

植物體內 Octadecanoids 與受傷誘導 反應之關係

指導老師：王淑珍

演講者：陳建谷

時間：2003 年 4 月 10 日

地點：農藝館 112 室

前言

植物面對外在嚙食、傷害時，會經由一連串的作用引發自我保護反應。其反應系統分為直接、間接的防衛（**direct or indirect defense**）及耐受性（**tolerance**）等保護機制。實驗結果顯示，植物在遭受動物嚙食後，其防衛反應僅止於受傷部位的細胞。然而，若是受到病蟲害的襲擊，則不僅受傷部位有反應，另外亦會快速地產生系統性訊息以傳到整株植物，甚至可以藉由特殊有機物質的蒸散，來警告族群內的其他植株。故植物經受傷所誘導的保護反應提供其在最短時間內做最有效的防禦。

Octadecanoids 是一類由十八個碳所組成的脂肪酸。Octadecanoid 途徑為 lipase 將細胞膜上的 phospholipids 分解成亞麻油酸（linolenic acid），並經一連串的反应可得到諸如 12-oxophytodienoic（OPDA），jasmonate（JA），methyl jasmonate（MJ）等衍生物，這些分子物質都和植物防禦反應相關。這些物質可能本身就是毒素，或是不利於嚙食者的消化或營養吸收。將植物受傷處產生的訊息傳遞至植物體其他部位，並引發防禦性相關基因表現的過程中，有許多不同的機制參與其中，然而其相互間之交互作用仍不清楚，但已知 octadecanoids 訊息傳導途徑為一重要的調控機制。本篇即主要介紹受傷的植物體中 octadecanoids 和其所誘導之防禦反應的關係。

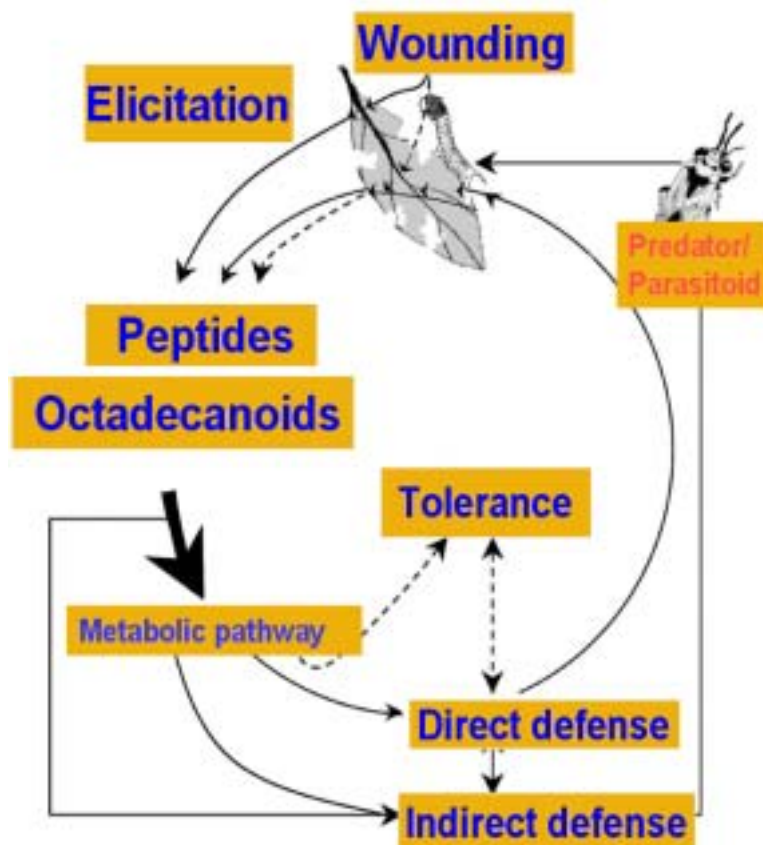


Figure 1. 受傷誘導防禦機制示意圖

受傷訊息

草食性動物的嚙食和機械性傷害，會誘使植物產生系統性的受傷反應。如此一來可迅速的將植株受傷的訊息傳遍整個植株。系統性反應需要有電子的（**Electrical**）、液壓的（**Hydraulic**）、化學的（**Chemical**）傳導訊息。

以蕃茄為例，不論是在韌皮部亦或是木質部的傳輸的受傷訊息都可以誘導蛋白質酶抑制劑（**PI**，**Proteinase Inhibitors**）的產生。當遭受嚴重傷害，因為有機物質的揮發向上散發後，會讓韌皮部失去功能，然而木質部可以保持完好如初的功能狀態，故推測這些訊息傳導皆是由木質部來傳送，讓植物能保有系統性的受傷反應。若僅是一般的傷害，情況則大為不同，訊息從受傷部位產生後，在相對末梢的器官仍可以在韌皮部保持完整的情況下，讓蛋白質酶抑制劑的產生。此外，受傷後產生的電子的傳導訊息（**Electrical signal**）可誘導 **PIN2**（**PI II**）基因表現。由 **ABA** 合成缺乏的蕃茄突變種無法產生這樣的電子的傳導訊息，我們很顯然地可以瞭解要有這樣的反應產生，需要完整的 **ABA** 存在植物體內。

植物在受傷後很快地會產生 **systemin** 與 **oligogalacturonides** 誘導產生活化氧族（**Reactive oxygen species**，**ROS**），例如：**super oxide anion**、**H₂O₂** 等。另外 **oligogalacturonides** 和真菌感染後產生的 **chitosan** 亦會促使合成活氧化族和受傷誘導的蛋白質酶抑制劑的基因表現。然而，**oligogalacturonides** 的在植物體中傳導性受到限制，推測極可能不是當一個最初的訊息傳導分子

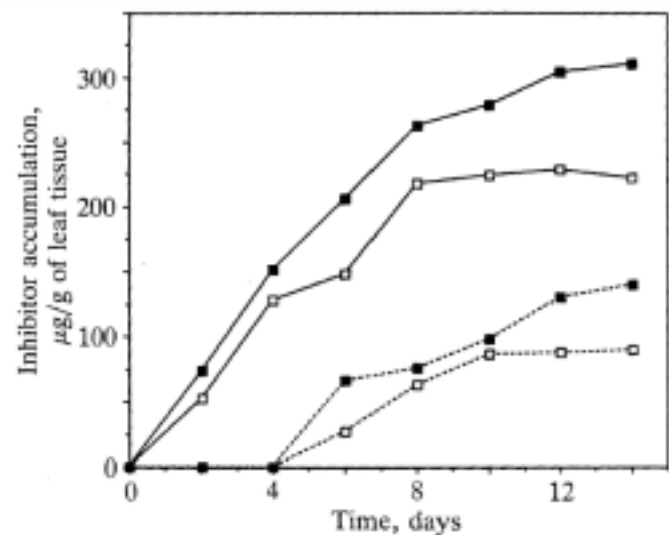
Systemin 是目前研究最清楚的受傷傳導訊息之一。**Systemin** 是由 **prosystemin** 而來，可能在韌皮部內傳送。**Systemin** 最終是誘導蛋白質酶抑制劑（**Proteinase Inhibitors**，**PIs**）的產生。蛋白質酶抑制劑是一種存在植物體中的蛋白質，通常在植物受到傷害後會誘導表現，會影響嚙食者消化與吸收作用，故對植物體自身防禦機制極為重要。目前在豆科植物、蕃茄或是其他植物體中皆可發現其存在。這些蛋白質酶抑制劑阻擋了嚙食者體內蛋白質水解酵素，包括胰蛋白酶（**trypsin**），胰凝乳蛋白酶（糜蛋白酶，**chymotrypsin**）的作用。當蛋白質酶抑制劑進入嚙食者的消化系統後，其會緊緊地和蛋白質水解酵素的活化區域結合。1989 年 **Johnson** 等人發現蛋白質酶抑制劑大量表現之轉殖菸草受到較少的蟲害，證實蛋白質酶抑制劑在植物體內的防衛性作用。

Prosystemin 反義基因 (antisense prosystemin cDNA) 的轉殖蕃茄，在受傷後無法表現 PI I 和 II，反而更容易受到 *Manduca sexta* 幼蟲的攻擊，這樣的結果確定了在受傷時，prosystemin 和蛋白質酶抑制劑的產生有關係。如 Figure 2.

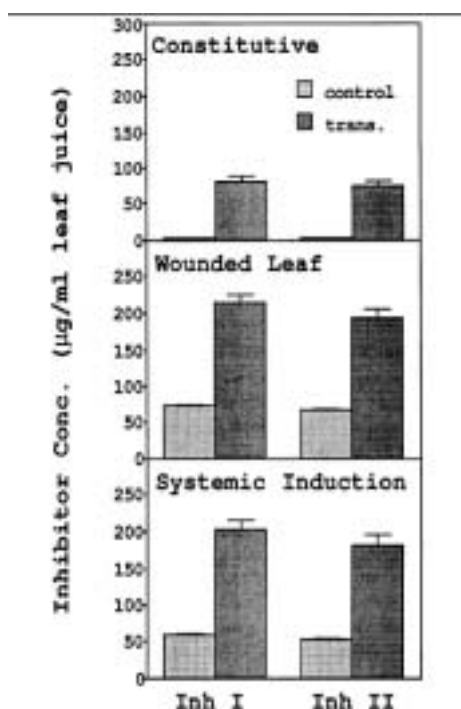
Figure 2. 在野生型與反義基因的轉殖植株中，予以 *Manduca sexta* 餵食處理，讓葉片產生傷害後，測定兩種蛋白質酶抑制劑的累積量。

■ wild type; □ antisense plant
— Inhibitor I; ···· Inhibitor II

(Martha O.C. et al, 1993)



轉殖的植株在過量表現 prosystemin 基因後，接著會有連續活化受傷反應和 PI 轉錄的表現。如 Figure 3.



Control: wild type
trans.: 35S:prosys

Figure 3. 轉殖植株與野生型的葉片內之蛋白質酶抑制劑的含量比較。

(McGurl B. et al., 1994)

細胞膜上的 systemin 受器和 systemin 結合後，出現一種複雜的受傷傳導訊息，這樣的訊息包括刺激 lipase 以活化亞麻油酸 linolenic acid (LA) 作為 octadecanoid pathway 剛開始之受質。

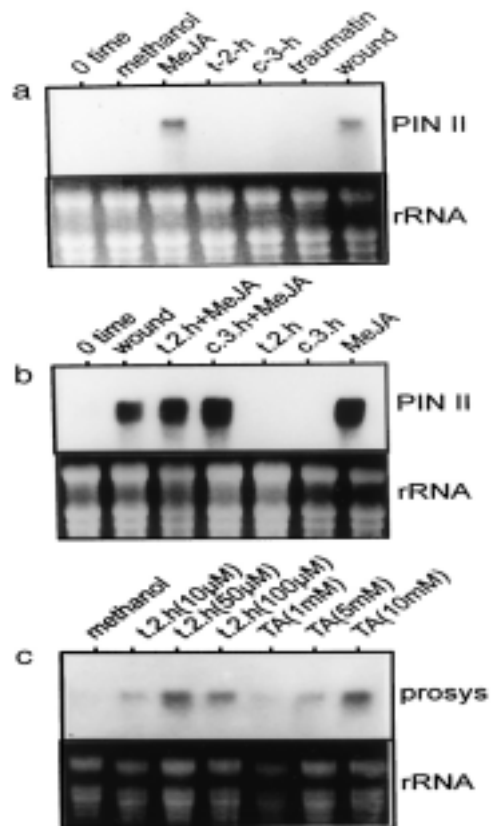
Octadecanoids

植物體在面對微生物病菌、嚙食、紫外線造成的傷害、衰老等現象時，會啟動特定的防禦機制，而 octadecanoids 即是參與這些反應的重要化合物。整個 octadecanoid 生合成的途徑，在八零年代早期由 Vick 和 Zimmerman 所闡述。由於植物體中 octadecanoids 用來對付抵抗病蟲害的防禦功能日顯重要，相對地其衍生物之生合成途徑也經由許多科學家的努力，逐漸透明化，目前已知三種在 octadecanoid pathway 上重要酵素，分別為：**lipoxygenase (LOX)**，**hydroperoxide lyase (HPL)**，**JA carboxyl methyltransferase (JMT)**。其在面病蟲害訊息傳導之途徑有重要之功能

LOX 蛋白質約 94~104kDa，在植物生長發育、成熟終至老化整個歷程上是一種極為重要的酵素。LOX 加速催化亞麻油酸的氧化作用，最後三次的 β -oxidation 產生 JA。當植物面臨病原菌攻擊或是受傷時，LOX 會負責整個新陳代謝防衛反應之傳達，進而讓訊息分子諸如 OPDA 和 JA 產生。

LOXs 在許多植物為可溶性，是位於細胞質的一種酵素；但，仍可在基質、脂體、液泡、粒線體中發現 LOXs 的存在。研究結果顯示阿拉伯芥中，位在葉綠體基質的很顯然地和受傷誘導之 JA 有關。

13-hydroperoxy-9,11,15-octadecatrienoic acid (13(S)-HPOT) 是 LOX 催化所得的產物之一，其為許多植物受到蟲害侵襲後防禦反應酵素的重要受質，這些酵素包括了 HPL。HPL 會將 13(S)-HPOT 切成 C₆-aldehydes 和 C₁₂-oxoacids。C₆-aldehydes 被視為讓植株受傷處免於受到微生物感染之物質，並且做為面臨嚙食的一種直接防禦。C₁₂-oxoacids 的產物，包括 traumatin (癒傷素)，traumatic acid 其可則做為療傷之物質，有效地刺激細胞分裂。近來更推測 C₆-aldehydes 是當作直接誘導防禦相關基因表現，還有做為以 systemin 為基本之訊息傳送分子 (Figure 5.)，甚至是植物彼此間的訊息物質 (Figure 6.)。



trans-2 hexenal (t-2-h)

cis-3-hexenal (c-3-h),

traumatin, traumatic

Figure 5. HPL 催化所得產物能否誘導 PIN II (a and b) 或是 prosystemin (c) 的基因表現之分析。

(Sivasankar S et al., 2000)

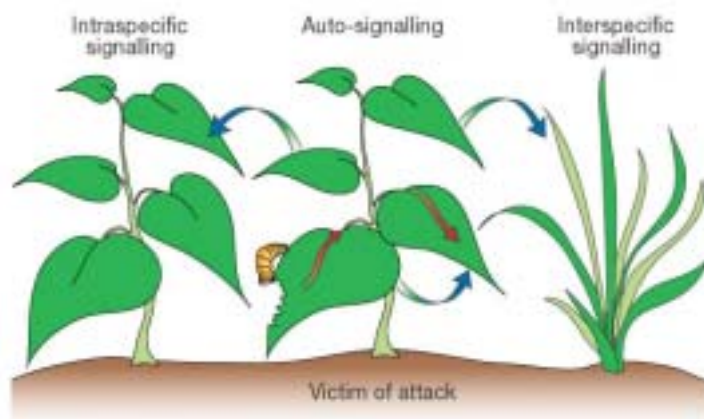


Figure 6. 蟲害危害訊息之傳遞。有四類：傳導訊息給健康的同類、或者是傳給不同種之植物、自體給本身的傳送可藉由體內、體外兩方式傳送。

(Farmer EE. 2001)

利用 HPL 基因缺失的马铃薯突变种所得的实验结果，发现这样的缺失会导致蚜虫增多，明显地可以瞭解在沒有 HPL 危害程度。(Table 1.)

Table 1. *Myzus persicae* 在野生型與 HPL 缺失的轉殖株中的表現之比較

	Aphid fecundity, nymphs/day [*]	Nymphal development, days [†]	Population increase [‡]	
			Nymphs/ plant	Adults/ plant
WT	3.2 ± 0.2 a	6.5 ± 0.1 a	35.3 ± 3.5 a	2.2 ± 0.3 a
H57	3.8 ± 0.1 b	6.2 ± 0.1 b	66.5 ± 6.5 b	3.3 ± 0.4 b
H4	3.9 ± 0.1 b	5.9 ± 0.1 c	61.8 ± 5.9 b	4.0 ± 0.3 b
H1	4.2 ± 0.2 b	6.1 ± 0.1 b	61.9 ± 5.9 b	3.3 ± 0.4 b

(Vancanneyt G et al., 2001)

13(S)-HPOT 亦會被 allene oxide synthase (AOS) 及 allene oxide cyclase (AOC) 作用形成 12-oxo-phytodienoic acid (OPDA)。OPDA 經由一次的還原反應，還有三次的 β -oxidation 形成 JA。OPDA 和 JA 一樣皆具有活化調節防禦基因的表現與誘導抗性的功能。大多在 JA 生合成途徑上的酵素都會因受傷而活化，而在外加 JA 後有部分酵素（例如：LOX, AOS, 12-OPDA reductase）會受刺激而增加，導致高濃度的 JA 存在於受損植物中。若在馬鈴薯中過量表現亞麻的 AOS，則會持續的增加 JA 的濃度。

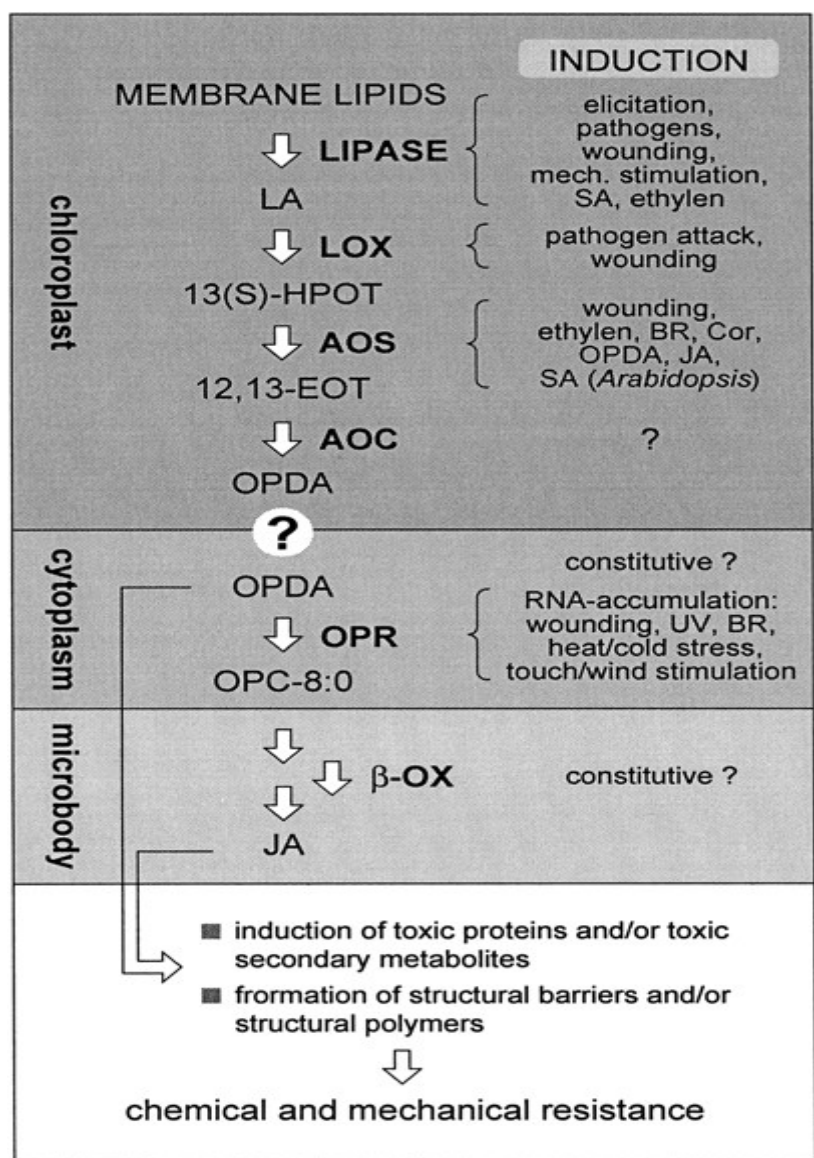


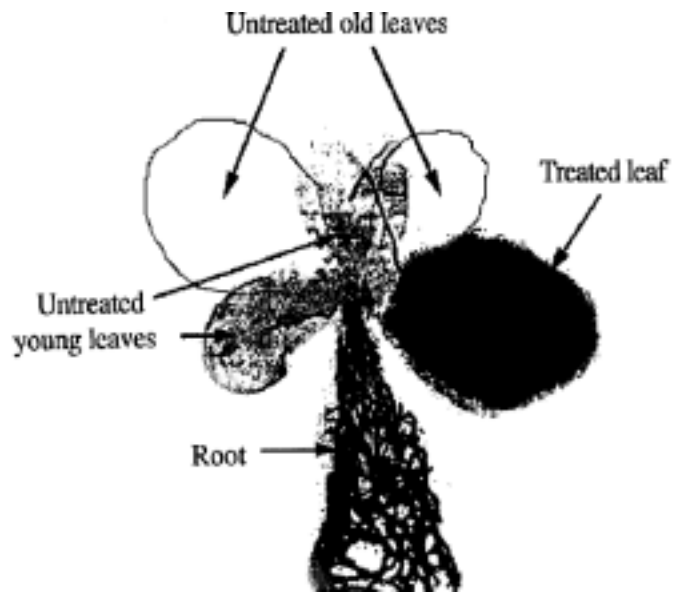
Figure 7. JA 生合成的途徑。在細胞內不同的部分生成不同的前趨物。

(Schaller F. 2001)

傳送

雖然大多數的 octadecanoids 和系統性受傷反應有密切的關係，但是本身是否做為一個傳導訊息則有待證明。利用 ^{14}C 做為 JA 在 *Nicotiana sylvestris* 的葉片標示，在葉片受傷後，根内生 JA 的濃度增加。JA 應是從受傷葉片送到這些植物的根部還有沒受傷的幼葉，來保護整個植株。(如 Figure 8.)

Figure 8. 有 ^{14}C JA 標記的植株在處理後三小時的放射自動顯影。放射性物質傳送到沒有處理的根與幼葉，但老葉則沒有。



(Zhang ZP et al., 1997)

JA 經過 **JA carboxyl methyltransferase (JMT)** 的轉換形成 methyl jasmonate (MeJA, MJ)，其亦為植物防禦機制之訊息分子。JMT 大量表現亦會提高植物對真菌之抗性，來抵禦外來的侵襲。(Figure 9.)

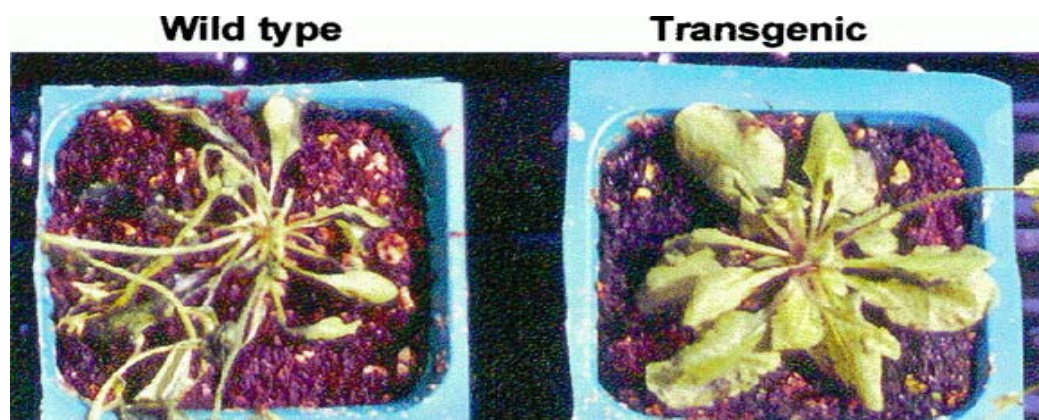


Figure 9. *JMT* 持續表現突變種 (右) 對抗真菌類 *B. cinerea* 的感染。左邊為野生型。
(Seo HS et al., 2001)

討論

當植物體受到傷害後，會在葉片形成 **prosystemin**，**prosystemin** 經過蛋白質水解的過程產生 **systemin**，而 **systemin** 從受傷細胞經由 **apoplastic pathway**，進入韌皮部，到達目標細胞（和防禦相關的）。目標細胞上的 **systemin** 受器和 **systemin** 結合刺激了細胞膜上 **lipase**，並經由 **octadecanoid pathway** 形成 **JA**。**JA** 會在細胞內產生特定的訊號途徑傳送，以活化和植株之某些特殊防禦機制相關基因的表現。

Octadecanoid pathway 上的 **linolenic acid (LA)** 也可能因其他酵素如 **HPL** 的催化產生有機揮發物質 (**Volatiles organic compounds**) 或癒傷素 (**Traumatins**)。有機揮發物質通常是含有六個碳的醛類 (**-al**) 或醇類 (**-ol**)，植物體產生這些氣體散發到空氣中，可以做為警告周遭植株有面臨蟲害危機的可能，也可以誘使嚙食者的天敵或是寄生者前來對這些昆蟲予以捕食、寄生。癒傷素是十二個碳的物質，因為可以刺激細胞分裂，視為植物體自己療傷的作用。諸如 **JA**、有機蒸汽化合物和癒傷素都是經由 **octadecanoid pathway** 而得，故知這途徑在植物防禦機制及反應上，有絕對重要的功能及存在的必要性。目前最大挑戰就是設計方法來確認接收初級逆境訊息的基因。在蕃茄中，初級逆境訊息藉由 訊號分子系統性地傳遞，但在阿拉伯芥中，目前尚未瞭解是由哪種物質用來傳遞逆境訊息，這將是未來的研究目標。**JA** 生合成的途徑時至今日已經頗為清楚，未來的工作著重在調控其合成、釐清何種物質的存在會誘導 **octadecanoid pathway** 上的酵素繼續下一步反應，終至 **JA** 形成，讓其去促使有毒的蛋白質或是二次代謝物產生，做為化學性的防禦物質，或者是形成結構上的障礙做為機械性防禦。

參考文獻

- Kessler A, Baldwin IT** (2002) Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. *Annu Rev Plant Biol* 53: 299-328
- Bate NJ, Rothstein SJ.** 1998. C-6-volatiles derived from the lipoxygenase pathway induce a subset of defense-related genes. *Plant J.* 16:561–69
- Creelman RA, Mullet JE.** 1997. Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48:355–81
- Farmer EE.** 2001. Surface-to-air signals. *Nature* 411:854–56
- Harms K, Atzorn R, Brash A, Kuhn H, Wasternack C, et al.**1995. Expression of a flax allene oxide synthase cDNA leads to increased endogenous jasmonic acid (JA) levels in transgenic potato plants but not to a corresponding activation of JA-responding genes. *Plant Cell*
- Karban R, Baxter KJ.** 2001. Induced resistance in wild tobacco with clipped sagebrush neighbors: the role of herbivore behavior. *J. Insect Behav.* 14:147–56
- Leon J, Rojo E, Sanchez-Serrano JJ.** 2001. Wound signaling in plants. *J. Exp. Bot.* 52:1–9
- Ryan CA.** 2000. The systemin signaling pathway: differential activation of plant defensive genes. *Biochim. Biophys. Acta* 1477:112–21
- Schaller F.** 2001. Enzymes of the biosynthesis of octadecanoid-derived signaling molecules. *J. Exp. Bot.* 52:11–23
- Seo HS, Song JT, Cheong JJ, Lee YH, Lee YW, et al.**2001. Jasmonic acid carboxyl methyltransferase: a key enzyme for jasmonate-regulated plant responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:4788–93
- Sivasankar S, Sheldrick B, Rothstein SJ.** 2000. Expression of allene oxide synthase determines defense gene activation in tomato. *Plant Physiol.* 122:1335–42
- Van Breusegem F, Vranova E, Dat JF, Inze D.** 2001. The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Sci.* 161:405–14
- Vancanneyt G, Sanz C, Farmaki T, Paneque M, Ortego F, et al.**2001. Hydroperoxide lyase depletion in transgenic potato plants leads to an increase in aphid performance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:8139–44
- Zhang ZP, Baldwin IT.** 1997. Transport of 2-C-14 jasmonic acid from leaves to roots mimics wound-induced changes in endogenous jasmonic acid pools in *Nicotiana sylvestris*. *Planta* 203:436–41
- Russell J, Javier N, Cynheung A, Clarence R.** 1989 Expression of proteinase inhibitor I and II in transgenic tobacco plant: Effects on natural defense against *Manduca sexta* larve. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:9871-9875