

# 恩诺沙星、磺胺嘧啶和呋喃西林对共培养的萱藻丝状体和膨胀色球藻生长的影响

刘德举, 张 敏, 庄英瑞, 毕 萌, 官相忠

(中国海洋大学海洋生命学院, 山东 青岛 266003)

**摘要:** 为有效抑制萱藻种质保存和丝状体扩增时膨胀色球藻的污染, 本实验应用实验生态学法, 研究了恩诺沙星、磺胺嘧啶和呋喃西林 3 种抗菌药对共培养的萱藻丝状体和膨胀色球藻生长的影响。结果显示: 在 5~100 mg/L 范围内, 50 mg/L 恩诺沙星适于除去萱藻种质保存或丝状体扩增过程中出现的膨胀色球藻, 实验第 18 d 膨胀色球藻的日均增长率为-2.67%, 萱藻丝状体的单室孢子囊发育良好; 在 10~150 mg/L 范围内, 100 mg/L 磺胺嘧啶能有效抑制膨胀色球藻的生长, 实验第 18 d 膨胀色球藻的日均增长率为-0.58%, 萱藻丝状体日均增长率为 2.91%, 单室孢子囊发育良好; 150 mg/L 磺胺嘧啶会使萱藻丝状体的部分细胞呈浅褐色, 单室孢子囊发育不良; 在 1~20 mg/L 范围内, 20 mg/L 呋喃西林能抑制膨胀色球藻的生长, 实验第 18 d 膨胀色球藻日均增长率为-0.78%, 但同时影响了萱藻丝状体的正常生长, 单室孢子囊发育不良。实验证明, 50 mg/L 恩诺沙星和 100 mg/L 磺胺嘧啶最适于解决萱藻种质保存和丝状体扩增过程中膨胀色球藻的污染。

**关键词:** 萱藻; 丝状体; 膨胀色球藻; 共培养; 抗菌药

中图分类号: Q14 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2022)02-0046-09

DOI: 10.11759/hyxx20201012002

萱藻(*Scytosiphon lomentaria*)系广温性大型海藻, 隶属于褐藻门(Phaeophyta), 褐子纲(Phaeosporae), 萱藻科(Scytosiphonaceae), 广泛分布于南美洲、北美洲、大洋洲、欧洲以及亚洲沿海海域, 在中国主要分布于辽东半岛至广东省海陵岛之间的沿海海域<sup>[1-2]</sup>。萱藻生长在在中潮带、低潮带的石头、基岩等坚硬的基质及潮池中, 与其他海藻一起构成近岸海洋初级生产者, 在海洋生态系统中扮演着重要的角色<sup>[3]</sup>。萱藻的营养价值高, 富含氨基酸、蛋白质、不溶性膳食纤维和脂肪等成分<sup>[4]</sup>。此外, 萱藻中还富含褐藻胶、岩藻聚糖酸内酯及酚类物质。褐藻胶有助于人体排铅<sup>[5]</sup>, 还可作为食品添加剂用来改良口感<sup>[6]</sup>; 岩藻聚糖酸内酯有抗凝血及抗血栓的作用<sup>[7]</sup>; 萱藻多酚可通过清除羟自由基以达到抗衰老和美白的效果<sup>[8]</sup>。萱藻的乙醇提取物对人结肠癌肿瘤细胞(HT-29)具有很强的选择性活性(LD<sub>50</sub>=1.49 μg/mL), 甲醇提取物对人肺腺癌肿瘤细胞(A-549)、白血病肿瘤细胞(HL-60)的抑制率大于 80%<sup>[7, 9]</sup>。因此, 萱藻在食品、工业、医药和生态等方面发挥着重要作用, 是一种极具开发潜力的经济海藻。

膨胀色球藻(*Chroococcus turgidus*)是一种蓝藻, 隶属于蓝藻门(Cyanophyta), 色球藻目(Chroococcales),

色球藻科(Chroococcaceae), 色球藻属(*Chroococcus*), 生长繁殖过程中能产生种类繁多的次生代谢物, 这些次生代谢物释放到水体中会对其他生物的生长繁殖产生不利影响, 如膨胀色球藻的正己烷提取物对革兰氏阴性菌有明显的抑制作用<sup>[10]</sup>。萱藻在种质保存和丝状体扩增过程中极易被膨胀色球藻污染, 若不及时抑制或清除, 膨胀色球藻会迅速繁殖并产生大量次生代谢物, 造成萱藻丝状体发育不良, 生长受阻甚至死亡。膨胀色球藻作为一种原核生物, 其细胞壁化学成分与细菌存在相似性, 细胞壁中均含有肽聚糖并存在抗生素分子的作用靶点, 因此, 链霉素(100 mg/L)、氯霉素(10 mg/L)、卡那霉素(100 mg/L)和头孢噻肟钠(100 mg/L)等抗生素可作用于膨胀色球藻并抑制其生

收稿日期: 2020-10-12; 修回日期: 2021-01-22

基金项目: 山东省重点研发计划(2016GSF115042)

[Foundation: The Key Research and Development Program of Shandong Province, No. 2016GSF115042]

作者简介: 刘德举(1996—), 山东菏泽人, 硕士研究生, 主要从事海藻繁殖生物学研究, E-mail: q1074759745@163.com; 张敏(1994—), 共同第一作者, 山东聊城人, 硕士研究生, 主要从事海藻繁殖生物学研究, E-mail: m18753853893@163.com; 官相忠(1963—), 山东青岛人, 通信作者, 教授, 主要从事海藻学、海藻实验生态学以及海藻繁殖生物学研究, E-mail: gxzhw@163.com

长<sup>[11-12]</sup>, 但以上抗生素经多次使用后也会使病原菌产生耐药性<sup>[13]</sup>, 在水产养殖领域中被禁止大量使用。

与某些微生物产生的抗生素相比, 人工合成的抗菌药在养殖领域使用更加广泛, 目前关于人工合成的抗菌药对萱藻丝状体和膨胀色球藻生长的影响尚未见报道。因此, 研究应用人工合成抗菌药抑制膨胀色球藻的生长对于萱藻的种质保存和丝状体扩增具有积极意义。氟喹诺酮类抗菌药和磺胺类抗菌药被广泛应用于水产养殖领域, 硝基呋喃类抗菌药则曾在畜禽养殖业被广泛使用。本文研究了 3 种抗菌药恩诺沙星(enrofloxacin, ENFX)、磺胺嘧啶(sulfadiazine, SD)和呋喃西林(nitrofurazone, NFZ)对共培养的膨胀色球藻和萱藻丝状体生长的影响, 比较了其共培养体系中膨胀色球藻生长的抑制效果, 该研究将为萱藻种质保存和丝状体扩增时膨胀色球藻的污染问题提供有效的解决方法。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 萱藻丝状体

取自中国海洋大学海藻繁殖生物学研究室种质库, 培养条件为: 温度 21 °C、光照强度 86.40~97.20 μmol/(m<sup>2</sup>·s)、光周期 L : D=14 : 10, 培养液为 F1 培养液<sup>[14-15]</sup>。

#### 1.1.2 膨胀色球藻

从被污染的萱藻种质中分离出膨胀色球藻, 进行扩增培养。培养条件为: 温度 21 °C, 光周期 L : D=14 : 10, 光照强度 54.00~67.00 μmol/(m<sup>2</sup>·s), 培养液为 F1 培养液。

#### 1.1.3 抗菌药

三种抗菌药恩诺沙星、磺胺嘧啶和呋喃西林均购于北京索莱宝科技有限公司, 根据《分子克隆实验指南》<sup>[16]</sup>配置成溶液。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 三种抗菌药对共培养的膨胀色球藻和萱藻丝状体生长的影响

取生长状态良好的萱藻丝状体, 用组织匀浆机点切 10 次, 得到长度为 180~200 μm 的丝状体, 用 200 目筛绢过滤上述丝状体并用无菌海水反复冲洗, 配制成生物量为 0.5 mg/mL 萱藻藻液, 取 400 mL 该藻液置于 500 mL 三角烧瓶中。将处于对数生长期的

膨胀色球藻接种到萱藻藻液中, 接种密度是 1.0×10<sup>4</sup> ind/mL, 各抗菌药的浓度如表 1 所示, 每个浓度设置 3 个平行样, 并设置对照组。在实验第 0、3、6、9、12、15 和 18 d, 从各平行样中取 20 mL 藻液, 称量萱藻鲜重, 计数每 0.1 μL 藻液中膨胀色球藻细胞数量。培养条件为: 光周期 L : D=14 : 10, 温度 21 °C, 光照强度 84.6~97.2 μmol/(m<sup>2</sup>·s)。通过计算日均增长率来探究各抗菌药对共培养的萱藻丝状体和膨胀色球藻生长的影响。

萱藻丝状体日均增长率的计算公式<sup>[17]</sup>:

$$K=[(\ln N_t - \ln N_0)/t] \times 100\%, \quad (1)$$

此公式中,  $K$  表示萱藻丝状体的日均增长率;  $t$  表示称重的时间间隔(d);  $N_0$  表示萱藻丝状体的起始鲜重;  $N_t$  表示萱藻丝状体  $t$  时的鲜重。

膨胀色球藻日均增长率的计算公式<sup>[17]</sup>:

$$K_C=[(\ln C_t - \ln C_0)/t] \times 100\%, \quad (2)$$

此公式中,  $K_C$  表示膨胀色球藻细胞的日均增长率,  $t$  表示称重的时间间隔(d);  $C_0$  表示膨胀色球藻的起始细胞密度;  $C_t$  表示膨胀色球藻  $t$  时的细胞密度。

表 1 抗菌药的实验浓度

Tab. 1 Experimental concentrations of antimicrobial

组别	抗菌药物浓度/(mg·L <sup>-1</sup> )		
	恩诺沙星	磺胺嘧啶	呋喃西林
1	0	0	0
2	5	10	1
3	10	50	5
4	20	70	10
5	30	100	20
6	50	150	—
7	100	—	—

注: -表示未设置该组别

#### 1.2.2 三种抗菌药停用后萱藻丝状体的发育情况

共培养 18 d 后, 用 200 目筛绢过滤各平行样中的藻液, 并用无菌海水反复冲洗, 将上述对照组和各实验组中的萱藻丝状体分别配成 0.5 mg/mL 的藻液, 置于 500 mL 三角烧瓶中, 进行孢子囊诱导实验。条件为: 温度 17 °C, 光暗周期 10L : 14D, 光照强度 28.8~43.2 μmol/(m<sup>2</sup>·s)。诱导 20 d 后, 从各平行样中取少量藻液, 在显微镜下随机取 10 个视野统计单室孢子囊细胞数及萱藻丝状体细胞数, 测量单室孢子囊直径并计算孢子囊比例。

单室孢子囊比例的计算公式:

$$\text{单室孢子囊比例} = (\text{单室孢子囊细胞数} / \text{萱藻丝状体细胞数}) \times 100\% \quad (3)$$

### 1.3 数据处理

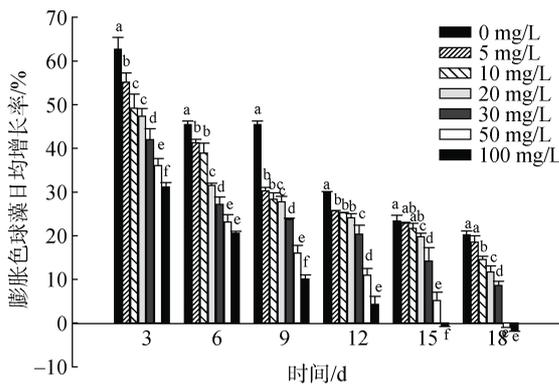
应用 SPSS19.0 和 Sigmaplot10.0 分析软件进行单因素方差分析, 使用 IS Capture 软件进行图像采集和孢子囊直径测量。

## 2 结果与分析

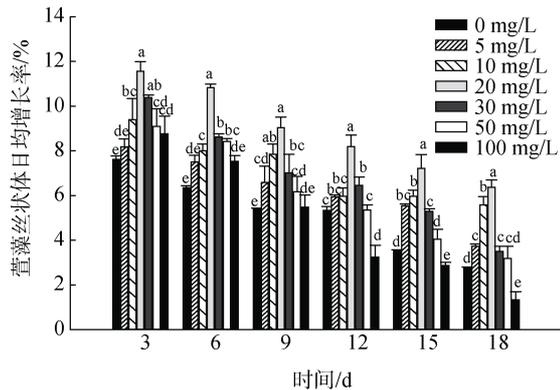
### 2.1 恩诺沙星对膨胀色球藻和萱藻丝状体生长的影响

在 5~100 mg/L 范围内, 恩诺沙星对膨胀色球藻

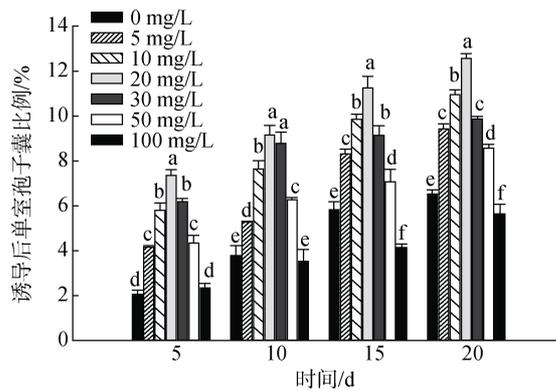
的生长均有抑制作用, 且随着恩诺沙星浓度的增大, 抑制作用增强(图 1a)。第 18 d, 50 mg/L 和 100 mg/L 实验组中日均增长率分别为-0.97%和-1.78%, 膨胀色球藻的生长完全受抑制。观察发现, 对照组中的膨胀色球藻生长旺盛, 单细胞的直径为 5~12  $\mu\text{m}$ , 外被宽厚的胶质鞘, 胞质充盈, 呈蓝绿色(图 2a)。50 mg/L 实验组中, 色球藻的胶质鞘变薄, 细胞呈浅蓝绿色。100 mg/L 实验组中, 未见胶质状群体, 膨胀色球藻多以单细胞的形式存在, 呈浅蓝绿色, 细胞的直径为 4~8  $\mu\text{m}$ , 部分细胞发生解体(图 2b)。



(a) 恩诺沙星对膨胀色球藻日均增长率的影响



(b) 恩诺沙星对萱藻丝状体日均增长率的影响



(c) 恩诺沙星对萱藻丝状体诱导后单室孢子囊比例的影响

图 1 恩诺沙星对膨胀色球藻与萱藻丝状体生长发育的影响

Fig. 1 Effects of ENFX on the growth and development of of filaments of *S.lomentaria* and *C.turgidus*

注: 不同字母表示差异性显著( $P < 0.05$ )

在 5~20 mg/L 范围内, 萱藻丝状体日均增长率随着恩诺沙星浓度的增大而升高, 在 20~100 mg/L 范围内, 日均增长率随着浓度的增大而降低(图 1b)。实验第 18 d, 100 mg/L 实验组日均增长率(1.33%)低于对照组(2.74%), 萱藻丝状体的生长受到抑制。50 mg/L 实验组中萱藻丝状体日均增长率为 3.18%, 观察发现, 萱藻丝状体长势良好, 细胞呈深褐色, 胞质充盈(图 2c); 100 mg/L 实验组中丝状体的部分细胞呈浅褐色,

原生质体收缩成一小团并聚集到细胞的一端(图 2b)。

在整个诱导周期, 50 mg/L 实验组的单室孢子囊比例均高于对照组, 孢子囊发育较好, 100 mg/L 实验组的单室孢子囊比例均低于对照组, 孢子囊发育较差。实验第 20 d, 对照组、50 mg/L 实验组和 100 mg/L 实验组的单室孢子囊比例分别为 6.52%、8.56%和 5.64%, 单室孢子囊直径分别为  $(18.02 \pm 0.12) \mu\text{m}$ 、 $(19.35 \pm 1.04) \mu\text{m}$  和  $(14.32 \pm 0.51) \mu\text{m}$ 。

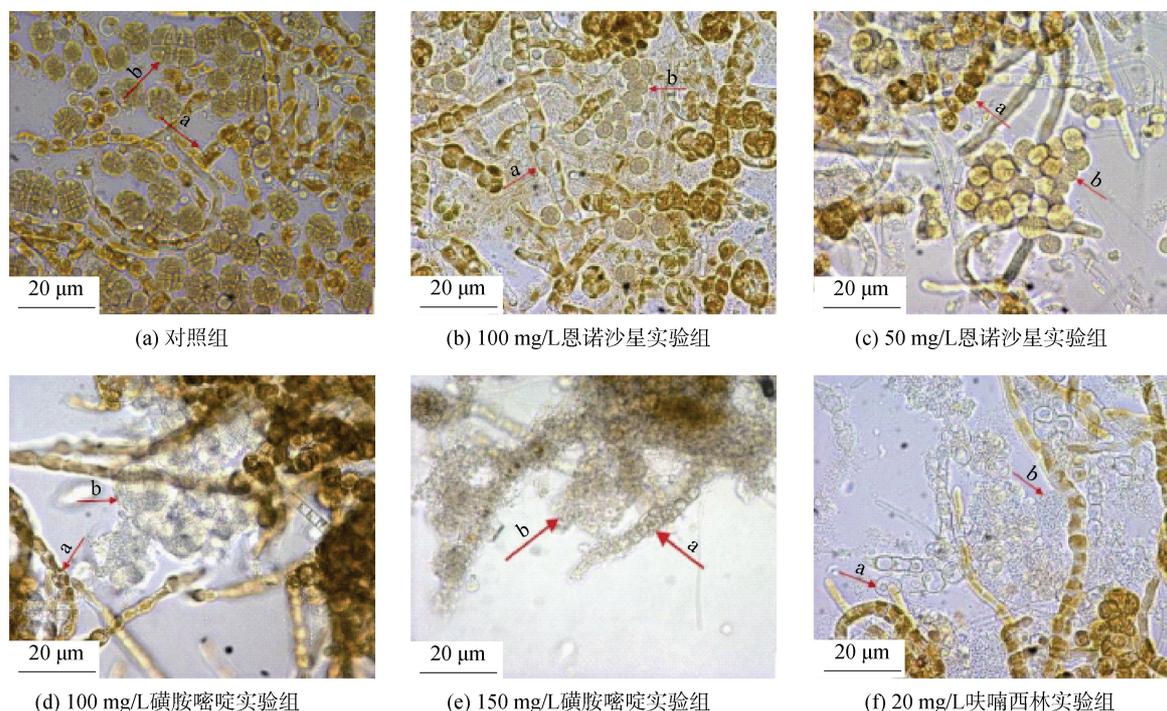


图 2 共培养 18d 时膨胀色球藻和萱藻丝状体的生长情况  
 Fig. 2 Growth situations of filaments of *S.lomentaria* and *C.turgidus* on the 18th day after co-cultivation  
 注: 箭头 a 指示的是萱藻丝状体细胞, 箭头 b 指示的是膨胀色球藻细胞

综上所述, 50 mg/L 和 100 mg/L 恩诺沙星均能有效抑制膨胀色球藻的生长, 50 mg/L 实验组中萱藻丝状体的生长发育未受影响, 但 100 mg/L 实验组中萱藻丝状体生长状况差且单室孢子囊发育不良。因此, 在不影响萱藻丝状体生长发育的前提下, 50 mg/L 恩诺沙星适于抑制共培养体系中膨胀色球藻的生长。

## 2.2 磺胺嘧啶对膨胀色球藻和萱藻丝状体生长的影响

在 10~150 mg/L 范围内, 膨胀色球藻的日均增长率随着磺胺嘧啶浓度的增加而降低(图 3a)。实验第 18 d, 100 mg/L 和 150 mg/L 实验组日均增长率分别为 -0.58% 和 -2.27%, 远低于对照组(20.21%), 膨胀色球藻的生长完全受抑制。观察发现, 100 mg/L 实验组中, 绝大部分胶质群体的公共胶质鞘被破坏并有内容物流出, 细胞开始破碎(图 2d)。150 mg/L 磺胺嘧啶对膨胀色球藻的抑制效果最明显, 未发现具有完整结构的细胞个体, 大数细胞破碎成碎片或碎渣并包裹在萱藻丝状体周围(图 2e)。

在 10~100 mg/L 范围内, 萱藻丝状体的日均增长率均高于对照组; 150 mg/L 实验组的日均增长率均低于对照组(图 3b)。实验第 18 d, 150 mg/L 实验组

的日均增长率仅 1.41%, 但未出现负增长, 萱藻丝状体的生长受到不利影响。观察发现, 100 mg/L 实验组中的萱藻丝状体长势良好, 胞质充盈, 颜色为深褐色, 大多数细胞呈念珠状(图 2d); 而 150 mg/L 实验组中多数细胞颜色变深, 呈黑褐色, 部分细胞的原生质体皱缩或消失(图 2e)。

在整个诱导周期中, 10~100 mg/L 实验组的单室孢子囊比例均高于对照组, 150 mg/L 实验组的单室孢子囊比例低于对照组(图 3c)。实验第 20 d, 100 mg/L 实验组的单室孢子囊比例为 7.13%, 单室孢子囊直径为  $(19.71 \pm 0.44) \mu\text{m}$ ; 150 mg/L 实验组的单室孢子囊比例仅 4.73%, 低于对照组(6.62%), 对照组的单室孢子囊直径为  $(18.02 \pm 0.12) \mu\text{m}$ , 而 150 mg/L 实验组仅  $(12.24 \pm 1.02) \mu\text{m}$ , 与对照组相比较小。

综上所述, 100 mg/L 和 150 mg/L 磺胺嘧啶可有效抑制膨胀色球藻的生长, 100 mg/L 实验组中的萱藻丝状体能正常生长发育, 但 150 mg/L 实验组中的萱藻丝状体生长状况差且单室孢子囊发育不良。因此, 在不影响萱藻丝状体生长发育的前提下, 100 mg/L 磺胺嘧啶可作为抑制共培养体系中膨胀色球藻生长的最佳浓度。

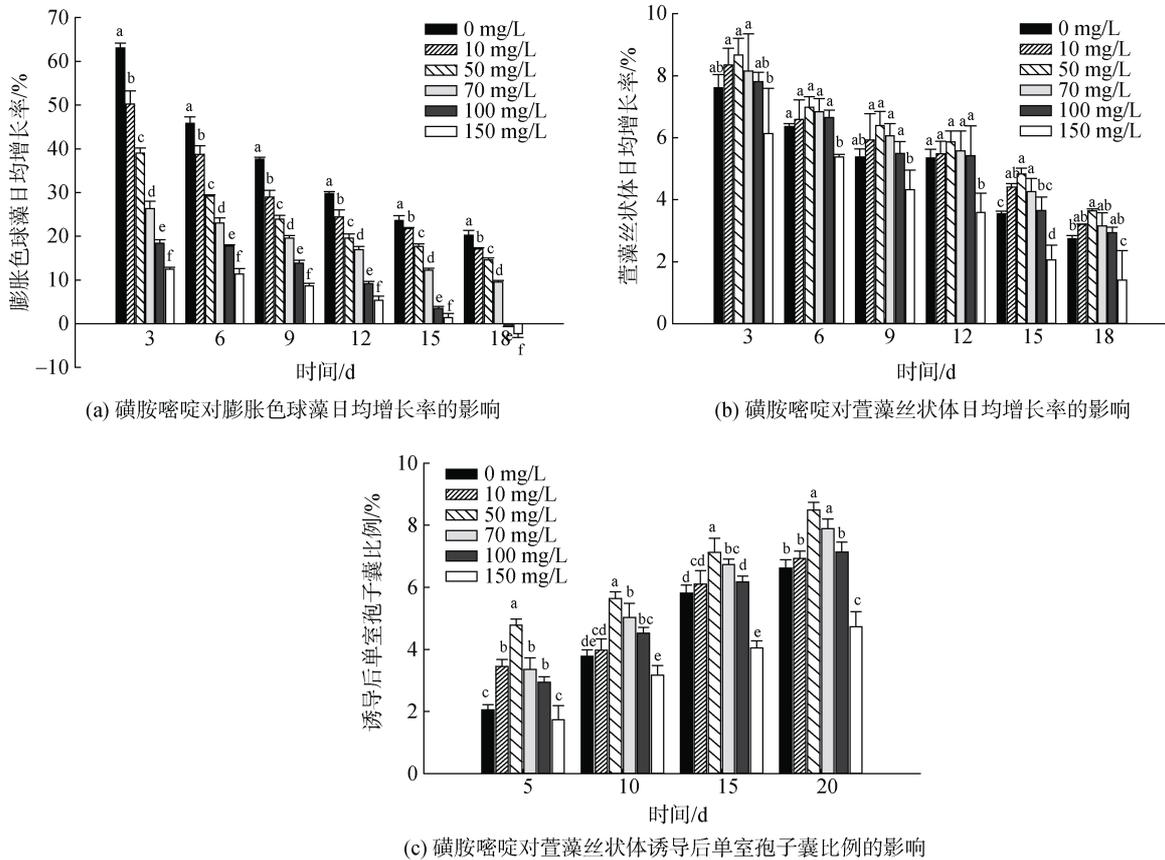


图3 磺胺嘧啶对膨胀色球藻与萱藻丝状体生长发育的影响

Fig. 3 Effects of sulfadiazine on the growth and development of filaments of *S.lomentaria* and *C.turgidus*

注: 不同字母表示差异性显著( $P < 0.05$ )

### 2.3 呋喃西林对膨胀色球藻和萱藻丝状体生长的影响

在 1~20 mg/L 范围, 膨胀色球藻的日均增长率随着呋喃西林浓度的增加而逐渐降低(图 4a)。实验第 18 d, 20 mg/L 实验组中膨胀色球藻日均增长率仅 -0.78%, 与对照组(20.21%)相比差异显著( $P < 0.05$ ), 膨胀色球藻的生长完全被抑制。观察发现, 20 mg/L 实验组中未见完整的单细胞个体或细胞群体, 细胞碎片呈浅蓝绿色甚至无色(图 2f)。

在 1~20 mg/L 范围, 萱藻丝状体的日均增长率随着呋喃西林浓度的增加而逐渐降低(图 4b)。实验第 18 d, 10 mg/L 和 20 mg/L 实验组的日均增长率分别为 -1.06% 和 -3.26%, 均显著低于对照组(2.74%) ( $P < 0.05$ ), 萱藻丝状体的生长均受到抑制。观察发现, 20 mg/L 实验组中, 萱藻丝状体生长状况差, 部分细胞的原生质体收缩, 细胞呈黄褐色或无色(图 2f)。

实验第 18 d, 10 mg/L 实验组中萱藻丝状体的生长完全被抑制, 日均增长率为 -1.06%; 膨胀色球藻

的生长未被完全抑制, 日均增长率为 4.6%。

在整个诱导周期, 萱藻丝状体的单室孢子囊比例随着呋喃西林浓度的增大而降低(图 4c)。实验第 20 d, 20 mg/L 实验组的单室孢子囊比例显著低于对照组(6.52%) ( $P < 0.05$ )。观察发现, 20 mg/L 实验组中的萱藻丝状体的单室孢子囊呈游离态, 直径偏小, 仅(8.81±0.11) μm。

综上所述, 在 1~20 mg/L 范围内, 20 mg/L 呋喃西林能对膨胀色球藻的生长进行有效抑制, 但此浓度下的萱藻丝状体生长状况差, 且单室孢子囊发育不良。因此, 在 1~20 mg/L 范围内, 呋喃西林不适于抑制和清除萱藻丝状体和膨胀色球藻共培养体系中的膨胀色球藻。

### 3 讨论

恩诺沙星属于氟喹诺酮类抗菌药, 能抑制大多数细菌的 DNA 回旋酶和拓扑异构酶 IV, 使细菌不能进行正常的 DNA 复制与分裂, 最终导致细菌死亡<sup>[18-19]</sup>。

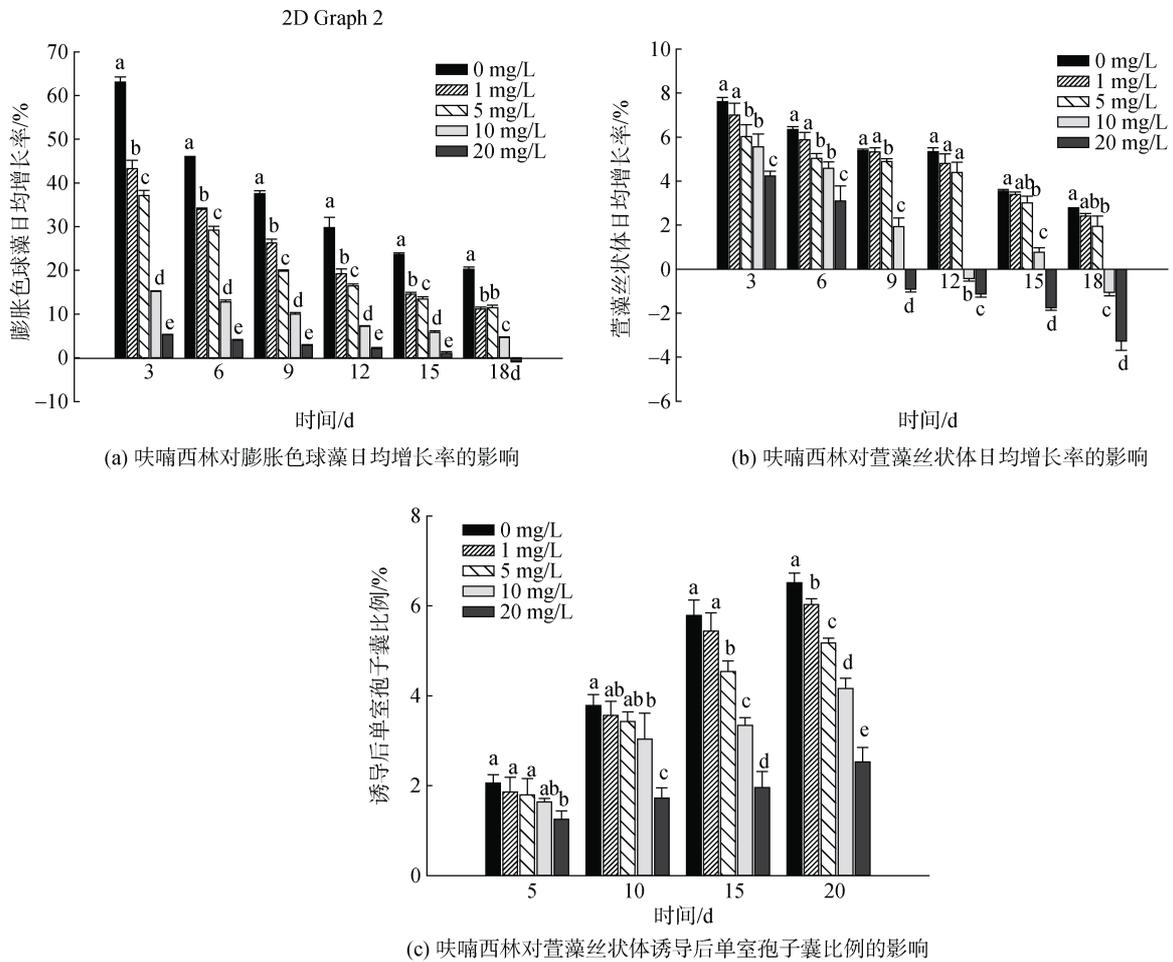


图 4 呋喃西林对膨胀色球藻与萱藻丝状体生长发育的影响

Fig. 4 Effects of NFZ on the growth and development of of filaments of *S.lomentaria* and *C.turgidus*

注: 不同字母表示差异性显著( $P < 0.05$ )

Notes: Different letters indicate significant differences( $P < 0.05$ )

连鹏等<sup>[20]</sup>曾报道, 浓度低于 10 mg/L 的恩诺沙星对亚心形扁藻(*Platymonas subcordiformis*)的生长有促进作用, 但浓度高于 10 mg/L 时会阻碍叶绿素的合成, 25 mg/L 恩诺沙星对亚心形扁藻的生长抑制率高达 79.50%。由于膨胀色球藻外具有胶质鞘, 低浓度的抗菌药可能很难进入藻细胞。在本研究中, 100 mg/L 实验组从第 12 d 开始萱藻丝状体日均增长率低于未加抗菌药的对照组但未出现负增长, 可能是因为恩诺沙星浓度过高阻碍了萱藻丝状体叶绿素的合成, 光合作用不能正常进行, 最终导致萱藻丝状体细胞生长滞缓。

磺胺嘧啶属于磺胺类抗菌药, 很多细菌的生命活动离不开叶酸<sup>[21]</sup>, 叶酸的合成需要对氨基苯甲酸(PABA)和二氢喋酸合成酶(DHPS)的参与, 磺胺类抗菌药的结构与PABA相似, 和PABA产生竞争拮抗作用, 从而干扰了PABA与DHPS合成叶酸<sup>[22]</sup>。磺胺

嘧啶可能通过阻碍膨胀色球藻叶酸的合成抑制其生长。赵玲等<sup>[23]</sup>曾报道, 高浓度(80 mg/L)的磺胺嘧啶会使球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*)细胞严重破损从而抑制其生长, 在本研究中, 高浓度(150 mg/L)的磺胺嘧啶会使膨胀色球藻细胞破碎成碎片, 细胞破碎后的形态与赵玲等报道的细胞受损后的状态一致。

呋喃西林属于硝基呋喃类抗菌药, 可以通过干扰细菌体内的氧化还原酶系统, 进而阻碍菌体的糖代谢过程, 致使细菌代谢过程发生紊乱<sup>[24]</sup>。但是, 滥用硝基呋喃类抗菌药会使药物残留在食物表面, 再通过食物链和食物网传递给人体, 产生致癌、致畸或致突变等毒副作用<sup>[25]</sup>。近年来, 呋喃西林已禁止作为渔药使用<sup>[26]</sup>, 在本研究中呋喃西林仅用于解决实验室范围内萱藻种质保存和丝状体扩增时膨胀色球藻的污染问题, 以比较在水产养殖中允许使用与禁止使用的抗

菌药之间作用效果的差异。在 1~20 mg/L 范围内, 呋喃西林对膨胀色球藻和萱藻丝状体的生长均产生了抑制作用, 20 mg/L 时对二者的抑制作用最强, 原因可能是高浓度的呋喃西林干扰了膨胀色球藻和萱藻丝状体细胞的氧化还原酶系统, 光合作用和呼吸作用不能正常进行, 代谢活动紊乱, 日均增长率降低。

恩诺沙星、磺胺嘧啶对膨胀色球藻的抑制作用及对萱藻丝状体生长发育的影响存在差异性。通过比较相同浓度的恩诺沙星和磺胺嘧啶对共培养体系的影响发现, 第 18 d, 100 mg/L 恩诺沙星和磺胺嘧啶实验组中膨胀色球藻的日均增长率分别为-2.67%和

-0.58%, 100 mg/L 恩诺沙星实验组中萱藻丝状体的部分细胞呈浅褐色, 原生质体收缩成一小团并聚集到细胞的一端(图 2b), 100 mg/L 磺胺嘧啶实验组中萱藻丝状体长势良好, 胞质充盈, 颜色为深褐色, 大多数细胞呈念珠状(图 2d)。停药 20 d 后, 50 mg/L 恩诺沙星实验组和 100 mg/L 磺胺嘧啶实验组萱藻丝状体生长发育未受影响, 丝状体细胞胞质充盈, 颜色为深褐色, 大多数细胞呈念珠状(图 5)。由此推断, 同一浓度下恩诺沙星对膨胀色球藻和萱藻丝状体的抑制作用强于磺胺嘧啶。对于恩诺沙星、磺胺嘧啶联合使用是否能更有效地清除膨胀色球藻, 有待进一步探讨。

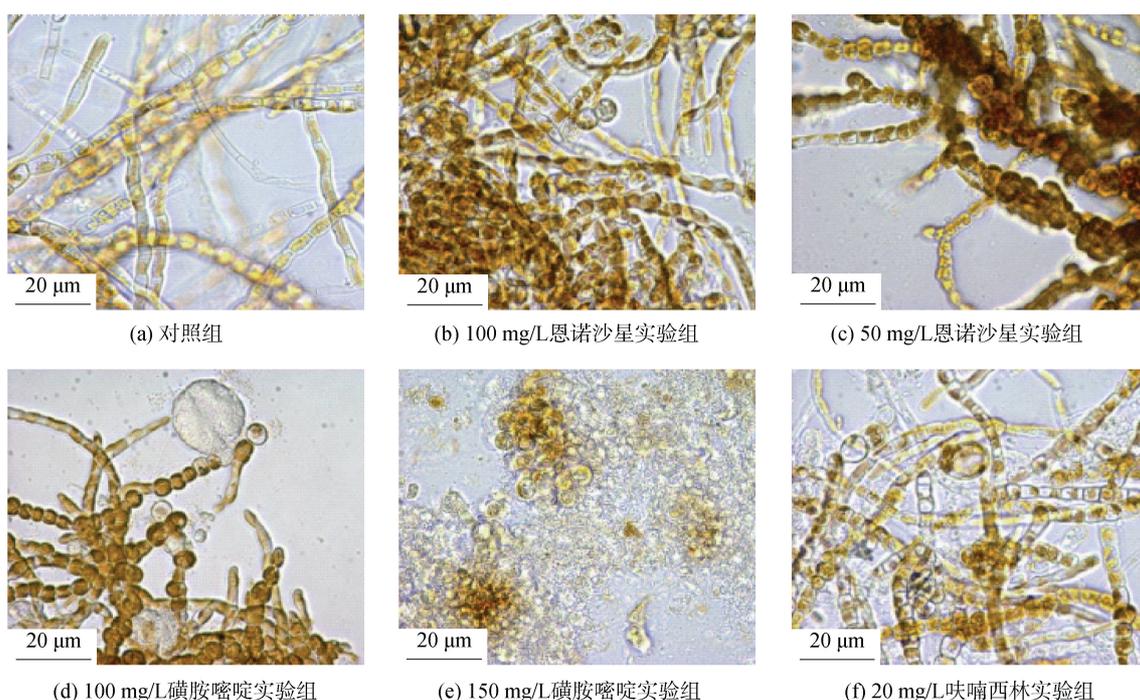


图 5 停药后 20 d 萱藻丝状体的生长情况

Fig. 5 Growth situations of filaments of *S. lomentaria* on the 20th day after stopping the antimicrobial

## 4 结论

研究表明, 50 mg/L 恩诺沙星和 100 mg/L 磺胺嘧啶既能有效抑制膨胀色球藻的生长, 又不影响萱藻丝状体的生长和单室孢子囊的发育, 可用于解决萱藻种质保存和丝状体扩增过程中膨胀色球藻的污染。100 mg/L 恩诺沙星和 150 mg/L 磺胺嘧啶对膨胀色球藻有更强的抑制效果, 但影响了萱藻丝状体的正常生长发育, 在实际应用中, 可根据具体情况选择合适的抗菌药浓度。在 1~20 mg/L 范围内, 呋喃西林不适于抑制和清除萱藻丝状体和膨胀色球藻共培养体系中的膨胀色球藻。

## 参考文献:

- [1] CLAYTON M N. The morphology, anatomy and life history of a complanate from of *Scytosiphon lomentaria* (Scytosiphonales, Phaeophyta) from southern Australia[J]. Marine Biology, 1976, 38(3): 201-208.
- [2] 邢永泽, 宫相忠, 尹宝树, 等. 萱藻不同发育阶段形态学及生活史的研究[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2010, 40(8): 98-102.  
XING Yongze, GONG Xiangzhong, YI Baoshu, et al. The morphology and life history of *Scytosiphon lomentaria*[J]. Periodical of Ocean University of China, 2010, 40(8): 98-102.
- [3] PARENTE M I, NETO A I, FLETCHER R L, et al.

- Morphology and life history of *Scytosiphon lomentaria* (Scytosiphonales, Phaeophyta) from the Azores1[J]. Journal of Phycology, 2003, 39(2): 353-359.
- [4] 张宇, 付晓婷, 林洪, 等. 萱藻营养品质的分析和评价[J]. 营养学报, 2011, 33(6): 619-623.  
ZHANG Yu, FU Xiaoting, LIN Hong, et al. Analysis and evaluation of nutritional quality of *Scytosiphon lomentaria*[J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2011, 33(6): 619-620, 623.
- [5] LEE H S, SUH J H, SUH K H. Preparation of antibacterial agent from seaweed extract and its antibacterial effect[J]. Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 2000, 33(1): 32-37.
- [6] 郭辽朴, 李洪军. 褐藻胶生物活性及在食品中应用的研究进展[J]. 四川食品与发酵, 2007(6): 9-12.  
GUO Liaopu, LI Hongjun. New progress in the research on bio activities and application of alginate[J]. Sichuan Food and Fermentation, 2007(6): 9-12.
- [7] 徐年军, 范晓, 韩丽君, 等. 山东沿海海藻抗肿瘤活性的筛选[J]. 海洋与湖沼, 2001, 32(4): 408-413.  
XU Nianjun, FAN Xiao, HAN Lijun, et al. Screening marine algae from Shan dong coast for antitumor activity[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2001, 32(4): 408-413.
- [8] AHN C B, JEON Y J, KANG D S, et al. Free radical scavenging activity of enzymatic extracts from a brown seaweed *Scytosiphon lomentaria* by electron spin resonance spectrometry[J]. Food Research International, 2004, 37(3): 253-258.
- [9] 牛荣丽, 范晓, 韩丽君, 等. 海藻抗 A-549 和 HL-60 肿瘤细胞及抗菌活性研究[J]. 中国海洋药物, 2003, 22(4): 1-4.  
NIU Rongli, FAN Xiao, HAN Lijun, et al. Anticancer and antibacterial activity of the methanol extracts from chinese algae[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2003, 22(4): 1-4.
- [10] ALI M, ELDAHAB M, HARB H, et al. Schistosoma mansoni: Antiparasitic effects of orally administered *Nigella sativa* oil and/or *Chroococcus turgidus* extract[J]. Acta Biologica Hungarica, 2016, 67(3): 247-260.
- [11] 马旺楠, 宫相忠, 张文健, 等. 抗生素对共培养的萱藻丝状体和膨胀色球藻生长的影响[J]. 水产学报, 2014, 38(9): 1466-1475.  
MA Wangnan, GONG Xiangzhong, ZHANG Wenjian, et al. Effects of antibiotics on the growth of filaments of *Scytosiphon lomentaria* and *Chroococcus turgidus* in the cocultured condition[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(9): 1466-1475.
- [12] 张红霞, 宫相忠, 高伟, 等. 四种抗生素对共培养的萱藻丝状体和膨胀色球藻的影响[J]. 水产学报, 2018, 42(12): 1906-1915.  
ZHANG Hongxia, GONG Xiangzhong, GAO Wei, et al. Inhibitory effect of four antibiotics on *Chroococcus turgidus* co-cultured to the filaments of *Scytosiphon lomentaria*[J]. Journal of Fisheries of China, 2018, 42(12): 1906-1915.
- [13] 罗燕萍, 白立彦, 李俊玲, 等. 211 株肠球菌属细菌对 18 种抗生素的耐药性特征[J]. 中华医院感染学杂志, 2004, 14(1): 80-82.  
LUO Yanping, BAI Liyan, LI Junling, et al. Resistance of 211 isolates of enterococci to 18 kinds of antibiotics[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2004, 14(1): 80-82.
- [14] 高伟, 宫相忠, 张必达. 环境因子对萱藻(*Scytosiphon lomentaria*) 丝状体孢子放散的影响[J]. 海洋与湖沼, 2012, 42(2): 244-248.  
GAO Wei, GONG Xiangzhong, ZHANG Bida. Effect of environmental factors on spore releasing of filaments of *Scytosiphon lomentaria*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2012, 42(2): 244-248.
- [15] 宫相忠, 高伟. 一种用于萱藻丝状体快速扩增的培养液及培养方法: CN104686369A[P]. 2015-06-10.  
GONG Xiangzhong, GAO Wei. The present invention relates to a culture medium and a culture method for rapid amplification of filaments of *Scytosiphon lomentaria*: CN104686369A[P]. 2015-06-10.
- [16] 萨姆布鲁克, D W 拉塞尔. 分子克隆实验指南[M]. 黄培堂(译). 北京: 科学出版社, 2002.  
SAMBROOK J, RUSSELL D W. Molecular cloning: a laboratory manual[M]. HUANG Peitang(Trans). Beijing: Science Press, 2002.
- [17] ANDERSON R A. Algal culturing techniques[M]. Amsterdam: Academic Press, 2005.
- [18] 唐建华, 姜波. 氧氟沙星药物的研究进展[J]. 中国兽药杂志, 2007, 41(9): 29-33.  
TANG Jianhua, JIANG Bo. Research progress of ofloxacin drugs[J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2007, 41(9): 29-33.
- [19] LI D C, GAO J F, DAI H H, et al. Long-term responses of antibiotic resistance genes under high concentration of enrofloxacin, sulfadiazine and triclosan in aerobic granular sludge system[J]. Bioresource Technology, 2020, 312: 123567.
- [20] 连鹏, 葛利云, 邓欢欢, 等. 两种喹诺酮类抗生素对亚心形扁藻的毒性效应研究[J]. 环境科学与管理, 2014, 39(5): 46-48.  
LIAN Peng, GE Liyun, DENG Huanhuan, et al. Toxic effects of two quinolone antibiotics on platymonassubcordiformis[J]. Environmental Science and Management, 2014, 39(5): 46-48.
- [21] HEVENER K E, YUN M K, QI J, et al. Structural studies of pterin-based inhibitors of dihydropteroate synthase.[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2009, 53(1): 166-177.

- [22] 芦金荣, 周萍. 化学药物[M]. 南京: 东南大学出版社, 2006.  
LU Jinrong, ZHOU Ping. Chemicals[M]. Nanjing: Southeast University Press, 2006.
- [23] 赵玲, 王丹, 尹平河, 等. 两种赤潮藻对 SD 和 SMX 的耐受性研究[J]. 海洋环境科学, 2012, 31(1): 6-10.  
ZHAO Ling, WANG Dan, YI Pinghe, *et al.* Tolerance of two red-tide algae to sulfadiazine and sulfamethoxazole[J]. Marine Environmental Science, 2012, 31(1): 6-10.
- [24] 陆小燕, 李庆欣, 赵勤, 等. 呋喃西林溶液的无菌检查方法验证[J]. 抗感染药学, 2009, 6(1): 9-31.  
LU Xiaoyan, LI Qingxin, ZHAO Qin, *et al.* Validation of aseptic test for furacilin solution[J]. Anti Infect Pharm, 2009, 6(1): 29-31.
- [25] ATHIKOMRATTANAKUL U, KATTERLE M, GAJOVICEICHELMANN N, *et al.* Development of molecularly imprinted polymers for the binding of nitrofurantoin[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2009, 25(1): 82-87.
- [26] 杨先乐. 水产养殖用药处方大全[M]. 北京: 化学工业出版社, 2009.  
YANG Xianle. Comprehensive Prescription of Medicine for Aquiculture[M]. Beijing: Chemistry Industrial Press, 2009.

## Effects of enrofloxacin, sulfadiazine and nitrofurazone on the growth of filaments of *Scytosiphon lomentaria* and *Chroococcus turgidus* in the co-cultured condition

LIU De-ju, ZHANG Min, ZHUANG Ying-rui, BI Meng, GONG Xiang-zhong  
(College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Received: Oct. 12, 2020

Key words: *Scytosiphon lomentaria*; filaments; *Chroococcus turgidus*; co-culture; antimicrobial

**Abstract:** In order to inhibit the growth of *Chroococcus turgidus* during the germplasm preservation and the amplification of filaments of *Scytosiphon lomentaria*, effects of enrofloxacin, sulfadiazine and nitrofurazone on the growth of filaments of *S. lomentaria* and *C. turgidus* in the co-cultured condition are studied by experimental ecology methods. Results indicated that: ①In the range of 5~100mg/L, 50mg/L enrofloxacin is suitable for inhibiting *C.turgidus* from the germplasm preservation and the amplification of filaments of *S.lomentaria*. The average daily growth rate of *C.turgidus* is -2.67% and the development of unilocular sporangia of filaments of *S.lomentaria* is well on the 18th day; ②In the range of 10~150mg/L, 100mg/L is the optimum concentration of sulfadiazine to inhibit the growth of *C.turgidus*. On the 18th day, the average daily growth rate of *C.turgidus* is -0.58%, the average daily growth rate of *S.lomentaria* is 2.91% and the development of unilocular sporangia of filaments of *S.lomentaria* is well; The growth of filaments of *S.lomentaria* is in bad condition and unilocular sporangia was poorly developed at 150mg/L; ③In the range of 1~20 mg/L, 20 mg/L nitrofurazone has the inhibitory effect on *C.turgidus* and the filaments of *S.lomentaria*, the average daily growth rate of *C.turgidus* is -0.78% on the 18th day, and at the same time, the normal growth of filaments of *S.lomentaria* also be affect, and the unilocular sporangia developed poorly. All this experiments have proved that: 50mg/L enrofloxacin and 100mg/L sulfadiazine are suitable for solving the contamination of *C.turgidus* during the germplasm preservation and amplification of filaments of *Scytosiphon lomentaria*.

(本文编辑: 杨悦)