

基于转录组分析外源 H₂S 对拟南芥芥子油苷生物合成的影响

祁红学¹, 吴丽华², 李利红^{1*} (1.晋中学院化学化工系, 山西 榆次 030619; 2.太原师范学院生物系, 山西 榆次 030619)

摘要: 外源硫化氢(H₂S)喷施拟南芥幼苗后,利用高通量测序技术对植株地上组织进行转录组测序,分析差异表达基因的生物功能 and 代谢通路,探究 H₂S 对芥子油苷生物合成的调控作用.结果表明,100μmol/L H₂S 处理 3d 后,拟南芥植株共有 3160 个基因差异表达,涉及细胞代谢、结合、催化、转录调控、物质转运、信号转导等过程.通过 KEGG 富集分析发现,差异表达基因在多个初生代谢和次生代谢通路显著富集,其中芥子油苷生物合成途径中 9 个基因差异表达(8 个上调和 1 个下调),均为参与脂肪族芥子油苷合成的关键酶基因,而吲哚族芥子油苷合成相关基因表达无明显改变.同时,硫代谢、半胱氨酸和甲硫氨酸代谢、谷胱甘肽代谢途径中多个基因上调表达,说明外源 H₂S 可增强体内硫相关代谢活动,进而促进植物体内脂肪族芥子油苷的合成.转录因子差异表达分析显示,正向调控脂肪族芥子油苷合成的 MYB29 基因表达上调,而抑制其合成的 MYB51 基因表达水平降低,说明 H₂S 可通过调控 MYB 转录因子的表达来调节植物体内脂肪族芥子油苷的合成.对芥子油苷生物合成途径中部分关键酶基因及相关 MYB 转录因子表达模式进行实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)分析,发现其与测序结果一致,证实了转录组测序结果的可靠性,同时也进一步证明了 H₂S 对植物体内芥子油苷生物合成的调控作用.

关键词: H₂S; 拟南芥; 转录组; 芥子油苷; 差异基因

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2023)02-0957-07

Effect of H₂S on glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* based on transcriptomics. QI Hong-xue¹, WU Li-hua², LI Li-hong^{1*} (1.Department of Chemistry and Chemical Engineering, Jinzhong University, Yuci 030619, China; 2.Department of Biology, Taiyuan Normal University, Yuci 030619, China). *China Environmental Science*, 2023,43(2): 957~963

Abstract: Glucosinolates are a group of nitrogen- and sulfur-containing secondary metabolites in cruciferous plants, which are closely related to environmental factors. In this study, transcriptome sequencing of *Arabidopsis* treated with hydrogen sulfide (H₂S) was performed, and the biological functions and metabolic pathways of differentially expressed genes were analyzed to explore the regulatory effect of H₂S on glucosinolate biosynthesis in plants. The results showed that a total of 3160 genes were differentially expressed in *Arabidopsis* seedlings sprayed with 100μmol/L H₂S for 3 days, including genes involved in metabolism, binding, catalysis, transcription regulation, transport and signal transduction. KEGG enrichment analysis showed that differentially expressed genes were significantly enriched in multiple primary and secondary metabolism. After exogenous H₂S treatment, nine genes (8up-regulated and 1down-regulated) involved in aliphatic glucosinolates biosynthesis were identified to be differentially expressed, but genes associated with indole glucosinolates biosynthesis showed no obvious change. Meantime, several genes that participated in sulfur metabolism, cysteine and methionine metabolism, and glutathione metabolism were up-regulated, suggesting that exogenous H₂S can enhance sulfur-related metabolic pathways, which would promote the aliphatic glucosinolates biosynthesis in plants. Transcription factor analysis showed that MYB29 was up-regulated, which could positively regulate the aliphatic glucosinolates biosynthesis. And MYB51, which would inhibit the aliphatic glucosinolates biosynthesis, was down-regulated. These results suggested that H₂S could regulate the aliphatic glucosinolates biosynthesis in plants through MYB transcription factors. The qRT-PCR analysis of several genes involved in the glucosinolate biosynthesis verified the accuracy of transcriptomic sequencing, which further proved that H₂S participated in the regulation of glucosinolate biosynthesis in plants.

Key words: hydrogen sulfide; *Arabidopsis thaliana*; transcriptome; glucosinolate; differentially expressed gene

硫化氢(H₂S)是继一氧化氮(NO)和一氧化碳(CO)之后的第三种气体信号分子,不仅参与调控植物生长发育^[1-2],还在植物抵抗逆境胁迫过程中发挥重要作用^[3].Müller 等^[4]研究表明,H₂S 熏蒸有效增加拟南芥植株体内谷胱甘肽(GSH)和半胱氨酸(Cys)含量,说明外源 H₂S 促进植物体内的硫代谢过程,从而影响细胞内的氧化还原状态.Chen 等^[5]发现外源 H₂S 参与调控菠菜体内可溶性糖、多胺、脯氨酸和

甜菜碱的生物合成,增加叶片渗透势和相对含水量,提高菠菜幼苗的耐旱性. Shi 等^[6]研究发现,低浓度 H₂S 诱导拟南芥体内氨基酸、有机酸、糖及一些次级代谢产物含量增加,病程相关基因表达水平提高,

收稿日期: 2022-07-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21307087);山西省应用基础研究计划项目(201901D111299,201901D111301)

* 责任作者, 副教授, lihongli19821129@163.com

植株抵抗生物胁迫的能力增强,可见,H₂S 参与调节植物体内多个生理代谢过程,从而提高植物对环境的适应性.

芥子油苷是十字花科植物中一类重要的含氮、含硫的植物次生代谢物质,通常由 β-D 葡萄糖连接磺酸盐醛基团和来源于氨基酸的侧链组成^[7-8].根据侧链氨基酸来源的不同,芥子油苷通常分为脂肪族、芳香族和吲哚族三大类.拟南芥中的芥子油苷以脂肪族和吲哚族为主^[9].芥子油苷及其降解产物具有多种不同的生物活性,参与植物的防卫反应,还具有抗癌和抗氧化活性等^[10-11].已有研究表明,施加硫肥诱导油菜营养器官和花中芥子油苷含量均显著升高,而持续缺硫导致拟南芥幼苗芥子油苷含量明显下降,说明环境中硫含量直接影响芥子油苷的合成^[12-13].此外,当温度、光照、水分等环境因子发生改变,或者植物受到昆虫取食、病原菌侵害、机械损伤、盐胁迫等时,植物会通过调节体内芥子油苷的合成来增强其抗逆性,但是有关这些生物和非生物因素对芥子油苷代谢的调控机制并不清楚^[14-15]. H₂S 是植物体内重要的信号分子,也是硫代谢途径中非常重要的中间产物,环境中的 H₂S 可能会影响植物体内的硫代谢过程,并参与调节芥子油苷的合成,进而在植物逆境胁迫应答过程中发挥重要作用.

H₂S 参与调控植物生理活动是涉及许多基因的复杂过程,利用高通量转录组测序能够全面、快速地分析 H₂S 对植物的影响及其分子机理,还能进一步挖掘 H₂S 在植物体中的生理功能.本研究以拟南芥为试材,外源喷施 H₂S 后,采用高通量测序技术对其地上组织进行转录组测序分析,研究植物响应 H₂S 的相关代谢途径,阐明 H₂S 对植物芥子油苷合成的调控机理,从而为植物抗逆生产实践提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 植株培养

拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)Columbia 生态型(Col-0).4℃春化 2d 后播种于营养土中,培养温度 (22±1)℃,光/暗周期为 16h/8h,光照强度 140μmol/m²/s,相对湿度约 70%.

1.2 H₂S 处理

试验以 NaHS 作为外源 H₂S 供体.取 4 周龄拟南芥植株,根据文献资料及前期预实验的结果^[5],我们选用 50, 100, 200μmol/L H₂S 喷施拟南芥叶片.每隔 3h 喷 1 次,每天 8:00~20:00 共喷施 4 次.设置喷施等量蒸馏水的拟南芥植株为对照.每处理 3 次重复,每重复 20 株拟南芥.在 H₂S 喷施 3d 后,分别取各处理组拟南芥植株地上部分用于生理指标、转录组测序和 qRT-PCR 分析.

1.3 生理指标检测

过氧化氢(H₂O₂)含量测定采用分光光度法,丙二醛(MDA)含量测定用硫代巴比妥酸(TBA)反应法,过氧化氢酶(CAT)活性测定用紫外吸收法,谷胱甘肽硫转移酶(GST)活性采用 1-氯-2,4-二硝基苯(CDNB)比色法,谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)活性测定采用 5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)直接法.

1.4 转录组测序

100μmol/L H₂S 处理 3d 后,取对照组和 H₂S 处理组拟南芥植株地上组织,用 Trizol 法提取总 RNA,利用磁珠富集 mRNA,经 RT-PCR 扩增构建 cDNA 文库.库检合格后,用 Illumina 平台进行测序. RNA 提取、建库和转录组测序均委托北京百迈克生物科技有限公司完成.

计算 H₂S 处理组与对照组信号比值(Fold Change, FC),并用 log₂FC>1 为标准筛选差异表达基因.运用 ClusterProfiler 软件对差异表达基因进行 GO 功能注释分析,根据 KEGG 数据库对差异表达基因进行 KEGG 通路富集分析.

1.5 qRT-PCR 检测

表 1 qRT-PCR 引物序列
Table 1 Primer sequences for qRT-PCR

基因名称	基因 ID	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')
<i>CYP79F1</i>	At1g16410	TTTCTTTCTCTGTTATCTTC	TCACCGTTTAGTACTCTAGT
<i>CYP83A1</i>	At4g13770	GATTCCTCTCCTTATCCCTC	TAAACTCGTAGTCCGTGCT
<i>SOT17</i>	At1g18590	TCACGGGTGGCTACAACCTC	TTGCGATTGCGAAAGTTAAG
<i>MYB29</i>	At5g07690	GTTTAGTAACAACGAAGGGG	GAAATCGGAATGGTCAAGGA
<i>MYB51</i>	At1g18570	CTACAAGTGTTCCGTTGACTCTGAA	ACGAAATATCGCAGTACATTAGAGGA
<i>Actin2</i>	At3g18780	CCAGTGGTCGTACAACCGGTAT	ACCTCTGTAGATTGGCACAGT

利用转录组测序提取的总 RNA, PrimeScriptTM RT Master Mix (Takara) 试剂盒合成 cDNA 作为模板, 使用 ABI 7500Real-Time PCR System 对目的基因进行扩增, 反应体系参照 SYBR Premix Ex TaqTM II (Takara) 试剂盒的方法, 反应程序: 94℃, 30s; 94℃, 5s, 60℃, 30s, 40 个循环。以 *Actin2* 作为内参基因, 用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法计算相对表达量。引物序列使用见表 1。

2 结果与分析

2.1 外源 H₂S 处理后拟南芥植株抗氧化能力分析

由图 1 可见, 50 μmol/L H₂S 处理后, 拟南芥植株 H₂O₂ 和 MDA 含量无明显改变, 抗氧化酶 CAT 活性和抗氧化物 GSH 含量增加, 而 GST 和 GPX 活性与对照组相比无显著变化。100 μmol/L H₂S 处理诱导拟南芥植株 H₂O₂ 含量增加, 同时 CAT 活性显著升

高, GSH 含量及 GST 和 GPX 活性提高, MDA 含量与对照组相比显著降低。200 μmol/L H₂S 处理后, 拟南芥植株体内 H₂O₂ 含量、CAT 和 GST 活性无明显变化, GSH 含量和 GPX 活性、MDA 含量显著增加。

H₂S 参与调节植物的生长、发育、成熟和衰老过程, 还可从不同水平增强植物应答各种非生物胁迫和生物胁迫的能力^[16-17]。本研究, H₂S 处理后拟南芥植株抗氧化酶 CAT 活性升高, GSH 含量、GST 和 GPX 活性提高, 有效清除活性氧 H₂O₂, 说明适宜浓度 H₂S 可提高植株抗氧化能力, 尤其是提高含硫抗氧化物及其相关防御酶水平, 增强植物对环境胁迫的耐受性。

结果表明, 100 μmol/L H₂S 处理引发细胞的生理防御。因此, 我们选用该处理进行转录组测序分析, 研究 H₂S 对植物的影响及其分子机理。

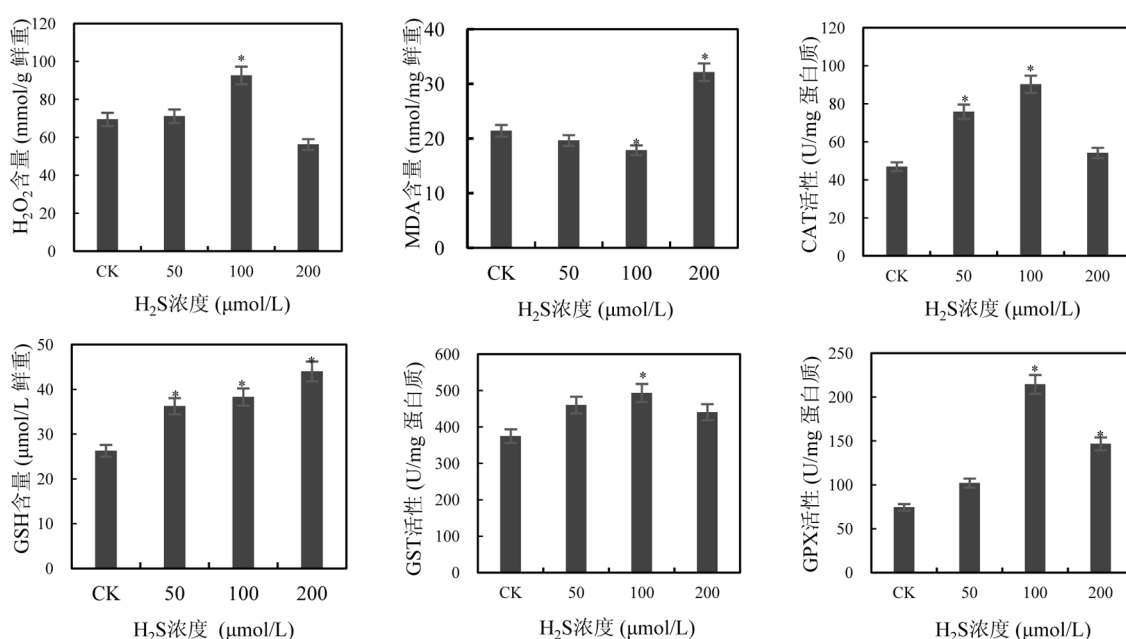


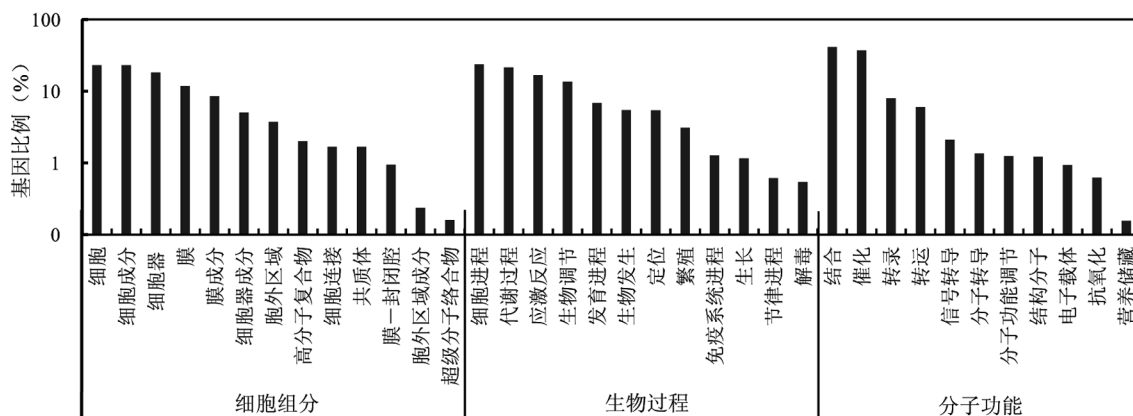
图 1 H₂S 处理对拟南芥植株中抗氧化能力的影响

Fig.1 Effect of H₂S on the antioxidant ability in *Arabidopsis thaliana*

2.2 外源 H₂S 处理后拟南芥差异表达基因及 GO 功能注释分析

100 μmol/L H₂S 处理 3d 后, 在拟南芥地上组织中共发现差异表达基因 (DEG) 3160 个, 其中上调表达基因 1500 个, 下调表达基因 1660 个。对差异表达基因进行 GO 功能注释, 将这些基因分为 36 类, 归纳为细胞组分 (Cellular Component)、生物过程 (Biological Process) 与分子功能 (Molecular

Function) 三大部分 (图 2)。在细胞组分中, 细胞、细胞成分、细胞器、膜组分富集差异基因较多; 在生物过程中, 细胞进程、代谢过程、应激反应、生物调节过程富集差异基因较多; 在分子功能中, 结合、催化、转录、转运功能组富集差异基因较多。由此可见, H₂S 处理诱导拟南芥多个基因差异表达, 涉及细胞代谢、结合、催化、转录调控、物质转运、信号转导等过程。

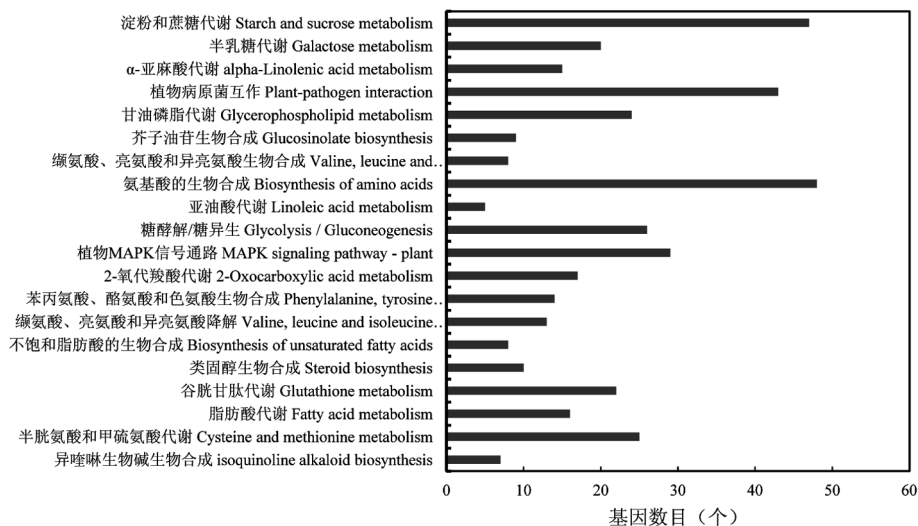
图2 H₂S 处理后拟南芥差异表达基因 GO 功能注释Fig.2 Functional annotation of differentially expressed genes in H₂S-treated *Arabidopsis thaliana*

2.3 外源 H₂S 处理后拟南芥差异表达基因的 KEGG 通路富集分析

对 H₂S 诱导的差异表达基因进行 KEGG 通路注释,发现共有 1134 个差异基因注释到 123 个通路,分布在细胞过程、环境信息处理、遗传信息处理、代谢和有机系统 5 大生物过程中。

通过 KEGG 富集分析发现,在差异表达基因显著富集的前 20 个通路中(图 3),有 18 个为代谢通路,包括谷胱甘肽代谢、2-氧代羧酸代谢、氨基酸代谢(半

胱氨酸和甲硫氨酸代谢、苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解、氨基酸的生物合成、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸生物合成)、脂质代谢(甘油磷脂代谢、脂肪酸代谢、 α -亚麻酸代谢、类固醇生物合成、不饱和脂肪酸的生物合成、亚油酸代谢)、糖类代谢(淀粉和蔗糖代谢、糖酵解/糖异生、半乳糖代谢)、次级代谢产物合成(芥子油苷生物合成和异喹啉生物碱生物合成),说明 H₂S 参与调控植物的多个初生代谢和次生代谢过程。

图3 H₂S 处理后拟南芥差异表达基因 KEGG 富集通路Fig.3 KEGG enrichment pathway of differentially expressed genes in H₂S-treated *Arabidopsis thaliana*

外源 H₂S 处理后,拟南芥转录组差异表达基因显著富集于氨基酸、糖类和脂质代谢途径的多个通路中.氨基酸可用于蛋白质合成,还能作为一些次生代谢产物合成的前体,促进细胞内的次生代谢产物的积累^[18].糖类不仅可为植物的生长发育提供能量,

还可作为信号分子参与调节基因和蛋白的表达、细胞周期、初生和次生代谢及生长和发育进程等^[19-20].脂质作为主要的生物分子,在植物中发挥着结构成分、能量存储、信号分子和表面覆盖物等重要作用^[21].因此,H₂S 信号分子参与植物体内氨基酸、糖

类和脂质的代谢调控,进而影响植物的生长发育及逆境胁迫应答过程.

2.4 外源 H₂S 处理后拟南芥芥子油苷生物合成及相关代谢通路分析

2.4.1 芥子油苷生物合成途径基因表达分析 芥子油苷是一种广泛存在于十字花科植物中的次生代谢产物. H₂S 处理后,拟南芥植株芥子油苷生物合成途径中共 9 个基因显著差异表达,上调表达基因 8 个,下调表达基因 1 个.与氨基酸侧链延长有关的氨基酸氨基转移酶 (branched-chain-amino-acid aminotransferase, *BCAT4* 和 *BCAT6*)、异丙基苹果酸脱氢酶(isopropylmalate dehydrogenase, *IMD1*)、异丙基苹果酸脱氢酶异构酶(isopropylmalate isomerase, *IPMI1* 和 *IPMI2*)基因上调表达,*BCAT2* 下调表达.参与芥子油苷核心结构形成的细胞色素 P450 单加氧酶(cytochrome P450, *CYP79F1* 和 *CYP83A1*)、磺基转移酶(sulfotransferase 17, *SOT17*)基因表达上调.

进一步研究发现, *CYP79F1*、*CYP83A1*、*BCAT4/6*、*IMD1*、*IPMI1/2* 和 *SOT17* 均为参与脂肪族芥子油苷合成途径的关键基因,而吲哚族芥子油苷合成途径基因无明显改变,说明响应外源 H₂S 的主要是脂肪族芥子油苷. Kim 等^[22]报道增加硫水平能明显增加油菜中脂肪族芥子油苷含量. Chen 等^[23]发现白菜中脂肪族芥子油苷的含量受供硫水平的影响很大,而吲哚族芥子油苷的含量主要受到供氮水平的影响.这可能是因为吲哚族芥子油苷是由色氨酸衍生而来,而脂肪族芥子油苷侧链来源于甲硫氨酸,受环境中供硫水平的影响更明显^[24-25].

2.4.2 硫代谢和谷胱甘肽代谢途径基因表达分析 H₂S 处理后,拟南芥植株硫代谢途径中共有 9 个基因显著差异表达,上调表达基因 8 个,下调表达基因 1 个.上调表达基因分别为腺苷酰硫酸还原酶 1/2/3 (*APR1/2/3*)、腺苷酰硫酸激酶 1/2/3(*APK1/2/3*)、丝氨酸乙酰转移酶 4(*SAT4*)和半胱氨酸合酶(*DES1*),下调表达基因为 O-乙酰丝氨酸(硫醇)裂解酶(*OASA2*).

在谷胱甘肽代谢途径中,共有显著差异表达基因 22 个,上调表达基因 16 个,下调表达基因 6 个.其中,多个谷胱甘肽硫转移酶(glutathione S-transferase, *GSTF9*、*GSTF11*、*GSTF12*、*GSTU5*、*GSTU17*、*GSTU20*、*GSTU27* 和 *GSTU28*)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, *GPX6* 和 *GPX7*)和脱氢抗坏

血酸还原酶(dehydroascorbate reductase, *DHAR1* 和 *DHAR2*)基因表达水平显著提高.

外源 H₂S 处理后,拟南芥硫代谢途径、谷胱甘肽代谢途径中多个基因上调表达,说明环境中的 H₂S 可促进体内硫还原产物半胱氨酸的合成,进而生成抗氧化物质谷胱甘肽,同时其相关防御酶 GST 和 GPX 基因表达水平和活性提高,在植物逆境胁迫应答过程中发挥重要作用^[26-27].同时,外源 H₂S 增强植物体内硫相关代谢过程,为脂肪族芥子油苷合成提供硫供体,从而促进脂肪族芥子油苷的合成代谢,介导植物对外界环境刺激的防御性反应.

2.5 外源 H₂S 处理后拟南芥转录因子表达分析

转录因子通过激活或抑制基因的表达,在植物的生长发育、形态建成及对外界环境的反应中起着重要的调控作用^[28-29]. H₂S 处理后,拟南芥植株共有 307 个转录因子差异表达,其中上调表达 131 个,下调表达 176 个.其中,AP2/ERF 差异表达共 41 个,占到 13.36%;WRKY 共 22 个,占到 7.17%;MYB 共 20 个,占到 6.51%,bZIP 共 17 个,占到 5.54%;DREB 和 C2H2 均为 7 个,分别占到 2.28%;bHLH 为 5 个,占到 1.63%;TCP 和 HSF 均为 4 个,分别占到 1.30%;NAC 为 3 个,所占比例为 0.98%(表 2).

表 2 H₂S 处理后拟南芥差异表达的部分转录因子
Table 2 Partial of differentially expressed transcription factors in H₂S-treated *Arabidopsis thaliana*

转录因子	数量	上调	下调	转录因子	数量	上调	下调
AP2/ERF	41	16	25	C2H2	7	1	6
WRKY	22	5	17	bHLH	5	3	2
MYB	20	11	9	TCP	4	2	2
bZIP	17	8	9	HSF	4	1	3
DREB	7	2	5	NAC	3	1	2

研究表明,植物 MYB 转录因子如 MYB28、MYB29、MYB76、MYB34 和 MYB51 参与芥子油苷代谢网络的调控^[30-31].本研究中,H₂S 处理后,正向调控脂肪族芥子油苷合成的 *MYB29* 表达显著上调,而抑制脂肪族芥子油苷合成的 *MYB51* 表达水平降低,说明 H₂S 可通过调控 MYB 转录因子表达促进植物体内脂肪族芥子油苷的合成.

2.6 差异表达基因的 qRT-PCR 分析

为了证实测序结果的可靠性,对芥子油苷生物合成途径中的关键差异表达基因及相关转录因子

进行 qRT-PCR 分析.结果表明(图 4),H₂S 处理后, *CYP79F1*、*CYP83A1*、*SOT17* 和 *MYB29* 基因表达量分别为对照的 3.26 倍、2.21 倍、3.71 倍和 1.97 倍, *MYB51* 基因表达量为对照的 68.28%,与测序的结果一致,说明由测序筛选出的差异表达基因的信息是可靠的,同时也进一步证明了 H₂S 可通过调控拟南芥芥子油苷生物合成途径关键酶基因和相关的转录因子,参与调节体内芥子油苷的合成代谢.本研究将为深入挖掘 H₂S 对植物次生代谢的调控机制提供理论参考,同时也提示可以利用外源 H₂S 提高植物体内次级代谢产物的含量,从而增强植物抵御生物和非生物胁迫的能力.

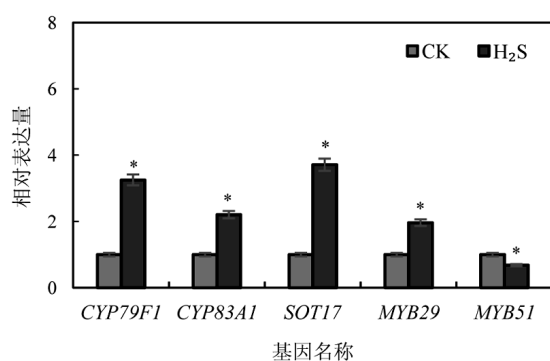


图 4 H₂S 处理后拟南芥差异表达基因的 qRT-PCR 分析
Fig.4 qRT-PCR analysis of differentially expressed genes in H₂S-treated *Arabidopsis thaliana*

3 结论

3.1 本文利用转录组测序技术,研究发现外源 H₂S 诱导拟南芥 3160 个基因差异表达,参与调节植物体内多个初生代谢和次生代谢过程,为深入探索 H₂S 在植物中的生理功能提供大量分子水平的数据参考.

3.2 H₂S 通过提高拟南芥芥子油苷生物合成途径关键酶和相关转录因子的基因表达水平,同时增强硫相关代谢活动,促进体内脂肪族芥子油苷的合成,从而抵御不良环境对植物的侵害.

参考文献:

[1] 尚玉婷,张妮娜,上官周平,等.硫化氢在植物中的生理功能及作用机制 [J]. 植物学报, 2018,53(4):565-574.
Shang Y T, Zhang N N, Shangguan Z P, et al. Physiological function and mechanism of hydrogen sulfide in plants [J]. Bulletin of Botany, 2018,53(4):565-574.

[2] Xuan L, Li J, Wang X, et al. Crosstalk between hydrogen sulfide and other signal molecules regulates plant growth and development [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020,21:4593.
[3] Zhang J, Zhou M, Zhou H, et al. Hydrogen sulfide, a signaling molecule in plant stress responses [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2021,63(1):146-160.
[4] Müller M, De Kok L J, Weidner W, et al. Differential effects of H₂S on cytoplasmic and nuclear thiol concentrations in different tissues of *Brassica* roots [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2002,40:585-589.
[5] Chen J, Shang Y T, Wang W H, et al. Hydrogen sulfide-mediated polyamines and sugar changes are involved in hydrogen sulfide-induced drought tolerance in *Spinacia oleracea* seedlings [J]. Frontiers in Plant Science, 2016,7:1173.
[6] Shi H, Ye T, Han B, et al. Hydrogen sulfide regulates abiotic stress tolerance and biotic stress resistance in *Arabidopsis* [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2015,157:628-640.
[7] Thinh Nguyen V P, Stewart J, Lopez M, et al. Glucosinolates: natural occurrence, biosynthesis, accessibility, isolation, structures, and biological activities [J]. Molecules, 2020,25(19):4537.
[8] Mitreiter S, Gigolashvili T. Regulation of glucosinolate biosynthesis [J]. Journal of Experimental Botany, 2021,72(1):70-91.
[9] Harun S, Abdullah-Zawawi M R, Goh H H, et al. A comprehensive gene inventory for glucosinolate biosynthetic pathway in *Arabidopsis thaliana* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020,68(28):7281-7297.
[10] Poveda J, Eugui D, Velasco P. Natural control of plant pathogens through glucosinolates: an effective strategy against fungi and oomycetes [J]. Phytochemistry Reviews, 2020,19(4):1045-1059.
[11] Liu Z C, Wang H P, Xie J M, et al. The roles of cruciferae glucosinolates in disease and pest resistance [J]. Plants, 2021,10(6):1097.
[12] Mao P, Li Q, Li Y, et al. The beneficial functions of blue light supplementary on the biosynthesis of glucosinolates in pakchoi (*Brassica rapa* L. ssp. *chinensis*) under greenhouse conditions [J]. Environmental and Experimental Botany, 2022,197:104834.
[13] Rangkadilok N, Nicolas M E, Bennett R N, et al. The effect of sulfur fertilizer on glucoraphanin levels in Broccoli (*B. oleracea* L. var. *italica*) at different growth stages [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004,52(9):2632-2639.
[14] 陈亚州,陈思学,阎秀峰.环境对植物芥子油苷代谢的影响 [J]. 生态学报, 2008,28(6):2828-2833.
Chen Y Z, Chen S X, Yan X F. Effect of environment on glucosinolate metabolism in plant [J]. Acta Ecologica Sinica, 2008,28(6):2828-2833.
[15] 庞秋颖,陈思学,于涛,等.盐胁迫对拟南芥和盐芥莲座叶芥子油苷含量的影响 [J]. 生态学报, 2011,31(16):4534-4541.
Pang Q Y, Chen S X, Yu T, et al. Effects of salt stress on glucosinolate contents in *Arabidopsis thaliana* and *Thellungiella halophila* rosette leaves [J]. Acta Ecologica Sinica, 2011,31(16):4534-4541.
[16] Li G, Shah A A, Khan W U, et al. Hydrogen sulfide mitigates cadmium induced toxicity in *Brassica rapa* by modulating physiochemical attributes, osmolyte metabolism and antioxidative machinery [J].

- Chemosphere, 2021,263:127999.
- [17] 裴雁曦.植物中的气体信号分子硫化氢:无香而立,其臭如兰 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2016,32(7):721-733.
- Pei Y X. Gasotransmitter hydrogen sulfide in plants: stinking to high heaven, but refreshing to fine life [J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2016,32(7):721-733.
- [18] Amir R, Galili G, Cohen H. The metabolic roles of free amino acids during seed development [J]. Plant Science, 2018,275:11-18.
- [19] Miao H, Cai C, Wei J, et al. Glucose enhances indolic glucosinolate biosynthesis without reducing primary sulfur assimilation [J]. Scientific Reports, 2016,6:31854.
- [20] 张琳,范晓明,林青,等.锥栗种仁转录组及淀粉和蔗糖代谢相关酶基因的表达分析 [J]. 植物遗传资源学报, 2015,16(3):603-611.
- Zhang L, Fan X M, Lin Q, et al. Transcriptome analysis for developing kernel and expression analysis of starch and sucrose metabolism-related genes in *Castanea henryi* [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2015,16(3):603-611.
- [21] Li-Beisson Y, Beisson F, Riekhof W. Metabolism of acyl-lipids in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. Plant Journal, 2015,82(3):504-522.
- [22] Kim S J, Matsuo T, Watanabe M, et al. Effect of nitrogen and sulphur application on the glucosinolate content in vegetable turnip rape (*Brassica rapa* L.) [J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2002,48: 43-49.
- [23] Chen X J, Zhu Z J, Ni X L, et al. Effect of nitrogen and sulfur supply on glucosinolates in *Brassica campestris* ssp. *Chinensis* [J]. Agricultural Sciences in China, 2006,5(8):603-608.
- [24] Li L, Zhang H, Chai X, et al. Transcriptome and proteome conjoint analysis revealed that exogenous sulfur regulates glucosinolate synthesis in Cabbage [J]. Plants, 2021,10(10):2104.
- [25] Heikal Y M, El-Esawi M A, Galilah D A. Morpho-anatomical, biochemical and molecular genetic responses of canola (*Brassica napus* L.) to sulphur application [J]. Environmental and Experimental Botany, 2022,194:104739.
- [26] Birke H, De Kok L J, Wirtz M, et al. The role of compartment-specific cysteine synthesis for sulfur homeostasis during H₂S exposure in *Arabidopsis* [J]. Plant and Cell Physiology, 2015,56:358-367.
- [27] 李利红,郭宇茹,侯俊鑫,等.H₂S 信号在拟南芥响应 SO₂ 胁迫过程中的作用 [J]. 中国环境科学, 2022,42(6):2904-2910.
- Li L H, Guo Y R, Hou J X, et al. Functions of H₂S signal in response to SO₂ stress in *Arabidopsis thaliana* [J]. China Environmental Science, 2022,42(6):2904-2910.
- [28] Gigolashvili T, Berger B, Flügge U I. Specific and coordinated control of indolic and aliphatic glucosinolate biosynthesis by R2R3-MYB transcription factors in *Arabidopsis thaliana* [J]. Phytochemistry Reviews, 2009,8:3-13.
- [29] Pireyre M, Burow M. Regulation of MYB and bHLH transcription factors: A glance at the protein level [J]. Molecular Plant, 2015,8(3): 378-388.
- [30] Zuluaga D L, Graham N S, Klinder A, et al. Overexpression of the MYB29 transcription factor affects aliphatic glucosinolate synthesis in *Brassica oleracea* [J]. Plant Molecular Biology, 2019,101:65-79.
- [31] Frerigmann H, Gigolashvili T. MYB34, MYB51, and MYB122 distinctly regulate indolic glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. Molecular Plant, 2014,7(5):814-828.

作者简介: 祁红学(1981-),男,甘肃通渭人,副教授,博士,主要研究方向为生态毒理学.发表论文 10 余篇。