

阿特拉津和毒死蜱对东北小鲵蝌蚪氧化应激的影响

王倩 孙胜男 赵文阁 于东*

哈尔滨师范大学生命科学与技术学院 哈尔滨 150025

摘要: 为了研究阿特拉津和毒死蜱单一及联合暴露对东北小鲵 (*Hynobius leechii*) 蝌蚪抗氧化酶活性的影响, 实验选择不同浓度、不同时间点阿特拉津和毒死蜱单一及联合暴露对东北小鲵蝌蚪超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 及丙二醛 (MDA) 的影响。结果表明, 随着暴露时间的增加及各处理组浓度的升高, 超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 活性明显降低, 丙二醛 (MDA) 水平明显上升, 从而说明阿特拉津和毒死蜱单一及联合暴露会对东北小鲵蝌蚪的抗氧化酶系活性产生影响, 进而产生毒理效应。当暴露 21 d 后, 通过恢复实验, 发现恢复末期与暴露末期相比, 低浓度组和中浓度组上述 3 种酶活性变化不显著, 而高浓度组上述 3 酶活性均有明显改善。

关键字: 阿特拉津; 毒死蜱; 联合作用; 东北小鲵蝌蚪; 抗氧化酶

中图分类号: Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2017) 06-1003-12

Effect of Atrazine and Chlorpyrifos on Oxidative Stress of Salamander (*Hynobius leechii*) Tadpoles from Northeastern China

WANG Qian SUN Sheng-Nan ZHAO Wen-Ge YU Dong*

College of Life Science and Technology, Harbin Normal University, Harbin 150025, China

Abstract: The present experiment analyzed the effect of atrazine and chlorpyrifos single or joint exposure on the activities of antioxidant enzymes including superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-PX) and malondialdehyde (MDA) at different time periods and concentrations in Salamander (*Hynobius leechii*) tadpoles from northeastern China. With the increase of exposure time and elevation of concentration in each treatment group, the activities of SOD, CAT and GSH-PX decreased significantly, while the level of MDA increased significantly (shown in Fig. 1, 3, 5), indicating that exposure of *H. leechii* tadpoles to atrazine and chlorpyrifos, single or joint, impairs antioxidant system and produces a toxic effect. After 21 days of exposure, the activities of various enzymes in the low or moderate concentration

基金项目 哈尔滨师范大学博士启动金 (No. 220601085), 哈尔滨师范大学深化教育教学综合改革项目 (No. X2015-2-013);

* 通讯作者, E-mail: yudong@hrbnu.edu.cn;

第一作者介绍 王倩, 女, 硕士研究生; 研究方向: 动物生态学; E-mail: 510671585@qq.com。

收稿日期: 2017-03-13, 修回日期: 2017-07-18 DOI: 10.13859/j.cjz.201706010

group was not different as compared to their counterparts at the end of recovery, while the high concentration group showed significant improvement of enzyme activities after recovery (shown in Fig. 2, 4, 6).

key words: Atrazine; Chlorpyrifos; Joint action; *Hynobius leechii* tadpole; Antioxidant enzyme

两栖类动物是生物群落的重要组成部分,大部分两栖类的幼体发育完全依赖水体,是联系水生和陆生环境生物类群的代表,在生态系统中发挥重要作用,因此两栖类往往是生态安全的良好指示物。近些年来,农药的使用量越来越大,与此同时两栖类的数量也急剧减少。这说明农药的大量使用是造成两栖类数量减少的重要原因(武正军等 2004)。阿特拉津和毒死蜱分别作为除草剂和杀虫剂的一种,二者在农业生产中使用量巨大,故施用后可以通过多种方式污染水资源,从而对水生生物种群造成了一定的破坏。已有研究发现,阿特拉津和毒死蜱会对两栖类幼体产生一定的不良影响,如造成个体发育迟缓(Boone et al. 2008),造成幼体变态率降低(Freeman et al. 2005),心体积变小,肠道卷曲存在异常,脊柱畸形(Lenkowski et al. 2008)以及骨骼肌畸形退化(Papis et al. 2006),导致胚胎畸形(Robles-Mendoza et al. 2009)等。

东北小鲵(*Hynobius leechii*)作为有尾两栖类,由于其独特的生活史和皮肤裸露且具高渗透性等生物学特征,其对环境变化尤为敏感(尚惠华等 2004),因此,其常被用来指示水污染状况(苑宇哲等 2004,周景明等 2006)。目前,关于阿特拉津和毒死蜱单一及联合暴露的氧化应激研究主要集中在对鱼类和无尾两栖类的影响。东北小鲵作为东北地区的常见种,近年来数量急剧减少、频于绝迹,是一个衰退的种群,因此应加大对东北小鲵的保护力度(赵文阁 2008)。与有尾两栖类的其他物种相比,东北小鲵对生存环境要求更高,更容易受到外界环境的影响,且由于东北小鲵蝌蚪在实验室易于养殖,满足作为毒理实验材料的条件。因此,以东北小鲵蝌蚪作为实验材料,通过采用不同浓度的阿特拉津和毒死蜱及其混合液处理

东北小鲵蝌蚪,观察其中毒反应并分析其组织中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-PX)活性及丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量的变化,以期生态安全和环境保护治理提供研究材料,为两栖动物的资源保护提供一定的理论依据,同时为阿特拉津和毒死蜱对两栖类氧化应激的影响提供更为充足的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 实验用东北小鲵种鲵采集于吉林省长白山山区,该地区森林植被较原始,无人干扰,无农药和杀虫剂施用。将采集的种鲵在实验室内用曝气 48 h 以上的自来水饲养,待其产卵。采用同一批孵化的蝌蚪作为供试动物。待东北小鲵蝌蚪出膜后,每天定时投入定量的饵料,每两天换一次水,待蝌蚪全部出膜一周后,选择大小均匀健康的个体进行实验。实验开始时受试蝌蚪的平均体重为(0.059 ± 0.015) g,平均体长为(5.89 ± 0.192) mm。在实验后期,东北小鲵蝌蚪均长出前后肢,但并没有登陆,仍生活在水中。

1.1.2 药品 阿特拉津和毒死蜱,分析纯,均为阿尔法公司生产。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)及丙二醛(MDA)生化检测试剂盒购于南京建成有限公司。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组与给药 首先进行急性毒性实验,根据预实验测得的 24 h 100%死亡浓度和 96 h 无死亡浓度,然后在这两个浓度之间设置 5 个质量浓度梯度,每个浓度梯度设 3 次

重复, 并设一个对照组, 每个质量浓度投放蝌蚪 20 尾, 记录各质量浓度组的 24 h、48 h、72 h 和 96 h 死亡数。用直线内插法, 求出各自的半致死质量浓度 (LC_{50})。在单因子毒性实验的基础上, 按质量浓度 1:1 进行 5 个质量浓度组的联合毒性实验, 记录 24 h、48 h、72 h 和 96 h 的死亡个体数目, 用水生毒理联合效应 Marking 指数相加法, 求出阿特拉津与毒死蜱双因子对东北小鲦蝌蚪的半致死质量浓度值。然后分别以各种毒物 96 h 半致死质量浓度的 1/5 (此实验组在实验 1~4 周内, 蝌蚪的自然死亡率比其他实验组高, 但是蝌蚪存活数量充足, 不影响实验取样)、1/50、1/500 依次作为高、中、低三个浓度组, 即毒死蜱 32.700 $\mu\text{g/L}$ 、3.270 $\mu\text{g/L}$ 、0.327 $\mu\text{g/L}$, 阿特拉津 860.0 $\mu\text{g/L}$ 、86.0 $\mu\text{g/L}$ 、8.6 $\mu\text{g/L}$, 毒死蜱和阿特拉津质量比 1:1 混合液 28.230 0 $\mu\text{g/L}$ 、2.823 0 $\mu\text{g/L}$ 、0.282 3 $\mu\text{g/L}$, 共 9 个处理组, 并设置空白对照组。整个实验共设置 3 个平行组, 每组中投蝌蚪 30 尾。为了保证实验的准确性, 每隔 1 d 更换全部的处理液, 实验期间每日早晚各喂食一次。在实验持续 7 d、14 d、21 d 和 28 d 时分别从各处理组取 2 尾蝌蚪用于各种酶活性的检测。实验 21 d 时, 取各处理组中的一半蝌蚪 (各处理组蝌蚪数量不等, 平均为 7 尾) 放入曝气 48 h 以上的自来水中, 进行恢复实验。恢复实验期为 7 d, 从恢复实验开始每隔 2 d 全部更换一次水, 每天定时喂食。

1.2.2 组织抗氧化指标的检测 分别在实验第 7、14、21、28 天取各浓度组东北小鲦蝌蚪 2 尾, 处死后准确称取其整体重量, 按重量与体积比为 1:9 的比例加入生理盐水, 冰水浴条件下制备成 10% 的组织匀浆, 在 2 500 r/min 条件下离心 10 min, 取上清, 再用生理盐水稀释成最佳取样浓度, 用于超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 及丙二醛 (MDA) 水平的测定。

超氧化物歧化酶 (SOD) 活性及总蛋白量的测定采用黄嘌呤氧化酶法, 用可见分光光度

计测定黄嘌呤氧化酶氧化形成亚硝酸盐的吸光度, 通过公式求得被测样品中的超氧化物歧化酶 (SOD) 活力, 超氧化物歧化酶 (SOD) 活力单位定义为每毫克组织蛋白在 1 ml 反应液中超氧化物歧化酶 (SOD) 抑制率达 50% 时所对应超氧化物歧化酶 (SOD) 量为一个活力单位, 结果以 U/mg 表示; 过氧化氢酶 (CAT) 活性的测定采用可见光法, 在 405 nm 处测定 H_2O_2 与钼酸铵作用产生的络合物的变化量, 可计算出过氧化氢酶 (CAT) 的活力, 过氧化氢酶 (CAT) 活力单位定义为每毫克组织蛋白分解 1 μmol H_2O_2 的量为一个活力单位, 结果以 U/mg 表示; 谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 量的测定采用紫外-可见分光光度计, 在 412 nm 处测定 5-硫代二硝基苯甲酸阴离子的吸光度, 继而计算谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 的量, 结果以 U/mg 表示; 丙二醛 (MDA) 的测定采用硫代巴比妥酸比色法, 通过在 532 nm 处测定丙二醛 (MDA) 与硫代巴比妥酸缩合产物的最大吸收峰, 从而可测出丙二醛 (MDA) 的值, 丙二醛 (MDA) 含量单位以 $\mu\text{mol/g}$ 表示。

2 结果与分析

2.1 阿特拉津对东北小鲦蝌蚪超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 及丙二醛 (MDA) 含量的影响

随着暴露时间的延长, 阿特拉津各浓度组东北小鲦蝌蚪超氧化物歧化酶 (SOD) 值、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 值整体呈下降趋势; 过氧化氢酶 (CAT) 值表现为先升高后逐渐降低的趋势, 在第 14 日各浓度组过氧化氢酶 (CAT) 值达到最大; 丙二醛 (MDA) 值呈逐渐上升的趋势, 但相对幅度较小。同一取样时间, 随着暴露浓度的增加, 超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 呈下降趋势, 丙二醛 (MDA) 值呈上升趋势。与对照组相比, 阿特拉津低浓度组表现为显著促进超氧化物歧化酶 (SOD)、

过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 活性 ($P < 0.05$), 中浓度组和高浓度组则为显著抑制超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 活性 ($P < 0.05$); 阿特拉津高浓度组丙二醛 (MDA) 水平明显高于对照组 ($P < 0.05$), 低浓度组和中浓度组则无显著性变化 (图 1)。

恢复末期与暴露末期相比, 阿特拉津各浓度组, 超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 仅有高浓度组表现出显著性的升高 ($P < 0.05$), 其他处理组均无显著性变化; 丙二醛 (MDA) 仅有高浓度组表现出显著性的降低 ($P < 0.05$), 其他处理组均无显著性变化 (图 2)。

2.2 毒死蜱对东北小鲵蝌蚪超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 活性及丙二醛 (MDA) 含量的影响

随着暴露时间的延长, 对照组和毒死蜱各处理组对东北小鲵蝌蚪超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 活性的影响均表现为先升高后降低, 且最高值均出现在实验第 14 天, 谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 值呈逐渐下降的趋势, 丙二醛 (MDA) 值呈逐渐上升的趋势。同一时间, 随着暴露浓度的增加, 超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 值呈逐渐下降的趋势, 丙二醛 (MDA) 值呈逐渐上升的趋势。同一取样时间, 与对照组相比, 毒死蜱低浓度组显著促进超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 活性 ($P < 0.05$), 高浓度组则表现为显著抑制超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 活性 ($P < 0.05$); 各浓度组对谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 活性都表现为显著抑制作用 ($P < 0.05$); 毒死蜱各浓度组丙二醛 (MDA) 水平显著高于对照组 ($P < 0.05$) (图 3)。

恢复末期, 同一浓度组与暴露末期相比,

超氧化物歧化酶 (SOD) 活性除高浓度组显著性升高 ($P < 0.05$), 其他各浓度组均无显著性变化; 过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 活性低浓度组无显著性变化, 中浓度组和高浓度组显著性升高 ($P < 0.05$); 丙二醛 (MDA) 水平仅有高浓度组表现出显著性的降低 ($P < 0.05$), 其他处理组均无显著性变化 (图 4)。

2.3 阿特拉津与毒死蜱联合在不同暴露浓度和暴露时间下对东北小鲵蝌蚪超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 活性及丙二醛 (MDA) 含量的影响

随着暴露时间的延长, 阿特拉津和毒死蜱联合各处理组超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 活性呈逐渐下降的趋势, 过氧化氢酶 (CAT) 值表现为先增高后逐渐降低的趋势, 在暴露第 14 日, 各浓度组过氧化氢酶 (CAT) 值达到最高, 丙二醛 (MDA) 值呈逐渐上升趋势。随着暴露浓度的增加, 各浓度组超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 值呈下降趋势, 丙二醛 (MDA) 水平呈逐渐上升趋势。与对照组相比, 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性低浓度组整体变化不显著, 中浓度和高浓度组则表现为显著性下降 ($P < 0.05$), 过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 活性各浓度组都表现为显著抑制作用 ($P < 0.05$), 各浓度组丙二醛 (MDA) 水平则显著高于对照组 ($P < 0.05$) (图 5)。

恢复末期, 同一浓度组与暴露末期相比, 阿特拉津和毒死蜱联合中浓度组和高浓度组超氧化物歧化酶 (SOD) 值显著升高, 而低浓度组超氧化物歧化酶 (SOD) 值无显著性变化; 过氧化氢酶 (CAT) 活性仅有低浓度组表现出显著性的增加 ($P < 0.05$), 其他处理组过氧化氢酶 (CAT) 活性均无显著性变化; 谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 活性, 中浓度组和高浓度组表现出显著性的升高 ($P < 0.05$), 低浓

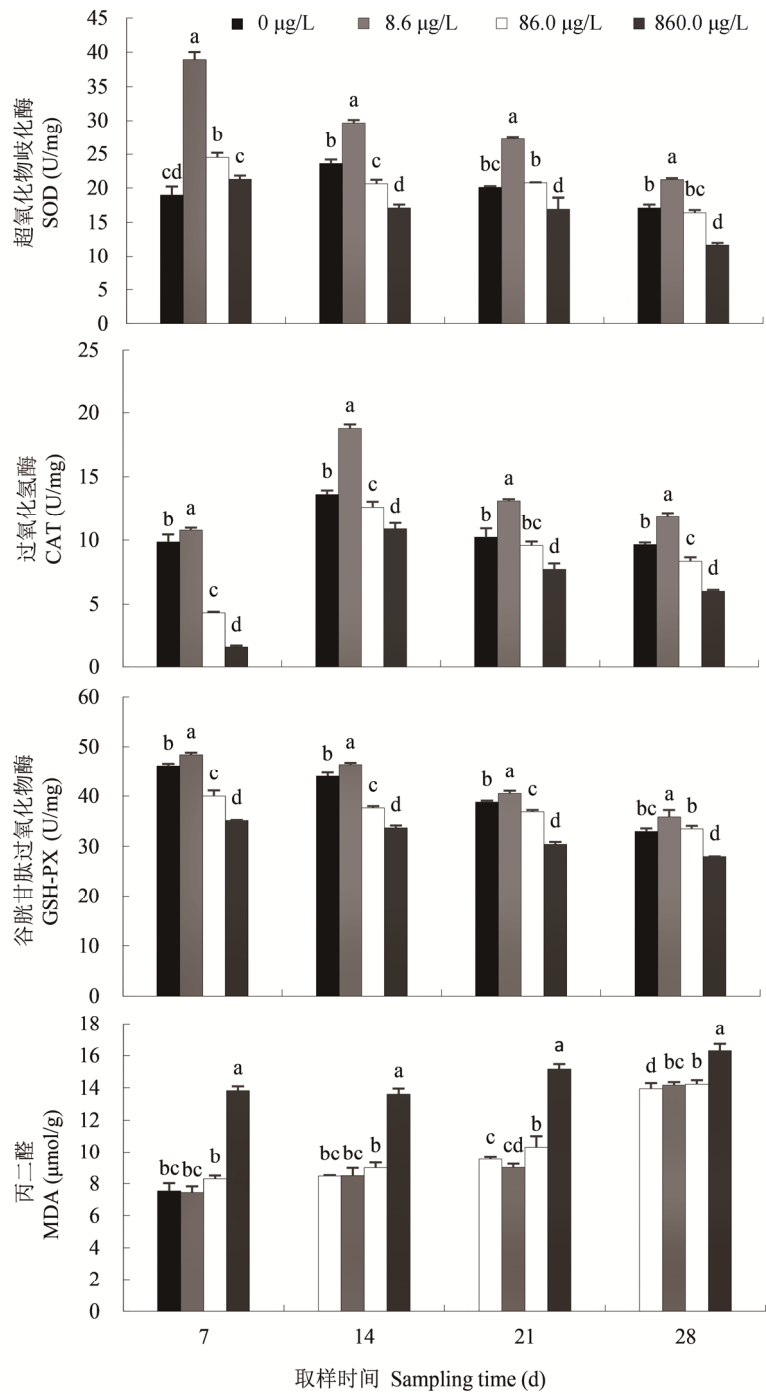


图 1 不同浓度阿特拉津对东北小鲵蝌蚪超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化氢酶（CAT）、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-PX）活性及丙二醛（MDA）含量的影响

Fig. 1 Effect of different concentrations of atrazine on superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-PX) activities and the level of malondialdehyde (MDA) in *Hynobius leechii* tadpoles

图中不同小写字母表示同一时间不同处理组差异显著 ($P < 0.05$)。
Different lowercase letters mean significant difference between different treatment groups at the same time ($P < 0.05$).

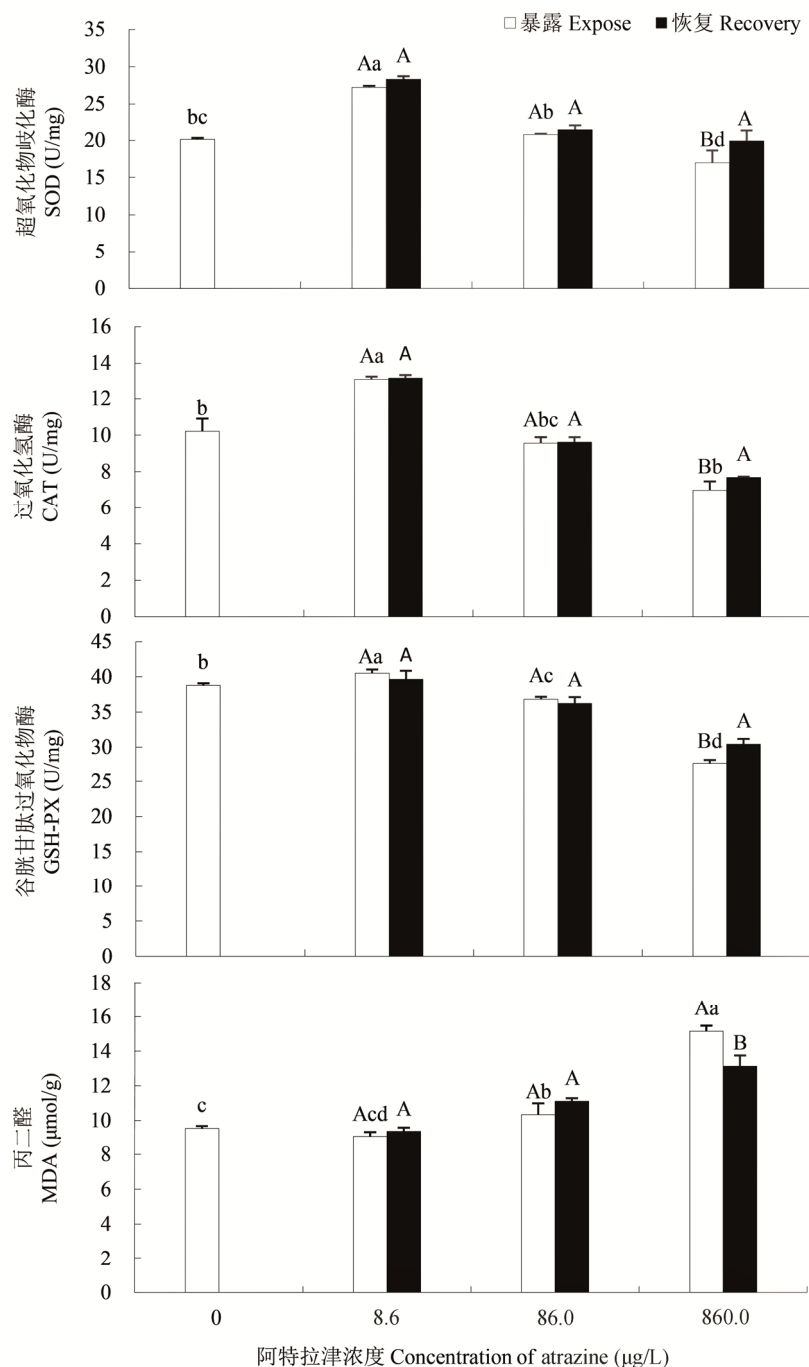


图2 恢复末期阿特拉津对东北小鲵蝌蚪超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 活性及丙二醛 (MDA) 含量的影响

Fig. 2 Effect of atrazine on superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-PX) activities and the level of malondialdehyde (MDA) in *Hynobius leechii* tadpoles at the end of recovery

图中不同大写字母表示同一处理组暴露末期与恢复末期差异显著 ($P < 0.05$); 不同小写字母表示同一时间不同处理组差异显著 ($P < 0.05$)。Different capital letters showed significant difference between the end of treatment and the end of recovery ($P < 0.05$); Different lowercase letters mean significant difference between different treatment groups at the same time ($P < 0.05$).

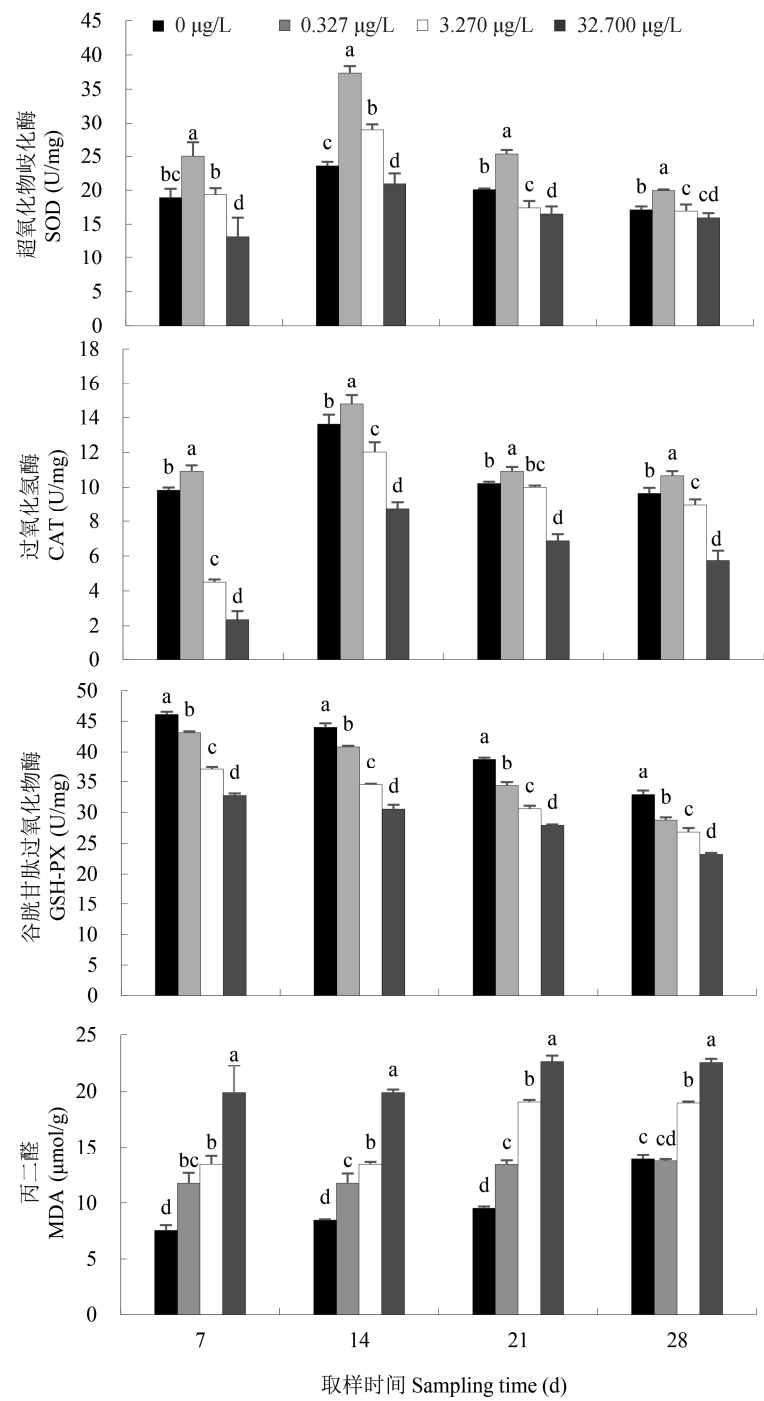


图 3 不同浓度毒死蜱对东北小鲵蝌蚪超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 活性及丙二醛 (MDA) 含量的影响

Fig. 3 Effect of different concentrations of chlorpyrifos on superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-PX) activities and the level of malondialdehyde (MDA) in *Hynobius leechii* tadpoles

图中不同小写字母表示同一时间不同处理组差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters mean significant difference between different treatment groups at the same time ($P < 0.05$).

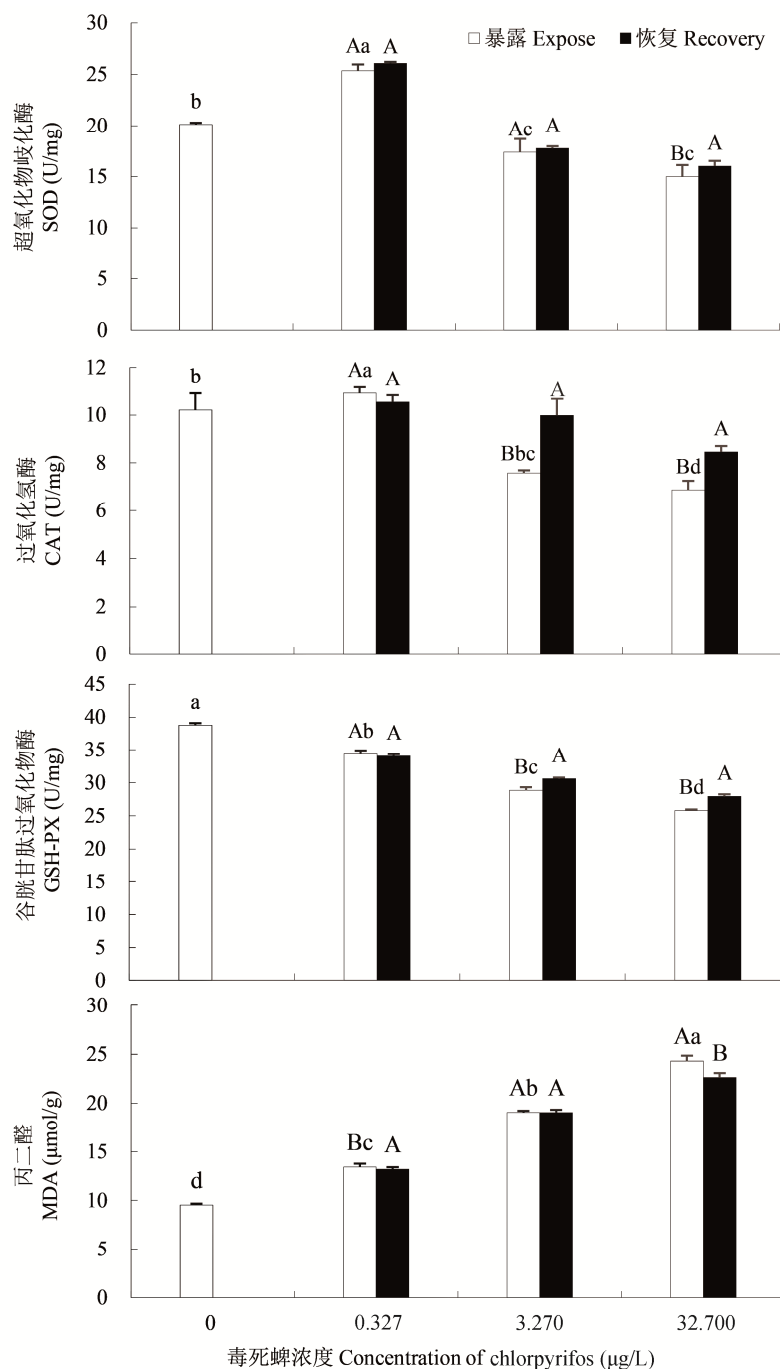


图4 恢复末期毒死蜱对东北小鲵蝌蚪超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 活性及丙二醛 (MDA) 含量的影响

Fig. 4 Effect of chlorpyrifos on superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-PX) activities and the level of malondialdehyde (MDA) in *Hynobius leechii* tadpoles at the end of recovery

图中不同大写字母表示同一处理组暴露末期与恢复末期差异显著 ($P < 0.05$); 不同小写字母表示同一时间不同处理组差异显著 ($P < 0.05$)。Different capital letters showed significant difference between the end of treatment and the end of recovery ($P < 0.05$); Different lowercase letters mean significant difference between different treatment groups at the same time ($P < 0.05$).

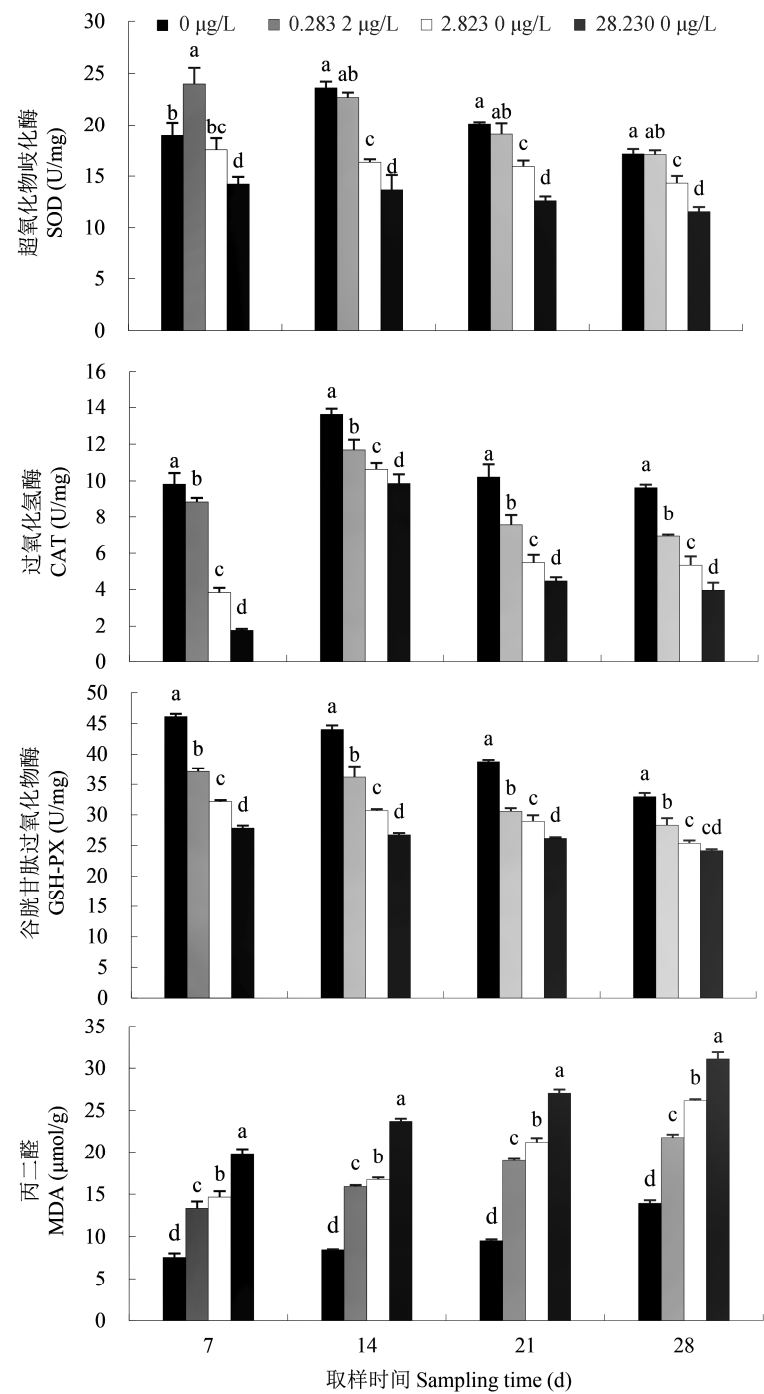


图 5 不同浓度阿特拉津和毒死蜱联合暴露对东北小鲵蝌蚪超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 活性及丙二醛 (MDA) 含量的影响

Fig. 5 Effect of different concentrations of atrazine and chlorpyrifos on superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-PX) activities and the level of malondialdehyde (MDA) in *Hynobius leechii* tadpoles

图中不同小写字母表示同一时间不同处理组差异显著 ($P < 0.05$)。
Different lowercase letters mean significant difference between different treatment groups at the same time ($P < 0.05$).

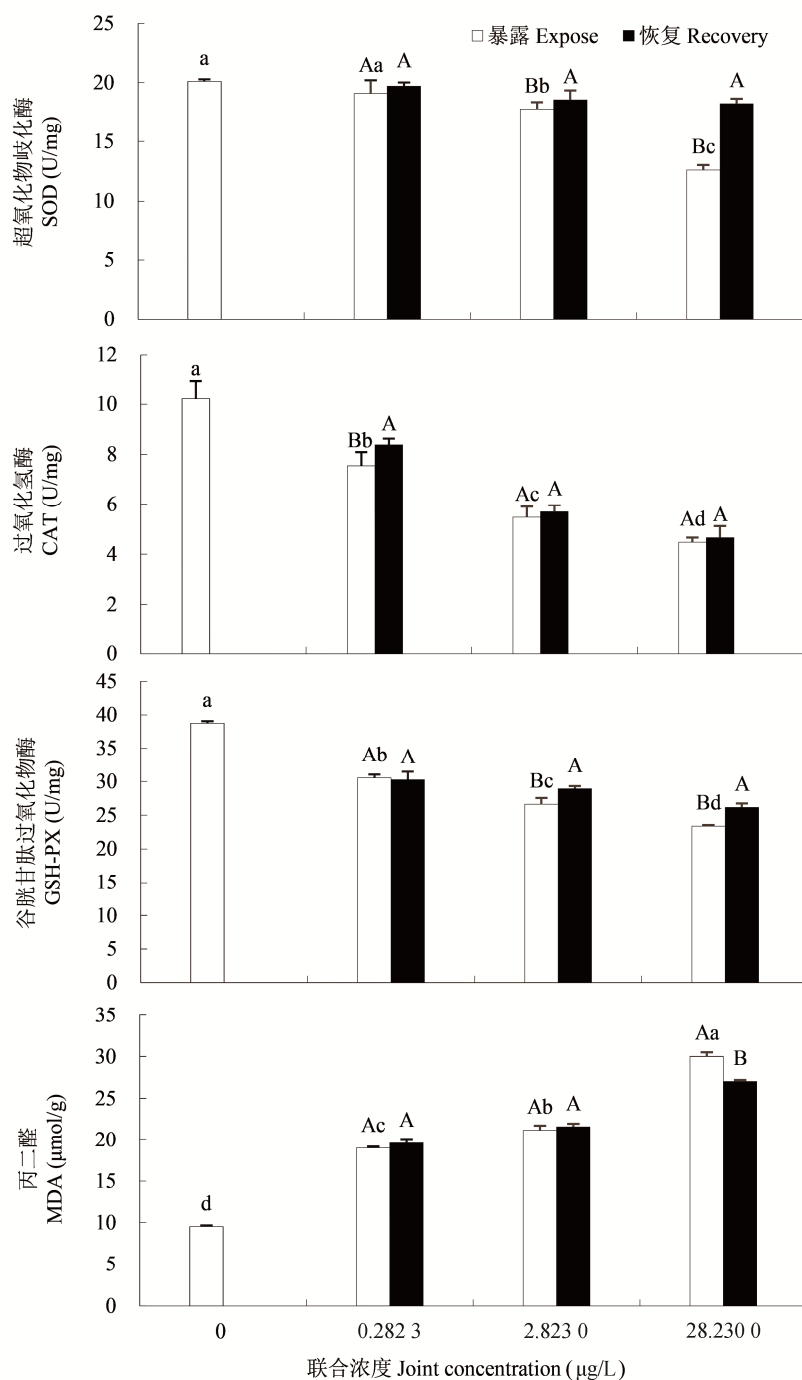


图6 恢复末期阿特拉津和毒死蜱联合暴露对东北小鲵蝌蚪超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 活性及丙二醛 (MDA) 含量的影响

Fig. 6 Effect of atrazine and chlorpyrifos on superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-PX) activities and the level of malondialdehyde (MDA) in *Hynobius leechii* tadpoles at the end of recovery

图中不同大写字母表示同一处理组暴露末期与恢复末期差异显著 ($P < 0.05$); 不同小写字母表示同一时间不同处理组差异显著 ($P < 0.05$)。Different capital letters showed significant difference between the end of treatment and the end of recovery ($P < 0.05$); Different lowercase letters mean significant difference between different treatment groups at the same time ($P < 0.05$).

度组无显著性变化；丙二醛（MDA）水平仅有高浓度组表现出显著性的降低（ $P < 0.05$ ），其他处理组均无显著性变化（图 6）。

3 讨论

阿特拉津是广泛应用的除草剂，毒死蜱为普遍施用的杀虫剂，二者常常被联合施用去除田间杂草和害虫。已有研究表明，阿特拉津和毒死蜱对生物都具有一定的毒性，二者联合对生物具有协同作用（邢厚娟 2010，陈德纯 2014，韩英等 2015）。

目前，关于阿特拉津和毒死蜱单一或二者联合的抗氧化研究主要集中在对鱼类、蚯蚓的研究。韩英等（2015）研究了不同浓度阿特拉津和毒死蜱单独及二者混合液对鲤（*Cyprinus carpio*）胚胎抗氧化的影响，结果发现随着各处理组浓度的增加，鱼体内超氧化物歧化酶（SOD）、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-PX）和过氧化氢酶（CAT）活性都随着浓度的增加下降；张家禹等（2016）研究了毒死蜱对斑马鱼（*Danio rerio*）胚胎超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化氢酶（CAT）、丙二醛（MDA）的影响，结果表明在毒死蜱的影响下，超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化氢酶（CAT）活性整体呈下降趋势、丙二醛（MDA）随着毒死蜱浓度升高而升高；焦铭等（2014）通过研究不用浓度毒死蜱对斑马鱼抗氧化酶系的影响，发现在处理前期随着浓度的增加，超氧化物歧化酶（SOD）和过氧化氢酶（CAT）活性显著升高，随着处理时间的延长，两种酶活性都显著下降。但是，到目前为止，关于阿特拉津和毒死蜱单一及联合暴露对有尾两栖类抗氧化酶的影响报道较少。

本实验通过研究阿特拉津和毒死蜱单一及联合暴露对东北小鲵蝌蚪超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化氢酶（CAT）、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-PX）、丙二醛（MDA）的影响，结果表明，随着暴露时间的延长，除毒死蜱各浓度组超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化氢酶

（CAT）和联合暴露组的过氧化氢酶（CAT）表现出先升高后降低的趋势外，其他各组的超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化氢酶（CAT）以及所有组的谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-PX）均表现为逐渐降低的趋势，丙二醛（MDA）则呈逐渐升高的趋势。超氧化物歧化酶（SOD）和过氧化氢酶（CAT）先升高后降低说明毒死蜱先激活超氧化物歧化酶（SOD）和过氧化氢酶（CAT）活性然后又抑制其活性，这与（焦铭等 2014）对斑马鱼的研究结果相一致。其次，随着浓度的升高，阿特拉津和毒死蜱无论是单一暴露，还是二者联合暴露，超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化氢酶（CAT）、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-PX）的活性整体呈下降趋势，这表明在生物体内脂质过氧化物增多，自由基在机体内累积，使机体处于氧化应激状态，从而造成了机体细胞损伤（邢厚娟 2010）；丙二醛（MDA）含量在实验中则呈升高趋势，表明动物机体在毒物进入机体后抗氧化能力降低（李昊阳等 2014）。这与以往对其他生物体抗氧化研究的结果相符（董玉瑛等 2013，蒋曼等 2015）。通过恢复实验发现，在恢复末期，东北小鲵蝌蚪的抗氧化系统会有明显修复，说明生物机体受到损伤后，如果环境得到改善，受损机体在一定程度上可以得到改善。

本实验通过研究阿特拉津和毒死蜱单一及联合暴露对东北小鲵蝌蚪抗氧化酶的影响，充实了关于阿特拉津和毒死蜱对两栖类毒理作用的研究，同时证明了关于两栖类数量减少与农药使用关系的论点（Hayes et al. 2010），为以后研究农药对两栖类的毒理影响提供了一定的理论依据。

参 考 文 献

- Boone M D, James S M. 2008. Interactions of an insecticide herbicide and natural stressors in amphibian community mesocosm. *Ecological Applications*, 3(13): 829–841.
- Freeman J L, Rayburn A L. 2005. Developmental impact of atrazine on metamorphosing *Xenopus laevis* as revealed by nuclear analysis

- and morphology. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24(7): 1648–1653.
- Hayes T B, Falso P, Gallipeau S, et al. 2010. The cause of global amphibian declines: A developmental endocrinologist's perspective. *Journal of Experimental Biology*, 213(6): 921–933.
- Lenkowski J R, Reed J M, Deininger L, et al. 2008. Perturbation of organogenesis by the herbicide atrazine in the amphibian *Xenopus laevis*. *Environmental Health Perspectives*, 116(2): 223–230.
- Papis E, Beranrdini G, Goranti R, et al. 2006. Triadimefon causes branchial arch malformations in *Xenopus laevis* embryos. *Environmental Science and Pollution Research*, 13(4): 251–255.
- Robles-Mendoze C, Garcia-Basilio C, Cram-Heydrich S, et al. 2009. Organophosphorus pesticides effect on early stages of the axolotl *Ambystoma mexicanum* (Amphibia: Caudata). *Chemosphere*, 74(5): 703–710.
- 陈德纯. 2014. 阿特拉津和毒死蜱单一及联合暴露对鲤鱼免疫器官自噬的影响. 哈尔滨: 东北农业大学硕士学位论文.
- 董玉瑛, 杨璋梅, 王晶, 等. 2012. 低剂量甲基毒死蜱对鲫鱼肝脏主要酶活性的影响. *武汉大学学报*, 58(4): 322–326.
- 韩英, 赵荣伟, 郝其睿, 等. 2015. 阿特拉津和毒死蜱对鲤胚胎发育的影响. *东北农业大学学报*, 46(7): 76–82.
- 蒋曼, 王强, 吴莉宇, 等. 2015. 农药毒死蜱和甲萘威对斑马鱼的联合毒性效应. *农药*, 54(3): 210–214.
- 焦铭, 孙雪, 李笔, 等. 2014. 毒死蜱对斑马鱼血清 CAT 和 SOD 活性的影响. *江西农业学报*, 26(3): 110–111.
- 李昊阳, 钟荣珍, 房义, 等. 2014. 动物氧化应激研究进展. *动物营养学报*, 26(11): 3217–3221.
- 尚惠华, 胡绍荣, 刘冬姝, 等. 2004. 生物标志物在环境评价中的应用研究概况与趋向. *污染防治技术*, 17(1): 49–53.
- 武正军, 李义明. 2004. 两栖类种群数量下降原因及保护对策. *生态学杂志*, 23(1): 140–146.
- 邢厚娟. 2010. 阿特拉津和毒死蜱单一及联合暴露对鲤鱼毒理作用的研究. 哈尔滨: 东北农业大学博士学位论文.
- 苑宇哲, 徐士霞, 姚春生, 等. 2004. 阿特拉津溶液中仙姑弹琴蛙蝌蚪抗氧化系活性的变化. *四川动物*, 23(3): 307–312.
- 周景明, 秦占芬, 徐晓白. 2006. 两栖类动物在环境毒理学研究中的应用. *环境与健康杂志*, 23(4): 369–371.
- 张家禹, 刘丽丽, 李国超, 等. 2016. 毒死蜱对斑马鱼胚胎氧化应激效应研究. *中国环境科学*, 36(3): 927–934.
- 赵文阁. 2008. 黑龙江两栖爬行动物志. 北京: 科学出版社.