

过氧化物酶调控木质素合成研究进展

龙国辉^{1,2,3} 武鹏雨^{1,2,3} 付嘉智^{1,2,3} 鹿宏丽^{1,2,3} 张锐^{1,2,3*}

¹新疆生产建设兵团塔里木盆地生物资源保护利用重点实验室,新疆阿拉尔 843300;

²塔里木大学植物科学学院,新疆阿拉尔 843300;

³南疆特色果树高效优质栽培与深加工技术国家地方联合工程实验室,新疆阿拉尔 843300)

摘要 在植物生长发育过程中,木质素合成是极其重要的。其代谢过程涉及多种酶类,而过氧化物酶(POD)就是这一过程的一个关键酶。本文从木质素合成途径、POD 酶学性质以及 POD 基因调控等方面综述过氧化物酶对木质素合成的调控,阐述了过氧化物酶与木质素合成的关系,介绍了过氧化物酶的类型、功能及基因层面的研究。

关键词 木质素;生物合成;过氧化物酶;研究进展

中图分类号 Q943 文献标识码 A

文章编号 1007-5739(2021)23-0047-03

DOI: 10.3969/j.issn.1007-5739.2021.23.019

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Research Progress on Regulation of Peroxidase on Lignin Synthesis

LONG Guohui^{1,2,3} WU Pengyu^{1,2,3} FU Jiazhi^{1,2,3} LU Hongli^{1,2,3} ZHANG Rui^{1,2,3*}

¹ Key Laboratory of Biological Resources Conservation and Utilization in Tarim Basin, Xinjiang Production and Construction Corps, Alar Xinjiang 843300;

² College of Plant Science, Tarim University, Alar Xinjiang 843300;

³ National and Local Joint Engineering Experiments of High-efficiency and High-quality Cultivation and Deep Processing Technology of Characteristic Fruit Trees in Southern Xinjiang, Alar Xinjiang 843300)

Abstract Lignin synthesis is extremely important in the process of plant growth and development, a variety of enzymes are involved in its metabolism, and peroxidase (POD) is a key enzyme in this process. This paper reviewed the regulation of peroxidase on lignin synthesis from the aspects of lignin synthesis pathway, POD enzymatic properties and POD gene regulation, expounded the relationship between peroxidase and lignin synthesis, introduced the type and function of peroxidase and the research on gene level.

Keywords lignin; biosynthesis; peroxidase; research progress

作为酚类聚合物之一的木质素,在所有陆生植物体内都有分布,其含量占生物总量的18%~35%^[1-2]。木质素作为植物细胞壁中次生壁的重要组成部分,与纤维素、半纤维素共同构成植物细胞壁的基本骨架^[3],保持了植物细胞壁的完整性,提高了植物的强度和硬度^[4]。木质素能显著提高植物细胞的疏水性和防渗透性^[5],有利于水分在植物体内远距离运输。此外,木质素还能对植物起到保护作用,可有效防御病虫害的侵染^[6]。

1 木质素合成途径

目前,普遍认为木质素分为对羟基苯基木质素(H-木质素)、愈创木基木质素(G-木质素)和紫丁香

基木质素(S-木质素)^[6]3种类型,这3种木质素单体则分别由香豆醇、松柏醇和芥子醇(图1)^[7]在植物体内经过一系列的生化反应过程得到^[8-9]。这个反应过程通常分为3个步骤:第一步是植物将CO₂固定,然后在体内经过一系列的代谢循环产生苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸等氨基酸的过程,称为莽草酸途径^[10],这是植物、细菌和真菌所特有的木质素代谢途径;第二步是将第一步中产生的几种氨基酸转化为羟基肉桂酸及其辅酶A酯类化合物的过程,称为苯丙烷代谢途径^[11],催化这个代谢过程的酶主要有苯丙氨酸解氨酶(PAL)、肉桂酸-4-羟基化酶(C₄H)、香豆酸-3-羟基化酶(C₃H)等^[12];第三步是将第二步中的产物转化为木质素单体的过程,称为木质素合成特异途径^[12]。这个途径分为上游和下游,催化上游的酶类主要有咖啡酸-O-甲基转移酶(COMT)、4-香豆酸辅酶A连接酶(4CL)、阿魏酸-5-羟基化酶(F5H)、咖啡酰辅酶A-O-甲基转移酶(CCoAOMT)等,催化下游的酶有肉桂酰辅酶A

基金项目 新疆生产建设兵团南疆重点产业创新发展支撑计划项目(2017DB006);研究生科研创新项目(TDGR I201909)。

作者简介 龙国辉(1995—),男,江西宜春人,在读硕士研究生。研究方向:果树遗传育种。

*通信作者

收稿日期 2021-05-04

还原酶(CCR)、肉桂醇脱氢酶(CAD)等^[13]。然后木质素单体再经过氧化物酶(POD)等催化脱氢聚合产生大分子木质素^[14]。

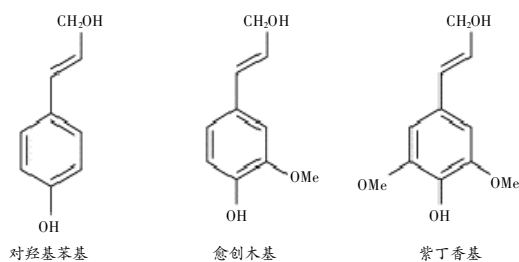


图1 木质素单体结构

2 过氧化物酶与木质素合成的关系

作为催化木质素生物合成最后一步反应的酶,过氧化物酶在此过程中起到的作用多样化^[15]。Yang等^[16]研究发现,用细胞壁降解酶(BcGS1)刺激番茄细胞,能激活番茄细胞的防御机制,避免植物受到进一步伤害。经过分析发现,番茄细胞在BcGS1作用下,能促进过氧化氢产生,而过氧化氢提高了过氧化物酶的活性,并进一步自发耦合产生单酚类自由基,形成木质素聚合物。这说明过氧化物酶能通过控制木质素合成阻止细胞进一步受损。以扁桃内果皮为材料,对比内果皮硬化前、中、后期的相关酶活性表明,随着内果皮木质化,木质素和纤维素含量均为增加,但酚类物质含量下降;PAL、C₄H、CAD、PPO的活性在内果皮硬化前期升高,而后期下降;POD的活性由酚类物质含量决定,二者成正相关关系,前期酚类物质参与木质素合成被消耗而含量下降时POD酶活性也下降^[17]。吴晓丽等^[18]研究发现,离体毛竹笋的纤维素、木质素含量与PAL、POD的活性成显著正相关关系,并且贮藏时间与酶活性、纤维素和木质素含量成显著正相关关系。文菁等^[19]研究发现,核桃内果皮硬化初期,PAL、POD活性较高,越到后期POD活性越低。这可能是前期酶活性较高,伴随着木质素的大量合成,程序性死亡的细胞增多,细胞内的养分流失,因而POD等酶的活性降低。吴嘉玲^[20]研究发现,POD可通过催化松柏醇聚合形成木质素,造成柚汁胞粒化。古湘^[21]研究发现,南丰蜜橘囊衣、汁胞的木质素含量与芥子醇和松柏醇含量成极显著正相关关系,而这2种醇又与POD活性成显著正相关关系,推测认为POD参与调节南丰蜜橘木质素合成过程。此外,过氧化物酶对木质素合成的调控作用因单体不同而存在差异。有研究表明,细胞壁中的过氧化物酶同工酶POD I、POD II、POD III对木质素单体的作用具有特异性^[22],如POD I对香豆醇和松柏醇的作用更显著,而POD III作用不明显。总而言之,

POD参与木质素合成过程,对木质素合成意义重大。

3 过氧化物酶学性质

3.1 过氧化物酶类型

除了来源于动物体内的过氧化物酶,细菌、真菌和植物体内存在其他的过氧化物酶超家族。按照作用部位不同可分为3类:第1类是胞内型过氧化物酶,如酵母细胞色素C过氧化物酶(CCP)等^[23];第2类是胞外型过氧化物酶,包括漆酶(Lac)、锰过氧化物酶(MnP)、木质素过氧化物酶(LiP)等^[24];第3类是分泌型过氧化物酶,即常见的植物过氧化物酶。植物过氧化物酶按照底物的不同又可分为3类^[25],第1类是谷胱甘肽过氧化物酶(GPX),第2类是抗坏血酸过氧化物酶(APX),第3类是愈创木酚过氧化物酶(PPOD)。其中GPX和APX能清除植物在生长发育过程中产生的H₂O₂、·OH、·O₂等活性氧^[26-27],对抵抗逆境胁迫具有重要作用;PPOD被证实与木质素合成有关。于娟娟^[28]在研究砒石酥梨细胞的木质素合成过程中发现,PPOD对石细胞和木质素含量的直接影响作用最大,更加印证了这一点。

3.2 过氧化物酶的功能

现有研究表明,第3类分泌型过氧化物酶对植物的抗逆反应、生长发育、果实褐变、木质素合成等生理过程起调节作用^[29]。王静等^[30]研究表明,从烟草中克隆的*NtPOD2*基因在根部的表达量高于茎、叶、花,这样便于快速对逆境作出反应,推测该基因参与了烟草的生长发育和抗逆反应。朱海生等^[31]采用cDNA末端快速克隆(RACE)和逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)技术克隆出了丝瓜果实的褐变基因*LcPOD*,实时荧光定量PCR分析表明,该基因的表达量、POD酶活性与丝瓜褐变有关。张旭等^[32]指出,柑橘汁胞粒化是木质素合成造成的,而POD是调控这一过程的关键酶之一。对于POD调控木质素合成的作用机理,有研究发现,在形成木质素单体之后,植物体产生过氧化氢,刺激POD将单体聚合成多聚体^[33]。

总之,POD在植物生长发育过程中发挥的作用非常大,能提高植物对外界环境的适应力,通过调控木质素合成,增加植物细胞的次生壁厚度,对细胞起到保护作用。但是这只是POD酶功能的一部分,更多功能还有待深入研究。

4 POD基因克隆及生物信息学分析

目前,许多学者已经从多种植物中克隆出了POD基因,并利用生物信息学分析方法及转基因技术对其结构与功能展开了一系列的研究。陈义挺等^[34]利用RT-PCR技术从猕猴桃中克隆出了2个POD基因,并

用在线工具分析了这 2 个基因的理化性质、亚细胞定位、保守结构域、二级结构和三级结构等。芮伟康^[35]从数据库中筛选出 114 个过氧化物酶基因构成 PRX 基因家族,然后采用实时荧光定量 PCR 方法对这些基因进行验证,再结合生物信息学分析手段,发现 *PbPRX6* 与砵山酥梨石细胞中的木质素合成密切相关;并对 *PbPRX6* 进行功能验证,通过 RT-PCR 技术进行扩增,再构建重组表达载体,通过农杆菌转化进入烟草,在激光共聚焦显微镜下观察到 *PbPRX6* 基因在细胞膜上表达,且与木质素聚合部位相同,推测该基因与木质素合成有关。陶书田^[36]克隆了砵山酥梨和幸水梨果实石细胞形成过程中的 POD 基因 *PB-POD* 和 *PP-POD*,两者相似性达 100%,与其他植物也极相似。经比对发现,这 2 种酶是过氧化物酶家族成员,具有相似的疏水性和相同的三级结构。王丹阳^[37]利用 RT-PCR 方法从砵山酥梨中克隆得到过氧化物酶基因 *POD1* 和 *POD2*,这 2 个基因的氨基酸序列都与沙梨的同源性最高;系统进化分析可知,这 2 种基因与蔷薇科的亲缘关系最近;亚细胞定位发现,其在细胞核中表达。刘玉倩^[38]研究发现,POD 参与刺梨果实发育后期的木质素合成,其编码的核苷酸长度为 432 bp,但是 POD 基因表达量与木质素及其单体含量表现不一致,推测该酶可能参与了其他代谢过程。代红艳等^[39]利用 RT-PCR 技术从山楂中克隆出 *CpPOD72* 基因,通过农杆菌法导入烟草进行遗传转化,结果发现,转基因烟草的木质素含量高于非转基因烟草,证明了山楂的 *CpPOD72* 基因与木质素合成有关。综上可知,在本木植物或草本植物中,POD 酶以多种形态、多种形式对木质素的合成起到了重要作用。

5 展望

木质素生物合成不但涉及多种酶类,还有 NAC、MYB、WRKY、bHLH 等转录因子的协同作用^[40],由此可以看出这一过程的复杂程度。目前,对过氧化物酶的功能及其基因的研究主要集中在植物抗逆等方面,而对过氧化物酶调控木质素合成方面的研究较少,因而对后者的研究有待进一步深入。

6 参考文献

- [1] MOTTIAR Y, VANHOLME R, BOERJAN W, et al. Designer lignins: harnessing the plasticity of lignification [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2016, 37: 190–200.
- [2] HUANG J, LIU C, REN L, et al. Studies on pyrolysis mechanism of syringol as lignin model compound by quantum chemistry [J]. *Journal of Fuel Chemistry and Technology*, 2013, 41(6): 657–666.
- [3] 朱玲, 贾昌路, 张锐. 木质素生物合成及其关键酶基因的研究进展 [J]. 塔里木大学学报, 2016, 28(3): 128–136.
- [4] 李丰成. 植物细胞壁结构特征与生物质高效利用分子机理研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2015.
- [5] WHETTEN R, SEDEROFF R. Lignin biosynthesis [J]. *The Plant Cell*, 1995, 7(7): 1001–1013.
- [6] 刘晓娜, 刘雪梅, 杨传平, 等. 木质素合成研究进展 [J]. *中国生物工程杂志*, 2007(3): 120–126.
- [7] HALPIN C. Investigating and manipulating lignin biosynthesis in the postgenomic era [J]. *Advances in Botanical Research*, 2004, 41: 63–106.
- [8] 付月, 薛永常. 木质素生物合成及其基因调控研究进展 [J]. *安徽农业科学*, 2006(9): 1766–1767.
- [9] 魏建华, 宋艳茹. 木质素生物合成途径及调控的研究进展 [J]. *植物学报*, 2001(8): 771–779.
- [10] 高原, 陈信波, 张志扬. 木质素生物合成途径及其基因调控的研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2007(2): 47–51.
- [11] 李金花, 张绮纹, 牛正田, 等. 木质素生物合成及其基因调控的研究进展 [J]. *世界林业研究*, 2007(1): 29–37.
- [12] 孔华, 郭安平, 郭运玲, 等. 木质素生物合成及转基因调控研究进展 [J]. *热带农业工程*, 2009, 33(5): 47–53.
- [13] 郭永翠, 秦江南, 张锐. 核桃内果皮木质素生物合成途径关键基因研究进展 [J]. *现代园艺*, 2019(7): 5–8.
- [14] JIA X L, WANG G L, XIONG F, et al. De novo assembly, transcriptome characterization, lignin accumulation and anatomic characteristics: novel insights into lignin biosynthesis during celery leaf development [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 8259–8273.
- [15] 梁艳荣, 胡晓红, 张颖力, 等. 植物过氧化物酶生理功能研究进展 [J]. *内蒙古农业大学学报(自然科学版)*, 2003(2): 110–113.
- [16] YANG C Y, LIANG Y B, QIU D W, et al. Lignin metabolism involves *Botrytis cinerea* BcGs1-induced defense response in tomato [J]. *BMC Plant Biology*, 2018, 18(1): 103.
- [17] 朱秋萍, 郭春苗, 木巴热克·阿尤普, 等. 扁桃内果皮木质化过程中相关酶活性的变化 [J]. *果树学报*, 2018, 35(9): 1079–1086.
- [18] 吴晓丽, 顾小平, 苏梦云, 等. 离体毛竹笋纤维素和木质素含量及 POD 和 PAL 活性研究 [J]. *林业科学研究*, 2008(5): 697–701.
- [19] 文菁, 赵书岗, 王红霞, 等. 核桃硬壳发育期内果皮木质素与相关酶活性的变化 [J]. *园艺学报*, 2015, 42(11): 2144–2152.
- [20] 吴嘉玲. 柚汁胞木质素解析与 POD 活性及同工酶谱分析 [D]. 福州: 福建农林大学, 2015.
- [21] 古湘. 南丰蜜橘木质素代谢与化渣的关系研究 [D]. 南昌: 江西农业大学, 2016.
- [22] 彭永康, 崔世民. 植物过氧化物酶的结构、催化反应及生理功能 [J]. *天津师大学报(自然科学版)*, 1993(2): 65–72.
- [23] 刘稳. 植物过氧化物酶超家族的分子结构 [J]. *生命科学*, 2002(4): 212–214.

(下转第 54 页)

加土壤有机质含量,但土壤有机质的增加是一个积累过程,仅通过施用一次含有有机质的肥料并不能显著增加土壤有机质含量。

3 结论与讨论

试验结果表明,施用微生物菌剂(十二季全营养)能显著提高马铃薯的出苗率,促进马铃薯生长,增加株高和叶片数量,提高光合作用效率,促进增产。同时,施用微生物菌剂(十二季全营养)能提高马铃薯的开花率,显著提高马铃薯块茎的重量和马铃薯的单株重,并可提高马铃薯产量(较施用复合肥提高 26.55%,较不施肥提高 130.93%)。

很多研究表明,植物病害与土壤微生物活性和种类的变化有关,而增施微生物菌剂(十二季全营养)可以预防土传病害^[8-9]。施用微生物菌剂(十二季全营养)能够降低青枯病和根腐病的发病率,提高植株抗逆性。另外,施用微生物菌剂(十二季全营养)能有效改善土壤团粒结构,补充土壤有机质,中和酸性土壤,固定和活化土壤营养,平衡土壤养分供给,保水保肥,增

(上接第 49 页)

- [24] 崔堂武,袁波,凌晨,等.木质素降解酶的酶活测试方法的评价与分析[J].化工进展,2020,39(12):5189-5202.
- [25] 孟艳艳,范术丽,宋美珍,等.Class III 过氧化物酶在植物中的作用及其研究进展[J].西北植物学报,2011,31(9):1908-1916.
- [26] 乔新荣,张继英.植物谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)研究进展[J].生物技术通报,2016,32(9):7-13.
- [27] 李惠华,赖钟雄.植物抗坏血酸过氧化物酶研究进展(综述)[J].亚热带植物科学,2006(2):66-69.
- [28] 于娟娟.砧山酥梨石细胞发育过程中 POD 酶学特性及 POD 克隆[D].合肥:安徽农业大学,2011.
- [29] 程华,李琳玲,王燕,等.银杏过氧化物酶基因 *POD1* 的克隆及表达分析[J].华北农学报,2010,25(6):44-51.
- [30] 王静,刘仑,杨勇,等.烟草过氧化物酶基因 *NiPOD2* 的克隆及表达分析[J].生物技术通报,2019,35(12):24-30.
- [31] 朱海生,刘建汀,王彬,等.丝瓜过氧化物酶基因的克隆及其在果实褐变中的表达分析[J].农业生物技术学报,2018,26(1):43-52.
- [32] 张旭,王小佳,黎思辰,等.柑橘果实粒化过程中木质素

(上接第 51 页)

- 以苏州市为例[D].南京:南京师范大学,2020.
- [4] 刘德兴,荆鑫,焦娟,等.嫁接对番茄产量、品质及耐盐性影响的综合评价[J].园艺学报,2017(6):1094-1104.
- [5] 罗爱华,李文甲,任辉丽,等.茄子砧木嫁接番茄对生长发育特性及产量品质的影响[J].黑龙江农业科学,2017(7):45-48.

强土壤肥力。

4 参考文献

- [1] 李楠.脱毒马铃薯地膜覆盖栽培技术[J].科学种养,2014(增刊1):45-46.
- [2] 张杰.马铃薯秋种栽培技术要点[J].南方园艺,2013,24(4):47-48.
- [3] 张莉,庞绍华,刘红波,等.微生物菌剂对小白菜生物学性状及产量的影响[J].现代农业,2016(6):34-36.
- [4] 吴申姬.关于微生物肥料研究现状及发展趋势[J].生物技术世界,2015(3):191-192.
- [5] 钱建民.微生物制剂对土壤肥力及马铃薯产量品质的影响[D].哈尔滨:东北农业大学,2015.
- [6] 缪作清,李世东.防病生物有机肥在设施蔬菜生产中的应用[J].中国蔬菜,2013(11):22-24.
- [7] 陆洋.微生物肥料对茶叶产量与品质的影响[D].广州:华南农业大学,2016.
- [8] 杨颂,杨利民.微生物菌剂在农业生产上的应用[J].吉林农业,2015(12):86-87.
- [9] 关冰,王慧新,吴占鹏,等.花生连作对土壤性状影响及缓解措施研究进展[J].农业科技通讯,2014(6):250-253.
- 生物合成与调控研究进展[J].浙江农业学报,2019,31(12):2131-2140.
- [33] BARCELO A R, ROS L V, CARRASCO A E. Looking for syringyl peroxidases[J]. Trends in Plant Science, 2007, 12(11):486-491.
- [34] 陈义挺,赖瑞联,冯新,等.猕猴桃 POD 基因的克隆和表达分析[J].热带亚热带植物学报,2019,27(1):11-18.
- [35] 芮伟康.钙与过氧化物酶在梨石细胞合成中的关系[D].南京:南京农业大学,2017.
- [36] 陶书田.梨(Pyrus)果实石细胞的结构成分分析及相关酶基因的克隆[D].南京:南京农业大学,2009.
- [37] 王丹阳.木质素代谢相关酶在梨石细胞合成中的作用[D].南京:南京农业大学,2014.
- [38] 刘玉倩.刺梨果实中木质素合成及相关基因的表达分析[D].贵阳:贵州大学,2015.
- [39] 代红艳,闫玉娇,李晓明,等.山楂过氧化物酶基因的克隆及在烟草中异位表达分析[J].果树学报,2015,32(6):1070-1076.
- [40] 郭光艳,柏峰,刘伟,等.转录因子对木质素生物合成调控的研究进展[J].中国农业科学,2015,48(7):1277-1287.
- [6] 高方胜,王磊,徐坤.砧木与嫁接番茄产量品质关系的综合评价[J].中国农业科学,2014,47(3):605-612.
- [7] 吴绍军,孟佳丽,王夏雯,等.托鲁巴姆嫁接对番茄生长、产量和品质的影响[J].福建农业学报,2019,34(2):192-197.
- [8] 白燕.我区研制成功枸杞与番茄嫁接技术[N].宁夏日报,2010-03-03(6).