

铬对中国林蛙蝌蚪生长发育的毒性效应*

李 勃^{1,2} 王维君¹ 李忻怡¹ 张育辉^{1**}

(¹陕西师范大学生命科学学院, 西安 710062; ²陕西省微生物研究所, 西安 710043)

摘 要 为评价水域环境中铬元素对两栖动物幼体的急性毒性, 将中国林蛙 (*Rana chensiensis*) 28~29 期蝌蚪分别暴露于 30~35 mg·L⁻¹ Cr(Ⅲ) 6 个不同浓度和 10~45 mg·L⁻¹ Cr(Ⅵ) 6 个不同浓度的水体中, 分别在 24、48、72 和 96 h 统计蝌蚪的死亡率及半致死浓度 (LC₅₀)。结果表明: 暴露 24、48、72 和 96 h, Cr(Ⅲ) 对蝌蚪的 LC₅₀ 分别为 34.09±1.06、33.47±0.65、32.58±0.11 和 (32.05±0.20) mg·L⁻¹, 安全浓度 (SC) 为 (3.21±0.02) mg·L⁻¹; Cr(Ⅵ) 对蝌蚪的 LC₅₀ 分别为 91.97±5.32、51.19±4.62、35.79±1.40 和 (28.81±1.87) mg·L⁻¹, 安全浓度 (SC) 为 (2.88±0.19) mg·L⁻¹。观察表明: Cr(Ⅲ) 的急性毒性是通过与蝌蚪皮肤表面的分泌物结合后粘附在鳃部, 导致呼吸障碍致死; 而 Cr(Ⅵ) 的强氧化性可导致蝌蚪的表皮溃变, 鳃部萎缩致死; 另外, 将 28~29 期蝌蚪暴露于安全浓度 (SC) 以下的含铬水体进行慢性实验, 通过检测蝌蚪的体长、体重和完全变态时间显示, 低浓度的 Cr(Ⅲ) 和 Cr(Ⅵ) 对蝌蚪的生长发育仍具有一定的抑制作用, 并可导致畸型发生, 其作用强度呈现剂量效应, 但时间累积效应不规律。

关键词 铬; 中国林蛙蝌蚪; 毒性; 生长发育

中图分类号 X171.5 **文献标识码** A **文章编号** 1000-4890(2013)3-0648-07

Toxicity effect of chromium on the growth and development of *Rana chensiensis* tadpoles.

LI Bo^{1,2}, WANG Wei-jun¹, LI Xin-yi¹, ZHANG Yu-hui^{1**} (¹College of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China; ²Shaanxi Microbiology Institute, Xi'an 710043, China). *Chinese Journal of Ecology*, 2013, 32(3): 648–654.

Abstract: In order to evaluate the acute toxicity of chromium (Cr) on amphibian larvae, the *Rana chensiensis* tadpoles at the stages 28–29 were exposed to the water contaminated by 30–35 mg·L⁻¹ of Cr(Ⅲ) and 10–45 mg·L⁻¹ of Cr(Ⅵ), with the death rate of the tadpoles and the sublethal concentration (LC₅₀) of Cr(Ⅲ) and Cr(Ⅵ) for 24, 48, 72, and 96 h determined, respectively. Both the Cr(Ⅲ) and the Cr(Ⅵ) had obviously acute toxicity on the tadpoles. The LC₅₀ of Cr(Ⅲ) for 24, 48, 72, and 96 h was 34.09±1.06, 33.47±0.65, 32.58±0.11, and 32.05±0.20 mg·L⁻¹, and the LC₅₀ of Cr(Ⅵ) was 91.97±5.32, 51.19±4.62, 35.79±1.40, and 28.81±1.87 mg·L⁻¹, respectively. The safe concentration (SC) of Cr(Ⅲ) and Cr(Ⅵ) was 3.21±0.02 and 2.88±0.19 mg·L⁻¹, respectively. The acute toxicity of Cr(Ⅲ) was from its combination with the skin secretion of the tadpoles, forming a complex compound sticking on the gill chamber, and then, causing the tadpoles dead from breath obstacle; whereas the acute toxicity of the Cr(Ⅵ) was due to its strong oxidizing property, causing the tadpoles skin fester, gill atrophy, and ultimately, the mortality of the tadpoles. The assessment of the sublethal concentrations of Cr(Ⅲ) and Cr(Ⅵ) on the growth and development of *R. chensiensis* tadpoles showed that Cr was a teratogenic substance which could restrain the growth and development of the tadpoles. This effect also had a dose-effect relationship with the Cr concentrations, but the time cumulative effect was irregular.

Key words: chromium; *Rana chensiensis* tadpoles; toxicity; growth and development.

* 国家自然科学基金资助项目(30770243)、陕西省科学院重点项目(2010ZD01)和中央高校基本科研项目(GK200902039)资助。

** 通讯作者 E-mail: yu-huizhang@163.com

收稿日期: 2012-09-24 接受日期: 2012-12-05

铬(Cr)是在自然界中广泛存在的一种金属元素,可以多种氧化物的形式存在,在水中主要以三价铬(Cr(Ⅲ))和六价铬(Cr(VI))的形式存在。由于铬在冶金、印染、制革等工业生产中被大量使用,其流失及无序排放对环境造成严重污染。水、空气和土壤中的铬可通过食物链富集作用对动物的生长发育产生严重的毒害。目前有关铬对于鱼、虾等水生动物以及哺乳动物的毒理研究报道较多(Arunkumar *et al.*, 2000; Dillon *et al.*, 2000; Paul *et al.*, 2005),但对于两栖动物幼体的毒性研究则相对较少。两栖动物的生殖和幼体发育过程在水域中进行,其皮肤对于水中的离子具有较高的渗透性,因而在幼体发育过程中对有毒物质的反应较为敏感,是进行环境污染毒理学研究以及评价水域环境化学污染效力的理想材料之一。

近年来,随着生存环境的污染日趋严重,世界范围内两栖动物发生畸形的现象已经超过60种,其主要原因与紫外辐射、化学污染物和寄生虫感染有关(Andrew & Pieter, 2003)。中国林蛙(*Rana chensinensis*)是广泛分布于中国北方各地的重要经济动物,本研究以野生中国林蛙蝌蚪为对象,研究水域中Cr(Ⅲ)和Cr(VI)对林蛙幼体的急性毒性及对生长发育的影响,以期为两栖动物幼体的生存环境保护提供参考数据,同时为水域环境污染的治理提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

Cr(Ⅲ)和Cr(VI)分别以氯化铬($\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)晶体和重铬酸钾($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)晶体(西安化学试剂厂产品,AR)为溶质,用蒸馏水按离子浓度分别配制成 $10\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ Cr(Ⅲ)和 $10\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ Cr(VI)的母液备用。

1.2 急性毒性实验

野生中国林蛙受精卵采集自秦岭北坡的大峪水库附近,实验室孵化,孵化水温(20 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, pH 6.8 ~ 7.0,盐度 $1.8 \sim 1.9\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。待蝌蚪发育至28 ~ 29期(Gosner, 1960; 郑晓晶和张育辉, 2008),选用健康、大小一致的个体进行急性毒性实验。通过预实验后, Cr(Ⅲ)暴露设30、31、32、33、34和35 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6个浓度组; Cr(VI)设10、17、30、35、40和45 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6个浓度组;设1个对照组。每组20只蝌蚪,每个处理浓度设2个平行组,共40只。实验的前8 h

连续观察,随后在12、24、48、72和96 h观察并记录蝌蚪中毒症状、死亡数,并及时清理死亡蝌蚪。实验用水为曝气2 d以上的自来水,24 h更换1次,暴露期间禁食。

1.3 慢性毒性实验

Cr(Ⅲ)暴露设0.50、1.00、2.00和3.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 4个浓度组; Cr(VI)设0.25、0.50、0.75和1.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 4个浓度组,设1个对照组,每个处理浓度设2个平行组,每组45例蝌蚪,水温 $20 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 。每48 h换1次水,换水4 h后投食,饲喂蛋黄、豆渣和蔬菜。实验前受试蝌蚪为28 ~ 29期,体重 $0.0416 \sim 0.0506\text{ g}$,全长(吻端至尾端) $14.5 \sim 15.5\text{ mm}$ 。每天观察并记录蝌蚪的死亡和畸形数。分别在暴露21和35 d时,测量体重和全长。最后统计从28 ~ 29期开始暴露到75%的个体完全变态所用的时间。

1.4 数据处理

急性暴露实验数据用中线性回归法分别计算Cr(Ⅲ)和Cr(VI)在24、48、72和96 h对蝌蚪的零致死浓度(LC_0)、半致死浓度(LC_{50})和全致死浓度(LC_{100}),安全浓度(SC)由公式 $\text{SC} = 96\text{ h } \text{LC}_{50} \times 0.1$ 计算(娄忠玉和钱续, 2003)。慢性毒性实验数据用SPSS 16.0软件处理,用单因子方差分析(one-way ANOVA)检验不同浓度组蝌蚪的体重、全长及发育时间的显著性。数据以平均值 \pm 标准误差($\bar{X} \pm \text{SE}$)表示。 $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 铬对林蛙蝌蚪的急性毒性

2.1.1 Cr(Ⅲ) 在蝌蚪暴露于含Cr(Ⅲ)的水体中8 h后,体表粘附一层絮状物质。同时在水体表面也出现一层油膜,12 h后成粉末状沉淀。在未放入蝌蚪的Cr(Ⅲ)水体中,96 h内未出现油膜及沉淀物。在33、34和35 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的处理组,蝌蚪暴露8 h后出现中毒症状;在31和32 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组,蝌蚪暴露12 h后出现中毒症状。蝌蚪中毒表现为呆滞,卧于水底,尾部颤抖,身体抽搐;轻者侧游,仰翻。蝌蚪死亡后僵直,仰翻。解剖死亡蝌蚪,肝脏、肠管呈灰白色,鳃萎缩,鳃丝被覆有与体表相似的白色絮状物。

比较不同Cr(Ⅲ)浓度与死亡率的关系可见,在相同暴露时间,蝌蚪死亡率随Cr(Ⅲ)浓度的增加而升高(表1,图1)。用中线性回归法计算Cr(Ⅲ)在

表 1 中国林蛙蝌蚪暴露于 Cr(Ⅲ) 的死亡数和死亡率($n=40$)
Table 1 Death number and ratio of tadpoles *Rana chensinensis* exposed to Cr(Ⅲ)

浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	24 h		48 h		72 h		96 h	
	死亡数	死亡率(%)	死亡数	死亡率(%)	死亡数	死亡率(%)	死亡数	死亡率(%)
30	0	0	0	0	0	0	0	0
31	2	5.0	5	12.5	9	22.5	11	27.5
32	3	7.5	6	15.0	15	37.5	19	47.5
33	6	15.0	12	30.0	23	57.5	29	72.5
34	12	30.0	20	50.5	31	77.5	37	92.5
35	33	82.5	37	92.5	40	100.0		
对照	0	0	0	0	0	0	0	0

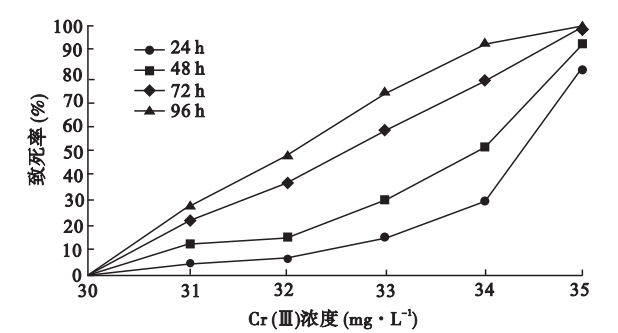


图 1 Cr(Ⅲ) 浓度与中国林蛙蝌蚪死亡率的关系
Fig. 1 Relationship between Cr(Ⅲ) concentration and death ratio of tadpoles *Rana chensinensis*

24、48、72 和 96 h 对蝌蚪的零致死浓度(LC_0)、半致死浓度(LC_{50})、全致死浓度(LC_{100})及安全浓度(SC)。通过回归分析得出蝌蚪死亡几率与 Cr(Ⅲ) 浓度的回归方程(表 2)。

2.1.2 Cr(Ⅵ) 在浓度高于 $35 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cr(Ⅵ) 的

处理组暴露 8 h,浓度低于 $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cr(Ⅵ) 的处理组暴露 12 h 后,蝌蚪可出现中毒症状。其症状与 Cr(Ⅲ) 中毒症状相似。对死亡蝌蚪的解剖可见,鳃部无白色絮状物附着,但鳃部萎缩,表皮多处出现溃烂,肝肠灰白色。

比较不同 Cr(Ⅵ) 浓度与死亡率的关系,在相同暴露时间,蝌蚪死亡几率随 Cr(Ⅵ) 浓度的增加而明显升高(表 3,图 2)。用中线性回归法计算 Cr(Ⅵ) 在 24、48、72 和 96 h 对蝌蚪的 LC_0 、 LC_{50} 、 LC_{100} 和 SC。回归分析得出蝌蚪死亡几率与 Cr(Ⅵ) 浓度的回归方程(表 4)。

2.2 铬对林蛙蝌蚪生长的影响

蝌蚪在 Cr(Ⅲ) 和 Cr(Ⅵ) 水体暴露 21 d 和 35 d,分别对处理组蝌蚪的体重和体全长进行测量并计算其平均值。结果显示(图 3),在暴露 21 d 时,与对照组相比, 2.00 、 $3.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cr(Ⅲ) 组和 0.25 、

表 2 中国林蛙蝌蚪暴露于 Cr(Ⅲ) 中死亡几率与 Cr(Ⅲ) 浓度的回归方程
Table 2 Regress equation between death probability of tadpoles *Rana chensinensis* and Cr(Ⅲ) concentration

暴露时间 (h)	回归方程 ($y = bx + a$)	R^2	致死浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)			安全浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
			LC_0	LC_{50}	LC_{100}	
24	$y = 0.1414x - 4.3631$	0.7826	31.17 ± 1.06	34.09 ± 1.06	37.00 ± 1.06	3.21 ± 0.02
48	$y = 0.1690x - 5.1583$	0.9168	30.61 ± 0.65	33.47 ± 0.65	36.37 ± 0.65	3.21 ± 0.02
72	$y = 0.1957x - 5.869$	0.9978	29.82 ± 0.11	32.58 ± 0.11	35.34 ± 0.11	3.21 ± 0.02
96	$y = 0.2300x - 6.880$	0.9895	29.80 ± 0.20	32.05 ± 0.20	34.30 ± 0.20	3.21 ± 0.02

y,死亡几率;x,Cr(Ⅲ) 浓度;b,回归系数;a,斜率。

表 3 中国林蛙蝌蚪暴露于 Cr(Ⅵ) 的死亡数和死亡率($n=40$)
Table 3 Death number and ratio of tadpoles *Rana chensinensis* exposed to Cr(Ⅵ)

浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	24 h		48 h		72 h		96 h	
	死亡数	死亡率(%)	死亡数	死亡率(%)	死亡数	死亡率(%)	死亡数	死亡率(%)
10	0	0	0	0	0	0	0	0
17	3	7.5	5	12.5	6	15.0	10	25.0
30	4	10.0	7	17.5	15	37.5	23	57.5
35	4	10.0	11	27.5	21	52.5	27	67.5
40	7	17.5	12	30.0	22	55.0	30	75.0
45	9	22.5	19	47.5	27	67.5	34	85.0
对照	0	0	0	0	0	0	0	0

表 4 中国林蛙蝌蚪暴露于 Cr(VI) 后死亡几率与 Cr(VI) 浓度的回归方程

Table 4 Regress equation between death probability of tadpoles *R. chensinensis* and Cr(VI) concentration

暴露时间 (h)	回归方程 ($y=bx+a$)	R^2	致死浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)			安全浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
			LC_0	LC_{50}	LC_{100}	
24	$y=0.0054x-0.0479$	0.8763	11.36 ± 5.32	91.97 ± 5.32	172.57 ± 5.32	2.88 ± 0.19
48	$y=0.0115x-0.1142$	0.9070	11.75 ± 4.62	51.19 ± 4.62	90.63 ± 4.62	2.88 ± 0.19
72	$y=0.0190x-0.1815$	0.9914	9.70 ± 1.40	35.79 ± 1.40	61.89 ± 1.40	2.88 ± 0.19
96	$y=0.0239x-0.1883$	0.9847	8.21 ± 1.87	28.81 ± 1.87	49.42 ± 1.87	2.88 ± 0.19

y , 死亡几率; x , Cr(III) 浓度; b , 回归系数; a , 斜率。

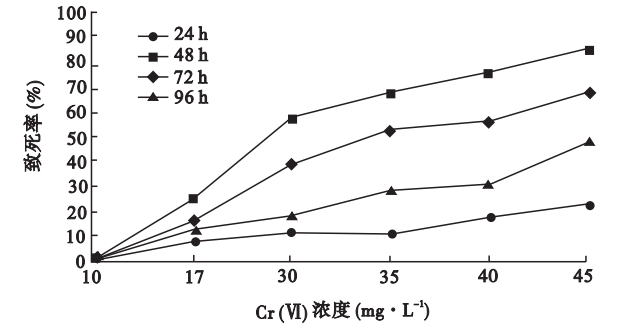


图 2 Cr(VI) 浓度与中国林蛙蝌蚪死亡率的关系
Fig. 2 Relationship between Cr(VI) concentration and death ratio of tadpoles *Rana chensinensis*

0.50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cr(VI) 组蝌蚪的体重增长较低 ($P < 0.05$); 而 0.50、1.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cr(III) 组和 0.75、1.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cr(VI) 组体重的增长更低 ($P < 0.01$)。在暴露 35 d, 与对照组相比, 仅 0.75、1.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cr(VI) 组蝌蚪体重增长被抑制 ($P < 0.01$), 其他

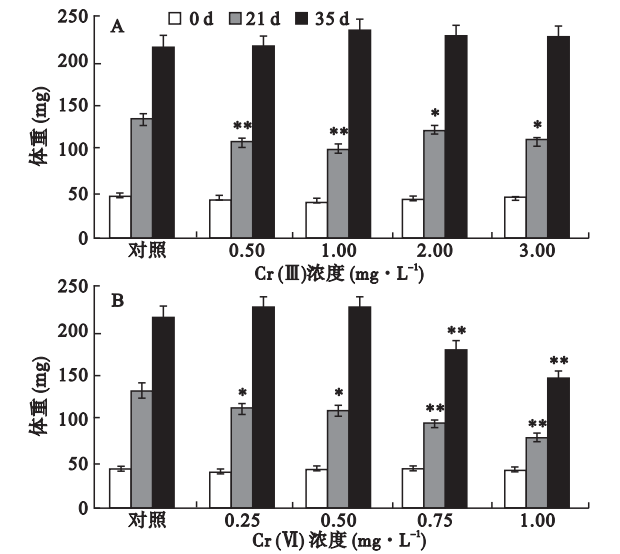


图 3 中国林蛙蝌蚪暴露于不同浓度 Cr(III) 和 Cr(VI) 中体重的比较
Fig. 3 Body weight of tadpoles *Rana chensinensis* exposed to different concentrations of Cr(III) and Cr(VI)
A. Cr(III); B. Cr(VI)。与对照比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。下同。

Cr(VI) 和 Cr(III) 处理组蝌蚪与对照组无显著差异。

蝌蚪体全长统计结果显示(图 4), 在暴露 21 d, 与对照组相比, 各 Cr(III) 浓度组蝌蚪的体长增加均受抑制, 其中 3.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组的抑制效应为极显著 ($P < 0.01$)。同时, 1.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cr(VI) 组的蝌蚪体长抑制效应为极显著 ($P < 0.01$), 0.75 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cr(VI) 组也呈现抑制效应 ($P < 0.05$)。在暴露 35 d, 除 1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cr(VI) 和 3.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cr(III) 组对蝌蚪体长仍呈现抑制效应外, 其余的处理组与对照组无明显差异。

比较 Cr(III) 和 Cr(VI) 暴露后蝌蚪的体重和体长, 除个别组外, 其变化规律趋于一致。可见 Cr(III) 和 Cr(VI) 对蝌蚪生长的抑制效应在一定浓度范围呈剂量效应, 时间累积效应不规律。

2.3 铬对蝌蚪发育的影响

统计不同浓度 Cr(III) 和 Cr(VI) 处理组蝌蚪从开始暴露时的 28 ~ 29 期到 75% 个体完全变态所需时间、死亡率及致畸率。结果显示, 与对照组相比,

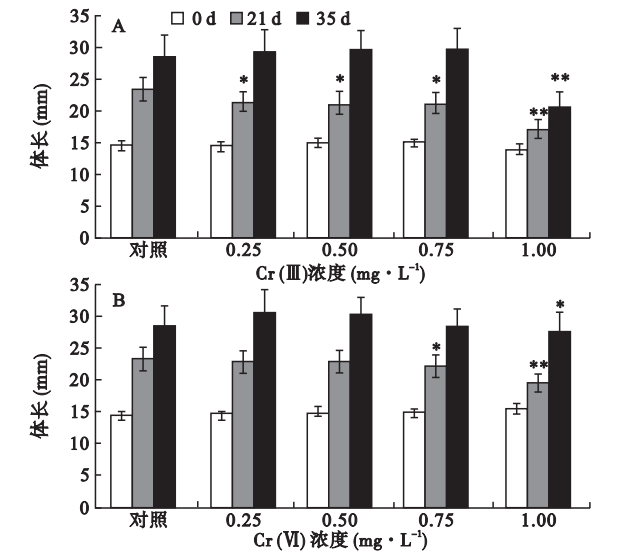


图 4 中国林蛙蝌蚪暴露于不同浓度 Cr(III) 和 Cr(VI) 中体长的比较
Fig. 4 Body length of tadpoles *Rana chensinensis* exposed to different concentrations of Cr(III) and Cr(VI)

表 5 中国林蛙蝌蚪暴露于 Cr(Ⅲ) 和 Cr(Ⅵ) 后的变态时间、死亡率和畸形率

Table 5 Metamorphosis time, death and abnormality ratio of tadpoles *Rana chensinensis* exposed to Cr(Ⅲ) and Cr(Ⅵ)

处理	浓度 (mg · L ⁻¹)	完全变态时间 (d)	死亡率 (%)	畸形率 (%)
对照	0	68.3±4.2	1.1	3.3
Cr(Ⅲ)	0.50	68.5±4.0	0	4.4
	1.00	67.8±4.6	3.3	0
	2.00	69.4±5.8	1.1	11.1
	3.00	69.4±6.2	1.1	11.1
Cr(Ⅵ)	0.25	67.2±4.8	2.2	6.7
	0.50	68.4±5.0	1.1	4.4
	0.75	72.4±5.4	1.1	13.3
	1.00	73.2±5.9	2.2	13.3

除 0.75、1.00 mg · L⁻¹ Cr(Ⅵ) 组 75% 的个体完全变态滞后 4 ~ 5 d 外,其他各组蝌蚪变态时间和死亡率均无显著差异(表 5)。但是,在 2.00、3.00 mg Cr³⁺ · L⁻¹ Cr(Ⅲ) 组和 0.75、1.00 mg · L⁻¹ Cr(Ⅵ) 组,蝌蚪的畸形率高于对照。畸型主要表现为尾巴弯曲,头部形状不规则,腹部膨大充水,前肢缺失等。蝌蚪的畸形主要出现在变态期。

3 讨 论

3.1 铬对中国林蛙蝌蚪的急性毒性

Cr(Ⅲ) 是动物所必需的微量元素,在哺乳动物中是相对无毒的。它参与机体内糖类、脂类和蛋白质等的代谢,是葡萄糖耐量因子(GTF)的重要活性成分,细胞对 Cr(Ⅲ) 基本不能吸收(John, 2004; Francis *et al.*, 2008)。由于 CrO₄²⁻ 与 SO₄²⁻/HPO₄²⁻ 具有相似的离子结构和相同的核电荷数,因此 Cr(Ⅵ) 很容易通过 SO₄²⁻/HPO₄²⁻ 离子通道进入细胞,并在细胞内还原为 Cr(Ⅲ),同时产生较强的氧化性,导致细胞结构甚至遗传物质的氧化损伤。通常认为,Cr(Ⅵ) 具有很强的毒性,以往在动物体内进行的急性毒性研究也都支持这一结论(Michael *et al.*, 1983; Debasis *et al.*, 2001; Debasis *et al.*, 2002)。另外,也有研究指出,Cr(Ⅲ) 可以与 DNA 的磷酸骨架及鸟嘌呤的 N-7 原子缓慢结合,从而导致 DNA 损伤(Hirohumi *et al.*, 2000)。

在本实验,林蛙蝌蚪的死亡率随着水体中 Cr(Ⅲ) 和 Cr(Ⅵ) 的浓度增加及暴露时间的延长而增高。统计结果显示,在含 Cr(Ⅲ) 水体中 24、48、72 和 96 h 的 LC₅₀ 分别为 34.09±1.06、33.47±0.65、32.58±0.11 和 (32.05±0.20) mg · L⁻¹,其安全浓度

(SC) 为 (3.21±0.02) mg · L⁻¹,可见 Cr(Ⅲ) 表现出较强的急性毒性,但 Cr(Ⅲ) 对蝌蚪在 24 ~ 96 h 的 LC₅₀ 变化范围较小,并不随暴露时间的延长而大幅度减小,这表明在较短时间内 Cr(Ⅲ) 并没有快速进入蝌蚪体内,也未对细胞产生直接毒性损伤。通过形态观察判断,蝌蚪死亡的真实原因是由于 Cr(Ⅲ) 在水体中可与蝌蚪皮肤表面的分泌物结合,形成絮状物,并粘附在鳃部,可能由此引起蝌蚪呼吸障碍,导致其窒息死亡。在含 Cr(Ⅵ) 水体中,蝌蚪在 24、48、72 和 96 h 的 LC₅₀ 分别为 91.97±5.32、51.19±4.62、35.79±1.40 和 (28.81±1.87) mg · L⁻¹,安全浓度(SC) 为 (2.88±0.19) mg · L⁻¹。与 Cr(Ⅲ) 处理相比,Cr(Ⅵ) 对林蛙蝌蚪在 24 ~ 96 h 的 LC₅₀ 从 91.97±5.32 到 (28.81±1.87) mg · L⁻¹,其变化范围较大,说明 Cr(Ⅵ) 可以进入蝌蚪体内产生累积,所以 LC₅₀ 在短时间内大幅度降低。同时,形态观察证实,蝌蚪在 Cr(Ⅵ) 中毒后,表皮发生溃变,鳃部呈明显萎缩,推测其原因是由于 Cr(Ⅵ) 进入组织细胞产生的强氧化损伤所致。

铬对蝌蚪的毒性研究多采用 Cr(Ⅵ),六趾蛙(*Rana hexadactyla*) 蝌蚪在含 Cr(Ⅵ) 水中 24、48、72 和 96 h 的 LC₅₀ 分别为 75.00、51.01、46.82 和 42.59 mg · L⁻¹ (Khangarot *et al.*, 1985)。黑眶蟾蜍(*Bufo melanostictus*) 蝌蚪在 24、48 和 96 h 的 LC₅₀ 分别为 49.14、49.21 和 43.63 mg · L⁻¹ (Khangarot & Ray, 1987)。黑斑蛙(*Rana nigromaculata*) 蝌蚪在含 Cr(Ⅵ) 的水体中 24 和 48 h 的 LC₅₀ 分别为 36.28 和 18.17 mg · L⁻¹ (汪学英等, 2001)。在本实验,中国林蛙蝌蚪与上述 3 种蝌蚪对 Cr(Ⅵ) 在相同暴露时间的 LC₅₀ 值存在一定差异,可能是由于不同种的蝌蚪对 Cr(Ⅵ) 的耐受能力存在差异,由此也可推断不同种类两栖动物在适应生存环境及其皮肤对铬的感受方面存在一定差异。同时,本研究表明,与镉、铜、铅等重金属相比,Cr(Ⅵ) 对于蝌蚪的急性毒性相对较弱(黄敏毅和张育辉,2006;石戈等,2007;王健鑫和王日昕,2008)。

3.2 铬对中国林蛙蝌蚪生长发育的影响

有报道显示,Cr(Ⅲ) 和 Cr(Ⅵ) 皆可抑制动物幼体的发育,导致机体发育畸形。Cr(Ⅲ) 可通过小鼠母体的胎盘影响胎儿畸形,使如头部形态异常和骨骼畸形(Matsumoto *et al.*, 1976)。Cr(Ⅵ) 浓度<0.2 mg · L⁻¹ 时对海湾扇贝(*Argopecten irradians*) 眼点幼虫的变态有异常的刺激作用,大于这一浓度的 Cr

(VI) 对其变态有抑制作用(匡世煊和张福绥, 1996)。用 10、20、40、80 和 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cr(VI) 对鮡状黄姑鱼(*Nibeia miichthioides*) 卵染毒 24 h, 结果各处理组卵的孵化率较对照均显著降低, 仔鱼畸形率显著升高, 且低浓度组的卵孵化率较低, 仔鱼畸形率较高(吴鼎勋和洪万树, 1999)。

在本实验, 蝌蚪在 SC 以下低剂量的 Cr(III) 和 Cr(VI) 水体中慢性暴露, 对其生长和发育仍然具有不同程度的抑制作用。在浓度为 3 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cr(III) 或 1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cr(VI) 的水体, 虽然对中国林蛙蝌蚪的死亡没有构成明显的威胁, 但可影响其生长发育, 蝌蚪的体重和全长明显小于对照组个体。另外, 在蝌蚪暴露 21 d, 浓度 >0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cr(III) 或 0.75 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cr(VI) 的水体, 蝌蚪生长也被阶段性的抑制。在暴露 35 d, 3 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cr(III) 及 1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cr(VI) 水体仍对蝌蚪的生长有一定程度的抑制。由此可见, 在安全浓度以下的低剂量铬离子对于蝌蚪的慢性毒性效应与暴露时间并不呈现简单的线性关系。分析其原因可能与蝌蚪在逐渐的生长过程中不同个体对于铬的适应以及产生的耐受力有关。

在 Cr(III) 和 Cr(VI) 的慢性暴露过程中, 与对照相比, 处理组蝌蚪的死亡率未产生明显变化, 表明本研究在急性暴露实验中所得出 Cr(III) 和 Cr(VI) 对林蛙蝌蚪的 SC 是准确的, SC 以下的铬不对蝌蚪构成急性毒性。蝌蚪从 28 ~ 29 期到 75% 个体变态所用的时间, 除 0.75、1.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cr(VI) 处理组蝌蚪变态略有滞后外, 其他处理组蝌蚪完成变态所需的时间未发生明显变化。说明在 SC 以下, Cr(III) 和 Cr(VI) 的污染水域对林蛙蝌蚪变态的影响并不显著。两栖类幼体在发育中常常产生畸形, 主要表现为部分肢体或趾的缺失或超数, 头、眼和心脏畸形, 体轴弯曲以及内脏卷曲等, 其中肢体和体轴畸形最为常见(William *et al.*, 2000)。在本研究的慢性暴露实验中, Cr(III) 和 Cr(VI) 处理组蝌蚪的畸形率明显高于对照, 表明铬可导致发育中的蝌蚪畸形, 这种现象虽发生在 SC 以下, 但出现在相对较高的剂量组。而且蝌蚪的畸形多发生在变态期, 由此可推断, 铬污染的水域对变态期蝌蚪的致畸效应可能最强。

参考文献

黄敏毅, 张育辉. 2006. 镉对中国林蛙蝌蚪生长发育的毒性效应. 生态学杂志, **25**(5): 535–540.

- 匡世煊, 张福绥. 1996. Cr^{6+} 对海湾扇贝早期发育的影响. 海洋学报, **18**(1): 84–90.
- 娄忠玉, 钱 续. 2003. 福尔马林对银鲑鱼苗半致死浓度试验. 水利渔业, **23**(1): 58.
- 石 戈, 王健鑫, 王日昕. 2007. Cu^{2+} 对中国林蛙蝌蚪生长发育的毒性效应. 吉林师范大学学报(自然科学版), (3): 71–73.
- 汪学英, 卢祥云, 李春梅, 等. 2001. 重金属离子对黑斑蛙胚胎及蝌蚪的毒性影响. 四川动物, **20**(2): 59–61.
- 王健鑫, 王日昕. 2008. Pb^{2+} 对中国林蛙蝌蚪生长发育的毒性效应. 浙江农业学报, **20**(3): 203–207.
- 吴鼎勋, 洪万树. 1999. 四种重金属对鮡状黄姑鱼胚胎和仔鱼的毒性. 台湾海峡, **18**(2): 186–201.
- 郑晓晶, 张育辉. 2008. 壬基酚对中国林蛙蝌蚪生长发育的毒性效应. 生态学杂志, **27**(8): 1–5.
- Andrew RB, Pieter TU. 2003. The complexity of deformed amphibians. *Frontiers in Ecology and the Environment*, **1**: 87–94.
- Arun Kumar RI, Priyadharsini R, Michael RD. 2000. Differential effect of chromium compounds on the immune response of the African mouth breeder *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Fish & Shellfish Immunology*, **10**: 667–676.
- Debasis B, Manashi B, Sidney JS. 2001. Chromium (VI) induced oxidative stress, apoptotic cell death and modulation of p53 tumor suppressor gene. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **222**: 149–158.
- Debasis B, Sidney JS, Bernard WD, *et al.* 2002. Cytotoxicity and oxidative mechanisms of different forms of chromium. *Toxicology*, **180**: 5–22.
- Dillon CT. 2000. Permeability, cytotoxicity and genotoxicity of Cr(III) complexes and some Cr(VI) analogs in V79 Chinese hamster lung cells. *Chemical Research Toxicology*, **13**: 742–748.
- Francis CL, Manashi B, Chandan KS, *et al.* 2008. Nutritional basis of beneficial effects of chromium(III) on obesity and diabetes. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **317**: 1–10.
- Gosner KL. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes of identification. *Herpetologica*, **16**: 183–190.
- Hirohumi A, Rohana A, Mancef N, *et al.* 2000. A comparative study of calf thymus DNA binding to Cr(III) and Cr(VI) ions. *The Journal of Biological Chemistry*, **275**: 10150–10153.
- John BV. 2004. Recent developments in the biochemistry of chromium(III). *Biological Trace Element Research*, **99**: 1–16.
- Khargarot BS, Ray PK. 1987. Sensitivity of toad tadpoles *Bufo melanostictus* (Schneider) to heavy metals. *Bulletin of*

Environmental Contamination and Toxicology, **38**: 523 – 527.

Khangarot BS, Sehgal A, Bhasin MK. 1985. “Man and biosphere” studies on the Sikkim Himalayas, Part 5: Acute toxicity of selected heavy metals on the tadpoles of *Rana hexadactyla*. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, **13**: 259–263.

Matsumoto N, Iijima S, Katsunuma H. 1976. Placental transfer of chromium chloride and its teratogenic potential in embryonic mice. *Journal of Toxicological Sciences*, **1**: 1–13.

Michael JT, Thomas HH, Karen EW. 1983. Chromium (VI) induced DNA lesions and chromium distribution in rat kidney, liver, and lung. *Cancer Research*, **43**: 5662–5667.

Paul TK, Sudipto H, Tapan KG. 2005. Growth performance and nutrient utilization in black Bengal bucks (*Capra hircus*) supplemented with graded doses of chromium as chromium chloride hexahydrate. *Journal of Veterinary Science*, **6**: 33–40.

William AH, Justin C, John KR. 2000. Incidence and impact of axial malformations in larval bullfrogs (*Rana catesbeiana*) developing in sites polluted by a coal-burning power plant. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **19**: 862–868.

作者简介 李 勃,男,1981 年生,助理研究员,博士研究生,主要从事动物生态毒理学研究。E-mail: libo@ms.xab.ac.cn

责任编辑 李凤芹
