

条斑紫菜缩曲症的研究*

马家海 张礼明¹ 吉传礼² 王汉清¹ 王 霏
袁 明³ 沈 旺³ 周建平 顾善邦⁴

(上海水产大学, 上海 200090)

(1 江苏省海洋水产研究所, 南通 226007)

(2 南通市水产局, 南通 226006)

(3 如东县水产局, 如东 226400)

(4 启东市水产局, 启东 226241)

摘 要 本文通过对海区调查, 运用切片染色技术等实验方法和电镜观察, 研究了条斑紫菜的缩曲症, 并对患缩曲症的条斑紫菜进行了初步的品质分析, 结果表明, 缩曲症虽然在外形上与癌肿病十分相似, 但是其病变部位没有出现巨大细胞或多核现象等癌肿病的特有病症。研究还表明, 由于缩曲症普遍存在于栽培紫菜的中、后期, 且造成紫菜品质低劣, 因而对紫菜质量的影响较大。

关键词 条斑紫菜, 缩曲症, 癌肿病

1970年斋藤雄之助首次确认了缩曲症的存在, 且在此后“紫菜的病害”一书中列入专题^[1], 明确地提出该症与癌肿病^[2~4]的异同之处。在国内, 对癌肿病的报导始于70年代^[5], 之后有许多学者对此作了报导, 并命名为“鲨鱼皮”病或肿瘤病等^[6~9], 同时对该病的外观症状、光镜观察的初步结果作了描述。作者通过近年来对海区栽培紫菜的病害调查和室内培养观察, 确认了缩曲症的普遍存在。由于缩曲症与癌肿病具有极为相似的外观症状, 长期以来, 在国内, 该病虽然普遍存在于栽培条斑紫菜, 但一直没有引起人们注意。本文对条斑紫菜缩曲症的研究, 在国内为首次报道。

1 材料与方法

1995年以来, 每年12月至翌年4月采自江苏沿海条斑紫菜栽培海区网帘上的患病紫菜叶状体, 经阴干处理至表面无水分, 包装于塑料袋后密封低

温、尽快带回实验室, 保存于-20~-18℃冰箱内。

将刚取回的或保存于冰箱中的患病紫菜叶状体用海水培养复苏, 经徒手切片或石蜡切片, 再经H. E染色^[10]后, 进行显微观察。

取患缩曲症的藻体, 置于预冷的磷酸缓冲液调配成4%戊二醛液中固定7~10 d, 饿酸中再固定2 h, 然后顺浓度梯度酒精和丙酮逐级脱水, 环氧树脂浸透包埋, 超薄切片, 醋酸铀—柠檬酸铅双重染色进行透射电镜观察。

2 结果

2.1 缩曲症症状

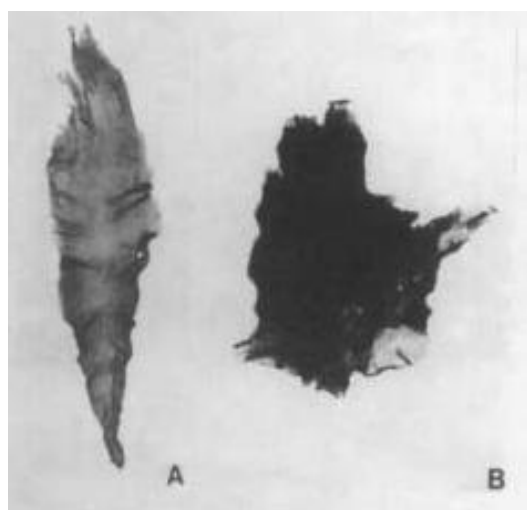
2.1.1 海区调查 正常的条斑紫菜叶状体呈披针形、长卵形, 中、后期一般表现为亚卵形或卵形, 紫红色或略带蓝绿色, 表面光滑, 具光泽(图1-A)。发病初期, 叶片上有很多细小的斑状或山脉状突起, 藻体难以展平, 呈泡泡纱状, 表面粗糙不平。严重时藻体呈木耳状, 无光泽, 弹性很差, 固着力明显减弱, 最终紫菜流失。

从海区的栽培紫菜发病情况来看, 10~11月的

收稿日期: 1998-01-21

* 农业部重点科研项目 85-95-07-03 以及江苏省水产局重点科研项目 94-02

幼苗和成菜期藻体基本上没有发现或者很难发现患病的藻体。随着紫菜的生长,一些藻体颜色转暗紫红色,光泽变差,呈现出缩曲症的初期症状,之后,发病的个体逐渐增多,与正常紫菜呈现混生状态,到了紫菜生长季节的中、后期,发病紫菜成簇成堆,此时藻体往往为亚卵形或卵形(图 1-B)。从海区的分布情况可见,偏高潮位的筏架上的紫菜发病较之低潮位的严重;每一筏架上的向光面比背光面的藻体患病严重;每张网帘上四周网框上的紫菜发病较中间下垂部分来得严重,若中央部分开始流失,网框四周的患病紫菜已流失殆尽。



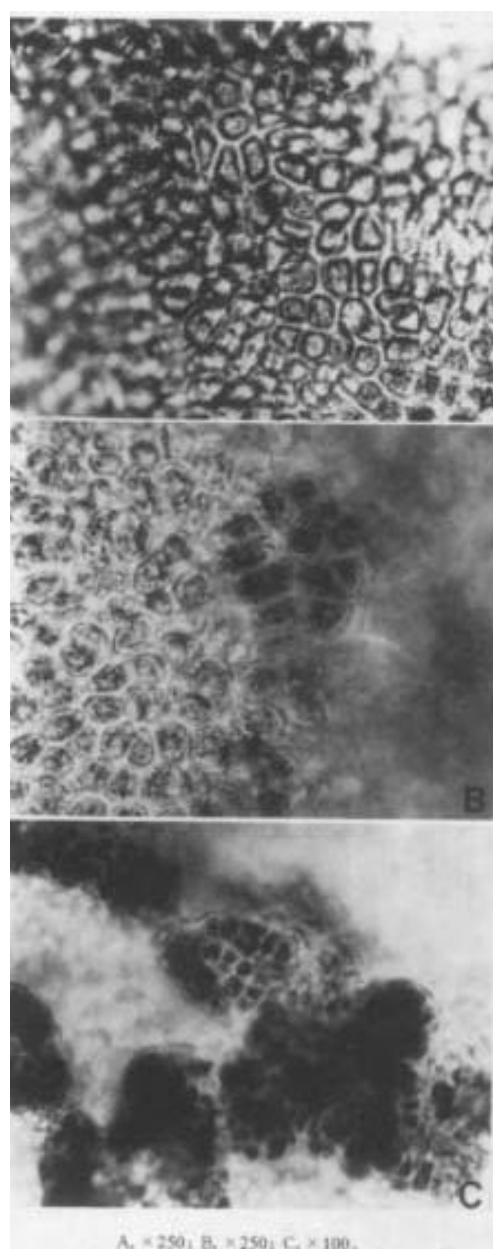
A 正常的叶状体 Normal thalli; B 患有缩曲症的叶状体 Thalli with crape disease.

图 1 条斑紫菜叶状体

Fig.1 The thalli of *P. yezoensis*

2.1.2 显微观察 光镜观察,患病藻体叶面凹凸不平,细胞无序突起(图 2)。初期这种突起仅为个别细胞(图 2-A),之后逐渐增多(图 2-B),以至到了发病的中、后期,整个藻体呈现缩曲状(图 2-C)。在发病的初、中期,病叶上健康部分的细胞尚可见生殖细胞形成,随着病情的发展,细胞分裂呈现无序状态,生殖细胞难以形成和发育。

观察藻体的横切面可见,患病的初期,由 1 个或多个细胞组成的不定形细胞隆起形成突起(图版 I-1,2),之后细胞隆起的层数和部位逐渐增多,细胞的排列发生紊乱,病变部位的细胞出现多层化,形状变成分歧状(图版 I-3),半球状(图版 I-4,5),双面突起状(图版 I-6),斜叉状(图版 I-7),斜桌面

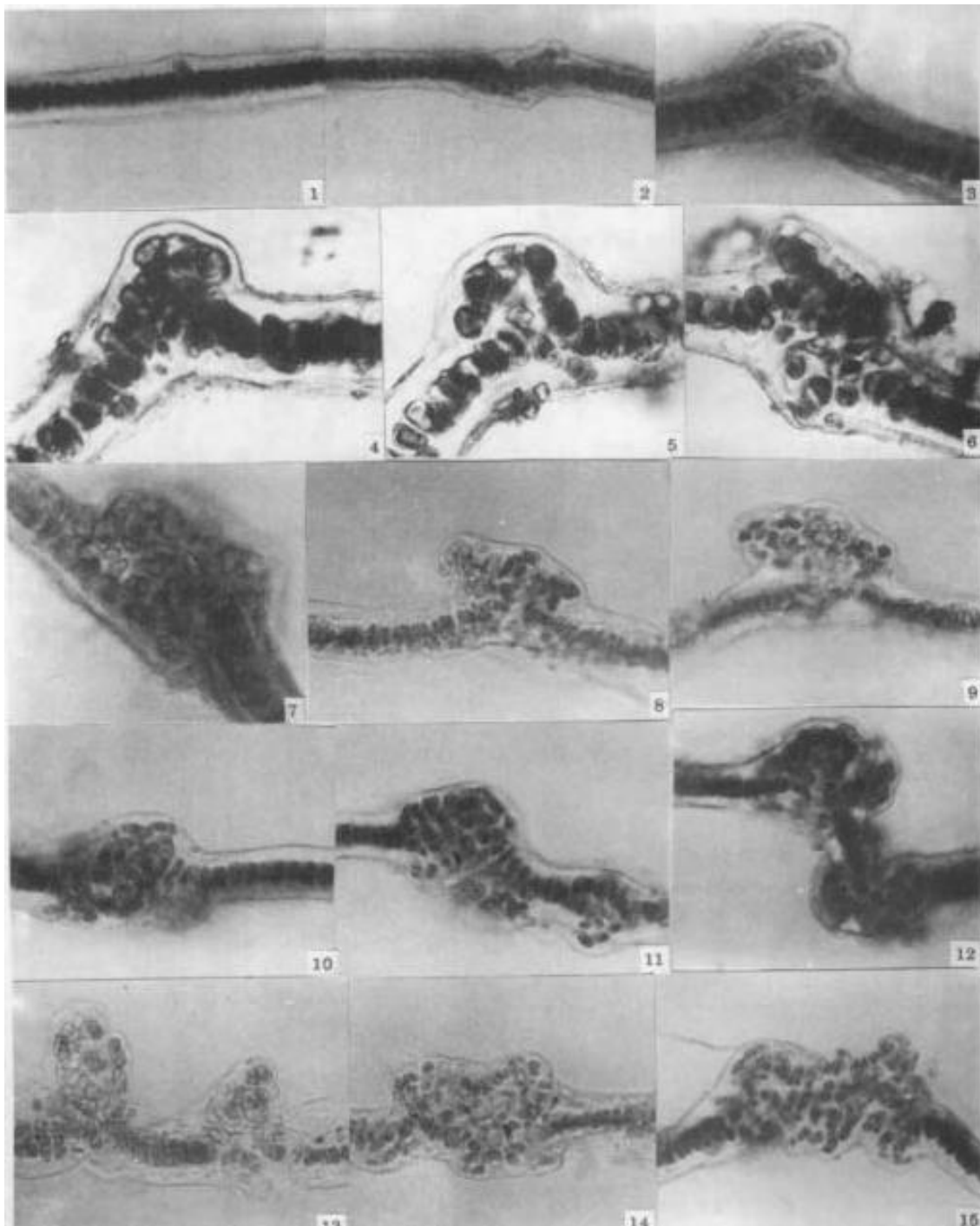


A, $\times 250$; B, $\times 250$; C, $\times 100$.

图 2 患缩曲症的条斑紫菜表面观的各种类型

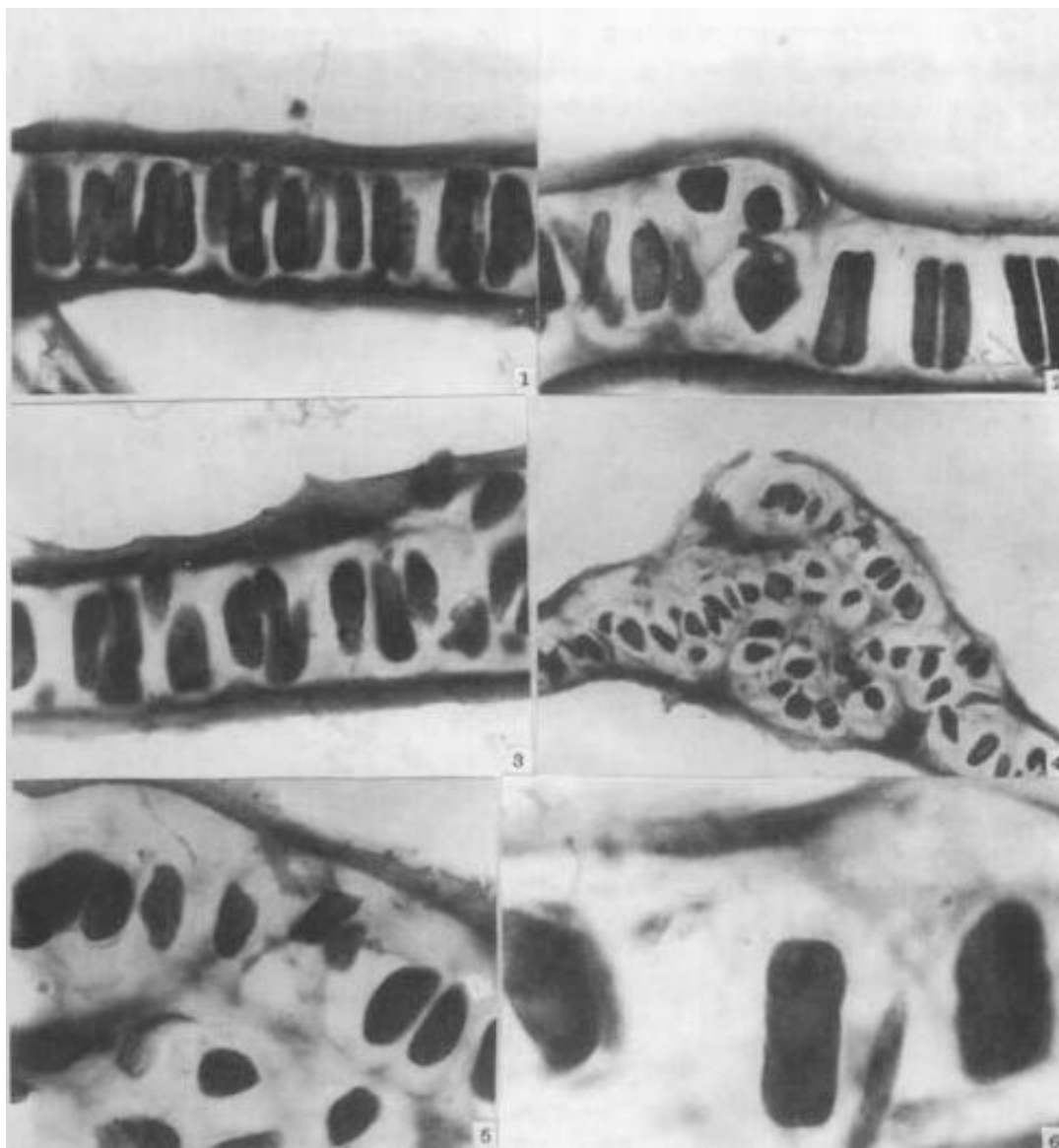
Fig.2 Various type in surface views of *P. yezoensis* suffering from crape disease

状(图版 I-8),突桌面状(图版 I-9),结球状(图版 I-10,11),哑铃状(图版 I-12),双峰状(图版 I-13),以及其他很多非规则形状(图版 I-14,15)。从病变部位的横切面显示,细胞是以横分裂为主的多方向无序状态分裂,从而导致了叶状体病变



图版 I Plate I

1、2、8~15, $\times 100$; 3、6、7, $\times 150$; 4、5, $\times 200$.



图版 II Plate II

1, $\times 500$; 2, 3, $\times 100$; 4, $\times 200$; 5, 6, $\times 800$.

部位细胞的多层化。同时,这种病变细胞的形态也不同于正常细胞的长椭圆形,而大多呈现圆球形、亚圆球形等其他形状。值得一提的是,本研究的镜检中一直没有观察到作为癌肿病特征之一的巨大细胞。

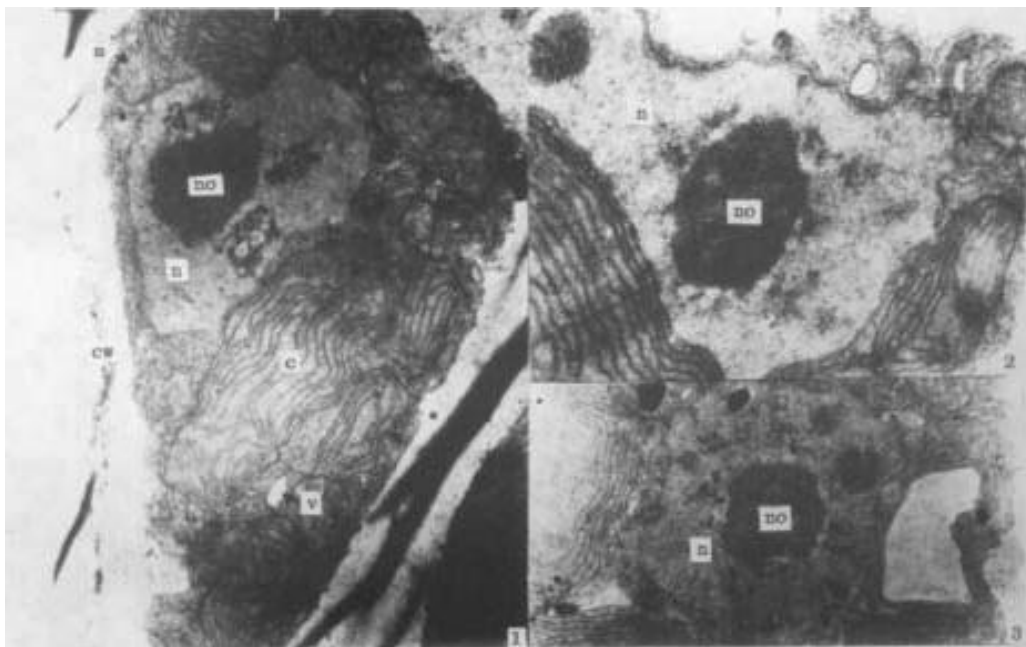
正常的条斑紫菜叶状体是由 1 层细胞构成的,细胞呈长椭圆形,通过 H.E 染色,每个细胞中含 1 个细胞核(图版 II - 1)。患缩曲症的病变细胞分裂呈无序状态,大多细胞变为圆球形或亚圆球形,但仍

具 1 个细胞核(图版 II - 2, 3),即使病变部位越隆越高,细胞多层化排列,细胞内还是没有出现多核现象(图版 II - 4, 5)。众所周知,紫菜叶状体的细胞分裂可在叶片的任何部位发生,其分裂面也总是与叶片的表面垂直^[11]。在发生缩曲病的无序分裂时,这种分裂向可能与叶的表面呈水平向(图版 II - 6)。

2.1.3 电镜观察 正常的紫菜叶状体细胞中的液泡是随着细胞的生长,其个数逐步增多并分散在细胞质中^[12]。鬼头钧^[13]还指出,患癌肿病的叶状体

细胞中液泡仅出现在细胞的某个部位,病情越重,液泡越发达,细胞质相应减少,同时在液泡中可观察到由数层同心圆的膜组成的特殊膜状结构,线粒体等细胞器相应减少,红藻淀粉几乎看不到。本研究的电镜观察结果表明,患缩曲症的紫菜叶状体细胞的细胞质中出现一些液泡,但个数很少,体积也不大,而且在液泡中没有出现作为癌肿病的病变细胞中带有特征性的特殊膜状结构,与正常的紫菜叶状体细胞相比,红藻淀粉几乎很少被发现(图版Ⅲ-1)。

藤山虎也^[3,4]在研究癌肿病时曾指出紫菜癌肿病变细胞中存在多核现象,本研究的光镜和电镜观察结果均没有发现缩曲症的细胞中存在多核现象。但是,与正常紫菜细胞相比,核仁往往是多数的。Ishikawa^[14]等都曾证实过多核仁现象在正常的紫菜叶状体细胞中是存在的,而本研究观察表明,患缩曲症的紫菜叶状体细胞内复数核仁的出现频率是很高的(图版Ⅲ-2,3)。



图版Ⅲ 患缩曲症的条斑紫菜细胞电镜照片

PlateⅢ Electron micrograph of cell suffering from crape disease

1, $\times 12\ 000$; 2, $\times 18\ 000$; 3, $\times 12\ 000$; cw 细胞壁 cell wall; c 色素体 pigment; v 液泡 vacuole;
m 线粒体 mitochondrion; n 核 nucleus; no 核仁 nucleolus.

2.2 品质分析

2.2.1 色素含量的变化 用DMF改良法^[15]测定正常、病轻和病重的3种条斑紫菜叶状体的叶绿素a、类胡萝卜素的含量,结果见表1。

由表1可见,随着病情的发展,叶绿素a、类胡萝卜素含量逐渐降低,从正常到病重的条斑紫菜,叶绿素a含量下降72.2%,类胡萝卜素下降63.2%。

2.2.2 蛋白质含量的变化 用微量凯氏定氮法^[16]测定正常、病轻和病重的3种条斑紫菜粗蛋白质含量分别为34.28%、26.45%和20.96%。结果表明,随着病情的加重,蛋白质含量逐渐降低。从正常的

表1 患缩曲症的条斑紫菜叶绿素a、类胡萝卜素含量变化

Table 1 Content changes of chlorophyll - a and carotenoids in

色素 pigment	<i>P. yezoensis</i> mg/g		
	正常 normal	病轻 diseased Slightly	病重 diseased seriously
叶绿素a chlorophyll - a	4.910	3.902	1.366
类胡萝卜素 carotenoids	1.808	1.480	0.665

到病重的条斑紫菜叶状体蛋白质含量下降38.9%。

从以上作为紫菜质量标准的二大要素—色素、蛋白质含量来看,患缩曲症的紫菜品质是很差的。

3 讨论

3.1 缩曲症与癌肿病的异同

本文报道的缩曲症与我国自 70 年代以来许多学者所报道的癌肿病(或称“鲨鱼皮”病、肿瘤病)有很多相似之处:藻体外观皱缩,病叶的颜色由紫红色转到蓝绿色,暗褐色乃至为黑黄色,呈现厚皮革状或木耳状,无光泽,肉眼可明显地看到许多小突起,光镜观察细胞分裂呈无序化,排列不规则,多层次。但是研究的结果也表明,本文报道的采自江苏沿海的条斑紫菜叶状体所患的病害,与斋藤雄之助所报道的缩曲症是十分一致的。它与癌肿病的相异之处,首先在于癌肿病的病变细胞通常为异常的球形巨大细胞,且往往多层化,构成隆起或凹陷的肿瘤状,本研究的观察结果细胞分裂也出现多层的无序分裂,但一般不构成肿瘤状,而且不出现异常的球形巨大细胞,病变部位的细胞与正常细胞相比,外形稍呈圆球状或亚圆球状;其次癌肿病的病变细胞核异常增大,且具多核现象,而缩曲症的病变细胞中,未发现大核或多核现象;再者,缩曲症的病变细胞中多见复数核仁现象,在正常的细胞中也有此现象,虽然与癌肿细胞一样,线粒体、高尔基体、红藻淀粉等明显减少,但是,液泡分散于细胞质内,液泡中也没有发现特殊的膜状结构。由此,作者把江苏省沿海栽培紫菜发生的外观类似癌肿病的病害确认为缩曲症。

3.2 缩曲症病因初探

缩曲症的病因目前还不清楚,右田清治^[17]曾指出其发病的原因很可能是工业污水或其他化学因子或细菌引起的,由于这些环境因子的诱导,紫菜细胞分裂发生异常,细胞形成多层,排列混乱,持续下去叶片就形成缩曲。调查发现,光照过强,潮位过高的海区发病率较高,遇到暖冬季节和污染严重的海区也较多发,因而可以认为海况环境条件是缩曲症的诱发因子之一。另外,本研究采用正常的实验室培养条件^[18],也有极少量的紫菜产生了缩曲症的典型症状,因而可以认为紫菜存在着个体差异,本身可能也具有潜在的发病机制。条斑紫菜是由一层细胞构成的膜状体,其每个细胞又是一个相对独立的个体,都能进行分裂增殖,只要某个部位的细胞分裂面产生异常,就易导致缩曲症的发生。有关缩曲症的发病机制尚待进一步研究。

3.3 缩曲症的危害与防治对策

与我国已报导的壶状菌病、赤腐病等传染性的紫菜病害相比较,缩曲症是一种发病较为缓慢,病程较长的病害。患病的紫菜生长缓慢或停止,藻体往往因固着力差而流失,由于发病多在栽培的中、后期,患病的个体也有多有少,因而对产量的影响不十分明显。但是本研究结果表明,患病的藻体色素含量减少,色泽变黑变黄且毫无光泽,蛋白质含量也大大地降低,加工成的菜饼,嚼如菜渣,质量极差。尤其是这种病害常混于正常的紫菜叶状体中,加工后形成菜饼上的死斑,很大的程度上影响紫菜的质量。由于该病主要出现在条斑紫菜栽培的中、后期,采用冷藏网技术可大大地降低患病程度,有助于对该病害的防治。

致谢:本研究得到江苏省水产局科教处的大力支持,在此深表谢意。

参 考 文 献

- 1 日本水产学会.のりの病气.东京:恒星社厚生阁,1978.52~58
- 2 新崎盛徳,等.ノリの病害,特に1959年漁期東京湾奥部でみられた癌腫病,壺状菌病について.日本水产学会志,1960,26(11):1074~1081
- 3 藤山虎也.ノリの癌腫病.水产増殖,1957,4(4):69~73
- 4 藤山虎也.アサクサノリ癌腫病の細胞化学的研究.見:水产学集成.东京:东京大学出版社,1957.829~840
- 5 中国科学院海洋研究所藻类实验生态组,藻类分类形态组.条斑紫菜人工养殖.北京:科学出版社,1978.147
- 6 刘恬敬,等.中国坛紫菜(*Porphyra haitanensis* T. J. Chang et B. F. Zhang)人工增殖的研究.海洋水产研究,1981(3):19~67
- 7 曾呈奎,等.海洋栽培学.上海:上海科学技术出版社,1985.209~210
- 8 张佑基.紫菜养殖.北京:农业出版社,1988.130
- 9 缪国荣.海藻养殖.北京:海洋出版社,1992.131
- 10 郑若云.实用细胞学技术.北京:科学出版社,1980.3~50
- 11 Smith G M. Cryptogamic botany. Vol. 1: Algae and Fungi. New York: McGraw-Hill Book Company Inc. 1955. 401~409
- 12 鬼头钧,等.アマノリ类电子显微镜的研究.东北水产研究所报告,1968,28:141~149
- 13 鬼头钧.のり癌腫病葉の微細構造.东北水产研究所报告,1972,32:77~82
- 14 Ishikawa M. Cytological studies on *Porphyra tenera* Kjellm. I Bot Mag Tokyo, 1921, 35:206~218
- 15 焦念志.一种新的叶绿素高效率萃取剂及应用方法.海洋科学,1991(3):50
- 16 陈曾璽,等.生物化学实验.北京:中国科学技术出版社,1994.7~11
- 17 右田清治.今漁期の反省と来たる漁期の対策.海苔タイムス,

- 1981, 944 号
- 18 Provasoli L. Media and prospects for the cultivation of marine algae. In: A Watanabe, A Hattori eds. Cultures collections of algae. Proc. U. S. Japan Conf. Hakone. Sept. 1966. Jap Soc Pl Physiol, 1968. 63--75

Studies on crape disease of *Porphyra yezoensis*

Ma Jiahai Zhang Liming¹ Ji Chuanli² Wang Hanqing¹
Wang Fei Yuan Ming³ Shen Wang³ Zhou Jianping Gu Shanbang⁴
(Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090)
(1 Marine Fisheries Research Institute of Jiangsu Province, Nantong 226007)
(2 Fisheries Bureau of Nantong City, Nantong 226006)
(3 Fisheries Bureau of Rudong County, Rudong 226404)
(4 Fisheries Bureau of Qidong City, Qidong 226241)

Abstract The present work is concerned with the crape disease of *Porphyra yezoensis* which occurred during the midlate stage of laver cultivation along Jiangsu coast. The results show that this disease is quite different from the tumour disease. Besides, according to the preliminary quality test on the laver suffering from the crape disease, it was found that the effect of this disease on the quality of dried laver was obvious.

Key words *Porphyra yezoensis*, crape disease, tumour disease