

· 综述 ·

植物半纤维素合成修饰与细胞壁遗传改良

管伦^{1,2}, 王艳婷², 刘晓峰¹, 彭良才², 杨巧梅^{1*}

1 浙江海洋大学海洋科学与技术学院 生物化学与分子生物学实验室, 浙江 舟山 316000

2 华中农业大学植物科学与技术学院, 湖北 武汉 430070

管伦, 王艳婷, 刘晓峰, 彭良才, 杨巧梅. 植物半纤维素合成修饰与细胞壁遗传改良[J]. 生物工程学报, 2024, 40(4): 1002-1016.
GUAN Lun, WANG Yanting, LIU Xiaofeng, PENG Liangcai, YANG Qiaomei. Hemicellulose modification and cell wall genetic improvement in plants[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(4): 1002-1016.

摘要: 半纤维素作为植物细胞壁的主要成分, 约占其干物质质量的 1/3, 是自然界中除纤维素以外含量最丰富的再生生物质资源。半纤维素在植物细胞壁中与纤维素、木质素等组分紧密交联, 形成了顽固的抗降解屏障。通过精准遗传改良植物细胞壁结构与特性, 可以在保证植物正常生长发育的前提下, 大幅提高木质纤维素降解效率。本文主要综述了半纤维素在植物细胞壁中的结构分布、半纤维素与细胞壁其他组分的交联方式, 以及半纤维素合成修饰对细胞壁降解效率的影响, 为能源作物的遗传改良提供了参考。

关键词: 细胞壁; 半纤维素; 遗传改良; 降解效率

Hemicellulose modification and cell wall genetic improvement in plants

GUAN Lun^{1,2}, WANG Yanting², LIU Xiaofeng¹, PENG Liangcai², YANG Qiaomei^{1*}

1 Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, Marine Science and Technology College, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316000, Zhejiang, China

2 College of Plant Science & Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei, China

Abstract: Hemicellulose, as a primary component of plant cell walls, constitutes approximately one third of cell wall dry matter and ranks as the second abundant renewable biomass resource in the nature after cellulose. Hemicellulose is tightly cross-linked with cellulose, lignin and other components in the plant cell wall, leading to lignocellulose recalcitrance. However, precise genetic modifications of plant cell walls can significantly improve the saccharification

资助项目: 浙江海洋大学人才引进科研基金(JX6311101923)

This work was supported by the Research Foundation for Advanced Talents from Zhejiang Ocean University (JX6311101923).

*Corresponding author. E-mail: 2022212@zjou.edu.cn

Received: 2023-10-30; Accepted: 2024-02-20; Published online: 2024-03-12

efficiency of lignocellulose while ensuring normal plant growth and development. We comprehensively review the research progress in the structural distribution of hemicellulose in plant cell walls, the cross-linking between hemicellulose and other components of the cell wall, and the impact of hemicellulose modification on the saccharification efficiency of the cell wall, proving a reference for the genetic improvement of energy crops.

Keywords: cell wall; hemicellulose; genetic improvement; degradation efficiency

随着能源短缺和环境变化,人们越来越关注可再生和可持续生物质资源的开发利用^[1]。每年地球上都会产生大量的木质纤维素,这些原料可用于生产生物燃料及高附加值产品。然而,由于植物细胞壁具有天然的抗降解屏障,目前的技术需要高强度的预处理和昂贵的酶进行降解,从而导致生物质资源产率低等问题,严重限制了其产业化发展^[2]。因此,全面解析植物细胞壁的结构特征,并利用遗传工程手段改良细胞壁结构,提高木质纤维素的降解效率,为解决上述问题提供了新的思路^[3]。

半纤维素约占细胞壁总干物质质量的 1/3,是一类重要的植物细胞壁多糖,具有储量大、可再生、易降解等特点。与纤维素相比,半纤维素更容易被提取,在食品、医药、纺织等化工产品中具有广泛的应用,例如作为乳化剂、增稠剂,以及转化为木糖醇、糠醛等^[4]。然而半纤维素的结构复杂,其主链和侧链的合成修饰需要多种酶的参与,同时半纤维素作为中介介质与纤维素、木质素等紧密交联,形成顽固的抗降解屏障,导致木质纤维素难以被高效地利用。本文针对如何提高植物细胞壁的降解效率,系统总结了半纤维素的遗传修饰与细胞壁降解效率的关系,希望能为植物细胞壁的遗传改良提供参考。

1 半纤维素的结构与分布

半纤维素存在于植物初生细胞壁(primary cell wall, PCW)和次生细胞壁(secondary cell wall, SCW)中,主要包括 4 种多糖:木葡聚糖

(xyloglucan, XyG)、木聚糖、甘露聚糖和葡甘露聚糖,以及混合连接的葡聚糖(mixed linkage glucose, MLG)^[5]。不同种类的半纤维素结构、分布和生化特性有很大的差异。

木葡聚糖是由 β -1,4-糖苷键连接的木葡聚糖链,是双子叶和非鸭跖草(non-commelinid)类单子叶植物的初生壁中含量最丰富的半纤维素^[5]。在不同陆生植物中,如双子叶植物和部分非禾本科单子叶植物,以及禾本科单子叶植物、茄属植物和部分苔藓中,木葡聚糖的重复单元有所不同。

木聚糖主要是 β -1,4-糖苷键连接的木糖骨架,是双子叶植物次生壁和鸭跖草类(commelinid)单子叶植物初生壁中主要的半纤维素^[6]。木聚糖主链的木糖残基上通常会发生阿拉伯糖(arabinose, Ara)、葡萄糖醛酸(glucose uronic acid, GlcA)、4-O-甲基葡萄糖醛酸(4-O-methylglucose uronic acid, 4-O-Me-GlcA)和乙酰基等取代^[7]。根据其取代不同,又可以分为阿拉伯木聚糖(arabinoxylan, AX)、葡萄糖醛酸木聚糖(glucuronoxylan, GX)、葡萄糖醛酸阿拉伯木聚糖(glucuronoarabinoxylan, GAX)。木聚糖的组成在不同物种的细胞壁中有所不同,如 GAX 是鸭跖草类单子叶植物初生壁中主要的半纤维素,而 GX 是木本和草本双子叶植物次生壁的主要成分^[5-6]。

甘露聚糖和葡甘露聚糖都是指含有甘露糖的 β -1,4-糖苷键连接的多糖^[8]。根据它们的主链结构和侧链取代,可以将其分为 4 类:甘露聚糖、半乳甘露聚糖、葡甘露聚糖和半乳葡甘露聚糖。

甘露聚糖和半乳甘露聚糖的主链结构完全由甘露糖组成,而葡甘露聚糖和半乳葡甘露聚糖的主链骨架由甘露糖和葡萄糖混合连接而成。它们广泛存在于植物中,除了作为半纤维素,也作为种子中的贮藏多糖^[9]。

混合连接葡聚糖(MLG)是由 β -1,3-和 β -1,4-两种糖苷键连接的无分支和侧链取代的葡萄糖链^[10]。MLG 存在于木贼属(*Equisetum*)和各种禾本科中,被认为是一种植物阶段特异性的多糖,能够调节植物生长并为其提供糖源^[11]。

2 半纤维素与细胞壁组分的互作

细胞壁各组分间存在的相互作用,是影响木质纤维素降解效率的重要原因。因此,了解细胞壁组分的互作关系,有助于我们更好地利用木质纤维素。由于各组分结构较为复杂,解析纤维素、半纤维素及木质素三大组分间的互作仍比较困难。目前细胞壁结构的研究,主要包括分离细胞壁组分和原位细胞壁结构解析两种途径^[12-13]。

2.1 半纤维素与纤维素的互作

在植物初生壁和次生壁中,半纤维素与纤维素均存在相互作用。在初生壁中,半纤维素与纤

维素互作模式已有较多的研究。以双子叶植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)为代表,早期研究提出的“捆绑模型”^[14],认为半纤维素木葡聚糖与纤维素微纤丝通过非共价键相互作用,将纤维素微纤丝捆绑在一起,形成一个具有延展性的木葡聚糖-纤维素网络结构^[15-16]。然而,一些遗传证据^[17-18]和核磁共振分析^[19]并不支持该模型,并且木葡聚糖特异性的内切葡聚糖酶也不能诱导细胞壁发生蠕变^[20]。Park 和 Cosgrove^[21]随后提出了半纤维素与纤维素互作的“生物力学热点”假说,认为只有小部分木葡聚糖与纤维素微纤丝紧密结合,这些部位可能是细胞壁松弛的选择性位点(图1A)。最近有研究发现,某些异源葡聚糖转移酶(hetero-transglucanase, HTG)能够使纤维素分子断裂,并将其转移到木葡聚糖上,使纤维素与木葡聚糖之间形成共价键^[22-23]。此外,通过扩展蛋白的协同作用,更多的纤维素被暴露出来,有助于异源葡聚糖转移酶的切割,进而促进细胞壁的延展^[23](图1B)。这一发现为半纤维素木葡聚糖与纤维素之间存在共价键的连接提供了直接证据,同时也解释了半纤维素木葡聚糖影响细胞壁延伸的机制。

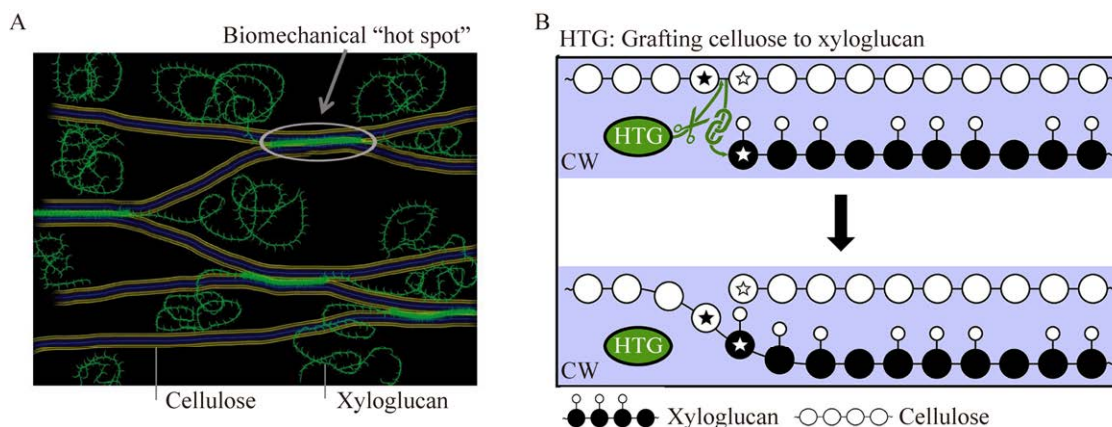


图1 植物初生壁半纤维素与纤维素的相互作用示意图 A: “生物力学热点”假说^[21]. B: 共价连接^[23]

Figure 1 Schematic diagram of the interaction between hemicellulose and cellulose in primary cell wall of plants. A: Biomechanical hotspot model^[21]. B: Covalent linkage^[23].

近年来,次生壁中半纤维素与纤维素的互作研究也得到了越来越多的关注。在双子叶植物次生壁中,木聚糖存在两个不同的结构域:具有均匀间隔的葡萄糖醛酸修饰的主结构域(major domain)和随机间隔的葡萄糖醛酸修饰次结构域(minor domain)^[24]。葡萄糖醛酸的这种均匀间隔分布,可能允许木聚糖主链折叠,进而增强与纤维素表面的紧密排列。在后续的研究中发现,拟南芥次生壁中存在两种木聚糖构象:扁平带状的双重(two-fold)构象和扭转式的三重(three-fold)构象,并认为木聚糖主要以双重构象与纤维素相结合,并且纤维素对木聚糖构象的形成也是必不可少的^[25](图 2A)。多糖互作的分子动力学也表明,木聚糖与纤维素的亲水面具有最高的结合自

由能^[26]。此外,乙酰化模式对于维持木聚糖与纤维素微纤丝亲水表面之间的非共价互作也非常重要^[27-28]。在拟南芥 *eskl* 突变体中,半纤维素乙酰化程度的降低,影响了木聚糖葡萄糖醛酸转移酶 GUX1 的位置特异性活性,从而使木聚糖上葡萄糖醛酸的均匀模式丢失,导致木聚糖不能与纤维素正常互作,这一结果支持木聚糖-纤维素互作的模型^[27]。

在单子叶植物次生壁中,木聚糖与纤维素的互作也有报道。本团队基于大量数据分析,提出半纤维素中木糖(xylose, Xyl)和阿拉伯糖的比值(Xyl/Ara)是影响生物质降解效率的关键细胞壁结构因子,并认为阿拉伯糖能与纤维素的非晶体区互作,影响纤维素的结晶度^[29-30](图 2B)。随后

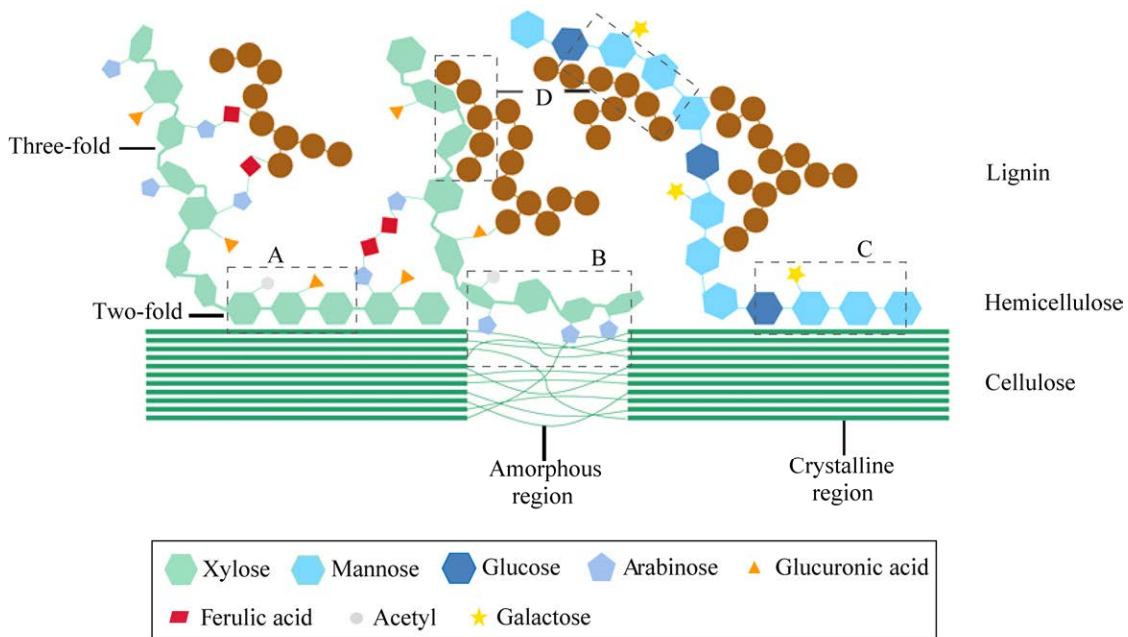


图 2 单子叶植物次生壁半纤维素与细胞壁组分之间的相互作用示意图 方框 A: 木聚糖的双重构象与纤维素的亲水面结合。方框 B: 木聚糖的三重构象与纤维素的非晶体区互作。方框 C: 半乳葡甘露聚糖与纤维素微纤丝表面结合。方框 D: 半纤维素与木质素的非共价键互作

Figure 2 Schematic diagram of the interaction between hemicellulose and other cell wall components in the secondary cell wall of monocotyledonous plants. Box A: Two-fold conformation of xylan is tightly associate with the hydrophilic surface of cellulose. Box B: Three-fold conformation of xylan interact with amorphous region of cellulose. Box C: Galactoglucomannan binds to the surface of cellulose microfibril. Box D: Non-covalent interactions between hemicellulose and lignin.

我们结合原子力显微镜观察到的纤维素表面结构,进一步提出了“沟槽结构”模型的假设,认为纤维素的“沟槽”区域(非晶体区)富含分支度高的半纤维素,外源纤维素酶主要是通过进入“沟槽结构”区开始纤维素的酶解^[31]。随着核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)技术的发展,对玉米(*Zea mays*)和高粱(*Sorghum bicolor*)的次生壁分析显示,木聚糖除以双重构象覆盖在纤维素微纤丝的亲水面^[12],在高粱中还含大量阿拉伯糖取代的木聚糖,以三重构象与纤维素的非晶体区互作^[32],这同时也佐证了我们的观点。此外,在软木云杉(*Picea asperata*)中发现,半纤维素中除大部分木聚糖以双重构象与纤维素结合外,半乳糖甘露聚糖还可能以半结晶的方式与纤维素微纤丝表面紧密结合^[33](图 2C)。至于植物次生壁中是否存在半纤维素与纤维素的共价结合,目前尚无直接的报道,这也值得我们进一步

探究。这些新的分子见解有助于我们更好地理解植物次生细胞壁的超分子结构,并对克服木质纤维素的抗降解屏障和提高生物质材料的利用有借鉴意义。

2.2 半纤维素与木质素的互作

木质素是植物细胞壁中主要的抗降解屏障,因此解析半纤维素与木质素之间的互作,对于如何高效地去除木质素和提高生物质的利用效率具有十分重要的意义。关于半纤维素与木质素的互作已有较多研究。

在植物细胞壁中,半纤维素与木质素之间存在共价和非共价结合。在单子叶和双子叶植物中,半纤维素和木质素的共价交联有两种不同的机制:(1) 木质素单体与阿魏酰化的阿拉伯木聚糖的自由基偶联;(2) 半纤维素的亲核部分对木质素中间体的重新芳构化^[34](图 3)。在单子叶植物中,木聚糖侧链上的阿拉伯糖能与阿魏酸形成

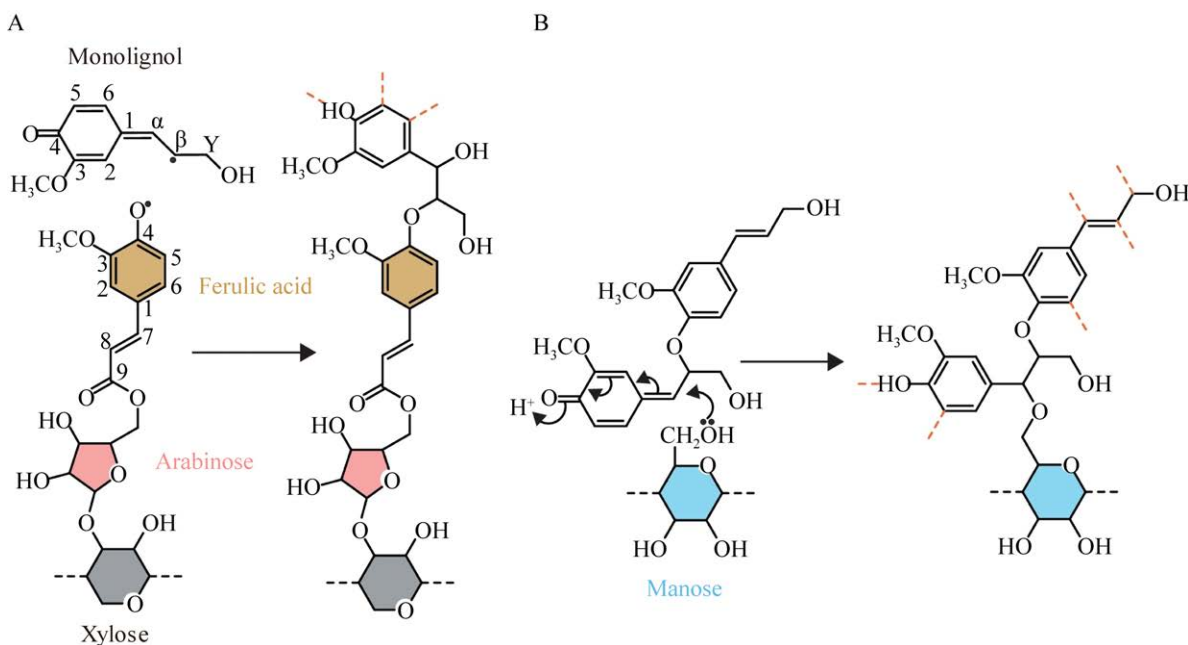


图 3 半纤维素与木质素共价交联的两种机制^[30] A: 木质素单体与阿魏酰化的阿拉伯木聚糖的自由基偶联. B: 半纤维素的亲核部分对木质素中间体的重新芳构化

Figure 3 Two mechanisms for hemicellulose and lignin cross-linking^[30]. A: Radical coupling of lignin monolignol to ferulated arabinoxylan. B: Re-aromatization of the lignin intermediate by hemicellulose nucleophiles.

酯键,阿魏酸可以在其4、5和8号位与木质素单体松柏醇结合^[35-37]。这是由于漆酶和过氧化物酶的底物特异性较弱,可能会氧化与木质素单体相关的化合物(如木聚糖的阿魏酸取代),并产生自由基,从而使木聚糖与木质素单体或木质素聚合物交联^[38]。此外,木聚糖的阿魏酸取代也能以类似于木质素的方式发生自耦联,形成木聚糖之间的交联^[39]。阿魏酰化的木聚糖只在禾本科单子叶植物中被发现。裸子植物阿魏酸酯键能与细胞壁多糖结合,但与哪些细胞壁多糖结合目前仍不清楚^[40]。在双子叶植物中,木质素单体会通过自身的 β 碳耦合产生醌甲基化物中间体,为了使中间体形成成熟的木质素聚合物,必须在其 α 位进行半纤维素的亲核加成作用,从而形成半纤维素-木质素交联^[39]。基于NMR研究显示,葡甘露聚糖作为亲核试剂,其主链的甘露糖残基在6号位与木质素 β -O-4连接单元的 α 碳,以醚键的形式连接^[41]。有间接证据表明,木聚糖上的葡萄糖醛酸取代也可以充当亲核试剂,并且可能发生葡萄糖醛酸介导的木聚糖-木质素交联^[42]。然而,这种木聚糖-木质素复合物尚未被清楚地识别出来。

最近的研究表明,半纤维素与木质素主要以非共价键的形式互作(图2D)。在玉米次生壁中,木质素与木聚糖的极性基序具有丰富的静电相互作用,木聚糖主要以三重构象与木质素发生互作^[12]。在软木中,与纤维素结合的木聚糖和半乳葡甘露聚糖,可能同时也与木质素结合,NMR结果显示二者与木材中木质素的距离均小于1 nm^[33]。Kirui等^[43]对柳枝稷(*Panicum virgatum*)、硬木[桉树(*Eucalyptus grandis*)和杨树(*Populus×canadensis*)]、软木[云杉(*Picea abies*)]的细胞壁进行比较分析,进一步证实了上述结果,并认为多聚糖与木质素的交联程度在柳枝稷、硬木和软木中是依次增加的。

半纤维素与细胞壁组分之间的相互作用还

有待更深入地研究。如木葡聚糖-纤维素网络如何影响细胞壁机械力,木聚糖及其存在的这些分子内重复基序如何对纤维素微纤丝、木质素结构等产生潜在的影响等问题,仍需进一步解析。只有更加全面地了解细胞壁组分的分子性质,才能更好地理解细胞壁的超分子结构,这对开发克服木质纤维素抗降解屏障的工艺和设计先进的木质材料和产品都具有重要意义。

3 半纤维素遗传调控与细胞壁降解效率

细胞壁组分的复杂组装和交联使纤维素多糖在很大程度上难以降解。近年来,针对半纤维素遗传调控来改良细胞壁结构的研究也越来越多(表1),如水稻(*Oryza sativa*)、小麦(*Triticum aestivum*)、杨树和玉米等。在尽可能不影响生物质产量的情况下,如何提高能源植物的利用,是未来研究的主要方向。

3.1 调控半纤维素主链结构以提升降解效率

虽然纤维素在细胞壁中的含量十分丰富,但它并非细胞壁中唯一六碳糖(C6)来源的多糖。半纤维素中的木葡聚糖、混合连接葡聚糖(MLG)、甘露聚糖等主链结构含有丰富的六碳糖,因此可以通过增加其六碳糖含量,来提升细胞壁的糖化效率。MLG的葡萄糖残基之间会形成无定形结构,具有较强的可溶性,与纤维素相比更容易被降解。在拟南芥中过表达水稻的类纤维素合酶F6基因(*OsCslF6*),成功地积累了大量的MLG,单糖分析显示葡萄糖含量达到29.9 $\mu\text{g}/\text{mg}$,且过表达株系糖化效率提高了42%^[44]。虽然产生高水平的MLG是一种极具前景的改良策略,但是启动子的选择对于维持作物产量至关重要。在拟南芥、大麦(*Hordeum vulgare*)和烟草(*Nicotiana tabacum*)中,利用组成型启动子或次生壁特异性启动子过表达*CslF6*基因,会对植物生长造成不

利影响^[44-45]。拟南芥 pAtSAG12 启动子仅在植物衰老过程中表达,可在不影响植物生长发育的同时,诱导衰老组织中细胞壁多糖的生物合成,为改良能源作物细胞壁结构提供了一种新的手段。此外,调控 MLG 相关的水解酶,也能改变 MLG 的含量。在玉米中,MLG 水解酶 1 基因 (*mlgh1*) 的突变,能够在不影响其生长发育的条件下增加 MLG 含量,将 *mlgh1* 突变体与木质素缺陷突变体杂交能够协同增加其糖化效率^[46]。除 MLG 中的葡萄糖外,在半纤维素中还存在许多其他类型的六碳糖,因此调控半纤维素中六碳糖含量是一种非常有潜力的途径,值得我们进一步探究。

木聚糖是大多数能源作物中含量最丰富的半纤维素,通过包裹纤维素微纤丝,并与细胞壁中的木质素等以共价或非共价键的形式结合,进而形成生物质的抗降解屏障。因此,木聚糖的遗传修饰是能源作物的主要目标。木聚糖的调控有两种途径:一种是抑制木聚糖合成相关基因的表达,另一种是对木聚糖结构进行合成后修饰。通过构建木聚糖合成突变体,可以减少细胞壁木聚糖含量,但植物的基因冗余使得完全敲除难以实现,并且突变体木聚糖合成显著减少的同时,植物生长也会严重受损^[47]。为此, Petersen 等^[48]利用维管束特异性表达启动子 VND6 和 VND7,在 *irx7*、*irx8* 和 *irx9* 突变体中特异性表达木聚糖合成基因 *IRX7*、*IRX8* 和 *IRX9*,可以在一定程度上恢复突变体的缺陷表型,同时保持较低的总木

聚糖含量和较高的糖化性能。通过减少特定蛋白水平与多糖含量,也可在不影响植株生长的情况下,降低木聚糖的生物合成^[49]。在拟南芥中过表达第 283 位 Gly 或 293 位 Glu 突变的 *IRX10* 基因,以竞争性替代自身 *IRX10* 在木聚糖合酶复合体中的位置,结果显示过表达植株茎的木糖含量下降了 55%,这为如何更好地修饰木聚糖的生物合成提供了新思路。此外,利用数量性状座位(quantitative trait locus, QTL)定位鉴定出短柄草属中影响细胞壁降解效率的基因 *BdGT43A*,该基因参与木聚糖的生物合成,敲除后能显著提高生物质的降解效率^[50]。水稻脆秆突变体 *fc18* 编码的 UDP-葡萄糖醛酸脱羧酶 (UXS),能够催化 UDP-葡萄糖醛酸转化为 UDP-木糖,突变后表现出木聚糖含量降低,纤维素结构改变,糖化效率增加^[51]。相较于直接调控木聚糖合酶相关基因,通过表达木聚糖水解酶基因对木聚糖进行合成后修饰,能够在不影响植物正常生长的情况下,有效地提升细胞壁的降解效率。过表达 *xynB* (*GH11*) 基因可提高转基因玉米的生物物质降解效率^[52],在高羊茅(*Festuca elata*)中表达里氏木霉 β -1,4-内切木聚糖酶基因(*xyn2*)能改变细胞壁降解效率并引发病原体防御反应^[53],但 RNAi 沉默 *xyn10A* (*GH10*) 基因可提高杨树的生物量产量^[54]。此外,在杨树中表达曲霉的木葡聚糖酶基因 *AaXEG2*,导致纤维素结构松弛和纤维素沉积增加,酶解后释放的葡萄糖增加 81%^[55-56]。

表 1 半纤维素主链与侧链调控基因

Table 1 Genes involved in regulating backbone and side chain of hemicellulose

| Pattern | Gene | References |
|----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| MLG | <i>CslF6</i> , <i>MLGH1</i> | [44-46] |
| Xylan | <i>IRX8</i> , <i>IRX9</i> , <i>IRX7</i> , <i>IRX10</i> , <i>GT43A</i> , <i>UXS3</i> , <i>xynB</i> , <i>xyn2</i> , <i>xyn10A</i> | [47-54] |
| Xyloglucan | <i>XEG2</i> | [55-56] |
| Side chain glucuronic acid | <i>GUX</i> , <i>PcGCE</i> | [57-60] |
| Side chain arabinose | <i>UXE</i> , <i>XAT</i> , <i>ARAF1</i> , <i>ARAF3</i> | [61-63] |
| Side chain ferulic acid | <i>AT10</i> , <i>FAEs</i> , <i>BAHD01</i> , <i>BAHD05</i> | [64-75] |
| Acetyl | <i>ESK1</i> , <i>GELP7</i> | [27,76-80] |

3.2 调控半纤维素侧链修饰以提升降解效率

木聚糖主链通常会发生多种侧链取代,并进一步与细胞壁其他组分发生交联。因此,通过调控木聚糖侧链组成,进而改变细胞壁交联程度,也能提高生物质的降解效率。降低木聚糖侧链的葡萄糖醛酸取代,可以减弱半纤维素与木质素的交联,同时改变木聚糖与纤维素的互作,从而有效地提高生物质的降解效率^[57]。在拟南芥葡萄糖醛酸合成的 *gux* 突变体中,木聚糖葡萄糖醛酸取代的缺失使其更容易被温和的碱提取,表明葡萄糖醛酸的取代在次生细胞壁网络结构的连接中十分重要^[58]。进一步研究表明,利用葡萄糖醛酸取代缺失的拟南芥 *gux* 突变体,在糖化过程中多释放 30%的葡萄糖和 7 倍的木糖,乙醇产率是野生型的 2 倍^[59]。对突变体木聚糖侧链的分析表明,仅有葡萄糖醛酸的减少,这也说明它是影响抗降解屏障的原因。在白杨中表达真菌的葡萄糖醛酸酯酶 PcGCE, 4-O-Me-GlcA 的含量降低,经酸预处理后纤维素转化效率增加了 12%^[60]。

改变木聚糖侧链的阿拉伯糖含量,也会影响生物质的降解效率。一方面,部分阿拉伯糖与纤维素互作,影响纤维素的特性;另一方面阿拉伯糖的阿魏酰化,会与木质素共价结合,从而影响细胞壁的降解。Konishi 等^[61]提出了减少阿拉伯糖侧链以提高糖化作用的思路。在水稻中过表达阿拉伯呋喃糖苷酶基因 *OsARAF1* 和 *OsARAF3*, 过表达株系的阿拉伯糖含量减少 20%–25%, 纤维素含量增加 28%–34%, 酶解产糖释放量比野生型增加 46%–70%^[62]。通过 CRISPR/Cas9 敲除水稻中参与阿拉伯糖合成的 *UXE* 和 *XAT* 基因,在不影响生长的情况下,秸秆的糖化效率提高了 7%–15%^[63]。本团队研究表明半纤维素阿拉伯糖取代度(即 Xyl/Ara),通过与纤维素的非晶体区互作,影响纤维素的结晶度,进而影响木质素纤维素的糖化效率^[29-31]。因

此,增加半纤维素的 Ara 分支度可能是提高生物能源作物生物量和木质纤维素酶糖化的另一种策略。这也进一步说明半纤维素在细胞壁结构中的复杂性,了解其作用机制十分重要。

木聚糖能够通过其侧链阿拉伯糖的阿魏酰化与木质素形成共价键交联,因此减少阿魏酸的生成或切断阿魏酸与阿拉伯糖之间的结合,是一种有效的手段^[34,64]。抑制植物中阿魏酰转移酶的表达,能有效地提高糖化效率。在狗尾草中直接沉默阿魏酰转移酶基因 *SvBAHD01*,阿魏酰化降低 60%,酶解产糖增加了 40%–60%,但木质素含量和生物质产量没有发生变化^[65];进一步沉默该家族 *SvBAHD05* 后,发现对香豆酸(*p*-coumaric acid, *p*-CA)含量降低,但对阿魏酰化影响较小,酸预处理后生物质的糖化率增加^[66]。*SvBAHD05* 蛋白的分子动力学模拟表明,对香豆酸和阿魏酸都可以与特定的 *SvBAHD05* 蛋白结构域结合,表明该酶具有底物多功能性。在植物中表达各种阿魏酸酯酶(ferulic esterase, FAEs)能够降低抗降解屏障,提高生物质降解效率,但往往还需综合考虑。例如,在拟南芥中表达曲霉菌(*Aspergillus nidulans*)的阿魏酸酯酶增加了糖化效率,同时也增加了对真菌病原体的易感性^[67-68]。在苜蓿(*Medicago sativa*)中,曲霉菌阿魏酸酯酶的表达确实降低了阿拉伯木聚糖的阿魏酰化,但木质化程度反而增加,酶解效率降低;经化学脱木质素后,糖化效率比野生型有所提高,这可能是由于阿拉伯木聚糖内部的交联减少所致^[69]。在饲料作物高羊茅中, *AnFAE* 过表达株系的酶解效率达干物重的 68%–72%,酶解效率提高了 10%–14%^[70-71]。除直接表达阿魏酸酯酶外,通过对阿拉伯糖残基上的阿魏酸进行竞争性取代,也可以减少阿魏酸在细胞壁中的交联^[72]。对香豆酸作为一种苯丙烷衍生的羟基肉桂酸,也能够与木聚糖的阿拉伯糖残基发生酯

化反应。与阿魏酸不同,对香豆酸不与木质素单体发生氧化偶联^[70]。在水稻和柳枝稷中过表达水稻的对香豆酰转移酶基因 *OsAT10*,阿拉伯木聚糖结合的阿魏酸降低,对香豆酸增加,糖化效率提高了 20%–40%,但对二者的生长发育无明显影响^[64,73];而 *OsAT10* 敲除的水稻株系降解效率没有发生变化,这进一步说明 *OsAT10* 过表达水稻降解效率的提高,是由阿拉伯木聚糖结合的阿魏酸降低所致^[74]。不同的是,在高粱中表达 *OsAT10* 导致阿拉伯木聚糖结合的对香豆酸增加,但阿魏酸的含量未变,木质素含量降低,过表达株系的生物质糖化效率的提高,表明木聚糖结合的对香豆酸与细胞壁的木质化之间可能存在一定的关系^[75]。

此外,木聚糖乙酰化在维持木聚糖稳定性和细胞壁组装方面具有重要作用,乙酰化程度的降低与生物质的转化效率呈正相关,并且预处理过程中木聚糖释放的乙酸是下游微生物发酵的强抑制剂。ESK1 是一种木聚糖 *O*-乙酰转移酶,在拟南芥的 *esk1* 突变体中,乙酰基取代的减少引起木聚糖结构的变化,进而影响与纤维素亲水面的结合,导致了糖化效率增加^[27,76]。然而,由于突变体纤维素含量降低,导致实际总糖产量降低,并且生长表型受到极大的影响。为解决该问题,进一步在 *esk1* 突变体中过表达葡萄糖醛酸合成基因 *GUX1*,导致木聚糖的葡萄糖醛酸取代大幅增加,乙酰化没有变化,并恢复了纤维素减少的表型。这表明乙酰化和葡萄糖醛酸取代可以互换,能够在增加糖化作用的基础上,不影响 *esk1* 突变体的生长和纤维素的含量^[77]。为减少木聚糖乙酰化,在拟南芥中过表达内源乙酰木聚糖酯酶基因 *AtGELP7*,能够在不影响生长的情况下提高糖化效率^[78]。此外,在拟南芥和山杨 (*Populus davidiana*)中过表达黑曲霉的乙酰木聚糖酯酶(*AnAXE1*),转基因株系均发育正常,木

聚糖乙酰化减少 10%–30%,并且糖化效率大幅增加^[79–80]。尽管对减少植物木聚糖乙酰化的研究取得了一定的成功,但木聚糖乙酰化对抗降解屏障的影响机制尚不完全清楚,并且它对植物的生长和发育也十分重要。

4 总结与展望

利用基因工程技术改良植物细胞壁结构,能够更快地对细胞壁结构进行定向改造,提高生物质的利用率,是一种非常有潜力的研究手段。通过调控半纤维素的主链或侧链结构,可以有效地提高细胞壁的降解效率。在此,本文总结了一些主要的基因工程策略,以提高木质纤维素的利用效率(图 4)。针对半纤维素结构的修饰,主要总结为以下几方面:(1) 提高半纤维素组分中的六碳糖含量,如混合连接葡聚糖(MLG)、甘露聚糖等;或减少木聚糖的合成,如特异性修饰木聚糖合成相关基因、过表达木聚糖水解酶的基因。(2) 对木聚糖侧链取代进行修饰,如减少侧链葡萄糖醛酸、阿拉伯糖取代,以及阿魏酰化、乙酰化等,减弱半纤维素与其他组分之间的交联,降低酶解发酵过程中抑制物的存在。(3) 与单纯改变某一种半纤维素单糖相比,改变 Xyl/Ara 的比值,可以影响纤维素的结晶度,进而提高生物质的降解效率。虽然这些遗传改良方法仅在少数物种中得到验证,但它们在各种能源植物中具有广泛的应用潜力。此外,由于半纤维素与细胞壁组分之间存在复杂的交联关系,对半纤维素的单独调控不仅会改变其与纤维素和木质素的交联程度,还可能引起木质素和纤维素结构或含量的变化,尤其是当纤维素或木质素含量大幅减少时,可能会影响植株的正常生长。因此,我们在半纤维素遗传修饰的过程中,应更侧重改变细胞壁的结构,一定程度上减少对其含量的影响,从而保证植株的正常生长。

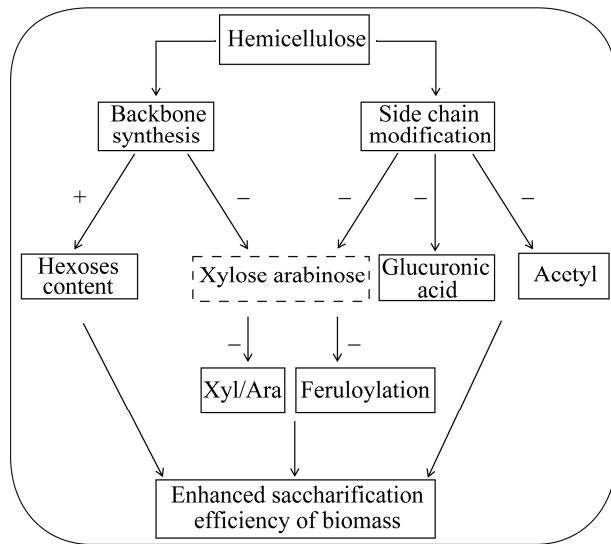


图 4 提高生物质酶解效率技术路线

Figure 4 Technological route to improve the saccharification efficiency of biomass.

此外，文中提到的一些研究在不同物种中观察到的结果存在矛盾，这表明并不能将某种基因工程策略从一种能源物种直接转换到另一物种中。产生这些矛盾结果的原因尚不清楚，可能是由于不同物种的生理特征和细胞壁类型的差异所致。随着对植物生长发育和细胞壁调控认知的不断提升，有望实现产量和质量最大化的完美平衡，同时尽量减少抗降解屏障和副作用。

REFERENCES

- [1] PAULY M, KEEGSTRA K. Plant cell wall polymers as precursors for biofuels[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2010, 13(3): 304-311.
- [2] GUPTA VK, POTUMARTHI R, O'DONOVAN A, KUBICEK CP, SHARMA GD, TUOHY MG. Bioenergy research: an overview on technological developments and bioresources[J]. *Bioenergy Research: Advances and Applications*, 2014: 23-47.
- [3] XIE GS, PENG LC. Genetic engineering of energy crops: a strategy for biofuel production in China[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2011, 53(2): 143-150.
- [4] QASEEM MF, SHAHEEN H, WU AM. Cell wall hemicellulose for sustainable industrial utilization[J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2021, 144: 110996.
- [5] SCHELLER HV, ULVSKOV P. Hemicelluloses[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2010, 61: 263-289.
- [6] PEÑA MJ, KULKARNI AR, BACKE J, BOYD M, O'NEILL MA, YORK WS. Structural diversity of xylans in the cell walls of monocots[J]. *Planta*, 2016, 244(3): 589-606.
- [7] RENNIE EA, SCHELLER HV. Xylan biosynthesis[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2014, 26: 100-107.
- [8] VOINICIUC C. Modern mannan: a hemicellulose's journey[J]. *The New Phytologist*, 2022, 234(4): 1175-1184.
- [9] McCLEARY BV, MATHESON NK, SMALL DM. Galactomannans and a galactoglucomannan in legume seed endosperms: structural requirements for β -mannanase hydrolysis[J]. *Phytochemistry*, 1976, 15(7): 1111-1117.
- [10] BURTON RA, FINCHER GB. (1,3;1,4)- β -D-glucans in cell walls of the Poaceae, lower plants, and fungi: a tale of two linkages[J]. *Molecular Plant*, 2009, 2(5): 873-882.
- [11] CHANG SC, SALDIVAR RK, LIANG PH, HSIEH YSY. Structures, biosynthesis, and physiological functions of (1,3;1,4)- β -D-glucans[J]. *Cells*, 2021, 10(3): 510.
- [12] KANG X, KIRUI A, DICKWELLA WIDANAGE MC, MENTINK-VIGIER F, COSGROVE DJ, WANG T. Lignin-polysaccharide interactions in plant secondary cell walls revealed by solid-state NMR[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 347.
- [13] YANG HQ, YI N, ZHAO S, XIANG ZY, QASEEM MF, ZHENG B, LI HL, FENG JX, WU AM. Characterization of hemicellulose in Cassava (*Manihot esculenta Crantz*) stem during xylogenesis[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 264: 118038.
- [14] COSGROVE DJ. Growth of the plant cell wall[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2005, 6: 850-861.
- [15] PAULY M, ALBERSHEIM P, DARVILL A, YORK WS. Molecular domains of the cellulose/xyloglucan network in the cell walls of higher plants[J]. *The Plant*

- Journal: for Cell and Molecular Biology, 1999, 20(6): 629-639.
- [16] SOMERVILLE C, BAUER S, BRININSTOOL G, FACETTE M, HAMANN T, MILNE J, OSBORNE E, PAREDEZ A, PERSSON S, RAAB T, VORWERK S, YOUNGS H. Toward a systems approach to understanding plant cell walls[J]. Science, 2004, 306(5705): 2206-2211.
- [17] CAVALIER DM, LEROUXEL O, NEUMETZLER L, YAMAUCHI K, REINECKE A, FRESHOUR G, ZABOTINA OA, HAHN MG, BURGERT I, PAULY M, RAIKHEL NV, KEEGSTRA K. Disrupting two *Arabidopsis thaliana* xylosyltransferase genes results in plants deficient in xyloglucan, a major primary cell wall component[J]. The Plant Cell, 2008, 20(6): 1519-1537.
- [18] KAEWTHAI N, GENDRE D, EKLÖF JM, IBATULLIN FM, EZCURRA I, BHALERAO RP, BRUMER H. Group III-a *XTH* genes of *Arabidopsis* encode predominant xyloglucan endohydrolases that are dispensable for normal growth[J]. Plant Physiology, 2012, 161(1): 440-454.
- [19] GARCÍA MP, ZHANG Y, HAYES J, SALAZAR A, ZABOTINA OA, HONG M. Structure and interactions of plant cell-wall polysaccharides by two- and three-dimensional magic-angle-spinning solid-state NMR[J]. Biochemistry, 2011, 50(6): 989-1000.
- [20] PARK YB, COSGROVE DJ. A revised architecture of primary cell walls based on biomechanical changes induced by substrate-specific endoglucanases[J]. Plant Physiology, 2012, 158(4): 1933-1943.
- [21] PARK YB, COSGROVE DJ. Xyloglucan and its interactions with other components of the growing cell wall[J]. Plant and Cell Physiology, 2015, 56(2): 180-194.
- [22] SIMMONS TJ, MOHLER KE, HOLLAND C, GOUBET F, FRANKOVÁ L, HOUSTON DR, HUDSON AD, MEULEWAETER F, FRY SC. Hetero-trans- β -glucanase, an enzyme unique to *Equisetum* plants, functionalizes cellulose[J]. The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology, 2015, 83(5): 753-769.
- [23] HERBURGER K, FRANKOVÁ L, PIČMANOVÁ M, LOH JW, VALENZUELA-ORTEGA M, MEULEWAETER F, HUDSON AD, FRENCH CE, FRY SC. Hetero-trans- β -glucanase produces cellulose-xyloglucan covalent bonds in the cell walls of structural plant tissues and is stimulated by expansin[J]. Molecular Plant, 2020, 13(7): 1047-1062.
- [24] BUSSE-WICHER M, GOMES TCF, TRYFONA T, NIKOLOVSKI N, STOTT K, GRANTHAM NJ, BOLAM DN, SKAF MS, DUPREE P. The pattern of xylan acetylation suggests xylan may interact with cellulose microfibrils as a twofold helical screw in the secondary plant cell wall of *Arabidopsis thaliana*[J]. The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology, 2014, 79(3): 492-506.
- [25] SIMMONS TJ, MORTIMER JC, BERNARDINELLI OD, PÖPPLER AC, BROWN SP, DEAZEVEDO ER, DUPREE R, DUPREE P. Folding of xylan onto cellulose fibrils in plant cell walls revealed by solid-state NMR[J]. Nature Communications, 2016, 7: 13902.
- [26] KHODAYARI A, THIELEMANS W, HIRN U, van VUURE AW, SEVENO D. Cellulose-hemicellulose interactions-a nanoscale view[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 270: 118364.
- [27] GRANTHAM NJ, WURMAN-RODRICH J, TERRETT OM, LYCZAKOWSKI JJ, STOTT K, IUGA D, SIMMONS TJ, DURAND-TARDIF M, BROWN SP, DUPREE R, BUSSE-WICHER M, DUPREE P. An even pattern of xylan substitution is critical for interaction with cellulose in plant cell walls[J]. Nature Plants, 2017, 3: 859-865.
- [28] MARTÍNEZ-ABAD A, BERGLUND J, TORIZ G, GATENHOLM P, HENRIKSSON G, LINDSTRÖM M, WOHLERT J, VILAPLANA F. Regular motifs in xylan modulate molecular flexibility and interactions with cellulose surfaces[J]. Plant Physiology, 2017, 175(4): 1579-1592.
- [29] LI FC, REN SF, ZHANG W, XU ZD, XIE GS, CHEN Y, TU YY, LI Q, ZHOU SG, LI Y, TU F, LIU L, WANG YT, JIANG JX, QIN JP, LI SZ, LI QW, JING HC, ZHOU FS, GUTTERSON N, et al. Arabinose substitution degree in xylan positively affects lignocellulose enzymatic digestibility after various NaOH/H₂SO₄ pretreatments in *Miscanthus*[J]. Bioresource Technology, 2013, 130: 629-637.
- [30] LI FC, ZHANG ML, GUO K, HU Z, ZHANG R, FENG YQ, YI XY, ZOU WH, WANG LQ, WU CY,

- TIAN JS, LU TG, XIE GS, PENG LC. High-level hemicellulosic arabinose predominately affects lignocellulose crystallinity for genetically enhancing both plant lodging resistance and biomass enzymatic digestibility in rice mutants[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2015, 13(4): 514-525.
- [31] 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.
- WANG YT, XU ZD, PENG LC. Research progress in the groove structures of plant cell walls and biomass utilizations[J]. *Scientia Sinica (Vita)*, 2014, 44(8): 766-774 (in Chinese).
- [32] GAO Y, LIPTON AS, WITTMER Y, MURRAY DT, MORTIMER JC. A grass-specific cellulose-xylan interaction dominates in sorghum secondary cell walls[J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 6081.
- [33] TERRETT OM, LYCZAKOWSKI JJ, YU L, IUGA D, FRANKS WT, BROWN SP, DUPREE R, DUPREE P. Molecular architecture of softwood revealed by solid-state NMR[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 4978.
- [34] TERRETT OM, DUPREE P. Covalent interactions between lignin and hemicelluloses in plant secondary cell walls[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2019, 56: 97-104.
- [35] RALPH J, HELM RF, QUIDEAU S, HATFIELD RD. Lignin-feruloyl ester cross-links in grasses. Part 1. Incorporation of feruloyl esters into coniferyl alcohol dehydrogenation polymers[J]. *Journal of Chemical Society, Perkin Trans 1*, 1992(21): 2961-2969.
- [36] RALPH J, GRABBER JH, HATFIELD RD. Lignin-ferulate cross-links in grasses: active incorporation of ferulate polysaccharide esters into ryegrass lignins[J]. *Carbohydrate Research*, 1995, 275(1): 167-178.
- [37] JACQUET G, POLLET B, LAPIERRE C, MHAMDI F, ROLANDO C. New ether-linked ferulic acid-coniferyl alcohol dimers identified in grass straws[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1995, 43(10): 2746-2751.
- [38] WARD G, HADAR Y, BILKIS I, KONSTANTINOVSKY L, DOSORETZ CG. Initial steps of ferulic acid polymerization by lignin peroxidase[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(22): 18734-18741.
- [39] MARRIOTT PE, GÓMEZ LD, MCQUEEN-MASON SJ. Unlocking the potential of lignocellulosic biomass through plant science[J]. *The New Phytologist*, 2016, 209(4): 1366-1381.
- [40] CARNACHAN SM, HARRIS PJ. Ferulic acid is bound to the primary cell walls of all gymnosperm families[J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2000, 28(9): 865-879.
- [41] NISHIMURA H, KAMIYA A, NAGATA T, KATAHIRA M, WATANABE T. Direct evidence for a ether linkage between lignin and carbohydrates in wood cell walls[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 6538.
- [42] BÅÅTH JA, GIUMMARELLA N, KLAUBAUF S, LAWOKO M, OLSSON L. A glucuronoyl esterase from *Acremonium alcalophilum* cleaves native lignin-carbohydrate ester bonds[J]. *FEBS Letters*, 2016, 590(16): 2611-2618.
- [43] KIRUI A, ZHAO WC, DELIGEY F, YANG H, KANG X, MENTINK-VIGIER F, WANG T. Carbohydrate-aromatic interface and molecular architecture of lignocellulose[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 538.
- [44] VEGA-SÁNCHEZ ME, LOQUÉ D, LAO J, CATENA M, VERHERTBRUGGEN Y, HERTER T, YANG F, HARHOLT J, EBERT B, BAIDOO EEK, KEASLING JD, SCHELLER HV, HEAZLEWOOD JL, RONALD PC. Engineering temporal accumulation of a low recalcitrance polysaccharide leads to increased C6 sugar content in plant cell walls[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2015, 13(7): 903-914.
- [45] BURTON RA, COLLINS HM, KIBBLE NAJ, SMITH JA, SHIRLEY NJ, JOBLING SA, HENDERSON M, SINGH RR, PETTOLINO F, WILSON SM, BIRD AR, TOPPING DL, BACIC A, FINCHER GB. Over-expression of specific HvCslF cellulose synthase-like genes in transgenic barley increases the levels of cell wall (1,3;1,4)- β -D-glucans and alters their fine structure[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2011, 9(2): 117-135.
- [46] KRAEMER FJ, LUNDE CN, KOCH M, KUHN BM, RUEHL C, BROWN PJ, HOFFMANN P, GÖHRE V, HAKE S, PAULY M, RAMÍREZ V. A mixed-linkage (1,3;1,4)- β -D-glucan specific hydrolase mediates dark-triggered degradation of this plant cell wall

- polysaccharide[J]. *Plant Physiology*, 2021, 185(4): 1559-1573.
- [47] MORTIMER JC, FARIA-BLANC N, YU XL, TRYFONA T, SORIEUL M, NG YZ, ZHANG ZN, STOTT K, ANDERS N, DUPREE P. An unusual xylan in *Arabidopsis* primary cell walls is synthesised by GUX3, IRX9L, IRX10L and IRX14[J]. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology*, 2015, 83(3): 413-426.
- [48] PETERSEN PD, LAU J, EBERT B, YANG F, VERHERTBRUGGEN Y, KIM JS, VARANASI P, SUTTANGKAKUL A, AUER M, LOQUÉ D, SCHELLER HV. Engineering of plants with improved properties as biofuels feedstocks by vessel-specific complementation of xylan biosynthesis mutants[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2012, 5(1): 84.
- [49] BRANDON AG, BIRDSEYE DS, SCHELLER HV. A dominant negative approach to reduce xylan in plants[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2020, 18(1): 5-7.
- [50] WHITEHEAD C, OSTOS GARRIDO FJ, REYMOND M, SIMISTER R, DISTELFELD A, ATIENZA SG, PISTON F, GOMEZ LD, MCQUEEN-MASON SJ. A glycosyl transferase family 43 protein involved in xylan biosynthesis is associated with straw digestibility in *Brachypodium distachyon*[J]. *The New Phytologist*, 2018, 218(3): 974-985.
- [51] RUAN N, DANG ZJ, WANG MH, CAO LY, WANG Y, LIU ST, TANG YJ, HUANG YW, ZHANG Q, XU Q, CHEN WF, LI FC. FRAGILE CULM 18 encodes a UDP-glucuronic acid decarboxylase required for xylan biosynthesis and plant growth in rice[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2022, 73(8): 2320-2335.
- [52] SHEN BZ, SUN XG, ZUO X, SHILLING T, APGAR J, ROSS M, BOUGRI O, SAMOYLOV V, PARKER M, HANCOCK E, LUCERO H, GRAY B, EKBORG NA, ZHANG DC, JOHNSON JCS, LAZAR G, RAAB RM. Engineering a thermoregulated intein-modified xylanase into maize for consolidated lignocellulosic biomass processing[J]. *Nature Biotechnology*, 2012, 30: 1131-1136.
- [53] de O BUANAFINA MM, LANGDON T, DALTON S, MORRIS P. Expression of a *Trichoderma reesei* β -1,4 endo-xylanase in tall fescue modifies cell wall structure and digestibility and elicits pathogen defence responses[J]. *Planta*, 2012, 236(6): 1757-1774.
- [54] DERBA-MACELUCH M, AWANO T, TAKAHASHI J, LUCENIUS J, RATKE C, KONTRÓ I, BUSSE-WICHER M, KOSIK O, TANAKA R, WINZÉLL A, KALLAS Á, LEŚNIEWSKA J, BERTHOLD F, IMMERZEEL P, TEERI TT, EZCURRA I, DUPREE P, SERIMAA R, MELLEROWICZ EJ. Suppression of xylan endotransglycosylase PtxtXyn10A affects cellulose microfibril angle in secondary wall in aspen wood[J]. *The New Phytologist*, 2015, 205(2): 666-681.
- [55] PARK YW, BABA K, FURUTA Y, IIDA I, SAMESHIMA K, ARAI M, HAYASHI T. Enhancement of growth and cellulose accumulation by overexpression of xyloglucanase in poplar[J]. *FEBS Letters*, 2004, 564(1/2): 183-187.
- [56] KAIDA R, KAKU T, BABA K, OYADOMARI M, WATANABE T, NISHIDA K, KANAYA T, SHANI Z, SHOSEYOV O, HAYASHI T. Loosening xyloglucan accelerates the enzymatic degradation of cellulose in wood[J]. *Molecular Plant*, 2009, 2(5): 904-909.
- [57] GALLINARI RH, LYCZAKOWSKI JJ, LLERENA JPP, MAYES JLS, RABELO SC, MENOSSI TEIXEIRA M, DUPREE P, ARAUJO P. Silencing *ScGUX2* reduces xylan glucuronidation and improves biomass saccharification in sugarcane. *Plant Biotechnology Journal*, 2024, 22(3): 587-601.
- [58] MORTIMER JC, MILES GP, BROWN DM, ZHANG ZN, SEGURA MP, WEIMAR T, YU XL, SEFFEN KA, STEPHENS E, TURNER SR, DUPREE P. Absence of branches from xylan in *Arabidopsis gux* mutants reveals potential for simplification of lignocellulosic biomass[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(40): 17409-17414.
- [59] LYCZAKOWSKI JJ, WICHER KB, TERRETT OM, FARIA-BLANC N, YU XL, BROWN D, KROGH KBRM, DUPREE P, BUSSE-WICHER M. Removal of glucuronic acid from xylan is a strategy to improve the conversion of plant biomass to sugars for bioenergy[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2017, 10: 224.
- [60] LATHA GANDLA M, DERBA-MACELUCH M, LIU XK, GERBER L, MASTER ER, MELLEROWICZ EJ, JÖNSSON LJ. Expression of a fungal glucuronoyl esterase in *Populus*: effects on wood properties and

- saccharification efficiency[J]. *Phytochemistry*, 2015, 112: 210-220.
- [61] KONISHI T, AOYAMA T, IGASAKI T, HAYASHI N, MIYAZAKI Y, TAKAHASHI A, HIROCHIKA H, IWAI H, SATOH S, ISHII T. Down-regulation of UDP-arabinopyranose mutase reduces the proportion of arabinofuranose present in rice cell walls[J]. *Phytochemistry*, 2011, 72(16): 1962-1968.
- [62] SUMIYOSHI M, NAKAMURA A, NAKAMURA H, HAKATA M, ICHIKAWA H, HIROCHIKA H, ISHII T, SATOH S, IWAI H. Increase in cellulose accumulation and improvement of saccharification by overexpression of arabinofuranosidase in rice[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e78269.
- [63] CHEN C, ZHAO XH, WANG XC, WANG B, LI HL, FENG JX, WU AM. Mutagenesis of UDP-xylose epimerase and xylan arabinosyl-transferase decreases arabinose content and improves saccharification of rice straw[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2021, 19(5): 863-865.
- [64] BARTLEY LE, PECK ML, KIM SR, EBERT B, MANISSERI C, CHINIQUY DM, SYKES R, GAO LF, RAUTENGARTEN C, VEGA-SÁNCHEZ ME, BENKE PI, CANLAS PE, CAO PJ, BREWER S, LIN F, SMITH WL, ZHANG XH, KEASLING JD, JENTOFF RE, FOSTER SB, et al. Overexpression of a BAHD acyltransferase, *OsAt10*, alters rice cell wall hydroxycinnamic acid content and saccharification[J]. *Plant Physiology*, 2013, 161(4): 1615-1633.
- [65] de SOUZA WR, MARTINS PK, FREEMAN J, PELLNY TK, MICHAELSON LV, SAMPAIO BL, VINECKY F, RIBEIRO AP, Da CUNHA BADB, KOBAYASHI AK, de OLIVEIRA PA, CAMPANHA RB, PACHECO TF, MARTARELLO DCI, MARCHIOSI R, FERRARESE-FILHO O, dos SANTOS WD, TRAMONTINA R, SQUINA FM, CENTENO DC, et al. Suppression of a single *BAHD* gene in *Setaria viridis* causes large, stable decreases in cell wall feruloylation and increases biomass digestibility[J]. *The New Phytologist*, 2018, 218(1): 81-93.
- [66] MOTA TR, de SOUZA WR, OLIVEIRA DM, MARTINS PK, SAMPAIO BL, VINECKY F, RIBEIRO AP, DUARTE KE, PACHECO TF, de K V MONTEIRO N, CAMPANHA RB, MARCHIOSI R, VIEIRA DS, KOBAYASHI AK, de O MOLINARI PA, FERRARESE-FILHO O, MITCHELL RAC, MOLINARI HBC, dos SANTOS WD. Suppression of a BAHD acyltransferase decreases p-coumaroyl on arabinoxylan and improves biomass digestibility in the model grass *Setaria viridis*[J]. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology*, 2021, 105(1): 136-150.
- [67] POGORELKO G, FURSOVA O, LIN M, PYLE E, JASS J, ZABOTINA OA. Post-synthetic modification of plant cell walls by expression of microbial hydrolases in the apoplast[J]. *Plant Molecular Biology*, 2011, 77(4): 433.
- [68] REEM NT, POGORELKO G, LIONETTI V, CHAMBERS L, HELD MA, BELLINCAMPI D, ZABOTINA OA. Decreased polysaccharide feruloylation compromises plant cell wall integrity and increases susceptibility to necrotrophic fungal pathogens[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 630.
- [69] BADHAN A, JIN L, WANG YX, HAN SY, KOWALCZYS K, BROWN DC, AYALA CJ, LATOSZEK-GREEN M, MIKI B, TSANG A, McALLISTER T. Expression of a fungal ferulic acid esterase in alfalfa modifies cell wall digestibility[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2014, 7(1): 39.
- [70] de O BUANAFINA MM, LANGDON T, HAUCK B, DALTON S, MORRIS P. Expression of a fungal ferulic acid esterase increases cell wall digestibility of tall fescue (*Festuca arundinacea*)[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2008, 6(3): 264-280.
- [71] de O BUANAFINA MM, LANGDON T, HAUCK B, DALTON S, TIMMS-TARAVELLA E, MORRIS P. Targeting expression of a fungal ferulic acid esterase to the apoplast, endoplasmic reticulum or golgi can disrupt feruloylation of the growing cell wall and increase the biodegradability of tall fescue (*Festuca arundinacea*)[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2010, 8(3): 316-331.
- [72] FANELLI A, RANCOUR DM, SULLIVAN M, KARLEN SD, RALPH J, RIAÑO-PACHÓN DM, VICENTINI R, Da FRANCA SILVA T, FERRAZ A, HATFIELD RD, ROMANEL E. Overexpression of a sugarcane BAHD acyltransferase alters hydroxycinnamate content in maize cell wall[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 626168.
- [73] LI GT, JONES KC, EUDES A, PIDATALA VR, SUN

- J, XU F, ZHANG CC, WEI T, JAIN R, BIRDSEYE D, CANLAS PE, BAIDOO EEK, DUONG PQ, SHARMA MK, SINGH S, RUAN DL, KEASLING JD, MORTIMER JC, LOQUÉ D, BARTLEY LE, et al. Overexpression of a rice BAHD acyltransferase gene in switchgrass (*Panicum virgatum* L.) enhances saccharification[J]. BMC Biotechnology, 2018, 18(1): 54.
- [74] MÖLLER SR, LANCEFIELD CS, OATES NC, SIMISTER R, DOWLE A, GOMEZ LD, MCQUEEN-MASON SJ. CRISPR/Cas9 suppression of OsAT10, a rice BAHD acyltransferase, reduces p-coumaric acid incorporation into arabinoxylan without increasing saccharification[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 926300.
- [75] TIAN Y, LIN CY, PARK JH, WU CY, KAKUMANU R, PIDATALA VR, VUU KM, RODRIGUEZ A, SHIH PM, BAIDOO EEK, TEMPLE S, SIMMONS BA, GLADDEN JM, SCHELLER HV, EUDES A. Overexpression of the rice BAHD acyltransferase AT10 increases xylan-bound p-coumarate and reduces lignin in *Sorghum bicolor*[J]. Biotechnology for Biofuels, 2021, 14(1): 217.
- [76] XIONG GY, CHENG K, PAULY M. Xylan O-acetylation impacts xylem development and enzymatic recalcitrance as indicated by the *Arabidopsis* mutant *tbl29*[J]. Molecular Plant, 2013, 6(4): 1373-1375.
- [77] XIONG GY, DAMA M, PAULY M. Glucuronic acid moieties on xylan are functionally equivalent to O-acetyl-substituents[J]. Molecular Plant, 2015, 8(7): 1119-1121.
- [78] RASTOGI L, CHAUDHARI AA, SHARMA R, PAWAR PAM. *Arabidopsis* GELP7 functions as a plasma membrane-localized acetyl xylan esterase, and its overexpression improves saccharification efficiency[J]. Plant Molecular Biology, 2022, 109(6): 781-797.
- [79] PAWAR PMA, DERBA-MACELUCH M, CHONG SL, GÓMEZ LD, MIEDES E, BANASIAK A, RATKE C, GAERTNER C, MOUILLE G, MCQUEEN-MASON SJ, MOLINA A, SELLSTEDT A, TENKANEN M, MELLEROWICZ EJ. Expression of fungal acetyl xylan esterase in *Arabidopsis thaliana* improves saccharification of stem lignocellulose[J]. Plant Biotechnology Journal, 2016, 14(1): 387-397.
- [80] PAWAR PMA, DERBA-MACELUCH M, CHONG SL, GANDLA ML, BASHAR SS, SPARRMAN T, AHVENAINEN P, HEDENSTRÖM M, ÖZPARPUCU M, RÜGGERBERG M, SERIMAA R, LAWOKO M, TENKANEN M, JÖNSSON LJ, MELLEROWICZ EJ. *In muro* deacetylation of xylan affects lignin properties and improves saccharification of aspen wood[J]. Biotechnology for Biofuels, 2017, 10: 98.

(本文责编 陈宏宇)