

拟南芥莲座叶芥子油苷含量对水分胁迫的响应

任 欢¹, 钟海秀¹, 戴绍军¹, 陈思学², 阎秀峰^{1,*}

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

2. 佛罗里达大学植物学系, 盖恩斯维尔 FL 32611, USA)

摘要: 芥子油苷 (glucosinolates) 是十字花科植物中一类含氮、含硫的次生代谢产物, 与其水解产物在植物防御功能中有重要意义且与环境因子关系密切。通过控制供水的方式对营养生长时期的拟南芥幼苗进行水分胁迫, 观察了土壤自然干旱对营养生长时期拟南芥莲座叶芥子油苷含量及组成的影响。结果表明, 土壤自然干旱处理下, 拟南芥莲座叶的芥子油苷总量从处理 3 d 起低于对照, 且随着处理天数的增加与对照组的差异逐渐增大, 脂肪族芥子油苷的响应均比较明显, 与芥子油苷总量的变化趋势基本一致, 而吲哚族芥子油苷对水分胁迫则不敏感。脂肪族中的 4-甲基亚磺酰丁基芥子油苷 (4-methylsulphinylbutyl GS, 4MSOB) 占脂肪族芥子油苷的比例最大, 它的含量变化成为影响莲座叶中芥子油苷组合模式的主导因素。

关键词: 拟南芥; 芥子油苷; 水分胁迫

文章编号: 1000-0933 (2009) 08-4372-08 中图分类号: Q948.11 文献标识码: A

Water stress on glucosinolate contents in *Arabidopsis* rosette leaves

REN Huan¹, ZHONG Hai-Xiu¹, DAI Shao-Jun¹, CHEN Si-Xue², YAN Xiu-Feng^{1,*}

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

2 Department of Botany, University of Florida, Gainesville, FL 32611, USA

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(8): 4372 ~ 4379.

Abstract: Glucosinolates are nitrogen- and sulfur-containing specialized metabolites found in the plant order Capparales, which includes cruciferous plants. Glucosinolates and their degradation products play important roles in plant defense and in interactions with the environment. Here we report the effect of soil water stress on glucosinolate content in rosette leaves of *Arabidopsis thaliana* during the vegetative stage. The results showed that the water stress treatment caused a significant reduction in glucosinolate levels in rosette leaves of *A. thaliana* compared to well-irrigated control samples after 3 days of treatment. The differences between control and treatment became increasingly more significant over time, with both total and aliphatic glucosinolate content affected. Indole glucosinolates did not exhibit significant response to water stress. The content of 4-methylsulphinylbutyl glucosinolate (4MSOB) in rosette leaves was the highest among all the aliphatic glucosinolates detected. The decrease in the contents of 4MSOB after water stress is a main factor that affected the overall glucosinolate profile in the rosette leaves.

Key Words: *Arabidopsis thaliana*; glucosinolates; water stress

芥子油苷 (glucosinolates, GS), 也称硫代葡萄糖苷, 是十字花科 (Brassicaceae) 植物中重要的次生代谢产物^[1]。根据氨基酸来源的不同, 芥子油苷通常分为脂肪族、芳香族和吲哚族三大类^[2]。当植物组织受到损伤

基金项目: 国家自然科学基金海外青年学者合作研究基金资助项目 (30528013); 国家自然科学基金资助项目 (30670325); 国家新世纪优秀人才支持计划资助项目 (NCET-05-0328)

收稿日期: 2008-05-26; 修订日期: 2009-02-12

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xfyang@mail.hl.cn

时,芥子油苷会被内源芥子酶水解,产生异硫氰酸酯(isothiocyanates)、硫氰酸酯(thiocyanates)和腈类(nitriles)等化合物^[3,4]。这些水解产物有许多功能,可抑制微生物生长并防御某些昆虫的取食,有些还具有抗癌作用^[5]。芥子油苷及其水解产物也是影响油菜种子品质和十字花科蔬菜风味的重要因素^[6]。

作为植物次生代谢产物的芥子油苷是十字花科植物在长期进化过程中对环境适应的产物,已有研究表明昆虫、激素、温度、光质等环境因子影响芥子油苷的代谢^[7~11]。水分是维持植物生存的重要环境因子^[12],但有关芥子油苷的代谢对水分环境的响应规律,目前尚知之甚少。有报道开花期水分胁迫影响十字花科油料作物如油菜(*Brassica napus*)等种子中的芥子油苷含量^[13~15],而种子中的芥子油苷很大程度上来源于叶片等营养器官^[16],但至今尚缺乏水分胁迫对十字花科植物营养器官中芥子油苷含量影响的研究。本项工作通过土壤自然干旱处理对模式植物拟南芥进行水分胁迫,初步分析拟南芥莲座叶中芥子油苷含量及组分对水分胁迫的响应规律。

1 材料和方法

1.1 植物材料培养及处理

试验所用拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)为哥伦比亚野生型(Columbia ecotype),种子由中国科学院植物研究所惠赠。

种子消毒冲洗后,置4℃冰箱中3~4 d打破休眠,播种于盛有土壤与蛭石混合物(体积比4:1)的花盆中,在自动控制温室中培养(人工光照15 L/9 D,光量子通量密度约150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,温室温度19~26℃,空气相对湿度50%~70%),在生长过程中保持充分的水分供应。待长出18~20片莲座叶(未抽薹)时挑选长势一致的幼苗分为两组,对照组正常供水(采用称重法控制土壤含水量保持恒定),处理组停止浇水。每3 d采样1次(4盆重复,每盆1株),同时取根系周围土壤测定土壤含水量(水分占湿土重百分比,烘干称重法),并测定单株叶片生物量,共持续12 d。

1.2 芥子油苷的提取及测定

芥子油苷提取参照 Petersen 等^[17]的方法。样品约100 mg放入十字匀浆器(内盛1 mL 70%甲醇,色谱纯)置于80℃恒温水浴10 min后研成匀浆,转入1.5 mL离心管,加入50 μL 5 mmol·L⁻¹的苯甲基芥子油苷(benzylglucosinolate,Phytoflan公司)作为内标,振荡1 min,80℃恒温水浴10 min,振荡5 min,4℃离心10 min(4000 rpm),取上清液。用70%甲醇重复提取十字匀浆器中的剩余物2次,合并所有上清液用DEAE Sephadex A25(Amersham Biosciences公司)纯化,加入硫酸酯酶(Sulfatase from *Helix Pomati* 100KU, Sigma公司)25℃反应14 h,3 mL超纯水洗脱,冷冻干燥后以150 μL 超纯水溶解,离心20 min(18000 g),上清液用于芥子油苷测定。

利用 Waters 高效液相色谱(1525 梯度洗脱泵、717 自动进样器、2996 二极管阵列检测器)检测脱硫芥子油苷,以扫描波长229 nm时的相对峰面积(待鉴定物质峰面积与内标峰面积的比值)计算各种芥子油苷含量。Discovery C18 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm ; Supelco 公司),流动相 A(超纯水)和流动相 B(甲醇,色谱纯)梯度洗脱(0→2 min,0% B;3 min→50 min,0% B→60% B;51 min→53 min,60% B→100% B;54 min→56 min,100% B;57 min→60 min,100% B→0% B),流速1 mL·min⁻¹,检测波长190~370 nm。

参照 Peterson 等^[18]和 Chen 等^[19]的方法,通过比对保留时间、UV 光谱和相对峰面积鉴定各种芥子油苷,利用 Applied Biosystems 4000QTRAP 串联质谱的增强分辨扫描和中性离子丢失扫描(葡萄糖基团 m/z 162.2)模式通过分析母离子质量和相应片段峰谱完成各种芥子油苷的准确鉴定^[20]。

2 结果与分析

2.1 拟南芥莲座叶芥子油苷的组成

在采样时期内(18~20片莲座叶)检测出9种芥子油苷,其中脂肪族芥子油苷5种,包括:3-甲基亚磺酰丙基芥子油苷(3-methylsulphinylpropyl glucosinolate,3MSOP)、4-甲基亚磺酰丁基芥子油苷(4-methylsulphinylbutyl glucosinolate,4MSOB)、5-甲基亚磺酰戊基芥子油苷(5-methylsulphinylpentyl glucosinolate,5MSOP)、6-甲基

亚磺酰己基芥子油苷(6-methylsulphinylhexyl glucosinolate, 6MSOH)和8-甲基亚磺酰辛基芥子油苷(8-methylsulphinyl-octyl glucosinolate, 8MSOO); 吲哚族芥子油苷4种, 包括: 4-羟基吲哚基-3-甲基芥子油苷(4-hydroxyindol-3-ylmethyl glucosinolate, 4OHI3M)、吲哚基-3-甲基芥子油苷(Indol-3-ylmethyl glucosinolate, I3M)、4-甲氧吲哚基-3-甲基芥子油苷(4-methoxyindol-3-ylmethyl glucosinolate, 4MTI3M)和1-甲氧吲哚基-3-甲基芥子油苷(1-methoxyindol-3-ylmethyl glucosinolate, 1MTI3M), 未检测到芳香族芥子油苷。

其中, 4MSOB 为脂肪族中含量最高的一种芥子油苷(约占脂肪族芥子油苷总量的 72%), 吲哚族中含量最高的为 I3M(约占吲哚族芥子油苷总量的 70%), 而 5MSOP、6MSOH、4OHI3M 和 1MTI3M 的含量相对较少, 只占芥子油苷总量的 1% 左右甚至更低(图 1)。

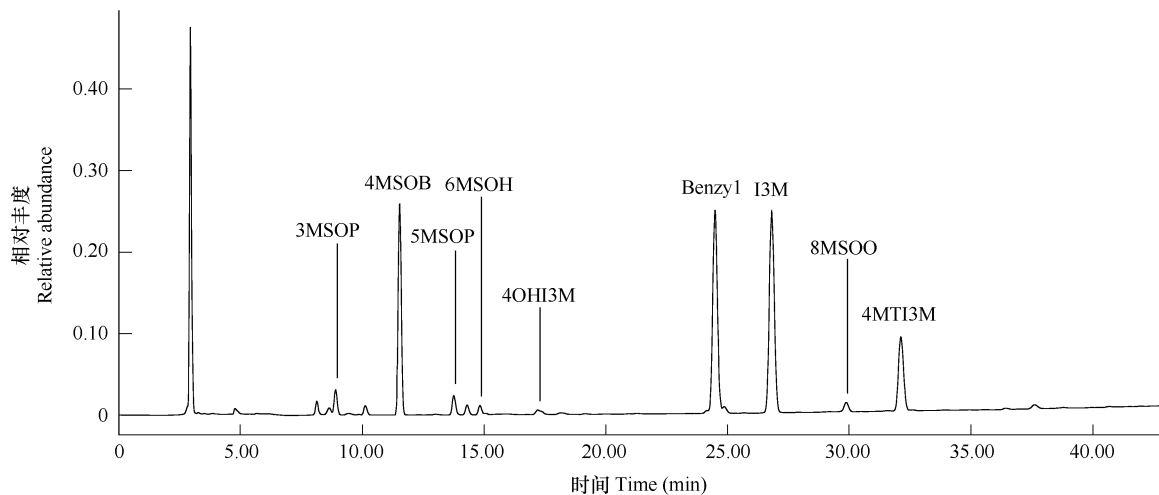


图 1 Discovery C18 色谱柱分离的拟南芥莲座叶中芥子油苷的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC separation of glucosinolates in rosette leaves of *Arabidopsis thaliana* with Discovery C18 column

3MSOP: 3-甲基亚磺酰丙基芥子油苷(3-methylsulphinylpropyl GS); 4MSOB: 4-甲基亚磺酰丁基芥子油苷(4-methylsulphinylbutyl GS); 5MSOP: 5-甲基亚磺酰戊基芥子油苷(5-methylsulphinylpentyl GS); 6MSOH: 6-甲基亚磺酰己基芥子油苷(6-methylsulphinylhexyl GS); 4OHI3M: 4-羟基吲哚基-3-甲基芥子油苷(4-hydroxyindol-3-ylmethyl GS); Benzyl: 苯甲基芥子油苷(benzylglucosinolate); I3M: 吲哚基-3-甲基芥子油苷(Indol-3-ylmethyl GS); 8MSOO: 8-甲基亚磺酰辛基芥子油苷(8-methylsulphinyl-octyl GS); 4MTI3M: 4-甲氧吲哚基-3-甲基芥子油苷(4-methoxyindol-3-ylmethyl GS); 1MTI3M: 1-甲氧吲哚基-3-甲基芥子油苷(1-methoxyindol-3-ylmethyl GS)

2.2 土壤自然干旱对拟南芥莲座叶生物量和芥子油苷含量的影响

停止供水 12 d 后, 土壤含水量由 62.1% 降低至 54.9%, 此时, 拟南芥幼苗达到轻度萎蔫状态。正常供水的土壤含水量比较稳定, 为 61% ~ 63% (图 2)。

土壤自然干旱对拟南芥幼苗的生长及叶片的生物量有明显影响。在正常供水条件下, 拟南芥叶片鲜重和干重随着植株的生长均呈现逐渐增加的趋势, 其中叶片鲜重由 0.654 g 增加至 0.759 g, 叶片干重由 0.049 g 增至 0.058 g。干旱处理下的拟南芥幼苗生长缓慢, 叶片鲜重随干旱胁迫时间的增加而逐渐下降, 由处理前的 0.654 g 降至 0.367 g, 叶片干重变化不大, 始终处于 0.050 g 左右(图 2)。这说明干旱胁迫导致拟南芥幼苗生长缓慢, 叶片中水分含量降低。

干旱处理后, 测定了不同处理天数下拟南芥莲座叶中 9 种芥子油苷含量的变化, 并比较了对照组与干旱处理组中脂肪族、吲哚族和芥子油苷总量的变化差异。在处理时期内, 对照组拟南芥莲座叶中芥子油苷总量随着发育进程有逐渐增加的趋势, 不过处理第 9 天时增加幅度较大。干旱组拟南芥莲座叶中芥子油苷总量与对照组有相似的变化趋势, 然而增加的幅度要小于对照组, 从处理第 3 天起开始低于对照(对照组为干旱组的 1.4 倍), 且差异显著($p < 0.05$), 在处理第 9 天时与对照组之间差异最大, 此时对照组叶片中芥子油苷总量为干旱组的 1.8 倍左右(图 3)。

脂肪族芥子油苷总量与芥子油苷总量表现一致, 从处理第 3 天起开始低于对照, 并从处理 9 天起与对照

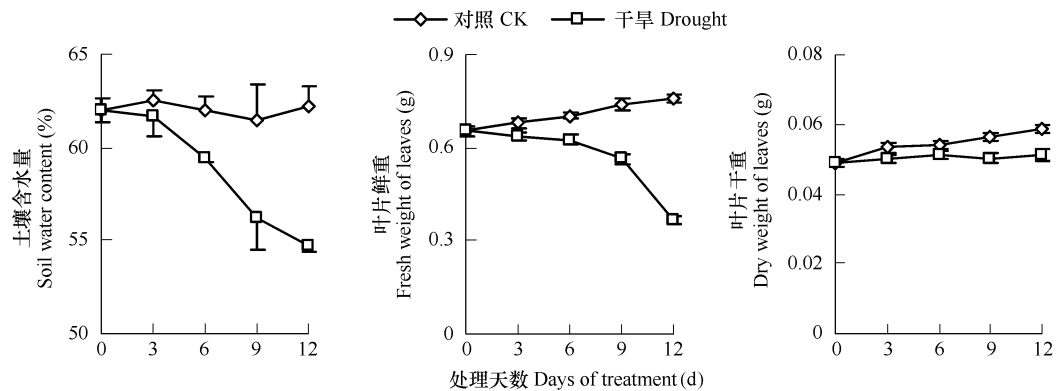


图2 土壤自然干旱下土壤含水量及拟南芥单株叶片生物量的变化

Fig. 2 Change of soil water content and leaf biomass of *Arabidopsis thaliana* during soil water stress

的差异达到显著水平($p < 0.05$)。脂肪族 5 种芥子油苷含量的变化规律并不相同,其中在脂肪族中占有较大比例的 3MSOP 及 4MSOB 与脂肪族芥子油苷总量有相同的变化趋势,都是在处理第 3 天起表现出含量低于对照。而 5MSOP 和 6MSOH 在处理 3 d 和 6 d 均高于对照,处理第 9 天起才表现出低于对照。8MSOO 含量随生长发育进程的变化幅度较大,在处理 6 d 和 12 d 时低于对照组,且差异显著($p < 0.05$) (图 3)。

吡啶族芥子油苷总量的变化情况与脂肪族有所不同,其含量变化较为平缓,在处理第 3 天时低于对照且差异显著($p < 0.05$),但后期接近对照水平。4 种吡啶族芥子油苷含量的变化也不相同。I3M 的含量在干旱胁迫 3 d 时与对照组差异显著($p < 0.05$),4MTI3M 和 1MTI3M 在干旱胁迫 12 d 时与对照组差异显著($p < 0.05$),三者及其它时间点与对照组差异均不显著。而干旱胁迫对 4OHI3M 的含量没有显著影响(图 3)。

从整体上看,土壤干旱不利于拟南芥莲座叶中芥子油苷的积累,但相对于脂肪族芥子油苷,吡啶族芥子油苷对土壤干旱不够敏感。

2.3 土壤自然干旱对各种芥子油苷占芥子油苷总量比例的影响

各种芥子油苷占芥子油苷总量的比例不仅随着生长时期有所变化,而且受到水分胁迫的影响(图 4)。在对照组中,在脂肪族和吡啶族中分别占有最大比例的 4MSOB 和 I3M 随生长时期的变化最为明显。4MSOB 的比例逐渐增加,在第 9 天时达到最大值(58.96%),在 12 d 时稍有下降(34.54%),但仍高于 0 d (27.20%)。I3M 在 0 d 时所占比例最大(43.23%),9 d 时比例达到最小值(25.53%),在 12 d 时稍有升高(34.37%)。3MSOP 和 4MTI3M 的比例变化与 I3M 相似,在第 9 天时比例最大。8MSOO 在 3 d 和 9 d 时所占比例都很少,分别占 0.41% 和 0.61%。而 5MSOP、6MSOH、4OHI3M 和 1MTI3M 占芥子油苷总量的比例很小,虽然它们的比例随着生长发育表现出了波动,但是变化不明显。在水分胁迫条件下,各种芥子油苷所占比例的变化情况与对照组有一定的差异(图 4)。4MSOB 的比例在 0 ~ 6 d 时变化趋势与对照组相同,而在第 9 天时不再升高(28.17%),变为迅速下降,在 12 d 时达到最小值(24.71%)。同时,I3M 的比例也发生变化,在 9 d 时迅速升高,达到最大(50.23%)。3MSOP 所占比例与对照组相似,在 9 d 时比例最小。4MTI3M 与 I3M 的变化情况相同,在 9 d 时比例升高达到最大值。

3 讨论

土壤含水量不仅影响植物基础代谢和生长发育^[21],而且影响植物次生代谢产物的含量^[22]。长期以来,人们对有水分胁迫带来的植物体形态、生物量、生理代谢和遗传特性的变化及其信号传导的分子生物学机制进行了广泛的研究^[23,24],但对于干旱胁迫与植物次生代谢产物关系的研究较少^[22]。芥子油苷是十字花科植物的主要次生代谢产物之一,它不仅是植物主要的防御物质,而且会影响一些作物的风味和品质^[25]。虽然人们已经分析了温度、光质等非生物因素和昆虫等生物因素对植物体内芥子油苷含量的影响^[26],但是有关水分胁迫对芥子油苷含量影响的报道较少。Jensen 等^[13]采用土壤自然干旱的方式研究了油菜生长早期(营养生长

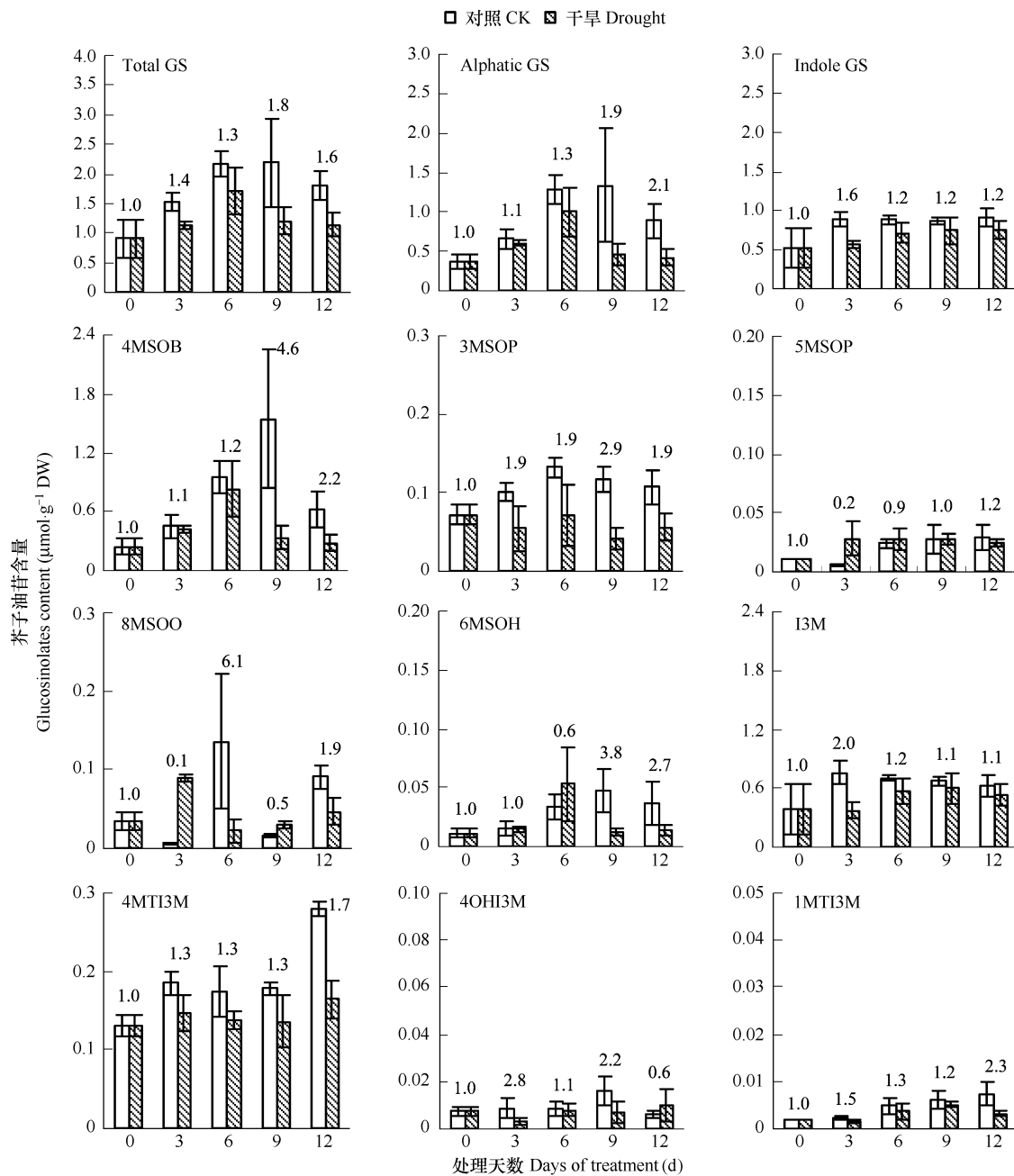


图3 土壤自然干旱下拟南芥莲座叶中芥子油苷含量变化

Fig. 3 Changes of glucosinolates content in rosette leaves of *Arabidopsis thaliana* during soil water stress

图中数字代表芥子油苷含量的比值(对照组/干旱组); Aliphatic GS: 脂肪族芥子油苷; Indole GS: 吲哚族芥子油苷; Total GS: 芥子油苷总量; 3MSOP, 4MSOB, 5MSOP, 6MSOH, 4OHI3M, I3M, 8MSOO, 4MTI3M, 1MTI3M 见图1 Different numbers within the graph represent the ratio of glucosinolates content (CK/Drought); Aliphatic GS: Aliphatic glucosinolate; Indole GS: Indole glucosinolate; Total GS: Total glucosinolate; 3MSOP, 4MSOB, 5MSOP, 6MSOH, 4OHI3M, I3M, 8MSOO, 4MTI3M, 1MTI3M See Fig. 1

期及开花期)和晚期(荚果充盈期)对水分胁迫的响应,结果表明早期水分胁迫会严重影响种子中的芥子油苷总含量,但短期的胁迫(少于6 d)并不导致芥子油苷总含量变化,只有较长时间的干旱(土壤水势下降到 -1.4 MPa 以下,油菜叶片相对含水量下降到82%以下)才使收获种子中的芥子油苷总含量明显升高,由此他们认为胁迫强度是影响芥子油苷含量的决定性因素,持续的轻度水分胁迫不会引起芥子油苷含量的升高。结合 Strocher 等^[27]的实验结果他进一步推测,伴随着土壤水势的下降,当油菜叶片相对含水量会下降到82%以

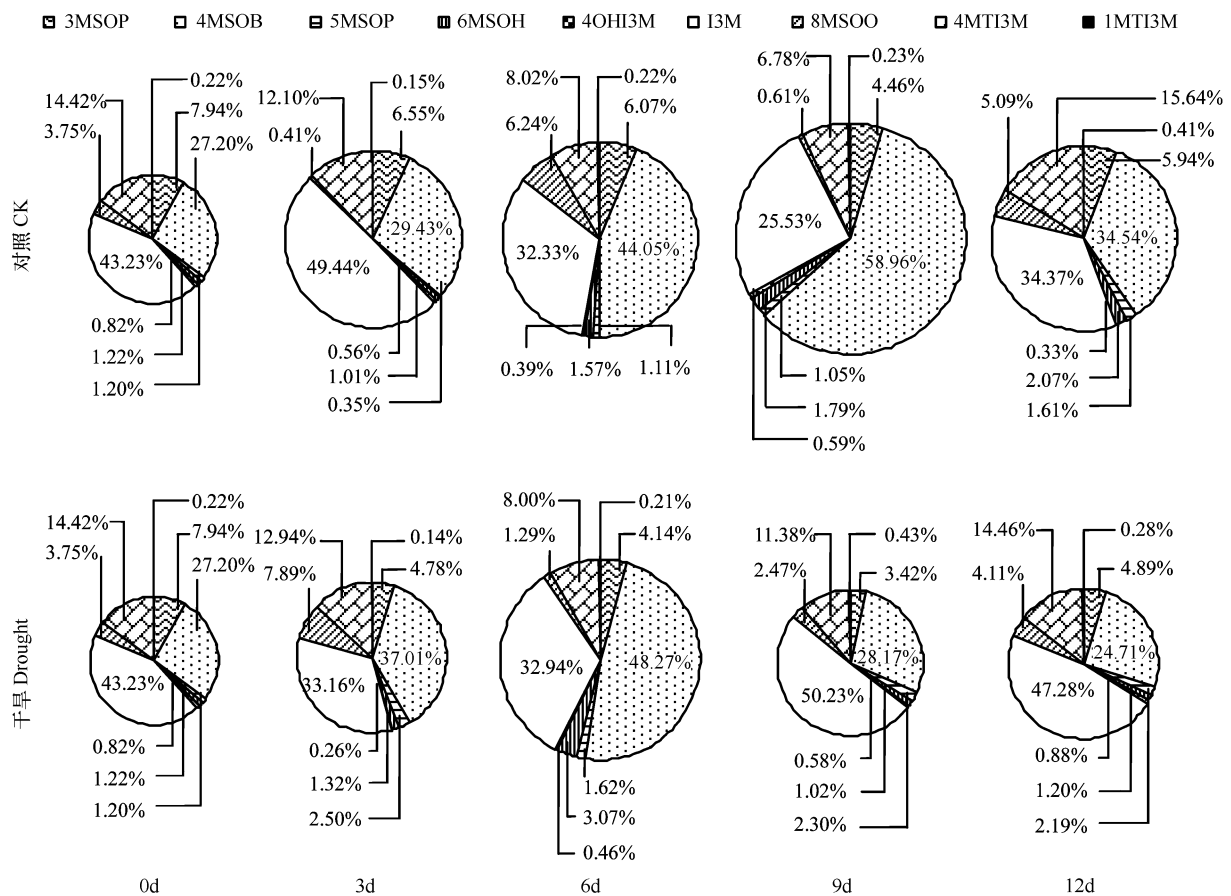


图4 土壤自然干旱下拟南芥莲座叶中9种芥子油苷占总芥子油苷比例

Fig. 4 The proportion of 9 species of glucosinolate in rosette leaves of *Arabidopsis thaliana* under soil water stress

图中圆形面积代表芥子油苷总含量,每一个扇形区的面积代表了每种芥子油苷占芥子油苷总含量的比例 The area of circle represents the total content of glucosinolate, every area of sector represents the proportion of a single glucosinolate

下时, *btg-26* 基因的大量表达可能导致许多渗透保护性物质的产生,从而对油菜种子中芥子油苷含量的增加起到重要作用^[13]。

由于种子中的芥子油苷大部分来自叶片及其它营养器官^[16],因此叶片中芥子油苷含量的变化应该是种子中芥子油苷含量改变的重要原因。通过控制灌溉的方式对营养生长时期的拟南芥幼苗进行土壤自然干旱处理,初步分析了水分胁迫后拟南芥莲座叶中芥子油苷含量变化规律。结果表明,土壤自然干旱处理下,拟南芥莲座叶的芥子油苷总量从处理3 d起低于对照,且随着处理天数的增加与对照组的差异逐渐增大,在处理第9天时与对照组之间差异最大。不同类群的芥子油苷总量变化具有不同的规律,脂肪族芥子油苷总量的变化比较明显,与芥子油苷总量的变化趋势基本一致,而吲哚族芥子油苷总量变化不大。由此可见,土壤自然干旱未引起芥子油苷含量增加,反而与对照组相比略有下降(图3),这可能源于胁迫强度较低、尚未引发防御反应的缘故。此外,结果反映了水分胁迫对莲座叶中不同种类芥子油苷的影响存在差异,4MSOB、8MSOO和6MSOH含量变化比较显著,这为深入研究芥子油苷对干旱胁迫的响应提供了依据。

结果还表明,芥子油苷组合模式(各种芥子油苷含量占芥子油苷总量的比例)受到水分胁迫的影响。在正常生长过程中,拟南芥莲座叶中芥子油苷的组合模式随着植株的生长会呈现一定规律的变化(图4),而在干旱处理条件下这种变化规律受到影响,如4MSOB、I3M和4MTI3M所占的比例都发生了变化。曾有报道表明植物可以通过改变体内芥子油苷的组合模式来防御昆虫^[3],最近的研究也表明,拟南芥在受到机械损伤或NaCl胁迫条件下,叶片中芥子油苷的组合模式也发生变化^[28,29]。拟南芥通过增加叶片中4OHI3M、4MSOB、

3MSOP 和 4MTI3M 等芥子油苷的比例来应对机械损伤^[28]。NaCl 胁迫条件下,拟南芥叶片中的 4MSOB 等芥子油苷的比例也发生变化^[29]。由此可见,这种芥子油苷组合模式的变化不仅在水分胁迫条件下表现出了多样性,而且对植物适应其它外界环境变化也具有重要意义^[30]。

References:

- [1] Rodman J E, Soltis P S, Soltis D E, Sytsma K J, Karol K G. Parallel evolution of glucosinolate biosynthesis inferred from congruent nuclear and plastid gene phylogenies. *American Journal of Botany*, 1998, 85: 997—1006.
- [2] Fahey J W, Zalcman A T, Talalay P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, 2001, 56: 5—51.
- [3] Rask L, Andréasson E, Ekblom B, Eriksson S, Pontoppidan B, Meijer J. Myrosinase: gene family evolution and herbivore defense in Brassicaceae. *Plant Molecular Biology*, 2000, 42: 93—114.
- [4] Yan X F, Chen S X. Regulation of plant glucosinolate metabolism. *Planta*, 2007, 226: 1343—1352.
- [5] Verhoeven D T H, Verhagen H, Goldbohm R A, van den Brandt P A, van Poppel G. A review of mechanisms underlying anticarcinogenicity by brassica vegetables. *Chemico-Biological Interactions*, 1997, 103(2): 79—129.
- [6] Mithen R. Glucosinolates-biochemistry, genetics and biological activity. *Plant Growth Regulation*, 2001, 34(1): 91—103.
- [7] Jander G, Cui J P, Nhan B, Pierce N E, Ausubel F M. The TASTY locus on chromosome 1 of *Arabidopsis* affects feeding of the insect herbivore *Trichoplusia ni*. *Plant Physiology*, 2001, 126: 890—898.
- [8] Lambrix V, Reichelt M, Mitchell-Olds T, Kliebenstein D J, Gershenzon J. The *Arabidopsis* epithiospecifier protein promotes the hydrolysis of glucosinolates to nitriles and influences *Trichoplusia ni* herbivory. *Plant Cell*, 2001, 13: 2793—2808.
- [9] Charron C S, Sams C E. Glucosinolate content and myrosinase activity in rapid-cycling *Brassica oleracea* grown in a controlled environment. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 2004, 129(3): 321—330.
- [10] Yamada K, Hasegawa T, Minami E, Shibuya N, Kosemura S, Yamamura S, Hasegawa K. Induction of myrosinase gene expression and myrosinase activity in radish hypocotyls by phototropic stimulation. *Journal of Plant Physiology*, 2003, 160(3): 255—259.
- [11] Harvey J A, Gols R, Wagenaar R, Bezemer T M. Development of an insect herbivore and its pupal parasitoid reflect differences in direct plant defense. *Journal of Chemical Ecology*, 2007, 33(8): 1556—1569.
- [12] Seki M, Narusaka M, Abe H, Kasuga M, Yamaguchi-Shinozaki K, Carninci P, Hayashizaki Y, Shinozaki K. Monitoring the expression pattern of 1300 *Arabidopsis* genes under drought and cold stresses by using a full-length cDNA microarray. *Plant Cell*, 2001, 13(1): 61—72.
- [13] Jensen C R, Mogensen V O, Mortensen G, Fieldsend J K, Milford G F J, Andersen M N, Thage J H. Seed glucosinolate, oil and protein contents of field-grown rape (*Brassica napus* L.) affected by soil drying and evaporative demand. *Field Crops Research*, 1996, 47(2): 93—105.
- [14] Champolivier L, Merrien A. Effects of water stress applied at different growth stages to *Brassica napus* L. var *oleifera* on yield, yield components and seed quality. *European Journal of Agronomy*, 1996, 5(3): 153—160.
- [15] Bouchereau A, Clossais-Besnard N, Bensaoud A, Lepot L, Renard M. Water stress effects on rapeseed quality. *European Journal of Agronomy*, 1996, 5(1): 19—30.
- [16] Brown P D, Tokuhisa J G, Reichelt M, Gershenzon J. Variation of glucosinolate accumulation among different organs and developmental stages of *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry*, 2003, 62(3): 471—481.
- [17] Petersen B L, Andreasson E, Bak S, Agerbirk N, Halkier B A. Characterization of transgenic *Arabidopsis thaliana* with metabolically engineered high levels of p-hydroxybenzylglucosinolate. *Planta*, 2001, 212(4): 612—618.
- [18] Petersen B L, Chen S X, Hansen C H, Olsen C E, Halkier B A. Composition and content of glucosinolates in developing *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 2002, 214(4): 562—571.
- [19] Chen S X, Glawischnig E, Jorgensen K, Naur P, Jorgensen B, Olsen C E, Rasmussen H, Pickett J A, Halkier B A. CYP79F1 and CYP79F2 have distinct functions in the biosynthesis of aliphatic glucosinolates in *Arabidopsis*. *Plant Journal*, 2003, 33(5): 923—937.
- [20] Alvarez S, He Y, Chen S. Comparative investigations of glucosinolate-myrosinase system in *Arabidopsis* suspension cells and hypocotyls. *Plant Cell and Physiology*, 2008, 49(3): 324—333.
- [21] Shao H B, Chu L Y, Jaleel C A, Zhao C X. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *Comptes Rendus Biologies*, 2008, 331: 215—225.
- [22] Dai S J. Effect of environmental factors on the growth and camptothecin concentration of *Camptotheca acuminata* seedlings. Harbin: Northeast Forestry University, 2002.
- [23] Song W Y, Zhang Z B, Shao H B, Guo X L, Cao H X, Zhao H B, Fu Z Y, Hu X J. Relationship between calcium decoding elements and plant

- abiotic-stress resistance. *International Journal of Biological Sciences*, 2008, 4: 116 — 125.
- [24] Shao H B, Song W Y, Chu L Y. Advances of calcium signals involved in plant anti-drought. *Comptes Rendus Biologies*, 2008, 331: 587 — 596.
- [25] Li X, Chen K S, Zhang M F, Mosbah K M. Research advance of glucosinolates from crucifer. *Acta Horticulturae Sinica*, 2006, 33(3): 675 — 679.
- [26] Chen Y Z, Yan X F. The role of glucosinolates in plant-biotic environment interactions. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(6): 2584 — 2593.
- [27] Stroehrer V L, Boothe J G, Good A G. Molecular cloning and expression of a turgor-responsive gene in *Brassica napus*. *Plant Molecular Biology*, 1995, 27(3): 541 — 551.
- [28] Tian Y X. Glucosinolate content response to mechanical wounding in *Arabidopsis thaliana* rosette leaves. Harbin: Northeast Forestry University, 2008.
- [29] Yuan X. Effect of salt stress on glucosinolate content of *Arabidopsis thaliana*. Harbin: Northeast Forestry University, 2008.
- [30] Kliebenstein D J. Secondary metabolites and plant/environment interactions: a view through *Arabidopsis thaliana* tinted glasses. *Plant, Cell and Environment*, 2004, 27(6): 675 — 684.

参考文献:

- [22] 戴绍军. 环境因子对喜树幼苗生长和喜树碱含量的影响. 哈尔滨: 东北林业大学, 2002.
- [25] 李鲜, 陈昆松, 张明方, Mosbah K M. 十字花科植物中硫代葡萄糖苷的研究进展. *园艺学报*, 2006, 33(3): 675 ~ 679.
- [26] 陈亚州, 阎秀峰. 芥子油苷在植物-生物环境关系中的作用. *生态学报*, 2007, 27(6): 2584 — 2593.
- [28] 田云霞. 拟南芥莲座叶芥子油苷含量对机械损伤的响应. 哈尔滨: 东北林业大学, 2008.
- [29] 苑鑫. 盐胁迫对拟南芥芥子油苷含量的影响. 哈尔滨: 东北林业大学, 2008.