

芥子油苷 - 黑芥子酶系统及其在植物防御和生长发育中的作用

徐文佳, 陈亚州, 阎秀峰*

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

The Role of Glucosinolate-Myrosinase System in Plant Defence, Growth and Development

XU Wen-Jia, CHEN Ya-Zhou, YAN Xiu-Feng*

Key Laboratory of Forest Tree Genetic Improvement and Biotechnology, Ministry of Education, College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

摘要: 本文对十字花科(Cruciferae)植物体内的芥子油苷-黑芥子酶系统在生物、非生物胁迫和生长发育中的研究进展作了介绍。

关键词: 黑芥子酶; 芥子油苷; 植物防御; 生长发育

十字花科(Cruciferae)植物的体内含有一类次生代谢产物——硫代葡萄糖苷(glucosinolates), 又名芥子油苷。黑芥子酶(myrosinase, EC3.2.3.1)水解芥子油苷产生异硫氰酸盐(isothiocyanates)、硫氰酸盐(thiocyanates)、腈(nitriles)和环硫腈(epithionitriles)等物质, 这些物质具有多种生物活性。越来越多的证据表明, 十字花科植物体内的这种特殊的芥子油苷-黑芥子酶系统(glucosinolate-myrosinase system)不仅对外界的各种生物和非生物胁迫起到防御作用, 而且还参与调控植物的生长发育。

1 黑芥子酶

黑芥子酶是迄今自然界中发现的唯一的硫葡萄糖苷水解酶(β -thioglucoside glucohydrolase, TGG), 主要存在于白花菜目(Capparales)的十字花科(Cruciferae)植物体内, 某些昆虫及微生物体内也存在黑芥子酶同工酶(Rask等2000; Ishimoto等2000; Eriksson等2002)。

植物黑芥子酶是一个同源二聚体, 结构与O-糖苷酶结构类似, 不同之处主要在于活性中心基团的差异, 在黑芥子酶活性位点上谷氨酸代替了O-糖苷酶的谷氨酰胺, 而昆虫体内的黑芥子酶活性位点为谷氨酰胺(Pontoppidan等2001; Bones和Rossiter2006)。

实际上黑芥子酶很少以游离形式存在, 它与一些辅酶如黑芥子酶结合蛋白(myrosinase binding protein, MBP)、黑芥子酶协助蛋白(myrosinase associated protein, MAP)等形成复合物(阮颖等2007)。其中丰富的盐键、二硫键和氢键增强了

黑芥子酶在细胞外环境中的稳定性(Halkier和Gershenzon2006)。这些辅酶在不同的植物种属、组织和发育时期的表达模式是不同的, 而且受到植物体内不同信号途径调控(庞道标等2007)。机械损伤、昆虫取食、茉莉酸甲酯和脱落酸等因素能诱导MBP、MAP基因的转录, 水杨酸则抑制其转录(Grsic等1999)。在黑芥子酶的翻译后修饰过程中, 糖基化与去糖基化作用可调控酶的活性(Rask等2000)。

黑芥子酶在植物组织和细胞的定位已有相关报道(李定琴和张家明2007)。主要存在两种观点, 一是认为含有黑芥子酶的黑芥子酶细胞(myrosin cells)与含有芥子油苷的硫细胞(S cells)在空间上彼此临近但又相互隔离(Chen和Andreasson2001), 当组织受到损伤时, 释放出来的黑芥子酶水解芥子油苷, 产生的降解产物极易进入韧皮部, 运输到植物的各个部位, 两种细胞的空间定位对于植物防御极为有利。不过, 在拟南芥的气孔保卫细胞以及芥菜(*Brassica juncea*)种子和幼苗的糊粉类型(aleurone-type)细胞中存在黑芥子酶, 但这些细胞也含有芥子油苷, 因此另一种观点认为, 芥子油苷-黑芥子酶系统可能在亚细胞水平上是隔离的, 或者黑芥子酶

收稿 2008-08-18 修定 2008-10-13

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

* 通讯作者(E-mail: xfyang@mail.hl.cn; Tel: 0451-82190052)。

可以与芥子油苷共存,但细胞中高浓度的抗坏血酸会抑制黑芥子酶的活性(Husebye等2002),这个观点还需要更多的实验加以证明。

2 芥子油苷-黑芥子酶系统在植物防御反应中的作用

2.1 芥子油苷-黑芥子酶系统中的各种降解产物

芥子油苷在黑芥子酶的作用下,水解释放一分子的葡萄糖并形成一不稳定的中间产物——糖苷配基(aglycone)。糖苷配基在一定的环境条件(如适宜的pH、 Fe^{2+} 存在等)和其他酶如 epithiospecifier protein (ESP)、nitrilespecifier protein (NSP)等作用下,立刻进行分子重排并形成各种具有生物活性的降解产物,包括异硫氰酸盐、腈、硫氰酸盐等。最常见的降解产物是异硫氰酸盐,降解产物的类型还取决于芥子油苷的侧链结构。

2.1.1 异硫氰酸盐(isothiocyanates, ITCs)

ITCs是一种非常有效的防御物质,不仅可以抑制细菌、真菌、线虫,还具抗虫的生理活性,干扰它们神经信号的传递(Fahey等2001; Petersen等2001)。尽管ITCs的活性主要存在于—N=C=S,但ITCs的侧链亦显著影响其生理活性,其侧链可能在修饰ITCs功能性碳原子的亲电子性(electrophilicity)及其亲脂性(lipophilicity)方面发挥作用。比较几种不同ITCs的抗菌活性发现,芳香族ITCs比脂肪族ITCs的抗菌活性要强,但随着侧链长度的增加,抗菌活性降低(Kirkegaard和Sarwar等1998)。拟南芥叶片中大量存在的4-甲基亚磺酰丁基芥子油苷(4-methylsulphinylbutyl glucosinolate)的降解产物4-甲基亚磺酰丁基异硫氰酸盐(4-methylsulphinylbutyl isothiocyanate)对很多真菌和细菌都有抑制作用。然而对于某些专食性昆虫,挥发性的异硫氰酸盐却常成为引诱剂并且能刺激产卵和促进幼虫发育(Giamoustaris和Mithen 1995; Kliebenstein等2005)。

芸苔属(*Brassica*)植物提取物可作为一种土壤改良剂,抑制土壤中真菌生长。如油菜(*B. napus*)种子提取液降低了豌豆丝囊霉(*Aphanomyces euteiches*)孢子的存活率,抑制其菌丝生长,研究表明这主要是由于黑芥子酶降解芥子油苷产生的异硫氰酸盐的抑菌作用(Smolinska等1997)。芥子油苷的降解产物异硫氰酸丙烯酯(allyl-isothiocyanate)对扩展青霉(*Penicillium expansum*)具有毒性,因此人们将其作为水果运输中的防腐剂(Mari等2002)。

另外,一些十字花科蔬菜的特殊风味也主要源于异硫氰酸盐,链烯基和吲哚异硫氰酸盐是引起苦味的主要因素。异硫氰酸盐的亲电子特性使它们很容易在加热处理过程中与小肽、氨基酸和黄酮醇(flavonoids)等形成共轭物,但这些共轭物的生物学功能尚不清楚(Cejpek等2000)。

2.1.2 腈(nitriles)和环硫腈(epithionitriles)

芥子油苷被黑芥子酶水解后,如果环境中含有ESP和 Fe^{2+} 且在酸性条件下,生成的降解产物主要为腈类,若芥子油苷侧链为烯基,产物中环硫腈占大部分;若侧链为烷基,产物主要为腈(Lambrix等2001)。Foo等(2000)分离并纯化了ESP,ESP参与的水解反应中需 Fe^{2+} 的存在,可能是 Fe^{2+} 促进了ESP与硫代脲基酸中间化合物的结合。ESP与黑芥子酶的酶活比值可影响降解产物中腈的含量(Burow等2006)。

同时, *epithiospecifier modifier 1 (ESM1)*基因的表达可调控腈的生成,如吲哚-3-甲基芥子油苷(indol-3-ylmethyl glucosinolate, I3M)在ESP作用下主要生成吲哚-3-乙腈(indole-3-acetonitrile, IAN),而在ESM1的作用下,产物则主要是吲哚-3-甲基异硫氰酸盐(indol-3-ylmethyl isothiocyanate),因此ESM1的存在抑制了腈的生成(Burow等2008)。

相对于异硫氰酸盐来说,腈对某些昆虫的毒性较小。杂食性昆虫粉纹夜蛾(*Trichoplusia ni*)更偏向取食产腈的拟南芥(Lambrix等2001)。海灰翅夜蛾(*Spodoptera littoralis*)幼虫取食产腈的拟南芥后,体重增加的速度要快于取食产异硫氰酸盐植株的幼虫(Burow等2007a)。

Burow等(2006)从专食性咀嚼式昆虫——菜粉蝶(*Pieris rapae*)的幼虫中肠内分离鉴定得到NSP,它可以将黑芥子酶水解芥子油苷形成的不稳定中间化合物转变为腈。NSP与ESP的功能类似,但序列之间同源性低,而且二者催化形成腈的机制不同。专食性昆虫菜粉蝶、大菜粉蝶(*P. brassicae*)体内存在NSP,可能是它们在与植物协同进化过程中形成的一种适应机制,专食性昆虫将摄入的芥子油苷转变为对自身毒害作用较小的腈,从而避免异硫氰酸盐的形成。

2.1.3 硫氰酸盐(thiocyanates)

独苻菜(*Lepidium sativum*)中存在一种 thiocyanate-forming protein (TFP),它能将黑芥子酶水解芥子油苷形成的不稳定

南芥的生长时期和群体密度而异, 单株拟南芥产生异硫氰酸盐等挥发性水解产物, 这些水解产物直接参与植物的防御, 不过单株拟南芥的芥子油苷水解产物的产量不足以招引专食性昆虫; 群体拟南芥芥子油苷的主要水解产物为腈类, 这些产物对杂食性昆虫的防御作用并不强, 却可以在一定程度上避免专食性昆虫的侵害(Wentzell和Kliebenstein 2008)。各种生态型拟南芥的芥子油苷的组成和含量有明显的差异, 这种天然的变异是由于拟南芥基因组中5个等位基因间不同组合造成的(Kroymann等2003)。从生态学角度看, 植物体内芥子油苷组合模式的多样性可能是植物对外界胁迫的一种适应。

目前的研究认为, 昆虫在与植物芥子油苷-黑芥子酶系统的协同进化过程中, 主要形成了3种适应机制。(1)某些昆虫体内存在着黑芥子酶同工酶。专食性昆虫甘蓝蚜(*B. brassicae*)、萝卜蚜(*Lipaphis erysimi*)将黑芥子酶储存于肌肉组织中的晶状微体内, 与摄入的芥子油苷分离, 而当它们遭到病菌感染或天敌捕食后, 晶状微体的完整性被破坏, 释放出的黑芥子酶降解芥子油苷。降解产物中的挥发性物质——异硫氰酸盐可直接杀死病菌, 或作为警报信息素(alarm pheromone)警示同类逃避天敌(Bridges等2002; Mewis等2006)。(2)某些昆虫体内存在着硫酸酯酶(sulfatase)。小菜蛾(*Plutella xylostella*)利用体内的硫酸酯酶使芥子油苷脱硫, 脱硫的芥子油苷不能作为黑芥子酶的底物, 从而抑制水解作用的发生(Ratzka等2002)。(3)某些昆虫体内存在着NSP(将黑芥子酶水解芥子油苷形成的不稳定中间化合物转变为腈)。鳞翅目昆虫菜粉蝶(*P. rapae*)幼虫中肠内含有NSP, 它可促使降解产物的主要成分转变为对自身毒性较小的腈(Wittstock等2004)。

2.3 芥子油苷-黑芥子酶系统与微生物的相互作用

存在于芸苔属植物根系及周围的寄生真菌, 如油菜根霉菌(*Rhizopus* sp.)、独苻菜镰刀菌(*Fusarium* sp.)、白菜黑斑病菌(*Alternaria brassicae*)和油菜黑胫病菌(*Leptospheria maculans*)内也存在着黑芥子酶的同工酶(Ishimoto等2000; Eriksson等2002)。在一些哺乳动物肠道中的细菌如*Enterobacter cloacae*和多形拟杆菌(*Bacteroides thetaiotaomicron*)内也检测到了黑芥子酶活性(Elfoul等2001)。三种双歧杆菌(*Bifidobacterium*)内的黑芥子酶可能参与人

消化道的芥子油苷的降解(Cheng等2004)。

真菌侵染能够诱导植物局部的黑芥子酶合成。cDNA探针检测发现被芸苔根肿菌(*Plasmodiophora brassicae*)侵染患病的白菜(*B. rapa*)根中, 黑芥子酶的表达量升高(Grsic等1999)。当植物受到病原体侵染时, 细胞内溶物外泄, 芥子油苷被黑芥子酶水解释放的葡萄糖积累, 这使得细胞壁增厚, 可阻止病原体的侵染和扩散(Ishihara等2008)。

油菜黑胫病菌(*L. maculans*)能够使芥子油苷降解的主要产物为腈, 降低对自身的毒害作用(Rask等2000)。活体营养型微生物如假单胞杆菌(*Pseudomonas syringae*)和寄生疫霉(*Phytophthora parasitica*), 因为不引起组织损伤或损伤较小, 所以避免了宿主细胞内芥子油苷的释放(Tierens等2001)。

一般情况下, 芸苔属植物不能与菌类共生形成菌根, 但有趣的是, 白菜和甘蓝(*B. oleracea*)的根系分泌物能够激发真菌卷边网褶菌(*Paxillus involutus*)和彩色豆马勃(*Pisolithus tinctorius*)的菌丝生长, 液相色谱鉴定出根系分泌物中的主要物质为异硫氰酸盐和吲哚族芥子油苷的其他降解产物(Zeng等2003)。

3 芥子油苷-黑芥子酶系统的非生物因素影响

3.1 温度、pH、抗坏血酸浓度和各种离子

外界环境中的非生物因素对芥子油苷-黑芥子酶系统的影响也很明显, 气候与季节、温度、光照、水分、CO₂等因素均能改变十字花科植物体内芥子油苷的组成(陈亚州等2008)。芥子油苷-黑芥子酶系统很大程度上依赖于黑芥子酶的活性。关于温度、pH和NaCl对黑芥子酶活性的影响, 人们已经通过体外实验进行研究(Li和Kushad 2005; 徐伟丽等2006), 并有较为详细的综述(李定琴和张家明2007)。在植物体内, 抗坏血酸含量的变化能显著影响黑芥子酶的活性, 通常表现为低浓度抗坏血酸激活黑芥子酶, 而高浓度抑制黑芥子酶(Chen和Halkier 1999)。X光衍射晶体分析显示, 抗坏血酸结合到黑芥子酶上的空间结构的位点与黑芥子酶的底物葡萄糖苷的苷元结合位点重叠, 而又不同于葡萄糖基的结合位点(Burmeister等2000)。因此黑芥子酶虽然对不同种类的芥子油苷特异性不强, 但可以区分葡萄糖苷和其类似物氧葡萄糖苷。从植物体中分离的黑芥子酶一般可被0.3 mmol·L⁻¹浓度的抗坏血酸激活, 过高浓度的抗坏血酸可与底物竞争结合

位点并抑制黑芥子酶活性。不过 $0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度的抗坏血酸对甘蓝蚜(*B. brassicae*)中的黑芥子酶同工酶却有抑制作用, $10 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的抗坏血酸即可强烈激活黑芥子酶活性(Pontoppidan 等 2001)。

Visvalingam 等(1998)检测硫、铁、铜、锰和锌离子对白芥(*Sinapis alba*)幼苗不同组织(根、茎、子叶和芽)和不同发育阶段的黑芥子酶活性的影响, 结果表明硫和金属元素可调控黑芥子酶的活性和表达, 最敏感的部位是芽。芽中硫的缺失对黑芥子酶活性的抑制作用最大, 铁缺失使黑芥子酶的活性增加一倍, 其他金属离子的影响比较轻微。不同组织中硫和金属元素对黑芥子酶活性的影响是有差异的(Bones 等 1994)。硫元素为芥子油苷合成代谢过程提供氨基酸(甲硫氨酸及其侧链延长衍生物)来源、硫供体(半胱氨酸)、磺酸基(3'-磷酸腺苷-5'-磷酸硫酸盐, PAPS), 因此硫缺失会对植物体内芥子油苷的代谢有一定的影响。Li 和 Kushad (2005)的实验结果表明, 辣根(*Armoracia rusticana*)的根中吲哚芥子油苷总的含量随着供硫水平的升高而增加。Dubuis(2005)发现硫缺失会导致油菜中总芥子油苷含量的降低, 从而植株抗菌能力明显下降。同时还注意到缺硫处理对芥子油苷的降解过程也有影响, 缺硫处理的拟南芥根中编码黑芥子酶的两个基因 *TGG1* 和 *TGG2* 的表达明显受到抑制。硫缺失还会诱导拟南芥体内 IAA 的含量升高。Hirai 等(2005)发现, 除了硫还原同化作用过程中的相关酶基因以外, 腈水解酶基因在缺硫时也被诱导表达, 催化吲哚乙腈转化为吲哚乙酸, 而生长素的积累又对根的生长和伸长具有促进作用, 生长素促进植物扩大根际范围从而更好的吸收营养, 这可能是植物对环境适应的一种表现。

3.2 氧化胁迫 活性氧参与细胞生长信号转导、基因表达和细胞程序性死亡。 H_2O_2 是六种主要造成氧化胁迫活性氧中的一种。Barillari 等(2005)发现萝卜(*Raphanus sativus*)芽中还还原态的 4-甲基-3-丁烯基芥子油苷(4-methylthio-3-butenyl glucosinolate)能够经 H_2O_2 氧化后完全转化为氧化态的 4-甲基亚磺酰-3-丁烯基芥子油苷(4-methylsulfinyl-3-butenyl glucosinolate), 并认为可能是植物在受到氧化胁迫时, 还原态的芥子油苷与活性氧反应, 转化为氧化态的芥子油苷, 从而缓解氧化胁迫造成的损害。

黑芥子酶水解 4-甲基亚磺酰丁基芥子油苷产生的 4-甲基亚磺酰丁基异硫氰酸盐(4-methylsulfinylbutyl isothiocyanate)又名莱菔硫烷(sulforaphane), 被认为是促进人类健康的最有效的物质, 它的还原形式 4-甲基硫代丁基异硫氰酸盐(4-methylthiobutyl isothiocyanate)又名甘油三芥酸脂(erucin), 被发现在抗癌方面具有潜力, 对非白血病白血病细胞(leukemia cells)具选择性。此外 Barillari 等(2005)的研究表明, 甘油三芥酸脂和其前体 4-甲基硫代丁基芥子油苷(4-methylthiobutyl glucosinolate)通过诱导 II 相酶(phase II enzymes)如谷胱甘肽转移酶(glutathione S-transferase)直接发挥抗氧化活性, 而其他异硫氰酸盐的作用则是间接的。

4 芥子油苷 - 黑芥子酶系统参与调节植物的生长发育过程

一直以来, 人们对芥子油苷 - 黑芥子酶系统的研究主要集中在植物防御方面, 而对它在生长发育方面的作用关注较少。Geshi 和 Brandt (1998)对油菜子叶进行免疫定位研究发现黑芥子酶与黑芥子酶结合蛋白(MBP)都存在于韧皮部和黑芥子酶细胞(myrosin cells)中, 而且在亚细胞水平上也是共存的。另外, 在萌发的幼苗中 MBP 先是非黑芥子酶细胞中表达, 然后从非黑芥子酶细胞中消失, 并聚集到生长了 7 天的子叶的黑芥子酶细胞中。

吲哚族芥子油苷水解产物的代谢不同于其他种类的芥子油苷, 因为其水解产物异硫氰酸盐在偏酸性的环境中不稳定, 异硫氰酸盐进一步代谢的产物包括吲哚-3-甲醇、吲哚-3-乙腈(IAN)和一些抗坏血酸共轭物(Halkier 和 Gershenzon 2006), 其中 IAN 可以被腈水解酶(nitrilases)水解生成 IAA, 吲哚族芥子油苷生成吲哚乙腈需要黑芥子酶和 ESP 的存在。因此推断芥子油苷可能作为一个库, 储存生长素前体, 通过黑芥子酶水解吲哚族芥子油苷释放吲哚基团, 从而参与调节植物的生长发育(Burmeister 等 2000)。另外, 黑芥子酶介导的芥子油苷的降解还导致葡萄糖及硫的释放, 葡萄糖和硫对于植物的幼苗发育具有营养价值。

十字花科植物中芥子油苷的组合模式及黑芥子酶基因不同亚家族成员的表达受发育过程的调控(Petersen 等 2002; Rask 等 2000)。Chen 和 Halkier (1999)对拟南芥种子中的 *p*-羟苯甲基芥子油苷(*p*-hydroxybenzyl glucosinolate, *p*-OHBG)进行 C^{14} 标记,

发现子叶期幼苗中含有70%的 p -OHBG,而在6~8片叶的莲座叶期 p -OHBG几乎检测不到。Chen认为 p -OHBG的这种转变是受黑芥子酶的表达水平调控的,因为在子叶期幼苗中检测到的黑芥子酶含量很低,而在随后的发育阶段其表达水平增长很快,这意味着在发育过程中芥子油苷的含量变化和不同种类之间的转变并不是只受昆虫取食或环境胁迫的诱导。

研究不同发育阶段拟南芥莲座叶中黑芥子酶活性和吲哚族芥子油苷含量的结果显示,吲哚族芥子油苷含量的变化趋势与黑芥子酶活性的变化趋势相似,前三周 $tgg1$ 、 $tgg2$ 突变体叶片中芥子油苷含量高于野生型也说明了黑芥子酶参与了种子萌发和幼苗发育阶段芥子油苷的降解。拟南芥 $tgg1$ $tgg2$ 双突变体的叶片中,吲哚族芥子油苷含量在植株生长三周后与野生型的含量相差很少,说明在成熟植株中,随着叶片衰老,芥子油苷由于运输、非酶降解等原因含量下降(Barth和Jander 2006),因此认为与植株衰老耦联的芥子油苷下降并不是黑芥子酶引起的。

拟南芥 $cyp79F1$ 突变体产生的芥子油苷主要为吲哚族芥子油苷,其表型与野生型的表型区别主要体现在丛状分枝引起的植株矮化,而一定浓度的IAA可通过对某些基因(如 $AtCDC5$)的调控影响细胞分裂或侧根发生。故人们推测在 $cyp79F1$ 突变体的发育初始阶段,吲哚族芥子油苷被黑芥子酶水解,产生的IAA过量积累,导致表型的改变。

采用放射性同位素标记研究发现,在油菜胚胎发育过程中,芥子油苷前体——脱硫芥子油苷在黑芥子酶细胞中积累(Thangstad等2001)。黑芥子酶并不水解脱硫芥子油苷,因此二者可以共存,并且不会对植物体自身产生毒害作用。在特定的条件下脱硫芥子油苷可形成芥子油苷,该系统被激活而发挥作用。芥子油苷的水解产物不仅对食草昆虫和病原体有毒害作用,对植物自身也有毒性,它们能抑制种子萌发、有氧呼吸及氧化还原代谢。植物体通过自己独特的脱毒方式来避免此种损伤,甘蓝及其他几种植物体内存在巯基甲基化酶,它能够使硫氰酸盐等氰化物甲基化(Attieh等2000; Attieh等2002)。

5 结束语

从1840年Bussy首次报道黑芥子酶以后

(Bussy 1840),人们对黑芥子酶的分布、结构与功能有了初步的了解,但黑芥子酶与其辅酶和辅因子之间的协作机制尚不清晰。另外,在不同的植物种属、组织以及发育时期之间,芥子油苷的组合模式存在差异,这其中的调控机制仍需深入研究。同时,外界的各种胁迫对黑芥子酶表达的影响和各种水解产物在植物防御中的生物学功能也是需要探索的问题。

参考文献

- 陈亚州, 陈思学, 阎秀峰(2008). 环境对植物芥子油苷代谢的影响. 生态学报, 28 (6): 28~34
- 李定琴, 张家明(2007). 芥子酶的研究概况. 海南大学学报自然科学版, 25 (2): 210~216
- 庞道标, 吴宇佳, 谭德冠, 李定琴, 孙雪飘, 张家明(2007). 植物芥子酶研究进展. 生命科学研究, 11 (3): 189~194
- 徐伟丽, 赵国华, 李洪军, 陈宗道, 余帮兵, 向瑞玺(2006). 莛用芥菜芥子酶的特性研究. 中国食品学报, 6 (2): 41~45
- 阮颖, 周朴华, 刘春林(2007). 植物硫代葡萄糖苷-黑芥子酶底物酶系统. 湖南农业大学学报(自然科学版), 33 (1): 18~23
- Attieh J, Djiana R, Koonjul P, Sparace SA, Saini HS (2002). Cloning and functional expression of two plant thiol methyltransferases a new class of enzymes involved in the biosynthesis of sulfur volatiles. *Plant Mol Biol*, 50: 511~521
- Attieh J, Sparace SA, Saini HS (2000). Purification and properties of multiple isoforms of a novel thiol methyltransferase involved in the production of volatile sulfur compounds from *Brassica oleracea*. *Arch Biochem Biophys*, 380: 257~266
- Barillari J, Cervellati R, Paolini M, Tatibouët A, Rollin P, Iori R (2005). Isolation of 4-methylthio-3-butenyl glucosinolate from *Raphanus sativus* sprouts (kaiware daikon) and its redox properties. *J Agr Food Chem*, 53 (26): 9890~9896
- Barth C, Jander G (2006). *Arabidopsis* myrosinases TGG1 and TGG2 have redundant function in glucosinolate breakdown and insect defense. *Plant J*, 46: 549~562
- Bones AM, Rossiter JT (2006). The enzymic and chemically induced decomposition of glucosinolates. *Phytochemistry*, 67: 1053~1067
- Bones AM, Rossiter JT (1996). The myrosinase-glucosinolate system, its organisation and biochemistry. *Physiol Plant*, 97: 194~208
- Bones AM, Visvalingam S, Thangstad OP (1994). Sulphate can induce differential expression of thioglucoside glucohydrolases (myrosinase). *Planta*, 193: 558~566
- Bridges M, Jones AM, Bones AM, Hodgson C, Cole R, Bartlett E, Wallsgrave R, Karapapa VK, Watts N, Rossiter JT (2002). Spatial organization of the glucosinolate-myrosinase system in brassica specialist aphids is similar to that of the host plant. *Proc Biol Sci*, 269: 187~191
- Burmeister WP, Cottaz S, Rollin P, Vasella A, Henrissat B (2000). High resolution X-ray crystallography shows that ascorbate is a cofactor for myrosinase and substitutes for the function

- of the catalytic base. *J Biol Chem*, 275: 39385~39393
- Burow M, Zhang ZY, Ober JA, Lambrix VM, Wittstock U, Gershenzon J, Kliebenstein DJ (2008). *ESP* and *ESMI* mediate indol-3-acetonitrile production from indol-3-ylmethyl glucosinolate in *Arabidopsis*. *Phytochemistry*, 69 (3): 663~671
- Burow M, Bergner A, Gershenzon J, Wittstock U (2007a). Glucosinolate hydrolysis in *Lepidium sativum*-identification of the thiocyanate-forming protein. *Plant Mol Biol*, 63: 49~61
- Burow M, Rice M, Hause B, Gershenzon J, Wittstock U (2007b). Cell- and tissue-specific localization and regulation of the epithiospecifier protein in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol*, 64: 173~185
- Burow M, Markert J, Gershenzon J, Wittstock U (2006). Comparative biochemical characterization of nitrile-forming proteins from plants and insects that alter myrosinase-catalysed hydrolysis of glucosinolates. *FEBS J*, 273 (11): 2432~2446
- Bussy A (1840). Sur la formation de l'huile essentielle de moutarde. *J Pharm*, 27: 464~471
- Chen SX, Andreasson E (2001). Update on glucosinolate metabolism and transport. *Plant Physiol Biochem*, 39: 743~758
- Chen SX, Halkier BA (1999). Functional expression and characterization of the myrosinase MYR1 from *Brassica napus* in *Saccharomyces cerevisiae*. *Protein Express Purif*, 17: 414~420
- Cejpek K, Valušek J, Velišek J (2000). Reactions of allyl isothiocyanate with alanine, glycine, and several peptides in model systems. *J Agr Food Chem*, 48 (8): 3560~3565
- Cheng DL, Hashimoto K, Uda Y (2004). In vitro digestion of sinigrin and glucotropaeolin by single strains of *Bifidobacterium* and identification of the digestive products. *Food Chem Toxicol*, 42 (3): 351~357
- de Vos M, Kriksunov KL, Jander G (2008). Indole-3-acetonitrile production from indole glucosinolates deters oviposition by *Pieris rapae*. *Plant Physiol*, 146 (3): 916~926
- Dubuis PH, Marazzi C, Stadler E, Mauch F (2005). Sulphur deficiency causes a reduction in antimicrobial potential and leads to increased disease susceptibility of oilseed rape. *J Phytopathol*, 153: 27~36
- Elfoul L, Rabot S, Khelifa N, Quinsac A, Duguay A, Rimbault A (2001). Formation of allyl isothiocyanate from sinigrin in the digestive tract of rats monoassociated with a human colonic strain of *Bacteroides thetaiotaomicron*. *FEMS Microbiol Lett*, 197 (1): 99~103
- Eriksson S, Andréasson E, Ekblom B, Granér G, Pontoppidan B, Taipalensuu J, Zhang J, Rask L, Meijer J (2002). Complex formation of myrosinase isoenzymes in oilseed rape seeds are dependent on the presence of myrosinase-binding proteins. *Plant Physiol*, 129: 1592~1599
- Fahey JW, Zalcmann AT, Talalay P (2001). The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, 56: 5~51
- Foo HL, Gronning LM, Goodenough L, Bones AM, Danielsen B, Whiting DA, Rossiter JT (2000). Purification and characterisation of epithiospecifier protein from *Brassica napus*: enzymic intramolecular sulphur addition within alkenyl thiohydroximates derived from alkenyl glucosinolate hydrolysis. *FEBS Lett*, 468: 243~246
- Geshi N, Brandt A (1998). Two jasmonate-inducible myrosinase-binding proteins from *Brassica napus* L. seedlings with homology to jacalin. *Planta*, 204 (3): 295~304
- Giamoustaris A, Mithen R (1995). The effect of modifying the glucosinolate content of leaves of oilseed rape (*Brassica napus* ssp. *oleifera*) on its interaction with specialist and generalist pests. *Ann Appl Biol*, 126: 347~363
- Grsic S, Kirchheim B, Pieper K, Fritsch M, Hilgenberg W, Ludwig-Müller J (1999). Induction of auxin biosynthetic enzymes by jasmonic acid and in clubroot diseased Chinese cabbage plants. *Physiol Plant*, 105: 521~531
- Halkier BA, Gershenzon J (2006). Biology and biochemistry of glucosinolates. *Annu Rev Plant Biol*, 57: 303~333
- Hirai MY, Klein M, Fujikawa Y, Yano M, Goodenow DB, Yamazaki Y, Kanaya S, Nakamura Y, Kitayama M, Suzuki H et al (2005). Elucidation of gene-to-gene and metabolite-to-gene networks in *Arabidopsis* by intergration of metabolomics and transcriptomics. *J Biol Chem*, 280: 25590~25595
- Husebye H, Chadchawan S, Winge P, Thangstad OP, Bones AM (2002). Guard cell- and phloem idioblast-specific expression of thioglucoside glucohydrolase 1 (myrosinase) in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 128: 1180~1188
- Ishihara A, Hashimoto Y, Tanaka C, Dubouzet JG, Nakao T, Matsuda F, Nishioka T, Miyagawa H, Wakasa K (2008). The tryptophan pathway is involved in the defense responses of rice against pathogenic infection via serotonin production. *Plant J*, 54 (3): 481~495
- Ishimoto H, Fukushi Y, Yoshida T, Tahara S (2000). *Rhizopus* and *Fusarium* are selected as dominant fungal genera in rhizospheres of *Brassicaceae*. *J Chem Ecol*, 26: 2387~2399
- Kim JH, Jander G (2007). *Myzus persicae* (green peach aphid) feeding on *Arabidopsis* induces the formation of a deterrent indole glucosinolate. *Plant J*, 49: 1008~1019
- Kim JH, Lee BW, Schroeder FC, Jander G (2008). Identification of indole glucosinolate breakdown products with antifeedant effects on *Myzus persicae* (green peach aphid). *Plant J*, 54 (6): 1015~1026
- Kirkegaard JA, Sarwar M (1998). Biofumigation potential of brassicas. *Plant Soil*, 201 (1): 71~89
- Kliebenstein DJ, Kroymann J, Mitchell-Olds T (2005). The glucosinolate-myrosinase system in an ecological and evolutionary context. *Curr Opin Plant Biol*, 8: 264~271
- Kroymann J, Donnerhacke S, Schnabelrauch D, Mitchell-Olds T (2003). Evolutionary dynamics of an *Arabidopsis* insect resistance quantitative trait locus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100 (2): 14587~14592
- Lambrix V, Reichelt M, Mitchell-Olds T, Kliebenstein DJ, Gershenzon J (2001). The *Arabidopsis* epithiospecifier protein promotes the hydrolysis of glucosinolates to nitriles and influences *Trichoplusia ni* herbivory. *Plant Cell*, 13: 2793~2807
- Li X, Kushad MM (2005). Purification and characterization of

- myrosinase from horseradish (*Armoracia rusticana*) roots. *Plant Physiol Biochem*, 43: 503~511
- Mari M, Leoni O, Iori R, Cembali T (2002). Antifungal vapour-phase activity of allyl-isothiocyanate against *Penicillium expansum* on pears. *Plant Pathol*, 51: 231~236
- Mewis I, Tokuhisa JG, Schultz JC, Appel HM, Ulrichs C, Gershenzon J (2006). 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*, 67 (22): 2450~2462
- Petersen BL, Chen SX, Hansen CH, Olsen CE, Halkier BA (2002). Composition and content of glucosinolates in developing *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 214: 562~571
- Petersen BL, Andréasson E, Bak S, Agerbirk N, Halkier BA (2001). Characterization of transgenic *Arabidopsis thaliana* with metabolically engineered high levels of *p*-hydroxybenzylglucosinolate. *Planta*, 212: 612~618
- Peterson CJ, Tsao R, Coats JR (1998). Glucosinolate aglucones and analogues: insecticidal properties and a QSAR. *Pestic Sci*, 54: 35~42
- Pontoppidan B, Hopkins R, Rask L, Meijer J (2003). Infestation by cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*) on oilseed rape (*Brassica napus*) causes a long lasting induction of the myrosinase system. *Entomol Exp Appl*, 109: 55~62
- Pontoppidan B, Ekbom B, Eriksson S, Meijer J (2001). Purification and characterization of myrosinase from the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*), a brassica herbivore. *Eur J Biochem*, 268: 1041~1048
- Rask L, Andréasson E, Ekbom B, Eriksson S, Pontoppidan B, Meijer J (2000). Myrosinase: gene family evolution and herbivore defense in Brassicaceae. *Plant Mol Biol*, 42: 93~113
- Ratzka A, Vogel H, Kliebenstein DJ, Mitchell-Olds T, Kroymann J (2002). Disarming the mustard oil bomb. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99: 11223~11228
- Reymond P, Bodenhausen N, Van Poecke RM, Krishnamurthy V, Dicke M, Farmer EE (2004). A conserved transcript pattern in response to a specialist and a generalist herbivore. *Plant Cell*, 16 (11): 3132~3147
- Smolinska U, Morra MJ, Knudsen GR, Brown PD (1997). Toxicity of glucosinolate degradation products from *Brassica napus* seed meal toward *Aphanomyces euteiches* f. sp. pisi. *Phytopathology*, 87: 77~82
- Tierens KF, Thomma BP, Brouwer M, Schmidt J, Kistner K, Porzel A, Mauch-Mani B, Cammue BP, Broekaert WF (2001). Study of the role of antimicrobial glucosinolate-derived isothiocyanates in resistance of *Arabidopsis* to microbial pathogens. *Plant Physiol*, 125: 1688~1699
- Thangstad OP, Bones AM, Holtan S, Moen L, Rossiter JT (2001). Microautoradiographic localisation of a glucosinolate precursor to specific cells in *Brassica napus* L. embryos indicates a separate transport pathway into myrosin cells. *Planta*, 213: 207~213
- Visvalingam S, Honsi TG, Bones AM (1998). Sulphate and micro-nutrients can modulate the expression levels of myrosinases in *Sinapis alba* plants. *Physiol Plant*, 104: 30~37
- Wadleigh RW, Yu SJ (1988). Metabolism of an organothiocyanate allelochemical by glutathione transferase in three lepidopterous insects. *J Econ Entomol*, 81: 776~780
- Wentzell AM, Kliebenstein DJ (2008). Genotype, age, tissue, and environment regulate the structural outcome of glucosinolate activation. *Plant Physiol*, 147 (1): 415~428
- Wittstock U, Agerbirk N, Stauber EJ, Olsen CE, Hippler M, Mitchell-Olds T, Gershenzon J, Vogel H (2004). Successful herbivore attack due to metabolic diversion of a plant chemical defense. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101: 4859~4864
- Zeng RS, Mallik AU, Setliff E (2003). Growth stimulation of ectomycorrhizal fungi by root exudates of Brassicaceae plants: role of degraded compounds of indole glucosinolates. *J Chem Ecol*, 29: 1337~1355