2] Brungs W A. Experimental uptake of strontium-85 by freshwater organisms [J]. *Health Physics*, 1965, 11(1): 41-46
- [3] Chowdhury M J, Van Cinneken L, Blust R. Kinetics of waterborne strontium uptake in the common carp, *Cyprinus carpio*, at different calcium levels [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2000, 19(3): 622-630
- [4] 毛健全, 丁坚平. 贵州温泉锶含量及其地质意义[J]. *贵州地质*, 1992, 9(1): 9-16  
Mao J Q, Ding J P. The strontium content of Guizhou warm springs and its geological significance [J]. *Geology of Guizhou*, 1992, 9(1): 9-16 (in Chinese)
- [5] Kerby J L, Richards-Hrdlicka K L, Storfner A, et al. An examination of amphibian sensitivity to environmental contaminants: Are amphibians poor canaries [J]. *Ecology Letters*, 2010, 13(1): 60-67
- [6] 徐士霞, 李旭东, 王跃招. 两栖动物在水体污染生物监测中作为指示生物的研究概况[J]. *动物学杂志*, 2003, 38(6): 110-114  
Xu S X, Li X D, Wang Y Z. Study on amphibian as bioindicator on biomonitoring water pollution [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2003, 38(6): 110-114 (in Chinese)
- [7] 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)
- [8] 索丽娟, 王宏元, 罗磊, 等. 镉对中华蟾蜍蝌蚪生长、变态和 Dios、TRs 表达以及肝脏的影响[J]. *生态毒理学报*, 2016, 11(4): 95-101  
Suo L J, Wang H Y, Luo L, et al. Effects of cadmium on growth, metamorphosis and Dios, TRs expression, liver health of *Bufo gargarizans* larvae [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2016, 11(4): 95-101 (in Chinese)
- [9] 许杰, 柴丽红, 董岁明. 锌离子慢性暴露对中华大蟾蜍蝌蚪生长发育的影响[J]. *生态毒理学报*, 2017, 12(1): 260-267  
Xu J, Chai L H, Dong S M. Chronic  $\text{Zn}^{2+}$  exposure induces growth and developmental toxicity in *Bufo gargarizans* tadpoles [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2017, 12(1): 260-267 (in Chinese)
- [10] Gosner K L. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification [J]. *Herpetologica*, 1960, 16(3): 183-190
- [11] Veronez A C, Salla R M, Baroni V C, et al. Genetic and

- biochemical effects induced by iron ore, Fe and Mn exposure in tadpoles of the bullfrog *Lithobates catesbeianus* [J]. *Aquatic Toxicology*, 2016, 174: 101-108
- [12] Speit G, Hartmann A. The comet assay (single-cell gel test): A sensitive genotoxicity test for the detection of DNA damage and repair [J]. *Methods in Molecular Biology*, 2006, 113: 203-212
- [13] 何永吉, 马文丽, 王兰, 等. 镉诱导金属硫蛋白在华溪蟹组织中的表达[J]. *动物学杂志*, 2007, 42(3): 48-53  
He Y J, Ma W L, Wang L, et al. Metallothionein in different tissues of freshwater crab exposed to cadmium [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2007, 42(3): 48-53 (in Chinese)
- [14] Chai L, Wang H, Deng H, et al. Chronic exposure effects of copper on growth, metamorphosis and thyroid gland, liver health in Chinese toad, *Bufo gargarizans* tadpoles [J]. *Chemistry and Ecology*, 2014, 30(7): 589-601
- [15] 刘存岐, 王安利, 王维娜, 等. 海水  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$  和  $\text{Sr}^{2+}$  对中国对虾糠虾幼体成活率与变态率的影响[J]. *中山大学学报: 自然科学版*, 2000, 39(增刊): 132-134  
Liu C Q, Wang A L, Wang W N, et al. The effects of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  and  $\text{Sr}^{2+}$  in sea water on the survival and metamorphosis of *Penaeus chinensis* Mysis [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2000, 39(S): 132-134 (in Chinese)
- [16] Van der Oost R, Beyer J, Vermulen N P E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk: A review [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2003, 13(2): 57-149
- [17] Ezemonye L, Tongo I. Sublethal effects of endosulfan and diazinon pesticides on glutathione-S-transferase (GST) in various tissues of adult amphibian (*Bufo regularis*) [J]. *Chemosphere*, 2010, 81(2): 214-217
- [18] 林芃, 任宏伟, 茹炳根. 用酶联免疫吸附法测定鱼类体内金属硫蛋白[J]. *环境污染与防治*, 2001, 23(5): 265-267  
Lin P, Ren H W, Ru B G. Study for quantitative determination of metallothionein with enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) [J]. *Environmental Pollution and Control*, 2001, 23(5): 265-267 (in Chinese)
- [19] Stebbing A R D. Hormesis—The stimulation of growth by low levels of inhibitors [J]. *Science of the Total Environment*, 1982, 22(3): 213-234
- [20] 贾秀英, 施蔡雷. 水体二价铜离子致蟾蜍蝌蚪 DNA 损伤和氧化损伤[J]. *环境科学学报*, 2008, 28(10): 2095-2099  
Jia X Y, Shi C L. Exposure of *Bufo gargarizans* tadpoles to water-borne copper (II) leading to DNA damage and oxidative damage [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2008, 28(10): 2095-2099 (in Chinese)
- [21] 吴众望, 潘鲁青, 张红霞. 重金属离子对凡纳滨对虾肝胰脏、鳃丝和血液 SOD 活性的影响[J]. *应用生态学报*, 2005, 16(1): 1962-1966  
Wu Z W, Pan L Q, Zhang H X. Effects of heavy metal ions on SOD activity of *Litopenaeus vannamei* hepatopancreas, gill and blood [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16(1): 1962-1966 (in Chinese)
- [22] 洪美玲, 李春瑜, 王力军, 等. 急性铜胁迫对海陆蛙蝌蚪抗氧化效应及金属解毒能力的影响[J]. *应用与环境生物学报*, 2015, 21(3): 494-498  
Hong M L, Li C Y, Wang L J, et al. Effect of acute copper stress on antioxidant and metal detoxification ability of the tadpole of crab eating frog (*Fejervarya cancrivora*) [J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2015, 21(3): 494-498 (in Chinese)
- [23] Gabriel D, Riffel A P K, Finamor I A, et al. Effects of subchronic manganese chloride exposure on tambaqui (*Colossoma macropomum*) tissues: Oxidative stress and antioxidant defenses [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2013, 64(4): 659-667
- [24] Shahsavarani A, McNeill B, Galvez F, et al. Characterization of a branchial epithelial calcium channel (ECaC) in freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2006, 209(10): 1928-1943
- [25] Hwang P P. Ion uptake and acid secretion in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2009, 212(11): 1745-1752
- [26] Smith D C. Adult recruitment in chorus frogs: Effects of size and date at metamorphosis [J]. *Ecology*, 1987, 68(2): 344-350
- [27] Zocche J J, Damiani A P, Hainzenreder G, et al. Assessment of heavy metal content and DNA damage in *Hypsi-boas faber* (Anuran Amphibian) in coal open-casting mine [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2013, 36(1): 194-201