

ISSN 0564-3929

Acta Pedologica Sinica 土壤学报

Turang Xuebao



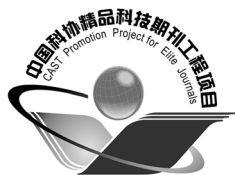
中国土壤学会
科学出版社

主办
出版

2015

第52卷 第5期

Vol.52 No.5



土 壤 学 报

(Turang Xuebao)



第 52 卷 第 5 期 2015 年 9 月

目 次

综述与评论

- 基于文献计量分析的近30年国内外土壤科学发展过程解析 宋长青 谭文峰 (957)
土壤生态系统服务的概念、量化及其对城市化的响应 吴绍华 虞燕娜 朱 江等 (970)

研究论文

- 基于土壤系统分类的河南省土壤有机质时空变异 李 玲 张少凯 吴克宁等 (979)
皖南第四纪红土伊利石结晶度值与风化强度的关系 刘莉红 胡雪峰 叶 玮等 (991)
青海民和官亭盆地喇家遗址古耕作土壤层微形态研究 张玉柱 黄春长 庞奖励等 (1002)
基于成像光谱技术预测氮素在土壤剖面中的垂直分布 李 硕 汪善勤 史 舟 (1014)
基于探地雷达的典型喀斯特坡地土层厚度估测 王 升 陈洪松 付智勇等 (1024)
淮河流域地表干湿变化的时空分布特征 曹永强 徐 丹 曹 阳 (1031)
神府矿区弃土弃渣体侵蚀特征及预测 郭明明 王文龙 李建明等 (1044)
砂石条形覆盖下土壤水分蒸发动态研究 赵 丹 李 毅 冯 浩 (1058)
pH和三种阴离子对紫色土亚硒酸盐吸附-解吸的影响 周鑫斌 于淑慧 谢德体 (1069)
土壤非交换性钾释放动力学特征及其生物有效性 李 婷 王火焰 陈小琴等 (1078)
生物质灰对红壤酸度的改良效果 时仁勇 李九玉 徐仁扣等 (1088)
小麦秸秆生物炭对高氯代苯的吸附过程与机制研究 李 洋 宋 洋 王 芳等 (1096)
不同温度玉米秸秆生物炭对萘的吸附动力学特征与机理 张 默 贾明云 卞永荣等 (1106)
十溴联苯醚对秀丽隐杆线虫毒性研究 王赢利 陈建松 阳宇翔等 (1116)
稻草和三叶草分解对微型土壤动物群落的影响 王 慧 桂 娟 刘满强等 (1124)
沿海区土壤线虫对海水入侵土壤盐渍化的响应 王诚楠 张伟东 王雪峰等 (1135)
土壤团聚体 N_2O 释放与反硝化微生物丰度和组成的关系 周汉昌 张文钊 刘 毅等 (1144)
基于产量、氮效率和经济效益的春玉米控释氮肥掺混比例 王 寅 冯国忠 张天山等 (1153)

问题讨论

- 中国土壤系统分类基层单元土族建设现状与命名上存在的问题 易 晨 马渝欣 杨金玲等 (1166)

研究简报

- 干旱与重吸水对人工藻结皮光合特性的影响 吴 丽 杨 红 兰书斌等 (1173)
咸水灌溉对沙漠防护林植物根系分布及风沙土演变的影响 李从娟 唐俊妍 高 培等 (1180)
不同 $NaNO_3$ 浓度下可变电荷土壤铜离子解吸率的分配及影响因素 张政勤 罗文贱 陈 勇等 (1188)

封面图片: 不同浓度十溴联苯醚对秀丽隐杆线虫的毒性 (由王赢利提供)

十溴联苯醚对秀丽隐杆线虫毒性研究^{*}

王赢利^{1, 2} 陈建松³ 阳宇翔¹ 解启来^{1†}

(1 华南农业大学资源环境学院, 广州 510642)

(2 嘉应学院化学与环境学院, 广东梅州 514015)

(3 华南农业大学农学院, 广州 510642)

摘 要 十溴联苯醚 (BDE-209) 是一类新型持久性有机污染物, 可导致神经系统和生殖发育等多种生理毒性。本文以秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*) 为模式生物, 通过分析十溴联苯醚 (BDE-209) 对其繁殖、寿命、细胞凋亡以及体内超氧化物歧化酶基因 *sod-3*、类 p-53 蛋白基因 *cep-1*、细胞色素 P450 基因 *cyp35a2* 以及谷胱甘肽转移酶基因 *gst-1* 的影响, 来评价 BDE-209 的生理、细胞及分子水平毒性。试验结果表明, 与空白对照相比, BDE-209 低剂量 (5 mg kg^{-1}) 短时间暴露, 对秀丽线虫细胞凋亡及产卵影响不显著; 高浓度长时间暴露 (30 mg kg^{-1}) 会导致秀丽隐杆线虫产卵数目下降, 寿命缩短, 细胞凋亡。Real-time PCR 试验表明, 低剂量 (5 mg kg^{-1}) 暴露使得 *sod-3*、*cep-1*、*cyp35a2* 基因表达显著增加; 高剂量暴露 (30 mg kg^{-1}), 虽然 *sod-3* 表达显著增加, 但增加幅度低于低浓度暴露组, *cep-1*、*cyp35a2* 基因表达显著受到抑制。说明长期暴露在高浓度 (30 mg kg^{-1}) 十溴联苯醚环境中, 会促使秀丽隐杆线虫产生氧化应激反应, 秀丽隐杆线虫通过调控相关抗氧化基因的表达来修复这种损伤, 而高浓度的 BDE-209 会造成其机体氧化损伤、细胞凋亡及产卵量下降。

关键词 十溴联苯醚; 秀丽隐杆线虫; 繁殖; 抗氧化酶; 基因表达

中图分类号 X171.5 **文献标识码** A

十溴联苯醚 (BDE-209) 因具有良好的阻燃性能, 被广泛添加到塑料、尼龙、涤棉纺织物、电路板及建筑材料中。对于 BDE-209 的生物毒性, 普遍认为是其在自然界缓慢降解成低溴物质而导致的^[1-3], 但是目前越来越多的研究表明, BDE-209 自身的生物毒性也不可忽视, 它会导致小鼠体外受精率降低, 影响受精卵的早期发育^[4]; 会对中华哲水蚤的谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX)、谷胱甘肽巯基转移酶 (GST) 和谷胱甘肽还原酶 (GR) 造成胁迫^[5]; 还会对菲律宾蛤仔外套膜抗氧化基因活性产生抑制作用^[6]。目前有关 BDE-209 毒理学研究对象主要集中在鼠^[4, 7]、蚯蚓^[8]、水生物^[5]、鱼类^[9]、土壤微生物及其土壤酶活性^[10-11] 等方面, 而以秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*,

C. elgans) 为模式生物的毒理研究鲜有报导。

土壤中的秀丽隐杆线虫, 其结构简单, 通体透明, 试验周期短, 30% 的基因与哺乳动物基因组同源, 且全部基因均被解码, 已被成功运用于生命科学领域的毒理研究^[12-14]。铜、铅、镉等重金属以及毒死蜱、芳烃、有机磷农药等有机污染物对秀丽隐杆线虫的毒理研究表明^[15-16], 该模式生物能很好地感知浓度的变化, 为污染物毒性机理提供理论依据。本研究以秀丽隐杆线虫为对象, 分析 BDE-209 对其产卵率、寿命以及体内超氧化物歧化酶基因 (*sod-3*)、类 p-53 蛋白基因 (*cep-1*)、细胞色素 P450 基因 (*cyp35a2*)、谷胱甘肽转移酶基因 (*gst-1*) 的影响, 以期对 BDE-209 生殖、细胞及分子水平毒性研究提供参考数据。

* 广东省自然科学基金项目 (S2013010013809) 资助

† 通讯作者: 解启来 (1964—), 男, 博士, 教授, 主要研究方向为环境地球化学

作者简介: 王赢利 (1974—), 女, 河南平舆人, 博士研究生, 高级实验师, 主要从事环境污染与治理研究。E-mail: liwy@jyu.edu.cn

收稿日期: 2015-01-14; 收到修改稿日期: 2015-04-14

1 材料与方法

1.1 供试材料

秀丽隐杆线虫（以下简称线虫）以及大肠杆菌（OP50）均由华南农业大学植物线虫研究室提供。十溴联苯醚（BDE-209）为优级纯，二甲基亚砜（DMSO）等试剂均为国产分析纯。

1.2 试验方法

秀丽隐杆线虫培养：将线虫恒温（20℃）培养于涂有OP50的NGM（Nematode Growth Medium）培养基上^[17]，待长至成虫待产卵时，在体式显微镜（Olympusex-21F51，日本）下挑出20条成虫置于涂有OP50的新皿上产卵，2 h后将全部成虫挑出，卵留在培养基上继续孵化培养至L4期，待用。

繁殖率测定^[18]：将BDE-209用DMSO助溶后配成5、10、20、30 mg kg⁻¹的NGM培养基。试验采取空白NGM培养基、DMSO培养基为对照组。将上述培养基均匀涂于大肠杆菌，35℃培养8 h后，将孵化培养至L4期的线虫（以下试验均排除雄虫）挑至不同浓度的培养基上，每皿5条，20℃下培养。待线虫产卵后，每24 h移皿一次，计下产卵数目，直至产卵结束，统计产卵期数目总和，折算为每条线虫的产卵数目，每个浓度设置3个重复，此为亲代（Parental generation，P）线虫产卵率。待卵孵化长至L4期时，移至相同浓度的BDE-209且涂有大肠杆菌的培养基上，观察产卵率，每皿5条，重复3次，此为子一代（F1）线虫产卵率，以此类推，观察子二代（F2）、子三代（F3）产卵率情况。

最长寿命测定^[18]：将培养至L4期的线虫挑至涂有OP50的不同浓度BDE-209的培养基上，每皿10条，每24 h观察线虫成活数量及寿命。产卵期每24 h移皿一次，产卵后，每48 h移皿一次，每个浓度试验重复3次。

细胞凋亡测定：参照Gumienny等^[13]的方法，用吖啶橙（AO）染色的方法检测秀丽线虫细胞凋亡。将培养至L4期的线虫分别挑至0、10、20、30 mg kg⁻¹ BDE-209溶液中，每浓度100条，添加OP50，避光20℃下保存24 h，再挑出线虫，用M9溶液清洗后，在无食物的NGM培养基上恢复10 min，在载玻片上滴1滴1:10的甘油，将线虫挑至甘油中，盖上盖玻片，在荧光显微镜下观察线虫各部位细胞凋亡情况。激发波长为515 nm，吸收波

长为488 nm。

基因指标测定：收集不同BDE-209浓度下培养的L4期线虫约20 μl，参照Invitrogen公司的Trizol Reagent说明书操作提取总RNA。按照Rever Tra Ace qPCR RT Kit 试剂盒（TOYOBO）的方法合成cDNA，使用GoTaq® 2-Step RT-qPCR System 试剂盒（Promega）在TAKARA实时定量PCR仪上进行荧光实时定量的检测。荧光实时定量的引物参照Zhang等^[19]的设计，以3-磷酸甘油醛脱氢酶基因（gpd-1）为内标，选取超氧化物歧化酶基因（sod-3）、类p-53蛋白基因（cep-1）、过氧化氢酶基因（ctl-2）、细胞色素P450基因（cyp35a2）进行测定，基因表达值的计算方法采用 ΔCt 法（ $2^{-\Delta Ct}$ ），并进行对数转换^[20]。每组试验重复3次。

1.3 数据处理

采用Excel和SAS9.0软件处理试验数据并进行相关性及差异性检验。

2 结 果

2.1 BDE-209对线虫产卵率的影响

溶剂（DMSO）及BDE-209对线虫亲代、子一代至子三代产卵率的影响见表1。由表1可以看到，与空白对照组相比，亲代线虫溶剂组（DMSO）、低剂量BDE-209（5 mg kg⁻¹）试验组暴露对线虫产卵率的影响无显著差异（ $p>0.05$ ），而中剂量（10 mg kg⁻¹、20 mg kg⁻¹）以及高剂量BDE-209（30 mg kg⁻¹）暴露组使得线虫产卵率显著下降（ $p<0.05$ ）。子一代线虫溶剂组产卵率变化不显著，而含BDE-209试验组产卵率均显著下降（ $p<0.05$ ）；其中5 mg kg⁻¹和10 mg kg⁻¹试验组之间差异不显著（ $p>0.05$ ），20 mg kg⁻¹和30 mg kg⁻¹试验组之间差异不显著（ $p>0.05$ ）。子二代线虫溶剂组及不同浓度的BDE-209 试验组与空白对照组相比，产卵率均显著下降（ $p<0.05$ ），其中5 mg kg⁻¹和10 mg kg⁻¹试验组之间差异不显著，20 mg kg⁻¹和30 mg kg⁻¹试验组之间差异显著（ $p<0.05$ ）。子三代线虫溶剂组及不同浓度的BDE-209暴露均使得线虫产卵率显著下降（ $p<0.05$ ）。暴露于相同浓度的BDE-209中，随着时间的延长，线虫产卵率显著下降：与空白对照组相比，低剂量组（5 mg kg⁻¹）亲代产卵率下降3.8%，子三代产卵率下降了55.3%；

中剂量组 (20 mg kg⁻¹) 亲代产卵率下降29.2%，子三代下降了56.7 %；高剂量组 (30 mg kg⁻¹) 亲代产卵率下降了23.1%，子三代产卵率下降了81.7 %。表明，BDE-209低浓度 (5 mg kg⁻¹) 短时间暴露尽管对秀丽线虫产卵量影响较小，但随着暴露时间

的延长会抑制秀丽线虫产卵率；BDE-209高浓度 (30 mg kg⁻¹) 短时间暴露即可显著抑制线虫产卵量。试验中也发现，溶剂暴露会对秀丽线虫产卵量产生影响，但显著低于BDE-209的影响，试验中应注意其添加量。

表1 不同浓度BDE-209暴露对线虫产卵率的影响

Table 1 Brood size for worms exposed to different concentrations of BDE-209 (eggs worm ⁻¹)						
BDE-209 (mg L ⁻¹)	0	5	10	20	30	DMSO
P	217 ± 17a	209 ± 31ab	151 ± 41b	152 ± 34b	165 ± 33b	185 ± 21ab
F1	198 ± 11a	161 ± 27b	143 ± 47b	95 ± 13c	114 ± 42c	176 ± 10ab
F2	223 ± 10a	163 ± 26b	112 ± 18b	143 ± 6c	92 ± 36d	169 ± 18b
F3	221 ± 13a	100 ± 9b	93 ± 27b	95 ± 19b	40 ± 14c	123 ± 32b

注：P，亲代；F，子代。同一行中不同小写字母显著差异 ($p<0.05$) Note: P, Parental generation; F, Filial generation. Different lowercase letters in the same column mean significant difference ($p<0.05$)

2.2 BDE-209对线虫寿命及世代繁殖时间的影响

BDE-209对线虫寿命时间的影响见图1。由图1可知，与对照组相比，暴露于5 mg kg⁻¹、10 mg kg⁻¹ BDE-209环境中，线虫的平均寿命变化不显著 ($p>0.05$)；暴露于20 mg kg⁻¹和30 mg kg⁻¹ BDE-209环境中，线虫的平均寿命 (16.3 ± 1.5 d和 15.0 ± 1.0 d) 均显著缩短 ($p<0.05$)。

线虫在20℃下的世代繁殖约为3.5~4.0 d，在BDE-209暴露的早期阶段，线虫世代繁殖时间未受显著影响，但随着浓度的升高，毒害时间的增加，世代繁殖时间延长。数据表明30 mg kg⁻¹

BDE-209暴露使得线虫子二代世代繁殖时间延长至4.0~5.5 d，至子三代时，产卵数量急剧下降，产卵时间延长至6.1~7.0 d。

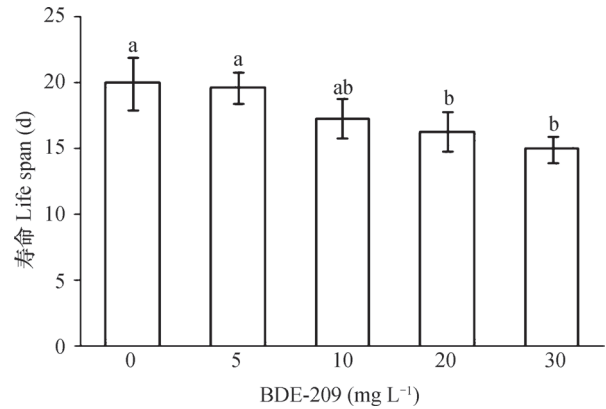
2.3 线虫细胞凋亡情况

本研究采用吖啶橙染色法定性检测秀丽线虫的细胞凋亡情况。染色后，DNA断裂凋亡细胞的核为亮绿色或黄色，而正常细胞为淡绿色。浸润于不同浓度的BDE-209溶液中24 h后，线虫细胞凋亡情况如图2所示。

与对照 (图3 A) 相比，暴露于10 mg kg⁻¹ BDE-209 (图3 C) 的线虫通体均为浅绿色，咽部颜色稍微深些，20 mg kg⁻¹ BDE-209处理 (图3 E) 的生殖腺部位上端为淡绿色，细胞凋亡不明显；30 mg kg⁻¹ BDE-209处理 (图3 G) 的线虫生殖腺部位绿色较深，尤其是体内的卵为亮绿色且略带黄色。表明高浓度的BDE-209 (30 mg kg⁻¹) 可能导致秀丽线虫生殖部位细胞发生凋亡。

2.4 BDE-209对秀丽线虫各基因表达的影响

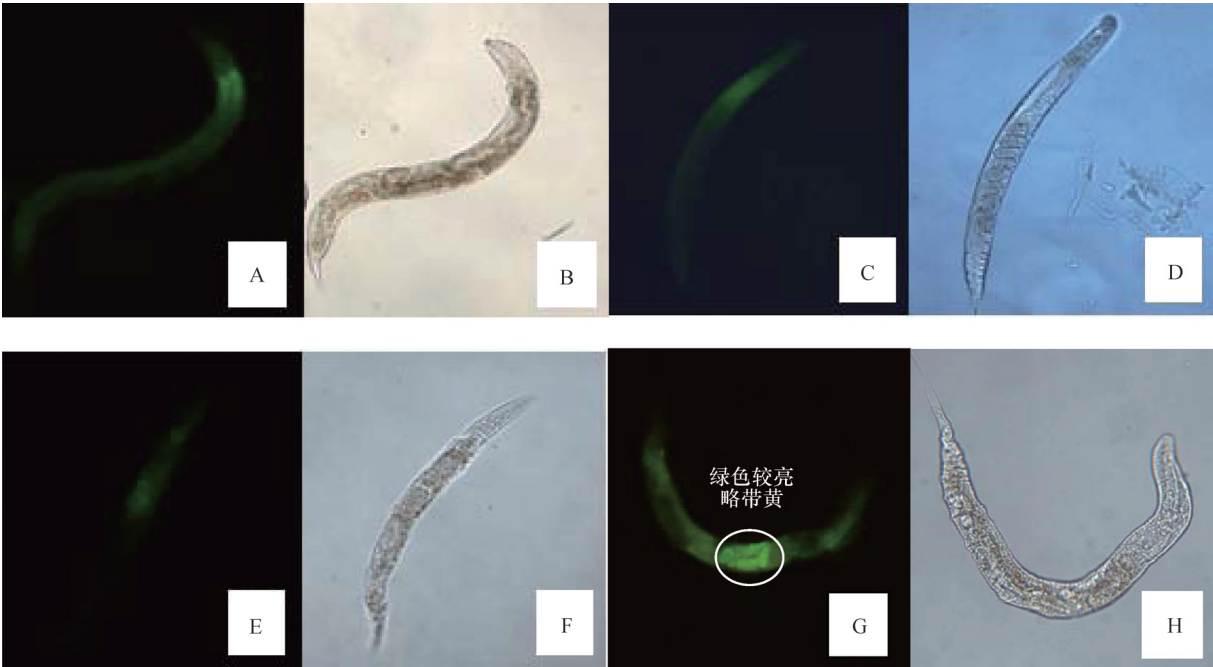
本研究检测了BDE-209对秀丽线虫sod-3、cep-1、cyp35a2、gst-1基因表达的影响，结果见图3。由图可知，与空白对照组 (CK) 相比，除gst-1外，溶剂对sod-3、cep-1、cyp35a2表达抑制作用不显著。暴露于低浓度 (5 mg kg⁻¹) BDE-209环境中秀丽线虫sod-3和cep-1表达极显著增加 ($p<0.01$)，暴露于中高浓度 (10 mg kg⁻¹、



注：小写字母不同表示处理间显著差异， $p<0.05$ Note: Different lowercase letters mean significant difference at 0.05 level

图1 不同浓度BDE-209下秀丽线虫平均寿命

Fig.1 Mean life span of *C. elegans* exposed to BDE-209 relative to concentration of the substance

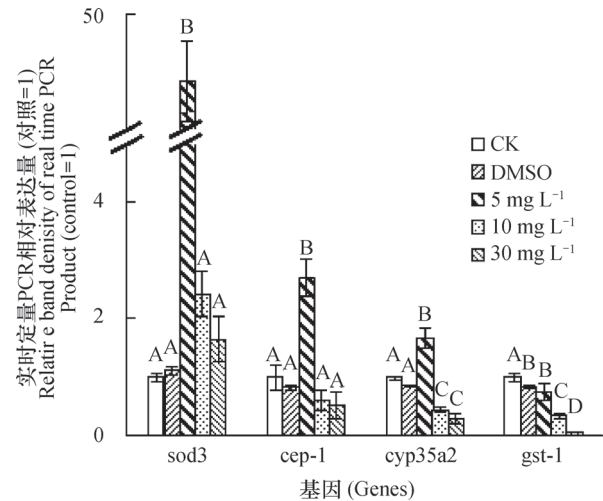


(A, B)：暗场和明场下的对照组线虫；(C, D)：暗场和明场下的10 mg kg⁻¹试验组线虫；(E, F)：暗场和明场下的20 mg kg⁻¹试验组线虫；(G, H)：暗场和明场下的30 mg kg⁻¹试验组线虫。

(A, B)：Apoptosis of worms in control group under dark field and lighted field；(C, D)：Apoptosis of worms exposed to 10 mg kg⁻¹ of BDE-209 under dark field and lighted field；(E, F)：Apoptosis of worms exposed to 20 mg kg⁻¹ of BDE-209 under dark field and lighted field；(G, H)：Apoptosis of worms exposed to 30 mg kg⁻¹ of BDE-209 under dark field and lighted field

图2 不同浓度BDE-209暴露下秀丽线虫细胞凋亡情况

Fig.2 Cell apoptosis of *C. elegans* exposed to BDE-209 relative to concentration of the substance



注：图中误差线为标准差。大写字母不同表示差异极显著 $p<0.01$ Note: Bars represent standard deviation. Different capital letters mean significant difference at 0.01 level

图3 BDE-209暴露对线虫基因表达的影响

Fig.3 Gene expressions of *C. elegans* exposed to different concentrations of BDE-209

30 mg kg⁻¹) 处理的sod-3和cep-1表达增加不显著 ($p>0.05$)。对于cyp35a2, 低浓度 (5 mg kg⁻¹) BDE-209处理组秀丽线虫cyp35a2极显著增加 ($p<0.01$)，而高浓度BDE-209 (30 mg kg⁻¹) 处理组cyp35a2表达则极显著下降 ($p<0.01$)。gst-1在3个浓度处理组均极显著下降 ($p<0.01$)，且随着浓度的增加，下降趋势越明显。

3 讨 论

线虫短期暴露于在低浓度的BDE-209 (5mg kg⁻¹) 中产卵数目差异不显著 (亲代)，但随着暴露时间的延长，线虫后代产卵数量开始下降，且随着DBE-209浓度的增加和暴露时间延长，后代产卵数量下降显著。尤其是高浓度组 (30 mg kg⁻¹) 到子三代时，产卵数目急剧降低了81.7%，显示高浓度的BDE-209对线虫的繁殖和生殖能力有一定抑制作用。凋亡试验表明，暴露于30 mg kg⁻¹的

BDE-209溶液中24 h, 线虫生殖部位细胞有凋亡现象。

sod-3是使生物体免受氧自由基破坏的重要抗氧化酶, 当受到外界氧化胁迫时, sod-3的表达量会发生变化, 且在一定限度内与氧化胁迫程度相关^[19, 21]。孟范平等^[22]发现当受到BDE-47胁迫时, 低浓度下海水小球藻的抗氧化酶活性上升, 高浓度下活性受抑。Bell é s等^[23]研究了五溴联苯醚(BDE-99)对小鼠的影响, 也发现高浓度下小鼠小脑sod活性明显降低。另外杜红燕等^[24]以红虫(淡水单孔蚓)为研究对象, 张喆等^[6]以菲律宾蛤仔外套膜为研究对象, 均发现sod活性在BDE-209的作用下呈现先激活后抑制的现象。本研究试验数据也表明, 当线虫暴露于低浓度BDE-209(5 mg kg⁻¹)中时, sod-3表达显著增加($p<0.01$), 当暴露于10 mg kg⁻¹、30 mg kg⁻¹ BDE-209中时, sod-3表达增加幅度显著下降($p<0.01$), 即随着BDE-209浓度的增加出现先激活后抑制现象。

与生物细胞凋亡密切相关的类p53蛋白基因cep-1^[25-26], 当受到外界胁迫时, cep-1显著上调, 促进细胞凋亡以减轻外来氧化应激压力^[19, 27]。本研究中, 低浓度时(5 mg kg⁻¹) cep-1极显著上调($p<0.01$), 高浓度时(30 mg kg⁻¹) cep-1极显著降低($p<0.01$), sod-3基因表达与cep-1表达趋势一致。暴露于BDE-209的凋亡试验照片表明, 低浓度下不明显, 高浓度下生殖部位受损明显, 表明高浓度暴露可能对线虫的生殖造成影响, 这与梁辰等^[28]研究结论(BDE-209会危害孕期大鼠的生殖发育)一致。

本研究sod-3、cep-1基因在不同浓度的BDE-209胁迫下均出现先激活后抑制现象, 这与BDE-209对菲律宾蛤仔外套膜的毒性反应相似^[6]。推测是BDE-209诱导线虫产生氧化应激反应, 以应对可能导致的氧化损伤, 但随着BDE-209浓度的增加, 毒害作用超过线虫自身机体的调节能力, 导致酶活性降低, 细胞凋亡。而此时与异生质代谢有关的基因cyp35a2也出现先激活后下降现象, 可能是受到外源刺激后, 虽然激发了线虫体内的细胞色素酶基因cyp35a2, 但却因浓度及毒性超出线虫耐受范围, 无法参与外源污染物代谢, 造成机体损伤, 发生“中毒”现象。谷胱甘肽转移酶(GSTs)是异生质代谢后重要解毒酶, 它可以将有害物质催化, 增加其疏水性, 以便于顺利通过细胞膜排出体外^[29]。

本试验中, gst-1表达显著受抑制, 表明线虫无法对BDE-209进行催化及解毒。结合线虫的产卵率及世代繁殖时间来看, 短期暴露于低浓度BDE-209(5 mg kg⁻¹)中, 线虫主要通过调高sod-3基因表达来应对氧化损伤; 但随着暴露时间的延长以及BDE-209浓度的增加, 线虫无法对外源异生质进行代谢及解毒, 完成自我修复功能^[30-31], 从而导致机体受损, 细胞凋亡以及产卵率、最长寿命等生物指标下降。有关BDE-209对秀丽线虫的毒害机理以及分子机制方面的研究尚不明确, 仍需作深入的研究。

4 结 论

暴露于低剂量BDE-209(5 mg kg⁻¹)环境中, 短时间对秀丽线虫影响较小, 但随着浓度的增加以及暴露时间的延长, 秀丽线虫产卵数量下降, 最长寿命缩短, 世代繁殖时间延长, 种群繁殖受到抑制。Real-time PCR试验表明, 低浓度BDE-209(5 mg kg⁻¹)暴露, 秀丽线虫可能通过调高sod-3、cep-1以及cyp35a2基因表达以应对氧化损伤, 但高浓度暴露(30 mg kg⁻¹), 可能因机体受损, 秀丽线虫抗氧化基因(sod-3、cep-1)、代谢基因(cyp35a2)以及解毒基因(gst-1)严重受抑制。表明高剂量(30 mg kg⁻¹) BDE-209暴露可能会使得秀丽线虫无法修复氧化损伤而导致细胞凋亡, 并造成线虫生殖及生长发育毒性。

致 谢 感谢华南农业大学植物线虫研究室廖金铃惠赠秀丽隐杆线虫以及对试验的悉心指导!

参 考 文 献

- [1] He P, Wang A, Xia T, et al. Effects of PBDE-47 on reproductive development in SD rat. *Health Research*, 2010, 30(2): 83—87
- [2] Feng C L, Xu Y P, Zha J M, et al. Toxicokinetics and the related metabolites in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after exposure to decabromodiphenyl ether. *Science China Chemistry*, 2010, 53(11): 2379—2386
- [3] 胡伟, 李冬梅, 韩晓冬, 等. 6-HO-BDE-137对大鼠睾丸支持细胞的毒性. *生态毒理学报*, 2009, 4(2): 224—230. Hu W, Li D M, Han X D, et al. Toxicity of 6-HO-BDE-137 to rat testicular sertoli cells (In Chinese). *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2009, 4

- (2): 224—230
- [4] 王志新, 段华英, 王玲, 等. 十溴联苯醚对小鼠受精卵发育的影响. 中山大学学报: 医学科学版, 2011, 32 (1): 51—55. Wang Z X, Duan H Y, Wang L, et al. Toxic effects on mice in vitro fertilization induced by polybrominated diphenyl ethers (In Chinese). Journal of Sun Yat-Sen University: Medical Sciences, 2011, 32 (1): 51—55
- [5] 沙婧婧, 唐学玺, 王其翔, 等. 十溴联苯醚 (BDE-209) 对中华哲水蚤的急性毒性效应及体内三种抗氧化酶活性的影响. 海洋环境科学, 2014, 33 (5): 677—681. Sha J J, Tang X X, Wang Q X, et al. Acute toxic effects of decabromodiphenyl ether (BDE-209) and its effects on three kinds of antioxidant enzymes in copepod *Calanus sinicus* (In Chinese). Marine Environmental Science, 2014, 33 (5): 677—681
- [6] 张喆, 马胜伟, 王贺威, 等. 十溴联苯醚 (BDE-209) 对菲律宾蛤仔外套膜抗氧化酶活性的影响. 生态学杂志, 2013, 32 (1): 122—128. Zhang Z, Ma S W, Wang H W, et al. Effects of decabromodiphenyl ether (BDE-209) on the antioxidant enzyme activities of *Lutjanus argentimaculatus* mantle membrane (In Chinese). Chinese Journal of Ecology, 2013, 32 (1): 122—128
- [7] 李欣年, 黄敏, 虞太六. 十溴联苯醚 (BDE-209) 对成年大鼠甲状腺激素的影响. 生态毒理学报, 2009, 4 (4): 500—506. Li X N, Huang M, Yu T L. Disturbance of decabrominated diphenyl ether (BDE-209) to thyroid hormones of adult rats *in vivo* (In Chinese). Asian Journal of Ecotoxicology, 2009, 4 (4): 500—506
- [8] 王涛. 十溴二苯醚和Cd复合污染对蚯蚓抗氧化酶活性的影响研究. 山东泰安: 山东农业大学, 2013, Wang T. Study on impacts of compound pollution of BDE-209 and Cd to antioxidant enzyme activity of earthworms (In Chinese). Taian, Shandong: Shandong Agricultural University, 2013
- [9] He J, Yang D, Wang C, et al. Chronic zebrafish low dose decabrominated diphenyl ether (BDE-209) exposure affected parental gonad development and locomotion in F1 offspring. Ecotoxicology, 2011, 20 (8): 1813—1822
- [10] 熊士昌, 尹华, 何宝燕, 等. 白腐菌对十溴联苯醚的酶促降解研究. 环境化学, 2012, 31 (5): 615—619. Xiong S C, Yin H, He B Y, et al. Biodegradation of BDE-209 by enzyme obtained from *phanerochaete chrysosporium* (In Chinese). Environmental Chemistry, 2012, 31 (5): 615—619
- [11] 朱崑, 张旻, 俞晟, 等. 十溴联苯醚对土壤中微生物群落结构及土壤潜在硝化功能的影响. 农业环境科学学报, 2009, 28 (8): 1613—1617. Zhu W, Zhang Y, Yu S, et al. Effect of decabromodiphenyl ether (BDE-209) on soil bacterial community composition and nitrification potential (In Chinese). Journal of Agro-Environment Science, 2009, 28 (8): 1613—1617
- [12] Rankin C H. From gene to identified neuron to behaviour in *Caenorhabditis elegans*. Nature Reviews Genetics, 2002, 3 (8): 622—630
- [13] Gumienny T L, Lambie E, Hartweg E, et al. Genetic control of programmed cell death in the *Caenorhabditis elegans* hermaphrodite germline. Development, 1999, 126 (5): 1011—1022
- [14] Avery L. The genetics of feeding in *Caenorhabditis elegans*. Genetics, 1993, 133 (4): 897—917
- [15] 武秋立, 杨鹏, 王大勇. 汞暴露导致秀丽线虫后代中出现可传递的表型和行为缺陷. 东南大学学报: 医学版, 2010, 29 (1): 1—9. Wu Q L, Yang P, Wang D Y. Mercury exposure can cause transferable defects of phenotypes and behaviors in nematode *Caenorhabditis elegans* progeny (In Chinese). Journal of Southeast University: Medical Science Edition, 2010, 29 (1): 1—9
- [16] 王大勇, 胡亚欧, 许雪梅. 铬暴露导致的秀丽线虫多重毒性的世代间比较. 生态毒理学报, 2007, 2 (3): 297—303. Wang D Y, Hu Y O, Xu X M. Comparison of multi-biological toxicities between chromium exposed *Caenorhabditis elegans* and their progeny (In Chinese). Asian Journal of Ecotoxicology, 2007, 2 (3): 297—303
- [17] 庞林海, 杜爱芳, 李孝军, 等. 秀丽隐杆线虫培养特性与保存方法研究. 浙江农业学报, 2007, 19 (1): 34—36. Pang L H, Du A F, Li X J, et al. Culture characters and preservation method of *Caenorhabditis elegans* (In Chinese). Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2007, 19 (1): 34—36
- [18] 孔璐, 唐萌, 王大勇, 等. 不同尺度纳米镍对秀丽线虫的发育毒性. 生态毒理学报, 2013, 8 (4): 623—628. Kong L, Tang M, Wang D Y, et al. Developmental toxicity of nickel nanoparticles to *Caenorhabditis elegans* (In Chinese). Asian Journal of Ecotoxicology, 2013, 8 (4): 623—628
- [19] Zhang S, Xu J, Liu C, et al. Toxicity of naphthalene on *Caenorhabditis elegans*. Chemical Research in Chinese University, 2011, 27 (3): 468—473
- [20] 田雨, 汝少国. 久效磷对秀丽隐杆线虫胁迫相关基因 mRNA 表达的影响. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2012, 42 (3): 50—56. Tian Y, Ru S G. Effects of monocrotophos on the mRNA expression of stress-

- related genes of *Caenorhabditis elegans* (In Chinese). Periodical of Ocean University of China, 2012, 42 (3) : 50—56
- [21] 孟范平, 于腾. 多溴联苯醚在海洋生物中的富集及毒性效应评述. 热带海洋学报, 2011, 29 (5) : 1—9. Meng F P, Yu T. Review on bioaccumulation and toxicity of polybrominated diphenyl ethers in marine organisms (In Chinese). Journal of Tropical Oceanography, 2011, 29 (5) : 1—9
- [22] 孟范平, 李卓娜, 赵顺顺, 等. BDE-47对4种海洋微藻抗氧化酶活性的影响. 生态环境学报, 2009, 18 (5) : 1659—1664. Meng F P, Li Z N, Zhao S S, et al. Ecology and environmental sciences effects of BDE-47 on the antioxidase activities of four species of marine microalgae (In Chinese). Ecology and Environmental Sciences, 2009, 18 (5) : 1659—1664
- [23] Bell é s M, Alonso V, Linares V, et al. Behavioral effects and oxidative status in brain regions of adult rats exposed to BDE-99. Toxicology Letters, 2010, 194 (1) : 1—7
- [24] 杜红燕, 朱琳, 张清敏, 等. 十溴联苯醚对底栖生物和土壤微生物的毒理效应探讨. 农业环境科学学报, 2008, 27 (2) : 502—507. Du H Y, Zhu L, Zhang Q M, et al. Toxicological effects of decabromodiphenyl ether exposure on benthonic invertebrates and soil microorganisms (In Chinese). Journal of Agro-Environment Science, 2008, 27 (2) : 502—507
- [25] Greiss S, Hall J, Ahmed S, et al. C. *elegans* SIR-2.1 translocation is linked to a proapoptotic pathway parallel to cep-1/p53 during DNA damage-induced apoptosis. Genes & Development, 2008, 22 (20) : 2831—2842
- [26] Schumacher B, Hofmann K, Boulton S, et al. The C. *elegans* homolog of the p53 tumor suppressor is required for DNA damage-induced apoptosis. Current Biology, 2001, 11 (21) : 1722—1727
- [27] 吴伟, 瞿建宏, 陈家长, 等. 多溴联苯醚对鲫鱼组织DNA损伤及p53蛋白表达的影响. 农业环境科学学报, 2011, 29 (9) : 1836—1841. Wu W, Qu J H, Chen J Z, et al. Effects of polybrominated diphenyl ethers on DNA damage and p53 protein expression in *Carassius auratus* Linn. (In Chinese). Journal of Agro-Environment Science, 2011, 29 (9) : 1836—1841
- [28] 梁辰, 何晓雯, 谢欣, 等. 十溴联苯醚孕期暴露对雌性子代大鼠生殖发育的影响. 上海交通大学学报: 医学版, 2012, 32 (11) : 1461—1465. Liang C, He X W, Xie X, et al. Effects of prenatal exposure to brominated diphenyl ethers-209 on reproductive development of female offspring rats (In Chinese). Journal of Shanghai Jiaotong University: Medical Science, 2012, 32 (11) : 1461—1465
- [29] 杨海灵, 聂力嘉, 朱圣庚, 等. 谷胱甘肽硫转移酶结构与功能研究进展. 成都大学学报: 自然科学版, 2006, 25 (1) : 19—23. Yang H L, Nie L J, Zhu S G, et al. Structure and catalytic mechanism of the glutathione transferases (In Chinese). Journal of Chengdu University: Natural Science, 2006, 25 (1) : 19—23
- [30] Ch á vez V, Mohri-Shiomi A, Maadani A, et al. Oxidative stress enzymes are required for DAF-16-mediated immunity due to generation of reactive oxygen species by *Caenorhabditis elegans*. Genetics, 2007, 176 (3) : 1567—1577
- [31] Itoh S, Ozumi K, Kim H W, et al. Novel mechanism for regulation of extracellular SOD transcription and activity by copper: Role of antioxidant-1. Free Radical Biology and Medicine, 2009, 46 (1) : 95—104

TOXICITY OF DECA-BROMINATED DIPHENYL ETHER TO *CAENORHABDITIS ELEGANS*

Wang Yingli^{1, 2} Chen Jiansong³ Yang Yuxiang¹ Xie Qilai^{1†}

(1 College of Natural Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

(2 School of Chemistry and Environment, Jiaying University, Meizhou, Guangdong 514015, China)

(3 College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract Deca-brominated diphenyl ether (BDE-209) is a new kind of persistent organic pollutant, which may have multi-physiological toxic effects on the nervous system, reproduction, development, etc. of an organism . In the present study to assess toxicity of BDE-209 at the molecular, biochemical and

physiological levels *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) was chosen as a model organism. The physiological experiment performed in this study was to determine effects of the substance on spawning rate of parental generations and filial generations of *C. elegans*, and life span and cell apoptosis of the parental generations; the biochemical experiment was to monitor cell apoptosis of *C. elegans* with the acridine staining method; and the molecular-level experiment was to determine changes in antioxidation genes, such as superoxide dismutase-3 gene (*sod-3*) and quasi p53-1 protein gene (*cep-1*), and xenobiotic metabolism enzyme, such as cytochrome P450 35a2 gene (*cyp35a2*) and glutathione-s-transferase gene (*gst-1*) with the Real-Time PCR method, so as to evaluate toxicity of BDE-209 at the physiological and molecular levels. Results show that compared with control group, exposure to a low dosage (5 mg kg^{-1}) of BDE-209 did not have much effect on spawning rate of the parental generation, but did on that of the filial generations, particularly on that of the third filial generation, which dropped by 61.5%. Exposure to medium (20 mg kg^{-1}) and high (30 mg kg^{-1}) dosage of BDE-209 did inhibit their spawning rate ($p < 0.05$) significantly, reducing that of the third filial generation by 66.7% and 89.3%, respectively. It is clearly shown that both long-time exposure to a low dosage (5 mg kg^{-1}) and short-time exposure to a high dosage (30 mg kg^{-1}) of BDE-209 could affect brood size of *C. elegans*. The experiments on life span and cell apoptosis demonstrate that exposure to a low dosage (5 mg kg^{-1}) did not have much effect, but exposure to medium (20 mg kg^{-1}) and high (30 mg kg^{-1}) dosages of BDE-209 did reduce mean life span of *C. elegans*; and exposure to a high dosage cause apoptosis around the genital area. Real-time PCR reveals that exposure to a low dosage (5 mg kg^{-1}) of BDE-209 significantly induced the expression of stress-related genes such as *sod-3*, *cep-1* and xenobiotic metabolism enzyme *cyp35a2* genes, but inhibited the expression of xenobiotic metabolism enzyme *gst-1* genes, while exposure to a high dosage (30 mg kg^{-1}) inhibited the expression of *cep-1*, *cyp35a2* and *gst-1*, but increased the expression of *sod-3* to an extent that was not so high as the former. However, it is quite obvious that the expression of *gst-1* was always inhibited in either case. These findings indicate that, when exposed to a low dosage of BDE-209 (5 mg kg^{-1}) for a short time, *C. elegans* would react to oxidative stress, trying to repair the damage through regulating the expression of related anti-oxidation genes. In this case, *C. elegans* would be much affected in life span and spawning rate, however with the exposure going on, a low dosage (5 mg kg^{-1}) of BDE-209 would significantly reduce the spawning rate of *C. elegans* and a high dosage of BDE-209 (30 mg kg^{-1}) would cause oxidative injury and cell apoptosis to organs of the *C. elegans*, and reduce its oviposition capacity.

Key words Deca-brominated diphenyl ether; *Caenorhabditis elegans*; Reproduction; Antioxidant enzymes, Gene expression

(责任编辑: 卢 萍)

CONTENTS

Reviews and Comments

- The historical venation of soil science in the past 30 years—Based on the bibliometric analysis Song Changqing, Tan Wenfeng (968)
 Soil ecosystem services: Concept, quantification and response to urbanization Wu Shaohua, Yu Yanna, Zhu Jiang, et al. (977)

Research Articles

- Analysis on spatial-temporal variability of soil organic matter in Henan Province based on Soil Taxonomy Li Ling, Zhang Shaokai, Wu Kening, et al. (989)
 Relationship between illite crystallinity (IC) value and weathering degree of Quaternary Red Clay in southern Anhui Province, Southeast China Liu Lihong, Hu Xuefeng, Ye Wei, et al. (1000)
 Micromorphology of ancient plow layer of paleosol in the Lajia Ruins in the Guanting Basin, Minhe County, Qinghai Province Zhang Yuzhu, Huang Chunchang, Pang Jiangli, et al. (1013)
 Prediction of vertical distribution of soil nitrogen content in soil profile using spectral imaging technique Li Shuo, Wang Shanqin, Shi Zhou (1022)
 Estimation of thickness of soil layer on typical karst hillslopes using a ground penetrating radar Wang Sheng, Chen Hongsong, Fu Zhiyong, et al. (1030)
 Spatio-temporal distribution of dry-wet alteration in surface soil layer of the Huaihe River Basin Cao Yongqiang, Xu Dan, Cao Yang (1042)
 Erosion on dunes of overburden and waste slag in Shenfu coalfield and prediction Guo Mingming, Wang Wenlong, Li Jianming, et al. (1056)
 Dynamics of soil water evaporation from soil mulched with sand-gravels in stripe Zhao Dan, Li Yi, Feng Hao (1067)
 Effect of pH and three kinds of anions on selenium absorption and desorption in purple soil Zhou Xinbin, Yu Shuhui, Xie Deti (1076)
 Release kinetics and bioavailability of nonexchangeable potassium in soil Li Ting, Wang Huoyan, Chen Xiaoqin, et al. (1086)
 Effects of bio-ash ameliorating red soil in acidity Shi Renyong, Li Jiuyu, Xu Renkou, et al. (1095)
 Effect of wheat straw biochar on high chlorinated benzene sorption process and mechanism Li Yang, Song Yang, Wang Fang, et al. (1104)
 Sorption kinetics and mechanism of naphthalene on corn-stalk-derived biochar with different pyrolysis temperature Zhang Mo, Jia Mingyun, Bian Yongrong, et al. (1114)
 Toxicity of deca-brominated diphenyl ether to *Caenorhabditis elegans* Wang Yingli, Chen Jiansong, Yang Yuxiang, et al. (1122)
 Effects of clover and straw decomposition on soil microfaunal community Wang Hui, Gui Juan, Liu Manqiang, et al. (1133)
 Response of soil nematodes to soil salinization induced by seawater intrusion in coastal areas Wang Chengnan, Zhang Weidong, Wang Xuefeng, et al. (1142)
 Relationships of N₂O emission with abundance and composition of denitrifying microorganisms in soil aggregates Zhou Hanchang, Zhang Wenzhao, Liu Yi, et al. (1151)
 Optimizing blending ratio of controlled release N fertilizer for spring maize based on grain yield, N efficiency, and economic benefit Wang Yin, Feng Guozhong, Zhang Tianshan, et al. (1164)

Communications and Comments

- Status quo and problems in setting-up and naming of basic taxon-Soil family in Chinese Soil Taxonomy Yi Chen, Ma Yuxin, Yang Jinling, et al. (1172)

Research Notes

- Effects of drought and rehydration on photosynthetic characteristics of artificial algal crusts Wu Li, Yang Hong, Lan Shubin, et al. (1179)
 Effect of irrigation with saline water on plant root distribution and evolution of aeolian sandy soil in shelterbelts along desert highways Li Congjuan, Tang Junyan, Gao Pei, et al. (1186)
 Distribution of Cu (II) desorption rate in variable charge soils relative to concentrations of NaNO₃ and its affecting factors Zhang Zhengqin, Luo Wenjian, Chen Yong, et al. (1194)

Cover Picture: Toxicity of deca-brominated diphenyl ether (BDE-209) to *Caenorhabditis elegans*
 (by Wang Yingli)

《土壤学报》编辑委员会

主 编: 史学正

执行编委: (按姓氏笔画为序)

丁维新	巨晓棠	王敬国	王朝辉	史 舟	宇万太	朱永官
李永涛	李芳柏	李保国	李 航	吴金水	沈其荣	张玉龙
张甘霖	张福锁	陈德明	邵明安	杨劲松	杨明义	杨林章
林先贵	依艳丽	周东美	周健民	金继运	逢焕成	胡 锋
施卫明	骆永明	赵小敏	贾仲君	徐国华	徐明岗	徐建明
崔中利	常志州	黄巧云	章明奎	蒋 新	彭新华	雷 梅
窦 森	廖宗文	蔡祖聪	蔡崇法	潘根兴	魏朝富	

编辑部主任: 陈德明

责任编辑: 汪枳生 卢 萍 檀满枝

土 壤 学 报

Turang Xuebao

(双月刊, 1948年创刊)

第 52 卷 第 5 期 2015 年 9 月

ACTA PEDOLOGICA SINICA

(Bimonthly, Started in 1948)

Vol. 52 No. 5 Sep., 2015

编 辑 《土 壤 学 报》编 辑 委 员 会
地址: 南京市北京东路 71 号 邮政编码: 210008
电话: 025 - 86881237
E-mail: actapedo@issas.ac.cn

主 编 史 学 正
主 管 中 国 科 学 院
主 办 中 国 土 壤 学 会
承 办 中国科学院南京土壤研究所

出 版 科 学 出 版 社
地址: 北京东黄城根北街 16 号 邮政编码: 100717

印刷装订 北京中科印刷有限公司
总 发 行 科 学 出 版 社
地址: 北京东黄城根北街 16 号 邮政编码: 100717
电话: 010 - 64017032
E-mail: journal@mail.sciencep.com

国 外 发 行 中国国际图书贸易总公司
地址: 北京 399 信箱 邮政编码: 100044

Edited by Editorial Board of Acta Pedologica Sinica
Add: 71 East Beijing Road, Nanjing 210008, China
Tel: 025 - 86881237
E-mail: actapedo@issas.ac.cn

Editor-in-Chief Shi Xuezheng
Superintended by Chinese Academy of Sciences
Sponsored by Soil Science Society of China
Undertaken by Institute of Soil Science,
Chinese Academy of Sciences

Published by Science Press
Add: 16 Donghuangchenggen North Street,
Beijing 100717, China

Printed by Beijing Zhongke Printing Limited Company
Distributed by Science Press
Add: 16 Donghuangchenggen North Street,
Beijing 100717, China
Tel: 010 - 64017032
E-mail: journal@mail.sciencep.com

Foreign China International Book Trading Corporation
Add: P. O. Box 399, Beijing 100044, China

国内统一刊号: CN 32-1119/P

国内邮发代号: 2-560

国外发行代号: BM45

定价: 60.00 元

国 内 外 公 开 发 行



ISSN 0564-3929



9 770564 392156