

藻类免疫防御的研究进展

Recent advances in algae Immune defense

钱火箭, 陈海敏, 严小军, 杨 锐

(宁波大学 应用海洋生物技术教育部重点实验室, 浙江 宁波 315211)

中图分类号: X522

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2013)05-0108-06

植物为了抵抗外界各种病原菌或非病原菌的刺激, 形成了自身的一套免疫系统。一直以来, 人们认为藻类不像高等动植物能够利用自身受体介导的免疫来防御外来病原菌的侵袭, 也没有执行先天性免疫的专一细胞, 藻类对于病原微生物的免疫防御更多只是机体固有结构性的化学防御, 这种防御是不能调节的, 但经过进一步的研究发现, 藻类的防御是随时间或环境因素变化的, 说明环境因子的调节是存在的, 而且大量的证据显示藻类中存在病原激活的防御, 并和高等动植物一样, 存在着相同的第一信使和防御激活的第二信使, 以及受到病原菌刺激后所激活的细胞生物学效应。这些证据说明不同藻类中也存在着先天性免疫^[1]。

对于高等植物而言, 防御信号途径的响应机制复杂且典型。在大型藻类中有同样类似的响应和途径被激活, 但免疫响应的防御信号、信号传导、响应机制、基因表达等方面的研究尚不够全面。

1 藻类免疫防御的主要信号

1.1 活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)

在高等植物的先天性免疫系统中, 宿主识别外界侵袭者的最直接反应是瞬时产生大量的 ROS 积聚, ROS 可以直接消灭入侵者, 也能作为一种信号物质, 引起其他一系列的免疫反应。NADPH(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)氧化酶是植物中参与 ROS 产生的关键蛋白, 在植物中已经鉴定出了多种编码的 *rboh* 相关基因^[2]。对藻类的研究发现, 当藻类受到外界侵袭时也有 ROS 的积聚, 也存在与高等动植物相同的功能组成及第二信使。例如, 用琼胶寡聚糖刺激红藻 *Gracilaria* sp.时, 几分钟后就能在其培养基中检测到 H₂O₂ 的积聚^[3]。Weinberger 等^[4]在对红藻 *Gracilaria* 属中的两个产琼胶藻 *Gracilaria*

conferta 和 *Gracilaria chilensis* 行琼胶寡糖刺激时, 发现在 *G. conferta* 培养基中加入琼胶寡糖时, 检测到短暂性的 H₂O₂ 产生, 在 6h 爆发, 并且这种响应对 NADPH 酶专一性抑制剂二苯基碘(diphenylene iodonium, DPI)和其他抑制剂都敏感。免疫电镜技术确定产生 ROS 的部位在质膜, 作者认为质膜上有琼胶寡糖的专一受体, 并且质膜上的 H₂O₂ 是由 NADPH 氧化酶产生的, 而其激活涉及了蛋白磷酸化和 Ca²⁺ 的识别^[5]。而对 *G. chilensis* 检测发现 H₂O₂ 释放的位点在细胞壁, 它对金属酶、黄素酶敏感, 但对 DPI 不敏感, 并且没观察到氧爆发, 说明氧化酶的激活与受体无关^[4]。海带中的褐藻酸降解物也能激发海带孢子体的氧爆发, *Laminaria digitata* 遇到寡聚藻酸刺激时能激发超氧阴离子的释放, 皮层和年轻组织比髓质和老的组织产生更多的 ROS^[6]。在用脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激 *L. digitata* 时, 同样也出现了有 NADPH 氧化酶介导的氧爆发^[7]。

1.2 挥发性卤化有机化合物(Volatile Halogenated Organic Compounds, VHOCs)

VHOCs 是一类挥发性的卤化有机化合物, 被认为是一类能够参与藻类防御的物质, 它与各种氧化响应有关联^[1]。VHOCs 的产生需要钒卤代过氧化物酶(vanadium haloperoxidases, vHPO), 它催化卤化物(X⁻, X⁺)生成次卤酸(hypohalous acid, XIO)和其他形式的氧化卤化物(X₂, X₃⁻)。研究发现褐藻和红藻中都含有结构性的或是可诱导的代过氧化物酶亚基, 这

收稿日期: 2012-07-09; 修回日期: 2012-12-22

基金项目: 宁波市创新团队(2011B81007); 宁波市科技计划项目(201201C1011016); 学科项目(skc11002)

作者简介: 钱火箭 (1986-), 男, 江西上饶人, 硕士研究生, 主要从事海洋生物学研究, 电话: 0574-87609572, E-mail: monkey491816887@126.com; 陈海敏, 通信作者, 研究员, E-mail: chenhamin@nbu.edu.cn

些亚基都发生了卤化作用^[8]。藻类识别病原微生物后,出现快速而强烈的 ROS 升高同时也伴随着卤酸的产生,它可以将不同的有机物质卤化。当藻类被强光、紫外线或温度变化、咬噬处理时,随着氧压迫的出现,其体内会产生碘代、溴代或氯代有机物^[9]。

在褐藻 *L. digitata* 中,由褐藻酸诱导的氧呼吸爆发伴随着含碘的卤烃和分子碘的快速释放^[10]。而在红藻 *G. Conferta* 中,由琼胶寡糖引起 H₂O₂ 释放,导致溴化物活性的迅速增加,使叶片顶部出现白化^[3]。说明膜相关的 ROS 产生和信号提供了钒过氧化物酶所需的某些底物。

但是,迄今为止,没有一个实验证实它们可以作为杀灭微生物的物质。相反的,最近的研究发现卤酸能诱导菌膜的分散,而且 *L. digitata* 中的天然卤素过氧化酶会使酰化的高丝氨酸内酯失活^[11]。

1.3 氧化的多不饱和脂肪酸(Oxylipins)

Oxylipins 是指一类由不饱和脂肪酸被氧化后所形成的一类脂类衍生物,作为信号分子或毒素起作用,在抵御外界生物或非生物胁迫中具有重要作用。Oxylipins 信号分子的合成涉及脂氧合酶(lipoxygenase, LOXs), 环氧化酶(cyclooxygenases, COX)和细胞色素 P₄₅₀(cytochrome P450, CYP)酶。在动物体中,来自 C₂₀ 多不饱和脂肪酸的过氧化氢在调节动物细胞的炎症过程、过敏反应、以及来自外界的病原菌感染、药物侵害和异源性物质中起到免疫响应^[12], 陆源植物没有合成花生四烯酸的能力,因此使用 C₁₈ 和 C₁₆ 衍生物作为防御激素,参与到植物体的机械性损伤、病原菌侵袭以及食草动物的咀嚼过程等免疫响应中^[13]。

许多海洋藻类能产生 Oxylipins, 有些结构属于前列腺素和白三烯系列,与 COX 和 LOXs 的产物结构惊人的相似。根据研究分析,红藻和褐藻的 Oxylipins 来自于 C₁₈ 和 C₂₀ 的脂肪酸,通常 5R-, 8R-, 9S-, 12S-, 和 15S-LOXs 作用于 C₂₀ 脂肪酸,以及 ω3-, ω6-, ω9-, 和 ω10-脂氧合酶作用于 C₁₈ 脂肪酸,其他的红藻主要通过 8-, 9-和 12-LOXs 途径产生羟脂^[14]。Gerwick 等^[15]发现红藻 *Rhodymenia pertusa* 中有功能性 5R-LOXs, 它们很可能通过白三烯 A 类的中间物产生。同时一些新研究证明了藻类中的 LOXs 与藻类免疫防御有关,在 *C. crispus* 受到效应因子刺激发生氧爆发的同时, LOXs 同源蛋白表达量上调,产生各种 Oxylipins, 这些 Oxylipins 来自于花生四烯酸或亚麻酸和亚油酸的代谢产物,花生四烯酸是已

经在红藻中得到验证的“动物型”的 C₂₀ 脂肪酸,亚麻酸和亚油酸是高等植物中 Oxylipins 的共同前体,而 LOX 抑制剂能抑制 *C. crispus* 配子体的天然抗性。说明了藻类 *C. crispus* 中同时含有 C₁₈ 和 C₂₀ 的 Oxylipins 的双重免疫防御信号^[16]。

Küpper 等^[7]利用两种不同的 LPS 或寡聚糖刺激褐藻 *L. digitata* 30min 后检测到 C₁₈ 和 C₂₀ 的游离脂肪酸含量的上升,但亚麻酸和二十碳五烯酸衍生物的积聚只能在使用 LPS 处理的实验中检测到,说明了寡聚糖不能刺激 *L. digitata* 产生 Oxylipins。琼胶寡糖也不能刺激 *G. chilensis* 产生 Oxylipins^[17]。

在高等植物中 C₁₈ 和 C₁₆ 脂肪酸的衍生物会产生茉莉酸(jasmonates, JA), 在动物中 C₂₀ 脂肪酸产生前列腺素, 这些物质被称为防御激素^[1]。在大型藻类中, JA 或结构类似物也担当第二信使的作用^[14]。茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)能够诱导 *Fucus vesiculosus* 生成更多的多酚类防御化合物,同时能够诱导 *C. crispus* 对 *Acrochaete operculata* 的短暂抗性^[16], 但到目前为止,没有证据显示 MeJA 是 *C. crispus* 的内源物质。

1.4 超敏反应(Hypersensitive Response, HR)

高等植物受病原菌攻击的部位会出现超敏性细胞死亡反应,这是一种保护性的方式^[18]。在大型藻类中也有类似的响应,当大型藻类被微生物感染后,经常会观察到细胞死亡^[1]。比如在 *Laminaria japonica* 中,海藻酸降解菌能诱导细胞死亡,但对具有非常高抗氧化能力的抗性株不行^[19],说明寡聚褐藻酸识别后的 ROS 积累对这个反应非常关键。在 *Gracilaria* sp. 生长过程中加入琼胶寡糖后,会出现顶端细胞死亡,同时加入过氧化氢酶能够减轻这种症状,说明 ROS 参与细胞程序性死亡反应^[20]。

呼吸和磷酸化解偶联是程序性细胞死亡的必要条件,ROS 的大量产生,会改变 ROS 平衡^[1]。比如用琼胶寡糖刺激 *Gracilaria* sp. 时,这样的解偶联出现了,导致呼吸增强,当加入呼吸抑制剂,如抗霉素 A 时,减少了由寡糖引起的细胞死亡。除线粒体外,叶绿体也涉及了琼胶寡糖刺激的细胞死亡,但这种作用依赖于小剂量的光照^[3]。

1.5 海藻的远距离信号传导

海洋植物所处的环境与陆地植物不同,它们被矿物质丰富的海水所包围,并不需要专门的运输脉

管运输水分和营养物质,除了大型海藻如海带属中的海带类外,其他海洋植物没有脉管系统^[18],因此,可能会发展出其他的机制将信号传递到整个植株。Potin 等^[14]研究发现褐藻酸寡糖能够增强 *C. crispus* 孢子体对 *A. operculata* 的短暂抗性和激活类苯基丙烷代谢,然而诱导的抗性并非系统性的。因为只有浸在激发子的叶片部分能够激发对 *A. operculata* 的抗性保护,说明这种红藻没有内在的传输信号而是由激发子激发而获得的抗性,但也不排除是外在的信号物质诱导的。Toth 等^[21]认为海洋植物在受到入侵者侵害时能够警示同类的其他生物,当海螺咬噬 *Ascophyllum nodosum* 时,所释放的水溶性物质能够使其他没有受到入侵的植物被激活,产生具防御作用的褐藻多酚,防止海螺的继续侵蚀。借助空气传播的信号物质也可能存在,至少在潮间带,在低潮时,甲基茉莉酸能诱导岩石上生长的 *Fucus vesiculosus* 积累多酚,用 5.42~542nmol/L 甲基茉莉酸刺激 1h, 10~14d 内,多酚物质增长 1.6 倍^[22]。

2 防御基因及蛋白表达

高等动物植物在识别微生物相关分子模式(microbe-associated molecular patterns, MAMPs)或病原体诱导的分子模式(pathogen-induced molecular patterns, PIMPs)后能够瞬间激活一类酶,如 NADPH 氧化酶,同时也会引起防御相关蛋白表达量的上调^[1]。藻类在识别 MAMPs 或 PIMPs 后也会产生类似的防御响应。如在 *C. Crispus* 配子体阶段,用内生性病原菌 *A. operculata* 的提取液刺激 *C. Crispus* 7h 后,发现苯丙氨酸解氨酶表达量急剧上调,提高了藻体对病原菌的抗性^[16]。

Crépineau 等^[23]通过分析 *L. Digitata* 孢子体和配子体的表达序列标签(expressed sequence tags, EST)库发现,在 905 个 EST 序列中,44%能确定功能,从中发现了 152 个新的功能性蛋白。与配子体比较,孢子体库中的 vHPO 转录水平更高。利用 EST 序列并结合互补的蛋白组学对 cDNA 克隆分析,许多钒溴代过氧化物酶(vanadium-dependent bromoperoxidase, vBPO)和钒碘代过氧化物酶(vanadium-dependent iodoperoxidase, vIPO)已经被鉴定,它们同属于一个多基因家族中,一种 vIPO 可能在孢子体中负责碘氧化和转移^[24]。对于处于严重氧压迫条件下的 *L. digitata* 原生质体的转录分析发现,许多 vHPO 相关酶具有类似卤化有机化合物的作用。奇怪的是,EST 编码的

其他关键的抗氧化酶,如过氧化氢酶,超氧化物歧化酶,谷胱甘肽过氧化物酶或抗坏血酸过氧化物酶在这个库中没找到^[25]。

对 *C. crispus* 配子体原生质体的 EST 库分析发现,有高比例的解毒和热激蛋白产生,说明在藻类中也有压力相关蛋白的存在^[26]。利用 *C. crispus* 的 EST 库进行的 cDNA 生物芯片研究发现, *C. crispus* 遇到植物激素 MeJA 时,基因表达谱出现变化,6%的基因出现了响应,最大响应是在 6h 出现。上调的基因包括:DHAP 合酶,谷胱甘肽-S-转移酶,热激蛋白 20,藻青蛋白裂解酶的基因。下调的基因有:葡萄糖激酶,磷酸葡萄糖异构酶,核糖体蛋白的基因。上调的基因被认为与胁迫有关,下调的基因与能量转化和初级代谢有关^[27]。有趣的是, DHAP 合酶,作为莽草酸通路中的第一个酶,受 MeJA 刺激上调,这说明 oxylipin 通路参与了对次级代谢反应的调节^[16]。另外, Hervé 等^[28]在 *C. crispus* 配子体 EST 库中鉴定出了 *rboh* 基因。更早的研究发现,当在 *C. crispus* 配子体中加入了 *A. operculata* 的游动孢子时, *Ccrboh* 被诱导激活,在 24h 内均保持着一个高水平。当游动孢子萌发试图通过细胞壁进入到 *C. crispus* 中时, *Ccrboh* 基因的 mRNA 表达量积聚上升,这种上升已被证实是通过合成 NADPH 氧化酶,参与氧化防御响应^[29]。

目前红藻 *Porphyra yezoensis* 叶状体有 10154 条 ESTs 序列,其中包括 3267 个非多余 ESTs,其中 33.1%有推断的生化功能,丝状体中有 10265 条 ESTs 序列^[30]。对 *P. yezoensis* 的 EST 库的序列分析,发现了 NADPH 氧化酶 gp91^{phox} 的同源序列。

3 几种典型藻类免疫防御的研究

3.1 褐藻类的免疫防御研究

对褐藻免疫防御的研究主要集中于大型经济海藻海带属 *Laminaria* 上。氧爆发是褐藻的重要防御机制,在对 45 种褐藻受到褐藻胶寡糖刺激时产生氧化爆发响应能力的研究发现,潮间带的褐藻能够产生更多量的 H₂O₂ 释放,这类藻的褐藻酸含量丰富。当用 DPI 处理藻体时,藻体会失去氧化爆发能力,并且容易受到病原菌的攻击^[31], Küpper 等^[6]研究发现,褐藻酸寡糖降解产物能刺激 *L. digitata* 孢子体迅速产生强烈的呼吸作用及氧爆发反应。但藻体受到一次激发后 3h 内不再产生响应。经褐藻酸寡糖处理的 *L. digitata* 能抑制其内生病原体 *Laminariocolax tomentosoides* 的侵染,说明了褐藻酸寡糖信号在调节褐藻

和其潜在病原菌间的互作中起到重要作用。另外,褐藻寡糖的诱导能力依赖于寡糖的剂量和结构,*L. digitata*能高效地响应 α -1,4古洛糖醛酸的聚合模式。

Ritter等^[32]在2008年报道,*L. Digitata*在铜胁迫24h后,脂质过氧化物的量升高了4倍,伴随大量的不饱和脂肪酸的释放,并氧化级联形成Oxylipins,说明在铜离子胁迫下能够诱导藻类的免疫反应。同时对细胞修复和解毒基因进行定量检测发现,6h后热休克蛋白70、谷胱甘肽-S-转移酶、甲硫氨酸亚砷还原酶和硫氧还蛋白1基因表达量上升了2~8倍,表达量一直维持在高水平。超氧化物歧化酶和硫氧还蛋白4基因在6h后表达量上升4倍,之后在24h时开始降低。Küpper等^[33]利用花生四烯酸、亚麻酸和甲基茉莉酸刺激褐藻*L. digitata*,发现了氧爆发现象,这种响应能被DPI部分抑制,这是首次发现自由脂肪酸能够诱导藻类产生氧爆发的研究。用花生四烯酸刺激后检测到一些自由脂肪酸和羟基衍生物含量的上升,这种防御反应与之前所报道的褐藻寡糖触发氧化爆发相似。说明脂类氧化信号在褐藻的诱导防御中具有重要的作用。

3.2 红藻类的免疫防御研究

3.2.1 江蓠属 *Gracilaria* 的免疫防御研究

*Gracilaria conferta*是一种经济类红藻,具有很高的商业价值。在*G. conferta*的免疫防御研究方面,Weinberger等^[3]进行了大量的工作,他们发现在*G. conferta*培养基中分别加入琼脂、琼脂糖或新琼脂四糖和六糖后能够引起藻体的活性氧爆发、呼吸快速增强和卤化活性快速提高等响应。用新琼脂六糖处理藻体3min后,就能观察到藻体呼吸加强,比基础呼吸高出6倍。随后会诱导藻体产生 H_2O_2 释放,并瞬间提高藻体的溴化活性。几小时后随着释放 H_2O_2 量的增加以及活性氧的产生,会引起叶片尖端的白化。说明藻类能够识别低聚糖,并作为外源激发子激活免疫防御。其防御结果是杀死藻体表面的附生菌。大约60%的附生菌群在藻体被新琼脂六糖激发后的60min内消灭;大约90%的琼脂降解菌在藻体被激发的15min内被消灭,说明琼脂寡糖刺激*G. conferta*引发的反应是一种积极的免疫防御,它能有效地阻止病原菌酶对自身细胞壁的攻击^[34]。另外,*G. conferta*对寡糖激发子的识别存在结构专一性,卡拉胶、寡聚卡拉胶、新琼脂二糖、L/D-半乳糖和其他的单糖及低聚糖都不能激发藻体响应;而具有6~8个二

糖重复单位的琼胶寡糖引发藻体氧消耗的活性是最强的。

对同属的*G. chilensis*和*G. conferta*的研究发现,虽然两者都能响应琼胶寡糖产生 H_2O_2 爆发,但产生机制存在差异。在*G. conferta*中,藻体受激发后活性氧产生在质膜上,出现瞬时的 H_2O_2 释放,随后是长达6h的不感应期。*G. conferta*的响应受到NADPH氧化酶、蛋白激酶、蛋白磷酸化酶和钙离子通道等多种抑制剂的抑制,但对金属酶抑制剂不敏感。故推测在*G. conferta*中,参与 H_2O_2 释放的系统包含琼胶寡糖特异识别受体和膜定位的NADPH氧化酶。但在*G. chilensis*中, H_2O_2 的释放位点在细胞壁上。且*G. chilensis*响应对金属酶和黄素酶的抑制剂敏感,藻体受到第一次寡糖激发后不存在不感应期。而且 H_2O_2 的释放伴随培养基中乙醛的积累,表明*G. chilensis*中 H_2O_2 的产生是与非原生质体定位的琼胶寡糖氧化酶相关^[4]。

除 H_2O_2 外,vHOCs在江蓠属藻体防御中也起着重要作用。Weinberger等^[36]发现,用琼胶寡糖处理*Gracilaria* sp.后,能显著增强其卤化的发生。挥发性卤化物的生成速率比基础高出八倍,同时能检测到溴离子的释放,作者认为是由于活性氧积累促进卤化过氧化物酶活性提高引起的。但在*G. chilensis*中,琼胶寡糖不引起藻体卤化能力的加强。

3.2.2 角叉菜属 *Chondrus* 的免疫防御研究

角叉菜属的*Chondrus crispus*细胞壁中含有较高的卡拉胶成分。内生性绿藻*A. operculata*是*C. crispus*生长过程中常见的寄生性病原菌,研究发现*C. crispus*孢子体时期是一个敏感的阶段,在此时期,入侵绿藻能穿透宿主组织并寄生上去,导致组织严重损害同时释放次级产物使组织降解。*C. crispus*配子体时期是一个抗性阶段,藻体不会被感染,可以和病原菌长期共存。对于*C. crispus*生活史中出现的两种截然不同的结果,Bouarab等^[37]推测可能是由于*C. crispus*在两个世代中细胞壁卡拉胶结构成分不同引起的。*C. crispus*孢子体时期细胞壁成分主要是 λ -卡拉胶寡聚糖,它能调节*A. operculata*中蛋白的合成,加强对琼胶寡糖的破坏能力。同时能诱导*A. operculata*合成一类特异性多肽,显著地增强*A. operculata*的致病性。但*C. crispus*配子体时期细胞壁主要是 κ -卡拉胶寡聚糖构成,能抑制*A. operculata*对氨基酸的吸收,并加强宿主对*A. operculata*的识别能力,从而减少病原毒性。同时分别用无细胞

提取液刺激 *C. crispus* 时。孢子体时期只能产生很低浓度的 H_2O_2 ，而配子体时期会出现氧爆响应，杀死入侵的病原菌。Weinberger 等^[38]的研究还发现，配子体阶段 *C. crispus* 释放 H_2O_2 的响应不会受到 DPI 的抑制。同时 H_2O_2 的产生不受褐藻酸和卡拉胶的诱导，但加入 L-Asn 时， H_2O_2 的释放伴随着培养基中醛、酮及胺的积累。说明防御反应是由 L-氨基酸氧化酶催化的，并将 L-Asn 选择性的转化成酮酸、 H_2O_2 和胺。而 *A. operculata* 释放的 Asn 强烈依赖于宿主产生的卡拉胶种类。孢子体产生的 λ -卡拉胶不会触发 Asn 的释放，而 κ -卡拉胶能在 24~36h 内强烈引起病原体释放 Asn。作者认为 κ -卡拉胶和 Asn 在 *C. crispus* 和 *A. operculata* 相互作用的模型是：当寄生绿藻 *A. operculata* 穿透红藻后，红藻卡拉胶组织断裂，产生的卡拉胶寡糖触发病原体释放 Asn，该氨基酸被红藻中的氨基酸氧化酶转变成 H_2O_2 和 α -酮酸，氧化物导致病原体细胞死亡。

4 讨论与展望

高等植物是借助于细胞表面的模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 对 MAMPs 或 PIMPs 进行识别，根据以上研究，藻类在受到激发子诱导时，会产生普遍性的、类似的化学防御物质，说明这些藻类中也存在着与高等植物相似的先天性免疫反应。另外，由于藻体没有维管组织，整个生命史阶段都处于水环境包围等因素，藻类还拥有动植物没有的免疫特性，会产生一些特异性的信号传递，如释放一些水溶性物质进行藻体间的交流。但目前这些研究只停留在一些零散的现象观察，缺少系统的有关藻体信号传导的研究。无论是藻体细胞表面的受体蛋白对 MAMPs 或 PIMPs 的识别，还是藻体本身或藻体之间免疫防御信号的传导路线，以及信号识别后所引起的防御基因的表达、调控等都知之甚少。因此通过对受体蛋白的分离鉴定；信号通路中各基因、蛋白的转录、表达；效应物质的鉴定和定量分析；以及藻体自身细胞间或不同个体间的信号交流的研究，将能获得全面的藻类先天性免疫和藻类进化的相关信息。

近年来海洋藻类养殖业倍受重视，很多国家已将海带、紫菜等多种藻类的养殖发展成为一种重要的经济产业。但目前藻类养殖面临着种质退化、抗病能力脆弱、病害频发等问题，所以藻类的抗病育种引起人们的关注。通过对藻类免疫防御反应分子机

制的深入研究，能够挖掘出与抗性相关的基因和效应物质，将其开发为育种的筛选指标，通过监测基因表达水平的变化和关键化合物的含量变化，培育、筛选优良品系。同时，对藻类抗性激发子的研究，还能够开发应用于藻类养殖的生物农药，起到抗病丰产的目的。

参考文献:

- [1] Weinberger F. Pathogen-Induced defense and innate immunity in macroalgae[J]. Biol Bull, 2007, 213: 290-302.
- [2] Bolwell G P. Role of active oxygen species and NO in plant defence response[J]. Curr Opin Plant Biol, 1999, 2: 287-294.
- [3] Weinberger F, Friedlander M, Hoppe H G. Oligoagars elicit a physiological response in *Gracilaria conferta* (Rhodophyta)[J]. J Phycol, 1999, 35: 747-755.
- [4] Weinberger F, Leonardi P, Miravalles A, et al. Dissection of two distinct defense-related responses to agar oligosaccharides in *Gracilaria chilensis*(Rhodophyta) and *Gracilaria conferta* (Rhodophyta)[J]. J Phycol, 2005a, 41: 863-873.
- [5] Torres M A, Dangl J. Functions of the respiratory burst oxidase in biotic interactions, abiotic stress and development[J]. Curr Opin Plant Biol, 2005, 8: 397-403.
- [6] Küpper F C, Kloareg B, Guern J, et al. Oligoguluronates elicit an oxidative burst in the brown algal kelp *Laminaria digitata*[J]. Plant Physiol, 2001, 125: 278-291.
- [7] Küpper F C, Gaquerel E, Boneberg E M, et al. Early events in the perception of lipopolysaccharides in the brown alga *Laminaria digitata* include an oxidative burst and activation of fatty acid oxidation cascades[J]. J Exp Bot, 2006, 57: 1991-1999.
- [8] Butler A. Vanadium haloperoxidases[J]. Curr Opin Chem Biol, 1998, 2: 279-285.
- [9] Amsler C D. Algal Chemical Ecology[M]. Berlin Heidelberg: Springer Verlag, 2008.
- [10] Palmer C J, Anders T L, Carpenter L J, et al. Iodine and halocarbon response of *Laminaria digitata* to oxidative stress and links to atmospheric new particle production[J]. Environ Chem, 2005, 2: 282-290.
- [11] Borchardt S A, Allain E J, Michels J J, et al. Reaction of acylated homoserine lactone bacterial signaling molecules with oxidized halogen antimicrobials[J]. Appl Environ Microbiol, 2001, 67: 3174-3179.
- [12] Soberman R J, Christmas P. The organization and consequences of eicosanoid signaling[J]. J Clin Investig, 2003, 111: 1107-1113.
- [13] Farmer E E, Alméras E, Krishnamurthy V. Jasmonates and related oxylipins in plant responses to pathogenesis and herbivory[J]. Curr Opin Plant Biol, 2003, 6:

- 372-378.
- [14] Potin P, Bouarab K, Salaün J P, et al. Biotic interactions of marine algae[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2002, 5: 1369-5266.
- [15] Gerwick W H, Jiang Z D, Ketchum S O. 5-Lipoxygenase-derived oxylipins from the red alga *Rhodymenia pertusa*[J]. *Phytochemistry*, 2000, 53: 129-133.
- [16] Bouarab K, Adas F, Gaquerel E, et al. The innate immunity of a marine red alga involves oxylipins from both the eicosanoid and octadecanoid pathways[J]. *Plant Physiol*, 2004, 135: 1838-1848.
- [17] Lion U, Wiesemeier T, Weinberger F, et al. Phospholipases and galactolipases trigger oxylipin-mediated wound-activated defence in the red alga *Gracilaria chilensis* against epiphytes[J]. *Chembiochem*, 2006, 7: 457-462.
- [18] Van Breusegem F, Dat J F. Reactive oxygen species in plant death[J]. *Plant Physiol*, 2006, 141: 384-390
- [19] Tang X, Wang Y, Li K, et al. Relationship between resistance against alginic acid decomposing bacteria and antioxidative activity in *Laminaria japonica*[J]. *J Fish Sci China*, 2002, 9: 14-17.
- [20] Weinberger, F. Epiphyte-host interactions: *Gracilaria conferta* (Rhodophyta) and associated bacteria. PhD Dissertation[D]. Kiel:Christian -Albrechts Universität, 1999.
- [21] Toth G B, Pavia H. Water-borne cues induce chemical defence in a marine alga *Ascophyllum nodosum*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 14418-14420.
- [22] Arnold T M, Targett N M, Tanner C E, et al. Evidence for methyl-jasmonate-induced phlorotannin production in *Fucus vesiculosus* (Phaeophyceae)[J]. *J Phycol*, 2001, 37: 1026-1029.
- [23] Crépineau F, Roscoe T, Kaas R, et al. Characterisation of complementary DNAs from the expressed sequence tag analysis of life cycle stages of *Laminaria digitata* (Phaeophyceae)[J]. *Plant Mol Biol*, 2000, 43: 503-513.
- [24] Colin C, Leblanc C, Wagner E, et al. The brown algal kelp *Laminaria digitata* features distinct bromoperoxidase and iodoperoxidase activities[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 23545-23552.
- [25] Roeder V, Collén J, Rousvoal S, et al. Identification of stress gene transcripts in *Laminaria digitata* (Phaeophyceae) protoplast cultures by Expressed Sequence Tag analysis[J]. *J Phycol*, 2005, 41: 1227-1235.
- [26] Collén J, Roeder V, Rousvoal S, et al. An expressed sequence tag analysis of thallus and regenerating protoplasts of *Chondrus crispus* (Gigartinales, Rhodophyceae)[J]. *J Phycol*, 2006a, 42: 104-112.
- [27] Collén J, Hervé C, Guisle-Marsollier I, et al. Expression profiling of *Chondrus crispus* (Rhodophyta) after exposure to methyl jasmonate[J]. *J Exp Bot*, 2006b, 57: 3869-3881
- [28] Hervé C, Tonon T, Collén J, et al. NADPH oxidases in eukaryotes: red algae provide new hints![J] *Curr Genet*, 2006, 49: 190-204.
- [29] Bouarab K, Potin P, Correa J, et al. Sulfated oligosaccharides mediate the interaction between a marine red alga and its green algal pathogenic endophyte[J]. *Plant Cell*, 1999, 11: 1635-1650.
- [30] Asamizu E, Nakajima M, Kitade Y, et al. Comparison of RNA expression profiles between the two generations of *Porphyra yezoensis* (Rhodophyta), based on Expressed Sequence Tag frequency analysis[J]. *J Phycol*, 2003, 39: 923-930.
- [31] Küpper F C, Muller D G, Potin P, et al. Oligoalginate recognition and oxidative burst play a key role in natural and induced resistance of sporophytes of *Laminariales*[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2002, 28(10): 2057-2081.
- [32] Ritter A, Goulitquer S, Salaün J P, et al. Copper stress induces biosynthesis of octadecanoid and eicosanoid oxygenated derivatives in the brown algal kelp *Laminaria digitata*[J]. *New Phytologist*, 2008, 180: 809-821.
- [33] Küpper F C, Gaquerel E, Cosse A, et al. Free fatty acids and methyl jasmonate trigger defense reactions in *Laminaria digitata*[J]. *Plant Cell Physiol*, 2009, 50(4): 789-800.
- [34] Weinberger F, Michael F. Response of *Gracilaria conferta* (Rhodophyta) to oligoagars results in defense against agar-degrading epiphytes[J]. *J Phycol*, 2000, 36: 1079-1086.
- [35] Weinberger F, Richard C, Kloareg B, et al. Structure-activity relationship of oligoagar elicitors toward *Gracilaria conferta* (Rhodophyta)[J]. *J Phycol*, 2001, 37: 418-426.
- [36] Weinberger F, Coquempot B, Forner S, et al. Different regulation of haloperoxidation during agar oligosaccharide-activated defense mechanisms in two related red algae, *Gracilaria* sp. and *Gracilaria chilensis*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(15/16): 4365-4372.
- [37] Bouarab K, Potin P, Kloareg B, et al. Sulfated oligosaccharides mediate the interaction between a marine red algal and its green algal pathogenic endophyte[J]. *The Plant Cell*, 1999, 11: 1635-1650.
- [38] Weinberger F, Pohnert G, Kloareg B, et al. A signal released by an endophytic attacker acts as a substrate for a rapid defensive reaction of the red alga *Chondrus crispus*[J]. *Chem Bio Chem*, 2002, 12: 1260-1263.

(本文编辑:梁德海)