

DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2013.07.031

## 典型抗生素二元混合物对明亮发光杆菌的急性联合毒性\*

丛永平<sup>1</sup> 姜蕾<sup>2</sup> 王婷<sup>1</sup> 邹小明<sup>1</sup> 葛鸿铭<sup>1</sup> 尹大强<sup>1</sup> 林志芬<sup>1\*\*</sup>

(1. 同济大学环境科学与工程学院, 上海, 200092; 2. 城市水资源开发利用(南方)国家工程研究中心, 上海, 200082)

**摘要** 以明亮发光杆菌作为受试生物,测定了不同类型抗生素的二元混合物对明亮发光杆菌的等比急性联合毒性.结果表明,4类抗生素对明亮发光杆菌二元等比急性联合毒性主要呈加和效应及拮抗效应.本研究可为水体中抗生素的联合生态风险评价和修复提供理论依据.

**关键词** 抗生素,明亮发光杆菌,急性联合毒性.

抗生素对病原微生物的特异性使其成为人类对抗细菌的特效药.全世界抗生素的年消费量达20万吨<sup>[1]</sup>.抗生素使用后并不会被生物体完全吸收,而是以原药或代谢产物的形式随粪便和尿液排入水域环境中<sup>[2]</sup>,水体已成为环境中抗生素的最重要的归宿地之一<sup>[3]</sup>.我国抗生素使用泛滥,水域抗生素污染严重<sup>[4]</sup>,随着检测方法的改进,水体中抗生素能快速被检测出<sup>[5]</sup>.长江、珠江等全国主要水系中均能检测到不同类型的抗生素<sup>[4,6-8]</sup>.比如,Jiang等<sup>[7]</sup>测定了黄浦江沿岸抗生素在2009年6月及12月的暴露,结果表明,大环内脂类、磺胺类及增效剂、四环素类均可检出(5.3%—100%),暴露浓度介于36.71—313.44 ng·L<sup>-1</sup>.因此,抗生素的生态毒性及其风险评价极其重要,是目前环境科学及其相关领域的研究热点.

研究表明,抗生素的毒性对水体中的生物存在很大影响.例如,Reinthaler等<sup>[9]</sup>在污水处理厂中分离了767株大肠杆菌,发现它们普遍存在耐药性,其中对四环素的耐药性高达57%;Eguchi<sup>[10]</sup>测定了多种兽用抗生素对羊角月牙藻(*Selenastrum capricornutum*)的生长毒性,结果表明红霉素等抗生素的EC<sub>50</sub>多数小于1 mg·L<sup>-1</sup>;De Liguoro<sup>[11]</sup>等测定了6种常见磺胺类抗生素及其增效剂对大型蚤(*Daphnia magna*)的急性毒性(48 h),结果表明它们的EC<sub>50</sub>介于3.86—277 mg·L<sup>-1</sup>.但是这些研究大都仅测定了单一抗生素对生物体的生物效应,而环境中污染物往往是以混合形式存在,水域中抗生素的共存也是不争的事实,因此本课题组在系列抗生素的联合毒性方面开展了前期研究,主要包括:

(1) 测定了34组混合抗生素的慢性联合毒性,采用分子对接模拟及QSAR技术,建立了可预测抗生素慢性联合毒性的模型<sup>[12]</sup>.

(2) 基于分子对接技术首次提出了可准确预测混合物Hormesis效应的“六点法-QSAR模型”,从而为混合抗生素Hormesis效应的准确预测提供技术支撑<sup>[13]</sup>.

(3) 以7种磺胺类抗生素为例,测定了它们与增效剂TMP对发光菌的急性和慢性联合毒性,发现了“在慢性联合毒性与急性联合毒性中,与靶蛋白结合的各单一化合物的比例不同是导致它们毒性差异的另一原因”这一崭新观点,为建立从“大量已有的急性数据”推导“目前缺乏的慢性毒性数据”的方法奠定一定的理论基础<sup>[14]</sup>.

上述已报道的系列研究主要是基于典型抗生素对发光菌的慢性联合毒性,在急性联合毒性与慢性联合毒性比较方面仅开展了7种磺胺类及磺胺类增效剂(TMP)方面的研究.那么,其余抗生素的急性联合毒性与慢性联合毒性之间有何区别与联系,它们是否与“磺胺类及TMP”一致或存在很大的区别?这是本文关注的问题.

本文主要以水域中常被检测出磺胺类(SAs)、磺胺类增效剂(TMP)、氯霉素类(CHPs)及四环素类

2013年2月24日收稿.

\* 同济大学污染控制与资源化研究国家重点实验室自主研究项目(PCRRY11003),国家自然科学基金面上基金(201177092)和中央高校基本科研业务费专项资金(0400219181)资助.

\*\* 通讯联系人, Tel:021-65983363; E-mail: lzshifen@tongji.edu.cn

抗生素 (TCs) 为研究对象,以明亮发光杆菌 (*Photobacterium phosphoreum*, *P. phosphoreum*) 为模式生物,测定抗生素对发光菌的单一急性毒性 (15 min) 及其二元混合急性联合毒性效应,并与相应的慢性联合毒性相比较,为水体中抗生素的联合生态风险评价和修复提供基础数据和理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试剂与仪器

所用抗生素均购自 Sigma-Aldrich 有限公司 (St. Louis, MO, USA), 具体信息如表 1 所示。

表 1 实验用抗生素及其对明亮发光杆菌的单一毒性及拟合参数

Table 1 Single toxicity and fitting parameters of antibiotics to *Photobacterium phosphoreum* in the experiment

| No. | 类别     | 抗生素    | 缩写  | CAS        | 拟合参数    |           |       |           |         | $\lg(1/EC_{50})^*$ |                |
|-----|--------|--------|-----|------------|---------|-----------|-------|-----------|---------|--------------------|----------------|
|     |        |        |     |            | A       | B         | c     | k         | RSS/dof |                    | R <sup>2</sup> |
| 1   | 四环素类   | 盐酸四环素  | TTC | 64-75-5    | 104.590 | 6.052E-1  | 1.422 | 3852.873  | 0.573   | 0.956              | 3.71 ± 0.06    |
| 2   |        | 盐酸强力霉素 | DTC | 24390-14-5 | 101.375 | 1.965E-1  | 1.128 | 7097.546  | 0.216   | 0.983              | 3.99 ± 0.10    |
| 3   |        | 盐酸土霉素  | OTC | 2058-46-0  | 100.591 | 4E-306    | 1.192 | 7707.242  | 0.223   | 0.983              | 4.01 ± 0.18    |
| 4   |        | 盐酸氯四环素 | CTC | 64-72-2    | 95.000  | 1.741     | 2.034 | 13698.007 | 0.043   | 0.996              | 4.19 ± 0.07    |
| 5   | 氯霉素类   | 氯霉素    | CHP | 56-75-7    | 98.384  | 4.576     | 1.172 | 326.517   | 0.0195  | 0.998              | 3.52 ± 0.04    |
| 6   |        | 氟甲砜霉素  | FF  | 76639-94-6 | 105.000 | 14.387    | 2.435 | 138.079   | 0.0177  | 0.992              | 2.27 ± 0.03    |
| 7   | 磺胺类    | 磺胺吡啶   | SPY | 144-83-2   | 105.000 | 15.882    | 1.359 | 549.689   | 0.0854  | 0.985              | 2.92 ± 0.05    |
| 8   |        | 磺胺氯噻嗪  | SCP | 80-32-0    | 105.000 | 1.962E-17 | 0.897 | 9096.083  | 0.203   | 0.972              | 4.30 ± 0.04    |
| 9   |        | 磺胺甲恶唑  | SMZ | 723-46-6   | 95.869  | 0         | 1.076 | 4919.794  | 0.293   | 0.965              | 3.77 ± 0.04    |
| 10  |        | 磺胺嘧啶   | SD  | 68-35-9    | 95.000  | 5.22E-12  | 0.972 | 1528.460  | 0.345   | 0.950              | 3.32 ± 0.02    |
| 11  | 磺胺类增效剂 | 甲氧苄啶   | TMP | 738-70-5   | 95.000  | 4.042E-14 | 0.977 | 934.908   | 0.771   | 0.920              | 3.22 ± 0.07    |

\* EC<sub>50</sub>单位为 mol·L<sup>-1</sup>。

所用仪器: BHP-9507 酶联免疫发光仪、高压蒸汽灭菌器、精密电子天平、电子 pH 计、单道可调移液器、超净工作台、新型生化培养箱、恒温培养振荡器、超声波清洗器、恒温鼓风机干燥箱等。

### 1.2 抗生素毒性测定

#### 1.2.1 菌种及培养基配方

明亮发光杆菌冻干粉购自中国科学院南京土壤研究所。

培养基选择参照《急性毒性的测定 发光细菌法》(GBT15441—1995)。

#### 1.2.2 菌液配制

取第三代的传代斜面,以接种环挑取一接种环大小的菌种接入含 5 mL 液体培养基的锥形瓶中,20 °C 恒温振荡培养 12—14 h 至对数生长期即为摇瓶菌液。取处于对数生长期的摇瓶菌液约 0.2 mL,加入到 20 mL 的 3% NaCl 溶液中,磁力搅拌 40 min 后,此时菌液的发光强度平稳,即可将菌液用于毒性测定。

#### 1.2.3 毒性试验

(1) 取待测化合物用适量二甲基亚砜 (DMSO) 配制成标准溶液,实验时用 3% NaCl 稀释成对数梯度系列,取 0.8 mL 加入待测比色管中。同时取 0.8 mL 的 3% NaCl 作为空白样。

(2) 在每个样品管中加入平衡菌液 0.2 mL。振荡均匀后与污染物暴露 15 min,以 2 mL 3% NaCl 溶液作为对照,采用 BHP-9507 酶联免疫发光仪测定发光强度。每个浓度点至少 3 个平行样。

### 1.3 毒性测试数据拟合

测定发光强度后,抗生素的毒性用其对发光菌的发光抑制率表述<sup>[15]</sup>,如式 1 所示:

$$\text{抑制率}(\%) = (1 - S/C) \times 100\% \quad (1)$$

其中,S 表示测试样的发光值,C 表示空白平均发光值。毒性数据采用 Weibull 方程(式 2)作为拟合模

型<sup>[16-17]</sup>,从而获得相应的毒性数据 ( $\lg(1/EC_{50})$ ).

$$Y = A - (A - B) \times \exp(- (k \times x)^c) \quad (2)$$

式中,  $A$  表征剂量效应曲线最高剂量的抑制率  $Y(\%)$ , 在拟合过程中, 本文设定其下限值为 95%、上限值为 105%;  $B$  表示拟合后零点浓度 ( $x$ ) 时的起始抑制率;  $c$  及  $k$  分别为拟合参数, 表征拟合曲线形态.

急性联合毒性 (15 min) 采用指标 ( $TU^{15\min}$ ) 来表征, 其计算方法如式 3 所示.

$$TU^{15\min} = C_A/EC_{50A} + C_B/EC_{50B} \quad (3)$$

其中,  $C_A$  和  $C_B$  是混合体系半数抑制效应时单一污染物 ( $A$ 、 $B$ ) 在混合体系中的摩尔浓度 ( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ );  $EC_{50A}$  和  $EC_{50B}$  分别是污染物单一污染时的半数效应浓度.

根据 Broderius<sup>[18]</sup> 的研究, 当  $0.8 < TU^{15\min} < 1.2$ , 认为两组分间存在加和效应; 当  $TU^{15\min} > 1.2$  表明组分间是拮抗效应; 当  $TU^{15\min} < 0.8$  意味着组分间是协同毒性.

## 2 结果与讨论

### 2.1 典型抗生素的单一急性毒性

按实验方法, 测定了 4 类抗生素对发光菌的急性毒性; 根据测定的毒性数据实施 Weibull 方程拟合, 获得表 1 中抗生素的急性毒性结果 ( $\lg(1/EC_{50})$ ).

从表 1 可知, 采用 Weibull 方程拟合毒性数据效果较好, 最低的拟合系数 ( $R_{Adj}^2$ ) 为 0.920; 残差平方和 ( $RSS/dof$ ) 均小于 1, 表明模型的拟合结果较好. 此外, 根据毒性数据 ( $\lg(1/EC_{50})$ ) 可知, FF 的毒性最小 ( $\lg(1/EC_{50}) = 2.27$ ), SCP 的毒性最大 ( $\lg(1/EC_{50}) = 4.30$ ); 毒性结果的顺序为:  $SCP > CTC > OTC > DTC > SMZ > TTC > CHP > SD > TMP > SPY > FF$ . 该结果表明, 不论是否属于同一类别, 不同抗生素的毒性差异较大. 如同属于磺胺的 SPY 与 SCP 的毒性 ( $\lg(1/EC_{50})$ ) 分别为 2.92 和 4.30, 差别近 24 倍; 而属于氯霉素类的 FF 的毒性 ( $\lg(1/EC_{50})$ ) 为 2.27, 比 SCP 的毒性小了两个数量级.

### 2.2 等毒性比组成的抗生素二元混合物急性联合毒性

同时, 在单一毒性试验结果的基础上测定了抗生素对发光菌的联合毒性, 结果如表 2 所示. 从表 2 可知, 4 类抗生素之间对发光菌的急性联合毒性呈现两种效应: 加和效应及拮抗效应.

首先, 从加和效应的混合体系组成来看, 主要包括以下几种:

(1) 同类抗生素之间表现为加和效应, 如磺胺类抗生素与磺胺类抗生素之间, SPY-SCP 的  $TU^{15\min}$  为 1.06 (表 2, No. 46), SPY-SMZ 的  $TU^{15\min}$  为 1.09 (表 2, No. 47). 同样, 四环素类抗生素之间也表现为加和效应, TTC-DTC 的  $TU^{15\min}$  为 1.06 (表 2, No. 1), TTC-OTC 的  $TU^{15\min}$  为 1.13 (表 2, No. 2);

(2) 不同类抗生素之间的加和效应, 如 TTC-SPY 的  $TU^{15\min}$  为 1.20 (表 2, No. 6)、DTC-SCP 的  $TU^{15\min}$  为 1.17 (表 2, No. 16).

此外, 从拮抗效应的混合体系组成来看, 主要包括以下几种:

a. TCs-CHPs, 其  $TU^{15\min}$  介于 1.21—2.34 (表 2, No. 4 的  $TU^{15\min}$  为 1.21, No. 5 的  $TU^{15\min}$  为 2.34);

b. TCs-TMP, 如 TTC-TMP, 其  $TU^{15\min}$  为 3.82 (表 2, No. 10);

c. SAs-TMP 之间, 如 SMZ-TMP, 其  $TU^{15\min}$  为 4.41 (表 2, No. 54).

总体而言, 试验组中有 18 组呈现拮抗效应, 剩余 37 组均呈加和效应. 然而, 在前期研究中发现<sup>[14]</sup>, 磺胺类抗生素与其增效剂甲氧苄啶 (SAs-TMP) 二元混合体系的急性联合 ( $SA_s^{15\min}$ ) 从 1.44 到 4.54, 表现为拮抗效应, 但是相应的慢性联合 ( $TU^{24h}$ ) 从 0.15 到 0.21, 表现为协同效应. 可见, 对于抗生素这类新型污染物, 同一混合体系对明亮发光杆菌的急性联合毒性效应 (15 min) 和慢性联合毒性效应 (24 h) 存在着不同. 因此, 可以推测, 在不同染毒时间下抗生素混合化合物对明亮发光杆菌等微生物的联合效应可能存在很大的不同, 这有待于进一步的实验验证和机理的揭示.

同时本课题组的研究还表明, 不管是抗生素对明亮发光杆菌的慢性还是急性联合毒性, 都不再仅仅为加和, 但是目前有关混合化合物的生态风险评价还是仅以加和为假设前提进行的, 可见目前的混合化合物的生态风险评价不适用于水体中的混合抗生素, 混合抗生素的生态风险评价的研究是及其必要的.

表 2 等毒性比(1:1)组成的抗生素二元联合毒性

Table 2 Joint toxicity of binary mixture in the equal toxic ratio (1:1)

| No. | 混合体系   | 混合体系中抗生素组成 | TU <sup>15min</sup> | 联合毒性效应 | No. | 混合体系    | 混合体系中抗生素组成 | TU <sup>15min</sup> | 联合毒性效应          |
|-----|--------|------------|---------------------|--------|-----|---------|------------|---------------------|-----------------|
| 1   | 1#:2#  | TTC-DTC    | 1.06                | 加和     | 29  | 4#:6#   | CTC-FF     | 1.57                | 拮抗              |
| 2   | 1#:3#  | TTC-OTC    | 1.13                | 加和     | 30  | 4#:7#   | CTC-SPY    | 1.18                | 加和              |
| 3   | 1#:4#  | TTC-CTC    | 1.18                | 加和     | 31  | 4#:8#   | CTC-SCP    | 1.18                | 加和              |
| 4   | 1#:5#  | TTC-CHP    | 1.21                | 拮抗     | 32  | 4#:9#   | CTC-SMZ    | 1.15                | 加和              |
| 5   | 1#:6#  | TTC-FF     | 2.34                | 拮抗     | 33  | 4#:10#  | CTC-SD     | 0.95                | 加和              |
| 6   | 1#:7#  | TTC-SPY    | 1.20                | 加和     | 34  | 4#:11#  | CTC-TMP    | 1.27                | 拮抗              |
| 7   | 1#:8#  | TTC-SCP    | 1.00                | 加和     | 35  | 5#:6#   | CHP-FF     | —                   | ND <sup>a</sup> |
| 8   | 1#:9#  | TTC-SMZ    | 0.98                | 加和     | 36  | 5#:7#   | CHP-SPY    | 1.05                | 加和              |
| 9   | 1#:10# | TTC-SD     | 1.19                | 加和     | 37  | 5#:8#   | CHP-SCP    | 1.16                | 加和              |
| 10  | 1#:11# | TTC-TMP    | 3.82                | 拮抗     | 38  | 5#:9#   | CHP-SMZ    | 1.20                | 加和              |
| 11  | 2#:3#  | DTC-OTC    | 0.90                | 加和     | 39  | 5#:10#  | CHP-SD     | 1.20                | 加和              |
| 12  | 2#:4#  | DTC-CTC    | 1.05                | 加和     | 40  | 5#:11#  | CHP-TMP    | 1.00                | 加和              |
| 13  | 2#:5#  | DTC-CHP    | 1.23                | 拮抗     | 41  | 6#:7#   | FF-SPY     | —                   | ND <sup>a</sup> |
| 14  | 2#:6#  | DTC-FF     | 2.08                | 拮抗     | 42  | 6#:8#   | FF-SCP     | —                   | ND <sup>a</sup> |
| 15  | 2#:7#  | DTC-SPY    | 0.82                | 加和     | 43  | 6#:9#   | FF-SMZ     | —                   | ND <sup>a</sup> |
| 16  | 2#:8#  | DTC-SCP    | 1.17                | 加和     | 44  | 6#:10#  | FF-SD      | —                   | ND <sup>a</sup> |
| 17  | 2#:9#  | DTC-SMZ    | 1.06                | 加和     | 45  | 6#:11#  | FF-TMP     | —                   | ND <sup>a</sup> |
| 18  | 2#:10# | DTC-SD     | 0.85                | 加和     | 46  | 7#:8#   | SPY-SCP    | 1.06                | 加和              |
| 19  | 2#:11# | DTC-TMP    | 1.27                | 拮抗     | 47  | 7#:9#   | SPY-SMZ    | 1.09                | 加和              |
| 20  | 3#:4#  | OTC-CTC    | 1.27                | 拮抗     | 48  | 7#:10#  | SPY-SD     | 1.13                | 加和              |
| 21  | 3#:5#  | OTC-CHP    | 1.21                | 拮抗     | 49  | 7#:11#  | SPY-TMP    | 1.44                | 拮抗              |
| 22  | 3#:6#  | OTC-FF     | 2.01                | 拮抗     | 50  | 8#:9#   | SCP-SMZ    | 1.08                | 加和              |
| 23  | 3#:7#  | OTC-SPY    | 1.18                | 加和     | 51  | 8#:10#  | SCP-SD     | 1.05                | 加和              |
| 24  | 3#:8#  | OTC-SCP    | 1.14                | 加和     | 52  | 8#:11#  | SCP-TMP    | 1.91                | 拮抗              |
| 25  | 3#:9#  | OTC-SMZ    | 1.06                | 加和     | 53  | 9#:10#  | SMZ-SD     | 1.05                | 加和              |
| 26  | 3#:10# | OTC-SD     | 0.98                | 加和     | 54  | 9#:11#  | SMZ-TMP    | 4.41                | 拮抗              |
| 27  | 3#:11# | OTC-TMP    | 1.91                | 拮抗     | 55  | 10#:11# | SD-TMP     | 2.92                | 拮抗              |
| 28  | 4#:5#  | CTC-CHP    | 1.85                | 拮抗     |     |         |            |                     |                 |

<sup>a</sup>混合物的最大抑制率没有达到 50%.

### 3 结论

本文主要研究了 4 类抗生素二元混合物对明亮发光杆菌的急性联合毒性,并比较了磺胺类抗生素与甲氧苄啶的急性联合毒性与慢性联合毒性的差异.发现磺胺类抗生素、甲氧苄啶、四环素类以及氯霉素之间的急性联合毒性都存在拮抗效应,磺胺类抗生素与甲氧苄啶的慢性联合毒性表现为协同效应,与急性联合毒性的拮抗效应存在较大差异.

抗生素进入水域生态系统,其生态效应已经引起人们关注.单一抗生素的生物学效应研究显然不能满足现实水体中多种抗生素低剂量长时间混合暴露的特点,对抗生素进行联合毒性研究势在必行.本研究仅关注了二元急性联合毒性,并比较了 SAs-TMP 的二元急性毒性和慢性毒性的不同.在此基础上可进一步开展:(1)同一抗生素混合体系在不同染毒时间下的联合效应不同的原因揭示;(2)三元及以上的混合抗生素联合毒性的研究;(3)多元抗生素的急性毒性与慢性毒性的相关性研究;(4)抗生素联合毒性机制的探讨,以及分子对接技术等新兴技术的分子生物学应用.随着有关抗生素联合毒性研究的深入,能够了解更多有关抗生素在生态系统中的生物学效应,为不同水体的生态风险评估提供帮助.

## 参 考 文 献

- [ 1 ] Wise R. Antimicrobial resistance: priorities for action[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2002, 49(4): 585-586
- [ 2 ] Christian T, Schneider R J, Färber H A, et al. Determination of antibiotic residues in manure, soil, and surface waters[J]. *Acta Hydroch Hydrob*, 2003, 31(1): 36-44
- [ 3 ] Kümmerer K. Antibiotics in the aquatic environment-A review-Part I[J]. *Chemosphere*, 2009, 75(4): 417-434
- [ 4 ] Zhang X, Zhang D, Zhang H, et al. Occurrence, distribution, and seasonal variation of estrogenic compounds and antibiotic residues in Jiulongjiang River, South China[J]. *Environ Sci Pollut R*, 2012, 19(5): 1392-1404
- [ 5 ] 胡冠九, 王冰, 孙成. 高效液相色谱法测定环境水样中 5 种四环素类抗生素残留[J]. *环境化学*, 2007, 26(1): 106-107
- [ 6 ] Zou S, Xu W, Zhang R, et al. Occurrence and distribution of antibiotics in coastal water of the Bohai Bay, China: Impacts of river discharge and aquaculture activities[J]. *Environ Pollut*, 2011, 159(10): 2913-2920
- [ 7 ] Jiang L, Hu X, Yin D, et al. Occurrence, distribution and seasonal variation of antibiotics in the Huangpu River, Shanghai, China[J]. *Chemosphere*, 2010, 82(6): 822-828
- [ 8 ] 姜蕾, 陈书怡, 杨蓉, 等. 长江三角洲地区典型废水中抗生素的初步分析[J]. *环境化学*, 2008, 27(3): 371-374
- [ 9 ] Reinhaller F, Posch J, Feierl G, et al. Antibiotic resistance of *E. coli* in sewage and sludge[J]. *Water Res*, 2003, 37(8): 1685-1690
- [ 10 ] Eguchi K, Nagase H, Ozawa M, et al. Evaluation of antimicrobial agents for veterinary use in the ecotoxicity test using microalgae[J]. *Chemosphere*, 2004, 57(11): 1733-1738
- [ 11 ] De Liguoro M, Fioretto B, Poltronieri C, et al. The toxicity of sulfamethazine to *Daphnia magna* and its additivity to other veterinary sulfonamides and trimethoprim[J]. *Chemosphere*, 2009, 75(11): 1519-1524
- [ 12 ] Zou X, Zhou X, Lin Z, et al. A docking-based receptor library of antibiotics and its novel application in predicting chronic mixture toxicity for environmental risk assessment[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2013, 185: 4513-4527
- [ 13 ] Zou X, Lin Z, Deng Z, et al. Novel approach to predicting hormetic effects of antibiotic mixtures on *Vibrio fischeri*[J]. *Chemosphere*, 2013, 90(7): 2070-2076
- [ 14 ] Zou X, Lin Z, Deng Z, et al. The joint effects of sulfonamides and their potentiator on *Photobacterium phosphoreum*: Differences between the acute and chronic mixture toxicity mechanisms[J]. *Chemosphere*, 2012, 86(1): 30-35
- [ 15 ] De Zwart D, Slooff W. The Microtox as an alternative assay in the acute toxicity assessment of water pollutants[J]. *Aquat Toxicol*, 1983, 4(2): 129-138
- [ 16 ] Finney D. Probit analysis(3rd ed.)[M]. Cambridge: Cambridge University Press; 1971.
- [ 17 ] Christensen E R. Dose-response functions in aquatic toxicity testing and the Weibull model[J]. *Water Res*, 1984, 18(2): 213-221
- [ 18 ] Broderius S J, Kahl M D, Hoglund M D. Use of joint toxic response to define the primary mode of toxic action for diverse industrial organic chemicals[J]. *Environ Toxicol Chem*, 1995, 14(9): 1591-1605

## Acute joint toxicity of binary antibiotic mixtures on *Photobacterium phosphoreum*

CONG Yongping<sup>1</sup>    JIANG Lei<sup>2</sup>    WANG Ting<sup>1</sup>    ZOU Xiaoming<sup>1</sup>  
GE Hongming<sup>1</sup>    YIN Daqiang<sup>1</sup>    LIN Zhifen<sup>1\*</sup>

(1. College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai, 200092, China;

2. National Engineering Research Center of Municipal Water Resource Development and Utilization (South), Shanghai, 200082, China)

### ABSTRACT

The acute joint effects of binary antibiotic mixtures to *photobacterium phosphoreum* were determined at the equal toxic ratio in this study. And the results showed that either additive effects or antagonistic effects occurred for these binary antibiotic mixtures. This study will provide a theoretical basis for the ecological risk assessment and restoration of polluted water with antibiotic mixtures.

**Keywords:** antibiotic, *Photobacterium phosphoreum*, acute joint toxicity.