2018 年　第 13 卷
第 3 期,31-41

生　态　毒　理　学　报
Asian Journal of Ecotoxicology

Vol. 13, 2018
No.3 31-41

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20171207001
王晓科, 石清清, 邓代莉, 等. 基于土壤模式生物的纳米材料毒理研究进展[J]. 生态毒理学报,2018, 13(3): 31-41
Wang X K, Shi Q Q, Deng D L, et al. Review on toxicology of nanomaterials based on soil model organisms [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2018, 13(3): 31-41 (in Chinese)

基于土壤模式生物的纳米材料毒理研究进展

王晓科[1,2]，石清清[1,2]，邓代莉[1,2]，蒲生彦[1,2,3,*]

1. 地质灾害防治与地质环境保护国家重点实验室(成都理工大学),成都 610059
2. 国家环境保护水土污染协同控制与联合修复重点实验室,成都 610059
3. 香港理工大学土木及环境工程学系,香港

收稿日期:2017-12-07　　**录用日期**:2018-01-12

摘要: 随着纳米科技与工业的高速发展,大量的纳米材料被广泛应用并最终汇聚到土壤环境中,对土壤生态和人体健康造成潜在影响。由于土壤生物具有多样性,选择具有代表性、敏感性并便于获取的土壤模式生物作为实验受体进行纳米材料的生物安全评估及环境毒理效应研究尤为重要。较为系统地回顾和总结了几种典型土壤模式生物的特点,为纳米材料毒理研究中受试生物的选择提供参考,在此基础上整理了大量基于典型土壤模式生物的纳米材料毒性研究资料,归纳了不同层次的研究方法,分析探索了纳米材料毒性机理,并展望了未来的研究重点。

关键词: 纳米材料;模式生物;生物毒性;秀丽线虫;蚯蚓
文章编号: 1673-5897(2018)3-031-11　　**中图分类号**: X171.5　　**文献标识码**: A

Review on Toxicology of Nanomaterials Based on Soil Model Organisms

Wang Xiaoke[1,2], Shi Qingqing[1,2], Deng Daili[1,2], Pu Shengyan[1,2,3,*]

1. State Key Laboratory of Geohazard Prevention and Geoenvironment Protection, Chengdu University of Technology, Chengdu 610059, China
2. State Environmental Protection Key Laboratory of Synergetic Control and Joint Remediation for Soil & Water Pollution, Chengdu University of Technology, Chengdu 610059, China
3. Department of Civil and Environmental Engineering, The Hong Kong Polytechnic University, Hong Kong, China

Received 7 December 2017　　**accepted** 12 January 2018

Abstract: With the rapid development of nanotechnology and industry, a large number of nanomaterials are widely used and eventually accumulated into the soil environment, which have become a potential threat to the stability and functions of soil ecosystems and human health. In biosecurity and environmental toxicological assessment of nanomaterials, the effects of soil biodiversity should be taken into consideration, and it is particularly important to select the representative, sensitive and easily available model organisms as the experimental receptor. In order to provide references for the seletion of tested organisms in toxicological researches of nanomaterials, the characteristics of several typical soil model organisms were systematically reviewed and summarized. Besides, the different levels of research methods were summed up according to previous researches on toxicity of nanomaterials based on

---

基金项目:国家自然科学基金(41772264);国家环境基准委托业务费择优资助项目(2016-BZ-003-W-17)

作者简介:王晓科(1995-),男,硕士研究生,研究方向为土壤环境基准及毒理效应,E-mail: wxk2900@gmail.com;
* **通讯作者**(Corresponding author), E-mail: pushengyan@gmail.com

model organisms. Meanwhile, its toxicity mechanism was explored and analyzed. The potential research focus was further prospected finally.

Keywords：nanomaterials; model organisms; biological toxicity; *Caenorhabditis elegans*; earthworms

随着纳米科技的快速发展,越来越多的纳米材料进入到环境中,产生环境及生物体健康风险[1]。纳米材料的潜在生物毒性,已经成为全世界科学界、环保主义者、社会学家、伦理学家所关注的重大安全问题。2003 年 4 月,美国学者首先研究了碳纳米管的生物效应[2]。2004 年 1 月,Masciangioli 等[3]在肯定了纳米技术带给人类生活便利的同时,也强调必须关注纳米技术的安全性研究。随后,越来越多的科学家及学者加入到了研究纳米材料生物毒理的行列中。研究纳米材料对生物、人体健康和环境的负面影响,对保证纳米技术的可持续发展,不断造福人类有重要意义。

由于土壤作为纳米材料释放到环境中主要的汇,研究纳米材料对土壤生物的毒性作用也成为关注热点[4]。研究纳米材料的生物毒性需要选择适合的模式生物,由于土壤生物种类众多,选择具有代表性的生物十分必要,而理想的模式生物又能为科研节约时间和经济成本[5]。模式生物的选择需要注意以下几点:(1)在分类学、营养水平及生理特征上具有代表性;(2)易于实验室培养繁殖和大量获取;(3)生理学、营养学、遗传学和生态学背景资料丰富;(4)对毒物具有敏感性,测试终点清晰且易于试验操作[6-7]。当前用于纳米材料生物毒性研究的典型土壤模式生物主要有秀丽隐杆线虫[8]、蚯蚓[9-11]、跳虫[12-14]和潮虫[15],都具有生理特征代表性、便于获取与操作、繁殖周期短等普遍模式生物特性。

本文通过大量的文献调研,较系统地归纳总结了基于几种典型土壤模式生物的纳米材料毒理研究现状与进展,提供了土壤模式生物的特性对比选择,梳理了纳米材料生物毒性机理,并对未来研究方向及重点做了进一步的展望。

1 基于秀丽隐杆线虫的纳米材料毒理研究(Toxicology of nanomaterials to *Caenorhabditis elegans*)

秀丽隐杆线虫(*C. elegans*),简称秀丽线虫,是一种被广泛用于生态毒理学和生物毒性测试的模式生物[5],一般为雌雄同体,是在土壤中数量丰富的多细胞生物,具有结构简单、小而透明、生命周期短、对环境变化敏感、行为反应模式稳定、遗传背景清楚及指标体系多样等特点[16-18]。早在 1965 年, Sydney Brenner 博士就开始培养线虫作为模式生物。2002 年,美国材料与试验协会颁布了秀丽线虫用于土壤毒性评价的标准化指南,这肯定了线虫可作为评价土壤生物毒性的模式生物[19]。

秀丽线虫的评价指标体系分为个体(动物)水平和细胞(分子)水平[5]。个体水平的指标主要有致死率、生长发育、生殖、寿命、运动及摄食等[20]。细胞水平的评价指标主要包括氧化应激、基因表达、蛋白质表达、DNA 损伤、RNA 干扰、细胞凋亡及细胞周期停滞等[21-22]。

工程中常用的纳米材料主要分 3 种:碳基纳米材料、量子点纳米材料、金属及金属氧化物纳米材料。表 1 梳理并总结了不同纳米材料对秀丽线虫的毒性影响。

在探索毒性机理的过程中,不同研究可能得到不完全一致的结论,可能存在某些影响毒性结果的因素,如土壤的物理化学特征(如粒度分布和有机物质)[37]及暴露环境等。有研究发现氧化石墨烯(GO)通过 DNA 损伤诱导生殖细胞凋亡和细胞周期阻滞,损伤性腺发育进而导致秀丽线虫生殖能力降低[27]。GO 引起秀丽线虫体内 ROS 产生,是造成靶器官损伤的主要原因[26]。此外,某些信号通路在控制 GO 对生物体毒性过程中也起着关键作用,如神经元 ERK[38]和肠道 p38 MAPK 介导的信号传导途径[39]协同作用调节对 GO 暴露的响应;Wnt 配体基因的功能丧失突变调节 GO 毒性和易位[40];抗菌蛋白在胰岛素信号通路和肠道中起作用以调节对 GO 的响应[41];Long noncoding RNAs 通过调节生物学过程和信号传导途径来影响 GO 毒性[42]。有研究表明,存在反馈机制来加强 MicroRNA let-7 抑制保护线虫免受多壁碳纳米管(MWCNT)毒性的作用[43]。

有研究表明 CdTe QDs 对秀丽线虫的毒性不仅源于 Cd^{2+}的释放,还与 NPs 在肠道中[30]及其胞内分布有关[44]。除了氧化应激,细胞识别也影响 CdTe QDs 在线虫中的神经毒性[45]。编码 Mn-SOD 的基因的过表达有效地抑制了 CdTe QDs 对受体介导(RME)运动神经元的发育和功能的神经毒性作用。据相关研究显示,CdTe QDs 的氧化应激、神经元细胞识别和生物利用度共同作用,影响了 RMEs 运动神经元中 CdTe QDs 的神经毒性[29]。

表 1　不同纳米材料对秀丽线虫的毒性影响

Table 1　The toxicity of different nanomaterials to *C. elegans*

纳米材料 Nanomaterials species	纳米粒径 Initial size	浓度范围 Concentration ranges	暴露介质 Exposure media	试验周期 Duration	测试终点 Endpoints	结果 Outcomes	参考文献 Reference
单壁碳纳米管 Single-walled carbon nanotubes	长 0.5~2.0 μm Length 0.5-2.0 μm	50~500 $\mu g \cdot mL^{-1}$	NGM	1~30 d	生长,生殖能力,寿命 Growth, reproduction, and lifespan	生长减缓,寿命缩短 Slow down growth, shorten lifespan	[23]
酰胺改性单壁碳纳米管 (a-SWCNTs)	长 0.7~1.0 μm Length 0.7-1.0 μm	100~500 $mg \cdot L^{-1}$	NGM	1~48 h	致死率,生长,生殖能力,内吞作用,耗氧速率,基因表达 Lethality, growth, reproduction, endocytosis, oxygen consumption rate, and gene expression analysis	急性毒性(延迟生长、缩短寿命和有缺陷的胚胎发生)可恢复、抑制了内吞作用 Recoverable acute toxicity (delayed growth, shortened lifespan and defective embryogenesis), restraining endocytosis	[23]
羟化富勒烯纳米粒子 Hydroxylated fullerene C_{60}	4, 7, 40.1 nm	1~100 $mg \cdot L^{-1}$	NGM	5~30 d	寿命,生殖能力,体长,细胞凋亡,基因表达 Lifespan, reproduction, body length, cell apoptosis and gene expression analysis	抑制生长,寿命缩短、繁殖能力降低、诱导细胞凋亡 Restrained growth, shortened lifespan, lowered reproductive capacity, induced apoptosis	[24]
石墨片 GNPs	1~20 nm	50~250 $\mu g \cdot mL^{-1}$	NGM	20 d	致死率,体长,生长发育,生殖能力,寿命 Lethality, body length, growth, reproduction and lifespan	无明显急性毒性 No obvious acute toxicity	[25]
氧化石墨烯 GO	72 nm	0.1~100 $mg \cdot L^{-1}$	NGM	24~48 h	致死率,生长发育,生殖能力,运动能力,自发荧光,肠内 ROS 测试 Lethality, growth, reproduction, locomotion behavior, intestinal autofluorescence, and intestinal ROS production	0.5~100 $mg \cdot L^{-1}$有毒性影响 Toxicity in 0.5-100 $mg \cdot L^{-1}$	[26]
氧化石墨烯 GO	40~50 nm	0.1~1 000 $mg \cdot L^{-1}$	NGM		生长发育, 细胞凋亡, 生殖能力, DNA 损伤, RNA 干扰 Growth, germline apoptosis, fertility ability, DNA damage, RNA interference	体长缩短,生殖能力降低 Shortened body length, decreased reproductive ability	[27]
石墨烯量子点 GQDs	<15 nm	1~100 $mg \cdot L^{-1}$	NGM	6 d	致死率,运动能力,多巴胺神经元,谷氨酸能神经元,γ-氨基丁酸能神经元 Lethality, locomotion, dopamine neurons, glutamatergic neurons and γ aminobutyric acid neurons	低致死率,行为缺陷,神经损伤 Low lethality, behavioral deficits and neural damages	[28]

续表1

纳米材料 Nanomaterials species	纳米粒径 Initial size	浓度范围 Concentration ranges	暴露介质 Exposure media	试验周期 Duration	测试终点 Endpoints	结果 Outcomes	参考文献 Reference
碲化镉量子点 CdTe QDs	3.7 nm	0.001~1 μg·L^{-1}	NGM	5 d	繁殖,觅食行为,排泄行为,神经发育 Reproduction, foraging behavior, defecation behavior, and neuronal development	影响觅食行为,减少后代数目 Hindered foraging behavior and lessened larva	[29]
硫化锌修饰碲化镉量子点 CdTe@ZnS QDs	3.9 nm	0.1, 1 μg·L^{-1}	NGM	5 d	觅食行为,神经发育 Foraging behavior and neuronal development	对神经无显著毒性影响 No significant toxicity on neurons	[29]
硫化锌修饰碲化镉量子点 CdTe@ZnS QDs	15~20 nm	1~20 nmol·L^{-1}	NGM	6 d	存活率,生殖能力 Survival and reproduction	对生存和繁殖无显著影响 No significant effect on survival and reproduction rates	[30]
二氧化硅 SiO_2	20, 60 nm	0.1~5.0 g·L^{-1}	LB	1~3 d	体长,生殖能力,运动能力 Body length, reproduction and locomotion	影响有浓度差异 Concentration-dependent toxic effects	[31]
二氧化钛 TiO_2	4, 10, 60, 90 nm	0.001~10 μg·L^{-1}	NGM		致死率,生长发育,生殖能力,ROS,肠道自发荧光 Lethality, growth, reproduction, ROS and intestinal autofluorescence		[32]
二氧化钛 TiO_2	25, 100 nm	0~500 mg·L^{-1}	NGM		致死率,生长发育 Lethality and growth	LC_{50} (25 nm): 77 mg·L^{-1}	[33]
氧化铝 Al_2O_3	40 nm	1~10 g·L^{-1}	LB	0.2~48 h	生长发育,寿命,生殖能力 Growth, lifespan and reproduction	无明显急性毒性 No obvious acute toxicity	[34]
氧化铝 Al_2O_3	60 nm	8.1, 15.6, 23.1 mg·L^{-1}	NGM	6 h and 2~10 d	运动能力,氧化应激,酶活性 Locomotion, oxidative stress and emzymatic activity		[35]
氧化锌 ZnO	25, 100 nm	0~40 mg·L^{-1}	NGM		致死率,生长发育 Lethality and growth	LC_{50} (25 nm): 0.32 mg·L^{-1}, LC_{50} (100 nm): 2 mg·L^{-1}	[33]
氧化锌、氧化钛、氧化硅 ZnO、TiO_2、SiO_2	30 nm	0.05~50 μg·L^{-1}	KM	24 h	致死率,生长,生殖能力,运动能力 Lethality, growth, reproduction and locomotion	毒性由大到小依次是:氧化锌,氧化钛,氧化硅 Toxicity: ZnO > TiO_2> SiO_2	[36]

注:ROS,活性氧簇;NGM,线虫生长培养基;KM,K 培养基;LB,液体培养基;a-SWCNTs,酰胺改性单壁碳纳米管;GNPs,纳米石墨片;GO,氧化石墨烯;LC_{50},半数致死浓度。

Note: ROS, reactive oxygen species; NGM, nematode growth medium; KM, K-medium; LB, liquid broth; a-SWCNTs, amide-modified single-walled carbon nanotubes; GNPs, graphite nanoplatelets; GO, graphene oxide; LC_{50} (lethal concentration 50), concentration for 50% of lethality.

现在较为公认的纳米金属及氧化物材料毒性机理有 ROS 的产生[35]、金属离子的释放[46]、DNA 损伤与线粒体毒性[47]等。ROS 产生与致死率、生长、繁殖、运动行为和肠道自身荧光显著相关，有证据表明 ROS 通过控制氧化应激所需基因的表达水平变化，在诱导 NPs 毒性效应中发挥重要作用[35]。Luo 等[48]发现 Ag NPs 通过引起氧化应激增加、线粒体毒性和 DNA 损伤，诱导细胞凋亡，进而对秀丽线虫产生影响。另外，热休克蛋白、金属硫蛋白(MT)、内吞作用以及细胞凋亡信号等信号通路也是纳米材料造成生物毒性的机制[49]。但是考虑到土壤基质的复杂性和可用数据的缺乏，更精确的生物毒性机理目前科学界还不能轻易下定论，需要更全面深入的研究。

2　基于蚯蚓的纳米材料毒理研究（Toxicology of nanomaterials to earthworms）

蚯蚓是陆地生态系统中最常见的无脊椎土壤动物，其生物量占土壤动物总量的 60%～80%，在土壤生态系统中具有重要的作用。蚯蚓有较强的环境适应能力、对污染物敏感、体型较大、方便检测体内粒子分布、培养方便、操作简单等特点[50]，被广泛应用于污染物生物毒性测试和土壤污染风险评估，被认为是理想的土壤污染指示生物[9]。蚯蚓生态毒性测试的标准方法已经由国际标准化联合会(International Organization for Standardization, ISO)制定，实验室开展蚯蚓生物富集研究的标准草案也已经由美国测试与材料学会发布[10]。

纳米材料对蚯蚓的毒性研究主要从 3 个层次展开：种群水平、个体水平、微观水平[11]。个体水平研究包括食物富集作用、存活及行为反应、发育繁殖效应。目前常用的蚯蚓微观评价指标有：DNA 的损伤、酶活性、金属硫蛋白和氧化应激水平等[51]。表 2 梳理并总结了不同纳米材料对蚯蚓的毒性影响。

纳米材料对蚯蚓的毒性机理包括影响酶活性[57]、诱导 ROS 产生[60]、DNA 损伤[60]、消耗能量储备[61]等。不同测试指标的敏感度也不尽相同，有研究表明，蚯蚓对污染物的回避行为可能比更成熟的生物参数(如死亡率、生长或繁殖)更敏感[60]，具有反应快速、灵敏度高和重现性良好等特点。利用蚯蚓回避行为评价土壤环境质量的标准化试验方法(ISO，2005)的发布，表示蚯蚓作为模式生物在污染土壤生态评价方面具有广阔前景[52]。

3　基于其他模式生物的纳米材料毒理研究（Toxicology of nanomaterials to other model creature）

3.1　跳虫

跳虫(springtails 或 Collembolans)又称弹尾虫、腹管虫、粘管虫等，是弹尾纲动物的俗称，是分布广泛的一种无脊椎节肢动物，生活在潮湿的土壤环境中，其种类丰富，数量众多，在土壤生态系统中扮演了重要角色[12]。常用的跳虫主要有 *Folsomia candida* 和 *Orchesella cincta* 等，其中跳虫 *Folsomia candida* 应用最广泛，它生长周期短，易于实验室人工饲养，对土壤污染较为敏感。*Folsomia candida* 生态毒性测试方法(ISO，1999)为应用跳虫对污染土壤进行生态毒性评价提供了基础依据[62]。

Tourinho 等[63]研究发现 CeO_2 NPs 对 *Folsomia candida* 的存活和繁殖没有不利影响。在高浓度 6 400 mg·kg^{-1}下，ZnO NPs 不影响跳虫的存活、繁殖，而低浓度时有轻微影响，30 nm 和 200 nm ZnO 的毒性几乎没有差异[64]，说明粒径大小并没有明显影响生物毒性。由 ZnO NPs 释放的锌离子可能是影响毒性大小的主要因素。ZnO NPs 对生殖的影响随着 pH 的增加而降低，EC_{50}值随着 pH 值的增加而增加[64]。跳虫暴露在浓度高达 673 mg·kg^{-1}的 Ag NPs 下 28 d 后时仍然没有观察到跳虫的生存和繁殖异常，但是溶解的银离子会被跳虫吸收而造成一定影响[65]。纳米银的潜在毒性是否由释放的游离银离子引起，还需要更多的研究。

3.2　潮虫

潮虫(*Porcellio*)俗称鼠妇、木虱或西瓜虫等，属于甲壳动物亚门软甲纲等足目潮虫亚目，是唯一能完全适应陆地生活的等足类动物，其分布广泛，主要活动于地表凋落物层中，是土壤有机体的重要分解者。其数量巨大，种类繁多，对环境敏感性好，也被用于评价污染土壤的毒性测试[15]。

Novak 等[66]通过常规的毒性测试如摄食率、体重等，评估摄入浓度为 1 000、2 000 mg·kg^{-1}纳米 TiO_2对潮虫的短期(3 d 和 7 d)和长期(14 d 和 28 d)变化和死亡率的影响。在饮食暴露于纳米 TiO_2 3、7、14 或 28 d 没有观察到严重的毒性作用，即没有死亡，体重无明显变化。Drobne 等[67]也发现在 1 000 mg·kg^{-1}和 3 000 mg·kg^{-1}纳米 TiO_2暴露时，潮虫的存活率、摄食率和体重没有变化。但是在微观指标方面却有不一样的发现，Jemec 等[68]研究发现摄食纳

表 2 不同纳米材料对蚯蚓的毒性影响

Table 2 The toxicity of different nanomaterials to earthworms

纳米材料 Nanomaterials species	纳米粒径/nm Initial size/nm	受试生物 Species tested	浓度范围 Concentration ranges	暴露介质 Exposure media	试验周期 Duration	测试终点 Endpoints	结果 Outcomes	参考文献 Reference
富勒烯 C_{60}	10~15	红正蚓 *Lumbricus rubellus*	0, 15.4 and 154 mg·kg^{-1}	人工土壤 Artificial soil	28 d	致死率,生长,繁殖能力 Lethality, growth and reproduction	幼年生长率和死亡率有显着影响 Significant effect on juvenile growth rate and mortality	[52]
改性纳米碳黑 NCB, SCB, KCB	20~70	赤子爱胜蚓 *Eisenia fetida*		自然土壤 Natural soil	35, 60 d	体长,生长,存活率,酶活性, Body length, growth, survival and enzymatic activity	暴露于 SCB 和 NCB 导致蚯蚓生长和存活的显著抑制 Exposure to SCB and NCB resulted in a significant inhibition of growth and survival	[53]
银 Ag	5.08±2	赤子爱胜蚓 *Eisenia fetida*		人工土壤 Artificial soil	1, 3, 14 d	死亡率,发育,酶活性,细胞活性 Lethality, growth, emzymatic activity and cell activity	促进细胞死亡,影响发育 Accelerated cell death and hindered development	[11]
银 Ag	80	绿色异唇蚓 *Allolobophora chlorotica*	12.5~250 mg·kg^{-1}	自然土壤 Natural soil	1, 2, 7, 14 d	死亡率,回避反应,生殖能力 Lethality, avoidance and reproduction		[54]
银 Ag	10, 30~50	赤子爱胜蚓 *Eisenia fetida*	10~1 000 mg·kg^{-1} dry soil	人工土壤,自然土壤 Artificial and natural soil	28 d	死亡率,发育,生殖能力 Lethality, growth and reproduction	$EC_{50} = 8.7$ mg·kg^{-1}	[55]
银 Ag	30~50	赤子爱胜蚓 *Eisenia fetida*	1 000 mg·kg^{-1} dry soil	沙质土壤 Sandy loam soil	28 d	死亡率 Lethality		[56]
纳米零价铁 nZVI	50~100	赤子爱胜蚓 *Eisenia fetida*	100~1 000 mg·kg^{-1}	自然土壤 Natural soil	1~28 d	体长,回避反应,酶活性,活性氧 Body length, avoidance, emzymatic activity and ROS formation	抑制了生长,增加了回避反应 Restraining growth and increasing the avoidance response	[57]

续表2

纳米材料 Nanomaterials species	纳米粒径/nm Initial size/nm	受试生物 Species tested	浓度范围 Concentration ranges	暴露介质 Exposure media	试验周期 Duration	测试终点 Endpoints	结果 Outcomes	参考文献 Reference
氧化铝 Al_2O_3	11	赤子爱胜蚓 *Eisenia fetida*	100~10 000 mg·kg^{-1}	自然土壤 Natural soil	48 h and 28 d	致死率,回避反应,生殖能力 Lethality, avoidance and reproduction	影响繁殖和行为 Affected reproduction and locomotion	[58]
二氧化钛 TiO_2	5, 10, 21	赤子爱胜蚓和安德爱胜蚓 *Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*	20~10 000 mg·kg^{-1}	人工土壤,自然土壤 Artificial and natural soil	2, 14, 28 d	存活率,发育,生殖能力,回避反应 Survival, growth, reproduction and avoidance		[59]
二氧化钛 TiO_2	20~40	夏威环毛蚓 *Pheretima hawayana*	10~100 μg·kg^{-1}, 1~400 mg·kg^{-1}	自然土壤 Natural soil	1~28 d	死亡率,酶活性,脂质过氧化 Lethality, emzymatic activity and lipid peroxidation	24 h LC_{50}=145.36 mg·kg^{-1}	[60]
二氧化钛 TiO_2	32	赤子爱胜蚓和安德爱胜蚓 *Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*	0.1~10 000 mg·kg^{-1} 0.1~1 000 mg·kg^{-1}	人工土壤,沙质土壤 Artificial and sandy loam soil	14 d	存活率,生殖能力 Survival and reproduction		[61]
氧化锌 ZnO	40~100	赤子爱胜蚓和安德爱胜蚓 *Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*	0.1~10 000 mg·kg^{-1}	人工土壤,沙质土壤 Artificial and sandy loam soil	14 d	存活率,生殖能力 Survival and reproduction		[61]

注:EC_{50},半数最大效应浓度;SCB、NCB、KCB,经过硫酸、硝酸、高锰酸钾化学修饰过的纳米碳黑;nZVI,纳米零价铁。

Note: EC_{50}, concentration for 50% of maximal effect; SCB, NCB and KCB, commercial nano-carbon black chemically modified by treating it with H_2SO_4, HNO_3 or $KMnO_4$ respectively; nZVI, nanosized zero-valent iron.

米 TiO_2对潮虫消化腺体中过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽-S-转移酶(GST)等抗氧化酶的活性以剂量依赖性方式影响,高浓度和低浓度时 CAT 和 GST 活性有所降低,但是中等浓度(1～1 000 mg·kg^{-1})时没有导致酶活性的显著变化。暴露于较低浓度纳米颗粒的潮虫,其消化细胞膜严重不稳定。研究表明细胞膜强烈的不稳定性是零星存在的[64],需要进一步的研究来证实纳米颗粒的这种零星的毒性效应。

4 结语与展望(Conclusion and prospect)

目前基于土壤模式生物的纳米毒理研究还处于起步阶段,理论基础比较缺乏,研究数据也不全面,研究的深度和广度都有待提高。近年来的研究有从单一污染物向复合污染物,静态研究向动态研究转变的趋势,但是也多侧重于直接毒性,而对于土壤中生物物种之间的相互作用关注较少,因此在种群或群落水平研究有很大差距。依据模式生物选择原则,重点考虑生命周期、暴露方式和毒理学意义,不断完善土壤模式生物体系,对评估纳米毒性和探究纳米毒性机理至关重要,也对建立相关的环境基准有重要意义。而由于生物多样性和地理分布差异,不同地区的物种敏感度分布也存在差异,因此,对于不同国家建立本土物种的毒性测试数据库也十分必要。秀丽线虫、蚯蚓和跳虫等是目前纳米毒理学研究中应用最多的模式生物,与此同时,其他良好的模式生物也要加快探索,以便更全面、准确地评价纳米生物毒性和探索毒性机理。

随着纳米材料生物毒理的逐步研究深入,其对土壤模式生物的研究应在以下几个方面加以发展和完善:(1)依据模式生物选择原则进一步筛选合适的理想模式生物;(2)建立标准化的实验方法,建立并完善统一的在线共享数据库;(3)深入探索从个体水平、细胞水平到分子水平的毒性机理,应用基因技术和蛋白质技术探索深层次毒性机理;(4)将体内和体外研究结合起来,重点关注生物种群间相互作用,探索纳米材料对微生物群落的结构和功能的影响;(5)开展对影响纳米材料生物毒性的有关因素的研究,重点研究土壤性质在纳米材料对模式生物毒性中的作用。

通讯作者简介:蒲生彦(1981—),男,博士(后),教授,香江学者,四川省千人计划特聘专家。目前主要从事水土污染协同控制、土壤地下水污染风险预警及环境基准相关的研究与教学工作。

参考文献(References):

[1] 汪冰, 丰伟悦, 赵宇亮, 等. 纳米材料生物效应及其毒理学研究进展[J]. 中国科学: 化学, 2005, 35(1): 1-10

[2] Service R F. Nanomaterials show signs of toxicity [J]. Science, 2003, 300(5617): 243

[3] Masciangioli T, Zhang W X. Environmental technologies at the nanoscale [J]. Environmental Science & Technology, 2003, 37(5): 102A

[4] 张靖楠, 李琪, 梁文举. 土壤线虫生态毒理学研究现状及展望[J]. 生态毒理学报, 2009, 4(3): 305-314
Zhang J N, Li Q, Liang W J. Present situation and prospect of soil nematode ecotoxicology [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2009, 4(3): 305-314 (in Chinese)

[5] Choi J, Tsyusko O V, Unrine J M, et al. A micro-sized model for the *in vivo* study of nanoparticle toxicity: What has *Caenorhabditis elegans* taught us? [J]. Environmental Chemistry, 2014, 11(3): 227-246

[6] 张燕芬, 王大勇. 利用模式动物秀丽线虫建立环境毒物毒性的评估研究体系[J]. 生态毒理学报, 2008, 3(4): 313-322
Zhang Y F, Wang D Y. Establishment of toxicity evaluation system using model organism of *Caenorhabditis elegans* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2008, 3(4): 313-322 (in Chinese)

[7] 沈敏, Coady K, 董晶, 等. 化学品生态毒性测试鱼类模式生物的应用与展望[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(2): 34-43
Shen M, Coady K, Dong J, et al. Application and outlook of various fish models used in chemical ecotoxicity test [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(2): 34-43 (in Chinese)

[8] 陈晓雪, 于振洋, 尹大强. 环境浓度水平的镍对不同生命阶段秀丽线虫(*Caenorhabditis elegans*)体长与运动的刺激效应[J]. 生态毒理学报, 2014, 9(2): 299-305
Chen X X, Yu Z Y, Yin D Q. Stimulations of nickel at environmental concentrations on locomotion and growth of *Caenorhabditis elegans* at different life stages [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, 9(2): 299-305 (in Chinese)

[9] 史志明, 徐莉, 胡锋. 蚯蚓生物标记物在土壤生态风险评价中的应用[J]. 生态学报, 2014, 34(19): 5369-5379
Shi Z M, Xu L, Hu F. Progress in earthworm biomarker studies and theirs applications in soil pollution risk assessment [J] . Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(19): 5369-5379 (in Chinese)

[10] 徐冬梅, 刘文丽, 刘维屏. 外源污染物对蚯蚓毒理作用

研究进展[J]. 生态毒理学报, 2009, 4(1): 21-27
Xu D M, Liu W L, Liu W P. Research advances in toxicological effects of external pollutants on earthworms [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2009, 4(1): 21-27 (in Chinese)

[11] Patricia C S, Nerea G V, Erik U, et al. Responses to silver nanoparticles and silver nitrate in a battery of biomarkers measured in coelomocytes and in target tissues of *Eisenia fetida* earthworms [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2017, 141: 57-63

[12] 保琼莉, 李文华, 黄益宗, 等. 土壤 Cd 污染对跳虫 *Folsomia candida* 的生态毒性[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(2): 169-176
Bao Q L, Li W H, Huang Y Z, et al. Toxicity of Cd to springtails (*Folsomia candida*) in soil [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(2): 169-176 (in Chinese)

[13] 苗秀莲, 刘传栋, 贾少波, 等. 中国 5 种土壤跳虫对重金属镍的毒性响应[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(1): 268-276
Miao X L, Liu C D, Jia S B, et a1. Toxicity responses of five species of Chinese soil *Collembola* to Ni^{2+} [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(1): 268-276 (in Chinese)

[14] 张倩倩, 乔敏, 蔡爱芳, 等. 五氯酚对土壤跳虫代谢转化酶基因和蜕皮相关基因表达的影响[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(5): 72-78
Zhang Q Q, Qiao M, Cai A F, et a1. Effects of pentachlorophenol on expression of metabolic enzyme genes and molt-related genes of soil Collembolan [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(5): 72-78 (in Chinese)

[15] Novak S, Drobne D, Menard A. Prolonged feeding of terrestrial isopod (*Porcellio scaber*, Isopoda, Crustacea) on TiO_2 nanoparicles. Absence of toxic effect [J]. Zookeys, 2012, 176: 261-273

[16] Lesly T B, Verbal O J. *Caenorhabditis elegans*, a biological model for research in toxicology [J]. Reviews of Environmental Contamination & Toxicology, 2016, 237: 1-35

[17] 王春花, 李朝品, 何梅. 乐果对秀丽隐杆线虫生活史特征的影响[J]. 生态毒理学报, 2015, 10(2): 332-337
Wang C H, Li C P, He M. Effects of dimethoate on life-cycle traits of *Caenorhabditis elegans* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2015, 10(2): 332-337 (in Chinese)

[18] 郭肖颖, 王磊, 李敏, 等. 基于秀丽隐杆线虫的微量水样环境毒理学研究[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(1): 345-352
Guo X Y, Wang L, Li M, et a1. Environmental toxicology study of trace water samples with *Caenorhabditis elegans* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016, 11(1): 345-352 (in Chinese)

[19] Mitani S. Nematode, an experimental animal in the national bioresource project [J]. Experimental Animals, 2009, 58(4): 351-356

[20] 杨振东, 王加生, 唐莉莉, 等. 玉米赤霉烯酮暴露对秀丽线虫生殖系统的损伤作用[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(6): 171-176
Yang Z D, Wang J S, Tang L L, et al. The reproductive toxic effects of zearalenone on *Caenorhabditis elegans* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016, 11(6): 171-176 (in Chinese)

[21] 高上吉, 钟晓霞, 刘婉莹, 等. 基于彗星实验的洛克沙胂对秀丽隐杆线虫胚胎细胞 DNA 损伤的研究[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(3): 167-172
Gao S J, Zhong X X, Liu W Y, et al. Comet assay study on DNA damage of embryonic cells in *Caenorhabditis elegans* induced by roxarsone [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016, 11(3): 167-172 (in Chinese)

[22] 梁爽, 于振洋, 尹大强. 环境浓度下磺胺混合物对秀丽线虫(*Caenorhabditis elegans*)生长、饮食、抗氧化酶及其调控基因表达水平的影响[J]. 生态毒理学报, 2015, 10(4): 88-95
Liang S, Yu Z Y, Yi D Q. Effects of sulfonamide mixtures at environmental concentrations on growth, feeding, catalase activity and the gene expression levels of *Caenorhabditis elegans* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2015, 10(4): 88-95 (in Chinese)

[23] Chen P H, Hsiao K M, Chou C C. Molecular characterization of toxicity mechanism of single-walled carbon nanotubes [J]. Biomaterials, 2013, 34(22): 5661-5669

[24] Kim S W, Nam S H, An Y J. Interaction of silver nanoparticles with biological surfaces of *Caenorhabditis elegans* [J]. Ecotoxicology & Environmental Safety, 2012, 77: 64-70

[25] Zanni E, Bellis G D, Bracciale M P, et al. Graphite nanoplatelets and *Caenorhabditis elegans*: Insights from an *in vivo* model [J]. Nano Letters, 2012, 12(6): 2740-2744

[26] Wu Q, Yin L, Li X, et al. Contributions of altered permeability of intestinal barrier and defecation behavior to toxicity formation from graphene oxide in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. Nanoscale, 2013, 5(20): 9934-9943

[27] Zhao Y, Wu Q, Wang D. An epigenetic signal encoded protection mechanism is activated by graphene oxide to inhibit its induced reproductive toxicity in *Caenorhabditis elegans* [J]. Biomaterials, 2016, 79: 15-24

[28] Li P, Xu T T, Wu S Y, et al. Chronic exposure to graphene-based nanomaterials induces behavioral deficits and

neural damage in *Caenorhabditis elegans* [J]. Journal of Applied Toxicology, 2017, 37(10): 1140-1150

[29] Zhao Y L, Wang X, Wu Q L, et al. Translocation and neurotoxicity of CdTe quantum dots in RMEs motor neurons in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. Journal of Hazardous Materials, 2015, 283: 480-489

[30] Kim S W, Kwak J, An Y J. Fluorescent approach for visually observing quantum dot uptake in living organisms [J]. Chemosphere, 2016, 144: 1763-1770

[31] 孔璐, 张婷, 王大勇, 等. 纳米二氧化硅对秀丽线虫的毒性作用研究[J]. 生态毒理学报, 2011, 6(6): 655-660

Kong L, Zhang T, Wang D Y, et a1. Toxicity of SiO_2 nanoparticles to *Caenorhabditis elegans* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2011, 6(6): 655-660 (in Chinese)

[32] Li Y X, Wang W, Wu Q L, et al. Molecular control of TiO_2-NPs toxicity formation at predicted environmental relevant concentrations by Mn-SODs proteins [J]. PloS One, 2012, 7(9): e44688

[33] Khare P, Sonane M, Pandey R, et al. Adverse effects of TiO_2 and ZnO nanoparticles in soil nematode, *Caenorhabditis elegans* [J]. Journal of Biomedical Nanotechnology, 2011, 7(1): 116-117

[34] Fajardo C, Saccὰ M L, Costa G, et al. Impact of Ag and Al_2O_3 nanoparticles on soil organisms: *In vitro* and soil experiments [J]. Science of the Total Environment, 2014, 254(3): 473-474

[35] Li Y X, Yu S H, Wu Q L, et al. Chronic Al_2O_3-nanoparticle exposure causes neurotoxic effects on locomotion behaviors by inducing severe ROS production and disruption of ROS defense mechanisms in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. Journal of Hazardous Materials, 2012, 219: 221-230

[36] Wu Q, Nouara A, Li Y, et al. Comparison of toxicities from three metal oxide nanoparticles at environmental relevant concentrations in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. Chemosphere, 2013, 90(3): 1123-1131

[37] 孙耀琴, 申聪聪, 葛源. 典型纳米材料的土壤微生物效应研究进展[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(5): 2-13

Sun Y Q, Shen C C, Ge Y. Review on microbiological effects of typical nanomaterials in soil ecosystem [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016, 11(5): 2-13 (in Chinese)

[38] Qu M, Li Y H, Wu Q L, et al. Neuronal ERK signaling in response to graphene oxide in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. Nanotoxicology, 2017, 11(4): 520-533

[39] Zhao Y L, Zhi L T, Wu Q L, et al. p38 MAPK-SKN-1/Nrf signaling cascade is required for intestinal barrier against graphene oxide toxicity in *Caenorhabditis elegans* [J]. Nanotoxicology, 2016, 10(10): 1469-1479

[40] Zhi L, Ren M, Qu M, et al. Wnt ligands differentially regulate toxicity and translocation of graphene oxide through different mechanisms in *Caenorhabditis elegans* [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 39261

[41] Ren M X, Zhao L, Lv X, et al. Antimicrobial proteins in the response to graphene oxide in *Caenorhabditis elegans* [J]. Nanotoxicology, 2017, 11(4): 578-590

[42] Wu Q L, Zhou X F, Han X X, et al. Genome-wide identification and functional analysis of long noncoding RNAs involved in the response to graphene oxide [J]. Biomaterials, 2016, 102: 277-291

[43] Zhao L, Wan H, Liu Q, et al. Multi-walled carbon nanotubes-induced alterations in microRNA let-7 and its targets activate a protection mechanism by conferring a developmental timing control [J]. Particle & Fibre Toxicology, 2017, 14(1): 27

[44] Zhou Y F, Wang Q, Song B, et al. A real-time documentation and mechanistic investigation of quantum dots-induced autophagy in live *Caenorhabditis elegans* [J]. Biomaterials, 2015, 72: 38-48

[45] Wu Q, Zhi L, Qu Y, et al. Quantum dots increased fat storage in intestine of *Caenorhabditis elegans* by influencing molecular basis for fatty acid metabolism [J]. Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine, 2016, 12(5): 1175-1184

[46] Saccὰ M L, Fajardo C, Costa G, et al. Integrating classical and molecular approaches to evaluate the impact of nanosized zero-valent iron (nZVI) on soil organisms [J]. Chemosphere, 2014, 104(3): 184-189

[47] 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[J]. 生态毒理学报, 2013, 8(4): 623-628

Kong L, Tang M, Wang D Y, et a1. Developmental toxicity of two size of nickel nanopartieles to *Caenorhabditis elegans* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2013, 8(4): 623-628 (in Chinese)

[48] Luo X, Xu S, Yang Y, et al. A novel method for assessing the toxicity of silver nanoparticles in *Caenorhabditis elegans* [J]. Chemosphere, 2017, 168: 648-657

[49] Zhao Y, Wu Q, Li Y, et al. Translocation, transfer, and *in vivo* safety evaluation of engineered nanomaterials in the non-mammalian alternative toxicity assay model of nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. RSC Advances, 2012, 3 (17): 5741-5757

[50] 罗洁文, 黄玫英, 殷丹阳, 等. 蚯蚓在土壤污染风险评价中的应用研究进展[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(8): 24-29

[51] 张倩倩, 乔敏, 池海峰. 土壤生态毒性测试方法综述[J].

生态毒理学报, 2017, 12(4): 76-97

Zhang Q Q, Qiao M, Chi H F. Overview of soil ecotoxicity tests [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(4): 76-97 (in Chinese)

[52] van der Ploeg M J C, Baveco J M, van der Hout A, et al. Effects of C60 nanoparticle exposure on earthworms (*Lumbricus rubellus*) and implications for population dynamics [J]. Environmental Pollution, 2011, 159(1): 198-203

[53] Zhao S L, He L, Lu Y F, et al. The impact of modified nano-carbon black on the earthworm *Eisenia fetida* under turfgrass growing conditions: Assessment of survival, biomass, and antioxidant enzymatic activities [J]. Journal of Hazardous Materials, 2017, 338: 218-223

[54] Brami C, Glover A R, Butt K R, et al. Effects of silver nanoparticles on survival, biomass change and avoidance behaviour of the endogeic earthworm *Allolobophora chlorotica* [J]. Ecotoxicology & Environmental Safety, 2017, 141: 64-69

[55] Wilson S W A, Reinsch B C, Tsyusko O V, et al. Role of particle size and soil type in toxicity of silver nanoparticles to earthworms [J]. Soil Science Society of America Journal, 2011, 75(2): 365-377

[56] Heckmann L H, Hovgaard M B, Sutherland D S, et al. Limit-test toxicity screening of selected inorganic nanoparticles to the earthworm *Eisenia fetida* [J]. Ecotoxicology, 2011, 20(1): 226-233

[57] Liang J, Xia X, Zhang W, et al. The biochemical and toxicological responses of earthworm (*Eisenia fetida*) following exposure to nanoscale zerovalent iron in a soil system [J]. Environmental Science & Pollution Research, 2017, 24(3): 1-8

[58] Coleman J G, Johnson D R, Stanley J K, et al. Assessing the fate and effects of nano aluminum oxide in the terrestrial earthworm, *Eisenia fetida* [J]. Environmental Toxicology & Chemistry, 2010, 29(7): 1575-1580

[59] Mcshane H, Sarrazin M, Whalen J K, et al. Reproductive and behavioral responses of earthworms exposed to nano-sized titanium dioxide in soil [J]. Environmental Toxicology & Chemistry, 2012, 31(1): 184-193

[60] Khalil A M. Neurotoxicity and biochemical responses in the earthworm *Pheretima hawayana*, exposed to TiO_2 NPs [J]. Ecotoxicology & Environmental Safety, 2015, 122: 455-461

[61] Cañas J E, Qi B, Li S, et al. Acute and reproductive toxicity of nano-sized metal oxides (ZnO and TiO_2) to earthworms (*Eisenia fetida*) [J]. Journal of Environmental Monitoring, 2011, 13(12): 3351-3357

[62] 刘玉荣, 贺纪正, 郑袁明. 跳虫在土壤污染生态风险评价中的应用[J]. 生态毒理学报, 2008, 3(4): 323-330

Liu Y R, He J Z, Zheng Y M. A review of application of springtails in ecological risk assessment of contaminated soils [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2008, 3(4): 323-330 (in Chinese)

[63] Tourinho P S, Gestel C A M V, Lofts S, et al. Metal-based nanoparticles in soil: Fate, behavior, and effects on soil invertebrates [J]. Environmental Toxicology & Chemistry, 2012, 31(8): 1679-1692

[64] Waalewijn-Kool P L, Ortiz M D, Lofts S, et al. The effect of pH on the toxicity of zinc oxide nanoparticles to *Folsomia candida* in amended field soil [J]. Environmental Toxicology & Chemistry, 2013, 32(10): 2349-2355

[65] Waalewijn-Kool P L, Klein K, Forniés R M, et al. Bioaccumulation and toxicity of silver nanoparticles and silver nitrate to the soil arthropod *Folsomia candida* [J]. Ecotoxicology, 2014, 23(9): 1629-1637

[66] Novak S, Drobne D, Valant J, et al. Internalization of consumed TiO_2 nanoparticles by a model invertebrate organism [J]. Journal of Nanomaterials, 2012, 2012: 1-8

[67] Drobne D, Jemec A, Tkalec Z P. *In vivo* screening to determine hazards of nanoparticles: Nanosized TiO_2 [J]. Environmental Pollution, 2009, 157(4): 1157-1164

[68] Jemec A, Drobne D, Remskar M, et al. Effects of ingested nano-sized titanium dioxide on terrestrial isopods (*Porcellio scaber*) [J]. Environmental Toxicology & Chemistry, 2008, 27(9): 1904-1914

◆