

植物激素与芥子油苷在生物合成上的相互作用

张海峰 袁晶 汪俏梅*

(浙江大学园艺系, 农业部园艺植物生长发育与生物技术重点开放实验室, 杭州 310029)

摘要 植物激素在植物的生长发育中起着关键性作用, 芥子油苷是一类重要的次生代谢物质。植物激素与芥子油苷之间存在复杂的相互作用。生长素与吲哚类芥子油苷在生物合成上存在着相互作用。植物防卫信号分子与芥子油苷之间也存在相互作用, 茉莉酸强烈诱导吲哚类芥子油苷生物合成相关基因 CYP79B2 和 CYP79B3 的表达, 从而诱导吲哚-3-甲基芥子油苷和 N-甲氧吲哚-3-甲基芥子油苷等吲哚类芥子油苷的生成, 水杨酸和乙烯则能轻度诱导 4-甲氧吲哚-3-甲基芥子油苷的生成。植物防卫信号转导途径相互作用以精细调节不同种类吲哚类芥子油苷的生成。

关键词 植物激素; 芥子油苷; 相互作用; 生物合成

植物激素对植物的生长发育有重要的调节作用, 随着植物激素的生理功能与作用机制研究的不断深入, 人们发现植物激素与次生代谢物质存在不同层次的相互作用, 以共同调节植物的生长发育、对逆境的适应以及植物的防卫反应等。芥子油苷 (glucosinolate, GS) 是一种含氮和硫的植物次生代谢物质, 主要存在于十字花科植物中, 芥子油苷及其降解产物有着广泛而深入的生物学效应, 特别是在参与植物的防卫反应和抗癌作用等方面近年来引起了极为广泛的关注。目前不同信号之间的相互作用研究是生命科学领域的研究热点, 植物激素与次生代谢物质芥子油苷的相互作用研究近年来引起人们广泛的关注, 植物中这两类重要的生物活性物质在生物合成上的相互作用研究已取得较大进展, 本文综述这方面的研究进展, 并对这一领域的前景进行展望。

1 吲哚乙酸和吲哚类芥子油苷在生物合成上的相关性

吲哚乙酸 (IAA) 是植物中天然存在的生长素, 近年来的研究表明植物界具有多种途径合成 IAA。根据 IAA 的合成前体是否包括色氨酸, 可以将 IAA 生物合成途径分为色氨酸途径和非色氨酸途径^[1,2], 而在十字花科植物中则主要是色氨酸途径^[3]。吲哚类芥子油苷 (indole glucosinolates) 是十字花科植物中以色氨酸为合成前体的植物次生代谢物质, 参与植物对一些昆虫和病原微生物的防御, 同时它也可以促进一些特殊食草动物对可食植物的识别和取食^[4,5]。以模式植物拟南芥为材料的研究表明, 在十字花科植物中, IAA 和吲哚类芥子油苷的生物合

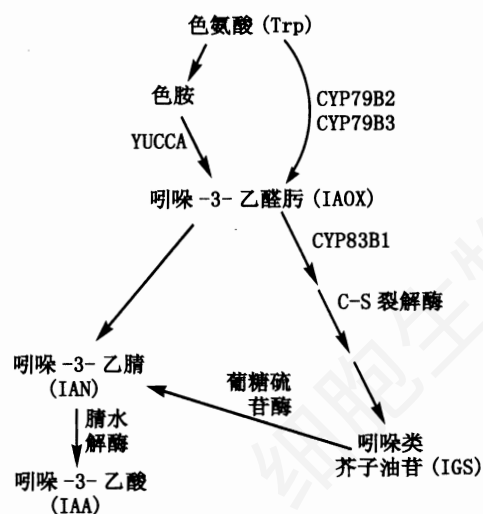


图1 IAA 和吲哚类芥子油苷在生物合成上的相关性

成途径具有很大的相关性^[6](图1)。

在拟南芥中, IAA 合成的色氨酸途径会产生一系列重要的次生代谢物质, 其中就包括吲哚类芥子油苷^[7,8]。色氨酸是由分支酸 (chorismate) 合成的, 催化这一过程的酶及其编码的基因在原核生物与真核生物之间有着惊人的保守性^[7,9]。色氨酸合成后, 可以分别通过在细胞色素 P450 家族的 CYP79B2/CYP79B3 和 YUCCA 两条不同途径生成吲哚乙醛肟 (indole-3-acetaldoxime, IAOx)^[10,11]。其中 CYP79B2/CYP79B3 途径可以直接以色氨酸为底物生成 IAOx, 而 YUCCA 途径需先生成色胺, 然后 YUCCA 以色胺

收稿日期: 2004-10-18 接受日期: 2005-04-14

国家自然科学基金 (No.30320974)、教育部留学回国启动基金和教育部留学回国择优资助项目

* 通讯作者。Tel: 0571-85909333, Fax: 0571-87420554, E-mail: qiaomeiw@zju.edu.cn

为底物生成 IAOx^[12]。

从色氨酸到IAOx这一转变是IAA和吲哚类芥子油苷合成过程共有的第一步, IAOx 又是两物质合成路径的分支点^[2,3]。与 IAOx 合成有多种途径类似, IAOx 的代谢也有多种途径, 一方面 IAOx 在 CYP83B1 的催化下朝着吲哚类芥子油苷生成的方向发展^[13,14]。在拟南芥中, 编码 CYP83B1 的 *sur2* 基因过量表达, 植物体内吲哚类芥子油苷的含量就增加, 其形态表现和 IAA 缺乏时一致; *sur2* 发生突变后其形态表现却和 IAA 过量时一致, 表现为极性增强、不定根数量增加^[2,14]。这表明 CYP83B1 在 IAA 和吲哚类芥子油苷的生物合成过程中有重要作用——催化 IAOx 生成吲哚类芥子油苷。另外, 在 IAOx 向吲哚类芥子油苷转变的过程中, C-S 裂解酶也起了关键的催化作用。拟南芥 *sur1* 突变体表现为 IAA 水平较高, 而几乎检测不到吲哚类芥子油苷。原因就在于缺失了 *sur1* 编码的 C-S 裂解酶, 从而导致了该酶底物 IAOx 的积累, 使 IAA 的合成被促进^[15]。另一方面, IAOx 也可以向生成 IAA 的方向发展, 首先生成吲哚-3-乙腈, 然后在腈水解酶(nitrilase)的作用下生成 IAA。

芥子油苷合成后定位于细胞的液泡中, 相对比较稳定。当组织和细胞受到损伤时, 一种葡萄糖硫苷酶(myrosinase)就会从细胞质中被释放出来, 并很快把芥子油苷水解, 脱去葡萄糖和硫酸, 并在不同条件下通过非酶化重组反应, 形成几种不同的降解产物, 一般在 pH 2~5, 且亚铁离子存在的情况下形成吲哚乙腈^[16]。其在腈水解酶的作用下就可以转变为 IAA^[17]。

IAA 和吲哚类芥子油苷的生物合成中的 CYP79B2/CYP79B3 和 YUCCA 途径也存在相互作用, YUCCA 途径中的中间产物色胺对 CYP83B1 有抑制作用。YUCCA 活性是该途径生成 IAA 过程中的限速步骤, 当其活性受到抑制, 就会使色胺的水平升高, 从而抑制 CYP83B1 的活性, 并最终使来源于 CYP79B2/CYP79B3 途径生成的 IAA 增多^[3]。

2 茉莉酸、水杨酸和乙烯对芥子油苷生物合成的调节

茉莉酸(JA)、水杨酸(SA)等植物激素是植物防卫反应过程中重要的信号物质。许多研究表明, 芥子油苷的生物合成受到 JA 和 SA 的调节。在欧白芥(*Sinapis alba*)中, 茉莉酸甲酯(methyljasmonate, MeJA)处理使酪氨酸合成羟苯芥子油苷的能力大大增强^[18]。在欧白芥和油菜中, MeJA 处理能使吲哚-3-

甲基芥子油苷(indole-3-ylmethyl glucosinolate, i-3ylm)的含量增加^[19]。在拟南芥和油菜中, MeJA 处理使 i-3ylm 与 N-甲氧吲哚-3-甲基芥子油苷(N-methoxy-indole-3-ylmethyl glucosinolate, Nmi-3ym)的含量均升高^[20,4]。此外, SA 处理能使油菜叶片中芥子油苷总体水平提高, 其中以苯乙基芥子油苷含量增加最显著^[21]。

植物激素中的 JA、SA 和乙烯与植物的防卫反应关系密切, 它们通过使植物产生病程相关蛋白(pathogenesis-related protein, PR 蛋白)^[22]或植物防御素(plant defensin, PDF)^[23]等方式诱导植物产生系统获得性抗性(systemic acquired resistance, SAR)^[24]和系统诱导性抗性(induced systemic resistance, ISR)^[25], 抵御病原微生物的侵害。这些激素在植物的防卫反应中存在相互协同或拮抗的作用^[26,27], 依照一定的顺序在防卫反应中发挥功能^[28]。已经发现, 芥子油苷及其降解产物在植物对昆虫和病原微生物的抗性中发挥作用^[29-31]。近年来的研究表明, 在植物的防卫反应中, 植物激素和芥子油苷之间有着密切的关系, 植物激素可以通过诱导某些特殊种类的芥子油苷的生成来抵御病原微生物的入侵。在拟南芥中, 细菌性病原菌胡萝卜软腐欧文氏菌制备的激发子能诱导与色氨酸生物合成和氧化相关的基因的协同表达。在激发子诱导过程中, 吲哚类芥子油苷 i-3ylm 的含量特异性地增加, 而吲哚衍生的植物抗毒素 camalexin 则几乎检测不到。由于在茉莉酸不敏感突变体 *coil-1* 中不能诱导吲哚类芥子油苷的产生, 因此, 这一反应是由 JA 介导的; 与此相一致, Me-JA 能引起吲哚类芥子油苷的积累^[4]。这与 Me-JA 能引起吲哚类芥子油苷积累的其他报道是一致的^[19,20]。相反, 乙烯和 SA 在该效应中的作用微乎其微^[4]。它们不能引起吲哚类芥子油苷水平的改变, 而 Me-JA 或激发子则能诱导乙烯不敏感突变体 *ein2-1* 中吲哚类芥子油苷的积累, 且效应与野生型一致。另外, 吲哚类芥子油苷的降解产物能抑制胡萝卜软腐欧文氏菌的生长, 这也说明吲哚类芥子油苷在植物防御细菌病原物中起着重要作用^[4]。

Mikkelsen 等^[32]对植物激素 JA、SA 和乙烯在拟南芥防卫反应中的相互作用, 特别是它们对芥子油苷生物合成中的关键酶的表达以及芥子油苷种类的调节中的相互作用进行了系统的研究, 同时也研究了这些激素在调节病程相关蛋白(PR1)和植物防御素(PDF1.2)中的相互作用(图2)^[32]。从3种植物激素对芥子油苷生物合成酶的影响来看, 只有 JA 能增强芥子油苷生物合成酶 CYP79 家族的表达, 尤其是 JA 能大大增强与吲哚类芥子油苷生物合成相关的

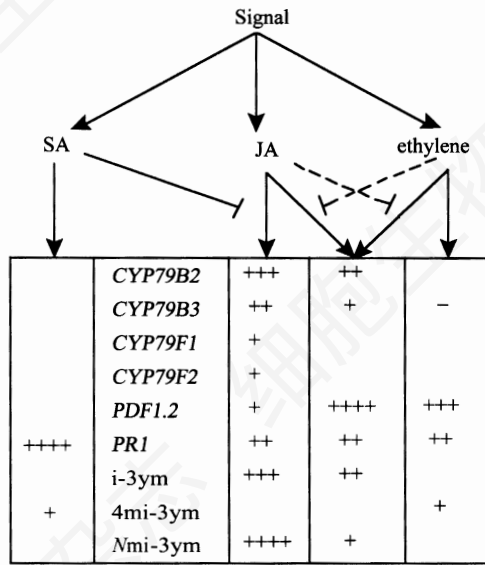


图2 植物防卫反应信号转导途径及其对芥子油苷生物合成基因与产物的影响^[32]

上半部分表示植物防卫信号转导途径以及它们之间的相互作用，下半部分总结了水杨酸、茉莉酸和乙烯处理对拟南芥中芥子油苷组分和芥子油苷生物合成基因表达的影响。

CYP79B2 和 *CYP79B3* 基因的表达，Me-JA 处理能使吲哚类芥子油苷的总含量增加 3~4 倍，特别是使吲哚类芥子油苷 i-3ym 和 Nmi-3ym 的含量明显升高。SA 处理对芥子油苷生物合成酶的表达及芥子油苷产物的影响不明显，仅使 4-甲氧基吲哚-3-甲基芥子油苷(4-methoxyindole-3-ylmethyl glucosinolate, 4mi-3ym)的含量稍升高；与之类似，单独乙烯处理对芥子油苷生物合成酶的表达及芥子油苷产物的影响不明显，仅使 4mi-3ym 的含量稍升高。值得注意的是，与脂肪类芥子油苷生物合成相关的 *CYP79F1* 和 *CYP79F2* 基因的表达较少受到 JA 等植物激素的调节，这一类芥子油苷更多地受到遗传因素的控制，而受外界环境的影响较小。不同激素在调节芥子油苷的生物合成上存在相互作用。*CYP79* 的表达受到 MeJA 的诱导，却受到乙烯前体 ACC 的抑制，与之类似，Nmi-3ym 的生物合成受到 JA 的强烈诱导，但这种诱导明显受到乙烯的抑制；在乙烯响应突变体 *ctrl* 中，Nmi-3ym 的含量比野生型高，这些证据都表明，吲哚类芥子油苷的诱导以及 i-3ym 向 Nmi-3ym 的转化过程受到 JA 的正向调节和乙烯的负向调节。在内源 SA 含量增加的突变体 *cp1* 中，芥子油苷的总体水平下降，JA 对吲哚类芥子油苷的特异性诱导受到抑制，表明在诱导吲哚类芥子油苷的生物合成上两者存在相互拮抗的作用。SA 和乙烯均能诱导 4mi-3ym 的生物合成，JA 不仅单独不能诱导其合成，还会抑制 ACC 诱导 4mi-3ym 的生成，表明

i-3ym 向 4mi-3ym 的转化过程受到 SA、乙烯的正向调节和 JA 的负向调节。由此可见，吲哚类芥子油苷不同种类之间转化受到植物激素的精细调控^[32]。这充分表明了芥子油苷在防卫反应中的重要作用，但不同种类的芥子油苷在植物与昆虫以及植物与病原微生物的相互作用中的生物学功能尚待阐明。

此外在拟南芥的防卫反应中，还存在病程相关蛋白(PR1)和植物防御素(PDF1.2)途径，SA 主要通过诱导 PR1 发挥作用，JA 和乙烯能同时诱导 PDF1.2 和 PR1，并且这两种信号在这两条途径中有协同作用^[32]。由此可见，拟南芥中的防卫反应是不同途径之间相互作用的一个复杂的信号转导网络系统。

3 小结与展望

目前，芥子油苷生物合成研究已取得较大进展。芥子油苷生物合成的主要步骤已经阐明，并且已经鉴定到多个与芥子油苷生物合成相关的结构基因，为进一步通过代谢工程的方法改善作物中芥子油苷的组分和含量，提高作物的抗癌活性及抗病虫害能力打下了良好的基础^[6,33]。

植物激素与芥子油苷的相互作用研究具有重要意义，不仅在理论上为研究不同植物信号之间的相互作用提供了良好的试验系统，有助于揭示植物激素与芥子油苷在植物发育以及植物与环境的相互作用(包括植物与昆虫、植物与病原微生物，植物与环境逆境等的相互作用)中的互作机理与生物学功能，而且可以为通过化学调控和代谢工程方法改善作物中芥子油苷的组分与含量提供理论基础，在作物改良上有很大的应用前景。这方面的研究是一个崭新的领域，但已经有了一些进展，如已经阐明生长素与吲哚类芥子油苷在生物合成上的相关性，以及植物激素茉莉酸、水杨酸和乙烯对吲哚类芥子油苷生物合成的调节及其与其它防卫信号转导途径的相互作用。

总的来说，这方面的研究还处于起步阶段，在很多方面还有待于进一步深入研究：(1)生长素和吲哚类芥子油苷在生物合成上的相关性的生物学功能还不清楚，尽管有学者认为其功能可能涉及维持植物激素的体内平衡，也有报道表明，拟南芥中吲哚类芥子油苷的降解产物吲哚-3-乙腈(IAN)与 IAA 的比值，即 IAN/IAA 与真菌性病害根肿病的发生与发展关系密切^[34]，但生长素和吲哚类芥子油苷在生物合成上的这种相关性在植物发育中的功能尚待阐明。(2)除了吲哚类芥子油苷之外，脂肪类芥子油苷也参与植物与昆虫和植物与病原微生物的相互作用，脂肪类芥子油苷的结构(如侧链的长度)和含量

决定了其对昆虫的毒性大小^[35], 并且一些种类的脂肪类芥子油苷及其降解产物对各种病原真菌和细菌有广谱的抗性^[30, 31], 但植物激素与脂肪类芥子油苷在植物防卫反应中的相互作用还不清楚, 有待于进一步研究来阐明。(3)芥子油苷在葡萄糖硫苷酶作用下的降解产物具有广泛的生物学效应。Krishna^[36]报道, 油菜素甾醇类(BR)处理油菜幼苗后编码葡萄糖硫苷酶的基因的表达增强, 同时油菜的耐热性增强, 预示着BR与芥子油苷-葡萄糖硫苷酶系统之间存在着相互作用, 并且这种相互作用可能与耐热性相关, 这是芥子油苷-葡萄糖硫苷酶系统可能与植物的抗逆性有关的首次报道。进一步研究其它植物激素与芥子油苷-葡萄糖硫苷酶系统之间的相互作用将有助于揭示芥子油苷-葡萄糖硫苷酶系统在植物发育及植物与环境的相互作用中的功能与作用机制。

参考文献 (References)

- [1] Bartel B. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1997, **48**: 51
- [2] Eckardt NA. *Plant Cell*, 2001, **13**: 1
- [3] Celenza JL. *Curr Opin Plant Biol*, 2001, **4**: 234
- [4] Brader G et al. *Plant Physiol*, 2001, **12**: 849
- [5] 阎凤鸣. *昆虫学报*, 2000, **43**: 297
- [6] Wittstock U et al. *Trends Plant Sci*, 2002, **7**: 263
- [7] Radwanski ER et al. *Plant Cell*, 1995, **7**: 921
- [8] Rask L et al. *Plant Mol Biol*, 2000, **42**: 93
- [9] Crawford IP. *Annu Rev Microbiol*, 1989, **43**: 567
- [10] Hull AK et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**: 2379
- [11] Zhao Y et al. *Science*, 2001, **291**: 306
- [12] Cohen JD et al. *Trends Plant Sci*, 2003, **8**: 197
- [13] Bak S et al. *Plant Cell*, 2001, **13**: 101
- [14] Barlier I et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**: 14819
- [15] Mikkelsen MD et al. *Plant J*, 2004, **37**: 770
- [16] 汪俏梅等. *细胞生物学杂志*, 2002, **24**: 171
- [17] Park WJ et al. *Plant Physiol*, 2003, **133**: 94
- [18] Du L et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92**: 12505
- [19] Bodnaryk RP. *Phytochemistry*, 1994, **35**: 301
- [20] Doughty KJ et al. *Phytochemistry*, 1995, **38**: 347
- [21] Kiddle GA et al. *J Exp Bot*, 1994, **45**: 1343
- [22] Malamy J et al. *Science*, 1990, **250**: 1002
- [23] Penninckx IA et al. *Plant Cell*, 1998, **10**: 2103
- [24] Shah J et al. *Plant Cell*, 1999, **11**: 191
- [25] Kloepper JW et al. *Biocontrol Sci Technol*, 1992, **2**: 349
- [26] Verberne MC et al. *Plant J*, 2003, **35**: 27
- [27] O'Donnell PJ et al. *Plant J*, 2003, **33**: 245
- [28] O'Donnell PJ et al. *Plant Physiol*, 2003, **133**: 1181
- [29] Kliebenstein DJ et al. *Genetics*, 2002, **161**: 325
- [30] Tierens KF et al. *Plant Physiol*, 2001, **125**: 1688
- [31] Manici LM et al. *J Agric Food Chem*, 1997, **45**: 2768
- [32] Mikkelsen MD et al. *Plant Physiol*, 2003, **131**: 298
- [33] Mikkelsen MD et al. *Amino Acids*, 2002, **22**: 279
- [34] Ludwig-muller J et al. *Planta*, 1999, **208**: 409
- [35] Kliebenstein DJ. *Plant Cell and Environment*, 2004, **27**: 675
- [36] Krishna P. *J Plant Growth Regul*, 2003, **22**: 289

Interactions between Phytohormones and Second Metabolite Glucosinolates

Hai-Feng Zhang, Jing Yuan, Qiao-Mei Wang*

(Department of Horticulture, the State Agriculture Ministry Laboratory of Horticultural Plant Growth, Development & Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract Phytohormones play essential role in plant development, and glucosinolate is a group of important secondary metabolite, the complex interactions exist between phytohormones and glucosinolates at the level of biosynthesis. Aunxin and indole glucosinolates interact at the level of biosynthesis and metabolism. Plant defense signaling molecules can induce the biosynthesis of specific glucosinolates. Jasmonic acid highly induces the expression of indole glucosinolates biosynthetic genes CYP79B2 and CYP79B3, and thus leads to an increase in total indole glucosinolate contents. Specifically, the biosynthesis of indole-3-ylmethyl glucosinolate and N-methoxyindole-3-ylmethyl glucosinolate were highly induced after JA treatment, whereas 4-methoxyindole-3-ylmethyl glucosinolate was slightly induced by salicylic acid and ethylene. The cross talks exist between different plant defense signal transduction pathways to regulate the biosynthesis of indole glucosinolates.

Key words phytohormones; glucosinolates; interaction; biosynthesis

Received: October 18, 2004 Accepted: April 14, 2005

This work was supported by the National Nature Science Foundation of China (No.30320974), the Scientific Research Foundation for the Returned Overseas Chinese Scholars, State Education Ministry and the Financing Project for the Outstanding Returned Overseas Chinese Scholars, State Education Ministry

*Corresponding author. Tel: 86-571-85909333, Fax: 86-571-87420554, E-mail: qiaomeiw@zju.edu.cn