

陈建华, 卢敏, 蔡志斌. 维生素 C 拮抗草甘膦对蚯蚓急性毒性的作用[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(7): 411–413, 425.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.07.137

维生素 C 拮抗草甘膦对蚯蚓急性毒性的作用

陈建华, 卢敏, 蔡志斌

(福建师范大学生命科学学院, 福建福州 350108)

摘要:通过赤子爱胜蚓急性毒性试验, 探讨维生素 C 拮抗草甘膦对蚯蚓急性毒性的作用。将蚯蚓引入草甘膦滤纸中, 观察草甘膦作用下蚯蚓的形态变化并评估草甘膦的毒性等级, 结果表明: 草甘膦对蚯蚓的 48 h 半数致死浓度为 $(125.35 \pm 0.06) \mu\text{g}/\text{cm}^2$, 为低毒型农药。在试验浓度范围 $(23.75 \sim 380.00 \mu\text{g}/\text{cm}^2)$ 的草甘膦中, 蚯蚓体表逐渐出现黄色液体, 表现为环节肿大及充血、断尾、体节断开等中毒现象。高浓度草甘膦对蚯蚓具有较强的致死作用, 中、低浓度亦具有一定致死效应, 并随染毒时间的延长、草甘膦浓度的升高而逐渐增加, 呈明显的剂量-效应关系。向草甘膦基础液中加入维生素 C $(0.8 \sim 100.0 \text{ mg}/\text{L})$ 后, 蚯蚓的存活率显著提高, 并随维生素 C 浓度的升高而不断提高, 呈明显的剂量-效应关系。蚯蚓在含高浓度维生素 C 的草甘膦中未死亡, 提示维生素 C 具有拮抗草甘膦毒性的作用。

关键词:草甘膦; 毒性; 蚯蚓; 维生素 C; 拮抗作用

中图分类号: S481⁺.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)07-0411-03

草甘膦(glyphosate)是 20 世纪 70 年代开发的广谱除草剂, 由于剂型较多且不具选择性, 草甘膦不仅被用于各种农田杂草的防除, 也被用于非农田杂草的治理, 如园林、苗圃、道路、林业、森林、湖泊等。目前, 草甘膦已成为全球用量最大、应用最广的农药, 其年销量稳居各农药之首^[1]。随着草甘膦使用量、使用范围的增加与扩大, 农药喷洒、雨水冲刷、植物根系等可使草甘膦进入环境并造成污染, 目前已在全球范围表层水体中发现草甘膦的存在, 美国河流曾检测到草甘膦的浓度高达 $2.2 \text{ mg}/\text{L}$ ^[2]。残留于蔬菜瓜果的草甘膦可进入人体并影响人类健康。据报道, 草甘膦不仅对鱼类、两栖类动物具有急性毒性作用, 对人类等哺乳动物的肝脏、免疫系统、生殖系统、内分泌系统等也具有一定毒性作用^[3-8]。因此, 研究如何拮抗草甘膦所引发的毒性作用具有重要实践意义。

维生素 C 又名 L-抗坏血酸, 是一种广泛存在于各类水果中的水溶性维生素。维生素 C 作为具有抗癌、抗肿瘤作用的抗氧化剂进入生物体后, 可清除体内自由基, 抑制某些化学物质氧化为致癌物, 并能阻断致癌物的活化, 同时参与体内氨基酸的代谢与神经递质的合成, 以提高患者的抵抗力。此外, 维生素 C 还具有解毒功能。本试验拟以环境土壤模式动物蚯蚓为材料, 探讨草甘膦对土壤生物的急性毒性作用, 并研究维生素 C 拮抗草甘膦对蚯蚓急性毒性的作用, 旨在为机体内草甘膦毒性的防治提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

赤子爱胜蚓(*Eisenia fetida*)购自福建省福州市鳌峰花鸟市场, 于试验室驯养 1 周后, 选取体色鲜亮、行动活跃、体节完

好、环带明显、大小一致、体质量为 $400 \sim 500 \text{ mg}$ 的蚯蚓进行试验。草甘膦购自福州市农药化肥经营部, 为 30% 水剂, 试验时稀释为 $10.24 \text{ g}/\text{L}$ 的草甘膦母液。维生素 C 购自福州海王福药制药有限公司。

1.2 草甘膦对蚯蚓急性毒性试验

1.2.1 蚯蚓清肠处理 于直径 9 cm 的培养皿底部铺置 1 层滤纸, 用蒸馏水润湿后, 将洗净的蚯蚓置于其中, 以保鲜膜封口, 并用橡皮圈捆紧防止蚯蚓跑出, 在保鲜膜上扎孔通气, 于室温下清肠 24 h。

1.2.2 急性毒性试验 采用滤纸法对蚯蚓进行染毒试验。设置不同浓度的草甘膦试验组和清水对照组, 取试验组和对照组溶液各 3 mL 润湿滤纸, 分别置于 9 cm 直径的培养皿中, 使各培养皿的草甘膦终浓度分别为 380.00 、 190.00 、 95.00 、 47.50 、 23.75 、 $0.00 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。各浓度培养皿中投入 5 条蚯蚓, 设置 4 个平行试验。投入蚯蚓后 6 h 内观察其活动变化, 并分别于 24、48、72、96 h 统计蚯蚓的死亡情况, 以蚯蚓尾部对机械刺激无反应视为死亡。通过寇氏法计算得出 48 h 草甘膦对蚯蚓的半数致死浓度 LC_{50} 及其 95% 置信限。寇氏法计算公式为: $\text{LC}_{50} = \lg^{-1} [X_m - i(\Sigma P - 0.5)]$, 式中: X_m 为最大剂量组剂量对数值, i 为相邻 2 组对数剂量的差值, P 为各组动物死亡率, ΣP 为各组动物死亡率总和; LC_{50} 的标准误 $s_{\text{LC}_{50}} = i \times \sqrt{(\Sigma P - \Sigma P^2)/(n-1)}$, 其中 n 为各组动物数; LC_{50} 的 95% 置信限 $= \lg^{-1} (\lg \text{LC}_{50} \pm 1.96 \times s_{\text{LC}_{50}})$ ^[9]。

按表 1 对滤纸法测定的草甘膦毒性进行等级评估^[10]。

表 1 草甘膦毒性等级评估标准

毒性等级	LC_{50} ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
剧毒	$\text{LC}_{50} \leq 1.0$
高毒	$1.0 < \text{LC}_{50} \leq 10.0$
中毒	$10.0 < \text{LC}_{50} \leq 100.0$
低毒	$100.0 < \text{LC}_{50} \leq 1\,000.0$
微毒	$\text{LC}_{50} > 1\,000.0$

收稿日期: 2014-09-19

基金项目: 福建师范大学博士启动基金。

作者简介: 陈建华(1973—), 女, 博士, 讲师, 主要从事遗传毒理学研究。E-mail: jhchen@fjnu.edu.cn。

1.3 维生素 C 对草甘膦所致蚯蚓急性毒性的拮抗试验

根据 48 h 时 LD₅₀ 的 95% 置信上下限,选取 95% 置信下限的草甘膦浓度为拮抗试验基础液的浓度,在此浓度草甘膦中加入不同浓度的维生素 C 作为试验组。试验组的维生素 C 终浓度分别为 20.0、4.0、0.8 mg/L。试验设置清水对照组、草甘膦基础液对照组、系列浓度的维生素 C 试验组,分别取不同试验用液 3 mL 浸湿滤纸并置于相应培养皿中,各培养皿放入 5 条蚯蚓,设 2 个平行试验组。在 6 h 内观察蚯蚓的活动情况,并分别于 24、48 h 统计蚯蚓的死亡情况。

1.4 数据统计

采用 SPSS 11.0 软件分析试验数据的线性回归关系,以相关系数 *r* 表示相关程度,*P* < 0.05 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 草甘膦对蚯蚓的急性毒性

2.1.1 蚯蚓的中毒表现 试验开始 6 h 内观察时,清水对照组的蚯蚓在滤纸中自由爬行,一段时间后部分蚯蚓聚集成团;草甘膦试验组的蚯蚓在滤纸中爬行一段时间后,表现出对草甘膦滤纸的回避,分别爬到滤纸下方、滤纸与皿壁边缘、培养皿竖侧边缘,有些甚至爬到保鲜膜与培养皿的缝隙中;在高浓度草甘膦(190 ~ 380 μg/cm²)试验组中,部分蚯蚓体表分泌黄色液体。24 h 观察时,380 μg/cm² 草甘膦试验组的滤纸上出现很多黄斑,蚯蚓保持静止,身体拉长并贴于培养皿边缘,部分蚯蚓开始死亡,部分蚯蚓呈“假死”状态,用牙签刺激蚯蚓尾部会使其迅速蜷成团。48 h 观察时,高浓度草甘膦(190 ~ 380 μg/cm²)试验组的大多数蚯蚓环节肿大、充血,并出现断尾、尾部体节断开,呈“藕断丝连”的形态,蚯蚓死亡数量增大。

2.1.2 草甘膦对蚯蚓的致死效应 由表 2 可知,蚯蚓在清水对照组中可正常存活 96 h,而草甘膦试验组中的蚯蚓则呈现不同的死亡率。中、低浓度的草甘膦(23.75 ~ 95.00 μg/cm²)对蚯蚓毒性作用较弱,可使其存活 24 h,并于 48 h 内出现死亡,草甘膦对蚯蚓的致死效应随染毒时间的延长而增强,蚯蚓在中浓度草甘膦(95 μg/cm²)中的耐受时间不超过 96 h。高浓度草甘膦(190 ~ 380 μg/cm²)对蚯蚓的致死效应较强,24 h 内即可致死部分蚯蚓,而 380 μg/cm² 草甘膦中的蚯蚓于 48 h 内全部死亡。

表 2 不同浓度草甘膦对蚯蚓急性致死的影响

草甘膦浓度 (μg/cm ²)	接种蚯蚓 总数(条)	蚯蚓死亡率(%)			
		24 h	48 h	72 h	96 h
清水对照	20	0	0	0	0
23.75	20	0	15	45	90
47.50	20	0	15	50	90
95.00	20	0	20	65	100
190.00	20	10	60	90	100
380.00	20	20	100	100	100

注:由表中数据计算得到 48 h LC₅₀ (95% 置信限)为 125.35 ± 0.06(97.41 ~ 161.32) μg/cm²。

由表 2 可知,草甘膦对蚯蚓的 48 h 半数致死浓度为(125.35 ± 0.06) μg/cm²,介于 100.00 ~ 1 000.00 μg/cm² 之间,根据评估标准,草甘膦对蚯蚓的毒性等级为低毒。

2.1.3 草甘膦浓度与致死效应的关系 由图 1 可知,在各作用浓度下染毒时间相同的蚯蚓,72 h 内死亡率随草甘膦浓度的升高而升高,两者呈明显的剂量-效应关系。以草甘膦浓度为横坐标,对同一染毒时间蚯蚓的死亡率进行回归分析,其相关性具有显著意义(*P* < 0.05)。染毒时间达 96 h 时,各浓度草甘膦对蚯蚓的致死率均接近 100%,因此,染毒 96 h 后蚯蚓死亡率不再随草甘膦浓度的升高而升高,两者间的相关性没有显著意义(*P* > 0.05)。

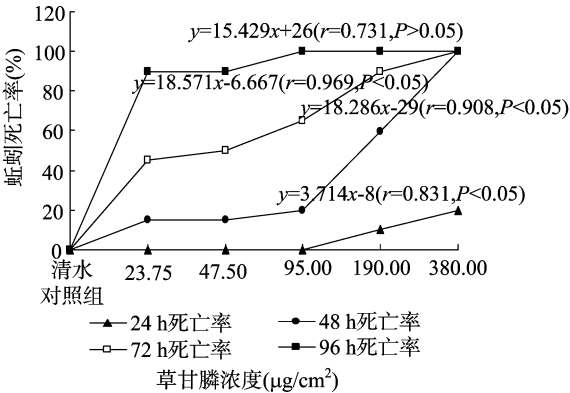


图 1 不同草甘膦浓度对蚯蚓急性致死的影响

2.1.4 染毒时间与致死效应的关系 由图 2 可知,在同一浓度(23.75 ~ 190.00 μg/cm²)的草甘膦作用下,蚯蚓死亡率随染毒时间的延长而上升,两者呈明显的剂量-效应关系。以染毒时间为横坐标,对蚯蚓死亡率进行回归分析,其相关性具有显著意义(*P* < 0.05)。蚯蚓在高浓度草甘膦(380 μg/cm²)中仅能生存 48 h,因此死亡率不再随染毒时间的延长而上升,两者间的相关性没有显著意义(*P* > 0.05)。

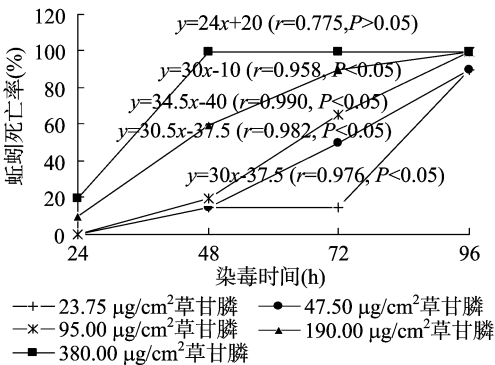


图 2 染毒时间与蚯蚓急性毒性效应的关系

2.2 维生素 C 对致死效应的拮抗作用

以浓度低于 48 h 半数致死浓度 95% 置信下限的草甘膦(95 μg/cm²)为对照组,在此基础上加入不同浓度的维生素 C 以进行蚯蚓致死拮抗试验,统计不同浓度组蚯蚓的存活率。结果(图 3)显示:向草甘膦基础液中加入 0.8 ~ 100.0 mg/L 的维生素 C 可明显提高蚯蚓存活率,且存活率随维生素 C 浓度的升高而升高,两者呈明显的剂量-效应关系。以维生素 C 浓度为横坐标对蚯蚓存活率进行回归分析,其相关性具有显著意义(*P* < 0.05)。向草甘膦基础液中加入高浓度(100 mg/L)的维生素 C 可完全拮抗草甘膦对蚯蚓的致死效应,使蚯蚓的存活数量、生活状态皆与清水对照组相似。

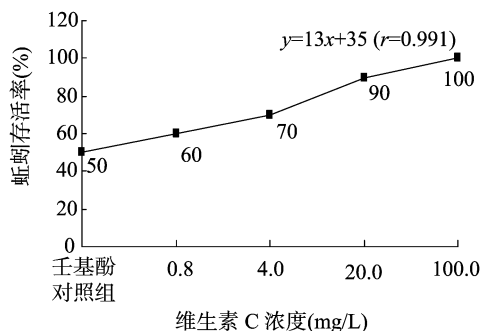


图3 维生素 C 浓度与蚯蚓存活率的关系

3 结论与讨论

草甘膦已被证实为低毒性,从而使其在农业中的应用更加无节制。土壤中残留的草甘膦由根吸收并积累于农作物体内^[11]。目前已在食品、动物饲料中检测到草甘膦,大豆中的草甘膦含量甚至高达 17 mg/kg。有资料显示,草甘膦在白菜中代谢缓慢,大棚喷药 5 d 后仍能检测到超标的草甘膦^[12]。草甘膦可通过各种途径进入食品,并通过食物链最终进入人体,此类低毒型农药对人类健康的影响已引起广泛关注。草甘膦及其代谢产物氨基磷酸不仅可以损伤 DNA,还可干扰 DNA 的修复,从而影响细胞周期的检测点,细胞周期功能的失调将导致染色体不稳定,增加人类患癌症的风险^[11,13]。草甘膦通过诱发染色体断裂、DNA 损伤对动物产生的遗传毒性已在小鼠等哺乳动物试验中得到证实^[14-15]。厄瓜多尔的一项研究发现,与草甘膦喷洒区边界 80 km 外的居民相比,草甘膦喷洒区域的居民具有较高程度的 DNA 损伤^[16],可见草甘膦对人类遗传同样具有潜在毒性。Benachour 等用远低于农业标准的含量,或低于粮食、饲料中残留的草甘膦浓度对人脐静脉内皮细胞、293 胚胎肾细胞、JEG3 胎盘细胞株进行染毒,发现细胞于 24 h 内全部死亡,提示低浓度草甘膦对人类细胞也具有一定毒性^[17]。对草甘膦的生殖毒性研究表明:一方面,草甘膦通过改变睾丸雄激素受体的表达而改变其血清睾酮与雌二醇的分布,最终影响生殖细胞的产生;另一方面,草甘膦可诱导机体过氧化水平的增高,从而破坏细胞膜通透性,导致细胞氧化损伤及 DNA 损伤,使精子数量减少、畸形率上升^[18]。对大白兔的试验表明,草甘膦可使其体质量与性欲降低,并导致异常精子、死精子的比例增加^[19-21]。有关流行病学研究发现,暴露于草甘膦的孕妇早产与流产的比例增加,且后代儿童存在生育缺陷、患多动症的风险增加了 2.6 倍^[11,22]。可见草甘膦虽为低毒性,进入人体后对细胞、遗传、生殖系统等仍存在威胁。2008 年,巴西对草甘膦进行了重新评估以确认其对人类健康的影响,官方建议将其毒性等级由第 4 级(微毒)提升为第 1 级(剧毒)^[23]。如何降低或缓解草甘膦毒性迫在眉睫。草甘膦对动物的制毒机制尚未明确,可能与以下因素有关:诱发 DNA 损伤;干扰激素的合成;使机体产生过量氧自由基从而导致细胞的毒性作用^[11,18,24]。维生素 C 为水溶性维生素,广泛存在于各类蔬菜、水果中,具有解毒、预防癌症、抗氧化、消除自由基等作用,是人体必需的营养素。动物试验表明,维生素 C 通过调控 *bcl-2*、*p53* 的表达使 DNA 免受化学诱导剂造成的损害,提示维生素 C 可拮抗

草甘膦引起的遗传毒性^[25-27]。同时,维生素 C 作为抗氧化剂具有强大的清除自由基能力,可通过还原反应消除有害自由基对细胞的毒性作用。试验前期工作已证明维生素 C 对草甘膦诱发的斑马鱼急性毒性、遗传毒性具有缓解作用,本研究通过蚯蚓的急性毒性试验再次证明维生素 C 可缓解草甘膦诱发的急性毒性。

草甘膦应用广泛,虽为低毒性但仍可通过食物链对人体健康造成威胁。经常于饭后食用新鲜水果进行维生素 C 的补充,将有利于缓解微量草甘膦对人体造成的危害。

参考文献:

- [1] 苏少泉. 草甘膦述评[J]. 农药, 2005, 44(4): 145-149.
- [2] Contardo J V, Klingelmann E, Wiegand C. Bioaccumulation of glyphosate and its formulation Roundup Ultra in *Lumbricus variegatus* and its effects on biotransformation and antioxidant enzymes[J]. Environmental Pollution, 2009, 157(1): 57-63.
- [3] 窦建瑞, 钱晓勤, 毛一扬, 等. 草甘膦对人体的毒性研究进展[J]. 江苏预防医学, 2013, 24(6): 43-45.
- [4] Dallegrave E, Mantese F D, Oliveira R T. Pre- and postnatal toxicity of the commercial glyphosate formulation in Wistar rats[J]. Archives of Toxicology, 2007, 81(9): 665-673.
- [5] Dallegrave E, Mantese F D, Coelho R S, et al. The teratogenic potential of the herbicide glyphosate - Roundup in Wistar rats[J]. Toxicology Letters, 2003, 142(1/2): 45-52.
- [6] 傅建伟, 史梦竹, 李建宇, 等. 草甘膦对草鱼、鲢鱼和鲫鱼的毒性[J]. 生物安全学报, 2013, 22(2): 119-122.
- [7] 肖永红, 龙婉婉, 罗斯成, 等. 草甘膦胁迫对中华大蟾蜍(*Bufo gargarizans*)神经冲动产生和传导的影响[J]. 生态学报, 2007, 27(3): 1177-1184.
- [8] 欧阳凤. 2 种农药对牛蛙蝌蚪的急性毒性试验研究[J]. 新乡学院学报: 自然科学版, 2010, 27(4): 63-64.
- [9] 武焕阳, 丁诗华, 唐毅, 等. 硫丹对草鱼外周血红细胞微核及核异常的影响[J]. 淡水渔业, 2011, 41(5): 28-34.
- [10] 王彦华, 俞卫华, 杨立之, 等. 22 种常用除草剂对蚯蚓(*Eisenia fetida*)的急性毒性[J]. 生态毒理学报, 2012, 7(3): 317-325.
- [11] 俞慧, 江城梅, 赵文红. 草甘膦毒性作用研究进展[J]. 蚌埠医学院学报, 2012, 37(6): 743-745.
- [12] 谢郢, 李水清. 草甘膦在大白菜中的残留动态研究[J]. 湖南农业科学, 2004(5): 43-45.
- [13] Bellé R, Le B R, Morales J, et al. Sea urchin embryo, DNA - damaged cell cycle checkpoint and the mechanisms initiating cancer development[J]. Journal de La Societe de Biologie, 2007, 201(3): 317-327.
- [14] 康菊芳, 曾明, 关岚, 等. 草甘膦对小鼠的致突变作用研究[J]. 癌变·畸变·突变, 2008, 20(3): 227-230.
- [15] Prasad S, Srivastava S, Singh M, et al. Clastogenic effects of glyphosate in bone marrow cells of Swiss albino mice[J]. Journal of Toxicology, 2009, 2009: 308, 985.
- [16] 窦建瑞, 钱晓勤, 毛一扬, 等. 草甘膦对人体的毒性研究进展[J]. 江苏预防医学, 2013, 24(6): 43-45.
- [17] Benachour N, Séralini G E. Glyphosate formulations induce apoptosis and necrosis in human umbilical, embryonic, and placental cells[J]. Chemical Research in Toxicology, 2009, 22(1): 97-105.

(下转第 425 页)

的形态分布发生了变化,可交换态 Cd 含量降低了 3.54% ~ 13.52%;残留态 Cd 含量升高了 5.58% ~ 18.80%。无机改良剂中石灰的改良效果最好,可交换态 Cd 含量下降了 12.42%,残留态 Cd 含量上升了 14.25%。有机改良剂中松木生物炭的效果最佳,可交换态 Cd 含量下降了 13.52%,残留态 Cd 含量上升了 18.80%。混合改良剂中石灰 + 牛粪改良剂的修复效果最好,可交换态 Cd 含量下降了 12.81%,残留态 Cd 含量上升了 16.73%。将石灰改良剂、松木生物炭、石灰 + 牛粪改良剂进行对比,所有改良剂中效果最好的是松木生物炭。400 °C 热解制备的松木生物炭以 2% 的投加量加入 Cd 污染土壤,培养 42 d 后可使土壤中可交换态 Cd 含量降低 9.01%,残留态 Cd 含量升高 16.17%。用松木生物炭作为改良剂修复土壤 Cd 污染,不但能够固定土壤中的 Cd,同时还能够改善表土的营养成分,影响土壤的物理性质,减少作物对化肥的需求,降低农业成本。

(上接第 413 页)

- [18] Beuret C J, Zirulnik F, Giménez M S. Effect of the herbicide glyphosate on liver lipoperoxidation in pregnant rats and their fetuses [J]. *Reproductive Toxicology*, 2005, 19(4): 501 – 504.
- [19] Oliveira A G, Telles L F, Hess R A, et al. Effects of the herbicide Roundup on the epididymal region of drakes *Anas platyrhynchos* [J]. *Reproductive Toxicology*, 2007, 23(2): 182 – 191.
- [20] Romano R M, Romano M A, Bernardi M M, et al. Prepubertal exposure to commercial formulation of the herbicide glyphosate alters testosterone levels and testicular morphology [J]. *Archives of Toxicology*, 2010, 84(4): 309 – 317.
- [21] Yousef M I, Salem M H, Ibrahim H Z, et al. Toxic effects of carbofuran and glyphosate on semen characteristics in rabbits [J]. *Journal of Environmental Science and Health: Part B, Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 1995, 30(4): 513 – 534.
- [22] Marc J, Mulner L O, bellé R. Glyphosate – based pesticides affect cell cycle regulation [J]. *Biology of the Cell*, 2004, 96(3): 245 – 249.

(上接第 415 页)

综上所述,在沿海滩涂上进行秸秆还田,可提高大麦产量,增加土壤养分,丰富土壤微生物活性。在沿海滩涂大规模开发以及盐碱土土壤养分补充方面起着举足轻重的作用,但相关机理还需进一步研究阐明。

参考文献:

- [1] 杨敏芳,朱利群,韩新忠,等. 不同土壤耕作措施与秸秆还田对稻麦两熟制农田土壤活性有机碳组分的短期影响[J]. *应用生态学报*, 2013, 24(5): 1387 – 1393.
- [2] 杨宪龙,路永莉,同延安,等. 长期施氮和秸秆还田对小麦 – 玉米轮作体系土壤氮素平衡的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2013, 19(1): 65 – 73.
- [3] 姚荣江,杨劲松,陈小兵,等. 苏北海涂围垦区土壤质量模糊综合评价[J]. *中国农业科学*, 2009, 42(6): 2019 – 2027.
- [4] 隆小华,刘兆普,陈铭达,等. 半干旱区海涂海水灌溉菊芋氮肥效应的研究[J]. *水土保持学报*, 2005, 19(2): 114 – 117, 146.
- [5] 中国土壤学会. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京:中国农业科学技术出版社, 2000.

参考文献:

- [1] 陈志良,仇荣亮,张景书,等. 重金属污染土壤的修复技术[J]. *环境保护*, 2002, 29(6): 21 – 23.
- [2] 杨景辉. 土壤污染与防治[M]. 北京:科学出版社, 1995: 34 – 38.
- [3] 王凯荣. 我国农田镉污染现状及其治理利用对策[J]. *农业环境保护*, 1997, 16(6): 35 – 39.
- [4] 罗绪强,王世杰,张桂玲. 土壤镉污染及其生物修复研究进展[J]. *山地农业生物学报*, 2008, 27(4): 357 – 361.
- [5] 蒋玉根. 农艺措施对降低污染土壤重金属活性的影响[J]. *土壤*, 2002, 34(3): 145 – 148.
- [6] 何绪生,张树清,余 雕,等. 生物炭对土壤肥料的作用及未来研究[J]. *中国农学通报*, 2011, 27(15): 16 – 25.
- [7] 朱庆祥. 生物炭对 Pb、Cd 污染土壤的修复试验研究[D]. 重庆:重庆大学, 2011.
- [23] 吕 芬. 巴西重新评估农用化学品[J]. *农药研究与应用*, 2008, 12(2): 46 – 47.
- [24] Bellé R, Le B R, Morales J, et al. Sea urchin embryo, DNA – damaged cell cycle checkpoint and the mechanisms initiating cancer development [J]. *Journal de La Societe de Biologie*, 2007, 201(3): 317 – 327.
- [25] Błasiak J, Kowalik J. Protective action of vitamin C against DNA damage induced by selenium – cisplatin conjugate [J]. *Acta Biochimica Polonica*, 2001, 48(1): 233 – 240.
- [26] Bagchi M, Kuszynski C A, Balmoori J, et al. Protective effects of antioxidants against smokeless tobacco – induced oxidative stress and modulation of *Bcl – 2* and *p53* genes in human oral keratinocytes [J]. *Free Radical Research*, 2001, 35(2): 181 – 194.
- [27] Assayed M E, Khalaf A A, Salem H A. Protective effects of garlic extract and vitamin C against *in vivo* cypermethrin – induced cytogenetic damage in rat bone – marrow [J]. *Mutation Research*, 2010, 702(1): 1 – 7.
- [6] 罗兰芳,聂 军,郑圣先,等. 施用控释氮肥对稻田土壤微生物量碳、氮的影响[J]. *生态学报*, 2010, 30(11): 2925 – 2932.
- [7] 王 铭,刘兴土,李秀军,等. 松嫩平原西部草甸草原典型植物群落土壤呼吸动态及影响因素[J]. *应用生态学报*, 2014, 25(1): 45 – 52.
- [8] Schutter M, Dick R. Shifts in substrate utilization potential and structure of soil microbial communities in response to carbon substrates [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33(11): 1481 – 1491.
- [9] 李玉洁,李 刚,宋晓龙,等. 休牧对贝加尔针茅草原土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. *草业学报*, 2013, 22(6): 21 – 30.
- [10] 李文革,李 倩,贺小香. 秸秆还田研究进展[J]. *湖南农业科学*, 2006(1): 46 – 48.
- [11] 江永红,宇振荣,马永良. 秸秆还田对农田生态系统及作物生长的影响[J]. *土壤通报*, 2001, 32(5): 209 – 213.
- [12] 康貽军,胡 健,董必慧,等. 滩涂盐碱土壤微生物生态特征的研究[J]. *农业环境科学学报*, 2007, 26(增刊): 181 – 183.
- [13] 张 赛,王龙昌. 秸秆还田方式对土壤呼吸和作物生长发育的影响[J]. *西南大学学报:自然科学版*, 2013, 35(11): 43 – 48.
- [14] 胡祥英,顾绍军,孙 皓,等. 试论秸秆还田对改善土壤微生态环境的作用[J]. *当代生态农业*, 1999(增刊): 108 – 110.