

藻类病原体侵染及其防御反应研究进展

Development of defensive responding to pathogen infection in algae

王高歌, 王秀良, 林 伟, 严小军, 段德麟

(中国科学院海洋研究所, 山东 青岛 266071)

中图分类号: S946

文献标识码: A

文章编号: 1000- 3096 (2004) 10- 0060- 03

藻类受到病原体的侵染时, 虽然没有免疫体系, 但也存在许多反应途径来抵御其侵染。藻类细胞可在其表面或胞内产生激发子 (elicitor) 信号, 启动一系列防御反应。虽然该领域研究刚刚起步, 但已取得一定进展。

1 藻类条件致病菌的分离

海藻藻体表面附生或共生许多海洋菌类, 它们不仅利用海藻作为附生基质, 也可以海藻作为“营养源”。但如果环境条件不适合共生菌的生长, 则会变成有害菌, 损伤海藻, 导致海藻发生病害。Yumoto 等^[1]从海带病烂的藻体上分离了褐藻酸降解菌 (*Alteromonas* sp.), Lavilla- Pitogo^[2]从患有叶状体腐烂综合症 (rotten thallus syndrome) 的江蓠分离到的琼胶降解菌, 经鉴定属于革兰氏阴性菌弧菌属。Kusuda^[3]从患“suminori”病的紫菜分离出一种黄杆菌 (*Flavobacterium* sp.)。Tsukidate^[4]报道一种弧菌属的细菌, 导致日本紫菜白腐病的产生。Largo 等^[5]模拟高温、低光强和低盐度的条件下, 研究了琼胶降解菌 P11 (*Vibrio* sp.) 和 P25 (*Cytophage* sp.) 可诱发麒麟菜 (*Kappaphycus alvarezii*, *Eucheum denticulatum*) 发生“ice- ice”病。Jaffray 等^[6]从南非的一种江蓠 (*Gracilaria gracilis*) 分离出一种琼胶降解菌, 能导致江蓠叶状体漂白等病症。陈等^[7- 8]认为褐藻酸降解菌是海带藻体上的主要附生细菌, 其生长繁殖与海带某些病害的发生有一定的关系, 并证明褐藻酸降解菌能产生褐藻酸酶, 它对海带细胞壁产生酶解作用, 从而引起海带的病变与腐烂。丁美丽^[9]用褐藻酸降解菌接种于健康海带表面, 发现其侵入海带表面的分生组织, 然后进入外皮层, 内皮层和髓部, 导致细胞游离, 部分游离细胞的细胞壁破损, 在破损细胞的周围布满了细菌。作者认为一般条

件下, 附生在正常生长藻体表面的菌类是有益菌, 但在非适宜生活条件下, 则会变成“有害菌”, 导致海藻病变及病害发生。因此, 作者将病原菌称之为条件致病菌 (opportunistic pathogen), 即海藻病害的发生是以其生活环境条件的恶化为前提的。

2 引发藻类防御反应的激发子

根据激发子所引起的防御反应的不同, 在植物中分为普通激发子和特异性激发子。研究表明, 藻类也存在类似于高等植物中的激发子, 诱发超敏反应。Weinberger 等^[10]发现江蓠 (*Gracilaria conferta*) 组织与寡聚糖混合温浴条件下, 可产生爆发式呼吸氧, 这表明酶解产物寡聚多糖是藻类的激发子, 可引发江蓠的防御反应。观察结果表明, 在江蓠藻体尖端产生超敏反应。

Weinberger 等^[11]认为在江蓠组织的超敏反应中, 存在内源与外源性“激发子”。内源性激发子由宿主合成, 如寡聚胶质多糖, 是由病原体分泌的胶质酶水解宿主细胞壁而产生的^[12]。外源激发子是由病原体合成, 如病原体外膜及细胞壁的组成成分或胞外分泌物。人们推测, 只有含偶数葡萄糖片段的寡聚纤维糖才具有激发子效应, 并诱导江蓠产生超敏反应, 间接

收稿日期: 2003- 12- 25; 修回日期: 2004- 02- 12

基金项目: 国家“973”项目 (G1999012004); 山东省自然科学基金项目 (20032418)

作者简介: 王高歌 (1968-), 女, 山东临朐人, 博士, 主要从事藻类分子生物学及生理学研究; 段德麟, 通讯作者, E-mail: dlduan@ms.qdio.ac.cn



说明在江蓠细胞壁上,可能存在特定分子量寡糖多糖的受体。

3 藻类酚类化合物及其抗菌活性

植物多酚广泛存在植物体内,在植物抗氧化、抗病病原体、抗肿瘤、抗衰老等方面具有重要作用。藻类多酚含量较高,其合成途径和生理生化作用尚不清楚。在蓝藻、绿藻和褐藻中也有卤代酚类物质,并与藻类的抗菌活性有关。褐藻多酚化合物也有很强的抗菌性,但这些多酚类物质的生理功能尚不清楚。黄健等^[13]报道,在褐藻酸降解菌感染海带染病的初期,多酚含量骤增,可能与病原体的入侵有关,随着病变加重,多酚含量下降。因此,作者推测低等海藻组织内的多酚参与了抵御病原体的反应。

4 藻类的爆发式呼吸氧

爆发式呼吸氧是在人免疫系统中细胞吞噬的“呼吸爆发”(respiratory burst)过程中产生快速、瞬间的大量 AOS(activated oxygen species),包括超氧阴离子(O_2^-), H_2O_2 , O_2 , NO 等和 OH 离子^[14],其后在高等植物细胞受病原体感染后,也发现 AOS^[15],对病原菌的入侵有快速、细胞毒素的作用^[16]。研究表明,海藻中爆发式呼吸氧(oxidative burst)的产生控制着宿主与病原之间的关系。

Coll n 等^[17]报道,受机械损伤的 *Eucheuma platycladum*,也产生爆发式呼吸氧,并认为 H_2O_2 是海藻防御机械损伤的物质。Coll n 等^[18]发现,在光合胁迫条件下,石莼(*Ulva rigida*)释放 H_2O_2 ;在相对封闭的水体中活性氧的积累,有利于抑制其表面附生菌的生长。Bouanab 等^[19]和 Weinberger 等^[10]以角叉菜(*Chondrus crispus*)和江蓠为研究材料,发现寡聚糖可诱导爆发式呼吸氧的产生,并对寄生虫的侵袭起保护作用。Vardi 等^[20]在双鞭甲藻(*Peridinium gatunense*)中也发现 AOS 对细胞死亡起重要的作用。Weinberger 等^[10]对江蓠中爆发式呼吸氧的产生进行了研究,发现江蓠中也存在与高等植物相类似的防御反应机制,受感染的江蓠细胞壁释放 6-8 二糖寡糖,可诱发爆发式呼吸氧的产生。K pper 等^[21]发现寡糖也可诱导海带(*Laminaria digitata*)产生爆发式呼吸氧,激光共聚焦结合荧光观察发现,活性氧的产生多在快速生长的孢子体组织表面。唐学玺等^[22]报道海带在褐藻酸降解菌感染下,活性氧的产生具有普遍性,不受海带品系和菌株的限

制,活性氧的产生发生在感染的早期,这说明海藻中活性氧的产生,可能存在普遍性。

5 藻类受侵染过程中 Ca^{2+} , K^+ 的变化

植物细胞受激发子诱导后,出现质膜的去极化、离子流动、AOS 活性氧的产生及蛋白质磷酸化等早期反应。主要离子流的改变有: Cl^- , K^+ 离子外流, Ca^{2+} 内流及培养基碱化。 Ca^{2+} 变化是病原体感染后产生的早期反应之一,也是重要的胞内信使。 Ca^{2+} 内流参与高等植物氧化过程的激活,也与海带的 AOS 产生有关^[21],应用 Ca^{2+} 通道接抗剂如异博定或乙氧基异博定可完全抑制爆发式呼吸氧的产生。将海带的孢子体组织与寡聚古洛糖醛盐温浴后,运用特异性 K^+ 电极技术,观察到有大量的 K^+ 外流,在温浴的早期, K^+ 浓度变化较小,到 60 min 后, K^+ 的浓度升到最高。说明 K^+ 外流引起的细胞膜通透性改变在信号转导中起重要作用。

6 藻类抗氧化体系

生物体内的抗氧化系统可分为 2 类,一类是抗氧化酶系统,是以超氧化物歧化酶 SOD(superoxide dismutase)为中心一些抗氧化酶类,包括 SOD、过氧化氢酶 CAT(catalase)和过氧化物酶 POD(peroxidase)等;另一类是抗氧化剂系统,主要是指生物体内与抗氧化相关的物质,如还原型谷胱甘肽,维生素 C、维生素 E 和甘露醇等。这 2 种类型的抗氧化系统相互协同,应答环境胁迫反应。唐学玺等^[23]研究了褐藻酸降解菌感染对海带抗氧化酶活性的影响,认为在感染初期,海带细胞内 SOD 和 CAT 的活性急剧升高,随着感染的进行,二者的活性逐渐下降;抗坏血酸酶 APX(ascorbic acid peroxidase)活性在感染初期变化不明显,而在感染后期有所增加。谷胱甘肽过氧化物酶 GPX(glutathione peroxidase)活性在整个感染的过程中没有明显的升降变化,反映这 4 种抗氧化酶的变化有所不同。

参考文献:

- [1] Yumoto I, Yamaguchi K, Yamada K, et al. Relationship between bacterial flora and occurrence of the *Alteromonas* sp., the causative agent of red-spots on the culture bed of makoibu *Laminaria japonica*, in the coastal area of Funak Bay[J]. *Nippon Suisan Gakk*, 1989, 55: 1907-1914.
- [2] Lavilla- Pitogo C R. Agar-digesting bacteria associated with "rotten thallus syndrome" of *Gracilaria* sp. [J]. *Aquaculture*, 1992, 102: 1-7.

- [3] Kusuda R, Kawai K, Salati F, *et al.* Characteristics of *Flavobacterium* sp. Causing sumion disease in cultivated *Porphyra*[J]. **Suisanzoshoku**, 1992, 40: 457- 461.
- [4] Tsukidate J. On the systemic relationship between porphyra species and attached bacteria and bacterial pathogen in white rot[J]. **BullNansei Reg Fish Res Lab**, 1983, 15: 29- 96.
- [5] Largo D B, Fukami K, Nishijima T, *et al.* Laboratory-induced development of the ice- ice disease of the famed red algae *Kappaphycus alvarezii* and *Eucheuma denticulatum* (Solieriaceae, Gigartinales, Rhodophyta) [J]. **J Appl Phycol**, 1995(7): 539- 543.
- [6] Jaffray A E, Coyne V E. Development of an *in situ* assay to detect bacterial pathogens of the red alga *Gracilaria gracilis* Steentoft, Irvine et Farnham[J]. **J Appl Phycol**, 1996(8): 409- 414.
- [7] 陈 , 林光恒, 沈世泽. 海带夏苗培育中褐藻酸降解菌与烂苗的关系[J]. 海洋与湖沼, 1981, 2(2): 133- 135.
- [8] 陈 , 林光恒, 沈世泽. 褐藻酸降解菌与褐藻酸酶对海带藻体的作用[J]. 海洋与湖沼, 1979, 10(4): 329- 333.
- [9] 丁美丽. 环境因子对褐藻酸降解菌引起海带病烂影响研究[J]. 海洋学报, 1990, 12(2): 224- 229.
- [10] Weinberger F, Friedlander M, Hoppe H G. Oligogars elicit a physiological response in *Gracilaria conferta* (Rhodophyta) [J]. **J Phycol**, 1999, 35: 747- 755.
- [11] Weinberger F, Friedlander M. Endogenous and exogenous elicitors of a hypersensitive response in *Gracilaria conferta* (Rhodophyta) [J]. **J Appl Phycol**, 2000 (12) : 139- 145.
- [12] Nothnagel E A, McNeil M, albersheim P, *et al.* Host- pathogen interactions. XXII. a galacturonic acid oligosaccharide from plant cell walls elicits phytoalexins[J]. **Plant Physiol**, 1983, 71: 916- 926.
- [13] 黄健, 唐学玺, 刘涛, 等. 褐藻酸降解菌感染过程中海带超微结构及多酚和多酚氧化酶的变化[J]. 高技术通讯, 2002, 12(9): 74- 77.
- [14] Baldrige C W, Genard R W. The extra respiration of phagocytosis[J]. **J Physiol**, 1993, 103: 235- 236.
- [15] Doke N. Involvement of superoxide anion generation in the hypersensitive response of potato tuber tissues to infection with an incompatible race of phytophthora infestans and to the hyphal wall components[J]. **Physiol Plant Pathol**, 1983, 23: 345- 357.
- [16] Pennell R I, Lamb C. Programmed cell death in plants[J]. **The Plant Cell**, 1997(9) : 1 157- 1 168.
- [17] Coll n J, Peders n M. A stress- induced oxidative burst in *Eucheumaplacycladum* (Rhodophyta)[J]. **Physiol Plant**, 1994, 92: 417- 422.
- [18] Coll n J, Del Rio M J, Garcia- Reina G, *et al.* Photosynthetic production of hydrogen peroxide by *Uva rigida* C. Ag. (Chlorophyta) [J]. **Planta**, 1995, 196: 225- 230.
- [19] Bouarb K, Potin P, Correa J, *et al.* Sulfated oligosaccharides mediate the interaction between a marine red alga and its green alga pathogenic endophyte[J]. **Plant Cell**, 1999(11): 1 635- 1 650.
- [20] Vardi A, Beman- Frank I, Rozenberg T, *et al.* Programmed cell death of dinoflagellate *Peridinium gatunense* is mediated by CO₂ limitation and oxidative stress[J]. **Curr Biol**, 1999(9) : 1061- 1064.
- [21] K pper F C, Kloareg B, Guern J, *et al.* Oligoguluronates elicit and oxidative burst in the brown algal kelp *Laminaria digitata* [J]. **Plant Physiol**, 2001, 125: 278- 291.
- [22] 唐学玺, 王悠, 黄健, 等. 活性氧在海带抗褐藻酸降解菌感染中的作用[J]. 植物学报, 2001, 43(12): 1 303- 1 306.
- [23] 唐学玺, 杨震, 黄健, 等. 褐藻酸降解菌感染对海带抗氧化酶活性的影响[J]. 水产学报, 2001, 25(5): 424- 427.

(本文编辑: 张培新)