

阳辛凤,葛会林,李萍萍,等.疏水性农药对费氏弧菌毒性的微板发光测定法研究[J].江苏农业科学,2018,46(23):203-207.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.23.052

疏水性农药对费氏弧菌毒性的微板发光测定法研究

阳辛凤,葛会林,李萍萍,张群,刘春华

(中国热带农业科学院分析测试中心/农业部热带农产品质量监督检验测试中心(海口)/
海南省热带果蔬产品质量安全重点实验室,海南海口 571101)

摘要:以费氏弧菌(*Vibrio fischeri*) 1H00021 为毒性作用生物,以微孔板检测仪为发光强度检测设备,初步建立疏水性农药对费氏弧菌 1H00021 短期微板发光毒性测定方法。以甲醇为疏水性农药溶剂,每个微孔的毒性测定体系为 200 μL ,包括 30 μL 农药溶液、170 μL 费氏弧菌菌悬液,最佳检测时间为 20 min。应用该方法成功地测定多菌灵、毒死蜱和溴氰菊酯等 3 种疏水性农药对 1H00021 的发光抑制毒性效应,拟合得到疏水性农药对 1H00021 毒性的剂量-效应曲线(dose-response curve,简称 DRC),相关系数均大于 0.97。通过拟合的 DRC 参数,获得疏水性农药的半数效应浓度 EC_{50} 。3 种疏水性农药对费氏弧菌 1H00021 的发光毒性存在良好的剂量-效应关系,可以利用费氏弧菌微板发光法快速评价疏水性农药的生物毒性。

关键词:发光菌;费氏弧菌;疏水性农药;微孔板发光法;毒性;剂量-效应关系

中图分类号: S481⁺.8 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)23-0203-04

农产品农药残留引起的质量安全问题是国内外普遍关注的焦点,仪器分析是对农产品农药残留进行检测的重要手段。然而,仪器分析常常是对一定范围内的特定农药进行检测,在残留农药不明确的情况下,发光菌检测法(luminescence bacteria test,简称 LBT)以其快速、简单和可进行综合毒性评价而比仪器分析更具优势。发光细菌(luminescence bacteria)是一类能在生长过程中发出 450~490 nm 可见荧光的非致病性革兰氏阴性菌,发光菌法是通过发光菌与有毒物直接接触而引起发光值发生变化的直接生物毒性测试方法^[1]。该方法最初被应用于饮用水安全评价,例如,国际标准化组织(international organization for standardization,简称 ISO)颁布了 ISO 11348-3—2007《水质水样对弧菌类光发射抑制影响的测定(发光细菌试验)》^[2],我国颁布了应用发光菌明亮发光杆菌进行水质毒性测试的国家标准 GB/T 15441—1995《水质急性毒性的测定 发光细菌法》^[3]。LBT 还可应用于水质状况评价^[4-5]、环境污染毒性评价和检测^[6]、重金属毒性评价^[7]、农产品农药兽药残留检测^[8-10]、食品中食品添加剂检测^[11-12]和农产品生物毒素检测^[13]等。利用发光细菌对农产品中农药、兽药、抗生素等污染物进行风险评估是目前农产品质量安全研究领域新热点,与仪器分析相比,LBT 具有操作简单、快速、灵敏和成本低等优点,在农产品农药残留快速检测中有着广泛应用的前景,对农产品质量安全具有指导意义。

在农产品质量安全风险评估领域,目前 LBT 多用于亲水性农药的检测,如敌百虫、乐果、乙酰甲胺磷、抗蚜威、甲霜灵

等^[10,14]。发光菌菌悬液是以水为连续相的混合体系,亲水性农药溶液与菌悬液混合后,农药通过与发光菌直接接触抑制发光。然而,在农业生产中常用农药多数是疏水性的,在建立 LBT 方法时,以水为溶剂配制疏水性农药溶液时须要添加助溶剂,常用的是二甲基亚砜(DMSO)^[14-15]。杨洁等以 1% 二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide,简称 DMSO)为助溶剂溶解疏水性农药莎稗磷、高效氯氰菊酯、氰戊菊酯时得到的溶液呈乳浊液状态^[14]。这表明疏水性农药在 1% DMSO 溶液中溶解性差,由此可能造成 LBT 结果与真实毒性有差异。本研究发现,以 1% DMSO 为溶剂时,多菌灵等疏水性农药溶解性很弱,浓度越高,溶液越浑浊,伴有沉淀析出,在 1~500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的宽广浓度范围,费氏弧菌与疏水性农药作用后其发光抑制率变化幅度小,不能获得发光抑制率在 0~100% 范围的剂量-效应曲线(dose-response curve,简称 DRC);而以甲醇为溶剂时,可以在较窄的浓度范围获得发光抑制率在 0~100% 范围的 DRC。以甲醇作为疏水性农药的溶剂进行 LBT 测定目前未见报道,甲醇在众多有机溶剂中对发光菌的毒性是最小的^[16-17],而且对农药溶解性能极佳,是潜在的可用于 LBT 的溶剂。

本研究旨在通过分析以甲醇为溶剂时疏水性农药对费氏弧菌发光的抑制效应,探索疏水性农药影响费氏弧菌发光的规律,为初步建立利用发光细菌快速检测农产品中疏水性农药残留的方法提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Synergy 2 多功能微孔板检测仪(美国 Bio-Tek)、HVE-50 全自动高压灭菌锅(日本 Hirayama)、Milli-Q[®] 超纯水系统(美国 Millipore 公司)、QYC-2012C 全温培养摇床(上海福马实验设备有限公司)、Eppendorf 移液器(德国 Eppendorf)、96 微孔板(美国 Corning)。

收稿日期:2017-08-26

基金项目:海南省应用技术研发与示范推广专项(编号:ZDXM2014047)。

通信作者:阳辛凤(1971—),女,广西桂林人,博士,副研究员,主要从事农产品质量安全研究。Tel:(0989)66895007;E-mail:yangxinf@sina.com。

标准品多菌灵、溴氰菊酯、毒死蜱(纯度均为 98.5%)均购自德国 Dr Ehrenstorfer GmbH 公司;甲醇、乙腈均为色谱纯(美国 Fisher);Difco 海生菌肉汤 2216 购自美国 BD 公司。

1.2 试验菌种

菌种为 1H00021 费氏弧菌(*Vibrio fischeri*),购自中国海洋微生物菌种保藏管理中心。

费氏弧菌液体培养基:称取 2216 海生菌肉汤粉末 37.4 g,加水 1.0 L,加热搅拌使充分溶解,分装至三角瓶,121 ℃ 条件下高压灭菌 20 min。

费氏弧菌的摇瓶培养:挑取 1 环费氏弧菌斜面培养物,接入海生菌肉汤 2216 液体培养基中,于 22 ℃、120 r/min 条件下摇瓶培养 16 h。培养好的菌液在暗室内以肉眼可见明亮的荧光,取 100 μL 菌液于 96 微孔板中,放入多功能微孔板检测仪上检测,菌液发光值(relative light unit,简称 RLU)不低于 100 万光子数。

1.3 农药对发光菌毒性的测定

多菌灵、溴氰菊酯、毒死蜱分别溶解于甲醇中,再以甲醇进行稀释,配制得到系列浓度的溶液,通过预备试验获得适宜的浓度范围,确保系列浓度的农药溶液对费氏弧菌 1H00021 的发光抑制率在 0~100% 之间均匀分布。

3 种疏水性农药对费氏弧菌发光毒性作用体系总体积为 200 μL。移取系列浓度的农药溶液各 30 μL,分别加入到 96 微孔板中(第 1 横排),以同体积甲醇为空白对照,每个浓度重复 3 次(即第 2、第 3 横排为第 1 横排的重复),最后加入 170 μL 费氏弧菌 1H00021 菌悬液,立即将 96 微孔板放入多功能微孔板检测仪,振板 5 min,测定毒物与发光菌作用 20 min 时的发光强度。

采用空白样品发光强度平均值 I_0 与农药各浓度样品对应的发光强度平均值 I 计算对费氏弧菌的毒性,以发光抑制率 E 表示^[8]: $E = (1 - I/I_0) \times 100\%$ 。

1.4 剂量-效应曲线(DRC)模拟

采用 Origin 8.5 统计软件进行数据处理和统计分析,拟合剂量-效应曲线,根据拟合模型利用 Origin 8.5 “From Y to X” 功能计算得到农药与费氏弧菌 1H00021 作用 20 min 时的半效应浓度(EC_{50}),并以此判断农药对费氏弧菌 1H00021 毒性的大小。

2 结果与分析

2.1 甲醇对费氏弧菌的发光毒性

LBT 毒性测定时,低浓度二甲基亚砜水溶液($DMSO \leq 1\%$)常被用于溶解疏水性农药,如阿维菌素等^[14]。但在本试验中发现,多菌灵等 3 种目标农药在 1% $DMSO$ 水溶液中均有颗粒析出现象,因此未采用 1% $DMSO$ 作为本试验的溶剂。甲醇对农药溶解性能极佳,而且有研究表明^[16-17],常用有机溶剂中,乙腈、甲醇、乙醇、丙酮、乙醚、四氢呋喃、异丙醇等 7 种有机溶剂对淡水发光菌青海弧菌 Q67 均有抑制毒性,其中甲醇毒性最小,因此甲醇是潜在的可用于 LBT 的溶剂,但甲醇对费氏弧菌毒性尚未见报道。本研究测定甲醇对费氏弧菌发光强度的影响(图 1),结果表明,LBT 检测体系中随着甲醇浓度的增加,费氏弧菌的发光强度减弱。甲醇为亲核试剂,具有负电性,是氢键的接受体,当发光细菌接触到甲醇时,甲醇

能与发光菌细胞内的黄素单核苷酸发生氢键键合,从而阻碍氢的传递,进而抑制发光菌的发光^[16]。

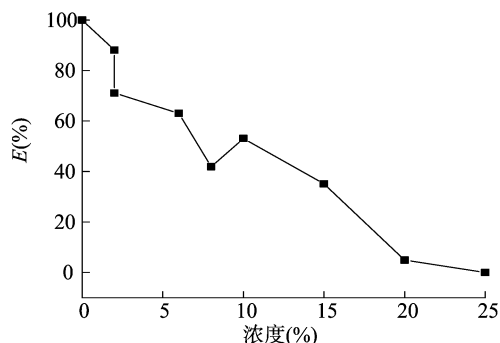


图1 甲醇对费氏弧菌 1H00021 的发光毒性

2.2 疏水性农药对费氏弧菌发光毒性检测体系的建立

毒物进入发光菌生长环境中后,通过直接抑制细菌发光反应过程的酶活性,或是抑制细菌胞内发光反应相关的代谢反应进而抑制发光强度。本试验设置 LBT 体系总体积为 200 μL 及作用于费氏弧菌时间为 20 min,通过测定不同体积比的农药溶液作用于费氏弧菌的发光毒性,确定检测体系中疏水性农药溶液与费氏弧菌菌悬液的适宜体积比(图 2);通过测定不同浓度农药溶液与费氏弧菌接触时间在 5、10、15、20、25、30 min 下的发光抑制率,确定几种疏水性农药与费氏弧菌接触反应的适宜时间(图 3)。

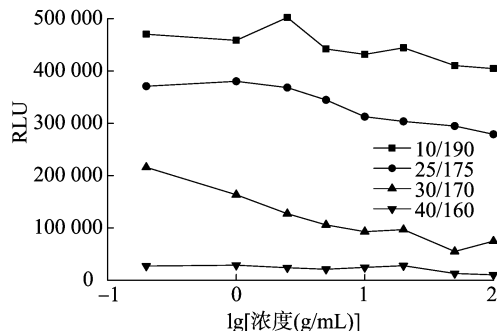


图2 不同体积比时多菌灵对费氏弧菌 1H00021 的发光毒性

由图 2 可知,检测体系总体积为 200 μL 及作用时间为 20 min 时,在疏水性农药溶液与费氏弧菌菌悬液的体积比分别为 10/190、25/175、30/170、40/160 这 4 种不同比例下(甲醇比例依次增加),各稀释度的多菌灵溶液(0.2~100.0 μg/mL)对费氏弧菌 1H00021 的发光抑制强度有明显区别。总体来说,4 种比例下费氏弧菌 1H00021 的发光值均随着多菌灵浓度的增加而下降;随检测体系甲醇比例的增加,费氏弧菌发光值降低。比例为 10/190 费氏弧菌的发光值最高,但发光值曲线较为平直,即使多菌灵浓度大幅度升高,发光值也仅有微弱下降;发光值最高的原因可能是体系中甲醇比例最低(5%),对发光抑制作用弱;发光值曲线变化较为平缓,原因可能是对费氏弧菌产生发光毒性抑制的仅仅是溶解状态的多菌灵,当水相比比例较高,超过一定比例时,多菌灵会沉淀析出,析出的这部分多菌灵对费氏弧菌发光无抑制作用。比例为 40/160 时,费氏弧菌发光值最低,发光值曲线亦较为平直,原因可能是体系中甲醇浓度过高(20%),甲醇对费氏弧菌产生了强烈抑制。比例为 30/170 时,费氏弧菌发光值较

高,且介于 10/190 和 40/160 之间,发光值曲线具有较适宜的斜率,表现为随着多菌灵浓度的升高,发光值也相应降低;发光值较高的原因可能是尽管体系中甲醇达到了 15%,但由于费氏弧菌初始发光值高,以及 15% 甲醇对费氏弧菌发光作用影响有限,故发光值仍然较高;发光值曲线具有较适宜的斜率,原因可能是在 30/170 的比例下,多菌灵保持了良好的溶解,溶解状态的多菌灵均能充分地费氏弧菌接触,抑制其发光。可见,体积比 30/170 是一个平衡点,既不会大幅度抑制费氏弧菌的发光作用,又能兼顾疏水性农药的良好溶解性及毒性,因而农药浓度与发光率之间有良好的相关性。袁东星等认为,即使农药浓度与发光强度的相关性不呈严格的线性关系,在农药残留的实际检测中仍具有实际意义。因为现场

快速检测经常要求半定量即可^[18]。图 2 的曲线完全符合这一要求。综合上述结果,以 30/170 作为疏水性农药 LBT 方法中农药溶液与费氏弧菌悬液的体积比。

图 3-a 至图 3-c 分别为多菌灵、溴氰菊酯、毒死蜱与费氏菌接触时间为 5~30 min 的发光抑制作用曲线。总体来说,费氏弧菌 1H00021 的相对发光强度随作用时间的延长而下降,多菌灵、溴氰菊酯和毒死蜱与费氏弧菌接触时间为 10、15、20、25、30 min 的发光抑制作用曲线接近,且略高于接触时间 5 min 时的发光抑制作用曲线。鉴于不同毒性物质对费氏弧菌发光产生影响的速度不同,本研究以作用 20 min 时的测定值作为定量研究的数据。

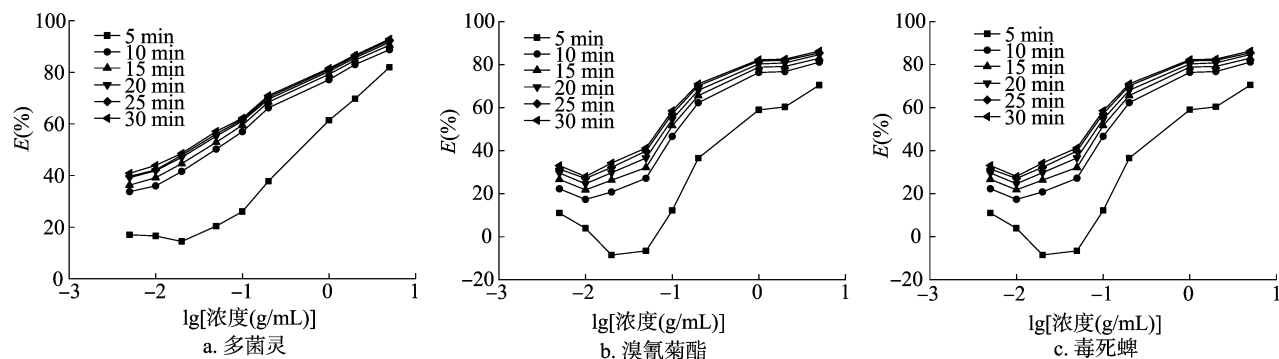


图3 不同接触时间下疏水性农药对费氏弧菌的发光抑制曲线

综合以上结果,建立疏水性农药对费氏弧菌 1H00021 短期微板发光毒性测定方法。疏水性农药溶解于甲醇中,每个微孔的毒性测定体系为 200 μ L,包括 30 μ L 农药溶液,170 μ L 费氏弧菌悬液,最佳检测时间为 20 min。

2.3 3 种疏水性农药对费氏弧菌的发光毒性

对发光菌毒性研究表明,在一定质量浓度范围内,农药的质量浓度与发光细菌的发光强度变化呈函数关系,可据此拟合剂量-效应曲线(DRC)对农药进行定量或半定量。本研究应用 Origin 8.5 线性拟合功能和非线性拟合功能拟合 3 种农药对费氏弧菌 1H00021 的剂量-效应关系,拟合模型及相关参数见图 4、表 1。线性拟合时,毒死蜱相关系数最低,为 0.842 8。非线性拟合时,3 种疏水性农药拟合模型的相关系数 r 均大于 0.97,DRC 都可用 Log3P1 函数有效表征。因此,虽然线性拟合函数和 Log3P1 函数都能较好地描述脂溶性农药对费氏弧菌的发光毒性,但 Log3P1 函数优于线性拟合函数。

利用 Origin8.5 的“从 y 至 x ”功能可计算各个效应下的浓度,如半数抑制浓度 EC_{50} 等。 EC_{50} 是农药毒性大小的表征。由表 1 可知,无论是线性拟合函数,还是 Log3P1 函数,3 种脂溶性农药对费氏弧菌毒性大小顺序均为多菌灵 > 溴氰菊酯 > 毒死蜱。然而,由于拟合函数的差异,当函数的相关系数高时,由线性拟合和 Log3P1 函数计算得到的 EC_{50} 相同或接近,如多菌灵 EC_{50} 均为 0.024 μ g/mL。然而,随着相关系数降低,相关性逐渐减弱,由线性拟合和 Log3P1 函数计算得到的 EC_{50} 的差异逐渐增大,如溴氰菊酯、毒死蜱。

有毒物质对发光细菌发光的抑制,主要源于对发光反应核心荧光素酶活性的抑制,其遵循酶活性抑制动力学原理,因

此以毒物浓度对发光抑制率作线性回归方程不一定是最适合的^[19]。本试验同样表明线性拟合的局限性如多菌灵,线性拟合与非线性拟合结果是一致的,但对于溴氰菊酯和毒死蜱,非线性拟合得到的函数具有更好的相关性。

3 种疏水性农药对费氏弧菌的发光抑制率随污染物浓度的增加而逐渐增大。与溴氰菊酯、毒死蜱相比,多菌灵对费氏弧菌的 EC_{50} 最小,毒性效应最强,这可能是因为多菌灵属于杀菌剂,而溴氰菊酯和毒死蜱属于杀虫剂,费氏弧菌对杀菌剂毒性更为敏感。

已报道的毒物 DRC 具有多种形状,主要类型有线性^[14]、S 形^[8,16,20]和 J 形^[16]等。郭柔杉等采用费氏弧菌评价果汁中亚硝酸钠、食用色素的生物毒性时^[11-12]、李翔等评价黄曲霉毒素对费氏弧菌发光毒性时^[13],以毒物浓度为横坐标绘制的 DRC 曲线是非线性的,而以毒物浓度对数($\lg C$)为横坐标绘制的 DRC 曲线则是线性的。本研究拟合得到的 DRC 呈 S 形,与汤淼等的研究结果^[8]一致。

以上结果表明,3 种疏水性农药的浓度与费氏弧菌发光的抑制存在定量关系,因此可以利用费氏弧菌发光法快速评价其生物毒性。

3 结论

建立疏水性农药对费氏弧菌 1H00021 短期微板发光毒性测定方法。疏水性农药溶解于甲醇中,每个微孔的毒性测定体系为 200 μ L,包括 30 μ L 农药溶液,170 μ L 费氏弧菌悬液,最佳检测时间为 20 min。拟合得到疏水性农药对 1H00021 毒性的 DRC,以 EC_{50} 为表征的 3 种疏水性农药对费氏弧菌 1H00021 的发光毒性顺序为多菌灵 > 溴氰菊酯 > 毒

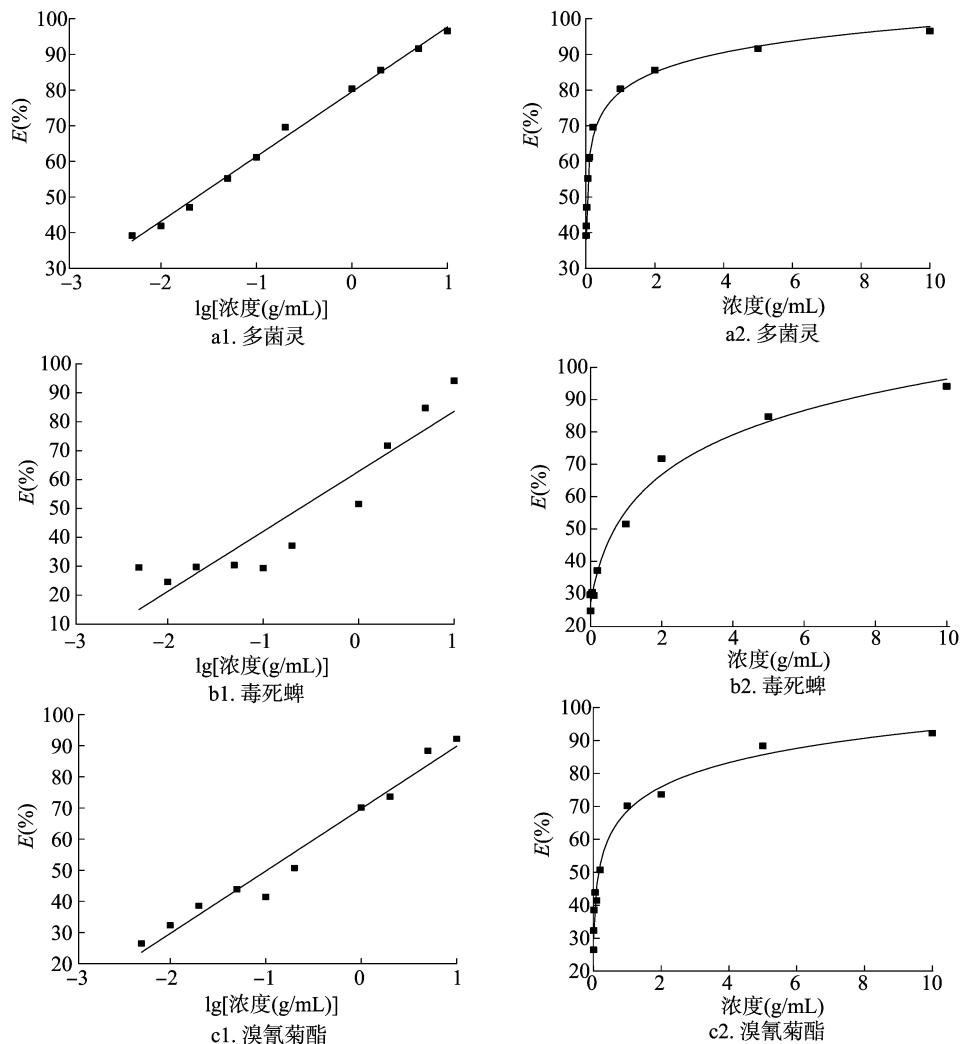


图4 3种农药对费氏弧菌的剂量-效应关系

表 1 3种农药的线性拟合和 Log3P1 函数拟合结果

| 拟合模型 | 农药 | 回归方程 | 相关系数 | EC ₅₀ (μg/mL) |
|-------------|------|---|--------|-----------------------------|
| 线性* | 多菌灵 | $y = 18.16588x + 79.53299$ | 0.9952 | 0.024 |
| | 毒死蜱 | $y = 20.7692x + 62.82247$ | 0.8428 | 0.241 |
| | 溴氰菊酯 | $y = 20.05314x + 69.98181$ | 0.9664 | 0.103 |
| Log3P1 函数** | 多菌灵 | $y = 79.49903 - 7.95944 \times \ln(x + 4.93093 \times 10^{-4})$ | 0.9946 | 0.024 |
| | 毒死蜱 | $y = 50.32459 - 19.72505 \times \ln(x + 0.3015)$ | 0.9842 | 0.682 |
| | 溴氰菊酯 | $y = 68.34486 - 10.71998 \times \ln(x + 0.02255)$ | 0.9796 | 0.158 |

注: $y = a + b \times x$,其中, x 为浓度值(C)的对数, a 、 b 分别是用 Origin 8.5 对效应 y 和浓度 x 进行拟合得到的参数。 $y = a - b \times \ln(x + c)$,其中 a 、 b 、 c 分别是用 Origin 8.5 对效应 y 和浓度 x 进行拟合得到的参数。

死蜱。3种疏水性农药对费氏弧菌 1H00021 的发光毒性存在良好的剂量-效应关系,可以利用费氏弧菌微板发光法快速评价疏水性农药的生物毒性。

参考文献:

[1] 朱文杰,郑天凌,李伟民. 发光细菌与环境毒性监测[M]. 北京:中国轻工业出版社,2009:69-72.
[2] International Organization for STandardization. Water quality - Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of vibrio fischeri(luminescent bacteria test) - Part 3:method

using freeze-dried bacteria;ISO 11348-3-2007[S].
[3] 国家环境保护局. 水质急性毒性的测定 发光细菌法;GB/T 15441-1995[S]. 北京:中国标准出版社.
[4] 李 汝,逯南南,李 梅,等. 费氏弧菌综合毒性法对不同种类污染物的应急监测试验研究[J]. 安全与环境工程,2015,22(4):104-109.
[5] 朱丽娜,刘瑞志,夏建新,等. 发光细菌法测定水质综合毒性研究进展[J]. 中央民族大学学报(自然科学版),2011,20(4):14-20.
[6] 仇爱锋,王玉涛,张树秋,等. 克百威、镉和铜对费氏弧菌的联合毒性效应[J]. 农业环境科学学报,2017,36(5):869-875.
[7] 李 璇,蔡磊明,汤保华,等. 几种有机化合物与重金属对发光细

王 刚,胡俊强,史建荣,等. 利用大孔吸附树脂与高速逆流色谱联用技术大量制备脱氧雪腐镰刀菌烯醇的方法[J]. 江苏农业科学,2018,46(23):207-211.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.23.053

利用大孔吸附树脂与高速逆流色谱联用技术 大量制备脱氧雪腐镰刀菌烯醇的方法

王 刚, 胡俊强, 史建荣, 徐剑宏

[江苏省食品质量安全重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地/农业农村部农产品质量安全风险评估实验室(南京)/江苏省现代粮食流通与安全协同创新中心/江苏省农业科学院农产品质量安全与营养研究所,江苏南京 210014]

摘要:脱氧雪腐镰刀菌烯醇是一类危害严重的真菌毒素,针对其毒理学研究与脱毒研究需要大量毒素纯品。采用大孔吸附树脂与高速逆流色谱联用技术,从禾谷镰刀菌 PH-1 的大米培养物中提取并纯化脱氧雪腐镰刀菌烯醇。首先采用 85% 甲醇溶液提取毒素,之后以 XAD-4 大孔吸附树脂柱初步纯化,用 30% 甲醇溶液洗脱;初步纯化产物以高速逆流色谱进行精制,采用乙酸乙酯-水(1:1)溶剂系统进行分离,脱氧雪腐镰刀菌烯醇在 150 min 被洗脱,最终产物纯度为 96.78%,回收率为 76.20%。采用该方法可以从 1 000 g 大米发酵物中一次提取出 500 mg 以上毒素纯品。

关键词:脱氧雪腐镰刀菌烯醇;分离纯化;大孔吸附树脂;高速逆流色谱

中图分类号:S432.4⁺4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)23-0207-05

脱氧雪腐镰刀菌烯醇(*deoxynivalenol*,简称 DON)又称呕吐毒素,是一种危害巨大的真菌毒素,主要由镰刀菌产生,常见于受赤霉病侵害的谷物籽粒中。针对 DON 的毒理学研究表明,DON 可以阻滞细胞周期并引发细胞凋亡,进而对哺乳动物的肠道上皮细胞产生毒害,阻碍肠道上皮细胞增殖与分化,同时 DON 也会引发肠道炎症反应,造成呕吐、腹泻等病

症^[1]。相关研究表明,DON 还具有血液毒性、骨髓毒性以及致癌性^[2-3],因此 DON 毒素对于食品安全存在重大威胁。根据最新的 GB 2761—2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》,我国对谷物及其制品中 DON 的限量标准为 1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

江苏省近年来谷物中 DON 毒素污染情况严重,根据笔者调研结果,2015、2016 年江苏省小麦中 DON 毒素平均含量分别为 $(2\,087 \pm 112) \mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $(2\,601 \pm 126) \mu\text{g}/\text{kg}$,其平均含量已超过限量标准 2 倍,超标率均在 70% 以上^[4]。由于 DON 毒素污染,农户近年来蒙受了重大经济损失。因此,DON 的脱毒处理手段对于保障谷物食品安全、维护农户经济利益具有重大意义。

针对 DON 毒素的毒理学研究与脱毒研究需要大量 DON 纯品,但目前 DON 纯品价格极高,严重限制了相关研究的开

收稿日期:2018-06-29

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(17)1003];国家自然科学基金(编号:31471662、U1604234);江苏省自然科学基金青年基金(编号:BK20160595)。

作者简介:王 刚(1987—),男,江苏南京人,博士,助理研究员,主要从事真菌毒素的消减方法研究。E-mail:njcpuwg@126.com。

通信作者:徐剑宏,博士,研究员,主要从事真菌毒素评估与治理研究。E-mail:xujianhongnj@126.com。

菌的联合毒性[J]. 农药,2011,50(5):365-367,384.

[8]汤 森,曾鸿鹄,王大力,等. 四环素对费氏弧菌产生毒物兴奋效应(Hormesis)的时间关系和机制[J]. 环境化学,2015,34(11):1981-1987.

[9]石 颖,丁 武,张志超,等. 应用青海弧菌评价常见 8 种兽药的急性毒性[J]. 西北农业学报,2012,21(6):17-21.

[10]Liu S S, Wang C L, Zhang J, et al. Combined toxicity of pesticide mixtures on green algae and photobacteria[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2013, 95(1): 98-103.

[11]郭柔杉,李 翔,陈 婧,等. 采用发光菌法评价果汁中亚硝酸钠生物毒性[J]. 食品与发酵工业,2012,38(2):198-202.

[12]郭柔杉,李 翔,潘 力. 发光费氏弧菌对常用色素的生物毒性评价[J]. 食品工业科技,2013,34(2):210-213.

[13]李 翔,潘 力,王 斌. 黄曲霉毒素对费氏弧菌发光的影响[J]. 微生物学报,2011,51(12):1669-1674.

[14]杨 洁,张金萍,徐亚同,等. 11 种农药对淡水发光细菌青海弧

菌 Q67 的毒性研究[J]. 环境污染与防治,2011,33(4):20-24.

[15]董玉瑛,雷炳莉,马 静,等. 助溶剂对发光菌生物毒性测试的影响[J]. 化工学报,2006,57(3):636-639.

[16]刘树深,刘 芳,刘海玲. 20 种水溶性有机溶剂对发光菌的毒性效应[J]. 中国环境科学,2007,27(3):371-376.

[17]贾继民,张建江,王 君,等. 海洋发光菌应用于三种有机毒物毒性效应的评估[J]. 实用预防医学,2012,19(9):1299-1301.

[18]袁东星,邓永智,林玉晖. 蔬菜中有机磷农药残留的发光菌快速检测[J]. 环境化学,1997,16(1):77-81.

[19]马 勇,黄 燕,贾玉玲,等. 发光细菌急性毒性测试方法的优化研究[J]. 环境污染与防治,2010,32(11):48-52.

[20]Villa S, Migliorati S, Monti G S, et al. Toxicity on the luminescent bacterium *Vibrio fischeri* (Beijerinck). II: Response to complex mixtures of heterogeneous chemicals at low levels of individual components[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2012, 86(4): 93-100.