

# 镉长期暴露对黑斑蛙的氧化胁迫和抗氧化能力的影响

汪美贞, 贾秀英\*, 董爱华, 何 鑫, 褚绞娇

(杭州师范学院生命科学院, 浙江杭州 310036)

**摘要:** 在实验条件下, 将黑斑蛙暴露于 12.5 mg/L 和 25.0 mg/L 浓度的镉溶液中 30d, 分别测定了黑斑蛙在暴露 10、20 和 30d 时肝、肾组织中镉(Cd)含量、过氧化产物丙二醛(MDA)的含量、还原型谷胱甘肽(GSH)含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性, 以探讨镉对机体的脂质过氧化作用及机体的抗氧化损伤机制。实验结果表明, 不同剂量组黑斑蛙肝、肾镉含量、MDA 含量均随着镉暴露时间的延长而升高, 且肝 MDA 含量与镉在肝中的蓄积量呈显著正相关( $R^2 = 0.8643$ ,  $n = 9$ )。肝脏 GSH 含量随镉暴露时间的延长而被显著诱导, 且与 MDA 含量呈显著正相关( $R^2 = 0.5933$ ,  $n = 9$ ); 肾 GSH 含量则随暴露时间的延长而显著下降, 与 MDA 含量呈显著负相关( $R^2 = 0.8609$ ,  $n = 9$ )。不同剂量组肝 SOD 活性随镉暴露时间的延长而升高, 肾 SOD 活性在高剂量组随镉暴露时间的延长表现为先升高后回落下降的趋势。可见, 在镉的长期暴露下, 细胞膜过氧化增强是镉伤害机体的主要原因, 而 GSH 含量、SOD 活性的升高则可能是机体抗过氧化的机理之一。

**关键词:** 镉; 氧化胁迫; 抗氧化能力; 黑斑蛙

文章编号: 1000-0933(2006)06-1718-07 中图分类号: Q494, X171.5 文献标识码: A

## Effects of Cadmium on oxidative stress and antioxidative ability in the Frog *Rana nigromaculata* under a long-term exposure

WANG Mei-Zhen, JIA Xi-Ying\*, DONG Ai-Hua, HE Xin, CHU Jiao-Jiao (School of Life Sciences, Hangzhou Normal College, Hangzhou 310036, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(6): 1718~1724.

**Abstract:** Amphibian populations appear to be declining around the world. Although there is no single cause, one factor may be pollution from heavy metals. Heavy metals such as cadmium (Cd) have been one of the most fundamental causes of soil and water pollution in industrial and developing countries. The liver and kidneys are the main target organs for toxic effects of Cd. We used the frog *Rana nigromaculata* as a test subject to evaluate the effect of Cd on oxidative stress and antioxidative ability under a long-term exposure. Female frogs were exposed to 12.5 and 25.0 mg/L of cadmium dissolved in water for 30 days in experiment condition. The concentration of cadmium, levels of malondialdehyde (MDA), the contents of glutathione (GSH) and the activities of superoxide dismutase (SOD) in the liver and kidneys were determined at the end of the 10<sup>th</sup>, 20<sup>th</sup> and 30<sup>th</sup> days of Cd exposure respectively. The results showed that the cadmium accumulation and the MDA contents in the liver and kidneys were increased rapidly with the prolonged time at the dosage of 12.5 and 25.0 mg/L Cd, and Cd accumulation was strongly positive correlated with the MDA contents in the liver ( $R^2 = 0.8643$ ,  $n = 9$ ). GSH contents were induced significantly in the liver and were decreased significantly in the kidneys with increasing of exposure time, GSH contents were positively correlated with MDA contents in the liver ( $R^2 = 0.5933$ ,  $n = 9$ ), while GSH contents were negatively correlated with MDA contents in the kidneys ( $R^2 = 0.8609$ ,  $n = 9$ ). SOD activities in liver were increased in the dosage of 12.5 and 25.0 mg/L Cd and SOD activities in the kidneys

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目(302056); 浙江省动物学重点学科资助项目

收稿日期: 2005-04-28; 修订日期: 2006-01-19

作者简介: 汪美贞(1982~), 女, 浙江金华人, 硕士生, 主要从事生态毒理学研究. E-mail: XY\_Jia@163.com

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: XY\_Jia@163.com

**Foundation item:** The project was supported by Natural Science Foundation of Zhejiang Province(No. 302056); By Grant From the Local Governments of Zhejiang Province for the Specially Supported Discipline of Zoology

**Received date:** 2005-04-28; **Accepted date:** 2006-01-19

**Biography:** WANG Mei-Zhen, Master graduate student, mainly engaged in ecological toxicology.

were first raised and declined afterwards in the dosage of 25.0 mg/L Cd with increasing of exposure time. These results suggest that the enhancement of peroxidation of membrane lipid may be one of the cadmium injury mechanisms in *R. nigromaculata*. Furthermore, the increasing of GSH content and SOD activity would be part of general defense strategies to cope with oxidative stress.

**Key words:** cadmium; oxidative stress; antioxidative ability; *Rana nigromaculata*

全球范围内生物多样性的逐渐丧失已经引起人类的日益关注。两栖类动物是生态群落的重要组成部分, 因此, 它们的消亡和灭绝对生物多样性会产生很大的威胁。近些年来, 随着环境污染的日益加重, 两栖动物种类在世界各地正在急剧地衰减或消失<sup>[1~3]</sup>。研究者对许多常见的两栖类物种不明原因地衰减或消失进行了多次论证, 认为两栖动物由于其皮肤的高渗透性、水陆两栖等生物学特性, 对环境污染极其敏感, 两栖动物种群的变化与环境污染有密切的关系<sup>[4,5]</sup>, 而关于环境污染对两栖动物的作用机理仍然不太清楚, 对两栖动物生理和生化方面的影响很值得深入研究。

重金属是当前环境污染最重要的因素之一。由于工业的发展, 环境中重金属的含量越来越高, 其毒性已引起人们的普遍重视<sup>[6]</sup>。数十年来, 国内外学者已就铅、镉等重金属对水生动物、哺乳动物的机体结构及生理生化等方面的影响作了较多的研究<sup>[7~10]</sup>, 研究表明, 活性氧的大幅度增加是造成机体细胞伤害的主要原因之一, 而生物体内具有清除活性氧作用的抗氧化防御系统成分的改变可以作为机体遭受氧化胁迫的指示<sup>[11~13]</sup>, 因而尝试以这些抗氧化防御系统成分的变化作为污染物胁迫的生物标志物的研究正成为生态毒理学领域中新的热点<sup>[14]</sup>。

近年来, 国内外关于重金属污染对两栖类影响的研究报道<sup>[15~18]</sup>已有不少, 而关于重金属对两栖类动物抗氧化防御系统影响的研究则鲜见报道。研究表明, 短期内很难观察到低浓度污染物对生物的危害, 往往需要长期暴露后方能显示<sup>[19]</sup>。因此, 污染物长期暴露的生态效应值得关注。本实验以广泛分布的两栖类动物——黑斑蛙成体为实验材料, 通过对长期暴露在重金属镉溶液下黑斑蛙肝、肾组织中镉(Cd)、谷胱甘肽(GSH)、超氧化物歧化酶(SOD)及丙二醛(MDA)等几个指标的测定, 探讨镉暴露对黑斑蛙肝、肾的脂质过氧化作用及抗氧化损伤机制, 为保护两栖类动物资源和充实分子毒理生态学内容提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及处理

健康成年黑斑蛙(*Rana nigromaculata*)捕自杭州市郊, 平均体长为(74.5 ± 4.3) mm, 平均体重为(36.6 ± 9.8) g。在室内盛有 2~3 cm 去离子蒸馏水的玻璃水族缸(实验前用 10% 的稀硝酸浸泡)中暂养 7d 后, 随机均分为对照组和染毒组, 每组 30 只(全为雌性)。暴露实验在玻璃缸(60 × 40 × 35 cm<sup>3</sup>)中进行。根据急性毒性实验测定的 LC<sub>50</sub> 浓度, 染毒组黑斑蛙分别暴露于 3 cm 深的 12.5 mg/L 和 25.0 mg/L 的镉溶液中(按镉计, 用 CdCl<sub>2</sub> · 2.5H<sub>2</sub>O 配制), 对照组黑斑蛙暴露于 3 cm 深的清洁水溶液中。每一处理各设一平行组。暴露实验共进行 30d, 采用静态置换法每天更新溶液 50%, 每天投喂 1 次。驯养期间及实验过程中黑斑蛙没有出现死亡情况。

### 1.2 实验设计和样品处理

对照组和染毒组于暴露后第 10、20、30 天分别取样。每次每组取蛙 8 只, 活体解剖, 取出肝脏和肾脏, 迅速置于液氮中。测定时, 从液氮中取出肝脏和肾脏, 清洗, 称重, 4℃下按 1 g 组织样品加 10 ml 生理盐水的比例, 用玻璃匀浆器在冰浴中匀浆, 并于 4℃, 12000 r/min 离心 20 min, 将上清液保存于 -20℃冰箱中待测。

### 1.3 测定指标及方法

镉含量的测定采用原子吸收分光光度法; 谷胱甘肽(GSH)含量的测定采用二硫代二硝基苯甲酸比色法; 丙二醛(MDA)含量的测定采用硫代巴比妥酸比色法; 超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定采用黄嘌呤氧化法; 蛋白含量测定采用考马斯亮蓝法。试剂盒均购于南京建成生物工程研究所。

### 1.4 数据处理

每组实验数据用平均数±标准误差表示;处理与对照间的差异比较用单因素方差分析法,处理间的差异比较采用新复极差法(SSR),当 $p < 0.05$ 时,认为有显著差异。用回归方法分析指标之间的相关性,以相关系数表示相关的密切程度。

2 结果与分析

2.1 镉在黑斑蛙肝脏和肾脏组织中的分布情况

镉在各组黑斑蛙肝脏和肾脏中的分布情况见图1和图2。镉处理组黑斑蛙肝、肾组织中的镉含量均显著高于对照组( $p < 0.01$ ),表明通过皮肤渗透黑斑蛙肝脏、肾脏均能蓄积大量的镉,且均随着染毒剂量的增大和暴露时间的延长而升高,其中肾脏中镉积累的绝对值较高,积累量在12.19~17.56mg/kg之间;而肝脏中镉的积累量随暴露时间的延长而升高的幅度较大,与对照相比,各处理组在不同暴露时间下镉的积累幅度达10.77~24.13倍。

2.2 镉对黑斑蛙肝脏和肾脏 GSH 含量的影响

由图3可见,在12.5 mg/L和25.0 mg/L镉暴露30d内,镉对黑斑蛙肝脏GSH含量有显著诱导作用。其中在12.5 mg/L镉处理组,污染暴露10d、20d,肝脏GSH含量与对照组比较无显著性差异( $p > 0.05$ ),而在污染暴露30d,GSH含量则显著高于对照组( $p < 0.05$ )。在25.0 mg/L镉处理组,污染暴露第10d、20d,肝脏GSH含量均显著高于对照组和12.5 mg/L镉处理组( $p < 0.05$ ),污染暴露30d,GSH含量没有继续升高,但仍显著高于对照组( $p < 0.05$ )。表明在该镉试验浓度下,随着镉剂量的增加和暴露时间的延长,黑斑蛙肝脏GSH含量被显著诱导,且这种诱导作用持续到实验结束(30d)。

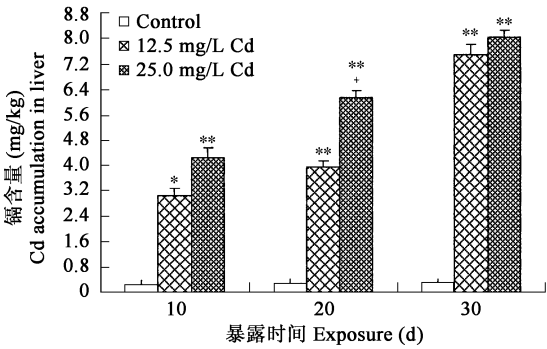


图1 镉在黑斑蛙肝脏中的积累

Fig.1 Cd accumulation in livers of *Rana nigromaculata*

\*表示与对照组差异显著( $p < 0.05$ ),\*\*表示与对照组差异极显著( $p < 0.01$ );+表示与低剂量组差异显著( $p < 0.05$ ); $x \pm s$ ,  $n = 8$ ,其余图相同 \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , Compared to control groups +  $p < 0.05$ , Compared to low concentration group; Values are expressed as mean  $\pm$  SD of 8 observations; The same below

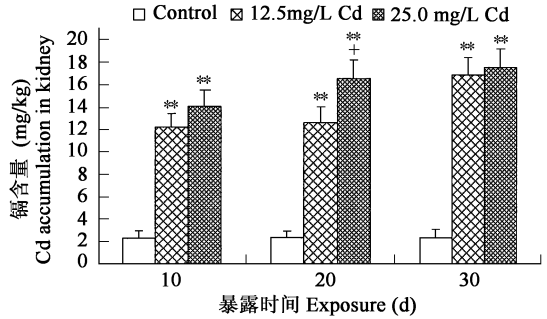


图2 镉在黑斑蛙肾脏中的积累

Fig.2 Cd accumulation in kidneys of *Rana nigromaculata*

随着镉剂量的增加和暴露时间的延长,黑斑蛙肝脏GSH含量被显著诱导,且这种诱导作用持续到实验结束(30d)。

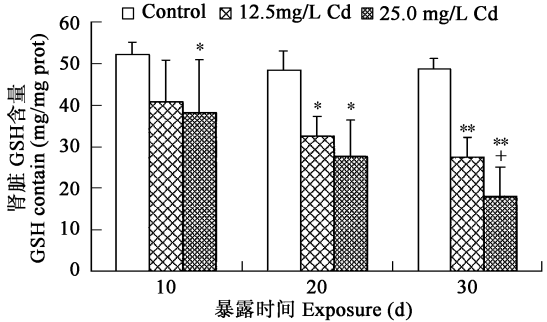


图3 镉对黑斑蛙肝脏中GSH含量的影响

Fig.3 Effect of Cd on GSH content in livers of *Rana nigromaculata*

图4 镉对黑斑蛙肾脏中GSH含量的影响

Fig.4 Effect of Cd on GSH content in kidneys of *Rana nigromaculata*

由图4可以看出,各镉处理组肾脏GSH含量均随着暴露时间的延长而下降。在12.5 mg/L镉处理组,污染暴露20d,肾脏GSH含量显著低于对照组( $p < 0.05$ ),污染暴露30d,GSH含量极显著低于对照组( $p < 0.01$ )。在25.0 mg/L镉处理组,污染暴露10d、20d,肾脏GSH含量均显著低于对照组( $p < 0.05$ ),污染暴露30d,GSH含量显著或极显著低于12.5 mg/L镉处理组( $p < 0.05$ )和对照组( $p < 0.01$ )。提示镉对黑斑蛙肝脏和肾脏GSH

代谢的影响有不同的机制。

2.3 镉对黑斑蛙肝脏和肾脏 MDA 含量的影响

由图 5, 图 6 可见, 各镉处理组黑斑蛙肝、肾 MDA 含量均随着暴露时间的延长而升高。其中在镉暴露 10d, 肝、肾组织 MDA 含量与对照比较均无明显差异( $p > 0.05$ ); 污染暴露 20d, 肝、肾脏 MDA 含量均显著高于对照组( $p < 0.05$ ); 污染暴露 30d, 12.5 mg/L 镉处理组中肝、肾 MDA 含量显著高于对照组( $p < 0.05$ ), 而 25.0 mg/L 镉处理组中肝、肾 MDA 含量则极显著高于对照组( $p < 0.01$ )和显著高于 12.5 mg/L 镉处理组( $p < 0.05$ )。由此可见, 镉的长期暴露对黑斑蛙肝、肾均可引起脂质过氧化损伤。

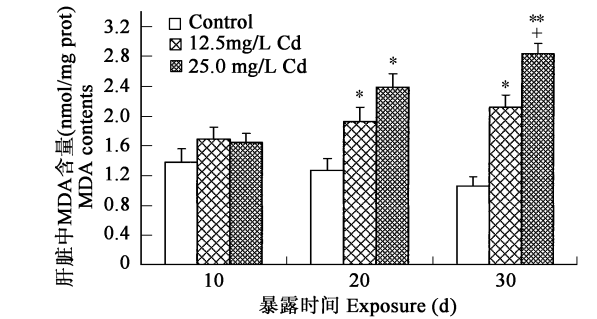


图 5 镉对黑斑蛙肝脏中 MDA 含量的影响

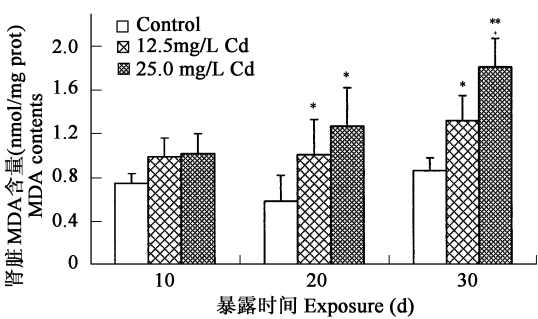


图 6 镉对黑斑蛙肾脏中 MDA 含量的影响

Fig. 5 Effect of Cd on MDA content in livers of *Rana nigromaculata* Fig. 6 Effect of Cd on MDA content in kidneys of *Rana nigromaculata*

2.4 镉对黑斑蛙肝脏和肾脏 SOD 活性的影响

如图 5 所示, 在 12.5 mg/L 和 25.0 mg/L Cd 暴露下, 黑斑蛙肝脏内 SOD 活性均随着暴露时间的延长而不断升高, 其中, 在 12.5 mg/L Cd 处理组, 污染暴露 10d、20d, 肝 SOD 活性与对照组比较均无明显差异( $p > 0.05$ ), 污染暴露 30d, 肝 SOD 活性显著高于对照( $p < 0.05$ ); 在 25.0 mg/L Cd 处理组, 污染暴露 20d, 肝 SOD 活性显著高于对照组( $p < 0.05$ ), 污染暴露 30d, 肝 SOD 活性继续升高, 与对照组比较差异极显著( $p < 0.01$ )。说明在本实验条件下, Cd 对黑斑蛙肝脏 SOD 活性表现为显著的诱导作用。

从图 6 可见, 在 12.5 mg/L Cd 处理组, 肾 SOD 活性随着暴露时间的延长呈升高趋势, 但在暴露 10d、20d, 肾 SOD 活性与对照组比较无明显差异( $p > 0.05$ ), 而在暴露 30d, 肾 SOD 活性则显著高于对照组( $p < 0.05$ ); 在 25.0 mg/L Cd 处理组, 污染暴露 10d, 对肾 SOD 活性影响不大, 污染暴露 20d, 肾 SOD 活性显著高于对照组和 12.5 mg/L Cd 处理组( $p < 0.05$ ), 污染暴露 30d, 肾 SOD 活性又开始下降回落至对照组水平。说明在较高 Cd 浓度暴露下, 黑斑蛙肾 SOD 活性随时间延长则表现为先升高后回落下降的趋势。

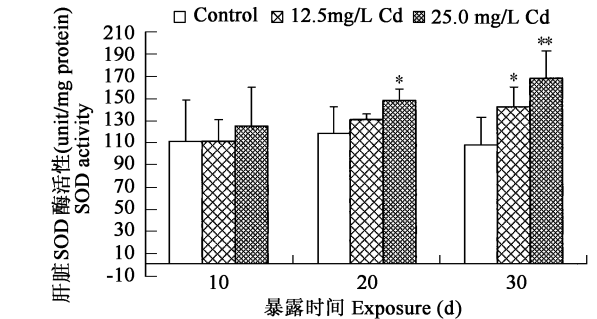


图 7 镉对黑斑蛙肝脏中 SOD 酶活性的影响

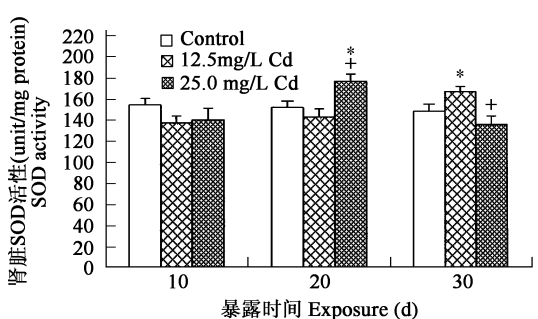


图 8 镉对黑斑蛙肾脏中 SOD 酶活性的影响

Fig. 7 Effect of Cd on SOD activity in livers of *Rana nigromaculata* Fig. 8 Effect of Cd on SOD activity in kidneys of *Rana nigromaculata*

2.5 肝、肾组织中 MDA 与镉、GSH 含量的相关关系

将肝脏和肾脏组织中的镉含量与相应的 MDA 含量作相关分析, 肝脏镉蓄积量与 MDA 含量呈显著正相

关,  $R^2 = 0.8643$ (图 9), 肾脏镉蓄积量与 MDA 含量相关关系不明显。

将肝脏和肾脏组织中的 MDA 和相应的 GSH 含量作相关分析, 肝脏 MDA 与 GSH 呈显著正相关,  $R^2 = 0.5933$ (图 10), 而肾脏 MDA 与 GSH 则呈显著负相关,  $R^2 = 0.8609$ (图 11)。这种差异性, 可能与肝、肾对镉不同的反应机制有关。

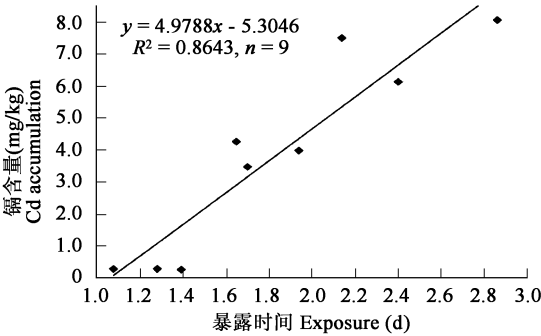


图 9 肝脏中镉积累量与 MDA 的相关性

Fig. 9 Correlation between Cd and MDA concentration in the liver of *Rana nigromaculata*

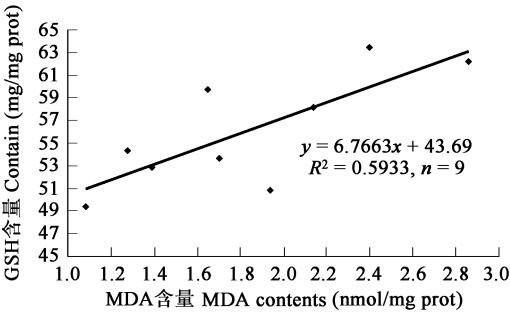


图 10 肝脏中 MDA 与 GSH 的相关性

Fig. 10 Correlation between MDA and GSH concentration in the liver of *Rana nigromaculata*

3 讨论

目前研究认为, 镉在动物体内的蓄积有较强的选择性, 肝和肾是主要的蓄积器官<sup>[20]</sup>。本研究结果表明, 在 12.5 mg/L 和 25.0 mg/L 镉溶液中暴露 30d, 黑斑蛙肝脏、肾脏均能蓄积大量的镉, 且均随着染毒剂量的增大和暴露时间的延长而升高。其中, 随着暴露时间的延长, 镉在肝脏中的蓄积率比肾脏高, 但在肾脏中蓄积的镉绝对量要比在肝脏中蓄积的镉绝对量大, 说明黑斑蛙经皮肤渗透在镉溶液中暴露 30d 内, 镉在肾脏中蓄积的能力要高于肝脏, 这与 Hogstrand and Haux<sup>[21]</sup>、Suzuki and Kawamura<sup>[22]</sup>、Torra 等<sup>[23]</sup>的研究基本一致。至于蓄积在肾脏中的较高镉绝对量, 一方面可能与镉诱导肝脏合成的金属硫蛋白复合物(CdMT)在肾内降解释放出镉离子有关, 也可能还与 MT 以外的其它方式和机制有关。

MDA 是一种高活性的脂质过氧化产物, 能交联脂类、核酸、糖类及蛋白质, 破坏膜的结构, 导致细胞质膜受损伤, 因此, MDA 含量是反映脂质过氧化作用强弱的一个重要指标。Papadimitriou and Loumbourdis 研究表明<sup>[24]</sup>, 湖蛙(*Rana ridibunda*) 在 100 mg/LCu 溶液中暴露 30d, 肝 MDA 含量显著增加, 是暴露 5d、15d 时的 1.5 倍和 2 倍。贾秀英等<sup>[25]</sup>采用腹腔注射法对蟾蜍(*Bufo gargarizans*) 给铅, 研究了不同浓度(1~8 mg/kg 体重)铅胁迫下蟾蜍肝、肾组织丙二醛(MDA)含量的变化, 结果表明蟾蜍肝、肾组织 MDA 含量随着铅染毒浓度的增加而增加。本实验结果也表明, 在重金属镉暴露下, 黑斑蛙肝、肾组织 MDA 含量均随着镉暴露浓度的升高、暴露时间的延长而增加, 表明镉的长期暴露对黑斑蛙肝、肾均可引起脂质过氧化损伤。可见过多的自由基积累引起的膜脂过氧化, 在重金属毒害两栖类动物的过程中充当了重要角色。

GSH 作为生物体内重要的抗氧化剂, 既可由于污染的暴露而产生适应性诱导反应, 也可由于污染的毒性作用而产生中毒反应<sup>[26]</sup>。一般认为, GSH 含量的增加可能代表了机体对污染物暴露的适应性反应<sup>[27]</sup>, 而 GSH 含量的降低则可能与细胞对污染物及其代谢物解毒能力的饱和作用有关, 也可能是污染物暴露的毒性效应的

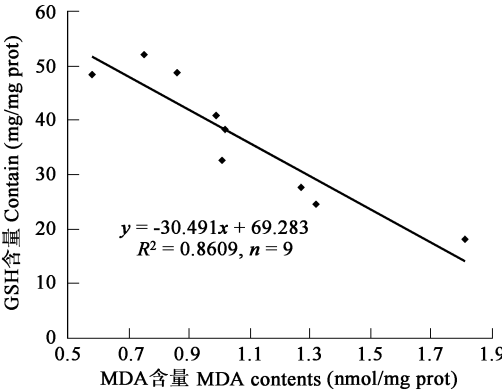


图 11 肾脏 MDA 与 GSH 的相关性

Fig. 11 Correlation between MDA and GSH concentration in the kidney of *Rana nigromaculata*

反应<sup>[28]</sup>。本实验结果显示, 黑斑蛙在 12.5 mg/L 和 25.0 mg/L Cd 处理组经皮染镉 30d, 肝 GSH 均随着污染暴露时间的延长而被显著诱导, 这与 Papadimitriou and Lounbourdis<sup>[24]</sup>、Vogiatzis and Lounbourdis<sup>[29]</sup> 的研究结果基本一致。肾脏 GSH 含量则刚好相反, 均随着污染暴露时间的延长而下降。说明在本实验设定的浓度和暴露时间下, 黑斑蛙肝脏对镉暴露总体上表现为适应性反应, 而肾脏则表现出明显的肾毒性效应。值得注意的是, 暴露 20d, 25.0 mg/L 浓度组与 12.5 mg/L 浓度组肝 GSH 含量比较增加显著 ( $p < 0.05$ ), 而暴露 30d, 二者则相当接近 ( $p > 0.05$ ), 这可能表明随着暴露时间的延长和镉浓度的升高, 细胞对镉及其代谢物的解毒能力已达饱和。至于肝、肾产生的上述差异性, 可能是由于其合成 GSH 能力不同, 镉诱导的 GSH 代谢不同。在肝脏, 较低镉剂量范围内, 随着肝内镉蓄积量的增加, 镉诱导肝脏 GSH 合成增加, 随着暴露时间的延长, 肝内镉蓄积量的逐渐升高, 可能由于镉对肝细胞产生的毒性增强, 影响到 GSH 的合成, 从而导致肝 GSH 含量的逐步下降。在肾脏, 由于本身 GSH 合成能力很弱, 主要靠肝合成 GSH 供给, 因而随着镉浓度的增加和染镉时间的延长, 肾 GSH 消耗量也增加。

另外, 本实验一个重要的发现, 肝中 MDA 含量与镉的蓄积量呈显著正相关; 肝脏 GSH 含量与 MDA 含量呈显著正相关, 而肾脏 GSH 含量与 MDA 含量呈显著负相关。这种相关性形成的机制目前尚未知, 有待于进一步研究, 但根据大量有关肾细胞氧化损伤的研究表明, 细胞内 GSH 含量是细胞损害的一个重要影响因素, 增加细胞内 GSH 含量可保护肾细胞免于受损, 而降低细胞内 GSH 含量可增强肾细胞毒性。由此说明镉可导致黑斑蛙较强的肾毒性, 肾脏是主要的中毒器官。

SOD 是体内重要的保护性酶, 对机体的氧化和抗氧化平衡起着至关重要的作用, 它能清除超氧阴离子自由基, 保护细胞免受损伤。本研究表明, 在 12.5 mg/L Cd 处理后, 肝、肾 SOD 活性随着暴露时间的延长而升高, 尤其在暴露 30d, 肝、肾 SOD 活性均被显著诱导; 但在 25.0 mg/L Cd 处理组, 肝 SOD 活性暴露 30d 被显著诱导, 而肾 SOD 活性在暴露 20d 被显著诱导, 暴露 30d 则开始回落甚至被抑制。说明黑斑蛙在镉的污染暴露下, 机体会产生适应性诱导反应, SOD 活性升高以清除自由基伤害; 但如果胁迫时间过长或胁迫程度过大, 超过机体所能忍受的极限, 使机体出现中毒反应, 致使 SOD 活性降低。黑斑蛙肝、肾组织 SOD 活性变化的差异性, 说明肝、肾组织从污染的适应性反应到中毒性反应存在着不同的阈值, 这可能与肝是脊椎动物体内最主要的解毒器官以及肾脏对镉具有最大的蓄积量有关。

总体而言, 黑斑蛙在较低浓度镉的长期暴露下, 肝、肾组织脂质过氧化产物 MDA 含量显著升高, 导致机体发生氧化损伤。同时, GSH、SOD 作为机体重要的抗氧化物质, 随着暴露时间的延长或暴露强度的增加, 表现出一定程度的诱导反应, 说明机体在镉暴露环境中, 能借助自身的抗氧化能力, 力图维持活性氧代谢平衡, 保护膜结构, 从而使动物体在一定程度上减缓或抵抗逆境的影响。但这种维持作用是有一定限度的, 随着胁迫时间的延长和胁迫强度的增加, GSH、SOD 可能因为中毒而受到抑制, 由此造成活性氧的积累和对细胞膜的损伤, 降低生物的适应性反应能力。由此可见, MDA、GSH 含量以及抗氧化酶 SOD 活性的变化在一定程度上反映了镉对黑斑蛙的损伤作用。

值得注意的是, 从 MDA、GSH 和 SOD 在不同剂量和不同暴露时间作用下所产生的结果看, MDA 和 GSH 的变化相对于 SOD 来说要稳定, 而且本实验还表明, 肝、肾 MDA 和 GSH 均具有较显著的相关性, 因此, 在评价镉对黑斑蛙的亚慢性毒性作用时, 可优先选择肝、肾组织的 MDA 和 GSH 水平作为镉早期污染胁迫程度的生物效应指标。

## References:

- [1] Blaustein A R, Wake D B. The puzzle of declining amphibian populations. *Scientific American*, 1995, 272: 56~ 61.
- [2] Alford R A, Dixon P M, Pechmann J H. Global amphibian population declines. *Nature*, 2001, 412(6848): 499~ 500.
- [3] Kiesecker J M, Blaustein A R, Belden L K. Complex caused of amphibian population declines. *Nature*, 2001, 410(6829): 681~ 684.
- [4] Sharpe R M, Skakkebaek N E. Are estrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract?. *Lancet*, 1993, 341: 1392~

- [ 5 ] Kayama F. Current State of Study on Environmental Hormone. *World Environment*, 1999, 17(2): 34~ 35.
- [ 6 ] Yang Z L. Research into the development and use of China's amphibian resources. *Ecol Econ*, 2000, 11: 46~ 48.
- [ 7 ] Chen M, Xie J M, Gao X Y, *et al.* Effects of lead on lipid peroxidation in organs of mice. *Chin Pub Heal*, 2000, 16(12): 1107~ 1108.
- [ 8 ] Anderson R V. The effects of lead on oxygen uptake in the crayfish, *Oranectes virilis*. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1978, 20: 394~ 403.
- [ 9 ] Tulasi S J, Yasmeen R, Padmaja Reddy C, *et al.* Lead uptake and lead loss in the freshwater field crab, *Barytephusa guerini*, on exposure to organic and inorganic lead. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1987, 39: 63~ 68.
- [ 10 ] Pastor A, Medina J, delRamo J, *et al.* Determination of lead in treated crayfish *Procambarus darkii*: Accumulation in different tissues. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1988, 41: 412~ 418.
- [ 11 ] Winston G W, Di Giulio R T. Prooxidant and antioxidant mechanism in aquatic organism. *Aquat Toxicol*, 1991, 24: 143~ 152.
- [ 12 ] Chen L, Guo H Y, Shen H, *et al.* Effect of trace lead on the antioxidant system of fish liver. *Environ Chem*, 2002, 21(5): 485~ 489.
- [ 13 ] Almeida J A, Diniz Y S, Marques S F, *et al.* The use of the oxidative stress response as biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination. *Environ int*, 2002, 27(8): 673~ 679.
- [ 14 ] Xu L H, Zhang Y Y, Chen Y Y. The advances of molecular ecotoxicology and its significance in water environment protection. *Acta Hydrobi Sinica*, 1995, 19(2): 171~ 184.
- [ 15 ] Wang X Y, Luo X Y, Li C M, *et al.* Toxicity of heavy metal ions to embryos and larvae of *Rana nigromaculata*. *Sichuan Journal of Zoology*, 2001, 20(2): 59~ 61.
- [ 16 ] Wang S B, Guo R, Que Y F, *et al.* Acute toxicity of  $Cu^{2+}$  to *Rana chensinensis* tadpole. *Chin J Appl Ecol*, 1998, 9(3): 309~ 312.
- [ 17 ] Lefcort H, Meguire R A, Wilson L H, *et al.* Heavy metals alter the survival, growth, metamorphosis, and antipredatory behavior of Columbia spotted frog (*Rana luteiventris*) tadpoles. *Arch Environ. Contam. Toxicol*, 1998, 35: 447~ 456.
- [ 18 ] Freda J. The effects of aluminum and other metals on amphibians. *Environ Poll*, 1991, 71: 305~ 328.
- [ 19 ] Qiming Yu, Yupadee Chaisuksant, Des Connell. A model for nonspecific toxicity with aquatic organisms over relatively long periods of exposure time. *Chemosphere*, 1998, 38(4): 909~ 918.
- [ 20 ] Bernard A, Lauwerys R. Handbook of experimental pharmacology. Berlin: Springer-Verlag, 1986. 141~ 150.
- [ 21 ] Hogstrand C, Haux C. Binding and detoxification of heavy metal in lower vertebrates with reference to metallothionein. *Comp Biochem Physiol*, 1991, 100C: 137~ 141.
- [ 22 ] Suzuki K T, Kawamura R. Metallothionein present or induced in the three species of frogs *Bombina orientalis*, *Bufo bufo japonicus* and *Hyla arborea japonica*. *Comp Biochem Physiol*. 1984, 79C: 255~ 260.
- [ 23 ] Torra M, Tó-Figueras J, Brunet M, *et al.* Total and metallothionein-bound cadmium in the liver and the kidney of a population in Barcelona (Spain). *Bull Environ Contam Toxicol*, 1994, 53: 509~ 515.
- [ 24 ] Papadimitriou E, Loubourdis N S. Exposure of the Frog *Rana ridibunda* to Copper: Impact on Two Biomarkers, Lipid Peroxidation, and Glutathione. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2002, 69: 885~ 891.
- [ 25 ] Jia X Y, Dong A H, Ma X M. Affection of lead stress on antioxidant enzyme activities and malonyldialdehyde contents of *Bufo bufo gargarizans*. *Chin Environ Sci*, 2004, 24(2): 56~ 59.
- [ 26 ] Di Giulio R T, Washburn P C, Wenning R J, *et al.* Biochemical responses in aquatic animals: a review of determinants of oxidative stress. *Environ Toxicol and Chem*, 1989, 8: 1103~ 1123.
- [ 27 ] Kosower N S. The glutathione status of cells. *Int. Rev. Cytol*, 1978, 54: 109~ 159.
- [ 28 ] Ketterer B, Coles B, Meyer D J. The role of glutathione in detoxication. *Environ Health Perspect*, 1983, 49: 59~ 69.
- [ 29 ] Vogiatzis A K, Loubourdis N S. Cadmium Accumulation in Liver and Kidneys and Hepatic Metallothionein and Glutathione Levels in *Rana ridibunda*, After Exposure to  $GdCl_2$ . *Arch Environ. Contam. Toxicol*, 1998, 34: 64~ 68.

#### 参考文献:

- [ 5 ] 香山不二雄. 桂兰润、尚彦军译. 环境激素问题研究现状. *世界环境*, 1999, 17(2): 34~ 35.
- [ 6 ] 杨志力. 中国两栖类资源开发利用研究. *生态经济*, 2000, 11: 46~ 48.
- [ 7 ] 陈敏, 谢吉民, 高晓饮, 等. 铅对小鼠脏器脂质过氧化作用的影响. *中国公共卫生*, 2000, 16(12): 1107~ 1108.
- [ 12 ] 陈亮, 郭红岩, 沈红, 等. 低浓度铅暴露对鲫鱼肝脏抗氧化系统的影响. *环境化学*, 2002, 21(5): 485~ 489.
- [ 14 ] 徐立红, 张甬元, 陈宜瑜. 分子生态毒理学研究进展及其在水环境保护中的意义. *水生生物学报*, 1995, 19(2): 171~ 184.
- [ 15 ] 汪学英, 卢祥云, 李春梅, 等. 重金属离子对黑斑蛙胚胎及蝌蚪的毒性影响. *四川动物*, 2001, 20(2): 59~ 61.
- [ 16 ] 王寿兵, 郭锐, 屈云芳, 等. Cu 对中国林蛙蝌蚪的急性毒性. *应用生态学报*, 1998, 9(3): 309~ 312.
- [ 25 ] 贾秀英, 董爱华, 马小梅. 铅胁迫对蟾蜍抗氧化酶活性及丙二醛含量的影响. *中国环境科学*, 2004, 24(2): 56~ 59.