

# 硒预暴露对夹杂带丝蚓铜累积及毒性的影响

穆磊<sup>1</sup> 吴星<sup>1</sup> 陈红星<sup>1</sup> Paul L. Klerks<sup>2</sup> 谢凌天<sup>1\*</sup> 罗永巨<sup>3\*</sup>

(<sup>1</sup>中国科学院污染生态与环境工程重点实验室, 沈阳应用生态研究所, 沈阳 110016; <sup>2</sup>路易斯安那大学拉斐特分校, 拉斐特 42451, LA 70504, 美国; <sup>3</sup>广西水产科学研究院, 南宁 530021)

**摘要** 为研究不同摄入途径下不同形态的硒(Se)预暴露对铜(Cu)在夹杂带丝蚓(*Lumbriculus variegatus*)体内的累积及Cu暴露导致的脂质过氧化的影响,本实验将夹杂带丝蚓分别预暴露在含亚硒酸盐(Se(IV))、硒酸盐(Se(VI))、L-硒甲硫氨酸(Se-L-Met)的沉积物(食物相, 20  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 干重)和水溶液(15  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )中,再将Se预暴露的带丝蚓暴露于15  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的Cu 7天,检测其体内Cu累积及硫代巴比妥酸反应产物水平。结果显示:除水相Se(VI)预暴露组外,食物相及水相预暴露摄入的Se均显著降低了Cu在带丝蚓体内的累积;Se预暴露降低了Cu对带丝蚓造成的过氧化损伤,但不同暴露途径可能对不同形态Se的这种保护能力也有影响。结果表明,环境相关浓度的Se预暴露能够降低Cu的累积及对Cu暴露在夹杂带丝蚓所产生的毒性提供保护作用,但这种保护作用的机制有待进一步的研究。

**关键词** 硒预暴露;过氧化损伤;夹杂带丝蚓;硒-铜互作

**Effects of pre-exposure to selenium on the accumulation and toxicity of copper in *Lumbriculus variegatus*.** MU Lei<sup>1</sup>, WU Xing<sup>1</sup>, CHEN Hong-xing<sup>1</sup>, Paul L. Klerks<sup>2</sup>, XIE Ling-tian<sup>1\*</sup>, LUO Yong-ju<sup>3\*</sup> (<sup>1</sup> Key Laboratory of Pollution Ecology and Environmental Engineering, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China; <sup>2</sup> Department of Biology, University of Louisiana at Lafayette, P. O. Box 42451, Lafayette, LA 70504, USA; <sup>3</sup> Guangxi Academy of Fishery Science, Nanning 530021, China).

**Abstract:** The present study assessed the effects of pre-exposure to Se on the accumulation and toxicity of copper (Cu) in *Lumbriculus variegatus*. Furthermore, the effects of exposure routes and the Se species were also evaluated. *L. variegatus* were pre-exposed to environmentally relevant concentration of Se in sediment (dietary at 20  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  dry wt) or in solution (dissolved at 15  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) for 2 weeks. The Se species included selenite (Se(IV)), selenate (Se(VI)) and seleno-L-methionine (Se-L-Met). The Se pre-exposed *L. variegatus* were subsequently exposed to 15  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  of Cu for 7 days. The accumulation of Cu and the levels of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were determined. The results showed that mortality did not occur in all the treatments except for the Se-L-Met sediment treatment during the 2 week exposures. Pre-exposure to all the three forms of Se from both the dietary and dissolved routes significantly decreased the accumulation of Cu in the worms except for pre-exposure to dissolved Se(VI). The Se pre-exposed worms had significantly lower levels of TBARS than the control worms. The protective potential of pre-exposure to Se against Cu toxicity was in the order as Se(VI) > Se(IV)  $\approx$  Se-L-Met in the dissolved exposure, while in the dietary exposure, the protective potential of the three species was comparable. The results suggested that pre-exposure to Se at environmentally realistic concentrations can offer protection against Cu toxicity in *L. variegatus*. Future research on the in-

国家自然科学基金项目(31270549)、中国科学院百人计划项目(Y3YBR111Y3)及广西科技基础条件平台建设项目计划(15-235-10B)资助。

收稿日期: 2017-01-11 接受日期: 2017-05-31

\* 通讯作者 E-mail: xielt@iae.ac.cn, lfylic123@163.com

teraction of Se and Cu is warranted to better understand the mechanisms underlying this protection in the worm in particular and possibly in other aquatic organisms in general.

**Key words:** Se pre-exposure; lipid peroxidation; *Lumbriculus variegatus*; selenium-copper interaction.

水环境中 Se 一般以亚硒酸盐、硒酸盐和有机硒的形态存在,总硒浓度范围通常在  $1 \sim 10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  (Sohrin *et al.*, 2011)。然而,在农业灌溉和矿石冶炼的污水接纳水体中,Se 的浓度甚至高达  $1000 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  (Deverel *et al.*, 1984; Pond *et al.*, 2008)。

Se 是动物必需的微量元素之一,微量 Se 能够提升机体的抗氧化及免疫能力,但 Se 缺乏及过高都会对生物产生毒性效应,并且 Se 的基础性浓度范围和毒性浓度范围十分狭窄,Se 在环境相关浓度下也有可能对敏感生物造成显著影响(王文娜等, 2014)。Se 在生物体内多以 2 种形式存在,一种是硒蛋氨酸(selenomethione, Se-Met),可以置换蛋白质中蛋氨酸;另一种是硒代半胱氨酸(SeCys),被认为是第 21 种必需氨基酸,是生物体许多重要蛋白质及酶(如谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)和硒蛋白-P)的重要组成部分(Roman *et al.*, 2014; Pacitti *et al.*, 2015)。有研究表明,低浓度 Se 对肝脏、脑体外脂质过氧化具有显著的拮抗作用(高良才等, 2001)。Se 对生物体的毒性效应已受到广泛的关注(Ohlendorf, 2002; Xie *et al.*, 2016a, 2016b)。近 20 年来,许多研究表明,某一种金属的预暴露会影响其他金属的吸收、累积及毒性,这种影响被认为是金属之间相互作用的直接或间接反应的结果(Amiard-Triquet *et al.*, 1998; Wang *et al.*, 2005)。首先,在细胞水平上预暴露可以诱导金属的解毒过程,从而导致其生理及生化水平上的变化,改变细胞对金属的吸收速率,影响金属在生物体的累积(Wang *et al.*, 2005);在个体水平上,生物对金属的吸收速率改变可能会影响其对金属的应对能力,其中包括金属排出及消化能力等。此外,金属的预暴露还可能会使胁迫生物产生生理性适应(physiological acclimation),从而影响对其他金属的吸收和累积。

Se 影响其他金属的累积也可能通过直接(形成 Se-金属复合物)和间接(通过影响生物的生理功能)2 种方式实现。研究表明,Se 和其他金属的相互作用对重金属在水生生物体内的累积和毒性十分重要(Khan *et al.*, 2009; Xie *et al.*, 2016a, 2016b)。现已明确 Se 可以降低 Hg、Cd 以及 F 对水生生物产

生的毒性(廖琳等, 2002; 余日安等, 2004; 陈剑杰等, 2013; 王祖光等, 2016),但 Se 是否可以降低铜(Cu)暴露对生物所产生的毒性,目前该类研究数据还比较缺乏。并且由于 Se 在水环境中的存在形态众多,不同形态 Se 的生物有效性及毒性也存在差异(Chapman *et al.*, 2010),不同形态的 Se 在暴露生物体内与 Cu 的相互作用及其作用机理有待深入研究。和 Se 类似, Cu 也是生物体的必需微量元素之一,但过量的 Cu 也会对生物产生毒性效应。研究表明,高浓度的 Cu 会引起细胞的过氧化损伤,从而造成生物体机能功能障碍,导致个体死亡,降低 Cu 污染环境中的生物多样性(Nor, 1987; Pan *et al.*, 2000; 王利等, 2009)。

夹杂带丝蚓(*Lumbriculus variegatus*)是水生食物链中的重要组成部分,一方面作为初级消费者以小型底栖颗粒为食(如绿藻、腐质、细菌和真菌),另一方面又作为食物为许多食物链上层营养级生物所消耗(Mount *et al.*, 2006; Xie *et al.*, 2008)。其在污染环境耐性较强,可以累积较高的污染物(Xie *et al.*, 2008);其本身富含营养,可以为多种食肉鱼类提供饵料,常被用于实验室条件下污染物在食物链中传递的研究。本实验中以夹杂带丝蚓为实验材料,在 Se 的环境相关浓度(水相:  $15 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 食物相:  $20 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 干重)条件下进行预暴露;将经 Se 预暴露的夹杂带丝蚓再暴露给 Cu。Cu 暴露通常会在生物体中产生过多的活性氧簇,对细胞膜机构造成破坏,导致细胞膜的脂质过氧化,硫代巴比妥酸反应产物(TBARS)是脂质过氧化的生物标记物。本研究探讨不同暴露途径和不同形态 Se 的预暴露对 Cu 累积及毒性的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

夹杂带丝蚓购买于 Carolina 生物试剂公司(Burlington, North Carolina, USA),并于本实验室培养。带丝蚓暴露实验所用溶液根据 ASTM 标准进行配置( $48 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaHCO}_3$ ,  $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{MgSO}_4$ ,  $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{KCl}$ , pH 7.4)。

实验开始1周前挑选体长大致等同的夹杂带丝蚓成体(体长50~70 mm),将带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)。实验期间不曝气,光照周期为:16 h(光照):8 h(黑暗)。

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( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) (Se(IV)),十水硒酸钠( $\text{Na}_2\text{SeO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ) (Se(VI)),硒代半胱氨酸(seleno-L-methionine: Se-L-Met), $\text{CuCl}_2$ 等购买于Sigma-Aldrich(USA)。

### 1.2 Se食物相预暴露

实验所需沉积物取自弗米利恩河(Vermillion River, Lafayette, Louisiana) (Blankson *et al.*, 2016)。实验开始前将沉积物过筛(500  $\mu\text{m}$ ), $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 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,水分含量为 $46.5\% \pm 0.34\%$ ;烘干后检测其有机质含量为 $5.25\% \pm 0.057\%$ ,砂含量为 $16.8\% \pm 0.09\%$ ,粉砂和黏土含量为 $77.9\% \pm 1.14\%$  (mean $\pm$ SE,  $n=3$ )。将已过筛的沉积物分放在4个酸洗过的塑料桶(每个容积为4 L)中。本实验共设置4种处理:空白对照组,Se(VI)处理组,Se(IV)处理组,Se-L-Met处理组。分别向处理组加入一定量对应形态的Se母液并搅拌均匀,名义暴露浓度设为 $20\ \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 干重,并将4个塑料桶于 $20\text{ }^\circ\text{C}$ 平衡48 h。从中随机采集3个10 g沉积物样品,用于测量沉积物中Se含量。将各处理组已于塑料桶中平衡过的沉积物分别转移至500 mL烧杯中,每个处理组设置10个平行( $n=10$ )。每个平行烧杯装有220 g Se-沉积物的混合物质和150 mL去离子水,作为上覆水,并随机加入12条夹杂带丝蚓。

2周后,收集各烧杯中的沉积物,过筛(500  $\mu\text{m}$ )。记录每个烧杯中剩余夹杂带丝蚓数量,并将收集的夹杂带丝蚓分别转移至相应塑料烧杯中(含200 mL溶液)进行肠道清空,24 h后将带丝蚓转移至新的塑料烧杯中用于后续Cu暴露。

### 1.3 Se水相预暴露

水相暴露实验设置4个处理组:空白对照组,  $15\ \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  Se(IV),  $15\ \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  Se(VI),  $15\ \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  Se-L-Met,每个处理组设置10个平行(塑料烧杯),每个500 mL塑料烧杯中有150 mL溶液,并随机加入12条夹杂带丝蚓。暴露期间不喂食,不换水,但每天向烧杯中补加去离子水以保证暴露溶液体积不变。2

周后,收集1 mL的暴露溶液,用于Se定量测量。之后收集带丝蚓,用 $5\ \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDTA淋洗夹杂带丝蚓去除吸附在其体表面的Se,并将夹杂带丝蚓转移至新的塑料烧杯中用于后续Cu暴露。

### 1.4 Cu水相暴露

从Se预暴露组中分别随机选取4条带丝蚓转移至含有150 mL溶液的塑料烧杯中,每个处理组10个平行。2 h后,向Se预暴露组加入Cu,其名义暴露浓度为 $15\ \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (带丝蚓的 $\text{LC}_{50}$  96 h约为 $150\ \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) (Schubauer-Berigan *et al.*, 1993)。暴露条件参照Se的水相暴露。7天后,观察所有实验组中并无带丝蚓死亡,收集带丝蚓,分别用 $5\ \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDTA溶液淋洗, $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 保存样品,2条用于脂质过氧化水平检测,剩余2条用于Cu的累积含量测定。

### 1.5 Cu和Se的含量分析

取烘干的沉积物样品加入10 mL浓硝酸, $120\text{ }^\circ\text{C}$ 消解2 h。向生物样品(带丝蚓)中加入200  $\mu\text{L}$ 浓硝酸,冷消解过夜。收集消解样品,2000  $\times g$ ,  $4\text{ }^\circ\text{C}$ ,离心15 min。收集上清液,超纯水分别定容至50 mL(沉积物样品)和2 mL(生物样品)。本实验中Se和Cu的定量均采用原子吸收分光光度法(atomic absorbance spectrophotometry, AAS) (PerkinElmer, PinAAcle 900T)。Se的标准参考物质(standard reference materials (SRM)) (河口沉积物, 1646 a)回收率为98%。

### 1.6 TBARS水平

生物样品(带丝蚓)(2条)加入200  $\mu\text{L}$   $0.05\ \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸钾缓冲溶液匀浆。加入200  $\mu\text{L}$  10%三氯乙酸,冰浴15 min。再向混合物中加入200  $\mu\text{L}$  0.67%硫代巴比妥酸,2200 $\times g$   $4\text{ }^\circ\text{C}$ ,离心10 min。取上清液水浴煮沸10 min,冷却至室温。535 nm测量吸光度,并计算硫代巴比妥酸反应产物(TBARS)浓度,单位为nmol TBARS/mg protein (Xie *et al.*, 2016a, 2016b)。样品蛋白浓度用Bradford方法测定。

### 1.7 数据分析

采用GraphPad Prism 5.0对数据进行统计分析和作图。采用单因素方差分析(one-way ANOVA)和Duncan法进行分析及多重比较(显著性水平为0.05)。图中数据为平均值 $\pm$ 标准误差。

## 2 结果与分析

沉积物和水溶液样品中Se的实际检测浓度与

名义浓度没有显著差异。Cu 暴露结束后,暴露溶液中 Cu 的实际检测浓度为  $(12.0 \pm 0.83) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $n = 12$ )。在本实验中除 Se-L-Met 沉积相暴露组带丝蚓全部死亡外(故该部分数据缺失),其他各处理组带丝蚓均生长正常。

## 2.1 Se 预暴露对 Cu 在夹杂带丝蚓体内累积的影响

Cu 暴露后带丝蚓未出现死亡,和对照组相比,经食物相 Se 预暴露的夹杂带丝蚓对 Cu 的累积显著降低(图 1),Cu 在经不同形态 Se 预暴露的夹杂带丝蚓体内的累积量分别降低了 27.9%(Se(IV))和 36.1%(Se(VI))(图 1)。经水相 Se 预暴露的夹杂带丝蚓对 Cu 的累积表现出 Se 预暴露形态的差异。Cu 在 Se 预暴露的夹杂带丝蚓体内的累积量分别降低 33%(Se(IV)和 30%(Se-L-Met);而 Se(VI)的水相预暴露并没有降低 Cu 在夹杂带丝蚓体内的累积(图 1)。

## 2.2 Se 预暴露对由 Cu 引起的 TBARS 水平变化的影响

和对照组带丝蚓相比,经过水相和食物相 Se(Se(IV)、Se(VI)、Se-L-Met)预暴露的带丝蚓体内的 TBARS 水平均明显降低,但不同途径 Se 预暴露降低 Cu 暴露引起的脂质过氧化水平升高的能力相当,约为 66.7%(图 2)。经食物相 Se 预暴露的带丝蚓体内的 TBARS 水平分别降低 68.9%(Se(IV))、66.9%(Se(VI)),经水相 Se 预暴露的带丝蚓体内的 TBARS 水平分别降低 62.0%(Se(IV))、76.5%(Se(VI))、57.1%(Se-L-Met)(图 2)。

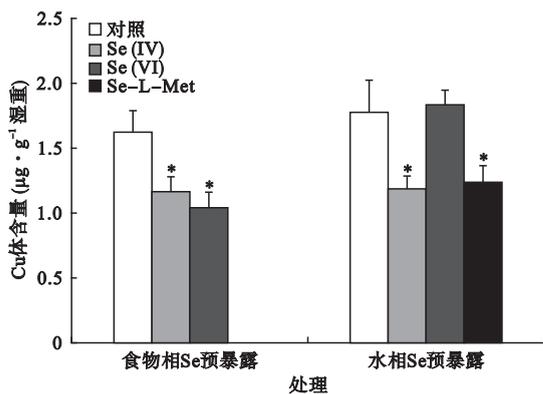


图 1 食物相 Se 和水相 Se 预暴露后铜在夹杂带丝蚓体内的累积

Fig.1 Bioaccumulation of Cu in *Lumbriculus variegatus* after Se pre-exposures

\* ,  $P < 0.05$ 。

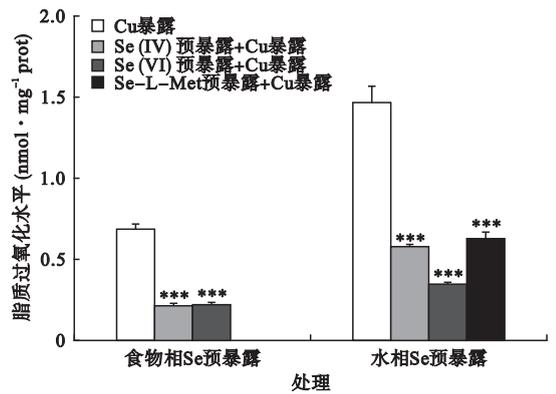


图 2 食物相 Se 和水相 Se 预暴露后,铜对夹杂带丝蚓 TBARS 水平的影响

Fig.2 TBARS levels in *Lumbriculus variegatus* exposed to Cu after Se pre-exposures

\*\*\* ,  $P < 0.001$ 。

## 3 讨论

本实验中,Se 暴露浓度 ( $20 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ) 在 Se 污染的水生生态系统的沉积物中总 Se 的浓度范围之内 (Hamilton, 2004)。同时,Cu 的浓度 ( $15 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 也在金属污染的水体中 Cu 的浓度范围之内 (Mutia *et al.*, 2012)。因此,本实验中的 Se 及 Cu 的暴露浓度均可以认为是环境相关浓度。通常,沉积物中 Se-Met 的浓度非常低,但是为了便于比较不同形态 Se 对带丝蚓的影响,所以将 3 种形态的 Se (Se(IV)、Se(VI)、Se-L-Met) 的浓度设为  $20 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  干重(食物相)或  $15 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (水相)。但是,结果显示,食物相 Se-L-Met 暴露组中的带丝蚓全部死亡,造成高死亡率的原因可能是有机硒(如 Se-L-Met)在生物体内的累积速率较 Se(IV)和 Se(VI)高及有机硒的毒性比无机硒更大,从而导致带丝蚓的死亡 (Chapman *et al.*, 2010)。

除水相 Se(VI)预暴露处理组外,在食物相和水相暴露组中,3 种形态 Se (Se(IV)、Se(VI)、Se-L-Met)预暴露均显著降低了夹杂带丝蚓对 Cu 的吸收。Se 和其他重金属在水生生物体内的相互作用多有报道。其中,Se 和 Hg 的拮抗作用研究最为深入,例如,2011 年 Dang 等 (2011) 报道 Se 可以降低 Hg 在细鳞鲟 (*Terapon jurbua*) 的毒性效应。类似的, Xie 等 (2016a) 的研究中,将小鲮鱼 (*Heterandria formosa*) 预暴露给  $2 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  的 Se (Se(IV)和 Se-Met), 10 d 后,将 Se 预暴露的鱼再暴露给  $0.5 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 Cd,结果表明,经 Se 预暴露的小鲮鱼体内 Cd 的累积水平显著降低。Lin 等 (2007) 对石斑鱼 (*Epineph-*

*elus malabaricus*) 进行 Se 对 Cu 的食物相累积影响的研究,结果显示,Se-Cu 混合物暴露组中石斑鱼对 Cu 的累积明显低于 Cu 单独暴露组。

通常,重金属通过被动和主动运输 2 种形式进入到细胞内。主动运输需要消耗 ATP 来提供逆浓度运输所需要的能量。而一些研究表明,Se 能够氧化包括  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶、 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP 酶等在内的多种 ATP 酶分子中的巯基,抑制这些 ATP 酶的活性,会降低主动运输过程中能量的供给,从而有可能抑制某些金属(通过钙离子通道及钠离子通道)进入到细胞内,导致这些金属在生物体内的累积减少(Durukan *et al.*, 2006; Xie *et al.*, 2016a)。Amiard 等(2006)研究表明,巯基在 B 族金属与金属硫蛋白结合过程中起重要作用,因此巯基的氧化将影响金属在生物体内的累积。此外,也有研究表明,Se 可以通过氧化金属硫蛋白(metallothiones)结构中的巯基而影响重金属在生物体内的累积(Kraemer *et al.*, 2005)。本实验中,虽然食物相和水相 Se 的预暴露都降低了 Cu 在带丝蚓体内的累积含量,但食物相预暴露的结果显示,除 Se-L-Met 预暴露组带丝蚓全部死亡没有数据外,Se(IV)和 Se(VI)形态的差异并没有导致 Cu 在带丝蚓体内累积量的不同。而水相预暴露的结果显示,不同形态 Se 预暴露会影响 Cu 在其体内的累积,主要表现为在 Se(IV)和 Se-L-Met 预暴露的带丝蚓对 Cu 的累积均明显降低,但二者之间并不存在显著性差异,而 Se(VI)预暴露却没有降低 Cu 在带丝蚓体内的累积(图 1)。

和对照组(未经 Se 预暴露)相比,经 Se 预暴露再经 Cu 暴露的带丝蚓体内 TBARS 水平显著下降。TBARS 是细胞膜脂质过氧化的生化指示标记物(Livingstone, 2001)。TBARS 水平升高表示细胞膜的脂质层可能受到氧化破坏。在生物正常的生理代谢过程中会产生活性氧簇(reactive oxygen species),生物本身具有对活性氧簇解毒的抗氧化系统。抗氧化系统包括抗氧化酶(如过氧化氢酶,超氧化物歧化酶等)及无酶活性的抗氧化物(如维生素 C 等)。当生物体内活性氧簇的产生速度大于抗氧化系统对其的降解速度时,多余的活性氧簇会导致脂质过氧化,形成 DNA-蛋白交联,对生物体产生毒性(Lushchak, 2011)。通常情况下,金属暴露会导致水生生物体内产生过多的活性氧簇,从而导致生物组织中的 TBARS 水平升高(Livingstone, 2001)。例如,Cu 在进入细胞后会通过多种途径诱导大量自由基(如

羟基自由基等)和活性氧簇产生,从而引起脂质过氧化及 DNA-蛋白交联,最终导致过氧化损伤及 DNA 损伤(刘璐等, 2004)。由于活性氧簇有可能破坏细胞膜结构,造成膜结构中的离子通道及其他重金属运输中起重要作用的非特异蛋白的失活,因此,重金属在水生生物体内的累积和毒性效应与重金属在进入机体后产生的过量的活性氧簇密切相关(王友保等, 2003; 王文娜等, 2014; 陈红星等, 2015)。虽然高浓度的 Se 本身也可以增加生物体内的自由基水平,但适当浓度的 Se 可以降低由其他化学物质引起的过氧化损伤(Newairy *et al.*, 2007)。

在本实验中,Se 的预暴露显著降低了 Cu 暴露导致的带丝蚓体内脂质过氧化水平,这一结果很有可能是因为 Se 的预暴露降低了 Cu 在带丝蚓体内的累积(图 1),减少了由 Cu 离子引起的自由基和活性氧,从而降低了其体内的脂质过氧化水平。但是,其他机理也有可能存在。虽然水相 Se(VI)预暴露并没有降低带丝蚓体内 Cu 的累积含量(图 1),但是其体内的脂质过氧化水平也明显低于对照组(图 2),因此 Se 对水生生物的保护机制除降低重金属的累积外,可能还有其他原因,在以后的研究中值得进一步深入探讨。此外,虽然 Se 预暴露可以降低 Cu 在带丝蚓体内引起的过氧化损伤,但是食物相 Se 预暴露后,不同形态的 Se 降低脂质过氧化水平的能力并不存在显著差异;而水相预暴露的结果显示 Se(VI)降低由 Cu 在带丝蚓体内造成的过氧化损伤的能力明显高于 Se(IV)和 Se-L-Met(图 2)。金属经不同摄入途径(水相或食物相)进入到水生生物体后产生不同生物效应的现象在其他研究中也有报道。如经水相进入到一种水生昆虫(*Centropilum triangulifer*)体内的 Cd 并没有影响到过氧化氢酶、超氧化物歧化酶及还原性谷胱甘肽的水平,而经食物相进入到其体内的 Cd 却显著降低了这些抗氧化剂的水平(Xie *et al.*, 2011),然而,本实验的研究结果表明,虽然不同培养方式(Se 食物相对照组和 Se 水相对照组)本身会造成带丝蚓在 Cu 暴露后体内 TBARS 水平差异较大,但不同途径 Se 预暴露 14 d 后降低 Cu 暴露引起的脂质过氧化水平升高的能力相当,均约为 2/3(图 2)。

综上所述,环境相关浓度 Se 暴露(食物相和水相)能够降低 Cu 在带丝蚓体内的累积能力,不同摄入途径下,Se 的预暴露对减轻 Cu 暴露在带丝蚓中产生的毒性的能力存在差异,Se 的预暴露通过降低

Cu 的累积或者其他途径能够降低 Cu 对带丝蚓造成的氧化胁迫。对于本研究中的 3 种形态的 Se, 食物相暴露都比水相暴露表现出更有效的保护作用, 但这种保护作用的机制有待进一步的研究。

#### 参考文献

陈红星, 吴 星, 毕 然, 等. 2015. 水环境中 Cr(VI) 对鱼类毒性机理研究进展. *应用生态学报*, **26**(10): 3226-3234.

陈剑杰, 曹谨玲, 罗永巨, 等. 2013. 纳米硒对氟胁迫下鲤鱼肝抗氧化功能及组织结构的影响. *应用生态学报*, **24**(10): 2970-2976.

高良才, 陈婉蓉. 2001. 硒对肝脏脑体外脂质过氧化的影响. *微量元素与健康研究*, **18**(2): 6-8.

廖 琳, 胡晓荣, 李 晖, 等. 2002. 生态环境中镉对生物体毒性作用机理及硒对该毒性拮抗作用的研究进展. *四川环境*, **21**(2): 21-24.

刘 璐, 严玉仙. 2004. 铜和致癌作用. *国外医学: 医学地理分册*, **25**(1): 29-30.

王 利, 汪开毓. 2009. 铜对鲤鱼损害的超微结构病理学观察. *黑龙江畜牧兽医*, (5): 89-90.

王文娜, 王沛芳, 常 虹, 等. 2014. 硒在河蚬体内的富集及其对河蚬的氧化应激. *农业环境科学学报*, **33**(6): 1118-1123.

王友保, 刘登义, 张 莉, 等. 2003. 铜官山铜尾矿库植被及土壤酶活性研究. *应用生态学报*, **14**(5): 757-760.

王祖光, 崔丽巍, 赵甲亭, 等. 2016. 硒对汞毒性的拮抗作用及机理. *中国科学: 化学*, **46**(7): 677-687.

余日安, 陈学敏. 2004. 硒对镉诱导的在体大鼠肝细胞 DNA 损伤, 细胞凋亡和细胞增殖的影响. *中华预防医学杂志*, **38**(3): 155-158.

Amiard JC, Amiard-Triquet C, Barka S, et al. 2006. Metallothioneins in aquatic invertebrates: Their role in metal detoxification and their use as biomarkers. *Aquatic Toxicology*, **76**: 160-202.

Amiard-Triquet C, Amiard JC. 1998. Influence of ecological factors on accumulation of metal mixtures// Langston JW, Bebianno M, eds. *Metal Metabolism in Aquatic Environments*. London, UK: Chapman and Hall; 351-386.

Blankson ER, Klerks PL. 2016. The effect of lead from sediment bioturbation by *Lumbriculus variegatus* on *Daphnia magna* in the water column. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **25**: 1712-1719.

Chapman PM, Adams WJ, Brooks M, et al. 2010. *Ecological Assessment of Selenium in the Aquatic Environment*. Boca, Raton: CRC Press.

Dang F, Wang WX. 2011. Antagonistic interaction of mercury and selenium in a marine fish is dependent on their chemical species. *Environmental Science & Technology*, **45**: 3116-3122.

Deverel S, Gilliom R, Fujii R, et al. 1984. Areal distribution of selenium and other inorganic constituents in shallow ground

water of the San Luis Drain service area, San Joaquin Valley, California; A preliminary study. U.S. Geologic Survey Water Resources Invest. Rep. 84-4139, US Dept. of the Interior, Denver, CO, USA.

Durukan AH, Evereklioglu C, Hurmeric V, et al. 2006. Ingestion of IH636 grape seed proanthocyanidin extract to prevent selenite-induced oxidative stress in experimental cataract. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*, **32**: 1041-1045.

Hamilton SJ. 2004. Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. *Science of the Total Environment*, **326**: 1-31.

Khan MA, Wang F. 2009. Mercury-selenium compounds and their toxicological significance: Toward a molecular understanding of the mercury-selenium antagonism. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **28**: 1567-1577.

Kraemer LD, Campbell PG, Hare L. 2005. Dynamics of Cd, Cu and Zn accumulation in organs and sub-cellular fractions in field transplanted juvenile yellow perch (*Perca flavescens*). *Environmental Pollution*, **138**: 324-337.

Lin YH, Shiau SY. 2007. The effects of dietary selenium on the oxidative stress of grouper, *Epinephelus malabaricus*, fed high copper. *Aquaculture*, **267**: 38-43.

Livingstone D. 2001. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Marine Pollution Bulletin*, **42**: 656-666.

Lushchak VI. 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicology*, **101**: 13-30.

Mount DR, Highland TL, Mattson VR, et al. 2006. Use of the oligochaete, *Lumbriculus variegatus*, as a prey organism for toxicant exposure of fish through the diet. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **25**: 2760-2767.

Mutia T, Virani M, Moturi W, et al. 2012. Copper, lead and cadmium concentrations in surface water, sediment and fish, *C. carpio*, samples from Lake Naivasha: Effect of recent anthropogenic activities. *Environmental Earth Sciences*, **67**: 1121-1130.

Newairy A, El-Sharaky A, Badreldeen M, et al. 2007. The hepatoprotective effects of selenium against cadmium toxicity in rats. *Toxicology*, **242**: 23-30.

Nor YM. 1987. Ecotoxicity of copper to aquatic biota: A review. *Environmental Research*, **43**: 274-282.

Ohlendorf HM. 2002. The birds of Kesterson Reservoir: A historical perspective. *Aquatic Toxicology*, **57**: 1-10.

Pacitti D, Lawan MM, Sweetman J, et al. 2015. Selenium supplementation in fish: A combined chemical and biomolecular study to understand Sel-Plex assimilation and impact on selenoproteome expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *PLoS ONE*, **10**: e0127041.

Pan YJ, Loo G. 2000. Effect of copper deficiency on oxidative DNA damage in Jurkat T-lymphocytes. *Free Radical Biology and Medicine*, **28**: 824-830.

Pond GJ, Passmore ME, Borsuk FA, et al. 2008. Downstream effects of mountaintop coal mining: Comparing biological conditions using family and genus-level macroinvertebrate bioassessment tools. *Journal of the North American Benthology*

- logical Society*, **27**: 717–737.
- Roman M, Jitaru P, Barbante C. 2014. Selenium biochemistry and its role for human health. *Metallomics*, **6**: 25–54.
- Schubauer-Berigan MK, Dierkes JR, Monson PD, et al. 1993. pH-Dependent toxicity of Cd, Cu, Ni, Pb and Zn to *Ceriodaphnia dubia*, *Pimephales promelas*, *Hyalella azteca* and *Lumbriculus variegatus*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **12**: 1261–1266.
- Sohrin Y, Bruland KW. 2011. Global status of trace elements in the ocean. *Trends in Analytical Chemistry*, **30**: 1291–1307.
- Wang WX, Rainbow PS. 2005. Influence of metal exposure history on trace metal uptake and accumulation by marine invertebrates. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **61**: 145–159.
- Xie L, Buchwalter DB. 2011. Cadmium exposure route affects antioxidant responses in the mayfly *Centroptilum triangulifer*. *Aquatic Toxicology*, **105**: 199–205.
- Xie L, Lambert D, Martin C, et al. 2008. Cadmium biodynamics in the oligochaete *Lumbriculus variegatus* and its implications for trophic transfer. *Aquatic Toxicology*, **86**: 265–271.
- Xie L, Wu X, Chen HX, et al. 2016b. The bioaccumulation and effects of selenium in the oligochaete *Lumbriculus variegatus* via dissolved and dietary exposure routes. *Aquatic Toxicology*, **178**: 1–7.
- Xie L, Wu X, Chen HX. 2016a. A low level of dietary selenium has both beneficial and toxic effects and is protective against Cd-toxicity in the least killifish *Heterandria formosa*. *Chemosphere*, **161**: 358–364.

---

作者简介 穆磊,女,1991年生,硕士研究生,主要从事水生毒理学研究。E-mail: leia\_mu@qq.com

责任编辑 魏中青

---