

植物芥子油炸彈的引爆與拆解

廖君達

摘 要

當植食者攻擊十字花目植物，植物特有的硫配醣體與芥子酶得以接觸並進行水解反應，所產生的多種水解產物對於植食者造成死亡率的升高，生長發育的抑制等。部份植食者為了要取食該類植物，可利用硫配醣體作為寄主辨識的線索，或發展出多樣的適應機制以避免水解產物的毒害。

前 言

植物面對植食者的攻擊時，發展出多元的防禦機制。其中，以硫配醣體為主體，發展出的芥子油炸彈受到極大的關注。硫配醣體 (glucosinolates) 是一群超過 130 種含氮及硫的植物二次代謝物，依所鍵結側鏈的不同，主要可區分為脂肪族 (aliphatic)、芳香族 (aromatic)、吲哚 (indolic) 等 3 大類 (Textor and Gershenzon, 2009)。硫配醣體主要存在於十字花目 (Brassicales) 的植物，包括十字花科 (Brassicaceae)、白花菜科 (Capparaceae) 及其他 13 個科。硫配醣體本身對於儲存的細胞及其他生物僅有些微的毒性，但與它的水解酵素—芥子酶 (myrosinase) 在植物體受到空間的區隔，以避免啟動硫配醣體的水解作用 (Halkier and Gershenzon, 2006)。當植物受到傷害或昆蟲攻擊時，組織破裂會使得硫配醣體得以接觸到芥子酶。D-葡萄糖和不穩定的醣苷配基 (aglycone) 是最初的水解產物，隨後依據側鏈的不同，這些物質重新排列生成多種具不同生物活性的水解物質，包括異硫氰酸鹽 (isothiocyanates)、硫代氰酸鹽 (thiocyanates)、腈類 (nitriles)、環硫腈類 (epithionitriles) 等，即所謂的芥子油炸彈 (mustard oil bomb) (Andreasson *et al.*, 2001)。這些水解產物成為十字花科蔬菜的氣味與風味特性的重要來源，也會對雜食性昆蟲產生負面的效果，包括急毒性、抑制昆蟲生長及限制昆蟲取食等；這時，硫配醣體的水解產物對於昆蟲扮演防禦性的角色。但偏好取食含硫配醣體植物的昆蟲卻會發展出特殊的適應機制，非但不會出現顯著地負面影響，硫配醣體反而扮演誘引昆蟲

前來取食或產卵的功能。此外，特定昆蟲擁有特殊的解毒機制來避免水解產物的毒害，甚至可以利用這些物質作為自身的防禦所需。顯示硫配醣體—芥子酶系統在植物與昆蟲之間的互動是多樣性的 (Textor and Gershenzon, 2009)。

硫配醣體與芥子酶在植物體的分布

阿拉伯芥 (*Arabidopsis thaliana*) 花梗橫切面顯示，在內皮與維管束鞘外側的韌皮部之間有 1 ~ 6 個細胞，這些細胞在縱切面顯現非常的長 (1,000 μm)。經過X射線能量散佈呈像 (energy dispersive x-ray imaging) 分析，這些細胞有特別高的硫訊號，稱之為硫細胞 (S-cells) (Koroleva *et al.*, 2000)。在顯微鏡下以玻璃毛細管取出硫細胞的細胞液，經過芥子酶水解後，由釋放的葡萄糖量來估算細胞內的硫配醣體含量，這些細胞含有 100mM 以上的硫配醣體。因此，硫細胞可能是植物的硫配醣體儲存細胞，且由於硫細胞位於維管束鞘的外側，可能作為保護植物運輸系統免於受到昆蟲的取食危害 (Koroleva *et al.*, 2000)。

Andreasson *et al.* (2001) 應用阿拉伯芥芥子酶的單株抗體 3D7 進行免疫組織化學分析，來瞭解芥子酶在阿拉伯芥的空間分布。內含芥子酶的細胞出現在葉片韌皮部的薄壁細胞、發育中的花瓣及萼片、長角果韌皮部的薄壁細胞、5天大幼苗主莖韌皮部的薄壁細胞等，又稱為芥子酶細胞 (myrosin cell)。觀察幼嫩葉片的篩管，顯示芥子酶細胞較普通的薄壁細胞來的寬及長，而且經常是成對出現。此外，芥子酶細胞內的液泡物質有強的染色呈現。由花梗的橫切面，發現芥子酶細胞直接接觸到硫細胞。因此，硫配醣體及芥子酶在阿拉伯芥的分布情形，不是同時存在 1 個細胞的不同區間，而是分別在相鄰的硫細胞及芥子酶細胞 (Andreasson *et al.*, 2001)。

植物防禦物質在葉片的空間分布，可能作為解釋植食者取食的模式 (Shroff *et al.*, 2008)。番茄夜蛾 (*Helicoverpa armigera*) 幼蟲會避免取食阿拉伯芥葉片的中肋及周邊，偏好取食葉片內部。測定硫配醣體在阿拉伯芥葉片的空間分布，由離子強度圖譜發現，葉片中肋及周邊的硫配醣體高於葉片內部。推測硫配醣體在葉片的分布可能會控制番茄夜蛾幼蟲的取食偏好，且葉片周邊高含量的硫配醣體可能成為防止嚼食性昆蟲取食葉片邊緣的障礙 (Shroff *et al.*, 2008)。

硫配醣體—芥子酶系統對昆蟲的負面效果

紋白蝶 (*Pieris rapae*) 幼蟲飼養於預先以紋白蝶幼蟲取食造成傷害的簇子芥 (*A. lyrata*) 及甘藍 (*Brassica oleraceae*) 植株，幼蟲生長較飼養於未曾受害的植株分別降低 32 及 12 %。而且，經過幼蟲取食誘發的甘藍植株，吲哚及烯丙基 (allyl) 硫配醣體分別較未經過傷害處理的植株增加 176 及 94 % (Agrawal and Kurashige, 2003)。顯示昆蟲取食會誘發硫配醣體含量的增加，藉以提升植物對抗接續的攻擊 (Textor and Gershenzon, 2009)。以內含微膠囊化處理的烯丙基異硫氰酸鹽的人工飼料餵食紋白蝶幼蟲，隨著烯丙基異硫氰酸鹽劑量的增加，幼蟲的死亡隨之提升，幼蟲的生長速率隨之降低，而幼蟲的發育時間呈現延長的現象。顯示異硫氰酸鹽是影響紋白蝶死亡率、生長及發育的有效抗性因子 (Agrawal and Kurashige, 2003)。

阿拉伯芥脂肪族硫配醣體的生合成途徑，受到轉錄因子 MYB28 及 MYB29 的調控 (Gigolashvili *et al.*, 2007)。Beekwilder *et al.* (2008) 比較阿拉伯芥野生型株 (Col-0)、*myb28* 單突變株、*myb29* 單突變株及 *myb28myb29* 雙突變株葉片中各類硫配醣體的含量、甘藍夜蛾 (*Mamestra brassicae*) 幼蟲取食後的體重及阿拉伯芥葉片的受害級數等。*myb28* 單突變株缺少長鍵的脂肪族硫配醣體，短鍵脂肪族硫配醣體相較於野生型株減少約 40 %；至於 *myb28myb29* 雙突變株葉片沒有檢測出脂肪族硫配醣體。幼蟲取食欠缺脂肪族硫配醣體的 *myb28myb29* 雙突變株 12 天後，體重為取食野生型株的 2.6 倍，為取食單突變株約為 1.7~1.8 倍。相較於 Col-0 野生型株，甘藍夜蛾幼蟲對於 *myb28myb29* 雙突變株葉片造成較高的受害程度，至於兩個單突變株則呈現中等的受害度。顯示取食 *myb28myb29* 雙突變株葉片的甘藍夜蛾幼蟲生長快速，並造成葉片較高的傷害，顯示脂肪族硫配醣體含量的高低，會影響阿拉伯芥對甘藍夜蛾的抗性 (Beekwilder *et al.*, 2008)。

昆蟲利用硫配醣體作為辨識寄主植物及解毒機制

植物硫配醣體—芥子酶系統被視為十字花目植物對抗昆蟲危害的重要防禦方式，然而，這個系統面對特定的昆蟲卻有截然不同的功能 (Textor and Gershenzon, 2009)。Mewis *et al.* (2002) 評估菜心螟 (*Hellula undalis*)

雌蛾在小白菜 (*B. campestris* ssp. *chinensis*)、芥菜 (*B. juncea*) 及白芥菜 (*Sinapis alba*) 的產卵偏好性，發現依序為白芥菜、芥菜及小白菜。應用高效液相層析儀 (HPLC) 分析植物硫配醣體的含量與組成，發現白芥菜含有最高量的硫配醣體 (124.3 mg/100g FW)，主要成分為芳香族硫配醣體，包括羥苯基(4-hydroxybenzyl) 及苯基 (benzyl) 硫配醣體 2 種。其次為芥菜 (112.8 mg/100g FW)，烯丙基硫配醣體是芥菜硫配醣體的主要成分；至於小白菜的硫配醣體含量最低。顯示菜心螟偏好產卵在有較高硫配醣體含量的寄主植物，尤其是芳香族硫配醣體 (Mewis *et al.*, 2002)。

將小白菜、芥菜及白芥菜的硫配醣體萃取液，施用在非菜心螟偏好的寄主植物—豇豆 (*Vigna unguiculata*) 的葉片上。同樣地，雌蛾偏好產卵於塗布白芥菜硫配醣體萃取液的豇豆葉片，其次為塗布芥菜及小白菜萃取液的葉片。而且，小白菜硫配醣體萃取液經過芥子酸水解後，會失去對菜心螟雌蛾產卵的刺激效果。此外，葉片處理苯基硫配醣體相較於處理烯丙基硫配醣體，對於雌蛾有較高的產卵數量。顯示菜心螟的產卵偏好性與寄主的硫配醣體含量及組成有關，硫配醣體可能扮演寄主植物辨識的角色 (Mewis *et al.*, 2002)。

小菜蛾 (*Plutella xylostella*) 有一個腸道酵素稱為硫配醣體硫酸脂酶 (glucosinolate sulfatase, GSS)，它的分子量約為 66kDa。檢測小菜蛾幼蟲組織的 GSS 活性，在腸道組織可測到些微的 GSS 活性，腸道內含物則出現極高的 GSS 活性。Ratzka *et al.* (2002) 將阿拉伯芥葉片沿著主脈一分為二，丟棄主脈後，一半葉片供作萃取硫配醣體，另一半葉片調製人工飼料供小菜蛾 4 齡幼蟲取食，並分析幼蟲糞便中硫配醣體的含量。結果顯示，幼蟲糞便中含有約 60~75 % 的去硫—硫配醣體 (desulfo-glucosinolate)。GSS 可以將硫官能基由硫配醣體移除，阻礙了植物芥子酶的作用，避免形成異硫氰酸鹽、硫代氰酸鹽、腈類等具有毒性的水解產物。GSS 存在小菜蛾幼蟲腸道，使得小菜蛾降低受毒害的威脅，並得以取食更多範圍的十字花科的寄主植物 (Ratzka *et al.*, 2002)。

結 語

十字花目植物在遭逢昆蟲危害時，相鄰細胞間的芥子酶將硫配醣體進

行水解作用是關鍵的反應，硫配醣體的水解產物對於雜食性的昆蟲扮演防禦性的角色。然而，偏好取食這類植物的昆蟲卻會發展出相關的適應機制，來解除或利用這些物質，甚至成為這類植物的主要害蟲。顯示硫配醣體—芥子酶系統在植物與昆蟲之間的互動是多樣性的。

參考文獻

1. Agrawal, A. A. and N. S. Kurashige. 2003. A role for isothiocyanates in plant resistance against the specialist herbivore *Pieris rapae*. *J. Chem. Ecol.* 29: 1403–1415.
2. Andreasson, E., L. B. Jorgensen, A. S. Hoglund, L. Rask, and J. Meijer. 2001. Different myrosinase and idioblast distribution in *Arabidopsis* and *Brassica napus*. *Plant Physiol.* 127: 1750-1763.
3. Beekwilder, J., W. Vanleeuwen, N. M. Van Dam, M. Bertossi, V. Grandi, L. Mizzi, M. Soloviev, L. Szabados, J. W. Molthoff, B. Schipper, H. Verbocht, R. C. de Vos, P. Morandini, M. G. Aarts, and A. Bovy. 2008. The impact of the absence of aliphatic glucosinolates on insect herbivory in *Arabidopsis*. *PLoS ONE* 3: e2068. doi:10.1371/ journal.pone.0002068
4. Gigolashvili, T., R. Yagtusevich, B. Berger, G. Muller, and U. I. Flugge. 2007. The R2R3-MYB transcription factor HAG1/MYB28 is a regulator of methionine-derived glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 51: 247-261.
5. Halkier, B. A. and J. Gershenzon. 2006. Biology and biochemistry of glucosinolates. *Ann. Rev. Plant Biol.* 57: 303-333.
6. Koroleva, O. A., A. Davies, R. Deeken, M. R. Thorpe, A. D. Tomos, and R. Hedrich. 2000. Identification of a new glucosinolate-rich cell type in *Arabidopsis* flower stalk. *Plant Physiol.* 124: 599-608.
7. Mewis, I., Ch. Ulrich, and W. H. Schnitzler. 2002. The role of glucosinolates and their hydrolysis products in oviposition and host-plant finding by cabbage webworm, *Hellula undalis*. *Entomol. Experi. Appl.* 105: 129-139.

8. Ratzka, A., H. Vogel, D. J. Kliebenstein, T. Mitchell-Olds, and J. Kroymann. 2002. Disarming the mustard oil bomb. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 11223–11228.
9. Shroff, R., F. Vergara, A. Muck, A. Svatos, and J. Gershenzon. 2008. Nonuniform distribution of glucosinolates in *Arabidopsis thaliana* leaves has important consequences for plant defense. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105: 6196-6201.
10. Textor, S. and J. Gershenzon. 2009. Herbivore induction of the glucosinolate-myrosinase defense system: major trends, biochemical bases and ecological significance. *Phytochem. Rev.* 8: 149-170.