



植物凯氏带形成分子机制 及功能特点的研究进展

翁群清, 郑秀娟, 解慧芳, 孙新立*

(福建农林大学 作物学院, 作物遗传育种与综合利用教育部重点实验室, 福州 350002)

摘 要: 凯氏带位于被子植物初生根内皮层细胞, 环绕细胞 1 周, 是与质膜紧密结合的非极性带状增厚结构。凯氏带作为植物根中离子径向运输障碍, 调节离子的质外体吸收途径, 迫使土壤中的离子通过内皮层细胞膜, 选择性地进入中柱。凯氏带发现于 1865 年, 但直至拟南芥凯氏带蛋白的发现和凯氏带阻滞作用物质基础被揭示, 凯氏带的形成机理和功能才逐渐为人们所认知。凯氏带的物质基础为木质素, 其形成需要由凯氏带蛋白和受体激酶组成的合成平台。细胞内部的木质素单体经 ABCG 载体运输到凯氏带的形成区, 经 ESB1 dirigent 蛋白、RBOHF 氧化酶和 PER64 过氧化物酶等催化, 合成本质素。该文对近年来国内外有关凯氏带形成的分子机制和功能特点方面的研究进展进行综述, 为进一步理解和解析凯氏带的形成机理和功能提供参考。

关键词: 凯氏带; 木质素; 木栓质; 内皮层; 凯氏带蛋白

中图分类号: Q942. 5; Q944. 54 **文献标志码:** A

Molecular Mechanism of Formation and Functional Characteristics of Casparian Strip

WENG Qunqing, ZHENG Xiujuan, XIE Huifang, SUN Xinli*

(Key Laboratory of Ministry of Education for Genetics, Breeding and Multiple Utilization of Crops, College of Crop Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: Casparian strips are a cellular feature found in the roots of all higher plants, which are ring-like, hydrophobic cell wall impregnations that tightly attach with the endodermal cell membrane. Casparian strip acts as a barrier to the free diffusion of solutes from the soil, and forces ions through endodermal cell into the stele. Casparian strip was found in 1865, but many botany textbooks cannot give completely correct information on it. The mechanism of its formation was gradually aware until Casparian strip membrane domain proteins (CASPs) were characterized and the substance of Casparian strip were revealed. The scaffold, which consists of CASPs and receptor-like kinases, was needed for Casparian strip formation. Casparian strip diffusion barrier in *Arabidopsis* is made of a lignin, and NADPH oxidase-RBOHF, Peroxidase-Per64 and ESB1 dirigent protein were used to catalyze the polymerization with monolignol, which was transported from cell into Casparian strip membrane domain by ABCG transporter. Here, we reviewed the major findings and models related to Casparian strip and its function in light of recent molecular data. This article can provide a framework and inspiration for further molecular dissection.

Key words: Casparian strip; lignin; suberin; endodermis; Casparian strip membrane domain protein

收稿日期: 2017-04-10; 修改稿收到日期: 2017-06-19

基金项目: 国家自然科学基金 (31571574)

作者简介: 翁群清 (1991—), 女, 硕士研究生, 主要从事植物分子生物学研究。E-mail: 80922824@qq.com

* 通信作者: 孙新立, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事拟南芥和水稻分子生物学研究。E-mail: xinlisun@hotmail.com

凯氏带(Casparian strip)位于被子植物初生根内皮层细胞,环绕细胞1周并与质膜紧密结合,形成一条非极性带状增厚结构。由于它的存在使得所有的水分和无机盐只有经过内皮层的原生质体才能进入维管柱^[1]。由德国植物学家 Robert Caspary 1865 年发现,Casparian strip 的名字也因此而来。内皮层细胞是1圈排列紧密而无细胞间隙的细胞,凯氏带位于该层细胞的横向壁和径向壁上,将整个内皮层紧紧连在一起。基于此,用纤维素酶和果胶酶对内皮层充分酶解后,可将凯氏带从内皮层细胞分离出来^[2]。完整的凯氏带表现为一个连续的网格状结构^[3]。从根的横切面观察,径向壁增厚的部分成点状,故又称凯氏点(Casparian dots)。电镜观察发现凯氏带占据了相邻细胞的所有空间,质壁分离并不能将细胞膜和凯氏带分开^[1, 4]。内皮层细胞的质膜呈波浪形,而紧靠凯氏带下面的细胞质膜较细胞其他部位更厚、更平滑^[5]。

大多数单子叶植物及少数双子叶植物的内皮层在早期凯氏带加厚的基础上,大部分细胞进一步发展成五面增厚,仅外切向壁仍保持薄壁状态,其横切面加厚部分呈现U形或马蹄形,如玉米、葱属、菖蒲属;少数植物(百合属)的大部分内皮增厚细胞甚至发展成六面,但也有少数正对原生木质部的内皮层细胞,仍停留在初期发育阶段,没有加厚^[4-5]。

凯氏带不仅出现于初生根的内皮层,在白屈菜(*Chelidonium majus*)的根外皮层细胞中也发现了凯氏带^[6]。天竺葵(*Pelargonium hortorum*)茎中木栓细胞中和豌豆黄化苗茎中发现凯氏带结构^[7-8]。松科植物针叶内皮层细胞壁具有与根部内皮层相似的凯氏带结构^[9-10]。本文仅关注根中凯氏带的形成机制和功能特点。鉴于凯氏带主要调节根中离子的径向运输,论文将首先阐述植物根中离子径向运输的特征。

1 根对土壤中营养物的吸收和径向运输

1.1 质外体途径

中柱是植物上下运输的主要通路。土壤中的水分和营养物被根的表皮吸收后,沿着三条途径径向移动(radial transport)进入中柱^[11]:一条是通过细胞壁和细胞间隙的质外体途径(apoplastic pathway),该途径的运输依赖于内外离子浓度的差异和蒸腾作用产生的向内驱动力^[12]。存在于细胞壁内的果胶质(pectin)上的羧基集团可以起到阳离子交

换介质的作用。因而,根内金属离子的集聚依赖于质体外途径中的阳离子结合能力^[1, 11]。离子移动到内皮层细胞时,被存在于内皮层的凯氏带所阻止。凯氏带形成了紧密的运输障碍,调节离子的质外体吸收途径,迫使离子通过内皮层细胞膜进入中柱,从而实现了离子的选择性吸收。此外,内皮层凯氏带还有防止维管柱内的溶质倒流至皮层以及保持根压的作用,阻止有毒物质的吸收和病原菌的入侵^[1, 4]。高浓度离子会促进凯氏带的形成。盐处理后,玉米凯氏带变宽,且凯氏带出现早,凯氏带形成细胞距根尖的距离变短^[13]。类似的现象同样在水稻中观察到^[14]。非生物胁迫会造成玉米接触区外皮层和内皮层结构的不对称发育^[15]。

1.2 共质体途径

第二条径向运输途径是通过质膜和原生质的共质体途径(symplastic pathway)。营养物通过表皮细胞的选择性吸收,进入细胞内部,通过胞间连丝在皮层细胞间运输,而后跨过内皮层膜,进入中柱。这是一条主动运输途径,依赖于膜上载体、细胞内金属离子螯合剂、大分子蛋白质以及胞间连丝的通透性等^[11]。进入细胞内部的无机离子运输受到严格的调控。例如,胼胝质(callose)是影响胞间连丝通透性的重要因子^[16],根中胼胝质的沉积又受钙和铝等各种非生物胁迫诱导^[17-18]。锌离子进入细胞,需要特异性的载体——ITR1 和 ITR2^[19-20],进入胞内的锌离子需要与烟酰胺结合,在细胞间运输^[21]。锌-烟酰胺复合物可在特异性载体的协助下存储于液泡内,限制了锌离子的自由扩散^[22-25]。

1.3 耦合跨细胞途径

第三条径向运输途径称之为耦合跨细胞途径(coupled trans-cellular pathway),需要跨膜的输入和输出的载体(influx and efflux carrier)。这些载体在皮层细胞呈极性分布,协同运输;营养物质需要重复质体外和质体内途径,类似于生长素的纵向运输^[11]。这种向内和向外载体的极性分布首先发现于马铃薯磷酸载体 StPT2 的分布上,它只定位在外皮层细胞的外向质膜上^[26]。而真正确定这种极性分布的是水稻硅酸盐运输通道蛋白,硅酸盐载体 Lsi1 处在表皮和内皮层向外的质膜区,而 Lsi2 处在向内的质膜区,协同完成跨细胞通路的运输^[27-28]。拟南芥中,硼酸盐的输入和输出载体(NIP5;1 和 BOR1)分别位于表皮和内皮层外向和内向质膜区^[29-30]。水稻 Mn 和 Ca 离子的吸收载体(NRAMP5)位于外皮层和内皮层外向质膜上^[31],拟南芥中硝酸

盐吸收载体(NRT2.4)和金属离子吸收载体(IRT1)位于内皮层外向质膜区^[32-33]。有意思的是,硼流出载体 BOR4,负责将根内多余的硼运出体外,位于根表皮细胞的外向质膜区^[34]。

2 凯氏带中对离子径向运输起阻滞作用的物质

2.1 凯氏带的组织

基于组织化学和分离纯化后的凯氏带化学分析,发现凯氏带中有木栓质(suberin)、木质素(lignin)或类木质素(lignin-like)、角质、少量氨基酸和糖等^[35-37]。栓质是一类疏水性脂类聚合物,含少量羧基肉桂酸和丙三醇;而木质素是由聚合的芳香醇构成的一类物质。凯氏带中,对离子运输起阻滞作用的物质,还多有争论。很长一段时间,人们普遍认为木栓质是构成凯氏带的主要结构物质,也是起阻滞作用的物质^[38];而木质素,虽早有发现,但对其在凯氏带中的作用,还很模糊。其实,无论组织化学还是分离纯化分析,都难以解决上述问题。单纯的组织化学分析难以确定凯氏带的明确界限,而分离纯化同样难以将凯氏带和其他的附带组织分离开来。

2.2 凯氏带中起阻滞作用的是木质素或类木质素

拟南芥遗传与分子生物学的发展和红色荧光染料碘化丙啶(propidium iodide,PI)在凯氏带研究中的应用,为上述问题的解决奠定了基础。凯氏带具有阻止质外体运输的功能,荧光染料碘化丙啶能够模拟这一过程并易于激光共聚焦荧光显微镜观察^[39]。凯氏带的异常,导致这种阻滞作用消失^[39-40]。凯氏带本身在荧光显微镜下显示较强的绿色荧光,Fluorol yellow 染色使木栓质显示黄色荧光^[40]。对拟南芥根荧光共聚焦显微镜分析发现,绿色荧光的出现略早于凯氏带对PI阻滞作用的出现,而黄色荧光的出现晚于阻滞作用的出现。也就是说,凯氏带的形成早期,对PI的阻滞作用较弱;而凯氏带阻滞作用形成时,还没有木栓质的沉积^[40]。通过对木栓质合成酶的分析,同样证明,这些基因的表达晚于凯氏带的形成;抑制木栓质的合成对凯氏带的功能没有任何影响。反之,抑制木质素的合成和积累会造成凯氏带功能的丧失^[40]。这些结果表明在凯氏带中,起主要作用的是木质素或类木质素^[40]。为进一步确定凯氏带中木质素的种类,Naseer 等采用拟南芥组氨酸转移蛋白6(Arabidopsis histidine transfer protein 6(ahp6))突变体,经细胞分裂素处理后,根中柱中木质素合成延迟,但不影响

凯氏带的形成和功能^[40]。这为有效地分离凯氏带,减少附带组织的污染奠定了基础。分离的凯氏带经GC-MS分析发现,其木质素的组成与典型的木质素差异并不大^[40]。

3 凯氏带的形成和发育过程

3.1 凯氏带中木质素的合成

凯氏带主要由木质素组成。分析内皮层细胞间木质素的形成机理是解析凯氏带形成的关键。木质素由木质素单体(monolignol)聚合而成,木质素单体分为3种,香豆醇(coumaryl alcohol)、松柏醇(coniferyl alcohol)和白芥子醇(sinapyl alcohol),分别形成H、G和S型木质素。而组成凯氏带的木质素属于哪一种还不清楚。

木质素单体由苯丙氨酸,经一系列的酶促反应在细胞内部合成,这一过程的研究相对比较清楚^[41]。而由木质素单体聚合形成木质素的机理,还有很多的空白。木质素的聚合发生在质外体,对凯氏带而言,木质素单体和催化聚合作用相关的酶准时出现在凯氏带应该形成的部位更为关键。ABCG29基因编码一个ATP结合的盒转运蛋白(ATP-binding cassette transporter)。ABCG29蛋白位于根内皮层和维管组织细胞膜上,负责将木质素单体从细胞内运输到胞外^[42]。还不清楚该基因是否与凯氏带的形成有关。拟南芥中ATP结合的盒转运蛋白是一个多基因家族。ABCG2、ABCG6、ABCG16和ABCG20基因同样在成熟根的内皮层表达,它们似乎和栓质的沉积有关。abcg2-1/abcg6-1/abcg20-1三突变体改变了栓质的结构和单体组成,并且改变了上部根区(距离分生组织37细胞以上的部分)对PI的通透性,丧失了对PI的阻滞作用;而下部根区与野生型相同^[43]。这些结果说明,拟南芥ATP结合的盒转运蛋白之间存在功能的冗余性,具体负责凯氏带形成的ABCG基因还需进一步的研究。水稻RCN1/OsABCG5基因在根外皮层和内皮层细胞特异表达,该基因的突变降低了外皮层木栓质的含量,增加了外皮层厚壁组织细胞木质素的含量,而没有改变内皮层细胞木栓素和木质素的含量;这一基因的突变同样改变了外皮层对高碘酸和小檗碱的通透性^[44]。

运输到根内皮层细胞凯氏带形成区的木质素单体,需要NAD(P)H氧化酶-RBOHF和过氧化物-PER64蛋白。木质素单体经H₂O₂氧化形成木质素,RBOHF负责产生H₂O₂,PER64催化木质素单

体和 H_2O_2 反应形成木质素。RBOHF、 H_2O_2 与 PER64 共处于凯氏带的形成区^[45],RBOHF 和 PER64 突变造成凯氏带形成的延迟^[45](图 1)。此外,凯氏带的形成还需要超氧化物歧化酶^[45](图 1)。

木质素的形成还需要松脂醇((+)-pinoresinol)。ESB1(enhanced suberin1)编码一个含有 Dirigent 结构域的蛋白质,该基因的突变导致凯氏带宽大和形成的延迟以及根中栓质的增加,同时造成木质素的异位沉积^[46]。Dirigent 蛋白质是保证形成具有正确空间结构松脂醇的关键因子(图 1)^[47]。

3.2 凯氏带的合成平台

凯氏带蛋白(Casparian strip membrane domain proteins-CASP)是特异性出现在凯氏带形成区域的膜蛋白^[39]。拟南芥中,有 5 个凯氏带蛋白,它们自身和彼此之间可以形成复合体,特异性的停留在凯氏带准备形成的区域。5 个凯氏带蛋白间有功能的冗余,双突变体 *casp1-1/casp3-1* 表现出凯氏带的异常,但并不能改变凯氏带的阻滞功能^[39]。CASP 的作用是为参与凯氏带形成的蛋白建立一个平台。ESB1 在凯氏带区的定位需要 CASP 蛋白,反之亦然^[46]。RBOHF、ESB1、PER64 和 CASPs 很可能在凯氏带的形成区组成大的复合体,共同完成凯氏带的合成。

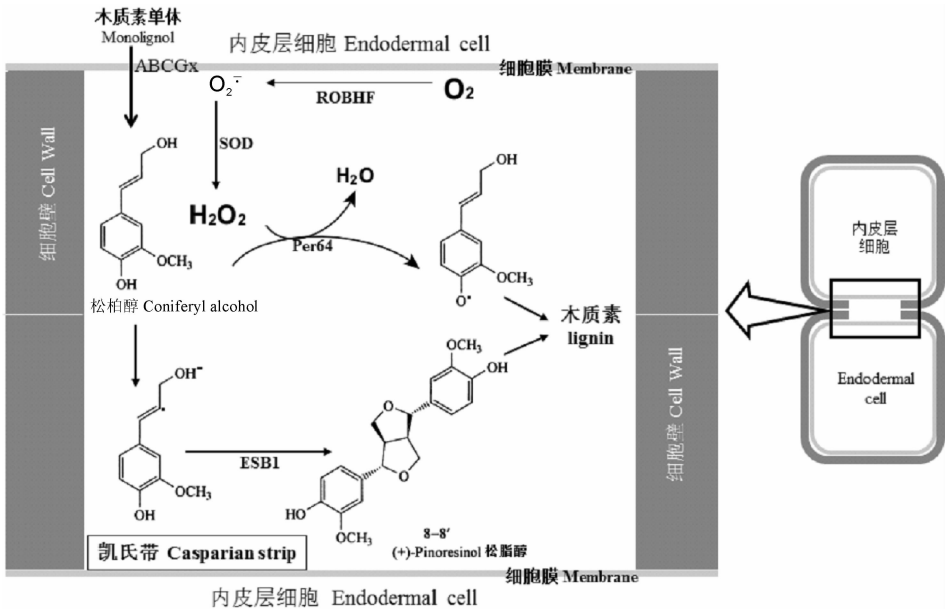
凯氏带合成平台的形成还需要其他的蛋白质。

SGN3 基因编码一个 LRR 类受体激酶蛋白,特异性地在内皮层细胞表达,但表达早于 CASP 基因,能够影响凯氏带的建立,但不影响栓质的形成。突变体中凯氏带呈不连续的岛状排布,难以形成连续的凯氏带环,导致根中难以产生有效的质外体运输障碍^[48]。SGN1 基因编码一个 RLCK VII 类受体激酶(receptor-like cytoplasmic kinase),同样在内皮层细胞表达。与 SGN3 蛋白质不同,SGN1 仅出现在内皮层细胞膜面向皮层的一侧,但与 SGN3 共同作用确保 CASP 蛋白的准确定位和形成完整的复合体框架^[49]。

Myb36 编码一个转录因子,通过调控凯氏带形成相关基因,包含所有的 CASP、ESB1 和 PER64 等基因,协调凯氏带的形成^[50]。

3.3 凯氏带的发育过程

凯氏带首先出现在近分生组织的上部,初形成的凯氏带呈不连续的岛状排布,而后,发育成连续的凯氏带^[39]。拟南芥中,内皮层的发育分为 2 个时期,凯氏带的形成期和栓质层(suberin lamellae)的沉积期^[11]。其木栓质的含量随着内皮层由初生阶段发育到次生阶段而逐渐增加。凯氏带发育成熟后,内皮层细胞初生细胞壁的内层形成栓质层,发育后期,栓质层会覆盖整个内皮层细胞^[1, 11]。和凯氏带相比,栓质层不影响质体外途径的运输^[40, 46]。



ABCG. ATP 结合的盒转运蛋白;RBOHF. NAD(P)H 氧化酶 F 或呼吸爆发功能氧化酶 F;PER64. 过氧化物 64;
SOD. 超氧化物歧化酶;ESB1. 含有 Dirigent 结构域的蛋白质 1
图 1 内皮层细胞凯氏带中木质素的沉积模型
ABCG. ATP-binding cassette transporter;RBOHF. Respiratory burst oxidase protein F;PER64. Peroxidase 64;
SOD. Superoxide dismutase; ESB1. Enhanced suberin1

Fig. 1 Schematic diagram of lignin deposition of Casparian strip in endodermal cells

4 凯氏带的异常、栓质层和离子吸收

4.1 凯氏带的异常改变了植物体内的离子平衡

凯氏带如生理栅栏和阀门一样,控制着营养物质和水分进入维管柱。凯氏带的异常,常会改变植株对土壤中离子吸收。*RBOHF* 和 *PER64* 基因直接参与凯氏带的形成,这些基因的突变,造成凯氏带形成和对碘化丙啶阻滞作用延迟^[45]。*RBOHF* 基因的突变改变了根对离子的吸收^[51]。目前,还未见报道 *PER64* 基因突变对离子吸收的影响。拟南芥 *esb1* 基因突变,导致根内栓质含量增加,体内 Ca、Mn 和 Zn 离子减少,Na、S、K、As、Mo 和 Se 离子含量增加^[46, 52]。*sgn3* 这一突变体在逆境环境生长较弱,增加了水的吸收和对温度以及缺钾的敏感性^[48]。突变体莲座叶中的大部分元素和野生型相比,没有显著的变化;Mg 和 Cs 离子的含量增加,K 和 Zn 离子的积累减少,与之对应的是突变体中 K 离子运输载体基因的表达增加^[45]。

ABCG 转运蛋白负责将木质素单体从细胞内运输到细胞外,水稻 RCN1/OsABCG5 蛋白质的失活,造成水稻生长弱、分蘖减少、根变短和变少。该突变体改变了根外皮层的通透性,但是否改变了根对离子的吸收还未见报道^[43]。拟南芥 ABCG 基因间表现出较强的冗余性,*abcg2-1/ abcg6-1/ abcg20-1* 三突变体改变了根对 PI 的通透性以及根中栓质与蜡质的组成和结构。同样,突变体是否改变了离子吸收还未见报道^[44]。

Roppolo 等^[39]在拟南芥中发现 *casp1*、*casp3* 和 *casp5* 突变体。*casp3-1* 和 *casp3-2* 为基因剔除(knockout)突变体,*casp1-1* 和 *casp5-1* 为基因抑制(knockdown)突变体。在 *casp1-3* 突变体中,CASP1 蛋白的 169 位发生无义突变。没有在 *CASP2* 和 *CASP4* 基因中发现带有插入或终止密码子的突变体,但发现很多氨基酸改变的突变体^[39]。检测凯氏带,在 *casp1* 和 *casp3* 中未发现异常。而在双突变体 *casp1-1/casp3-1* 中,发现凯氏带异常,但没有观察到双突变体生长缺陷。采用碘化丙啶模拟根吸收实验,发现凯氏带仍然起作用,但凯氏带的阻滞作用形成延迟^[39, 46]。采用 RNAi 抑制 5 个 *CASP* 基因的表达,也未发现植株的异常,作者推测可能需要敲除所有的凯氏带蛋白基因才能表现出生理缺陷^[39]。

4.2 内皮层细胞外栓质层对离子吸收的影响

根毛区是根对土壤中营养物质吸收的主要区段,

该区内凯氏带形成而栓质层未形成的区段更为重要^[3]。这些区段内皮层细胞缺乏栓质层,它们可能是根的营养吸收点,这些细胞称为通道细胞(passage cell)^[1, 3, 11, 40]。磷转运载体可能就处在通道细胞上^[1, 53]。栓质层的存在可能阻止质体外途径运输的营养物直接吸收进入内皮层细胞^[1, 38]。栓质层出现在细胞膜和细胞壁之间,因而,它不可能阻止质外体途径(通过细胞之间的细胞壁运输)离子的运输,而可能限制质外体运输的离子或细胞与细胞之间运输的离子跨膜进入细胞内^[38]。Barberon 等^[54]利用荧光素二乙酸酯(fluorescein diacetate)检测栓质层对这种跨膜运输的影响,栓质层的增厚,明显降低了荧光素二乙酸酯的径向移动速度。

栓质层在水分吸收和盐胁迫过程中起着重要作用,水稻根中栓质的积累增加盐胁迫的耐受性^[14, 55]。拟南芥突变体分析表明,栓质的减少,有利于水分的传导,反之,增加了水分的利用率^[46, 52, 56]。因此,栓质层具有保持根内细胞的水分,阻止土壤中钠离子进入的功能。栓质层的发育受 ABA 控制,同时乙烯抑制栓质的合成,促进其降解。植物根感受土壤中营养物质的变化,调节栓质层的厚薄,而这种变化同样受 ABA 和乙烯的调控。而不同离子通过不同途径调节栓质的形成,K 和 S 离子的缺乏和 NaCl 的增加通过 ABA 途径,Fe、Zn 和 Mn 离子通过乙烯途径调节栓质层的厚度^[54]。

5 问题与展望

近年来,凯氏带的研究取得了突破性的进展。这些进展,多出自于 Niko Geldner 实验室基于拟南芥的研究结果。一方面,将这些结果推广到其他的植物,尤其是作物,有助于揭示这些植物凯氏带的形成机理及其在营养吸收中的功能。拟南芥调控凯氏带形成的基因,多能够在其他的植物中找到直系同源基因(ortholog)。通过对这些基因的分析,为解析凯氏带形成的分子机理和功能特点提供了有益的启迪和坚实的基础。另一方面,其他的植物,尤其是单子叶植物,与拟南芥差异较大。其凯氏带的形成和相关基因,也常会表现出其所在植物特有的结构和功能。以水稻为例,根中外皮层也具有类似凯氏带的结构,对高碘酸和小檗碱具有阻滞作用^[44],可能对离子吸收也具有一定的阻滞作用^[57]。这种双重凯氏带结构造成水稻的质外体途径不同于拟南芥的质外体途径,土壤中离子可直接通过拟南芥根表皮的细胞壁进入皮层,受阻于内皮层凯氏带;而水

稻,因外皮层凯氏带的存在,直接造成了质外体途径终止于此。鉴于此,这些结构要求离子输入和输出载体在外皮层和内皮层的细胞膜都要有分布,以便于水稻根主动从土壤中吸收离子^[57]。此外,水稻皮层中存在气腔,外皮层凯氏带存在对气腔中气体的溢出起保护作用^[58]。气腔的存在对根中离子径向

运输的影响还有待进一步的分析。如上文所述,碘化丙啶在拟南芥凯氏带和径向运输的研究中起着重要的作用,但我们的研究发现,水稻凯氏带对碘化丙啶的径向扩散没有阻滞作用。这些说明,对凯氏带的研究,尤其是对单子叶植物凯氏带形成机理和功能特点等仍然存在很多空白,尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] ROBBINS II N E, TRONTIN C, DUAN L, *et al.* Beyond the barrier: Communication in the root through the endodermis[J]. *Plant Physiology*, 2014, **166**(2): 551-559.
- [2] KARAHARA I, SHIBAOKA H. Isolation of Casparian strips from pea roots[J]. *Plant Cell Physiology*, 1992, **33**(5): 555-561.
- [3] GELDNER N. Casparian strips[J]. *Current Biology: CB*, 2013, **23**(23): R1 025-1 026.
- [4] ALASSIMONE J, ROPPOLO D, GELDNER N, *et al.* The endodermis—development and differentiation of the plant's inner skin[J]. *Protoplasma*, 2012, **249**(3): 433-443.
- [5] 吴小琴, 朱锦慧, 王钦丽, 等. 植物凯氏带的研究进展[J]. *植物学通报*, 2002, **19**(3): 302-309.
WU X Q, ZHU J M, WANG Q L, *et al.* Advances in studies on Casparian strips[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2002, **19**(3): 302-309.
- [6] BRUNDRETT M C, ENSTONE D E, PETERSON C. A berberine-aniline blue fluorescent staining procedure for suberin, lignin and callose in plant tissue[J]. *Protoplasma*, 1988, **146**: 133-142.
- [7] MEYER C J, PETERSON C A. Casparian bands occur in the periderm of *Pelargonium hortorum* stem and root[J]. *Annals of Botany*, 2011, **107**(4): 591-598.
- [8] SACK F D. The structure of the stem endodermis in etiolated pea seedlings[J]. *Canadian Journal of Botany. Journal Canadien de Botanique*, 1987, **65**(7): 1 514-1 519.
- [9] WU X Q, ZHU J M, HONG R Z, *et al.* Evidence of Casparian strip in the foliar endodermis of *Pinus bungeana*[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2001, **43**(10): 1 081-1 084.
- [10] 唐 熙, 吴小琴, 胡玉熹, 等. 华山松根与针叶凯氏带的比较研究[J]. *西北植物学报*, 2004, **24**(8): 1 378-1 383.
TANG X, WU X G, HU Y X, *et al.* Comparative study of Casparian strips in the roots and needles of *Pinus armandi*[J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident Sin.*, 2004, **24**(8): 1 378-1 383.
- [11] BARBERON M, GELDNER N. Radial transport of nutrients: the plant root as a polarized epithelium[J]. *Plant Physiology*, 2014, **166**(2): 528-537.
- [12] ENSTONE D E, PETERSON C A, MA F. Root endodermis and exodermis: structure, function, and responses to the environment[J]. *J Plant Growth Regul.*, 2002, **21**: 335-351.
- [13] KARAHARA I, IKEDA A, KONDO T, *et al.* Development of the Casparian strip in primary roots of maize under salt stress[J]. *Planta*, 2004, **219**(1): 41-47.
- [14] KRISHNAMURTHY P, RANATHUNGE K, *et al.* Root apoplastic barriers block Na⁺ transport to shoots in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, **62**(12): 4 215-4 228.
- [15] LISKA D, MARTINKA M, KOHANOVA J, *et al.* Asymmetrical development of root endodermis and exodermis in reaction to abiotic stresses[J]. *Annals of Botany*, 2016, **118**(4): 667-674.
- [16] ZAVALIEV R, UEKI S, EPEL B L, *et al.* Biology of callose (beta-1,3-glucan) turnover at plasmodesmata[J]. *Protoplasma*, 2011, **248**(1): 117-130.
- [17] SIVAGURU M, FUJIWARA T, *et al.* Aluminum-induced 1, 3-beta-D-glucan inhibits cell-to-cell trafficking of molecules through plasmodesmata. A new mechanism of aluminum toxicity in plants[J]. *Plant Physiology*, 2000, **124**(3): 991-1 006.
- [18] UEKI S, CITOVSKEY V. Identification of an interactor of cadmium ion-induced glycine-rich protein involved in regulation of callose levels in plant vasculature[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, **102**(34): 12 089-12 094.
- [19] VERT G, BRIAT J F, CURIE C. *Arabidopsis* IRT2 gene encodes a root-periphery iron transporter[J]. *The Plant Journal for Cell and Molecular Biology*, 2001, **26**(2): 181-189.
- [20] VERT G, GROTZ N, *et al.* IRT1, an *Arabidopsis* transporter essential for iron uptake from the soil and for plant growth[J]. *The Plant Cell*, 2002, **14**(6): 1 223-1 233.
- [21] DEINLEIN U, WEBER M, SCHMIDT H, *et al.* Elevated nicotianamine levels in *Arabidopsis halleri* roots play a key role in zinc hyperaccumulation[J]. *The Plant Cell*, 2012, **24**(2): 708-723.
- [22] DESBROSSES-FONROUGE A G, VOIGT K, *et al.* *Arabidopsis thaliana* MTP1 is a Zn transporter in the vacuolar membrane which mediates Zn detoxification and drives leaf Zn accumulation[J]. *FEBS Letters*, 2005, **579**(19): 4 165-4 174.
- [23] ARRIVAUULT S, SENGER T, KRAMER U. The *Arabidopsis* metal tolerance protein AtMTP3 maintains metal homeostasis by mediating Zn exclusion from the shoot under Fe deficiency and Zn oversupply[J]. *The Plant Journal for Cell and Molecular Biology*, 2006, **46**(5): 861-879.
- [24] KAWACHI M, KOBAE Y, MORI H, *et al.* A mutant strain *Arabidopsis thaliana* that lacks vacuolar membrane zinc transporter MTP1 revealed the latent tolerance to excessive zinc[J]. *Plant & Cell Physiology*, 2009, **50**(6): 1 156-1 170.
- [25] MOREL M, CROUZET J, GRAVOT A, *et al.* AtHMA3, a P1B-ATPase allowing Cd/Zn/Co/Pb vacuolar storage in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2009, **149**(2): 894-904.
- [26] GORDON-WEEKS R, TONG Y, *et al.* Restricted spatial expression of a high-affinity phosphate transporter in potato roots[J]. *Journal of Cell Science*, 2003, **116**(Pt 15): 3 135-3 144.
- [27] MA J F, YAMAJI N, MITANI N, *et al.* An efflux transporter

- of silicon in rice[J]. *Nature*, 2007, **448**(7 150): 209-212.
- [28] MA J F, TAMAI K, YAMAJI N, *et al.* A silicon transporter in rice[J]. *Nature*, 2006, **440**(7 084): 688-691.
- [29] ALASSIMONE J, NASEER S, GELDNER N. A developmental framework for endodermal differentiation and polarity[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, **107**(11): 5 214-5 219.
- [30] TAKANO J, TANAKA M, TOYODA A, *et al.* Polar localization and degradation of *Arabidopsis* boron transporters through distinct trafficking pathways[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, **107**(11): 5 220-5 225.
- [31] SASAKI A, YAMAJI N, YOKOSHO K, *et al.* Nramp 5 is a major transporter responsible for manganese and cadmium uptake in rice[J]. *The Plant Cell*, 2012, **24**(5): 2 155-2 167.
- [32] KIBA T, FERIA-BOURRELLIER A B, LAFOUGE F, *et al.* The *Arabidopsis* nitrate transporter NRT2. 4 plays a double role in roots and shoots of nitrogen-starved plants[J]. *The Plant Cell*, 2012, **24**(1): 245-258.
- [33] BARBERON M, DUBEAUX G, KOLB C, *et al.* Polarization of IRON-REGULATED TRANSPORTER 1 (IRT1) to the plant-soil interface plays crucial role in metal homeostasis[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, **111**(22): 8 293-8 298.
- [34] MIWA K, TAKANO J, OMORI H, *et al.* Plants tolerant of high boron levels[J]. *Science*, 2007, **318**(5 855): 1 417.
- [35] VAN FLEET D S. Histochemistry and function of the endodermis[J]. *Bot. Rev.*, 1961, **27**: 165-220.
- [36] SCHREIBER L, BREINER H W, *et al.* The Casparian strip of *Clivia miniata* reg roots: isolation, fine structure and chemical nature. [J]. *Bot. Acta*, 1994, **107**: 353-361.
- [37] SCHREIBER L, HARTMANN K, SKRABS M, *et al.* Apoplastic barriers in roots: chemical composition of endodermal and hypodermal cell walls[J]. *J. Exp. Bot.*, 1999, **50**: 1 267-1 280.
- [38] GELDNER N. The endodermis[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2013, **64**: 531-558.
- [39] ROPPOLO D, DE RYBEL B, *et al.* A novel protein family mediates Casparian strip formation in the endodermis[J]. *Nature*, 2011, **473**(7 347): 380-383.
- [40] NASEER S, LEE Y, *et al.* Casparian strip diffusion barrier in *Arabidopsis* is made of a lignin polymer without suberin[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, **109**(25): 10 101-10 106.
- [41] BONAWITZ N D, CHAPPLE C. The genetics of lignin biosynthesis: connecting genotype to phenotype[J]. *Annual Review of Genetics*, 2010, **44**: 337-363.
- [42] ALEJANDRO S, LEE Y, TOHGE T, *et al.* AtABCG29 is a monolignol transporter involved in lignin biosynthesis[J]. *Current Biology: CB*, 2012, **22**(13): 1 207-1 212.
- [43] YADAV V, MOLINA I, *et al.* ABCG transporters are required for suberin and pollen wall extracellular barriers in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2014, **26**(9): 3 569-3 588.
- [44] SHIONO K, ANDO M, *et al.* RCN1/OsABCG5, an ATP-binding cassette (ABC) transporter, is required for hypodermal suberization of roots in rice (*Oryza sativa*) [J]. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology*, 2014, **80**(1): 40-51.
- [45] LEE Y, RUBIO M C, *et al.* A mechanism for localized lignin deposition in the endodermis [J]. *Cell*, 2013, **153** (2): 402-412.
- [46] HOSMANI P S, KAMIYA T, DANKU J, *et al.* Dirigent domain-containing protein is part of the machinery required for formation of the lignin-based Casparian strip in the root[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, **110**(35): 14 498-14 503.
- [47] DAVIN L B, WANG H B, *et al.* Stereoselective bimolecular phenoxy radical coupling by an auxiliary (dirigent) protein without an active center[J]. *Science*, 1997, **275**(5 298): 362-366.
- [48] PFISTER A, BARBERON M, *et al.* A receptor-like kinase mutant with absent endodermal diffusion barrier displays selective nutrient homeostasis defects [J]. *eLife*, 2014, **3**: e03115.
- [49] ALASSIMONE J, FUJITA S, DOBLAS V G, *et al.* Polarly localized kinase SGN1 is required for Casparian strip integrity and positioning[J]. *Nature Plants*, 2016, **2**: 16 113.
- [50] KAMIYA T, BORCHI M, WANG P, *et al.* The MYB36 transcription factor orchestrates Casparian strip formation [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, **112**(33): 10 533-10 538.
- [51] GUPTA D K, PENA L B, *et al.* NADPH oxidases differentially regulate ROS metabolism and nutrient uptake under cadmium toxicity[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2017, **40**(4): 509-526
- [52] BAXTER I, HOSMANI P S, *et al.* Root suberin forms an extracellular barrier that affects water relations and mineral nutrition in *Arabidopsis*[J]. *PLoS Genetics*, 2009, **5** (5): e1000 492.
- [53] HAMBURGER D, REZZONICO E, *et al.* Identification and characterization of the *Arabidopsis* PHO1 gene involved in phosphate loading to the xylem[J]. *The Plant Cell*, 2002, **14**(4): 889-902.
- [54] BARBERON M, VERMEER J E, DE BELLIS D, *et al.* Adaptation of root function by nutrient-induced plasticity of endodermal differentiation[J]. *Cell*, 2016, **164**(3): 447-459.
- [55] KRISHNAMURTHY P, RANATHUNGE K, *et al.* The role of root apoplastic transport barriers in salt tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Planta*, 2009, **230**(1): 119-134.
- [56] HOFER R, BRIESEN I, BECK M, *et al.* The *Arabidopsis* cytochrome P450 CYP86A1 encodes a fatty acid omega-hydroxylase involved in suberin monomer biosynthesis[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, **59**(9): 2 347-2 360.
- [57] SASAKI A, YAMAJI N, MA J F. Transporters involved in mineral nutrient uptake in rice[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, **67**(12): 3 645-3 653.
- [58] SHIONO K, YAMAUCHI T, *et al.* 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*) [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, **65**(17): 4 795-4 806.