

异硫氰酸苄酯(BITC)防污损效果研究

——对3种海洋细菌的抑菌作用*

孙世春¹ 赵锡光¹ 孙建华¹ 刘 匆¹ 舒 勇¹

牟哲松² 王雁鸣³

(¹青岛海洋大学水产养殖开放实验室 266003)

(²浙江省海洋水产养殖研究所 温州 325005)

(³国家海洋局海水淡化研究所 天津 300192)

提要 异硫氰酸苄酯(BITC)的抑菌试验表明:BITC 对3种海洋细菌(假单胞菌 *Pseudomonas* sp. T108株、假单胞菌 *Pseudomonas* sp. E204株和异单胞菌 *Altermonas* sp. E113株)的完全抑制浓度分别为4.0,1.0和2.0 mg/L,50 %抑制该3种海洋细菌生长(相对生长率)的浓度分别为2.67,0.37和0.44 mg/L。

关键词 异硫氰酸苄酯,海洋细菌,抑菌作用

异硫氰酸酯类(Isothiocyanates)亦称芥子油,是一类在自然界中广泛存在的化合物,常见于十字花科(Cruciferae)、旱金莲科(Tropaeolaceae)、番木瓜科(Caricaceae)、辣木科(Moringaceae)等植物的果实和种

* 国家自然科学基金资助项目49376276号。

青岛海洋大学生命学院徐怀恕教授实验室为本研究提供菌种,战文斌教授、叶林博士对本文提出修改意见,谨致谢忱。

收稿日期:1998-04-30;修回日期:1998-08-10

子中。因异硫氰酸酯类对细菌、真菌、寄生虫等病原生物具有抗性作用, Wehrspann, Bacikova, Drobnica, Profft 等在六七十年代曾对其抗生活性进行了大量研究, 异硫氰酸苄酯 (Benzylisothiocyanate, BITC) 是其中抗生活性较强的一种。

海洋污损生物对海洋工程、海洋运输、海水养殖等都具有严重危害, 其种类很多, 几乎各个主要门类的海洋生物中都有。常见的海洋污损微生物则是一些具粘附性的种类如弧菌属 (*Vibrio*)、假单胞菌 (*Pseudomonas*) 等^[1]。长期以来, 人们为防治海洋污损生物进行了大量的研究工作, 迄今, 最有效的办法仍是使用化学防污剂。为探讨 BITC 用于防治海洋污损生物的可行性, 作者试验了 BITC 对不同门类多种海洋生物的毒性作用和防污损效果, 本文首次报道其对3种海洋细菌的抑菌作用。

1 材料与方法

1.1 材料

异硫氰酸苄酯 (BITC) (C_6H_5NS) 由国家海洋局海水淡化研究所合成并提供。

3种海洋细菌, 假单胞菌 (*Pseudomonas* sp. T108株)、假单胞菌 (*Pseudomonas* sp. E204株) 和异单胞菌 (*Altermonas* sp. E113株) 均由青岛海洋大学海洋生命学院微生物实验室提供。

1.2 方法

将 BITC 定量溶解到无水乙醇中, 然后按设计的试验浓度 (根据预备实验的结果确定) 稀释到灭菌的 2216E 液体培养基中, 培养基中作为溶剂的乙醇含量不大于 1%, 对照组的培养基亦添加等量乙醇。试验在试管中进行, 每只试管分装液体培养基 4 ml 或 5 ml, 每个浓度设 4 个平行。

以微量进样器接种培养 24 h 的液体菌种 (接种密度分别为: 假单胞菌 T108, 5.68×10^6 细胞/ml; 假单胞菌 E204, 4.08×10^7 细胞/ml; 异单胞菌 E113, 1.43×10^7 细胞/ml), 于频率为 84 次/min 的摇床培养 24 h 后测定细胞密度, 培养温度为 25 ± 2 °C。细菌密度用光密度法 (使用仪器为 721 分光光度计) 测定。

据 $k = (\ln N_t - \ln N_0) / 24$ 计算细菌的相对生长率 (其中 k 为相对生长率; N_t 为试验结束时细菌密度, N_0 为试验开始时细菌的接种密度)。用 STATISTICA 软件处理数据求出回归方程 ($k = a + bx$, 其中 x 为 BITC 浓度)、进行回归显著性检验并作图 (以 BITC 浓度为横坐标, 生长率为纵坐标)。

2 结果

2.1 BITC 对假单胞菌 T108 株生长的影响

BITC 对假单胞菌 T108 株生长影响的试验结果见图 1。当 BITC 浓度 < 2 mg/L 时, 随 BITC 浓度的升高, 细菌生长率的下降不明显; 当 BITC 浓度 ≥ 2 mg/L 时, 随着浓度的升高, 细菌生长率呈直线下降 [$k = 0.411 - 0.129 \cdot x$; $F(1, 10) = 236.3$, $p < 0.01$]; 当 BITC 浓度 $x \geq 4$ mg/L (实验浓度为 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0 mg/L) 时, T108 的生长被完全抑制。对照组相对生长率为 0.195, 其 50% 为 0.097, 使生长率下降 50% 的 BITC 浓度为 $(0.097 - 0.411) / (-0.129) = 2.67$ mg/L。

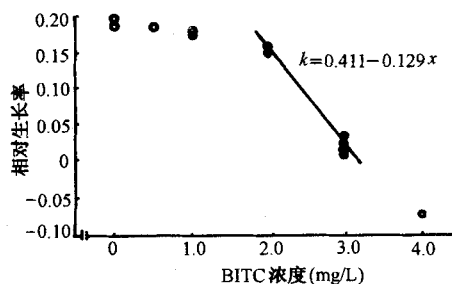


图 1 BITC 对假单胞菌 T108 株生长的影响

Fig. 1 The effect of BITC on the growth of *Pseudomonas* sp. (T108)

2.2 BITC 对假单胞菌 E204 株生长的影响

BITC 对假单胞菌 E204 株生长影响的试验结果见图 2。随着 BITC 浓度的升高, 细菌的生长率呈直线下降 [$k = 0.136 - 0.183x$; $F(1, 10) = 236.3$, $p < 0.01$]. 当 BITC 浓度 $x \geq 1$ mg/L (实验浓度为 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, 8.0 mg/L) 时, E204 的生长被完全抑制。

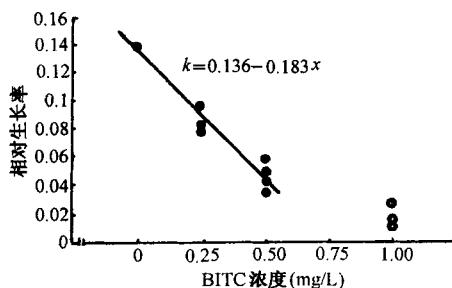


图 2 BITC 对假单胞菌 E204 株生长的影响

Fig. 2 The effect of BITC on the growth of *Pseudomonas* sp. (E204)

3.0, 4.0, 6.0, 8.0 mg/L) 时, E204 的生长被完全抑制。根据直线方程 $k = 0.136 - 0.183x$, 使 E204 相对生长率降低 50% 的 BITC 浓度为: $-a/2b = -0.136 /$

$[2 \times (-0.183)] = 0.37 \text{ mg/L}$ 。

2.3 BITC 对异单胞菌 E113 株生长的影响

BITC 对异单胞菌 E113 株生长影响的试验结果见图3。随着 BITC 浓度的升高,细菌的生长率呈直线下降 $[k=0.065-0.074x; F(1,14)=268.4, p<0.01]$ 。当 BITC 浓度 $x \geq 1 \text{ mg/L}$ (实验浓度为1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, 8.0 mg/L) 时, E113 的生长被完全抑制。根据直线方程 $k=0.065-0.074x$, 使 E113 相对生长率降低50%的 BITC 浓度为: $-a/2b = -0.065/[2 \times (-0.074)] = 0.44 \text{ mg/L}$ 。

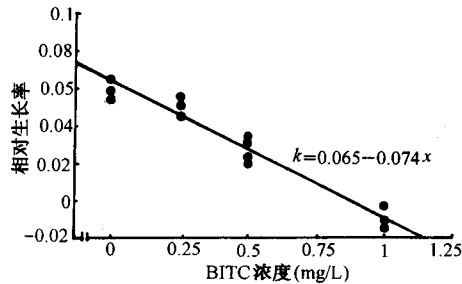


图3 BITC 对异单胞菌 E113 株生长的影响

Fig. 3 The effect of BITC on the growth of *Alteromonas* sp. (E113)

3 讨论

前人关于 BITC 抗生活性的研究主要针对非海洋细菌和真菌,其对不同微生物的抑菌效果差别较大,如 Nemec 等1967年发现 BITC 对革兰氏阳性和阴

性细菌均有抑制作用,对所研究的5种细菌的最低抑制浓度为1~25 mg/L^[2]。Drobnica 等1966年报道, BITC 对黑曲霉 (*Aspergillus niger*)、环青霉 (*Penicillium cyclopium*) 等14种真菌的 ED₁₀₀ 为1.5~194.0 mg/L (14 d 实验以生物量干重为指标), Wehrspann 1970年报道30 mg/L 对多种酵母的生长具有抑制作用, Weuffen 等1967年则报道完全抑制真菌生长的浓度为4 mg/L。BITC 对本文所试3种海洋细菌的完全抑制浓度分别为4.0, 1.0和2.0 mg/L,使相对生长率下降50%的浓度分别为2.67, 0.44和0.37 mg/L,显示出这些海洋细菌对 BITC 具较高的敏感性。

从本文的实验结果看, BITC 对不同海洋细菌的抑菌作用是有差别的,异单胞菌 (E113 株) 和假单胞菌 (E204 株) 对 BITC 的敏感性要比假单胞菌 (T108 株) 高,而且抑菌效果随 BITC 浓度改变的变化规律在3种细菌也有所不同,低浓度的 BITC 即可引起异单胞菌 (E113 株) 和假单胞菌 (E204 株) 相对生长率的直线下降,而只有 BITC 增加到一定浓度 (2.0 mg/L) 后, T108 的相对生长率才随浓度的升高直线下降,这说明菌种本身的特性对 BITC 的抑菌效果具有一定的影响。要揭示 BITC 防海洋细菌污损的效果,尚需进行更多种细菌的试验,特别是要进行直接的海上防污效果检验。

主要参考文献

- 1 黄宗国、蔡如星. 海洋污损生物及其防除, 上册. 北京: 海洋出版社, 1984. 270~271

STUDIES ON THE ANTIFOULING EFFECT OF BENZYLISOTHIOCYANATE (BITC)

— THE ANTIBIOTIC ACTIVITY OF BITC ON THREE MARINE BACTERIA

SUN Shi-chun¹ ZHAO Xi-guang¹ SUN Jian-hua¹ LIU Cong¹ SHU Yong¹ MU Zhe-song²
WANG Yan-ming²

(¹Aquaculture Research Laboratory, Ocean University of Qingdao 266003)

(²Zhejiang Mariculture Institute, Wenzhou 325005)

(³Institute of Desalination of Seawater, State Oceanic Administration, Tianjin 300192)

Received: Apr. 30, 1998

Key Words: Benzylisothiocyanate (BITC), Marine bacteria, Antibacterial activity

Abstract

The antibiotic activity of BITC on marine bacteria was tested. The BITC concentrations inhibiting 100 % growth of *Pseudomonas* sp. (T108), *Pseudomonas* sp. (E204) and *Altermonas* sp. (E113) were 4.0 mg/L, 2.0 mg/L and 1.0 mg/L respectively. The concentrations inhibiting 50 % growth (relative growth rate) of these three bacteria were 2.67 mg/L, 0.37 mg/L and 0.44 mg/L respectively.