

3种磺胺类兽药单一及复合污染对不同作物根尖细胞的微核效应研究

金彩霞, 毛蕾*, 司晓薇

(河南师范大学环境学院, 黄淮水环境与污染防治省部共建教育部重点实验室, 河南省环境污染控制重点实验室, 河南 新乡 453007)

摘要:研究了磺胺嘧啶(SD)、磺胺间甲氧嘧啶(SMM)和磺胺甲噁唑(SMZ)的遗传毒性。在去离子水中分别加入三种兽药的标准品,设计1、5、10、50、100 mg·L⁻¹共5个剂量组,以蒸馏水为阴性对照,10 mg·L⁻¹的NaN₃溶液为阳性对照。用微核实验检测其对蚕豆、玉米、小麦根尖细胞微核的诱发效应,综合分析三种兽药单一及复合条件下的遗传毒性,为生态安全评价提供理论依据。结果表明:3种磺胺类药物作用于作物的根尖细胞均能诱发微核效应,说明3种药物对作物根尖细胞有一定的毒性作用,不同作物对3种磺胺类兽药的敏感性不同,在磺胺嘧啶(SD)和磺胺间甲氧嘧啶(SMM)单一处理下,3种作物的敏感性分别为蚕豆>玉米>小麦;而磺胺甲噁唑(SMZ)单一处理下,3种作物的敏感顺序为蚕豆>小麦>玉米。兽药复合时,单一兽药对作物的低促作用会消失且复合磺胺类兽药的毒性普遍高于单一兽药。

关键词:磺胺类药物;不同作物;微核;遗传毒性

中图分类号:X171.5 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2015)04-0666-06 doi:10.11654/jaes.2015.04.009

Effects of Single and Combined Pollution of Three Common Sulfonamide Veterinary Drugs on Root Apical Cell Micronuclei of Different Crops

JIN Cai-xia, MAO Lei*, SI Xiao-wei

(1.Henan Key Laboratory of Environmental Pollution Control, Key Laboratory for Yellow River and Huaihe River Water Environmental and Pollution Control, Ministry of Education, School of Environment, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: Genotoxicity of sulfadiazine(SD), sulfamonomethoxine(SMM) and sulfamethoxazole(SMZ) to crops was investigated under single and combined treatments. Five concentrations(1, 5, 10, 50, and 100 mg·L⁻¹) of each of three veterinary drugs were generated by deionized water. Micronuclei of wheat, maize and broad bean root tips were counted by micronucleus test. All three sulfonamides induced micronucleus effects in the apical cells, illustrating the toxicity of sulfonamides to plant apical cells. Different plants had different sensitivity to three sulfonamides. In single SD or SMM treatment, plant sensitivity reduced in order of broad beans>maize>wheat, while the sensitivity to sulfonamide was broad beans>wheat>maize in the SMZ treatment. The promotion of single drug at low concentrations disappeared under combined pollution. The toxicity of combined sulfonamides was generally greater than that of single one.

Keywords: sulfonamide; veterinary drugs; different plants; micronucleus; genotoxicity

随着畜牧业的迅猛发展,各种兽药的使用量和排放量与日俱增,由此带来的环境问题也日益受到人们的关注。调查表明,我国使用的兽药中,抗微生物类用

药占主导地位,市场份额约占60%以上,其中磺胺类、大环内酯类和喹诺酮类使用较多^[1]。磺胺类药物是一类具有对氨基苯磺酰胺结构、以磺酰胺为代表的各种衍生物的总称^[2],通常作为动物饲料添加剂以亚治疗剂量添加到动物饲料中,是我国生产量和使用量最大的兽药之一^[3]。在长期使用过程中,细菌对磺胺类药物较容易产生抗药性,为了达到好的治疗效果,其使用量越来越大,而这些药物不会被动物体完全吸收,有50%~90%的药物以原药或代谢物形式随粪便排出体

收稿日期:2014-10-27

基金项目:国家自然科学基金(21107023);中国博士后科学基金(20110491001)

作者简介:金彩霞(1976—),女,黑龙江延寿人,博士,副教授,研究方向为环境化学、生态毒理学。

E-mail:heartjin0509@yahoo.com

*通信作者:毛蕾 E-mail:maolei812@163.com

外^[4-6]。Elena等^[7]调查了奥地利施用畜禽粪的农用土壤中磺胺类兽药的残留含量为 $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$;李彦文等^[8]调查得到菜地土壤中磺胺类兽药的平均残留含量为 $121\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;唐才明等^[9]、马丽丽等^[10]调查得到河水污灌区土壤和底泥中磺胺甲噁唑的残留含量为 $21.3\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。研究表明,磺胺类兽药原药及其代谢产物随动物粪尿进入环境后,很难完全转化和降解,经非生物和生物作用逐渐积累,对土壤生态和水环境等带来影响,并最终会通过食物链影响人体健康^[11]。

目前,对于磺胺类药物污染的研究主要集中在个体水平的生态毒理效应和迁移转化等环境行为,以及对土壤环境的影响,关于其遗传毒性方面的研究开展得较少。生物细胞微核、染色体畸变、有丝分裂指数等细胞遗传学指标被公认为是评价环境化学物质遗传性的有效方法之一^[12],其中微核试验具有敏感度高、快速经济、不需要精尖技术等优点^[13],在环境监测中应用较为广泛。Ma^[14]认为高等植物对环境中污染物引起的生物诱变和基因毒性最为敏感,且植物常被用于生物基因毒性测试和相关的土壤评估^[15-16]。目前关于遗传毒性的研究中,针对重金属和有机污染物开展得较多,而兽药方面的研究较少。本研究在不同浓度的磺胺类兽药单一及复合污染处理下,通过测定玉米、蚕豆、小麦根尖细胞的微核效应,判断其遗传毒性,旨在为研究磺胺类兽药复合污染对作物遗传毒性的影响奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

玉米、小麦和蚕豆种子均购于北京开心农场种子公司。

磺胺嘧啶(SD)和磺胺间甲氧嘧啶(SMM)购于北京博亚华牧业科技有限公司;磺胺甲噁唑(SMZ)购于寿光富康制药有限公司。3种药品纯度均 $\geq 99\%$ 。

1.2 试验方法

1.2.1 单一兽药胁迫试验

选取籽粒饱满、均匀的玉米、蚕豆、小麦种子于蒸馏水中浸泡24 h,待种子吸水膨胀后用纱布包裹置于 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养,每12 h换水一次,待根尖长至1~2 cm时,分别选取发育良好,根尖粗细一致的种子备用。

将3种兽药分别配制成浓度为1、5、10、50、100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液,以蒸馏水作为阴性对照(CK^{-}),以5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaNO_3 作为阳性对照(CK^{+})。将种子放入不同

浓度磺胺类兽药的处理液中浸泡,染毒8~24 h,将染毒后的种子洗净并置于蒸馏水中恢复培养24 h;切下约1 cm长的根尖,卡诺固定液固定24 h后,置于70%乙醇中,放入 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中可保存数月。实验时将根尖取出,蒸馏水洗涤2次后置于 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的盐酸中,于 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴解离8~10 min,至根尖呈乳白色取出,然后放入蒸馏水中冲洗3次,每次5 min;用shiff试剂染色30 min后漂洗制片,在显微镜下观察。

每个处理每种作物选取5个根尖,每个根尖观察不少于1000个细胞,统计细胞的微核数。微核率用观察到的微核数占观察细胞的千分率(MCN)表示,微核千分率=微核数/观察细胞数 $\times 1000\%$ 。最终结果取5组根尖观察结果的平均值。

1.2.2 复合兽药胁迫试验

将配置好的3种兽药溶液两两等量等浓度混合,然后进行作物根尖染毒、固定、解离、染色、观察,方法与单一兽药处理相同。

1.3 数据处理

采用SPSS软件进行方差分析和 F 检验。

2 结果与讨论

2.1 单一兽药胁迫对不同作物根尖细胞微核率的影响

磺胺类兽药对作物产生的毒害作用在个体和细胞分子水平都有所表现。在浓度为 $1\sim 5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,对作物根尖的生长没有明显的毒性,从 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 开始,根尖生长缓慢并开始变黄,浓度达到 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,根尖颜色加深并开始变硬,水解效果变差,细胞分散程度逐渐降低,部分细胞出现重叠现象。这时压片比较困难,在显微镜下观察可以看到有些细胞出现了细胞核固缩、细胞破碎的现象,如图1所示。较高浓度的磺胺类药物可引发细胞凋亡,细胞分裂数减少,说明磺胺类药物有抑制作物根尖细胞分裂的作用。这和Srivastava等^[17]用较高浓度的固体垃圾渗滤液处理大麦得到的结果一致。

2.1.1 磺胺类药物对玉米根尖细胞微核率的影响

因不同实验材料监测的结果有很大差异,故较低微核率是试验成功的关键因素之一^[18]。在正常情况下,本底微核率不应高于 10% ^[19]。本研究中作物微核率的本底值都在 10% 以内,符合污染检测要求。由表1可知,与阴性对照组相比,浓度对玉米微核率的影响极显著($P<0.01$),兽药种类对微核率的影响亦达到极显著水平($P<0.01$)。

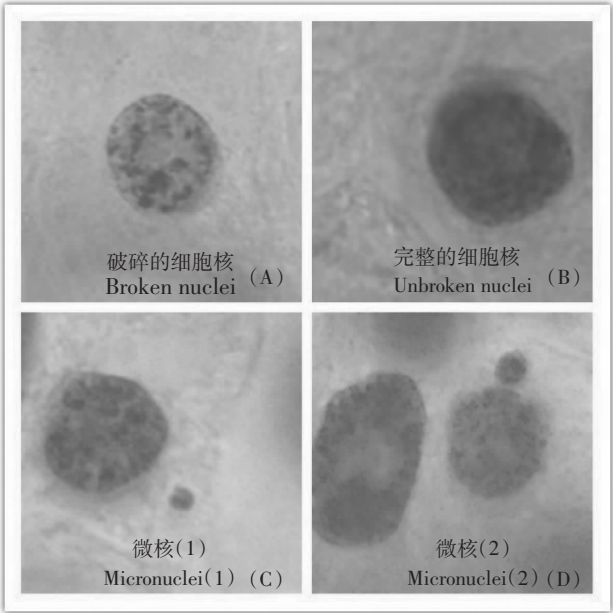


图 1 磺胺类药物对作物微核的诱导(放大 1600 倍)

Figure 1 Micronuclei of crop root cells induced by sulfonamides

由表 1 可以看出,5 mg·L⁻¹ 的 NaN₃ 可显著诱发玉米的微核效应($P<0.05$)。与阴性对照组相比,3 种兽药在 1~100 mg·L⁻¹ 浓度范围内,均可诱发玉米根尖细胞明显的微核效应,其中 SD、SMM 在 50 mg·L⁻¹ 时产生的微核率最大,SMZ 在 100 mg·L⁻¹ 时微核率最大。

在实验浓度范围内,玉米根尖细胞微核率随磺胺类药物浓度的升高而增大,至药物浓度 50 mg·L⁻¹ 时,SD 和 SMM 所诱发的微核率达到最大值,分别为 21.86‰和 21.52‰,浓度进一步增加时微核率反而下降。这可能是由于随着浓度的升高、毒性的增强,玉米根尖细胞受损,导致细胞周期延长,分生区细胞的分裂减弱,这和易岚等^[20]的研究结果相似。由表 1 还可

以看出,SMZ 组在浓度为 5~100 mg·L⁻¹ 范围内微核率一直与药物浓度呈线性关系,相关系数为 0.917 5,但在浓度为 1 mg·L⁻¹ 时诱发的微核率(8.14‰)反而大于 5 mg·L⁻¹ 时的微核率(6.61‰)。这可能是因为低浓度的 SMZ 还未表现出相应的毒性,并且能在一定程度上促进玉米根尖分生区细胞分裂,这和韦立秀等^[21]用甲醛诱导蚕豆细胞微核所得出的结论相似。

2.1.2 磺胺类药物对小麦根尖细胞微核率的影响

随着药物浓度的增大,小麦根尖细胞微核率明显增加,表明药物毒性逐渐增强。SD、SMM 和 SMZ 组均在 100 mg·L⁻¹ 时出现最大微核率。与阴性对照相比,浓度对小麦微核率的影响极显著($P<0.01$),而兽药种类对微核率的影响不显著($P>0.05$)。故对小麦根尖细胞而言,兽药种类的改变对其微核率无明显影响。

SMM 和 SMZ 处理组中,小麦根尖细胞的微核率在浓度为 100 mg·L⁻¹ 时达到最大值,分别为 20.17‰和 17.44‰;当浓度升高到 200 mg·L⁻¹ 时,微核率分别降至 18.63‰和 16.01‰。由表 1 可知,SMM 各浓度的小麦根尖细胞微核率均大于 SMZ,说明小麦根尖细胞对 SMM 的敏感度高于 SMZ。而 SD 处理下,小麦细胞的微核率在 1~100 mg·L⁻¹ 范围内与药物浓度呈线性增长关系,相关系数为 0.963,微核率在 100 mg·L⁻¹ 时达最大值 20.27‰,说明小麦根尖细胞在高浓度 SD 作用下才能诱发较大微核率,小麦根尖细胞对 SD 的敏感度较弱。

2.1.3 磺胺类药物对蚕豆根尖细胞微核率的影响

由表 1 可知,3 种兽药在 1~100 mg·L⁻¹ 浓度范围内均对蚕豆根尖细胞产生明显的毒性作用。SD 组在 10 mg·L⁻¹ 时微核率达到最大值 25.94‰,而 SMM、SMZ 组在 50 mg·L⁻¹ 时微核率分别达到最大值 23.61‰和 20.53‰,说明蚕豆对 SD 的敏感性高于

表 1 3 种磺胺类药物诱导不同作物根尖细胞产生的微核率(‰)

Table 1 Micronucleus rates in root tip cells of different crops induced by three sulfonamides(‰)

浓度 Concen- tration/mg·L ⁻¹	玉米 Corn			小麦 Wheat			蚕豆 Broad bean		
	SD	SMM	SMZ	SD	SMM	SMZ	SD	SMM	SMZ
CK ⁻	2.16±1.59e	2.16±1.59f	2.16±1.59e	3.17±2.07f	3.17± 2.07e	3.17±2.07d	6.50±2.54e	6.50 ±2.54d	6.50±2.54e
1	11.82±2.46d	11.66±2.32e	8.14±1.33d	8.33±1.75e	6.67±1.47d	7.28±2.08c	17.63±1.60d	20.21±1.30c	13.40±1.39de
5	14.38±2.99cd	14.47±1.69de	6.61±1.83d	12.04±2.60de	10.54±2.22c	9.77±1.43c	19.22±1.61cd	19.77±1.26c	12.09±1.47e
10	16.59±1.58c	20.92±1.45b	9.63±2.20d	12.87±1.56b	13.03±1.79c	11.29±1.86c	25.94±2.39a	21.43±1.85c	14.91±1.18de
50	21.86±2.29a	21.52±1.95a	12.77±2.01c	15.51±1.14cd	18.22±2.58b	15.76±1.94b	22.15±2.33c	23.61±1.17a	20.53±1.66b
100	20.75±2.50b	19.31±2.65bc	14.73±1.43b	17.73±1.58d	20.17±1.67a	17.44±2.31b	21.67±1.96c	22.70±2.08bc	18.87±2.38bc
CK ⁺	21.01±1.04b	21.01±1.04b	21.01±1.04a	20.27±1.53a	20.27±1.53a	20.27±1.53a	23.66±1.77b	23.66±1.77a	23.66±1.77a

注:数字后不同小写字母表示各浓度处理间差异显著($P<0.05$)。

SMM 和 SMZ。对蚕豆而言,兽药浓度对微核率的影响极显著($P<0.01$),兽药种类对微核率的影响亦极显著($P<0.01$)。在同一浓度作用下,SD、SMM、SMZ 诱发蚕豆根尖的微核率均明显高于玉米和小麦,在 SMM 处理下,50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时蚕豆微核率为 23.61‰,玉米和小麦分别为 21.52‰和 18.22‰,表明同种药物同一浓度作用下,蚕豆根尖细胞受损更严重。这说明蚕豆根尖细胞对磺胺类药物较敏感,且染色体较大,便于观察,更适合作为磺胺类药物污染的指示作物^[22]。

2.1.4 不同作物对磺胺类药物敏感性的比较

微核产生的主要原因是各种具有损伤性的理化因子影响了细胞功能,造成了细胞损伤^[23]。本研究,磺胺类药物能诱发 3 种作物根尖细胞微核,表明这类药物可以引起作物根尖细胞 DNA 损伤,因而是一种潜在的致突变剂和致癌物质。

由表 1 可知,不同种类的磺胺类兽药对同一作物的微核率影响不同,而不同作物对同一兽药的敏感性也不同。SD 处理下,蚕豆的微核率高于玉米和小麦。当 SD 浓度为 10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,蚕豆的微核率达到最大值 35.94‰,玉米的微核率为 16.59‰,小麦的微核率为 12.87‰。由此可知,在相同浓度 SD 作用下,3 种作物的敏感性为蚕豆>玉米>小麦。SMM 组 3 种作物的微核率随浓度变化情况如表 1 所示,50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时蚕豆和玉米均达到最大值,分别为 23.61‰和 21.52‰,小麦的微核率为 18.22‰,可见蚕豆和玉米对 SMM 的敏感程度高于小麦。但在同一浓度下,蚕豆根尖细胞的微核率大于玉米,说明 3 种作物的根尖细胞对 SMM 的敏感性为蚕豆>玉米>小麦,与 SD 作用下作物表现的敏感性相同。SMZ 处理组中,50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时蚕豆微核率达到最大值 20.53‰,小麦微核率为 15.76‰,而玉米随药物浓度升高微核率的增长最为缓慢,为 12.77‰。由此得出,3 种作物的根尖细胞对 SMZ 的敏感顺序为蚕豆>小麦>玉米。产生这种差异的原因可能是,同种药物对不同作物根尖细胞的作用机理不同。相同浓度下,蚕豆比玉米、小麦具有更高的微核率,这可能是因为小麦和玉米具有更强的抗氧化能力^[24]。

2.2 3 种磺胺类兽药复合对作物根尖细胞微核率的影响

图 2 显示,与兽药单一作用相比,在 1~50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度范围内,兽药复合作用的微核率较高,说明低浓度的兽药复合毒性高于单一毒性;当浓度升高至 50~100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,复合作用产生的微核率明显降低,说明兽药的复合在低浓度表现出协同作用,高浓度则表

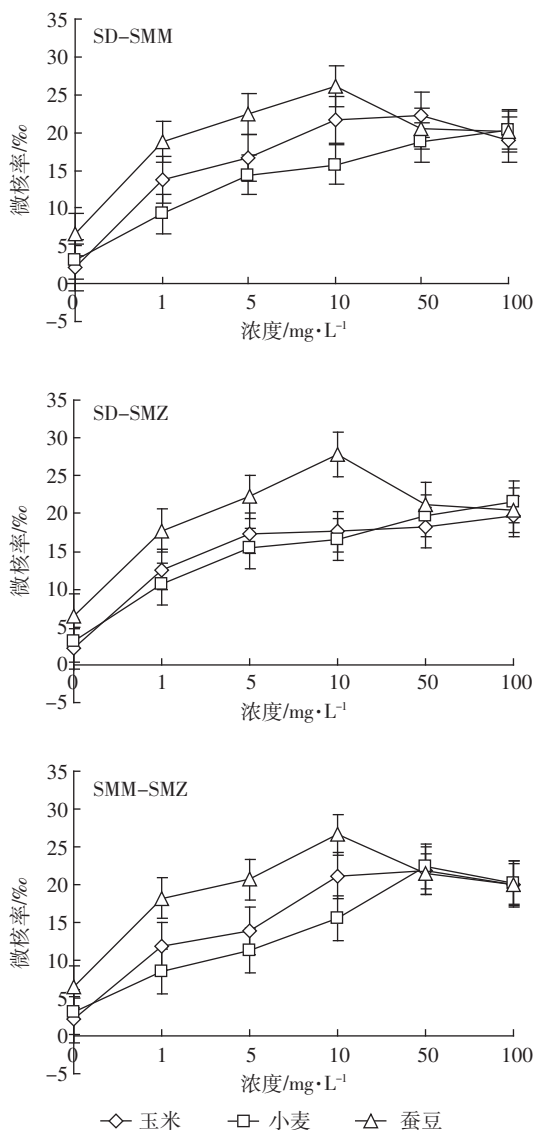


图 2 3 种磺胺类兽药复合对 3 种作物根尖细胞微核率的影响

Figure 2 Micronucleus rates in crop root tip cells induced by compound sulfonamides

现出拮抗作用。这可能是因为低浓度时细胞分裂比较旺盛,在药物毒性作用下,产生微核的细胞数较多,随着浓度升高,药物毒性作用增大,细胞死亡数量增多,微核率大大减少。方差分析可知,不同种类兽药复合对作物根尖细胞微核率影响显著($P<0.05$),复合兽药浓度对作物根尖细胞微核率影响极显著($P<0.01$)。

玉米、蚕豆在 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ SMZ 单一处理下表现出的低促进作用在 SD-SMZ、SMM-SMZ 复合时消失,说明低浓度兽药复合不会加快作物细胞的有丝分裂。5~10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,SD-SMM 复合作用下微核率上升较快,可能是因为较低浓度的复合兽药在尚未抑制细胞分裂的条件下表现出较高的毒性,以致在这个浓度范围

内,微核率呈明显上升趋势;当浓度上升至 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,微核率达最大值,而当浓度继续增大时微核率开始下降,可能是因为高浓度 SD-SMM 毒性增强,抑制细胞分裂,使微核量减少;当各复合浓度增至 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,与单一作用比较,微核率差别很小,可能是因为此时 SMM 产生的毒性已足够引起细胞大量死亡,再加入其他兽药对微核率的变化无明显影响。

由图 2 可以看出,在 3 种兽药复合处理下,蚕豆根尖微核率在 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时即达到最大值,且最大值明显高于玉米和小麦。这说明在复合兽药的处理下,蚕豆仍是最敏感的作物。

SD-SMM 复合处理下,3 种作物所诱发的微核率均比单一兽药高。蚕豆在 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 达到最大微核率 26.13%,比 SD 单一处理时高 6.9%,比 SMM 单一处理时高 10.7%。玉米和小麦亦表现出相同规律。由此可见,在 SD-SMM 复合污染作用下,复合毒性增强,具有协同效应。

SD-SMZ 复合处理下,玉米、小麦均在 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到最大值,分别为 19.67%和 21.53%,高于单一 SD、SMZ 处理所得微核率的最大值;小麦根尖微核率的增幅高于玉米,说明 SD-SMZ 复合对小麦的毒性较大。

SMM-SMZ 复合在 $1 \sim 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内,3 种作物微核率均随浓度增加而显著升高,且 3 种作物在各个浓度的微核率高低顺序均为蚕豆>玉米>小麦。浓度高于 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,3 种作物的微核率逐渐趋于相近,此时 SMM-SMZ 复合表现出拮抗作用。出现这种现象可能是因为 SMM 与 SMZ 的衍生基团处于苯环上同一位置,结构的相似导致两种兽药的作用机理相似。在染毒过程中,2 种兽药在作物细胞染色体上的结合位点可能相同,故出现竞争机制。在低浓度($1 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)作用下,结合位点尚未饱和,两种兽药分子均可与位点结合,对作物产生毒害加剧,相同浓度下 SMM-SMZ 复合比单一作用产生的微核率高,并在 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到最大值。随着浓度继续升高至 $50 \sim 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,细胞 DNA 结合位点逐渐饱和,两种兽药分子因不能与 DNA 有效结合而无法产生更强的毒性作用。因此,SMM-SMZ 复合高浓度下,3 种作物的微核率下降并趋于一致。

3 结论

(1)3 种磺胺类药物对作物细胞均具有遗传毒性,但不同的作物对同一药物的敏感性不同。SD 和

SMM 的处理下,3 种作物的敏感性顺序为蚕豆>玉米>小麦;SMZ 处理下,3 种作物的敏感性顺序为蚕豆>小麦>玉米。

(2)复合污染条件下,单一兽药对作物的低促进作用会消失,且低浓度磺胺类兽药的复合毒性高于单一毒性。

(3)兽药的复合在低浓度表现出协同作用,高浓度则表现出拮抗作用,这可能与兽药分子的结构及其与 DNA 分子的结合位点有关。

参考文献:

- [1] 陈杖榴. 兽用化学药物研发动向[J]. 中国兽药杂志, 2005, 39(7): 1-6.
CHEN Zhang-liu. Research and development of chemical veterinary drugs[J]. *Chinese Journal of Veterinary Drug*, 2005, 39(7): 1-6.
- [2] 李文静, 金彩霞, 张庚, 等. 磺胺间甲氧嘧啶在玉米根-土界面毒性研究[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(7): 1268-1274.
LI Wen-jing, JIN Cai-xia, ZHANG Geng, et al. The eco-toxicological effect of sulfamonomethoxine on corn rhizospheric and non-rhizospheric soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(7): 1268-1274.
- [3] 金彩霞, 刘军军, 陈秋颖, 等. 兽药磺胺间甲氧嘧啶对土壤呼吸以及酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(2): 314-318.
JIN Cai-xia, LIU Jun-jun, CHEN Qiu-ying, et al. Effects of sulfamonomethoxine on soil respiration and enzyme activity[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(2): 314-318.
- [4] Haller M Y, Muller R S, Mcardell C S, et al. Quantification of veterinary antibiotics (sulfonamides and trimethoprim) in animal manure by liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2002, 952(1-2): 111-120.
- [5] Hu X G, Luo Y, Zhou Q X, et al. Determination of thirteen antibiotics residues in manure by solid phase extraction and high performance liquid chromatography[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2008, 36(9): 1162-1166.
- [6] Zhao L, Dong Y H, Wang H. Residues of veterinary antibiotics in manures from feedlot livestock in eight provinces of China[J]. *Science of the Total Environment*, 2010, 408(5): 1069-1075.
- [7] Elena M C, Carmen G B, Scharf S, et al. Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria[J]. *Environmental Pollution*, 2007, 148(2): 570-579.
- [8] 李彦文, 莫测辉, 赵娜, 等. 菜地土壤中磺胺类和四环素类抗生素污染特征研究[J]. 环境科学, 2009, 30(6): 1762-1766.
LI Yan-wen, MO Ce-hui, ZHAO Na, et al. Investigation of sulfonamides and tetracyclines antibiotics in soils from various vegetable fields[J]. *Environmental Science*, 2009, 30(6): 1762-1766.
- [9] 唐才明, 黄秋鑫, 余以义. 污泥和沉积物中微量大环内酯类、磺胺类抗生素、甲氧苄胺嘧啶和氯霉素的测定[J]. 分析化学, 2009, 37(8): 1119-1124.
TANG Cai-ming, HUANG Qiu-xin, YU Yi-yi, et al. Multiresidue de-

- termination of sulfonamides, macrolides, trimethoprim, and chloramphenicol in sewage sludge and sediment using ultrasonic extraction coupled with solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2009, 37(8):1119-1124.
- [10] 马丽丽, 郭昌胜, 胡伟, 等. 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法同时测定土壤中氟喹诺酮、四环素和磺胺类抗生素[J]. *分析化学*, 2010, 38(1):21-26.
- MA Li-li, GUO Chang-sheng, HU Wei, et al. Simultaneous extraction and determination of eighteen fluoroquinolone, tetracycline and sulfonamide antibiotics from soils using solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2010, 38(1):21-26.
- [11] 文春波, 张从良, 王岩, 磺胺嘧啶在土壤中的降解与迁移研究[J]. *农业环境科学学报*, 2007, 26(5):1677-1680.
- WEN Chun-bo, ZHANG Cong-liang, WANG Yan. Degradation and transport of sulfadiazine in soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(5):1677-1680.
- [12] 何俊瑜, 任艳芳, 王阳阳, 等. 镉对小麦根尖细胞的遗传损伤效应[J]. *生态环境学报*, 2009, 18(3):830-834.
- HE Jun-yu, REN Yan-fang, WANG Yang-yang, et al. Genotoxicity of cadmium on root tips cells of wheat[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2009, 18(3):830-834.
- [13] 赵昕, 胡英考, 蔡民华, 等. 3种维生素对亚硝酸钠致蚕豆根尖细胞微核效应的影响[J]. *食品科学*, 2010, 31(5):240-243.
- ZHAO Xin, HU Ying-kao, CAI Min-hua, et al. Effect of vitamin on nitrite-induced micronucleus of *Vicia faba* root tip cells[J]. *Food Science*, 2010, 31(5):240-243.
- [14] Ma T H. The international program on plant bioassays and the report of the follow-up study after the hands-on workshop in China[J]. *Mutation Research*, 1999, 426(45):103-106.
- [15] Grant W F. The present status of higher-plant bioassays for the detection of environmental mutagens[J]. *Mutation Research*, 1994, 310(2):175-185.
- [16] White P A, Claxton L D. Mutagens in contaminated soil: A review[J]. *Mutation Research*, 2004, 567(2-3):227-345.
- [17] Srivastava A K, Kumar R R, Singh A K. Cell cycle stage specific application of municipal landfill leachates to assess the genotoxicity in root meristem cells of barley(*Hordeum vulgare*) [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2014, 21(24):13979-13986.
- [18] 张平, 汪珍春, 姚焱, 等. 蚕豆根尖微核技术研究水体中铊的遗传毒性[J]. *生态环境*, 2008, 17(1):47-49.
- ZHANG Ping, WANG Zhen-chun, YAO Yan, et al. Genotoxicity of thallium in water using *Vicia faba* root tip cells micronucleus test technique[J]. *Ecology and Environment*, 2008, 17(1):47-49.
- [19] Zang Y, Xue K. The application and development of micronucleus assay of *Vicia faba* [J]. *Carcinogenesis, Teratogenesis and Mutagenesis*, 1999, 11(3):158-160.
- [20] 易岚, 李国庆, 赵欣, 等. 硫酸铜对玉米根尖细胞遗传毒性效应的研究[J]. *环境与健康杂志*, 2009, 26(3):220-221.
- YI Lan, LI Guo-qing, ZHAO Xin, et al. Cytogenetic toxic effects of copper sulfate on root tip cells of *Zea mays* L. [J]. *Journal of Environment and Health*, 2009, 26(3):220-221.
- [21] 韦立秀, 孙艳娟, 杨振德, 等. 甲醛污染对蚕豆根尖细胞微核的诱导作用[J]. *环境科学与技术*, 2009, 32(4):33-36.
- WEI Li-xiu, SUN Yan-juan, YANG Zhen-de, et al. Inducement effect of formaldehyde on micro-nuclei formation in *Vicia faba* root tips[J]. *Environmental Science and Technology*, 2009, 32(4):33-36.
- [22] Dhyèvre A, Foltête A S, Aran D, et al. Effects of soil pH on the *Vicia*-micronucleus genotoxicity assay[J]. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*, 2014, 774:17-21.
- [23] 韩善华. 蚕豆微核试验及其在重金属遗传毒害中的应用[J]. *中国微生态学杂志*, 2008, 20(1):93-94.
- HAN Shan-hua. Micronucleus test of *Vicia faba* and its application in genetic toxicity of heavy metals[J]. *Chinese Journal of Microecology*, 2008, 20(1):93-94.
- [24] 陈冬朋, 于丽杰, 朱宏. 硝酸铅对小麦(*Triticum aestivum* Linn.)根尖有丝分裂的影响[J]. *哈尔滨师范大学自然科学学报*, 2010, 26(2):65-68.
- CHEN Dong-peng, YU Li-jie, ZHU Hong. Effect of $Pb(NO_3)_2$ on the mitosis of root tip cells of wheat(*Triticum aestivum* Linn.) [J]. *Natural Science Journal of Harbin Normal University*, 2010, 26(2):65-68.