

Cd²⁺对红裸须摇蚊 *Prosilocerus akamusi* 的急性毒性研究

郑先云^{1,2}, 龙文敏¹, 郭亚平¹, 马恩波¹

(1.山西大学生命科学与技术学院, 山西 太原 030006; 2.山西大学体育学院, 山西 太原 030006)

摘要:采用急性毒性实验方法,研究了水环境中常见污染物 Cd²⁺对红裸须摇蚊 *Prosilocerus akamusi* 的急性毒性,结果表明,Cd²⁺对红裸须摇蚊在 24 h、48 h 以及 72 h 的半致死浓度(LC₅₀值)分别为 235.63 (95% CI: 160.96~418.82)、165.17 (95% CI: 140.65~198.35) 及 94.12 (95% CI: 81.93~108.78) mmol·L⁻¹ Cd。Cd²⁺对红裸须摇蚊幼虫的毒性与对其他摇蚊物种幼虫有明显不同,该物种对 Cd²⁺急性毒性不敏感,有非常强的耐受能力。同一时间不同浓度的 Cd²⁺处理对 CAT 活性影响的 LSD 法多重比较检验结果显示,24 h 与 48 h 的各浓度 Cd²⁺对 CAT 活性都没有明显差异,只是在 72 h 时 CAT 活性在对照组与其他处理浓度组之间的差异达到了显著性水平。时间因子对 CAT 活性的影响则主要表现为 Cd²⁺浓度在 400 mmol·L⁻¹ 时,72 h 处理组与 48 h 处理组的活性表现出显著差异,CAT 活性在 72 h 时被显著抑制。

关键词: 红裸须摇蚊; Cd²⁺; LC₅₀; 急性毒性试验;

中图分类号: S481.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2008)01-0086-06

Acute Toxicities of Cd²⁺ on *Prosilocerus akamusi* (Diptera: Chironomidae)

ZHENG Xian-yun^{1,2}, LONG Wen-min¹, GUO Ya-ping¹, MA En-bo¹

(1.College of Life Science and Technology, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 2.College of Physical Education and Exercise, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: Acute toxic experiments were carried out to test the toxicity of Cd²⁺ on *Prosilocerus akamusi* (Diptera: Chironomidae). Median lethal concentrations (LC₅₀ values) were obtained using Probit method. For *Prosilocerus akamusi* (Tokuna) exposed to cadmium, the 50% lethal concentrations (LC₅₀) in 24, 48 and 72 h were observed respectively to be 235.63 (95% CI: 160.96~418.82), 165.17 (95% CI: 140.65~198.35), and 94.12 (95% CI: 81.93~108.78) mmol·L⁻¹ Cd. Cadmium toxicity to Chironomids larvae presented differed from the results found for other Chironomids species. Apparently, this species was very tolerant to Cd²⁺ during the short-time experiments. LSD test results presented that the treatment-effect on CAT activity was only showed significant differences after 72 h treatment. CAT activity did not change significantly at 24 h and 48 h courses. A longer exposure time (72 h) resulted in significant differences in Chironomids between the control and all six treatments (LSD test, P<0.05). The time-factor effect on CAT activity was only presented between 48 h and 72 h. CAT activity did not change significantly at 24 h and 48 h. A longer exposure time (72 h) resulted in significant differences in Chironomids in CAT (LSD test, P<0.05). CAT activity was significantly lower after 72 h compared with 48 h when the larvae were exposed to higher concentration of Cd (400 mmol·L⁻¹) (P<0.05).

Keywords: *Prosilocerus akamusi*; Cd²⁺; LC₅₀; acute toxicities

镉(Cd)是主要的重金属污染物之一,广泛存在于金属矿物质的开采、处理以及农业杀虫剂的使用过程中。镉也是一种非必需元素,当水体中 Cd 过量时,

就会对其中的水生动植物产生毒性。镉的存在无论浓度高低都是有毒的。有研究认为,镉引起生物体中毒的原因是由于重金属在生物体内累积到一定程度之后,金属硫蛋白不能满足与进入细胞的金属结合的需要时,多余的重金属就会与其体内的其他生物分子,包括酶和核酸等生物大分子相互作用,从而引起中毒现象^[1]。

收稿日期:2007-03-13

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30570247)

作者简介:郑先云(1974—),女,主要研究方向为运动损伤生物化学及分子机理研究。

联系作者:马恩波 E-mail: maenbo2003@sxu.edu.cn

急性毒性实验是指在较短的时间(96 h 之内),能引起实验动物死亡或剧烈损伤的方法。毒物的致死效应与受试动物接触毒物时间密切相关,因此,常采用以下指标:24 h LC_{50} 、48 h LC_{50} 或 96 h LC_{50} 。接触时间不同, LC_{50} 值亦不同。 LC_{50} 不是一种对毒物绝对的、定量的描述,它只是说明种群在一定的环境条件下,在一定时间内对毒物的反应程度。

过氧化氢酶(catalase, CAT)广泛存在于动物、植物和微生物细胞内,在细胞内可造成氧化损伤的代谢产物主要有过氧化氢(H_2O_2)和氢氧自由基($OH\cdot$)等,氢氧自由基和过氧化氢可以被过氧化氢酶 CAT 分解,以保护机体细胞稳定的内环境及细胞的正常生活。重金属对 CAT 的活性会产生影响,这主要是因为 CAT 含有丰富的巯基,重金属可与酶的巯基或其他活性基团相互作用,从而改变酶的活性,呈现致毒作用。CAT 等抗氧化防御系统的一个重要特征就是其活性成分或含量可由于污染物的胁迫而发生改变,从而可间接反映环境中氧化污染的存在,因此可作为环境污染胁迫的指标。过氧化氢酶近年来已被应用于生态毒理及生态化学领域,可用于估计受试化学品对生物的急性或亚急性毒性效应^[2]。

关于镉对水生动物的影响已有一些报道,但研究对象一般集中在鱼类、甲壳类、轮虫等后生动物。这些研究主要集中在急性毒性^[3,4]、生理生化^[4-6]和超微结构^[7]等方面。水生无脊椎动物是各种环境压力(如无机污染物)对水生生态系统污染程度的重要指示生物^[8]。其中,摇蚊幼虫分布广泛,且种类数量众多,因此被认为是水体质量的重要指示生物。摇蚊幼虫又称血虫,也有称“红虫”,隶属于节肢动物门昆虫纲双翅目(Diptera)摇蚊科(Tendipedidae),全世界已鉴定的摇蚊约 3 500 种。红裸须摇蚊(*Prosilocerus akamusi*)是水生生态系统食物链中的重要生物,广泛分布于中国的淡水环境中,也是摇蚊中的优势种。国内外重金属对摇蚊的毒性研究大多集中在重金属的毒性和富集方面,但重金属对红裸须摇蚊这一摇蚊中优势物种的毒力研究还少有报道。本文研究了 Cd^{2+} 对红裸须摇蚊在不同暴露时间(24 h、48 h 和 72 h)的急性毒性,以及 Cd^{2+} 对红裸须摇蚊过氧化氢酶活性的变化,为红裸须摇蚊作为一种指示生物用于水体环境监测提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

四龄摇蚊幼虫购买于太原市花鸟鱼虫市场(来自天津市郊),摇蚊的龄期由体长和头的大小来确定。摇蚊幼虫经准确鉴别后放于实验专用玻璃器皿中(20 cm × 15 cm × 20 cm)。在虫体暴露于 Cd^{2+} 以前,先在放有 2 L 去氯水和 1~2 cm 厚细沙的玻璃器皿中暂养 48 h。选择暂养期间活动正常、身体健康、反应灵敏、大小基本一致的幼虫随机分组。

试剂药品: $Cd(CdCl_2) \cdot 2.5H_2O$,购自天津试剂厂,为白色晶体颗粒,分析纯,纯度为 99%,配成 $2 \text{ mol} \cdot L^{-1}$ 的母液用于实验。

1.2 急性毒性实验方法

用曝气的自来水(水的硬度为 $260 \text{ mg} \cdot L^{-1}/CaCO_3$, pH=7.6)将可溶性的 $CdCl_2 \cdot 2.5H_2O$ 配制成 12.5、25.0、50.0、100.0、200.0 和 400.0 $mmol \cdot L^{-1}$ 的溶液,并以曝气自来水为对照,各组均设 3 个重复;所用的培养器皿为 200 mL 烧杯,每个烧杯中放入活动正常、大小基本一致的摇蚊幼虫 50 条,每个时间段共 21 个处理。急性暴露过程中,放有摇蚊幼虫及溶液的烧杯始终处于静止,并且停止给摇蚊幼虫喂食,实验时水温保持在 $(20 \pm 1)^\circ C$,烧杯上方盖有锡铂纸以防止水分蒸发。在幼虫暴露 Cd^{2+} 24、48 和 72 h 后,轻触摇蚊幼虫虫体,无明显反应的认定为已经死亡,观察和记录摇蚊幼虫的生长、中毒和死亡情况,将死亡虫体取走,并将每个处理中存活的个体保存在 $-80^\circ C$ 冰箱以测定 CAT 酶的活性。

1.3 CAT 活性的检测

取染毒 24、48 以及 72 h 的红裸须摇蚊,从每个处理的每个重复中随机取红裸须摇蚊 5~6 条分为一组于冰上研磨,共取 3 组,研磨时加缓冲液(pH 7.4, $0.01 \text{ mol} \cdot L^{-1}$ Tris-HCl, $0.000 1 \text{ mol} \cdot L^{-1}$ EDTA-2Na, $0.01 \text{ mol} \cdot L^{-1}$ 蔗糖以及 0.8% 氯化钠),于 $13\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ $4^\circ C$ 离心 10 min,取上清液检测 CAT 活性。CAT 采用南京建成生物研究所生产的试剂盒,按照磷酸铵法测定 CAT 活性。每毫克组织蛋白每分钟分解 $1 \mu\text{mol } H_2O_2$ 的酶量为一个 CAT 活力单位 ($U \cdot \text{mg}^{-1} \text{ prot}$)。红裸须摇蚊幼虫的蛋白质含量根据 Smith 等^[9]的方法,用酶标仪(美国 Molecular Devices, Spectra MAX 190 型)在 560 nm 处读数。

1.4 数据处理

观察并记录每个烧杯中摇蚊幼虫的存活数并按照 abbot 公式校正死亡率。根据 Probit 法 (SPSS for Win 10.0 计算软件)求得毒力回归方程 $y=a+bx$,计算摇蚊幼虫半数死亡时的 Cd^{2+} 浓度(24 h LC_{50} 、48 h LC_{50} 、

72 h LC₅₀), 相关系数 r 值以及 95% 置信区间^[10]。

在同一时间段不同浓度下 Cd 对 CAT 活性的影响用 SPSS 软件的单因素方差分析(one-way ANOVA) 进行多重比较, Cd 浓度和暴露时间对 CAT 活性的独立作用及其交互效应用双因素 ANOVA (two-way ANOVA) 分别检验。全部分析由统计软件 SPSS for Windows 10.0 完成。

2 结果

2.1 不同处理时间红裸须摇蚊幼虫对 Cd²⁺的敏感性比较

四龄红裸须摇蚊幼虫暴露于 Cd²⁺ (0、12.5、25.0、50.0、100.0、200.0 和 400.0 mmol·L⁻¹) 24、48 和 72 h 以后, 将急性毒性试验组 24、48 和 72h 处理后摇蚊幼虫的死亡情况作统计处理(图 1), 实验结果表明, Cd²⁺浓度越高, 虫体的中毒症状越明显, 中毒幼虫虫体变软, 行动缓慢; 随浓度增加, 虫体的死亡率也呈增加趋势, 死亡虫体呈现明显的脱水状态, 3 个暴露时间段中, 低浓度 12.5 mmol·L⁻¹ 的 Cd²⁺对摇蚊幼虫的毒性较低, 12.5、25.0 和 50.0 mmol·L⁻¹ 毒性变化较为缓慢, 当 Cd²⁺浓度增加到 100 mmol·L⁻¹ 时, 毒性效应显著增大; Cd²⁺的毒性随暴露时间的延长, 对红裸须摇蚊的毒性逐渐增大(图 1)。

由表 1 可见, LC₅₀ 值随时间的增加而逐渐减小。Cd²⁺对红裸须摇蚊 24 h 的 LC₅₀ (235.63 mmol·L⁻¹) 为 48 h LC₅₀ (165.17 mmol·L⁻¹) 的 1.427 倍, 48 h LC₅₀ (165.17 mmol·L⁻¹) 是 72 h LC₅₀ (94.12 mmol·L⁻¹) 的 1.755 倍, 表明随着处理时间的增加, 红裸须摇蚊幼虫对 Cd²⁺浓度变化的敏感性增加。

对概率单位(y)与浓度对数(x)的回归分析得到的回归方程见表 1。从 3 个方程的相关系数 r 值以及显著性概率 P 值($P<0.05$)来看, 不同暴露时间所得到的回归方程拟合较好, P 值小于 0.05, 因此认为回归方程是有意义的, 药剂剂量与供试摇蚊幼虫的死亡率呈现明显的正相关关系。

2.2 Cd²⁺处理时间和浓度对红裸须摇蚊幼虫 CAT 活性的影响

红裸须摇蚊幼虫经不同 Cd²⁺处理浓度和暴露时间 CAT 活性变化的影响见表 2。表中列出 Cd²⁺在不同时间处理红裸须摇蚊幼虫后体内 CAT 活性的方差分析结果。通过对实验数据的 F 检验分析, 可以看出实验中设计的处理时间和处理浓度所得到的 F 值分别为 5.152 和 2.065, 而二因素间交互作用的值为 0.664 8。由 P 值结果说明时间因子对红裸须摇蚊幼虫 CAT 活性产生了显著影响, 浓度因子的 P 值接近于 0.05, 但是未达到显著性水平, 所以在多重比较分析和作图中, 重点检验处理时间各水平和处理浓度各水平间对 CAT 活性值的影响程度, 因这两个因素间的交互作用较小而未予进一步检验。

在 LSD 法比较检验中, 分别采用显著水平为 0.05 和 0.01 进行比较, 在同一 Cd²⁺浓度的不同时间作用下 CAT 活性变化的多重比较结果显示, 只有 400 mmol·L⁻¹ 处理组的 CAT 活性在 48 h 与 72 h 存在显著差异, 也就是说在暴露 Cd²⁺浓度在 400 mmol·L⁻¹ 时, 24 h 和 48 h 两个处理时间段之间不存在显著差异, 而到 72 h 时, CAT 活性则明显低于 48 h。其他各浓度在不同处理时间的 CAT 活性之间不存在显著差

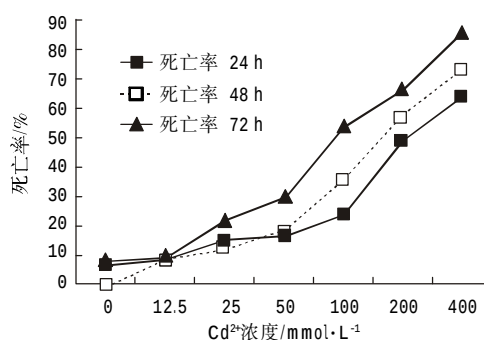


图 1 不同浓度 Cd²⁺处理红裸须摇蚊幼虫 24、48、72 h 的死亡率

Figure 1 The mortalities of *Propilocerus akamusi* larva after 24, 48 and 72 h treatment with Cd²⁺

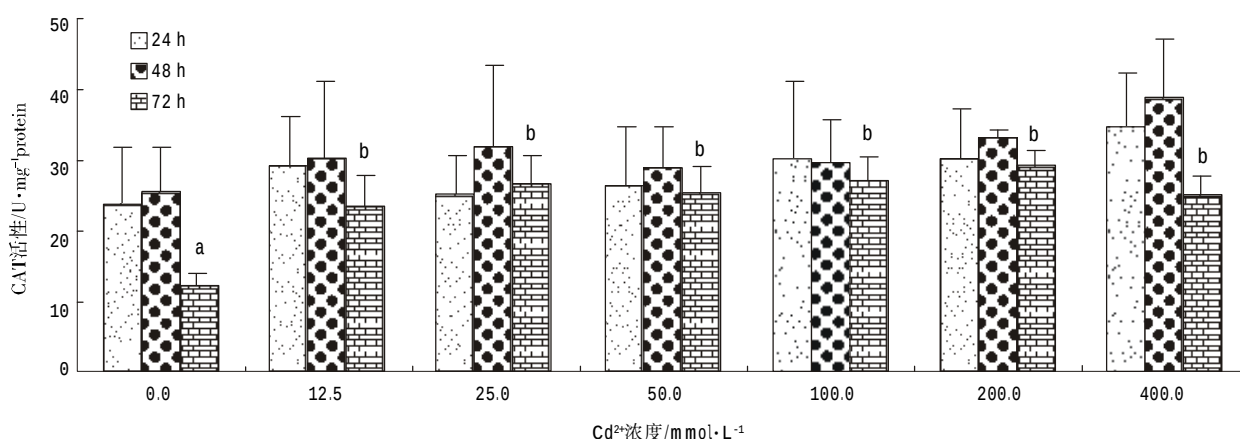
表 1 Cd²⁺处理摇蚊幼虫 24、48 和 72 h 后的 LC₅₀ 值, 95% 置信区间(CI), 回归方程及相关系数

Table 1 LC₅₀ values for tested Cd ions, their 95% confidence intervals (CI), regression equation, and correlation coefficient for *Propilocerus akamusi* larvae after 24 h, 48 h and 72 h treatments

暴露时间	24 h	48 h	72 h
LC ₅₀ /mmol·L ⁻¹	235.63	165.17	94.12
95% CI	160.96~418.82	140.65~198.35	81.93~108.78
回归方程	$y = 0.224x + 14.376$	$y = 0.269 2x + 13.289$	$y = 0.288 4x + 26.267$
相关系数	$r=0.971 6$ ($P=0<0.05$)	$r=0.957$ ($P=0.001<0.05$)	$r=0.936$ ($P=0.002<0.05$)

表 2 Cd^{2+} 处理的不同时间段红裸须摇蚊幼虫体内 CAT 活性的方差分析结果Table 2 Results of two-way ANOVA for the activity of CAT in *Procladius akamusi* larva treated with Cd^{2+} after 24, 48 and 72 h

变异来源	变异分解	自由度	均方	F值	概率P值
处理浓度	2 189.553	6	364.926	2.065	0.067
处理时间	1 821.162	2	910.581	5.152	0.008
处理浓度×处理时间	1 408.340	12	117.362	0.664	0.780

图 2 不同浓度 Cd^{2+} 溶液对红裸须摇蚊幼虫在不同暴露时间的体内 CAT 活性的影响

(不同小写字母表示同一时间下在 0.05 水平上差异显著)

Figure 2 CAT activity in *Procladius akamusi* larvae (mean $\pm$ S.E.M.) after 24, 48 and 72 h treatments

(Different letters are significantly different at 0.05 level at the same time course according to LSD test)

异。

同一时间不同浓度的 Cd^{2+} 处理对 CAT 活性影响的 LSD 法多重比较检验结果显示, 24 h 与 48 h 的各浓度 Cd^{2+} 对 CAT 活性都没有明显差异, 只是在 72 h 时 CAT 活性在对照组与其他处理浓度组之间的差异达到了显著性水平(图 2)。

3 分析与讨论

3.1 Cd^{2+} 对红裸须摇蚊幼虫的急性毒性

关于镉对水生动物的急性毒性已有一些报道。在对鱼类和甲壳类动物的研究中, 王立俊等^[11]指出 Cd^{2+} 对阿葡虾虎鱼 (*Aboma lactipes*) 和黑褐新糠虾 (*Neomysis awatschensis*) 的 96 h LC_{50} 分别为 20.577 1 和 0.700 2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 邹栋梁等^[3]的研究结果表明, Cd^{2+} 对斑节对虾 (*Penaeus monodon*) 仔虾的 24、48、72 和 96 h 的 LC_{50} 分别为 4.365、1.264、0.448 0 和 0.265 6 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 而 Cd^{2+} 对蚤状蚤 (*Daphnia pulex*) 的 24 h 和 48 h LC_{50} 的分别为 0.122 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 0.043 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[12]。

由表 1 可知, Cd^{2+} 对红裸须摇蚊幼虫 48 h 的 LC_{50} 为 165.17 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 远远高于其他水生动物的 LC_{50} 值, 可见红裸须摇蚊幼虫对 Cd^{2+} 的耐受性极强。从实

验结果可以看出, 与其他水生动物相比, 红裸须摇蚊对 Cd^{2+} 的毒性作用不敏感, 有研究报道一些摇蚊物种对重金属污染有很强的耐受性^[13-15]。有学者认为, 耐受性种群 Cd 排泄作用的加强以及与 Cd 结合的蛋白含量的增加可能是这些物种对重金属污染产生耐受性保护作用的重要原因^[16, 17]。

研究表明, 摇蚊幼虫对各类污染物的耐受能力不同^[18], 如摇蚊属 (*Chironomus*) 的种类耐有机污染; 前突摇蚊属 (*Procladius*) 的种类耐重金属污染; 双线环足摇蚊 (*Cricotopus bicinctus*) 的幼虫对电镀废水的污染物, 包括六价铬、氰和铜离子的耐受力很高, 然而某些摇蚊种类对水质的变化, 如营养盐、重金属、pH 和溶解氧等极为敏感, 因此人们常利用其不同种类对污染物的敏感和耐污特性来反映水质的变化和污染程度, 从而将其作为水体污染的主要指示生物^[19, 20]。本研究结果表明镉对红裸须摇蚊幼虫的毒性与对其他摇蚊幼虫毒性是不同的。Chironomus riparius 幼虫在喂食和饥饿状态下的 48 h LC_{50} 分别为 6 900 (3 600~13 200) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 6 300 (4 600~8 700) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd^{2+} , 羽摇蚊的 48 h LC_{50} 为 0.1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd^{2+} ^[22], 这些数值比本文研究中所用的浓度要低得多。从本文实验结果来看, 红

裸须摇蚊在急性毒性实验中表现出对 Cd²⁺有非常强的耐受能力,这种对高剂量 Cd²⁺的耐受性说明其具备较强的解毒能力。有研究表明红裸须摇蚊是 12 个摇蚊物种中最耐干燥的物种,认为红裸须摇蚊耐干燥的原因可能是由于其独特体表结构可以防止水分的蒸发^[23]。红裸须摇蚊对镉显著的耐受能力是否也与其体表结构有关(即可以阻止镉进入体内)还需要做进一步分析。

3.2 Cd²⁺处理时间和浓度对红裸须摇蚊幼虫 CAT 活性的影响

本实验从抗氧化防御系统的角度探讨了 Cd²⁺对红裸须摇蚊幼虫的潜在毒性机理。摇蚊幼虫与哺乳动物一样体内具有抗氧化防御系统,药物在代谢过程中通过其自身或中间代谢物的氧化还原循环产生大量的活性氧自由基,如 O₂⁻、OH[·]和 H₂O₂,这些活性氧自由基若不能及时被清除,则会引起氧化应激等毒理效应。CAT 作为一种抗氧化酶,在抗氧化防御系统中的作用是分解清除细胞器中所产生的 H₂O₂: 2H₂O₂ → 2H₂O + O₂。

在污染物胁迫下,CAT 活性的增加或抑制反映了污染物对生物细胞的损伤,从某种程度上可以作为环境污染早期伤害的预警指标^[24,25]。用抗氧化酶作为生物指示物的研究大多数集中在鱼类和贝类,对摇蚊幼虫的研究报道不多。本实验中暴露于不同浓度的 Cd²⁺在 24、48 h 时间段内各处理组 CAT 活性并没有表现出显著差异,随处理时间延长,到 72 h 时处理组与对照组的活性表现出显著差异,CAT 活性都明显高于对照组,说明随暴露时间延长,摇蚊幼虫自身防御系统起作用,幼虫体内有较多的 H₂O₂ 需要通过 CAT 酶的激活来除去。而对于不同暴露时间对摇蚊幼虫 CAT 活性的影响研究表明,当暴露 Cd²⁺浓度在 400 mmol·L⁻¹时,不同暴露时间的 CAT 活性有明显差异,在 400 mmol·L⁻¹时,CAT 活性从 24、48、72 h 先升高后降低,48 h 与 72 h 的 CAT 活性表现出显著差异,在 72 h 时显著降低,说明可能由于在 400 mmol·L⁻¹时随暴露时间延长,体内活性氧积累,对酶蛋白产生了破坏和消耗。

4 结论

本文研究了 Cd²⁺对红裸须摇蚊幼虫的急性毒性及 Cd²⁺对红裸须摇蚊幼虫活性的影响,结果表明,红裸须摇蚊幼虫对 Cd²⁺的敏感程度表现出显著的耐受性。从 CAT 的活性来看,随暴露时间延长,在 72 h 时

处理组与对照组之间表现出显著差异。而时间因子对 CAT 活性的影响则主要表现为 Cd²⁺浓度在 400 mmol·L⁻¹时,72 h 处理组与 48 h 处理组的活性表现出显著差异,CAT 活性在 72 h 时显著抑制。本文结果可为水体受 Cd²⁺污染的早期生物监测提供一定的科学依据。

参考文献:

- [1] 金泰虞,孔庆瑚,叶葶葶,等. 镉致人体健康损害的环境流行病学[J]. 浙江省医学科学院学报, 2001, 1: 89-97.
- [2] 周启星,孔繁翔,朱琳. 生态毒理学[M]. 北京: 科学出版社, 2004. 55-110.
- [3] 邹栋梁,高淑英. 铜、锌、镉、汞、锰和铬对斑节对虾仔虾急性致毒的研究[J]. 海洋环境科学, 1994, 13(3): 13-18.
- [4] 马广智,林浩然,张为民. 镉对鲤鱼血清促性腺激素和生长激素的影响[J]. 水产学报, 1995, 19(2): 121-126.
- [5] 蔺玉华,卢健民,谢洁,等. 镉对金鱼性激素的分泌及某些生理生化效应的研究[J]. 水产学杂志, 1996, 9: 16-18.
- [6] 王兰,孙海峰,李春源. 镉对长江华溪蟹精子发生的影响[J]. 动物学报, 2002, 48(5): 677-684.
- [7] 季相山,赵燕,丁雷,等. 海湾扇贝对海水中镉的富集规律研究[J]. 水产学报, 2006, 30(6): 801-805.
- [8] Richardson J S, Kiffney P M. Responses of a macroinvertebrate community from a pristine, southern British Columbia, Canada stream to metals in experimental mesocosms[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2000, 19: 736-734.
- [9] Smith P K, Krohn R I, Hermanson G T, et al. Measurement of protein using bicinchoninic acid [J]. Anal Biochem, 1985, 150: 76-85.
- [10] Stephan C E. Methods for calculating a LC₅₀. In: Mayer FL, Hamelink JL. (eds)[M] Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation. ASTM STP 634, Philadelphia, 1977, American Society for Testing and Materials, 65-84.
- [11] 王立俊,杨波. Hg, Cd 对阿葡虾虎鱼和黑褐新糠虾的急性毒性影响[J]. 海洋环境科学, 1999, 18(1): 50-54.
- [12] 黄宁昌. 镉对蚤状溞的毒性试验[J]. 水产养殖, 1994, 4: 20-22.
- [13] Wentzel R, McIntosh A, Atchison G. Evidence of resistance to metals in larvae of the midge Chironomus tentans in a metal contaminated lake [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 1978, 20: 451-455.
- [14] Williams K A, Green D W J, Pascoe D, et al. The acute toxicity of cadmium to different life stages of Chironomus riparius (Diptera: Chironomidae) and its ecological significance for pollution regulation [J]. Oecologia (Berlin), 1986, 70: 362-366.
- [15] Suedel B C, Rodgers J H Jr, Deaver E. Experimental factors that may affect toxicity of cadmium to freshwater organisms [J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1997, 33: 188-193.
- [16] Yamamura M, Suzuki K T, Hatakeyama S, et al. Tolerance to cadmium and cadmium-binding proteins induced in the midge larva, Chironomus yoshimatsui (Diptera, Chironomidae) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology, 1983, 75: 21-24.
- [17] Postma J F, van Nugteren P, Buckert-de Jong M B. Increased cadmium

- excretion in metal -adapted populations of the midge *Chironomus riparius* (Diptera) [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1996, 15: 332-339.
- [18] 谢建春. 水体污染与水生动物[J]. *生物学通报*, 2001, 36(6): 10-11.
- [19] 王俊才, 方志刚, 鞠复华, 等. 摇蚊幼虫分布及其与水质的关系[J]. *生态学杂志*, 2000, 19 (4): 37-37.
- [20] Mousavi S K, Primicerio R, Amundsen P A. Diversity and structure of *Chironomidae* (Diptera) communities along a gradient of heavy metal contamination in a subarctic water course[J]. *The Science of The Total Environment*, 2003, 307(1-3): 93-110.
- [21] Carolyn S B. Advancing monosaccharides as biomarkers: Part II . Effects of starvation and cadmium in *Chironomus riparius* as detected by fluorophore -assisted carbohydrate -electrophoresis[J]. *Aquatic Toxicology*, 2002, 61: 111-126.
- [22] Agata Fargasova. Winter third- to fourth -instar larvae of *Chironomus plumosus* as bioassay tools for assessment of acute toxicity of metals and their binary combinations[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safet*, 2001, 48: 1-5.
- [23] Tetsuo Suemoto, Koichiro Kawai, Hiromichi Imabayashi. A comparison of desiccation tolerance among 12 species of chironomid larvae [J]. *Hydrobiologia*, 2004, 515: 107-114.
- [24] 刘 慧, 王晓蓉, 王为木, 等. 低浓度锌及其 EDTA 配合物长期暴露对鲫鱼肝脏锌富集及抗氧化系统的影响[J]. *环境科学*, 2005, 26(1): 173-176.
- [25] Robillard S, Beauchamp G, Laulier M. The role of abiotic factors and pesticide levels on enzymatic activity in the freshwater mussel *Anodonta cygnea* at three different exposure sites [J]. *Comp Biochem Physiol C: Toxicol Pharmacol*, 2003, 135(1): 49-59.