

藻类有性生殖过程的细胞信号转导

Signal transduction during sexual reproduction in algae

李大鹏, 李文茹

(中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071)

中图分类号: Q256, Q257 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2006)10-0092-05

植物的有性生殖过程是一个极其复杂的生物学过程,受多种信号转导途径的调控和影响。因此,负责识别、转导、接受、处理环境有关信号的信号转导途径成为人们感兴趣的研究对象。在被子植物中,雌雄配子均包埋在各自的配子体中,实验操作难度较大,借鉴藻类这一较低等的植物进行研究,对于深入了解植物界的有性生殖过程将是有益的。

藻类的细胞信号转导系统主要包括环境刺激与胞外信号、跨膜信号系统和细胞内信号等。这些信号彼此沟通,形成信号转导网。作者从藻类有性生殖过程中的光和温度信号、雌配子分泌物、胞内信号系统、避免多精入卵的机制几方面综述国内外研究进展,并做预期展望,以期对藻类有性生殖这一重要过程的基础方面有全面、深入的认识。

1 光和温度信号对藻类有性生殖过程的影响

1.1 藻类有性生殖过程中的光调控

藻类生殖结构的形成,孢子、配子释放都受光的影响。几乎所有的中心硅藻形成复大孢子都需要光的诱导^[1,2]。蓝光使海带属(*Laminaria*)的孢子释放推迟几小时,并抑制释放节律^[3]。在光照下,鹿角藻属(*Pelvetia* Decaisne)的成熟生殖托(receptacles)延迟450 h才释放卵子,而在黑暗中不到3 min卵子即开始释放^[4]。

藻类的排卵、排精和受精过程也都受到光的影响。早在1959年,曾呈奎^[5]在研究海带时发现卵的排出和黑暗有一定的关系,把海带的配子体培养在光强约1 000 lx,光照10 h的条件下,卵一般在光照停止,黑暗1.5 h以后自卵排出,同时还发现光照时间不同,排卵前需要的黑暗时间亦不同。光照时间长需要的黑暗时间短,光照时间短则需要的黑暗时间长,而且还根据排卵的情况推测受精作用可能在黑暗中进行,但对受精作用是否能在光线下进行没有得到明确的结论。

作者所在的实验室^[6]在观察裙带菜(*Undaria pinnatifida*)有性生殖过程时,证实了排卵、排精和受精过程发生在黑暗中,而且发现排卵过程一旦受到光的干扰,就会诱导卵从卵囊上脱落。实验证实,极低的光照强度(250~300 lx,显微镜下镜检所需的光强),即能引起95%的卵从卵囊脱离。一旦卵已排出并与卵囊相连,将不再受光的干扰而脱落。即使脱落的卵也能受精,但不能继续分裂,最终死亡并逐渐分解。光引起卵的脱落进一步说明了光对排卵过程的干扰作用。

1981年,Lüning^[7]在研究糖海带(*Laminaria saccharina*)配子体排卵时发现,当海带的配子体培养在16:8的光暗节律下,游孢子在附着后的8~10 d的黑暗周期中排卵,而在这几天的光周期中不排卵。当培养在连续的白光下时,也在第8天开始排卵,但在这种情况下,排卵没有节律性。除了第8天的排卵率非常低外,之后以同样的排卵率连续排卵。而且还发现,在这两种情况下,雌配子都是在第10天结束后排卵完毕。唯一的不同是,雌配子体如果培养在有节律的光暗周期下,白光能抑制排卵,而如果培养在连续的同样的白光条件下,而没有经过任何黑暗周期,白光则不能抑制排卵。且发现在光暗节律下培养的配子体,在黑暗周期开始后的第8分钟开始有卵的排放,且绝大多数配子体在黑暗周期开始后的前30 min内完成排卵。

Lüning等^[7]发现排卵能被蓝光和紫外光抑制,波长在372,413,438和481 nm,大于513 nm无抑制效应。因此绿光、红光和远红光均不抑制排卵。如果将培养在16:8的光暗节律下的配子体,从第8天开始改为培养在连续的黑暗、连续的绿光或者连续的红光等连续的条件,配子体能够记住这一光暗节律,排

收稿日期:2004-11-24;修回日期:2005-02-10

基金项目:中国科学院创新工程项目(KZCX3-SW-215)

作者简介:李大鹏(1968),黑龙江省通河县人,博士,副研究员,研究方向为藻类生理,E-mail: dpli@ms.qdio.ac.cn

卵都保持节律性, 排卵时间在第 8~10 天内都限制在 9:00~17:00 的时间段。此后不再有卵的排放。如果配子体在第 8 天被改为培养在连续的蓝光或连续的白光条件下, 则排卵不再有节律性。在这种情况下, 排卵在前 8 h 内被抑制, 之后的 16 h 内部分地受到抑制, 随后以同样的排卵率持续排卵。

1.2 藻类有性生殖过程中的温度调控

温度也是影响藻类孢子萌发和配子形成的重要因素。研究表明, 在 10~25℃ 的温度条件下, 裙带菜胚孢子均能正常萌发。但温度偏低不如偏高对胚孢子的萌发有利。超过 30℃, 胚孢子不能萌发, 并于第 24 小时全部死亡。配子体形成的最适范围大约在 15~25℃, 又以 20℃ 左右为最适。而且还证实了配子体经高温处理后, 再下降到可以发育的温度, 就能够形成孢子体, 而不是下降到发育的最适温度才形成孢子体^[8]。

胡敦清^[9]对裙带菜温度与孢子萌发和配子形成的影响研究与上述结果基本相同, 认为配子体形成的最适温度为 15~24℃, 而且发现从孢子萌发, 形成配子体, 直至配子体成熟的几个阶段对温度的要求基本一致, 适宜上限可达 24℃。卵子和合子对温度较敏感, 对高温的适应力低于配子体, 在 23~24℃ 下多数难以存活。10~18℃ 配子体虽然发育较慢, 但卵子能正常受精形成合子, 并进行细胞分裂形成孢子体。

王军等^[10]认为温度是影响海带配子体成熟的主要因子, 光照度是辅助因子。

任国忠^[11]对海带的配子体的研究指出, 配子体于高温中虽然形态上处于配子体阶段, 不能正常形成卵囊和精囊, 但并不停止进行发育物质的积累。

Lee 等^[12]在研究糖海带时提出, 调控海带雌配子体营养生长的首要因子是温度。发现雌配子体在 4~20℃ 的温度范围内生长。一般情况下, 雌配子体在 4~17℃ 范围内的生长速度随着温度的升高而加快。全年中雌配子体都是在 17℃ 生长速度达到最高, 而在 20℃ 温度最高限时的生长情况在全年中的不同时间是不同的。冬季雌配子体在 20℃ 的生长速度最慢, 而在春季和夏季在 20℃ 生长状况很好, 但此时只进行营养生长, 不形成卵囊。因而雌配子体的生长温度随季节波动。当冬季周围水温低时, 雌配子体在 20℃ 生长不明显, 然而在 4~7 月周围水温升高时, 雌配子体在 20℃ 的条件下生长很好。这种因环境温度的不同而具有不同生长温度的能力是非常有意义的, 因为这种生态策略有助于度过夏季不利的高温环境。海带配子体生殖力随季节波动也主要是

温度的作用。生殖的最适温在 7~14℃ 范围内, 且 11℃ 时的生殖能力要优于 7℃ 和 14℃ 时的生殖能力, 抑制生殖的高温限是 17℃, 低温限是 4℃。孢子体生长的温度范围比配子体要窄。孢子体的生长随季节波动, 11 月到 3 月, 孢子体生长的最适温度是 11℃, 而在 4~7 月, 在 14℃ 时的生长状况更好, 17℃ 和 20℃ 抑制生长。而且发现雌雄配子体对温度的反应不同, 雄配子体比雌配子体更能度过 17℃ 和 20℃ 的高温。

2 雌配子分泌的性引诱素

早在 50 年代末, 曾呈奎^[5]在研究海带时发现, 排精与排卵有密切的关系。一般是卵先排出, 不久即有大量精子很快地从附近的精子囊中排出, 并向卵的方向游去。假若附近又排出第 2 个卵, 一部分精子会很快地转向新卵。根据观察发现, 推测海带雌配子体在排卵的同时, 可能分泌出一种能发生生理效能的物质, 吸引精子游向卵并促使精卵互相结合。作者所在的实验室^[6]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。

70 年代 Lüning 等^[13,14]也在研究海带中发现, 当卵从卵囊中排出时释放一种促使排精和吸引精子向其游动的物质, 并分离出这种物质, 称之为外激素, 且证实了其化学成分为 *cis* 1, 3, 5 octatriene ($C_{11}H_{14}O$), 该物质扩散到雄配子体周围 8~12 s 后即能引起精子的大量排放, 因而使排精和排卵能够同步进行。这种物质随卵排出后, 在卵周围形成一个浓度梯度, 引导精子游向卵。

精子趋向卵的游动是很常见的现象, 在蕨类植物 (ferns) 中也发现, 苹果酸能够吸引精子向其游动, 但目前还不知道苹果酸是不是蕨类植物的卵子释放的天然引诱素。而且发现存在种属间精卵的不相容性, 一个物种的卵分泌的黏液能抑制另一个物种的精子的游动。但关于种属间的不相容性的问题还有待进一步的研究论证, 因为发现 *Pteridium* 的卵子首次释放的黏液也抑制其精子的游动, 只有那些在首批黏液消散后游过来的精子才能入卵。而且属内是否也存在这种精卵不相容性的问题还存在争议^[15]。

1991 年, Kajiwara^[16]在 3 种日本褐藻 (*Scytosiphon lomentaria*)、长囊藻 (*Colpomenia bulbosa*) 和 *Anelopus japonicus* 中发现了性引诱素 (attractant)

的存在。三种褐藻的雌配子体附着后,悬液中散发出一种香味,而没有附着的雌配子体和无论附着与否的雄配子体悬液中都没有这种香味。经 HPLC 分别分析雌雄配子的分泌物发现,雌配子分泌物中有一个 R_t 为 7.1 min 的特征峰,其它峰都与雄配子分泌物的一样。该雌配子分泌物的特征峰经 GMS 和 HPLC 数据分析鉴定为 dictyopterene B (hormosirenene)。那么,dictyopterene B 是在附着前就储存在雌配子中还是在附着后才合成的呢?目前还不得而知。

1993 年, Kodama^[17] 报道了同属内性引诱素的不同。渣藻属的一个新种 (*Scytosiphon* sp.) 雌配子分泌水云烯 (ectocarpene) 来吸引雄配子, 而渣藻雌配子分泌雌诱激素 (hormostrene) 来吸引雄配子, 且这两种分泌物不能交叉吸引, 即渣藻属这个不定种的雌配子分泌的水云烯不能吸引渣藻的雄配子, 反之亦然。在渣藻和长囊藻的属间杂交反应中发现, 雌雄配子能够交叉吸引, 但没有合子的形成。

藻类的性信息素系统很复杂, 对雌配子中分泌的这种性信息素的进一步研究, 不仅有利于阐明性信息素和分类的关系, 还有利于配子融合的体外操作系统的建立。

3 藻类有性生殖过程中的胞内信号系统

细胞能够感受胞内外环境条件的变化并将这种信号通过信使物质传递到胞质内或细胞核内, 导致胞内一系列生理生化变化, 启动相关基因的表达, 从而对环境变化做出反应。就目前所知, 胞内存在 cAMP、肌醇磷脂和钙调蛋白三种信使系统。这些信使系统参与了藻类有性生殖过程。

3.1 cAMP 信使系统

外界信号被细胞表面受体接受后, 通过细胞膜上 G 蛋白偶联激活膜上的腺苷酸环化酶, 产生第二信使 cAMP, cAMP 激活蛋白激酶 A, 蛋白激酶 A 可以通过磷酸化作用活化或者抑制许多代谢关键酶的活性, 并依此调节胞内许多重要的反应。胞内 cAMP 含量往往是短暂性增加, 随后便被胞内的磷酸二酯酶 (PED) 分解, 信号因而灭活, 以防止细胞反应过度。

衣藻属的有性生殖为同配生殖, 其过程包括凝集、融合、去凝集和游离四个阶段。1984 年, Pijst^[18] 在研究卵配衣藻 (*Chlamydomonas eugametos*) 有性生殖过程时提到, 当把卵配衣藻的正负生殖型的配子混合在一起时, 在粘着发生 20 s 后观察到胞内 cAMP 数量呈短暂性的急剧升高。而且当把一种单

一生殖型的配子中加入另一种生殖型的配子的离体的鞭毛时也能引起胞内 cAMP 数量的短暂性的升高。由于这种 cAMP 浓度的提高先于细胞融合时所有形态学和生理学的改变, 推测它可能是由性粘着诱导的第一个主要的反应。

1987 年, Pasquale 等^[19] 发现菜哈衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*) 雌雄配子的性粘着引起胞内 cAMP 水平短暂性的提高了 10 倍。而且发现当把单一生殖型的配子中加入外源的双丁酰 cAMP 时, 也能引起和两性配子融合时一样的生殖反应, 如细胞壁的消失, 鞭毛顶端的激活和生殖结构的激活。环核苷酸磷酸酯酶抑制剂能使内源的 cAMP 水平提高, 也能引起同样的生殖反应。

1989 年, Goodenough^[20] 发现菜哈衣藻的两性配子的粘着能驱动粘合物转移到鞭毛表面, 且一种生殖型的配子胞内 cAMP 的增加也能驱动粘合物转移到鞭毛表面, 这表明衣藻两性配子的黏附需要一个正反馈系统, 这一反馈系统是依靠性粘附诱导的 cAMP 的增加来起作用的。

由此可以看出, cAMP 信使系统在衣藻的有性生殖过程中具有极其重要的作用。

3.2 肌醇磷脂信使系统

肌醇磷脂信使系统中, 由于 PIP_2 (phosphatidylinositol 4, 5 bisphosphate) 水解产生 IP_3 (inositol 1, 4, 5 trisphosphate) 和 DAG (diacylglycerol), 它们各自沿着两个独立的通路传递信号, 因此又称为双信使系统。 IP_3 打开细胞内部膜机构上的 Ca^{2+} 通道, 使 Ca^{2+} 释放到细胞质中, 活化胞内依赖于钙的酶而引起一系列效应。DAG 通过激活蛋白激酶 C 传递信息。Irvine 等在卵配衣藻中发现了 IP_3 前体 PIP 和 PIP_2 。Musgrave 等^[21] 发现乙醇可以诱导卵配衣藻进行有性生殖。用同位素标记发现乙醇刺激了肌醇磷脂代谢, 在用 6% ~ 8% 的乙醇处理时 IP_3 含量迅速增加, 同时伴随着胞内钙离子浓度增加, 这与 IP_3 诱导胞内钙迁移是一致的, 这说明肌醇磷脂信使系统参加了有性生殖过程。Musgrave 等^[21] 发现在有性生殖过程中磷脂酰肌醇合成加快, IP_3 含量增加。外加浓度为 1 ~ 0.2 $\mu\text{mol/L}$ 的蛋白激酶 C 的抑制剂 staurosporine 可以抑制有性生殖, 因而认为 IP_3 和 DAG 是卵配衣藻进行有性生殖的信号。

3.3 钙调蛋白信使系统

钙调蛋白 (CaM) 是钙传感器家族- 结合钙的蛋白质中的一种约 17 kd 的成员。它存在于几乎所有的真核细胞中, 对于任何微量的钙都能敏感地捕获。CaM 只有在结合 Ca^{2+} , 形成 $Ca^{2+} \cdot \text{CaM}$ 复合

物后以两种方式发挥作用,一是直接与靶酶起作用,二是通过活化依赖于 $\text{Ca}^{2+} \cdot \text{CaM}$ 复合物的蛋白激酶起作用。

对衣藻的研究表明,配子鞭毛表膜受体聚集在鞭毛顶端受钙离子影响。在介质中游离钙达到 10^{-3} mol/L 时,聚集现象明显。钙调素的拮抗剂三氟拉嗪,钙通道抑制剂 D 600 均抑制受体聚集,说明衣藻细胞以某种方式导致胞内钙浓度增加,进而激活了依赖于钙的蛋白质磷酸化,从而启动了钙钙调蛋白信使系统,从而使配子鞭毛表膜受体聚集在鞭毛顶端^[21]。

4 避免多精入卵的机制

在高等植物有性生殖过程中存在双受精现象,但在低等植物有性生殖过程中,还未见报道多精受精的现象,都是单精受精。虽然在蕨类植物 *Pteridium* 的卵细胞枯斑中发现过多个精子,而且观察到被卵细胞排除在外的精子常常进攻卵细胞的质膜,但没有证据能够证明多精受精可以正常发生。但是目前还没有搞清楚防止多精受精的机制。也许,雌雄配子最初的识别和融合依赖于一种糖蛋白复合物的形成,当一个精子入卵后使卵细胞表膜发生了一种不可逆的改变,使其余的精子入卵成为不可能。甚至即使多余的精子与受精卵发生了胞质融合,核融合也不会发生^[15]。

在石生海藻的受精过程中发现,当精卵结合时,卵细胞膜去极化,阻止其他精细胞入卵以避免多精受精现象。且在精细胞进入卵细胞后,卵细胞分泌一些多聚糖醛化合物,形成一层简单的细胞壁,这样也可避免多精受精现象发生。可见,自然受精作用中为了避免多受精现象,真是做到了步步设防^[21]。

5 研究展望

近年来,随着细胞生物学、生物化学、生理学及免疫学等多学科的相互渗透,藻类有性生殖过程中信号转导的研究取得了一些进展。但这些成果还是初步的,还没有建立起完善的藻类有性生殖信号转导系统,而且这些研究集中在少数几种藻上。由于藻类植物的配子较被子植物容易获得且操作简单,所以可以以某些具有代表性的藻为基础开展多方面的研究,如深入研究 cAMP、肌醇磷脂及钙钙调蛋白系统在配子释放及配子激活中的作用,雌配子分泌的性引诱素的作用机制及精子表面抗原,进一步探究避免多精入卵的机制等等。对藻类有性生殖过程的研究也将有助于阐明和理解植物界以至于整个生物界

的有性生殖过程和机制。

参考文献:

- [1] Armbrust E V, Chisholm S W. Role of light and the cell cycle on the induction of spermatogenesis in a centric diatom[J]. *J Phycol*, 1990, 26: 470-478.
- [2] 林均民, 翁师德. 北方劳德藻配子和复大孢子的产生[J]. *海洋与湖沼*, 1994, 25: 601-605.
- [3] Terborgh J. Effects of red and blue light on the growth and morphogenesis of *Aetabykaria crenulata* [J]. *Nature*, 1965, 207: 1 360-1 363.
- [4] Jaffe L. Stimulation of the discharge of gametangia from a brown alga by a change from light to darkness [J]. *Nature*, 1954, 174: 743-743.
- [5] 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.
- [6] Wu C Y, Li D P, Liu H H, et al. Mass culture of *Undaria* gametophyte clones and their use in sporeling culture[J]. *Hydrobiologia*, 2004, 512: 153-156.
- [7] Lüning K. Egg release in gametophytes of *Laminaria saccharina*: Induction by darkness and inhibition by blue light and U. V. [J]. *Br phycol J*, 1981, 16: 379-393.
- [8] 李宏基, 田素敏. 温度对裙带菜配子体生长发育的影响[J]. *海洋与湖沼通报*, 1982, 2: 38-45.
- [9] 胡敦清, 索如瑛, 刘绪炎, 等. 裙带菜配子体和孢子体的形态[J]. *海洋水产研究*, 1989, 10: 91-99.
- [10] 王军, 张泽宇, 张晓东. 温度与照度对利尻海带配子体及幼孢子体的影响[J]. *中国水产*, 1999, 2: 39-41.
- [11] 任国忠. 海带养殖学[M]. 北京: 科学出版社, 1962. 69-69.
- [12] Lee A J, Boudewijn H. Seasonal light and temperature interaction effects on development of *Laminaria saccharina* (Phaeophyta) gametophytes and juvenile sporophytes [J]. *J Phycol*, 1988, 24: 181-191.
- [13] Lüning K, Müller D G. Chemical interaction in sexual reproduction of several Laminariales (Phaeophyceae): release and attraction of spermatozooids [J]. *Z Phytochem*, 1978, 89: 333-341.
- [14] Müller D G, Gassmann G, Lüning K. Isolation of a spermatozoid releasing and attracting substance from female gametophytes of *Laminaria digitata* [J]. *Nature Lond*, 1979, 279: 430-431.
- [15] Sheffield E, Bell P R. Fertilization and formation of the zygote [J]. *Bot Rev*, 1987, 53: 460-463.
- [16] Kajiwara T, Hatanaka A, Kodama K, et al. Dietyopterenes from three Japanese brown algae [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(6): 1 805-1 807.
- [17] Kodama K, Matsui K, Hatanaka A, et al. Sex at-

- tractants secreted from female gametes of Japanese brown algae of the genus *Scytosiphon* [J]. **Phytochemistry**, 1993, 32: 817-820.
- [18] Pijst H, Van Driel R, Janssens PMW, *et al.* Cyclic AMP is involved in sexual reproduction of *Chlamydomonas eucometis* [J]. **FEBS Lett**, 1984, 174: 132-136.
- [19] Pasquale S M, Goodenough U W. Cyclic AMP functions as a primary sexual signal in gametes of *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. **J Cell Biol**, 1987, 105: 2 279-2 292.
- [20] Goodenough U W. Cyclic AMP enhances the sexual agglutinability of *Chlamydomonas flagella* [J]. **J Cell Biol**, 1989, 109: 247-252.
- [21] 李兆亮, 原永兵, 曹宗巽. 藻类植物和蕨类植物有性生殖的细胞学和生物化学研究现状 [J]. 植物学通报, 1995, 12(2): 1-8.

(本文编辑: 张培新)