

植物H₂S气体信号分子的生理功能研究进展

金竹萍^{1,2} 裴雁曦^{2*}¹中北大学化工与环境学院, 太原 030051; ²山西大学生命科学学院, 太原 030006

摘要 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, 在动物体内它的产生机制和生理作用已经被充分证实, 并成为热点研究领域。近年来, 关于植物H₂S的体内合成和功能研究也取得了较大进展: 植物内源H₂S生成的多个酶编码基因已被克隆; 化学信号检测技术迅速发展; 对植物体生长发育过程和环境胁迫应答的调控研究初现端倪; 与各种植物激素及其它信号分子的相互作用相继呈现等。文中综述了植物体内H₂S产生、检测、生理功能、信号转导等方面的研究进展, 并对该领域的研究前景进行了展望。

关键词 植物; 硫化氢; 信号分子; 生理功能

Research Progress on Hydrogen Sulfide Signaling in Plants

Jin Zhuping^{1,2}, Pei Yanxi^{2*}¹School of Chemical Engineering and Environment, North University of China, Taiyuan 030051, China; ²School of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

Abstract Hydrogen sulfide (H₂S) has been proposed as the third gasotransmitter after nitric oxide (NO) and carbon monoxide (CO), whose production and physiological functions in mammals have been fully confirmed, thus making it a hot research area. In recent years, great improvement has also been achieved with respect to the studies on H₂S synthesis and function in plants. For example, several endogenous genes encoding H₂S-generating enzymes have been cloned, detecting techniques of chemical signals have developed rapidly, the research on the growth and development process and stress responses has been going on, the interactions with different plant hormones and other signaling molecules have also been reported successively. This paper summarized the research progress on the production, detection of endogenous H₂S, its physiological functions and signal transduction pathways, etc. Meanwhile, the current problems and future insights in this field were presented.

Key words plant; hydrogen sulfide; signaling molecule; physiological function

1 引言

多年来, 一氧化氮(NO)、一氧化碳(CO)和硫化氢(H₂S)这些气体声名狼藉, 被认为对人体的健康有害无益。直到1998年, Robert等^[1]三位美国科学家因发现NO是心血管系统内皮舒张相关的一种信号分

子, 而获当年的诺贝尔生理/医学奖, 偏见开始悄然发生改变。之后, CO和H₂S也被证实是重要的内源信号分子。这些成果促进了人们对动植物体内气体信号分子的研究, 本文对H₂S作为信号分子在植物体内的功能研究进行了综述。

收稿日期: 2013-03-06 接受日期: 2013-04-09

山西省回国留学人员项目(批准号: 2011-007)、山西省重大科技专项(批准号: 20121101009)和山西省研究生创新项目(批准号: 20123009、20113003)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0351-7018161, E-mail: peiyanxi@sxu.edu.cn

Received: March 6, 2013 Accepted: April 9, 2013

This work was supported by the Shanxi Returned Overseas Students Project (Grant No.2011-007), Shanxi Special Major Science and Technology Project (Grant No.20121101009) and Shanxi Graduate Innovation Project (Grant No.20123009, 20113003)

*Corresponding author. Tel: +86-351-7018161, E-mail: peiyanxi@sxu.edu.cn

网络出版时间: 2013-05-28 10:29

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20130528.1029.001.html>

2 气体信号分子的特点和组成

气体信号分子应具备以下特征: 是小分子气体; 可以自由通过细胞膜, 作用不依赖于相应的质膜受体; 可以在酶催化下内源性产生, 受体内代谢途径的调控; 在生理浓度下有明确的生理功能; 其细胞学效应可以依赖或不依赖第二信使介导, 具有特定的细胞和分子作用靶点^[2-3]。目前, 被明确提出的气体信号分子有NO、CO和H₂S。

NO的研究起步较早, 在心脑血管调节、神经信号传递、免疫调节等方面的作用已经非常清楚, 它最为成功的应用当属“伟哥”这种药物的风靡全球^[4]。植物中NO参与了种子萌发、根形态建成、气孔运动、开花调节等许多重要生理过程^[5]。CO的研究始于1993年, 美国科学家Verma等^[6]提出: CO有协助NO管理人体内部器官的功能, 随后的研究确认CO为内源性神经递质^[7]。植物中的研究表明, CO可以与NO相互作用, 参与种子萌发、根系发生、植物抗性增强^[8]。H₂S是三者中最晚被证实的气体信号分子。

3 哺乳动物内源H₂S的生物合成和生理功能

人类对H₂S的认识已有近300年的历史, 但过去主要集中于毒理研究。1996年, 首次证明人体内源H₂S作为一种神经活性物质存在^[9]。2008年, 加拿大华人科学家Yang等^[10]在*Science*杂志发表论文, 证明H₂S在动物体内可以通过cystathionine γ -lyase(CSE)内源产生。CSE基因敲除小鼠的血压明显增高, 内皮依赖性血管扩张减少。进一步研究发现, H₂S主要通过血管平滑肌细胞上的K_{ATP}通道调节血压。这一成果将H₂S信号分子的研究推向一个高峰, *Nature*杂志“News Feature”栏目高度评价了这一进展^[11]。之后的研究表明, 哺乳动物内源H₂S产生的主要底物是半胱氨酸(cysteine, Cys), 体内H₂S生成的关键酶除了

CSE外, 还有cystathionine β -synthase(CBS)和3-mercaptopyruvate sulphurtransferase(MST)^[12-13]。目前已经证明H₂S参与了保护心脏、舒张血管, 抑制血管平滑肌细胞增殖、诱导血管平滑肌细胞凋亡、促进微血管内皮细胞增殖, 改善心脏衰竭、糖尿病、肝硬化、败血症、神经退行性疾病、勃起功能障碍、哮喘等多种调节功能^[10,13-14]。

4 H₂S在植物体内的产生

关于高等植物内源H₂S的研究可以追溯到1978年, Wilson等^[15]观察到黄瓜、玉米、大豆等叶片可以释放H₂S。现在已经清楚, 植物体H₂S的来源主要有: 通过cysteine desulphhydrase(CDes)催化Cys降解生成H₂S、丙酮酸盐和NH₃; 也可以通过叶片吸收大气中的H₂S; 或者在亚硫酸盐还原酶的作用下, 将SO₃²⁻直接还原成H₂S^[16]。

植物内源的H₂S主要以L/D-Cys为底物, 通过CDes的作用生成(图1)^[13]。目前, 拟南芥中已经克隆了一些与内源H₂S产生直接相关的酶编码基因。第一个报道的是以L-Cys为底物的L-cysteine desulphhydrase(LCD)编码基因(*At3g62130*)^[16]; 另一个以D-Cys为底物, 称为D-cysteine desulphhydrase1(DCD1)编码基因(*At1g48420*)^[17]。L/D-CDes具有不同的最适pH值, 对抑制剂的敏感度也有差别^[18]。目前, LCD和DCD1是植物内源H₂S产生过程中功能最明确的两个酶^[13,19]。

相继有一些CDes类蛋白编码基因被克隆: 定位于线粒体基因组的*AtNFS1/AtNifs1(At5g65720)*^[20]; 定位于质体的*AtNFS2/AtNifs2(At1g08490)*^[21]; 可同时以L/D-Cys为底物的DCD2编码基因*At3g26115*^[22]。另外, 还有两个具有CDes结构特征的候选基因*At5g26600*和*At1g01010*也被报道^[16]。除拟南芥外, 油菜和水稻

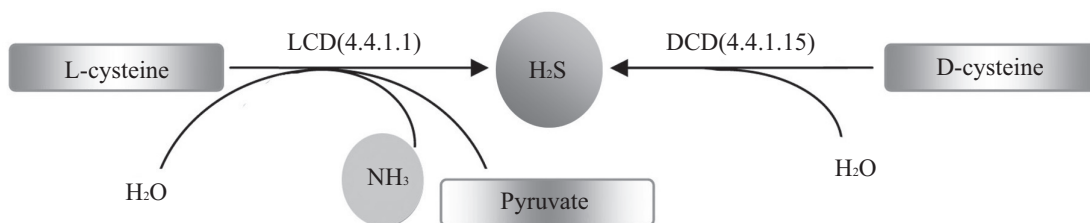


图1 植物体内H₂S的产生(根据参考文献[13]修改)

Fig.1 H₂S metabolism in plants(modified from reference [13])

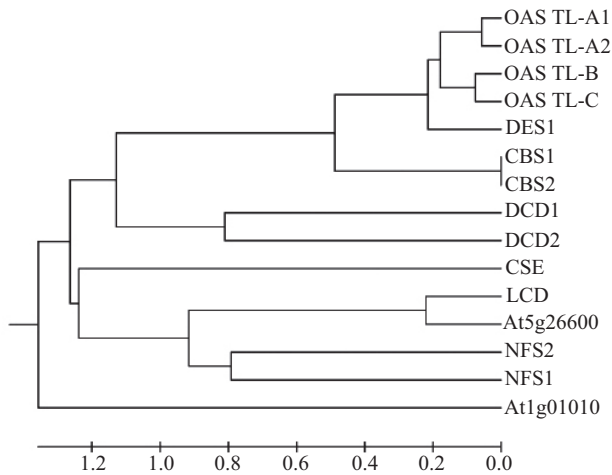


图2 动植物中H₂S产生相关酶的聚类分析

Fig.2 Cluster analysis of H₂S production related enzymes in plants and animals

等植物中也分离到CDes同源基因: *BnL-CdesI*、*BnL-CdesII*、*BnD-Cdes*、*BnNFS1*、*BnNFS2*、*OsL-CdesI*、*OsD-CdesI*、*OsD-CdesII*、*OsNFS1*、*OsNFS2*等^[23]。

其次,在植物体内硫代谢过程中,产生Cys的最后一步依赖于磷酸吡哆醛-O-乙酰基-L-丝氨酸(硫醇)裂解酶(OAS-TL)的催化。在拟南芥中发现,OAS-TL有3个亚型(OASTL-A, B, C)及类酶DES1,它们同时参与Cys合成和H₂S裂解的可逆反应,不同的实验体系中表现出不同的活性^[23-25]。已报道的植物H₂S产生酶与动物的同源蛋白序列一起进行聚类分析,发现高等生物体内产生H₂S的酶分属于两个大的类群,其中LCD与动物的CSE属一类,OAS-TL与CBS同类(图2)。

5 H₂S在植物体内的生理功能

长期以来,对高等植物内源H₂S的生理作用知之甚少。偶有所获,也被先入为主地认为是H₂S的毒性生理特征所致。比如植物体内H₂S释放量的增加与植物的抗病虫能力有关,被归结为H₂S是一种具有细胞毒素性质的气体^[26];植物体内CDes的活性随病原菌的侵入而升高,说明H₂S在植物防御中起着重要的作用,然而也只被归因于H₂S是含硫化物,拥有与Cys、谷胱甘肽(GSH)等所共有的硫诱导抗性^[27]。直到最近几年,H₂S的生理作用才从“气体信号分子”这一全新的视角被发掘。但H₂S在植物体内的功能研究草创伊始,深层次的机制研究仍寥寥无几。

5.1 常用的研究方法

目前关于H₂S在植物体内生理功能的研究,主要是基于一些药理学实验来进行。通过用H₂S的药物供体处理植物材料,观察和测定植物体相应的生理指标变化。最常用的H₂S供体有硫化钠(NaHS)和GYY4137,两者溶于水后均可产生H₂S气体^[28];可以释放H₂S的供体还有CaS^[29]、Na₂S和4-HTB^[13]。H₂S的清除剂或抑制剂也常常被用于反向的生理功能分析。常用的清除剂是次牛磺酸(HT),合成抑制剂有炔丙基甘氨酸(PAG)、羧甲氧基胺半盐酸盐(AOA)、羟氨(NH₂OH)和CDes分解产物(C₃H₃KO₃和NH₃)等^[30-33]。

内源H₂S的测定有两种方法:一是直接测定植物组织所释放的H₂S气体。传统的方法包括nmol数量级的气相色谱法,分别可精确到3 ppb和0.15 μmol/L的单碳壁纳米管和量子荧光检测,但只适用于非生物样本或导致生物样品的破坏;H₂S微电极或电流传感器可测定活体内浓度,但实验设计过于复杂、成本昂贵,且重复性很差,应用受限;利用荧光染料对H₂S进行活体定位是一个非常快速有效的方法,但目前尚无商业化产品问世。近年来,世界上多个实验室致力于H₂S荧光染料的开发研究。已报道在生物活体内可与H₂S特异结合的荧光染料有SFP-1和SFP-2、SF1、SF2和HSip-1等^[34]。它们通过不同的工作原理,高选择性地指示H₂S的含量和位置,这将为研究其产生、转运及其生理和病理作用带来新的活力。

另一种是间接测定法。即给予适当底物,在一定条件下与生物样本中的CDes反应,产生的H₂S气体与醋酸锌反应,最终通过比色法来计算H₂S的产率^[35-36]。对于绿色植物而言,应用这一方法会遇到一个问题:所提取植物蛋白常常含有一定量的叶绿素,测定所使用的甲基蓝法在比色时容易受叶绿素成分的干扰。研究人员借鉴了测定动物材料H₂S产率的方法并不断改进优化,将酶反应体系与H₂S固定体系隔离,问题得以解决,目前此测定方法因成本低、操作简单被普遍接受和应用^[14,37-38]。

5.2 H₂S在植物生长发育中的作用

CDes在拟南芥体内的表达表现出明显的时空特性,在茎和茎生叶中CDes的表达量较高,且随生长发育其表达量显著增加^[37];相应地,在葫芦科植物体内,老叶的内源H₂S释放量也大于幼叶^[39]。可见H₂S参与了植物体生长发育的整个过程。

促进种子萌发是较早被证实的H₂S生理作用。NaHS预处理可以减缓Cu胁迫对小麦种子萌发的抑制, 且有浓度依赖效应, 此过程中起作用的是H₂S或HS⁻, 而非其它含硫组分^[40]。究其原因, NaHS可以促进胚乳β-淀粉酶和酯酶活性, 同时减少胁迫对植物细胞质膜均一性的损坏, 丙二醛(MDA)和过氧化氢(H₂O₂)水平也相应降低^[41]。另外, NaHS预处理能显著增加黄瓜胚轴和胚根的生长^[42], 这也是促进植物种子萌发的有利因素。还有研究表明, H₂S促进种子萌发与NO的产生相关^[43]。

低浓度(0~40 μmol/L) H₂S可促进豌豆根尖组织可溶性蛋白质含量升高, 根尖边缘细胞存活率上升, 促进不同植物外植体不定根数目和长度的增加^[44]。随着外源H₂S的施加, 甘薯茎尖的内源H₂S、IAA和NO含量依次增加。此效应可以被NPA(IAA转运抑制剂)和cPTIO(NO清除剂)减弱。暗示H₂S诱发植物不定根的产生由IAA和NO介导, 即H₂S在信号转导途径中位于IAA和NO的上游^[45]。也有证据表明, H₂S促进不定根生成的过程中有CO参与^[46]。

外源H₂S可以增加植物叶片的叶绿素含量。NaHS喷施渗透胁迫下的甘薯叶片, 可以显著减弱其失绿程度, 且存在浓度依赖效应, 0.5 mmol/L为最适处理浓度^[47]。不同浓度的NaHS处理使得菠菜的生长、可溶性蛋白含量及光合作用指标都有显著增加, 100 μmol/L为最佳浓度^[48]。结果表明, H₂S可通过提高植物的光合效率促进植物的生长发育。

外源H₂S可以延迟植物花器官的开放和衰老。适当浓度的NaHS处理可提高植物体内过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、过氧化物酶(POD)等抗氧化酶的活性, 进而降低切花的H₂O₂和O₂⁻水平, 延长各类切花的观赏期。MDA作为细胞氧化损伤的指标, 与外植体内源H₂S浓度成反比^[49]。说明H₂S可能参与了调控植物开花的信号转导, 调节其由营养生长向生殖生长的转变。

5.3 H₂S在植物抵御非生物胁迫中的作用

非生物胁迫一般会诱导活性氧(ROS)的产生, 引起一系列植物细胞的氧化性损伤, 进而触发相关的信号转导。已有大量研究表明, 植物对干旱、重金属、温度等胁迫的响应都受到H₂S调节。

干旱是影响作物生长和产量的主要环境因素之一。在干旱胁迫下, 拟南芥体内的CDes的活性升

高, 内源H₂S产率增加; 同时, 外源施加生理浓度的H₂S可以减小叶片的气孔孔径, 降低蒸腾作用, 提高植物对干旱的抵抗力, 显著提高幼苗的存活率^[37]。在H₂S诱导的气孔开闭过程中, 同时有NO的积累^[50]。在转录水平, *CDes*基因在干旱胁迫下的表达模式与干旱相关转录因子DREB2A、DREB2B、CBF4和RD29A极其类似, 其表达量随干旱持续而逐渐增加, 复水后又急剧下降; 而且干旱相关转录因子的表达被H₂S诱导, 充分说明H₂S在转录水平参与干旱信号的传递^[37]。H₂S作为重要的信号分子, 在干旱过程中与胁迫激素ABA和中间产物H₂O₂之间存在着复杂的联系: H₂S影响ABA诱导气孔关闭的能力, 影响ABA受体的表达; *LCD*缺失突变体*lcd*的气孔孔径与野生型相比显著增大, 对干旱胁迫更加敏感, 体内积累更多ROS, 导致抗氧化酶系统的活性普遍升高^[37-38]。

重金属的污染物通过各种途径进入土壤, 并通过食物链对人体健康造成危害。大量研究表明, NaHS处理可以提高植物体内CAT、SOD、APX、POD等抗氧化酶的活性, 减少植物体内Cu、Cd、Cr和Al等多种重金属的积累, 缓解重金属胁迫对植物根系生长的抑制, 进而缓解重金属及过量的必需元素硼(B)对植物生长的毒害作用, 增强植物体的抵抗能力^[40,51-56]。分子证据显示, 植物细胞内重金属离子转运蛋白编码基因*IRT1*、*MRP3*和*CAX1/4/11*的表达受生理浓度H₂S的诱导, H₂S在保护植物免受Cd胁迫的过程中发挥了重要作用^[56]。而且拟南芥*AtLCD*和*AtDCD*基因在大肠杆菌中表达后, 可显著增加其对Cd胁迫的耐受性, 揭示了H₂S信号在生物体内增强重金属抗性的普遍性^[57]。

高温不仅会直接伤害植物细胞使其蛋白质变性, 也可间接损伤叶绿体和线粒体, 导致酶的失活, 影响蛋白质合成和降解, 并最终导致细胞损伤甚至死亡。NaHS预处理可以显著增加烟草悬浮细胞在热胁迫后的存活率和再生能力, 缓解热激后细胞活力下降、电解质泄漏和MDA积累。而且, H₂S诱导的植物耐热性可被外源Ca²⁺及其转运体显著增强, 被Ca²⁺螯合剂减弱, 说明H₂S增强植物耐热性的过程中有Ca²⁺参与^[58]。

6 H₂S与植物激素及其它信号分子的应答

大量证据表明, H₂S在植物体内行使各种生理功能时, 与传统植物激素存在相互应答。

6.1 H₂S与脱落酸的相互作用

脱落酸(ABA)作为植物“胁迫激素”在植物应对各种逆境的过程中起着至关重要的作用。在叶片保卫细胞内, ABA通过一个复杂的信号转导网络来调节气孔运动。首次将H₂S和ABA联系起来的是Carlos等^[30], 他们发现H₂S诱导气孔关闭有浓度依赖性(<100 μmol/L), 浓度太高(≥500 μmol/L)时气孔孔径反而会变大, 并影响保卫细胞的生活力^[30]。更重要的是, H₂S清除剂HT和合成抑制剂PAG预处理, 会部分阻断ABA诱导的气孔关闭, 即H₂S有可能参与ABA诱导气孔关闭的信号转导。Jin等^[37]进一步证明, 在干旱胁迫条件下, *CDes*基因的表达量增加, H₂S产率也随之升高, 气孔关闭; 且H₂S可以作为信号诱导干旱相关转录因子的表达, 这些转录因子分属依赖和不依赖ABA的两条途径。在生理浓度的H₂S处理下, ABA相关突变体*aba3*和*abi1*的气孔孔径显著减小, 而ABA诱导气孔关闭的作用却在*LCD*缺失突变体*lcd*中被部分阻断; ABA通过保卫细胞的离子浓度变化来调节气孔运动, H₂S也可以影响保卫细胞各种离子通道蛋白的编码基因表达; 而且生理浓度的H₂S作用使得ABA受体编码基因的表达量下降, 相反*lcd*中ABA受体的表达量增加^[38]。可见, H₂S与ABA相互作用共同调节气孔运动, 以增强植物对环境胁迫的能力。

6.2 H₂S与赤霉素的相互作用

打破种子休眠和促进种子萌发是赤霉素(GA)和H₂S的共同生理作用。于立旭等^[42]对镉胁迫下的黄瓜种子进行H₂S熏蒸处理, 发现黄瓜子叶总淀粉酶活性升高, 且主要归因于其对胚乳β-淀粉酶活性的诱导, 而α-淀粉酶的合成和活性都基本保持不变。Zhang等^[41]进一步比较H₂S和GA对小麦种子萌发的影响, 两者的促进作用随着处理时间延长更加明显。同时, H₂S对β-淀粉酶的活性诱导较GA高, 作用更显著。在最佳处理时间12 h时, H₂S和GA共同处理比两者单独处理的酶活性高。即H₂S和GA在植物种子萌发过程中具有协同效应。

6.3 H₂S与生长素类的相互作用

生长素类是调节植物根形态发生和建成的主要激素, 且分工各有不同。如吲哚乙酸(IAA)侧重于调控根系生长的长度, 萘乙酸(NAA)促进根系数量的增加。外源施加H₂S显著促进黄瓜胚根和胚轴生长, 说明H₂S可能参与到IAA促进根细胞伸长的过程中

^[42]。H₂S还可使甘薯茎尖的内源IAA增加, 诱发外植体不定根的产生, 且此过程可以被IAA转运抑制剂NPA阻断; 同时外源施加H₂S, 可以增加不定根产生的数目和长度^[45]。可以推测, H₂S参与与生长素类诱导的根生长发育过程, 在植物根的形态和发育模式的决定中扮演角色。

6.4 H₂S与乙烯的相互作用

乙烯(Eth)能使植物生长减慢, 促进开花叶落和果实成熟。不同浓度的NaHS溶液处理不同种类的切花, 均可延长切花的瓶插时间, 延缓衰老^[49]。推测在此过程中H₂S可能与Eth相互作用, 延缓叶片和花的衰老及果实的成熟。此外, 在乙烯诱导的气孔关闭过程中也有H₂S的参与^[59], 具体的作用机制尚不明确。

6.5 H₂S与茉莉酸的相互作用

茉莉酸(JA)及其甲酯JA-Me是一类脂肪酸的衍生物, 也是高等植物的内源生长调节物质, 有抑制植物生长、萌发、促进衰老和提高抗性等生理作用。侯智慧等^[32]以蚕豆为实验材料, 研究了H₂S和H₂O₂在JA调控气孔运动信号转导中的作用。结果表明, H₂S合成抑制剂可逆转JA诱导的气孔关闭效应; JA能够明显提高蚕豆叶片及保卫细胞中的H₂S含量; H₂S合成抑制剂可抑制JA引起的叶片H₂S含量的增加, 暗示了在JA诱导气孔关闭的过程中有H₂S的参与。

6.6 H₂S与其它信号分子的相互作用

H₂S、NO和CO三个气体信号分子, 因其类似的化学和生物特征, 在动物体内拥有共同的分子靶点和类似的细胞作用。因此, 在执行生物功能的信号转导过程中, 三者之间存在千丝万缕的联系。如前所述, 在植物体内H₂S在参与植物生长发育和应答环境胁迫的过程中, 与NO和CO也进行应答: H₂S促进种子萌发与NO的产生相关^[43]、H₂S诱发植物不定根的产生似乎是由IAA和NO介导的^[45]、在H₂S促进不定根生成的过程中有CO的参与^[46]、在H₂S诱导的气孔开闭过程中, 同时有NO的积累^[50]。这暗示着三种气体信号分子之间的相互作用可能是植物生理作用过程中的重要调节机制。

此外, H₂O₂作为重要的细胞信号分子, 其含量在种子萌发、花器官开放、应答逆境胁迫等诸多生理过程中均受到H₂S的调节^[40,49,58]。H₂O₂清除剂可减弱JA对H₂S含量变化和L/D-CDes活性的诱导效应^[32]。在干旱胁迫下*lcd*突变体体内的H₂O₂含量更高, 更容易在逆境下受到伤害^[38]。

表1 H₂S介导的植物激素调节生理过程
Table 1 Physiological processes regulated by H₂S-mediated plant hormones

生理过程 Physiological processes	相关植物激素 Related hormones	植物材料 Plant materials	最佳处理浓度(mmol/L) Optimal treatment concentration(mmol/L)	参考文献 References
Seed germination	GA	<i>Triticum aestivum</i>	0.5, 1.4	[40-41]
		<i>Medicago sativa</i>	0.1	[43]
		<i>Cucumis sativus</i>	0.9	[42]
Hypocotyl and radicle growth	Auxins(IAA; NAA)	<i>Cucumis sativus</i>	0.9	[42]
		<i>Ipomoea batatas</i>	0.2	[43]
		<i>Salix matsudana</i>	0.2	[43]
Growth of adventitious root		<i>Glycine max</i>	0.02	[43]
		<i>Cucumis sativus</i>	0.01	[46]
Growth of apical cell		<i>Pisum sativum</i>	0.04	[48]
Increase of chloroplast content		<i>Ipomoea batatas</i>	0.05	[47]
Photosynthesis promotion		<i>Spinacia oleracea</i>	0.1	[48]
Flowering delay aging	Eth	<i>Erigeron annuus</i>	0.6	[49]
		<i>Euonymus maackii</i>	0.6	[49]
		<i>Hibiscus syriacus</i>	0.6	[49]
		<i>Liriope spicata</i>	0.2	[49]
		<i>Loropetalum chinense</i>	0.2	[49]
		<i>Punica granatum</i>	0.2	[49]
		<i>Rosa chinensis</i>	0.2	[49]
		<i>Salix matsudana</i>	0.2	[49]
		Induction of stomatal closure	ABA	<i>Vicia faba</i>
<i>Impatiens walleriana</i>	0.1			[50]
Eth JA	<i>Arabidopsis thaliana</i>		0.1	[37-38]
	<i>Arabidopsis thaliana</i>		0.1	[59]
	<i>Vicia faba</i>		0.1	[32]

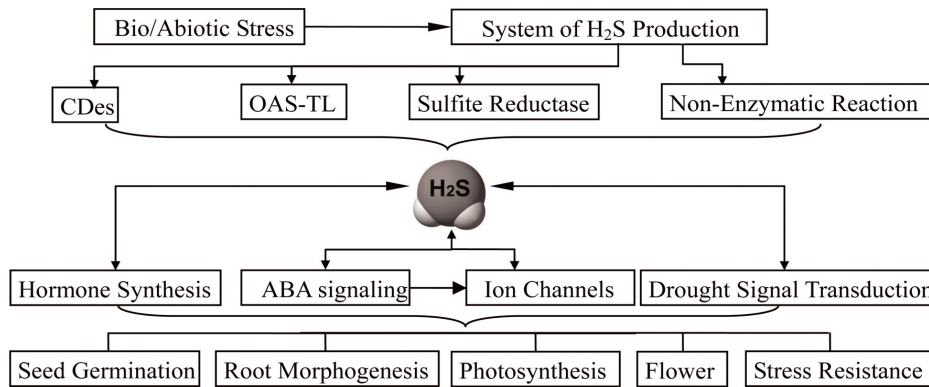
Ca²⁺作为细胞信使作用至关重要,接收胞外刺激或胞内其它组分的信号,胞质Ca²⁺浓度发生变化,将信号进一步传递。外源Ca²⁺及其转运载体显著增强了H₂S诱导的植物耐热性,反之也可被Ca²⁺螯合剂削弱,说明H₂S增强植物耐热性的过程中有Ca²⁺参与^[58]。H₂S在增强植物抗旱能力的过程中,也会影响保卫细胞中Ca²⁺的转运体编码基因的表达和Ca²⁺含量^[38]。

7 展望

动物和植物均为真核生物,一些生理生化过程可能具有相似性,因此动物学的研究成果常常可以为植物材料的研究提供有意义的参考。有时看似动物特有的生理现象,事实上在植物中也能找到对应的生理过程。例如1963年,阎隆飞院士首次证实了植物中肌动蛋白的存在^[60],而很长一段时间人们并不认为植物中存在这种蛋白。2008年,在H₂S信号分子研究领域,加拿大科学家Yang等^[12]证实H₂S对血管平滑肌具有调节作用,其分子靶标是K_{ATP}通道。那么在植物中是否也存在相应的生理过程?在本实

验室与Yang实验室的合作过程中,偶然发现H₂S可增强植物耐受干旱胁迫的能力。进一步的证据显示,这种能力是通过对气孔的开闭调节实现的^[37]。众所周知,植物气孔开闭受到脱落酸ABA的调控,而这种调控需通过对保卫多种细胞离子通道(包括K⁺通道)的活性调节发挥作用。由动植物的类比思路,一个有趣的问题出现了:植物H₂S对气孔的调节会不会也是通过K⁺通道起作用呢?如果是,它与ABA有什么关系?Jin等^[38]已经证实,这种动物到植物类比思路是正确的,植物体内源H₂S确实会影响到保卫细胞中K⁺和Ca²⁺的离子通道或转运体的编码基因表达,从而影响气孔运动。这种类比法为我们提供了一条有价值的研究思路。

就目前文献所及,气体信号H₂S参与了植物体内诸多生理过程。在逆境胁迫条件下,H₂S信号系统做出积极全面的应答,其中包括内源H₂S合成体系做出相应的反应;强化了H₂S信号通过直接或间接作用,影响植物内源激素合成,并与ABA信号等相互作用,并可直接作用于离子通道等靶点,调节植物生长

图3 内源H₂S的信号及功能Fig.3 Signaling effects of endogenous H₂S

发育和逆境胁迫等多方面的生理反应(图3)。

近几年,关于H₂S在植物体内的生物合成和生理作用的研究取得了很大进展,但相对于动物研究,也只是刚刚起步。植物H₂S信号研究的不足主要有以下几个方面:(1)缺乏有效便捷的内源H₂S检测手段。目前主要通过光密度法间接测定H₂S的浓度,还无法对胞内H₂S的定位和浓度进行实时监测。虽然有不少研究人员致力于H₂S荧光染料的研制,但距离实际应用还有很长的路;(2)作为活跃的气体信号分子,H₂S参与了多种信号转导途径和生理过程。但截至目前为止,H₂S在植物体内生理功能的数据绝大多数来源于H₂S的供体、清除剂和合成抑制剂的外源处理,研究结果大都停留于现象描述,欠缺深入的机理研究;(3)H₂S是一把双刃剑,对生物体存在生理和毒理的双重作用;而H₂S的生理浓度因植物材料的种类、发育时期、组织器官、生长环境等的不同而有所区别;另外,不同H₂S供体的释放特性不同。因此在进行具体的实验操作时,外源供体选择、处理时间和方式都需要较长时间的摸索。

未来几年H₂S信号分子的研究可能会集中在以下几个方面:在研究技术和方法上,更多突变体的选择、荧光染料的应用,将对这一领域的研究起积极的推动作用;H₂S在参与植物生长发育和响应胁迫过程中,更深入的分子机制以及上游激活组分和下游分子靶点的发掘,将是这一领域的重点和难点;H₂S介导的表观修饰这一新领域也会吸引很多科研工作者的目光。

参考文献 (References)

1 Robert M, Ashok R, Steven B. The role of nitric oxide in

inflammation and immunity. *Arthritis & Rheumatism* 1998; 41(7): 1141-51.

2 Wang R. Two's company, three's a crowd: Can H₂S be the third endogenous gaseous transmitter? *FASEB J* 2002; 16(13): 1792-8.

3 Wang R. The gasotransmitter role of hydrogen sulfide. *Antioxid Redox Sign* 2003; 5(4): 493-501.

4 Toda N, Ayajiki K, Okamura T. Nitric oxide and penile erectile function. *Pharmacol Ther* 2005; 106(2): 233-66.

5 刘维仲,张润杰,裴真明,何奕昆.一氧化氮在植物中的信号分子功能研究:进展和展望. *自然科学进展(Liu Weizhong, Zhang Runjie, Pei Zhenming, He Yikun. Study on the function of signaling molecule of nitric oxide in plants: Progress and prospects. Progress in Natural Science)* 2008; 18(1): 10-24.

6 Verma A, Hirsch DJ, Glatt CE, Ronnett GV, Snyder SH. Carbon monoxide: A putative neural messenger. *Science* 1993; 259(15): 381-4.

7 Prabhakar NR, Dinerman JL, Agani FH, Snyder SH. Carbon monoxide: A role in carotid body chemoreception. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92(6): 1994-7.

8 Guo K, Xia K, Yang ZM. Regulation of tomato lateral root development by carbon monoxide and involvement in auxin and nitric oxide. *J Exp Botany* 2008; 59(12): 3443-52.

9 Abe K, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J Neurosci* 1996; 16(3): 1066-71.

10 Yang G, Wu L, Jiang B, Yang W, Qi JS, Cao K, *et al.* H₂S as a physiologic vasorelaxant: Hypertension in mice with deletion of cystathionine gammalyase. *Science* 2008; 322(5901): 587-90.

11 Sanderson K. Could hydrogen sulphide be the new nitric oxide? Katharine Sanderson reports on the rotten-egg gas that is earning a reputation in human physiology. *Nature* 2009; 459(20): 500-2.

12 Yang G, Cao K, Wu L, Wang R. Cystathionine-Lyase over expression inhibits cell proliferation via a H₂S-dependent modulation of ERK_{1/2} phosphorylation and p21^{Cip/WAK-1}. *J Biol Chem* 2004; 279(47): 49199-205.

13 Wang R. Physiological implications of hydrogen sulfide: A whiff exploration that blossomed. *Physiol Rev* 2012; 92(4): 791-896.

14 Pei Y, Wu B, Cao Q, Wu L, Yang G. Hydrogen sulfide mediates the anti-survival effect of sulforaphane on human prostate cancer cells. *Toxicol App Pharmacol* 2011; 257(3): 420-8.

15 Wilson LG, Bressan RA, Filner P. Light-dependent emission of hydrogen sulfide from plants. *Plant Physiol* 1978; 61(2): 184-9.

- 16 Papenbrock J, Riemenschneider A, Kamp A, Schulz-Vogt HN, Schmidt A. Characterization of cysteine-degrading and H₂S-releasing enzymes of higher plants-from the field to the test tube and back. *Plant Biol* 2007; 9(5): 582-8.
- 17 Soutourina J, Blanquet S, Plateau P. Role of D-cysteine desulphhydrase in the adaptation of *Escherichia coli* to D-cysteine. *J Biol Chem* 2001; 276(44): 40864-72.
- 18 Rennenberg H, Arabatzis N, Grundel I. Cysteine desulphhydrase activity in higher plants: Evidence for the action of L- and D-cysteine specific enzymes. *Phytochem* 1987; 26(6): 1583-9.
- 19 崔为体, 沈文飏. 植物中硫化氢的生理功能及其分子机理. 生命的化学(Cui Weiti, Shen Wenbiao. Physiological function and its molecular mechanism of hydrogen sulfide in plants. *Chem Life*) 2012; 32(4): 385-9.
- 20 Kushnir S, Davey MW, Montagu M. Mutation of the mitochondrial ABC transporter *Stal* leads to dwarfism. *Plant Cell* 2001; 13(1): 89-100.
- 21 Leon S, Tournaine B, Lobreaux S. The *AtNFS2* gene from *Arabidopsis thaliana* encodes a Nifs-like plastidial cysteine desulphurase. *Biochem J* 2002; 366: 557-64.
- 22 Riemenschneider A, Bonacina E, Schmidt A, Papenbrock J. Remove from marked Records Isolation and characterization of a second D-cysteine desulphhydrase-like protein from *Arabidopsis*. In: Saito K, Kok L J de, Stulen I, Hawkesford M J, Schnug E, Sirko A, *et al.* eds. Sulfur transport and assimilation in plants in the Post Genomic Era. Papers from the 6th International Workshop on Plant Sulfur Metabolism, Chiba, Japan, 2005, 103-6.
- 23 Riemenschneider A. Isolation and characterization of cysteine degrading and H₂S-releasing protein in higher plants. Chapter 6, Genehmigte Dissertation. 2006, 66-80.
- 24 Alvarez C, Calo L, Romero L C, Garcia I, Gotor C. An O-Acetylserine(thiol)lyase homolog with L-cysteine desulphhydrase activity regulates cysteine homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Physio* 2010; 152: 656-69.
- 25 Alvarez C, Bermudez MA, Romero LC, Gotor C, Garcia I. Cysteine homeostasis plays an essential role in plant immunity. *New Phytologist* 2012; 193(1): 165-77.
- 26 Beauchamp RO, Jelkovich DA. A critical review of the literature on hydrogen sulfide toxicity. *Crit Rev Tox* 1984; 13(1): 25-97.
- 27 Bloem E, Riemenschneider A, Volker J, Papenbrock J, Schmidt A, Salac I, *et al.* Sulphur supply and infection with *Pyrenopeziza brassicae* influence L-cysteine desulphhydrase activity in *Brassica napus L.* *J Exp Bot* 2004; 55(406): 2305-13.
- 28 Lisjak M, Srivastava N, Teklic T, Civale L, Lewandowski K, Wilson I, *et al.* A novel hydrogen sulfide donor causes stomatal opening and reduces nitric oxide accumulation. *Plant Physio Biochem* 2010; 48(12): 931-5.
- 29 Li YF, Xiao CS, Hui RT. Calcium sulfide (CaS), a donor of hydrogen sulfide (H₂S): A new antihypertensive drug? *Medical Hypotheses* 2009; 73(3): 445-7.
- 30 Carlos GM, Lorenzo L. Hydrogen sulphide, a novel gasotransmitter involved in guard cell signaling. *New Phytol* 2010; 188(4): 977-84.
- 31 刘菁, 侯智慧, 赵方贵, 刘新. H₂S介导ABA诱导蚕豆气孔运动的生理机制研究. 西北植物学报(Liu Jing, Hou Zhihui, Zhao Fanggui, Liu Xin. Hydrogen sulfide mediates ABA-induced stomatal closure of *Vicia faba L.* *Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica*) 2011; 31(2): 298-304.
- 32 侯智慧, 刘菁, 侯丽霞, 李希东, 刘新. H₂S可能作为H₂O₂的下游信号介导茉莉酸诱导的蚕豆气孔关闭. 植物学报(Hou Zhihui, Liu Jing, Hou Lixia, Li Xidong, Liu Xin. H₂S may function downstream of H₂O₂ in jasmonic acid-induced stomatal closure in *Vicia faba*. *Chinese Bull Botany*) 2011; 6(4): 396-406.
- 33 王兰香, 侯智慧, 侯丽霞, 赵方贵, 刘新. H₂O₂介导的H₂S产生参与干旱诱导的拟南芥气孔关闭. 植物学报(Wang Lanxiang, Hou Zhihui, Hou Lixia, Zhao Fanggui, Liu Xin. H₂S induced by H₂O₂ mediates drought-induced stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*. *Chinese Bull Botany*) 2012; 47(3): 217-25.
- 34 Lin VS, Chang CJ. Fluorescent probes for sensing and imaging biological hydrogen sulfide. *Curr Opin Chem Biol* 2012; 16(5/6): 1-7.
- 35 Sekiya J, Schmidt A, Wilson LG. Emission of hydrogen sulfide by leaf tissue in response to L-cysteine. *Plant Physiol* 1982; 70(2): 430-6.
- 36 Riemenschneider A, Nikiforova V, Hoefgen R, de Kok LJ, Papenbrock J. Impact of elevated H₂S on metabolite levels, activity of enzymes and expression of genes involved in cysteine metabolism. *Plant Physiol Biochem* 2005; 43(5): 473-83.
- 37 Jin ZP, Shen JJ, Qiao ZJ, Yang GD, Wang R, Pei YX. Hydrogen sulfide improves drought resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 414(3): 481-6.
- 38 Jin ZP, Xue SW, Luo YN, Tian BH, Fang HH, Li H, *et al.* Hydrogen sulfide interacting with abscisic acid in stomatal regulation responses to drought stress in *Arabidopsis*. *Plant Physiol Biochem* 2013; 62(1): 41-6.
- 39 Rennenberg H, Filner P. Developmental changes in the potential for H₂S emission in cucurbit plants. *Plant Physiol* 1983; 71(2): 269-75.
- 40 Zhang H, Hu LY, Hu KD, He YD, Wang SH, Luo JP. Hydrogen sulfide promotes wheat seed germination and alleviates oxidative damage against copper stress. *J Integr Plant Biol* 2008; 50(12): 1518-29.
- 41 Zhang H, Dou W, Jiang CX, Wei ZJ, Liu J, Jones RL. Hydrogen sulfide stimulates β -amylase activity during early stages of wheat grain germination. *Plant Signal Behavior* 2010; 5(8): 1031-3.
- 42 于立旭, 尚宏芹, 张存家, 王秀峰, 魏珉, 杨凤娟, 等. 外源硫化氢对镉胁迫下黄瓜胚轴和胚根生理生化特性的影响. 园艺学报(Yu Lixu, Shang Hongqin, Zhang Cunjia, Wang Xiufeng, Wei Min, Yang Fengjuan, *et al.* Effects of exogenous H₂S on the physiological and biochemical characteristics of the cucumber hypocotyls and radicles under cadmium stress. *Acta Horticulturae Sinica*) 2011; 38(11): 2131-9.
- 43 Wang Y, Li L, Cui W, Xu S, Shen W, Wang R. Hydrogen sulfide enhances alfalfa (*Medicago sativa*) tolerance against salinity during seed germination by nitric oxide pathway. *Plant Soil* 2012; 351(1/2): 107-19.
- 44 李东波, 肖朝霞, 刘灵霞, 王金成, 宋国力, 毕玉蓉. 外源硫化氢对豌豆根尖及其边缘细胞的影响. 植物学报(Li Dongbo, Xiao Zhaoxia, Liu Lingxia, Wang Jincheng, Song Guoli, Bi Yurong. Effects of exogenous hydrogen sulfide (H₂S) on the root tip and root border cells of *Plum sativum*. *Chinese Bull Botany*) 2010; 45(3): 354-62.
- 45 Zhang H, Tang J, Liu XP, Wang Y, Yu W, Peng WY, *et al.*

- Hydrogen sulfide promotes root organogenesis in *Ipomoea batatas*, *Salix matsudana* and *Glycine max*. *J Integr Plant Biol* 2009; 51(12): 1086-94.
- 46 Lin YT, Li MY, Cui WT, Lu W, Shen WB. Haem Oxygenase-1 is involved in hydrogen sulfide-induced cucumber adventitious root formation. *J Plant Growth Regul* 2012; 31(4): 519-28.
- 47 Zhang H, Ye YK, Wang SH, Luo JP, Tang J, Ma DF. Hydrogen sulfide counteracts chlorophyll loss in sweetpotato seedling leaves and alleviates oxidative damage against osmotic stress. *Plant Growth Regul* 2009; 58(3): 243-50.
- 48 Chen J, Wu FH, Wang WH, Zheng CJ, Lin GH, Dong XJ, *et al*. Hydrogen sulphide enhances photosynthesis through promoting chloroplast biogenesis, photosynthetic enzyme expression, and thiol redox modification in *Spinacia oleracea* seedlings. *J Exp Botany* 2011; 62(13): 4481-93.
- 49 Zhang H, Hu SL, Zhang ZJ, Hu LY, Jiang CX, Wei ZJ, *et al*. Hydrogen sulfide acts as a regulator of flower senescence in plants. *Postharvest Bio Tech* 2011; 60(3): 251-7.
- 50 Lisjak M, Srivastava N, Teklic T, Civale L, Lewandowski K, Wilson I, *et al*. A novel hydrogen sulfide donor causes stomatal opening and reduces nitric oxide accumulation. *Plant Physiol Biochem* 2010; 48(12): 931-5.
- 51 Zhang H, Hu LY, Li P, Hu KD, Jiang CX, Luo JP. Hydrogen sulfide alleviated chromium toxicity in wheat. *Biologia Plantarum* 2010; 54(4): 743-7.
- 52 Wang BL, Shi L, Li YX, Wang SH, Luo JP, Jones R. Boron toxicity is alleviated by hydrogen sulfide in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings. *Planta* 2010; 231(6): 1301-9.
- 53 Dawood M, Cao FB, Jahangir MM, Zhang G, Wu F. Alleviation of aluminum toxicity by hydrogen sulfide is related to elevated ATPase, and suppressed aluminum uptake and oxidative stress in barley. *J Hazard Mater* 2012; 209/210(5): 121-8.
- 54 Chen J, Wang WH, Wu FH, You CY, Liu TW, Dong XJ, *et al*. Hydrogen sulfide alleviates aluminum toxicity in barley seedlings. *Plant Soil* 2013; 362(1/2): 301-18.
- 55 Li L, Wang Y, Shen W. Roles of hydrogen sulfide and nitric oxide in the alleviation of cadmium-induced oxidative damage in alfalfa seedling roots. *Biomaterials* 2012; 25(3): 617-31.
- 56 Li YW, Gong ZH, Mu Y, Zhang YX, Qiao ZJ, Zhang LP, *et al*. An *Arabidopsis* mutant *atcsr-2* exhibits high cadmium stress sensitivity involved in the restriction of H₂S emission. *J Zhejiang Univ-Sci B (Biomed & Biotechnol)* 2012; 13(12): 1006-14.
- 57 Shen JJ, Qiao ZJ, Xing TJ, Zhang LP, Liang YL, Jin ZP, *et al*. Cadmium toxicity is alleviated by AtLCD and AtDCD in *Escherichia coli*. *J Appl Microbiol* 2012; 113(5): 1130-8.
- 58 Li ZG, Gong M, Xie H, Yang L, Li J. Hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide-induced heat tolerance in tobacco (*Nicotiana tabacum* L) suspension cultured cells and involvement of Ca²⁺ and calmodulin. *Plant Sci* 2012; 185/186(4): 185-9.
- 59 Liu J, Hou LX, Liu GH, Liu X, Wang XC. Hydrogen sulfide induced by nitric oxide mediates ethylene-induced stomatal closure of *Arabidopsis thaliana*. *Chinese Sci Bull* 2011; 56(33): 3547-53.
- 60 阎隆飞, 石德权. 高等植物中的收缩蛋白. *生物化学与生物物理学报* (Yan Longfei, Shi Dequan. The presence of a contractile protein in higher plants. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*) 1963; 3(4): 490-501.