

植物次生细胞壁加厚调控研究进展

黄成, 李来庚*

中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所植物分子遗传国家重点实验室, 上海 200032

摘要: 植物细胞壁是植物细胞的特征性结构。植物体中, 所有细胞都会形成初生壁的结构, 而一些特定组织的细胞会在初生细胞壁内侧进一步加厚形成次生壁, 为这些细胞实现正常生理功能和高等植物发育提供必需的结构。本文分别从转录水平调控、激素调控、加厚模式调控及人工调控等方面介绍目前对于次生细胞壁加厚调控的研究进展。

关键词: 次生细胞壁; 转录调控; 木质素; 纤维素

细胞壁是植物细胞区别于动物细胞的一种重要细胞结构。植物细胞完成分裂后, 由中间的细胞板区域开始形成初生细胞壁。一些特殊组织的细胞停止扩展后, 在质膜和初生细胞壁之间形成次生细胞壁。次生细胞壁从结构上可分为S1、S2、S3三层, 主要成分为纤维素、半纤维素和木质素。植物次生细胞壁大量存在于维管组织管状细胞和纤维细胞, 提供植物直立生长所需要的机械支撑力, 疏水性木质素的存在加固管状分子以抵抗负压, 使得植物体能够连续高效的运输水分。同时, 在植物生长过程中, 植物积累的大部分光合作用产物储存在次生细胞壁, 构成植物体结构, 是纤维材料和生物质能源原料的重要来源。

次生细胞壁是植物细胞特异分化后产生的细胞结构, 其加厚过程受到多种因素的调控。目前的研究发现植物体中存在复杂的多级转录网络作用于纤维素、半纤维素和木质素合成基因, 从而调控次生细胞壁加厚过程, 多种激素等信号因子也可能参与其中, 木质部纤维细胞和导管细胞次生壁加厚模式与皮层微管密切相关。同时, 由于木质纤维生物质是地球上重要的可再生资源, 人们试图通过各种方式调控次生壁加厚以获得可高效利用的木质纤维原料。本文就这几个方面的研究进展进行综述。

1 植物次生细胞壁加厚的转录水平调控

近十几年来关于次生壁转录调控有大量研究, 目前认为次生壁形成主要由一系列NAC转录因子和MYB转录因子形成分层次的网络逐级调控下游次生壁中纤维素、半纤维素和木质素的合成, 同时也有很多其他调控因子参与其中。最近一些文章对次生壁加厚转录调控进行了较详细的综述(Wang和Dixon 2012; Zhong和Ye 2015a; Nakano等2015)。

1.1 转录开关因子

拟南芥中有两类NAC (NAM、ATAF1/2、CUC2)结构域转录因子被发现作为转录开关因子分别调控维管组织导管细胞和纤维细胞次生壁合成。第一类VND (vascular-related NAC domain)基因家族VND1-7被认为参与导管细胞发育。在百日草悬浮细胞系中过表达VND6和VND7能诱导各种薄壁细胞转分化为具有环纹和螺纹加厚的原生导管细胞以及具有网纹和孔纹加厚的后生导管细胞, 显性抑制这2个基因能抑制拟南芥根中原生导管和后生导管的形成(Kubo等2005)。随后的研究发现单独抑制VND7的正常功能就能抑制拟南芥根和茎中所有类型导管的形成, 并且可能形成同源或与其他VND基因形成同源二聚体行使功能(Yamaguchi等2008)。VND1-5在拟南芥花序茎中特异表达在木质部, 过表达能激活次生壁合成途径转录因子和酶基因表达, 引起薄壁细胞异常加厚, 显性抑制VND3使花序茎导管次生壁变薄而塌陷, 这些结果表明VND1-5同VND6、VND7一起特异性调控导管细胞次生壁加厚(Zhou等2014)。第二类包括NST3/SND1 (NAC secondary wall thickening promoting factor 3/secondary wall-associated NAC domain protein 1)、NST1和NST2, 参与开启维管束间纤维细胞和木质部纤维细胞次生壁加厚(Zhong和Ye 2015a)。拟南芥NST3/SND1特异性表达在维管束间纤维及木质部纤维细胞, 异位过表达SND1能激活非厚壁细胞中的次生壁合成, 显性抑制SND1

收稿 2015-10-22 修定 2015-12-15

资助 国家自然科学基金(31130012)和国家重点基础研究项目(2012CB114502)。

* 通讯作者(E-mail: lgli@sibs.ac.cn)。

和*nst1snd1*双突变体都能够引起束间纤维和木质纤维次生壁厚度显著下降, 三者的同时突变能够使得纤维细胞次生壁加厚完全丢失(Zhong等2006; Mitsuda等2007; Zhong和Ye 2015b)。此外, 拟南芥花药开裂释放花粉过程需要药室内皮层发生次生壁加厚, *nst1nst2*双突变体中发现花药不能正常开裂而单突变体则正常, 证明*NST1*和*NST2*在花药次生壁加厚过程中冗余性地起作用(Mitsuda等2005)。

在*SND1*启动子的驱动下表达任何一个NAC转录开关因子都可以互补*snd1nst1*纤维细胞次生壁异常的表型, 说明它们可能开启相似的次生壁合成途径(Zhong等2010a)。对*SND1*启动子结合序列分析发现, NAC转录开关因子结合一段19 bp的共有序列(T/A)NN(C/T)(T/C/G)TNNNNNNA(A/C)GN(A/C/T)(A/T), 被称为SNBE序列(secondary wall NAC binding element)。NAC转录开关因子可以激活很多参与次生壁加厚过程的下游转录因子, 包括*SND2*、*SND3*、*MYB46*、*MYB85*、*MYB103*和*KNAT7*等(Zhong等2008), 也可以激活次生壁合成相关酶基因, 如纤维素合酶*CesA4*、*CesA7*、*CesA8*等, 另外, VNDs还调控木质部形成过程中参与细胞程序性死亡的基因*XCP1*和*XCP2* (Ohashi-Ito等2010; Zhong等2010a; Yamaguchi等2011)。

NAC类转录开关因子也受到调控, 包括激素和一些其他蛋白等, 激素的调控在后面专门介绍。ASL/LBD家族蛋白是植物特有的一类核蛋白, 其中*ASL19/LBD30*和*ASL20/LBD18*表达在未成熟导管细胞, 且依赖于*VND6*和*VND7*。*ASL19/LBD30*和*ASL20/LBD18*受*VND7*直接诱导, 过表达*LBD18*导致*VND7*的异位表达, 形成一个正反馈调控*VND7*的表达(Soyano等2008; Yamaguchi等2011)。含有NAC结构域的转录抑制子*VNI2*表达在延伸的导管前体细胞中, 与*VND7*表达重合, 体外实验证明*VNI2*与*VND7*以及其他VND成员相互作用, 并且抑制*VND7*的转录活性, 过表达*VNI2*造成拟南芥根导管细胞发育缺陷, 这些结果表明*VNI2*作为一个转录抑制子能够抑制*VND7*活性负调控木质部导管细胞形成(Yamaguchi等2010)。拟南芥茎髓部薄壁细胞中, *AtWRKY12*的缺失突变体上调*NST2*等次生壁相关转录因子, 导致异位次生壁沉积, 表明

*AtWRKY12*在茎髓中作为NAC转录因子的负调控因子维持薄壁细胞特性(Wang等2010)。*MYB26*的突变影响花药开裂, 其突变体和*nst1nst2*双突变表型类似, 并且*NST1*和*NST2*的表达都受到*MYB26*的调控, 这些结果说明花药内皮层加厚过程中*MYB26*在NAC家族转录因子的上游开启次生壁合成(Mitsuda等2005; Yang等2007)。

NAC类转录开关因子的同源基因存在于所有维管植物类群中, 从低等维管植物到被子植物都有分布(Zhong等2010c)。基因功能研究发现NAC类转录因子在杨树、水稻、玉米、苜蓿等多个物种中具有类似于拟南芥中次生壁合成开关功能(Zhao等2010; Zhong等2010b, 2011)。木本植物杨树中*SND1*同源基因*PtrWND1B*同样能够启动纤维细胞次生壁合成, 但不同的是*PtrWND1B*在转录水平上的可变剪切能够产生两个互相抑制的转录本, 过表达较短转录本能促进纤维细胞次生壁加厚, 而长转录本则抑制这一过程。木本植物发达的次生长过程中有大量细胞需要积累次生壁, 因此可能比草本植物有着更为复杂的调控机制(Li等2012b; Zhao等2014)。小立碗藓NAC蛋白突变体产生异常的水分疏导细胞和机械支持细胞, 过表达NAC基因诱导产生异位的水分疏导类似细胞, 表明次生壁转录调控在进化过程中具有高度保守性, 并且NAC蛋白在植物适应陆生环境中可能起到重要作用(Xu等2014)。

1.2 次级转录因子

MYB家族转录因子有很多成员被鉴定出是次生壁合成重要的次级调控因子, 大部分处于NAC转录开关的下游, 形成转录调控网络作用于次生壁各组分的合成(Zhong等2010c)。

*MYB46*和*MYB83*被两类NAC转录开关因子直接调控, 并且功能冗余性的开启次生细胞壁的合成。遗传学分析发现*MYB46*和*MYB83*双突变体产生比*nst1nst3*双突变更严重的次生壁合成缺陷, 过表达*MYB46*和*MYB83*能激活次生壁的各组分包括纤维素、木聚糖、木质素等合成基因的表达上调。这些研究结果表明*MYB46*和*MYB83*作为受到NAC转录因子调控的次级调控因子在纤维细胞和管状细胞次生壁沉积中有重要作用(Zhong等2007; Ko等2009; McCarthy等2009)。

在木本植物松树、桉树、杨树中鉴定到MYB46和MYB83的同源基因*PtMYB4*、*EgMYB2*、*PtrMYB3*和*PtrMYB20*等也能激活次生壁合成相关基因(Zhong等2010c)。火炬松和桉树MYB46同源基因*PtMYB4*和*EgMYB2*能结合木质素合成酶启动子上的AC元件,调控木质素合成(Patzlaff等2003; Goicoechea等2005)。有研究发现MYB46/MYB83结合一段序列为ACC(A/T)A(A/C)(T/C)的7 bp顺式作用元件SMRE (secondary wall MYB-responsive element),也有研究鉴定出序列为(T/C)ACC(A/T)A(A/C)(T/C)的8 bp结合元件M46R (MYB46-responsive *cis*-regulatory element),二者只相差一个碱基并且都包含AC元件(Kim等2012; Zhong和Ye 2012)。

全基因组分析发现MYB46和MYB83调控的基因不光包括很多参与次生壁调控的下游转录因子,还包括一系列次生壁合成基因,其中一些也受到NAC类转录开关的直接调控(Zhong和Ye 2012; Kim等2013)。转录组分析发现超过40个转录因子在MYB46/MYB83的下游,包括MYB20、MYB42、MYB43、MYB52、MYB54、MYB69、MYB85、MYB103、SND2、SND3等(Didi等2015)。这些转录因子都表达在具有次生壁的细胞中,大部分促进所有次生壁成分的合成,也有一些被发现对目标基因具有选择性。MYB58、MYB63、MYB85和MYB103被发现可以结合木质素单体合成途径中的酶类如4CL、F5H启动子上的AC元件,调控木质素单体合成(Zhong等2008; Zhou等2009; Öhman等2013)。NAC类转录开关因子激活次级开关MYB46/MYB83,二者同时直接激活下游转录因子和一些次生壁合成基因,MYB46/MYB83直接激活MYB58等转录因子,二者同时直接调控木质素单体合成基因的表达,植物形成了这种多级调控、前馈式的转录调控结构确保对次生壁合成的精确调控,并且这种调控网络在不同植物类群中具有高度保守性。

1.3 其他转录因子

在已知的次生壁调控网络中,大部分转录因子起到转录激活作用,也发现若干次生壁合成的转录抑制子。拟南芥MYB4是一个转录抑制子,调控所有木质素单体都需要的合成酶基因*C4H*的表达,其同源基因MYB32和MYB7也负调控木质素合

成途径(Jin等2000; Preston等2004)。这3个MYB转录因子被MYB46直接调控,体外瞬时转化原生质体和稳定转化拟南芥的转录激活实验都证明它们能抑制*SND1*表达,形成一个次生壁合成的负反馈调控网络(Wang等2011)。

拟南芥中具有同源异型结构域的转录因子*KNAT7*被SND1和MYB46直接调控,最初被鉴定为*IRX11*,因为其突变体产生不规则木质部(irregular xylem)的表型(Brown等2005; Zhong等2008; Ko等2009)。对*KNAT7*的研究发现它编码一个转录抑制因子,MYB75、OFP4和BLH均能和*KNAT7*相互作用并且OFP4、BLH和*KNAT7*的相互作用能促进*KNAT7*的转录抑制活性(Li等2011; Bhargava等2013; Liu等2014)。有意思的是*KNAT7*的突变体在导管细胞和纤维细胞中产生完全相反的表型。木质部导管细胞次生壁合成受阻,导致细胞壁塌陷产生不规则木质部,而维管束间纤维的次生壁厚度明显增加。因为有多个与之相互作用蛋白的存在,*KNAT7*可能和特定蛋白相互作用形成异源二聚体,以一种细胞特异性的方式对不同类型细胞的次生壁合成产生不同的调控效果。杨树中*KNAT7*能互补拟南芥突变体的表型,表明*KNAT7*在次生壁合成网络中的负调控作用在草本和木本植物之间是保守的(Li等2012a)。

植物特异的串联重复CCCH锌指基因*C3H14*是拟南芥中SND1和MYB46的直接下游转录因子,可以激活次生壁各种成分合成基因的表达(Ko等2009)。最近有研究发现同动物CCCH锌指基因类似,拟南芥*C3H14*具有直接结合mRNA的能力,芯片分析发现一些细胞壁合成相关基因很可能是*C3H14*的结合目标,表明拟南芥*C3H14*可能同时在转录水平和转录后水平参与次生壁合成调控,关于其具体机制还需要更多研究(Kim等2014)。

2 植物次生细胞壁加厚的激素调控

植物茎尖和根尖维管组织的形成起始于顶端分生组织的原形成层,这一过程受生长素、细胞分裂素、甾醇BR等植物激素信号途径的共同调控。百日草悬浮细胞分化研究中发现这些激素对形成层细胞分裂活性的维持以及导管细胞的分化诱导起重要作用(Fukuda 2004)。原形成层和束间薄壁细胞分化出维管形成层,继而向外分化出次

生韧皮部向内分化出次生木质部, 形成成熟的维管束。维管束中的导管细胞、纤维细胞以及束间纤维细胞的质膜和初生壁之间都具有次生细胞壁沉积, 目前发现一些证据表明植物激素在这些细胞的次生壁加厚过程中起到直接或间接的作用。

2.1 激素调控次生壁转录网络

对带有*VND6*、*VND7*启动子驱动GUS报告基因的拟南芥下胚轴施加外源生长素、细胞分裂素和BR, 5 d后观察GUS表达位置并且测定*VND6*、*7*转录水平表达量。三种外源生长物质单独或组合对*VND6*、*7*的表达起到非常复杂的效果。细胞分裂素抑制*VND6*、*7*的表达而生长素只抑制*VND6*, 然而二者同时却能促进*VND6*、*7*表达。BR促进*VND6*表达, BR和生长素一起没有明显作用, BR和细胞分裂素一起同时抑制*VND6*、*7*表达, 当三种外源生长物质共同作用能产生最明显的*VND6*、*7*表达量上调(Kubo等2005)。这些激素对*VND6*、*7*的调控机制目前还不清楚, 有研究发现外源生长素能加强*ASL20/LBD18*的表达, 可能通过*ASL20/LBD18*参与调控*VND7* (Soyano等2008)。

最近有研究报道水稻中赤霉素(GA)信号途径通过多级转录因子调控次生壁纤维素合酶基因表达。GA信号途径中核心步骤就是在GA存在时形成GA-GID1-DELLA蛋白复合体, 促使DELLA蛋白降解, 解除对靶基因的抑制, 开启下游通路。研究发现水稻中GA合成突变体和相应突变体纤维素含量下降, 次生壁纤维素合酶基因*CESA4/7/8*表达量下降, 而水稻DELLA蛋白编码基因*SLR1*突变体中则刚好相反。进一步多种体内外实验发现水稻中存在NACs-MYB61-CESAs调控途径, 而*SLR1*与NAC29/31的结合阻碍此通路发挥作用, GA存在时阻碍作用解除, 促进次生壁纤维素合成。拟南芥中验证了这一调控途径的存在, 说明这种次生壁纤维素合成调控途径在陆生植物中很可能是保守存在的(Huang等2015)。

拟南芥花发育过程中, 生长素信号途径突变体*tir1*和*afb1*的药室内壁过早产生次生壁成分沉积, 目前已知药室内壁次生壁沉积由*MYB26*开启, 外源施加生长素能够下调*MYB26*表达同时抑制药室内壁加厚, 表明生长素是花药发育过程中次生壁合成的负调控因子(Cecchetti等2013)。

2.2 激素调控次生壁合成基因

到目前为止, 很多激素被发现能够影响次生壁形态和构成, 暗示其可能参与纤维素、半纤维素及木质素合成基因的表达调控, 但是这种调控作用是直接完成还是通过转录调控网络或者其他激素途径完成的, 还没有太多证据证明(Didi等2015)。

BR能够促进细胞伸长, 并且和生长素协同作用调控木质部发生。BR信号与膜受体BRI1结合, 激活转录因子BES1, BES1再通过结合启动子上E-box调控目标基因表达。染色质免疫沉淀(CHIP)实验和遗传学证据表明BES1能结合除*CesA7*以外所有纤维素合酶基因启动子, BR-BES1信号途径可能通过调控*CesA4*、*8*参与次生壁合成调控(Xie等2011)。随后对BR合成基因*DIMI*的研究发现其RNAi干扰突变体中纤维素和木质素含量明显下降, 但是纤维素和木质素合成基因表达量同野生型相比没有差异, 相反木聚糖合成基因*IRX8*、*9*表达量明显上调(Hossain等2012)。

细胞分裂素对维管组织次生壁合成基因的作用还不清楚, 但是有一些证据表明细胞分裂素信号通路参与调控花药中次生壁成分的合成。AHP4是拟南芥中参与细胞分裂素多级信号传递的组氨酸磷酸转移蛋白(Hutchison等2006), 突变体*ahp4*花药内皮层次生壁加厚比野生型更强烈, 次生壁合成基因*IRX1/CesA8*、*IRX6*、*IRX8*以及细胞分裂素响应基因*ARR22*的表达量均上升, *AHP4*的过表达植株则刚好相反(Jung等2008)。这些证据表明*AHP4*相关的细胞分裂素信号途径可能通过抑制次生壁合成基因表达负调控花药中次生壁加厚。

过氧化物酶被认为可能参与木质素单体聚合, 生长素、细胞分裂素、BR、赤霉素能调控百日草中过氧化物酶*ZePRX*活性。生长素和细胞分裂素单独或者共同作用均能增强*ZePRX*活性, 而BR和赤霉素起活性抑制作用, 百日草中*ZePRX*的活性与下胚轴或根中维管细胞次生壁加厚正相关(Gutiérrez等2009; López Núñez-Flores等2010)。对*ZePRX*和拟南芥*PRX52*启动子序列分析发现存在多个激素结合元件, 同时也存在NAC和MYB转录因子结合元件, 说明以上四种激素可能直接或者通过转

录网络间接调控过氧化物酶的活性,影响次生壁加厚(Herrero等2014)。

3 植物次生细胞壁加厚模式的调控

维管系统管状细胞和纤维细胞的次生壁加厚受到严格的时空调控,并且次生壁成分按照一定的模式沉积。原生木质部导管处于可伸长状态,具有螺纹和环纹的次生细胞壁加厚;后生木质部导管在停止伸长之后,沉积出网纹和孔纹模式的次生壁,提供大部分的木质部水分运输能力;纤维细胞除一些用于物质运输的凹陷之外在细胞膜和初生壁之间沉积均匀的次生壁。次生壁的沉积依赖于很多蛋白的活性,其中最重要的就是定位于细胞膜上的纤维素合酶复合体(CSCs)。早期的研究者们发现皮层微管同纤维素微纤丝并行排列,使用药物破坏皮层微管结构导致微纤丝的定向发生变化,因此提出皮层微管介导CSCs移动并确定微纤丝合成方向的假设(Baskin 2001)。随后的研究验证了这一假设,观察黄色荧光蛋白标记的CSCs发现其沿着皮层微管形成的轨道移动(Paredes等2006),对拟南芥根木质部活细胞观察发现CSCs在皮层微管介导下通过依赖于肌动蛋白束的囊泡运输到达细胞膜上次生壁沉积位置(Wightman和Turner 2008)。近年来随着对皮层微管相关蛋白的鉴定和功能研究,皮层微管介导的细胞次生壁加厚模式的机制得到了一定程度的解析。

剑蛋白是一类广泛参与植物细胞微管装配的微管切割蛋白,拟南芥*fra2*突变体中鉴定到的剑蛋白基因*AtKTNI*参与维持皮层微管正常组织形态,从而影响纤维素微纤丝的沉积方向(Burk等2007)。*fra2*突变体表现出矮小、初生壁和次生壁厚度减小、次生壁分层结构缺失等表型。电子显微观察发现纤维素微纤丝在初生壁和次生壁中均发生方向异常的沉积,同时免疫定位发现皮层微管也丢失了正常的排列模式。这些研究给出了遗传和生化证据证明皮层微管直接介导具有分层结构的次生壁的正常合成(Burk等2001; Burk和Ye 2002)。拟南芥微管驱动蛋白基因*FRA1*和水稻同源基因*BC12*的突变能显著降低植物的机械强度,过表达*FRA1*增加纤维细胞次生壁层数,降低每层的厚度和纤维素含量,有研究认为*FRA1*和*BC12*同样参与皮层微管介导的微纤丝排列而导致这一表

型(Zhong等2002; Zhou等2007; Zhang等2010)。最近研究发现*fra1*突变体并未明显改变细胞壁的分及亚细胞结构,带有荧光标记的FRA1融合蛋白沿着皮层微管迁移并独立于纤维素合酶组分的移动,高尔基体小泡数量减少同时移动速率减小,说明FRA1蛋白并不参与纤维素合酶的运输及微纤丝合成,而参与驱动皮层微管介导的细胞壁成分膜泡运输(Zhu等2015)。

微管相关蛋白MAP65介导微管成束过程,利用免疫荧光方法观察百日草叶肉悬浮细胞中Ze-MAP65-1发现其定位于管状细胞皮层微管束。将ZeMAP65-1异源过表达于拟南芥悬浮细胞系,发现能诱导产生类似于木质部管状分子的横向皮层微管束(Mao等2006)。MAP70-5属于一类植物特有的70 kDa微管相关蛋白家族,在体外实验中被证明能够稳定微管(Korolev等2005, 2007)。对拟南芥细胞系木质化过程中微管相关蛋白表达变化的研究发现MAP70-5特异性表达在管状细胞分化时期,并且同MAP70-1相互作用影响次生壁加厚模式。过表达MAP70-5或MAP70-1促进螺纹管状细胞的形成,下调它们的表达导致管状细胞已加厚的次生壁解离。同时,MAP70-5定位于加厚次生壁边界的皮层微管束,这些结果表明MAP70-5和MAP70-1通过调控微管束组织在次生壁边界确定中起重要作用(Pesquet等2010)。

皮层微管束在次生壁加厚部位分布多而在加厚之间的凹陷部位分布少,这种模式的形成目前认为是由定位于无次生壁加厚的ROP11/MIDD1/Kinesin-13A复合体介导的(Zhong和Ye 2015a)。在拟南芥悬浮细胞体系中,MIDD1 (microtubule depletion domain 1)被VND6和VND7迅速诱导(Oda和Fukuda 2012),体外实验表明它能直接同微管结合。进一步研究发现,MIDD1蛋白有两个螺旋结构,一个结合皮层微管,另一个结合次生壁凹陷处的质膜上。RNA干扰降低MIDD1的表达使得皮层微管不能正常解聚,产生没有凹陷的细胞壁,而过表达MIDD1能降低皮层微管的密度(Oda等2010)。MIDD1被认为与活性形式的G蛋白ROP11相互识别,介导其次生壁凹陷处的特异性定位,然后充当脚手架蛋白招募Kinesin-13A。拟南芥Kinesin-13A蛋白同MIDD1蛋白的C端结构域直接相互作用,并

且具有体内的微管解聚活性, 下调或者上调*Kinesin-13A*的表达能分别减小或者增大管状细胞次生壁凹陷的范围(Mucha等2010; Oda和Fukuda 2013)。以上研究表明ROP11/MIDD1/Kinesin-13A复合体定位于皮层微管束边缘的质膜上, 解聚次生壁凹陷处的皮层微管, 阻止次生壁沉积, 最终形成不同的次生壁加厚模式。

木质素的定向沉积对细胞特异性次生壁加厚模式的形成也非常重要, 近几年来对其机制也有所研究。凯氏带是植物根的内皮层细胞径向壁和上下横向壁上以木质素为主要成分的局部加厚结构(Naseer等2012)。拟南芥凯氏带结构域蛋白CASPI被发现作为脚手架蛋白帮助参与木质素单体聚合的过氧化物酶PER64定位于内皮层。另外, 定位于凯氏带的NADPH氧化酶RBOHF提供活性氧给PER64催化木质素单体聚合反应, 形成精确的内皮层加厚结构即凯氏带(Lee等2013)。在拟南芥中, 漆酶LAC4和LAC17也参与了花序茎中的木质素单体聚合, 其中LAC17主要参与束间纤维的G木质素单体沉积(Berthet等2011)。在对*VND7*诱导原生导管分化的拟南芥细胞系研究中发现, 木质素单体转运蛋白均匀分布于分化中的细胞, 而LAC4和LAC17只定位于次生壁沉积部位, 这些结果表明木质素聚合酶的特异性定位可能是木质素沉积模式形成的重要原因(Schuetz等2014)。这种特异性定位是如何形成, 还有哪些因子参与调控次生壁加厚模式, 都有待于深入研究。

4 植物次生壁加厚的人工调控

维管植物的次生细胞壁中储存了大量植物光合作用固定的太阳能, 称为木质纤维素生物质, 是生物能源工业最可能利用的原料来源。木质纤维素生物质转化为可直接利用的酒精等生物燃料需要经过收集生物质材料、解构长链多糖成为五碳或六碳糖单位、混合糖转化为生物燃料, 即预处理、糖化、发酵三个过程(Rubin 2008)。

次生细胞壁中纤维素是可被糖化发酵的主要成分, 有研究表明纤维素的结晶度与水解速率呈负相关(Hall等2010), 对拟南芥的研究也发现*CESA3*突变体纤维素结晶度降低34%, 同时水解效率比野生型提高51% (Harris 等2009), 增加纤维素总含量降低纤维素结晶度是提高总糖化效率的可

行途径(Marriott等2015)。半纤维素多糖同纤维素微纤丝及木质素交联形成网络加固次生壁, 阻碍了纤维素酶对纤维素的水解作用, 因此半纤维素含量与糖化效率呈负相关。拟南芥参与半纤维素合成的糖基转移酶突变体及杨树糖基转移酶RNA干扰植株次生壁半纤维素含量均下降并且糖化效率升高(Lee等2009; Petersen等2012)。半纤维素侧链对次生壁糖化效率也有一定的影响, 一般认为侧链的存在加强了与纤维素微纤丝的交联程度, 抑制纤维素糖化作用, 因为半纤维素侧链取代在组成和结构上的复杂性, 其对生物质利用的作用还需要更多的解析(Marriott等2015)。木质素的存在不利于木质纤维素的预处理和糖化。对自然生长的毛果杨木进行酶解分析发现, 木质素含量与糖释放有很强的负相关性。由于G-木质素单体相对于S-木质素单体聚合更紧密更难从次生壁中去除, 因此提高S/G木质素单体比率也能得到更有利于生产的植物原料, 当S/G木质素单体比率高于2时, 糖释放效率高, 并且减轻木质素含量对糖释放的影响(Studer等2011)。

对次生壁改造的研究主要集中在如何降低木质素含量或者改善木质素组成和结构以得到可高效转化的能源植物。随着对木质素合成途径的认识逐渐完善, 出现了很多通过转基因的方法改造关键酶的研究报道。在山杨中转化反义抑制载体下调内源4-香豆酸辅酶A连接酶*4CL1*, 发现转基因植物的木质素含量产生约45%的下降, 同时纤维素的含量有15%的上升, 被认为是植物对木质素下调的补偿机制(Hu等1999)。在能源植物柳枝稷中下调咖啡酸5-O-甲基转移酶*COMT*能小幅度下调木质素总含量, 明显提高生物质的转化效率, 提高燃料乙醇的产量(Fu等2011)。在山杨中同时下调*4CL*和上调阿魏酸-5-羟基化酶*F5H*将木质素降低40%, S/G比率上升3倍, 同时也有约14%的纤维素含量上升, 说明对木质素单体合成的多基因调控可能得到更好的效果(Li等2003)。

在不同物种中的很多研究都表明下调一些合成关键酶的确能够降低木质素含量, 但是也发现木质素含量的剧烈下降影响植物正常生长。在杂交杨中下调*Ptr4CIL*, 大田实验发现转基因植株的木质素含量下降伴随生物量减少, 木材横切发现

红褐色多酚类物质积累增多,并且糖化效率没有明显提高,木质素含量和生物量的负相关被认为可能与植物输导组织受到破坏有关(Novaes等2010; Voelker等2010)。

最近有研究者在拟南芥中设计了一种下调木质素含量同时不影响植物生长的基因工程方法。肉桂酸-4-羟化酶*C4H*是所有木质素单体合成必需酶,拟南芥*c4h*突变体严重矮小,利用导管特异性启动子VND6p驱动*C4H*在导管中回补木质素合成途径,发现能使*c4h*突变体正常生长,在此基础上再转入糖基转移酶基因*IRX8*的启动子驱动的*NST1*来增加纤维细胞次生壁沉积,由此得到生长正常、木质素含量下降生物量升高且糖化效率增加的转基因拟南芥株系(Yang等2013)。这种方法需要木质素合成突变体以及导管特异性的启动子,在目前的能源植物中还很难得到应用,对毛果杨维管系统中细胞特异性启动子的筛选工作已有一些报道,未来有望使用这些启动子调控木质素含量得到可高效利用且生长正常的能源植物。

结合次生细胞壁调控网络和次生细胞壁各成

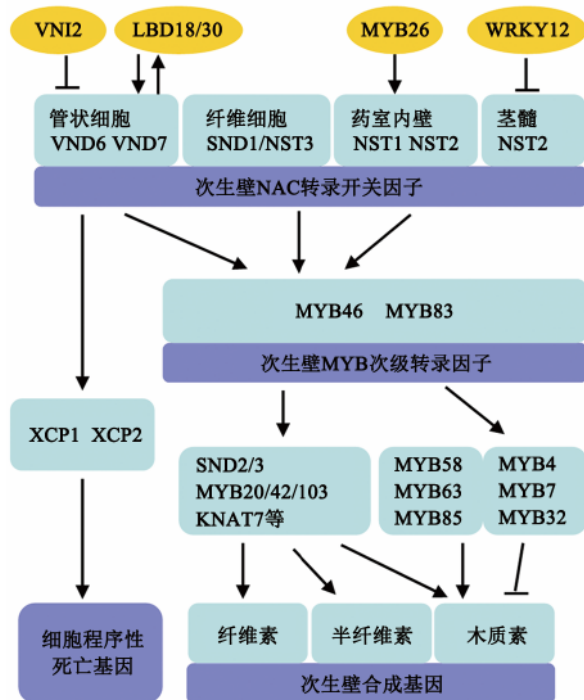


图1 次生细胞壁形成的转录调控网络

Fig.1 Transcriptional network governing secondary cell wall formation

分的合成途径,可以考虑改变一个或多个转录因子和合成基因的表达形成一个网络来改造次生壁的特性,这需要对次生壁合成调控的更细致的认识,还需要以候选能源植物为材料做更多研究。

5 总结与展望

植物次生细胞壁加厚是一个复杂的过程,根据已知的研究结果,包含了次生壁合成起始、次生壁合成转录调控、次生壁成分的合成运输以及特殊次生壁沉积模式的形成等。在转录水平上,图1总结了次生壁形成的调控网络,NAC转录因子*SND1*、*VND6*、*7*作为转录开关因子开启下游多级转录网络调控纤维细胞和导管细胞的次生壁合成。生长素、细胞分裂素、BR等植物激素对次生壁合成转录调控网络及次生壁合成基因的功能也有多方面的影响。

植物细胞在停止生长后会发生次生壁加厚,那么是细胞停止生长这一事件开启次生壁加厚还是次生壁加厚抑制细胞生长目前并不清楚,次生壁加厚的转录调控网络已经得到比较详细的解析,但是对于调控转录开关因子的上游信号以及转录后调控机制我们还知之甚少。植物维管组织细胞具有不同的次生壁加厚模式,导管细胞在皮层微管介导下沉积出环纹、螺纹、孔纹等次生壁,纤维细胞沉积均匀的次生壁,薄壁细胞不沉积次生壁,这种细胞特异性加厚模式的调控机制还有待揭示。加厚的次生细胞壁是木质纤维素生物质的主要组成,通过基因工程手段可以定向调控次生壁加厚相关的重要基因,得到更适于利用的木质纤维素材料,因此,对次生细胞壁加厚调控机制的解析具有十分重要的理论和应用意义。

参考文献

- Baskin T (2001). On the alignment of cellulose microfibrils by cortical microtubules: A review and a model. *Protoplasma*, 215 (1-4): 150-171
- Berthet S, Demont-Caulet N, Pollet B, Bidzinski P, Cézard L, Le Bris P, Borrega N, Hervé J, Blondet E, Balzergue S, et al (2011). Disruption of LACCASE4 and 17 results in tissue-specific alterations to lignification of *Arabidopsis thaliana* stems. *Plant Cell*, 23 (3): 1124-1137
- Bhargava A, Ahad A, Wang S, Mansfield S, Haughn G, Douglas C, Ellis B (2013). The interacting MYB75 and KNAT7 transcription factors modulate secondary cell wall deposition both in stems and seed coat in *Arabidopsis*. *Planta*, 237 (5): 1199-1211

- Brown DM, Zeef LAH, Ellis J, Goodacre R, Turner SR (2005). Identification of novel genes in *Arabidopsis* involved in secondary cell wall formation using expression profiling and reverse genetics. *Plant Cell*, 17 (8): 2281–2295
- Burk DH, Liu B, Zhong R, Morrison WH, Ye ZH (2001). A katanin-like protein regulates normal cell wall biosynthesis and cell elongation. *Plant Cell*, 13 (4): 807–827
- Burk DH, Ye ZH (2002). Alteration of oriented deposition of cellulose microfibrils by mutation of a katanin-like microtubule-severing protein. *Plant Cell*, 14 (9): 2145–2160
- Burk DH, Zhong R, Ye ZH (2007). The katanin microtubule severing protein in plants. *J Integr Plant Biol*, 49 (8): 1174–1182
- Cecchetti V, Altamura MM, Brunetti P, Petrocelli V, Falasca G, Ljung K, Costantino P, Cardarelli M (2013). Auxin controls *Arabidopsis* anther dehiscence by regulating endothecium lignification and jasmonic acid biosynthesis. *Plant J*, 74 (3): 411–422
- Didi V, Jackson P, Hejatko J (2015). Hormonal regulation of secondary cell wall formation. *J Exp Bot*, 66 (16): 5015–5027
- Fu C, Mielenz JR, Xiao X, Ge Y, Hamilton CY, Rodriguez M, Chen F, Foston M, Ragauskas A, Bouton J, et al (2011). Genetic manipulation of lignin reduces recalcitrance and improves ethanol production from switchgrass. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108 (9): 3803–3808
- Fukuda H (2004). Signals that control plant vascular cell differentiation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 5 (5): 379–391
- Goicoechea M, Lacombe E, Legay S, Mihaljevic S, Rech P, Jauneau A, Lapierre C, Pollet B, Verhaegen D, Chaubet-Gigot N, et al (2005). EgMYB2, a new transcriptional activator from eucalyptus xylem, regulates secondary cell wall formation and lignin biosynthesis. *Plant J*, 43 (3): 553–567
- Gutiérrez J, López Nunez-Flores M, Gómez-Ros L, Novo Uzal E, Esteban Carrasco A, Díaz J, Sottomayor M, Cuello J, Ros Barceló A (2009). Hormonal regulation of the basic peroxidase isoenzyme from *Zinnia elegans*. *Planta*, 230 (4): 767–778
- Hall M, Bansal P, Lee JH, Realf MJ, Bommarium AS (2010). Cellulose crystallinity—a key predictor of the enzymatic hydrolysis rate. *FEBS J*, 277 (6): 1571–1582
- Harris D, Stork J, Debolt S (2009). Genetic modification in cellulose-synthase reduces crystallinity and improves biochemical conversion to fermentable sugar. *GCB Bioenergy*, 1 (1): 51–61
- Herrero J, Esteban Carrasco A, Zapata JM (2014). *Arabidopsis thaliana* peroxidases involved in lignin biosynthesis: In silico promoter analysis and hormonal regulation. *Plant Physiol Biochem*, 80: 192–202
- Hossain Z, McGarvey B, Amyot L, Gruber M, Jung J, Hannoufa A (2012). DIMINUTO 1 affects the lignin profile and secondary cell wall formation in *Arabidopsis*. *Planta*, 235 (3): 485–498
- Hu WJ, Harding SA, Lung J, Popko JL, Ralph J, Stokke DD, Tsai CJ, Chiang VL (1999). Repression of lignin biosynthesis promotes cellulose accumulation and growth in transgenic trees. *Nat Biotech*, 17 (8): 808–812
- Huang D, Wang S, Zhang B, Shang-Guan K, Shi Y, Zhang D, Liu X, Wu K, Xu Z, Fu X, et al (2015). A gibberellin-mediated DELLA-NAC signaling cascade regulates cellulose synthesis in rice. *Plant Cell*, 27 (6): 1681–1696
- Hutchison CE, Li J, Argueso C, Gonzalez M, Lee E, Lewis MW, Maxwell BB, Perdue TD, Schaller GE, Alonso JM, et al (2006). The *Arabidopsis* histidine phosphotransfer proteins are redundant positive regulators of cytokinin signaling. *Plant Cell*, 18 (11): 3073–3087
- Jin H, Cominelli E, Bailey P, Parr A, Mehrtens F, Jones J, Tonelli C, Weisshaar B, Martin C (2000). Transcriptional repression by AtMYB4 controls production of UV-protecting sunscreens in *Arabidopsis*. *EMBO J*, 19 (22): 6150–6161
- Jung KW, Oh SI, Kim YY, Yoo KS, Cui MH, Shin JS (2008). *Arabidopsis* Histidine-containing Phosphotransfer factor 4 (AHP4) negatively regulates secondary wall thickening of the anther endothecium during flowering. *Mol Cells*, 25 (2): 294–300
- Kim WC, Kim JY, Ko JH, Kang H, Kim J, Han KH (2014). AtC3H14, a plant-specific tandem CCCH zinc-finger protein, binds to its target mRNAs in a sequence-specific manner and affects cell elongation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 80 (5): 772–784
- Kim WC, Ko JH, Han KH (2012). Identification of a *cis*-acting regulatory motif recognized by MYB46, a master transcriptional regulator of secondary wall biosynthesis. *Plant Mol Biol*, 78 (4–5): 489–501
- Kim WC, Ko JH, Kim JY, Kim J, Bae HJ, Han KH (2013). MYB46 directly regulates the gene expression of secondary wall-associated cellulose synthases in *Arabidopsis*. *Plant J*, 73 (1): 26–36
- Ko JH, Kim WC, Han KH (2009). Ectopic expression of MYB46 identifies transcriptional regulatory genes involved in secondary wall biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant J*, 60 (4): 649–665
- Korolev AV, Buschmann H, Doonan JH, Lloyd CW (2007). AtMAP70-5, a divergent member of the MAP70 family of microtubule-associated proteins, is required for anisotropic cell growth in *Arabidopsis*. *J Cell Sci*, 120 (13): 2241–2247
- Korolev AV, Chan J, Naldrett MJ, Doonan JH, Lloyd CW (2005). Identification of a novel family of 70 kDa microtubule-associated proteins in *Arabidopsis* cells. *Plant J*, 42 (4): 547–555
- Kubo M, Udagawa M, Nishikubo N, Horiguchi G, Yamaguchi M, Ito J, Mimura T, Fukuda H, Demura T (2005). Transcription switches for protoxylem and metaxylem vessel formation. *Genes Dev*, 19 (16): 1855–1860
- Lee C, Teng Q, Huang W, Zhong R, Ye ZH (2009). Down-regulation of PoGT47C expression in poplar results in a reduced glucuronoxylan content and an increased wood digestibility by cellulase. *Plant and cell physiology*, 50 (6): 1075–1089
- Lee Y, Rubio Maria C, Alassimone J, Geldner N (2013). A mechanism for localized lignin deposition in the endodermis. *Cell*, 153 (2): 402–412
- Li E, Wang S, Liu Y, Chen JG, Douglas CJ (2011). OVATE FAMILY PROTEIN4 (OFP4) interaction with KNAT7 regulates secondary cell wall formation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 67 (2): 328–341
- Li E, Bhargava A, Qiang W, Friedmann MC, Forneris N, Savidge RA, Johnson LA, Mansfield SD, Ellis BE, Douglas CJ (2012a). The class II KNOX gene KNAT7 negatively regulates secondary wall formation in *Arabidopsis* and is functionally conserved in *Popu-*

- lus*. *New Phytol*, 194 (1): 102–115
- Li L, Zhou Y, Cheng X, Sun J, Marita JM, Ralph J, Chiang VL (2003). Combinatorial modification of multiple lignin traits in trees through multigene cotransformation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100 (8): 4939–4944
- Li Q, Lin YC, Sun YH, Song J, Chen H, Zhang XH, Sederoff RR, Chiang VL (2012b). Splice variant of the SND1 transcription factor is a dominant negative of SND1 members and their regulation in *Populus trichocarpa*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 109 (36): 14699–14704
- Liu Y, You S, Taylor-Teeple M, Li WL, Schuetz M, Brady SM, Douglas CJ (2014). BEL1-LIKE HOMEODOMAIN6 and KNOTTED ARABIDOPSIS THALIANA7 interact and regulate secondary cell wall formation via repression of REVOLUTA. *Plant Cell*, 26 (12): 4843–4861
- López Núñez-Flores MJ, Gutiérrez J, Gómez-Ros LV, Novo Uzal E, Sottomayor M, Ros Barceló A (2010). Downregulation of the basic peroxidase isoenzyme from *Zinnia elegans* by gibberellic acid. *J Integr Plant Biol*, 52 (2): 244–251
- Mao G, Buschmann H, Doonan JH, Lloyd CW (2006). The role of MAP65-1 in microtubule bundling during *Zinnia* tracheary element formation. *J Cell Sci*, 119 (4): 753–758
- Marriott PE, Gómez LD, McQueen-Mason SJ (2015). Unlocking the potential of lignocellulosic biomass through plant science. *New Phytol*, doi: 10.1111/nph.13684
- McCarthy RL, Zhong R, Ye ZH (2009). MYB83 is a direct target of SND1 and acts redundantly with MYB46 in the regulation of secondary cell wall biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 50 (11): 1950–1964
- Mitsuda N, Iwase A, Yamamoto H, Yoshida M, Seki M, Shinozaki K, Ohme-Takagi M (2007). NAC transcription factors, NST1 and NST3, are key regulators of the formation of secondary walls in woody tissues of *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 19 (1): 270–280
- Mitsuda N, Seki M, Shinozaki K, Ohme-Takagi M (2005). The NAC transcription factors NST1 and NST2 of *Arabidopsis* regulate secondary wall thickenings and are required for anther dehiscence. *Plant Cell*, 17 (11): 2993–3006
- Mucha E, Hoeffle C, Hüchelhoven R, Berken A (2010). RIP3 and AtKinesin-13A – A novel interaction linking Rho proteins of plants to microtubules. *Eur J Cell Biol*, 89 (12): 906–916
- Nakano Y, Yamaguchi M, Endo H, Rejab NA, Ohtani M (2015). NAC-MYB-based transcriptional regulation of secondary cell wall biosynthesis in land plants. *Front Plant Sci*, 6: 288
- Naseer S, Lee Y, Lapiere C, Franke R, Nawrath C, Geldner N (2012). Casparian strip diffusion barrier in *Arabidopsis* is made of a lignin polymer without suberin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 109 (25): 10101–10106
- Noavaes E, Kirst M, Chiang V, Winter-Sederoff H, Sederoff R (2010). Lignin and biomass: A negative correlation for wood formation and lignin content in trees. *Plant Physiol*, 154 (2): 555–561
- Oda Y, Fukuda H (2012). Secondary cell wall patterning during xylem differentiation. *Curr Opin Plant Biol*, 15 (1): 38–44
- Oda Y, Fukuda H (2013). Rho of plant GTPase signaling regulates the behavior of *Arabidopsis* Kinesin-13A to establish secondary cell wall patterns. *Plant Cell*, 25 (11): 4439–4450
- Oda Y, Iida Y, Kondo Y, Fukuda H (2010). Wood cell-wall structure requires local 2D-microtubule disassembly by a novel plasma membrane-anchored protein. *Curr Biol*, 20 (13): 1197–1202
- Ohashi-Ito K, Oda Y, Fukuda H (2010). *Arabidopsis* VASCULAR-RELATED NAC-DOMAIN6 directly regulates the genes that govern programmed cell death and secondary wall formation during xylem differentiation. *Plant Cell*, 22 (10): 3461–3473
- Öhman D, Demedts B, Kumar M, Gerber L, Gorzsás A, Goeminne G, Hedenström M, Ellis B, Boerjan W, Sundberg B (2013). MYB103 is required for FERULATE-5-HYDROXYLASE expression and syringyl lignin biosynthesis in *Arabidopsis* stems. *Plant J*, 73 (1): 63–76
- Paredes AR, Somerville CR, Ehrhardt DW (2006). Visualization of cellulose synthase demonstrates functional association with microtubules. *Science*, 312 (5779): 1491–1495
- Patzlaff A, McInnis S, Courtenay A, Surman C, Newman LJ, Smith C, Bevan MW, Mansfield S, Whetten RW, Sederoff RR, et al (2003). Characterisation of a pine MYB that regulates lignification. *Plant J*, 36 (6): 743–754
- Pesquet E, Korolev AV, Calder G, Lloyd CW (2010). The microtubule-associated protein AtMAP70-5 regulates secondary wall patterning in *Arabidopsis* wood cells. *Curr Biol*, 20 (8): 744–749
- Petersen PD, Lau J, Ebert B, Yang F, Verhertbruggen Y, Kim JS, Varanasi P, Suttangkakul A, Auer M, Loqué D, et al (2012). Engineering of plants with improved properties as biofuels feedstocks by vessel-specific complementation of xylan biosynthesis mutants. *Biotechnol Biofuels*, 5 (1): 84
- Preston J, Wheeler J, Heazlewood J, Li SF, Parish RW (2004). AtMYB32 is required for normal pollen development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 40 (6): 979–995
- Rubin EM (2008). Genomics of cellulosic biofuels. *Nature*, 454 (7206): 841–845
- Schuetz M, Benske A, Smith RA, Watanabe Y, Tobimatsu Y, Ralph J, Demura T, Ellis B, Samuels AL (2014). Laccases direct lignification in the discrete secondary cell wall domains of protoxylem. *Plant Physiol*, 166 (2): 798–807
- Soyano T, Thitamadee S, Machida Y, Chua NH (2008). ASYMMETRIC LEAVES2-LIKE19/LATERAL ORGAN BOUNDARIES DOMAIN30 and ASL20/LBD18 regulate tracheary element differentiation in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 20 (12): 3359–3373
- Studer MH, DeMartini JD, Davis MF, Sykes RW, Davison B, Keller M, Tuskan GA, Wyman CE (2011). Lignin content in natural *Populus* variants affects sugar release. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108 (15): 6300–6305
- Voelker SL, Lachenbruch B, Meinzer FC, Jourdes M, Ki C, Patten AM, Davin LB, Lewis NG, Tuskan GA, Gunter L, et al (2010). Antisense down-regulation of 4CL expression alters lignification, tree growth, and saccharification potential of field-grown poplar. *Plant Physiol*, 154 (2): 874–886
- Wang H, Avci U, Nakashima J, Hahn MG, Chen F, Dixon RA (2010). Mutation of WRKY transcription factors initiates pith secondary wall formation and increases stem biomass in dicotyledonous plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 107 (51): 22338–22343

- Wang H, Zhao Q, Chen F, Wang M, Dixon RA (2011). NAC domain function and transcriptional control of a secondary cell wall master switch. *Plant J*, 68 (6): 1104–1114
- Wang HZ, Dixon RA (2012). On-off switches for secondary cell wall biosynthesis. *Mol Plant*, 5 (2): 297–303
- Wightman R, Turner SR (2008). The roles of the cytoskeleton during cellulose deposition at the secondary cell wall. *Plant J*, 54 (5): 794–805
- Xie L, Yang C, Wang X (2011). Brassinosteroids can regulate cellulose biosynthesis by controlling the expression of CESA genes in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 62 (13): 4495–4506
- Xu B, Ohtani M, Yamaguchi M, Toyooka K, Wakazaki M, Sato M, Kubo M, Nakano Y, Sano R, Hiwatashi Y, et al (2014). Contribution of NAC transcription factors to plant adaptation to land. *Science*, 343 (6178): 1505–1508
- Yamaguchi M, Kubo M, Fukuda H, Demura T (2008). VASCULAR-RELATED NAC-DOMAIN7 is involved in the differentiation of all types of xylem vessels in *Arabidopsis* roots and shoots. *Plant J*, 55 (4): 652–664
- Yamaguchi M, Mitsuda N, Ohtani M, Ohme-Takagi M, Kato K, Demura T (2011). VASCULAR-RELATED NAC-DOMAIN 7 directly regulates the expression of a broad range of genes for xylem vessel formation. *Plant J*, 66 (4): 579–590
- Yamaguchi M, Ohtani M, Mitsuda N, Kubo M, Ohme-Takagi M, Fukuda H, Demura T (2010). VND-INTERACTING2, a NAC domain transcription factor, negatively regulates xylem vessel formation in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 22 (4): 1249–1263
- Yang C, Xu Z, Song J, Conner K, Vizcay Barrena G, Wilson ZA (2007). *Arabidopsis* MYB26/MALE STERILE35 regulates secondary thickening in the endothecium and is essential for anther dehiscence. *Plant Cell*, 19 (2): 534–548
- Yang F, Mitra P, Zhang L, Prak L, Verherbruggen Y, Kim JS, Sun L, Zheng K, Tang K, Auer M, et al (2013). Engineering secondary cell wall deposition in plants. *Plant Biotechnol J*, 11 (3): 325–335
- Zhang M, Zhang B, Qian Q, Yu Y, Li R, Zhang J, Liu X, Zeng D, Li J, Zhou Y (2010). Brittle Culm 12, a dual-targeting kinesin-4 protein, controls cell-cycle progression and wall properties in rice. *Plant J*, 63 (2): 312–328
- Zhao Q, Gallego-Giraldo L, Wang H, Zeng Y, Ding SY, Chen F, Dixon RA (2010). An NAC transcription factor orchestrates multiple features of cell wall development in *Medicago truncatula*. *Plant J*, 63 (1): 100–114
- Zhao Y, Sun J, Xu P, Zhang R, Li L (2014). Intron-mediated alternative splicing of WOOD-ASSOCIATED NAC TRANSCRIPTION FACTOR1B regulates cell wall thickening during fiber development in *Populus* species. *Plant Physiol*, 164 (2): 765–776
- Zhong R, Burk DH, Morrison WH, Ye ZH (2002). A kinesin-like protein is essential for oriented deposition of cellulose microfibrils and cell wall strength. *Plant Cell*, 14 (12): 3101–3117
- Zhong R, Demura T, Ye ZH (2006). SND1, a NAC domain transcription factor, is a key regulator of secondary wall synthesis in fibers of *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 18 (11): 3158–3170
- Zhong R, Lee C, McCarthy RL, Reeves CK, Jones EG, Ye ZH (2011). Transcriptional activation of secondary wall biosynthesis by rice and maize NAC and MYB transcription factors. *Plant Cell Physiol*, 52 (10): 1856–1871
- Zhong R, Lee C, Ye ZH (2010a). Global analysis of direct targets of secondary wall NAC master switches in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 3 (6): 1087–1103
- Zhong R, Lee C, Ye ZH (2010b). Functional characterization of poplar wood-associated NAC domain transcription factors. *Plant Physiol*, 152 (2): 1044–1055
- Zhong R, Lee C, Ye ZH (2010c). Evolutionary conservation of the transcriptional network regulating secondary cell wall biosynthesis. *Trends Plant Sci*, 15 (11): 625–632
- Zhong R, Lee C, Zhou J, McCarthy RL, Ye ZH (2008). A battery of transcription factors involved in the regulation of secondary cell wall biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 20 (10): 2763–2782
- Zhong R, Richardson EA, Ye ZH (2007). The MYB46 transcription factor is a direct target of SND1 and regulates secondary wall biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 19 (9): 2776–2792
- Zhong R, Ye ZH (2012). MYB46 and MYB83 bind to the SMRE sites and directly activate a suite of transcription factors and secondary wall biosynthetic genes. *Plant Cell Physiol*, 53 (2): 368–380
- Zhong R, Ye ZH (2015a). Secondary cell walls: Biosynthesis, patterned deposition and transcriptional regulation. *Plant Cell Physiol*, 56 (2): 195–214
- Zhong R, Ye ZH (2015b). The *Arabidopsis* NAC transcription factor NST2 functions together with SND1 and NST1 to regulate secondary wall biosynthesis in fibers of inflorescence stems. *Plant Signal Behav*, 10 (2): e989746
- Zhou J, Qiu J, Ye ZH (2007). Alteration in secondary wall deposition by overexpression of the Fragile Fiber1 kinesin-like protein in *Arabidopsis*. *J Integr Plant Biol*, 49 (8): 1235–1243
- Zhou J, Zhong R, Ye ZH (2014). *Arabidopsis* NAC domain proteins, VND1 to VND5, are transcriptional regulators of secondary wall biosynthesis in vessels. *PLoS One*, 9 (8): e105726
- Zhou J, Lee C, Zhong R, and Ye ZH (2009). MYB58 and MYB63 are transcriptional activators of the lignin biosynthetic pathway during secondary cell wall formation in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 21 (1): 248–266
- Zhu C, Ganguly A, Baskin TI, McClosky DD, Anderson CT, Foster C, Meunier KA, Okamoto R, Berg H, Dixit R (2015). The Fragile Fiber1 kinesin contributes to cortical microtubule-mediated trafficking of cell wall components. *Plant Physiol*, 167 (3): 780–792

Research progress on regulation of plant secondary cell wall thickening

HUANG Cheng, LI Lai-Geng*

State Key Laboratory of Plant Molecular Genetics, Institute of Plant Physiology and Ecology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China

Abstract: The plant cell wall is unique characteristic of plant cells. In plants, all cells have primary cell wall while some cells in certain tissues form thickened secondary cell walls which are essential for higher plant development. This review summarizes recent studies of the regulation of secondary cell wall thickening including transcriptional regulation, hormonal regulation, regulation of wall-thicken patterns and engineering of secondary cell walls.

Key words: secondary cell wall; transcriptional regulation; lignin; cellulose

Received 2015-10-22 Accepted 2015-12-15

This research was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31130012) and the National Key Basic Research Program of China (Grant No. 2012CB114502).

*Corresponding author (E-mail: lgli@sibs.ac.cn).