

DOI:10.11829/j.issn.1001-0629.2018-0052

高丽, 杨海莉, 王沛, 王锁民. 木栓质及其生理功能. 草业科学, 2018, 35(5): 1218-1231.

Gao L., Yang H L., Wang P., Wang S M. Suberin and its physiological function. Pratacultural Science, 2018, 35(5): 1218-1231.

木栓质及其生理功能

高丽¹, 杨海莉¹, 王沛^{1,2}, 王锁民¹

(1. 兰州大学草地农业生态系统国家重点实验室; 兰州大学草地农业科技学院, 甘肃 兰州 730020;

2. 西南民族大学青藏高原研究院, 四川 成都 610041)

摘要: 木栓质是一种以甘油酯-酚类为基本单元的生物聚酯, 包含聚脂肪族和聚芳香族两个结构域。典型的聚脂肪族聚酯包括 ω -羟基脂肪酸、 α, ω -双羧基酸、脂肪酸和伯醇, 阿魏酸则是聚芳香族的主要成分。木栓质通常沉积于特定组织的细胞壁, 例如根内皮层、外皮层、周皮、种皮以及其他的边缘组织, 形成木栓层。木栓层作为一种保护性屏障, 不仅在控制根系径向水分及营养元素运输中发挥重要作用, 而且能有效抵御病原菌和有毒气体的入侵。近年来随着生物化学分析技术及遗传学研究方法的发展, 木栓质的相关研究取得了极大进展。本文在概述木栓质在植物体内的分布、化学组成和超微结构、木栓质单体的跨膜转运及其聚合组装的基础上, 重点对木栓质合成途径及其在植物响应非生物胁迫及生物胁迫中的功能等方面的最新研究进展进行总结讨论, 为通过改变植物根系适应性结构特征以改良作物及牧草提供重要的理论参考。

关键词: 木栓质; 细胞壁; 超微结构; 化学成分; 木栓质合成途径; 非生物胁迫; 生物胁迫

中图分类号: Q945.79 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-0629(2018)05-1218-14*

Suberin and its physiological function

Gao Li¹, Yang Hai-li¹, Wang Pei^{1,2}, Wang Suo-min¹

(1. State Key Laboratory of Grassland Agro-ecosystems, College of Pastoral Agriculture Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou 730020, Gansu, China;

2. Institution of Qinghai-Tibetan Plateau, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, Sichuan, China)

Abstract: Suberin is a biopolyester based on glyceride-phenols and contains two domains, polyaliphatic and polyaromatic. Typical polyaliphatic polyesters include ω -hydroxy fatty acids, α, ω -dicarboxylic acids, fatty acids, and primary alcohols, with ferulic acid being the main component of polyaromatics. Suberin is usually deposited in the cell walls of certain tissues, such as root endodermis, root exodermis, tuber peridermis, seed coats, and other boundary tissue layers of plants to form suberin lamellae. Suberin lamellae serves as a protective barrier in these tissue layers, not only controlling water and nutritional element transport, but also effectively resisting the invasion of pathogens and toxic gas. This review summarizes the distribution, chemical composition, ultrastructure, transmembrane transport, and aggregation assembly of suberin monomers in plants, focuses on the latest research progress on the synthetic pathway of suberin and its function in response to biotic and abiotic stresses in plants, and provides important theoretical references for pasture and crop improvement by changing the adaptive root structure of plants.

Key words: suberin; cell wall; ultrastructure; chemical composition; suberin synthesis pathways; abiotic stresses; biotic stresses

Corresponding author: Wang Suo-min E-mail: smwang@lzu.edu.cn

* 收稿日期: 2018-01-24 接受日期: 2018-04-13

基金项目: 国家自然科学基金(3173093, 31470503)

第一作者: 高丽(1992-), 女, 内蒙古伊金霍洛旗人, 在读硕士生, 主要从事草类植物逆境生理与分子生物学研究。E-mail: gaol15@lzu.edu.cn

通信作者: 王锁民(1965-), 男, 甘肃宁县人, 教授, 博导, 博士, 主要从事草类植物逆境生理与基因工程。E-mail: smwang@lzu.edu.cn

植物在长期的进化过程中逐渐形成了一类特殊的以脂类-酚类为基础的疏水性屏障以适应复杂的、动态的、多变的土壤及外界环境。其中包括地上部的角质层及广泛分布于根中的木栓质,木栓质在根组织沉积形成的疏水性屏障不仅在控制水分和营养元素的运输以及限制病原菌和毒气入侵等方面发挥重要作用,同时在植物响应非生物胁迫中也发挥关键作用。因此,近年来有关木栓质的研究受到越来越广泛的关注,成为植物体屏障研究中的热点。本文概述了木栓质的结构、化学组成、单体合成,重点综述了木栓质单体的合成以及近年来在其生理功能方面的研究进展,并对目前木栓质研究中存在的问题及未来的研究方向进行了简要讨论和展望。

1 木栓质的分布

木栓质主要分布于植物根内皮层、外皮层,其中内皮层木栓质的沉积在所有高等植物中广泛存在,且形成较早,可以隔离皮层和中柱组织,是目前研究的重点^[1]。

木栓质也广泛存在于周皮组织,如欧洲栓皮栎(*Quercus suber*)和马铃薯(*Solanum tuberosum*)块茎的周皮含有大量的木栓质^[2-4]。此外在伤口愈合的过程中,木栓质会在伤口边缘处沉积以保护健康组织^[1]。这些木栓化的周皮沉积于植物-环境界面,起到保护植物内部组织的作用。

木栓质的沉积同样存在于组织-组织界面,使植物内部各组织间相互隔离。例如,在柑橘属植物的种皮的合点及珠孔区域中也发现有木栓质的分布,将种子封闭起来^[1]。在 C₄ 植物的维管束鞘细胞中,木栓质也有分布,它的作用是隔离叶肉细胞与维管束鞘细胞^[1]。木栓质不仅沉积于植物体正常生长过程中的上述特定组织中,而且能响应外界环境刺激在非木栓组织中合成^[5-6]。由此可见,在任何时间,植物需要形成屏障的任何部位都可能会存在木栓质的沉积^[1,7]。

2 木栓质的化学组成及结构

木栓质是由甘油、脂肪酸与酚类化合物形成的高分子杂聚物^[7-10]。脂族部分主要包括 ω -羟基脂肪酸、 α, ω -双羧基脂肪酸(简称 α, ω -二酸)、中链含氧脂肪酸、未被取代的脂肪酸以及伯醇^[1,10]。酚类组分主要由羟基化的肉桂酸组成,通常为阿魏酸、香豆酸和单木质醇^[1]。

木栓质单体的碳链长度多为 C₁₆~C₂₆,相比角质 C₁₆~C₁₈ 更长,暗示着其疏水性可能更强^[11-13]。木栓质总量和单体的相对含量在植物的不同发育阶段、不同组织以及不同物种间存在很大差异^[14-15]。例如,拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)根中的木栓质主要为 C₁₆, C₁₈:1 和 C₂₂ 的单体^[11],而在其种皮中则是 C₂₂ 和 C₂₄ 的单体^[12]。

通过对木栓化的细胞壁切片的观察发现其呈现明(电子半透明)暗(电子不透明)相间的薄层状超微结构。但关于这一明暗相间的条纹结构中电子半透明区域(明带)以及电子不透明区域(暗带)的化学组成仍存在争议。Bernards^[9]以马铃薯周皮作为研究材料,认为组成木栓质的聚脂族域和聚芳香族域各自处在其特定的空间并以共价键彼此连接,且由聚脂族域形成了电子半透明的亮带,由酚类物质形成电子不透明的暗带。但 Molina 等^[16]的研究发现,拟南芥 ASFT/*HHT* 敲除突变体中完全缺失酯结合态阿魏酸,但根中木栓层结构却没有受到影响,这否定了 Bernards 的观点。Soliday 等^[17]提出木栓层结构中的亮带是由蜡质组成的蜡层。然而,拟南芥 *far1-far4-far5* 三突变体中,木栓质相关的蜡质显著减少,木栓层的结构同样没有受到影响^[18]。Serra 等^[19]在马铃薯中沉默细胞色素 P450 脂肪酸 ω -羟化酶的编码基因 CYP86A33,导致马铃薯块茎周皮中 C₁₈:1 的 ω -羟基酸和 α, ω -二酸单体的含量分别下降了 70% 和 90%,且 RNAi 株系中木栓层的结构扭曲变形,明暗相间的条带消失。因此,木栓层的这一明暗相间的薄层结构很可能与脂肪酸 ω 位点的羟基化有关。

3 木栓质单体的生物合成

木栓质的沉积首先需要合成脂族、酚类以及甘油单体,然后运输到细胞壁形成一个难溶的大分子。随着木栓质成分定量分析手段以及正向和反向遗传学的发展,参与编码木栓质单体合成酶的基因陆续被挖掘出来。目前已知的参与木栓质单体合成反应的酶包括 β -酮脂酰-辅酶 A 合成酶(KCS)、细胞色素 P450 单加氧酶(CYP)家族、脂酰基还原酶(FAR)、3 磷酸甘油酰基转移酶(GPAT)家族以及羟基肉桂辅酶 A 转移酶(ASFT)(表 1、2)。

木栓质单体合成途径中涉及到的反应主要包括脂肪酸活化到脂酰辅酶 A 硫酯、长链脂肪酸前体的延伸、脂肪酸的 ω -羟基化以及后续的 ω -羟基酸到 α, ω -双

表1 拟南芥中参与木栓质单体生物合成途径相关基因

Table 1 Genes involved in suberin biosynthetic pathway in *Arabidopsis thaliana*

基因名称 Gene name	AGI号 AGI number	编码蛋白 Encoded protein	超表达或突变体表型 Phenotype of mutant or overexpression	参考文献 Reference
<i>KCS2</i> <i>KCS20</i>	Atlg04220 At5g43760	β -酮脂酰-CoA 合酶 β -Ketoacyl-CoA synthase	<i>kcs2 kcs20</i> 双突变体根中 C22 和 C24 极长链脂肪酸衍生物减少,短链(\leq C20)脂肪酸衍生物累积,且根系生长受到抑制,木栓层结构异常 The content of C22 and C24 very long chain fatty acid derivatives reduced, and short-chain (\leq C20) fatty acid derivatives accumulated in <i>kcs2 kcs20</i> mutant root, the root growth was inhibited, and the structure of the suberin layer was abnormal	[20-21]
<i>CYP86A1</i> / <i>HORST</i>	At5g58860	脂肪酸 ω -羟化酶 Fatty acyl ω -hydroxylase	突变体中 C16 及 C18 ω -羟基酸和 α, ω -双羧酸含量减少,根部总木栓质含量下降 60%,对盐胁迫敏感 Strongly reduced levels of C16 and C18 ω -hydroxy acids and α, ω -DCAs, 60% reduction of total suberin in roots, sensitive to salt stress	[22-23]
<i>CYP86B1</i> / <i>RALPH</i>	At5g23190	脂肪酸 ω -羟化酶 Fatty acyl ω -hydroxylase	突变体根及种皮中 C22 及 C24 ω -羟基酸和 α, ω -双羧酸大幅下降,但种皮透性未改变 C22 and C24 ω -hydroxy acids and α, ω -DCAs were strongly reduced in mutant roots and seed coats, but did not affect seed coat permeability	[24,16]
<i>FAR1</i>	At3g22500	脂酰-CoA 还原酶 Fatty acyl-CoA reductase	突变体根中 22:0 单醇含量下降,种子中 22:0 单醇和 22:0 双醇含量减少 22:0 alcohols reduced in roots, 22:0 alcohols and 22:0 diols reduced in seeds	[18,25]
<i>FAR4</i>	At3g44540	脂酰-CoA 还原酶 Fatty acyl-CoA reductase	突变体根中 20:0 醇含量下降 50%,种子中呈现类似下降趋势 50% reduction in 20:0 alcohols in mutant root, similar downward trend in seeds	[18,25]
<i>FAR5</i>	At3g44550	脂酰-CoA 还原酶 Fatty acyl-CoA reductase	突变体根中 18:0 脂肪醇含量下降 80%,且伴随着 60% 的 20:0 和 22:0 脂肪醇含量的增加,种子中 18:0 脂肪醇含量几乎检测不到 The 18:0 alcohols content was decreased by 80% and was accompanied by a 60% increase in the content of C20:0-OH and C22:0-OH, the amount of C18:0-OH was nearly undetectable in mutants	[18,25]
<i>GPAT5</i>	At3g11430	甘油-3 磷酸酰基转移酶 Acyl-CoA: glycerol-3-phosphate acyltransferase	突变体幼根中总脂肪族木栓质含量下降 50%,C20-C24 ω -羟基酸和 α, ω -双羧酸下降,种皮透性极大增加,幼苗耐盐性差。超表达株系单酰甘油及地上部角质层蜡质中自由脂肪酸含量增加 Mutants showed a 50% reduction in total aliphatic suberin in young roots, with main reduction in C20-C24 ω -hydroxy acids and α, ω -DCAs, and steep increase in seed coats permeability, seedlings had lower tolerance to salt stress. Overexpression gives rise to monoacylglycerols and free fatty acids in aerial cuticular waxes	[26-28]

续表 1

基因名称 Gene name	AGI 号 AGI number	编码蛋白 Encoded protein	超表达或突变体表型 Phenotype of mutant or overexpression	参考文献 Reference
<i>GPAT7</i>	At5g06090	甘油-3 磷酸酰基转移酶 Acyl CoA: glycerol-3- Phosphate acyltransferase	超表达株系单酰甘油,种子和地上部角质层蜡质中 C22:0 和 C24:0 自由脂肪酸含量增加 Overexpression gives rise to monoacylglycerols, C22:0, C24:0 free fatty acids in seeds and aerial cuticular waxes	[29]
<i>ASFT/HHT</i>	At5g41040	阿魏酰-CoA 转移酶 Feruloyl-CoA transferase	突变体种子和根中阿魏酸含量减少, ω -OHAs 含量减少, α , ω -DCAs 含量增加,改变了种子和根对盐的透性和敏感度 Mutant reduced specifically ferulate in seeds and roots, reduction in ω -hydroxy acids, increase in α , ω -DCAs, altered the permeability and sensitivity of seeds and roots to salt stress	[16,30]
<i>FACT</i>	At5g63560	脂肪醇:咖啡酰-CoA 咖啡酰基转移酶 Fatty Alcohol: Caffeoyl-CoA Caffeoyl Transferase	根中木栓质相关蜡质几乎缺失 18:0-22:0 的烷基咖啡酸 Near complete lack of 18:0-22:0 alkyl caffeates in root waxes	[31]
<i>ABCG2</i> <i>ABCG6</i> <i>ABCG20</i>	At2g37360 At5g13580 At3g53510	ATP-结合盒(ABC 转运蛋白) ATP-binding cassette (ABC-transporter)	<i>abcg2 abcg6 abcg20</i> 三突变体种皮中木栓质的装载减少,根中木栓质装载增加,种皮和根透性也增加 The suberin load in seed coats of triple <i>abcg2 abcg6 abcg20</i> mutants reduced, but suberin load in roots increased. seed coats and root permeability also increased	[32]
<i>MYB41</i>	At5g63560	MYB-型转录因子 MYB-type transcription factor	超表达株系中木栓质合成基因上调且在叶片形成木栓层类似结构 Overexpression of MYB41 resulted in upregulation of suberin biosynthetic genes and the formation of suberin-like lamellae in leaves	[33]
<i>MYB107</i>	At3g02940	MYB-型转录因子 MYB-type transcription factor	突变体种皮中 C24:0 ω -羟基酸和 α , ω -双羧酸含量下降了 50%,种皮透性增加 Mutant has 50% reduction in ω -hydroxy acids and α , ω -DCAs in seeds coats, the seed coats permeability increased	[34]
<i>ESB1</i>	At2g28670	结构域蛋白质 Dirigent-domain containing protein	突变体根中凯氏带缺失伴随总木栓质含量翻倍 Defective Casparian strips with twofold increase in all suberin monomers in roots	[30-31]

羧基的氧化以及脂肪酰链还原为脂肪醇等^[7,9-10,15]。

通常而言,脂肪酸代谢反应的第一步是自由脂肪酸的活化反应。拟南芥中目前发现存在 9 个编码长链酰基-CoA 合成酶(LACS)的基因参与脂肪酸的活化反应^[40]。其中,*LACS2* 参与角质和角质层蜡质的生物合成^[41]。但 *LACS* 基因在木栓质合成过程中的作用尚未见报道,然而,在 *LACS2* 基因缺失突变体中的化学分析表明 *LACS2* 也参与木栓质的形成^[13]。*MYB107* 参与调控拟南芥种皮中木栓质的沉积,在

myb107 突变体中 *LACS* 的表达同样出现了下调的现象^[34],这也支持了 *LACS2* 参与木栓质的沉积。此外,*LACS* 酶也可能参与 ω -羟基酸和 α , ω -二羧酸在酯化到甘油分子上之前的活化。

脂肪酸被活化后形成的脂肪酰-CoA 的延长则是由定位于内质网上的脂肪酸延长酶复合体参与催化的^[42]。 β -酮脂酰-CoA 合酶(KCS)是脂肪酸延长酶复合体中的第 1 个酶,参与控制长链脂肪酰-CoA 伸长的程度,同时也是这一过程中的限速酶^[43]。拟南芥中有

表2 马铃薯中参与木栓质单体生物合成途径相关基因
Table 2 Genes involved in suberin biosynthetic pathway in *Solanum tuberosum*

基因名称 Gene name	AGI号 AGI number	编码蛋白 Encoded protein	超表达或突变体表型 Phenotype of mutant or overexpression	参考文献 Reference
<i>StKCS6</i>	EU61653	β -酮脂酰-CoA 合酶 β -Ketoacyl-CoA synthase	基因沉默导致周皮中 \geq C28的木栓质单体含量减少, \leq C26的木栓质单体积累,周皮水分透性增加 Gene silencing in potato periderm resulted in specific reduction in \geq C28 monomers, accumulation of compounds \leq C26, and peridermal water permeability increased	[35]
<i>CYP86A33</i>	EU293405	脂肪酸 ω -羟化酶 Fatty acyl ω -hydroxylase	基因沉默导致马铃薯块茎周皮18:1 ω -羟基酸和 α,ω -双羧酸含量分别减少70%和90%,总脂肪族木栓质含量下降了60%,木栓层结构变薄,周皮水分透性增加 Gene silencing in potato periderm resulted a 70% reduction in ω -hydroxy acids and 90% reduction in α,ω -DCAs, 60% reduction in total suberin, a thinning of suberin lamellae, and the water permeability of peridermal increased	[19]
<i>FHT</i>	FJ825138	阿魏酰-CoA 转移酶 Feruloyl-CoA transferase	<i>FHT</i> -RNAi 周皮中阿魏酸和 ω -羟基脂肪酸含量下降,周皮透水性增加 Ferulate and 18:1 ω -hydroxy acids reduced in <i>FHT</i> -RNAi periderm, and peridermal water permeability increased	[36-37]
<i>ABCG1</i>	XM_006345853.1	ATP-结合盒(ABC转运蛋白) ATP-binding cassette (ABC-transporter)	<i>ABCG1</i> -RNAi 周皮中18:1 ω -羟基脂肪酸和 α,ω -双羧酸含量减少,阿魏酸及 \geq C24单体含量也减少,而C20和C22单体含量增加 Reduction in 18:1 ω -hydroxy acids and α,ω -DCAs, as well as ferulic acid and \geq C24 monomers, increase in C20 and C22 monomers in <i>ABCG1</i> -RNAi periderm	[38]
<i>NAC103</i>	KT598211	NAC-型转录因子 NAC-type transcription factor	基因沉默导致马铃薯块茎周皮木栓质及相关蜡质含量增加,尤其是烷烃、 ω -羟基脂肪酸、双羧酸、阿魏酸和伯醇的含量增加 Gene silencing in potato periderm correlated with an increase in the suberin and wax load, and specifically in alkanes, ω -hydroxyacids, diacids, ferulic acid, and primary alcohols	[39]

21个KCS基因,其中 β -酮脂酰-CoA合酶基因 *DAISY/AtKCS2* 和 *AtKCS20* 参与C20酰基链的木栓质前体的延伸过程^[20-21]。*KCS2*突变虽然并未引起根中木栓质总量的变化,但却导致C22和C24极长链脂肪酸衍生物减少。然而 *kcs2 kcs20* 双突变体中脂肪族木栓质的含量相比于任一单突变体都受到了更显著的影响,表明这两种酶存在部分功能冗余^[21]。

NADPH依赖的细胞色素P450单加氧酶家族中的CYP86亚家族主要参与催化脂肪酰-CoA ω -位点的羟基化,形成 ω -羟基酸,其中一部分 ω -羟基酸又进一步被氧化成 α,ω -双羧酸^[44-46]。Benveniste等^[47]首次从拟南芥中克隆到 *CYP86A1* 基因,并在酵母中异源表达,发现该基因参与短链脂肪酸的羟基化过程。拟南芥 *cyp86a1* 突变体植株根系C16和C18 ω -羟基

酸和 α, ω -二酸木栓质单体含量显著下降,且最终总脂肪族木栓质单体含量下降了 60%。同时通过 RT-PCR、GUS 染色及 GFP 定位等方法将 CYP86A1 定位于根内皮层细胞的内质网上,这暗示木栓质单体的合成是在内质网上进行的^[22]。且马铃薯中 CYP86A1 的同源蛋白 StCYP86A33 在马铃薯块茎周皮木栓质单体的 ω -羟基化过程中同样发挥关键作用^[19]。CYP86B1 与 CYP86A1 同属一个亚家族,参与极长链(C22-C24) ω -羟基酸以及 α, ω -双羧基酸的形成^[16,24]。CYP86B1 敲除株系的根及种皮中 C22 和 C24 ω -羟基酸和 α, ω -二酸几乎完全缺失,但脂肪族木栓质单体 C22 和 C24 脂肪酸积累增加^[16]。

脂肪酰-CoA 还原成伯醇的过程则是由脂肪酰还原酶(FARs)介导的。在拟南芥中,FAR 家族有 8 个成员,各自的功能均已被鉴定^[48]。其中 FAR1、FAR4 和 FAR5 这 3 个基因参与木栓质相关的脂肪醇的合成^[18,25]。这 3 个基因的 T-DNA 插入单突变体分别表现出不同链长伯醇的减少,其中 *far1* 突变体的根和种子中 C22:0 伯醇含量显著下降,*far4* 突变体的根和种子中 C20:0 伯醇含量下降,而 *far5* 突变体的根和种子中 C18:0 伯醇的含量有所下降^[25]。因此,FAR1 和 FAR4 可能参与种皮木栓质中 α, ω -二醇的合成,然而它们是否以 ω -羟基酰链为底物仍需进一步验证^[18]。在 *far1-far2-far3* 的三突变体中,木栓质中总脂肪醇的含量降低了 70%~80%,而其他主要单体含量没有显著变化,表明木栓质的聚合过程并没有改变,但三突变体的种皮透性却有所增加。

酰基转移反应则是由酰基-CoA-依赖的甘油-3-磷酸酰基转移酶(GPATs)催化生成甘油-酸酯完成的,甘油-酸酯被认为是木栓质大分子的基石。GPATs 催化脂肪酰-CoA 或酰基-酰基载体蛋白向甘油-3-磷酸的 sn-1 或 sn-2 位点的转移^[27]。通过这一过程,甘油被共价结合到木栓质的脂肪族与芳香族部分^[4]。目前发现拟南芥中至少存在 20 个可能的酰基转移酶^[13]。通过功能获得与缺失的方法证实其中的 8 个 GPAT 基因参与角质与木栓质的生物合成。Yang 等^[28-29]的研究表明 GPAT4、6 和 8 对 C16:0 和 C18:1 ω -位点碳氧化的酰基-CoAs 具有更高的亲和力。而极长链(C20-C24)脂肪酰则作为 GPAT5 的底物^[26]。在拟南芥 *gpat5* 突变体根和种子中 C20-C24 未被取代的脂肪酸、 ω -羟基酸和 α, ω -双羧基酸的含量显著减少,木栓质的总量减少为对照的一半^[26]。GPAT7 基因可被创伤诱导,GPAT7 在叶中超表达会积累木栓质类单

体,表明其可能在创伤诱导的木栓质单体合成中发挥作用^[29]。

拟南芥和马铃薯中编码阿魏酰-CoA 转移酶的基因相继被克隆^[30,36-37]。拟南芥中脂肪族木栓质阿魏酰转移酶(ASFT/HHT)以及马铃薯中的同源蛋白 ω -羟基脂肪酸/脂肪醇羟基肉桂酰转移酶(FHT)属于 BAHD 酰基转移酶家族,均催化阿魏酰 CoA 的酰基向 ω -羟基酸和脂肪醇的转移^[28,36-37]。拟南芥 *asft/hht* 突变体根中木栓质完全缺失阿魏酸盐,且 ω -羟基酸和 α, ω -双羧基酸的含量显著下降^[16,30]。于此类似的是,FHT-RNAi 沉默的马铃薯块茎周皮中酯结合阿魏酸大量减少,但木栓层的结构并没有发生变化^[36]。

尽管许多植物中木栓质生物聚酯的许多单体成分已知,但木栓质单体合成的反应顺序依然不清楚,参与木栓质单体与角质单体合成反应的酶的区别以及它们间是否存在互作等都需要进一步研究。

4 木栓质的转运及组装

4.1 木栓质的跨膜转运

各种木栓质前体,无论是以单体还是部分形成低聚物的形式,最终都要跨膜运输到质外体,然后在质外体聚合形成木栓质屏障。虽然木栓质单体的合成途径已被广泛认知,然而有关木栓质单体跨膜转运机制的研究才刚刚开始。Mcfarlane 等^[49]的研究发现,高尔基体与反式高尔基体网络介导的囊泡运输参与表皮蜡质向质外体的转运。因此也很可能参与木栓质单体的转运。此外,参与角质和蜡质向细胞壁跨膜转运的 ATP-结合盒(ABC)转运蛋白和脂质转移蛋白(LTPs)也是木栓质跨膜转运的候选蛋白。

定位于质膜上的 ABC 转运蛋白中的 G 亚家族参与表皮蜡质和孢粉素前体的转运^[50-51],因此也可能参与木栓质的转运。编码 ABCG 亚家族中的一个子家族 WBC(white-brown complex)型蛋白的基因在欧洲栓皮栎的木栓组织中高丰度表达^[52]。近年来发现水稻(*Oryza sativa*)的 RCN1/OsABCG5 参与水稻根周皮的木栓化^[53],且 Landgraf 等^[38]的研究表明 ABCG1 也参与马铃薯块茎周皮木栓质的形成。拟南芥 *abcg2-abcg6-abcg20* 的三突变体表现出根和种皮木栓质结构、组分和特性上的改变,但 3 个单突变体均没有明显的表型,表明这 3 个 ABC 转运蛋白在木栓质前体的跨膜运输过程中存在功能冗余^[32]。

糖基化磷脂酰肌醇(GPI)锚定的 LTPs 和 III 型 LTPs 分别参与表皮脂类的沉积和花粉外壁的形成

成^[54-55]。按照分别参与角质、木栓质和孢粉素的合成或沉积将 LTPGs 分为 3 类^[55]。然而,在拟南芥 *ltpg* 突变体中进行深入研究却发现一个对种皮透性和木栓质组分影响极大的成员却并不属于木栓质类^[56-57]。最新研究表明,非特异性脂类转移蛋白 AtLtpI-4 在拟南芥冠瘿瘤(Crown gall)中木栓质的形成中是必需的,其突变导致 C18:0 的木栓质组分含量大幅下降^[58]。

这些结果表明 ABCG 转运蛋白和 LTPs 脂类转移蛋白参与木栓质组分的跨膜转运,但仍需进一步挖掘参与木栓质跨膜转运的相关蛋白,进一步阐明木栓质单体的跨膜运输机制。

4.2 木栓质的组装

目前对于木栓质单体或低聚物在跨膜转运之后在细胞壁的聚合组装机制的理解还很有限。近年来,随着番茄(*Solanum lycopersicum*)中第 1 个角质合成酶 CD1(cutin deficient 1)的鉴定,植物表面脂质的组装机制逐渐被阐明^[59]。CD1 定位于细胞外,属于 GD-SL-motif 脂酶/水解酶家族,体外实验证实其催化 sn-2-单酰甘油前体的酯基转移作用^[59]。在拟南芥中克隆得到 CD1 的同源基因并在体外对其功能进行了鉴定,但是其聚合产物是单一的线性,表明还有其他蛋白酶参与网状聚酯的最终形成^[60]。但 CD1 是否同样参与木栓质在细胞壁的聚合还是未知的。一种 α 、 β 水解酶折叠蛋白 BODYGUARD(BDG)被证实参与角质的交联过程^[61]。拟南芥 *bdg* 突变体叶片中角质含量大幅度下降,尤其是 C18 多元未饱和的角质单体的含量显著下降,且根中总木栓质含量也有明显的下降,GUS 染色的结果也显示 BDG 在根系内皮层有定位,表明 BDG 还参与拟南芥根系木栓质的聚合^[61]。

木栓化的细胞壁中酚类组分的聚合被推测是由一个过氧化物酶/ H_2O_2 介导的过程^[62]。一类阴离子过氧化物同工酶参与马铃薯块茎创伤诱导的木栓化过程中酚类物质的聚合,该酶优先选择阿魏酰(O-甲氧基苯酚)取代的底物,在马铃薯块茎的创伤愈合过程中积累相应的产物^[63]。近年来一种 NADPH 依赖型的氧化酶类和过氧化物酶类被发现参与内皮层凯氏带的木质化^[64],也可能参与木栓质的聚合组装。

尽管木栓质单体的跨膜转运及组装过程可借鉴角质单体的,但由于两种单体的化学组成及各自的分布部位存在差异,其跨膜转运及组装聚合过程可能也会存在一定差异。

5 木栓质合成的调控

木栓质沉积于特殊的细胞类型,且被各种非生物

和生物胁迫所诱导。木栓质生物合成相关基因的表达模式与木栓质的沉积位点和外界条件等密切相关,木栓质的生物合成在转录水平上受到严格的调控。随着转录组学及蛋白组学的发展,参与木栓质合成调控的因子也陆续被发现。最早被发现的参与木栓质合成调控的转录因子是拟南芥 *AtMYB41*,在拟南芥叶片持续超表达 *AtMYB41* 以及在烟草(*Nicotiana benthamiana*)叶片中瞬时表达 *AtMYB41* 均可诱导木栓质在其叶片表皮以及叶肉细胞的细胞壁上沉积形成木栓层类似结构;同时,在超表达 *AtMYB41* 的转基因株系中参与木栓质合成基因的表达水平也大幅增加,此外,还发现 *AtMYB41* 基因在拟南芥正常发育的根中不表达,但是在内皮层响应非生物胁迫时被特异诱导,这表明 MYB41 仅调控胁迫诱导下的木栓质的沉积。目前还有待于进一步挖掘其他非胁迫诱导类木栓质合成的调控因子。

苹果(*Malus × domestica*) *MdMYB93* 被发现参与调节黄褐色苹果果皮中的木栓质沉积^[65]。在拟南芥、苹果和番茄中另一项最新研究发现,与 MYB93 亲缘关系十分相近的两个 MYB 类转录因子 MYB9 和 MYB107 也参与调控木栓质在种皮和果皮中的沉积^[66]。

Gou 等^[34]的研究进一步证实了 MYB107 参与调控拟南芥种皮中木栓质的合成。MYB107 主要在长角果中表达,*MYB107* 突变导致种皮中聚脂肪族和聚芳香族成分均大幅度下降,导致种皮透性增加,木栓层结构改变,同时,*myb107* 突变体中参与木栓质合成的关键基因 *FACT*、*CYP86A1*、*CYP86B1*、*FAR1* 等的表达均有所下调。但 *myb107* 突变体根系木栓质含量以及地上部角质的含量与野生型相比没有明显差异,这表明 MYB107 仅参与正向调控种皮中木栓质的合成及组装^[34]。

最近,Verdaguer 等^[39]在马铃薯块茎周皮的研究中发现首个负调控周皮中木栓质及相关蜡质生物合成的转录因子 *NAC103*,*StNAC103* 基因沉默的马铃薯块茎周皮中木栓质及相关蜡质的装载增加,特别是烷烃类、羟基脂肪酸、二酸、阿魏酸以及伯醇等。此外,在沉默株系中与周皮木栓质合成及转运有关的关键基因的表达均有所上调。

6 木栓质的生理功能

6.1 木栓质与非生物胁迫

6.1.1 木栓质与盐胁迫 高盐胁迫导致拟南芥 *gpat5*

突变体种子的发芽率降低,且幼苗对盐胁迫的耐受性下降^[26]。木栓质合成中编码 β -酮脂酰-CoA合酶的关键酶DAISY/KCS2基因的表达在NaCl和渗透胁迫处理后显著上调^[22];参与木栓质单体中脂肪醇合成的FAR1、FAR4和FAR5基因的表达也都受NaCl显著诱导^[29]。Krishnamurthy等^[67-68]分析发现,相比于盐敏感品种IR20和中等耐盐品种Jaya,强耐盐型品种Pokkali的根系木栓化程度最高且地上部Na⁺积累最少,这3种水稻品种根系木栓化均会受盐胁迫诱导加强,且木栓质合成基因的转录水平也受盐胁迫的诱导。拟南芥木栓质合成中另外一个关键基因CYP86A1突变之后,植株对水分和NaCl的透性都显著增加^[69];在对CYP86A在植物响应盐胁迫中作用的分析表明,适量NaCl诱导了拟南芥根的木栓化以及根中CYP86A1基因的高丰度表达^[23]。盐胁迫下,拟南芥cyp86a1突变体植株地上部生长受到显著抑制,且地上部积累更多的Na⁺,而K⁺含量则相应的减少,表明CYP86A1通过调控木栓质的合成,进而调控水分和离子转运,在植物响应盐胁迫中发挥关键作用,同时为进一步探究盐生植物小花碱茅根系质外体屏障在其适应盐渍土壤中的作用奠定基础^[23]。

这些研究均表明植物根系木栓质受NaCl诱导增加,其作为质外体屏障在植物响应盐胁迫过程中发挥重要作用。

6.1.2 木栓质与干旱胁迫 干旱胁迫下,木栓化的外皮层可以防止水分流失以及将溶质留在根围以维持根系渗透调节能力^[70]。而长期干旱胁迫导致根系表皮和皮层细胞相继死亡,此时,内皮层作为根系最外层发挥功能^[71-72]。干旱条件下,内皮层木栓化程度的增加,可以保护内部中柱鞘和维管组织免受干旱胁迫,保证其与地上部间持续的维管连接,帮助植株度过干早期,一旦环境条件有所改善,中柱鞘/内皮层能够再生侧根来恢复生长^[6,73]。

拟南芥突变体esb1(enhanced suberin 1)植株根系中的木栓质含量增加、日蒸腾速率下降,在营养生长阶段其水分利用效率增加,在干旱胁迫下相比于野生型表现出更耐萎焉的特性,且这种木栓质和水分运输的改变与地上部Ca、Mn和Zn积累减少以及Na、S、K、As、Se和Mo等积累增加有关^[74]。但esb1突变体同样表现出凯氏带形成缺陷^[75],因此这些离子组模式的变化也可能与凯氏带的缺陷有关。最近,Li等^[76]通过对拟南芥低钙敏感的lcs2-1(low calcium sensitive 2-1)突变体和esb1突变体的研究,揭示了这两种突变

体的地上部钙浓度的降低是由内皮层木栓质积累增加而非凯氏带缺陷引起。lcs2-1突变体的根中凯氏带缺陷,内皮层木栓质积累增加,无论在正常条件还是低钙条件下,lcs2-1突变体叶片钙浓度均下降了30%,随后分别在lcs2-1和esb1突变体中转入木栓质降解酶基因CDEF1后,转基因株系地上部钙浓度增加,表明根系内皮层木栓质在离子转运中发挥重要的作用,同时还发现木栓质与侧根的形成密切相关^[76]。

两个耐旱程度不同的橄榄树(Olea europaea)在持续干旱胁迫后,根系木栓化的细胞层均由内皮层向皮层延伸,且伴随根系水力学导度和气孔导度下降^[77]。根据橄榄树根的形态和颜色的不同将根分为棕色根(木栓化程度高)和白色根(木栓化程度低)两种,结果表明,两个品种中棕色根较白色根而言,其导水率的下降更为明显,气孔导度呈现相同的下降趋势^[77]。

关于木栓质在植物响应干旱胁迫的作用研究多集中于其木栓质含量的改变对植物根系透水性的改变,对于直接通过木栓质合成关键基因的功能获得或缺失直接影响植物对于干旱胁迫的生理响应的研究还相对较少。

6.1.3 木栓质与水淹胁迫 木栓质沉积在植物响应水淹胁迫中同样发挥关键作用。植物处在水淹条件下首先会造成缺氧,有氧呼吸受到影响,进而导致代谢能量不足,长期处于水淹胁迫下,植物体内长期供能不足,且水淹土壤中有毒物质积累导致植物根系死亡。木栓质在植物根系的沉积能有效阻止水淹胁迫下植物根系径向氧损失,且能防止涝渍土壤中有毒物质及微生物毒素进入根系^[15,78-80]。

关于木栓质在植物适应水淹条件下的作用研究多集中于湿地植物上,解剖学观察、质外体示踪以及氧气微电极分析表明水稻和芦苇(Phragmites communis)中径向氧损失的屏障是由木栓质在其根系外皮层沉积形成的^[81-82]。此外,De Simone等^[83]对4种亚马逊树的下皮(外皮层)细胞壁的氧气运输特性及质外体屏障进行研究,对下皮细胞壁分离并对其进行化学分析,并对径向氧损失进行测定,结果证实了木栓质作为一种关键的渗透屏障在根和根际间气体交换过程中发挥关键作用。水淹胁迫也会诱导大麦(Hordeum vulgare)根系木栓质沉积形成径向氧损失屏障^[84-85]。

水稻RCN1/OsABCG5参与水稻根系木栓质的沉积,水淹条件下(缺氧条件),水稻野生型根系外皮层细胞壁木栓化程度明显增加以防止径向氧损失^[53]。

RCN1/OsABCG5 突变导致水稻根系尤其是 C28-C30 的脂肪酸和 ω -羟基脂肪酸含量显著下降, *rcn1* 突变体根系外皮层木栓化缺失, 导致其耐涝性减弱^[53], 且在水稻径向氧损失屏障形成过程中, 参与木栓质合成的基因中有 20% 的基因表达上调^[86]。与在水稻中的研究结果类似, 在欧洲栎根系径向氧损失屏障的形成时, 木栓质合成关键基因 *CYP*、*KCS*、*GPAT* 等的表达也均有所上调^[87]。

6.1.4 木栓质与营养胁迫 内皮层的木栓化不只受到干旱和盐胁迫的诱导, Barberon 等^[88]的研究发现植物根系木栓化还响应一系列由脱落酸 (abscisic acid, ABA) 和乙烯介导的营养胁迫。分别在 Fe、Mn、Zn 缺失培养基上生长的拟南芥幼苗根系内皮层木栓化均有所延迟, 而缺 K 和缺 S 则使拟南芥幼苗根系内皮层木栓化增强, 这也与相应突变体的分析结果一致, 且营养胁迫抑制木栓化的过程由乙烯信号通路介导, 而 ABA 信号通路则参与营养胁迫诱导木栓化的过程, 此外, ABA 和乙烯可直接调控拟南芥幼苗根系木栓化。ABA 引起内皮层木栓化向皮层及更外层延伸, 值得注意的是, 乙烯处理却引起内皮层次级分化阶段已沉积的木栓质消失, 这表明幼苗根系内皮层木栓化的高度可塑性^[88]。

木栓化的改变与生理适应性相关, 表明了内皮层木栓化在植物体内营养稳态维持方面的重要作用, 但外皮层木栓化程度的改变是否同样影响营养元素的运输还需进一步研究。

6.2 木栓质与生物胁迫

除了影响水分和营养物质的运输以及抵抗非生物胁迫外, 木栓质沉积在抵御病原菌入侵方面也发挥作用。马铃薯块茎遭受创伤能诱导周皮的木栓化, 从而对病原菌的抗性增加^[5, 89-90]。此外, 木栓化还能提高大豆 (*Glycine max*) 对疫霉菌 (*Phytophthora sojae*) 的抗性, 从而避免根和茎的腐烂^[91-92]。接种疫霉菌增加了大豆根被皮和内皮层的木栓化, 但进一步研究发现, 木栓质含量高的品种中菌丝的生长只是被延迟了^[91]。

马铃薯块茎结痂病是由链霉菌属引起的, Thangavel 等^[93]通过细胞抗毒素筛选出具有结痂病抗性的马铃薯体细胞克隆, 且这些马铃薯体细胞克隆不仅对结痂病具有抗性, 对其他的马铃薯块茎感染病原也具有抗性, 但这些抗性机制尚不可知。在具有抗性的马铃薯体细胞克隆和其易感染的亲本马铃薯块茎的周皮组织中, 对与木栓质合成相关的基因以及与先天

防御反应相关的基因的表达模式进行分析, 结果显示具有抗性的马铃薯体细胞克隆相较于易感染亲本, 块茎周皮中与木栓质相关的基因的表达量更高, 且在周皮形成更多的木栓层来响应病原菌感染, 而与先天防御反应相关的信号基因的表达在两者间没有差异, 这一结果充分说明了周皮木栓化在马铃薯块茎抵御病原菌入侵中的重要作用^[93]。在其他一些植物, 例如拟南芥、小麦 (*Triticum aestivum*) 以及番茄中也发现病原菌的侵入会诱发木栓化来响应^[11, 94-95]。

综上所述, 木栓质能通过增强根或块茎周皮细胞壁的物理性屏障来部分地阻断病菌的侵入, 但尚需对控制木栓质合成的关键基因在植物生物胁迫抗性中的作用进行深入研究。

7 总结与展望

近些年, 对于木栓质生物合成的研究已经取得了巨大进步, 但木栓质单体合成的反应顺序、转运及聚合组装机理以及木栓质合成的调控等关键环节依然模糊不清。可以借鉴角质及相关蜡质的合成, 组装以及聚合机制, 进一步完善人们对木栓质单体的运转、细胞外的组装、细胞壁木栓质聚合机制以及木栓质生物合成的调控等过程的理解。

Naseer 和 Geldner^[96]的研究表明, 根系内皮层质外体屏障凯氏带的主要组成成分是木质素而非木栓质, 因此内皮层凯氏带和木栓质的沉积可能在植物根系水分和营养元素吸收运输方面发挥着不同的功能。随着一系列新技术的产生与发展, 下一步研究可重点围绕木栓质与凯氏带功能特异性与互补性展开, 另一方面, 可将木栓质的沉积与侧根的形成结合起来, 最新的研究表明侧根形成时, 凯氏带这一质外体屏障被打破, 但木栓质的沉积并未受到影响, 因此木栓质可能在侧根形成过程中内皮层质外体屏障功能的维持中发挥更为关键的作用^[76]。这一机制的阐明将是对根系结构适应环境变化模型的重要补充。

与此同时, 众多研究表明木栓质在植物根系外皮层以及内皮层的沉积具有多重功能。但仍需对木栓质生理功能进行深入研究。木栓质单体中的哪些成分与植物响应生物胁迫和非生物胁迫直接相关还有待于进一步确定, 且目前关于木栓质的生理功能研究多集中于抗逆性并不强的模式植物中, 需要进一步挖掘抗逆性强的植物中与木栓质合成的关键基因, 进一步通过功能获得或缺失的方法探究这些抗逆性强的植物中木栓质与其响应逆境间的关系。

在优良牧草紫花苜蓿中接种土壤微生物丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhiza fungi, AMF)显著提高了其抗旱性,这种土壤有益微生物与植物根系共生,其在根系周围形成的菌丝体网络可以帮助植物从更深的土层、更小的土壤缝隙中汲取更多的水分^[97],但关于这些土壤有益微生物与植物根系木栓化是否存在互作来共同参与植物适应逆境值得进一步研究。此外,土壤环境是复杂多样化的,其离子组成和水分含量高度不

均匀,两种对立的刺激(如缺 Fe 和缺 K 同时存在)或是多种刺激同时存在时对根系木栓化会造成何种影响、以及根系病原菌等生物因子对根系木栓化的影响同样值得研究。

对这些深层次机理的探究对将来通过基因工程手段培育具有多重抗性的作物及牧草新品种具有十分深远的意义。

参考文献 References:

- [1] Kolattukudy P E. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Springer, 2001; 1-49.
- [2] Kolattukudy P E, Kronman K, Poulou A J. Determination of structure and composition of suberin from the roots of carrot, parsnip, rutabaga, turnip, red beet, and sweet potato by combined gas-liquid chromatography and mass spectrometry. *Plant Physiology*, 1975, 55(3): 567-573.
- [3] Graça J, Pereira H. Cork suberin: A glyceryl based polyester. *Holzforchung-International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood*, 1997, 51(3): 225-234.
- [4] Graça J, Pereira H. Suberin structure in potato periderm: Glycerol, long-chain monomers, and glyceryl and feruloyl dimers. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2000, 48(11): 5476-5483.
- [5] Lulai E C, Corsini D L. Differential deposition of suberin phenolic and aliphatic domains and their roles in resistance to infection during potato tuber (*Solanum tuberosum* L.) wound-healing. *Physiological & Molecular Plant Pathology*, 1998, 53(4): 209-222.
- [6] Enstone D E, Peterson C A, Ma F. Root endodermis and exodermis: Structure, function, and responses to the environment. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2002, 21(4): 335-351.
- [7] Franke R, Schreiber L. Suberin-a biopolyester forming apoplastic plant interfaces. *Current Opinion in Plant Biology*, 2007, 10(3): 252-259.
- [8] Kolattukudy P E. Structure, biosynthesis, and biodegradation of cutin and suberin. *Annual Review in Plant Physiology*, 1981, 32(32): 539-567.
- [9] Bernards M A. Demystifying suberin. *Canadian Journal of Botany*, 2002, 80(3): 227-240.
- [10] Pollard M, Beisson F, Li Y, Ohlrogge J B. Building lipid barriers: Biosynthesis of cutin and suberin. *Trends in Plant Science*, 2008, 13(5): 236-246.
- [11] Franke R, Briesen I, Wojciechowski T, Faust A, Yephremov A, Nawrath C, Schreiber L. Apoplastic polyesters in *Arabidopsis* surface tissues: A typical suberin and a particular cutin. *Phytochemistry*, 2005, 66(22): 2643-2658.
- [12] Molina I, Bonaventure G, Ohlrogge J, Pollard M. The lipid polyester composition of *Arabidopsis thaliana* and brassica napus seeds. *Phytochemistry*, 2006, 67(23): 2597-2610.
- [13] Li-Beisson Y, Shorrosh B, Beisson F, Andersson M X, Arondel V, Bates P D, Baud S, Bird D, Debono A, Durrett T P. Acyl-lipid metabolism. *Arabidopsis Book*, 2014, 8: e0133.
- [14] Zeier J, Schreiber L. Comparative investigation of primary and tertiary endodermal cell walls isolated from the roots of five monocotyledonous species: Chemical composition in relation to fine structure. *Planta*, 1998, 206(3): 349-361.
- [15] Ranathunge K, Schreiber L, Franke R. Suberin research in the genomics era-new interest for an old polymer. *Plant Science*, 2011, 180(3): 399-413.
- [16] Molina I, Libeisson Y, Beisson F, Ohlrogge J B, Pollard M. Identification of an *Arabidopsis* feruloyl-coenzyme a transferase required for suberin synthesis. *Plant Physiology*, 2009, 151(3): 1317-1328.
- [17] Soliday C L, Kolattukudy P E, Davis R W. Chemical and ultrastructural evidence that waxes associated with the suberin polymer constitute the major diffusion barrier to water vapor in potato tuber (*Solanum tuberosum* L.). *Planta*, 1979, 146(5): 607-614.
- [18] Vishwanath S J, Kosma D K, Pulsifer I P, Scandola S, Pascal S, Joubès J, Dittrich-Domergue F, Lessire R, Rowland O, Domer-

- gue F. Suberin-associated fatty alcohols in *Arabidopsis*: Distributions in roots and contributions to seed coat barrier properties. *Plant Physiology*, 2013, 163(3): 1118-1132.
- [19] Serra O, Soler M, Hohn C, Sauveplane V, Pinot F, Franke R, Schreiber L, Prat S, Molinas M, Figueras M. CYP33-targeted gene silencing in potato tuber alters suberin composition, distorts suberin lamellae, and impairs the periderm's water barrier function. *Plant Physiology*, 2009, 149(2): 1050-1060.
- [20] Franke R, Höfer R, Briesen I, Emsermann M, Efremova N, Yephremov A, Schreiber L. The daisy gene from *Arabidopsis* encodes a fatty acid elongase condensing enzyme involved in the biosynthesis of aliphatic suberin in roots and the chalaza-micropyle region of seeds. *Plant Journal*, 2009, 57(1): 80-95.
- [21] Lee S B, Jung S J, Go Y S, Kim H U, Kim J K, Cho H J, Park O K, Suh M C. Two *Arabidopsis* 3-ketoacyl coa synthase genes, KCS20 and KCS2/DAISY, are functionally redundant in cuticular wax and root suberin biosynthesis, but differentially controlled by osmotic stress. *Plant Journal for Cell & Molecular Biology*, 2009, 60(3): 462-475.
- [22] Höfer R B, Isabel, Beck M, Pinot F, Schreiber L, Franke R. The *Arabidopsis* cytochrome P450 CYP86A1 encodes a fatty acid ω -hydroxylase involved in suberin monomer biosynthesis. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(9): 2347-2360.
- [23] 王沛. 木栓质合成关键基因 *CYP86A* 在植物抵御盐胁迫中的作用研究. 兰州: 兰州大学博士学位论文, 2017.
Wang P. The functional study of *CYP86A*, a key gene in suberin biosynthesis, involved in plants resisting to salt stress. PhD Thesis. Lanzhou: Lanzhou University, 2017. (in Chinese)
- [24] Compagnon V, Diehl P, Benveniste I, Meyer D, Schaller H, Schreiber L, Franke R, Pinot F. CYP86B1 is required for very long chain ω -hydroxyacid and α , ω -dicarboxylic acid synthesis in root and seed suberin polyester. *Plant Physiology*, 2009, 150(4): 1831-1843.
- [25] Domergue F, Vishwanath S J, Joubes J, Ono J, Lee J A, Bourdon M, Alhattab R, Lowe C, Pascal S, Lessire R, Rowland O. Three *Arabidopsis* fatty acyl-coenzyme a reductases, FAR1, FAR4, and FAR5, generate primary fatty alcohols associated with suberin deposition. *Plant Physiology*, 2010, 153(4): 1539-1554.
- [26] Beisson F, Li Y, Bonaventure G, Pollard M, Ohlrogge J B. The acyltransferase GPAT5 is required for the synthesis of suberin in seed coat and root of *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2007, 19(1): 351-368.
- [27] Li Y, Beisson F, Ohlrogge J, Pollard M. Monoacylglycerols are components of root waxes and can be produced in the aerial cuticle by ectopic expression of a suberin-associated acyltransferase. *Plant Physiology*, 2007, 144(3): 1267-1277.
- [28] Yang W, Pollard M, Libeisson Y, Beisson F, Feig M, Ohlrogge J. A distinct type of glycerol-3-phosphate acyltransferase with sn-2 preference and phosphatase activity producing 2-monoacylglycerol. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(26): 12040-12045.
- [29] Yang W, Simpson J P, Libeisson Y, Beisson F, Pollard M, Ohlrogge J B. A land-plant-specific glycerol-3-phosphate acyltransferase family in *Arabidopsis*: Substrate specificity, sn-2 preference, and evolution. *Plant Physiology*, 2012, 160(2): 638-652.
- [30] Gou J Y, Yu X H, Liu C J. A hydroxycinnamoyltransferase responsible for synthesizing suberin aromatics in *Arabidopsis*. *PNAS*, 2009, 106(44): 18855-18860.
- [31] Kosma D K, Molina I, Ohlrogge J B, Pollard M. Identification of an *Arabidopsis* fatty alcohol; Caffeoyl-coenzyme a acyltransferase required for the synthesis of alkyl hydroxycinnamates in root waxes. *Plant Physiology*, 2012, 160(1): 237-248.
- [32] Gou M, Hou G, Yang H, Zhang X, Cai Y, Kai G, Liu C J. The MYB107 transcription factor positively regulates suberin biosynthesis. *Plant Physiology*, 2017, 173(2): 1045-1058.
- [33] Kosma D K, Murmu J, Razeq F M, Santos P, Bourgault R, Molina I, Rowland O. ATMYB41 activates ectopic suberin synthesis and assembly in multiple plant species and cell types. *Plant Journal for Cell & Molecular Biology*, 2014, 80(2): 216-229.
- [34] Gou M, Hou G, Yang H, Zhang X, Cai Y, Kai G, Liu C J. The MYB107 transcription factor positively regulates suberin biosynthesis. *Plant Physiology*, 2017, 173(2): 1045-1058.
- [35] Serra O, Soler M, Hohn C, Franke R, Schreiber L, Prat S, Molinas M, Figueras M. Silencing of *STKCS6* in potato periderm leads to reduced chain lengths of suberin and wax compounds and increased peridermal transpiration. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60(2): 697-707.
- [36] Serra O, Hohn C, Franke R, Prat S, Molinas M, Figueras M. A feruloyl transferase involved in the biosynthesis of suberin and suberin-associated wax is required for maturation and sealing properties of potato periderm. *Plant Journal*, 2010, 62(2): 277-290.

- [37] Boher P, Serra O, Soler M, Molinas M, Figueras M. The potato suberin feruloyl transferase FHT which accumulates in the phellogen is induced by wounding and regulated by abscisic and salicylic acids. *Journal of Experimental Botany*, 2013, 64(11): 3225-3236.
- [38] Landgraf R, Smolka U, Altmann S, Eschen-Lippold L, Senning M, Sonnewald S, Weigel B, Frolova N, Strehmel N, Hause G. The ABC transporter ABCG1 is required for suberin formation in potato tuber periderm. *Plant Cell*, 2014, 26(8): 3403-3415.
- [39] Verdaguier R, Soler M, Serra O, Garrote A, Fernández S, Company-Arumí D, Anticó E, Molinas M, Figueras M. Silencing of the potato *NAC103* gene enhances the accumulation of suberin polyester and associated wax in tuber skin. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(18): 5415-5427.
- [40] Shockey J M, Fulda M S, Browse J A. *Arabidopsis* contains nine long-chain acyl-coenzyme A synthetase genes that participate in fatty acid and glycerolipid metabolism. *Plant Physiology*, 2002, 129(4): 1710-1722.
- [41] Schnurr J, Shockey J, Browse J. The acyl-coa synthetase encoded by LACS2 is essential for normal cuticle development in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2004, 16(3): 629-642.
- [42] Samuels L, Kunst L, Jetter R. Sealing plant surfaces: Cuticular wax formation by epidermal cells. *Annual Review of Plant Biology*, 2008, 59(1): 683-707.
- [43] Millar A A, Kunst L. Very-long-chain fatty acid biosynthesis is controlled through the expression and specificity of the condensing enzyme. *Plant Journal*, 1997, 12(1): 121-131.
- [44] Agrawal V P, Kolattukudy P E. Purification and characterization of a wound-induced omega-hydroxyfatty acid: NADP oxidoreductase from potato tuber disks (*Solanum tuberosum* L.). *Archives of Biochemistry & Biophysics*, 1978, 191(2): 452-465.
- [45] Kurdyukov S, Faust A, Nawrath C, Bär S, Voisin D, Efremova N, Franke R, Schreiber L, Saedler H, Métraux J P. The epidermis-specific extracellular bodyguard controls cuticle development and morphogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2006, 18(2): 321-339.
- [46] Molina I. Biosynthesis of plant lipid polyesters. The AOCs lipid library. [2018-01-20] <http://lipidlibrary.aocs.org/plantbio/polyesters/index.htm>.
- [47] Benveniste I, Tijet N, Adas F, Philipps G, Salaün J P, Durst F. *CYP86A1* from *Arabidopsis thaliana* encodes a cytochrome P450-dependent fatty acid omega-hydroxylase. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 1998, 243(3): 688-693.
- [48] Rowland O, Domergue F. Plant fatty acyl reductases: Enzymes generating fatty alcohols for protective layers with potential for industrial applications. *Plant Science An International Journal of Experimental Plant Biology*, 2012, 193-194(1): 28-38.
- [49] McFarlane H E, Watanabe Y, Yang W, Huang Y, Ohlrogge J, Samuels A L. Golgi- and trans-golgi network-mediated vesicle trafficking is required for wax secretion from epidermal cells. *Plant Physiology*, 2014, 164(3): 1250-1260.
- [50] Pighin J, Zheng H, Balakshin L, Goodman I, Western T, Jetter R, Kunst L, Samuels A. Plant cuticular lipid export requires an ABC transporter. *Science*, 2004, 306: 702-704.
- [51] Choi H, Jin J Y, Choi S, Hwang J U, Kim Y Y, Suh M C, Lee Y. An ABCG/WBC-type ABC transporter is essential for transport of sporopollenin precursors for exine formation in developing pollen. *Plant Journal for Cell & Molecular Biology*, 2011, 65(2): 181-193.
- [52] Soler M, Serra O, Molinas M G, Fluch S, Figueras M. A genomic approach to suberin biosynthesis and cork differentiation. *Plant Physiology*, 2007, 144(1): 419-431.
- [53] Shiono K, Ando M, Nishiuchi S, Takahashi H, Watanabe K, Nakamura M, Matsuo Y, Yasuno N, Yamanouchi U, Fujimoto M. RCN1/OSABCG5, an ATP-binding cassette (ABC) transporter, is required for hypodermal suberization of roots in rice (*Oryza sativa*). *Plant Journal*, 2014, 80(1): 40-51.
- [54] Kim H, Lee S B, Kim H J, Min M K, Hwang I, Suh M C. Characterization of glycosylphosphatidylinositol-anchored lipid transfer protein 2 (LTPG2) and overlapping function between LTPG/LTPG1 and LTPG2 in cuticular wax export or accumulation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant & Cell Physiology*, 2012, 53(8): 1391-1403.
- [55] Huang M D, Chen T L, Huang A H. Abundant type iii lipid transfer proteins in *Arabidopsis* tapetum are secreted to the locule and become a constituent of the pollen exine. *Plant Physiology*, 2013, 163(3): 1218-1229.
- [56] Edstam M M, Blomqvist K, Eklöf A, Wennergren U, Edqvist J. Coexpression patterns indicate that gpi-anchored non-specific lipid transfer proteins are involved in accumulation of cuticular wax, suberin and sporopollenin. *Plant Molecular Biology*, 2013, 83(6): 625-649.

- [57] Edstam M M, Edqvist J. Involvement of GPI-anchored lipid transfer proteins in the development of seed coats and pollen in *Arabidopsis thaliana*. *Physiologia Plantarum*, 2014, 152(1): 32-42.
- [58] Deeken R, Saupe S, Klinkenberg J, Riedel M, Leide J, Hedrich R, Mueller T D. The nonspecific lipid transfer protein ATLTP1-4 is involved in suberin formation of *Arabidopsis thaliana* crown galls. *Plant Physiology*, 2016, 172(3): 1911-1927.
- [59] Yeats T H, Martin L B B, M.-F V H, Tal I, He Y, Zhao L, Matas A J, Buda G J, Domozych D S, Clausen M H. The identification of cutin synthase: Formation of the plant polyester cutin. *Nature Chemical Biology*, 2012, 8(7): 609-611.
- [60] Yeats T H, Huang W, Chatterjee S, Viart H M, Clausen M H, Stark R E, Rose J K. Tomato cutin deficient 1 (CD1) and putative orthologs comprise an ancient family of cutin synthase-like (cus) proteins that are conserved among land plants. *Plant Journal*, 2014, 77(5): 667-675.
- [61] Jakobson L, Lindgren L O, Verdier G, Laanemets K, Brosché M, Beisson F, Kollist H. Bodyguard is required for the biosynthesis of cutin in *Arabidopsis*. *New Phytologist*, 2016, 211(2): 614-626.
- [62] Kolattukudy P E. Biopolyester membranes of plants: Cutin and suberin. *Science*, 1980, 208: 990-1000.
- [63] Bernards M A, Fleming W D, Llewellyn D B, Priefer R, Yang X, Sabatino A, Plourde G L. Biochemical characterization of the suberization-associated anionic peroxidase of potato. *Plant Physiology*, 1999, 121(1): 135-146.
- [64] Lee Y, Rubio M C, Alassimone J, Geldner N. A mechanism for localized lignin deposition in the endodermis. *Cell*, 2013, 153(2): 402-412.
- [65] Legay S, Guerriero G, André C, Guignard C, Cocco E, Charton S, Boutry M, Rowland O, Hausman J F. MDMYB93 is a regulator of suberin deposition in russeted apple fruit skins. *New Phytologist*, 2016, 212(4): 977-991.
- [66] Lashbrooke J G, Cohen H, Levysamocha D, Tzfadia O, Panizel I, Zeisler V, Massalha H, Stern A, Trainotti L, Schreiber L. MYB107 and MYB9 homologs regulate suberin deposition in angiosperms. *Plant Cell*, 2016, 28(9): 2097-2116.
- [67] Krishnamurthy P, Ranathunge K, Franke R, Prakash H S, Schreiber L, Mathew M K. The role of root apoplastic transport barriers in salt tolerance of rice (*Oryza sativa* L.). *Planta*, 2009, 230(1): 119-134.
- [68] Krishnamurthy P, Ranathunge K, Nayak S, Schreiber L, Mathew M. Root apoplastic barriers block Na⁺ transport to shoots in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(12): 4215-4228.
- [69] Ranathunge K, Schreiber L. Water and solute permeabilities of *Arabidopsis* roots in relation to the amount and composition of aliphatic suberin. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(6): 1961-1974.
- [70] Hose E, Clarkson D T, Steudle E, Schreiber L, Hartung W. The exodermis: A variable apoplastic barrier. *Journal of Experimental Botany*, 2001, 52: 2245-2264.
- [71] Clarkson D T, Sanderson J. The uptake of a polyvalent cation and its distribution in the root apices of *Allium cepa*: Tracer and autoradiographic studies. *Planta*, 1969, 89(2): 136-154.
- [72] Jupp A P, Newman E I. Morphological and anatomical effects of severe drought on the roots of *Lolium perenne* L. *New Phytologist*, 1987, 105(3): 393-402.
- [73] Henry A, Cal A J, Batoto T C, Torres R O, Serraj R. Root attributes affecting water uptake of rice (*Oryza sativa*) under drought. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(13): 4751-4763.
- [74] Baxter I, Hosmani P S, Rus A, Lahner B, Borevitz J O, Muthukumar B, Mickelbart M V, Schreiber L, Franke R B, Salt D E. Root suberin forms an extracellular barrier that affects water relations and mineral nutrition in *Arabidopsis*. *Plos Genetics*, 2009, 5(5): 188-192.
- [75] Hosmani P S, Kamiya T, Danku J, Naseer S, Geldner N, Guerinot M L, Salt D E. Dirigent domain-containing protein is part of the machinery required for formation of the lignin-based casparian strip in the root. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(35): 14498-14503.
- [76] Li B, Kamiya T, Kalmbach L, Yamagami M, Yamaguchi K, Shigenobu S, Sawa S, Danku J M, Salt D E, Geldner N. Role of LOTR1 in nutrient transport through organization of spatial distribution of root endodermal barriers. *Current Biology*, 2017, 27(5): 758-765.
- [77] Tataranni G, Santarcangelo M, Sofo A, Xiloyannis C, Tyerman S D, Dichio B. Correlations between morpho-anatomical changes and radial hydraulic conductivity in roots of olive trees under water deficit and rewatering. *Tree Physiology*, 2015, 35(12): 1356-1365.
- [78] Armstrong W. Aeration in higher plants. *Advances in Botanical Research*, 1979, 7: 25-332.

- [79] Soukup A, Armstrong W, Schreiber L, Franke R, Votrubova O. Apoplastic barriers to radial oxygen loss and solute penetration: A chemical and functional comparison of the exodermis of two wetland species, phragmites australis and glyceria maxima. *New Phytologist*, 2007, 173(2): 264-278.
- [80] Watanabe K, Nishiuchi S, Kulichikhin K, Nakazono M. Does suberin accumulation in plant roots contribute to waterlogging tolerance? *Frontiers in Plant Science*, 2013, 4(2): 178-184.
- [81] Armstrong J, Armstrong W. Rice and phragmites: Effects of organic acids on growth, root permeability, and radial oxygen loss to the rhizosphere. *American Journal of Botany*, 2001, 88(8): 1359-1370.
- [82] Armstrong J, Armstrong W. Rice: sulfide-induced barriers to root radial oxygen loss, Fe^{2+} and water uptake, and lateral root emergence. *Annals of Botany*, 2005, 96(4): 625-638.
- [83] De Simone O, Haase K, Muller E, Junk WJ, Hartmann K, Schreiber L, Schmidt W. Apoplasmic barriers and oxygen transport properties of hypodermal cell walls in roots from four amazonian tree species. *Plant Physiology*, 2003, 132(1): 206-217.
- [84] Garthwaite A J, Bothmer R V, Colmer T D. Diversity in root aeration traits associated with waterlogging tolerance in the genus hordeum. *Functional Plant Biology*, 2003, 30(8): 875-889.
- [85] Garthwaite A J, Armstrong W, Colmer T D. Assessment of O_2 diffusivity across the barrier to radial O_2 loss in adventitious roots of *Hordeum marinum*. *New Phytologist*, 2008, 179(2): 405-416.
- [86] Shiono K, Yamauchi T, Yamazaki S, Mohanty B, Malik A I, Nagamura Y, Nishizawa N K, Tsutsumi N, Colmer T D, Nakazono M. Microarray analysis of laser-microdissected tissues indicates the biosynthesis of suberin in the outer part of roots during formation of a barrier to radial oxygen loss in rice (*Oryza sativa*). *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(17): 4795-4806.
- [87] Provost G L, Lesur I, Lalanne C, Silva C D, Labadie K, Aury J M, Leple J C, Plomion C. Implication of the suberin pathway in adaptation to waterlogging and hypertrophied lenticels formation in pedunculate oak (*Quercus robur* L.). *Tree Physiology*, 2017, 36(11): 1330-1342.
- [88] Barberon M, Vermeer J E, Debellis D, Wang P, Naseer S, Andersen T G, Humbel B M, Nawrath C, Takano J, Salt D E. Adaptation of root function by nutrient-induced plasticity of endodermal differentiation. *Cell*, 2016, 164(3): 447-459.
- [89] Lulai E C. Non-wound-induced suberization of tuber parenchyma cells: A physiological response to the wilt disease pathogen *Verticillium dahliae*. *American Journal of Potato Research*, 2005, 82(6): 433-440.
- [90] Buskila Y, Tsror L L, Sharon M, Teper-Bamnlolker P, Holczer-Erlich O, Warshavsky S, Ginzberg I, Burdman S, Eshel D. Post-harvest dark skin spots in potato tubers are an oversuberation response to *Rhizoctonia solani* infection. *Phytopathology*, 2011, 101(4): 436-444.
- [91] Thomas R, Fang X, Ranathunge K, Anderson T R, Peterson C A, Bernards M A. Soybean root suberin: Anatomical distribution, chemical composition, and relationship to partial resistance to *Phytophthora sojae*. *Plant Physiology*, 2007, 144(1): 299-311.
- [92] Ranathunge K, Thomas R H, Fang X, Peterson C A, Gijzen M, Bernards M A. Soybean root suberin and partial resistance to root rot caused by *Phytophthora sojae*. *Phytopathology*, 2008, 98(11): 1179-1189.
- [93] Thangavel T, Tegg R S, Wilson C R. Toughing it out-disease-resistant potato mutants have enhanced tuber skin defenses. *Phytopathology*, 2016, 106(5): 474-483.
- [94] Southerton S G, Deverall B J. Histochemical and chemical evidence for lignin accumulation during the expression of resistance to leaf rust fungi in wheat. *Physiological & Molecular Plant Pathology*, 1990, 36(6): 483-494.
- [95] Quiroga M, Guerrero C, Botella M A, Barceló A, Amaya I, Medina M I, Alonso F J, De Forchetti S M, Tigier H, Valpuesta V. A tomato peroxidase involved in the synthesis of lignin and suberin. *Plant Physiology*, 2000, 122(4): 1119-1127.
- [96] Naseer S, Geldner N. Casparian strip diffusion barrier in *Arabidopsis* is made of a lignin polymer without suberin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(25): 10101-10106.
- [97] 林子然, 张英俊. 丛枝菌根真菌和磷对于旱胁迫下紫花苜蓿幼苗生长与生理特征的影响. *草业科学*, 2018, 35(1): 115-122.
Lin Z R, Zhang Y J. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus on growth and physiological properties of alfalfa seedlings under drought stress. *Pratacultural Science*, 2018, 35(1): 115-122. (in Chinese)

(责任编辑 王芳)