

胡炜晨 张 同 胡 振 等. 禾本科植物细胞壁合成调控研究进展[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(2): 472-480.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2018.02.036

## 禾本科植物细胞壁合成调控研究进展

胡炜晨, 张 同, 胡 振, 王令强

(华中农业大学植物科学技术学院/华中农业大学生物质和生物能源中心, 湖北 武汉 430070)

**摘要:** 细胞壁是植物重要的特征结构,与植物的生长发育和对外界环境胁迫反应密切相关。秸秆的机械强度是一个重要的农艺性状,与产量、抗性等相关。而秸秆中细胞壁的主要成分纤维素、木质素、半纤维素等可作为重要的化工原料和生物质来源。秸秆理化性状的遗传改良和综合利用策略的形成均有赖于对细胞壁合成调控机理的认识。本文综述了脆秆突变体基因的定位、图谱克隆和功能研究,数量性状位点(QTL)作图和解析细胞壁相关性状的遗传基础以及共表达分析在探索细胞壁生物合成的候选基因和建立辅助细胞壁合成的调节网络中的应用等禾本科植物细胞壁形成和调控研究领域取得的最新进展。此外,还讨论了这些方面的几个潜在的具有挑战性的问题。

**关键词:** 细胞壁; 脆秆突变体; QTL; 基因共表达分析; 基因调控网络

中图分类号: S312 文献标识码: A 文章编号: 1000-4440(2018)02-0472-09

## Progress on cell wall biosynthesis and regulation in grasses

HU Wei-chen, ZHANG Tong, HU Zhen, WANG Ling-qiang

(College of Plant Science and Technology/Biomass and Bioenergy Research Center, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** Plant cell wall is an important characteristic structure, closely related to plant growth and environmental responses. The mechanical strength of crop straw was an important agronomic character, related to yield, resistance, etc. The main components of cell wall in the straw were cellulose, lignin and hemicellulose, which could serve as important chemical raw materials and biomass sources. The genetic improvement and comprehensive utilization strategy of straw biomass largely depended on the understanding of the regulation mechanism of cell wall biosynthesis. This study summarized recent progress achieved in the areas of plant cell wall formation and regulation in grass species including the characterization, map-based cloning and functional studies of genes for brittle culm mutants, qualitative traits loci (QTL) mapping and dissection of the genetic basis for cell wall related traits, co-expression analysis in exploring the candidate genes for cell wall biosynthesis and in the establishment of regulatory networks of secondary cell wall synthesis. In addition, several challenging questions and potential issues regarding this area were discussed.

**Key words:** cell wall; brittle culm; qualitative traits loci (QTL); gene co-expression analysis; gene regulation network

收稿日期: 2017-09-01

基金项目: 中央高校科研基金项目(2662015PY207); 国家自然科学基金基金项目(31771775、31171524)

作者简介: 胡炜晨(1993-),男,湖南湘乡人,硕士研究生,研究方向为小麦脆秆基因的遗传定位和克隆。(E-mail) huweichen022@vip.qq.com

通讯作者: 王令强 (E-mail) lqwang@mail.hzau.edu.cn

植物细胞壁是由纤维素、半纤维素、木质素等构成的网状结构,是植物细胞区别于动物细胞的基本特征之一。细胞壁与植物生长发育密切相关,维持细胞的基本形态,为植株提供机械支撑。此外,细胞壁还在营养物质转运、信号传导、花粉开裂、育性、抵御外界环境胁迫等方面发挥广泛的作用。

作物茎秆强度反映了细胞壁的物理特性,是一个重要的农艺性状,与产量、抗性直接相关<sup>[1-3]</sup>。另外,纤维素、木质素等细胞壁成分可作为重要的化工原料。特别是近些年来,木质纤维素作为第二代生物能源物质,因清洁可再生,兼具能源、材料和环保的综合效率,正日益受到关注<sup>[4]</sup>。

秸秆的理化性质如抗倒伏性能的改善、秸秆综合利用效率的提高都有赖于对细胞壁合成调控机理的认识<sup>[5-7]</sup>。同时,细胞壁作物植物区别于动物的一个进化特征,其形成和调控的分子机制是一个有待于研究的基础科学问题。2005年,《Science》杂志在其创刊125周年时就提出把“植物如何形成细胞壁”作为接下来25年需要解决的重要科学问题之一<sup>[8]</sup>。近十多年来,植物细胞壁合成调控分子机制研究已在国内外引起重视,并且取得了一定的发展。本文以农作物水稻、小麦和玉米为对象,从研究策略的角度综述了禾本科植物细胞壁合成调控的研究进展。

## 1 茎秆突变体在禾本科植物细胞壁合成调控研究中的应用

茎秆突变体(易脆、倒伏等)是研究植物细胞壁的宝贵材料。目前,在拟南芥、水稻、玉米、大麦、小麦和高粱等中均发现了茎秆突变体。采用正向遗传学研究策略,通过发现和创建突变体,开展基因图位克隆和功能研究,为植物细胞壁合成调控机理的研究打下了基础。

### 1.1 水稻茎秆突变体的发现和基因克隆

水稻(*Oryza sativa* L.)是重要的粮食作物,也是单子叶模式植物。禾本科植物细胞壁合成调控机理的认识主要来自于对水稻的研究。自1963年Nagao等<sup>[9]</sup>首次发现水稻脆茎突变体*bc1*以来,已有50多年历史。早期发现的6个脆秆基因(*bc1*~*bc6*),有5个通过经典遗传学的三体定位法定位在不同的连锁群上<sup>[10]</sup>。但直到2003年,中国科学家克隆了水稻脆秆突变体基因*bc1*,才有了突破性进展。*bc1*主要在厚壁组织细胞和维管束中编码一个胞外磷脂酰肌醇(GPI)锚定类Cobra蛋白,突变降低细胞壁厚度和纤维素含量,增加木质素含量<sup>[11]</sup>。随后,2003年Tanaka等<sup>[12]</sup>发现了3个新的脆秆基因,分别编码水稻纤维素合酶3个亚基(*OsCESA4*、*OsCESA7*、*OsCESA9*),位于第1、10染色体,与以前的脆秆基因不等位。2007年,Yan等<sup>[13]</sup>克隆了*bc7*

(*t*),并发现该基因就是纤维素合酶基因4(*OsCesA4*)。与Tanaka等<sup>[12]</sup>报道的*OsCesA4*不同,该突变体株高没有改变。此后,每年都有脆秆基因的新发现和克隆,如*bc3*<sup>[14-15]</sup>、*bc10*<sup>[16]</sup>、*bc11*<sup>[17]</sup>、*bc12*<sup>[18]</sup>等。Zhou等<sup>[16]</sup>克隆了*bc10*,研究结果表明*bc10*编码植物中新发现的一个糖基转移酶,该酶在高尔基体中合成,突变影响了纤维素和阿拉伯树胶酸蛋白(AGPs)的合成。Li等<sup>[19]</sup>克隆的一软秆易倒伏基因(*fc1*)编码木质素合成途径中肉桂酰乙醇脱氢酶(CAD),主要在维管束厚壁细胞的次生细胞壁中表达,突变造成纤维素、木质素含量和H单体含量的降低,细胞壁变薄。*BC14*编码尿苷二磷酸葡萄糖转运蛋白,该转运蛋白能将核苷酸糖从胞质运入高尔基体中,它的缺陷造成众多含葡萄糖基的多糖合成异常<sup>[20]</sup>。这些研究初步揭示了水稻细胞壁合成调控分子基础,表明细胞壁合成涉及各细胞学过程,其中包括参与纤维素催化合成(如*BC1*、*BC11*)、基质多糖形成/糖蛋白修饰(*BC10/fc116*)、细胞壁骨架的形成(*BC12*)以及囊泡运输(*BC3*)等。2011年Zhang等<sup>[21]</sup>总结了水稻脆秆基因图位克隆和功能研究进展,阐述了脆秆突变体在细胞壁合成调控机理研究中的重要性。最近几年,水稻中仍有脆秆基因(*bc13*<sup>[22]</sup>、*bc14*<sup>[20]</sup>、*bc15*<sup>[23]</sup>)的克隆和报道。这些突变体基因的克隆和研究不断丰富我们对禾本科细胞壁合成调控机理的认识。

### 1.2 禾本科植物细胞壁合成调控机理的复杂性

茎秆突变体的研究结果和基因克隆实践表明,植物细胞壁合成调控机理复杂。从基因性质来说,细胞壁合成变化不仅与负责其成分物质合成的基因直接相关,而且还与一些起降解作用的纤维素酶(Korrigan)和类几丁质酶(Chitinase-like)密切联系。*Bc15*编码没有几丁质酶活性的水稻类几丁质酶,突变后引起茎秆厚壁细胞纤维素含量降低,次生细胞壁变薄<sup>[23]</sup>。有些茎秆强度突变体是通过改变纤维素微纤丝的定向沉积而影响茎秆强度,如*bc12*<sup>[18]</sup>。研究结果表明,COBRA类蛋白BC1N端碳水化合物结合结构域(Carbohydrate binding module,CBM)可结合结晶态纤维素,通过调节其微纤丝结晶度来影响次生细胞壁的薄厚及茎秆机械强度<sup>[24]</sup>。从细胞壁组成看,三大成分纤维素、半纤维素和木质素中任何一个改变,均可以导致整体上细胞壁结构和功能的改变。而这种改变可能涉及基因调控也可能是结

构上的一个物理性互补。而且,初生细胞壁相关基因的改变也可进一步导致次生细胞壁的变化。对半纤维素的修饰如乙酰化和去乙酰化,可造成次生细胞壁的改变<sup>[25-26]</sup>。初生细胞壁和次生细胞壁的相互关系,以及初生细胞壁和次生细胞壁的基因分类和功能有待进一步明确。另外,禾本科植物细胞壁合成调控网络研究正方兴未艾。目前有2篇报道分别利用候选基因转化和图位克隆法研究了水稻中转录因子(OsMYB103L)对细胞壁合成的调控机制<sup>[27-28]</sup>。MYB转录因子可以调控纤维素合酶基因的表达水平,进而使植株纤维素含量及茎秆强度发生改变<sup>[27]</sup>。张保才等<sup>[29]</sup>从植物细胞壁结构与成分、细胞壁物质合成、细胞骨架在细胞壁形成中的作用、细胞壁形成的信号与转录调控网络以及研究技术的发展等几个角度阐述了植物细胞壁合成调控的新进展。这几年的研究重点,主要体现在基因的转录调控、纤维素合成复合体、非纤维素多糖修饰、外界环境和激素的调控,以及细胞壁各组份间的协同变化等几个方面。

### 1.3 茎秆突变体在细胞壁研究中的局限性

茎秆突变体为细胞壁合成调控的研究提供了切入点,在研究的早、中期发挥了重要的作用。但该方法的局限性在于:(1)材料难获得。由于家族基因互补等原因,有些细胞壁相关基因突变后性状无明显变化,很难通过表型鉴定获得。(2)依赖图位克隆,过程较漫长。水稻中虽然有很多T-DNA等插入突变体,理论上可利用侧翼序列分离等方法克隆基因,但成功不多。目前只有CESA(*Tos17*)和*fc1*(*T-DNA*)克隆报道<sup>[12,19]</sup>。(3)重复性难避免。克隆的基因往往与已发表的基因等位,如本实验室发表的*fc116/bc10*<sup>[30]</sup>和*OsCESA9*<sup>[31]</sup>。(4)绝大多数为结构基因,对细胞壁合成起直接作用,网络中上游的调控基因难以发现。水稻中通过茎秆突变体图位克隆的转录因子基因,目前只有*OsMYB103L*<sup>[28]</sup>。因此,随着研究手段的多样化,茎秆突变体已不再扮演主要角色。尽管如此,目前仍有脆秆基因被陆续发现和克隆,如*bc16*、*bc17*、*BS1*的克隆。因此,脆秆突变体的研究在细胞壁合成调控研究中仍发挥作用。

## 2 秸秆细胞壁相关性状的遗传学数量遗传学研究进展

植物细胞壁理化性质是多基因控制的复杂性

状。定位和研究秸秆细胞壁数量性状位点(QTL),进而克隆相关基因进行功能研究和利用,是另一种正向遗传学研究手段。秸秆相关性状的遗传学研究,早期仅有一些抗倒伏、茎秆木质化性状以及饲料纤维素和木质素含量和可消化性的QTL的定位报道。随着对生物质饲料和生物质能源的重视,目前玉米、大麦、燕麦、小麦和水稻等禾本科作物的细胞壁性状遗传学研究取得了一定的进展。

### 2.1 玉米秸秆相关性状的QTL定位

玉米是重要的青储饲料,又是美国等国家重视的能源作物,所以较早开展了秸秆细胞壁相关性状的遗传学研究。叶鞘和茎秆的中性可洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)和酸可溶木质素(ADL)性状的QTL定位研究结果<sup>[32-34]</sup>表明秸秆性状存在相关性,相关QTL位置和效应有一致性,比如对纤维性状QTL的选择可提高秸秆的可消化性。另外,发现QTL与纤维素或淀粉合成途径的基因连锁。Barrière等<sup>[35-36]</sup>利用F838×F286重组自交系对控制木质素含量、木质素单体含量和对羟基肉桂酸含量以及细胞壁可降解性的QTL进行了定位。Barrière等<sup>[37]</sup>利用WM13和Rio杂交的重组自交系定位了木质素含量QTL。其中一个影响Klason木质素含量的主效QTL可解释43%的遗传变异;另外还定位了对羟基肉桂酸含量QTL 13个、木质素单体含量QTL 9个。该研究进一步与前人的5个RIL群体的结果进行系统比较总结,一共得到50个QTL与ADL/NDF有关,涉及23个单一位点,有53个QTL与体外消化率(IVNDFD)有关。研究发现细胞壁相关性状QTL往往成簇分布,还存在很多QTL并没有与细胞壁单体合成和多聚化相关的基因对应,推测这些位点可能与对木质素合成和次生细胞壁沉淀的调控基因有关,有待进一步研究。

### 2.2 其他禾本科作物秸秆相关性状的QTL研究

除玉米外,在燕麦和大麦中也已检测了一些影响细胞壁可消化性、纤维品质、木质素含量、半纤维素成分、糖成分等相关性状的QTL<sup>[38-39]</sup>。小麦中茎秆强度、茎粗和秆壁厚度相关性状QTL可较好地用于小麦抗倒伏选择育种<sup>[40-41]</sup>。值得一提的是,在对大麦半纤维素成分MLG含量的QTL定位中,发现一主效QTL,对该QTL精细定位,并利用水稻同源区段比较克隆和验证了该基因功能,研究结果发表在Science杂志上<sup>[42]</sup>。而在水稻中,Okawa等<sup>[43]</sup>利

用染色体片段代换系鉴定出茎秆厚度 QTL (*SCM2*) 并将其克隆,发现其与影响穗结构的 *AP01* 基因等位。研究进一步发现携带 *SCM2* 的近等基因系茎秆强度增强同时穗粒数增加。该研究结果为提高水稻的抗倒伏能力和产量提供了新思路。

### 2.3 禾本科植物细胞壁成分和酶解产糖效率的 QTL 研究

尽管植物细胞壁相关性状的 QTL 定位逐渐增多,但真正涉及细胞壁理化性质的定位不多。在秸秆抗倒伏研究方面,由于指标和群体问题,真正与秸秆密切相关的 QTL 很少定位到,目前也没有从细胞壁组成和结构特性等内在层面展开。在秸秆相关化学性状方面,由于缺乏高效的细胞壁分析平台,对细胞壁单糖组成和木质素单体的定位还很少,也几乎没有生物质能源转化效率的数量遗传学研究。拟南芥中最早开展了细胞壁成分如木质素相关性状和可降解性的 QTL 定位研究<sup>[44-45]</sup>。在玉米中,利用玉米品种 B73 和 Mo17 构建重组自交系,定位了 152 个玉米秸秆酶解葡萄糖释放量和细胞壁组分相关的 QTL,为能源作物分子标记辅助选择打下了基础<sup>[46]</sup>。随后的 Barriere<sup>[36-37]</sup> 的 QTL 定位研究也涉及了一些秸秆木质素单体和可降解性。2014 年, Penning 等<sup>[47]</sup> 利用玉米重组自交系对木质素含量和酶解产糖进行了 QTL 定位,检测到木质素含量、4-乙炔基苯酚含量和酶解产糖相关的 QTL,在该群体中苯酚类物质含量的 QTL 与糖释放量的 QTL 并无关系,他们推测有其他非木质素细胞壁因子影响了该群体的酶解转化效率。在水稻中,Zhang 等<sup>[21]</sup> 利用野生稻 Yuanj 和 Teqing 的导入系群体定位了与半纤维单糖含量相关的 QTL,其中 4 个木糖和葡萄糖含量相关的 QTL 贡献率可达 20%。最近在四倍体小麦和二棱春大麦中,利用自然群体对阿拉伯木聚糖含量进行了关联分析<sup>[48-49]</sup>。这些秸秆细胞壁成分相关 QTL 的定位,给秸秆农艺性状的遗传改良带来了便利,也为随后的基因克隆建立了基础。

### 2.4 植物细胞壁组成和酶解产糖效率分析平台在数量遗传学研究中的应用

长期以来,缺乏快速、准确的性状测定方法而无法完成对大规模群体的分析,是细胞壁数量遗传学研究的瓶颈。最近,近红外光谱分析技术(NIR)和高通量细胞壁分析测定技术平台在生物质能研究领域的应用值得关注。NIR 具有快速、无损、环保、无

前处理的特点,可实现对大量样本的高通量测定<sup>[50]</sup>。目前,该技术已应用于生物质和生物能源领域,例如秸秆的化学成分测定<sup>[51]</sup>,大麦燃料酒精品质和谷类种子产生酒精的潜力<sup>[52-53]</sup>,小麦秸秆细胞壁成分分析及秸秆的可降解性预测<sup>[54-55]</sup>。Templeton 等<sup>[56]</sup> 利用近红外光谱技术结合偏最小二乘法(NIR/PLS)测定了来自美国 8 个玉米种植带的 508 份商业化杂交玉米秸秆样品细胞壁成分的变异。最近,本课题组利用 NIR 对不同预处理条件下芒草和水稻细胞壁成分和酶解转化效率进行了近红外建模<sup>[57-58]</sup>。

最近几年开发的一些细胞壁成分自动化分析系统,可采用不用预处理模式,实现对大规模样品的分析。这些分析系统具有快速、重复性好、精密度高、结果可比性强等明显优点,可用于生物能源研究和其他工业生产<sup>[59-60]</sup>。美国能源部大湖能源研究中心(DOE-GLBRC)开发的高通量木质纤维降解转化分析平台用于筛选降解效率提高的种质资源<sup>[60]</sup>。该平台可在 16 h 内研磨和称取 1~5 mg 的样品 250 份,并在后续的 36 h 内自动化完成预处理、酶解和产糖分析,非常适合于优异种质资源或突变体的大规模筛选。另外,他们开发了核心取样系统(CSD),单人操作便可在 8 h 内完成 1 000 份以上样品的取样,取样均匀一致,无交叉污染,样品采集后可马上放入冰浴、干冰和液氮中保存<sup>[61]</sup>。该平台已接受来自全美细胞壁研究相关单位的样品(与美国能源部植物实验室 DJ Walton 教授的交流)。本课题组利用 GLBRC 高通量测定平台测定了水稻重组自交系中细胞壁半纤维素单糖组成、木质素含量和单体组成以及酶解转化效率,并定位 QTL,探讨在能源植物改良中的应用。这些技术平台的开发无疑将大大加快细胞壁相关性状的遗传学研究进程。

## 3 细胞壁合成调控网络研究中的基因共表达分析

细胞壁的合成和代谢涉及大量基因,是一个精细的时空调控网络。科学家预测植物中有超过 10% 的基因直接参与细胞壁的代谢过程<sup>[62]</sup>。随着生物信息学以及大数据的发展,采用反向遗传学策略,通过生物信息学等手段筛选和预测相关基因,进行基因克隆和功能验证是目前细胞壁研究领域的主流。

### 3.1 表达谱与植物细胞壁研究

表达谱数据库提供基因对不同环境和处理的响应信息和在不同组织的时空表达情况。基因改变或者外界环境刺激,会引起相关代谢途径基因的协同改变。Gou等<sup>[63]</sup>研究了棉花纤维伸长过程中的基因表达谱和代谢变化。Guillaumie等<sup>[64]</sup>研究了在烟草中超量表达 *WRKY12* 对木质素途径基因和木质部的发育影响。另外,表达模式相近的基因往往具有功能关联性,通过基因功能富集分析,可有效推断新基因功能<sup>[65-66]</sup>。此外,结合基因组的非编码序列分析可找出共表达基因共有的顺式作用元件,进而构建调控网络<sup>[67-68]</sup>。拟南芥中,从2005年起全基因组共表达分析开始被用来预测细胞壁基因网络<sup>[69-70]</sup>。Persson等<sup>[69]</sup>利用编码次生细胞壁纤维素合酶3个亚基的相关基因(*AtCesA4*、*AtCesA7*、*AtCesA8*)为诱饵,鉴定了与之表达趋势一致的基因。共表达基因包括 $\beta$ -1,4内切葡聚糖酶基因、木质素合成相关基因(如 *PAL*、*COBRA-Like* 基因)以及与木聚糖等细胞壁等多聚物的合成糖基转移酶基因家族成员<sup>[71]</sup>。最近,Gu等<sup>[72]</sup>在拟南芥中利用共表达分析结合酵母双杂交成功筛选并验证了初生细胞壁的纤维素复合体相关基因 *CSII*,证明该方法对于发现次生细胞壁调控网络相关基因和蛋白质复合体组成基因都具有重要作用。

### 3.2 共表达分析在水稻细胞壁调控网络研究中的应用

在水稻中,大量积累的基因组数据为细胞壁合成调控网络研究提供了基础。水稻中目前有很多全基因组表达数据库可以利用,如 CREP 水稻全生育期基因表达芯片数据库涵盖了水稻整个生长发育的33个组织器官的表达信息<sup>[73]</sup>。Wang等<sup>[74]</sup>利用该数据库,首次在水稻细胞壁研究中进行基因共表达分析尝试。通过对水稻纤维素合酶超基因家族(*OsCesA/CsL*)和 *Cobra* 基因家族的表达模式分析,发现这些基因家族存在广泛的和功能相适应的共表达模块。如水稻初生细胞壁纤维素合酶的3个亚基基因(*OsCesA1*、*OsCesA3*、*OsCesA8*)密切共表达,次生细胞壁纤维素合酶的3个亚基基因(*OsCesA4*、*OsCesA7*、*OsCesA9*)密切共表达。随后,Xie等<sup>[75]</sup>也利用 CREP 数据库结合突变体分析对水稻纤维素酶相关基因开展了研究,发现纤维素酶相关基因中 *GH9A3* 和 *GHB5* 与初生细胞壁纤维素合酶

基因(*OsCesA1*、*OsCesA3*、*OsCesA8*)共表达,预测参与细胞壁纤维素合成,而 *GH9B*、*GH9B1*、*GH9B16* 可能与纤维素的结晶度有关。Guo等<sup>[76]</sup>发展了一种加权基因共表达网络分析方法,结合 CREP 数据库进行系统的全基因组共表达分析,推测了与初生细胞壁、次生细胞壁合成和建构,半纤维素修饰和降解以及与木质素 G 单体合成相关基因模块,并分析了模块间和模块内各基因相互关系,注释了基因的功能和代谢途径,初步建立了与水稻细胞壁合成调控相关的基因共表达网络。另外,中国科学院周奕华研究员课题组也通过对发育茎秆的转录组测序,正在筛选和验证次生壁合成调控的关键转录因子。通过基因的共表达分析,大规模的关键基因功能验证,有望最终揭示次生细胞壁合成调控机理。

## 4 展望

细胞壁的合成调控机理复杂,涉及基因众多。细胞壁各成分含量、沉积方向、结晶度、聚合度的改变均能够影响细胞壁的理化特性。此外,植物为适应生长发育需要和多变的环境,细胞壁结构组成也动态可变,这就需要灵活多样的调控途径。以水稻为代表的禾本科植物细胞壁合成调控分子机制研究起步较晚,但已取得了长足进步,并表现以下的趋势。

茎秆突变体的发现为细胞壁研究作出了历史性贡献,至今仍在发挥作用。另外,新的研究手段也在不断丰富细胞壁研究的内容。在拟南芥中,2005年后开始采用综合研究策略研究细胞壁相关基因特别是对转录因子的研究。通过表达分析(如激光微切割技术分离不同细胞壁处于不同发育阶段的样品)结合定量 PCR 和 GUS 染色,转录因子文库和酵母单双杂交以及遗传互补等手段,初步揭示了 NAC、MYB、WRKY 等转录因子参与拟南芥次生细胞壁合成的调控网络<sup>[77]</sup>。2015年,Taylor-Teeple等<sup>[78]</sup>系统阐述了从最关键的调控因子 E2Fc 出发,通过调控 VND6、VND7 等一系列转录因子,最终调控次生细胞壁基因表达的网络通路。目前,在禾本科模式植物水稻中 DNA 序列及基因组注释、基因芯片表达谱、蛋白质互作、转录因子、2D 蛋白质数据、质谱、代谢网络等新类型数据库纷纷建立并偶联。显然,禾本科植物可以借鉴拟南芥的研究成果和策略。以生物信息学为出发点,综合应用各种手段研

究细胞壁合成调控网络已经成为研究重点。

细胞壁高通量分析平台的建立克服了细胞壁性状数量遗传学研究的技术瓶颈,为大规模细胞壁性状测定和 QTL 定位带来了极大的便利。细胞壁 QTL 定位和数量遗传学的研究进展,将为分子标记辅助选择改良作物秸秆性状建立基础,但是精细定位克隆相关 QTL 尚待时日。

如果说化学分析技术平台的建立大大拓展了细胞壁研究的广度,那么核磁共振波谱技术(Nuclear magnetic resonance spectroscopy, NMR)、原子力显微镜(Atomic force microscope, AFM)等技术的应用,将细胞壁结构的研究推进到分子和纳米水平。如利用 X-射线衍射技术,可以推测纤维素链结合模型,并区别疏水和亲水表面<sup>[79]</sup>。核磁共振波谱技术具有非破坏性、信息量大、可获得细胞壁天然结构信息的优点,已被广泛用于纤维素晶体结构、多糖结构与修饰及木质素结构分析。糖组学技术利用细胞壁多糖单克隆抗体和免疫组化技术,可对各种类型细胞进行细胞壁组成原位分析。而糖抗体与酶联免疫吸附测定技术(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)结合发展出了新的类似芯片分析的技术,可快速、高通量获得细胞壁结构成分信息<sup>[80]</sup>。原子力显微镜达到纳米级的分辨率,可观察细胞壁自然形貌,可对纤维素晶体大小以及与半纤维素的相互作用进行观察和计算<sup>[81]</sup>。

近年来,已有一些相关的研究者报道了环境因子和激素对细胞壁合成调控的影响。水稻 MYB103 转录因子可调控细胞壁合成代谢<sup>[27-28]</sup>。细胞膜上的受体类激酶(RLK)既可作为一些信号分子的重要受体,又可将信号跨膜转移传递到细胞内,成为细胞壁信号通路的重要元件。最近,外界环境因子和激素(如赤霉素和油菜素内脂)参与细胞壁合成调控的报道逐年增多<sup>[28, 82-85]</sup>。如与赤霉素(GA)相关的 DELLA 蛋白可与正调控水稻纤维素合酶基因的转录因子 NAC29/31 互作,促进其降解从而抑制纤维素合酶基因的表达<sup>[84]</sup>。可以预期,与激素信号和外界环境刺激相关的植物细胞壁合成信号通路和基因网络将成为研究的热点。

#### 参考文献:

[1] 杨惠杰,杨仁崔,李义珍,等.水稻茎秆性状与抗倒性的关系[J].福建农业学报,2000,15(2):1-7.

- [2] 王健,朱锦懋,林青青,等.小麦茎秆结构和细胞壁化学成分对抗压强度的影响[J].科学通报,2006,5(1):1-7.
- [3] 刘畅,李来庚.水稻抗倒伏性状的分子机理研究进展[J].中国水稻科学,2016,30(2):216-222.
- [4] 彭良才.论中国生物能源发展的根本出路[J].华中农业大学学报(社科版),2011,92(2):1-6.
- [5] 王艳婷,徐正丹,彭良才.植物细胞壁沟槽结构与生物质利用研究展望[J].中国科学(生命科学),2014,44(8):766-774.
- [6] 黄成,李来庚.植物细胞壁研究与生物质改造利用[J].科学通报,2016,61(34):3623-3629.
- [7] WANG Y T, FAN C F, HU H Z, et al. Genetic modification of plant cell walls to enhance biomass yield and biofuel production in bioenergy crops[J]. Biotechnology Advances, 2016, 34(5): 997-1017.
- [8] KENNEDY D, NORMAN C. What don't we know? [J]. Science, 2005, 309: 75.
- [9] NAGAO S, TAKAHASHI M. Trial construction of twelve linkage groups in Japanese rice: (genetical studies on rice plant) [J]. Journal of the Faculty of Agriculture Hokkaido Imperial University, 1963, 53: 72-130.
- [10] KINOSHITA T. Report of committee on gene symbolization, nomenclature and linkage groups [J]. Rice Genetics Newsletter, 1995, 12: 9-153.
- [11] LI Y, QIAN Q, ZHOU Y, et al. BRITTLE CULM1, which encodes a COBRA-like protein, affects the mechanical properties of rice plants [J]. Plant Cell, 2003, 15: 2020-2031.
- [12] TANAKA K, MURATA K, YAMAZAKI M, et al. Three distinct rice cellulose synthase catalytic subunit genes required for cellulose synthesis in the secondary wall [J]. Plant Physiology, 2003, 133: 73-83.
- [13] YAN C J, YAN S, ZENG X H, et al. Fine mapping and isolation of *Bc7(t)*, allelic to *OsCesA4* [J]. Journal of Genetics and Genomics, 2007, 34: 1019-1027.
- [14] HIRANO K, KOTAKE T, KAMIHARA K, et al. Rice BRITTLE CULM 3 (BC3) encodes a classical dynamin OsDRP2B essential for proper secondary cell wall synthesis [J]. Planta, 2010, 232: 95-108.
- [15] XIONG G Y, LI R, QIAN Q, et al. The rice dynamin-related protein DRP2B mediates membrane trafficking and thereby plays a critical role in secondary cell wall cellulose biosynthesis [J]. Plant Journal, 2010, 64: 56-70.
- [16] ZHOU Y H, LI S B, QIAN Q, et al. BC10, a DUF266-containing and golgi-located type II membrane protein, is required for cell-wall biosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Plant Journal, 2009, 57: 446-462.
- [17] ZHANG B, DENG L, QIAN Q, et al. A missense mutation in the transmembrane domain of *CESA4* affects protein abundance in the plasma membrane and results in abnormal cell wall biosynthesis in rice [J]. Plant Molecular Biology, 2009, 71: 509-524.
- [18] ZHANG M, ZHANG B, QIAN Q, et al. Brittle *Culm 12*, a dual-

- targeting kinesin-4 protein ,controls cell-cycle progression and wall properties in rice[J].Plant Journal ,2010 ,63: 312-328.
- [19] LI X J , YANG Y , YAO J L , et al. *FLEXIBLE CULM 1* encoding a cinnamyl-alcohol dehydrogenase controls culm mechanical strength in rice[J].Plant Molecular Biology ,2009 ,69: 685-697.
- [20] ZHANG B C , LIU X L , QIAN Q , et al. Golgi nucleotide sugar transporter modulates cell wall biosynthesis and plant growth in rice [J].Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America ,2011 ,108: 5110-5115.
- [21] ZHANG S J , SONG X Q , YU B S , et al. Identification of quantitative trait loci affecting hemicellulose characteristics based on cell wall composition in a wild and cultivated rice species[J].Molecular Plant ,2011 ,5( 1) : 162-175.
- [22] SONG X Q , LIU L F , JIANG Y J , et al. Disruption of secondary wall cellulose biosynthesis alters cadmium translocation and tolerance in rice plants[J].Molecular Plant ,2013 ,6: 768-780.
- [23] WU B , ZHANG B , DAI Y , et al. *Brittle Culm15* encodes a membrane-associated chitinase-like protein required for cellulose biosynthesis in rice[J].Plant Physiology ,2012 ,159: 1440-1452.
- [24] LIU L , SHANG-GUAN K , ZHANG B C , et al. *Brittle Culm1* , a COBRA-like protein ,functions in cellulose assembly through binding cellulose microfibrils[J].Plos Genetics ,2013 ,9: e1003704.
- [25] GAO Y , HE C , ZHANG D , et al. Two trichome birefringence-like proteins mediate xylan acetylation ,which is essential for leaf blight resistance in rice[J].Plant Physiology ,2017 ,173: 470-481.
- [26] ZHANG B , ZHANG L , LI F , et al. Control of secondary cell wall patterning involves xylan deacetylation by a GDSL esterase[J].Nature Plants ,2017 ,3: 17017.
- [27] YANG C H , LI D Y , LIU X , et al. *OsMYB103L* , an *R2R3-MYB* transcription factor ,influences leaf rolling and mechanical strength in rice ( *Oryza sativa* L.) [J].BMC Plant Biology ,2014 ,14: 158.
- [28] YE Y , LIU B , ZHAO M , et al. *CEF1/OsMYB103L* is involved in GA-mediated regulation of secondary wall biosynthesis in rice [J]. Plant Molecular Biology ,2015 ,89: 385-401.
- [29] 张保才 ,周奕华. 植物细胞壁形成机制的新进展[J].中国科学 ,2015 ,45( 6) : 544-556.
- [30] ZHANG M L , WEI F , GUO K , et al. A novel *FCI16/BC10* mutation distinctively causes alteration in the expression of the genes for cell wall polymer synthesis in rice [J].Frontiers in Plant Science 2016 ,7( 83) : 1366.
- [31] LI F C , XIE G S , HUANG J F , et al. *OsCESA9* conserved-site mutation leads to largely enhanced plant lodging resistance and biomass enzymatic saccharification by reducing cellulose DP and crystallinity in rice [J]. Plant Biotechnology Journal ,2017 ,15( 9) : 1093-1104.
- [32] CARDINAL A J , LEE M , MOORE K J. Genetic mapping and analysis of quantitative trait loci affecting fiber and lignin content in maize [J].Theoretical and Applied Genetics ,2003 ,106: 866-874.
- [33] KRAKOWSKY M D , LEE M , COORS J G. Quantitative trait loci for cell-wall components in recombinant inbred lines of maize ( *Zea mays* L.) I: stalk tissue [J].Theoretical and Applied Genetics ,2005 ,111: 337-346.
- [34] KRAKOWSKY M D , LEE M , COORS J G. Quantitative trait loci for cell wall components in recombinant inbred lines of maize ( *Zea mays* L.) II: leaf sheath tissue [J].Theoretical and Applied Genetics ,2006 ,112: 717-726.
- [35] BARRIERE Y , THOMAS J , DENOUE D. QTL mapping for lignin content , lignin monomeric composition , p-hydroxycinnamate content , and cell wall digestibility in the maize recombinant inbred line progeny F838×F286 [J].Plant Science ,2008 ,175: 585-595.
- [36] BARRIERE Y , MECHIN V , DENOUE D , et al. QTL for yield , earliness and cell wall digestibility traits in topcross experiments of F838×F286 RIL progeny [J].Crop Science ,2010 ,50: 1761-1772.
- [37] BARRIERE Y , MECHIN V , LEFEVRE B , et al. QTLs for agronomic and cell wall traits in a maize RIL progeny derived from a cross between an old Minnesota13 line and a modern inbred line [J].Theoretical and Applied Genetics ,2012 ,125: 531-549.
- [38] 胡标林 ,孔祥礼 ,包劲松 等. 植物细胞壁性状的基因定位与克隆研究进展[J].江西农业学报 ,2006 ,18( 2) : 17-21.
- [39] RANJAN P , YUN T , ZHANG X , et al. Bioinformatics-based identification of candidate genes from QTLs associated with cell wall traits in Populus [J].Bioenergy Research ,2010 ,3: 172-182.
- [40] VERMA V , WORLAND A J , SAVERS E J , et al. Identification and characterization of quantitative trait loci related to lodging resistance and associated traits in bread wheat [J].Plant Breeding ,2005 ,124: 234-241.
- [41] 张坤普 ,赵亮 ,海燕 等. 小麦白粉病成株抗性和抗倒伏性及穗下节长度的 QTL 定位 [J].作物学报 ,2008 ,34( 8) : 1350-1357.
- [42] BURTON R A , WILSON S M , HRMOVA M , et al. Cellulose synthase-like *CsIF* genes mediate the synthesis of cell wall ( 1 , 3; 1 , 4)  $\beta$ -D-glucans [J].Science ,2006 ,311: 1940-1942.
- [43] OKAWA T , HOBOT T , YANO M , et al. New approach for rice improvement using a pleiotropic QTL gene for lodging resistance and yield [J].Nature Communications ,2010 ,1: 132-148.
- [44] BARRIERE Y , LAPERCHE A , BARROT L , et al. QTL analysis of lignification and cell wall digestibility in the Bay-0 X Shahdara RIL progeny of *Arabidopsis thaliana* as a model system for forage plant [J].Plant Science ,2005 ,168: 1235-1245.
- [45] MOUILLE G , WITUCKA-WALL H , BRUYANT M P , et al. Quantitative trait loci analysis of primary cell wall composition in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology ,2006 ,141: 1035-1044.
- [46] LORENZANA R E , LEWIS M F , JUNG H J G , et al. Quantitative trait loci and trait correlations for maize stover cell wall composition and glucose release for cellulosic ethanol [J].Crop Science ,2010 ,50: 541-555.
- [47] PENNING B W , SYKES R W , BABCOCK N C , et al. Genetic determinants for enzymatic digestion of lignocellulosic biomass are

- independent of those for lignin abundance in a maize recombinant-inbred population [J]. *Plant Physiology*, 2014, 165: 1475–1487.
- [48] MARCOTULI I, HOUSTON K, WAUGH R, et al. Genome wide association mapping for arabinoxylan content in a collection of tetraploid wheats [J]. *Plos One*, 2015, 10(7): e0132787.
- [49] HASSAN A S, HOUSTON K, LAHNSTEIN J, et al. A Genome wide association study of arabinoxylan content in 2-row spring barley grain [J]. *Plos One*, 2017, 12(8): e0182537.
- [50] WILLIAMS P C, NORRIS K H. Near-infrared technology in the agricultural and food industries [M]. St Paul, MN: American Association of Cereal Chemists Inc, 1987.
- [51] JIN S Y, CHEN H Z. Near-infrared analysis of the chemical composition of rice straw [J]. *Industrial Crops and Products*, 2007, 26: 207–211.
- [52] SOHN M, HIMMELSBACH D S, BARTON F E, et al. Near-infrared analysis of ground barley for use as a feedstock for fuel ethanol production [J]. *Applied Spectroscopy*, 2007, 61: 1178–1183.
- [53] POHL F, SENN T. A rapid and sensitive method for the evaluation of cereal grains in bioethanol production using near infrared reflectance spectroscopy [J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102: 2834–2841.
- [54] DIGMAN M F, SHINNERS K J, CASLER M D, et al. Optimizing on-farm pretreatment of perennial grasses for fuel ethanol production [J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101: 5305–5314.
- [55] BRUUN S, JENSEN J W, MAGIDA J, et al. Prediction of the degradability and ash content of wheat straw from different cultivars using near infrared spectroscopy [J]. *Industrial Crops and Products*, 2010, 31: 321–326.
- [56] TEMPLETON D W, SLUITER A D, HAYWARD T K, et al. Assessing corn stover composition and sources of variability via NIRS [J]. *Cellulose*, 2009, 16: 621–639.
- [57] HUANG J F, XIA T, LI A, et al. A rapid and consistent near infrared spectroscopic assay for biomass enzymatic digestibility upon various physical and chemical pretreatments in *Miscanthus* [J]. *Bioresource Technology*, 2012, 121: 274–281.
- [58] WU L M, LI M, HUANG J F, et al. A near infrared spectroscopic assay for stalk soluble sugars, bagasse enzymatic saccharification and wall polymers in sweet sorghum [J]. *Bioresource Technology*, 2015, 177: 118–124.
- [59] DECKER S R, BRUNECKY R, TUCKER M P, et al. High-throughput screening techniques for biomass conversion [J]. *Bioenergy Research*, 2009, 2: 179–192.
- [60] SANTORO N, CANTU S L, TORNOVIST C E, et al. A high-throughput platform for screening milligram quantities of plant biomass for lignocellulose digestibility [J]. *Bioenergy Research*, 2010, 3: 93–102.
- [61] MUTTONI G, JOHNSON J M, SANTORO N, et al. A high-throughput core sampling device for the evaluation of maize stalk composition [J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2012, 5: 27.
- [62] TUSKAN G A, DIFAZIO S, JANSSON S, et al. The genome of black cottonwood, *Populus trichocarpa* (Torr & Gray) [J]. *Science*, 2006, 313: 1596–1604.
- [63] GOU J Y, WANG L J, CHEN S P, et al. Gene expression and metabolite profiles of cotton fiber during cell elongation and secondary cell wall synthesis [J]. *Cell Research*, 2007, 17: 422–434.
- [64] GUILLAUMIE S, MZID R, MÉCHIN V, et al. The grapevine transcription factor *WRKY2* influences the lignin pathway and xylem development in tobacco [J]. *Plant Molecular Biology*, 2010, 72: 215–234.
- [65] IHMELS J, BERGMANN S, BERMAN J, et al. Comparative gene expression analysis by differential clustering approach: application to the *Candida albicans* transcription program [J]. *Plos Genetics*, 2005, 1: 1–14.
- [66] AOKI K, OGATA Y, HIBATA D. Approaches for extracting practical information from gene coexpression networks in plant biology [J]. *Plant Cell Physiol*, 2007, 48: 381–390.
- [67] HARBISON S T, CARBONE M A, AYROLES J F, et al. Co-regulated transcriptional networks contribute to natural genetic variation in *Drosophila* sleep [J]. *Nature Genetics*, 2009, 41: 371–375.
- [68] NAYAK R R, KEARNS M, SPIELMAN R S, et al. Coexpression network based on natural variation in human gene expression reveals gene interactions and functions [J]. *Genome Research*, 2009, 19: 1953–1962.
- [69] PERSSON S, WEI H, MILNE J, et al. Identification of genes required for cellulose synthesis by regression analysis of public microarray data sets [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102: 8633–8638.
- [70] RUPRECHT C, PERSSON S. Co-expression of cell wall-related genes: new tools and insights [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2012, 3(3): 83.
- [71] BROWN D M, ZEEF L A, ELLIS J, et al. Identification of novel genes in *Arabidopsis* involved in secondary cell wall formation using expression profiling and reverse genetics [J]. *Plant Cell*, 2005, 17: 2281–2295.
- [72] GU Y, KAPLINSKY N, BRINGMANN M, et al. Identification of a cellulose synthase-associated protein required for cellulose biosynthesis [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107: 12866–12871.
- [73] WANG L, XIE W, CHEN Y, et al. A dynamic gene expression atlas covering the entire life cycle of rice [J]. *Plant Journal*, 2010, 61: 752–766.
- [74] WANG L Q, GUO K, LI Y, et al. Expression profiling and integrative analysis of the *CESA/CSL* superfamily in rice [J]. *BMC Plant Biology*, 2010, 10: 282–298.
- [75] XIE G, YANG B, XU Z, et al. Global identification of multiple *OsGH9* family members and their involvement in cellulose crystallinity modification in rice [J]. *Plos One*, 2013, 8(1): e015171.
- [76] GUO K, ZOU W H, FENG Y Q, et al. An integrated genomic and metabolomic framework for cell wall biology in rice [J]. *BMC Ge-*



- nomics ,2014 ,15: 596.
- [77] ZHONG R ,LEE C H ,ZHOU J L , et al. A battery of transcription factors involved in the regulation of secondary cell wall biosynthesis in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell* ,2008 ,20: 2763-2782.
- [78] TAYLOR-TEEPLS M ,LIN L ,LUCAS M D , et al. An *Arabidopsis* gene regulatory network for secondary cell wall synthesis [J]. *Nature* ,2015 ,517: 571-575.
- [79] FERNANDES A N ,THOMAS L H ,ALTANER C M , et al. Nanostructure of cellulose microfibrils in spruce wood [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* ,2011 ,108: 1195-1203.
- [80] PATTATHIL S ,AVCI U ,BALDWIN D , et al. A comprehensive toolkit of plant cell wall glycan-directed monoclonal antibodies [J]. *Plant Physiol* ,2010 ,153: 514-525.
- [81] DING S Y ,LIU Y S ,ZENG Y , et al. How does plant cell wall nanoscale architecture correlate with enzymatic digestibility? [J]. *Science* ,2012 ,338: 1055-1060.
- [82] ZHONG R Q ,LEE C ,MCCARTHY R L , et al. Transcriptional activation of secondary wall biosynthesis by rice and maize *NAC* and *MYB* transcription factors [J]. *Plant Cell Physiology* ,2011 ,52: 1856-1871.
- [83] ENDLER A ,KESTEN C ,SCHNEIDER R , et al. A mechanism for sustained cellulose synthesis during salt stress [J]. *Cell* ,2015 ,162: 1353-1364.
- [84] HUANG D ,WANG S ,ZHANG B , et al. A gibberellin-mediated DELLA-NAC signaling cascade regulates cellulose synthesis in rice [J]. *Plant Cell* ,2015 ,27: 1681-1696.
- [85] 徐宗昌,王 萌,孔英珍. 油菜素内酯参与初生细胞壁代谢研究进展 [J]. *安徽农业科学* ,2016 ,44( 32) : 1-5 ,8.

(责任编辑:张震林)