

二氧化锗对坛紫菜自由丝状体生长发育的影响

马家海 刘青

(上海水产大学)

提 要 本文研究了二氧化锗(GeO_2)对我国特有的坛紫菜自由丝状体的生长发育,及对一些附生性硅藻类和绿藻的影响,论证了二氧化锗在本实验浓度范围内,对坛紫菜自由丝状体无明显毒理影响,而能抑制一些附生性硅藻和绿藻的生长;并探讨了二氧化锗对硅藻、绿藻的毒性机理。由于在培养坛紫菜自由丝状体时很容易附生硅藻,因而研究结果将为坛紫菜自由丝状体及其他藻种的培养和保存提供依据。

关键词 二氧化锗,坛紫菜,自由丝状体

Joyce Lewin (1966)报道,在海藻的混合培养中,当二氧化锗(GeO_2)的浓度为 1.5 mg/l 时,能有效地抑制多种硅藻生长;在纯培养中,当 GeO_2 浓度为 1.0 mg/l,就能有效地减低它们的生长率,并杀死某些硅藻细胞。切田正宪(1970)指出:紫菜叶状体上附有許多硅藻,其中多为舟形藻(*Navicula*),把这些紫菜母藻洗涤或干燥(24小时)并不能完全将硅藻清除掉,由果孢子萌发而来的丝状体如果混入硅藻,就会影响丝状体的纯培养;利用 GeO_2 除去条斑紫菜自由丝状体培养中存在的硅藻,能达到使丝状体不受污染和健康生长的目的。据馆胁正和和水野真(1979)的资料, GeO_2 浓度为 2.5—5mg/l 时,能显著除硅,对褐藻类也有显著抑制作用。这些试验的结果表明, GeO_2 已被普遍用作除硅藻剂来帮助藻类培养;实际上许多种硅藻当其介质中 GeO_2 浓度增至 1—5mg/l 时二周内即可除去。J. W. Markham 等(1982)也作了类似的报导。目前世界上已有美国、日本、西德等国的藻类学者在实验室培养藻种时,采用 GeO_2 作为除硅藻剂。据查利用除硅藻剂 GeO_2 方面的工作和试验在我国尚未见报导。

Iwasaki H. (1961)报道了紫菜自由丝状体的培养方法之后,至今已为各国广泛利用为实验室培养、选育紫菜优良品种的一种重要途径。陈国宜(1979)利用自由丝状体做苗种,通过流水刺激,促放壳孢子,进行人工采壳孢子达到生产要求,但尚存在着自由丝状体易受硅藻等污染的问题,而影响其效果。为了补充这方面试验的空白,我们选择了我国特有的紫菜栽培种类——坛紫菜(*Porphyra haitanensis*)作为实验材料。

材料与方 法

坛紫菜取自福建省晋江海区, 在 -20°C 低温冷库储存备用。硅藻取自海水中中和种菜上常见的几种附生硅藻, 大多为平片针杆藻小形变种(*Synedra tabulata* var. *parva*)、舟形藻(*Navicula* sp.), 还有少量的海生斑条藻(*Grammatophora marina*)、短楔形藻(*Licmophora abbreviata*), 绿藻为蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)。

GeO_2 母液的制备: 使用前将 GeO_2 置于消毒海水中, 配成 $1000\text{mg GeO}_2/\text{l}$ 浓度的母液, 经常振荡使之充分溶解。果孢子萌发、自由丝状体生长发育培养条件: 光强 1500 勒克司(萤光灯光源), 光照时间 10~12 小时, 常温, 壳孢子囊枝成熟后于 7 月 17 日移入 $28\sim 31^{\circ}\text{C}$ 恒温室内进行培养, 每半个月换水一次, 海水比重 1.024, 实验海水均经加热至 75°C 以上消毒之。添加的营养盐含量 $\text{N } 5\text{ppm}(\text{KNO}_3)$, $\text{P } 1.5\text{ppm}(\text{KH}_2\text{PO}_4)$ 。实验培养容器为直径 15cm 的培养皿, 内有培养液 250ml, 其中置有浮游生物记数框一块, 用 150 倍显微镜, 随机镜检果孢子萌发量、自由丝状体生长发育情况以及硅藻、绿藻的存活量(率), 取其平均值, 得出实验数据。

结果与讨论

1. 果孢子萌发 试验的 GeO_2 浓度范围为 $0.1\text{--}40\text{mg/l}$, 同时还安排一个平行对照组, 实验结果列于表 1。果孢子放散后, 无壁, 仅有原生质膜, 具一个集中于中央的星状色素体; 开始为不规则状进而成圆形, 附于玻片上, 次日已形成细胞壁。第二天各不同浓度组的果孢子萌发率均达到 $7.89\text{--}11.54\%$; 随着时间的推移, 萌发率逐渐增加, 果孢子放散的 6 天之后, 萌发率趋于稳定, 达 $39.02\text{--}51.92\%$, 对照组为 44.83% ; 以后, 萌发率基本上都稳定在 $40\text{--}50\%$ 左右, 对照组和各浓度组之间无明显差异; 各浓度组间, 高浓度与低浓度组的果孢子萌发率也基本相似。果孢子萌发后, 即转入丝状体生长阶段(图版, A)

表1 GeO_2 对坛紫菜果孢子萌发的影响

Table 1 Effect of GeO_2 on germination of carpospores of *Porphyra haitanensis*

天 数	GeO_2 浓度 (mg/l)										
	对照	0.1	0.3	0.5	1	3	5	10	20	30	40
2	7.95	9.04	8.96	7.89	8.11	9.25	10.71	11.54	10.19	8.23	11.15
4	20.51	18.18	17.02	18.12	20.12	18.99	19.31	20.00	19.23	20.65	22.86
6	44.83	43.86	44.05	39.08	39.02	41.67	51.92	41.67	43.75	51.35	50.00
8	42.59	44.12	46.03	43.43	42.59	40.30	43.28	42.22	58.33	46.03	46.15
10	45.05	47.06	46.03	54.55	46.43	46.43	46.67	48.44	44.90	55.00	45.57

2. 丝状体的生长 果孢子萌发后, 先伸出萌发管, 原生质部分或全部流入管内; 随着原生质全部流入丝状体内, 原来的孢子成为空囊; 在以后的培养过程中, 空囊能再充满原生质, 色素体呈紫红色。丝状体能形成 2 次至多次分枝而成为营养藻丝团。由表 2 可见, 果孢子放散后的第 2 天, 各组萌发管(丝状体)的长度约为 $7\text{--}10\mu\text{m}$; 随着丝状体的生长, 对照组和各浓度组都没有明显的差异, 到第 14 天丝状体一般有 $3\sim 6$ 次分枝, 总长度

达为 650—788 μm 。据切田正宪(1970)的资料,条斑紫菜能在 1—20mg GeO_2/l 中健康生长;高浓度 30mg GeO_2/l 对条斑紫菜丝状体产生明显的有害影响, GeO_2 浓度达 30mg/l,培养的丝状体 15 天后有一部分褪色,30 天后全部死亡。本试验的实验材料表明,坛紫菜自由丝状体即使是在 40mg GeO_2/l 浓度中,也没有发现明显的毒理效应(图版,B)。

表2 GeO_2 对坛紫菜自由丝状体生长长度的影响Table 2 Effect of GeO_2 on growth length of free-living of *Porphyra haitanensis*

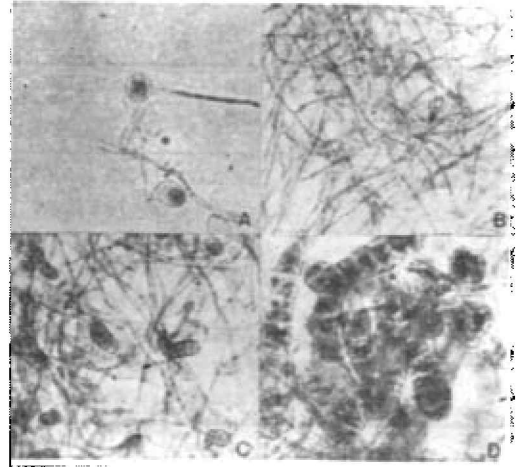
天 数	GeO_2 浓度 (mg/l)											
	对照	0.1	0.3	0.5	1	3	5	10	20	30	40	
2	8	8	9	7	10	9	8	8	8	7	10	
4	40	43	38	50	44	37	42	43	36	41	37	
6	67	71	71	65	66	62	75	78	72	79	66	
8	158	151	134	137	158	174	133	172	141	129	154	
10	212	263	227	263	251	206	195	220	218	209	196	
12	326	322	375	378	352	333	343	285	402	340	302	
14	718	664	744	650	774	618	742	588	754	694	666	

3. 壳孢子囊枝细胞的形成 坛紫菜自由丝状体培育进入 6 月上、中旬,开始形成壳孢子囊枝细胞,它由丝状藻丝直接演化而来。这时分枝出的细胞长大于宽,与丝状藻丝细胞的带状或片状色素体不同,壳孢子囊细胞的色素体呈星状,色泽紫红色。其细胞数的变化列于表 3。表 3 所示,6 月 19 日已有少量壳孢子囊枝细胞形成,到 7 月 1 日各浓度组每视野有 11—14 个壳孢子囊枝细胞,对照组为 12 个细胞/视野。此后,壳孢子囊枝细胞数不断增多,到 8 月 10 日对照组为 124 个细胞/视野,其他各组分别为 103—148 个细胞/视野;这时不论哪一个组,细胞已演变为长宽大致相等呈圆桶状,色素体弥散状,逐渐集中于中央成不规则状,部分细胞形成壳孢子。9 月 11 日对照组为 186 个细胞/视野,其他各组分别为 164—200 个细胞/视野,高、低浓度组均无显著差异;这时壳孢子(双分孢子)约占 1/3 左右,并形成大量茸毛状的壳孢子囊枝细胞,细胞尖细,色淡。成熟时,孢子之间

表3 GeO_2 对坛紫菜壳孢子囊枝细胞形成数量的影响Table 3 Effect of GeO_2 on formation numbers of concho-sporangial cell of *Porphyra haitanensis*

日 期	GeO_2 浓度 (mg/l)														
	对照	0.01	0.03	0.05	0.1	0.3	0.5	0.7	1	3	5	10	20	30	40
6.19	少量	少量	少量	少量	少量	少量	少量	少量	少量	少量	少量	少量	少量	少量	少量
7.1	12	12	13	13	11	13	14	12	13	12	13	14	12	14	14
7.11	25	23	28	21	25	23	24	22	24	20	23	18	26	13	26
7.21	58	44	45	46	40	45	54	40	46	53	51	54	56	51	51
7.30	98	110	96	82	104	96	101	106	96	92	91	90	98	99	98
8.10	124	135	106	110	122	107	115	103	137	127	129	123	148	141	144
8.20	179	170	177	167	177	173	162	177	177	176	182	207	203	169	181
9.1	190	163	190	176	187	170	182	170	171	178	170	175	175	176	176
9.11	186	176	200	199	199	176	170	182	183	176	188	191	164	175	167

的细胞壁融化,分枝成管状,形成单个相连的壳孢子。综上所述,本试验各 GeO_2 浓度组,不论对果孢子萌发,还是丝状体的生长发育,均无毒性作用。据馆胁正和和水野真(1979)的资料,一定的 GeO_2 浓度范围内,对红藻门的多种藻类不起抑制作用。坛紫菜属红藻门,因此本试验的结果再次验证了这一结论。切田正宪(1970)指出,对条斑紫菜丝状体不产生药害的 GeO_2 浓度范围是1—20mg/l,而高浓度 GeO_2 30—50mg/l,在一个月內则可杀死丝状体;这说明在红藻门藻类中,高浓度的 GeO_2 仍能对某些种类或生活史的某一些环节产生毒害作用。相比之下,坛紫菜自由丝状体对 GeO_2 的药害抵抗力远远超过条斑紫菜丝状体(图版, C、D)。



图版 处于高浓度 GeO_2 (30~40mg/l) 中的坛紫菜自由丝状体 A. 果孢子萌发; B. 丝状藻丝; C. 壳孢子囊枝细胞的形成; D. 成熟的壳孢子囊细胞。

4. 硅藻生长的抑制 根据 Joyce Lewin (1966) 的报告,当 GeO_2 浓度为 1.0—1.5mg/l 时,能有效地抑制多种硅藻的生长,并杀死某些硅藻细胞。本试验的硅藻材料主要是平片针杆藻小形变种和舟形藻,夹杂有少量的海生斑条藻、短楔形藻。 GeO_2 浓度从 0.3—5mg/l 分设 7 组。对硅藻的测试与果孢子萌发率测试在同一条件下进行,结果如表 4。从表 4 可见,硅藻的存活率除 0.3mg/l 组仅为 0.23% 之外,0.5mg/l 以上的各浓度组,在 11 天后硅藻全部被杀死。从 0.5—5mg/l 各组比较来看,不论浓度低或高都需要一定的时间才能杀死硅藻, GeO_2 对硅藻的毒害作用是在一定的时间范围内起作用的。从表 5 的 GeO_2 低浓度组试验结果来看,0.15—0.30mg/l 组的硅藻存活率大体相似,在测试的第 9 天存活率下降到低于 0.49%,到第 11 天降到 0.17% 以下。相反,对照组在第 5 天硅藻繁殖达最高值为 561.37%,以后由于海水中营养盐跟不上,数量稍有下降,但还是大大地超过其他各浓度组,因而可以认为 GeO_2 浓度为 0.15—0.30mg/l,即能有效地抑制坛紫菜中常见的几种附生硅藻的生长繁殖。值得指出的是,若将低浓度 0.01—0.07 mg GeO_2 /l 中残存的硅藻玻片取出置于未加 GeO_2 的消毒海水中,硅藻的一部分又能复活

表4 GeO_2 去除硅藻的效应(1)

Table 4 Diatom eliminating effect of GeO_2 (1)

天 数	GeO_2 浓度 (mg/l)						
	0.3	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0
1	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
6	67.71	87.07	55.36	54.54	54.52	67.70	66.83
7	25.80	38.59	24.11	29.23	31.01	38.07	39.87
8	16.34	23.57	12.46	18.18	11.25	19.81	19.49
9	9.57	12.92	6.23	10.33	5.07	6.42	5.57
10	2.10	2.66	0.69	0.71	1.10	1.28	1.52
11	0.23	—	—	—	—	—	—

表5 GeO_2 去除硅藻的效应(2)
Table 5 Diatom eliminating effect of GeO_2 (2)

天 数	GeO_2 浓度 (mg/l)									
	对照	0.01	0.03	0.05	0.07	0.1	0.15	0.20	0.25	0.30
1	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
2	291.58	200.78	141.97	149.89	134.48	145.39	103.03	94.07	92.51	80.71
3	372.58	251.50	159.19	163.39	117.50	139.04	89.47	78.75	82.33	67.57
4	485.51	219.89	115.05	96.32	73.75	63.81	46.57	40.52	39.82	33.78
5	561.37	195.60	56.19	58.14	43.75	41.90	25.83	27.01	18.26	17.06
8	493.77	18.59	10.53	5.95	2.32	3.17	1.28	1.15	1.05	1.19
9	367.60	6.81	4.34	1.57	1.78	1.58	0.47	0.49	0.29	0.34
11	456.38	1.81	0.67	0.35	0.17	0.30	0.16	0.16	0.14	0.17

到自然形态并重新生长繁殖。从形态观察的结果来看,受 GeO_2 毒害的硅藻形状变态,细胞壁破损,原生质外流,新分裂的细胞壁不完整。Joyce Lewin (1966)曾指出, GeO_2 能在一定程度上影响硅质外壳的形成,从理论上来说,硅(Si)在形成硅藻外壳时分三个阶段:(1)硅进入细胞,(2)输送到硅酸盐沉积物的位置,(3)硅在一定的位上形成有机外壳。但也有人认为,锗(Ge)可能在硅质细胞外壳矿化时替代一些硅(Si)。J. W. Markham 和 E. Hagmeier (1982)认为,Ge的特殊作用是阻碍 Si 的新陈代谢,阻碍细胞壁的形成,从而阻碍硅藻细胞分裂。因而可以认为,二氧化锗 GeO_2 对硅藻的影响主要是对原有硅藻细胞壁的破坏,并阻碍硅藻细胞壁的形成,影响硅藻的蛋白质和叶绿素的合成,从而抑制细胞的生长。

表6 GeO_2 抑制蛋白核小球藻生长的效应(1)
Table 6 Inhibition effect of GeO_2 on growth of *Chlorella pyrenoidosa* (1)

天 数	GeO_2 浓度 (mg/l)									
	对照	0.01	0.03	0.05	0.07	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30
1	85	79	78	74	73	84	88	85	75	73
3	117	97	92	94	98	89	91	93	88	88
5	252	252	196	193	191	263	228	226	219	223
7	323	337	341	349	337	366	347	351	312	328
9	643	627	656	634	691	698	708	701	633	634
11	949	844	992	1108	1112	1151	967	610	539	550

5. 对蛋白核小球藻的影响 GeO_2 低、高浓度对蛋白核小球藻的影响,分别列于表6、表7;

由表6的低浓度组可见,第11天后,0.01—0.15mg GeO_2 /l浓度组蛋白核小球藻的数量增至844—1151个/视野,与对照的949个/视野相近,而0.20—0.30mg GeO_2 /l各组均低于或等于610个/视野。说明当 GeO_2 浓度在0.20—0.30mg/l时,能初步减缓蛋白核小球藻的增长。

由表7的高浓度组可见,0.15—0.20mg GeO_2 /l组与对照组比较表明,蛋白核小球藻的量得到了一定的抑制。1.00—5.00mg GeO_2 /l浓度组的蛋白核小球藻数量,经11天生

表7 GeO₂ 抑制蛋白核小球藻生长的效应(2)Table 7 Inhibition effect of GeO₂ on growth of *Chlorella pyrenoidosa* (2)

天 数	GeO ₂ 浓度 (mg/L)									
	对照	0.15	0.20	1.00	5.00	10.00	20.00	30.00	40.00	
1	118	111	127	123	118	110	98	119	96	
3	284	207	225	172	143	111	88	121	103	
5	488	218	269	182	130	138	98	131	104	
7	647	389	393	194	144	141	104	148	120	
9	888	542	532	209	186	163	160	165	160	
11	1046	680	696	247	188	142	156	170	129	

长繁殖后仅是对照组的 20% 左右, 而 10.00—40.00mg GeO₂/l 浓度组, 第 11 天的数量和各组原来的数量相差不远, 说明在高浓度 GeO₂ 的作用下, 蛋白核小球藻的数量得到了很好的控制; 同时从细胞形态上可看到一些蛋白核小球藻的液泡异常增大, 色素变淡或者只留下空壁等现象。

Joyce Lewin (1966) 基于硅是硅藻类的必要元素, 指出二氧化锗 GeO₂ 对硅藻的生长有显著的阻碍作用。Werner (1966) 也发现这个事实, 并指出过二氧化锗 GeO₂ 对兰藻、绿藻是无毒性的^[6]; 但 Werner (1967) 进而又指出锗 Ge 不仅影响硅的代谢系统, 而且对叶绿素合成和叶绿体内的酶合成也有影响^[9]。从本试验的蛋白核小球藻细胞形态观察和生长量的变化, 可以推测高浓度的 GeO₂ 是通过影响绿藻的叶绿素合成和叶绿体内酶的合成而对蛋白核小球藻的生长起阻碍作用的。如果能通过叶绿素成份分析、叶绿体电镜观察及其他相应实验, 进一步研究它的代谢系统变化, 相信会有助于搞清它的毒性机理的。这些都有待进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] 陈国宜, 1979. 关于坛紫菜自由丝状体的培养和直接采苗的研究. 水产学报, 4(1): 19—29.
- [2] 金德祥等, 1982. 中国海洋底栖硅藻类(上卷), 海洋出版社。
- [3] 郑重等, 1984. 海洋浮游生物学, 海洋出版社。
- [4] 曾呈奎、王素娟, 1986. 海藻栽培学. 上海科学技术出版。
- [5] 厦门大学生物系植物学教研室硅藻科组, 1977. 福建省紫菜敌害硅藻的调查. 厦门大学学报, 1: 108—122.
- [6] 今田克, 安部敏男, 1982. のりの培養における雑藻防除剤の研究. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 48: 1507—1516.
- [7] 切田正憲, 1970. 除硅藻剂酸化ゲルマニウムガスサビノリ free-living 系状体の生育におよぼす影响. 藻類, 18(3): 167—170.
- [8] 館脇正和、水野真, 1979. 藻類各種、特に褐藻に対する二酸化ゲルマニウムの生長阻害. 藻類, 27: 205—212.
- [9] Iwasaki H., 1961. The life-cycle of *Porphyra tenera* in vitro. *Biol. Bull.*, 121 (1): 173—187.
- [10] Lewin, J., 1963. Silicon metabolism in diatoms. V. Germanium dioxide, a specific inhibitor of diatom growth. *Phycologia*, 6: 1—12.

下接第 69 页 (continued on page 69)

续表

Characters	<i>M.Mspida</i>	<i>M.sinensis</i> sp.nov.
Pereopeds	full of spinula	full of small scutes
Abdomen	with two rows of spines at the 2nd and 3rd segments, a single row at the 4th segment	with one row of four spines at the 2nd, 3rd and 4th segments, another a spine at posterior margin of the 4th segment

New records of squat-lobsters are *Munida incerta* Henderson 1888, *Munida perarmata* Edwards et Bouvier 1894 and *Ptychogaster defensa* Benedict 1903.

上接第 41 页(continued from page page 41)

- [11] Markham J. W. and E., Ilagmeier, 1982. Observations on the effects of germanium dioxide on the growth of macroalgae and diatoms. *Phycologia*, 21(2): 125-130.

THE EFFECT OF GERMANIUM DIOXIDE (GeO₂) ON THE GROWTH OF FREE-LIVING CONCHOCELIS OF *PORPHYRA HAITANENSIS*

Ma Jiahai and Liu Qing

(Shanghai Fisheries University)

ABSTRACT The cultured free-living conchocelis of *Porphyra haitanensis* is common to be mixed with diatoms and its normal growth is thus affected. In the experiment free-living conchocelis was cultured under the conditions of illuminating strength 1500 lux, for 10—12 hr/day and at normal temperature. Within the concentration extent, it was found that germanium dioxide has no significant effect on the germination of *Porphyra haitanensis* caraspore, the growth of conchocelis, the maturing of conchosporangial cells and the formation of conchospore, but the chemical can effectively restrain the growth and reproduction of attaching diatom and green algae. The poisoning mechanism of germanium dioxide to diatom and green algae is also discussed in this paper.

KEYWORDS germanium dioxide, *Porphyra haitanensis*, free-living conchocelis