

褐藻酸降解菌引起海带病烂的组织学研究*

HISTOLOGY STUDY ON THE ROT DISEASE OF *Laminaria japonica* Aresch CAUSED BY ALGALIC ACID DECOMPOSING BACTERIA

杨震 唐学玺 宫相忠 方芳 吕文涛

(青岛海洋大学海洋生命学院 266003)

关键词 海带,褐藻酸降解菌,组织学

多年来,科技工作者为解决海带(*Laminaria japonica*)病烂^[1]问题作了大量的工作,从中不难看出,海带的病烂是由多方面引起的,致病的原因也非常复杂,其中微生物作用是不可忽视的重要因素之一。陈驹等1981,1984年通过一系列研究表明,褐藻酸降解菌是海带藻体上的主要附生细菌,而且在特定条件下参与海带的腐烂过程,导致烂苗或掉苗。本实验用褐藻酸降解菌对正常海带进行人为感染,通过组织显微切片观察,比较感染海带各组织内细胞结构的变化,以及感染菌存在的位置、菌量的多少等,褐藻酸降解菌对海带组织的影响,分析海带病烂的原因,这对研究海带病烂的发生机制,提出更加合理的防治措施都有所裨益。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用海带,采于日照海水养殖场。采集时间为2000年3月初,海带长度约1~1.5 m,生长期介于凹凸期与脆嫩期之间。选取完好的中带部。褐藻酸降解菌由青岛海洋大学海洋生命学院生态毒理实验室提供。

1.2 材料处理

用灭过菌的棉球沾取无菌海水擦洗海带中带部小片后,置于灭菌培养皿中待用。取灭过菌的小刀在海带片上划2 mm左右的刀口,然后取褐藻酸降解菌接种到海带刺伤处,加入适量的无菌海水并置于无光线直射处静置培养。

1.3 取材、固定、制片、染色

实验组:取海带上的有绿烂、白烂处。大小为3 mm×3 mm。对照组:取未接菌处的正常海带,大小同

实验组。固定液:卡诺氏液(纯酒精:冰醋酸=3:1),固定时间为3 h。将固定好的材料经过冲水、脱水、透明、浸蜡、包埋等步骤,用旋转式切片机^[2]制成厚度为2,4,8 μm的切片,用苏木精染液染色30~60 min,然后脱水,封藏。

1.4 生物显微照像

用OLYMPUS BH2型显微镜观察切片;PM10AD系统进行显微照像。

2 结果

2.1 病烂海带的外型观察

海带经人为感染后,经过2~3 d,划线处变绿,5 d后,斑点继续扩大,有变烂的趋势。接菌后8 d,在划线处绿斑外有明显的白圈。而非画线处区域,海带的色泽正常,无烂斑。

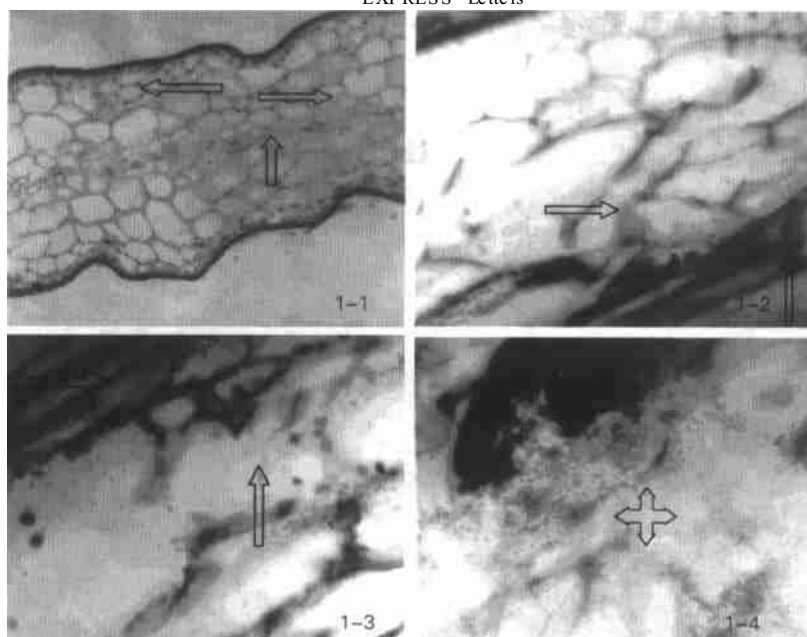
2.2 受感染海带非烂斑与烂斑处的组织学观察

图版1-1所示,对照组海带切片中未见细菌,细胞形态正常,原生质和染色体都很丰富,细胞排列整齐而紧密。由外到内明显分3部分:表皮,内、外皮层,髓部。图版(1-2,1-3,1-4)所示,病烂海带中,褐藻酸降解菌已侵入海带的内皮层细胞,并在其内繁殖,造成了个别细胞破裂,形成空腔,最终导致内皮层细胞完全破碎,而病烂海带表皮细胞基本完好,相对海带的其他组织而言,内皮层最容易破坏,外皮层、髓部次之。

2.3 褐藻酸降解菌在海带各组织间分布与细胞受伤害程度的比较

* 国家“973”资助项目, G1999012004号。

收稿日期:2000-09-04;修回日期:2000-10-12



图版 褐藻酸降解菌引起海带病烂的组织学结构

1-1 对照组海带;1-2 示细菌开始侵染内皮层细胞;1-3 感染海带示细菌引起内皮层细胞破裂形成空腔;

1-4 感染海带内皮层细胞完全破裂细菌散落各处

-(内皮层);-(外皮层);↑(髓部); 褐藻酸降解菌

受侵染的海带,经大量的组织切片观察,发现褐藻酸降解菌在海带组织内的分布有着明显的差异。在内皮层分布最广,且含量最大,见图版(1-2,1-3)。其次为髓部、外皮层。在表皮细胞中未见细菌侵染。从褐藻酸降解菌在海带组织中的分布和其受伤害的程度比较发现,内皮层受到的伤害最大,特别是细菌侵染较严重的海带,内皮层细胞为褐藻酸降解菌占据,有些细胞被完全解离,形成一些不规则的空腔,内含大量的菌体,侵染严重的细胞完全破碎,褐藻酸降解菌则散落于各处(图版1-4)。在内皮层周边的外皮层和髓部细胞,将视受侵染的程度不同而有不同。受侵染较轻的材料没有发现菌,而受侵染较重的材料则有少量菌,但细胞结构相对较完整,表皮细胞没有发现褐藻酸降解菌,细胞结构完整,部分侵染较轻的材料,还能看到细胞核。

3 讨论

3.1 褐藻酸降解菌能够引起海带的病烂

通过用褐藻酸降解菌对正常海带进行感染,5~8 d后海带外表不同程度出现烂斑,烂斑处的组织内部发现有褐藻酸降解菌,细胞结构遭到不同程度的破

坏。但远离烂斑处,海带表面着色正常。从作者的结果分析,海带在遭受机械损伤的情况下,褐藻酸降解菌能够引起海带的病烂。

3.2 褐藻酸降解菌导致海带病烂的过程分析

从结果2,3可以看出,褐藻酸降解菌首先侵染内皮层,对内皮层的细胞进行破坏,然后再逐渐侵染外皮层、髓部,直至造成海带的完全破烂。作者认为出现这种现象的原因可能在于内皮层特殊的组成成分有利于褐藻酸降解菌的生长。在正常生海带中,两皮层细胞的原生质体内都储藏有很多的有机物质。褐藻细胞壁的组成成分很复杂,含有褐藻胶及多种多糖,褐藻胶是褐藻细胞壁的填充物质^[3]。褐藻酸降解菌产生的褐藻酸酶使海带藻体软化明显、胞间质松弛,而褐藻酸酶的酶解底物为褐藻胶^[4]。内皮层又是含有褐藻胶较为丰富的地方,这可能是褐藻酸降解菌首先攻击内皮层的原因之一。其次,皮层有储藏的功能,其细胞的原生质内含有很多有机物质。丁美丽1990年曾经报道褐藻酸降解菌不仅能利用褐藻酸作为碳源,大都能利用甘露醇、葡萄糖、淀粉和蔗糖等糖作为碳

(下转 50 页)

(上接第2页)

源。这些有机物支持了褐藻酸降解菌的增殖,有利于它们的进一步侵入。虽然在显微镜中观察到的首先是细菌存在的细胞及周边细胞原生质体的分解、色素的缺失,其次才是细胞壁的破裂,作者分析可能是褐藻酸降解菌首先利用了细胞壁中的褐藻胶,剩下只有纤维素的空壳,使细胞壁丧失其生理功能,然后利用了细胞中的储藏物质作为营养,进入细胞进行增殖,并进一步侵入其他组织,造成组织的瓦解、最终导致海带病烂。

3.3 褐藻酸降解菌侵入海带组织的途径分析

从病烂海带的组织切片中不难看出,海带的内皮层均发现了大量的褐藻酸降解菌。受菌侵染较重的材料的内皮层细胞,细菌量很大(图版1-3),并且其周围的外皮层和髓部的细胞中也发现有少量菌侵染的现象。说明褐藻酸降解菌首先侵染内皮层,对内皮层的

细胞进行破坏,然后再逐渐侵染外皮层、髓部,直至造成海带的完全破烂。作者分析褐藻酸降解菌进入内皮层可能有两个途径:(1)从画线切口处直接进入内皮层;(2)从切口处通过组织间的细胞间隙进入内皮层。

综上所述,从作者对褐藻酸降解菌对海带侵染的组织学研究中,可以得出以下结论:褐藻酸降解菌在海带受到机械损伤时,能够引起病烂。它首先侵入内皮层,利用细胞壁中的褐藻胶及细胞储藏物质作为营养物质,大量增殖,再侵入其他组织,最终导致海带病烂。

主要参考文献

- 1 周丽,宫庆礼,俞开康等.海洋湖沼通报,1996,4:38~43
- 2 郑国锡主编.生物显微技术.北京:人民教育出版社,1978.1~
- 3 纪明侯.海藻化学.北京:科学出版社,1997.1~
- 4 韩宝芹,刘万顺,戴继勋等.海洋科学,1997,1:39~43

(本文编辑:张培新)