

# 2020 年度山东省科学技术奖拟提名项目公示材料

## 一、项目名称

海水养殖鱼类病原菌致病机制及环境友好型病害防治技术研究

## 二、提名者及提名意见

**提名单位：**中国海洋大学

**提名意见：**该项目围绕海水养殖鱼类主要病原菌的致病机制、环境适应机制及环境友好型病害防治技术等方面开展了深入研究。首次发现哈维氏弧菌的主要致病因子为 VHH 溶血素，确定 VHH 溶血素是一种磷脂酶 B，其活性中心的关键氨基酸为丝氨酸 153，并发现 VHH 溶血素可诱发鱼类细胞凋亡；首次提出细菌活的非可培养状态是病原菌适应环境的重要方式，也是造成细菌性病害暴发的重要原因；建立了密度感应淬灭菌株的高通量筛选方法，发现耐油具柄菌中的密度感应淬灭酶 MomL 具有很高的酶活性，是一种新型 AHL 降解酶，并发现 MomL 能显著提高动物抵抗病原菌侵染的能力；发现金丽假交替单胞菌除了产生密度感应淬灭酶外，还具有多种其他特性适应生长环境，在水产养殖细菌病害控制中具潜在应用价值。本项目的 8 篇代表性 SCI 论文发表在该领域国际主流杂志上，被 SCI 论文引用 260 余次。该成果为海水养殖业病害的有效防控提供了有针对性的理论指导，为利用环境友好型方式控制细菌性病害提供了理论依据，对我国水产养殖业的可持续发展具有重要指导意义。

我单位认真审阅了提名书材料，确认提名材料真实有效、完成人排序无异议、相关栏目符合填写要求。参照山东省自然科学奖授奖条件，提名该项目为山东省自然科学二等奖。

## 三、项目简介

该项目所属学科为海洋生物学。细菌性病害已成为我国海水养殖业可持续发展的主要瓶颈。对于细菌性病害的防治，目前仍是以抗生素为主的化学疗法，然而抗生素类药物的频繁使用，破坏了水产养殖环境的微生态平衡，导致病原菌抗药性增加。对病害发生机制进行深入研究，同时寻找环境友好型病害防治技术，也是该领域目前的研究热点，也是促进海水养殖业健康可持续发展的重要举措。该项目围绕海水养殖鱼类主要病原菌的致病机制、环境适应机制及环境友好型病害防治技术等方面开展了深入研究，重要科学发现如下：

1) **揭示了海水养殖鱼类主要病原菌—哈维氏弧菌的致病机理。**首次发现哈维氏弧菌的主要致病因子为 VHH 溶血素，确定 VHH 溶血素是一种磷脂酶 B，其活性中心的关键氨基酸为丝氨酸 153，并发现 VHH 溶血素可诱发鱼类细胞产生凋亡，该研究使 VHH 溶血素成为迄今唯一被详尽研究的哈维氏弧菌毒力因子。

2) 提出细菌活的非可培养状态是造成海水鱼类细菌病暴发的重要原因。发现哈维氏弧菌、迟缓爱德华氏菌等在低温和饥饿时可形成休眠状态—活的非可培养状态, 环境改善时又恢复为可培养状态并具致病性。首次提出活的非可培养状态是病原菌适应环境的重要方式, 也是造成细菌病暴发的重要原因。

3) 揭示了密度感应淬灭技术在环境友好型病害防治中的重要应用价值。首次建立了密度感应淬灭 (quorum quenching, QQ) 菌株的高通量筛选方法, 发现耐油具柄菌中的 QQ 酶 MomL 具有很高的酶活性, 是一种新型 AHL 降解酶, 并发现 MomL 能显著提高宿主动物抵抗病原菌侵染的能力; 发现金丽假交替单胞菌除产生 QQ 酶外, 还具有多种其他特性适应生长环境, 在水产养殖细菌病害控制中具潜在应用价值。

该项目揭示了海水养殖鱼类主要病原菌—哈维氏弧菌的致病机理, 提出活的非可培养状态是造成细菌病暴发的重要原因, 为海水养殖业病害的有效防控提供了有针对性的理论指导; 建立了 QQ 菌株的高通量筛选方法, 为新型 QQ 菌株的筛选提供了重要技术手段; 鉴定了高活性 QQ 菌株及新型 QQ 酶, 对我国环境友好型水产养殖的可持续发展具有积极的推动作用, 具有重要的理论意义及应用前景。

该项目发表的 8 篇代表性论文发表在《Appl Environ Microbiol》、《Sci Report》、《J Bacteriol》、《FEMS Microbiol Ecol》、《Marine Drugs》、《BMC Genomics》等国际主流杂志上, 被 SCI 论文引用 262 次, 其中他引 216 次。受这些研究成果的影响, 项目负责人多次在国际重要学术会议上做特邀报告, 并于 2019 年受邀担任国际刊物《Mar Life Sci Tech》的常务副主编。

## 四、客观评价

### (一) 国家国际科技合作专项“利用密度感应抑制技术控制水产养殖细菌性病害的合作研究 (项目编号: 2012DFG31990)”验收意见书

2014 年 11 月 26 日, 受科技部国际合作司委托, 教育部科技司组织专家在青岛召开了“利用密度感应抑制技术控制水产养殖细菌性病害的合作研究 (项目编号: 2012DFG31990)”项目验收会。专家组审阅了项目有关材料、听取了项目组的汇报, 经质询和充分讨论, 形成验收意见如下:

该项目通过国际合作, 取得了以下创新性成果: 1) 建立了一种简易准确的密度感应淬灭 (quorum quenching, QQ) 菌株高通量筛选方法, 从水产养殖动物及其环境中筛选到 25 株 QQ 细菌, 从中鉴定出两个 QQ 细菌新种。2) 首次报道了 12 种细菌的 *N*-乙酰高丝氨酸内酯 (AHL) 降解活性; 鉴定出 3 种 QQ 细菌的 4 个 QQ 酶, 其中包括新型海洋来源的 AHL 降解酶; 构建了 5 株 QQ 酶异源表达菌株。3) 发现 5 株 QQ 菌株对增强斑马鱼抗嗜水气单胞菌侵染具有明显效果, 耐

油具柄菌的 AHL 降解酶 MomL 能显著提高线虫抗铜绿假单胞菌侵染的能力。4) 发表学术论文 16 篇, 其中合作发表 3 篇, 申请发明专利 2 项, 培养博士研究生 3 名, 硕士研究生 4 名。研究成果为水产养殖病害的控制提供了新思路, 具有重要的理论意义及应用前景。

项目圆满完成了合同中规定的各项任务, 达到了预期目标。

验收专家组一致同意通过项目验收。

建议对已取得研究成果进行推广应用。

## (二) 代表性论文引用情况

### 1、项目论文的 SCI 收录和引用情况

教育部科技查新工作站于 2019 年 12 月 11 日给出的检索报告结论: 张晓华提交的论文有 8 篇被 SCI 收录, 这 8 篇论文被 SCI 论文引用 262 次, 其中他引 216 次。

### 2、代表性论文他引情况

**重要科学发现点一: 揭示了海水养殖鱼类主要病原菌—哈维氏弧菌的致病机理**

1) 代表性引文 5 是哥斯达黎加学者发表在微生物分子生物学顶级期刊《**Microbiol Mol Biol Rev**》(IF2016: 14.533, 附件 13) 上的综述文章, 系统阐述了细菌鞘磷脂酶和磷脂酶的分类及生理活性。引用本项目发表的 2 篇论文(代表性论文 5, 6) 说明弧菌可分泌属于 SGNH 酯酶家族的酰基水解酶作为毒力因子, 同时哈维氏弧菌的溶血素 VHH 对鱼类红细胞具有溶血活性, 是鲆鲽鱼类的致病性因子。

2) 代表性引文 6 是韩国学者发表在《**Biotechnol Adv**》(IF2018: 12.831, 附件 11) 上的综述文章, 系统介绍了密度感应阻抑物在人类、动植物疾病中的应用前景。引用本项目对哈维氏弧菌溶血素作用机理的研究结果(代表性论文 6), 说明水产养殖病原菌可通过产生溶血素、蛋白酶等裂解酶破坏养殖动物组织进而产生致病性。

**重要科学发现点二: 提出细菌活的非可培养状态是造成海水鱼类细菌病暴发的重要原因**

1) 代表性引文 3 是美国著名的海洋微生物生态学家 James D. Oliver 发表在《**FEMS Microbiol Rev**》(IF2010: 11.796, 附件 11) 上的综述文章。James D. Oliver 为细菌活的非可培养(VBNC) 状态研究方面的权威专家, 论文阐述了在病原菌 VBNC 状态方面的最新进展, 引用本项目发表的 2 篇论文(代表性论文 3, 4) 说明去除诱导细菌进入 VBNC 状态的胁迫因素, 就可使处于 VBNC 状态的细菌复苏。

2) 代表性引文 4 是法国学者发表在《**Global Change Bio**》(IF2009: 5.561, 附件 12) 上的文章, 研究了欧洲鲍鱼仔不同生长阶段对温度和哈维氏弧菌侵染的敏感程度。引用本项目关于哈维氏弧菌进入 VBNC 状态的特征、复苏和致病性的研

究结果（代表性论文 4），用以说明低温可诱导哈维氏弧菌进入 VBNC 状态，并且海水中升温至 18°C 可使 VBNC 状态的哈维氏弧菌复苏进入正常毒力状态。

### 重要科学发现点三：揭示了密度感应淬灭技术在环境友好型病害防治中的应用价值

1) 代表性引文 1 是发表在微生物分子生物学顶级期刊《**Microbiol Mol Biol Rev**》（**IF2016: 14.533**，附件 9）上的综述文章，引用本项目关于新型高活性密度感应淬灭酶 MomL 的研究结果（代表性论文 1），说明在微生物表面定植过程中海洋拟杆菌门细菌产生的胞外 AHL 内酯酶能够干扰由初始表面定植细菌类群形成的生物被膜。

2) 代表性引文 2 发表在环境科学 JCR 一区杂志《**Environ Sci Tech Let**》（**IF2016: 5.308**，附件 10），发现有氧颗粒生物被膜中 AHL 淬灭菌的种类和丰度大大超过 AHL 产生菌。引用本项目关于高通量密度感应淬灭菌筛选方法的研究结果（代表性论文 1），用以说明鞘氨醇宝盒菌属和芽孢杆菌属细菌具有 AHL 淬灭活性。

3) 代表性引文 7 发表在《**Microb Biotechnol**》（**IF2018: 4.857**，附件 13），报道了海绵共生微生物中的密度感应淬灭（QQ）菌株及其新型小分子 QS 阻抑物的毒力抑制作用。引用本项目关于 QQ 菌株金丽假交替单胞菌作用机制及应用潜力的研究结果（代表性论文 7），用以说明在海洋环境中分离获得的假交替单胞菌属菌株 JG1 具有 QQ 活性。

4) 代表性引文 8 是比利时根特大学 Tom Defoirdt 发表在《**Trends Microbiol**》（**IF2018: 11.974**，附件 14）上的综述文章，系统介绍了革兰氏阴性病原菌的密度感应系统及其致病因子，并探讨了利用密度感应淬灭技术进行病害防治的发展和挑战。引用代表性论文 8 作为综述参考，探讨了密度感应淬灭物质的发现。

### 五、代表性论文专著目录（不超过 8 篇）

序号	论文专著名称	刊名（出版社）	发表时间	作者（按刊物发表顺序）	通讯作者 （含共同）	第一作者 （含共同）	影响因子	SCI 他引次数	他引 总次数	第一 完成 人是 否参 与
1	MomL, a novel marine-derived <i>N</i> -acyl homoserine lactonase from <i>Muricauda olearia</i> .	Appl Environ Microbiol	2015	Tang K, Su Y, Brackman G, Cui F, Zhang Y, Shi X, Coenye T, Zhang X-H*.	Zhang X-H	Tang K	3.823	29	40	参与
2	Evaluation of a new high-throughput method for identifying quorum quenching bacteria.	Sci Rep	2013	Tang K, Zhang Y, Yu M, Shi X, Coenye T, Bossier P, Zhang X-H*.	Zhang X-H	Tang K	5.228	15	27	参与
3	Retention of virulence in a viable-but-nonculturable <i>Edwardsiella tarda</i> isolate	Appl Environ Microbiol	2007	Du M, Chen J, Zhang X-H, Li A, Li Y & Wang Y.	Chen J	Du M	4.004	45	91	参与
4	Characterization and virulence retention of viable but nonculturable <i>Vibrio harveyi</i>	FEMS Microbiol Ecol	2008	Sun F, Chen J, Zhong L, Zhang X-H, Wang R, Guo Q & Dong Y	Chen J	Sun F	3.335	28	53	参与
5	Overexpression, purification, characterization and pathogenicity of <i>Vibrio harveyi</i> haemolysin VHH	Infect Immun	2006	Zhong Y, Zhang X-H*, Chen J, Chi Z, Sun B, Li Y & Austin B	Zhang X-H	Zhong Y	4.004	21	42	参与

6	A single residue change in <i>Vibrio harveyi</i> hemolysin (VHH) results in the loss of phospholipase and hemolytic activities and pathogenicity to turbot ( <i>Scophthalmus maximus</i> )	J Bacteriol	2007	Sun B, Zhang X-H*, Tang X, Wang S, Zhong Y, Chen J & Austin B	Zhang X-H	Sun B	4.013	17	32	参与
7	Genome analysis of <i>Pseudoalteromonas flavipulchra</i> JG1 reveals various survival advantages in marine	BMC Genomics	2013	Yu M, Tang K, Liu J, Shi X, Gulder TAM, Zhang X-H*.	Zhang X-H	Yu M	4.041	12	16	参与
8	Quorum quenching agents: resources for antivirulence therapy.	Mar Drugs	2014	Tang K, Zhang X-H*.	Zhang X-H	Tang K	2.853	49	85	参与
合计								216	386	填写参与

## 六、主要完成人情况

姓名	张晓华	性别	女	排 名	1	国 籍	中国
技术职称	教授			最高学历	研究生	最高学位	博士
工作单位	中国海洋大学					行政职务	无
二级单位	海洋生命学院					党 派	中国致公党
完成单位	中国海洋大学					所 在 地	山东青岛
						单位性质	事业单位
参加本项目的起止时间		2004.1 至 2015.1					
<p>对本项目主要学术贡献：</p> <p>本人在该项目中系统研究了海水鱼类主要病原菌的流行病学及密度感应淬灭技术对水产养殖细菌性病害的控制；该项目的8篇代表性论文中，本人有6篇为通讯作者（附件1-2,5-8），其余2篇为主要作者之一（附件3,4）。</p>							

姓名	汤开浩	性别	男	排 名	2	国 籍	中国
技术职称	助理研究员			最高学历	研究生	最高学位	博士
工作单位	中国科学院南海海洋研究所					行政职务	无
二级单位	中国科学院热带海洋生物资源与生态重点实验室					党 派	中国共产党
完成单位	中国海洋大学					所 在 地	山东青岛
						单位性质	事业单位
参加本项目的起止时间		2009.9 至 2015.1					
<p>对本项目主要学术贡献：</p> <p>本人在该项目中建立了QQ菌株的高通量筛选方法；分离鉴定了分离自水产养殖环境的新型QQ细菌和QQ酶；评估了QQ菌株和新型QQ酶对动物的保护效果。该项目的8篇代表性论文中，本人有3篇为第一作者（附件1-2,8），1篇为主要作者之一（附件7）。</p>							

姓名	陈吉祥	性别	男	排 名	3	国 籍	中国
技术职称	教授			最高学历	研究生	最高学位	博士
工作单位	兰州理工大学					行政职务	无
二级单位	石油化工学院					党 派	中国共产党
完成单位	中国海洋大学					所 在 地	山东青岛

		单位性质	事业单位
参加本项目的起止时间	2004.1 至 2008.4		
对本项目主要学术贡献： 本人在项目中较为系统地研究了海水养殖动物病原菌的活的非可培养状态。该项目的 8 篇代表性论文中，本人有 2 篇为通讯作者（附件 3,4），2 篇为主要作者之一（附件 5,6）。			

姓 名	于敏	性别	女	排 名	4	国 籍	中国
技术职称	副教授		最高学历	研究生		最高学位	博士
工作单位	中国海洋大学					行政职务	无
二级单位	海洋生命学院					党 派	中国共产党
完成单位	中国海洋大学					所 在 地	山东青岛
						单位性质	事业单位
参加本项目的起止时间	2008.9 至 2013.10						
对本项目主要学术贡献： 本人在该项目中对 QQ 菌株金丽假交替单胞菌 JG1 进行了全基因组测序，分析了其环境适应机制。该项目的 8 篇代表性论文中，本人有 1 篇为第一作者（附件 7），1 篇为主要作者之一（附件 2）。							

## 七、完成人合作关系说明

1. 该项目第一和第二完成人合作发表了 2 篇 SCI 论文，分别发表在《Appl Environ Microbiol》和《Mar Drugs》上（附件 1 和 8），第一完成人为通讯作者。发现耐油具柄菌中的 QQ 酶 MomL 具有很高的酶活性，是一种新型 AHL 降解酶，并发现 MomL 能显著提高动物抵抗病原菌侵染的能力；合作发表综述文章介绍了密度感应淬灭物质的来源及在细菌性病害防治方面的应用前景。

2. 该项目第一和第三完成人合作发表了 4 篇 SCI 论文，分别发表在《Appl Environ Microbiol》、《FEMS Microbiol Ecol》、《Infect Immun》和《J Bacteriol》上（附件 3-6），其中有 2 篇第一完成人为通讯作者，2 篇第一完成人为主要作者之一。首次发现哈维氏弧菌的主要致病因子为 VHH 溶血素，确定 VHH 溶血素是一种磷脂酶 B，可诱发鱼类细胞产生凋亡；首次提出细菌活的非可培养状态是病原菌适应环境的重要方式，也是造成细菌病暴发的重要原因。

3. 该项目第一、第二和第四完成人合作发表了 2 篇 SCI 论文，分别发表在

《Scientific Report》和《BMC Genomics》上（附件 2、7），第一完成人为通讯作者。首次建立了密度感应淬灭菌株的高通量筛选方法，发现金丽假交替单胞菌除产生 QQ 酶外，还具有多种其他特性适应生长环境。