

专论与综述 Reviews

植物硫素同化途径及其调控

李国强¹ 朱云集^{1,2,*} 沈学善¹¹河南农业大学, 郑州 450002; ²国家小麦工程技术研究中心, 郑州 450002

Plant Sulphur Assimilation Pathways and Its Regulation

LI Guo-Qiang¹, ZHU Yun-Ji^{1,2,*}, SHEN Xue-Shan¹¹Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; ²National Engineering Research Center for Wheat, Zhengzhou 450002, China**提要** 介绍了植物硫素吸收和同化途径以及硫、氮、碳等因素对其调控的研究进展。**关键词** 植物; 硫酸盐; 吸收; 同化; 调控

硫是所有生物体的必需元素, 同时是含硫氨基酸(Met和Cys)、寡肽[谷胱苷肽(glutathione, GSH)和植络素(phytochelatins, PCs)]、维生素、辅因子(生物素、硫胺素、辅酶A、S-腺苷蛋氨酸)和许多次级产物(十字花科的芥子油苷和葱属植物的烯丙基半胱氨酸亚砷)的组成成分^[1,2]。植物将环境中的无机硫、土壤中的 SO_4^{2-} -S和空气中的二氧化硫气体同化固定为有机硫^[3], 在自然界的硫循环中起重要作用。

早在200多年前, 人们就认识到高等植物对硫的需求, 但对这一必需元素的兴趣远不及其它营养元素, 这是因为硫缺乏一直没有像氮、磷、钾缺乏那样广泛, 而且硫广泛存在于许多化肥和农家肥中, 降雨、降尘、灌溉水等也给作物补充了硫, 以致掩盖了作物对硫必需的注意。近几十年来, 随着环境治理、农业生产中投入肥料种类的改变、作物产量提高和氮肥施用量的增多, 不少国家和地区不断有由于硫缺乏影响到作物产量和品质的报道, 且硫缺乏有迅速扩展的趋势^[2]。所以, 研究硫吸收、运输和同化及其调控, 对深入认识硫对植物生长发育、产量及品质的作用有重要意义。

1 硫素吸收和同化

1.1 吸收

高等植物主要通过根系从土壤中吸收硫酸盐形式的硫, 跨膜质子同向运输蛋白催化此过程。硫在植株体内的运输主要以 SO_4^{2-} 的形态进

行, 但也有少量的硫以还原硫的形态运输, 如Cys、GSH等。硫进入质体后或进行同化、或贮存在液泡中、或为满足源/库需求而在器官间长距离运输, 这些过程都需要特异的硫酸盐运输蛋白^[4,5]。这包括根系细胞最外层的质膜运输蛋白、维管组织质膜运输蛋白、叶中叶肉细胞质膜运输蛋白、细胞器特别是质体和液泡运输有关的运输蛋白^[1]。这些运输蛋白分别参与根系初始吸收、长距离运输、硫同化以及光合作用和细胞器运输。

质膜硫酸盐运输蛋白共有4种类型: 质子/硫酸盐协同运输蛋白、阴离子通道、ABC蛋白质和草酰乙酸盐/硫酸盐运输蛋白^[1]。质子/硫酸盐协同运输蛋白由12个跨膜结构域组成, 属于阳离子/溶质协同运输蛋白^[6], 在跨膜质子梯度驱动下调节活性硫酸盐的吸收, 因而对质膜ATPase产生的质子梯度(pH值)有依赖性。除质子/硫酸盐协同运输蛋白外, 其它运输蛋白可能调节植物细胞内的硫酸盐运输^[1,4], 但这些运输系统的分子鉴定仍有待深入。

近几年来, 植物硫酸盐运输蛋白基因克隆和分析取得了巨大的进步。Smith等^[7,8]采用 SO_4^{2-} 运

收稿 2005-04-12 修定 2005-10-17

资助 国家科技部粮食丰产科技工程项目(2004BA520A-06)和河南省重大科技攻关项目(0522010100)。

*通讯作者(E-mail: hnnzyj@yahoo.com.cn, Tel: 0371-63558205)。

输蛋白缺失的酵母突变体功能互补方法, 从热带豆类(*Stylosanthes hamata*)和大麦的cDNA文库中克隆出质膜 SO_4^{2-} 运输蛋白基因。这些基因编码的运输蛋白是由 644~859 个氨基酸组成的多肽链, 分子量在 69~96 kD 之间。这些运输蛋白可进一步分为: 高亲和力型($K_m=10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)和低亲和力型($K_m=100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。高亲和力型只在根系组织中特殊表达, 而低亲和力运输蛋白则可在体内各处表达^[7, 8]。至今, 已从大麦中克隆出高亲和力型 *hvt1*, 从二倍体小麦中也分离出无典型特征的硫酸盐运输蛋白^[2]。随后, 许多其它植物的硫酸盐运输蛋白基因和 cDNA 也鉴定出来。据报道, 拟南芥中有 14 个硫酸盐运输蛋白基因^[6, 9]。根据氨基酸序列的不同, 可以分为 5 个亚族: SULTR1、SULTR2、SULTR3、SULTR4、SULTR5。SULTR1 亚族的硫酸盐运输蛋白有高亲和力。SULTR1; 1 和 SULTR1; 2 位于根系表皮细胞, 硫酸盐缺乏诱导产生, 参与根际硫酸盐的初始吸收^[9, 10]。SULTR1; 3 位于韧皮部, 调控从源器官(根系)到库(叶片和幼芽)的长距离运输^[11]。低亲和力的 SULTR2 和 SULTR3 亚族的运输蛋白位于维管组织中, 可能参与从质外体到维管细胞的硫酸盐吸收^[1]。最初认为 SULTR4 亚族的运输蛋白参与质体吸收, 实际上是参与液泡到细胞质间的硫酸盐运输^[11]。

1.2 植物硫素同化过程 硫酸盐同化过程包括: 活化阶段、还原阶段和 Cys 合成阶段。 SO_4^{2-} 的化学性质很稳定, 在还原或与稳定的有机化合物发生酯化作用之前需要活化。硫酸盐进入细胞后, 在 ATP 硫酸化酶(ATPS)催化下, SO_4^{2-} 通过酸酐键与 ATP 上的磷酸残基相连后, 硫酸盐活化为腺苷酰硫酸(APS), 同时释放焦磷酸(PPi)^[1, 4]。此反应是硫酸盐代谢的唯一起点。反应式^[1, 4, 5]如下:



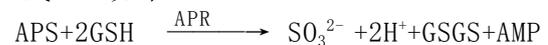
APS 是 ATPS 的一个有效抑制剂, 所以反应平衡易向 ATP 和硫酸盐的产生进行, 因而反应产物 APS 和焦磷酸必须立即为 APS 还原酶(APR)、APS 激酶(APK)或焦磷酸酶进一步代谢, 以推动反应向前进行^[1]。

ATPS 存在于叶绿体和细胞溶质中^[1, 4]。拟南

芥的 4 个 ATPS 基因都可能编码质体型(APS1、APS2、APS3 和 APS4)。细胞溶质异形体的产生可能是 APS2 基因用了不同的启动子^[1]。由于 APS 进一步还原成 S^{2-} 只发生在质体中, 所以细胞溶质 ATPS 的生理作用还不清楚。

硫酸盐还原在叶绿体内进行, 包括以下两步:

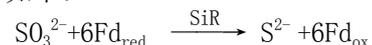
第一步, 在 APR(以前称 APS 磺基转移酶^[12])催化下, 转移 2 个电子到 APS, 产生亚硫酸盐。反应式^[1, 4, 5]如下:



植株体内 APR 以同源二聚体形式存在, 成熟的 APR 由两个截然不同的结构域组成, N 端结构域与 3'-磷酸腺苷-5'-磷酸硫酸(PAPS)还原酶相似, C 端与硫氧还蛋白表现出同源性, 以还原态 GSH 作为电子供体^[1, 4, 5]。

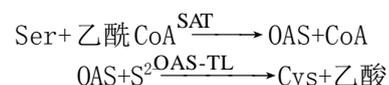
细胞溶质中产生的 APS 在 APS 激酶催化下磷酸化为 PAPS。PAPS 是活化硫酸盐在细胞内积累的形式, 也是磺基转移酶作用的底物。细胞溶质产生的 APS 不直接参与同化, 但转化为 PAPS 后可能参与硫酸盐同化^[1, 4]。在某些低等植物中, PAPS 也可为 PAPS 还原酶直接还原为亚硫酸盐^[13]。

第二步, 在亚硫酸盐还原酶(SiR)催化下, 从 Fd_{red} 转移 6 个电子到亚硫酸盐从而产生硫化物。反应式^[1, 4, 5]如下:



植物细胞的亚硫酸还原酶位于光合组织和非光合组织的质体中, 由同源低聚体组成, 每个亚单位包括 1 个血红素和 1 个铁硫簇^[1, 4]。光合细胞通过 PSI 提供电子给 Fd, 而非光合细胞则由 NADPH 提供电子给 Fd^[1, 4]。

1.3 Cys 合成阶段 在 Ser 乙酰转移酶(SAT)作用下, Ser 与乙酰辅酶 A (CoA) 反应产生乙酰丝氨酸(OAS)。然后 OAS 裂解酶(OAS-TL, 又称半胱氨酸合成酶)催化硫化物与 OAS 反应合成 Cys。Cys 的合成是硫同化的最后一个步骤^[1, 4, 5]。反应式^[1, 4, 5]如下:



SAT 和 OAS-TL 存在于植物细胞的溶质、叶绿体、线粒体中^[3]。现已查明, SAT 和 OAS-TL 间的交互作用在 Cys 合成调节中处于核心地位^[4]。OAS-TL 的浓度大约是 SAT 的 300 倍, 远远超过 SAT 的浓度^[14]。这表明只有一部分 OAS-TL 与 SAT 组成酶复合体。这是 Kredich^[14]在研究鼠伤寒沙门菌 (*Salmonella typhimurium*) 时首次发现的。酶复合体中束缚型 OAS-TL 的催化活性显著下降, 但其正向调节酶复合体中 SAT 的活性, 是 SAT 活性的亚调节单位, 而大量的游离型 OAS-TL 实际起催化 Cys 合成的作用。酶复合体的稳定性受 OAS 和硫化物的逆向控制。硫缺乏诱导 OAS 积累, 从而使复合体解离, 进而削弱 SAT 的活性, 最终导致 OAS 合成减少; 反过来, 增加硫素供应又促使硫化物积累, 于是酶复合体合成, 催化 OAS 合成最终产生 Cys。通过协调 Ser 向 OAS 的转化和硫酸盐的还原可使系统高效合成 Cys^[4,5]。

此外, Cys 合成途径终产物的特定异型体 (isoform) L-Cys 抑制 SAT 的活性, 但 D-Cys、Met 和 GSH 并不抑制 OAS 合成^[1]。

2 硫同化的调控

2.1 硫对硫同化的影响

硫对硫同化调节的分子机制还不清楚, 但通常认为硫同化受需求调控^[15-17], 即在硫缺乏或硫代谢产物需求升高时诱导或去抑制硫酸盐的吸收和同化活性。这意味着硫供应在正常水平下, 硫同化途径受到抑制, 硫酸盐供应受限制或生长、发育对硫需求升高时抑制消除。另外, 还原硫可为植株利用时, 受抑制程度也可减弱。

据研究, 硫酸盐缺乏导致植物细胞和植株的硫酸盐吸收和 ATPS、APR 活性急剧升高^[7, 18, 19], 籽粒贮存蛋白表达减弱^[20], 光合速率下降和蛋白质周转发生变化^[4], 某些生物体中硫清除机制诱导产生^[4]。增加硫酸盐后, APR 和 ATPS 活性快速恢复到正常水平^[18]。Northern 分析或 cDNA 阵列显示, 在缺硫情况下, 高亲和力硫酸盐运输蛋白、ATPS 和 APR 的 mRNA 增加^[21-23], 这表明去抑制是在转录水平上的调控。硫缺乏也可影响 SAT 的叶绿体异形体和 OAS-TL 的溶质异形体的 mRNA 水平^[24], 从而影响氨基酸受体 OAS 的合

成; 但也有报道认为 OAS-TL 活性不受影响^[19, 25]。

另一方面, 过量的硫对硫同化抑制更严重。浮萍 (*Lemna minor*) 培养液中的硫酸盐浓度增加 10% 时, APR 活性下降, 但 ATPS 不受影响。施加还原型硫, 如 SO₂、H₂S、Cys 或 GSH, 也可使硫酸盐吸收和同化大幅度下降^[13]。分别用 SO₂ 和 H₂S 薰蒸植物, 都能使 APR 活性下降, 但用 SO₂ 不影响 ATPS 活性, 所以硫酸盐吸收不受影响, 因而使叶中硫酸盐含量升高。施用 H₂S 可促进硫醇 (thiol) 积累, 硫酸盐吸收下降。施 Cys 的植株与施 H₂S 处理的反应相似, 这说明硫化物本身不调控硫酸盐吸收和同化, 必须结合到有机硫化物上才能调控^[24]。外部供应 GSH 也能使 Cys 积累, 这表明 Cys 和 GSH 可能控制硫酸盐吸收和同化。而在芸苔 (*Brassica napus*) 和白杨中发现调控信号是 GSH, 而不是 Cys。但在玉米中不产生 GSH 的情况下, Cys 也可调控 ATPS 的 mRNA 水平^[24]。

2.2 氮对硫同化的调控

人们很早就认识到硫同化途径与氮同化途径非常相似且相互协调, 两途径之间有密切的交互作用^[4, 6, 12, 26], 氮、硫中的某一种元素缺乏就抑制另一条途径^[12]。

在缺氮条件下, 浮萍和烟草培养细胞中的 ATPS、APR 和 OAS-TL 活性下降; 补施硝酸盐或氨后活性恢复^[12, 19]。后来, 也有人证实, 氮缺乏并不总是抑制 ATPS 活性, 但缺氮情况下 APR 活性却总是迅速下降的^[12]。由于营养液中增施 NH₄⁺, 所以用于蛋白质合成的氨基酸增多, 硫酸盐同化途径中的 ³⁵SO₄²⁻ 通量 (flux) 就会增加。通量增加是由于 APR 活性升高, 但 ATPS 和 OAS-TL 不受影响^[13]。同样, 增加 Arg、Asn 或 Gln 后, APR 活性升高^[24], 通量也会增加。施加氨或 Gln, 也会使缺氮拟南芥植株 ³⁵SO₄²⁻ 通量增加, 这主要是由于结合到蛋白质上的 ³⁵S 增加^[12]。有人认为, Cys 前体 OAS 来自碳和氮同化途径, 所以, 硫酸盐同化途径中最后一个酶 OAS-TL 是改变 ³⁵SO₄²⁻ 通量的最重要的酶^[12]。

以上试验是用植物细胞或浮萍为材料进行的, 排除了根系和根系 / 幼茎的交互作用。Koprivova 等^[12]用拟南芥在整株水平上研究氮源缺

乏和不同氮源对 APR 酶活性影响的结果表明, 持续 72 h 不施氮, 叶和根中 APR 活性分别下降至未处理植株的 70% 和 50%, 但 Cys 和 GSH 含量不受影响。Northern 和 Western 分析表明, APR 活性下降与 mRNA 和酶水平下降有关。植株生长和酶提取液中蛋白质浓度未受到影响, 表明拟南芥可以贮藏足够的氮来应付氮缺乏, Cys 和 GSH 浓度没有改变也证实了这一点。补施 NO_3^- 、 NH_4^+ 、Gln 或 OAS 后, 根系 APR 活性在 24 h 内可完全恢复。施加 OAS 后, 3 个 APR 异型体的 mRNA 水平显著增加, SiR、OAS-TL 和 SAT 的 mRNA 也升高。

氮素营养在转录水平上调控硫酸盐还原。Koprivova 等^[12]的工作表明, 拟南芥在缺氮条件下, APR 活性下降与 mRNA 和酶水平下降有关^[12], 缺氮还影响其它硫酸盐同化基因 mRNA 的积累^[26]。此外, 有试验表明, 菠菜在缺氮条件下 OAS-TL 线粒体同工型的 mRNA 增加^[27]。

给缺氮拟南芥植株施加 $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ 的试验表明, 氮源与 OAS 关系愈密切, 结合到蛋白质上的 ^{35}S 就愈多。所以, Koprivova 等^[12]认为 OAS 在硫酸盐和硝酸盐同化中起协调作用。给缺氮植株增加 NH_4^+ 、Gln 或 OAS, 根中结合到蛋白质中的 ^{35}S 显著增加, 同时施 Gln 和 OAS 或只施 OAS 的标记的 GSH 和 Cys 升高。根中 OAS 迅速代谢为 Cys, 然后进一步用于蛋白质和 GSH 的合成。根和叶中的 APR 活性和 ^{35}S 标记的化合物远不如根的 APR 活性和 ^{35}S 标记化合物大或多。这表明, OAS 主要是在根中代谢, 而后在短时间内运输到幼茎。与用其它化合物处理的植株相比, 用 OAS 处理的叶中 ^{35}S 标记 Cys 和 GSH 增加, 这是由于 $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ 运输到叶的活性较高或基于叶细胞中 OAS 驱动的硫酸盐还原已提高之果。

人们对缺氮条件下硫酸盐同化的生理效应已有了初步了解, 但氮过量对硫同化途径的影响研究尚少见报道, 有待进一步研究。

2.3 碳与硫同化的交互作用 硫化物是硫酸盐同化途径中氨基酸的受体, 但碳代谢物对硫同化的影响很少受到关注。人们早就认识到, 硫酸盐转化

为半胱氨酸是在光激发下进行的^[24], 绿叶中硫酸盐同化酶的活性和 mRNA 水平比黄化组织中的高^[24], ATPS 和 APR 的活性可在光诱导下产生^[28, 29]。在玉米和拟南芥中也观察到, 光周期开始之前, 硫酸盐运输蛋白、APR、SAT 和 3-磷酸甘油酸脱氢酶(质体 Ser 生物合成途径中的第 1 个酶)的表达量最高。光合作用开始时, 叶中的 ATP、电子和 3-磷酸甘油酸就产生, 而后分别用于 APS 的合成、亚硫酸盐的还原和 Ser 的合成^[24]。

所有这些报道都可归因于光的直接影响或光合作用产生的碳水化合物的间接调节。为了证明是光还是碳水化合物影响硫同化, Kopriva、Hesse 及其合作者做了大量的工作。Kopriva 等^[30]报道, 拟南芥植株置于黑暗中 36 h, 再恢复光照后, APR 活性诱导和 APR mRNA 开始积累。这种诱导不受激素调节, 但可以通过根系施蔗糖模拟产生。葡萄糖也能诱导暗适应(dark-adapted)植株的 APR 活性, 但山梨糖醇、甘露醇和 2-脱氧葡萄糖则不能诱导。这些结果表明, 糖直接作用 APR 而不是通过渗透胁迫; 己糖激酶调节的信号转导不司硫同化调控之责^[31]。糖与诱导黑暗中水萍类植物 APR 活性的 OAS 也以同样方式影响 APR 活性^[27]。Hesse 等^[31]比较葡糖、OAS 分施或同时施的结果表明, 给缺氮植株同时施加葡糖和 OAS 或单独施葡糖均可诱导 APR, 说明糖调节硫酸盐同化不受 OAS 限制。

Kopriva 等^[32]在没有 CO_2 的空气中种植的水萍类植物, 其 APR 活性和 mRNA 水平迅速下降。他们用蔗糖补充入营养液中, 证明是 APR 活性而不是 mRNA 积累的下降。另外, 施加 OAS 也可减缓 APR 的 mRNA 水平下降。施加 $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ 的试验证明, 暴露在无 CO_2 空气中, 硫酸盐吸收和硫酸盐同化的通量严重受抑制; 再补给空气或蔗糖后即可恢复, 但补给 OAS 则不能恢复。由此证明, 是碳水化合物而不是光调节硫酸盐同化。

2.4 激素、非生物逆境对硫同化的影响 某些植物激素参与硫代谢相关基因表达的调控。一些分析转录组的结果表明, 甲基茉莉酸和生长素是缺硫胁迫的信号^[21~23]。甲基茉莉酸可诱导硫同化基因

簇但不包括硫酸盐运输蛋白基因^[1]。硫缺乏诱导参与生长素生物合成的腈水解酶(nitrilase 3)产生,使根部形态学特征发生变化^[33]。细胞分裂素也可参与硫代谢相关基因的表达。有研究表明,细胞分裂素抑制拟南芥根中高亲和力和硫酸盐运输蛋白基因的表达^[34],施用细胞分裂素还可使APR的mRNA水平升高^[35],但细胞分裂素在细胞水平上受硫状态变化的影响并不显著^[1]。

非生物逆境如重金属和氧化胁迫也影响硫的同化。植物接触到重金属如镉后,植络素(γ -Glu-Cys)_n-Gly就会由GSH合成,而消耗Cys,从而促进硫同化基因和运输蛋白基因的表达^[35,36]。为缓解氧化胁迫,GSH可用以作为直接抗氧化剂或其它抗氧化剂如抗坏血酸的还原剂。

3 结语

在过去十几年中,人们对硫同化机制、硫同化基因和蛋白质及其调节已进行了广泛、深入的研究,并从许多植物中克隆出参与硫代谢的大多数单个基因和蛋白质,对硫代谢的调控也有了一定的了解。但研究结果仍较分散,硫同化调控机制还远不完善,尚待新的信号分子和转导途径的发现。对于下一步的研究,我们认为以下几个问题值得考虑:(1)硫代谢有关的整个基因-蛋白质-代谢产物网络的研究有待深入;(2)氮缺乏影响硫酸盐同化有了初步了解,但氮过量影响硫同化途径的报道尚少,有待进一步研究;(3)以基因工程的手段改善特定植物物种或品种的基因结构,提高植物对硫亏缺或富集等胁迫环境下的抗性,以及农作物终产品的品质,最大限度地提高硫的利用效率也应考虑;(4)自然界硫的内在机制及其与人类活动的关系也值得探讨,这对维护和改善生态环境,促进可持续发展很重要。

参考文献

- Saito K. Sulfur assimilatory metabolism. The long and smelling road. *Plant Physiol*, 2004, 136: 2443~2450
- Zhao FJ, Hawkesford MJ, McGrath SP. Sulfur assimilation and effects on yield and quality of wheat. *J Cereal Sci*, 1999, 30: 1~17
- Saito K. Regulation of sulfate transport and synthesis of sulfur-containing amino acids. *Curr Opin Plant Biol*, 2000, 3: 188~195
- Leustek T, Martin MN, Bick JA et al. Pathways and regulation of sulfur metabolism revealed through molecular and genetic studies. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 2000, 51: 141~159
- Leustek T, Saito K. Sulfate transport and assimilation in plants. *Plant Physiol*, 1999, 120: 637~644
- Hawkesford MJ. Transporter gene families in plants: the sulphate transporter gene family: redundancy or specialization? *Physiol Plant*, 2003, 117: 155~163
- Smith FW, Hawkesford MJ, Ealing PM et al. Regulation of expression of a cDNA from barley roots encoding a high affinity sulphate transporter. *Plant J*, 1997, 12: 875~884
- Smith FW, Ealing PM, Hawkesford MJ et al. Plant members of a newly defined family of sulfate transporters reveal functional subtypes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 9373~9377
- Yoshimoto N, Takahashi H, Smith FW et al. Two distinct high-affinity sulfate transporters with different inducibilities mediate uptake of sulfate in *Arabidopsis* roots. *Plant J*, 2002, 29: 465~473
- Takahashi H, Watanabe-Takahashi A, Smith FW et al. The roles of three functional sulphate transporters involved in uptake and translocation of sulphate in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 2000, 23: 171~182
- Yoshimoto N, Inoue E, Saito S et al. Phloem-localizing sulfate transporter, Sultr1;3, mediates redistribution of sulfur from source to sink organs in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2003, 131: 1511~1517
- Koprivova A, Suter M, Op den Camp R et al. Regulation of sulfate assimilation by nitrogen in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2000, 122: 737~746
- Kopriva S, Koprivova A. Plant adenosine 5'-phosphosulphate reductase: the past, the present, and the future. *J Exp Bot*, 2004, 55: 1775~1783
- Kredich NM. Biosynthesis of cysteine. In: Neidhardt FC, Curtiss R, Ingraham JL et al (eds). *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*: Cellular and Molecular Biology. Washington DC: ASM Press, 1996. 514~527
- Herschbach C, van der Zalm E, Schneider A et al. Regulation of sulphur nutrition in wild-type and transgenic poplar trees over-expressing γ -glutamylcysteine synthetase in the cytosol as affected by atmospheric H₂S. *Plant Physiol*, 2000, 124: 461~474
- Vauclare P, Kopriva S, Fell D et al. Flux control of sulphate assimilation in *Arabidopsis thaliana*: adenosine 5'-phosphosulphate reductase is more susceptible to negative control by

- thiols than ATP sulphurylase. *Plant J*, 2002, 31: 729~740
- 17 Westerman S, Stulen I, Suter M et al. Atmospheric H₂S as sulphur source for *Brassica oleracea*: consequences for the activity of the enzymes of the assimilatory sulphate reduction pathway. *Plant Physiol Biochem*, 2001, 39: 425~432
- 18 Reuveny Z, Filner P. Regulation of ATP sulphurylase in cultured tobacco cell. *J Biol Chem*, 1977, 252: 1858~1864
- 19 Smith IK. Regulation of sulfate assimilation in tobacco cells: Effect of nitrogen and sulfur nutrition on sulfate permease and *O*-acetylserine sulfhydrylase. *Plant Physiol*, 1980, 66: 877~883
- 20 Fujiwara T, Hirai M, Chino M et al. Effects of sulfur nutrition on expression of the soybean seed storage protein genes in transgenic *Petunia*. *Plant Physiol*, 1992, 99: 263~268
- 21 Hirai MY, Fujiwara T, Awazuha M et al. Global expression profiling of sulfur-starved *Arabidopsis* by DNA macroarray reveals the role of *O*-acetyl-L-serine as a general regulator of gene expression in response to sulfur nutrition. *Plant J*, 2003, 33: 651~663
- 22 Maruyama-Nakashita A, Inoue E, Watanabe-Takahashi A et al. Transcriptome profiling of sulfur-responsive genes in *Arabidopsis* reveal global effects of sulfur nutrition on multiple metabolic pathways. *Plant Physiol*, 2003, 132: 597~605
- 23 Nikiforova V, Freitag J, Kempa S et al. Transcriptome analysis of sulfur depletion in *Arabidopsis thaliana*: interlacing of biosynthetic pathways provides response specificity. *Plant J*, 2003, 33: 633~650
- 24 Kopriva S, Rennenberg H. Control of sulphate assimilation and glutathione synthesis: interaction with N and C metabolism. *J Exp Bot*, 2004, 55: 1831~1842
- 25 Takahashi H, Saito K. Subcellular localization of spinach cysteine synthase isoforms and regulation of their gene expression by nitrogen and sulfur. *Plant Physiol*, 1996, 112: 273~280
- 26 Yamaguchi Y, Nakamura T, Harada E et al. Differential accumulation of transcripts encoding sulfur assimilation enzymes upon sulfur and/or nitrogen deprivation in *Arabidopsis thaliana*. *Biosci Biotech Biochem*, 1999, 63: 762~766
- 27 Takahashi H, Sasakura N, Noji M et al. Isolation and characterization of a cDNA encoding a sulfate transporter from *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett*, 1996, 392: 95~99
- 28 Passera C, Ghisi R, Ferretti M. Light-activation of ATP sulphurylase in leaves and chloroplasts of *Zea mays*. *Photosynthetica*, 1989, 23: 166~172
- 29 Neuenschwander U, Suter M, Brunold C. Regulation of sulfate assimilation by light and *O*-acetyl-L-serine in *Lemna minor* L. *Plant Physiol*, 1991, 97: 253~258
- 30 Kopriva S, Muheim R, Koprivova A et al. Light regulation of assimilatory sulphate reduction in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 1999, 20: 37~44
- 31 Hesse H, Trachsel N, Suter M et al. Effect of glucose on assimilatory sulfate reduction in roots of *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot*, 2003, 54: 1701~1709
- 32 Kopriva S, Suter M, von Ballmoos P et al. Interaction of sulfate assimilation with carbon and nitrogen metabolism in *Lemna minor*. *Plant Physiol*, 2002, 130: 1406~1413
- 33 Kutz A, Müller A, Hennig P et al. A role of nitrilase 3 in the regulation of root morphology in sulphur-starving *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 2002, 30: 95~106
- 34 Maruyama-Nakashita A, Nakamura Y, Yamaya T et al. A novel regulatory pathway of sulfate uptake in *Arabidopsis* roots: implication of CRE1/WOL/AHK4-mediated cytokinin-dependent regulation. *Plant J*, 2004, 38: 779~789
- 35 Ohkama N, Takaei K, Sakakibara H et al. Regulation of sulfur-responsive gene expression by exogenously applied cytokinins in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 2002, 43: 1493~1501
- 36 Domínguez-Solís JR, Gutiérrez-Alcalá G, Romero LC et al. The cytosolic *O*-acetylserine (thiol) lyase gene is regulated by heavy metals and can function in cadmium tolerance. *J Biol Chem*, 2001, 276: 9297~9302