

机械损伤对拟南芥莲座叶芥子油苷含量和组成的影响

田云霞¹, 戴绍军¹, 陈思学², 阎秀峰^{1,*}

(1. 东北林业大学林木遗传育种与生物技术教育部重点实验室, 东北林业大学生命科学学院, 哈尔滨 150040;

2. Department of Botany, University of Florida, Gainesville, FL 32611, USA)

摘要:植物可以利用体内次生代谢产物的变化来抵御昆虫取食和机械损伤。芥子油苷是拟南芥的主要次生代谢产物。通过剪刀剪取叶片(40% 面积)对温室培养的拟南芥幼苗莲座叶进行机械损伤处理, 观察机械损伤后 8 个时间点拟南芥叶片中不同种类芥子油苷含量和组合模式的变化。结果表明机械损伤后 3 h 叶片中芥子油苷总含量开始明显上升, 脂肪族和吲哚族芥子油苷含量在损伤后 3 h 也都显著高于损伤前。在检测到的 12 种芥子油苷中, 4-甲基亚磺酰丁基芥子油苷(4-methylsulphinylbutyl GS, 4MSOB)的含量最多, 占芥子油苷总量的 48.5%, 并且在损伤 3 h 后含量增加。4MSOB 含量的变化成为影响莲座叶中芥子油苷组合模式的主导因素。其它各种芥子油苷在损伤后不同时间点的变化也存在差异。

关键词:芥子油苷; 机械损伤; 拟南芥

文章编号: 1000-0933(2009)04-1647-08 中图分类号: Q945.79 文献标识码: A

Effect of mechanical wounding on glucosinolate content and composition in rosette leaves of *Arabidopsis thaliana*

TIAN Yun-Xia¹, DAI Shao-Jun¹, CHEN Si-Xue², YAN Xiu-Feng^{1,*}

1 Key Laboratory of Forest Tree Genetic Improvement and Biotechnology, MOE; College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

2 Department of Botany, University of Florida, Gainesville, FL 32611, USA

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(4): 1647 ~ 1654.

Abstract: The concentration and composition of plant secondary compounds are well known to confer plant resistance to herbivores, pathogens and mechanical wounding. Glucosinolates (GSs) are a major group of nitrogen- and sulfur-containing secondary metabolites of *Arabidopsis thaliana*. The effect of mechanical wounding on GS profile in *A. thaliana* rosette leaves was reported in this study. *A. thaliana* ecotype Columbia (Col-0) was grown in a growth chamber. At the twenty-leaf stage, the rosette leaves were wounded by cutting approximately 40% leaf area across the apical lamina with scissors. The leaves were harvested at 0.25, 0.5, 1, 1.5, 3, 6, 9 and 24 h after the treatment. GSs were extracted from rosette leaves. The dominant GSs were analyzed by HPLC. Wounding by scissors tend to increase GS contents. At 3, 6 and 9 h after treatment, total GS content increased significantly. The contents of both aliphatic GSs and indole GSs were induced at 3h after wounding, e. g., the aliphatic GS levels were increased up to 3.53 fold. The content of 4-methylsulphinylbutyl GS (4MSOB) in rosettes was the highest among all the 12 GSs detected, accounting for 48.5% of total content of GSs. The increase in the content of 4MSOB after wounding is probably the main factor affecting the GS profile in rosette leaves of *A. thaliana*. Mechanical wounding also changed the proportion of GSs in rosette leaves. The proportion of aliphatic GSs was significantly increased from ca. 66% to 71%—75% at 1, 3, 6, and 9 h after treatment. The proportions of 4MSOB and other GSs displayed significant changes after wounding. Collectively, our results indicate that mechanical wounding regulates glucosinolate profiles in *A. thaliana* leaves. Further studies of the molecular mechanisms underlying the regulation

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: 2007-12-19; 修订日期: 2008-04-23

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

will lead to advanced understanding of plant defence and interaction with the environment.

Key Words: glucosinolate; mechanical wounding; *Arabidopsis thaliana*

芥子油苷 (glucosinolate, GS) 是白花菜目 (Capparales) 植物中一类含氮、硫的次生代谢产物, 核心结构由 β -D 葡萄糖连接磺酸盐醛肼基团和来源于氨基酸的侧链组成。根据侧链 R 基的氨基酸来源不同, 芥子油苷分为脂肪族、芳香族和吲哚族 3 个类群^[1,2]。

含有芥子油苷的植物可以通过调整体内芥子油苷的含量和组合模式 (glucosinolate profile) 来应对昆虫和草食动物乃至人类所造成的伤害。一些研究报道了芥子油苷在植物与昆虫间相互作用过程中的重要性。由于芥子油苷降解后可以生成包括异硫代氰酸盐 (isothiocyanate, ITC) 等一些对昆虫有毒的物质, 植物可以通过产生高浓度的芥子油苷有效地保护自身免受食草昆虫的伤害^[3]。此外, 芥子油苷也是一些吸引昆虫寻找寄主的挥发性物质的前体, 或者是诱导昆虫产卵的刺激物^[4]。昆虫取食对植物的影响主要包括机械损伤和分泌物刺激, 因此人们往往通过机械损伤来模拟昆虫取食对植物的伤害。许多研究表明机械损伤和昆虫取食影响植物中芥子油苷的含量^[5~8]。被昆虫取食后的油菜 (*Brassica napus*) 叶片中芥子油苷种类和含量均发生改变, 不仅总芥子油苷含量增加, 而且吲哚族芥子油苷和某些脂肪族芥子油苷的含量也增加^[9]。萝卜 (*Raphanus sativus*) 叶片在受到不同程度损伤后芥子油苷含量也会增加^[7]。两种蚜虫 *Myzus persicae* 和 *Brevicoryne brassicae*, 以及毛虫 *Spodoptera exigua* 取食拟南芥后亦引起叶片内芥子油苷含量变化, 蚜虫取食 7 d 的叶片中总芥子油苷含量比对照增加了 16% ~ 18%, 毛虫取食 1 d 后的叶片中芥子油苷含量也增加了 2 倍, 并且专食性毛虫比杂食性毛虫对芥子油苷含量影响更为显著^[8]。已有的报道中主要从芥子油苷总含量、吲哚族和脂肪族芥子油苷含量的变化规律研究其在植物防御中的作用, 而对各个种类芥子油苷含量的变化规律研究得较少。本文研究了拟南芥莲座叶片在受到剪除 40% 叶片面积的机械损伤后 24 h 内 8 个时间点 12 种芥子油苷 (8 种脂肪族芥子油苷和 4 种吲哚族芥子油苷) 的含量和组合模式的变化规律, 为深入分析植物应答昆虫取食和机械损伤的防御机制提供了基础性资料。

1 实验材料与方法

1.1 植物材料

拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*, Columbia Col-0) 种子消毒冲洗后, 置 4℃ 冰箱中 3 ~ 4 d 打破休眠, 播种于盛有土壤与蛭石混合物 (体积分数 1:1) 的花盆中, 在人工气候室 (光照 $150 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 8h/16h, 温度 19 ~ 26℃, 湿度 50% ~ 70%) 培养 7 周。

1.2 实验方法

1.2.1 植物材料的机械损伤处理

选取生长 7 周的拟南芥幼苗 (莲座叶时期), 分为对照组和处理组。处理组用剪刀将莲座叶叶片顶端剪去 40% (图 1), 每个处理 3 个重复, 分别在处理后 0.25、0.5、1、1.5、3、6、9 h 和 24 h 取叶片液氮速冻, -40℃ 保存备用。

1.2.2 芥子油苷提取与鉴定

芥子油苷提取参照 Petersen 等^[10]的方法。样品放入十字匀浆器 (内盛 1 ml 70% 甲醇, 色谱纯) 置于 80℃ 恒温水浴 10 min 后研成匀浆, 转入 1.5 ml 离心管, 加入 $50 \mu\text{l}$ $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的苯甲基芥子油苷 (benzylglucosinolate, Phytoflan 公司) 作为内标, 振荡 1 min, 80℃ 恒温水浴 10 min, 振荡 5 min, 4℃ 离心 10 min ($4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$), 取上清液。用 70% 甲醇重复提取十字匀浆器中的剩余物 2

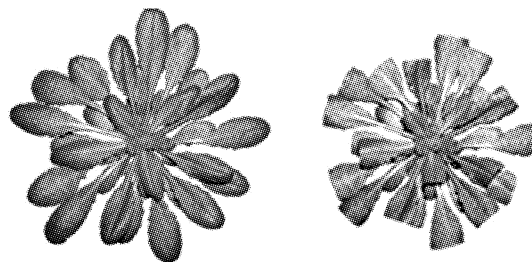


图 1 机械损伤前 (左) 后 (右) 的拟南芥莲座叶

Fig. 1 The rosette leaves of *Arabidopsis thaliana* before (left) and after (right) mechanical wounding

次,合并所有上清液用 DEAE Sephadex A25 (Amersham Biosciences 公司)纯化,加入硫酸酯酶 (Sulfatase from *Helix Pomati* 100KU, Sigma 公司) 25℃ 反应 14 h, 3 ml 超纯水洗脱,冷冻干燥后以 150 μ l 超纯水溶解,离心 20 min (18000 g),上清液用于芥子油苷测定。

利用 Waters 高效液相色谱 (1525 梯度洗脱泵、717 自动进样器、2996 二极管阵列检测器) 检测脱硫芥子油苷,以检测波长 229 nm 时的相对峰面积计算各种芥子油苷含量。Discovery C8 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m; Supelco 公司),流动相 A (超纯水) 和流动相 B (甲醇,色谱纯) 梯度洗脱 (0 $\rightarrow$ 2 min, 0% B; 3 min $\rightarrow$ 50 min, 0% B $\rightarrow$ 60% B; 51 min $\rightarrow$ 53 min, 60% B $\rightarrow$ 100% B; 54 min $\rightarrow$ 56 min, 100% B; 57 min $\rightarrow$ 60 min, 100% B $\rightarrow$ 0% B), 流速 1 ml min⁻¹, 检测波长 190~370 nm。

参照 Peterson 等^[11]和 Chen 等^[12]的方法,通过比对保留时间、UV 光谱和相对峰面积鉴定各种芥子油苷,利用 Applied Biosystems 4000QTRAP 串联质谱的增强分辨扫描和中性离子丢失扫描 (葡萄糖基团 m/z 162.2) 模式通过分析母离子质量和相应片段峰谱完成各种芥子油苷的准确鉴定。

2 结果与分析

2.1 拟南芥莲座叶芥子油苷的组成和含量

拟南芥莲座叶 (20~25 片莲座叶时期) 中共检测到 12 种芥子油苷 (图 2), 包括 8 种脂肪族芥子油苷: 3-甲基亚磺酰丙基芥子油苷 (3-methylsulphinylpropyl GS, 3MSOP)、4-羟基丁基芥子油苷 (4-hydroxybutyl GS, 4OHB)、4-甲基亚磺酰丁基芥子油苷 (4-methylsulphinylbutyl GS, 4MSOB)、5-甲基亚磺酰戊基芥子油苷 (5-methylsulphinylpentyl GS, 5MSOP)、6-甲基亚磺酰己基芥子油苷 (6-methylsulphinylhexyl GS, 6MSOH)、8-甲基亚磺酰辛基芥子油苷 (8-methylsulphinyl-octyl GS, 8MSOO)、7-甲硫庚基芥子油苷 (7-methylthioheptyl GS, 7MTH) 和 8-甲硫辛基芥子油苷 (8-methylthiooctyl GS, 8MTO); 4 种吲哚族芥子油苷: 4-羟基吲哚基-3-甲基芥子油苷 (4-hydroxy-indol-3-ylmethyl GS, 4OHI3M)、吲哚基-3-甲基芥子油苷 (Indol-3-ylmethyl GS, I3M)、4-甲氧吲哚基-3-甲基芥子油苷 (4-methoxyindol-3-ylmethyl GS, 4MTI3M) 和 1-甲氧吲哚基-3-甲基芥子油苷 (1-methoxyindol-3-ylmethyl GS, 1MTI3M)。

结果表明,正常生长的拟南芥莲座叶中各种芥子油苷含量并不均一,脂肪族芥子油苷以 4MSOB 含量较为丰富,含量为 (1.001 ± 0.098) μ mol $\cdot$ g⁻¹ FW, 其次是 3MSOP 和 8MSOO, 含量分别为 (0.150 ± 0.039) μ mol $\cdot$ g⁻¹ FW 和 (0.127 ± 0.033) μ mol $\cdot$ g⁻¹ FW, 而 6MSOH、4OHB、7MTH 和 8MTO 的含量相对较少。吲哚族芥子油苷中, I3M (0.489 ± 0.015) μ mol $\cdot$ g⁻¹ FW 和 4MTI3M (0.184 ± 0.053) μ mol $\cdot$ g⁻¹ FW 含量较高, 而 1MTI3M 和 4OHI3M 含量较少。

2.2 机械损伤对莲座叶芥子油苷总含量的影响

莲座叶中芥子油苷总含量在处理后的不同时间点发生变化。在处理 1.5 h 之前芥子油苷总含量变化不显著; 处理后 3、6 h 和 9 h 芥子油苷总含量显著高于对照 ($p < 0.05$), 其中, 处理后 3 h 总芥子油苷含量达到最高 $(6.484 \mu$ mol $\cdot$ g⁻¹ FW), 处理后 6 h 芥子油苷总含

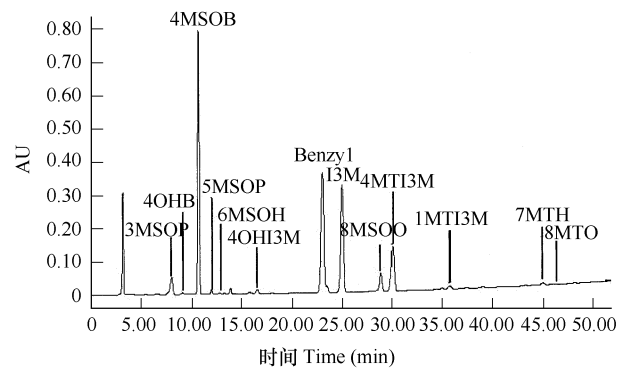


图 2 Discovery C8 色谱柱分离的拟南芥莲座叶中芥子油苷的 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC chromatogram of glucosinolates in rosette leaves with Discovery C8 column

3MSOP: 3-甲基亚磺酰丙基芥子油苷 (3-methylsulphinylpropyl GS); 4OHB: 4-羟基丁基芥子油苷 (4-hydroxybutyl GS); 4MSOB: 4-甲基亚磺酰丁基芥子油苷 (4-methylsulphinylbutyl GS); 5MSOP: 5-甲基亚磺酰戊基芥子油苷 (5-methylsulphinylpentyl GS); 6MSOH: 6-甲基亚磺酰己基芥子油苷 (6-methylsulphinylhexyl GS); 4OHI3M: 4-羟基吲哚基-3-甲基芥子油苷 (4-hydroxyindol-3-ylmethyl GS); Benzyl: 苯甲基芥子油苷 (benzylglucosinolate); I3M: 吲哚基-3-甲基芥子油苷 (Indol-3-ylmethyl GS); 8MSOO: 8-甲基亚磺酰辛基芥子油苷 (8-methylsulphinyl-octyl GS); 4MTI3M: 4-甲氧吲哚基-3-甲基芥子油苷 (4-methoxyindol-3-ylmethyl GS); 1MTI3M: 1-甲氧吲哚基-3-甲基芥子油苷 (1-methoxyindol-3-ylmethyl GS); 7MTH: 7-甲硫庚基芥子油苷 (7-methylthioheptyl GS); 8MTO: 8-甲硫辛基芥子油苷 (8-methylthiooctyl GS)

量虽然开始下降,但是仍然明显高于 1 h 以前($p < 0.05$),处理后 24 h 与处理前差异不显著(图 3)。

2.3 机械损伤对莲座叶脂肪族芥子油苷含量的影响

机械损伤对莲座叶中脂肪族芥子油苷的含量有明显影响。8 种脂肪族芥子油苷的总含量在机械损伤后 3、6、9 h 显著高于损伤前($p < 0.05$),损伤后 3 h 的含量最高,为损伤前的 3.528 倍;而损伤后 0.25 ~ 1 h 期间,以及损伤后 24 h 的含量与损伤前差异不显著(图 3)。

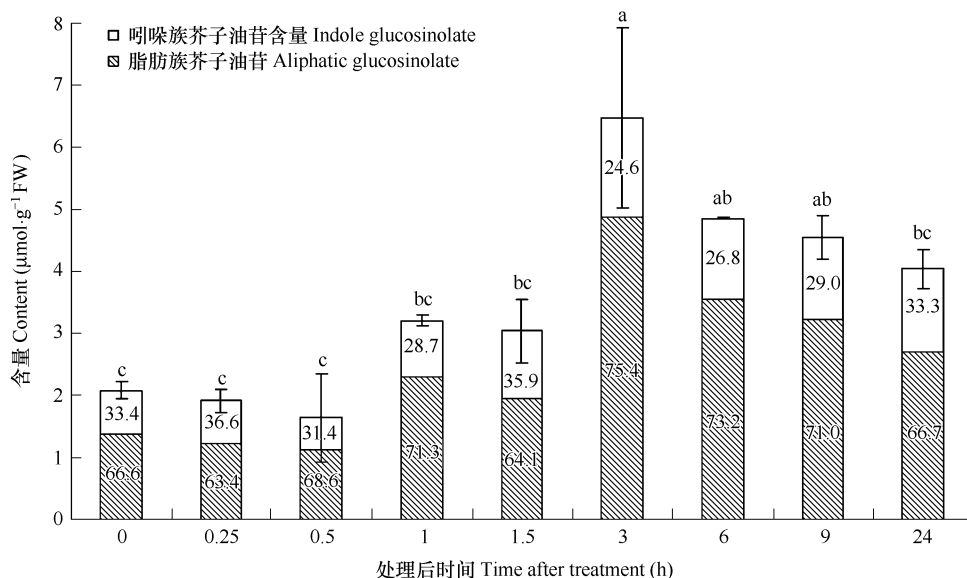


图 3 机械损伤后拟南芥莲座叶中芥子油苷含量

Fig. 3 Glucosinolate contents in rosette leaves of *Arabidopsis thaliana* under mechanical wounding

图中数字代表吲哚族、脂肪族芥子油苷占芥子油苷总量的比例,不同字母代表差异性显著($p < 0.05$) The numbers represent the percent of aliphatic GS and indole GS in total GS content, different letters mean significant difference at 0.05 level

损伤后,脂肪族 8 种芥子油苷含量的变化规律并不相同。4MSOB、3MSOP 和 8MSOO 的变化趋势相似,都是在损伤后 3 h 才表现出含量先明显升高再降低。4MSOB 和 8MSOO 的含量在损伤后 3 h 和 6 h 都显著高于损伤前,而 3MSOP 的含量只在损伤后 3h 显著高于损伤前($p < 0.05$)。8MTO 和 5MSOP 的含量分别在 1.5 h 和 9 h 显著高于对照,而在其它时间点与损伤前的差异均不显著。与之相反,4OHB 和 6MSOH 的含量在损伤后显著升高,除了损伤后 0.5 h 和 24 h 4OHB 的含量,以及损伤后 0.5 h 和 6 h 6MSOH 的含量与损伤前差异不显著以外,其它时间点两者的含量都显著高于损伤前($p < 0.05$)。4OHB 和 6MSOH 的含量分别在损伤后 3 h 和 24 h 达到最高,分别为损伤前的 2.844 倍和 10.422 倍。7MTH 的含量在损伤后与损伤前差异不显著(图 4)。

2.4 机械损伤对吲哚族芥子油苷含量的影响

与 8 种脂肪族芥子油苷总含量受到的影响相比,4 种吲哚族芥子油苷总含量受到机械损伤的影响相对较小。只有在损伤后 3 h 4 种吲哚族芥子油苷总含量才显著高于损伤前($p < 0.05$),而在其它时间点的含量差异不显著(图 3)。4 种吲哚族芥子油苷含量的变化也不相同。I3M 的含量在损伤后 3 h 与损伤前差异显著($p < 0.05$),4MTI3M 在损伤后 1.5 h 和 3 h 与损伤前差异显著($p < 0.05$),两者在其它时间点与损伤前差异均不显著。1MTI3M 的含量则表现为损伤后 3、6、9 h 和 24 h 的含量都显著高于损伤前($p < 0.05$),分别是损伤前的 1.934、2.849、3.038 倍和 2.731 倍。而机械损伤对 4OHI3M 的含量没有显著影响(图 4)。

2.5 机械损伤对各种芥子油苷占芥子油苷总含量比例的影响

由于机械损伤对每种芥子油苷含量的影响并不一致,因此损伤导致了莲座叶中芥子油苷比例发生了变化。从总的类群看,脂肪族芥子油苷和吲哚族芥子油苷占芥子油苷总量的比例发生变化,机械损伤 1、3、6 h 和

9 h 脂肪族芥子油苷的比例显著提高,由损伤前的 66% 左右提高到 71% ~ 75% (图 3)。

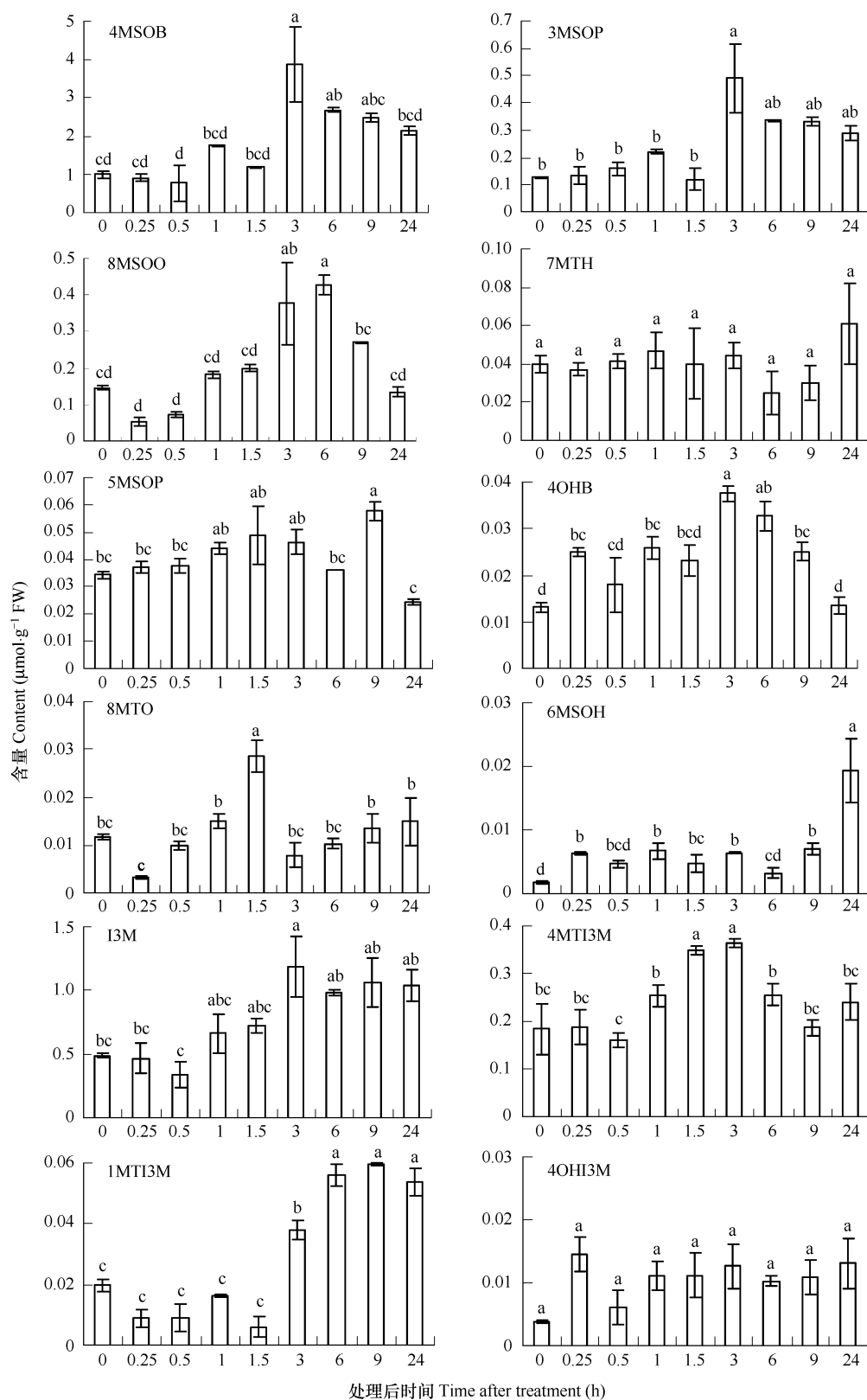


图 4 机械损伤后拟南芥莲座叶中各种芥子油苷含量

Fig. 4 Contents of various glucosinolates in rosette leaves of *Arabidopsis thaliana* under mechanical wounding
各小图中不同字母代表差异性显著 ($p < 0.05$) Different letters within the same graph mean significant difference at 0.05 level

各种芥子油苷占芥子油苷总量的比例也因损伤而发生不同程度变化(图5)。损伤前,4MSOB 占的比例最高(48.54%),其次是 I3M(23.47%),3MSOP、5MSOP、4MTI3M、8MSOO 和 7MTH 所占的比例在 1%~10%之间,而 4OHB、8MTO、1MTI3M、4OHI3M 和 6MSOH 所占比例都小于 1%。损伤后,各种芥子油苷所占的比例在不同损伤时间点发生变化,其中 5 种芥子油苷的比例在不同时间点升高,4MSOB 在损伤后 1 h 和 3 h 以后所占的比例明显升高,超过了 50%;3MSOP 所占的比例在损伤后 0.5 h 和 1.5 h 明显升高,4OHI3M 和 6MSOH 的比例在损伤后 0.25~1.5 h 和 24 h 明显升高,4OHB 的比例虽然也在 0.25~1.5 h 升高,但是在 24 h 下降。6 种芥子油苷的比例虽然表现出了波动,但是在多数时间点损伤后的比例低于损伤前,8MSOO 的比例在损伤后 0.25、0.5 h 和 24 h 明显低于损伤前;8MTO 的比例虽然在损伤后 1.5 h 高于损伤前,但是在损伤后 0.25 h 和 3~24 h 都低于损伤前;7MTH、5MSOP 和 4MTI3M 的比例分别在损伤后 0.5 h 或 1.5 h 高于损伤前,而在损伤后 1 h 或 3~24 h 明显低于损伤前;1MTI3M 的比例在损伤后 0.25~3 h 都低于损伤前,而在 6~24 h 稍高

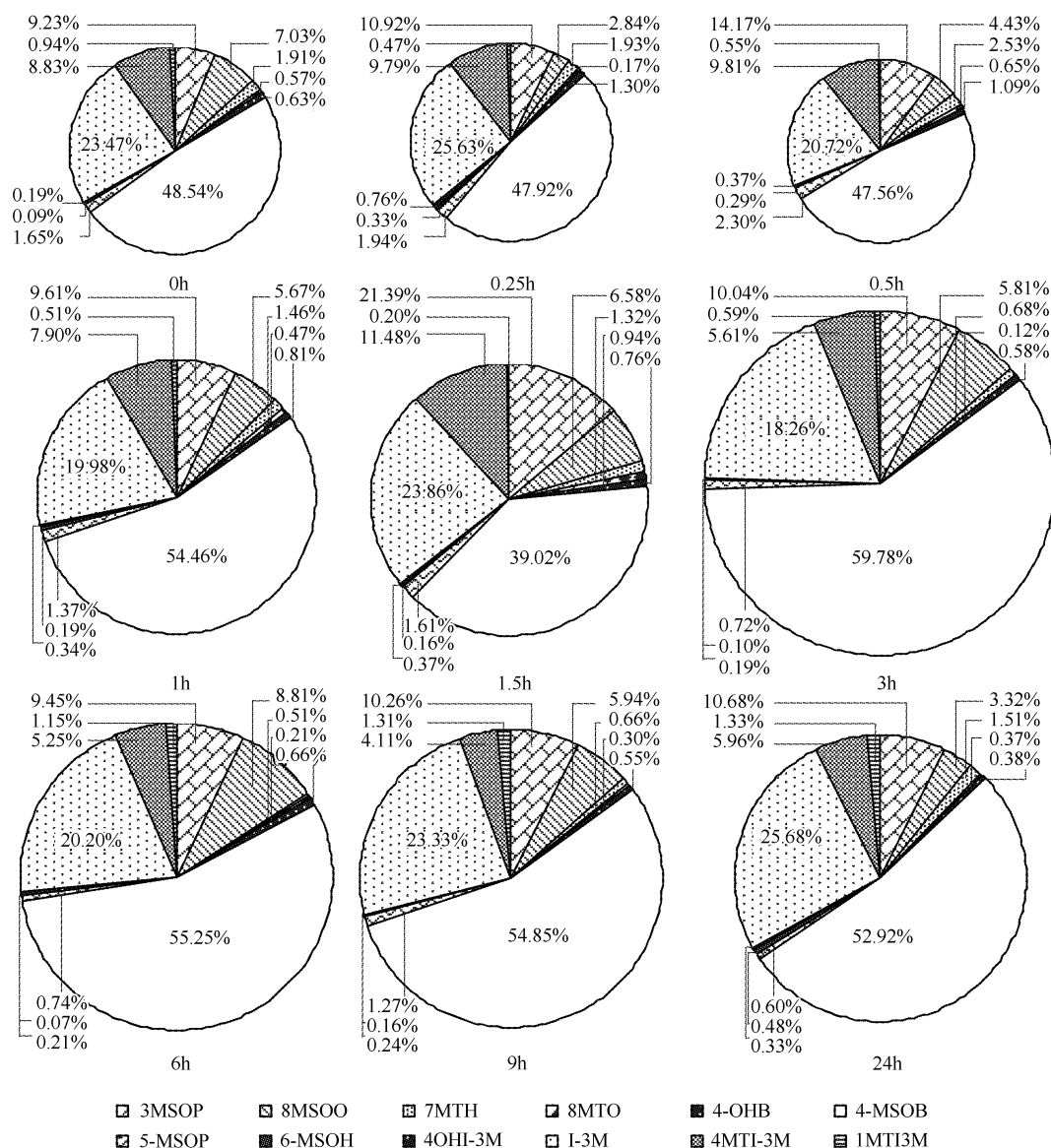


图5 机械损伤后拟南芥莲座叶中各种芥子油苷占总芥子油苷比例

Fig. 5 The proportion of various glucosinolates in rosette leaves of *Arabidopsis thaliana* under mechanical wounding

圆形面积的大小代表芥子油苷总含量,各扇形区的面积代表各种芥子油苷占芥子油苷总含量的比例 The area of circle represents the total content of glucosinolate, each area of sector represent the proportion of a single glucosinolate

于损伤前。只有 I3M 的比例在损伤前后变化不明显。

3 讨论

植物可以利用体内次生代谢产物的变化有效地防御外界胁迫。芥子油苷是以十字花科植物为主的一些植物中主要的次生代谢产物,在植物抵御外界胁迫时具有重要作用^[1]。已有研究表明,当温度、光照、水分、营养等环境条件发生改变,或者植物受到昆虫取食、病原菌侵害或机械损伤时,拟南芥、油菜(*B. napus*)和萝卜(*R. sativus*)等植物会通过调节体内芥子油苷含量应答这些不良环境^[1, 13]。其中,植物如何利用芥子油苷含量或者组合模式的变化来与昆虫进行相互作用,是人们关注的热点问题之一^[13]。昆虫取食植物时,在破坏了植物组织结构的同时,也破坏了植物体内的芥子油苷-黑芥子酶系统,导致产生部分芥子油苷降解产物来参与防御^[14]。这种昆虫给植物造成的外来影响既包括机械伤害也包括昆虫分泌物的刺激,所以人们经常把昆虫取食和机械损伤对植物所造成的伤害进行比较研究,或者通过分析植物应答机械损伤的规律来研究植物响应昆虫取食的策略^[6]。

已有的研究表明,在受到昆虫取食或者机械损伤后,植物叶片中芥子油苷的总量都会增加。比如,油菜(*B. napus*)被昆虫取食 7 d 后叶片中总芥子油苷含量增加^[9];萝卜(*R. sativus*)叶片在受到不同程度的昆虫取食后 2~3 d 芥子油苷总量明显增加^[7]。然而,已有的研究仅报道了植物叶片在受到损伤 24 h 后芥子油苷含量的变化,而缺乏植物对外界损伤快速反应的研究。通过剪除拟南芥莲座叶 40% 叶面积对植株进行机械损伤处理,获得处理后不同时间点芥子油苷含量变化规律。结果表明拟南芥叶片受机械损伤后,1 h 内芥子油苷总量变化不明显,1~24 h 芥子油苷总量增加,并且在 3~9 h 芥子油苷总量显著高于损伤前。在受到机械损伤后,植物体内的芥子油苷-黑芥子酶系统会迅速启动产生大量的芥子油苷降解产物来参与防御,但在机械损伤后 24 h 内并没有观察到芥子油苷总量显著下降。由此表明,植物应答局部伤害过程中,在启动芥子油苷-黑芥子酶系统的同时,也会迅速启动芥子油苷的合成,保证芥子油苷总量在 0~3 h 不会显著降低;同时,芥子油苷的合成速度逐渐大于降解速度,使得在损伤后 3~24 h 叶片内的芥子油苷总量并未因部分芥子油苷被降解而下降,反而是显著高于损伤前。可见,在受到机械损伤时,植物通过调整芥子油苷的代谢来保证体内储备足够的防御物质。

有报道拟南芥叶片在机械损伤处理后 4、24 h 和 48 h 吲哚族芥子油苷 I3M 的含量升高^[15],而在被毛虫(*S. exigua*),以及蚜虫 *B. Brassicae* 和 *M. persicae* 损伤后脂肪族芥子油苷含量也会升高^[8]。检测到的 8 种脂肪族芥子油苷的总量和 4 种吲哚族芥子油苷的总量都表现为在损伤 1 h 后开始升高,并且脂肪族芥子油苷总量在损伤后 3 h 和 6 h 显著高于损伤前,吲哚族芥子油苷总量在损伤后 3 h 也显著高于损伤前。可见,在应答机械损伤的初期(24 h 内),不同类群的芥子油苷总量的变化具有相似的规律,植物很可能通过大量合成它们共同的前体来保证含量的升高。

结果还表明,植物不仅通过单种芥子油苷含量的变化,而且通过体内芥子油苷组合模式的变化来应答机械损伤。这一点反映在机械损伤后的不同时间点,莲座叶内各种芥子油苷的含量和占芥子油苷总量的比例发生变化(图 3,图 5)。4MSOB 和 I3M 是拟南芥抽薹前莲座叶中主要的芥子油苷^[11, 16]。机械损伤前这两种芥子油苷含量分别占总量的 48.54% 和 23.47%;机械损伤后 1 h 两者的含量开始升高,3 h 达到最高(4-MSOB 达到总量的 59.78%,这也是损伤后 3~9 h 脂肪族芥子油苷的含量和比例明显增加的主要原因)。已有报道表明细胞色素 P450 酶 CYP83B1 在脂肪族芥子油苷核心结构合成中起重要作用,机械损伤后 0.5 h CYP83B1 的编码基因表达量开始增加,机械损伤后 1 h CYP83B1 表达最高^[17],并且芥子油苷合成酶 *CYP79B2* 的表达也受机械损伤诱导^[18]。这些酶编码基因的高表达很可能促进了损伤后 3 h 脂肪族芥子油苷含量的增加。此外,脂肪族中 7MTH、8MTO 和吲哚族中 4MTI3M 含量的变化并不明显,但是所占比例明显降低,吲哚族中的 I3M 在损伤后 3 h 含量显著升高,但所占比例却稍有下降。并且,多数芥子油苷的含量和比例是在损伤 3 h 后发生明显变化,但是一些芥子油苷所占的比例在损伤后 0.25~1.5 h 期间不同的时间点会明显升高,包括 4OHB(0.25 h)、4OHI3M(0.25 h)、7MTH(0.5 h)、4MSOB(1 h)、3MSOP(1.5 h)和 4MTI3M(1.5 h)。这似乎

暗示着植物在损伤后的快速反应过程中,可能通过芥子油苷含量的变化来调整芥子油苷的组合模式,从而通过芥子油苷组合模式的变化来应答机械损伤或昆虫取食。人们在分析植物抵御昆虫侵害时也有相似的推测,即植物通过改变体内芥子油苷的组合模式来防御昆虫^[4]。因此可以认为,这种组合模式的改变,不仅包括芥子油苷种类的变化,而且包括各种类型间所占比例的变化。这种芥子油苷组合模式的遗传多样性和代谢多样性变化对植物防御损伤尤其是防御杂食性食草动物的损伤具有重要意义^[3]。

References:

- [1] Yan X F, Chen S X. Regulation of plant glucosinolate metabolism. *Planta*, 2007, 226: 1343 — 1352.
- [2] Halkier B A, Wittstock U. Glucosinolate research in the *Arabidopsis* era. *Trends in Plant Science*, 2002, 7 (6): 263 — 270.
- [3] Kliebenstein D J. Secondary metabolites and plant/environment interactions: a view through *Arabidopsis thaliana* tinged glasses. *Plant, Cell and Environment*, 2004, 27: 675 — 684.
- [4] Rask L, Andréasson E, Ekblom B, Ohan Meijer. Myrosinase: gene family evolution and herbivore defense in Brassicaceae. *Plant Molecular Biology*, 2000, 42: 93 — 113.
- [5] Strauss S Y. Optimal defence theory and flower petal colour predict variation in the secondary chemistry of wild radish. *Journal of Ecology*, 2004, 92: 132 — 141.
- [6] Agrawal A A. Herbivory and maternal effects—mechanisms and consequences of transgenerational induced plant resistance. *Ecology*, 2002, 83 (12): 3408 — 3415.
- [7] Shelton A L. Within-plant variation in glucosinolate concentration of *Raphanus sativus* across multiple scales. *Journal of Chemical Ecology*, 2005, 31: 1711 — 1732.
- [8] Mewis I, Appel H M, Hom A, Raina R, Schultz J C. Major signaling pathways modulate glucosinolate accumulation and response to both phloem-feeding and chewing insects. *Plant Physiology*, 2005, 138: 1149 — 1162.
- [9] Bartlett E, Kiddle G, Williams I, Wallsgrove R. 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.
- [10] Petersen B L. Characterization of transgenic *Arabidopsis thaliana* with metabolically engineered high levels of p-hydroxybenzylglucosinolate. *Planta*, 2001, 212: 612 — 618.
- [11] Petersen B L, Chen S X, Hansen C H, Olsen C E, Halkier B A. Composition and content of glucosinolates in developing *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 2002, 214: 562 — 571.
- [12] Chen S X, Glawishnig E, Jorgensen K, Naur P, Jorgensen B, Olsen C E, Rasmussen H, Pickett J A, Halkier B A. CYP79F1 and CYP79F2 have distinct functions in the biosynthesis of aliphatic glucosinolates in *Arabidopsis*. *Plant Journal*, 2003, 33: 923 — 937.
- [13] Chen Y Z, Yan X F. The role of glucosinolates in plant-biotic environment interactions. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27 (6): 2584 — 2593.
- [14] Bridges M, Jones A M E, Bones A M, Hodgson C, Cole R, Bartlett E, Wallsgrove R, Karapapa V K, Watts N, Rossiter J T. 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 (1487): 187 — 191.
- [15] Mikkelsen M D, Petersen B L, Glawishnig E, Jensen A B, Andreasson E, Halkier B A. Modulation of CYP79 genes and glucosinolate profiles in *Arabidopsis* by defense signaling pathway. *Plant Physiology*, 2003, 131: 298 — 308.
- [16] Brown P D, Tokuhisa J G, Reichelt M, Gershenzon J. Variation of glucosinolate accumulation among different organs and developmental stages of *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry*, 2003, 62: 471 — 481.
- [17] Reymond P, Weber H, Damond M, Farmer E E. Differential gene expression in response to mechanical wounding and insect feeding in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2000, 12: 707 — 719.
- [18] Mikkelsen M D, Hansen C H, Wittstock U, Halkier B A. Cytochrome P450 CYP79B2 from *Arabidopsis* catalyzes the conversion of tryptophan to indole-3-acetaldoxime a precursor of indole glucosinolates and indole-3-acetic acid. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275 (43): 33712 — 33717.

参考文献:

- [13] 陈亚州, 阎秀峰. 芥子油苷在植物-生物环境关系中的作用. *生态学报*, 2007, 27 (6): 2584 ~ 2593.