



鞘脂代谢调控植物生长发育

罗笑¹,陈立余²

(1. 福建农林大学 生命科学学院,福建 福州 350002;
2. 福建农林大学 未来技术学院/国家甘蔗工程技术研究中心,福建 福州 350002)

摘要 鞘脂类物质是构成植物膜系统的重要组分,在不同的植物细胞和组织中鞘脂的结构和含量分布迥异。鞘脂也是细胞内重要的信号分子,参与调控植物的程序性细胞死亡、气孔开闭、根的生长、花粉发育、植物形态建成和果实成熟与脱落等多个过程。鞘脂代谢紊乱会造成底物或者产物的积累,进而导致植物生长、发育异常。目前植物中鞘脂的研究主要通过突变体表型和鞘脂类物质的含量来评估,缺乏对精密调控网络的研究,因此有较大的研究空白亟待填补。综述了目前参与植物鞘脂代谢过程的鞘脂类物质及其相关的代谢酶类,并分类讨论了鞘脂代谢基因突变体表型和造成突变体表型的潜在原因。

关键词 鞘脂;鞘脂稳态;鞘氨醇;神经酰胺;生长发育

中图分类号:Q946 **DOI**:10.16152/j.cnki.xdxzbzr.2024-05-005

Sphingolipids metabolism regulates plant growth and development

LUO Xiao¹, CHEN Liyu²

(1. College of Life Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;
2. National Engineering Research Center for Sugarcane/School of Future Technology,
Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract Sphingolipids are essential components of plant biomembrane system with their structure and content varying significantly across different plant cells and tissues. They also function as intracellular signaling molecules, participating in the regulation of processes such as programmed cell death, stomatal open and closure, root growth, pollen development, plant morphogenesis, and fruit ripening and shedding. Disruptions in sphingolipid metabolism result in the accumulation of substrates or products, leading to abnormal plant development. Currently, research on sphingolipids in plants primarily evaluates mutant phenotype and changes of sphingolipids content. However, there are significant research gaps due to a lack of precise regulatory networks. This review summarized sphingolipids involved in plant sphingolipid metabolism and their related enzyme. It also discussed the mutant phenotype of sphingolipid metabolism related genes and the possible causes of the mutant phenotype.

Keywords sphingolipid; sphingolipid homeostasis; sphingosine; ceramide; growth and development

收稿日期:2024-08-06

基金项目:国家自然科学基金(32170324,U23A20188);福建省自然科学基金杰青项目(2020J06040);福建农林大学科技创新基金(CXZX2020089A,KFb22111XA)。

第一作者:罗笑,女,甘肃陇南人,博士研究生,从事鞘脂调控植物发育的研究,luoxiao921@163.com。

通信作者:陈立余,男,浙江宁波人,教授,博士生导师,从事植物生殖与驯化研究,lychen@fafu.edu.cn。

鞘脂(sphingolipids)是一类结构复杂并且功能多样的脂质的总称。普遍存在于真核细胞和部分细菌的膜组分中,维持膜结构的完整性^[1-2]。在植物细胞中鞘脂约占质膜脂质的40%^[3]。鞘脂结构的多样性导致了功能的多样性。鞘脂参与多种生物学过程,如作为信号分子参与细胞间和细胞内信号传递^[4]、程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)^[1, 5-7]、脱落酸(abscisic acid, ABA)依赖的保卫细胞的气孔关闭^[8]等过程。此外,鞘脂也影响植物的生长发育过程,比如种子的萌发^[9]、根的发育^[6]、花粉的发育^[10-11]、细胞类型的分化与器官的发生^[12]和果实发育^[13]等。鞘脂稳态对于植物的生长发育至关重要,鞘脂的合成、转运以及分解过程发生改变均会引起植物产生相应的表型,进而影响植物的生存和繁衍。

鞘脂在动物中的研究相对广泛,鞘脂代谢途径被扰乱会导致多种疾病的产生^[14]。由于技术手段的限制,在植物中鞘脂的研究相对滞后。近年来,随着生物技术的发展,尤其是基因编辑技术^[15]和质谱技术^[3, 16]的使用,极大地促进了植物鞘脂研究的进度,多种重要植物鞘脂代谢突变的表型及其鞘脂含量与分布得以证明。但鞘脂在植物生长发育中的功能研究目前尚处于起步阶段。结构多样化的鞘脂对维持植物的生长发育至关重要,那么植物中的鞘脂到底如何形成,在哪里形成,去向哪里,以及发挥怎样的功能呢?本文就目前关于鞘脂调控植物生长发育相关的研究进展进行了总结和讨论。

1 植物鞘脂的合成、分解及转运

1884年,约翰·路德维希·图迪库姆(Johann Ludvig Thudichum)在动物的脑组织中发现了结构独特的脂类,因其结构像“谜一样”(sphinx),故将其命名为“sphingo”。1947年,赫伯特·卡特(Herbert Carter)和同事在研究和阐述鞘脂的结构时,提出了现在常见的鞘脂描述词“sphingolipid”^[17]。鞘脂的结构在不同物种之间存在一定的共性,除了鞘氨醇以外,其基础骨架均由鞘氨醇和脂肪酸构成,最主要的区别在于链长、修饰基团和饱和度的不同^[18]。植物鞘脂主要分为四大类(见图1),即游离的长链碱基(long-chain bases, LCB)、神经酰胺(ceramides, Cer)、葡糖神经酰胺(glucosyl-ceramides, GlcCer)和糖基

肌醇磷酸神经酰胺(glycosyl-inositol-phosphoryl-ceramides, GIPCs)。

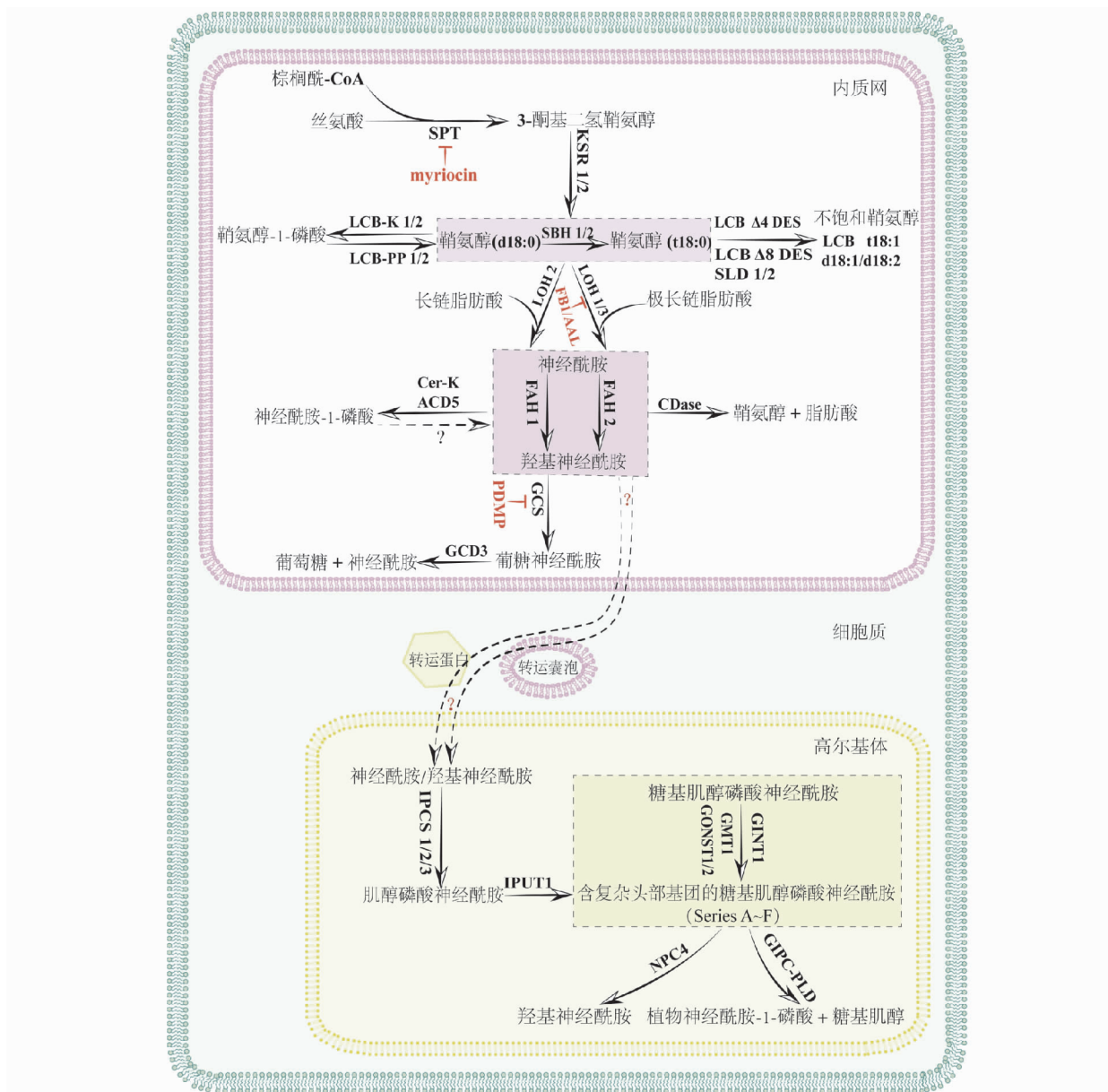
1.1 植物鞘脂的结构

植物中的长链碱基(也被称为鞘氨醇)是鞘脂的关键组分,长链碱基通常为18碳的氨基醇,一般分为两类。一类以二氢鞘氨醇(d18:0, dihydrosphinganine)为基础骨架,其基本的特征是在C1和C3位置处各有一个羟基[见图1(a)]。另一类以4-羟基鞘氨醇(t18:0, hydroxyphinganine, 也被称为植物鞘氨醇(Phyto-LCB))为骨架,在二氢鞘氨醇的基础上进一步在C4位羟基化形成[见图1(b)]。两者共有特征是在C2位置有一个氨基^[19-20]。鞘氨醇结构丰富的另一个原因是C4和C8位可以形成不饱和的双键,并且C8位存在顺反异构体的形式(4*E*, 8*E*, 8*Z*)^[1],由此形成了9种不同结构的鞘氨醇[见图1(a)和(b)]。位于C8位置的双键构型可以是顺式或反式,而位于C4位置的双键通常为反式构型,并且顺式和反式异构体的比例因植物种类而异^[4]。鞘氨醇被认为是最简单的鞘脂。

神经酰胺是形成高级鞘脂的骨架,由鞘氨醇C2位的氨基和脂肪酸(fatty acid, FA)的脂酰基形成酰胺键连接而成[见图1(c)]^[1]。在植物中,神经酰胺的脂肪酸链含有14-26个碳原子^[1],通常碳原子数目为偶数,但也存在少量含有21、23和25个碳原子的情况^[21]。神经酰胺脂肪酸链的C2位发生羟基化可以形成羟基神经酰胺(hydroxyceramides, hCer)^[4]。通过脂肪酸链长度的变化,鞘氨醇和脂肪酸的羟基化以及碳链的去饱和等衍生出结构多样化的神经酰胺。9种不同的鞘氨醇和32种不同的脂肪酸的组合可以产生288种潜在的神经酰胺^[22]。神经酰胺骨架构成复杂鞘脂的疏水尾部,通过在神经酰胺分子中鞘氨醇链的C1位添加不同的极性基团形成具有更高级结构的鞘脂,同时也赋予鞘脂分子双亲性^[23]。极性基团可以是1分子的磷酸残基[见图1(d)],也可以是多种糖基残基^[1, 4]。当鞘氨醇的C1位与1分子的葡萄糖残基通过糖苷键连接时,形成最简单的鞘糖脂,即葡糖神经酰胺[见图1(e)]^[24]。神经酰胺骨架与肌醇磷酸基团连接可形成肌醇磷酸神经酰胺(inositol-phosphoryl-ceramides, IPC),该结构可以进一步糖基化形成糖基肌醇磷酸神经酰胺[见图1(e)]^[25]。鞘脂多样性的另外一个来源是糖基肌醇磷酸神经酰胺头部

在真核生物中,鞘脂从头合成和降解的主要途径基本保守,但鞘脂结构的多样性在不同物种之间存在差异,有些鞘脂的结构修饰仅发生在植物中^[2, 17, 22]。植物中鞘脂合成可以分为鞘氨醇的合成、神经酰胺的合成和复杂鞘脂的合成3个

步骤,其中神经酰胺是鞘脂代谢的中心。在植物中,鞘脂的合成起始于内质网(endoplasmic reticulum, ER),合成的神经酰胺被转运至高尔基体(Golgi)进一步修饰形成复杂的鞘脂。植物鞘脂合成和降解的基本途径如图2所示。



注: SPT, 丝氨酸棕榈酰转移酶; KSR, 3-酮鞘氨醇还原酶; SBH, 鞘氨醇羟化酶; LCB-K, 鞘氨醇激酶; LCB-PP, LCB 磷酸酯酶; LCB $\Delta 4$ DES 和 LCB $\Delta 8$ DES, 鞘氨醇 $\Delta 4$ 去饱和酶和鞘氨醇 $\Delta 8$ 去饱和酶; LOH, 神经酰胺合成酶; FAH, 脂肪酸 2-羟化酶; Cer-K/ACD5, 神经酰胺激酶; CDase, 神经酰胺酶; GCS, 葡萄糖神经酰胺合酶; GCD3, 葡萄糖神经酰胺酶 3; IPCS, 肌醇磷酸神经酰胺合成酶; IPUT1, 肌醇磷酸神经酰胺葡萄糖醛糖基转移酶 1; GMTI, GIPC 甘露糖转移酶 1; GINT1, 葡萄糖胺肌醇磷酸神经酰胺转移酶 1; GONST1/2, 高尔基体核糖体糖基转运体 1 或 2; GIPC-PLD, GIPC 特异性的磷脂酶 D; NPC4, 非特异性的磷脂酶 C4; myriocin, 多球壳菌素; FB1, 伏马菌素 B1; AAL, 链格孢菌素; PDMP, D, L-苏氨酸-1-苯基-2-癸酰(基)氨基-3-吗啉-1-丙醇。

Fig. 2 Sphingolipids metabolism pathways in plants

鞘氨醇由丝氨酸棕榈酰基转移酶 (serine palmitoyl transferase, SPT) 将丝氨酸和棕榈酰辅酶 A 缩合形成中间体 3-酮基二氢鞘氨醇 (3-keto-sphinganine)^[31-32], 该中间体通过 3-酮基鞘氨醇还原酶 (3-ketosphinganine reductase, KSR) 还原为二氢鞘氨醇 (d18:0), 拟南芥中的 KSR 分别由 *KSR1* 和 *KSR2* 基因编码, 二者在功能上存在冗余, *KSR1* 占主导地位, 具有更高的还原酶活性^[33]。鞘氨醇羟化酶 (sphingoid base hydroxylase, SBH) 在二氢鞘氨醇的 C4 位添加第三个羟基, 生成植物鞘氨醇 (t18:0)^[32]。t18:0 和 t18:1 是植物中最丰富的鞘氨醇^[34]。含有不饱和键的鞘氨醇的形成依赖于鞘氨醇 $\Delta 4$ 去饱和酶 (LCB $\Delta 4$ desaturase, LCB $\Delta 4$ DES) 和鞘氨醇 $\Delta 8$ 去饱和酶 (LCB $\Delta 8$ desaturase, LCB $\Delta 8$ DES)。植物中鞘氨醇 $\Delta 4$ 的不饱和与鞘氨醇 $\Delta 8$ 的不饱和几乎同时发生, 与 LCB $\Delta 8$ DES 相比, LCB $\Delta 4$ DES 只在反式构型中引入双键^[35]。LCB $\Delta 8$ DES 仅在植物和一些丝状或双态性真菌中能检测到, 具有一定的物种特异性, 其在拟南芥中有两个同源基因, 即 *SLD1* (*Sphingoid LCB Desaturase 1*) 和 *SLD2*^[36-37]。鞘氨醇羟化酶和去饱和酶的存在是鞘氨醇具有结构多样性的主要原因。

神经酰胺通过神经酰胺合成酶 (ceramide synthase, CerS) 将鞘氨醇和脂肪酸缩合形成, 目前在植物中鉴定出 3 个 CerS [Longevity Assurance Gene One (LAG1) Homologue 1-3, LOH 1-3], 其中 LOH1 和 LOH3 具有合成鞘氨醇和极长链脂肪酸 (very-long-chain fatty acid, VLCFAs, C20 ~ C26) 的偏好性, 而 LOH2 主要负责含有长链脂肪酸 (long-chain fatty acid, LCFAs, C16 ~ C18) 的神经酰胺的合成^[38-40]。神经酰胺中的脂肪酸在脂肪酸 2-羟基化酶 (fatty acid 2-hydroxylase, FAH) 的作用下形成羟基神经酰胺 (hydroxyceramide, hCer), 拟南芥有 2 个 *FAH* 同源基因, 分别是 *AtFAH1* 和 *AtFAH2*, *AtFAH1* 主要羟基化 VLCFAs, 而 *AtFAH2* 偏好含有 C16 的脂肪酸^[41-42]。值得注意的是, 在酵母中的研究表明, 鞘脂类脂肪酸的 2-羟基化可能仅发生在神经酰胺的脂酰基链上, 而不是游离的脂酰基链上^[43-44]。

神经酰胺作为底物, 与葡萄糖在葡萄糖神经酰胺合成酶 (GlcCer synthase, GCS) 的催化下形成葡萄糖神经酰胺^[45]。GCS 在拟南芥中定位于内质网^[46]。合成葡萄糖神经酰胺的神经酰胺骨架主要

由 16 个碳原子的脂肪酸和二氢鞘氨醇构成^[38]。合成糖基肌醇磷酸神经酰胺的神经酰胺骨架主要由极长链脂肪酸和植物鞘氨醇组成^[23]。糖基肌醇磷酸神经酰胺主要在高尔基体上通过一系列酶促反应形成。首先, 合成肌醇磷酸神经酰胺, 由肌醇磷酸神经酰胺合成酶 (IPC synthase, IPCS) 将磷脂酰肌醇的头部基团转移到神经酰胺上形成肌醇磷酸神经酰胺, 在拟南芥中 IPCS 由 3 个基因编码, 分别是 *IPCS1* (也被称为 enhancing RPW8-mediated HR-like cell death, *ERH1*)、*IPCS2* 和 *IPCS3*^[47-48]。合成后的肌醇磷酸神经酰胺进一步添加一些糖基残基形成糖基肌醇磷酸神经酰胺。一般情况下, 最先通过肌醇磷酸神经酰胺葡萄糖醛酸糖基转移酶 1 (inositol-phosphoryl-ceramide glucuronosyl transferase 1, IPUT1) 转移一分子葡萄糖醛酸 (glucuronic acid, GlcA) 到肌醇磷酸神经酰胺上, 形成糖基肌醇磷酸神经酰胺^[49]。糖基肌醇磷酸神经酰胺在拟南芥中有两条潜在的途径形成更复杂的糖基肌醇磷酸神经酰胺^[18]。第一种途径是通过糖基肌醇磷酸神经酰胺甘露糖转移酶 1 (GIPC mannosyl transferase 1, GMT1), 将甘露糖残基转移至糖基肌醇磷酸神经酰胺, 从而形成甘露糖糖基肌醇磷酸神经酰胺 (mannose-GIPCs)^[50]。GDP-甘露糖主要由高尔基体核糖体糖基转运体 1 或 2 (golgi nucleotide sugar transporter 1/2, GONST1/2) 将 GDP-甘露糖转移到高尔基体腔, 提供给 GMT1^[27, 51]。另一种途径是通过葡萄糖胺肌醇磷酸神经酰胺转移酶 1 (glucosamine inositol-phosphoryl-ceramide transferase 1, GINT1) 在糖基肌醇磷酸神经酰胺中添加一个 N-乙酰葡萄糖胺残基, 形成 GlcN (Ac)-GIPCs^[52]。与 GONST 1/2 相似, 转运 N-乙酰葡萄糖胺残基的转运体 1 (UDP-GlcNAc transporter 1, UGNT1) 也是定位在高尔基体上的糖基转运体^[53]。

1.3 植物鞘脂的分解

植物鞘脂的降解主要包括神经酰胺、葡萄糖神经酰胺和糖基肌醇磷酸神经酰胺的降解。复杂的鞘脂最终被分解代谢为神经酰胺、鞘氨醇或者鞘氨醇-1-磷酸^[54]。鞘氨醇-1-磷酸可以进一步在二氢鞘氨醇-1-磷酸水解酶 (dihydrospingosine-1-phosphate lyase 1, DPL1) 的作用下分解形成磷酸乙醇胺和含有 16 个碳原子的脂肪酸^[55-56]。参与神经酰胺分解的酶是神经酰胺酶类 (ceramidases, CDases), 此类酶具有细胞器特异性, 可能对不同

形式的神经酰胺具有专一性,从而使得复杂鞘脂生成特定的鞘氨醇^[54]。一般情况下,CDases 可以将神经酰胺分解为游离的鞘氨醇和脂肪酸^[57],但研究发现在植物(拟南芥)^[7]和动物(人)^[58]中还存在具有反向活性的 CDase,即参与鞘氨醇与脂肪酸形成神经酰胺的酶活性。在动物鞘脂的研究中,使用体外检测的方法,依据酶解时最适 pH 值的不同,将 CDase 分为中性、碱性和酸性神经酰胺酶^[54],但目前在植物中仅发现中性神经酰胺酶和碱性神经酰胺酶。拟南芥有 3 个中性神经酰胺酶(neutral ceramidases, NCERs)与人类的 NCER 同源^[59],分别命名为 AtNCER 1 (At1g07380)、AtNCER 2 (At2g38010)和 AtNCER 3 (At5g58980)。其中,AtNCER 1 参与羟基神经酰胺的水解,而 AtNCER 2 可能具有神经酰胺合成酶的功能,即神经酰胺酶反向活性^[7]。水稻中鉴定出一个中性神经酰胺酶 OsCDase,定位在内质网和高尔基体上,体外检测其酶活的最适 pH 值为 5.7 和 6.6,相对含有 d18:0 的神经酰胺而言,优先水解含 t18:1 (主要在 $\Delta 4$ 发生不饱和)的神经酰胺^[57, 60],并且发现 OsCDase 可能具有反向神经酰胺酶活性^[60]。此外,在小麦中也克隆出一个中性神经酰胺酶基因 *TaCDase*^[61]。在魔芋中克隆出来的中性神经酰胺酶的最适 pH 值为 6.5 ~ 8.0^[62]。在拟南芥中仅发现了两个碱性神经酰胺酶(alkaline ceramidases, ACER),其中之一是 AtACER,该基因突变会提高植物对盐的敏感度和增加植物对细菌性病原体的敏感性^[59]。另一个是参与花粉管生长并且与角果保卫细胞膨压相关的 TOD1 (Tur-gOr regulation Defect1)^[63]。

葡萄糖神经酰胺的分解主要依赖于葡萄糖神经酰胺酶(glucosylceramidase, GCD),拟南芥有 4 个和人类 GCD 同源的基因,分别是 *At5g49900*、*At1g33700*、*At4g10060* (*AtGCD3*)和 *At3g24180*^[64]。目前在拟南芥中仅鉴定出 AtGCD 3 具有酸性葡萄糖神经酰胺酶活性,该酶主要定位在质膜(plasma membrane, PM)上,部分定位在内质网,AtGCD3 在 pH 为 4.5 ~ 6.0 时酶活性较高,最适 pH 为 6.0,优先水解含 C16 和 C18 的葡萄糖神经酰胺^[64]。植物中复杂鞘脂糖基肌醇磷酸神经酰胺的分解与磷脂酶 D(phospholipase D, PLD)相关,一种是糖基肌醇磷酸神经酰胺特异性的 PLD (GIPC-PLD)。催化糖基肌醇磷酸神经酰胺中磷酸基团和肌醇之间连接的键,产生的底物为植物神经酰胺-1-磷酸

(phytoceramide-1-phosphate, Phyto-C-1-P),该酶偏好含有两种糖基基团的糖基肌醇磷酸神经酰胺,肌醇磷酸神经酰胺、甘露糖肌醇磷酸神经酰胺和 3 个糖基基团的糖基肌醇磷酸神经酰胺均不能作为底物^[65]。另一种是非特异性的磷脂酶 C4 (nonspecific phospholipase C4, NPC4)。NPC4 被鉴定为在磷饥饿时负责催化糖基肌醇磷酸神经酰胺水解的酶,该酶对糖基肌醇磷酸神经酰胺作为底物的活性高于对普通甘油磷脂酰胆碱的活性,并且 NPC4 定位在质膜上,与脂筏中糖基肌醇磷酸神经酰胺的分解相关^[66]。

1.4 植物中鞘脂的转运

合成或分解后的鞘脂均需要一定的介质来转运产物到达目的场所,才能发挥具体的生物学功能。前人将鞘脂的运输方式分为非囊泡运输和囊泡运输两种^[67]。非囊泡运输一般为蛋白质介导的运输。ACD11 (Accelerated Cell Death 11)被证明具有神经酰胺-1-磷酸和植物神经酰胺-1-磷酸转移酶活性,晶体结构揭示其通过表面定位的磷酸基团识别中心与神经酰胺结合^[68],但是 ACD11 不能转运糖脂^[69]。从拟南芥中鉴定出另外一种转运植物鞘脂的蛋白为糖脂转移蛋白(glycolipid transfer protein 1, GLTP1),由 *At2g33470* 编码的 AtGLTP1 的活性位点是 Arg59 和 Asn95,其在体外转运葡萄糖神经酰胺的速率较快,转运半乳糖神经酰胺和乳糖神经酰胺的速率较慢^[70],表明 At-GLTP1 具有葡萄糖神经酰胺特异性。此外,植物细胞中反式高尔基体网络结构(trans-Golgi network, TGN)分泌富含 C24 和 C26 的羟基化鞘脂的囊泡,介导生长素载体 PIN2 的极性分选过程,在此过程中合成的鞘脂也随囊泡进行转移^[71]。最近有研究发现,植物脂质翻转酶(flippases)的氨基磷脂 ATP 酶(aminophospholipid ATPases, ALAs)参与鞘脂相关的跨脂质双分子层的选择性运输^[72]。其中,ALA4 和 ALA5 可能翻转葡萄糖神经酰胺到细胞质面,随后葡萄糖神经酰胺被定位在质膜上的 GCDs 降解。已有的研究证明了在缺乏 ALAs 的情况下,葡萄糖神经酰胺会在胞质外积累,ALA 类翻转酶促进葡萄糖神经酰胺的分解代谢,并且类似的分解代谢途径也存在于人类和一些酵母中,表明该机制具有保守性^[73]。

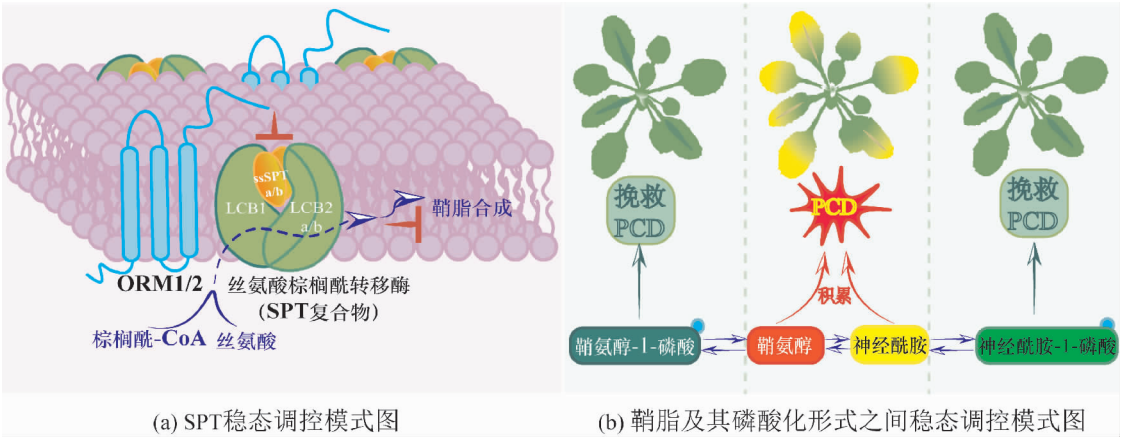
1.5 植物中鞘脂稳态的调控

鞘脂的合成和分解途径涉及多个过程和多种酶的参与,每一步骤的扰乱都可能影响细胞中鞘

脂的稳态,进而影响相应的生物学过程。SPT 是鞘脂从头合成途径中第一步反应的催化酶,也是关键的限速酶^[74],SPT 的核心组分是 LCB1 和 LCB2 亚基组成的内质网膜相关的异二聚体^[31, 74],在拟南芥中 LCB2 由 *LCB2a* (*At5g23670*) 和 *LCB2b* (*At3g48780*) 编码。另外 SPT 还具有一个含 56 个氨基酸的小亚基 ssSPT (small suit of SPT),拟南芥的 ssSPT 由两个基因编码,分别是 *ssSPTa* (*At1g06515*) 和 *ssSPTb* (*At2g30942*)^[75],植物中 SPT 的活性主要由 ssSPT 和类黏膜蛋白(oro-somucoid, ORM) 调控(见图 3A)^[22],ssSPT 可以与 LCB1 和 LCB2 相互作用,增强 SPT 的活性^[75]。拟南芥中 ORMs 由 *ORM1* (*At1g01230*) 和 *ORM2* (*At5g42000*) 编码,ORMs 通过与 ssSPTs 相互作用抑制 SPT 活性^[76]。ORM 的功能丧失会激发鞘脂的从头合成途径,导致鞘脂的急剧积累,最为显著的是鞘氨醇和神经酰胺的积累^[76]。与植物不同的是,在动物和酵母中 ORM 蛋白与 LCB1 和 LCB2 发生直接相互作用调节 SPT 的活性^[77]。

磷酸化修饰也是参与鞘脂稳态调控的一种方式。植物中鞘氨醇和神经酰胺与其磷酸化形式的衍生物之间存在代谢平衡,植物中积累鞘氨醇和神经酰胺会导致 PCD,但外源施加其磷酸化形式

的衍生物可以缓解 PCD 的表型〔见图 3 (b)]^[78-79]。拟南芥中的鞘氨醇可被 LCB 激酶 (LCB kinases, LCB-Ks) 磷酸化生成磷酸化的鞘氨醇 (LCB phosphates, LCB-Ps),LCBKs 通常也被称为鞘氨酸激酶(sphingosine kinases, SPHKs),由 4 个基因编码,分别是 *LCBK1*、*LCBK2*、*SPHK1* 和 *SPHK2*,植物中 LCB-Ps 一般分为鞘氨醇-1-磷酸 (sphingosine-1-phosphate, S1P) 和植物鞘氨醇-1-磷酸 (phytosphingosine-1-phosphate, Phyto-S1P)^[80-83]。反之,LCB-Ps 可以被 LCB 磷酸磷酸酶 (long-chain base phosphate phosphatases, LCB-PP1/2) 去磷酸化形成鞘氨醇^[80]。与鞘氨醇相似,神经酰胺与其磷酸化衍生物之间也存在代谢平衡的调节,神经酰胺可以被 Cer 激酶 (Cer kinases, Cer-K) 磷酸化形成磷酸化的神经酰胺 (ceramide-1-phosphates, Cer-1-P)。与 LCB-K 不同,Cer-K 仅以神经酰胺为底物,对鞘氨醇没有活性,表明 Cer-1-P 的形成不依赖于 LCB-P 的形成^[9],在拟南芥中有一个编码 Cer-K 的基因被命名为 *ACD5* (*accelerated cell death 5*),调节拟南芥中 Cer-1-P 的代谢平衡^[9]。但是迄今为止尚未发现将 Cer-1-P 去磷酸化形成神经酰胺的酶。



注:ORM1/2,类黏膜蛋白;SPT,丝氨酸棕榈酰转移酶,LCB1、LCB2a/b 是 SPT 的核心亚基,ssSPT 是 SPT 的小亚基;PCD,细胞程序性死亡。

图 3 植物鞘脂稳态调控模式图

Fig. 3 Sphingolipids homeostasis regulation model in plants

目前关于影响植物鞘脂稳态的因素除了植物自身表达的蛋白调控外,还存在一些化学试剂干扰调控鞘脂的合成过程(见图 2)。伏马菌素 B1 (Fumonisin B1, FB1) 和 AAL (*Alternaria alternata-lycopersici*) 毒素均可以干扰鞘脂代谢过程,引起游离鞘氨醇的积累^[84]。FB1 是一种鞘氨醇类似物,

被认为是探究植物鞘脂多种功能的研究工具^[6, 85]。在拟南芥中,FB1 对 LOH1 具有较强的抑制作用^[40]。FB1 处理植物会导致鞘氨醇 (d18:0)、植物鞘氨醇 (t18:0) 和 LCB-Ps 的积累^[5, 55, 86]。AAL 也抑制鞘脂的从头合成过程,导致细胞内鞘氨醇的积累,鞘氨醇是细胞内的 PCD 信号^[87]。

由 AAL 引起的 PCD 表型可以被多球壳菌素(myriocin)减弱^[88]。由于 myriocin 是鞘脂合成途径中 SPT 的抑制剂,myriocin 处理植物会导致游离鞘氨醇(d18:0)的积累被减少,合成神经酰胺的底物减少,从而使得诱导 PCD 的信号减弱^[88]。此外,PDMP (1-phenyl-2-decanoylamino-3-morpholino-1-propanol, PDMP)通过抑制 GCS 的活性抑制葡萄糖神经酰胺的合成,使用 PDMP 处理烟草的叶片和拟南芥的根时观察到高尔基体复合体的形态被破坏,并且干扰高尔基体介导的蛋白质转运、液泡的快速融合和液泡膜的内陷^[46, 89]。

1.6 植物中鞘脂的分布与富集区域

鞘脂在细胞内的分布和富集区域可能与其功能的特异性相关。鞘脂是细胞膜的主要结构组分,但在生物膜系统中的分布并不均匀,糖基肌醇磷酸神经酰胺和葡萄糖神经酰胺主要富集在细胞膜的外小叶(external leaflet)中^[90]。此外,鞘脂和甾醇在细胞质膜上富集形成脂筏(lipid rafts)结构^[91],脂筏与特定质膜蛋白的分选和运输有关,比如 ATP 酶、阿拉伯半乳糖蛋白和糖基磷脂酰肌醇锚定蛋白等,由鞘脂介导的这些蛋白参与细胞中的多种活动过程,包括细胞壁合成、降解和一些信号传导过程^[69, 92, 93]。

有研究表明细胞中可能至少有 500 种不同的鞘脂分子^[94]。在拟南芥中,至少有 168 种不同的鞘脂^[16, 95]。在拟南芥叶片中,糖基肌醇磷酸神经酰胺和葡萄糖神经酰胺分别占总鞘脂含量的 64% 和 34%,糖基肌醇磷酸神经酰胺的含量约为葡萄糖神经酰胺的两倍,表明糖基肌醇磷酸神经酰胺在植物叶片中含量最丰富^[23]。在植物花粉中最丰富的鞘脂是葡萄糖神经酰胺^[96]。游离的鞘氨醇和神经酰胺在植物组织中含量较低,不足总鞘脂含量的 3%^[16]。相对于叶片而言,花粉中游离鞘氨醇和神经酰胺的含量更高^[16]。对拟南芥叶片鞘脂的检测发现约 85% 的鞘氨醇主要以 C4 位羟基化的形式存在,并且大多数在 C8 位不饱和(t18:1, 8E/8Z)^[97]。拟南芥中 C4 位不饱和的鞘氨醇(d18:2)表达模式具有特异性,仅在花粉和花中可检测到,在其他组织中几乎不存在^[98]。但是在除了十字花科外的其他物种中,含 C4 位不饱和的鞘脂(如含 d18:2)在植株的不同组织中均能表达,并且在番茄和大豆等物种中葡萄糖神经酰胺的鞘氨醇链大多以 d18:2 的形式存在^[23, 99]。拟南芥 LCB $\Delta 4$ DES 缺失突变体花的形态和花粉活力

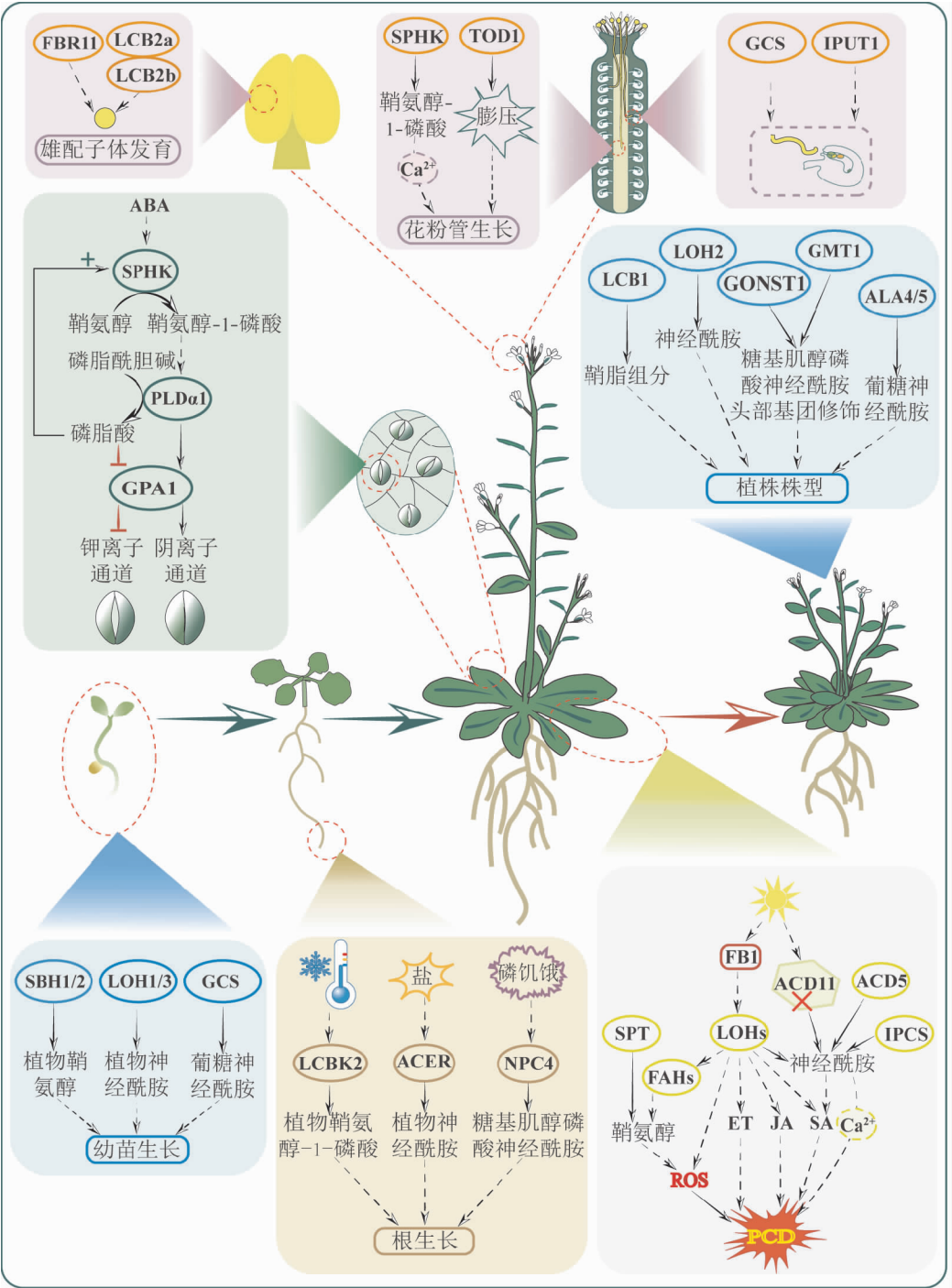
与野生型之间没有差异,但花中葡萄糖神经酰胺的含量减少了约 25%,表明 LCB $\Delta 4$ DES 催化的产物决定下游葡萄糖神经酰胺的合成^[98],即反映出植物中鞘氨醇的结构类型决定了下游产物的分配,并最终决定了总鞘脂或特定鞘脂类的组成和含量。

2 鞘脂代谢对植物生长发育的影响

鞘脂类物质的结构和种类多样,在植物细胞中的含量和分布参差不齐,进而导致功能各异。当植物受到胁迫时,位于质膜上的鞘脂响应外界环境的变化,同时作为细胞内信号分子的鞘脂将进一步将胁迫信号传递给下游响应的靶标来调控植物对外界环境的适应。越来越多的研究表明鞘脂可能与植物细胞中的激素之间存在密切的联系,并以细胞或组织特异性的方式调节植物的生长和发育。此外,ROS 途径与鞘脂介导的 PCD 也具有相关性。功能多样的鞘脂在植物生长发育的不同阶段分别扮演不同的角色(见图 4)。

2.1 鞘脂诱导植物 PCD

植物细胞中鞘脂及其磷酸化衍生物之间的动态平衡调节 PCD 过程^[5, 79]。鞘脂代谢途径相关的真菌毒素如 FB1 和 AAL 也会诱导植物产生 PCD,该过程被认为涉及鞘脂代谢的紊乱^[100]。FB1 诱导的 PCD 具有光依赖性,需要水杨酸(salicylic acid, SA)、茉莉酸(jasmonic acid, JA)和乙烯(ethylene, ET)信号通路的介导^[101]。在拟南芥中,SPT 转录本在叶片衰老过程中积累,SPT 催化形成的鞘脂代谢产物参与植物离体组织或病原体感染应激的信号转导,从而调节随后的 PCD 过程^[102]。*FBR11*(*Fumonisin B1* Resistant 11)编码 SPT 的小亚基 LCB1,使用 FB1 处理 *fbr11-1* 突变体后鞘氨醇的形成减少,检测发现 *fbr11-1* 突变体中缺乏活性氧中间产物(reactive oxygen intermediates, ROIs)的产生,使得 *fbr11-1* 突变体并未表现出 PCD 的表型,由此推测游离鞘氨醇通过调节 ROIs 水平诱导植物 PCD^[5]。进一步的研究发现磷酸化形式的二氢鞘氨醇-1-磷酸以剂量依赖的方式特异性阻断二氢鞘氨醇诱导的 PCD,这种互相拮抗的调节作用可能是通过调节 ROIs 来实现的,也表明游离的鞘氨醇及其磷酸化衍生物通过活性氧途径决定细胞命运^[5]。



注:ABA,脱落酸;SPHK,鞘氨醇激酶;PLD α 1,磷脂酶 D 的 α 1 亚基;GPA1,异源三聚体 G 蛋白的 α -亚基;TOD1,碱性神经酰胺酶;GCS,葡萄糖神经酰胺合酶;IPUT1,肌醇磷酸神经酰胺葡萄糖醛糖基转移酶 1;SPT,丝氨酸棕榈酰转移酶;FBR11,SPT 核心亚基 LCB1 的等位基因;LCB2a 和 LCB2b,SPT 核心亚基 LCB2 的组分;LCB1,SPT 核心亚基;LOH2,神经酰胺合成酶 2;GONST1,高尔基体核糖体糖基转运体 1;GMT1,糖基肌醇磷酸神经酰胺甘露糖转移酶 1;ALA4/5,脂质翻转酶 ALA4 和 ALA5;SBH1/2,鞘氨醇羟化酶 1 和鞘氨醇羟化酶 2;LOH11/3,神经酰胺合成酶 1 和 3;LCBK2,鞘氨醇激酶 2;ACER,碱性神经酰胺酶;NPC4,非特异性的磷脂酶 C4;FB1,伏马菌素 B1;LOHs,神经酰胺合酶;FAHs,脂肪酸 2-羟基化酶;ACD11,(植物)神经酰胺-1-磷酸转运蛋白;ACD5,神经酰胺激酶;IPCS,肌醇磷酸神经酰胺合成酶;ET,乙烯;JA,茉莉酸;SA,水杨酸。

图 4 鞘脂调控拟南芥生长发育
Fig. 4 Sphingolipids regulate the growth and development of *Arabidopsis thaliana*

拟南芥神经酰胺激酶突变体 *acd5* 植株在发育初期生长正常,发育后期由于依赖于 SA 途径的神经酰胺积累导致 PCD,并且 JA 通过调节鞘脂代谢和增加神经酰胺水平促进 *acd5* 突变体的细胞死亡^[79, 103]。Cer-1-P 能够部分挽救神经酰胺积累引起的细胞死亡,表明神经酰胺及其磷酸化衍生物之间的平衡调节植物的 PCD^[79]。此外,神经酰胺也被证明以钙依赖的方式诱导植物 PCD^[104]。ACD11 也参与 PCD 和防御途径,在 *acd11* 突变体中激活 PCD 和防御信号通路依赖于 SA,并且需要光,但不完全依赖于 ET 和 JA 信号通路^[69]。此外,拟南芥中 IPCS 也参与 PCD 和防御调控,编码 IPCS 的 *ERHI* 功能缺失会导致 SA 积累,进而增强拟南芥防御相关基因 *RPW* 的表达和神经酰胺的积累并导致 PCD,植物的外观表现为株高降低^[47]。*fah1fah2* 突变体与 *loh2* 突变体杂交产生的 *fah1fah2loh2* 三重突变体也会导致 PCD,此过程依赖于 SA 和 EDS1 (enhanced disease susceptibility 1),可能是 *fah1fah2loh2* 突变体积累了鞘氨醇 d18:0、鞘氨醇 t18:0 和鞘氨醇-1-磷酸 d18:0 P 引起的^[42]。

2.2 鞘脂调控植物气孔开闭

植物蒸腾作用损失的水分和光合作用吸收的二氧化碳几乎都是通过植物叶片表面的气孔进行的^[105]。气孔孔径的动态调节是植物优化水分利用和二氧化碳吸收的关键,气孔的开启或关闭伴随着保卫细胞膨压的调节^[106]。因此气孔不仅对植物的生长发育至关重要,而且对全球的水循环和碳循环也具有重要意义^[105, 107]。与鞘脂代谢相关的 LCB-PS 已经被验证是参与调控气孔孔径的信号分子^[108-109],LCB-PS 以 ABA 依赖的方式影响胞质中 Ca^{2+} 浓度的振荡来调节气孔的开关^[108]。负责催化 LCB-PS 生成的激酶 SPHK 也可被 ABA 激活,通过调节保卫细胞 K^{+} 通道和阴离子通道的方式参与 ABA 抑制的气孔打开和促进气孔关闭的过程^[8]。参与 ABA 介导的气孔孔径调控的 LCB-PS 一般为 LCB (d18:1)-P ($\Delta 4$ 磷酸化衍生物)和 LCB (t18:0)-P (植物鞘氨醇-1-磷酸)^[108-109]。拟南芥中 *At3g58490* 基因编码的 AtSPP1 是 LCB-P 去磷酸化的酶,*spp1* 突变体的气孔比野生型对 ABA 更敏感,表明 AtSPP1 可能通过 LCB-P 介导的 ABA 信号在气孔应答中发挥作用^[110]。由磷脂酶 D (phospholipase Ds, PLDs) 催化产生的磷脂酸 (phosphatidic acid, PA) 可以与

SPHK 结合并提高其产生植物鞘氨醇-1-磷酸的活性^[81],植物鞘氨醇-1-磷酸活性的增加激活下游的 PLD α 1,随后导致 PA 水平升高。在 ABA 介导的气孔关闭过程中,PA 作为信号分子调控 ABI1 和 NADPH 氧化酶等下游蛋白^[111-112]。ABA 信号被传导到下游通路,调控离子通道,导致气孔关闭^[113]。此外,LCB-PS 还需要异源三聚体 G 蛋白的 α -亚基 GPA1 来调节保卫细胞离子通道活性和气孔开度^[8]。鞘脂调控植物气孔孔径变化的信号通路缺乏明确的受体和转导的信号分子,更多的调控机理需要进一步展开研究。

2.3 鞘脂调控植物根的生长

鞘脂代谢途径影响非生物胁迫条件下植物根的发育过程。低温诱导拟南芥快速形成植物鞘氨醇-1-磷酸,该过程由 LCBK2 介导,*lcbk2* 突变体在 22 °C 和 4 °C 下的生长表型与野生型植物相似,但在 12 °C 下表现出更长的根生长表型,主要与冷响应性 DELLA 基因家族的 *RGL3* 表达量变化有关^[114]。*RGL3* 在 *lcbk2* 中的表达改变可能与植物鞘氨醇-1-磷酸的代谢改变有关^[114]。拟南芥 *acer-1* 突变体在盐胁迫条件下种子萌发率显著下降、根长变短,AtACER 转录本的减少导致神经酰胺的积累和鞘氨醇的减少,其中植物神经酰胺和植物鞘氨醇 (t18:0) 的变化最显著,AtACER 可能在盐胁迫下通过植物神经酰胺和植物神经酰胺-1-磷酸代谢通路发挥作用^[59]。棉花 *GhIPCS1* 基因的异源表达可以增强拟南芥对盐的敏感性,拟南芥过表达株系种子的萌发率显著性降低、根长变短,可能是不同鞘脂类之间的平衡被破坏导致上述表型的产生^[115]。在拟南芥中,*npc4* 突变体的主根长度在缺磷条件下比野生型短约 25%,但突变体主根的细胞长度与宽度均与野生型相似,可能由于植物体内糖基肌醇磷酸神经酰胺代谢的紊乱导致根部细胞增殖过程减少,使得 *npc4* 突变体根长变短^[66]。

2.4 鞘脂代谢调控植物花粉发育

SPT 在调控雄配子体发育过程中起着重要作用^[10, 116]。伏马菌素耐药突变体 *fbr11-2* 被报道是比 *lcb1-1* 功能更强的等位突变,在生殖发育过程中表现出更严重的表型。*fbr11-2* 突变体的花粉在进行第二次有丝分裂的过程中,在双核小孢子中发生了以细胞核 DNA 断裂为特征的 PCD,随后在三核期发生细胞质萎缩和细胞器退化,最终导致形成的花粉粒具有异常的内膜系统^[116]。编码

LCB2 的 *AtLCB2a* 和 *AtLCB2b* 单个基因发生突变均没有明显的植物生长发育表型和鞘脂含量的变化,但是两个基因同时突变后小孢子的发育受到影响,导致花粉在发育早期丧失活力,花粉在结构上表现出内膜系统异常,比如内质网和高尔基体膜的破坏以及花粉壁内层的缺失等^[10]。在 *atlc2a-1* 突变背景下利用化学试剂诱导型基因沉默系统诱导 *AtLCB2b* 基因沉默会有致死性的表型,进一步说明了 *AtLCB2a* 和 *AtLCB2b* 在功能上冗余^[10]。此外,拟南芥 *ssSPTa* 基因突变也会导致花粉活力丧失,并且 *ssSPTa* 和 *ssSPTb* 之间也存在功能冗余^[75]。水稻中无论 *ORMDL* 基因缺失还是 *ORMDL* 基因表达降低的 3 种 RNAi 转基因植株均雄性不育,其花粉形态和活力均异常。在水稻突变体的小穗中,鞘氨醇的整体水平没有显著变化,但占主导地位的神神经酰胺(d18:2 c20:1)减少了约 30%,表明植物 *ORMDL* 基因通过调节鞘脂稳态影响花粉发育,但是更确切的调控机制仍然未知^[11]。

拟南芥花粉管的发育受到多种调控因素的影响。*SPHK* 基因的敲除会降低体内花粉管的生长速度,过表达 *SPHK* 基因则会促进拟南芥花粉管的生长,鞘氨醇-1-磷酸通过介导 Ca^{2+} 内流调节花粉管生长^[117]。碱性神经酰胺酶 *TOD1* 功能缺失会导致拟南芥体内花粉管生长缓慢,结实率降低,*TOD1* 基因仅在成熟花粉、花粉管和角果表皮的保卫细胞中特异性表达,*tod1* 突变体花粉管生长缺陷可能是由于自身膨压调节异常所导致的^[63],并且被子植物中 *TOD1* 基因在花粉管生长中功能保守^[118]。*GCS/gcs-1* 植株表现出花粉传递缺陷,其花粉活力和花粉萌发没有显著差异,花粉表型可能是由于花粉管向卵细胞生长过程缺陷所致^[12]。拟南芥 *IPUT1* 在花粉发育过程中具有重要作用,无法获得纯合的 *iput1* 突变体^[119]。将 *pLAT52:IPUT1* 转入 *iput1/+* 突变体中,通过草铵膦(Basta)筛选两代转基因植株后获得纯合的 *pLAT52:IPUT1 iput1/iput1* 突变体。该突变体表现出严重的矮化特征,并且存在花粉管导向缺陷^[49, 119],对 *IPUT1* 的进一步研究将有助于更精确地认识糖基肌醇磷酸神经酰胺如何参与花粉管导向调控。

2.5 鞘脂调控植物形态的建成和维持

鞘脂参与植物早期形态建成和后期植株形态维持。编码 SPT 亚基的 *AtLCB1* 基因突变后,*lcb1-*

1 突变体表现出胚胎致死的表型,但通过 RNAi 的方法降低 *AtLCB1* 的表达水平,使得植物细胞变小,最终导致植株整体变小^[32]。在正常的生长条件下,*sbh1-1* 和 *sbh2-1* 突变体植株没有明显的生长缺陷表型,但当二者同时突变后,*sbh1-1 sbh2-1* 双突变体完全缺乏植物鞘氨醇,植株严重矮化,无法从营养生长过渡到生殖生长阶段,并且 PCD 相关基因的表达增强^[97]。通过 RNAi 方法构建 *SBH1* 和 *SBH2* 基因同时抑制的突变体来评估植物鞘氨醇对植物生长的影响,检测发现植株的矮化程度与植物鞘氨醇的缺失程度相关,当叶片中植物鞘氨醇的相对含量小于等于总鞘氨醇含量的 35% 时,即植物鞘氨醇含量相对较低时,植株的生长受到抑制^[97]。*loh1loh3* 双突变体没有固定的植株形态,在固体培养基上延长培养时间,部分 *loh1loh3* 双突变体种子能萌发幼苗,但其形态严重变形,没有根、叶片形状变形,无法进一步生长发育,表明由 *LOH1* 和 *LOH3* 催化的含 VLCFAs 的鞘脂对植物幼苗发育至关重要^[38]。但过表达 *LOH1* 和 *LOH3* 导致植物整体较野生型大,可能是由于含 VLCFAs 的植物神经酰胺积累促进了细胞分裂和生长^[120]。在拟南芥中过表达 *LOH2* 基因导致植株矮化,并且积累神经酰胺(C16-FA),进而引起 SA 的水平升高导致 PCD 的组成性表达^[120]。虽然鞘氨醇和神经酰胺在植物中的含量较少,但在维持植物生长发育和调节鞘脂含量,以及在相关的激素途径或者防御途径中具有重要的作用。

GCS 基因缺失会导致拟南芥幼苗严重矮化,并且子叶畸形几乎不能形成初叶,细胞内高尔基体形态异常^[12]。虽然 *gcs-1* 突变体幼苗能够形成愈伤组织,并在含有蔗糖的培养基上增殖生长到 8 周左右,但将愈伤组织转移至具有促进分化的培养基上时,愈伤组织细胞不能分化出器官,表明葡糖神经酰胺对拟南芥的细胞类型分化和器官发生至关重要^[12]。向高尔基体腔转运 GDP-Man 促进糖基肌醇磷酸神经酰胺合成的 *GONST1* 基因突变也会导致植株矮化的表型,并且伴随结实率降低,植株 SA 水平升高和 PCD 的发生^[27]。*gonst1* 通过与 SA 积累能力受损的植株(如 35S 启动子调控下表达细菌水杨酸羟化酶基因——*NahG* 的拟南芥植株和 SA 合成酶 Isochorismate Synthase 功能缺失的植株——*ics1*)杂交可部分恢复矮化的表型,但是 *gonst1* 表型不是由脂质代谢的改变

引起的,而是由糖基肌醇磷酸神经酰胺头部基团的改变引起的,对下游生长发育的影响可能是通过 SA 介导和不依赖于 SA 的途径发挥作用的^[27]。与 *gont1* 表型相似,*gmt1* 也表现出矮化的特征且 SA 和 H₂O₂ 水平升高。此外 *gmt1* 的鲜重约为野生型的一半,其细胞壁的纤维素含量降低、下胚轴长度减少,虽然突变体可完成一个完整的生命周期,但只能产生少量可以存活的种子^[50]。*gmt1* 突变体中防御相关激素的产生可能是上游 ROS 的过量产生引起的,进而导致了细胞死亡和幼苗期衰老表型的发生。特异性参与糖基肌醇磷酸神经酰胺糖基化的 GMT1 功能缺失,可能导致糖基肌醇磷酸神经酰胺头部基团的修饰发生紊乱,诱导了组成性防御反应,但引起诱导途径的信号级联依旧未知^[50]。总体而言,目前发现涉及糖基肌醇磷酸神经酰胺糖基化过程中的多种突变体都具有严重的生长缺陷表型,表明糖基肌醇磷酸神经酰胺头部基团的修饰在植物发育和信号传导中具有关键作用,但更详细的调控机制需要深入研究。

拟南芥脂质翻转酶 ALA4 和 ALA5 功能的同时缺失会导致植株严重矮化,且伴随细胞伸长缺陷,*ala4ala5* 双突变体中仅葡糖神经酰胺的含量显著性增加,并且积累的葡糖神经酰胺类型分布范围较广,包括含 C16-C26 脂肪酸链在内的所有葡糖神经酰胺,可能是鞘脂代谢紊乱导致的植物细胞营养生长失衡引起了 *ala4ala5* 双突变体抑制生长的表型^[121]。最近的研究表明,水稻的 IPCSs 功能缺失会影响株高^[122]。水稻具有 3 个 IPCSs 同源基因,*OsIPCSs* 单基因突变导致植株矮化,其中 *osipcs3* 突变体矮化程度较 *osipcs1* 和 *osipcs2* 严重,并且多个基因的突变会导致表型加重同时,具有叠加效应,*osipcs1/2/3* 三突变体生长最弱,导致无法结实^[122]。在矮化的突变体中观察到节间表皮细胞伸长显著减少,在 *osipcs2/3* 和 *osipcs1/2/3* 突变体中 IPC 含量显著降低,总体表明 *OsIPCSs* 可能通过影响水稻细胞生长和鞘脂代谢参与了植物株高的调控^[122]。鞘脂代谢调控植物形态的研究大多是通过表型进一步推测和检测植物鞘脂类物质含量的变化,来证明二者之间是否有紧密的联系,但是缺乏直接的证据证明植物形态调控相关的基因与鞘脂类物质之间的作用机制,因此需要更精确的实验设计和方法来完善调控网络。

2.6 鞘脂代谢参与植物果实发育

橄榄 (*Olea europaea* L. cv. Picual) 中鞘脂代谢动态参与果实的成熟和脱落^[123-124]。在橄榄果实发育早期,鞘氨醇含量增加,鞘脂生物合成关键基因表达上调,并且发现 *OeSPHK* 可能是果实生长早期鞘脂代谢的重要贡献者^[13]。此外,鞘脂与植物激素油菜素内酯 (Brassinosteroid, BR) 在果实早期发育过程中可能存在相互作用^[13]。*OeAC-ER* 是一个成熟诱导基因,与橄榄果实成熟的最后阶段相关,内源鞘脂水平在果实发育过程中受到复杂的调控^[123]。橄榄成熟果实脱落时鞘氨醇总量增加,其中以 t18:1 (8E) 的增加最为显著,大于 81% 的鞘氨醇是三羟基化的形式,大于 87% 的鞘氨醇在脱落期含有顺式或反式 $\Delta 8$ 双键,并且 d18:0 在脱落前不存在,但在脱落过程中富集,表明鞘氨醇的 C4 羟基化和 $\Delta 8$ 去饱和修饰可能在果实脱落过程中介导橄榄离层区中总鞘脂含量或特定鞘脂类物质含量中起重要作用^[124]。对桃果实采摘后低温贮藏过程的研究发现,NO 可以增加 KDSR、CerS 和 CERK 活性,导致桃果实中鞘氨醇、神经酰胺和神经酰胺-1-磷酸的含量增加,表明 NO 能够维持鞘脂代谢,缓解采摘后果实对低温的反应^[125]。目前,关于鞘脂代谢参与植物果实发育的研究处于起步阶段,主要以鞘脂含量及其相关基因表达量的变化来间接评估鞘脂在植物果实中发挥的作用,更深层次的调控机制未见报道,研究的物种倾向于具有肉质果实的植物,相对范围较小,因此有很大的研究空间亟待探究。

3 结语

植物中结构多样化的鞘脂类物质特异性的分布在不同细胞和组织中,调节植物的不同生长发育过程。以模式植物拟南芥为例,鞘脂调控拟南芥的幼苗发育、根的生长、气孔开闭、细胞程序性死亡、花粉及花粉管的发育和植株形态 (见图 4)。鞘脂代谢紊乱会导致植物生长发育过程异常,进而表现出相应的生长发育缺陷的表型。虽然植物鞘脂代谢途径的多种参与组分已经被鉴定,但随着鞘脂类物质研究技术的不断更迭,新的成员不断被发现,新的功能也不断被揭示。现有鞘脂代谢的主流研究方法是鞘脂基因突变体表型分析和基于液相质谱联用的鞘脂组学技术,这些技术的应用可以评估鞘脂代谢相关基因突变后植物体内

不同组织中鞘脂类物质含量的变化,进而推测出导致植物出现生长发育缺陷表型的根本原因。虽然通过已有技术手段可以确定部分鞘脂类突变体出现表型的原因,但对具体的调控机制仍然缺乏足够的了解,植物细胞内的鞘脂分子在内膜系统的转运机制亟需完善。当外界的胁迫信号被质膜上的受体识别后,质膜上是否存在与鞘脂相关的膜受体,或者如何将信号传递给鞘脂分子,细胞内的鞘脂信号分子如何响应植物生长发育信号,以及在分子水平上鞘脂如何调节植物的激素水平进而影响植物生长发育等诸多鞘脂相关研究目前还未明确。鞘脂代谢调控植物生长发育的相关研究将有助于加深植物对环境适应的认识,为改善植物营养生长、结实和贮藏提供新的思路。

参考文献

- [1] SPERLING P, HEINZ E. Plant sphingolipids: Structural diversity, biosynthesis, first genes and functions [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2003, 1632(1/2/3): 1-15.
- [2] HANNUN Y A, OBEID L M. Principles of bioactive lipid signalling: Lessons from sphingolipids [J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2008, 9(2): 139-150.
- [3] CACAS J L, BURÉ C, GROSJEAN K, et al. Revisiting plant plasma membrane lipids in tobacco: A focus on sphingolipids [J]. *Plant Physiology*, 2016, 170(1): 367-384.
- [4] LYNCH D V, DUNN T M. An introduction to plant sphingolipids and a review of recent advances in understanding their metabolism and function [J]. *New Phytologist*, 2004, 161(3): 677-702.
- [5] SHI L H, BIELAWSKI J, MU J Y, et al. Involvement of sphingoid bases in mediating reactive oxygen intermediate production and programmed cell death in *Arabidopsis* [J]. *Cell Research*, 2007, 17(12): 1030-1040.
- [6] ZHAO Y X, LIU Z J, WANG L, et al. Fumonisin B1 as a tool to explore sphingolipid roles in *Arabidopsis* primary root development [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(21): 12925.
- [7] ZIENKIEWICZ A, GÖMANN J, KÖNIG S, et al. Disruption of *Arabidopsis* neutral ceramidases 1 and 2 results in specific sphingolipid imbalances triggering different phytohormone-dependent plant cell death programmes [J]. *New Phytologist*, 2020, 226(1): 170-188.
- [8] COURSO S, FAN L M, LE STUNFF H, et al. Sphingolipid signalling in *Arabidopsis* guard cells involves heterotrimeric G proteins [J]. *Nature*, 2003, 423(6940): 651-654.
- [9] DUTILLEUL C, CHAVARRIA H, RÉZÉN, et al. Evidence for ACD5 ceramide kinase activity involvement in *Arabidopsis* response to cold stress [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2015, 38(12): 2688-2697.
- [10] DIETRICH C R, HAN G S, CHEN M, et al. Loss-of-function mutations and inducible RNAi suppression of *Arabidopsis* LCB2 genes reveal the critical role of sphingolipids in gametophytic and sporophytic cell viability [J]. *The Plant Journal*, 2008, 54(2): 284-298.
- [11] CHUEASIRI C, CHUNTHONG K, PITNJAM K, et al. Rice ORMDL controls sphingolipid homeostasis affecting fertility resulting from abnormal pollen development [J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e106386.
- [12] MSANNE J, CHEN M, LUTTGEHARM K D, et al. Glucosylceramides are critical for cell-type differentiation and organogenesis, but not for cell viability in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Journal*, 2015, 84(1): 188-201.
- [13] CORBACHO J, INÉS C, PAREDES M A, et al. Modulation of sphingolipid long-chain base composition and gene expression during early olive-fruit development, and putative role of brassinosteroid [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2018, 231: 383-392.
- [14] HANNUN Y A, OBEID L M. Sphingolipids and their metabolism in physiology and disease [J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2018, 19(3): 175-191.
- [15] GONZALEZ-SOLIS A, HAN G S, GAN L, et al. Unregulated sphingolipid biosynthesis in gene-edited *Arabidopsis* ORM mutants results in nonviable seeds with strongly reduced oil content [J]. *The Plant Cell*, 2020, 32(8): 2474-2490.
- [16] MARKHAM J E, JAWORSKI J G. Rapid measurement of sphingolipids from *Arabidopsis thaliana* by reversed-phase high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2007, 21(7): 1304-1314.
- [17] MICHAELSON L V, NAPIER J A, MOLINO D, et al. Plant sphingolipids: Their importance in cellular organization and adaption [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2016, 1861(9 Pt B): 1329-1335.
- [18] MAMODE CASSIM A, GRISON M, ITO Y, et al.

- Sphingolipids in plants: A guidebook on their function in membrane architecture, cellular processes, and environmental or developmental responses [J]. FEBS Letters, 2020, 594(22): 3719-3738.
- [19] BURÉ C, CACAS J L, MONGRAND S, et al. Characterization of glycosyl inositol phosphoryl ceramides from plants and fungi by mass spectrometry[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2014, 406(4): 995-1010.
- [20] GLENZ R, KAIPING A, GÖPFERT D, et al. The major plant sphingolipid long chain base phytosphingosine inhibits growth of bacterial and fungal plant pathogens[J]. Scientific Reports, 2022, 12(1): 1081.
- [21] CAHOON E B, LYNCH D V. Analysis of glucocerebrosides of rye (*Secale cereale* L. cv Puma) leaf and plasma membrane [J]. Plant Physiology, 1991, 95(1): 58-68.
- [22] MARKHAM J E, LYNCH D V, NAPIER J A, et al. Plant sphingolipids: Function follows form[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2013, 16(3): 350-357.
- [23] MARKHAM J E, LI J, CAHOON E B, et al. Separation and identification of major plant sphingolipid classes from leaves[J]. Journal of Biological Chemistry, 2006, 281(32): 22684-22694.
- [24] WARNECKE D, HEINZ E. Recently discovered functions of glucosylceramides in plants and fungi[J]. Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS, 2003, 60(5): 919-941.
- [25] MAMODE CASSIM A, NAVON Y, GAO Y, et al. Biophysical analysis of the plant-specific GIPC sphingolipids reveals multiple modes of membrane regulation[J]. Journal of Biological Chemistry, 2021, 296: 100602.
- [26] CACAS J L, BURÉ C, FURT F, et al. Biochemical survey of the polar head of plant glycosylinositolphosphoceramides unravels broad diversity [J]. Phytochemistry, 2013, 96: 191-200.
- [27] MORTIMER J C, YU X L, ALBRECHT S, et al. Abnormal glycosphingolipid mannosylation triggers salicylic acid-mediated responses in *Arabidopsis* [J]. The Plant Cell, 2013, 25(5): 1881-1894.
- [28] BURÉ C, CACAS J L, WANG F, et al. Fast screening of highly glycosylated plant sphingolipids by tandem mass spectrometry[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2011, 25(20): 3131-3145.
- [29] GRONNIER J, GERMAIN V, GOUGUET P, et al. GIPC: Glycosyl Inositol Phospho Ceramides, the major sphingolipids on earth [J]. Plant Signaling & Behavior, 2016, 11(4): e1152438.
- [30] KAUL K, LESTER R L. Characterization of inositol-containing phosphosphingolipids from tobacco leaves: Isolation and identification of two novel, major lipids: N-acetylglucosamidoglucuronidoinositol phosphorylceramide and glucosamidoglucuronidoinositol phosphorylceramide[J]. Plant Physiology, 1975, 55(1): 120-129.
- [31] TAMURA K, MITSUHASHI N, HARA-NISHIMURA I, et al. Characterization of an Arabidopsis cDNA encoding a subunit of serine palmitoyltransferase, the initial enzyme in sphingolipid biosynthesis [J]. Plant & Cell Physiology, 2001, 42(11): 1274-1281.
- [32] CHEN M, HAN G S, DIETRICH C R, et al. The essential nature of sphingolipids in plants as revealed by the functional identification and characterization of the *Arabidopsis* LCB1 subunit of serine palmitoyltransferase [J]. The Plant Cell, 2006, 18(12): 3576-3593.
- [33] CHAO D Y, GABLE K, CHEN M, et al. Sphingolipids in the root play an important role in regulating the leaf ionome in *Arabidopsis thaliana* [J]. The Plant Cell, 2011, 23(3): 1061-1081.
- [34] CACAS J L, MELSER S, DOMERGUE F, et al. Rapid nanoscale quantitative analysis of plant sphingolipid long-chain bases by GC-MS [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2012, 403(9): 2745-2755.
- [35] TERNES P, FRANKE S, ZÄHRINGER U, et al. Identification and characterization of a sphingolipid delta 4-desaturase family [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2002, 277(28): 25512-25518.
- [36] SPERLING P, ZÄHRINGER U, HEINZ E. A sphingolipid desaturase from higher plants identification of a new cytochrome b₅ fusion protein [J]. Journal of Biological Chemistry, 1998, 273(44): 28590-28596.
- [37] CHEN M, MARKHAM J E, CAHOON E B. Sphingolipid $\Delta 8$ unsaturation is important for glucosylceramide biosynthesis and low-temperature performance in *Arabidopsis* [J]. The Plant Journal, 2012, 69(5): 769-781.
- [38] MARKHAM J E, MOLINO D, GISSOT L, et al. Sphingolipids containing very-long-chain fatty acids define a secretory pathway for specific polar plasma membrane protein targeting in *Arabidopsis* [J]. The Plant Cell, 2011, 23(6): 2362-2378.
- [39] TERNES P, FEUSSNER K, WERNER S, et al. Disruption of the ceramide synthase LOH1 causes sponta-

- neous cell death in *Arabidopsis thaliana* [J]. *New Phytologist*, 2011, 192(4): 841-854.
- [40] LUTTGEHARM K D, CAHOON E B, MARKHAM J E. Substrate specificity, kinetic properties and inhibition by fumonisin B1 of ceramide synthase isoforms from *Arabidopsis* [J]. *The Biochemical Journal*, 2016, 473(5): 593-603.
- [41] NAGANO M, TAKAHARA K, FUJIMOTO M, et al. *Arabidopsis* sphingolipid fatty acid 2-hydroxylases (AtFAH1 and AtFAH2) are functionally differentiated in fatty acid 2-hydroxylation and stress responses [J]. *Plant Physiology*, 2012, 159(3): 1138-1148.
- [42] KÖNIG S, GÖMANN J, ZIENKIEWICZ A, et al. Sphingolipid-induced programmed cell death is a salicylic acid and EDS1-dependent phenotype in *Arabidopsis* Fatty acid hydroxylase (*Fah1*, *Fah2*) and Ceramide synthase (*Loh2*) triple mutants [J]. *Plant & Cell Physiology*, 2022, 63(3): 317-325.
- [43] HAAK D, GABLE K, BEELER T, et al. Hydroxylation of *saccharomyces cerevisiae* ceramides requires Sur2p and Scs7p [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272(47): 29704-29710.
- [44] TERNES P, WOBBE T, SCHWARZ M, et al. Two pathways of sphingolipid biosynthesis are separated in the yeast *pichia pastoris* [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(13): 11401-11414.
- [45] LEIPELT M, WARNECKE D, ZÄHRINGER U, et al. Glucosylceramide synthases, a gene family responsible for the biosynthesis of glucosphingolipids in animals, plants, and fungi [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(36): 33621-33629.
- [46] MELSER S, BATAILLER B, PEYPELUT M, et al. Glucosylceramide biosynthesis is involved in Golgi morphology and protein secretion in plant cells [J]. *Traffic*, 2010, 11(4): 479-490.
- [47] WANG W M, YANG X H, TANGCHAIBURANA S, et al. An inositolphosphorylceramide synthase is involved in regulation of plant programmed cell death associated with defense in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2008, 20(11): 3163-3179.
- [48] MINA J G, OKADA Y, WANSADHIPATHI-KANNANGARA N K, et al. Functional analyses of differentially expressed isoforms of the *Arabidopsis* inositol phosphorylceramide synthase [J]. *Plant Molecular Biology*, 2010, 73(4/5): 399-407.
- [49] RENNIE E A, EBERT B, MILES G P, et al. Identification of a sphingolipid α -glucuronosyltransferase that is essential for pollen function in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2014, 26(8): 3314-3325.
- [50] FANG L, ISHIKAWA T, RENNIE E A, et al. Loss of inositol phosphorylceramide sphingolipid mannosylation induces plant immune responses and reduces cellulose content in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2016, 28(12): 2991-3004.
- [51] JING B B, ISHIKAWA T, SOLTIS N, et al. The *Arabidopsis thaliana* nucleotide sugar transporter GONST2 is a functional homolog of GONST1 [J]. *Plant Direct*, 2021, 5(3): e00309.
- [52] ISHIKAWA T, FANG L, RENNIE E A, et al. GLUCOSAMINE INOSITOLPHOSPHORYLCERAMIDE-TRANSFERASE1 (GINT1) is a GlcNAc-containing glycosylinositol phosphorylceramide glycosyltransferase [J]. *Plant Physiology*, 2018, 177(3): 938-952.
- [53] EBERT B, RAUTENGARTEN C, MCFARLANE H E, et al. A Golgi UDP-GlcNAc transporter delivers substrates for N-linked glycans and sphingolipids [J]. *Nature Plants*, 2018, 4: 792-801.
- [54] GAULT C R, OBEID L M, HANNUN Y A. An overview of sphingolipid metabolism: From synthesis to breakdown [J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2010, 688: 1-23.
- [55] TSEGAYE Y, RICHARDSON C G, BRAVO J E, et al. *Arabidopsis* mutants lacking long chain base phosphate lyase are fumonisin-sensitive and accumulate trihydroxy-18:1 long chain base phosphate [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(38): 28195-28206.
- [56] NISHIKAWA M, HOSOKAWA K, ISHIGURO M, et al. Degradation of sphingoid long-chain base 1-phosphates (LCB-1Ps): Functional characterization and expression of AtDPL1 encoding LCB-1P lyase involved in the dehydration stress response in *Arabidopsis* [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2008, 49(11): 1758-1763.
- [57] MAO C G, OBEID L M. Ceramidases: Regulators of cellular responses mediated by ceramide, sphingosine, and sphingosine-1-phosphate [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2008, 1781(9): 424-434.
- [58] OKINO N, HE X X, GATT S, et al. The reverse activity of human acid ceramidase [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(32): 29948-29953.
- [59] WU J X, LI J, LIU Z, et al. The *Arabidopsis* ceramidase AtACER functions in disease resistance and salt tolerance [J]. *The Plant Journal*, 2015, 81(5): 767-780.
- [60] PATA M O, WU B X, BIELAWSKI J, et al. Molecu-

- lar cloning and characterization of OsCDase, a ceramidase enzyme from rice[J]. *The Plant Journal*, 2008, 55(6): 1000-1009.
- [61] YU X M, WANG X J, HUANG X L, et al. Cloning and characterization of a wheat neutral ceramidase gene Ta-CDase[J]. *Molecular Biology Reports*, 2011, 38(5): 3447-3454.
- [62] ZHONG L, LIU E X, YANG C Z, et al. Gene cloning of a neutral ceramidase from the sphingolipid metabolic pathway based on transcriptome analysis of *Amorophophallus muelleri*[J]. *PLoS One*, 2018, 13(3): e0194863.
- [63] CHEN L Y, SHI D Q, ZHANG W J, et al. The *Arabidopsis* alkaline ceramidase TOD1 is a key turgor pressure regulator in plant cells[J]. *Nature Communications*, 2015, 6: 6030.
- [64] DAI G Y, YIN J, LI K E, et al. The *Arabidopsis* At-GCD3 protein is a glucosylceramidase that preferentially hydrolyzes long-acyl-chain glucosylceramides[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2020, 295(3): 717-728.
- [65] HASI R Y, MIYAGI M, MORITO K, et al. Glycosylinositol phosphoceramide-specific phospholipase D activity catalyzes transphosphatidylation[J]. *Journal of Biochemistry*, 2019, 166(5): 441-448.
- [66] YANG B, LI M Y, PHILLIPS A, et al. Nonspecific phospholipase C4 hydrolyzes phosphosphingolipids and sustains plant root growth during phosphate deficiency[J]. *The Plant Cell*, 2021, 33(3): 766-780.
- [67] HURLOCK A K, ROSTON R L, WANG K, et al. Lipid trafficking in plant cells[J]. *Traffic*, 2014, 15(9): 915-932.
- [68] SIMANSHU D K, ZHAI X H, MUNCH D, et al. *Arabidopsis* accelerated cell death 11, ACD11, is a ceramide-1-phosphate transfer protein and intermediary regulator of phytoceramide levels[J]. *Cell Reports*, 2014, 6(2): 388-399.
- [69] BRODERSEN P, PETERSEN M, PIKE H M, et al. Knockout of *Arabidopsis* ACCELERATED-CELL-DEATH11 encoding a sphingosine transfer protein causes activation of programmed cell death and defense[J]. *Genes & Development*, 2002, 16(4): 490-502.
- [70] WEST G, VIITANEN L, ALM C, et al. Identification of a glycosphingolipid transfer protein GLTP1 in *Arabidopsis thaliana*[J]. *The FEBS Journal*, 2008, 275(13): 3421-3437.
- [71] WATTELET-BOYER V, BROCARD L, JONSSON K, et al. Enrichment of hydroxylated C24-and C26-acyl-chain sphingolipids mediates PIN2 apical sorting at trans-Golgi network subdomains[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 12788.
- [72] DAVIS J A, PARES R B, PALMGREN M, et al. A potential pathway for flippase-facilitated glucosylceramide catabolism in plants[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2020, 15(10): 1783486.
- [73] ROLAND B P, NAITO T, BEST J T, et al. Yeast and human P4-ATPases transport glycosphingolipids using conserved structural motifs[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2019, 294(6): 1794-1806.
- [74] HANADA K. Serine palmitoyltransferase, a key enzyme of sphingolipid metabolism[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2003, 1632(1/2/3): 16-30.
- [75] KIMBERLIN A N, MAJUMDER S, HAN G S, et al. *Arabidopsis* 56-amino acid serine palmitoyltransferase-interacting proteins stimulate sphingolipid synthesis, are essential, and affect mycotoxin sensitivity[J]. *The Plant Cell*, 2013, 25(11): 4627-4639.
- [76] LI J, YIN J, RONG C, et al. Orosomucoid proteins interact with the small subunit of serine palmitoyltransferase and contribute to sphingolipid homeostasis and stress responses in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2016, 28(12): 3038-3051.
- [77] HAN S M, LONE M A, SCHNEITER R, et al. Orm1 and Orm2 are conserved endoplasmic reticulum membrane proteins regulating lipid homeostasis and protein quality control[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(13): 5851-5856.
- [78] HUBY E, NAPIER J A, BAILLIEUL F, et al. Sphingolipids: Towards an integrated view of metabolism during the plant stress response[J]. *New Phytologist*, 2020, 225(2): 659-670.
- [79] LIANG H, YAO N, SONG J T, et al. Ceramides modulate programmed cell death in plants[J]. *Genes & Development*, 2003, 17(21): 2636-2641.
- [80] WORRALL D, LIANG Y K, ALVAREZ S, et al. Involvement of sphingosine kinase in plant cell signalling[J]. *The Plant Journal*, 2008, 56(1): 64-72.
- [81] GUO L, MISHRA G, TAYLOR K, et al. Phosphatidic acid binds and stimulates *Arabidopsis* sphingosine kinases[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(15): 13336-13345.
- [82] LIU H, CHAKRAVARTY D, MACEYKA M, et al. Sphingosine kinases: A novel family of lipid kinases[J]. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*, 2002, 71: 493-511.

- [83] ADAMS D R, PYNE S, PYNE N J. Structure-function analysis of lipid substrates and inhibitors of sphingosine kinases[J]. *Cellular Signalling*, 2020, 76: 109806.
- [84] ABBAS H K, TANAKA T, DUKE S O, et al. Fumonisin-and AAL-toxin-induced disruption of sphingolipid metabolism with accumulation of free sphingoid bases [J]. *Plant Physiology*, 1994, 106(3): 1085-1093.
- [85] ZENG H Y, LI C Y, YAO N. Fumonisin B1: A tool for exploring the multiple functions of sphingolipids in plants[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 600458.
- [86] YANAGAWA D, ISHIKAWA T, IMAI H. Synthesis and degradation of long-chain base phosphates affect fumonisin B1-induced cell death in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Journal of Plant Research*, 2017, 130(3): 571-585.
- [87] BRANDWAGT B F, MESBAH L A, TAKKEN F L, et al. A longevity assurance gene homolog of tomato mediates resistance to *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* toxins and fumonisin B1 [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 97(9): 4961-4966.
- [88] SPASSIEVA S D, MARKHAM J E, HILLE J. The plant disease resistance gene *Asc-1* prevents disruption of sphingolipid metabolism during AAL-toxin-induced programmed cell death[J]. *The Plant Journal*, 2002, 32(4): 561-572.
- [89] KRÜGER F, KREBS M, VIOTTI C, et al. PDMP induces rapid changes in vacuole morphology in *Arabidopsis* root cells[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2013, 64(2): 529-540.
- [90] TJELLSTRÖM H, HELLGREN L I, WIESLANDER Å, et al. Lipid asymmetry in plant plasma membranes: Phosphate deficiency-induced phospholipid replacement is restricted to the cytosolic leaflet[J]. *The FASEB Journal*, 2010, 24(4): 1128-1138.
- [91] CACAS J L, FURT F, LE GUÉDARD M, et al. Lipids of plant membrane rafts[J]. *Progress in Lipid Research*, 2012, 51(3): 272-299.
- [92] BORNER G H H, SHERRIER D J, WEIMAR T, et al. Analysis of detergent-resistant membranes in *Arabidopsis*. Evidence for plasma membrane lipid rafts[J]. *Plant Physiology*, 2005, 137(1): 104-116.
- [93] LIN S S, MARTIN R, MONGRAND S, et al. RING1 E3 ligase localizes to plasma membrane lipid rafts to trigger FB1-induced programmed cell death in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Journal*, 2008, 56(4): 550-561.
- [94] FUTERMAN A H, HANNUN Y A. The complex life of simple sphingolipids[J]. *EMBO Reports*, 2004, 5(8): 777-782.
- [95] PATA M O, HANNUN Y A, NG C K Y. Plant sphingolipids: Decoding the enigma of the Sphinx[J]. *New Phytologist*, 2010, 185(3): 611-630.
- [96] LUTTGEHARM K D, KIMBERLIN A N, CAHOON E B. Plant sphingolipid metabolism and function[M] // *Lipids in Plant and Algae Development*. Cham:Springer, 2016: 249-286.
- [97] CHEN M, MARKHAM J E, DIETRICH C R, et al. Sphingolipid long-chain base hydroxylation is important for growth and regulation of sphingolipid content and composition in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2008, 20(7): 1862-1878.
- [98] MICHAELSON L V, ZÄUNER S, MARKHAM J E, et al. Functional characterization of a higher plant sphingolipid Delta4-desaturase: Defining the role of sphingosine and sphingosine-1-phosphate in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2009, 149(1): 487-498.
- [99] SPERLING P, FRANKE S, LÜTHJE S, et al. Are glucocerebrosides the predominant sphingolipids in plant plasma membranes? [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2005, 43(12): 1031-1038.
- [100] SHAO Z Y, ZHAO Y T, LIU L H, et al. Overexpression of FBR41 enhances resistance to sphinganine analog mycotoxin-induced cell death and *Alternaria* stem canker in tomato[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2020, 18(1): 141-154.
- [101] ASAI T, STONE J M, HEARD J E, et al. Fumonisin B1-induced cell death in *Arabidopsis* protoplasts requires jasmonate-, ethylene-, and salicylate-dependent signaling pathways[J]. *The Plant Cell*, 2000, 12(10): 1823-1836.
- [102] COUPE S A, WATSON L M, RYAN D J, et al. Molecular analysis of programmed cell death during senescence in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica oleracea*: Cloning broccoli LSD1, Bax inhibitor and serine palmitoyltransferase homologues[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2004, 55(394): 59-68.
- [103] HUANG L Q, CHEN D K, LI P P, et al. Jasmonates modulate sphingolipid metabolism and accelerate cell death in the ceramide kinase mutant *acd5* [J]. *Plant Physiology*, 2021, 187(3): 1713-1727.
- [104] TOWNLEY H E, MCDONALD K, JENKINS G I, et al. Ceramides induce programmed cell death in *Arabidopsis* cells in a calcium-dependent manner[J]. *Biological Chemistry*, 2005, 386(2): 161-166.
- [105] LAWSON T, MATTHEWS J. Guard cell metabolism

- and stomatal function[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2020, 71: 273-302.
- [106] AGURLA S, RAGHAVENDRA A S. Convergence and divergence of signaling events in guard cells during stomatal closure by plant hormones or microbial elicitors[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 1332.
- [107] HAWORTH M, MARINO G, LORETO F, et al. Integrating stomatal physiology and morphology: Evolution of stomatal control and development of future crops[J]. *Oecologia*, 2021, 197(4): 867-883.
- [108] NG C K, CARR K, MCAINSH M R, et al. Drought-induced guard cell signal transduction involves sphingosine-1-phosphate[J]. *Nature*, 2001, 410(6828): 596-599.
- [109] COURSOL S, LE STUNFF H, LYNCH D V, et al. *Arabidopsis* sphingosine kinase and the effects of phytosphingosine-1-phosphate on stomatal aperture[J]. *Plant Physiology*, 2005, 137(2): 724-737.
- [110] NAKAGAWA N, KATO M, TAKAHASHI Y, et al. Degradation of long-chain base 1-phosphate (LCBP) in *Arabidopsis*: Functional characterization of LCBP phosphatase involved in the dehydration stress response[J]. *Journal of Plant Research*, 2012, 125(3): 439-449.
- [111] ZHANG W H, QIN C B, ZHAO J, et al. Phospholipase D α 1-derived phosphatidic acid interacts with ABI1 phosphatase 2C and regulates abscisic acid signaling[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(25): 9508-9513.
- [112] ZHANG Y Y, ZHU H Y, ZHANG Q, et al. Phospholipase α 1 and phosphatidic acid regulate NADPH oxidase activity and production of reactive oxygen species in ABA-mediated stomatal closure in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2009, 21(8): 2357-2377.
- [113] GUO L, MISHRA G, MARKHAM J E, et al. Connections between sphingosine kinase and phospholipase D in the abscisic acid signaling pathway in *Arabidopsis*[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287(11): 8286-8296.
- [114] DUTILLEUL C, BENHASSAINE-KESRI G, DEMANDRE C, et al. Phytosphingosine-phosphate is a signal for AtMPK6 activation and *Arabidopsis* response to chilling[J]. *New Phytologist*, 2012, 194(1): 181-191.
- [115] LIU Y J, WANG L, LI X, et al. Detailed sphingolipid profile responded to salt stress in cotton root and the GhIPCS1 is involved in the regulation of plant salt tolerance[J]. *Plant Science*, 2022, 316: 111174.
- [116] TENG C, DONG H L, SHI L H, et al. Serine palmitoyltransferase, a key enzyme for de novo synthesis of sphingolipids, is essential for male gametophyte development in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2008, 146(3): 1322-1332.
- [117] WU J Y, QIN X Y, TAO S T, et al. Long-chain base phosphates modulate pollen tube growth via channel-mediated influx of calcium[J]. *The Plant Journal*, 2014, 79(3): 507-516.
- [118] KE C J, LIN X J, ZHANG B Y, et al. Turgor regulation defect 1 proteins play a conserved role in pollen tube reproductive innovation of the angiosperms[J]. *The Plant Journal*, 2021, 106(5): 1356-1365.
- [119] TARTAGLIO V, RENNIE E A, CAHOON R, et al. Glycosylation of inositol phosphorylceramide sphingolipids is required for normal growth and reproduction in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Journal*, 2017, 89(2): 278-290.
- [120] LUTTGEHARM K D, CHEN M, MEHRA A, et al. Overexpression of *Arabidopsis* ceramide synthases differentially affects growth, sphingolipid metabolism, programmed cell death, and mycotoxin resistance[J]. *Plant Physiology*, 2015, 169(2): 1108-1117.
- [121] DAVIS J A, PARES R B, BERNSTEIN T, et al. The lipid flippases ALA4 and ALA5 play critical roles in cell expansion and plant growth[J]. *Plant Physiology*, 2020, 182(4): 2111-2125.
- [122] WANG X, ZHANG Z F, PENG W, et al. Inositol-phosphorylceramide synthases, OsIPCSs, regulate plant height in rice[J]. *Plant Science*, 2023, 335: 111798.
- [123] INÊS C, PARRA-LOBATO M C, PAREDES M A, et al. Sphingolipid distribution, content and gene expression during olive-fruit development and ripening[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 28.
- [124] PARRA-LOBATO M C, PAREDES M A, LABRADOR J, et al. Localization of sphingolipid enriched plasma membrane regions and long-chain base composition during mature-fruit abscission in olive[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1138.
- [125] HUANG D D, TIAN W, FENG J R, et al. Interaction between nitric oxide and storage temperature on sphingolipid metabolism of postharvest peach fruit[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020, 151: 60-68.