

## 4种农药对青海弧菌 Q67 混合毒性作用的评估

丁婷婷<sup>1</sup>, 张瑾<sup>1,2\*</sup>, 董欣琪<sup>1</sup>, 洪桂云<sup>1</sup>

(1. 安徽建筑大学环境与能源工程学院, 安徽省水污染控制与废水资源化重点实验室, 合肥 230601;

2. 清华大学新兴有机污染物控制北京市重点实验室, 北京 100084)

**摘要:** 以发光菌青海弧菌(*Vibrio qinghaiense* sp.-Q67)为指示生物, 4种农药包括残杀威、甲霜灵、多果定和西草净为研究对象, 应用均匀试验设计法设计农药的四元混合物体系, 共7条射线, 应用微板毒性测试方法(MTA)系统测定4种农药及其四元混合物体系对Q67的发光抑制毒性, 采用非线性最小二乘法拟合浓度-效应数据, 以浓度加和模型(CA)为标准加和参考模型分析混合物毒性相互作用。结果表明, Logit或Weibull函数可有效地拟合4种农药的浓度-效应数据, 其相关系数 $R > 0.99$ , 均方根误差 $RMSE < 0.022$ ; 4种农药对发光菌Q67的毒性大小顺序为多果定( $pEC_{50} = 5.35$ ) > 西草净( $pEC_{50} = 3.56$ ) > 甲霜灵( $pEC_{50} = 3.18$ ) > 残杀威( $pEC_{50} = 3.00$ ), 其中多果定毒性最大, 残杀威、甲霜灵和西草净对Q67的毒性比较接近; 四元农药混合物体系的7条射线对Q67的毒性( $pEC_{50}$ 值)与组分西草净和多果定的浓度比尤其是西草净和多果定的浓度比之和具有良好的正相关关系( $R = 0.8729$ ,  $RMSE = 0.076$ ), 但与残杀威和甲霜灵的浓度比之和具有良好的负相关关系( $R = 0.8729$ ,  $RMSE = 0.076$ ); CA模型能很好地评估四种农药的四元混合物体系对Q67的毒性, 即混合物体系呈经典的加和作用。

**关键词:** 农药; 四元混合物; 青海弧菌; 微板毒性测定方法; 加和作用

中图分类号: X592

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2017)05-0817-06

### Evaluation of the joint toxicity of four pesticides towards *Vibrio qinghaiensis* -Q67

DING Tingting<sup>1</sup>, ZHANG Jin<sup>1,2</sup>, DONG Xinqi<sup>1</sup>, HONG Guiyun<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Water Pollution Control and Wastewater Resource of Anhui Province, College of Environment and Energy Engineering, Anhui Jianzhu University, Hefei 230601;

2. Beijing Key Laboratory for Emerging Organic Contaminants Control, Tsinghua University, Beijing 100084)

**Abstract:** Using *Vibrio qinghaiensis* sp.-Q67 (Q67) as the test organism, the concentration-response relationship of four pesticides (baygon, metalaxyl, dodine and simetryn) and their mixtures were investigated using the microplate toxicity analysis method. A quaternary pesticide mixture system with seven different concentration-ratios of the components was designed using the uniform design ray method. The obtained concentration-response data were fitted using the nonlinear least square method. A standard additive model, the concentration additivity model (CA), was used as a reference to analyze the mixture toxicity interactions. The results showed that the toxicity order of the four pesticides to the photobacterium Q67 was: dodine ( $pEC_{50} = 5.35$ ) > simetryn ( $pEC_{50} = 3.56$ ) > metalaxyl ( $pEC_{50} = 3.18$ ) > baygon ( $pEC_{50} = 3.00$ ). The pesticide dodine showed the highest toxicity and others had the similar toxicity. Toxicities of the seven rays in the quaternary mixture system positively correlated with the concentration ratios of dodine and simetryn, especially the sum of their concentration ratios ( $R = 0.8729$ ,  $RMSE = 0.076$ ) that were negatively correlated with the sum of concentration ratios of baygon and metalaxyl ( $R = 0.8729$ ,  $RMSE = 0.076$ ). CA would be a good prediction for the toxicity of the seven quaternary pesticide mixture rays and would display a classical additive action.

**Key words:** pesticides; quaternary mixture; *Vibrio qinghaiense* sp.-Q67; microplate toxicity analysis; additive action

收稿日期: 2017-03-15

基金项目: 国家自然科学基金(21677001, 21207002), 安徽省自然科学基金(1708085MB50)和安徽省高等学校自然科学研究项目(KJ2013A067)共同资助。

作者简介: 丁婷婷, 硕士研究生。E-mail: 1373639545@qq.com

\* 通信作者: 张瑾, 博士, 副教授。E-mail: ginnzy@163.com

一直以来,为了提高农业产量,农药被大量应用于防治病虫害和促进作物生产。由于农药的大量生产和应用,导致了其在大气和土壤环境尤其是水体环境中的大量残留和蓄积,引起了日益严重的环境污染问题<sup>[1]</sup>。Malaj等<sup>[2]</sup>报道,在法国有81%~96%的农药在鱼、脊椎动物和藻体内的含量已经超过急性毒性的阈值。阳宇翔等<sup>[3]</sup>甚至在中国的饮用水源地检出了有机氯等农药。进入环境中的农药,势必对环境中的非靶标生物甚至人类的生存和健康产生威胁<sup>[4]</sup>。因此,国内外学者针对农药的生物效应展开了大量研究,发现农药对大多数水生生物都具有很强的毒性<sup>[1,5]</sup>。此外,进入环境中的农药,又将以各种形式和浓度共存,形成各种各样的混合污染物。混合物污染具有的蓄积毒性和毒性相互作用(协同作用、加和作用和拮抗作用)将具有更大的潜在危险<sup>[6]</sup>。因此,开展对农药污染物对生物的混合物毒性研究具有重要意义。

目前,广泛应用于农业生产上的化学农药主要包括杀虫剂、杀菌剂和除草剂等。因此,本研究选取了应用广泛的4种农药氨基甲酸酯类杀虫剂残杀威(baygon)、杀菌剂甲霜灵(metalaxyl)、多果定(dodine)和三嗪类除草剂西草净(simetryn)为研究对象,以青海弧菌Q67为指示生物,应用微板毒性分析(t-MTA)法系统测定4种农药Q67的生物效应。由于混合物是污染物在环境存在的普遍规律<sup>[7]</sup>,

因此,本研究应用均匀试验设计法(UD-Ray)设计了4种农药的混合物体系共7条射线,并应用MTA系统测定了4种农药的混合物对发光菌Q67的毒性,依据标准浓度加和模型(CA)分析了混合物体系组分间的毒性相互作用<sup>[5,8]</sup>,研究结果将为农药污染物的生态风险评价提供数据参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试剂:4种农药(纯度>98%)残杀威、甲霜灵、多果定和西草净均购自美国Sigma公司,其基本理化性质及储备液见表1,化学结构见图1。4种农药的储备液采用milli-Q水配制,并置于棕色瓶中、4℃条件下保存,备用。

主要实验仪器:Synergy 2 Multi-Mode 微板光度计(美国BioTek 伯腾仪器有限公司)、超净工作台(三发仪器有限公司)、FA1004型五位电子天平(天津天马衡基仪器有限公司)、YX280A手提式压力蒸汽灭菌器(上海三申医疗器械有限公司)、SC-242型透明门立式冷藏柜(青岛海尔电冰箱有限公司)、BS-2E数显振荡培养箱(上海梅香仪器有限公司)、DHG-9140A电热恒温鼓风干燥箱(上海精密实验设备有限公司)和Dragon-lab单道可调移液器(10~100 μL)(大龙兴创实验仪器有限公司)。

表1 4种农药的基本理化性质、储备液、浓度-效应曲线拟合模型及pEC<sub>50</sub>值

Table 1 Basic physico-chemical properties, stocks, concentration-effect curve fitted model and pEC<sub>50</sub> values for the tested pesticides

农药 Pesticide	类别 Category	CAS号 CAS number	分子量/ $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ Molecular weight	储备液 $\text{c}/\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Stock solution	$F$	$\alpha$	$\beta$	$RMSE$	$R$	pEC <sub>50</sub>
残杀威 Baygon	杀虫剂 Insecticide	114-26-1	209.24	$7.04\times 10^{-3}$	W	7.88	2.59	0.022	0.9968	3.00
甲霜灵 Metalaxyl	杀菌剂 Bactericide	57837-19-1	279.33	$8.36\times 10^{-3}$	L	9.36	2.94	0.012	0.9993	3.18
多果定 Dodine	杀菌剂 Bactericide	2439/10/3	287.44	$7.39\times 10^{-5}$	W	11.77	2.27	0.021	0.9981	5.35
西草净 Simetryn	除草剂 Herbicide	1014-70-6	213.30	$2.15\times 10^{-3}$	L	9.66	2.71	0.018	0.9978	3.56

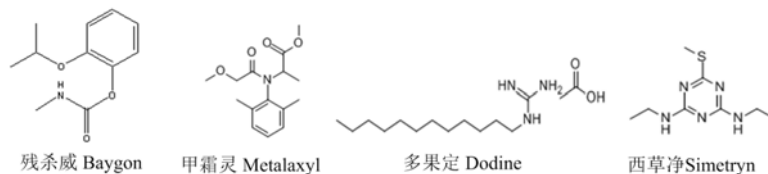


图1 4种农药的化学结构

Figure 1 The chemical structures of four pesticides

## 1.2 方法

### 1.2.1 混合物实验设计

为了系统考查混合物体系

中各组分在空间不同浓度配比时的毒性,本研究应用均匀试验设计(UD-ray)方法<sup>[9]</sup>设计4个农药的

四元混合物体系, 共计 7 条射线, 每条射线的各组分浓度组成及其浓度配比见表 2。

**1.2.2 菌种培养** 青海弧菌 Q67 (*Vibrio- qinghaiensis* sp.-Q67), 购自北京滨松光子技术股份有限公司, 其培养基的配制和菌培养过程详见文献<sup>[10]</sup>。

**1.2.3 微板毒性分析法 (microplate Toxicity Analysis, MTA)** 农药及其混合物对发光菌 Q67 的毒性效应采用微板毒性分析法 (MAT) 测定<sup>[11]</sup>: 白色不透明 96 微孔板作为实验载体, 根据预实验结果所得

的稀释因子, 将每个农药的储备液稀释成 12 个不同浓度, 浓度从大到小呈几何级数递减。将 12 个不同浓度的农药溶液加入到微孔板中, 每个浓度设置 3 个重复, 同时设置 12 个空白对照, 然后在每个孔中再加入已事先培养至对数期的 Q67 溶液 100  $\mu\text{L}$ , 并使每个微孔中的浓度总体积为 200  $\mu\text{L}$ , 15 min 后, 使用多功能酶标仪 (BioTek Synergy 2) 测试微孔板中各孔的发光强度, 其详细操作过程按照文献<sup>[12]</sup>

表 2 均匀设计法设计的 7 个四元农药混合物体系的各组分浓度效应、浓度比、浓度-效应曲线拟合模型及  $pEC_{50}$   
Table 2 The concentration effect, concentration ratios ( $p_i$ ), concentration - effect curve and  $pEC_{50}$  for the seven quaternary pesticide mixture rays designed by the uniform design method

射线 Ray	$EC_{x, \text{残杀威}}$ $EC_{x, \text{baygon}}$	$EC_{x, \text{甲霜灵}}$ $EC_{x, \text{metalaxyl}}$	$EC_{x, \text{多果定}}$ $EC_{x, \text{dodine}}$	$EC_{x, \text{西草净}}$ $EC_{x, \text{simetryn}}$	$p_{\text{残杀威}}$ $P_{\text{baygon}}$	$p_{\text{甲霜灵}}$ $P_{\text{metalaxyl}}$	$p_{\text{多果定}}$ $P_{\text{dodine}}$	$p_{\text{西草净}}$ $P_{\text{simetryn}}$	$F$	$\alpha$	$\beta$	$R$	$RMSE$	$EC_{50}$	$pEC_{50}$
U1	$EC_5$	$EC_{10}$	$EC_{15}$	$EC_{30}$	$1.50 \times 10^{-1}$	$3.97 \times 10^{-1}$	$3.50 \times 10^{-3}$	$4.49 \times 10^{-1}$	L	10.85	3.12	0.9909	0.041	$3.33 \times 10^{-4}$	3.48
U2	$EC_{10}$	$EC_{20}$	$EC_{40}$	$EC_{15}$	$2.68 \times 10^{-1}$	$5.65 \times 10^{-1}$	$8.43 \times 10^{-4}$	$1.59 \times 10^{-1}$	L	11.27	3.29	0.9910	0.041	$3.75 \times 10^{-4}$	3.43
U3	$EC_{15}$	$EC_{40}$	$EC_{10}$	$EC_5$	$2.60 \times 10^{-1}$	$7.06 \times 10^{-1}$	$9.86 \times 10^{-4}$	$3.31 \times 10^{-2}$	L	8.47	2.73	0.9894	0.039	$7.90 \times 10^{-4}$	3.10
U4	$EC_{20}$	$EC_5$	$EC_{30}$	$EC_{40}$	$4.96 \times 10^{-1}$	$1.26 \times 10^{-1}$	$4.44 \times 10^{-3}$	$3.73 \times 10^{-1}$	W	7.05	2.14	0.9955	0.026	$3.42 \times 10^{-4}$	3.47
U5	$EC_{30}$	$EC_{15}$	$EC_5$	$EC_{20}$	$6.40 \times 10^{-1}$	$2.40 \times 10^{-1}$	$4.57 \times 10^{-4}$	$1.20 \times 10^{-1}$	L	9.37	2.99	0.9936	0.034	$7.35 \times 10^{-4}$	3.13
U6	$EC_{40}$	$EC_{30}$	$EC_{20}$	$EC_{10}$	$6.44 \times 10^{-1}$	$3.15 \times 10^{-1}$	$1.33 \times 10^{-3}$	$3.94 \times 10^{-2}$	L	7.05	2.23	0.9971	0.017	$6.90 \times 10^{-4}$	3.16
U7	$EC_{50}$	$EC_{50}$	$EC_{50}$	$EC_{50}$	$5.16 \times 10^{-1}$	$3.40 \times 10^{-1}$	$2.34 \times 10^{-3}$	$1.42 \times 10^{-1}$	L	9.65	2.97	0.9948	0.029	$5.63 \times 10^{-4}$	3.25

农药及其混合物在不同浓度下对发光菌的毒性效应 (E) 表示为其对发光菌的抑制率  $x\%$ , 根据空白对照的 RLU 平均值 ( $I_0$ ) 和各浓度梯度的 RLU 平均值 (I) 计算毒物对青海弧菌的发光抑制率 (E), 计算公式如下:

$$X\% = \frac{I_0 - I}{I_0} \times 100\% \quad (1)$$

**1.2.4 浓度-效应曲线 (CRC) 拟合** 通常, 毒性数据的拟合需要应用一定的数学模型, 以便获得具有统计意义的效应-浓度数据, 尤其是低效应浓度。本实验中所测得的浓度-效应数据采用非线性最小二乘拟合 (NLSF) 拟合, 并对拟合效果进行比较分析, 选择拟合相关系数 ( $R$ ) 最大而拟合均方根误差 ( $RMSE$ ) 最小者为最优拟合, 从而获得完整的 CRC 信息<sup>[11]</sup>。通常用于描述浓度-效应曲线的非线性函数 Logit(L) 与 Weibull(W) 如下所示。

$$E = 1 / (1 + \exp(-\alpha - \beta * \log_{10}(c))) \quad (2)$$

$$E = 1 - \exp(-\exp(\alpha + \beta * \log_{10}(c))) \quad (3)$$

式中,  $\alpha$ 、 $\beta$  是函数的 2 个参数,  $E$  为效应即毒物对发光菌 Q67 的发光抑制率;  $c$  是毒物的浓度。

**1.2.5 混合物毒性相互作用分析** 通常, 混合物毒性相互作用分析是相对于某一个标准加和模型参考而言的。有研究发现, 浓度加和 (CA) 能很好地评估农药混合物的毒性<sup>[5, 13]</sup>, 其表达式如下:

$$\sum_{i=1}^n \frac{c_i}{EC_{x,i}} = 1 \quad (4)$$

其中  $c_i$  表示混合物产生总效应为  $x\%$  时第  $i$  种组分的浓度,  $EC_{x,i}$  为  $i$  组分单独存在时产生等效应  $x\%$  时的效应浓度。如果由 CA 模型预测的混合物毒性大于、小于或等于混合物实际观测毒性, 则认为该混合物发生了拮抗作用、协同作用和加和作用<sup>[13]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 4 种农药对发光菌 Q67 的单一毒性

2 个非线性拟合函数 Logit 或 Weibull 常被用来拟合毒物的浓度-效应数据<sup>[14]</sup>。本实验中, 将获得的 4 种农药对 Q67 的浓度-效应数据拟合到两个非线性拟合函数 Logit 或 Weibull, 拟合结果列于表 1 中, 并将浓度-效应数据连同拟合线绘于图 2 中。

从表 1 中可看出, 4 个农药的拟合相关系数  $R$  均大于 0.99 而  $RMSE$  均小于 0.05, 说明 2 个函数 Logit 和 Weibull 对能很好地拟合 4 个农药对 Q67 的浓度-效应数据。图 2 显示这 4 种农药的剂量-效应曲线呈经典的 S 型, 4 条农药的浓度-效应曲线 (CRC) 从左至右依次排列, 分别为多果定、西草净、甲霜灵和残杀威, 表明 4 种农药中, 多果定的毒性最大, 其次为西草净, 再次为甲霜灵, 残杀威的毒性最小。以半数效应浓度的负对数  $pEC_{50}$  为毒

性大小指标,则4种农药对Q67的毒性大小顺序为:多果定( $pEC_{50}=5.35$ ) > 西草净( $pEC_{50}=3.56$ ) > 甲霜灵( $pEC_{50}=3.18$ ) > 残杀威( $pEC_{50}=3.00$ ),且多果定毒性比其它3种农药高出两个数量级,其它3种农药的毒性大小比较接近。这可能是由于多果

定具有明显的不同于其它农药的特点:具有很长的烷基侧链,增加了它的脂溶性,进而增强了它的毒性<sup>[12]</sup>。张瑾等<sup>[15]</sup>研究也发现离子液体对发光菌Q67的毒性时与烷基侧链的长短呈明显的正相关关系。

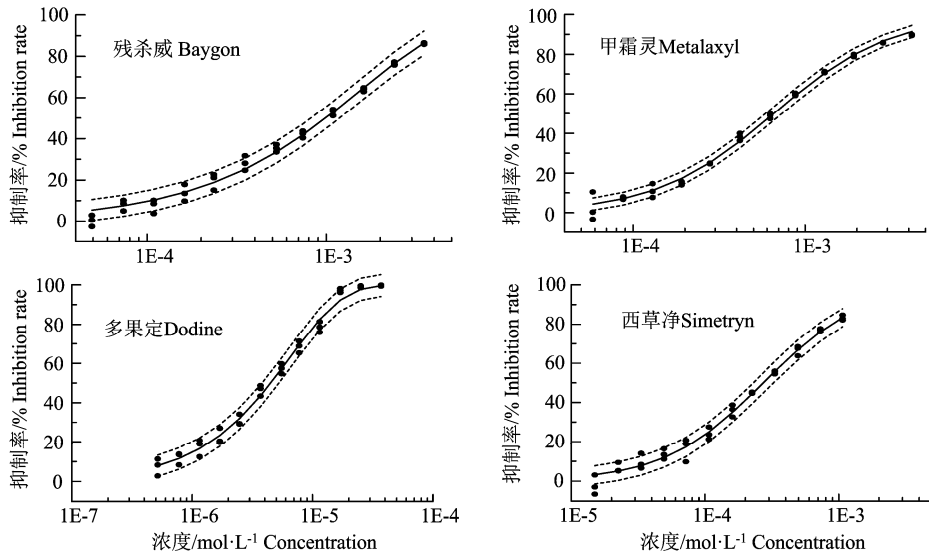


图2 4种农药的浓度-效应曲线(CRC)(图中散点、实线和断线分别表示实测数据、拟合线和95%的置信区间)  
Figure 2 The concentration- effect curve of the four pesticides (The scattered solid dots, solid lines, dase line in the digram represent for the observed data, fitted line and 95% confidence interval, respectively)

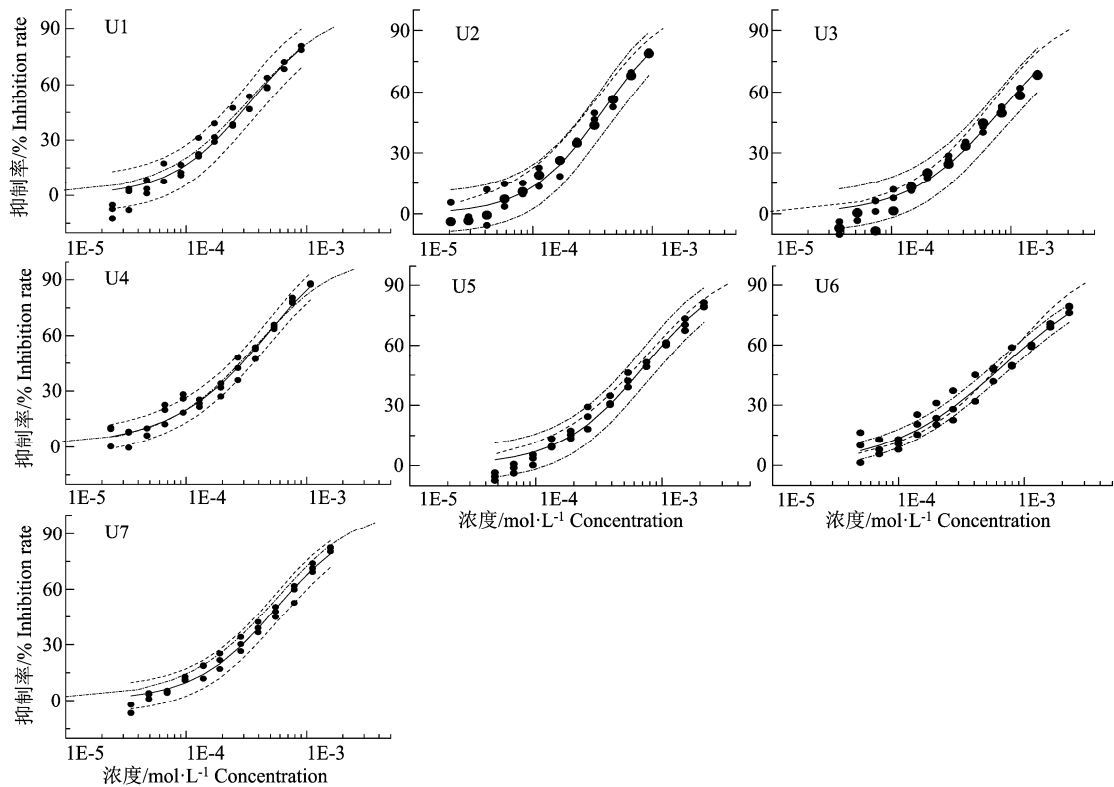


图3 7条四元混合射线(U1~U7)的浓度-效应曲线(CRC)、95%置信区间以及CA预测线(图中-·-表示CA预测线)  
Figure 3 The CRC and 95% confidential intervals and CRC predicted by CA for the seven quaternary pesiticide mixture rays (U1-U7).(The dash point line of -·- refers to CA line)

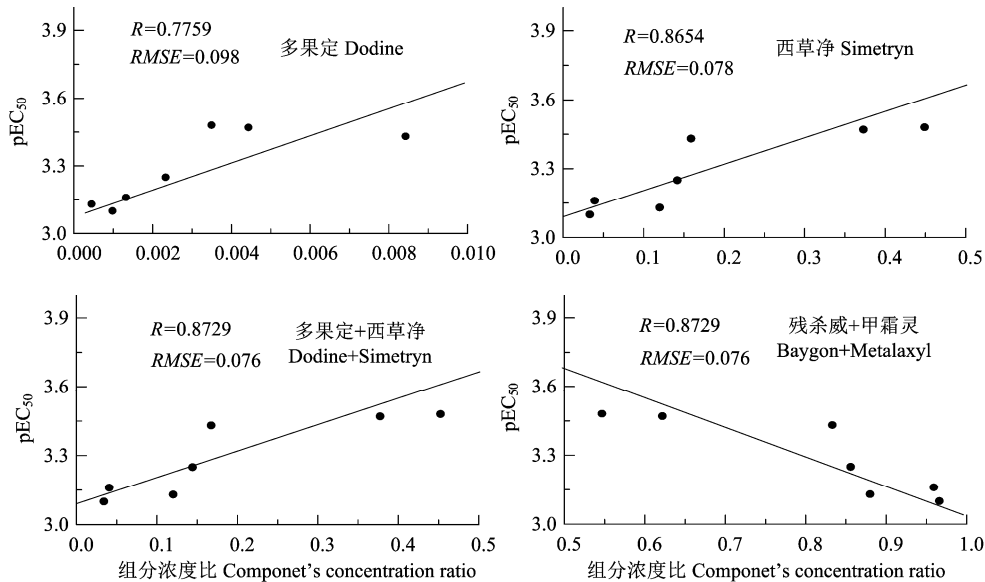


图 4 7 条四元混合射线的毒性 ( $pEC_{50}$  值) 与组分浓度比 ( $p_i$ ) 之间的线性关系

Figure 4 The linear relationship between the toxicity ( $pEC_{50}$  值) and componet's concentration ratio for the seven pesiticide mixture rays (U1-U7)

## 2.2 农药的四元混合物毒性

表 2 中的四元残杀威-甲霜灵-多果定-西草净混合体系的 7 条射线 (U1~U7) 的浓度-效应数据拟合结果显示 Logit 和 Weibull 2 个函数也能很好表征农药的混合物对 Q67 的浓度效应关系 ( $R > 0.98$ ,  $RMSE < 0.05$ )。7 条混合物射线的  $pEC_{50}$  值介于 3.10~3.48 之间, 7 条射线的毒性大小顺序为: U1>U4>U2>U7>U6>U5>U3。

图 3 是四元混合体系 7 条射线的 CRC 曲线以及 CA 预测图。从图 3 可看出, 所有的混合物射线对 Q67 的 CRC 均呈经典的 S 型。

混合物毒性与其体系中某一关键组分的浓度比有关<sup>[12,16]</sup>。通过进一步分析发现, 7 条混合物射线的毒性 ( $pEC_{50}$  值) 与组分西草净和多果定的浓度配比均呈正相关关系 (图 4), 且与组分西草净的浓度比之间具有较好的线性关系 ( $R=0.8654$ ,  $RMSE=0.078$ ), 与多果定的浓度比也具有一定的线性关系 ( $R=0.7759$ ,  $RMSE=0.098$ ), 与多果定与敌草净的浓度比之和具有较好的线性关系 ( $R=0.8729$ ,  $RMSE=0.076$ )。但 7 条射线的  $pEC_{50}$  值与残杀威和甲霜灵浓度比之和呈负相关, 其线性相关性也较好 ( $R=0.8729$ ,  $RMSE=0.076$ )。此结果可为农药混合物毒性的评估提供参考。

## 2.3 四元农药混合物毒性相互作用分析

标准加和参考模型 CA 能很好地预测农药的混合物毒性<sup>[11]</sup>。基于 CA 模型预测的 7 条混合物射线的结果绘于图 3 中, 从图 3 可看出, 7 条四元混合

物射线的 CA 预测线 (图 3 中的断线) 均位于观测值的置信区间内, 表明所有的混合物射线对 Q67 的毒性为加和作用, 既没有发生拮抗作用也没有明显的协同作用。Rodney 等<sup>[5]</sup>通过对农药混合物毒性评估文献的总结发现, CA 模型能预测评估大多数农药的混合物毒性, 本研究中的 4 种农药混合物对 Q67 的毒性也能应用 CA 模型进行很好地预测。

## 3 结论

Logit 和 Weibull 函数能较好地拟合 4 种农药残杀威、甲霜灵、多果定和西草净及其混合物对发光菌的浓度-效应数据, 4 种农药对发光菌 Q67 的单一毒性大小顺序为: 多果定>西草净>甲霜灵>残杀威, 其中多果定的毒性高出其它 3 种农药 2 个数量级, 西草净、残杀威和甲霜灵 3 种农药的毒性差异不大。农药四元混合体系的 7 条射线对 Q67 毒性大小为 U1>U4>U2>U7>U6>U5>U3, 且与组分西草净和多果定的浓度比尤其是西草净和多果定的浓度比之和具有良好的正相关关系 ( $R=0.8729$ ,  $RMSE=0.076$ ), 但与残杀威和甲霜灵的浓度比之和具有良好的负相关关系 ( $R=0.8729$ ,  $RMSE=0.076$ )。CA 模型能很好地评估四种农药的四元混合体系对发光菌的毒性, 即混合物体系呈加和作用。

## 参考文献:

- [1] 余德琴, 吴波, 郭匿春, 等. 水生生物监测农药毒性效应研究进展[J]. 生物灾害科学, 2015,38(2): 86-91.
- [2] MALAJ E, PETER C, GROTE M, et al. Organic chemi-

- cals jeopardize the health of freshwater ecosystems on the continental scale[J]. P Natl Acad Sci, 2014, 111(26): 9549-9554.
- [3] 阳宇翔, 刘昕宇, 詹志薇, 等. 粤桂水源地有机氯农药的污染特征及生态风险[J]. 环境科学, 2016, 37(6): 2131-2140
- [4] LEGRAND E, BOULANGÉ-LECOMTE C, RESTOUX G, et al. Individual and mixture acute toxicity of model pesticides chlordecone and pyriproxyfen in the estuarine copepod *Eurytemora affinis*[J]. Environ Sci Pollut R, 2017, 24(6): 5976-5984.
- [5] RODNEY S I, TEED R S, MOORE D R J. Estimating the toxicity of pesticide mixtures to aquatic organisms: a review[J]. Hum Ecol Risk Assess, 2013, 19(6): 1557-1575.
- [6] MAAZOUZI C, COUREAU C, PISCART C, et al. Individual and joint toxicity of the herbicide S-metolachlor and a metabolite, deethylatrazine on aquatic crustaceans: Difference between ecological groups[J]. Chemosphere, 2016, 165: 118-125.
- [7] 王猛超, 刘树深, 陈浮. 拓展浓度加和模型预测三种三嗪类除草剂混合物的时间依赖毒性[J]. 化学学报, 2013, 72(1): 56-60.
- [8] HOWARD G J, WEBSTER T F. Generalized concentration addition: a method for examining mixtures containing partial agonists[J]. J Theor Biol, 2009, 259(3): 469-477.
- [9] LIU S S, XIAO Q F, ZHANG J, et al. Uniform design ray in the assessment of combined toxicities of multi-component mixtures[J]. Sci Bull, 2016, 61(1): 52-58.
- [10] 张瑾, 刘树深. 离子液体与有机磷农药间的毒性相互作用[J]. 生态毒理学报, 2012, 7(4): 408-414.
- [11] 刘树深, 张瑾, 张亚辉, 等. APTox: 化学混合物毒性评估与预测[J]. 化学学报, 2012, 70(14): 1511-1517.
- [12] ZHANG J, LIU S S, DOU R N, et al. Evaluation on the toxicity of ionic liquid mixture with antagonism and synergism to *Vibrio qinghaiensis* sp.-Q67[J]. Chemosphere, 2011, 82(7): 1024-1029.
- [13] 刘树深, 刘玲, 陈浮. 浓度加和模型在化学混合物毒性评估中的应用[J]. 化学学报, 2013, 71(10): 1335-1340.
- [14] ZHANG J, LIU S S, DONG X Q, et al. Predictability of the time-dependent toxicities of aminoglycoside antibiotic mixtures to *Vibrio qinghaiensis* sp.-Q67[J]. RSC Advances, 2015, 5(129): 107076-107082.
- [15] 张瑾, 刘树深, 窦容妮, 等. 30 种离子液体对青海弧菌 Q67 的毒性效应[J]. 环境科学, 2011, 32(4): 1108-1113.
- [16] JONKER M J, SVENDSEN C, BEDAUX J J M, et al. Significance testing of synergistic/antagonistic, dose level - dependent, or dose ratio-dependent effects in mixture dose-response analysis[J]. Environ Toxicol Chem, 2005, 24(10): 2701-2713.