

DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20190127001

华欣, 陈海波, 李杰, 等. 农药对秀丽隐杆线虫毒性效应及其机制的研究进展[J]. 生态毒理学报, 2020, 15(1): 34-43

Hua X, Chen H B, Li J, et al. Review on toxicology of pesticides in the nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2020, 15(1): 34-43 (in Chinese)

农药对秀丽隐杆线虫毒性效应及其机制的研究进展

华欣^{1,2,3}, 陈海波^{2,3}, 李杰¹, 向明灯^{2,3}, 王亚娥^{1,#}, 于云江^{2,3,*}

1. 兰州交通大学环境与市政工程学院, 兰州 730070
2. 生态环境部华南环境科学研究所, 广州 510535
3. 国家环境保护环境污染健康风险评估重点实验室, 广州 510535

收稿日期: 2019-1-27 录用日期: 2019-04-20

摘要: 随着大量农药被广泛的使用并最终汇聚到环境介质中, 对生态环境和人体健康产生潜在影响。秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)是土壤中最丰富的后生动物, 在土壤生态系统中具有重要地位, 并作为一种重要的模式生物广泛应用于环境毒理学研究。本文从秀丽隐杆线虫常用的毒理学研究方法入手, 以致死率、生长发育、运动行为、繁殖、活性氧自由基(ROS)水平、细胞凋亡水平、相关基因表达量和蛋白水平等作为测试指标, 归纳总结农药对秀丽隐杆线虫的衰老性、神经及生殖系统的毒性效应, 分析探索其毒性机理, 并展望了未来的研究重点。

关键词: 农药; 秀丽隐杆线虫; 毒性

文章编号: 1673-5897(2020)1-034-10 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Review on Toxicology of Pesticides in the Nematode *Caenorhabditis elegans*

Hua Xin^{1,2,3}, Chen Haibo^{2,3}, Li Jie¹, Xiang Mingdeng^{2,3}, Wang Ya'e^{1,#}, Yu Yunjiang^{2,3,*}

1. School of Environmental and Municipal Engineering, Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou 730070, China
2. South China Institute of Environmental Sciences, Ministry of Ecology and Environment, Guangzhou 510535, China
3. State Environmental Protection Key Laboratory of Environmental Pollution Health Risk Assessment, Guangzhou 510535, China

Received 27 January 2019 accepted 20 April 2019

Abstract: A large number of pesticides were widely used and eventually accumulated in environmental matrices, which caused the adverse impacts in the ecosystems and humans health. *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*), a free-living nematode, was found abundantly in the terrestrial ecosystem. The *C. elegans* was an excellent model animal in environmental toxicology research, and had been successfully used in the environmental and toxicological studies. In the present review, we discussed that pesticide caused ageing, neurotoxicity, reproductive toxicity with endpoints of development, locomotion behavior, reproduction, reactive oxygen species (ROS) levels, cell apoptosis, gene expression, and protein level in *C. elegans*, and further introduced the toxicological mechanisms of pesticides to *C. elegans*. Finally, we proposed three research perspectives with aspects of toxicology assessment, multigenera-

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21876059); 国家重点研发计划资助项目(2018YFC1801102); 中央级公益性科研院所基本科研业务专项(PM-zx703-201803-071)

作者简介: 华欣(1995—), 女, 硕士研究生, 研究方向为环境毒理学, E-mail: 593161086@qq.com

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: yuyunjiang@scies.org

共同通讯作者 (Co-corresponding author), E-mail: wye@mail.lzjtu.cn

tional toxicity, and molecular mechanisms.

Keywords: pesticides pollution; *Caenorhabditis elegans*; toxicology

秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*), 以下简称秀丽线虫, 一般是雌雄同体, 常以大肠杆菌为食。秀丽线虫是一种生活在土壤中的无脊椎动物, 在土壤生态系统中具有重要地位。因其体积小(体长约 1 mm)、通体透明、易于保存与培养、繁殖速度快、完整的基因组已知和对毒物的敏感性高等优势, 在环境毒理学得到广泛应用^[1]。秀丽线虫作为一种良好的模式生物, 多种指标体系已经被广泛用于评价环境污染物毒性效应及其机制。秀丽线虫的暴露方式主要有水、土和琼脂暴露 3 种方式, 毒性评价指标主要集中在致死率、生长发育、运动行为、繁殖、活性氧自由基(ROS)水平、细胞凋亡水平、相关基因表达量和相关蛋白水平等^[2-3]。

本文总结农药对秀丽线虫毒性效应与其作用机制, 为相关的环境管理政策的制定提供毒理学参考及支持。

1 农药的环境赋存及毒性效应 (Occurrence and toxicity of pesticides)

农药, 指为促进农作物健康生长, 用于防治有害生物以及调节植物生长、去除杂草等一类药剂的总称。根据其防治对象, 分为杀虫剂、杀菌剂、除草剂和杀鼠剂等^[4]。目前, 国内外对于农药的研究主要侧重于杀虫剂, 例如有机磷类、有机氯类、拟除虫菊酯类和氨基甲酸酯等^[5]。农药因其减少病虫害和提高农作物产量等特点而被广泛使用, 并在农业生产中发挥着重要的作用。但多数农药具有高残留、剧毒、易迁移和难降解的特性, 在生产与使用过程中会通过挥发、沉降等过程进入环境介质中。有研究表明, 农药在大气、水体和土壤中均被检测到, 说明农药对生态环境造成污染^[6]。进一步研究发现, 在不同的环境介质中, 农药残留浓度有一定差异。例如, 在大气介质中检测到灭菌丹、毒死蜱和二甲戊灵, 浓度范围在 $7 \text{ pg} \cdot \text{m}^{-3} \sim 407.79 \text{ ng} \cdot \text{m}^{-3}$ 之间^[7]。而在珠江三角洲地区的农用地中, 97.85% 的土壤中均检测到有机氯农药(OCPs), 平均残留浓度为 $20.67 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[8]。Deknock 等^[9]对淡水环境中的农药分布进行调查, 发现硫线磷、丁草胺和二甲戊灵的浓度分别高达 0.081、2.006、0.557 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

农药因具有亲脂性、生物累积性和生物富集性

等特征, 容易通过食物链传递进入生物体。连子如等^[10]在青岛市近海的鱼类、软体类和虾类等生物体内检测到了不同浓度的有机氯农药, 平均含量为 $1\ 044.25 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 。农药对生物酶和免疫系统造成损伤, 并造成遗传毒性、神经毒性、生殖和发育毒性^[11]。最终富集于人体, 对人体健康产生不利的影响^[12-13]。研究表明, 农药具有致癌性和细胞毒性, 与人类的很多疾病有关, 如帕金森病、非霍奇金病、糖尿病、内分泌干扰、神经失调、免疫和呼吸抑制^[5, 14-15]。

近年来, 国内外学者将秀丽线虫用于农药的毒理学研究, 如久效磷(monocrotophos)^[16-18]、乐果(dimethoate)^[19]、敌敌畏(dichlorvos)^[20-22]、毒死蜱(chlorpyrifos)^[23-24]、草甘膦(glyphosate)^[25-26]、马拉硫磷(malathion)^[27-29]和氯氰菊酯(cypermethrin)^[20, 30-31]等。

2 农药对秀丽线虫的衰老性影响的研究 (Ageing effect of pesticides in *C. elegans*)

衰老和死亡是生物体正常的生理活动, 但污染物的暴露会加速生物体的衰老和死亡过程。秀丽线虫从卵到成虫的时间只有 3 d, 且秀丽线虫的寿命仅有 2~3 周, 因此选用秀丽线虫为模式生物研究农药对生物体的衰老和致死性的影响。表 1 梳理并总结了不同农药对秀丽线虫的寿命和致死率的影响。

2.1 秀丽线虫的农药暴露时期的比较

环境污染物的暴露途径一般包括皮肤接触、呼吸道摄入和摄食 3 种, 因秀丽线虫没有呼吸系统, 则主要以与毒物表面接触和摄食进行暴露。目前, 关于农药对秀丽线虫的衰老和致死性影响的研究, 国内外学者选取了不同时期的幼虫进行实验, 如 L1 期-幼虫、L3 期-幼虫、L4 期-幼虫或年轻成虫^[39-40]。农药因其毒性大小的不同, 对秀丽线虫的暴露时间和浓度都不相同。常用暴露时间有 4、6、12、24、36、48 和 72 h, 而对于毒性较强的农药常以急性暴露来评价^[19, 36, 38, 41]。例如, 将敌敌畏暴露液与秀丽线虫置于 96 孔板染毒 24 h, 观察秀丽线虫在 2、4、12 和 24 h 的死亡情况^[22]。王云彪等^[26]将野生型秀丽线虫在草甘膦染毒液中暴露 24 h, 观察其毒性效应。此外, 秀丽线虫在 0.1、1 和 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硫丹中分别暴露 6、12 和 24 h, 结果发现秀丽线虫的寿命相应缩短^[32]。

表1 农药对秀丽线虫的衰老性影响

Table 1 The ageing effect of pesticides in *C. elegans*

农药 Pesticides	暴露浓度 Concentration	时期 Type	暴露时间 Exposure duration	评价指标 Endpoints assessed	参考文献 Reference
敌敌畏 Dichlorvos	10, 21.5, 46.4 mg·mL ⁻¹	L4 期幼虫 L4-larvae	1, 2, 4, 8, 12, 16, 20, 24 h	LC ₅₀ , LT ₅₀	[22]
草甘膦 Glyphosate	1.85, 18.5 mg·L ⁻¹	成虫 Adults	24 h	LC ₅₀	[26]
硫丹 Endosulfan	0.1, 1, 10 μmol·L ⁻¹	L4 期幼虫 L4-larvae	6, 12, 24 h	寿命天数 Lifespan	[32]
溴氰菊酯、呋喃丹 Deltamethrin, carbofuran	5~200 mg·L ⁻¹	L4 期幼虫 L4-larvae	24 h	LC ₅₀	[33]
马拉硫磷 Malathion	0.01 mmol·L ⁻¹	L4 期幼虫 L4-larvae	24 h	LT ₅₀ , 最长寿命天数 LT ₅₀ , Lifespan	[29]
哌虫啉 Paichongding	2.5, 5, 10 mg·L ⁻¹	L1 期幼虫 L1-larvae	—	寿命天数 Lifespan	[34]
阿特拉津 Atrazine	6, 60, 600 μmol·L ⁻¹	L4 期幼虫 L4-larvae	24 h	致死率 Lethality	[2]
草甘膦 Glyphosate	0.01, 10, 100 μmol·L ⁻¹	L4 期幼虫 L4-larvae	24 h	致死率 Lethality	[2]
毒死蜱 Chlorpyrifos	0, 1, 10, 100 μg·L ⁻¹	年轻成虫 Young adults	24 h	LC ₅₀	[35]
毒杀芬 Toxaphene	50, 100, 250, 500, 1 000 mg·kg ⁻¹	年轻成虫 Young adults	24, 48 h	致死率 Lethality	[36]
毒杀芬 Toxaphene	10, 25, 50, 100, 500, 1 000 mg·mL ⁻¹	年轻成虫 Young adults	24, 48 h	致死率 Lethality	[37]
乐果 Dimethoate	0.07, 0.7, 7 mmol·L ⁻¹	L1 期幼虫 L1-larvae	24 h	LC ₅₀	[19]
代森锰锌 Mancozeb	0.01, 0.1, 1, 10, 100 mg·L ⁻¹	L2 期幼虫 L2-larvae	4 h	LC ₅₀	[38]

注: LC₅₀ 表示半数致死浓度, LT₅₀ 表示半数致死时间。

Note: LC₅₀ stands for median lethal concentration; LT₅₀ stands for median lethal time.

2.2 农药对秀丽线虫致死性的影响

秀丽线虫致死性的评价指标已较为成熟,常用致死率进行评价。目前国内外学者将秀丽线虫暴露于毒死蜱、毒杀芬和乐果等农药,通过测定其致死率指标来评价农药毒性大小。致死率常用 Probit 衍生的半致死浓度(LC₅₀)来表示,以对铂丝刺激没有反应作为秀丽线虫死亡的标准,评价急性暴露的短期效应^[41]。例如,将 L4 期秀丽线虫在 20 °C 下暴露于溴氰菊酯和呋喃丹 24 h,在解剖显微镜下对活虫和死虫的数量进行统计。实验发现,溴氰菊酯对秀丽线虫的 LC₅₀ 为 55.8 mg·L⁻¹。而在相同条件下,呋喃丹对秀丽线虫的 LC₅₀ 为 29.8 mg·L⁻¹^[33]。农药因结构、物理及化学性质的不同,呈现出一定的毒性差

异。Garcia-Espineira 等^[2]发现阿特拉津在 6、60 和 600 μmol·L⁻¹下,分别产生了 12%、15% 和 18% 的致死率。但草甘膦显示出更强毒性,在 0.01、10 和 100 μmol·L⁻¹下分别产生 20%、50% 和 100% 的致死率,反映出极强的浓度依赖性。虽然致死率可以很直观地表现出农药毒性的大小,但对于低浓度长时间暴露的影响更需要与其他指标的结合。

2.3 农药对秀丽线虫衰老性的影响

对于秀丽线虫衰老程度的评价,主要测定寿命天数和半数致死天数(LT₅₀)。寿命天数以秀丽线虫群体生存的最长天数计数;半数致死天数,常指实验活体秀丽线虫占总实验秀丽线虫一半时的天数。寿命天数和 LT₅₀ 表示出急性暴露的长期效应,常用于

深入研究毒物的长期毒性。韩焱等^[29]和 Du 等^[32]分别研究了秀丽线虫暴露于硫丹、马拉硫磷后的寿命变化和致死情况。结果发现,暴露于 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的硫丹和 $1 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的马拉硫磷后,秀丽线虫的寿命有一定程度的减少,但未观察到秀丽线虫的急性致死效应。研究表明,农药对秀丽线虫并未呈现出显著的致死毒性,只是加速了秀丽线虫的衰老。有研究表明,哌虫啉(IPP)和其中间体 M1 显著减少了 L1 期秀丽线虫的寿命,且随着暴露浓度的增加,线虫寿命相应地减少,呈现出一定的浓度依赖性^[34]。

2.4 农药加速秀丽线虫衰老的机制研究

在衰老性机制的研究中,主要通过对蛋白质、脂质和 DNA 等生物大分子损伤作用进行分析确定。一方面,观察线粒体活动及活性氧水平(ROS)相关基因的变化,如 *hsp-6*、*hsp-4*、*gst-4*、*sod-3* 和 *clk-1* 等;另一方面,测定胰岛素信号通路(IIS)相关基因,如 *daf-2*、*daf-16*、*age-1* 和 *sod-3* 等^[42]。Bian 等^[34]对哌虫啉致衰老的机制进行研究时,采用 RT-PCR 技术对靶向基因(*daf-2*、*daf-16*、*age-1*、*sod-2* 和 *sgk-1* 等)进行相对定量分析。结果发现,暴露于 $5 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 IPP 或 M1 后,*sod-2*、*sgk-1* 和 *daf-16* 的基因表达水平减少,而 *age-1* 和 *daf-2* 的基因表达水平增加。这表明,哌虫啉通过影响胰岛素信号通路的相关基因,进而影响秀丽线虫的寿命。

秀丽线虫的衰老程度和死亡率与农药浓度密切相关。致死率通常用来表示高浓度农药的毒性大小;而对于低浓度农药,常利用衰老性指标来评价毒性。一般情况下,农药的浓度越高,秀丽线虫的衰老程度越明显,死亡也越明显;农药浓度越低,线虫的死亡率越低甚至没有,但依然存在一定程度的衰老。对于农药毒性大小的研究,衰老程度和致死性指标可结合起来,综合考察农药对线虫的毒性。另外,通过测定衰老相关基因水平的表达,有助于农药毒性机理的更深层次探索。

3 农药对秀丽线虫的神经毒性的研究 (Neurotoxicity of pesticides in *C. elegans*)

许多农药通过影响目标生物的神经系统发挥作用,但同时也对非目标生物体的神经系统产生毒性效应。目前,研究神经毒性的模式生物主要是鱼类和鼠类,但因其个体大、神经系统较为复杂等原因,对神经毒性的研究受到一定程度的限制。秀丽线虫的神经系统较为简单,行为有限,减少了复杂因素的

干扰,更有利于研究农药对秀丽线虫的神经毒性。表 2 梳理并总结了农药对秀丽线虫神经的影响。

3.1 农药对秀丽线虫的神经毒性效应

生物体行为的变化,代表了毒物对秀丽线虫神经系统的可测影响,可以用肉眼或显微镜进行捕获和分析。目前,以秀丽线虫为模式生物进行神经毒性的研究,常用的评价指标包括运动行为(头部摆动频率、身体弯曲频率和咽泵运动)、学习行为(对 NaCl 的趋向性、温度趋向性)、觅食行为(菌落的接触率、嗅器弯曲位置和频率)、记忆行为、乙酰胆碱酯酶活性和多巴胺神经元变性^[3,38,45-46]。Ruan 等^[25]将 L4 期秀丽线虫暴露于三氟氯氰菊酯,并以运动行为(头部摆动频率、身体弯曲频率)、生殖(后代数目、世代时间)和发育(虫体尺寸)为指示终点。结果发现,在高浓度的三氟氯氰菊酯中暴露 72 h 后,对发育和生殖指标没有产生显著性影响,但秀丽线虫的头部摆动频率和身体弯曲频率显著减少,这表明秀丽线虫运动行为对农药的神经毒性较为敏感。另一项研究证明,秀丽线虫暴露于有机磷杀虫剂久效磷,其运动、学习和觅食行为受到威胁,在高浓度下甚至造成了严重缺陷^[18]。

3.2 农药对秀丽线虫神经毒性的机制

秀丽线虫是一种结构简单的模式生物,体内含有 959 个细胞和 302 个神经元,且已经有学者对其神经元谱系进行了充分描述。其中,秀丽线虫的运动神经元有 75 个,通常通过多个神经元和神经元突触之间的传递调节运动行为^[47-48]。农药对秀丽线虫的神经毒性机制的研究主要有 2 个方面。一方面,通过抑制秀丽线虫体内乙酰胆碱酯酶(AChE)活性,导致突触中积累大量的乙酰胆碱(ACh),影响乙酰胆碱的正常代谢,使得神经纤维持续兴奋,干扰神经系统功能,从而造成秀丽线虫的神经毒性^[11,18,49]。例如,Rajini 等^[43]利用乐果、敌敌畏和久效磷等 10 种有机磷农药对秀丽线虫进行急性暴露 4 h 后,暴露组秀丽线虫的乙酰胆碱酯酶活性受到抑制,运动速率降低,表现出显著的神经毒性效应。另一方面,通过对多巴胺能、羧酸酯酶活性和血清素等非胆碱能系统进行干扰,对中枢神经系统(CNS)造成一定程度的损伤,从而产生神经毒性^[17,38,50]。Wu 等^[44]将秀丽线虫暴露于 $0.5 \sim 10.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 鱼藤酮(RO)和 $0.2 \sim 1.6 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 百草枯(PQ) 3 d,结果发现 RO 和 PQ 均会造成运动缺陷和多巴胺能变性;进一步对相关突变体进行研究,结果证实 *hop-1* 和 *pink-1* 通过诱导线粒体相关膜(MAMs)的线粒体自噬和内质网应

激的改变,使 RO 和 PQ 造成了神经损伤,从而诱发帕金森病。通常情况下,对于秀丽线虫的神经毒性,胆碱能系统和非胆碱能系统在秀丽线虫体内同时起作用。在亚致死浓度的久效磷(MCP)中暴露 4 h, AchE 和羧酸酯酶(CaE)活性都受到了强烈的抑制^[16]。

通过考察秀丽线虫的各种行为(运动、学习和觅食等)指标的变化,综合评价农药对秀丽线虫的神经毒性。此外,通过测定相关酶活性(如乙酰胆碱酯酶、非胆碱酯酶等),进一步探索农药对秀丽线虫的神经损伤机制。目前对于相关神经毒性机制的研究,主要考虑胆碱能系统的影响,但对非胆碱能系统的研究较少,且造成非靶生物神经毒性的主要因素

还需进一步深入研究。

4 农药对秀丽线虫的生殖毒性的研究 (Reproductive toxicity of pesticides in *C. elegans*)

农药长时间积累于生物体内,会对生物体的生殖产生一定的影响。由于哺乳动物的发育时间较长且生殖周期较为复杂,近几年国内外学者逐渐开始以细胞、胚胎或无脊椎动物进行生殖毒性的研究。秀丽线虫作为一种无脊椎动物且其与人类基因同源性高达 60% ~ 80%,因此可用于生殖毒性的研究^[51]。表 3 列举了大量国内外关于农药对秀丽线虫生殖毒性方面的研究现状。

表 2 农药对秀丽线虫的神经毒性

Table 2 The neurotoxicity of pesticides in *C. elegans*

农药 Pesticides	暴露浓度 Concentration	时期 Type	暴露时间 Exposure duration	评价指标 Endpoints assessed	参考文献 Reference
三氟氯氰菊酯 Cyhalothrin	0.001 ~ 1 mg·L ⁻¹	L4 期幼虫 L4-larvae	24, 72 h	头部摆动频率、身体弯曲频率 Head thrashes, Body bends	[25]
久效磷 Monocrotophos	0.5, 5.0, 50.0 mg·L ⁻¹	L4 期幼虫 L4-larvae	2, 4, 6, 8, 24 h	头部摆动频率、身体弯曲频率、 对 NaCl 的趋向性指数、 菌落接触率、 乙酰胆碱酯酶活性 Head thrashes, Body bends, Chemotaxis towards NaCl, Attainment levels to <i>Escherichia coli</i> , Acetylcholinesterase enzyme activity	[18]
乐果、敌敌畏、 久效磷等 Dimethoate, dichlorvos, monocrotophos	根据 LC ₅₀ 确定 According to LC ₅₀	年轻成虫 Young adults	4 h	运动行为、 乙酰胆碱酯酶活性 Movement behavior, Acetylcholinesterase enzyme activity	[43]
鱼藤酮(RO) Rotenone (RO)	0.5 ~ 10.0 μmol·L ⁻¹	L2 期幼虫 L2-larvae	72 h	身体弯曲频率、多巴胺变性 Body bends, Dopamine	[44]
百草枯(PQ) Paraquat (PQ)	0.2 ~ 1.6 mmol·L ⁻¹	L2 期幼虫 L2-larvae			
久效磷 Monocrotophos	0.85, 1.7, 3.4 mmol·L ⁻¹	L4 期幼虫 L4-larvae	4 h	乙酰胆碱酯酶活性、羧酸酯酶活性 Acetylcholinesterase enzyme activity, Carboxylesterase enzyme activity	[16]
久效磷 Monocrotophos	0.75 mmol·L ⁻¹	L4 期幼虫 L4-larvae	24 h	多巴胺浓度、乙酰胆碱酯酶活性、羧酸酯酶活性 Level of dopamine, Acetylcholinesterase enzyme activity, Carboxylesterase enzyme activity	[17]
杀螟松 Fenitrothion	0.5, 5, 50 μg·L ⁻¹	年轻成虫 Young adults	24 h	运动行为、乙酰胆碱酯酶活性 Movement behavior, Acetylcholinesterase enzyme activity	[45]
代森锰锌 Mancozeb	0.01, 0.1, 1, 10, 100 mg·L ⁻¹	L2 期幼虫 L2-larvae	24 h	多巴胺神经元变性 Degeneration of dopamine neurons	[38]

表 3 农药对秀丽线虫的生殖毒性
Table 3 The reproductive toxicity of pesticides in *C. elegans*

农药 Pesticides	暴露浓度 Concentration	时期 Type	暴露时间 Exposure duration	评价指标 Endpoints assessed	参考文献 Reference
马拉硫磷 Malathion	0.01 mmol·L ⁻¹	L4 期幼虫 L4-larvae	24 h	体长、体宽、虫体面积 Body length, Body width, Body area	[29]
氯氰菊酯 Cypermethrin	1、5、15 mmol·L ⁻¹	L4 期幼虫 L4-larvae	4 h	产卵率、后代数目、活性氧水平、 各种基因表达(<i>sod</i> 、 <i>gsh</i> 和 <i>gst</i> 等) Rate of egg-laying, Brood size, Reactive oxygen species (ROS) levels, Gene expressions (e.g., <i>sod</i> , <i>gsh</i> and <i>gst</i>)	[30]
氯氰菊酯 Cypermethrin	0.08、0.8、8 mg·L ⁻¹	L4 期幼虫 L4-larvae	24、48、72 h	后代数目、子宫内受精卵数目、 单侧性腺臂卵母细胞数目、外排受精卵速率 Brood size, Number of eggs in utero, Number of oocytes, Rate of egg-laying	[31]
毒死蜱 Chlorpyrifos	0.003、0.03、 0.3、3.0 mg·L ⁻¹	L4 期幼虫 L4-larvae	24、48、72 h	育雏大小、精子细胞尺寸、 细胞凋亡数量、相关基因表达 (<i>spe</i> 、 <i>fer</i> 、 <i>prg</i> 、 <i>glp</i> 、 <i>mlh</i> 和 <i>ced</i> 等) Brood size, Spermatid size, Number of apoptotic cells, Gene expressions (e.g., <i>spe</i> , <i>fer</i> , <i>prg</i> , <i>glp</i> , <i>mlh</i> and <i>ced</i>)	[24]
十氯酮 Chlordecone	0.02、0.20、2.00、 20.00 μg·L ⁻¹	L1 期幼虫 L1-larvae	48 h	后代数目、世代时间、活性氧水平、分裂区生殖 细胞数目、精子畸形率、体外活化率 Brood size, Generation time, ROS, Number of germ cells in mitotic area, Rate of sperm abnormality, Sperm activation <i>in vitro</i>	[52]
戊唑醇 Tebuconazole	0.1、1.0、10.0 μg·L ⁻¹	L2 期幼虫 L2-larvae	28 h	后代数目、分裂区生殖细胞数目、 精细胞数目、精细胞尺寸、相关基因表达 (<i>daf</i> 、 <i>sep</i> 、 <i>swm</i> 和 <i>fer</i> 等) Brood size, Number of germ cells in mitotic area, Number of sperm cells, Size of sperm cell, Gene expressions (e.g., <i>daf</i> , <i>sep</i> , <i>swm</i> and <i>fer</i>)	[53]
毒死蜱 Chlopyrifos	0.385 ~ 0.643 μmol·L ⁻¹	L1 期幼虫 L1-larvae	28 h	后代数目 Brood size	[54]
氯氰菊酯 Cypermethrin	5 mg·L ⁻¹	—	48 h	活性氧水平 ROS	[23]

4.1 农药对秀丽线虫的生殖毒性效应

农药在秀丽线虫的发育繁殖中会产生生殖毒性,评价秀丽线虫生殖毒性的指标有发育指标和生殖指标 2 个方面。发育指标包括体长、体宽、虫体面积和是否出现畸形发育。体长通常是经过火焰轻微灼烧处理后,在显微镜下观察并利用 ImageJ 计算其长度(沿其身体的体轴纵向长度);体宽以虫体产

卵部位的横向宽度为标准;虫体面积是体长与体宽的乘积。韩焱等^[29]对马拉硫磷染毒后的秀丽线虫的体长、体宽和体面积进行测量,结果发现,与对照组相比,暴露组秀丽线虫的体宽没有显著差异;与对照组相比,暴露组秀丽线虫的体长和虫体面积呈现出显著性差异($P < 0.01$),表明马拉硫磷对秀丽线虫个体发育具有毒性效应。

生殖指标通常指后代数目、世代时间、生殖腺生殖细胞数目、精细胞数目和大小、排卵速率和单侧性腺臂卵母细胞形态等。在环境中外源性化学物质的影响下,秀丽线虫的生殖腺会发生一定程度的细胞凋亡,从而诱导了生殖系统的毒性效应。例如, Jones 等^[54]将 L1 期幼虫分别暴露于浓度为 EC_{29} ($0.634 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 EC_{50} ($0.385 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的毒死蜱中,对其后代数目进行了统计。结果发现,与对照组相比,暴露于 EC_{29} 后秀丽线虫的后代数目减少了 16%,而暴露于 EC_{50} 后减少了 45%,表明毒死蜱对线虫的生殖造成了影响。同样地, Ruan 等^[24]对暴露于 0.003 、 0.03 、 0.3 和 $3.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 毒死蜱中的 L4 期幼虫进行分析,发现后代数目减少。除此之外,在不同暴露浓度下均观察到秀丽线虫育雏大小和精子细胞尺寸的减小,异常精子细胞数量和凋亡细胞数量增加,影响了精子活动和卵母细胞的受精,结果表明不同浓度的毒死蜱通过抑制了精子细胞的活化,进而导致秀丽线虫的生殖毒性。

不同的暴露时间也会对秀丽线虫的生殖系统产生影响。阮秦莉等^[31]发现暴露于 0.08 、 0.8 和 $8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氯氰菊酯 48 h 后,秀丽线虫的后代数目、子宫内受精卵数目和排受精卵速率显著降低。然而将 L4 期秀丽线虫暴露于氯氰菊酯(浓度为 1 、 5 和 $15 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 4 h 后,后代数目和产卵量均有显著减少,表明氯氰菊酯对秀丽线虫产生一定的生殖毒性^[30]。

4.2 农药对秀丽线虫生殖毒性的机制

对于秀丽线虫生殖毒性机制的研究,主要包括活性氧(ROS)水平、生殖相关基因表达。而农药生殖毒性机制的研究,主要在内分泌干扰作用、生殖细胞凋亡、生殖细胞周期阻滞和 DNA 损伤等方面。活性氧水平反映出秀丽线虫的氧化应激损伤,可评价对生殖系统的毒性效应。戴抒豪等^[52]研究了十氯酮对秀丽线虫生殖情况的影响,研究发现,与对照组相比,暴露组秀丽线虫的后代数目和生殖细胞数目均发生显著性减少,并且暴露组线虫的世代时间也发生了一定程度的延长。此外,对秀丽线虫体内活性氧水平和性腺相关的单侧性腺远端顶细胞(DTC)细胞进行测定,发现线虫体内活性氧水平明显升高,并且 DTC 细胞荧光强度明显减弱,表明性腺是十氯酮对秀丽线虫生殖毒性的靶器官,且毒性机制与氧化应激损伤有关。

生殖相关基因可从分子层面上对秀丽线虫进行调控,进而产生一定的生殖毒性。戊唑醇对秀丽线

虫的生殖毒性影响包括 2 个方面:一方面,通过影响与精子发生过程相关的 *daf-2*、*akt-1*、*daf-16* 和 *age-1* 基因表达量的变化,使得生殖腺生殖细胞(精细胞)数目减少,导致精子发生过程的异常;另一方面,精子形成相关的基因(*try-5*、*spe-4*、*spe-6*、*fer-1* 和 *sww-1*)表达量的上升,导致精子变小和活化能力降低,从而产生生殖毒性^[53]。此外, Ruan 等^[24]将秀丽线虫暴露于毒死蜱后,对生殖细胞的变化机制进一步研究,发现与精子细胞大小、精子细胞活化和形态、卵母细胞形态、卵母细胞功能和细胞凋亡有关的 *spe-10*、*spe-15*、*fer-1*、*prg-1*、*glp-1*、*mlh-1*、*cyb-3*、*ced-3*、*ced-4* 和 *ced-9* 的基因表达发生了改变。这表明,通过影响精子和卵细胞的产生,对秀丽线虫产生生殖毒性。

秀丽线虫的生殖毒性主要体现在个体发育和繁殖 2 个方面,后代数目、卵母细胞和精细胞形态的变化均可反映出显著性差异。一般情况下,农药暴露浓度越高,生殖毒性越强,呈现浓度依赖性现象。同时,活性氧水平和生殖相关基因的表达,可进一步验证生殖毒性的靶向器官,更深入地了解生殖毒性机制。

5 研究展望(Research prospect)

近年来,环境污染物对生态环境和人体健康的影响,受到了国内外学者的广泛关注。由于秀丽线虫具有通体透明、培养周期短和基因组已知等独特优势,秀丽线虫在环境污染物毒性评价研究中的应用更为成熟,已成为毒理学研究的重要手段。基于秀丽线虫的各类指标综合评价农药对线虫的毒性效应。同时,从分子层面揭示出农药对秀丽线虫潜在毒性机制。本文旨在总结以秀丽线虫为模式生物,从衰老性、神经毒性及生殖毒性 3 个方面,对有机磷、有机氯和拟除虫菊酯等农药的毒性效应及机制进行研究。

尽管目前关于秀丽线虫对农药在毒理学方面的研究较多,但仍有以下几方面的不足:

(1)目前的研究主要集中在单一高浓度农药暴露对秀丽线虫的毒性效应,然而对环境浓度下的农药毒性效应的研究相对较少。实际环境中农药残留量较低,但多种低剂量农药联合作用会对人类产生危害。同时,环境中污染物的种类和相互作用具有多样性和多变性,实验室模拟研究中无法全面考虑到各种影响因素。

(2)目前大多数实验对毒性效应的评估主要集中在一代秀丽线虫的暴露,忽略了农药对秀丽线虫

的多代毒性。农药的毒性具有潜在性和遗传性,在传代过程中毒性被激活或增强。

(3)目前对于毒性机理的研究,对于基因表达和潜在分子机制的研究不够全面。基因和蛋白质的表达密切相关,通常需对一定时间或环境条件下生物体内的所有基因和蛋白质进行综合分析。因此,为了更好地研究潜在的毒性机制,需进行系统的基因组学与蛋白组学分析,更精确地确定信号通路。

致谢:感谢课题组全体成员在论文撰写过程中的帮助与支持。

通讯作者简介:于云江(1964—),男,博士,研究员,主要研究方向为环境与健康。

共同通讯作者简介:王亚斌(1963—),女,硕士,教授,主要研究方向为环境污染控制。

参考文献 (References):

- [1] Xu T, Zhang M, Hu J, et al. Behavioral deficits and neural damage of *Caenorhabditis elegans* induced by three rare earth elements [J]. *Chemosphere*, 2017, 181: 55-62
- [2] Garcia-Espineira M, Tejada-Benitez L, Olivero-Verbel J, et al. Toxicity of atrazine- and glyphosate-based formulations on *Caenorhabditis elegans* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 156: 216-222
- [3] Zhou D, Yang J, Li H, et al. Ecotoxicological evaluation of low-concentration bisphenol A exposure on the soil nematode *Caenorhabditis elegans* and intrinsic mechanisms of stress response *in vivo* [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2016, 35(8): 2041-2047
- [4] 朱天纵. 浅谈农药分类[J]. *农药科学与管理*, 1990(1): 45-46
- [5] Chawla P, Kaushik R, Shiva Swaraj V J, et al. Organophosphorus pesticides residues in food and their colorimetric detection [J]. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 2018, 10: 292-307
- [6] 卜元卿, 孔源, 智勇, 等. 化学农药对环境的污染及其防控对策建议[J]. *中国农业科技导报*, 2014, 16(2): 19-25
Bu Y Q, Kong Y, Zhi Y, et al. Pollution of chemical pesticides on environment and suggestion for prevention and control countermeasures [J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2014, 16(2): 19-25 (in Chinese).
- [7] Marine Déserta S R, Grégory Gilleb, Angéline Quinapallo, et al. Spatial and temporal distribution of current-use pesticides in ambient air of Provence-Alpes-Côte-d'Azur Region and Corsica, France [J]. *Atmospheric Environment*, 2018, 192: 241-256
- [8] 窦磊, 杨国义. 珠江三角洲地区土壤有机氯农药分布特征及风险评价[J]. *环境科学*, 2015, 36(8): 2954-2963
Dou L, Yang G Y. Distribution characteristics and risk assessment of organochlorine pesticides in surface soil of Pearl River Delta Economic Zone [J]. *Environmental Science*, 2015, 36(8): 2954-2963 (in Chinese)
- [9] Deknock A, de Troyer N, Houbraken M, et al. Distribution of agricultural pesticides in the freshwater environment of the Guayas River Basin (Ecuador) [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 646: 996-1008
- [10] 连子如, 王江涛, 谭丽菊, 等. 青岛近海生物体内多环芳烃、多氯联苯和有机氯农药的含量和分布特征[J]. *生态毒理学报*, 2010, 5(5): 746-751
Liang Z R, Wang J T, Tang L J, et al. Concentrations and distribution characteristic of PAHs, PCBs and OCPs in the marine organisms of Qingdao Coastal Area [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2010, 5(5): 746-751 (in Chinese)
- [11] 张力, 张静姝, 姜淑卿, 等. 我国农产品农药残留现状及农药联合毒性研究进展[J]. *职业与健康*, 2016, 32(4): 569-572
Zhang L, Zhang J S, Jiang S Q, et al. Current situation of pesticide residues in agricultural products in China and research progress of combined toxicity of pesticides [J]. *Occupation and Health*, 2016, 32(4): 569-572 (in Chinese)
- [12] Pathak R, Suke S G, Ahmed R S, et al. Endosulfan and other organochlorine pesticide residues in maternal and cord blood in North Indian population [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2008, 81(2): 216-219
- [13] 柯常亮, 林钦, 甘居利, 等. 环境中有机农药吸附热力学模型及吸附影响因素[J]. *南方水产科学*, 2013, 9(1): 68-73
Ke C L, Lin Q, Gan J L, et al. Thermodynamic model and impact factors for organic pesticide adsorption in environment [J]. *South China Fisheries Science*, 2013, 9(1): 68-73 (in Chinese)
- [14] Luo D, Zhou T T, Tao Y, et al. Exposure to organochlorine pesticides and non-Hodgkin lymphoma: A meta-analysis of observational studies [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 25768
- [15] Park S, Kim S K, Kim J Y, et al. Exposure to pesticides and the prevalence of diabetes in a rural population in Korea [J]. *Neurotoxicology*, 2018, 70: 12-18
- [16] Leelaja B C, Rajini P S. Biochemical and physiological responses in *Caenorhabditis elegans* exposed to sublethal concentrations of the organophosphorus insecticide,

- monocrotophos [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2013, 94: 8-13
- [17] Nidheesh T, Salim C, Rajini P S, et al. Antioxidant and neuroprotective potential of chitooligomers in *Caenorhabditis elegans* exposed to monocrotophos [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 135: 138-144
- [18] 田雨, 汝少国, 王蔚, 等. 久效磷对秀丽隐杆线虫运动、学习和觅食行为的影响[J]. *环境科学研究*, 2015, 28(2): 275-282
- Tian Y, Ru S G, Wang W, et al. Effects of monocrotophos on the locomotion, learning and foraging behavior of *Caenorhabditis elegans* [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2015, 28(2): 275-282 (in Chinese)
- [19] 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)
- [20] Anbalagan C, Lafayette I, Antoniou-Kourouniotti M, et al. Use of transgenic GFP reporter strains of the nematode *Caenorhabditis elegans* to investigate the patterns of stress responses induced by pesticides and by organic extracts from agricultural soils [J]. *Ecotoxicology*, 2013, 22(1): 72-85
- [21] Jadhav K B, Rajini P S. Evaluation of sublethal effects of dichlorvos upon *Caenorhabditis elegans* based on a set of end points of toxicity [J]. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2009, 23(1): 9-17
- [22] 李煜, 杨可欣, 高珊, 等. 基于秀丽隐杆线虫的化学品急性毒性检测及评价[J]. *毒理学杂志*, 2013, 27(2): 79-84
- Li Y, Yang K Q, Gao S, et al. Acute toxicity testing and evaluation of chemicals based on *Caenorhabditis elegans* [J]. *Journal of Toxicology*, 2013, 27(2): 79-84 (in Chinese)
- [23] Jadiya P, Nazir A. Environmental toxicants as extrinsic epigenetic factors for Parkinsonism: Studies employing transgenic *C. elegans* model [J]. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets*, 2012, 11(8): 976-983
- [24] Ruan Q L, Ju J J, Li Y H, et al. Chlorpyrifos exposure reduces reproductive capacity owing to a damaging effect on gametogenesis in the nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2012, 32(7): 527-535
- [25] Ruan Q L, Ju J J, Li Y H, et al. Evaluation of pesticide toxicities with differing mechanisms using *Caenorhabditis elegans* [J]. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 2009, 72: 746-751
- [26] 王云彪, 李润琴, 邓茗芬, 等. 神与农药草甘膦、敌敌畏对秀丽隐杆线虫的联合毒性[J]. *生态毒理学报*, 2013, 8(2): 262-267
- Wang Y B, Li R Q, Deng M Q, et al. Joint toxicity of arsenic, glyphosate and dichlorvos to *C. elegans* [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2013, 8(2): 262-267 (in Chinese)
- [27] Kamaladevi A, Ganguli A, Balamurugan K. *Lactobacillus casei* stimulates phase-II detoxification system and rescues malathion-induced physiological impairments in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology*, 2016, 179: 19-28
- [28] Kamaladevi A, Ganguli A, Kumar M, et al. *Lactobacillus casei* protects malathion induced oxidative stress and macromolecular changes in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2013, 105(3): 213-223
- [29] 韩焱, 杨慧敏, 宋少娟, 等. 马拉硫磷对秀丽隐杆线虫的急性毒性研究[J]. *山西大学学报: 自然科学版*, 2012, 35(3): 563-567
- Hang Y, Yang H M, Song S J, et al. Acute toxicological effects of malathion on nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Journal of Shanxi University: Natural Science Edition*, 2012, 35(3): 563-567 (in Chinese)
- [30] Shashikumar S, Rajini P S. Cypermethrin-induced alterations in vital physiological parameters and oxidative balance in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2010, 97(3): 235-242
- [31] 阮秦莉, 居静娟, 李云晖, 等. 氯氰菊酯对模式动物秀丽隐杆线虫生殖能力的损伤作用[J]. *癌变·畸变·突变*, 2012, 24(2): 136-140
- Ruan Q L, Ju J J, Li Y H, et al. Reduction of reproductive capacity of model *Caenorhabditis elegans* induced by cypermethrin exposure [J]. *Carcinogenesis, Teratogenesis & Mutagenesis*, 2012, 24(2): 136-140 (in Chinese)
- [32] Du H, Wang M M, Wang L, et al. Reproductive toxicity of endosulfan: Implication from germ cell apoptosis modulated by mitochondrial dysfunction and genotoxic response genes in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Toxicological Sciences*, 2015, 145(1): 118-127
- [33] Zeng R, Yu X, Tan X, et al. Deltamethrin affects the expression of voltage-gated calcium channel $\alpha 1$ subunits and the locomotion, egg-laying, foraging behavior of *Caenorhabditis elegans* [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2017, 138: 84-90
- [34] Bian T, Zhu X, Guo J, et al. Toxic effect of the novel chiral insecticide IPP and its biodegradation intermediate in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 164: 604-610

- [35] Roh J Y, Choi J. Ecotoxicological evaluation of chlorpyrifos exposure on the nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2008, 71 (2): 483-489
- [36] Bezchlebova J, Cernohlavkova J, Lana J, et al. Effects of toxaphene on soil organisms [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, 68(3): 326-334
- [37] Sochova I, Hofman J, Holoubek I. Effects of seven organic pollutants on soil nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Environment International*, 2007, 33(6): 798-804
- [38] Negga R, Rudd D A, Davis N S, et al. Exposure to Mn/Zn ethylene-bis-dithiocarbamate and glyphosate pesticides leads to neurodegeneration in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Neurotoxicology*, 2011, 32(3): 331-341
- [39] Guo X, Li Q, Shi J, et al. Perfluorooctane sulfonate exposure causes gonadal developmental toxicity in *Caenorhabditis elegans* through ROS-induced DNA damage [J]. *Chemosphere*, 2016, 155: 115-126
- [40] Lenz K A, Pattison C, Ma H, et al. Triclosan (TCS) and triclocarban (TCC) induce systemic toxic effects in a model organism the nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Environmental Pollution*, 2017, 231(1): 462-470
- [41] 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)
- [42] Denzel M S, Lapierre L R, Mack H I D, et al. Emerging topics in *C. elegans* aging research: Transcriptional regulation, stress response and epigenetics [J]. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2018, 177: 4-21
- [43] Rajini P S, Melstrom P, Williams P L, et al. A comparative study on the relationship between various toxicological endpoints in *Caenorhabditis elegans* exposed to organophosphorus insecticides [J]. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 2008, 71(15): 1043-1050
- [44] Wu S, Lei L, Song Y, et al. Mutation of hop-1 and pink-1 attenuates vulnerability of neurotoxicity in *C. elegans*: The role of mitochondria-associated membrane proteins in Parkinsonism [J]. *Experimental Neurology*, 2018, 309: 67-78
- [45] Roh J Y, Choi J. Cyp35a2 gene expression is involved in toxicity of fenitrothion in the soil nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Chemosphere*, 2011, 84(10): 1356-1361
- [46] Yang R L, Rui Q, Kong L, et al. Metallothioneins act downstream of insulin signaling to regulate toxicity of outdoor fine particulate matter (PM_{2.5}) during Spring Festival in Beijing in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Toxicology Research*, 2016, 5(4): 1097-1105
- [47] Leung M C K, Williams P L, Benedetto A, et al. *Caenorhabditis elegans*: An emerging model in biomedical and environmental toxicology [J]. *Toxicological Sciences*, 2008, 106(1): 5-28
- [48] 赵亦周, 王香明. 帕金森病的秀丽隐杆线虫模型研究进展[J]. *转化医学杂志*, 2017, 6(4): 248-251
- Zhao Y Z, Wang X M. Study on the *Caenorhabditis elegans* model of Parkinson's disease [J]. *Translational Medicine Journal*, 2017, 6(4): 248-251 (in Chinese)
- [49] Jadhav K B, Rajini P S. Neurophysiological alterations in *Caenorhabditis elegans* exposed to dichlorvos, an organophosphorus insecticide [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2009, 94(2-3): 79-85
- [50] Dwivedi N, Bhutia Y D, Kumar V, et al. Effects of combined exposure to dichlorvos and monocrotophos on blood and brain biochemical variables in rats [J]. *Human & Experimental Toxicology*, 2010, 29(2): 121-129
- [51] Kaletta T, Hengartner M O. Finding function in novel targets: *C. elegans* as a model organism [J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2006, 5(5): 387-398
- [52] 戴抒豪, 简子海, 刘冉, 等. 十氯酮诱导氧化应激损伤对秀丽隐杆线虫精细胞影响[J]. *中国公共卫生*, 2018, 34(8): 1106-1109
- Dai S H, Jian Z H, Liu R, et al. Influences of chlordecone-induced oxidative stress injury on sperm cells of *Caenorhabditis elegans* [J]. *Chinese Journal of Public Health*, 2018, 34(8): 1106-1109 (in Chinese)
- [53] 吕荣荣, 屈满, 岳营, 等. 戊唑醇对秀丽线虫的生殖毒性作用[J]. *癌变·畸变·突变*, 2018, 30(3): 214-225
- Lv R R, Qu M, Yue Y, et al. Reproductive toxicity of tebuconazole on male *Caenorhabditis elegans* [J]. *Carcinogenesis, Teratogenesis & Mutagenesis*, 2018, 30(3): 214-225 (in Chinese)
- [54] Jones O A, Swain S C, Svendsen C, et al. Potential new method of mixture effects testing using metabolomics and *Caenorhabditis elegans* [J]. *Journal of Proteome Research*, 2012, 11(2): 1446-1453