

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20200804001

李潇,李丹,罗艺璇,等. 沉积物中无机硒对霍甫水丝蚓的生物效应研究[J]. 生态毒理学报,2021,16(3):208-217

Li X, Li D, Luo Y X, et al. Biological effects of inorganic selenium in sediments on *Limnodrilus hoffineisteri* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2021, 16(3): 208-217 (in Chinese)

沉积物中无机硒对霍甫水丝蚓的生物效应研究

李潇12,李丹12,罗艺璇12,杨纪琛12,刘洪宋12,雷浩俊12,陈红星12*,谢凌天12

1. 华南师范大学环境研究院,广东省化学品污染与环境安全重点实验室,环境理论化学教育部重点实验室,广州 510006 2. 华南师范大学环境学院,广州 510006

收稿日期:2020-08-04 录用日期:2020-10-11

摘要: 硒是动物体必需微量元素之一,水体沉积物中无机硒主要以 Se(W)和 Se(W)形态存在,而目前有关无机硒对底栖动物的 生物效应研究较为匮乏。本实验以典型底栖动物霍甫水丝蚓(*Limnodrilus hoffmeisteri*)为研究对象,通过测定抗氧化、神经和消 化系统中生化指标的变化,分析了暴露浓度(2~40 μg·g⁻¹)、暴露时间(2周和2个月)和硒价态(Se(W)和 Se(VI))对其生物效应 的影响。结果显示,脂质过氧化水平(以 TBARS 含量表示)在暴露 2 周和 2 个月后,均未受到硒价态的影响,但是暴露 2 周后, 在 5 μg·g⁻¹组有一升高峰值,而暴露 2 个月后,在 5 μg·g⁻¹组有一降低峰值。抗氧化酶活性在暴露 2 周后,受到硒价态显著影 响,Se(W)导致 3 种抗氧化酶活性逐渐升高并在 20 μg·g⁻¹达到平衡,而 Se(VI)在 5 μg·g⁻¹即造成抗氧化酶活性升高,并随浓度 的升高恢复到对照组水平;暴露 2 个月后,抗氧化酶未受到硒价态影响,过氧化氢酶(CAT)活性在 5 μg·g⁻¹浓度附近有一降低 峰值,超氧化物歧化酶(SOD)活性在 5 μg·g⁻¹浓度附近有一升高峰值,而谷胱甘肽硫转移酶(GST)活性没有变化。乙酰胆碱酯 酶(AChE)活性受到硒价态影响较小,暴露 2 周后只有 5 μg·g⁻¹ Se(W)导致 AChE 酶活性升高,而暴露 2 个月后,随着浓度升高 Se(W)和 Se(VI)均导致 AChE 酶活性降低。α-葡糖苷酶(α-Glu)活性仅在 5 μg·g⁻¹暴露组升高,且受到暴露时间和价态差异的 影响。研究表明,硒的暴露浓度、时间和硒价态显著影响硒的生物效应,这为阐明沉积物中无机硒对底栖无脊椎动物生物效 应及机制提供了基础数据。

关键词:无机硒;底栖生物;氧化损伤;神经系统;消化系统 文章编号:1673-5897(2021)3-208-10 中图分类号:X171.5 文献标识码:A

Biological Effects of Inorganic Selenium in Sediments on Limnodrilus hoffmeisteri

Li Xiao¹², Li Dan¹², Luo Yixuan¹², Yang Jichen¹², Liu Hongsong¹², Lei Haojun¹², Chen Hongxing^{12,*}, Xie Lingtian¹²

Environmental Research Institute, Guangdong Provincial Key Laboratory of Chemical Pollution and Environmental Safety, Key Laboratory of Theoretical Chemistry of Environment of Ministry of Education, South China Normal University, Guangzhou 510006, China
 School of Environment, South China Normal University, Guangzhou 510006, China

Received 4 August 2020 accepted 11 October 2020

Abstract: Selenium (Se) is an essential micro-nutrient for animals. Selenite (Se(IV)) and selenate (Se(VI)) are the

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: hongxing.chen@m.scnu.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金资助项目(41807352,41877366);科技部重点专项子任务(2018YFC1801200);广东省自然科学基金资助项目 (2020A1515010508)

第一作者:李潇(1993—),男,博士研究生,研究方向为水生毒理学,E-mail: xiaolee@m.scnu.edu.cn

dominant inorganic Se species in aquatic environments. However, the biological effects of inorganic Se on benthic animals are relatively understudied. In the present study, the ubiquitous oligochaete Limnodrilus hoffineisteri was used as test subject. The influences of Se exposure concentrations ($2 \sim 40 \ \mu g \cdot g^{-1}$), exposure duration (2 weeks and 2 months), and Se species (Se(IV) and Se(VI)) on L. hoffmeisteri were assessed via the evaluation of the biochemical alterations in antioxidant, nervous, and digestive systems. The results showed that the level of lipid peroxidation (TBARS content) was not affected by both Se species after exposures for 2 weeks and 2 months. However, a high and low peak level of TBARS existed at 5 $\mu g \cdot g^{-1}$ Se concentration after exposures for 2 weeks and 2 months, respectively. After exposure to Se for 2 weeks, the activities of antioxidant enzymes were significantly influenced by both Se species. Se(IV) induced the activities of 3 antioxidant enzymes, but gradually leveled off at 20 μ g·g⁻¹, while Se(\mathbf{N}) led to the induction of these enzymes at relatively lower level (i.e., 5 $\mu \mathbf{g} \cdot \mathbf{g}^{-1}$) and recovered to control levels at higher exposure concentrations. After exposure to Se for 2 months, the activities of antioxidant enzymes were not affected by both Se species. The activity of catalase (CAT) had a high peak at 5 μ g·g⁻¹, while the activity of superoxide dismutase (SOD) had a low peak at 5 μ g·g⁻¹, but the activity of glutathione S-transferase (GST) was not influenced by Se concentrations and Se species. The influence of Se species on the activities of acetylcholinesterase (AChE) was relatively minor. After exposure to Se for 2 weeks, the activity of AChE was increased only at 5 μ g · g⁻¹. After exposure for 2 months, the activity of AChE was gradually decreased with increased concentrations of both Se species. For the digestive enzyme α -glucosidase (α -Glu), its activity was increased at 5 μ g·g⁻¹ and was affected by both exposure duration and Se species. The present study has demonstrated that the biological effects of inorganic Se are significantly influenced by exposure concentrations, exposure duration, and Se species. The results of this study provide fundamental data for the elucidation of the biological effects and potential mechanisms of these effects of inorganic Se in benthic animals.

Keywords: inorganic selenium; benthos; oxidative stress; nervous system; digestive system

沉积物是水体环境污染物的主要的汇,同时沉 积物也是底栖动物生活的主要场所,底栖动物通过 生物扰动等可加速污染物从沉积物向水体的迁移, 使得沉积物成为水体污染物的源^[1]。此外,沉积物 也是多种等寡毛纲底栖动物的主要食物来源,其通 过吞吐和消化沉积物,从沉积物中获取有机质等食 物,但其中的污染物也常常被摄入体内,对生物体及 水生食物链造成潜在危害和风险^[2-3]。

硒是动物体必需微量元素之一,低剂量硒常具 有拮抗氧化应激的作用,并抑制亲巯基二价金属离 子的生物累积和毒性(如汞、镉和铅等),但是过量硒 对生物体又可产生一定的毒性效应^[4-7]。研究显示, 对于无脊椎动物而言,过量硒的毒性和汞毒性相当, 且远大于镉的毒性^[8]。水体中硒主要以无机硒形态 存在,其中主要是 Se(Ⅳ)和 Se(Ⅵ)^{9]},土壤及沉积物 中无机硒主要形态也以 Se(Ⅳ)和 Se(Ⅵ)为主^[10-12]。 研究表明,沉积物中硒主要分布于表层(~90%),硒 浓度一般低于1 μg·g⁻¹(干质量),并随深度降低(如 深度 30 cm 处浓度仅~0.3 μg·g⁻¹干质量),而富硒 或硒污染底栖环境硒浓度可达 4~30 μg·g⁻¹(干质 量)^[13]。痕量元素的迁移性和生物可利用性与其化 学形态密切相关,序列提取分析表明,硒非残渣态在 总含量中所占的比例相对较高,有着较高的生物可 利用性和潜在生态风险^[10-11]。

底栖动物群落的稳定性,在很大程度上反映了 整个水生态系统的健康程度^[14]。底栖动物定量定点 采集容易,其运动不敏捷,可真实反映固定区域的污 染水平,其种类的多样性比鱼类大,对水体污染的耐 受性和适应性因种类或分类群的不同而有较大变 化,因而底栖动物可在河流生态评价中用作指示生 物,欧美国家也已将底栖动物作为水质指示动物^[15]。 此外,通过底栖动物进行生物监测可了解到水质的 长期变化,综合表征污染物的毒性。水环境中部分 摇蚊幼虫^[1]和寡毛纲少数种(如霍甫水丝蚓)等被广 泛用来作为水体污染指示生物^[2]。

食物相硒是过量硒毒性的主要作用途径^[5,16]。 底栖食物网中,水体底栖生物中的硒是食物链硒传 递和累积的重要一环^[17]。霍甫水丝蚓为底栖环境的 优势种之一,作为耐污种在水生态评价中具有重要 地位^[16,18]。以往研究多认为底栖动物对污染物耐受 性较高,其本身只是作为污染物在食物链中传递的 媒介,其本身受到的影响研究很少。我们前期探讨 了霍甫水丝蚓可以通过打洞和摄食等方式改变沉积 镭/水界面硒的分布^[16]。反之,沉积物中无机硒是否 对其中的底栖动物造成一定的生态风险有待研究。 因此,本研究将典型底栖动物霍甫水丝蚓暴露于 2 种无机硒(Se(IV)和 Se(VI)),通过测定抗氧化系统 (TBARS、CAT、SOD 和 GST)、神经系统(AChE)和消 化系统(α-葡糖苷酶)酶活性的变化,探讨无机硒对 底栖动物的生物效应,为沉积物中无机硒对底栖动 物的生态风险评价提供基础数据。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 试验材料

霍甫水丝蚓购自广州市水产市场,在实验室中 于 18 L 玻璃缸中暂养。水丝蚓暴露实验所用溶液 根据 ASTM 标准进行配制(48 mg·L⁻¹ NaHCO₃,30 mg·L⁻¹ CaSO₄·2H₂O,30 mg·L⁻¹ MgSO₄,2 mg·L⁻¹ KCl,pH 7.4)。实验开始 1 周前挑选体长大致等同 的霍甫水丝蚓成体,将水丝蚓转移至实验条件下适 应环境,每天喂食少量粉末饲料(tetramin),饲料含粗 蛋白>47%,粗脂肪>10%,粗纤维<3%,水分<6%, 磷>1%,维生素 A>15 000 IU·kg⁻¹,维生素 B12 110 mg·kg⁻¹,维生素 C 390 mg·kg⁻¹,维生素 D3 1 400 IU·kg⁻¹,维生素 E 140 IU·kg⁻¹,烟酸 700 mg·kg⁻¹, 肌醇 1 400 mg·kg⁻¹,胆碱 2 100 mg·kg⁻¹,生物素>1 mg·kg⁻¹,Omega-3 脂肪酸 8 000 mg·kg⁻¹。

实验所需所有容器均在实验前于 50% 硝酸溶液中清洗,并由超纯水冲洗后烘干使用。亚硒酸钠 (Na_2SeO_3 , Se (IV)) 和 硒 酸 钠 ($Na_2SeO_4 \cdot 10H_2O$, Se(VI))购于 Sigma-Aldrich (美国)。

1.2 硒沉积物暴露

实验所需沉积物取自广州水源地(113°47'42" N,23°46'01"E),实验开始前将沉积物过筛(500 µm),-80 ℃冷冻杀灭其中的生物,48 h 后解冻,沉 降并去除上覆水对沉积物进行检测。沉积物水分含 量为56%,总氮(TN)、总磷(TP)、氨(NH₄⁺)和总有机 碳(TOC)含量分别为0.15%、0.05%、0.01%和2.1%。 烘干后检测其砂含量为0.5%,粉砂含量为40.8%, 黏土含量为58.7%。所用沉积物总硒背景值约为 0.2 µg·g⁻¹(干质量)^[16]。

本实验共设置 9 个处理组:空白对照组,4 个 Se(Ⅳ)处理组(2、5、20 和 40 μg·g⁻¹干质量),4 个 Se(VI)处理组(2、5、20和40µg·g⁻¹干质量),每个处 理组设6个平行,共54个烧杯。其中,3个平行(27 个烧杯)用于暴露2周后的测定,另外3个平行用于 暴露2个月后的测定。通过计算沉积物含水量,分 别向处理组加入一定量对应形态的硒母液并搅拌均 匀。室温条件下平衡48h,随后将沉积物分放在酸 洗过的1L玻璃烧杯中,每个烧杯放入约450g沉 积物(湿质量),沉积物高度约为2.5 cm。每个烧杯 加入如上配制的ASTM标准溶液600mL,并用记号 笔标识液面位置。随后,每个烧杯中放入2g霍甫 水丝蚓(约200条)。光照周期为16h光照:8h黑 暗,水丝蚓硒暴露期间不喂食(水丝蚓以沉积物中有 机质为食),不曝气,每隔2d加入适量纯水(DI水) 至标识的液面位置,避免上覆水体积由于挥发等因 素造成大幅波动。

暴露2周和2个月后,分别收集各烧杯中的水 丝蚓,在干净的配制水中清空肠道6h。随后,用纸 拭干水丝蚓体表水分,称量质量,于-80℃冰箱保 存,用于各个生化指标的测定。

1.3 生化指标检测

每个生化指标测定均选取约 20 mg 水丝蚓,测 定采用6个重复(n=6)。将各组织样品按1:9质量 体积比(1 mg:9 µL)加入预冷生理盐水,冰浴匀浆, 离心取上清备用。脂质过氧化水平和酶活性测定均 采用96孔板法于酶标仪(Tecan Infinite M200)进行 测定,根据物质特性选择相应波段确定其浓度与吸 光度的关系,具体步骤参考本实验室近期研究中的 方法进行[19-21]。生化指标包括抗氧化系统中脂质过 氧化水平、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD)和谷胱甘肽硫转移酶(GST)活性,神经系统中 乙酰胆碱酯酶(AChE)活性,以及消化系统中α-葡萄 糖苷酶(α-Glu)活性。脂质过氧化水平通过测量硫 代巴比妥酸反应物质(TBARS)含量来确定,结果表 示为 nmol·mg⁻¹ protein。酶活性的单位定义为单位 总蛋白浓度对应的酶活性 $(mU \cdot mg^{-1} \text{ protein } \vec{u} U \cdot mg^{-1})$ mg⁻¹ protein),总蛋白浓度用 Bradford 方法进行测定。

1.4 数据分析

图中数据为平均值±标准误差(Mean±SE),采用 GraphPad Prism 8.0 对数据进行统计分析和作图,用 Kolmogorov-Smirnov 和 Levene 方法检验数据的正 态性和方差齐性。采用单因素方差分析(one-way ANOVA)和 Tukey 法进行分析及多重比较(显著性 水平为 P<0.05)。

2 结果与讨论(Results and discussion)

2.1 硒暴露对霍甫水丝蚓抗氧化系统的影响

2.1.1 硒暴露对霍甫水丝蚓脂质过氧化水平的影响

霍甫水丝蚓在硒暴露后,体内脂质过氧化水平 (TBARS 含量)受到暴露时间的影响较大,而受到价 态的影响较小。暴露 2 周后,水丝蚓体内 TBARS 水平整体是升高趋势,在 2~20 μg·g⁻¹浓度区间有 一个明显的上升峰值,且在 5 μg·g⁻¹和40 μg·g⁻¹这 2 个浓度处理组显著升高,5 μg·g⁻¹暴露组远高于 40 μg·g⁻¹暴露组(图 1 (A1));暴露 2 个月后, TBARS 水平在 2~20 μg·g⁻¹浓度区间有一个降低 的峰值,随后随着浓度升高逐渐恢复到对照组水 平(图 1(B1))。

水丝蚓体内 TBARS 水平在暴露 2 周后升高, 可能是由于水丝蚓对于 Se(IV)和 Se(II)的应激反 应,导致体内脂质过氧化水平升高。无机硒进入水 丝蚓体内,进行一系列氧化-还原反应,从而生成过 量自由基,造成一定的胁迫效应^[3,522]。研究表明,夹 杂带丝蚓(Lumbriculus variegatus)暴露于 20 µg·g⁻¹ Se(IV)和 Se(VI)2 周后,体内 TBARS 水平显著升 高^[3], 而 0.6 μg·g⁻¹ Se(IV)和 Se(VI)暴露可显著提高 仿刺参(Stichopus japonicas)体内耗氧率^[23],提示硒的 短期暴露对自由基水平的促进作用。随着暴露浓度 的升高,水丝蚓体内 TBARS 水平并不是线性升高, 而仅在 5 μg·g⁻¹和 40 μg·g⁻¹暴露组显著高于对照 组,且低浓度暴露组(5 µg·g⁻¹)高于高浓度暴露组 (40 μg·g⁻¹),表明 5 μg·g⁻¹暴露条件下,水丝蚓对硒 的吸收和转化较为迅速,可能属于主动吸收阶段;而 在最高浓度40 μg·g⁻¹条件下,过高的硒浓度可能造 成其体内抗氧化系统的损伤,水丝蚓对于硒的吸收 转为被动吸收阶段,从而通过降低生物累积因子 等[16.24]途径降低过量硒对生物体的毒性效应。安德 爱胜蚓(Eisenia andrei)通过滤纸接触法暴露于 Se(IV)和 Se(VI) 48 h 后,其体内 TBARS 水平也显著 升高,和本研究结果类似,该研究也发现这2种无机 硒对蚓体 TBARS 水平的诱导不是线性变化,而是 仅在中间浓度(0.5 μg·cm⁻²)和最高浓度(5 μg·cm⁻²) 有显著升高[25]。而暴露2个月后,低浓度硒暴露似 乎对水丝蚓有一定的有益作用(2~20 μg·g⁻¹),表现 为脂质过氧化水平的降低,而高浓度又逐渐升高其 体内脂质过氧化水平,暗示过量硒暴露条件下,硒有 益效应的消失或者毒性效应的出现^[4,7]。

2.1.2 硒暴露对霍甫水丝蚓抗氧化酶活性的影响

水丝蚓体内 3 种抗氧化酶活性(CAT、SOD 和 GST)在暴露 2 周后,其变化趋势相似,但是 Se(IV)和 Se(VI)暴露组差异明显。Se(IV)暴露后,抗氧化酶活 性随着暴露浓度逐渐升高,并在 20~40 µg·g⁻¹达到 平衡;而 Se(VI)暴露后,抗氧化酶活性在 5 µg·g⁻¹达 到峰值,并随后逐渐降低到对照组水平(图 1(A2)~ (A4))。有趣的是,硒暴露 2 个月后,水丝蚓体内 3 种抗氧化酶的活性基本仅受到硒暴露浓度的影响, 而不受硒价态的影响(图 1(B2)~(B4))(除 2 µg·g⁻¹ 处理组的 SOD 外),其中,CAT 酶活性在 5 µg·g⁻¹显 著降低,SOD 酶活性在 2~5 µg·g⁻¹升高,GST 酶活 性和对照组没有差异。

Se(IV)和 Se(VI)的化学性质不同,可能导致不同 价态硒的短期暴露(2 周)生物效应差异。二者在生 物体内的还原过程虽然类似,但是 Se(VI)需要先被 还原为 Se(IV),然后才能进行下一步的还原过程,同 等条件下 Se(VI)可以造成更多的氧自由基的产 生^[26-27]。因此,可能造成了 Se(VI)在较低浓度如 5 μg·g⁻¹即造成了抗氧化酶活性的显著升高,且随 着 Se(VI)浓度升高,迅速超过机体的抗氧化能力, 从而造成抗氧化系统的失衡及抗氧化酶活性的降 低;而 Se(IV)的还原可能产生较少的氧自由基,因 此 Se(IV)在 20 μg·g⁻¹才造成抗氧化酶活性的显著 升高。

暴露 2 个月后,水丝蚓体内抗氧化酶活性的变 化和暴露 2 周差异较大。类似研究表明,泥鳅(*Mis-gurnus anguillicadatus*)暴露于 4.6~18.4 mg·L⁻¹的 Se(W)2~3 d后,体内抗氧化酶活(SOD、GST等)明 显升高,暴露 4 d后恢复到对照组水平^[28];沙蚕(*Ne-reis diversicolor*)暴露于 3.7 μg·g⁻¹ Se(W)5 d后,体 内谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)活性升高,暴露 10 d 后也恢复到对照组水平^[29],这些研究表明,硒对抗氧 化系统的影响受到暴露时间的显著影响。此外,硒 长期暴露后价态的影响几乎消失,可能和硒的生 物转化和价态变化等因素有关^[27],具体机制有待 进一步研究。

2.1.3 硒暴露对霍甫水丝蚓的双重生物效应

2.1.3.1 有益效应

适量硒对生物体有一定的有益效应,具有抗氧 化等作用。本研究显示,暴露2个月后,水丝蚓体内 TBARS水平在2~20 µg·g⁻¹浓度范围降低。类似 研究表明,桑蚕(*Bombyx mori* L.)在第5 幼虫期后摄



图1 硒暴露对霍甫水丝蚓抗氧化系统的影响

注:A 表示 Se(IV)暴露组和对照组存在显著差异,a 表示 Se(II)暴露组和对照组存在显著差异,

*表示 Se(IV)和 Se(VI)暴露组存在显著差异(P<0.05)。

Fig. 1 The effects of selenium exposure on the antioxidant system of L. hoffineisteri

Note: A denotes significant differences between the Se(\mathbb{N}) treatment and control; a denotes significant differences between the Se(\mathbb{N}) treatment and control; * denotes significant differences between Se(\mathbb{N}) and Se(\mathbb{N}) treatments ($P \leq 0.05$); TBARS means thiobarbituric acid

reactive substances; SOD means superoxide dismutase; CAT means catalase; GST means glutathione S-transferase.

食酵母硒(4~32 µg·g⁻¹,7 d),可增加其体质量及所 产幼蚕的数量^[30]。硒对多种重金属的生物累积和毒 性还具有拮抗作用,硒可通过抗氧化作用降低金属 产生的过量自由基,硒预暴露可降低铜在夹杂带丝 蚓体内的累积和 TBARS 水平^[6],还可降低镉在小鳉 鱼(*Heterandria formosa*)体内的累积和 TBARS 水 平^[5]。也有研究认为无机硒如 Se(N)和 Se(VI)为阴 离子,进入生物体后,可和阳离子金属形成硒-金属-蛋白复合体,改变金属对生物大分子的活性位点,降 低金属的毒性效应^[31],如 2~10 µg·g⁻¹ Se(N)可以 降低锑元素在赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)体内的累 积和毒性^[31];15~50 µg·g⁻¹ Se(N)可降低夹杂带丝 蚓体内汞的累积(~80%)等^[32]。

值得注意的是,硒的有益浓度范围较窄,并且过 高或过低可以引起硒的毒性效应^[4]。本研究中霍甫 水丝蚓在硒暴露2周和2个月后,在2~20μg·g⁻¹ 浓度区间均存在峰值。已有的研究也显示,刺参 (*Apostichopus japonicus*)摄食硒饵料28d,适宜酵母 硒浓度(0.8~1.6μg·g⁻¹)可以提高其免疫能力及抗 氧化酶活性,而低浓度(0.2μg·g⁻¹)和高浓度(3.2~ 6.4μg·g⁻¹)均没有促进作用^[33]。蚯蚓(*Dendrobaena veneta*)暴露于Se(IV)和Se(VI)15d后,CAT只在适 宜浓度(0.1μg·g⁻¹)降低,而在低硒(0.01μg·g⁻¹)和 高硒(1μg·g⁻¹)浓度均和对照组无差异^[34]。这些研 究表明,硒作为动物体必需元素之一,其添加量必须 控制在一个合理范围。

2.1.3.2 毒性效应

过量硒对生物体的毒性效应也不容忽视。研究

表明,对无脊椎动物如刺参幼参来说,硒和汞同属于 剧毒物质,其毒性远高于镉^[8]。不少研究报道了过 量硒的毒性效应,赤子爱胜蚓暴露于46 $\mu g \cdot g^{-1}$ Se(N)49 d后,其种群数量降低了约1/3^[35];白蚯蚓 (*Enchytraeus crypticus*)暴露于6.2 $\mu g \cdot g^{-1}$ Se(VI)28 d 后,其种群数量也降低了约50%^[36];秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*)暴露于78.9 $\mu g \cdot g^{-1}$ Se(N)9 ~55 h后(全生命周期),不同生长期生长及繁殖均 受到抑制^[37]。

此外,Se(W)和 Se(VI)对底栖动物的毒性存在差 异。霍甫水丝蚓暴露于硒 2 个月后,5 μg·g⁻¹ Se(W)降低了其种群数量约 1/4, 而 >20 μg·g⁻¹ Se(VI)才开始降低其种群数量^[16]。在安德爱胜蚓硒 的 48 h 急性毒性实验中,也发现 Se(W)的毒性约为 Se(VI)的 4.6 倍^[25]。在过量硒存在的条件下,Se(W) 对无脊椎动物的毒性高于 Se(VI),可能和其较高的生 物累积速率^[16]和较快的生物还原过程等^[3]因素相关。 2.2 硒暴露对霍甫水丝蚓神经酶活性的影响

硒暴露 2 周后, 霍甫水丝蚓体内 AChE 酶活性 受影响较小,只有 5 μg·g⁻¹ Se(IV)暴露增加了水丝 蚓体内 AChE 酶活性, 而暴露 2 个月后, 随着浓度升 高, Se(IV)和 Se(VI)都降低了水丝蚓体内 AChE 酶活 性,且在 5~40 μg·g⁻¹达到平衡状态。总体而言, 霍 甫水丝蚓体内 AChE 酶活性几乎没有受到硒价态差 异的影响。此外, 对照组霍甫水丝蚓体内 AChE 酶 活性的平均水平在不同暴露时间段有较大变化, 2 个月后其体内 AChE 酶活性普遍高于 2 周, 可能受 到不同生长阶段的影响(图 2)。



图 2 硒暴露对霍甫水丝蚓神经酶活性的影响

注:A表示 Se(IV)暴露组和对照组存在显著差异,a表示 Se(VI)暴露组和对照组存在显著差异(P<0.05)。

Fig. 2 The effects of selenium exposure on the nervous enzyme of *L. hoffmeisteri* Note: A denotes significant differences between the Se(IV) treatment and control; a denotes significant differences between the Se(VI) treatment and control (*P*<0.05); AChE means acetylcholinesterase.</p> 硒暴露会降低无脊椎动物 AChE 酶活性的结果 已有报道,Se(IV)可以降低沙蚕(3.7 μg・g⁻¹,5~10 d)^[29]和蚯蚓(0.1 μg・g⁻¹,15 d)^[34]体内 AChE 酶活性; Se(IV)和 Se(VI)可降低安德爱胜蚓体内 AChE 酶活 性^[25]。由于物种差异性,虽然这些生物对硒的响应 浓度不同,但是硒对 AChE 酶活的抑制可能存在某 些共用途径。硒本身可以作为抗氧化剂,适量硒可 以消除体内多余的氧自由基^[38],而神经系统的信号 传导等功能对氧自由基有很强的依赖性的^[39],暗示 硒通过调节自由基水平对神经系统通路及酶活性产 生影响。这也和本研究的结果吻合,硒暴露 2 周和 2 个月后,AChE 酶活性的变化趋势和 TBARS 的变 化趋势基本吻合(特别是 2~20 μg・g⁻¹区间),相关 性分析也显示二者存在一定程度的线性关系(图 3), 进一步表明 AChE 酶活性可能受到氧自由基水平的 调控。

2.3 硒暴露对霍甫水丝蚓消化酶活性的影响

硒暴露后,硒对霍甫水丝蚓消化酶活性的影响 较小,仅在5μg·g⁻¹浓度增加了α-葡糖苷酶的活 性,随着浓度升高,其促进作用逐渐消失并恢复到对 照组水平,表明只有适宜浓度的硒才可促进其消化 酶活性。有趣的是,短期暴露只有 Se(IV)增加了该 酶的活性,而长期暴露后,只有 Se(VI)增加了该酶的 活性(图 4)。

硒对无脊椎动物消化酶活性影响的研究相对较 少。已有的研究主要集中于酵母硒对一些水产动物 消化酶的影响,如酵母硒在适宜浓度(0.8~1.6 μg・ g⁻¹)可以增加刺参体内蛋白酶和淀粉酶活性,而硒 浓度过低(0.2 μg・g⁻¹)或过高(6.4 μg・g⁻¹)时酶活性 均恢复到对照组水平^[40]。虽然有研究表明,对于刺





Fig. 3 The correlation analysis between the levels of TBARS and the activities of AChE in L. hoffmeisteri





注:A表示 Se(IV)暴露组和对照组存在显著差异,a表示 Se(VI)暴露组和对照组存在显著差异,

*表示 Se(IV)和 Se(VI)暴露组存在显著差异(P<0.05)。



Note: A denotes significant differences between the Se(IV) treatment and control; a denotes significant differences between the Se(VI) treatment and control; * denotes significant differences between Se(IV) and Se(VI) treatments (P<0.05); α -Glu means α -glucosidase.

参而言,有机硒对消化酶的促进作用大于无机硒[41]. 但自然水体和沉积物中硒主要以 Se(IV)和 Se(VI)等 形态存在[9-12],这些无机硒对底栖无脊椎动物消化 酶的影响可能具有更高的生态学意义。硒对水生动 物体内消化酶活性的促进作用,可能和硒对其代谢、 生理状况和氧化还原等稳态的维持有关,从而相应 增加其消化能力。此外,消化酶活性对不同价态硒 以及不同暴露时间的响应存在差异,本研究结果显 示,5 μg·g⁻¹ Se(IV)可以在较短暴露期就增加水丝 蚓体内 α -Glu 的活性, 而长期暴露后, Se(IV) 对该酶 的促进作用消失,反而 5 μg·g⁻¹ Se(II)才能够增加 该酶的活性。同样,这可能和不同价态硒在生物体 内的累积速率、代谢速率和生物转化存在差异等因 素有关。例如,前期研究发现,霍甫水丝蚓在含20 ~40 µg·g⁻¹浓度 Se(IV)和 Se(VI)的沉积相中暴露 2 个月后,Se(IV)暴露组虫体内硒含量远高于 Se(VI)暴 露组,表明不同价态硒在水丝蚓体内的累积速率存 在显著差异[16]。

综上所述,2 种无机硒均可以对霍甫水丝蚓抗 氧化系统、神经系统和消化系统等造成显著影响,且 存在暴露浓度、暴露时间及硒价态的差异。沉积物 中适宜硒含量(2~5 μg·g⁻¹)对霍甫水丝蚓的生理状 况有益,而高浓度硒(Se(W)>5 μg·g⁻¹,Se(W)>20 μg ·g⁻¹)对其造成一定的毒性效应。硒对底栖无脊椎 动物的生物效应受到多种因素的调节,其内在机制 有待进一步探讨。

通讯作者简介:陈红星(1987—),男,博士,助理研究员,主要 研究方向为水生毒理学。

参考文献(References):

 [1] 杜娟, 庞俊晓, 游静. 广东清远电子垃圾处理地沉积物 对伸展摇蚊的慢性毒性效应[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(2): 209-215

Du J, Pang J X, You J. Chronic toxicity of sediment collected from an E-waste recycling site in Qingyuan, Guangdong to *Chironomus dilutes* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016, 11(2): 209-215 (in Chinese)

 [2] 沈兆爽,张彦峰,祝凌燕. 沉积物中芘对泥鳅和霍甫水 丝蚓的毒性效应研究[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(2): 672-679

Shen Z S, Zhang Y F, Zhu L Y. The toxic effects of pyrene in sediments to *Misgurnus anguillicaudatus* and *Limnodrilus hoffineisteri* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016, 11(2): 672-679 (in Chinese)

- [3] Xie L T, Wu X, Chen H X, et al. The bioaccumulation and effects of selenium in the oligochaete *Lumbriculus variegatus* via dissolved and dietary exposure routes [J]. Aquatic Toxicology, 2016, 178: 1-7
- [4] 谢凌天,应光国,陈红星,等. 硒对水生生物双重生物 效应的研究进展[J]. 华南师范大学学报:自然科学版, 2018, 50(5): 52-59
 Xie L T, Ying G G, Chen H X, et al. Dual effects of selenium in aquatic organisms: A review [J]. Journal of South China Normal University: Natural Science Edition, 2018, 50(5): 52-59 (in Chinese)
- [5] Xie L T, Wu X, Chen H X, et al. A low level of dietary selenium has both beneficial and toxic effects and is protective against Cd-toxicity in the least killifish *Heterandria formosa* [J]. Chemosphere, 2016, 161: 358-364
- [6] 穆磊, 吴星, 陈红星, 等. 硒预暴露对夹杂带丝蚓铜累积及毒性的影响[J]. 生态学杂志, 2017, 36(8): 2282-2288

Mu L, Wu X, Chen H X, et al. Effects of pre-exposure to selenium on the accumulation and toxicity of copper in *Lumbriculus variegatus* [J]. Chinese Journal of Ecology, 2017, 36(8): 2282-2288 (in Chinese)

- [7] Hamilton S J. Review of selenium toxicity in the aquatic food chain [J]. Science of the Total Environment, 2004, 326(1-3): 1-31
- [8] 孙振兴, 王慧恩, 王晶, 等. 汞、镉、硒对刺参(Apostichopus japonicus)幼参的单一毒性与联合毒性[J]. 海洋与湖沼, 2009, 40(2): 228-234
 Sun Z X, Wang H E, Wang J, et al. Single and joint toxicity of mercury, cadmium and selenium on juvenile sea cucumber Apostichopus japonicas [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2009, 40(2): 228-234 (in Chinese)
 [9] 姚庆祯, 张经, 简慧敏. 珠江口硒的形态分布特征[J].
- 9] 姚庆祯, 张空, 面急敏. 珠江口姆的形态分布特征[J]. 海洋学报(中文版), 2006, 28(1): 152-157
 Yao Q Z, Zhang J, Jian H M. The speciation and distribution of selenium in the Zhujiang Estuary [J]. Acta Oceanologica Sinica, 2006, 28(1): 152-157 (in Chinese)
- [10] 樊海峰, 温汉捷, 凌宏文, 等. 表生环境中硒形态研究现状[J]. 地球与环境, 2006, 34(2): 19-26
 Fan H F, Wen H J, Ling H W, et al. Recent progress in research on selenium speciation in the supergene environment [J]. Earth and Environment, 2006, 34(2): 19-26 (in Chinese)
- [11] 王子健. 中国低硒带生态环境中硒的环境行为研究进展[J]. 环境化学, 1993, 12(3): 237-243
 Wang Z J. Some biogeochemical aspects of selenium in Chinese low-selenium belt [J]. Environmental Chemistry,

1993, 12(3): 237-243 (in Chinese)

- [12] Wang Z J, Gao Y X. Biogeochemical cycling of selenium in Chinese environments [J]. Applied Geochemistry, 2001, 16(11-12): 1345-1351
- [13] May T W, Fairchild J F, Petty J D, et al. An evaluation of selenium concentrations in water, sediment, invertebrates, and fish from the Solomon River Basin [J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2008, 137(1-3): 213-232
- [14] Zhang Y F, Han Y W, Yang J X, et al. Toxicities and risk assessment of heavy metals in sediments of Taihu Lake, China, based on sediment quality guidelines [J]. Journal of Environmental Sciences, 2017, 62: 31-38
- [15] 王伟莉, 闫振广, 何丽, 等. 五种底栖动物对优控污染物的敏感性评价[J]. 中国环境科学, 2013, 33(10): 1856-1862

Wang W L, Yan Z G, He L, et al. Sensitivity evaluation of five zoobenthos to priority pollutants [J]. China Environmental Science, 2013, 33(10): 1856-1862 (in Chinese)

- [16] Chen H X, Yan L, Zhao J L, et al. The role of the freshwater oligochaete *Limnodrilus hoffineisteri* in the distribution of Se in a water/sediment microcosm [J]. Science of the Total Environment, 2019, 687: 1098-1106
- [17] Peters G M, Maher W A, Krikowa F, et al. Selenium in sediments, pore waters and benthic infauna of Lake Macquarie, New South Wales, Australia [J]. Marine Environmental Research, 1999, 47(5): 491-508
- [18] Peng F J, Ying G G, Pan C G, et al. Bioaccumulation and biotransformation of triclosan and galaxolide in the freshwater oligochaete *Limnodrilus hoffineisteri* in a water/sediment microcosm [J]. Environmental Science & Technology, 2018, 52(15): 8390-8398
- [19] Chen H X, Mu L, Cao J L, et al. Accumulation and effects of Cr(VI) in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) during chronic dissolved and dietary exposures [J]. Aquatic Toxicology, 2016, 176: 208-216
- [20] Li D, Chen H X, Bi R, et al. Individual and binary mixture effects of bisphenol A and lignin-derived bisphenol in *Daphnia magna* under chronic exposure [J]. Chemosphere, 2018, 191: 779-786
- [21] Xie L T, Flippin J L, Deighton N, et al. Mercury(II) bioaccumulation and antioxidant physiology in four aquatic insects [J]. Environmental Science & Technology, 2009, 43(3): 934-940
- [22] Ma S S, Zhou Y, Chen H X, et al. Selenium accumulation and the effects on the liver of topmouth gudgeon *Pseudorasbora parva* exposed to dissolved inorganic selenium [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 160: 240-

248

[23] 张津源. 富硒海参硒源的选择性研究[D]. 大连: 大连海 洋大学, 2014: 14-19

Zhang J Y. Study on selectivity of selenium sources of the selenium-enriched *Stichopus japonicas* [D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2014: 14-19 (in Chinese)

- [24] Xiao K C, Song M, Liu J, et al. Differences in the bioaccumulation of selenium by two earthworm species (*Pheretima guillemi* and *Eisenia fetida*) [J]. Chemosphere, 2018, 202: 560-566
- [25] Ečimović S, Velki M, Vuković R, et al. Acute toxicity of selenate and selenite and their impacts on oxidative status, efflux pump activity, cellular and genetic parameters in earthworm *Eisenia andrei* [J]. Chemosphere, 2018, 212: 307-318
- [26] Graves S D, Liber K, Palace V, et al. Effects of selenium on benthic macroinvertebrates and fathead minnow (*Pimephales promelas*) in a boreal lake ecosystem [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 182: 109354
- [27] Roman M, Jitaru P, Barbante C. Selenium biochemistry and its role for human health [J]. Metallomics: Integrated Biometal Science, 2014, 6(1): 25-54
- [28] 刘民. 亚硒酸盐对泥鳅毒性作用的研究[D]. 济南: 山东 师范大学, 2007: 1-34

Liu M. The toxic effects of sodium selenite anhydrous on loach (*Misgurnus anguillicadatus*) [D]. Jinan: Shandong Normal University, 2007: 1-34 (in Chinese)

- [29] 赵璐, 张弛. 不同形态硒对甲基汞的生物累积及沙蚕 毒性效应的影响[J]. 广东化工, 2018, 45(10): 1-4 Zhao L, Zhang C. The bioaccumulation and toxicity of mercury to the polycheate *Nereis diversicolor* due to the different selenium species [J]. Guangdong Chemical Industry, 2018, 45(10): 1-4 (in Chinese)
- [30] Bentea M, Marghitas L A, Sara A, et al. The effect of selenium and zinc supplementation on growth and reproduction of the mulberry silkworm (*Bombyx mori* L.) [J]. ProEnvironment/ProMediu, 2011, 4: 302-307
- [31] 梁淑轩, 王凯, 耿梦娇, 等. Se(Ⅳ)对赤子爱胜蚓 Sb(Ⅲ) 中毒的拮抗作用[J]. 河北大学学报: 自然科学版, 2013, 33(3): 264-269
 Liang S X, Wang K, Geng M J, et al. Antagonistic effect of Se(Ⅳ) on the *Eisenia foetida* against Sb(Ⅲ) [J]. Journal of Hebei University: Natural Science Edition, 2013, 33 (3): 264-269 (in Chinese)
- [32] Nuutinen S, Kukkonen J V K. The effect of selenium and organic material in lake sediments on the bioaccumulation of methylmercury by *Lumbriculus variegatus* (Oligochae-

ta) [J]. Biogeochemistry, 1998, 40(2-3): 267-278

- [33] 李秀梅. 刺参体内硒的分离测定及外源硒对其生物学指标的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2015: 1-10
 Li X M. A method for extracting inorganic selenium and organic selenium and effect of exogenous selenium on biological indices in sea cucumber (*Apostichopus* japonicas)
 [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2015: 1-10 (in Chinese)
- [34] Štolfa I, Velki M, Vuković R, et al. Effect of different forms of selenium on the plant-soil-earthworm system [J]. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2017, 180(2): 231-240
- [35] 刘向辉, 戈峰, 徐张红, 等. 亚硒酸钠对蚯蚓的毒性及 蚓体富硒作用的研究[J]. 应用与环境生物学报, 2001, 7(5): 457-460

Liu X H, Ge F, Xu Z H, et al. The toxicity of sodium selenite to earthworm and selenium-accumulating effect of earthworm [J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2001, 7(5): 457-460 (in Chinese)

- [36] Kuperman R G, Checkai R T, Simini M, et al. Determination of selenium toxicity for survival and reproduction of Enchytraeid worms in a sandy loam soil [R]. Washington DC: US Army Research Development and Engineering Command, 2016
- [37] Li W H, Ju Y R, Liao C M, et al. Assessment of selenium toxicity on the life cycle of *Caenorhabditis elegans* [J].

Ecotoxicology, 2014, 23(7): 1245-1253

- [38] Zhu Z, Chen Y L, Shi G Q, et al. Selenium delays tomato fruit ripening by inhibiting ethylene biosynthesis and enhancing the antioxidant defense system [J]. Food Chemistry, 2017, 219: 179-184
- [39] Rao S Y, Lin Y P, Du Y X, et al. Designing multifunctionalized selenium nanoparticles to reverse oxidative stress-induced spinal cord injury by attenuating ROS overproduction and mitochondria dysfunction [J]. Journal of Materials Chemistry B, 2019, 7(16): 2648-2656
- [40] 李秀梅, 徐涛, 孙国华, 等. 外源硒对仿刺参(Apostichopus japonicus)重要生理相关酶活性及体内硒含量的影响[J]. 渔业科学进展, 2017, 38(4): 154-163
 Li X M, Xu T, Sun G H, et al. Effects of dietary selenium-enriched yeast levels on important physiological enzymes and enrichment of selenium in sea cucumber

(Apostichopus japonicus) [J]. Progress in Fishery Sci-

ences, 2017, 38(4): 154-163 (in Chinese) [41] 王吉桥, 王志香, 于红艳, 等. 饲料中不同类型的硒对 仿刺参幼参生长和免疫指标的影响[J]. 大连海洋大学 学报, 2011, 26(4): 306-311 Wang J Q, Wang Z X, Yu H Y, et al. Effects of dietary selenium sources on growth and immune indices in juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicas* [J]. Journal of Dalian Ocean University, 2011, 26(4): 306-311 (in Chinese)