

芥子油苷在植物-生物环境关系中的作用

陈亚州 , 阎秀峰 *

(东北林业大学生命科学学院 , 哈尔滨 150040)

摘要 芥子油苷是一类含氮、含硫的植物次生代谢物质 , 主要分布于白花菜目的十字花科植物。芥子油苷及其降解产物具有多种生化活性 , 近年来人们更多地关注芥子油苷代谢与其它物质代谢途径的相互联系以及与植物生存环境的相互作用。介绍了芥子油苷及其分布、芥子油苷-黑芥子酶系统以及由芥子油苷介导的植物对昆虫、病原体的防御作用和植物与植物之间的化感作用的研究概况。

关键词 芥子油苷 , 生物环境 , 植物防御 , 化感作用

文章编号 : 1000-0933 (2007) 06-2584-10 中图分类号 : Q142 , Q945.79 , Q948 文献标识码 : A

The role of glucosinolates in plant-biotic environment interactions

CHEN Ya-Zhou , YAN Xiu-Feng *

College of Life Sciences , Northeast Forestry University , Harbin 150040 , China

Acta Ecologica Sinica 2007 27 (6) 2584 ~ 2593.

Abstract : Glucosinolates are nitrogen-and sulfur-containing natural products found mainly in the family Brassicaceae , order Capparales. The glucosinolates and their metabolites have showed potent biological activities. Recently , the relationship between glucosinolates and other compounds biosynthesis and the interaction between glucosinolates and environment have been paid more attention. We introduced chemical structures and the distribution of glucosinolates , glucosinolate-myrosinase system , the biological processes directed by glucosinolates in plant defence on insects and pathogen and plant chemical allelopathy.

Key Words : glucosinolates ; biotic environment ; plant defence ; allelopathy

芥子油苷 (又称硫代葡萄糖苷 , glucosinolate , mustard oil glucoside) 是一类含氮、含硫的植物次生代谢产物 , 主要分布于十字花科植物。芥子油苷及其降解产物具有多种生化活性 , 介导着植物与环境之间的相互作用 , 因而引起了人们极大的研究兴趣^[1,2]。同时 , 芥子油苷的降解产物异硫代氰酸盐因具有抗癌活性也备受瞩目^[3]。

在过去的数十年中 , 随着模式植物拟南芥基因组的序列测定和功能解析 , 人们对芥子油苷的生物合成和降解途径已经有了较为深入的认识。近年来 , 研究者更多地关注芥子油苷代谢与其它物质代谢途径的相互联

基金项目 国家自然科学基金海外青年学者合作研究基金资助项目 (30528013) ; 国家自然科学基金资助项目 (30670325) ; 新世纪优秀人才支持计划资助项目 (NCET-05-0328)

收稿日期 2006-05-21 ; 修订日期 2007-01-19

作者简介 陈亚州 (1982 ~) 男 , 海南琼海人 , 硕士生 , 主要从事植物次生代谢研究。 E-mail : chinxunfong@126.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail : xfyang@mail.hl.cn

Foundation item The project was financially supported by National Natural Science Foundation of China (No. 30528013 , 30670325) and Program for New Century Excellent Talents in University (No. NCET-05-0328)

Received date 2006-05-21 ; **Accepted date** 2007-01-19

Biography CHEN Ya-Zhou , Master candidate , mainly engaged in plant secondary metabolism. E-mail : chinxunfong@126.com

系以及与植物生存环境的相互作用。例如已发现吲哚族芥子油苷与 IAA (indole-3-acetic acid)合成途径存在交叉,吲哚族芥子油苷的合成影响 IAA 的含量 ,从而与植物体内的激素平衡相关联 ,影响植物的形态建成^[3~5] ,并可能与植物对环境因素的响应机制相关。植物生存的环境可分为生物环境与非生物环境两大类 ,本文介绍芥子油苷在植物与生物环境之间的作用。

1 芥子油苷及其分布

1.1 芥子油苷的类群与生物合成

芥子油苷通常由 β-D-硫葡萄糖基、硫化脞基团以及来源于氨基酸的侧链 R 组成 (图 1) ,目前至少有 120 种不同的结构被确定^[6]。根据侧链的氨基酸来源可以将芥子油苷分为脂肪族芥子油苷 (侧链来源于甲硫氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸)、芳香族芥子油苷 (侧链来源于苯丙氨酸和酪氨酸)和吲哚族芥子油苷 (侧链来源于色氨酸)3 个类群^[1,7]。

芥子油苷的生物合成途径已经比较清楚 ,大致轮廓可归纳为图 2。合成过程可大致分为 3 个阶段 :氨基酸侧链延长 (链延长反应)、核心结构合成和次级修饰。氨基酸经侧链延长反应后由细胞色素 P450 (CYTP450) 家族的 CYTP79 和 NADPH 催化转变为相应的脞 (oxime),脞再经过一系列的反应形成芥子油苷核心结构 ,核心结构的侧链经过各种修饰形成不同的芥子油苷。芥子油苷及其降解产物的理化性质很大程度上取决于侧链结构^[3,7~11]。

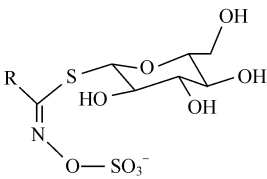
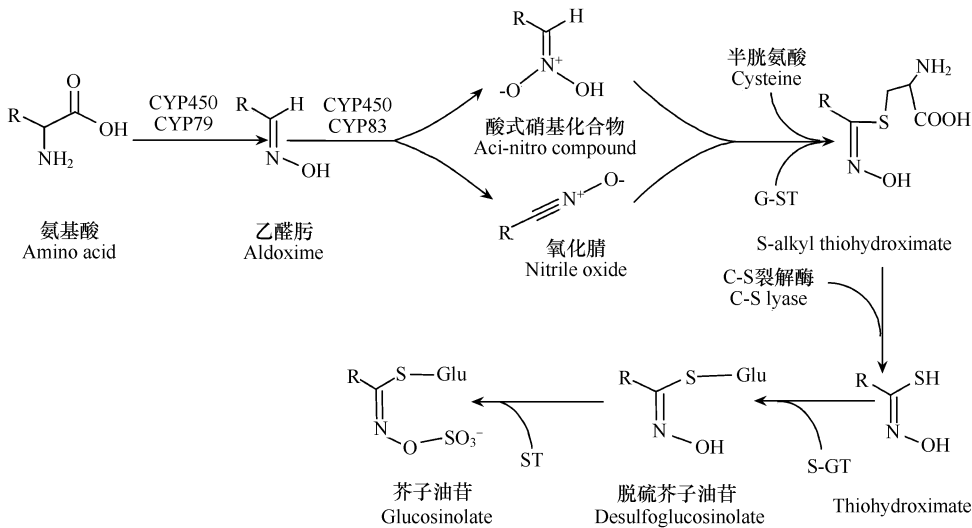


图 1 芥子油苷结构 (R 为可变侧链)

Fig. 1 Structure of the glucosinolate molecule (R denotes the variables side chain)



G-ST: 谷胱甘肽转移酶 Glutathione-S-transferase; S-GT: S-糖基转移酶 S-glucosyltransferase; ST: 磺基转移酶 Sulfotransferase

图 2 芥子油苷合成途径^[12]

Fig. 2 Biosynthesis of glucosinolate^[12]

1.2 芥子油苷的分布

含芥子油苷的植物类群较少 ,多数为白花菜目 (Capparales) 植物 ,番木瓜科 (Caricaceae)、大戟科 (Euphorbiaceae)和梧桐科 (Sterculiaceae)等科中也有零星分布^[13]。芥子油苷常见于十字花科 (Brassicaceae) 植物 ,所有的十字花科植物都能够合成芥子油苷。不同种属的植物所含芥子油苷的种类不尽相同。绝大多数植物都含有由苯丙氨酸或色氨酸衍生而来的苜基芥子油苷 (benzyl glucosinolates)和羟基苜基芥子油苷 (hydroxybenzyl glucosinolates) ,也可能含有来自缬氨酸和亮氨酸的芥子油苷。由苯丙氨酸衍生来的芥子油苷

在十字花科植物中少有发现,仅零星分布于木犀草科 (Resedaceae);由甲硫氨酸衍生来的芥子油苷 (占已知芥子油苷的近 1/3)绝大多数分布在十字花科,极少量分布在山柑科 (Capparaceae)^[8]。我国的十字花科植物品种主要有花椰菜 (*Brassica oleracea* var. *botrytis*)、甘蓝 (*B. oleracea*)、萝卜 (*Raphanus sativus*)、芥菜 (*B. juncea*)等芸苔属食用蔬菜。芥子油苷在芸苔属蔬菜中的含量一般是 500 ~ 2000 μg/g,花椰菜、甘蓝分别含有 5 ~ 6 种以上的芥子油苷,其中包括吲哚族芥子油苷和芳香族芥子油苷^[4]。

芥子油苷既分布于十字花科植物的生殖器官 (花序、角果/果实、种子),也存在于营养器官 (根、茎、叶)。芥子油苷的组成和含量因品种、生境而异,同一植株中也随部位和生长阶段而变。在拟南芥 (*columbia* 生态型)中,种子的芥子油苷浓度最高,成熟时约为 60 mmol/kg (DW),萌发时可达 80 mmol/kg (DW) (大约是 2.5% ~ 3.3%),高出绝大多数组织器官 (仅初生的莲座叶除外)两倍多。其次是花序和角果,最高浓度为 0.6% ~ 1.2%,再次是根、茎、茎生叶和莲座叶 (0.3% ~ 1.0%)^[15]。拟南芥在幼苗阶段 (莲座叶 6 ~ 8 片,直径 13 ~ 15 mm)所积累的 4-甲氧吲哚基-3-甲基芥子油苷 (4-methoxyindol-3-ylmethylglucosinolate)和 1-甲氧吲哚基-3-甲基芥子油苷 (1-methoxyindol-3-ylmethylglucosinolate)含量分别是抽薹阶段 (莲座叶直径大约 55 mm)的 40% 和 85%。从组分上看,拟南芥的茎和角果中主要是 4-羟基-3-甲基吲哚芥子油苷 (4-hydroxy-3-ylmethyl-indoleglucosinolate),而由甲硫氨酸衍生来的芥子油苷很少。营养组织和茎含有的主要是经过次级修饰的芥子油苷,而角果和成熟的种子中所含有的主要是修饰前的芥子油苷,如甲硫烷基芥子油苷 (methylthioalkyl-glucosinolates)、3-甲基吲哚芥子油苷 (3-ylmethyl-indoleglucosinolates)^[16]。

2 芥子油苷-黑芥子酶系统

芥子油苷含有糖基且非常稳定,具有的生物活性 (毒性)有限,起主要作用的是其降解产物。芥子油苷的降解过程是在其水解酶——黑芥子酶 (myrosinase)的作用下完成的。然而,降解产物对植物自身也是有毒的,因此需要通过一系列巧妙的机制,在不伤害自身的情况下合成、贮存芥子油苷^[17]。芥子油苷虽与黑芥子酶共同存在,但在空间上是隔离的^[18,19]。Koroleva 等发现,在拟南芥花柄内皮层和维管束韧皮部之间的一群富硫细胞 (S-cell)中芥子油苷浓度极高,而在富硫细胞附近也观察到含有黑芥子酶的黑芥子细胞 (myrosin cell),这意味着黑芥子酶可能通过胞间连丝传输^[18,20]。芥子油苷与黑芥子酶接触后发生不可逆的水解反应,生成异硫代氰酸盐 (isothiocyanate, ITC)、硫代氰酸盐 (thiocyanate)、腈类 (nitrile)或环硫腈 (epithionitrile)、唑烷-2-硫酮 (oxazolidine-2-thione)等活性物质^[12] (图 3)。

芥子油苷的降解机制特别是 ITC 和腈类的生成机制已经比较清楚,但硫代氰酸盐的生成机制还有待进一步研究^[21]。芥子油苷通常先降解为葡萄糖和不稳定的糖苷配基 thiiohydroximate-O-sulphonate,后者再进一步生成不同的产物。产物的类型不仅取决于芥子油苷的侧链结构,也因植物种类和反应条件 (pH、温度等)而异^[22],一些功能因子 (如表皮特异硫蛋白, epithiospecifier proteins, ESP)的存在或缺失也会影响芥子油苷降解产物的类型^[8]。一般情况下,糖苷配基在中性条件下通过 Hoffmann 重排 (或 Lossen 重排)主要生成 ITC,在酸性条件下产物以腈为主。在有 ESP 和 Fe²⁺ 存在、侧链末端带有不饱和键时降解产物主要是环硫腈类,当侧链为吲哚或苯及其衍生物时重排生成硫代氰酸盐,当侧链含有 β-OH 时则自发环化生成唑烷酮化合物。腈类一般由烷基芥子油苷 (alkyl-glucosinolates, 脂肪型)降解生成,环硫腈一般由链烯基芥子油苷 (alkenyl-glucosinolates)生成^[22]。

一些研究者认为,十字花科植物的芥子油苷-黑芥子酶系统还包含第 3 种组分,一类特殊的硫醇甲基转移

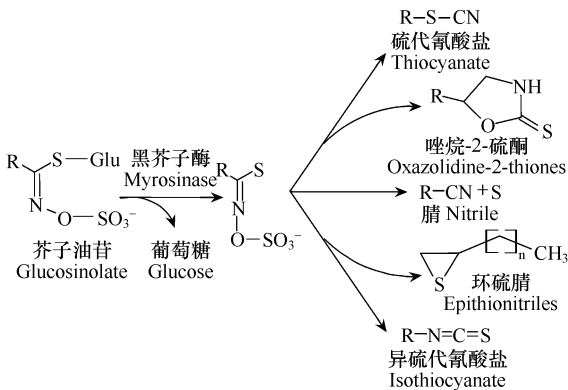


图 3 芥子油苷的水解^[12]
Fig. 3 Glucosinolate hydrolysis^[22]

酶 (thiol methyltransferases ,TMTs)。芸苔属植物的 TMTs 主要定位于韧皮部及表皮邻近韧皮部的较小范围内 ,与黑芥子酶平行存在。目前推定 TMTs 有两种作用 ,即解除芥子油苷水解产物硫醇的毒性 ,以及产生挥发性物质进一步发挥防御作用^[23,24]。

3 芥子油苷与植物的防御作用

植物面对的生物环境比较复杂 ,包括昆虫和草食动物乃至人类的伤害、病原体的侵染、植物之间的相互竞争和协同进化等等。在植物与这些生物环境的相互作用过程中 ,次生代谢及其产物均发挥着重要的作用。芥子油苷可对抗昆虫取食以及病原体侵染 ,在植物的防御机制中发挥着重要作用^[9,21,25]。

3.1 芥子油苷与昆虫

芥子油苷是天然的杀虫剂 ,能削弱食草昆虫的新陈代谢能力而导致昆虫生长缓慢甚至死亡^[8]。芥子油苷能有效地保护植物免受食草昆虫的侵害 ,很多研究都证明芥子油苷或直接拒食取食者、或通过吸引取食者的天敌而间接地起到保护作用^[26]。不过芥子油苷自身的生物活性有限 ,介导植物与昆虫间交互作用的主要是其水解产物^[22,26]。Lichtenstein 等在 1964 年发现球芽甘蓝 (*Brussels sprouts*) 根的提取物对黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*) 具有很强的毒性 ,10 min 内黑腹果蝇的死亡率高达 50%。经分析 ,提取物的主要成分是 ITC^[27]。硫代氰酸盐可抑制象鼻虫等谷类害虫的生长并能迅速杀死蝇类 ,因而被广泛用作杀虫剂^[28]。

植物的芥子油苷对昆虫并不总是不利的。芥子油苷及其降解产物对甲虫、蝴蝶、蛀虫、蚜虫等昆虫的取食、产卵等则具有积极作用 ,也可帮助昆虫找到很远距离的寄主^[29]。黑芥子硫苷酸钾 (sinigrin , alkenyl glucosinolate) 的降解产物异硫氰酸烯丙酯 (allyl-ITC) 能吸引大菜粉蝶 (*Pieris brassicae*)、菜粉蝶 (*P. rapae*) 等多种粉蝶科昆虫^[29]。小菜蛾 (*Plutella xylostella*)、菜粉蝶等昆虫可利用 ITC 等挥发性物质作为信号找到合适的寄主植物^[30,31]。菜粉蝶雌性成虫选择含芥子油苷的植物为寄主 ,利用芸苔葡糖硫苷 (glucobrassicin , indol-3-ylmethylglucosinolate) 降解形成的 ITC 刺激产卵 ,并利用芥子油苷可防御其它昆虫的特性为后代完成发育提供有利的环境^[32,33]。因此 ,芥子油苷介导的植物与昆虫间的相互作用因昆虫的种类而异。

3.1.1 芥子油苷的作用与昆虫食性

通常将取食植物的昆虫分为杂食性 (generalist) 和专食性 (specialist) 2 类。一般认为 ,取食多科植物 (many families) 的昆虫为杂食性昆虫 ,而仅取食一种植物 (only one plant species) 的昆虫为专食性昆虫^[29]。但对于多数植物而言 ,这种分类是相对的。例如 ,通常将除取食十字花科植物外还对其他科的植物造成伤害的昆虫称为十字花科杂食性昆虫 (crucifer-generalist) ,而将主要危害十字花科植物的昆虫称为十字花科专食性昆虫 (crucifer-specialist)^[34,35]。前者如甜菜夜蛾 (*Spodoptera exigua*)^[36]、拟尺蠖 (*Trichoplusia ni*)^[34]、灰翅夜蛾 (*Spodoptera littoralis*)^[37]、桃蚜 (*Myzus persicae*)^[38]、菜少脉蚜茧蜂 (*Diaeretiella rapae*)^[39]、黑腹果蝇 (*D. melanogaster*)^[27]等 ,后者如大菜粉蝶^[29]、菜粉蝶^[36]、小菜蛾^[35,40]、菜心螟 (*Hellula undalis*)^[41]、油菜兰跳甲 (*Psylliodes chrysocephala*)^[30,42]、油菜茎象甲 (*Ceutorhynchus assimilis*)^[43]、甘蓝蚜 (*Brevicoryne brassicae*)^[44]、萝卜蚜 (*Lipaphis erysimi*)^[44]、网纹野蛱螈 (*Deroceras reticulatum*)^[45]以及叶蚤类 (*Phyllotreta* spp.)^[46,47]昆虫。一般而言 ,芥子油苷对杂食性昆虫通常产生不利影响 (如防御作用) ,而对专食性昆虫则产生有利影响 (如帮助寻找寄主、刺激取食、防御天敌等)^[29]。

3.1.2 芥子油苷与植物的抗虫性

芥子油苷组合模式 (glucosinolate profile) 多样性对防御食草动物具有重要意义 ,但能有效抵抗杂食性昆虫的芥子油苷组合模式未必能有效地对抗专食性昆虫^[48]。Kliebenstein 分析了芥子油苷数量、种类以及黑芥子酶活性与拟南芥抗虫性的关系 ,发现拟尺蠖的行为明显受芥子油苷浓度及其降解产物种类的影响 ,而小菜蛾对芥子油苷-黑芥子酶系统的变化毫无反应 ,亦即芥子油苷更易影响杂食性昆虫^[49]。研究发现 ,控制芥子油苷组合模式的遗传位点影响植物抗虫性^[10] ,其中包括参与侧链延长的 *GS-Elong* (即 *MAM*)、控制芥子油苷侧链结构的 *AOPs* 以及参与降解的 *TGGs* (黑芥子酶编码基因) 和 *ESP*^[5]。

GS-Elong 编码多种 *MAM* (methylthioalkylmalate synthases) ,并控制由甲硫氨酸衍生的芥子油苷侧链长度

($C_3 \sim C_6$ 为短链, $C_7 \sim C_8$ 为长链)。GS-Elong 的表型变异 (phenotypic variation) 影响植物体内芥子油苷组合模式和降解产物类型, 并影响植物的抗虫性^[10, 34, 35, 50]。拟南芥中, GS-Elong 含有 3 个等位基因——MAM1、MAM2 和 MAM3, 三者的表达强度直接影响芥子油苷组合模式^[35]。拟南芥 Ler-0 等生态型中 MAM2 在起主要作用, 生成含有 3 个亚甲基的短链脂肪族芥子油苷, 对甜菜夜蛾抵抗能力明显强于含有 MAM1 (生成长链脂肪族芥子油苷) 的 Col-0 生态型^[35]。因此, 甜菜夜蛾取食后, 拟南芥中 MAM 转录水平升高且主要积累短链脂肪族芥子油苷^[36]。此外, MAM 中含有抗虫 QTL (insect resistance quantitative trait locus), 因此 MAM 等位基因变异 (allelic variation) 对植物抗虫性也产生影响^[35]。然而研究发现, GS-Elong 等位基因表达强度的变化并不影响小菜蛾的取食^[35]。这表明在植物与昆虫的交互作用中, 有些昆虫适应了芥子油苷-黑芥子酶系统。GS-AOP 参与芥子油苷次级修饰, 其中包括 GS-ALK、GS-OHP 和 GS-null, 三者分别参与形成链烯基类、烷基类和甲基亚磺酰类 (methylsulfinyl) 芥子油苷。链烯基芥子油苷是菜心螟产卵的信号物质, 甲基亚磺酰芥子油苷为抗生素^[35, 41]。因此 GS-AOP 等位基因的多样性表达也影响芥子油苷的抗虫性。

黑芥子酶是芥子油苷-黑芥子酶防御体系中的一个重要成分, 也是影响植物芥子油苷组合模式和抗虫性的一个重要因素^[51]。不过, 黑芥子酶活性的改变对杂食性和专食性昆虫的影响是不同的。提高黑芥子酶活性可以减少叶蚤类等昆虫造成的损伤^[46, 47]。由于黑芥子酶活性降低, *tgg1 tgg2* 双突变体不能有效地降解芥子油苷, 导致拟尺蠖体重明显增加, 而菜粉蝶因缺少 ITC 刺激取食导致体重减少^[38]。在芥子油苷降解的过程中, 功能因子 ESP 也影响芥子油苷降解产物的类型。ESP 存在 (ESP+) 时植物易形成腈类, 而缺失 (ESP-) 时易形成 ITC。将产腈 (nitrile-producing) 拟南芥 Ler-0 生态型的 ESP cDNA 转入产 ITC (isothiocyanate-producing) 的 Col-0 生态型中, 形成的转基因植株为产腈生态型, 但其体内芥子油苷组合模式、黑芥子酶活性以及植物形态、生长习性均未发生变化。甜菜夜蛾幼虫取食这种植株后体重明显增加, 并且蛹期提前^[37]。此外, ESP 与 GS-Elong 和 GS-AOP 的相互作用也影响植物的防御反应, 链烯基 ITC (GS-ALK/ESP-基因型的产物)、链烯基环硫腈 (GS-ALK/ESP+基因型的产物) 对拟尺蠖的毒性比烷基 ITC (GS-OHP 或 GS-null/ESP-基因型的产物) 强, 因此拟尺蠖选择易生成烷基腈的植株 (GS-OHP 或 GS-null/ESP+基因型) 为寄主^[34]。虽然形成腈可减少以对 ITC 为取食信号的专食性昆虫的吸引^[34], 但增加了喜腈昆虫的取食^[52]。

3.1.3 芥子油苷与昆虫的适应性

在长期的进化过程中, 昆虫已经形成了一系列适应芥子油苷的机制, 有些昆虫可以利用体内的特殊酶应对芥子油苷, 以对抗植物的化学防御^[53]。小菜蛾幼虫体内的硫酸酯酶 (sulfatase) 可将芥子油苷裂解为既无毒性又不能被黑芥子酶降解的去硫芥子油苷^[38, 44]。菜粉蝶体内可形成 NSP (nitrile-specifier protein), 直接将芥子油苷降解为腈, 从而减少毒性较大的 ITC 的形成量, 并且通过粪便将腈排出体外^[53, 54]。

有些昆虫不仅可以避免芥子油苷降解, 还可以利用芥子油苷形成自己的防御物质。甘蓝蚜和萝卜蚜可将摄取的芥子油苷转移至晶状微体 (crystalline microbodies), 与体内黑芥子酶区隔化 (compartmentalization), 避免产生毒性产物。当遭到病菌感染或天敌捕食后, 晶状微体的完整性被破坏, 芥子油苷被黑芥子酶降解为 ITC。ITC 可直接杀死病菌或作为警报信息素 (alarm pheromone) 警示同类以逃避天敌^[19, 44, 55, 56]。

3.2 芥子油苷与病原体

植物对抗病原体的方式可分为诱导型和组成型 2 种^[17]。芥子油苷属于组成型表达的防御物质, 即便外界环境胁迫或诱导因子 (elicitors) 不存在时, 植物体内也处于较高水平^[17]。当病原体突破细胞物理屏障且破坏组织后, 芥子油苷水解并发挥防御作用, 减少病原体侵染后造成的伤害甚至直接杀死病原体^[57]。

3.2.1 芥子油苷与病原体种类

通常将病原体分为活体营养型病原体 (biotrophic pathogens) 和死体营养型病原体 (necrotrophic pathogens) 2 类。一般认为从细胞组织中吸收营养物质而并不很快引起细胞死亡的病原体为活体营养型病原体, 而将先杀死寄主的细胞和组织然后从死亡的细胞中吸收养分的病原体称为死体营养型病原体^[58]。前者如霜霉病菌 (*Peronospora parasitica*)^[59, 60]、畸雌腐霉 (*Pythium irregulare*)^[61]、白锈菌 (*Albugo candida*)^[60]、粉病菌 (*Erysiphe*

cichoracearum)^[62]、稻瘟病菌 (*Magnaporthe grisea*)^[62]、番茄细菌性斑点病菌 (*Pseudomonas syringae* pv *tomato*)^[58, 59]、假单胞菌 (*Pseudomonas syringae*)^[12, 59]等,后者如黑斑病菌 (*Alternaria brassicola*)^[59, 62]、小麦根腐病菌 (*Helminthosporium sorokiniana*)^[62]、非致病性镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*)^[62]、立枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani*)^[57]、灰霉病菌 (*Botrytis. cinerea*)^[59]、软腐欧氏杆菌 (*Erwinia carotovora*)^[62]等。芥子油苷及其降解产物的抵抗能力因病原体种类存在很大差别。例如 4-甲基亚磺酰 ITC (4-methylsulfinyl ITC, 芥子油苷降解产物) 可抑制绝大多数活体营养型病原体生长,而对灰葡萄孢、黑斑病菌等死体营养型病原体几乎不产生任何影响^[63]。活体营养型病原体一般不破坏植物的组织结构,因此对芥子油苷降解产物极为敏感。死体营养型病原体由于破坏植物组织而长期接触芥子油苷降解产物^[26],因而进化了抵抗芥子油苷毒性的能力^[18, 63]。

3.2.2 芥子油苷与抗病性

芥子油苷对大多数引起芸苔属植物疾病的病原体都具有毒性,例如黑胫病菌 (*Leptosphaeria maculans*) 和轮纹斑菌 (*Alternaria* spp.) 等,并对谷类根部病原体菌丝体生长^[29]以及多种真菌、细菌^[63]具有毒害作用。芸芥 (*Eruca sativa*) 和屈曲花 (*Iberis amara*) 中糖芥子苷 (glucoerucin) 等芥子油苷降解生成的 ITC 抑制畸雌腐霉和立枯丝核菌等病原体生长^[64]。芥子油苷从根系分泌物或腐烂组织中释放至土壤可对植物根际菌落产生很大影响^[65, 66]。种植芸苔属植物的土壤中,真菌对 ITC 的忍耐性很强,且与其它土壤中的真菌种类有很大的区别^[66]。黑芥子硫苷酸钾和糖芥子苷 (thiofunctionalised glucosinolate) 等芥子油苷抑制畸雌腐霉合子的萌发和立枯丝核菌的繁殖^[64]。芥子油苷毒性与其侧链结构有关,侧链含有硫的芥子油苷 (如糖芥子苷) 可完全抑制畸雌腐霉合子的萌发^[64]。

改变植物的芥子油苷组合模式可以影响植物的抗病性。拟南芥 *MAM1* 突变体因 4-甲基亚磺酰丁基芥子油苷 (4-methylsulfinylbutyl glucosinolate) 含量低于野生型,非致病镰刀菌对植株的易感性增强^[12]。将木薯的 *CYP79D2* 导入拟南芥,导致植株积累 2 种新的脂肪族芥子油苷——异丙基芥子油苷 (isopropyl glucosinolate) 和甲基丙烷芥子油苷 (methylpropyl glucosinolate),并提高了对软腐欧氏杆菌的抵抗能力^[67]。拟南芥表达高粱的 *CYP79A1* 或过量表达内源 *CYP79A2*,分别导致积累对羟基苯甲基芥子油苷 (*p*-hydroxybenzyl glucoainolate) 和苯甲基芥子油苷 (benzyl glucosinolate),也提高了对假单胞菌的抵抗能力^[67]。因此,可以通过改变植物芥子油苷组合模式改良植物的抗病性^[67]。

3.3 芥子油苷与植物的防御信号

植物与昆虫、病原体间的相互作用涉及到控制各种不同防御机制的复杂信号途径网络,其中包括茉莉酸、乙烯、水杨酸信号途径^[68]。昆虫取食以及病原体侵染等环境压力可诱导植物产生茉莉酸 (jasmonic acid, JA)、乙烯 (ethylene, ET)、水杨酸 (salicylic acid, SA),三者或协同或拮抗作用直接参与植物对抗逆境的防御反应,并且通过调节芥子油苷等次生物质的生物合成间接影响防御反应^[61]。一般认为茉莉酸信号途径 (JA signal pathways) 介导植物对抗昆虫取食,并与乙烯信号途径 (ET signal pathways) 协同作用对抗病原体,而水杨酸信号途径 (SA signal pathways) 主要参与植物对抗病原体的防御反应^[61, 69, 70]。

JA 和茉莉酸甲酯 (MeJA) 对芥子油苷合成具有强烈的诱导作用,极低浓度 (5 nmol/L) 即可引起植物体内芥子油苷大幅度升高,因此 JA 被认为是影响芥子油苷合成的诱导因子^[71]。不过,不同类型芥子油苷的代谢途径存在差异,加之 JA 信号途径中各位点对芥子油苷代谢途径的调控又各不相同,因此芥子油苷的合成对 JA 或 MeJA 的响应非常复杂。JA 或 MeJA 可强烈诱导植物体内吲哚族芥子油苷积累,同时轻微地引起脂肪族和芳香族芥子油苷含量增加,最终导致植物体内总芥子油苷含量上升^[72, 73]。ET 也可诱导植物积累吲哚族芥子油苷,但种类与 JA 诱导形成的不同^[71]。对吲哚-3-甲基芥子油苷进行 *N*-甲基化作用 (*N*-methoxylation) 的酶受 MeJA 诱导极为强烈,因此 MeJA 处理后拟南芥主要积累 *N*-甲氧基吲哚-3-甲基芥子油苷 (*N*-methoxyindol-3-ylmethyl glucosinolate)。而在吲哚-3-甲基芥子油苷的 4 位碳进行甲基化作用的酶对 ET 的诱导响应强烈,因此 ET 主要诱 4-甲氧基吲哚-3-甲基芥子油苷积累^[71]。SA 信号途径抑制 JA 信号途径对芥子油苷合成的诱导,并且二者消长的关系直接影响植物体内芥子油苷组合模式。Cipollini 等发现 SA 可完全消除拟南芥 (*Ws* 生态

型)中由 JA 引起的芥子油苷含量上升,并削弱外源 JA 对 *fad* (不能合成 JA)和 *jar11* (JA 信号途径受阻)突变体中芥子油苷合成的诱导作用^[71]。

4 芥子油苷与植物的化感作用

对芥子油苷化感作用 (allelopathy) 的关注由来已久。早在 20 世纪 50 年代,人们已经开始注意到芸苔属植物可影响其它植物种子萌发、植株生长甚至农作物的产量。Campbell 发现,在种植过芸苔属植物的土壤上,豆科植物苜蓿等的产量下降,在土壤中放置甘蓝根块,苜蓿种子萌芽会受到抑制^[74]。将芸苔属植物残余体覆于土壤表面或与之混合,可明显延迟或遏制杂草种子萌芽,亦可阻止其形态建成、抑制发育生长,从而减少杂草群落的整体密度^[75]。从 20 世纪 70 年代开始,越来越多的研究均发现十字花科植物常对其它植物生长产生抑制作用,因此十字花科植物常被称为化感作物^[76]。

随着对植物次生代谢产物认识的不断深入,人们发现芸苔属植物中起化感作用的物质主要是芥子油苷及其水解产物^[77]。虽然芥子油苷都是水溶性物质,可直接向环境释放,但只有少数几种如吲哚-3-甲基芥子油苷具有生物活性,可抑制植物生长^[78]。履行化感功能的绝大部分是芥子油苷的水解产物,其中主要是 ITC^[79]。天然草原群落中,黑芥末 (*B. nigra*) 含有的烯丙基 ITC 克制多种草本植物的生长。白芥末 (*B. alba*) 的苜基 ITC 对苘麻 (*Abutilon theophrasti*)、镰刀豆 (*Senna obtusifolia*) 和高粱等植物具有毒害作用^[80]。当然,芥子油苷的化感作用因植物种类及降解产物 ITC 的浓度而异。Haramoto 的工作表明,1 mmol/L 的甲基 ITC 使小白菊 (*Matricaria inodora*) 种子萌发率下降 23%,而对大穗看麦娘 (*Alopecurus myosuroides*)、野苋 (*Amaranthus hybridus*)、稗 (*Echinochloa crusgalli*) 以及苦苣菜 (*Sonchus asper*) 种子的萌发不产生明显影响。当甲基 ITC 的浓度增加至 10 mmol/L 时,小白菊种子不能萌发,大穗看麦娘种子的萌发率下降 80%,而野苋、稗以及苦苣菜的种子萌发率仍不受影响。0.1 mmol/L 的烯丙基 ITC 可使小麦 (*Triticum aestivum*) 种子的萌发率下降 3%,当浓度增加到 0.3 mmol/L 时萌发率下降 13%,而相同浓度 (0.1 mmol/L 和 0.3 mmol/L) 的苜基 ITC、丁基 ITC、苜基 ITC、甲基 ITC、己烷基 ITC 则对小麦种子萌发不产生明显的影响^①。

5 结语

在植物对昆虫、草食动物的化学防御以及植物与微生物、植物与植物的相互作用等诸多过程中,芥子油苷都起着重要作用。然而,环境信号调控芥子油苷代谢的生物过程目前并不完全清楚,芥子油苷与生物环境的相互关系中涉及复杂的信号网络。例如,昆虫取食以及病原体侵染等环境压力可诱导植物产生信号分子 (水杨酸、茉莉酸) 并引发芥子油苷的生物合成,合成芥子油苷的种类和数量因昆虫 (尤其是对寄主适应性不同、取食方式各异的昆虫) 或病原体与信号途径的作用方式和程度而异。在此过程中,植物如何接受环境信号,信号在植物体内如何转导,最后进入细胞核如何激活合成芥子油苷的基因以及激活那些基因,都是一系列有待解决的问题。特别是水杨酸、茉莉酸防御信号途径网络在环境压力下如何影响芥子油苷代谢更为人们所关注,而且将成为近期内研究工作的重点。

References :

[1] Reichelt M, Brown P D, Schneider B, et al. Benzoic acid glucosinolate esters and other glucosinolates from *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry*, 2002, 59: 663 – 671.

[2] Tonsor S J, Alonso-Blanco C, Koornneef M. Gene function beyond the single trait: natural variation, gene effects, and evolutionary ecology in *Arabidopsis thaliana*. *Plant, Cell and Environment*, 2005, 28: 2 – 20.

[3] Grubb C D, Abel S. Glucosinolate metabolism and its control. *Trends in Plant Science*, 2006, 11 (2): 89 – 100.

[4] Smolen G, Bender J. *Arabidopsis* cytochrome P450 *cyp83B1* mutations activate the tryptophan biosynthetic pathway. *Genetics*, 2002, 160: 323 – 332.

[5] Wang Q M, Gao J S. Progress of studies on glucosinolates and its application on the breeding vegetable crops. *Acta Horticulturae Sinica*, 2001, 28

① Haramoto E R, The effects of Brassica cover crops on weed dynamics, the Master Thesis of the University of Maine, 2004

(supplement) : 669 — 675.

- [6] Fahey J W , Zalcman A T , Talalay P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry* , 2001 , 66 : 5 — 51.
- [7] Mithen R F. Glucosinolates-biochemistry , genetics and biological activity. *Plant Growth Regulation* , 2001 , 34 : 91 — 103.
- [8] Mithen R F , Dekker M , Verkerk R , *et al.* The nutritional significance , biosynthesis and bioavailability of glucosinolates in human foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture* , 2000 , 80 : 967 — 984.
- [9] Mikkelsen M D , Petersen B L , Olsen C E. Biosynthesis and metabolic engineering of glucosinolates. *Amino Acids* , 2002 ; 22 : 279 — 295.
- [10] Kliebenstein D J , Kroymann J , Brown P , *et al.* Genetic control of natural variation in *Arabidopsis* glucosinolate accumulation. *Plant Physiology* , 2001 , 126 : 811 — 825.
- [11] Kliebenstein D J , Kroymann J , Mitchell-Olds T. The glucosinolate-myrosinase system in an ecological and evolutionary context. *Current Opinion in Plant Biology* , 2005 , 8 : 264 — 271.
- [12] Wittstock U , Halkier B A. Glucosinolate research in the *Arabidopsis* era. *Trends in Plant Science* , 2002 , 7 : 236 — 270.
- [13] Rodman J E A. Taxonomic analysis of glucosinolate producing plants , Part1. *Phenetics Systemic Botany* , 1991 , 16 : 598 — 618.
- [14] Xiu L L , Niu K L. Glucosinolates and its degraded products in cruciferous plants. *Journal of Zhejiang University of Science and Technology* , 2004 , 16 : 187 — 189.
- [15] Brown P D , Tokuhisa J G , Reichelt M , *et al.* Variation of glucosinolate accumulation among different organs and developmental stages of *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry* , 2003 , 62 : 471 — 481.
- [16] Petersen B L , Chen S X , Hansen C H , *et al.* Composition and content of glucosinolates in developing *Arabidopsis thaliana*. *Planta* , 2002 , 214 : 562 — 571.
- [17] Wittstock U , Gershenzon J. Constitutive plant toxins and their role in defense against herbivores and pathogens. *Current Opinion in Plant Biology* , 2002 , 5 : 1 — 8.
- [18] Chen S X , Andreasson E. Update on glucosinolate metabolism and transport. *Plant Physiology Biochemistry* , 2001 , 39 : 743 — 758.
- [19] Bridges M , Jones A M E , Bones A M , *et al.* Spatial organization of the glucosinolate-myrosinase system in brassica specialist aphids is similar to that of the host plant. *Proceedings of the Royal Society of London Series B , Biological Sciences* , 2002 , 269 : 187 — 191.
- [20] Koroleva O A , Davies A , Deeken R , *et al.* Identification of a new glucosinolate-rich cell type in *Arabidopsis* flower stalk. *Plant Physiology* , 2001 , 124 : 599 — 608.
- [21] Bones A M , Rossiter J T. The myrosinase-glucosinolate system , its organisation and biochemistry. *Physiologia Plantarum* , 1996 , 97 : 194 — 208.
- [22] Tsao R , Peterson C J , Coats J R. Glucosinolate breakdown products as insect fumigants and their effect on carbon dioxide emission of insects. *BMC Ecology* , 2002 , 2 : 5.
- [23] Attieh J , Sparace S A , Saini H S. Purification and properties of multiple isoforms of a novel thiol methyltransferase involved in the production of volatile sulfur compounds from *Brassica oleracea*. *Archives of Biochemistry and Biophysics* , 2000 , 380 : 257 — 266.
- [24] Attieh J , Djiana R , Koonjul P , *et al.* Cloning and functional expression of two plant thiol methyltransferases a new class of enzymes involved in the biosynthesis of sulfur volatiles. *Plant Molecular Biology* , 2002 , 50 : 511 — 521.
- [25] Verpoorte R. Secondary metabolism. In : Verpoorte R , Alfermann A W , eds. *Metabolic engineering of plant secondary metabolism*. London : Kluwer Academic Publishers , 2000.
- [26] Kliebenstein D J. Secondary metabolites and plant/environment interactions : a view through *Arabidopsis thaliana* tinged glasses. *Plant , Cell and Environment* , 2004 , 27 : 675 — 684.
- [27] Lichtenstein E P , Morgan D G , Mueller C H. Naturally occurring insecticides in Cruciferous crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 1964 , 12 : 158 — 161.
- [28] Beekhuis H A. Technology and industrial applications. In : Newman A A. ed. *Chemistry and biochemistry of thiocyanic acid and its derivatives*. London : Academic Press , 1975.
- [29] Rask L , Andréasson E , Ekbom B , *et al.* Myrosinase : gene family evolution and herbivore defense in Brassicaceae. *Plant Molecular Biology* , 2000 , 42 : 93 — 113.
- [30] Giamoustaris A , Mithen R. The effect of modifying the glucosinolate content of oilseed rape (*Brassica napus* ssp *oleifera*) on its interaction with specialist and generalist pests. *Annals of Applied Biology* , 1995 , 126 : 347 — 363.
- [31] Yu G Q , Wu W J , Wu J X , *et al.* Effluence of the glucosinolates of cruciferous plants on oviposition of diamondback moth. *Journal of South China Agriculture University* , 1998 , 19 (2) : 13 — 19.
- [32] Renwick J A A , Radke C D , Sachdev-Gupta K , *et al.* Leaf surface chemicals stimulating oviposition by *Pieris rapae* (Lepidoptera : Pieridae) on cabbage. *Chemoecology* , 1992 , 3 : 33 — 38.

[33] Müller C , Agerbirk N , Olsen C E. Lack of sequestration of host plant glucosinolates in *Pieris rapae* and *P. garricae*. *Chemoecology* ,2003 ,13 : 47 — 54.

[34] Lambrix V , Reichelt M , Mitchell-Olds T , *et al.* The Arabidopsis epithiospecifier protein promotes the hydrolysis of glucosinolates to nitriles and influences *Trichoplusia ni* herbivory. *Plant Cell* ,2001 ,13 :2793 — 2807.

[35] Kroymann J , Donnerhacke S , Schnabelrauch D , *et al.* Evolutionary dynamics of an *Arabidopsis* insect resistance quantitative trait locus. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* ,2003 ,100 :14587 — 14592.

[36] Mewis I , Tokuhisa J G , Schultz J C , *et al.* Gene expression and glucosinolate accumulation in *Arabidopsis thaliana* in response to generalist and specialist herbivores of different feeding guilds and the role of defense signaling pathways. *Phytochemistry* ,2006 ,67 :2450 — 2462.

[37] Burow M , Muller R , Gershenzon J , *et al.* Altered glucosinolate hydrolysis in genetically engineered *Arabidopsis thaliana* and its influence on the larval development of *Spodoptera littoralis*. *Journal of Chemical Ecology* ,2006 ,17 :2333 — 2349.

[38] Barth C , Jander G. *Arabidopsis* myrosinases TGG1 and TGG2 have redundant function in glucosinolate breakdown and insect defense. *Plant Journal* ,2006 ,46 :549 — 562.

[39] Bradburne R P , Mithen R. Glucosinolate genetics and the attraction of the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* to brassica. *Proceedings of the Royal Society of London Series B , Biological Sciences* ,2000 ,267 :89 — 95.

[40] Lu L H , He Y R , Pang X F. Effects of cruciferous vegetables on natural populations of the diamondback moth , *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera : Plutellidae). *Acta Ecologica Sinica* ,2003 ,23 :2624 — 2630.

[41] Mewis I Z , Ulrich C , Schnitzler W H. The role of glucosinolates and their hydrolysis products in oviposition and host-plant finding by cabbage webworm , *Hellula undalis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* ,2002 ,105 :129 — 139.

[42] Gao Z Z , Wu W J , Cui Z X. Effect of glucosinolates of host vegetables on preference of stripped flea beetle. *Journal of South China Agriculture University* ,2001 ,22 (4) :39 — 42.

[43] Bennett R N , Wallsgrove R M. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New Phytologist* ,1994 ,127 :617 — 633.

[44] Ratzka A , Vogel H , Kliebenstein D J , *et al.* Disarming the mustard oil bomb. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* ,2002 ,99 :11223 — 11228.

[45] Bartlett E , Kiddle G , Williams I , *et al.* Wound-induced increases in the glucosinolate content of oilseed rape and their effect on subsequent herbivory by a crucifer specialist. *Entomologia Experimentalis et Applicata* ,1999 ,91 :163 — 167.

[46] Li Q , Eigenbrode S , Stringham G , Thiagarajah M R. Feeding and growth of *Plutella xylostella* and *Spodoptera eridania* on *Brassica juncea* with varying glucosinolate concentrations and myrosinase activities. *Journal of Chemical Ecology* ,2000 ,26 :2401 — 2419.

[47] Mitchell-Olds T , Pedersen D. The molecular basis of quantitative genetic variation in central and secondary metabolism in *Arabidopsis*. *Genetics* ,1998 ,149 :739 — 747.

[48] Mewis I , Appel H M , Hom A , *et al.* Major signaling pathways modulate Arabidopsis glucosinolate accumulation and response to both phloem-feeding and chewing insects. *Plant Physiology* ,2005 ,138 :1149 — 1162.

[49] Kliebenstein D J , Pedersen D , Barker B , *et al.* Comparative analysis of quantitative trait loci controlling glucosinolates , myrosinase and insect resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* ,2002 ,161 :325 — 332.

[50] Heidel A J , Clauss M J , Kroymann J , *et al.* Natural variation in *MAM* within and between populations of *Arabidopsis lyrata* determine glucosinolate phenotype. *Genetics* ,2006 ,173 :1629 — 1636.

[51] Stranger B E , Mitchell-olds T. Nucleotide variation at the myrosinase-encoding locus , TGG1 , and quantitative myrosinase enzyme activity variation in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Ecology* ,2005 ,14 :295 — 309.

[52] van Poecke R M , Posthumus M A , Dicke M. Herbivore-induced volatile production by *Arabidopsis thaliana* leads to attraction of the parasitoid *Cotesia rubecula* : chemical , behavioral , and gene-expression analysis. *Journal of Chemical Ecology* ,2001 ,27 :1911 — 1928.

[53] Wittstock U , Agerbirk N , Stauber E J , *et al.* Successful herbivore attack due to metabolic diversion of a plant chemical defense. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* ,2004 ,101 :4859 — 4864.

[54] Burow M , Markert J , Gershenzon J , *et al.* Comparative biochemical characterization of nitrile-forming proteins from plants and insects that alter myrosinase-catalysed hydrolysis of glucosinolates. *FEBS Journal* ,2006 ,273 :2432 — 2446.

[55] Jones A M E , Winge P , Bones A M , *et al.* Characterization and evolution of a myrosinase from the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae*. *Insect Biochemistry Molecule Biology* ,2002 ,32 :275 — 284.

[56] Pontoppidan B , Ekbom B , Eriksson S , *et al.* Purification and characterization of myrosinase from the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*) , a brassica herbivore. *European Journal of Biochemistry* ,2001 ,268 :1041 — 1048.

[57] Pieterse C M J , van Wees S C M , van Pelt J A , *et al.* A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* ,1998 ,10 :1571 — 1580.