

## 关于海带“叶片点烂病”的初步研究\*

水产部烟台海水养殖试验场

烟台水产学校

索如琪 郭占明

徐兆庆 崇国庆

在自然界中，无论野生的或栽培的植物，都可能发生病害。海带 (*Laminaria japonica* Aresch) 也不例外。自开展人工养殖以来，几乎每年都有病害发生。1958年以前，大面积养殖生产还局限于水质肥沃的海区时，常常发生叶片绿烂病。1959年海带养殖在全国沿海推广以后，在水质瘠贫的海区，则常常发生各种白烂病。1959年5月和1960年4月，辽宁金县大窑湾人工养殖的海带，发生了“斑点腐烂病”，损失很大。同年山东青岛市沙子口湾养殖区，则发生了“叶片点烂病”。1962年和1963年，山东威海湾和芝罘湾养殖区，都发生过较严重的“叶片点烂病”。据威海市水产局统计，1962年全市海带减产25.02%，1963年减产10%左右。由此可见，病害问题，已成为海带养殖上的一种自然灾害了。

海带病害问题，过去研究的很少，对于海带各种病害的致病原因认识也不一致。山东水产养殖场(1954~1956)的工作总结中提出：海带“绿烂”病因是受光不足。刘恬敬、杨以勳(1962)的试验结果，得出了与山东水产养殖场相同的结论。陈世阳(1959)从“绿烂”藻体上分析了6种细菌，并认为这6种细菌非为起因，而为后果，但提出“绿烂”是由于受光不足而促使发生的结论，还须进一步商榷。旅大市水产研究所(1961)从海带“斑点腐烂病”藻体中分离出一种G<sup>-</sup>短杆菌，认为系病原物，研究出石灰、硫磺合剂的防治药物。1963年我们对威海海带发生的“叶片点烂病”作了初步调查，根据材料分析，初步认为系非传染性病害。

在国外长谷川由雄，驹木成，浦原八郎等(1959)，对日本稚内市前滨海底自然生长的海带 (*L. Ochotensis* Miy.) 发生的斑点腐烂病，认为海水污染是发病的直接原因，霉菌寄生是病烂的间接原因。病征为海带叶片10厘米以上先出现癌肿，而后出现斑点状不规则突起，从该处腐烂成洞，以致藻体断裂流失；安藤芳明，井上胜弘等(1960)，认为这种病征的发生，海水细菌的作用也很大，应重视这一方面。

从以上材料说明，对海带发生各种病害的原因，还要进一步研究。尤其是“叶片点烂病”的研究，几乎还是一个空白点。这种病害，目前仍是海带养殖事业的一个威胁。为了海带高产、稳产的需要，有必要进一步探讨致病原因，以便为养殖上采取防治措施提供依据。在1963年已积累一些资料的基础上，1964年4~6月，当海带发病期间，我们对烟台(芝罘湾)、威海两海区的“叶片点烂病”进行了一些调查研究工作。工作分为三个方面进行，即病害基本情况的调查，微生物学分析和病理解剖。

\* 本文承中国科学院海洋研究所曾呈奎、吴超元先生看过，并提出很多宝贵意见特此致谢。山东省海水养殖研究所李慈峻、李修良同志，水产部烟台海水养殖试验场丁明进同志以及威海市水产养殖试验场谢伯芳同志曾协助部分工作，特此致谢。

但是，由于我們受水平、設備和人力、時間等限制，所以中間还有不少問題有待今后共同研究解决，本文仅提供部分初步資料，以供參考。

### 一、海带“叶片点烂病”基本情况的調查

1963年和1964年，当海带发病期間，我們在烟台、威海两海区进行了一些病害基本情况的調查。調查方法，是采用农作物病害的一般調查方法进行的。調查項目包括养殖区环境和养殖措施，发病时期，发病前后和发病盛期水温、光强的变化，以及发病率、病情指数和病害分布等。

#### (一)养殖区环境和养育措施

烟台(芝罘湾)和威海湾两养殖区的地理环境有些相似，都是三面环陆，港口朝东的大水面港湾。海底平坦，底质为泥沙，水深一般为3~5米，近岸較浅，远岸較深，流向为东北西南往返流，海水比重为1.018~1.020，养殖区自然含硝酸氮量为5~10毫克/米<sup>3</sup>。由于这两个海湾皆位于山东半島北部，冬季受偏北向季节风影响，海水透明度較小，一般在2米以下，自3月中旬以后至6月間，随着偏南向季节风的来临，海水透明度逐渐加大，4~6月間通常达3米以上，

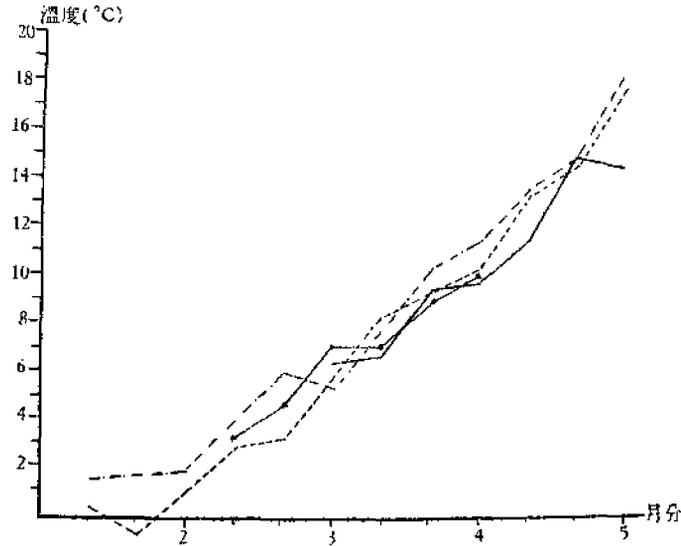


图 1 1962~1964年2~5月份，烟台、威海海区水温变化趋势图

——1963年烟台；-----1964年烟台；  
- · - · -1962年威海；· · · · ·1963年威海。

有时可达5米。自2月中旬以后至5月間，水温变化是斜线上升的趋势(图1)。

1964年的养育措施較1963年有較大程度的改进，这就意味着对海带生活条件有了改善。

表 1 主要养育措施調查表

調 查 項 目	烟 台		威 海	
	1963	1964	1963	1964
苗 种	夏 苗 67% 秋 苗 33%	夏 苗	夏 苗 40% 秋 苗 60%	夏 苗
分 苗 期 (月/年)	12/1962~3/1963	12/1963	12/1962~2/1963	12/1963
亩 放 苗 量 (万 株)	2.90	2.40	2.50	1.95
夹 苗 方 法 (株/厘 米)	3/9	2/6	4/9	4/10
养 育 水 层* (厘 米)	50~80	110~130	50~100	120
养 育 形 式	垂 养	斜 平	垂 养	斜 平
养 殖 区 变 动		向 远 岸 移 动 300 米 左 右		向 远 岸 移 动 200 米 左 右

\* 系以挂苗繩的吊繩淨长度。

概括地说：分苗期提早，亩放苗量减少，养育水层降深，养殖区向远岸有所移动(表 1)。

**(二) 发病期和发病期前后、发病盛期水温、光强的变化**

海带“叶片点烂病”藻体的病变形态是，先从叶片中部叶缘或同时于梢部叶缘出现一些不规则的小白点，随着白点的增加和扩大，使该部叶片变白腐烂或形成一些不规则的孔洞，并向叶片生长部、梢部和中带部发展，严重的使整个叶片烂掉，白色腐烂部分有时微带绿色。这种病害的发病期，在威海一般是 4 月中、下旬至 5 月中、下旬，这时期海水温度为 10~15℃；芝罘湾一般在 5 月间，海水温度变化也为 10~15℃(图 2)。

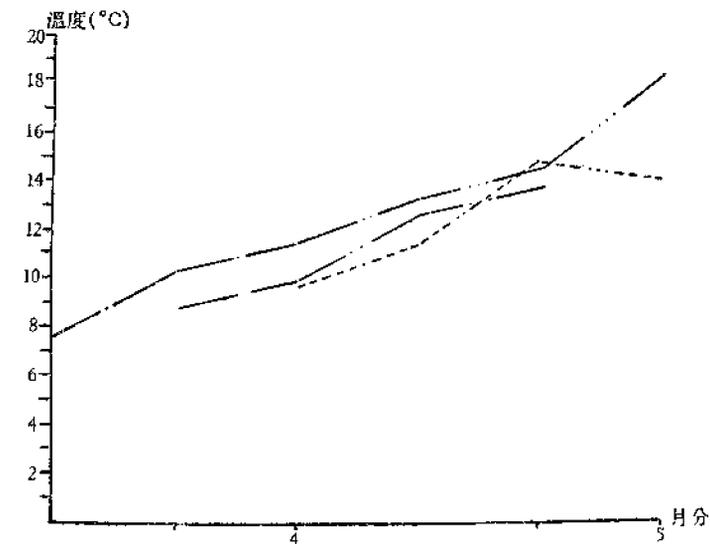


图 2 1962、1963年、烟台、威海海带各发病期及相应水温变化  
 ..... 1962年威海各发病期时的相应水温\*  
 - · - · - · - 1963年威海各发病期时的相应水温  
 - - - - - 1963年烟台各发病期时的相应水温  
 曲线上的一点、二点、三点、四点分别代表海带发病的前期、盛期、后期及末期。

从图 2 可以看出，“叶片点烂病”的发生期，正处于海带孢子体快速生长的末期。这时期海水透明度增大，且有较大地变化。1962年威海海带开始发病的日期为 4 月 20 日，当时水温为 10℃；1963年为 4 月 28 日，当时水温也为 10℃；发病盛期一般在 5 月上旬，这时期水温为 12~13℃，发病后期为 5 月中旬，病情发展缓慢，水温为 14~15℃，5 月下旬为发病末期，病情基本稳定下来，这时期水温一般在 15℃ 以上。芝罘湾海带的发病盛期比威海稍迟些，当时水温为 13~15℃。

27 日前，海水透明度一般在 2~3 米间，这时期海带生长正常，4 月 28 日海水透明度突然增大到 4.2 米，次日即发现病情，自 5 月 1 日至 5 日，透明度维持在 3.6~4 米之间，发病面积由原来的 200 亩扩大为 600 亩；6 日至 10 日，透明度降低至 3 米以下，病情即有所稳定；11~17 日海水透明度再度增大，平均达 3.6 米，发病面积即由 600 亩扩大为 1,200 亩。

**(三) 发病率、病情指数和病害分布**

1963年威海、烟台两海区的发病率都很高，以面积计算，烟台为 30%，威海为 40.7%，而且病情也比较严重，烟台发病区的病情指数达 39.31%，损失率达 18.29%；威海发病区的病情指数达 44.27%，损失率达 26.83%。1964 年两海区的发病情况都比较轻微，特别是威海仅有个别养殖单位的局部养殖区，有轻微的危害现象，其中个别病株达到 3 级，对生产没有造成损失(表 2)。

从病害的水平分布来看，多是流速较小的养殖区中间部分最严重，边缘区最轻或不发生。如 1963 年威海市水产养殖试验场，从近岸到远岸的 7 个养殖区中，以 2~4 区病情最为严重，

从 1963 年威海海带的发病情况来看，病情的发展，与海水透明度的大小变化有关 4 月

表 2 烟台、威海海带“叶片点烂病”的发病率、病情指数和损失率

病 级	发病程度	代 表 数 值	认 为 减 产 数 (%)	烟 台						威 海									
				调 查 株 数		1) 发 病 率 (%)		2) 病 情 指 数 (%)		3) 损 失 率 (%)		调 查 株 数		发 病 率 (%)		病 情 指 数 (%)		损 失 率 (%)	
				1963	1964	1963	1964	1963	1964	1963	1964	1963	1964	1963	1964	1963	1964	1963	1964
一	无病或藻体叶 缘微小小白点	0	0	1280	450														
二	1/4 藻体分布 白点或叶缘, 尖端有孔洞, 开始腐烂	1	5	1120	70														
三	1/4~1/2藻体 布满白点,1/2 藻体分布孔洞 或腐烂	2	10	810	20	30	20	39.31	5.09	12.89	1.02			10.7	3.64	41.27	2.08	26.83	
四	1/2~3/4藻体 布满白点,1/2 ~3/1 藻体腐 烂。	3	30	680	0														
五	3/4 以上的藻 体腐烂或烂掉	4	90	520	0														

- 1) 发病率 =  $\frac{\text{发病面积}}{\text{总面积}} \times 100$ , 2) 病情指数 =  $\frac{\sum(\text{病级株数} \times \text{代表值})}{\text{发病最重级代表值} \times \text{样本总数}} \times 100$ ,  
 3) 损失率 =  $\frac{\sum(\text{病级株数} \times \text{减产百分数})}{\text{株数总和}}$ 。

病情指数达50.93%，1区和5区的病情指数则为36.99%，流速最大，距陆岸最远的7区基本没有病害发生。

从水层分布来看，概括地说，是浅水层重于深水层。以威海市水产养殖试验场的3区为例（1963），养育水层为50厘米的秋苗，全绳病烂（发病程度普遍达3级以上）；养育水层为100厘米者，全绳病烂12.08%；养育水层为120厘米的，就没有3级以上的病株。同年烟台海区病害的水层分布与威海所表现的规律是相同的（表3）。但是在同一水域，同一水层，夏苗比秋苗的发病程度轻。养育水层为50厘米的夏苗3级以上的病株，平均每绳有19.5株，比秋苗少59.38%，值得特别提出的是，在同一水层，同一苗种，株间的发病程度没有显著地差异，更没有例外的个体。

表 3 1963年秋苗发病区不同水层藻体发病达3级以上的株数比较

水 层 (厘米)	威 海		烟 台	
	平均每绳病株	病株占全绳株数的%	平均每绳病株	病株占全绳株数的%
50	48	100	26	54.17
70	24.2	50.42	18	37.5
100	5.8	12.08	8	16.67
120	0	0	0	0

## 二、海带“叶片点烂病”的微生物学分析

### (一) 样品的采集和微生物分离

1. 取样: 样品采集分为两个阶段进行, 第一阶段是在病害尚未普遍发生之前, 对海水中的细菌量进行测定, 以及对海带体的微生物进行定性测定 (检查微生物的类群), 采集时间为4月24日, 分3个区 (试验区、中区和外区) 5个水层, 直接采取健康海带样品和海水。试验区采样水层为1米、2米、3米, 外区采样水层为1.5米和2.5米, 中区采样水层为2米和3米。对各个不同水层中的海带, 分别取距基部50厘米和距尖部20厘米的藻体各一块 (约25厘米<sup>2</sup>左右), 计14组样品。病海带样品的采取, 是取原发性病灶部位的藻体一块, 计6组样品。病海带样品采集时无水层差别, 因为病株都发生在上水层。

第二阶段是进行病海带的微生物分析。当病烂发生时采集病海带标本, 前后在5月7日和5月15日采集两次, 计8组病海带样品。样品采集后, 在6小时以内就进行室内试验。

2. 微生物的培养和分离: 配置培养基时用过滤的陈海水, 并使pH值保持7.8~8.0之间。我们所采用的配方如下:

蛋白胨	10克	牛肉膏	3克
葡萄糖	2克	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5克
海带浸取液	100毫升	过滤海水	900毫升
冻粉	15克		

为了解病海带和健康海带组织中是否有微生物存在, 因而在分离时, 除用直接分离法外, 还采用消毒处理的方法进行分离。

(1) 直接分离法 (表面分离): 将未发病的海带样品在紫外灯下用无菌剪刀剪成1厘米<sup>2</sup>左右的小块, 均匀地粘帖于固体培养基平面上, 病海带以同样方法取病灶部位帖于固体培养基平面上, 然后于22℃温箱中培养3~7天观察结果。

(2) 消毒处理 (组织内部分离): 将海带剪成9厘米<sup>2</sup>大小, 于75%酒精中浸泡2~3分钟, 然后剪去周围部分, 取中间1厘米<sup>2</sup>大小接于平面上, 另外将消毒的样品放入无菌研钵中研碎后, 取其碎块接于平面, 于22℃温箱中, 培养3~7天后观察结果。

3. 结果观察: 经培养后, 在海带的表面及周围的培养基上都密布菌落, 第一阶段20组样品中, 分离出63个菌株, 其中有21个菌株能使培养基上的海带细胞裂解, 发生腐烂现象, 这些细菌大多数是分离于上水层的病海带体。第二阶段的8组样品中, 分离出32个菌株, 其中有10个菌株, 使培养基上的海带细胞裂解, 发生腐烂现象。

按细菌的类型来说, 大多是革兰氏染色负反应的无芽孢杆菌, 此外, 还有一些芽孢杆菌和少数的弧菌, 螺旋菌, 前后分离出能使海带腐烂的细菌有31个菌株, 主要是无芽孢杆菌, 芽孢杆菌只有6个菌株。我们将这31个菌株分纯编号保存于试管斜面, 以便进一步寻找对海带真正腐烂作用的菌种。

经过消毒处理的几种样品中, 接种后培养数天, 在样品和周围培养基上面, 没有细菌生长。

4. 海水中细菌数目的测定: 用平面计数法, 对海水中的细菌量进行分析。根据分析结果可以看出, 表层水中的细菌数目比较多 (图3), 但是上下水层中的菌数相差并不大, 因而

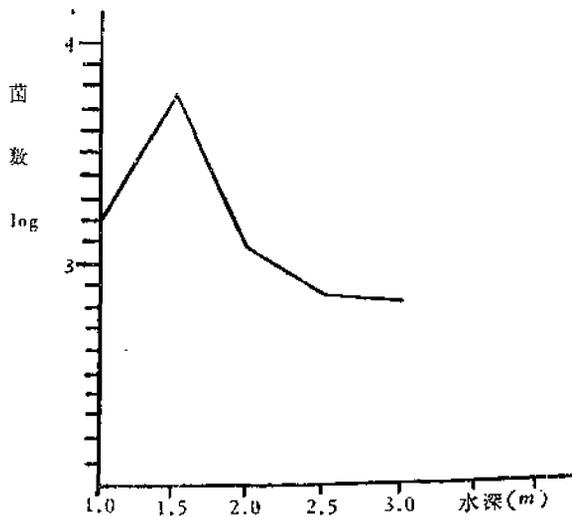


图 3 各水深细菌数量变化

我們可以不考虑不同水层中菌数的含量，对海带病烂发生的水层和发病机率的影响。

(二) 接种試驗

1. 室内接种：为进一步确定已获得的31个菌株，对海带是否真正具有腐烂作用的能力，我們在試驗室内，对海带重新作了接种。

首先将新鲜海带用无菌海水洗净，然后在紫外灯下进行消毒处理，并用无菌剪刀剪成1厘米<sup>2</sup>大小，贴于平面培养基上，再接种已分离的菌种，并作对照試驗，經在22℃下培养5天后，检查結果。

經培养后，31个菌株中，有23个菌株

生长不好，經筛选后，只有8个菌株(表4)，能使培养基上的海带細胞裂解，发生腐烂現象。其中的1-b分离于第一阶段試驗区上水层正常海带的基部(距基20厘米处)，2-b, 3-a和5-b三个菌株分离于第一阶段病海带的病灶部位，A-1, A-3, B-1和B-3四个菌株分离于5月15日“叶片点烂病”样品的病灶部位。

表 4 几种细菌的特征(特性)

菌号	采 样 日 期	动 力	芽 孢	革兰氏 染 色	菌 落 特 征			菌体大小 (微米)
					颜 色	表 面	边 缘	
1-b	24/1		-	-	无 色	光 滑 隆 起	不 整 齐	1.6×1.2
2-a	21/1	++	+	+	乳 白 色	光 滑 扁 平	不 整 齐	1.9×1.0
3-a	21/4	++	-	-	棕 橙 色	光 滑 隆 起	波 浪 状	2.1×1.5
5-b	24/4	++	-	-	乳 白 色	光 滑 隆 起	不整齐向外延伸有分枝	3.8×0.9
A-1	15/5	++	-	-	无 色	光 滑 扁 平	整 齐	2.8×1.5
A-3	15/5	++	-	-	无 色	光 滑 扁 平	不 整 齐	2.4×1.2
B-1	15/5	++	-	-	桔 黄 色	粗 糙 中 心 下 陷	不 整 齐	3.8×1.0
B-3	15/5	++	-	-	桔 黄 色	光 滑 局 部 隆 起	不 整 齐	2.8×0.9

(注) A-3, A-1两菌株，經长期培养后，菌体由杆状变为球杆状。

这8种細菌，在实验室中对海带的腐烂能力比較稳定，所以我們利用它作为海上接种的菌种。

2. 海上接种：将上述8种細菌进行液体扩大培养，7天后，培养液由原来的透明变为混浊，表面并有菌膜，再經数天后，到海区对生长的海带进行接种。

接种时，每一种取一个点，分上中下三个水层(1米，2米，3米)，并对同一藻体的基部和梢部及中部进行接种。接种分四种方法：(1)用无菌棉花除去藻体表面粘液，然后将菌液涂布藻体三处(距基20~30厘米和90~100厘米，距梢20厘米)的两面，并取两个再放回海中。(2)人为的机械损伤，先用无菌棉花擦藻体表面粘液，并用75%酒精消毒，再用鋼針在藻体两面沿横的方向划破，待藻体内部粘液渗透至表面时，即涂上菌液放回海中。

(3) 直接在藻体两面涂上菌液。菌种 1-b, 2-b, 3-a 和 5-b 四种菌种采用上述三种方法进行接种。(4) A-1, A-3, B-1 和 B-3 四个菌种是采用的浸泡法, 将藻体放在菌液中浸泡3~5分钟放回海中, 同时标记一组不接种的海带, 和划破不涂菌的海带作为对照。

接种后, 每隔两天观察一次, 根据半个多月的观察, 上中下三个水层中, 并未发现接种细菌的海带发生病变, 用针划破接种细菌的海带生长也很正常(表5)。

表5 海上接种试验记录和结果

菌种	编号	水层	藻体全长 (厘米)	接种部位(厘米)			棵数	接种方法	日期	结果
				距梢	距基	距基				
1-b	S	上	166	20	90~100	20~30	2	直接涂菌藻体两面	26/5	—
		中	175	"	"	"	2	去粘液涂菌	"	—
		下	140	"	"	"	2	同上	"	—
	S <sub>13</sub>	上	195	"	"	"	1	划破藻体涂菌	"	—
		中	180	"	"	"	1	同上	"	—
		下	190	"	"	"	1	同上	"	—
2-b	S <sub>8</sub>	上	183.5	"	"	"	2	直接涂菌藻体两面	"	—
		中	165	"	"	"	2	去粘液涂菌	"	—
		下	146	"	"	"	2	同上	"	—
	S <sub>9</sub>	上	187.5	"	"	"	1	划破藻体涂菌	"	—
		中	176	"	"	"	1	同上	"	—
		下	178	"	"	"	1	同上	"	—
3-a	S <sub>4</sub>	上	195	"	"	"	2	直接涂菌藻体两面	"	—
		中	200	"	"	"	2	去粘液涂菌	"	—
		下	180	"	"	"	2	同上	"	—
	S <sub>6</sub>	上	195	"	"	"	2	划破藻体涂菌	"	—
		中	200	"	"	"	2	同上	"	—
		下	167.5	"	"	"	2	同上	"	—
5-b	S <sub>1</sub>	上	175	"	"	"	2	直接涂菌藻体两面	"	—
		中	167	"	"	"	2	去粘液涂菌	"	—
		下	186.5	"	"	"	2	同上	"	—
	S <sub>2</sub>	上	235	"	"	"	1	划破藻体涂菌	"	—
		中	194	"	"	"	1	同上	"	—
		下	173	"	"	"	1	同上	"	—
A-1	S <sub>2</sub>	上					2	用菌液浸泡两分钟	"	—
		下					2	同上	"	—
A-3	S <sub>7</sub>	上					2	同上	"	—
		下					2	同上	"	—
B-1	S <sub>1</sub>	上					2	同上	"	—
		下					2	同上	"	—
B-3	S <sub>5</sub>	上					2	同上	"	—
		下					2	同上	"	—

### 三、海带“叶片点烂病”的病理解剖观察

#### (一) 采样方法:

对“叶片点烂病”的采样,我们考虑要避免腐生细菌的干涉,才能正确反映病理组织的真实情况,为此我们取样是包括病灶孔洞和它周围 2~3 毫米表皮细胞没有破损的发病部位,以供观察。

取材后,当场固定。取材和制片记录见表 6、7。

表 6 海带“叶片点烂病”取样制片记录

取 样 日 期	取 样 地 点	取 样 部 位	制 片 方 法	观 察 数 量 (片)
21/1	烟台海水养殖试验场	藻体中部叶缘	石蜡制片	515
3/5	"	藻体梢部	"	200
3/5	"	"	整装片	2
7/5	"	藻体中部叶缘	石蜡制片	357
15/5	"	"	"	154
26/5	"	"	整装片	1
31/5	威海市水产养殖场	"	石蜡制片	120
31/5	威海孙家岭	"	"	78

表 7 健康海带对照组取样制片记录

取 样 日 期	取 样 地 点	取 样 部 位	制 片 方 法	观 察 数 量 (片)
24/4	烟台	藻体中部叶缘	石蜡制片	280
7/5	"	"	"	355
7/5	"	藻体梢部	"	66
15/5	"	藻体中部叶缘	"	41
31/5	威海田村	"	"	60
31/5	威海孙家岭	"	"	48

#### (二) 观察方法:

病理解剖观察,是用下面方法进行的:

1. 徒手切片:新鲜标本在实验室进行徒手切片观察。
2. 整体制片:取新鲜标本放于低倍镜或高倍镜下观察,并将部分材料固定、透明、染色和封藏进行观察。
3. 石蜡制片:新鲜标本当场固定于海水福尔马林液中,制片用达苏木精染色进行观察。

#### (三) 结果:

1. 通过“叶片点烂病”的组织透明法观察,在病灶的孔洞处没有见到细菌,而仅组织发生病变。

当藻体初现白点时,我们仅发现这里的细胞失去原生质和色素,以后随着病情的发展,白点扩大并发展成孔洞。成洞初期,洞处残存的细胞形态模糊,(图 4 见第 48 页)依病情的轻重,孔洞有大小的变化,同时组织细胞脱落腐烂程度也有深浅的差别。在孔洞的周围有一

圈明显的“色素环”，其中色素位于细胞四周，显得尤为浓褐，“色素环”细胞有半溶解现象。

2. 对“叶片点烂病”的5组（1424）切片观察，我们发现有两种情况：

（1）在3/5一组的材料中，我们发现组织内部有杆状细菌侵染（图5见第48页），组织内部的细菌平均长度为5.2微米，宽0.4微米。细菌侵染量较多，属革兰氏阴性反应。细菌数量在藻体组织中的分布，是由内皮层向外皮层逐渐减少。髓部组织中细菌量较少，而在表皮细胞中却没有发现细菌。

发病组织在细胞形态上没有变化，只是原生质被分解，表皮细胞中色素缺少或无，在组织内部，细菌侵染处的细胞壁，有被分解的现象。

（2）对其他几组材料的观察，没有发现细菌的侵染，而仅是组织上有病变现象；我们观察到发病细胞的原生质和色素体减少或消失，但细胞形态无其他变化，只是表皮细胞稍疏松。

3. 对健康海带的观察结果，在组织内部没有见到细菌，正常海带的细胞形态正常，原生质和色素都很丰满，细胞排列整齐而紧密。

#### 四、结果分析

综合以上调查试验结果，我们对海带“叶片点烂病”提出初步的看法，据我们的试验材料表明，细菌非为起因而为后果；“叶片点烂病”是生理上的一种病状，而且发病与光照强度大小的变化，关系十分密切。可依据下列三点来说明：

##### （一）病害分布于养殖区中间部分的浅水层。

养育水层越浅，病害越重。120厘米以下，基本上不发生这种病害，烟台、威海两养殖区都表现了这样一个规律。自4月下旬至5月间，海水透明度大小的变化，有时相差很大，这时期在浅水层养育的海带，就有可能发生一时受光过强，使局部生活力弱的细胞色素分解而“坏死”。大家知道，在海水中，光线的吸收系数，远较空气中为大，在不同水层中光线的强度和它的光谱组成变化也很大，在1米水深处透入海水中的阳光就有1/3被海水所吸收。但是海水的存在状态，和水质、水色等，也影响着透光率的大小。芝罘湾和威海湾皆属贫区，没有河水注入，海水中的悬浮物较肥区为少。同时，由于养殖区中间部分，受边缘养殖筏阻流的影响，流速很小，特别是在风力较弱的情况下，水面常呈静稳状态，这样，透入海水中的光强，就比较海水波动的边缘区强些，而且生活在养殖区中间部分的海带，此时也在静止状态下受着光，因此病害发生于养殖区中间部分的浅水层。

##### （二）接种试验没有发生效果。

对于病原菌的确定，主要看接种后健康的机体能否发生与病体相同的病症。我们将已分离的8种细菌，采用不同方法，对健康的海带进行接种后，没有产生发病现象，从而证明这8种细菌对海带没有致病能力，即不具有病原性。如果其中某一种细菌，对海带具有病原性的话，那么，它就可以通过接种方法的某一途径侵入细胞，引起组织发病，实际上没有这种现象。

另外通过对海带组织的培养结果，也可以看出，健康海带组织中，没有细菌，而溃烂部位，却分离出细菌。这也可以认为，病烂的发生，不是由细菌侵入组织后引起的，而是先藻体局部组织细胞“坏死”后，导致细菌侵入。

##### （三）藻体的健康部位和初发病的藻体病区部位没有发现细菌。

根据对健康海带和病海带的组织切片观察，健康海带的细胞组织正常，没有任何变化，

同时在細胞中也沒有发现細菌，而只有发病的細胞有病变；色素和原生质被破坏，細胞形态模糊，但是在初发病的細胞組織中，和病灶部位周围的組織中，也沒有发现細菌。只有在3/5組的一次样品中，发现无芽孢杆菌。我們认为这是一个特例，不能代表整个結果〔見問題討論(三)〕。另外，如果“叶片点烂病”是由細菌引起的，那么，在初发病的細胞中，和白点周围的細胞中，肯定会有細菌，但观察結果，却沒有这种現象。

## 五、問 題 討 論

根据調查試驗材料，我們还提出以下几个問題进行討論，并与有关方面进行商榷。

### (一) 关于温度与“叶片点烂病”的关系：

一般說来，生理性病害沒有一定病原体的存在，而各个环境因子之間的关系，又是密切相联的，因此确定生理性病害的病因，往往比诊断传染性病害更困难。所以，关于温度与病烂发生的关系，我們认为有必要加以討論。

烟台、威海两养殖区(1962~1963)发病期水温的变化，一般是开始期为 $10^{\circ}\text{C}$ 左右，发病盛期为 $13^{\circ}\text{C}$ 左右， $15^{\circ}\text{C}$ 以上病情即可以稳定下来，似乎有一定規律。那么，温度是不是一个发病主导因子呢？我們认为这是值得研究的。曾呈奎、吳超元、孙国玉(1957)提出，海带孢子体生长的适温范围是 $1\sim 13^{\circ}\text{C}$ ； $5\sim 10^{\circ}\text{C}$ 是最适温度。由此可以认为，“叶片点烂病”的发病期，正处于海带孢子体快速生长的末期，开始进入干物质积累期(厚成期)的交接阶段，但这还不能說明温度的主导作用，因为在同一水域，同一温度条件下，养育水层为50厘米的海带发病严重，而120厘米水层者就不发病。可以說70厘米的水深差度、温度的差异是极其微小的，然而发病期的水温变化却有 $3\sim 5^{\circ}\text{C}$ 的范围。

### (二) 关于培养基的选择和接种方法問題：

培养基的选择好坏，对实验結果有决定性的意义。往往由于培养基选择不当，使欲分离的細菌分离不出，而造成实验失敗。由于对海带的微生物学研究較少，几乎还是一个摸索过程，所以在配置培养基的成分上，大家意見还未取得一致。旅大市水产研究所(1960)和陈世阳(1959)利用純粹的海带浸取液作培养基的主要成分，我們除了利用海带浸取液外，并参照Zobell的2216号培养海洋細菌的培养基和Reuszer培养基，加入一定量的蛋白胨和肉膏，虽然大多数海洋細菌具有分解蛋白质的能力，但是由于蛋白质加入的量較多，并加入少量肉膏，在培养过程中，部分菌株生长不好，可能与培养基的选择有关。然而利用純粹海带浸取液作为分离培养基时，对細菌的生长也会有一定的限制作用。因为海洋細菌对营养物质的要求比較广泛，单加入海带浸取液还不一定能够滿足要求，可能有必要加入适量的蛋白质和它的元素。看来，分离海带病灶部位的細菌时，培养基的成分还应加以研究改进。

在試驗过程中，样品的分离，和海上接种时间的間隔較长，由于环境条件的改变，可能减弱或抑制它們的活动能力，会影响試驗結果的正确性。

安藤芳明等(1960)从日本稚內市前浜病海带体上分离出弧菌(*Vibrio*)，并在室內作組織接种試驗，接种后放于 $20^{\circ}\text{C}$ 溫箱內，只隔一天后，接种組織，即发生穿孔腐烂現象。这和我們室內平面接种所获得的結果是相似的。然而我們认为，离开机体的健康状况和它的正常的生活条件来接种，从而确定它的病原是不够妥当的，所以我們认为接种試驗，除需要在海上进行外，还需要考虑到发病条件和海带正常生活需要的条件。

### (三) 关于試驗結果中的一个特例問題:

在病理解剖的觀察結果中, 24/4, 7/5, 15/5 和 31/5 等四組切片觀察結果表明, 在藻體內部細胞結構中, 未發現細菌侵染; 獨 3/5 組中有无芽孢桿菌侵染, 那么这可否看作“叶片点烂病”的病原呢? 我們认为目前还不能下此結論。首先它所占有的机率很小, 不能代表整个結果。其次, 我們在觀察中注意到这組标本, 細胞組織中細菌的分布量是有差异的, 我們未发现表皮細胞中有細菌, 只是在皮层細胞中有細菌, 而且內皮层中的量多于外皮层(图5)。这种現象可以初步认为, 这些細菌要从表皮层細胞, 直接穿透进来的可能性是很小的。同时我們在整体透明法觀察中, 3/5 組孔洞处也未发现有細菌。所以要认为在发病初期, 是由于細菌分泌某种酶来分解海带外层的胶质保护层和表皮細胞, 而造成海带叶片发生白点的說法, 还是缺乏依据的。第三, 值得說明的是, 3/5 組的样品是在 24 小时以后固定的, 所以材料的处理可能会引起污染; 另外我們也感到很有可能在海区中有某种优势細菌, 从已形成的点或孔洞处的伤口組織中侵入皮层和髓部, 由于它們能分解纖維素和皮层細胞壁, 因此也就能在內部迅速繁殖, 并向周围侵染, 这样也就有可能加速“叶片点烂病”的腐烂程度。

大家知道, 非传染性的病害, 往往轉变为传染性的病害。这是因为当植株局部組織受害时, 就容易遭受自然界中普遍存在的兼性腐生物侵入它內部, 使病情发生轉化, 然而这种轉化, 并不能說明該病害是由細菌引起的。

## 六、預 防 措 施

海带“叶片点烂病”发生突然, 病情发展迅速, 一旦发生, 对生产損失很大, 因此必須以防为主, 使病害不发生, 才能保証生产安全, 从而达到高产、稳产的要求。

基于对海带“叶片点烂病”的初步分析, 我們认为, 預防措施主要应从改善海带生活条件着手。

1. 通流: 通流的目的, 是在改善海带的受光条件, 可以采用縮小养殖小区的面积, 和加大区間空白, 降低放苗密度(特别是苗繩量的减少), 及时切梢, 以及向流速較大的远岸海面移动养殖区等办法来解决。

2. 控制养育水层: 在易于发病期的前 10~15 天, 以及过去的发病期間, 即 4 月下旬至 5 月中旬間, 养育水层可控制在 100 厘米以下, (晚分秋苗还应稍深些, 早分夏苗可酌情稍浅些) 以避免突然受光过强引起发病。但是当藻体将进入厚成期, 并没有发病現象时, 应及时逐步提升养育水层, 以促进藻体充分厚成, 从而提高产量和质量。

3. 尽可能利用夏苗, 提早分梢期: 分苗后及时足量施肥和适时倒置調整海带受光, 以促进藻体提早进入厚成期。

## 七、結 語

病害基本情况的調查, 微生物学分析和病理、解剖三方面取得的結果, 是比較一致的。它表明了海带“叶片点烂病”是一种非传染性病害, 而与光强度大小的变化关系十分密切, 为此提出了以通流和控制养育水层为主的預防措施, 但是中間仍有許多問題有待今后进一步研究解决。至于病害的发生与营养因子(特别是被忽視的微量元素)的可能关系, 以及与温度的关系, 还需要进一步研究探討。

## 参 考 文 献

- [1] 山东水产养殖场, 1958。海带养殖技术总结(1954—1956)。山东水产局。
- [2] 曾呈奎、吴超元等著, 1962。海带养殖学, 科学出版社。230—233。
- [3] 刘恬敬、杨以助, 1962。海带绿烂病产生原因与防治方法, 水产部海洋水产研究所, 海洋水产研究丛刊 1962年14号。
- [4] 长谷川由雄、驹木成、浦原八郎, 1959。稚内市前浜に発生したリシリコンアの腐敗に就いて。北水産月报, 16(9), 341—347。
- [5] 旅大市水产研究所, 1960。关于海带斑点腐烂病害研究报告。旅大市水产研究所调查试验报告第9号。
- [6] 薛延耀编译, 1962。海洋细菌学。科学出版社。第20—21、47—48。
- [7] 陈世阳, 1959。海带腐烂微生物的分析(未刊稿)。
- [8] 华汝成, 海带生长中的腐烂与细菌的关系(未刊稿)。

PRELIMINARY STUDIES ON THE SPOT ROT DISEASE  
OF HADAI FRONDS

*Chefoo Marine Aquiculture Station of the Ministry of Fisheries*

So Ru-ying and Guo Liu-ming

*Chefoo School of Fisheries*

Xu Zhao-qing and Chong Gun-qing

ABSTRACT

On the basis of experimental studies on the spot rot disease of the fronds of the haidai, *Laminaria japonica*, the following results had been obtained,

1. The disease developed more seriously in shallow water regions where water circulation was slow, and the spread more rapidly with increase of water transparency.

2. No bacteria were isolated from the healthy parts of the diseased fronds. Bacteria isolated from the diseased parts were found to be Gram-negative bacilli without spores, and inoculation of these bacteria into healthy fronds did not produce similar diseases.

3. Anatomy of the diseased fronds showed no bacteria in tissues in the early stages of the disease; in later stages, the cells lost all their pigments, only the protoplasm being left, but the epidermal cells of the other shadowed side of the fronds remaining healthy; when the white spots developed further and eventually merged with the neighboring spots into large a hole, often a pigmented ring was found around the hole.

On the basis of these observations, it was concluded that the spot rot disease is physiological in nature and is not caused by pathogenes, although the bacterial growth which eventually followed does worsen the disease. Therefore the authors suggest that to prevent the disease, means must be taken to make better water circulation in the cultivation regions and to lower the cultivation depth of the haidai at the time when the *Laminaria* is most easily infected with this disease.