

褐藻雌诱激素研究进展

Advance in male-attractants from Phaeophyta

李文茹^{1,2}, 李大鹏¹, 杜献明³

(1.中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071; 2.中国科学院 研究生院, 北京 100039; 3. 临沂出入境检验检疫局, 山东 临沂 276034)

中图分类号: Q256, Q257

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2006)03-0079-05

在藻类植物中,卵对精子的向化性吸引是一个很常见的现象。早在1854年,有学者对墨角藻目(Fucales)一些海藻精子的向化性进行了报道^[1]。目前普遍认为精子的向化性是由于卵释放出了一种化学信号,这种化学信号能够促进精子与卵细胞的结合,使受精作用顺利完成,这里我们把这种化学信号叫雌诱激素。由于这种信号物质的浓度很低,使提取鉴定该物质的研究一直受阻。直到1971年生化分析技术的改进使鉴定该物质成为可能,特别是闭环提取方法^[2]的提出,大大促进了对褐藻雌诱激素的研究。从1971年至今的短短30年里,对褐藻雌诱激素的研究取得了很大进展,先后有十几种雌诱激素被分离和鉴定,并完成了其化学合成。

对海洋褐藻有性生殖过程中的化学信号研究,不但加深了对低等植物有性生殖过程的理解,而且为高等植物有性生殖过程的研究提供了参考。另外对雌诱激素系统地深入研究,在探讨该类物质的化学结构与植物地理学、系统发生学及分类学的关系方面也有很大价值。由于藻类雌诱激素在褐藻门中研究较多,作者从褐藻雌诱激素的化学本质、生理作用、提取及鉴定、研究意义和展望等几方面,并结合本实验室的研究工作评述其研究进展。

1 褐藻雌诱激素的化学本质

由于生化分析技术的进步,1971年鉴定出了第一种藻类雌诱激素,其化学本质为ectocarpene,是一个C₁₁的环庚烷^[3]。1975年在墨角藻目的齿缘墨角藻(*Fucus serratus*)中鉴定出雌诱激素 fucoserratene,

是一个C₈的直链烯炔^[4]。1984年,在墨角藻目 Hormosiraceae 科 *Hormosira banksii* 中鉴定出雌诱激素 hormosirene,这是发现的第一种环丙烷衍生物类雌诱激素^[5]。到目前为止,十多种藻类雌诱激素被分离和鉴定(表1)。

从褐藻门(Phaeophyta)中分离和鉴定的雌诱激素,除圆孢纲(Cyclosporidae)的齿缘墨角藻分泌的雌诱激素是直链的C₈烯炔外^[4],其它褐藻类分泌的雌诱激素都是C₁₁的直链烯炔^[6-8]或单环的C₁₁环丙烷(cyclopropane)^[5,9]、环戊烷(cyclopentane)^[10-13]、环庚烷(cycloheptane)^[3,9,14,15]烯炔类衍生物。掌状海带(*Laminaria digitata*)的雌诱激素是一个C₁₁的结构,分子中有一个氧原子^[16,17]。

从表1中可以看出,这些藻的雌诱激素在结构上密切相关。网地藻(*Dictyota dichotoma*)的雌诱激素 dictyopterene C是长囊水云(*Ectocarpus siliculosus*)雌诱激素 ectocarpene 的一种氢化物,刺酸藻(*Desmarestia aculeata*)雌诱激素 desmarestene也是ectocarpene的衍生物,比ectocarpene多了一个双键。马鞭藻(*Cutleria multifida*)雌诱激素 multifidene是 *Syringoderma* 的雌诱激素 viridiene 的氢化物,绒绳藻

收稿日期:2004-12-20;修回日期:2005-02-20

基金项目:中国科学院创新工程项目(KZCX3-SW-215)

作者简介:李文茹(1978-),女,天津市人,硕士研究生,从事大型经济海藻有性生殖研究, E-mail:liwenru@ms.qdio.ac.cn; 李大鹏, 通讯作者,电话:0532-82898557, E-mail:dpli@ms.qdio.ac.cn

(*Chorda tomentosa*) 雌诱激素是 multifidene 的 (+) 对映结构体。狭果藻(*Spermatochnus paradoxus*) 雌诱激素 undecatetraene 和墨角藻目的 *Ascophyllum nodosum* 的雌诱激素 finavarrene 都是 1,3-反-5,8-顺-十一碳四烯。*Cystophora siliquosa* 雌诱激素 cystophorene 是十一碳四烯的氢化物。齿缘墨角藻雌诱激素 fucoserratene 是一个 C₈ 的直链烯烃, 墨角藻目 Hormosiraceae 科的一种 *Hormosira banksii* 分泌的雌诱激素 hormosirene 是一种 C₁₁ 烯烃环丙烷衍生物。

长囊水云和 *Analipus japonicus* 都分泌 ectocarpene 作为雌诱激素, *Hormosira banksii* 和 渲藻(*Scytosiphon lomentaria*) 都分泌 hormosirene 作为雌诱激素。

与其生理功能相适应, 藻类雌诱激素都是易挥发的单环或直链烯烃类物质。由于雌诱激素的易挥发性, 藻类雌配子体分泌后, 易于通过介质迅速传到雄配子体周围, 然后与雄配子上的激素受体作用而产生生理效应。

表 1 已分离鉴定的褐藻雌诱激素

名称	来源藻	化学结构	结构式	参考文献
Ectocarpene	长囊水云(<i>Ectocarpus siliculosus</i>), <i>Analipus japonicus</i>	1-顺丁烯基-2, 5-环庚双烯		[3] [9]
dictyopterene C	网地藻 (<i>Dictyota dichotoma</i>)	1-丁基-2, 5-环庚双烯		[14]
desmarestene	刺酸藻 (<i>Desmarestia aculeata</i>)	1-顺丁二烯基-2, 5-环庚双烯		[15]
multifidene	马鞭藻 (<i>Cutleria multifida</i>)	(3S,4S)-顺-3-(1Z-丁烯基)-4-乙烯基-环戊烯		[10]
viridiene	<i>Syngoderma</i>	(+)-(3R,4S)-3-(1Z-丁-1,3-二烯基)-4-乙烯基-环戊烯		[11]
multifidene(+)	绒绳藻 (<i>Chorda tomentosa</i>)	(+)-(3S,4S)-顺-3-(1Z-丁烯基)-4-乙烯基-环戊烯		[12]
-	育叶网翼藻(<i>Dictyopteris prolifera</i>)	(+)-(3S,4S)-3-丁基-4-乙烯基-环戊烯		[13]
fucoserratene	齿缘墨角藻 (<i>Fucus serratus</i>)	1,3-反,5,8-顺-八碳三烯		[4]
lamoxirene	掌状海带 (<i>Laminaria digitata</i>)	1-(1',2'-顺-环氧-3'乙炔基)-环庚-2,5-烯		[16,17]
undecatetraene	狭果藻(<i>Spermatochnus paradoxus</i>)	1,3-反,5,8-顺-十一碳四烯		[6]
finavarrene	<i>Ascophyllum nodosum</i>	1(3E,5Z,8Z)-十一碳四烯		[7]
cystophorene	<i>Cystophora siliquosa</i>	反-1-乙烯基-2-(1E,3Z-己二烯基)-环丙烷		[8]
hormosirene	<i>Hormosira banksii</i> 渲藻(<i>Scytosiphon lomentaria</i>)	反-1-乙烯基-2-(1E,3Z-己二烯基)-环丙烷		[5] [9]

注: - 表示目前不清楚

2 褐藻雌诱激素的生理作用

藻类通常可以进行无性和有性两种生殖。有性生殖就是通过产生雌雄配子，雌雄配子结合生成合子，再由合子发育成藻类植株。在雌雄配子的结合过程中，需要细胞之间进行信号转导，其中雌配子体分泌的雌诱激素是雌雄配子进行信号转导的重要物质。在这类物质的介导下，精子会向卵细胞游动，完成精卵结合。

很多科研工作者都曾观察到长囊水云的雌配子体附着并排卵时，吸引大量精子向其游动，精子游到卵细胞附近后，用鞭毛尖端与卵细胞相接触。当一个精子与卵细胞结合后，合子就会失去了吸引其它精子的能力，可以看到其余精子逐渐消散。推测雌配子体可能分泌了某种易挥发物质吸引精子与之结合。Müller 等利用雌诱激素易挥发的特性，从培养物中提取到这种物质，第一次分离鉴定了藻类的一种雌诱激素^[3]。1979 年在海带目 (Laminariales) 中发现了一个更为复杂的系统，成熟的雌配子分泌一种极易挥发的物质，不仅具有吸引精子的活性，还能够诱导精子囊大量排精^[16]。在刺酸藻中也发现，当雌雄配子体分开培养发育时，排卵的同时并不排精，但当把排卵后的一滴雌配子体发育液加到成熟的雄配子体发育液中时，发现了精子的大量排放。从加入雌配子体发育液到排精的整个过程在 8 ~ 15 s 内完成。这说明刺酸藻雌配子体排卵时分泌了一种化学物质，能够触发成熟的精囊排精。而且观察到卵的周围吸引了大量的精子，说明卵具有吸引精子的活性。当时只发现这种物质易挥发，且能触发排精并吸引精子，没有更深入的研究结果^[18]。1982 年，分离并鉴定了刺酸藻和酸藻 (*Desmarestia viridis*) 中这种物质的结构为 1-顺丁二烯基-2, 5-环庚双烯，命名为 desmarestene^[15]。到目前为止，从网地藻^[14]、狭果藻^[6]、绒绳藻^[12]、*Hormosira banksii*^[5]等多种藻中分离和鉴定了多种藻的雌诱激素，它们都具有诱导精囊排精和吸引精子的活性。

一种藻可能分泌多种雌诱激素发挥生理作用。气相色谱分析结果表明，*Aalipus japonicus* 藻的雌诱激素由 hormosirene, ectocarpene 和 dictyotene (11 : 87 : 2) 组成^[19]。

1980 年，研究发现齿缘墨角藻和墨角藻 (*Fucus vesiculosus*) 的雌配子体分泌相同的雌诱激素

fucoserraten。这 2 种藻的精子与卵子杂交反应结果表明，在精子的向化性方面，精子不能区分同种的卵和另一种卵。由此推断雌诱激素的特异性不在种的水平上，可能在更高的分类单元上。水云属的某些种 (*Ectocarpus* spp.) 和海带属的某些种 (*Laminaria* spp.) 中的证据也表明这一点。长囊水云和 *E.draparnaldioides* 都分泌 ectocarpene 作为雌诱激素，杂交反应出现了特征性的精子吸引现象，但胞质融合不能发生。糖海带 (*Laminaria saccharina*)、极北海带 (*Laminaria hyperborea*) 和掌状海带雌配子体分泌的雌诱激素也相同，都是 C₁₁H₁₄O 的物质，而且掌状海带分泌的两种辅助激素 ectocarpene 和 n-pentadecane 在糖海带和极北海带中也有分泌，而且分泌的量也相当^[20]。1993 年，又见报道渣藻属的一个新种 (*Scytosiphon* sp.) 分泌 ectocarpene 为吸引精子的雌诱激素，而渣藻雌配子分泌的雌诱激素为 hormosirene，出现了同属内吸引精子的雌诱激素不同的现象^[21]。

雌诱激素的生理作用在不同的属间存在交叉现象。通过气质联用分析证明，*Dictyopteris membranecea*^[22]和育叶网翼藻 (*Dictyopteris prolifera*)^[23] 的雌诱激素是顺-3-丁基-4-乙烯基-环戊烷 (cis-3-butyl-4-vinyl-cyclopentene)，该分子结构与马鞭藻和刺酸藻的雌诱激素结构十分相似。在褐藻纲的 *Syringoderma* 中鉴定出 viridiene 是吸引精子的雌诱激素，还有一种微量的副产物是 multifidene^[11]。viridiene 是刺酸藻的一种微量副产物，而 multifidene 是马鞭藻的雌诱激素。这一现象在其它褐藻雌诱激素中也有发现^[12]。而且，*Ascophyllum nodosum* 分泌 1(3E,5Z,8Z)-十一碳四烯，这种化合物是网翼藻 (*D. plagiogramma*) 营养体中的一种成分，也是狭果藻雌配子体分泌的一种成分，只是没有检测到相应的生物作用。索藻目 (Chordariales) 的狭果藻与墨角藻目的 *Ascophyllum* 亲缘关系并不近，那么这种分泌物的相同可能是一种巧合^[7]。

有些藻类的雌配子体分泌物中可能存在多种雌诱激素相关化合物，但是只有一种能够发挥生理功能。在绒绳藻雌配子分泌物中鉴定出 4 种产物：multifidene、3-butyl-4-vinyl-cyclopentene、ectocarpene、dictyotere C (87 : 2 : 9 : 3)，其中 multifidene 的一种旋光异构体 (+) multifidene 是吸

引精子的雌诱激素, ectocarpene 及 dictyopterene C 是无生理功能的副产物。从刺酸藻和酸藻中提取雌诱激素是 desmarestene、viridienne 和 ectocarpene 的混合物, 而 viridienne 和 ectocarpene 作为副产物没有检测到其生理作用^[12]。

曾呈奎等^[24]观察到海带的卵吸引精子游动的现象, 并推测排卵的同时分泌一种能发生生理效应的物质, 吸引精子游向卵, 但没有进一步研究。作者所在的实验室在研究裙带菜时也发现了这种现象, 精子囊的成熟早于卵囊, 但只有当培养中有卵释放后, 才能看到精子的排出, 这些排出的精子能够准确无误地找到刚排出的卵并与其结合。有时排出的卵囊内留有一些残留物, 可以看到大量的精子围绕在这些残留物周围^[25]。

在雄配子的细胞膜上存在一种或多种雌诱激素受体^[26], 不同属或种的藻类有不同的受体, 受体相似程度与亲缘关系及生存环境之间可能存在一定的联系。作者推测受体与雌诱激素之间是一种特异性的结合关系, 当雄配子细胞膜上只有一种受体时, 就只能接受一种激素的刺激, 有多种受体就能接受多种激素的刺激。当激素与受体结合后, 受体蛋白通过构象改变, 就把信号从胞外转移到胞内, 诱发一系列的生理生化反应, 使雄配子靠近雌配子, 完成受精作用。雄配子向雌配子靠近的定向性是由雌诱激素在介质中扩散形成的梯度决定的^[27]。雌配子分泌雌诱激素后, 由于其易挥发性不断向周围扩散, 在扩散的过程中就形成了连续的浓度梯度, 雄配子在受激素的刺激后, 顺着浓度梯度游向雌配子(图 1)。

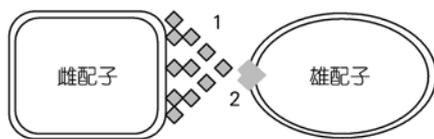


图 1 雌诱激素作用机制

1. 雌诱激素; 2. 激素受体

3 褐藻雌诱激素的提取、分析及鉴定

目前, 有关藻类雌诱激素的提取基本上沿用一种称为闭环系统(图 2)的提取方法^[2]。这种方法, 充

分利用了雌诱激素易挥发的特点, 用气泵向样品瓶中不断充气, 使经由样品瓶的气体再经过活性炭过滤柱, 从而使这种易挥发的雌诱激素被吸附在活性炭滤柱上, 在这个闭环系统中经过不断地循环过滤, 使活性炭滤柱上吸附一定量的雌诱激素。然后将雌诱激素从活性炭滤柱上洗脱下来, 用于分析。

分析的第一步是把活性炭滤柱上吸附的雌诱激素洗脱下来, 进行 HPLC 分析。通过检测紫外吸收波长、滞留时间和峰值大小等初步鉴定该物质。然后将雌配子洗脱物与雄配子洗脱物的洗脱峰相比较, 寻找雌配子的特征峰, 则该峰处的洗脱物可能为要提取的雌诱激素。最后再将该洗脱物进行气相色谱和气质联用分析, 鉴定该物质。

鉴定该物质后, 要进一步研究该物质的生理作用。基本思路为化学方法或生物方法合成该物质^[28-32], 然后在雄配子发育过程中添加该物质, 观察产生的生理作用。如果此物质能够促进精子释放和诱导精子向其游动, 就可以确认此物质为该藻的雌诱激素。

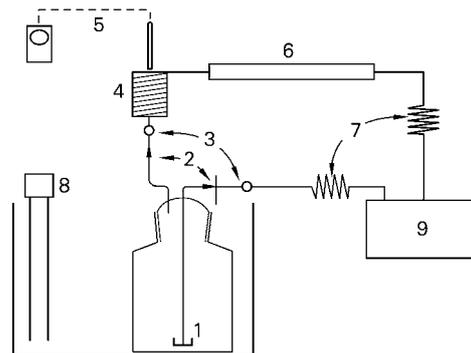


图 2 提取雌诱激素的闭环系统

1. 带孔的玻璃管; 2. PTFE 连接; 3. 玻璃 - 钢熔接连接;
4. 铝圆柱气体加热装置; 5. 带继电器的焊铁; 6. 活性炭过滤柱;
7. 不锈钢管; 8. 恒温水浴; 9. 泵

4 褐藻雌诱激素的研究意义及展望

褐藻雌诱激素的研究具有重要的理论和实践意义, 主要体现在以下几方面: (1) 通过对雌诱激素的研究, 加深对藻类有性生殖过程的理解。精卵识别是一个复杂的生理过程, 需要多种细胞间信号的转导和多种蛋白的参与, 其中雌配子分泌的雌诱激素就是一种

重要的化学信号;(2)在系统发生学及分类学的关系方面也有很大价值。雌诱激素虽然在不同属间存在交叉现象,但也具有一定的种属特异性,通过对这种激素结构与生理功能关系的研究,将为藻类的分类及藻类系统发生学的研究提供更多的理论依据;(3)由于雌诱激素与藻类的生存地域有很大的关系,所以雌诱激素对藻类植物地理学的研究具有重要的意义;(4)在实践中,可以利用雌诱激素更快更好地繁育优良藻种。

雌诱激素的研究涉及细胞信号转导、藻类系统发生学、分类学及植物地理学等基本问题,且与藻类育种等社会实践密切相关,未来的研究应注重以下几点:(1)雌诱激素作用机制的研究,特别是特异性的激素受体及受体与激素作用后发生的生理生化反应是研究的难点;(2)更多种类的雌诱激素的分离和鉴定;(3)雌诱激素与藻类系统发生学、分类学及藻类地理学关系的探索;(4)加速雌诱激素应用于藻类育种研究。

参考文献:

- [1] Turet G. La fecondation des Fucacees[J]. **Ann Sci Nat Bot**, 1854,4(2):197-214.
- [2] Grob K, ZÜRcher F. Stripping of trace organic substances from water equipment and procedure[J]. **J Chromatogr**,1976,117:285-294.
- [3] Müller D G, Jaenicke L, Donike M, A *et al*. Sex attractant in a brown alga:chemical structure[J]. **Science**,1971,171:815-817.
- [4] Jaenicke L, Seferiadis K. Die stereochemie von fucoserraten, dem gametenlockstoff der braunalge *Fucus serratus* L.[J]. **Chem Ber**, 1975,108:225-232.
- [5] Müller D G, Clayton M N, Gassmann G, *et al*. The sperm attractant of *Hormosira banksii* (Phaeophyceae,Fucales),a seaweed common to Australia and New Zealand[J]. **Experientia**, 1984,40:211-212.
- [6] Müller D G, Marnner F-J, Boland W, *et al*. Identification of a volatile gamete secretion in *Spermatochnus paradoxus*[J]. **Naturwissenschaften**, 1981,68:478-480.
- [7] Müller D G, Gassmann G, Marnner F-J, *et al*. The sperm attractant of the marine brown alga *Ascophyllum nodosum* (Phaeophyceae)[J]. **Science**, 1982,218:1119-1120.
- [8] Müller D G, Clayton M N, Gassmann G, *et al*. Cystophorene and hormosirene,sperm attractants in Australian brown algae[J]. **Naturwissenschaften**, 1985,72:97-99.
- [9] Kajiwara T, Hatanaka A, Kodoma K, *et al*. Dictyopterenes from three Japanese brown algae[J]. **Phytochemistry** 1991,30:1805-1807.
- [10] Jaenicke L, Müller D G, Moore R E. Multifidene and aucantene, C₁₁ hydrocarbons in the male-attracting essential oil from the gynogametes of *Cutleria multifida* (Smith) Grev.(Phaeophyta) [J]. **J Am Chem Soc**, 1974,96:3324-3325.
- [11] Müller D G, Boland W, Marnner F-J. Viridiene, the sexual pheromone of *Syringoderma* (Phaeophyceae) [J]. **Naturwissenschaften**, 1982, 69:501-502.
- [12] Maier I, Müller D G, Gassmann G, *et al*. Pheromone-triggered gamete release in *Chorda tomentosa*[J]. **Naturwissenschaften**, 1984,71:48-49.
- [13] Kajiwara T, Akakabe Y, Matsui K, *et al*. (+)-(3s,4s)-3-Butyl-4-Vinylcyclopentene in brown algae of the genus *Dictyopteris*[J]. **Phytochemistry**, 1997,45:529-532.
- [14] Müller D G, Gassmann G, Boland W, *et al*. *Dictyota dichotoma* (Phaeophyceae):identification of the sperm attractant[J]. **Science**, 1981,212:1040-1041.
- [15] Müller D G, Peters A. Identification of a sexual hormone and related substances in the marine brown alga *Desmarestia*[J]. **Naturwissenschaften**, 1982,69:290-291.
- [16] Müller D G, LÜning K. Isolation of a spermatozoid-releasing and -attracting substance from female gametophytes of *Laminaria digitata*[J]. **Nature**, 1979,279:430-431.
- [17] Marnner F-J, Müller B, Jaenicke L. Lamoxirene. structural proof of the spermatozoid releasing and attracting pheromone of Laminariales[J]. **Z Naturforsch**, 1984,39c:689-691.
- [18] Müller D G, Lütke N M. Hormonal interaction in sexual reproduction of *Desmarestia aculeate* (Phaeophyceae)[J]. **Br Phyco J**, 1981,16:351-356.

- [19] Kodoma K, Matsui K, Hatanaka A, *et al.* A female gamete-characteristic (3Z,6Z,9Z)- dodecatricoinic acid from *Analipus japonicus*[J]. **Phytochemistry** 1993,33:1 039 – 1 042.
- [20] Müller D G. Sexual Hormone specificity in *Ectocarpus* and *Laminaria* (Phaeophyceae) [J]. **Naturwissenschaften**, 1980,67:462 – 463.
- [21] Kodoma K, Matsui K, Hatanaka A, *et al.* Sex-attractants secreted from female gametes of Japanese brown algae of the genus *Scytosiphon*[J]. **Phytochemistry**, 1993,32:817 - 819.
- [22] Boland W, Müller D G. On the odor of the Mediterranean seaweed *Dictyopteris membranacea*; New C₁₁ hydrocarbons from marine brown algae[J]. **Tetrahedron Letters**, 1987,28:307 – 310.
- [23] Kajiwarra T, Hatanaka A, Tanaka Y, *et al.* Volatile constituents from marine brown algae of Japanese *Dictyopteris*[J]. **Phytochemistry**, 1989,28:636 – 639.
- [24] 曾呈奎,任国忠,吴超元.关于海带配子体的排卵和排精现象及精子的形态[J].**科学通报**,1959,4:129 – 130.
- [25] Wu Chaoyuan, Li Dapeng, Liu Haihang, *et al.* Mass culture of *Undaria* gametophyte clones and their use in sporeling culture[J]. **Hydrobiologia**, 2004,512:153 – 156.
- [26] Boland W, Marrner F-J, Jaenicke L, *et al.* Comparative receptor study in gamete chemotaxis of the seaweeds *Ectocarpus siliculosus* and *Cutleria multifida*[J]. **Eur J Biochem**, 1983, 134:97 – 103.
- [27] Lüning K, Müller D G. Chemical interaction in sexual reproduction of several Laminariales(Phaeophyceae):release and attraction of spermatozoids[J]. **Z Pflphys**, 1978, 89: 333 – 341.
- [28] Yamada K, Tan H, Tatematsu H, *et al.* Dictyoprolene and neodictyoprolene, two new odoriferous compounds from the brown algae *Dictyopteris prolifera*:structures and synthesis[J]. **Tetrahedron**, 1986 ,142 (14): 3 375 – 3 380.
- [29] Stratmann K, Boland W, Müller D G. Biosynthesis of pheromones in female gametes of marine brown algae(Phaeophyceae)[J]. **Tetrahedron**, 1993, 49(18):3 755 – 3 766.
- [30] Lebreton J, Alphand V, Furstoss R. A short chemoenzymatic synthesis of (+)-multifidene and (+)-viridienne[J]. **Tetrahedron Letters**, 1996, 37(7): 1011 – 1014 .
- [31] Pohnert G, Boland W. Pericyclic reactions in nature: synthesis and cope rearrangement of thermolabile bis-alkenylcyclopropanes from female gametes of marine brown algae(Phaeophyceae)[J]. **Tetrahedron**, 1997, 53(40): 13 681 – 13 694.
- [32] Lebreton J, Alphand V, Furstoss R. Chemoenzymatic synthesis of marine brown algae pheromones[J]. **Tetrahedron**, 1997, 53(1): 145 – 160.

(本文编辑:张培新)