

硒在河蚬体内的富集及其对河蚬的氧化应激

王文娜¹, 王沛芳^{1*}, 常虹², 尹亚云¹, 王永泉¹, 张微敏¹

(1. 河海大学 浅水湖泊综合治理与资源开发教育部重点实验室, 河海大学环境学院, 南京 210098; 2. 江苏省水利规划办公室, 南京 210029)

摘要:通过实验室模拟的方法,以河蚬(*Corbicula fluminea*)为实验生物,研究了太湖沉积物中硒在河蚬体内的富集及其对河蚬抗氧化系统和过氧化产物的影响。结果显示:硒在河蚬体内的富集与沉积物中硒浓度呈线性相关,生物富集系数(Bioconcentration factor, BCF)与暴露浓度之间呈幂函数关系;随着硒暴露浓度的增大,河蚬受毒害,内脏团颜色加深;硒对河蚬内脏团的几种酶活性和过氧化产物表现出不同程度的影响。酶活性随硒浓度增大均表现为先升高后降低的趋势,其中谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)和过氧化氢酶(CAT)活性对硒的响应比超氧化物歧化酶(SOD)敏感,最大响应浓度均为 $0.609 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,分别为对照组的 2.84 倍和 4.82 倍,而小于 $0.609 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $1.007 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的暴露浓度可显著增强 CAT 和 GPx 活性。在整个实验浓度范围内,硒对 SOD 活性基本都表现为增大作用,SOD 活性在硒暴露浓度为 $1.638 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时具有最大响应值,是对照组的 2.87 倍,丙二醛(MDA)含量在 $1.638 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时也具有最大响应值,但 MDA 的响应较复杂,在本研究中未表现出明显的响应趋势。河蚬对不同硒浓度的响应说明河蚬可作为沉积物中硒污染环境监测的有效指示生物。

关键词: 硒; 河蚬; 富集; 氧化应激

中图分类号: X171.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2014)06-1118-06 doi:10.11654/jaes.2014.06.010

Selenium Bioaccumulation and Its Influence on Antioxidant System in *Corbicula fluminea*

WANG Wen-na¹, WANG Pei-fang^{1*}, CHANG Hong², YIN Ya-yun¹, WANG Yong-quan¹, ZHANG Wei-min¹

(1. Key Laboratory of Integrated Regulation and Resources Development on Shallow Lakes, Ministry of Education, College of Environment, Hohai University, Nanjing 210098, China; 2. Jiangsu Water Conservancy Planning Bureau, Nanjing 210029, China)

Abstract: *Corbicula fluminea* has showed potential to be a bio-indicator of sediment pollution. A laboratory experiment was undertaken to investigate the bioaccumulation of selenium (Se) and its influence on antioxidant system and peroxidation product in the visceral mass of *C. fluminea* under exposure of 14 days. Sediments, obtained from Lake Taihu, were spiked with sodium selenite. The bioaccumulation of Se in *C. fluminea* was linearly related to Se concentrations in the sediments. The bio-concentration factor (BCF) had a power function relationship with Se concentrations. The color of the visceral mass of *C. fluminea* gradually became blackened with increasing Se concentrations. The activities of catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD) showed “increase and then decrease” pattern as Se concentrations increased. GPx and CAT were more sensitive to Se contamination than SOD. The maximum activities of CAT and GPx were observed both at $0.609 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ of Se exposure concentration, being 2.84 times and 4.82 times of the control. SOD activity was greatest at $1.638 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, which was 2.87 times of the control. The contents of MDA didn't show consistent responses to Se concentrations. These results indicate that *C. fluminea* could be used as an indicator of Se pollution in water sediments.

Keywords: selenium; *Corbicula fluminea*; bioaccumulation; oxidative stress

硒是一种普遍存在的元素,是大多数生物所必需的微量元素之一^[1],能够提高机体的抗氧化能力和免

疫功能,具有抗肿瘤、防衰、抗癌的作用^[2]。但硒及其化合物也是毒性物质之一^[3],其对生物的益害浓度范围非常狭窄,超出有利浓度便产生毒害作用,如每升水体硒上升几微克便会致使鱼类完全丧失生殖能力^[4]。未污染淡水水体的硒浓度范围一般为 $0.01 \sim 0.20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[5]。人类的工农业活动加速了硒从地质资源中的释放,并为水陆生态系统的鱼和野生动物所利用^[2]。煤矿开采、

收稿日期: 2013-10-22

基金项目: 国家杰出青年基金项目(51225901); 江苏省“333 高层次人才培养工程”项目(BRA2010121); 江苏省青蓝工程项目

作者简介: 王文娜(1988—),女,硕士研究生,从事水环境保护研究。

E-mail: 15295512396@163.com

* 通信作者: 王沛芳 E-mail: pfwang2005@hhu.edu.cn

煤燃烧、石油精炼、磷酸盐和金属矿开采以及富硒土壤径流等都是水环境硒污染的重要来源^[2,6]。虽然目前环境硒污染并不如其他重金属污染广泛,但由于硒狭窄的益害浓度范围,当出现硒污染,硒通过食物链进入动物及人体时,硒产生的危害比其他重金属污染所造成的危害更为严重。因此,硒作为一种潜在污染元素受到人们的关注。

河蚬 *Corbicula fluminea* (Asiatic clam) 是一种淡水双壳类软体动物,穴居于表层沉积物中,属于瓣鳃纲 (Lamellibranchia), 真瓣鳃目 (Eulamellibranchia), 异齿亚目 (Heterodontta), 蚬科 (Corbiculidae), 蚬属 (*Corbicula*), 广泛分布于中国、朝鲜、日本、东南亚各国,是河流中的重要底栖动物种类。因其活动性差、容易采集、耐污染能力强,对多种污染物具有较强的累积能力而被广泛用于水环境污染的指示监测生物^[7-8]。然而将其用于硒毒性测试的研究很少,补充硒及其化合物对河蚬的毒性数据将有助于更加准确地确定我国硒及其化合物的水生态基准。

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)是生物体重要的抗氧化酶,对维持机体的氧化和抗氧化平衡起着重要作用^[9],其活性受外界刺激的影响,对生物机体抗氧化状态的测定、毒性效应机制的理解及生物体内潜在损伤的预测起着十分重要的作用。丙二醛(MDA)是脂质过氧化的典型产物,是膜脂过氧化的指标之一,其含量的多少可反映机体细胞膜脂质过氧化的程度^[10]。

本研究以河蚬为研究对象,以 Na_2SeO_3 为沉积物加标硒源,主要研究河蚬对沉积物中硒的富集和氧化应激响应,以期水环境硒污染的预防和监测以及相关水生态基准的确定提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用底泥采自太湖湖心区四号灯标处(31°03'19.4"N, 120°08'57.5"E)的表层(0~5 cm)沉积物,同时采集该点的湖水,采样后立即带回实验室保存,采样时间为2013年3月。实验河蚬采自洪泽湖,采回后在实验室于净水槽中驯养2周,驯养结束后选取壳长(2.0±0.1)cm,壳高(1.8±0.1)cm的健康河蚬用于实验。优级纯亚硒酸钠(Na_2SeO_3 , 购于格雷西亚公司,成都)纯度为99.0%。

1.2 实验方法

采用聚乙烯塑料桶作为实验容器进行 Na_2SeO_3

加标的河蚬毒性实验,聚乙烯塑料桶经过稀硝酸浸泡、清洗后备用。

实验前去除底泥中的大块杂物并充分混匀,测得含水率约为50%。混匀后称重分装,每个实验桶内分装(2.0±0.1)kg底泥,实验设计6个加标实验组和1个对照组(底泥不加标),每组设3个重复。用水溶的 Na_2SeO_3 溶液向泥中加标,充分搅拌使混合均匀。 Na_2SeO_3 在底泥中平衡老化1个月后加8kg的湖水,使泥水质量比为1:4。水泥平衡2周后每只桶放入驯养好的河蚬30只。设计实验时间为14d,实验过程中定时补充蒸发的上覆水,及时清除死亡河蚬并记录死亡数量,水温为(22±2)℃,自然光照。经测定,实验硒浓度为(0.278±0.019)、(0.609±0.016)、(1.007±0.113)、(1.638±0.086)、(2.853±0.068)、(5.483±0.140)、(10.332±0.287)mg·kg⁻¹ DW,对照组浓度为0.278 mg·kg⁻¹。实验结束后,不同处理组河蚬的存活率均高于90%,符合美国环保局所推荐的沉积物慢性生物测试中测试生物最低存活率标准(80%)^[11]的要求。

实验两周后取出河蚬冲洗干净,在冰浴条件下进行组织解剖,取出内脏团。测定河蚬体内的Se含量和内脏团的SOD、CAT、GPx活性以及MDA含量。河蚬组织冷冻干燥后经组织粉碎仪处理测定硒含量。粗酶液制备用Zhang等^[12]的方法:将河蚬的内脏团样品用150 mmol·L⁻¹ NaCl(1:19, W/V)冰浴匀浆,4℃、15 000×g条件下离心15 min,收集上清液测定酶活性。CAT、GPx活性、MDA和蛋白含量用南京建成试剂盒测定,SOD用氮蓝四唑(NBT)法测定。一个CAT活力单位定义为:每毫克组织蛋白每秒钟分解1 μmol的H₂O₂的量;一个GPx活力单位定义为:每毫克蛋白质,扣除非酶反应,每分钟使反应体系中GSH浓度下降1 μmol·L⁻¹;一个SOD活力单位定义为:每毫克组织蛋白在1 mL反应液中SOD抑制率达50%时所对应的SOD量。

沉积物和河蚬组织的消解分别采用HNO₃-H₂O₂-HF和HNO₃-H₂O₂消解体系,微波消解。消解液采用AF-630A(北京瑞利,2008)原子荧光光谱测定硒,以水系沉积物成分分析标准物质GSD10和扇贝成分分析标准物质GBW10024控制样品分析的准确性,标准物质的测定结果符合实际值。

1.3 分析方法

文中描述性统计值用“平均值±标准误差”表示,采用SPSS 19.0中的单因素方差分析(One-Way ANOVA)进行方差分析,t检验处理加标组与空白组

的差异,显著水平设置为 $\alpha=0.05$ 和 $\alpha=0.01$, $P<0.05$ 认为具有显著差异, $P<0.01$ 认为具有极显著差异(在以下各图表中,“*”、“**”分别表示:与对照组相比, $P<0.05$, $P<0.01$)。

生物富集系数 $BCF=C_X/C_S$, 式中: C_X 为河蚬体内硒含量, C_S 为沉积物中硒浓度^[13]。

2 结果

2.1 沉积物与河蚬体内的硒含量

沉积物中 Se 通过孔隙水向上覆水中扩散,最终在沉积物和上覆水之间达到动态平衡。在不同的硒浓度暴露条件下,河蚬对 Se 的富集量不同,随着暴露浓度的升高,河蚬体内的硒富集量极显著增大(表 1),最高硒暴露浓度下河蚬体内硒富集量为 $14.009 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$ 。在本实验浓度范围内,上覆水中的 Se 浓度与沉积物中的 Se 浓度呈线性关系(图 1a);沉积物中的 Se 浓度与河蚬体内的 Se 富集经一元线性回归分析,二者之间具有较好的相关性,没有显著的富集饱和现象(图 1b);随着沉积物硒浓度的增大,河蚬对沉积物中硒 BCF 逐渐减小,富集系数与暴露浓度之间呈幂函数关系(图 1c)。

表 1 不同介质中 Se 浓度

Table 1 Concentrations of Se in different media

编号	沉积物总 Se 浓度/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$	上覆水中 Se 浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	河蚬 Se 富集量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$	BCF
对照组 CK	0.28 ± 0.02	0.81 ± 0.05	4.21 ± 0.09	15.14
实验组 1	0.61 ± 0.02	1.69 ± 0.12	$4.74 \pm 0.05^{**}$	7.78
2	1.00 ± 0.11	2.20 ± 0.25	$4.83 \pm 0.02^{**}$	4.80
3	1.64 ± 0.09	3.67 ± 0.31	$5.07 \pm 0.04^{**}$	3.09
4	2.85 ± 0.07	6.00 ± 0.30	$6.96 \pm 0.16^{**}$	2.44
5	5.48 ± 0.14	15.12 ± 0.34	$10.56 \pm 0.24^{**}$	1.93
6	10.33 ± 0.29	22.80 ± 3.00	$14.01 \pm 0.11^{**}$	1.36

2.2 硒对河蚬氧化应激的影响

2.2.1 硒对河蚬内脏团颜色的影响

在暴露于 Na_2SeO_3 条件下,随着暴露浓度的增大,河蚬内脏团颜色逐渐加深(灰暗),在最高实验浓度 $10.332 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处,内脏团颜色几乎接近黑色(图 2)。

2.2.2 硒对河蚬氧化应激的影响

从河蚬内脏团抗氧化系统对沉积物 Se 污染胁迫响应情况来看(图 3),污染暴露 14 d 后:

(1)随着硒暴露浓度的增大,CAT、GPx 活性整体呈先升高后降低的趋势。硒暴露浓度小于 $1.007 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时内脏团 CAT 活性显著高于对照组,二者均在浓

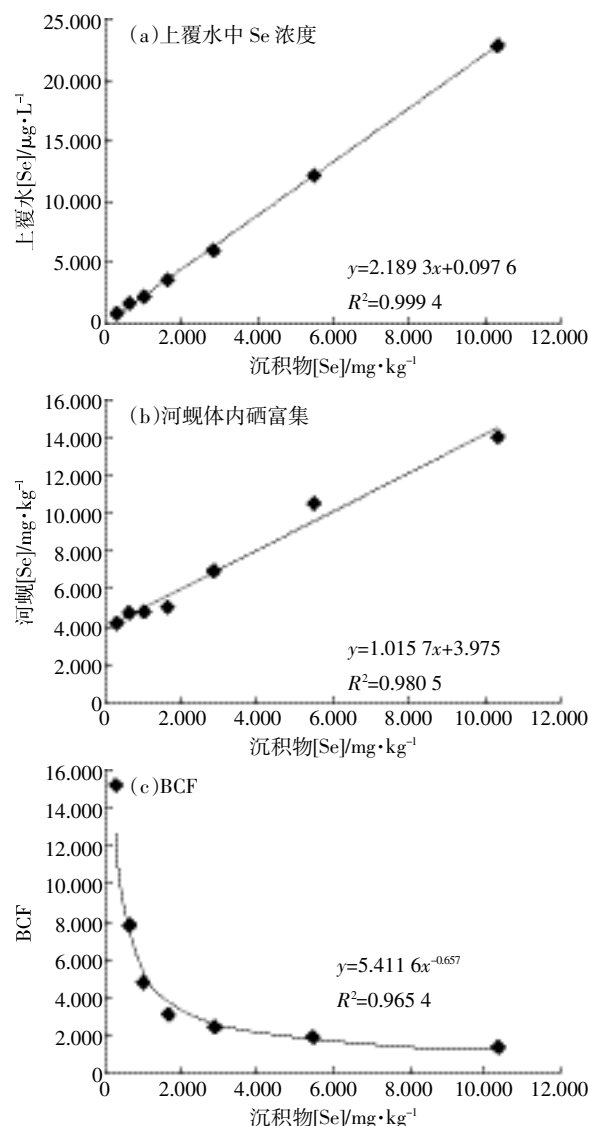


图 1 上覆水中 Se 和河蚬体内 Se 含量、BCF 与沉积物中硒浓度的关系

Figure 1 Relationship between Se in overlying water, *Corbicula fluminea*, and BCF and sediment Se

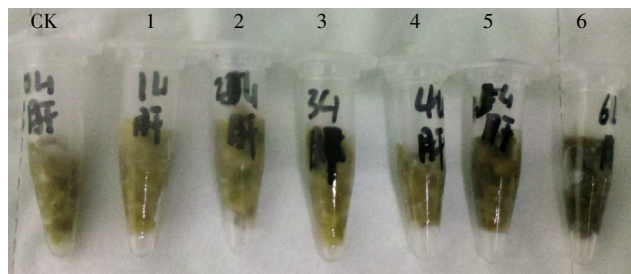


图 2 硒对河蚬内脏团颜色的影响

Figure 2 Effects of Se on color of visceral mass of *Corbicula fluminea*

度为 $0.609 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时具有最大活性,分别为对照组的 4.82 倍和 2.84 倍;其后随硒浓度的增大,活性逐渐

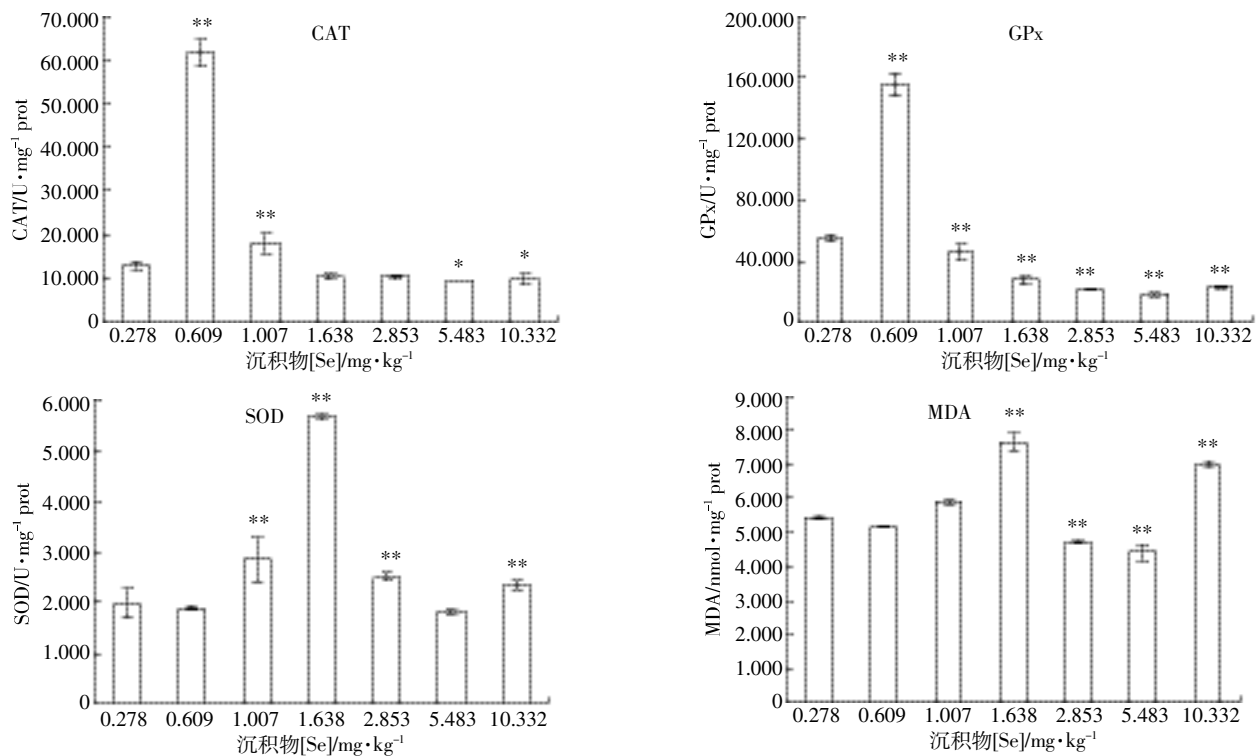


图 3 河蚬内脏团的 CAT、GPx、SOD 活性和 MDA 含量与沉积物总硒浓度的关系

Figure 3 Effects of sediment Se on activities of CAT, GPX and SOD and MDA contents in visceral mass of *Corbicula fluminea*

降低;高浓度时,CAT 和 GPx 活性显著低于对照组,最小值分别为对照组的 75%和 35%左右。

(2)内脏团 SOD 活性随沉积物硒浓度的响应趋势与 CAT 和 GPx 相同,但 SOD 活性的最大响应浓度出现在 1.638 mg·kg⁻¹ 处,为对照组的 2.87 倍;硒浓度大于 1.638 mg·kg⁻¹ 后,SOD 活性随硒浓度的增加逐渐降低,但均高于对照组。

(3)河蚬内脏团 MDA 的含量在 Se 浓度小于 1.007 mg·kg⁻¹ 时基本无明显变化,在硒暴露浓度为 1.638 mg·kg⁻¹ 时,极显著高于对照组;在硒浓度为 2.853 mg·kg⁻¹ 和 5.483 mg·kg⁻¹ 时都明显降低,极显著低于对照组,随后在 2.853 mg·kg⁻¹ 处极显著高于对照组。

3 讨论

河蚬体内的硒含量与沉积物中的硒浓度有着较好的剂量效应关系,呈现一元线性相关,与任静华等^[14]研究中河蚬对沉积物中镉的累积趋势相同。实验河蚬体内的硒含量极显著性大于对照组,说明河蚬对沉积物中硒有着显著的富集作用,这是河蚬作为水环境硒污染指示生物的基本条件。富集系数与暴露浓度之间呈幂函数关系,随暴露浓度的增大迅速减小并趋于平缓,说明暴露浓度越大,富集系数越小。这一结果与苑

旭洲等^[15]的研究结果相似,说明暴露浓度越大,河蚬体内的硒含量与沉积物中硒浓度的关系越趋向于线性相关。

直接观察可见,对照组河蚬内脏团颜色轻淡,实验组灰暗、易碎,并随着暴露浓度的增大颜色不断加深,说明硒对河蚬的内脏团产生了明显的毒害作用,硒浓度越高,毒害作用越大,病变越明显,可能与内脏团的解毒功能有关^[16]。

研究表明 Se 是维持生物体内组织中 GPx 活性的重要因子,在一定剂量范围内 Se 含量与 GPx 活性正相关^[17-18]。本研究发现,对于河蚬内脏团的抗氧化系统来说,Se 不仅直接参与了抗氧化酶 GPx 的构成,同时其浓度的高低也与 CAT 和 SOD 活性密切相关,三种抗氧化酶活性和 MDA 含量对沉积物不同 Se 浓度的响应不同。CAT、GPx、SOD 活性在实验浓度范围内都呈现先升高后降低的趋势。小于 1.007 mg·kg⁻¹ 和 0.609 mg·kg⁻¹ 的暴露浓度可极显著提高 CAT 和 GPx 的活性,高于此浓度则对酶活性产生抑制作用。硒暴露浓度大于 1.638 mg·kg⁻¹ 后 SOD 活性降低,在整个实验浓度范围内硒对 SOD 活性基本表现为增大作用,与对照组相比没有明显的抑制作用,但 SOD 活性对硒的响应灵敏度不及 CAT 和 GPx 活性。可见,在一

定的浓度范围内硒能够提高河蚬的抗氧化酶活性,提高抗氧化系统的抗氧化能力。万敏等^[19]的研究证明硒可有效提高皱纹盘鲍的抗氧化能力,孙虎山等^[20]的研究也指出硒多糖对栉孔扇贝血清和血细胞中CAT和SOD活性均有增强作用。硒含量超出安全范围则会产生毒害作用,与赵先英等^[21]和刘民等^[22]的研究结果一致。关于硒毒性的作用机理,自由基损伤理论是目前最主要的解释依据,硒毒性作用的发生机制是:过量的硒及其化合物与生物体内的GSH反应,产生中间产物 HSe^- , HSe^- 易被氧化产生大量的超氧阴离子($\text{O}_2^{\cdot-}$)及其他形式的活性氧,高浓度的硒在这个过程中产生的活性氧超过机体的抗氧化能力时,就会抑制酶和蛋白质活性^[23],引起生物膜的脂质过氧化和机体氧化损伤。河蚬的内脏团是GSH的主要产生器官,因而是硒毒性的主要目标器官。在本实验中,随着硒浓度的增大,胁迫产生的活性氧增多,超过河蚬的抗氧化能力导致CAT、GPx和SOD活性降低,酶活性的降低使抗氧化能力减弱,进一步导致活性氧的累积,如此恶性循环使河蚬受到严重毒害。

苏传福等^[24]和谢巧雄等^[25]的研究表明,草鱼组织MDA含量与SOD、CAT及GPx活性呈显著负相关,但在本研究中,随着硒浓度的增大,河蚬内脏团的MDA含量呈现波浪起伏的变化,未表现出明显的响应趋势,具体原因有待于进一步深入研究。

4 结论

硒是大多数生物的必需微量元素,但其即使较低浓度也具有严重的生殖毒性,对高营养层的生物毒性更大,而且其安全浓度范围小,容易过渡为致毒浓度,所以硒的水环境基准的制定和水环境监测就显得尤为重要。本研究中,由沉积物中的硒与其在河蚬体内的累积、硒对河蚬内脏团的毒害以及河蚬抗氧化系统对硒的响应可知,河蚬对硒的累积及其抗氧化酶系统的酶活性对沉积物中的硒有着较好的指示作用,可作为沉积物中硒污染环境监测的有效指示生物。

参考文献:

- [1] Lee B G, Lee G S, Luoma S N. Comparison of selenium bioaccumulation in the clams *Corbicula fluminea* and *Potamocorbula amurensis*: A bioenergetic modeling approach[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2006, 25(7):1933-1940.
- [2] Hamilton S J. Review of selenium toxicity in the aquatic food chain[J]. *Science of the Total Environment*, 2004, 326(1-3):1-31.
- [3] Spallholz J E. Free radical generation by selenium compounds and their prooxidant toxicity[J]. *Biomedical and Environmental Sciences*:BES, 1996, 10(2-3):260-270.
- [4] Lemly A D. Aquatic selenium pollution is a global environmental safety issue[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2004, 59(1):44-56.
- [5] Conde J E, Sanz Alaejos M. Selenium concentrations in natural and environmental waters[J]. *Chemical Reviews*, 1997, 97(6):1979-2004.
- [6] Fournier E, Adam C, Massabau J C. Selenium bioaccumulation in *Chlamydomonas reinhardtii* and subsequent transfer to *Corbicula fluminea*: Role of selenium speciation and bivalve ventilation[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2006, 25(10):2692-2699.
- [7] Shoults-Wilson W A, Unrine J M, Rickard J, et al. Comparison of metal concentrations in *Corbicula fluminea* and *Elliptio hopetonensis* in the Altamaha River system, Georgia, USA[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2010, 29(9):2026-2033.
- [8] Vidal M L, Basseres A, Narbonne J F. Interest of a multibiomarker approach in the assessment of freshwater ecosystem quality: Laboratory and field studies[J]. *Water Science and Technology*, 2001, 44(2-3):305-312.
- [9] 金小伟, 查金苗, 许宜平, 等. 3种氯酚类化合物对河蚬的毒性和氧化应激[J]. *生态毒理学报*, 2009, 4(6):816-822.
- [10] JIN Xiao-wei, ZHA Jin-miao, XU Yi-ping, et al. Toxicity and oxidative stress of three chlorophenols to freshwater clam *Corbicula fluminea*[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2009, 4(6):816-822.
- [11] Grundy J E, Storey K B. Antioxidant defenses and lipid peroxidation damage in estivating toads, *Scaphiopus couchii*[J]. *Journal of Comparative Physiology*, 1998, 168(2):132-142.
- [12] U. S. Environmental Protection Agency. Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment associated contaminants with freshwater invertebrates[M]. 2nd ed. Washington DC: Office of Science and Technology, 1993:1-192.
- [13] Zhang J S, Ma K Y, Wang H L. Cyclophosphamide suppresses thioredoxin reductase in bladder tissue and its adaptive response via inductions of thioredoxin reductase and glutathione peroxidase[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2006, 162(1):24-30.
- [14] Szefer P, Geldon J, Ali A A, et al. Distribution and association of trace metals in soft tissue and byssus of *Mytella strigata* and other benthic organisms from Mazatlan Harbour, Mangrove Lagoon of the northwest coast of Mexico[J]. *Environment International*, 1998, 24(3):359-374.
- [15] 任静华, 马宏瑞, 王晓蓉, 等. 太湖沉积物中镉的赋存形态及其与河蚬体内富集的关系[J]. *湖泊科学*, 2011, 23(3):321-324.
- [16] REN Jing-hua, MA Hong-rui, WANG Xiao-rong, et al. Speciation of Cd and its relationship with the bioaccumulation of *Corbicula fluminea* in the sediments of Lake Taihu[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2011, 23(3):321-324.
- [17] 苑旭洲, 崔毅, 陈碧鹃, 等. 菲律宾蛤仔对6种重金属的生物富集动力学[J]. *渔业科学进展*, 2012, 33(4):49-56.
- [18] YUAN Xu-zhou, CUI Yi, CHEN Bi-juan, et al. Tinctic study on the bioconcentration of six heavy metals in *Ruditapes philippinarum*[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2012, 33(4):49-56.
- [19] 于淑池, 许丽敏, 朱叶莲, 等. 对苯二胺对泥鳅的急性毒性及安全评价[J]. *水生生态学杂志*, 2011, 32(2):131-134.

- YU Shu-chi, XU Li-min, ZHU Ye-lian, et al. Study on acute toxicity of P-phenylenediamine on *Misgurnus anguillicaudatus* and its safety evaluation[J]. *Journal of Hydroecology*, 2011, 32(2):131-134.
- [17] 梁萌青, 王家林, 常青, 等. 饲料中硒的添加水平对鲈鱼生长性能及相关酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2006, 13(6):1017-1024.
- LIANG Meng-qing, WANG Jia-lin, CHANG Qing, et al. Effects of dietary Se on growth performance and activities of related enzymes in juvenile Japanese seabass *Lateolabrax japonicus*[J]. *Journal of Fishery Science of China*, 2006, 13(6):1017-1024.
- [18] Hafeman D G, Sunde R A, Hoekstra W G. Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat[J]. *The Journal of Nutrition*, 1974, 104(5):580-587.
- [19] 万敏, 麦康森, 马洪明, 等. 硒和维生素E对皱纹盘鲍血清抗氧化酶活力的影响[J]. 水生生物学报, 2004, 28(5):496-506.
- WAN Min, MAI Kang-sen, MA Hong-ming, et al. Effects of dietary selenium and vitamin E on antioxidant enzyme activities in abalone, *Haliotis Discus Hannai* Ino[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2004, 28(5):496-506.
- [20] 孙虎山, 李光友. 硒多糖和酵母聚糖对栉孔扇贝血淋巴中二种抗氧化酶活力的影响[J]. 中国海洋药物杂志, 2000, 19(5):20-25.
- SUN Hu-shan, LI Guang-you. The effects of seleno-polysaccharide and zymosan on the activities of antioxidant enzymes in the haemolymph of *Chlamysfarreri*[J]. *Chinese Journal of Marine Drugs*, 2000, 19(5):20-25.
- [21] 赵先英, 刘毅敏, 覃军, 等. 微量元素硒、锰、氟对SOD活性的影响[J]. 第三军医大学学报, 2004, 26(2):171-174.
- ZHAO Xian-ying, LIU Yi-min, QIN Jun, et al. Effects of microelements Se, Mn, and F on SOD activity[J]. *Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae*, 2004, 26(2):171-174.
- [22] 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.
- LIU Min. The toxic effects of sodium selenite anhydrous on loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) [D]. Jinan: Shandong Normal University, 2007.
- [23] Spallholz J E, Hoffman D J. Selenium toxicity: Cause and effects in aquatic birds[J]. *Aquatic Toxicology*, 2002, 57(1):27-37.
- [24] 苏传福, 罗莉, 李芹, 等. 硒对草鱼抗氧化功能及组织结构的影响[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2008, 33(5):69-77.
- SU Chuan-fu, LUO Li, LI Qin, et al. Effects of dietary selenium on the anti-oxidation capability and histological structure of grass carp, *Cenopharyngodon idellus*[J]. *Journal of Southwest China Normal University (Natural Science Edition)*, 2008, 33(5):69-77.
- [25] 谢巧雄, 朱心玲. 亚硒酸钠对四氯化碳损伤草鱼肝原代细胞与肝组织的保护作用[J]. 水生生物学报, 1996, 20(3):229-235.
- XIE Qiao-xiong, ZHU Xin-ling. The role of sodium selenite in protection of primary hepatocytes and livers against carbon tetrachloride toxicity in grass carp[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1996, 20(3):229-235.