



# 植物细胞壁沟槽结构与生物质利用研究展望

王艳婷, 徐正丹, 彭良才\*

华中农业大学植物科学技术学院, 作物遗传改良国家重点实验室, 生物质与生物能源研究中心, 武汉 430070

\* 联系人, E-mail: lpeng@mail.hzau.edu.cn; liangcaipeng@gmail.com

收稿日期: 2014-05-10; 接受日期: 2014-06-15

教育部国家外国专家局高等学校学科创新引智计划(批准号: B08032)、国家科技重大专项转基因生物新品种培育专项(批准号: 2009ZX08009-119B)和国家重点基础研究发展计划(批准号: 2010CB134401)资助

doi: 10.1360/052014-99

**摘要** 细胞壁是植物细胞的重要组成部分, 是生物质的主要成分, 不仅对植物形态学起中心调控作用, 还对植物机械强度、纤维品质和生物质综合利用起决定性作用. 本文将简要介绍植物细胞壁结构与功能研究进展, 重点分析细胞壁关键结构因子, 原创性提出植物细胞壁纳米级沟槽结构模型与生物质酶解分子机理, 并探讨遗传改良植物细胞壁结构的新方法与新途径, 旨在从本质上极大提高生物质综合利用效率, 改良棉花纤维品质和增强作物抗逆能力.

## 关键词

植物细胞壁  
沟槽结构  
生物质能  
能源作物  
棉花纤维品质  
作物抗逆

植物细胞壁主要由纤维素、半纤维素、木质素和果胶质组成, 是地球上最为丰富的可再生物质. 细胞壁决定植物细胞大小与形状, 参与细胞内外物质运输和信号转导, 并调控植物碳源分配和生理生化代谢过程. 植物细胞壁化学组成与结构特性, 不仅影响着植物机械强度和抗逆能力, 还决定了植物纤维品质和生物质综合利用(如造纸、纺织、食品、饲料、生物能源、化工产品等). 因此, 研究植物细胞壁的基本结构与功能, 有着重要科学意义和经济应用价值.

资源短缺、能源危机和环境变化已成为当今面临的严重经济和社会问题, 寻求可部分替代化石能源且污染较少的生物能源已成为许多国家未来经济发展的动力之一. 我国是世界第二大能源消耗国, 随着我国经济快速发展, 能源供需矛盾和环境问题将会日益严重. 为此我国已制定中长期发展规划: 2022年生物能源的年产量达 2.4 亿吨标准煤. 实现该目标,

生物质的数量与质量将成为生物能源发展的前提条件和基本要素<sup>[1]</sup>. 然而, 基于粮食安全, 发展以木质纤维素为原材料的第二代生物能源在我国有其必然性<sup>[2]</sup>. 目前, 在我国可以保证生物质原材料数量的途径主要有 2 种: (i) 利用农作物收获后废弃的秸秆和树木修剪所留的薪材<sup>[3]</sup>; (ii) 利用 1 亿多公顷边角闲置地种植能源植物<sup>[4]</sup>.

植物细胞壁是生物质的主要成分, 生物质的质量主要反映在细胞壁三大成分的结构特征和相互间连结特性, 它从源头决定着木质纤维素降解转化为生物燃料(如生物乙醇)的瓶颈问题, 即成本高和转化效率低的问题<sup>[5]</sup>. 木质纤维乙醇的生物化学转化过程主要包括 3 大步骤: (i) 物理化学预处理致细胞壁破裂; (ii) 外源纤维素酶解释放可溶性糖; (iii) 酵母糖发酵转化乙醇. 由于纤维素的晶体特性和木质素、半纤维素的固定连结作用, 作物秸秆预处理通常需采

引用格式: 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. 中国科学: 生命科学, 2014, 44: 766-774

Wang Y T, Xu Z D, Peng L. Research progress in the groove structures of plant cell walls and biomass utilizations. SCIENTIA SINICA Vitae, 2014, 44: 766-774, doi: 10.1360/052014-99

用强酸强碱和高温高压等物理化学方法, 不仅成本高, 还易造成环境再污染, 导致生物燃料难于大规模产业化生产<sup>[6]</sup>. 因此, 选育“能源作物”和“能源植物”可以从源头解决生物原料质和量的问题, 并可提高秸秆生物质的综合利用价值. 所谓能源作物, 是在保证农作物高产稳产的前提下, 通过现代生物技术, 系统改良作物细胞壁结构与组成, 使其秸秆能够有效降解并高效转化为生物燃料的作物. 能源植物是在贫瘠的土地、荒山野岭、污染严重而不能种植粮油作物的地方, 种植的环境适应能力强、生物质产量丰富的植物, 如甜高粱(*Sorghum bicolor*)、芒草(*Miscanthus*)、速生树木等<sup>[2]</sup>.

然而, 基于植物细胞壁结构的复杂性和生物功能的多样化, 遗传改良细胞壁结构组成, 不仅会影响作物正常生长发育(农艺性状、抗逆性等)和粮食产量, 还会影响生物质产量. 因此, 必须首先探明植物细胞壁基本结构, 揭示影响生物质降解转化的细胞壁关键结构因子, 并鉴定出相关重要基因. 本文将简要介绍近期植物细胞壁结构功能研究进展, 结合本实验室的研究证据, 重点解析细胞壁基本结构和关键结构因子, 为优质能源作物选育提供关键基因, 为生物质降解转化提供有效方法, 为遗传改良植物纤维品质和提高作物抗逆能力提供理论依据.

### 1 植物细胞壁结构组成

植物细胞壁是包裹在植物细胞原生质体外围动态有序的高纤维复合物. 根据其形成时期及空间分布, 由内而外可依次分为次生壁、初生壁和胞间层 3 个部分(图 1). 尽管 3 部分的组分存在差异, 但主要包括纤维素、半纤维素、果胶质等多糖类物质以及木质素等酚类物质和糖蛋白. 植物细胞壁是一个复杂的动态系统, 其组成结构在不同物种间, 甚至在同一物种的不同时期皆存在很大差异(表 1). 此外, 细胞壁的生物功能呈多样化, 不仅为植物机体提供机械支撑和物理屏障, 其组成结构会随着环境的改变而发生变化, 有利于提高植物的抗病虫和抗非生物胁迫能力<sup>[7-10]</sup>.

纤维素(cellulose)是由 $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-D-葡聚糖链聚合形成的亚晶体聚合物, 葡聚糖链片段通过氢键和范德华力相互交联聚合成微纤丝<sup>[11]</sup>, 根据其结构组成的有序性, 微纤丝聚合而成的部分为晶体纤维素, 而

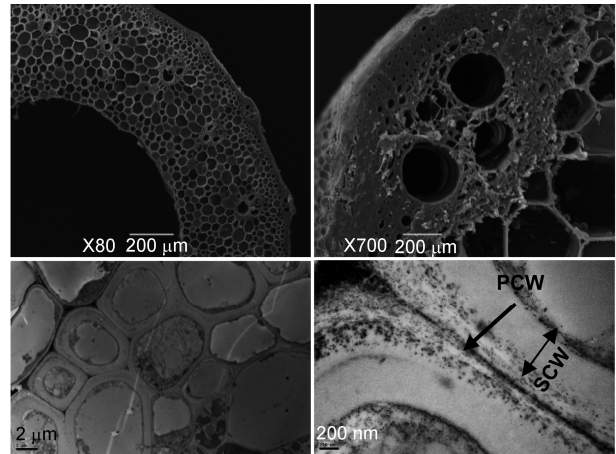


图 1 水稻茎秆组织切片

PCW: 初生壁; SCW: 次生壁. 李丰成提供

表 1 7 种主要农作物细胞壁组成

种类	细胞壁成分(%)		
	纤维素	半纤维素	木质素
水稻秆	44.03	27.02	28.94
小麦秆	37.47	36.33	26.21
玉米秆	40.15	36.29	23.56
甜高粱秆	39.18	37.08	23.75
油菜秆	35.12	33.38	31.50
苕麻秆	53.20	16.96	29.84
棉秆	52.40	13.98	33.62
棉花纤维	98.77	1.23	未检测到

无序的部分为非晶体纤维素<sup>[12]</sup>. 纤维素是植物细胞壁中提供机械支撑作用的主要结构因子, 其性状特征主要包括聚合度(degree of polymerization)、结晶度(crystallinity)和排列角度(angle)等.

半纤维素(hemicellulose)是存在于植物细胞壁中的各种多糖的聚合体, 主要包括木葡聚糖(xyloglucan)、木聚糖(xylan)、甘露聚糖(mannan)、葡甘露聚糖(glucomannan)以及 $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3,1 $\rightarrow$ 4)葡聚糖(glucan)等多糖. 半纤维素通过与纤维素、木质素以及果胶质相互交联, 可维持细胞壁结构的稳定性和可塑性, 强化植物对环境变化的适应能力<sup>[13]</sup>.

木质素(lignin)是由 4-羟基苯丙烷通过氧化反应形成的芳香族聚合物, 主要由 3 种结构不同的木质素单体以共价键的形式相互连接而成<sup>[14]</sup>, 3 种单体分别为紫丁香基丙烷(syringyl, S)、愈创木基丙烷(guaiacyl, G)和  $p$ -羟基苯( $p$ -hydroxyphenyl, H), 其含量与比例很大程度上决定了木质素的特征与特性. 本实验室初

步研究表明, 木质素主要与半纤维紧密交联而增强植物的机械支撑力和抗逆能力(结果未发表)。

果胶质(pectin)是植物细胞壁中结构非常复杂的多糖复合体, 含有 D-半乳糖醛酸链 $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)糖苷聚合成的糖链<sup>[15]</sup>。果胶质主要存在于初生细胞壁及植物特殊组织和器官中, 对植物细胞的生长与发育起调控作用。

植物细胞壁结构是一个极其复杂的动态网络系统。尽管全球科学家提出了各种不同的细胞壁结构模型, 但至今无法完全证明。其主要原因可归纳为 3 点: (i) 植物细胞的多样性; (ii) 细胞壁复合体连接形式的复杂性; (iii) 研究手段与方法的局限性。因此, 只有探明植物细胞壁所共有的基本结构, 才有可能发现遗传改良植物细胞壁结构的最佳方法与途径。

## 2 植物细胞壁生物合成

过去几十年, 植物细胞壁生物合成代谢的研究进展较为缓慢, 而研究的重大突破来自于棉花(*Gossypium*)纤维次生细胞壁纤维素合酶基因(*cellulose synthase, CesA*)的发现和 *CesA* 功能的验证。1996 年, Delmer 博士与孟山都公司在棉花纤维细胞中发现了 *CesA* 基因, 随后, Williamsons 博士与同事在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中验证了 *CesA* 的功能<sup>[16,17]</sup>。2000 年, Peng 等人<sup>[18]</sup>进一步发现了固醇糖甙是棉花纤维素合成的前驱物, 并初步提出了植物纤维素生物合成的 3 个基本步骤。

进入 21 世纪, 随着生物能源研发的大力推动, 全球科学家全方位开展了植物细胞壁生物学基础研究, 已相继在拟南芥、水稻(*Oryza sativa*)、玉米(*Zea mays*)、杨树(*Populus*)等植物中鉴定出纤维素合酶基因(*CesA*)超大家族<sup>[16,19]</sup>, 以及合酶相似基因(*cellulose synthase-like, Csl*) 6 大家族<sup>[20]</sup>, 并分析了部分基因家族作用于半纤维素的生物合成。通过生物信息学和功能基因组学研究, 初步鉴定出与细胞壁生物合成相关的糖苷转移酶(*glycosyltransferases, GT*)超大家族, 其中 GT43, GT47 和 GT61 等主要作用于半纤维素的生物合成<sup>[21-24]</sup>。利用功能代谢组学和生物化学活性分析, 初步鉴定出木质素 3 个单体合成代谢途径中的关键酶, 如 PAL(*phenylalanine ammonia-lyase*), C3H(*4-coumarate 3-hydroxylase*), C4H (*cinnamate 4-hydroxylase*), 4CL(*4-coumarate-CoA ligase*),

CCoAOMT(*caffeoyl-CoA O-methyltransferase*)等<sup>[25-28]</sup>。通过筛选细胞壁突变体等途径, 鉴定出调控细胞壁合成代谢的转录因子(MYB(*myeloblastosis*), NAC (NAM, ATAF1/2, CUC2)等)<sup>[29-31]</sup>、细胞壁降解酶(KOR (*korrigan*), GH9(*glycoside hydrolyase family 9*), GH10(*glycoside hydrolyase family 10*)等)<sup>[32]</sup>和其他相关因子(COB(*cobra*), KOB(*kobito*), IRX(*irregular xylem*)等)<sup>[33,34]</sup>。利用转基因等手段, 初步发现碳水化合物初生代谢中蔗糖合酶(*sucrose synthase, SuSy*)是调节碳源分配的重要因子<sup>[35,36]</sup>。

迄今为止, 已发现上千个基因参与植物细胞壁合成代谢<sup>[37]</sup>, 因此, 从技术层面上很难鉴定出遗传改良植物细胞壁的关键或重要优良基因。故必须从植物细胞壁基本结构中, 探寻影响生物质降解转化效率的细胞壁关键结构因子和重要参数, 从而鉴定出相关优良基因。

## 3 细胞壁关键结构因子与生物质高效降解

基于生物质的能量密度极低, 必须尽可能利用各种植物原材料来满足生物质的数量要求<sup>[38,39]</sup>。此外, 只有从植物细胞壁所共有的基本结构中, 才有可能寻找到提高所有植物生物质质量的细胞壁关键结构因子。为了探寻影响生物质降解转化效率的关键结构因子和重要参数, 国内外对各种方法进行了尝试<sup>[40]</sup>, 但进展缓慢。其主要原因: (i) 植物细胞的全能性决定了不同生长发育时期各器官组织的细胞多样化, 即细胞壁结构与组成不可能完全相同; (ii) 重要细胞壁基因的致死性和冗余性导致难于发现基因 $\rightarrow$ 细胞壁结构 $\rightarrow$ 生物质降解之间的直接联系; (iii) 利用转基因材料和突变体, 其植物细胞壁结构与组成发生了系统性变化, 不仅影响植物的正常生长与发育, 且种子和秸秆生物质产量均大幅度改变。因此通过大群体遗传材料进行归纳分析和模拟, 才有可能找到所需答案。

自 2007 年以来, 华中农业大学生物物质能团队与中国农业科学院合作, 筛选到水稻细胞壁突变体 46 份, 大部份纯合突变体与常规品种的生物性状无明显差异, 包括种子和生物质产量, 植株的抗倒伏能力和机械支撑强度, 抗病虫害和抗旱性等, 其中少数突变体的生物学性状还要优于常规品种<sup>[41]</sup>。化学测定发现, 突变体成熟秸秆细胞壁结构组成表现很

大变异性, 大部分突变体生物质酶解产糖效率大幅度提高. 同期还与湖南农业大学合作, 从所收集到的1400余份野生芒草种质资源中, 测定了200份代表性材料(包括各种遗传型、生态型、地理型等)细胞壁结构组成与生物质酶解产糖效率, 发现细胞壁与产糖效率变异幅度分别为1~4.5和2~9倍<sup>[42]</sup>. 此外, 还与中国科学院北京植物研究所等单位合作, 分析了大群体甜高粱、玉米突变体材料和小麦(*Triticum aestivum*)自然品系.

利用上述5种植物(水稻、小麦、芒草、玉米和甜高粱)大群体样品, 对其细胞壁结构组成和酶解产糖效率进行了关联分析<sup>[43-47]</sup>. 发现细胞壁三大组分显著影响木质纤维素的产糖效率, 但5种植物间明显存在差异(表2). 例如, 在芒草中, 半纤维素含量是正因子, 而纤维素和木质素含量是负因子; 在甜高粱和小麦中, 半纤维素对生物质降解没有显著影响; 在水稻中, 木质素含量是正因子. 然而, 进一步研究发现, 植物细胞壁结构因子对木质纤维素产糖效率起主导和决定性的作用. 例如, 通过比较细胞壁三大组分含量相同的小麦和水稻材料, 发现水稻的产糖效率比小麦提高了50%~90%, 且酶解后残留木质纤维素表面粗糙度差异明显(图2), 其原因是两种材料细胞壁结构因子存在显著差异<sup>[46]</sup>.

综合归纳5种植物细胞壁结构因子, 已发现纤维素结晶度(CrI)是影响所有材料生物质酶解产糖效率

的主效负因子, 半纤维素分枝度(即反向木糖与阿拉伯糖比例, Reverse Xyl/Ara)在所有材料中是主效正因子, 而木质素3个单体比例(S/G, S/H, H/G)在物种间呈明显多重性<sup>[43-45]</sup>. 关联分析还发现, 纤维素结晶度与半纤维素分枝度呈极显著正相关, 暗示半纤维素分支多糖通过氢键与纤维素相连, 从而降低纤维素结晶度. 进一步利用8种物理化学预处理方法, 发现不同预处理后生物质酶解产糖效率均呈极显著正相关, 验证了植物细胞壁从结构上决定了生物质酶解产糖效率, 并暗示纤维素结晶度与半纤维素分枝度共同决定着植物的基本结构<sup>[45]</sup>.

表2 5种代表性植物细胞壁组成变化对生物质产糖效率的影响<sup>a)</sup>

种类		细胞壁成分(%)			酶解产糖(%纤维素)	
		纤维素	半纤维素	木质素	1%NaOH	1%H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
水稻	H	14.56%	14.61%	16.25%	93.6%	84.2%
	L	20.61%	13.28%	12.70%	22.1%	38.8%
小麦	H	30.76%	29.66%	21.56%	54.5%	48.4%
	L	35.89%	32.30%	23.08%	31.4%	34.3%
玉米	H	24.94%	27.46%	16.52%	60.7%	50.4%
	L	29.12%	27.46%	20.25%	35.8%	30.3%
甜高粱	H	27.50%	29.89%	17.76%	81.0%	53.1%
	L	36.80%	33.36%	20.12%	55.0%	31.0%
芒草	H	26.98%	25.53%	27.11%	73.9%	45.0%
	L	32.96%	19.28%	29.95%	36.5%	12.7%

a) H: 降解效率高材料; L: 降解效率低材料

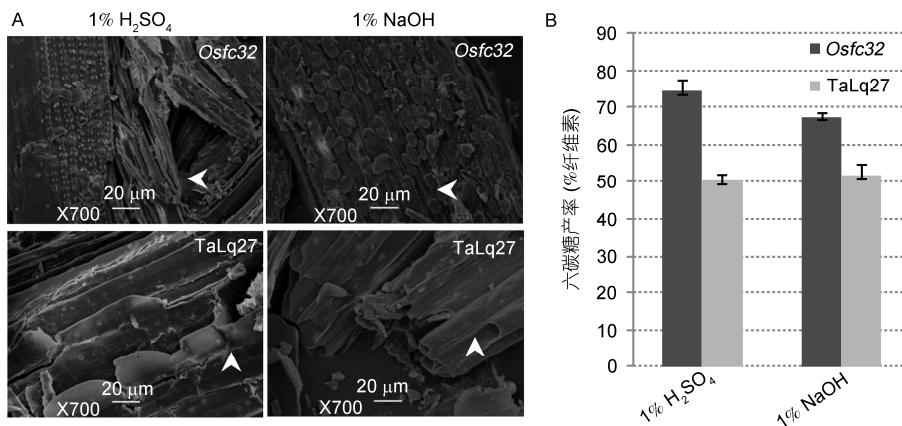


图2 作物秸秆生物质扫描电子显微镜观察和产糖效率测定

A: 酸碱预处理酶解后秸秆表面扫描电子显微镜观察水稻突变体(*Osf32*)和小麦品种(*TaLq27*); B: 酸碱预处理酶解后六碳糖产率<sup>[46]</sup>

#### 4 细胞壁沟槽结构与生物质酶解机理

华中农业大学生物能团队, 通过程序性分步提取碱溶性半纤维素和木质素<sup>[48]</sup>, 发现用3种水解纤维素的降解酶, 包括外切纤维素酶(exo-1,4- $\beta$ -glucanase I, CBH I)、内切纤维素酶(endo-1,4- $\beta$ -glucanase II, EG II)、葡萄糖苷酶(glucosidase, GB)分别单独处理不同生物质材料后, 所释放的半纤维素 Xyl/Ara 和木质素 S/G 比值极为相似, 初步验证植物细胞壁存在某种相似结构<sup>[49]</sup>. 利用原子力显微镜, 在上述5种草本植物中均观察到纳米级细胞壁沟槽结构(图3A). 通过定性测定, 发现5种植物沟槽的密度或间距呈明显不同, 初步分析, 沟槽结构中沟槽密度与深度负向决定纤维素结晶度, 并间接影响纤维素聚合度和排列角度. 关联分析还发现, 沟槽密度、深度与半纤维素分枝度呈正相关, 与木质素单体比例不相关. 由此提出了植物细胞壁沟槽结构模型和生物质酶解产糖分子机理(图3B). 此模型主要包括3个区域: 沟槽主区(I), 富含分枝度高的半纤维素; 沟槽间区(II), 富含结晶度高的木质纤维素; 沟槽外区(III), 富含常规半纤维素和木质素. 其中, 沟槽间区和外区半纤维素组成和木质素单体比例在不同物种中存在显著差异. 依据植物细胞壁沟槽结构模型, 外源纤维素酶主要是通过进入沟槽主区而开始酶解纤维素, 而各种物理化学预处理则主要是疏通沟槽外区, 增加细胞壁孔隙大小和数量<sup>[50]</sup>, 减少外源纤维素酶进入沟槽主区所遇阻抑. 此外, 强酸强碱或高温高压等剧烈预处理, 会除掉细胞壁沟槽结构区域, 导致纤维素结晶度大幅提高, 生物质酶解产糖效率急剧降低. 因此, 增加植物细胞壁沟槽密度与深度, 可从本质上提高生物质酶解产糖效率.

利用24份水稻突变体材料, 该团队进一步分析了基因表达水平与半纤维素分枝度的相关性, 初步鉴定了细胞壁沟槽结构形成的3类基因共9个(图4), 可能分别作用于挖沟、修沟和填沟过程. 个别基因的部分间接结果已于近期发表<sup>[51]</sup>. 此外, 利用超表达和RNAi抑制等方法, 该团队正在水稻和其他物种中验证所有9个基因的功能, 旨在完善和修正植物细胞壁沟槽结构模型. 然而, 基于细胞壁沟槽结构形成过程的复杂性, 该团队正在鉴定上述3类基因的调控元件和启动子, 并试图鉴定出其他相关重要基因和调控因子, 从而更加全面阐明植物细胞壁沟槽结构形成

的过程和作用机理.

#### 5 细胞壁沟槽结构与能源作物选育

如上所述, 选育能源作物, 必须在保证作物正常生长发育的前提下, 遗传改良细胞壁结构组成, 提高木质纤维素酶解产糖效率. 植物细胞壁沟槽结构模型的提出和3类9个基因的初步鉴定<sup>[51]</sup>, 为能源作物选育提供了直接方法与有效途径. 从理论上讲, 利用挖沟基因(*GH9*)旨在增加沟槽宽度与深度, 修沟基因(*GH10*)则可能增加沟槽密度. 然而, 增加沟槽宽度与深度, 会改变细胞壁物理化学特性与特征, 从而影响植物正常生长发育和种子产量. 因此, 必须用填沟基因(*GT61*)催化合成更多的分支多糖加以填充, 减少对植物正常生长发育的影响. 故植物细胞壁沟槽结构的遗传改良是一个系统工程, 需要多个基因程序化操作. 此外, 寻找调控细胞壁沟槽结构9个基因的上游基因(如转录因子、蛋白激酶等), 有可能是一条相对简便的遗传操作途径, 但很难大幅度改良细胞壁沟槽结构.

由于沟槽结构可能是植物细胞壁后期修饰加工而成, 因此遗传改良细胞壁前期生物合成, 亦可提高木质纤维素酶解产糖效率. 例如, 利用点突变遗传修饰重要纤维素合酶基因(*CesA*), 可降低纤维素结晶度和聚合度. 利用RNAi技术, 部分抑制木质素合成代谢中的关键或重要基因, 可调控木质素单体比例, 减少木质素网络的阻抑作用. 通过超表达半纤维素合酶基因, 提高半纤维素相对含量和分枝度, 从而降低纤维素结晶度, 并增加细胞壁的空隙度和外源纤维素酶通道. 通过定点定量表达蔗糖合酶基因(*SuSy*), 调控植物碳源分配, 改变植物纤维素含量与结晶度.

#### 6 细胞壁结构与棉花纤维品质

棉花是重要经济作物, 其纤维品质(如纤维长度、强度、细度等)直接影响着它的使用价值和商业用途. 棉花纤维品质受基因类型、生态环境和加工条件影响, 其中基因类型是影响品质的主要因素. 纤维素是成熟棉花纤维的主要成分(占95%~98%), 其聚合度和结晶度从结构上影响纤维的主要品质. 转基因超表达*WLM1a*基因, 发现棉花纤维强度比对照高7.3%, 并含有相对较高的木质素和木质素酚醛类物

质. 此外, 还观察到转基因细胞表面光滑, 纤维排列规则, 纤维表面具有清晰的沟槽<sup>[52]</sup>. 近期研究还表明, 成熟棉花纤维含有少量半纤维素、果胶质和木质素<sup>[53]</sup>. 因此, 棉花纤维细胞壁亦可能存在沟槽结构. 近期, 华中农业大学生物物质能团队在棉花纤维中已初步鉴定出多个沟槽结构同源基因. 因此, 根据成熟棉花纤维物理化学特性, 增加纤维细胞壁沟槽密度和降低沟槽深度有可能大幅度改良棉花纤维品质.

### 7 细胞壁结构与作物抗逆性

研究表明, 作物抗倒伏与茎秆强度相关, 而细胞壁组成和结构直接影响植物茎秆强度. 例如, 大麦茎秆强度与茎秆横切面上的细胞壁面积及其纤维素含量相关, 而与茎秆的其他形态特征无显著关系<sup>[54]</sup>. 近期, 华中农业大学生物物质能团队通过关联分析 40 份水稻细胞壁突变体材料<sup>[51]</sup>, 发现水稻细胞壁三大组分的含量与抗倒伏能力呈极显著相关, 尤为重要是水稻抗倒伏与纤维素结晶度呈显著负相关, 与半纤维素阿拉伯糖含量呈显著正相关. 显然, 增加水稻细胞壁沟槽结构中沟槽密度和深度, 不仅可以提高生物物质酶解产糖效率, 同时还可提高水稻的抗倒伏能力.

植物细胞壁是植物抵御大多数病菌侵染的第一道重要结构屏障<sup>[55-57]</sup>. 基于拟南芥 *CesA4*, *CesA7* 和

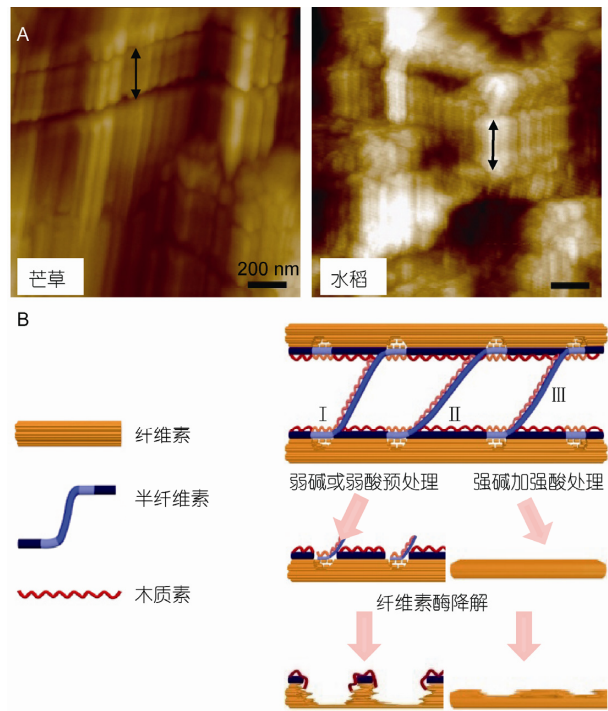


图3 植物细胞壁沟槽结构模型与木质纤维素酶解途径

A: 原子力显微镜观察细胞壁沟槽结构, 箭头所指为沟槽; B: 生物物质酶解产糖模型, 及沟槽密度和深度可从本质上决定生物物质的降解效率(彭辉绘图). I: 沟槽主区, 富含分枝度高的半纤维素; II: 沟槽间区, 富含结晶度高的木质纤维素; III: 沟槽外区, 富含常规半纤维素和木质素

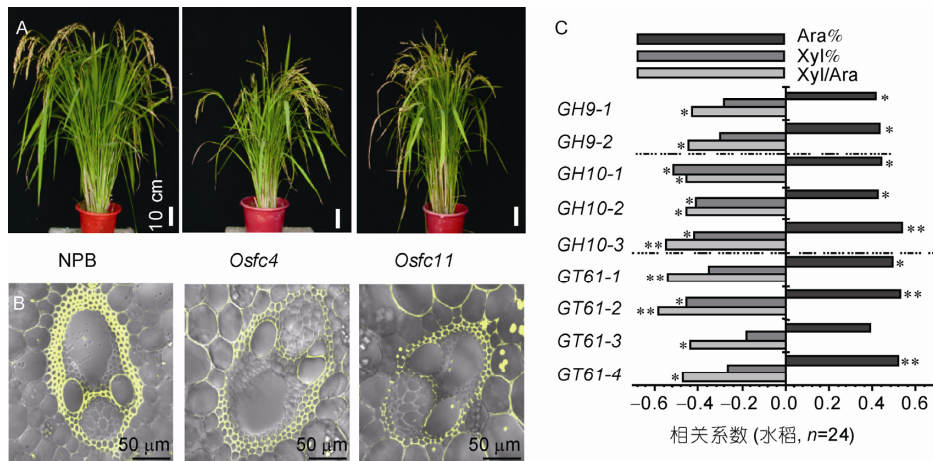


图4 水稻突变体表型观察和相关基因关联分析

A: 2 个特异型水稻突变体(*Osf4*, *Osf11*)和常规品种(NPB)农艺性状和种子产量无明显差异<sup>[51]</sup>; B: 原位活性分析指出, 突变体纤维素酶位于细胞壁上, 且酶活性明显低于对照<sup>[51]</sup>; C: 通过 24 个突变体关联分析, 初步筛选出 9 个可能修饰沟槽结构形成的基因, 主要依据为 9 个基因皆与半纤维素分枝度呈显著负相关. \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$

*CesA8* 参与次生细胞壁的合成, 已发现其突变体可以增强对青枯病和根腐病的抗性<sup>[58]</sup>, 而纤维素缺失突变体(*cev1*)对细菌病害抗性明显增强<sup>[59,60]</sup>. 此外, 小麦半纤维素中阿拉伯糖和木糖的比例对小麦耐旱性起重要作用<sup>[61]</sup>. 因此, 增加细胞壁沟槽结构中沟槽密度和深度, 亦有可能提高作物抗病虫和抗旱能力.

## 8 总结与展望

利用系统生物学综合分析 5 种植物细胞壁结构

因子和生物质酶解产糖效率, 结合原子力显微镜观察, 本文提出了植物所共有的纳米级细胞壁沟槽结构模型和生物质酶解产糖分子机理, 并探讨了沟槽结构形成的 3 类基因, 可能分别作用于挖沟、修沟和填沟过程. 因此, 利用此类基因增加细胞壁沟槽密度和深度, 不仅可从结构上提高木质纤维素酶解产糖效率, 还可同时提高作物抗倒伏与抗逆能力. 此外, 增加细胞壁沟槽密度和降低沟槽深度, 还可能大幅度改良棉花纤维品质.

**致谢** 感谢华中农业大学生物质能团队所做相关前期实验和所提宝贵意见; 感谢研究生王广亚、魏小洋、陈灵和金文祥收集和整理文献; 感谢研究生李丰成和伍峙亮整理数据和图表.

## 参考文献

- 1 Xie G, Peng L. Genetic engineering of energy crops: a strategy for biofuel production in China. *Integr Plant Biol*, 2011, 53: 143–150
- 2 彭良才. 论中国生物能源发展的根本出路. *华中农业大学学报(社会科学版)*, 2011, 92: 1–6
- 3 陈洪章. 秸秆资源生态高值化理论与应用. 北京: 化学工业出版社, 2006
- 4 程序, 朱万斌, 谢光辉. 论农业生物能源和能源作物. *自然资源学报*, 2009, 24: 842–848
- 5 Himmel M E. 生物质抗降解屏障-解构植物细胞壁产生物能. 王禄山, 张正, 译. 北京: 化学工业出版社, 2010
- 6 Peng L, Gutterson N. Energy crop and biotechnology for biofuel production. *J Integr Plant Biol*, 2011, 53: 253–256
- 7 Hüchelhoven R. Cell wall-associated mechanisms of disease resistance and susceptibility. *Annu Rev Phytopathol*, 2007, 45: 101–127
- 8 Tronchet M, Balague C, Kroj T, et al. Cinnamyl alcohol dehydrogenases-C and D, key enzymes in lignin biosynthesis, play an essential role in disease resistance in *Arabidopsis*. *Mol Plant Pathol*, 2010, 11: 83–92
- 9 Domon J M, Baldwin L, Acket S, et al. Cell wall compositional modifications of *Miscanthus* ecotypes in response to cold acclimation. *Phytochemistry*, 2012, 85: 51–61
- 10 Mackova J, Vaškova M, Macek P, et al. Plant response to drought stress simulated by ABA application: changes in chemical composition of cuticular waxes. *Environ Exp Bot*, 2013, 86: 70–75
- 11 McFarlane H E, Döring A, Persson S. The cell biology of cellulose synthesis. *Annu Rev Plant Biol*, 2014, 65: 69–94
- 12 Endler A, Persson S. Cellulose synthases and synthesis in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 2011, 4: 199–211
- 13 Scheller H V, Ulvskov P. Hemicelluloses. *Annu Rev Plant Biol*, 2010, 61: 263–289
- 14 Vanholme R, Demedts B, Morreel K, et al. Lignin biosynthesis and structure. *Plant Physiol*, 2010, 153: 895–905
- 15 Mohnen D. Pectin structure and biosynthesis. *Curr Opin Plant Biol*, 2008, 11: 266–277
- 16 Arioli T, Peng L, Betzner A S, et al. Molecular analysis of cellulose biosynthesis in *Arabidopsis*. *Science*, 1998, 279: 717–720
- 17 Peng L, Xiang F, Roberts E, et al. The experimental herbicide CGA 325'615 inhibits synthesis of crystalline cellulose and causes accumulation of non-crystalline beta-1, 4-glucan associated with CesaA protein. *Plant Physiol*, 2001, 126: 981–992
- 18 Peng L, Kawagoe Y, Hogan P, et al. Sitosterol- $\beta$ -1,4-glucoside as primer for cellulose synthesis in plants. *Science*, 2002, 295: 147–150
- 19 Song D, Shen J, Li L. Characterization of cellulose synthase complexes in *populus* xylem differentiation. *New Phytol*, 2010, 187: 777–790
- 20 Wang L, Guo K, Li Y, et al. Expression profiling and integrative analysis of the CESA/CSL superfamily in rice. *BMC Plant Biol*, 2010, 10: 282–298
- 21 Lee C, Teng Q, Huang W, et al. The *Arabidopsis* family GT43 glycosyltransferases form two functionally nonredundant groups essential for the elongation of glucuronoxylan backbone. *Plant Physiol*, 2010, 153: 526–541
- 22 Anders N, Wilkinson M D, Lovegrove A, et al. Glycosyl transferases in family 61 mediate arabinofuranosyl transfer onto xylan in grasses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 989–993
- 23 Mortimer J C, Miles G P, Brown D M, et al. Absence of branches from xylan in *Arabidopsis* gux mutants reveals potential for

- simplification of lignocellulosic biomass. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 17409–17414
- 24 Oikawa A, Joshi H J, Rennie E A, et al. An integrative approach to the identification of *Arabidopsis* and rice genes involved in xylan and secondary wall development. *PLoS One*, 2010, 5: e15481
- 25 Gui J, Shen J, Li L. Functional characterization of evolutionarily divergent 4-coumarate: coenzyme a ligases in rice. *Plant Physiol*, 2011, 157: 574–586
- 26 Fu C, Mielenz J R, Xiao X, et al. Genetic manipulation of lignin reduces recalcitrance and improves ethanol production from switchgrass. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 3803–3808
- 27 Sun H, Li Y, Feng S, et al. Analysis of five rice 4-coumarate: coenzyme A ligase enzyme activity and stress response for potential roles in lignin and flavonoid biosynthesis in rice. *Biochem Bioph Res Commun*, 2012, 430: 1151–1156
- 28 Xu Z, Zhang D, Hu J, et al. Comparative genome analysis of lignin biosynthesis gene families across the plant kingdom. *BMC Bioinformatics*, 2009, 10: S5
- 29 McCarthy R L, Zhong R, Fowler S, et al. The poplar MYB transcription factors, PtrMYB3 and PtrMYB20, are involved in the regulation of secondary wall biosynthesis. *Plant Cell Physiol*, 2010, 51: 1084–1090
- 30 Yao D, Wei Q, Xu W, et al. Comparative genomic analysis of NAC transcriptional factors to dissect the regulatory mechanisms for cell wall biosynthesis. *BMC Bioinformatics*, 2012, 13: S10
- 31 Zhong R, Lee C, Zhou J, et al. A battery of transcription factors involved in the regulation of secondary cell wall biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2008, 20: 2763–2782
- 32 Lane D, Wiedemeier A, Peng L, et al. Temperature-sensitive alleles of *rsw2* link the KORRIGAN endo-beta-1, 4-glucanase to cellulose synthesis and cytokinesis in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2001, 126: 278–288
- 33 Lee C, O'Neill M A, Tsumuraya Y, et al. The irregular *xylem9* mutant is deficient in xylan xylosyltransferase activity. *Plant Cell Physiol*, 2007, 48: 1624–1634
- 34 Li Y, Qian Q, Zhou Y, et al. BRITTLE CULM 1, which encodes a COBRA-like protein, affects the mechanical properties of rice plants. *Plant Cell*, 2003, 15: 2020–2031
- 35 Fujii S, Hayashi T, Mizuno K. Sucrose synthase is an integral component of the cellulose synthesis machinery. *Plant Cell Physiol*, 2010, 51: 294–301
- 36 Coleman H D, Ellis D D, Gilbert M, et al. Up-regulation of sucrose synthase and UDP-glucose pyrophosphorylase impacts plant growth and metabolism. *Plant Biotechnol J*, 2006, 4: 87–101
- 37 Xie G, Peng L. Genetic engineering of bioenergy crops. In: Wang L J, ed. *Sustainable Bioenergy Production*. Boca Raton: Taylor and Francis, 2014
- 38 Chen P, Peng L. The diversity of lignocellulosic biomass resources and their evaluations for use as biofuels and chemicals. In: Sun J Z, Ding S Y, Peterson J D, eds. *Biological Conversion of Biomass for Fuels and Chemicals: Explorations from Natural Biomass Utilization Systems*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2014. 83–109
- 39 Rubin E M. Genomics of cellulosic biofuels. *Nature*, 2008, 454: 841–845
- 40 Abramson M, Shoseyov O, Shani Z. Plant cell wall reconstruction toward improved lignocellulosic production and processability. *Plant Sci*, 2010, 178: 61–72
- 41 冯永清, 邹维华, 李丰成, 等. 特异水稻脆茎突变体生物学特性及生物质降解效率的研究. *中国农业科技导报*, 2013, 15: 77–83
- 42 Huang J, 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*. *Bioresour Technol*, 2012, 121: 274–281
- 43 Xu N, Zhang W, Ren S, et al. Hemicelluloses negatively affect lignocellulose crystallinity for high biomass digestibility under NaOH and H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pretreatments in *Miscanthus*. *Biotechnol Biofuels*, 2012, 5: 58
- 44 Zhang W, Yi Z, Huang J, et al. Three lignocellulose features that distinctively affect biomass enzymatic digestibility under NaOH and H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pretreatments in *Miscanthus*. *Bioresour Technol*, 2013, 130: 30–37
- 45 Li F, Ren S, Zhang W, et al. Arabinose substitution degree in xylan positively affects lignocellulose enzymatic digestibility after various NaOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pretreatments in *Miscanthus*. *Bioresour Technol*, 2013, 130: 629–637
- 46 Wu Z, Zhang M, Wang L, et al. Biomass digestibility is predominantly affected by three factors of wall polymer features distinctive in wheat accessions and rice mutants. *Biotechnol Biofuels*, 2013, 6: 183
- 47 Li M, Feng S, Wu L, et al. Sugar-rich sweet sorghum is distinctively affected by wall polymer features for high biomass digestibility and ethanol fermentation in bagasse. *Bioresour Technol*, 2014, 167: 14–23
- 48 Peng L, Hocart C H, Redmond J W, et al. Fractionation of carbohydrates in *Arabidopsis* seedling cell walls shows that three radial swelling loci are specifically involved in cellulose production. *Planta*, 2000, 211: 406–414
- 49 Ding S, Liu Y, Zeng Y, et al. How does plant cell wall nanoscale architecture correlate with enzymatic digestibility? *Science*, 2012, 338:



- 1055–1060
- 50 Ju X, Engelhard M, Zhang X. An advanced understanding of the specific effects of xylan and surface lignin contents on enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass. *Bioresour Technol*, 2013, 132: 137–145
- 51 Xie G, Yang B, Xu Z, et al. Global identification of multiple *OsGH9* family members and their involvement in cellulose crystallinity modification in rice. *PLoS One*, 2013, 8: e50171
- 52 Han L, Li Y, Wang H, et al. The dual functions of WLIM1a in cell elongation and secondary wall formation in developing cotton fibers. *Plant Cell*, 2013, 25: 4421–4438
- 53 Li A, Xia T, Xu W, et al. An integrative analysis of four CESA isoforms specific for fiber cellulose production between *Gossypium hirsutum* and *Gossypium barbadense*. *Planta*, 2013, 237: 1585–1597
- 54 Kokubo A, Kuraishi S, Sakurai N. Culm strength of barley correlation among maximum bending stress, cell wall dimensions, and cellulose content. *Plant Physiol*, 1989, 91: 876–882
- 55 Vorwerk S, Somerville S, Somerville C. The role of plant cell wall polysaccharide composition in disease resistance. *Trends Plant Sci*, 2004, 9: 203–209
- 56 Cantu D, Vicente A R, Labavitch J M, et al. Strangers in the matrix: plant cell walls and pathogen susceptibility. *Trends Plant Sci*, 2008, 13: 610–617
- 57 Lipka V, Dittgen J, Bednarek P, et al. Pre-and postinvasion defenses both contribute to nonhost resistance in *Arabidopsis*. *Science*, 2005, 310: 1180–1183
- 58 Hernández-Blanco C, Feng D X, Hu J, et al. Impairment of cellulose synthases required for *Arabidopsis* secondary cell wall formation enhances disease resistance. *Plant Cell*, 2007, 19: 890–903
- 59 Ellis C, Karafyllidis I, Wasternack C, et al. The *Arabidopsis* mutant *cev1* links cell wall signaling to jasmonate and ethylene responses. *Plant Cell*, 2002, 14: 1557–1566
- 60 Ellis C, Turner J G. The *Arabidopsis* mutant *cev1* has constitutively active jasmonate and ethylene signal pathways and enhanced resistance to pathogens. *Plant Cell*, 2001, 13: 1025–1033
- 61 Piro G, Leucci M R, Waldron K, et al. Exposure to water stress causes changes in the biosynthesis of cell wall polysaccharides in roots of wheat cultivars varying in drought tolerance. *Plant Sci*, 2003, 165: 559–569

## Research Progress in the Groove Structures of Plant Cell Walls and Biomass Utilizations

WANG YanTing, XU ZhengDan & PENG Liangcai

*National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Biomass and Bioenergy Research Centre, College of Plant Sciences and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China*

Plant cell walls represent an enormous biomass resource for biofuels and other chemical products. Principally, plant cell walls play a central role in plant morphogenesis, and greatly affect plant mechanic strength, biomass digestibility, fiber quality and plant resistance. In this article, we briefly introduce the recent research advance in plant cell wall structures and functions by elucidating the key factors of plant cell walls that predominately determine biomass enzymatic saccharification upon various physical and chemical pretreatments in five typical plant species (rice, wheat, *Miscanthus*, sweet sorghum and maize). Notably, a groove structure of plant cell walls was observed in all of the five plant species using atomic force microscopy, and three types of nine distinct genes were identified that may be involved in the formation and modification of the groove structure. Therefore, a novel cell wall model was proposed concerning mechanism of biomass digestion and conversion, which provides insights into new biotechnologies for improving cotton fiber quality and enhancing crop resistance to biotic and abiotic stresses.

**plant cell walls, groove structure, bioenergy, energy crop, cotton fiber quality, crop resistance**

doi: 10.1360/052014-99