

文章编号 : 1004 - 7271(2006)04 - 0436 - 06

## 条斑紫菜叶状体色落症的初步研究

梁 丽<sup>1</sup>, 马家海<sup>1</sup>, 林秋生<sup>1</sup>, 丁怀宇<sup>1</sup>, 闵 建<sup>2</sup>, 周亚文<sup>2</sup>

( 1. 上海水产大学生命科学与技术学院, 上海 200090 ;

2. 江苏省如东县渔业技术推广站, 江苏 如东 226400 )

**摘 要** 通过海区采样, 运用光镜和电镜观察等实验方法, 研究了条斑紫菜叶状体色落症, 并对患病紫菜加工成的干品进行了初步的品质分析。光镜检查结果表明, 患病藻体细胞的液泡很大, 色素体萎缩或是挤向细胞边缘, 藻体基部死亡细胞较多, 电镜下患病藻体细胞的红藻淀粉颗粒增多。品质分析显示, 患色落症干紫菜的总糖含量明显高于正常干紫菜, 粗蛋白、脂肪、色素和游离氨基酸等指标均比正常干紫菜低, 尤其是三种呈味氨基酸( Asp, Glu 和 Ala )所占比例非常低, 由此造成紫菜品质低劣, 对紫菜质量的影响较大。对健康藻体和患病藻体进行红外线活体吸收光谱的测定结果也表明, 患色落症的藻体色素含量极低。用添加营养盐的海水对患色落症的藻体进行培养, 发现 6 d 后藻体色泽均有不同程度的恢复, 藻体细胞也逐渐恢复到正常。

**关键词** 条斑紫菜, 叶状体, 色落症, 红藻门

中图分类号: Q 949.29+2.1 S 946.2 文献标识码: A

## Preliminary studies on the discoloration of *Porphyra yezoensis* thallus

LIANG Li<sup>1</sup>, MA Jia-hai<sup>1</sup>, LIN Qiu-sheng<sup>1</sup>, DING Huai-yu<sup>1</sup>, MIN Jian<sup>2</sup>, ZHOU Ya-wen<sup>2</sup>

( 1. College of Aqua-life Sciences and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China ;

2. Rudong Fishery Technical Extension General Station, Rudong 226400, China )

**Abstract** Through sampling thalli from suffered sea area, the discoloration of *Porphyra yezoensis* was studied by photomicrography and electron microscope technique. And preliminary quality test was conducted on dried laver, *Porphyra yezoensis* that suffered from discoloration as well. The results of microscope-observation showed that, diseased thalli cells had large vacuoles, their chloroplasts atrophied or crushed to the edge of cell, several cells at the base died, and floridean starch particles manifolded under electron microscope. Quality test showed that total sugar contents of faded dried lavers were apparently higher than those in normal dried lavers, while crude protein, fat, photosynthetic pigments and free amino acids in diseased laver were lower than normal dried lavers. Especially, the percentage of three flavour amino acids( Asp, Glu and Ala ) in faded lavers was extra low. These influenced the quality of lavers greatly and resulted in inferior quality. The results of the absorption spectrum on the normal thalli and diseased thalli demonstrated again that the content of photosynthetic pigments in thalli that suffered from discoloration is extremely low. When we added nitrogen in seawater to culture the diseased thalli, the color restored more or less and thallus cells returned to normal after 6 days.

**Key words** : *Porphyra yezoensis* ; thallus ; discoloration ; Rhodophycophyta

收稿日期 2005-11-25

基金项目 江苏省科技攻关项目( BE2005372 ); 上海市重点学科建设项目资助( Y1101 )

作者简介 梁 丽( 1981 - ), 女, 江西高安人, 硕士研究生, 专业方向为海洋生物学。E-mail: yifan-hj@163.com

通讯作者: 马家海, E-mail: jhma@shfu.edu

色落症是一种由于海况环境、理化因子的变化引起的生理障碍而产生的病害。2004年10月-2005年1月期间在江苏省南部条斑紫菜栽培海区发现该病害的存在,尤其是下海不久的小苗患病严重,由于没采取及时措施,导致2004年度这些患病海区的条斑紫菜严重歉收、质量大幅度下降,从而引起了有关部门领导的极力关注。从2000年起,在日本有明海等条斑紫菜养殖海区也发生类似的症状<sup>[1-4]</sup>,因此,掌握和熟悉病症的诊断方法,对在生产实践中及时准确地发现这种病害的发生与发展具有重要意义,研究病害发生后细胞及藻体的特征可为诊断提供依据,了解发病的进程,从而采取必要的措施。作者通过对江苏南部患病海区条斑紫菜病症和病因的调查,就条斑紫菜叶状体色落症进行了初步研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 病藻来源

2004年10月-2005年1月期间,在江苏省南部条斑紫菜栽培海区进行多次采样,从网绳上取患病条斑紫菜叶状体,经阴干处理,置于塑料袋后密封低温带回实验室,保存于 $-20\sim-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱内待用。

### 1.2 光镜检查

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,分对照组(不添加营养盐)和添加营养盐组(氮盐),逐日对藻体进行光镜检查、摄像。

### 1.3 电镜观察

将刚取回的患病藻体以及未加营养盐培养和加营养盐培养后的患病藻体,分别置于预冷的磷酸缓冲液调配成4%戊二醛液中固定7d至10d,接着在钨酸中再固定2h,顺浓度梯度酒精或丙酮逐级脱水,环氧树脂浸透包埋,经超薄切片,用醋酸铀-柠檬酸铅双重染色后进行透射电镜观察<sup>[5]</sup>。

### 1.4 品质分析

测定样品来自2004年10月-2005年1月江苏省南部海区患色落症的条斑紫菜,经过全自动紫菜加工装置一次加工、热风干燥机再干燥,置于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}\sim-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的冰箱内密封待用。

水分:红外线快速水分测定仪法;灰分:样品先在 $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下烘干,电炉上低温碳化,然后在高温灰化炉 $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ 中烧灼至恒重;总糖:苯酚硫酸法测定<sup>[6]</sup>;粗蛋白:KDN-04A型定氮仪测定总氮<sup>[7]</sup>;脂肪:氯仿:甲醇(2:1v/v)提取,0.88%KCl去糖,旋转蒸发器上去除有机溶剂,真空(0.05 MPa)下 $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘干至恒重<sup>[7]</sup>;藻胆蛋白:磷酸缓冲液提取<sup>[8]</sup>;叶绿素和类胡萝卜素:90%丙酮提取<sup>[8]</sup>;游离氨基酸:取0.5g左右的紫菜干品研碎,加入50 mL 75%的乙醇沸水浴蒸发至20 mL,重复上述步骤一次,真空(0.03 MPa)下 $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘干,用双蒸水溶解残渣,9 000 r/min离心30 min,倒出上清液,定容至50 mL,用时稀释10倍,用HPLC测定<sup>[9]</sup>。

### 1.5 藻体在可见光范围的吸收光谱

取10片健康藻体和10片患病藻体,分别测定它们在全波长范围内(350 nm~700 nm)的活体吸光度。

## 2 实验结果

### 2.1 海区调查结果

正常的条斑紫菜叶状体紫红色或略带蓝绿色,表面光滑,具光泽(图1-B),患病的藻体光泽很差,在“色落”初期,病菜颜色接近紫棕色或黄绿色,最后接近黄白色(图1-A),而且容易脱落流失。患病藻体阴干或制成紫菜片时,为草席色(图2-B),与同期的健康的外沙紫菜色泽(图2-A)相差较大。从海区的栽培紫菜发病情况来看,患病海区的网帘上有不同程度的脱苗现象,幼苗及成菜期藻体均发现有“色落”现象,且随着时间的推移越来越严重。



图 1 患色落症的藻体与健康藻体  
Fig.1 The diseased thallus and normal thallus of *P. yezoensis*  
A. 患色落症的藻体 ; B. 健康藻体

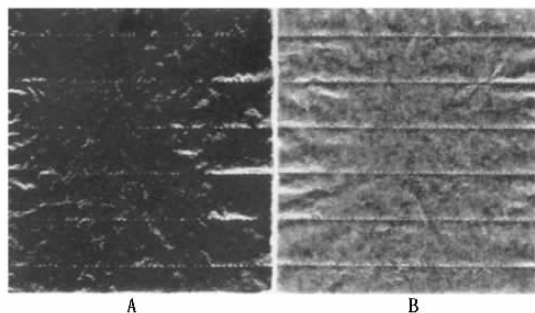
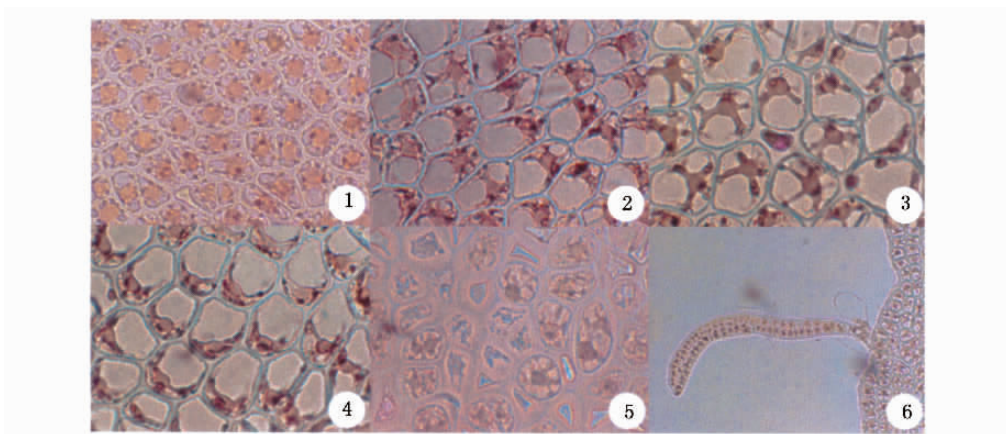


图 2 正常干紫菜与患色落症的干紫菜  
Fig.2 The diseased dried laver and normal dried laver of *P. yezoensis*  
A. 正常干紫菜 ; B. 患色落症的干紫菜

## 2.2 光镜检查

取回患病的条斑紫菜叶状体,通过对照组培养(不添加营养盐),镜检发现色落越来越严重,最明显的症状为,藻体细胞的液泡比较大,色素体最初呈紫红或紫褐色,随着液泡的增大,色素体逐渐萎缩或是被推向细胞的一侧(图版 I-1~4),色落严重时则变为褐绿色(图版 I-5)。有些患病藻体的细胞拉长或膨大,色素体弥散或流失,最后萎缩死亡(图版 I-5)。从患病藻体长出的单孢子苗同样患有色落,液泡大,部分泛白死亡(图版 I-6)。



图版 I 患色落症的藻体细胞

Plate I The cells of *P. yezoensis* suffering from discoloration

1~4. 细胞的液泡逐渐扩大,色素体慢慢挤向细胞一侧;5. 色落严重的藻体,有很多细胞已萎缩死亡或发生瓦解;6. 长出的单孢子苗也患色落。

此外,还发现患病藻体基部萎缩死亡细胞较多,当愈合成片时即开始发生断裂,这可能是导致海上网帘脱苗的主要原因,随着海浪的冲刷,藻体很快流失(图版 II)。

加营养盐培养组,色落有所恢复,细胞逐渐恢复正常,液泡缩小,色素体不再挤向细胞的边缘,藻体颜色也恢复过来,紫红色较深,细胞排列比较紧密(图版 III)。

## 2.3 电镜观察

通过对海区网帘取回的患病藻体进行分组培养,再分别做电镜观察,结果表明患色落症的紫菜叶状体细胞色素体中含有一些红藻淀粉颗粒(图版 IV-1,2),当不添加营养盐培养时,患病藻体细胞色素体中的红藻淀粉颗粒数量会明显增多,大部分密集在边缘(图版 IV-4),藻体患色落症的情况更加严重。而添

加营养盐培养后,可发现患病藻体细胞色素体中的红藻淀粉颗粒数量逐渐减少,并且最终可基本消失,藻体细胞恢复正常(图版 IV-3)。由此说明,藻体患病的轻重与红藻淀粉颗粒数量明显相关。

### 2.4 品质分析

对患色素落症干紫菜的水分、灰分、总糖、粗蛋白、脂肪、光合色素及游离氨基酸含量进行了测定。将测定结果与正常干紫菜分析所得数据相比较发现:二者的水分及灰分含量无多大差异,但患色素落症干紫菜的总糖含量明显高于正常干紫菜,而其余各项指标均比正常干紫菜要低(表 1),尤其是作为紫菜质量衡量标准的两大要素——色素、蛋白质含量明显偏低。

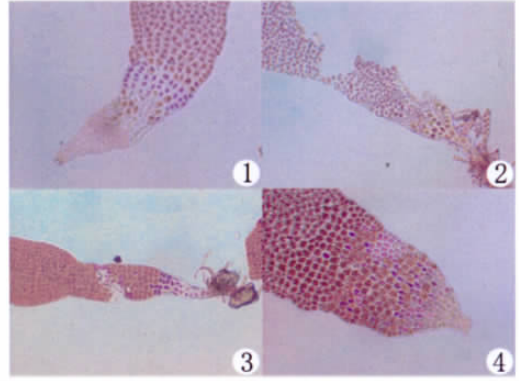
Asp(天门冬氨酸)、Glu(谷氨酸)和 Ala(丙氨酸)被认为是决定紫菜口味的重要的呈味氨基酸,正常干紫菜这三种氨基酸含量十分显著,因而具有甘鲜味浓的良好口感。品质分析结果,患色素落症的干紫菜这三种氨基酸的含量明显低于正常干紫菜(表 2)。

综合以上分析结果可得,患色素落症的条斑紫菜质量是很差的。

### 2.5 健康藻体和患病藻体活体吸收光谱的比较

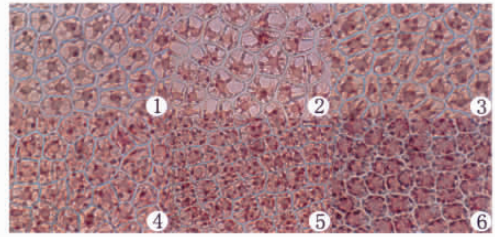
紫菜含有 3 种主要光合色素,即叶绿素 a(Chl. a)、藻红蛋白(PE)和藻蓝蛋白(PC),紫菜的色彩变化主要由这三种色素的含量和它们之间的比例来决定。条斑紫菜叶状体的活体吸收光谱中,在波长 350~700 nm 之间有 5 个吸收高峰,从短波到长波依次标志为 P<sub>1</sub>、P<sub>2</sub>、P<sub>3</sub>、P<sub>4</sub> 和 P<sub>5</sub>。P<sub>1</sub> 主要由 Chl. a 和 β-胡萝卜素, P<sub>2</sub> 由 PE 和 β-胡萝卜素, P<sub>3</sub> 由 PE, P<sub>4</sub> 由 PC, P<sub>5</sub> 由 Chl. a 的吸收所致。藻胆蛋白具有稳定的吸收光谱,根据藻胆蛋白的光谱吸收曲线变化情况,可以判断出藻体色素蛋白含量是否发生变化。

在健康藻体和患病藻体的 10 条光谱吸收曲线中,分别取吸收峰值最高和最低的两条曲线进行比较(图 3),由此可以看出,患色素落症的藻体吸收光谱各峰值都普遍较低,和健康藻体相差甚大。据有贺祐胜<sup>10</sup>报道,将“色落”的叶状体的吸收光谱与健康、正常的叶状体的吸收光谱相比较,可以发现前者的吸光值在全波长范围(350 nm~700 nm 间)内明显地降低,意味着紫菜色素含量极低。这一结果与本文所做的实验结果一致。



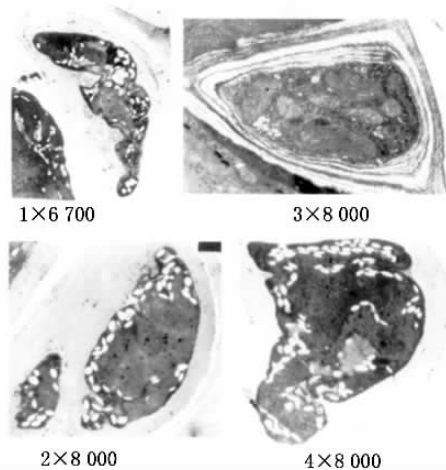
图版 II 患病藻体的基部  
Plate II The bottom part of *P. yezoensis* suffering from discoloration

1~3. 患病藻体的基部有很多死亡细胞,藻体发生断裂;4~5. 取回的患病藻体加氮培养后,基部死亡细胞仍然存在,从死亡细胞处发生断裂。



图版 III 加营养盐培养后逐渐恢复的藻体细胞  
Plate III The cells of diseased *P. yezoensis* after being cultured with Nitrogen

1~5. 液泡逐渐在缩小,色素也逐渐在恢复正常,颜色变红加深;6. 培养 6 d 后,恢复比较好的细胞。



图版 IV 患色素落症藻体的细胞电镜照片  
Plate IV Electron micrograph of cells suffering from discoloration

1~2. 细胞很多白色红藻淀粉粒;3. 经过加氮培养 15 d,白色红藻淀粉粒基本消失;4. 无氮培养 15 d,白色红藻淀粉粒明显增多。

表1 正常干紫菜与患色落症干紫菜的一般营养成分、光合色素及游离氨基酸含量

Tab.1 Contents of general nutritive components, free amino acid and photosynthetic pigment in normal and diseased dried lavers, *Porphyra yezoensis*

测定指标	正常干紫菜	患色落症干紫菜
水分(%)	8.36 ± 0.113	8.26 ± 0.107
灰分(%)	9.23 ± 0.085	10.34 ± 0.103
总糖(%)	31.28 ± 0.836	60.00 ± 2.026
粗蛋白(%)	44.05 ± 1.320	18.20 ± 0.872
脂肪(%)	4.79 ± 0.276	1.31 ± 0.112
叶绿素(mg/100g)	686 ± 8	204 ± 5
类胡萝卜素(mg/100g)	160 ± 2	45 ± 0.8
藻红蛋白(mg/100g)	3 737 ± 50	757 ± 20
藻蓝蛋白(mg/100g)	2 634 ± 48	433 ± 16
游离氨基酸(mg/100g)	3 347.22	361.23

表2 正常干紫菜与患色落症干紫菜游离氨基酸组成及含量

Tab.2 Free amino acid composition and contents in normal and diseased dried lavers, *Porphyra yezoensis* (mg/100g)

成分	正常干紫菜	患色落症干紫菜	成分	正常干紫菜	患色落症干紫菜
ASP	411.77	4.41	ILE	14.92	6.69
THR	0	7.67	LEU	23.82	7.88
SER	32.12	0	TYR	12.73	7.36
GLU	1413.79	201.75	PHE	22.13	8.33
GLY	15.26	3.80	LYS	18.75	13.24
ALA	1272.98	32.61	HIS	5.18	0
CYS	32.64	17.37	ARG	20.30	4.76
VAL	41.24	15.15	PRO	0	0
MET	2.41	0			

### 3 讨论

#### 3.1 色落症病因初探

条斑紫菜色落症是一种常见的生理性的病害,主要发生在贫瘠、高比重的海区。在天气晴朗、光强、无风的小潮,海区温度回升很快或持续不降,此时尽管紫菜生理作用旺盛,但海区营养成分急剧消耗,而补给跟不上,往往最易出现这种病症。发生此病的原因是多方面的,最主要就是海水中营养盐缺乏,各种色素含量均较低所造成。由于氮和磷及其他营养盐不足,氨基酸以至蛋白质的合成显著地受到抑制,以致几乎不能合成色素,光合作用明显降低。纪明侯等<sup>[10]</sup>曾经报道,条斑紫菜中蛋白质和游离氨基酸的含量相应地随着海区的氮肥降低而明显降低。从表1、表2的数据得知,患色落症干紫菜的蛋白质和游离氨基酸含量明显低于正常干紫菜,原因很可能就是海区的氮肥缺乏所造成的。

这种患病紫菜只要及时进行施肥或者移至肥区,症状一般都能很快消失,从而恢复正常生

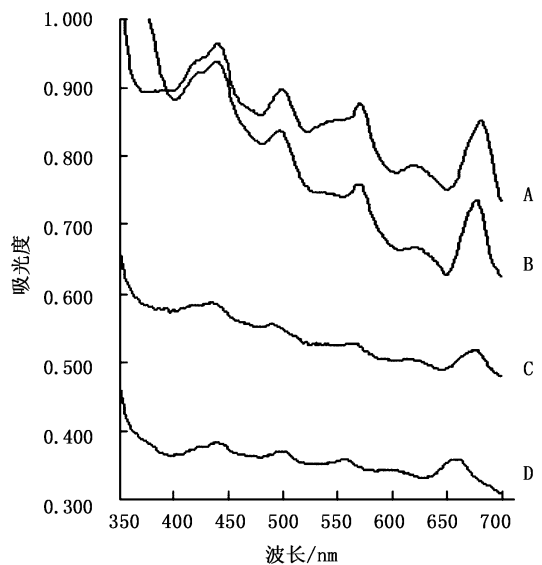


图3 健康藻体和患病藻体最高和最低光谱吸收曲线  
Fig.3 The highest and lowest absorption curve of diseased thallus and normal thallus

A 吸收峰值最高的健康藻体; B 吸收峰值最低的健康藻体;  
C 吸收峰值最高的患病藻体; D 吸收峰值最低的患病藻体

长<sup>[11,12]</sup>。本实验通过对患病藻体添加营养盐培养, 所得结果给予了肯定。但是, 如果患病的时间过长, 或不及及时采取必要措施, 将会导致紫菜质量下降和歉收, 严重影响经济效益。

### 3.2 品质分析与评价

据报道, 紫菜的一般营养成分和等级有密切的关系, 高质量的紫菜蛋白质含量高而总糖含量较低<sup>[13]</sup>。如马家海<sup>[12]</sup>分析的江苏 A 级条斑紫菜蛋白质含量为 44.4%, 总糖含量为 37.4%, 等外菜两者的含量则分别为 29.5% 和 50.8%, 说明不同质量等级紫菜蛋白质含量差别极大。从表 1 的数据可以明显看出, 患色落症干紫菜的总糖含量大约为正常干紫菜的两倍, 而粗蛋白含量还不足正常干紫菜的一半。同时, 病藻的颜色脱落变为黄白色且光泽极差, 制成紫菜片或紫菜饼为草席色, 这又严重影响了紫菜的表观。因此可判断患色落症的条斑紫菜质量很差。在紫菜中, Asp(天门冬氨酸)、Glu(谷氨酸)和 Ala(丙氨酸)三种呈味氨基酸占主要部分且有不少呈游离状态, 食用时极易溶解出来, 使人能感觉到紫菜的鲜美, 所以游离氨基酸是决定紫菜味道的重要因素。患色落症干紫菜的这三种游离氨基酸含量明显偏低, 这大大降低了紫菜本身的美味, 品质的低劣进一步显示出来。

另外, 患色落症干紫菜的总糖含量比正常干紫菜高, 这与电镜观察的结果相符。电镜观察患色落症的紫菜叶状体细胞色素体中出现一些红藻淀粉颗粒, 严重时数量很多, 这也是导致患病干紫菜总糖含量升高的原因之一。

### 参考文献：

- [1] 太田扶桑男. 写真で見るプランクトンと色落ち[J]. 海苔タイムス, 2000, 163(2).
- [2] 小谷正幸(九州) 今漁期の問題点と今後の対策[J]. 海苔タイムス, 2001, 166(2).
- [3] 有贺祐胜. ノリの生活、成長、色彩変化[J]. 海苔タイムス, 2001, 167(2).
- [4] 有贺祐胜. 21 世紀の持続的ノリ生産と漁場環境保全[J]. 海苔タイムス, 2002, 170(2).
- [5] 朱丽霞, 程乃乾, 高信曾. 生物学中的电子显微镜技术[M]. 北京: 北京大学出版社, 1983. 73 - 79.
- [6] 范 晓, 严小军, 韩丽君. 海藻化学分析方法[M]. 北京: 学苑出版社, 1996. 44 - 47, 114 - 116, 138 - 140.
- [7] 纪明侯. 海藻化学[M]. 北京: 科学出版社, 1997. 374 - 406, 458 - 506, 704 - 728.
- [8] 斋藤宗胜, 大房 刚. 干海苔に含まれる光合成色素の簡易定量法[J]. 藻類, 2(4): 130 - 133.
- [9] Noda H, Horiguchi Y, Araki S. Studies on the flavor substances of 'Nori', the dried laver *Porphyra* spp. - II. Free amino acids and 5'-nucleotides [J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1975, 41(12): 1299 - 1303.
- [10] 纪明侯, 蒲淑珠, 牛祝庆. 不同海区生长的条斑紫菜的氨基酸含量变化[J]. 海洋与湖沼, 1981, 1(6): 522 - 530.
- [11] 有贺祐胜. スサビノリの色彩と色素[J]. 水产技术与经营, 1981(1): 63 - 71.
- [12] 马家海, 蔡清编著. 条斑紫菜的栽培与加工[M]. 北京: 科学出版社, 1996. 2 - 5, 167.
- [13] 玉野まり子, 北村广志. 干のりの品质评价[J]. 日本食品工业学会志, 1992, 3(4): 357 - 362.