

研究评述

A Review

木质素生物合成相关酶基因调控的研究进展

吕淑萍[✉], 倪志勇[✉], 范玲[✉]

新疆农业科学院核技术生物技术研究所, 乌鲁木齐, 830091

✉ 通讯作者: fanling@xaas.ac.cn; ✉ 作者

分子植物育种, 2011 年, 第 9 卷, 第 75 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0075

收稿日期: 2011 年 05 月 03 日

接受日期: 2011 年 05 月 20 日

发表日期: 2011 年 06 月 15 日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式:

吕淑萍等, 2011, 木质素生物合成相关酶基因调控的研究进展, 分子植物育种 Vol.9 No.75 (doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0075)

摘要 木质素是由 3 种不同的木质素单体聚合而成的, 其含量和单体组成与植物体的许多功能密切相关。木质素的生物合成首先是通过莽草酸途径在一系列酶的催化作用下转化为芳香族氨基酸, 在苯丙氨酸解氨酶 PAL 的作用下形成反式肉桂酸, 经过羟基化、甲基化等一系列反应形成木质素单体, 最后木质素单体聚合形成木质素。本文根据其反应过程介绍与木质素生物合成中关键酶基因的研究进展。此外, 从木质素特异性启动子以及转录因子的调控等方面介绍了木质素生物合成基因调控的研究趋势。完整的介绍了木质素生物合成途径及其基因调控的研究进展, 并对今后的研究进行了展望。

关键词 木质素; 木质素生物合成; 基因调控

Recent Advance in Study of Lignin Biosynthesis Enzymes Gene Regulatory Research

Lv Shuping[✉], Ni Zhiyong[✉], Fan Ling[✉]

Institute of Nuclear and Biological Technologies, Urumqi, 830091, P.R. China

✉ Corresponding author, fanling@xaas.ac.cn; ✉ Authors

Abstract Lignin is a three different monomers lignin aggregate of its content and admixture with plants of the many functions related. The synthesis of lignin begin with shikimic acid, it transform to aromatic amino acid under promotion of a series of enzyme. The aromatic amino acid is formed trans-cinnamic acid by PAL, then, it became lignin monomers after a series of reactions. Finally, lignin monomers aggregate form lignin. The recent advance in study of lignin biosynthesis is involved in this article by course of reaction. In addition, Lignin biosynthesis gene regulatory research would be introduced by xylem-specific promoters, and transcription factors and so on. Finally, The developments of lignin biosynthesis and genetic regulation are reviewed and the prospect for further development is also made herein.

Keywords Lignin; Lignin biosynthesis; Gene regulation

研究背景

木质素是地球上数量上仅次于纤维素的有机物, 占生物圈有机碳的30%(李金花等, 2007)。木质素是包围在木纤维等管束细胞和厚壁细胞壁外的一类物质, 由苯丙烷衍生物以醚键或碳键(少数)连接而成, 其分子量从几百到几百万。由于木质素是由香豆醇、松柏醇和芥子醇三种不同的单体聚合而成, 因此可将木质素分为紫丁香基木质素(S-木质素)、愈创木基木质素(G-木质素)和对一羟苯基木质素(H-木质素)3种类型(付伟等, 2004, 生物学通报, 39(2): 12-14)。木质素是维管植物进化过程中的

结构产物之一, 在细胞壁木质化过程中, 逐步渗入到细胞壁, 填充于纤维素构架内, 加大了细胞壁的硬度, 增强了细胞的机械支持力或抗压强度, 促进机械组织的形成, 又由于木质素具有高硬度、水不溶性、难降解以及多酚类物质的化学特性, 使得它在植物体中起着支持植物体、水分输导以及增强抵抗病虫害等的重要作用(陈永忠等, 2003)。

紫外差异显微镜和扫描电子显微镜分析表明, 木质素合成最初发生在原生细胞壁中, 然后沿着径向壁扩展; 次生壁的木质化比细胞角发生得更早一些, 在多糖合成活跃的位置木质化速度较慢, 初生

木质部中的射线细胞也能以加厚的方式沉积木质素(林鹿等, 1998)。木质素的合成首先是通过莽草酸途径在一系列酶的催化作用下转化为芳香族氨基酸(如苯丙氨酸, 酪氨酸和色氨酸等), 在苯丙氨酸解氨酶 PAL 的作用下形成反式肉桂酸, 经过甲基化酶等一系列反应形成木质素单体, 最后木质素单体聚合形成木质素(李伟等, 2003)。如图 1 所示。本文综述了一些木质素生物合成相关酶基因的研究进展, 意在为解决更多实际应用中的问题和改良植物品质提供依据。

1 木质素单体的合成

木质素单体的合成是经过苯丙酸途径进行的, 首先苯丙氨酸(或酪氨酸)脱氨形成肉桂酸, 而后通

过羟基化、甲基化及还原反应, 最终生成木质素的 3 种主要单体。

1.1 苯丙烷类代谢途径的起始反应

苯丙烷类代谢途径起始反应涉及两种酶, 分别是苯丙氨酸解氨酶(PAL), 酪氨酸解氨酶(TAL, 仅存在于草本植物中)(金顺玉等, 2008)。

1.1.1 苯丙氨酸解氨酶(PAL)

苯丙氨酸解氨酶(Phenylalanine Ammonia-Lyase, PAL)催化 L-苯丙氨酸脱氨生成反式肉桂酸, 是苯丙烷类代谢途径的限速酶, PAL 对苯丙烷类代谢起一个总开关作用, 它并非特异地参与木质素单体的合成, 它同时也是非木质素酚类物质合成的中间环节。

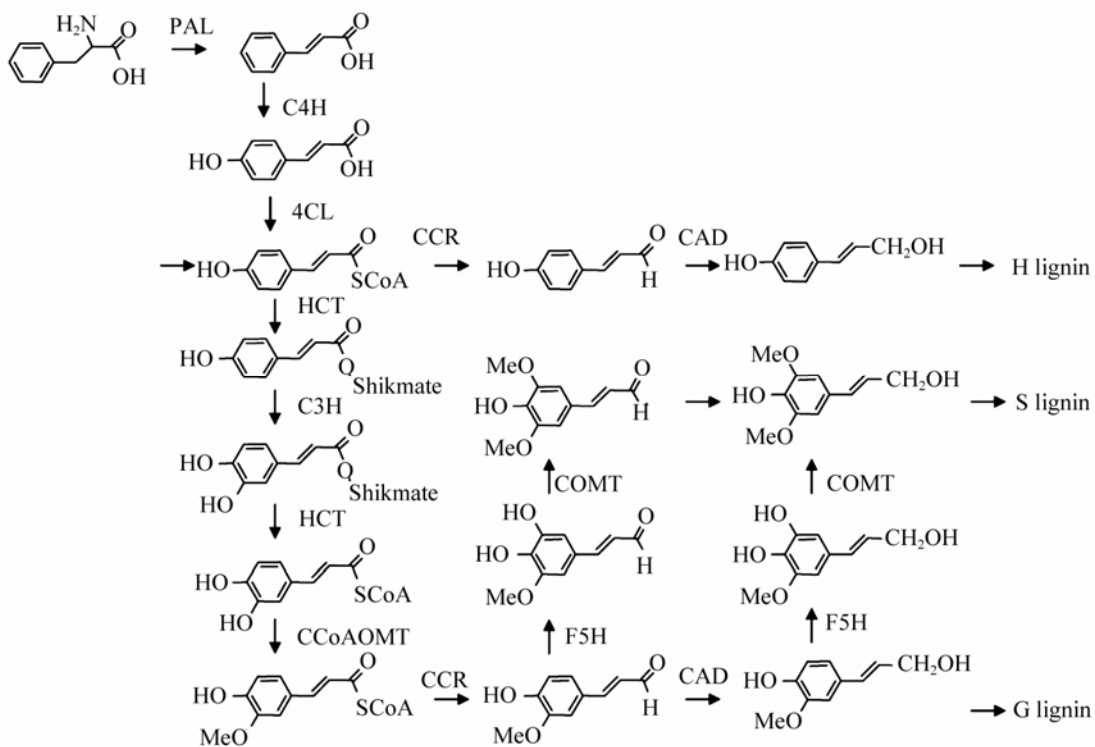


图1 木质素合成一般途径(Jeroen et al., 2003)

注: PAL: 苯丙氨酸氨基裂解酶; C4H: 肉桂酸-4-羟基化酶; 4CL: 4-香豆酸辅酶A连接酶; C3H: 香豆酸-3-羟基化酶; CCoAOMT: 咖啡酰辅酶A-O-甲基转移酶; CCR: 肉桂酰辅酶A还原酶; CAD: 肉桂醇脱氢酶; SAD: 芥子醇脱氢酶; COMT: 咖啡酸/5-羟基阿魏酸-O-甲基转移酶; F5H: 阿魏酸-5-羟基化酶; HCT: 莽草酸/奎宁酸羟基肉桂酰转移酶

Figure 1 The monolignol biosynthetic pathway (Jeroen et al., 2003)

Note: PAL: phenylalanine-ammonia-lyase; C4H: Cinnamate4-hydroxylase; 4CL: 4-hydroxycinnamoy-CoAligase; C3H: p-coumarate3-hydroxylase; CCoAOMT: Caffeoyl-CoA O-methyltransferase; CCR: Cinnaamoyl-CoA reductase; CAD: Cinnamyl-alcohol dehydrogenase; SAD: Sinapyl alcohol dehydrogenase; COMT: Caffeic/5-hydroxyferulic acid O-methyltransferase; F5H: Ferulate5-hydroxylase; HCT: shikimate/quinate hydroxyeinnamoyhransferase

木质素含量的下降最早在抑制PAL表达的转基因烟草中发现, 研究发现当PAL的表达受到抑制时, 它们的生长发育亦受到了严重的影响(章霄云等, 2006)。魏建华等的研究表明: 只有PAL抑制到一定程度时才影响木质素的合成, 而且抑制PAL的转基因植物木质素含量下降的同时还伴随着植物体非正常生长(魏建华等, 2001)。宋福南等(2009)对白桦苯丙氨酸解氨酶(PAL)基因的分离及其表达的研究说明: PAL基因在不同组织中的表达是有差异的, 可能行使不同的功能。由于PAL可以严重影响植物的生长发育, 所以在改良植物品质提高植物生长的研究中应该更加重视PAL的研究, 又由于它在不同植物和组织中的表达和功能不同, 所以研究同一植物不同组织之中PAL的表达和功能, 可以更明确地改良某一植物特定组织的品质。

1.1.2 酪氨酸解氨酶(TAL)

TAL也位于苯丙酸途径的入口, 与PAL不同的是TAL仅存在于禾草类植物中, 而且TAL催化酪氨酸脱氨直接生成4-羟基肉桂酸。在稻科植物中, 木质素生物合成的一个分支就是酪氨酸在酪氨酸解氨酶(TAL)的作用下转化为对香豆酸, 而酪氨酸解氨酶(TAL)是该途径的限速酶, 其酶活性随着植株的肥大生长而随之增大(薛永常等, 2003)。近来发现TAL的cDNA在*E. coli*中表达, 同时具有PAL与TAL酶活性(杨淑蕙, 2001)。因此, 在禾本类植物枝干的粗壮生长时应注重TAL的表达对其的影响。

1.2 羟基化反应

羟基化反应的酶催化的是三种木质素单体之间的转换, 控制羟基化反应的关键酶可以改变木质素的组成, 如使S-木质素含量升高。此反应涉及肉桂酸4-羟基化酶(C4H)、对香豆酸3-羟基化酶(C3H)、阿魏酸-5-羟基化酶(F5H)、4-香豆酸辅酶A连接酶(4CL)和莽草酸/奎宁酸羟基肉桂酰转移酶(HCT)5种酶。

1.2.1 肉桂酸4-羟基化酶(C4H)

C4H是苯丙烷类代谢途径的第一个羟基化酶, 属于CYP73亚家族、与细胞色素P450有关的单氧化酶。C4H能利用PAL反应产物肉桂酸, 催化肉桂酸C4位置羟基化形成对-羟基香豆酸。Chen等(2007)用29种苯丙烷类似物作为底物对C4H进行底物特异性研

究发现, 其中9种带不同芳香环的苯丙烷衍生物能够被C4H催化使其发生羟基化反应, 且具有较高的催化活性。在杨树中, C4H活性与木质素和厚壁组织相联系, 可被真菌处理、真菌感染、受伤及化学诱导剂所诱导(Hu et al., 1999)。Logemann等(1995)的研究指出在将多酶复合体固定到内质网上的过程中, C4H在其中起着结构支架作用。

1.2.2 香豆酸-3-羟基化酶(C3H)

C3H是木质素苯丙烷代谢途径中的关键酶之一, 属于细胞色素P450单氧化酶, 催化对/香豆酰莽草酸/奎宁酸(p-coumaroyl shikimate/quinic acid)-咖啡酰莽草酸/奎宁酸(caffeoyl shikimate/quinic acid)的C3位置的羟基化反应。木质素生物合成的第一个有关的步骤是对羟基苯乙烯酸或它的衍生物盐的羟基化, 木质素生物合成模型认为此步是发生在自由酸水平是由C3H催化的。Franke等(2002)从拟南芥突变体中分离到REF基因, 该基因的原位杂交表明它是CYP98A3, 实验证明CYP98A3就是C3H。聂会忠等(2008)人对杨树木质素合成酶C3H基因的克隆及其序列分析的研究发现不同物种在长期的进化过程中, 其核酸信息发生了不同进化, C3H的遗传特性也发生了巨大变化, 木质素单体在裸子植物、被子植物中的组成也不同。杨学文等(2009)人研究指出: 下调C3H的表达既能降低木质素含量又能改变单体组成, 可以大大节约植物造纸成本, 提高饲草的适口性。虽然, 我们对C3H在木质素合成有了初步研究和了解, 研究它在不同的植物组织器官中将发挥怎样的作用, 会为植物体的综合利用提供帮助。

1.2.3 阿魏酸-5-羟基化酶(F5H)

F5H催化苯丙烷途径阿魏酸、松柏醛和松柏醇的不可逆羟基化形成芥子酸, 并进行S-木质素生物合成。Osakabe等(1999)从香枫中得到一种细胞色素P450单氧化酶基因, 即F5H, 它能催化松柏醛进行5-羟基化反应, 介导芥子醛的合成, K_{cat}/K_m 值显示, F5H对松柏醛的催化效率比催化阿魏酸的高。付月等(2006)在木质素合成酶基因F5H的克隆及其鉴定中指出: F5H是S-木质素合成中必需的酶基因, 在拟南芥*fahl*突变体中, 当F5H活性降低时, 几乎全部为G-木质素; 在转基因拟南芥、烟草与杨树中, F5H的过量表达时, S/G显著增加。由此可以推断

F5H 的催化作用是S-木质素合成中的必须环节。另外, Rugger等(1999)研究发现在拟南芥中F5H在根、茎、叶、花、果和种子中均表达, 并且在叶和种子不同时期表达量不同。由此, 我们可以通过对木质素F5H在植物不同组织及统一组织不同时期表达量的不同, 来控制植物各组织个单体木质素的合成, 从而达到人类预期的效果。

1.2.4 4-香豆酸辅酶A连接酶(4CL)

4CL是控制木质素生物合成、催化羟基肉桂酸酮生成G或S型木质素单体途径中的关键限速酶基因。它是苯丙烷类代谢途径的最后一个酶, 也是植物天然苯丙烷类代谢产物合成的分歧途径中一个必须酶。4CL同工酶具有不同底物特异性和生物化学特性, 它的不同表达可调节3种木质素单体聚合成不同类型的木质素(薛永常等, 2003)。贾彩红等(2004)研究发现, 抑制4CL基因的表达不仅使木质素含量减少, 纤维素含量增加, 还伴随转基因植株生长加快。梁海泳等(2006)人对UGPase和反义4CL基因对转基因烟草纤维素和木质素合成的调控的研究表明: 增强尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(UGPase)基因的表达可提高转基因植株的纤维素含量, 但对木质素含量没有影响; 抑制4CL基因的表达可显著降低转基因植株的木质素含量, 但对纤维素含量没有影响; 转移双价基因的转基因植株中纤维素含量增加而木质素含量降低。由以上的相关研究我们可以发现: 促进或抑制4CL基因的表达可以显著调节木质素/纤维素的相对比例, 因此我们可以对棉花等纤维植物的纤维中4CL表达的调控而改良其纤维的品质, 使这些植物由更高的经济价值。

1.2.5 莽草酸/奎宁酸羟基肉桂酰转移酶(HCT)

莽草酸/奎宁酸羟基肉桂酰转移酶(shikimate/quinic acid hydroxycinnamoyl transferase, HCT)是木质素生物合成途径中研究最晚的一种酶, 在苯丙烷C₃羟基化的上、下游起着双重调节作用, 控制木质素G/S单体生物合成, 是H-单体和G/S-单体生物转换的重要控制点, 对木质素的含量具有重要作用(Raes et al., 2003; Reddy et al., 2005)。Shadle等(2007)对在紫花苜蓿中羟基化转移酶影响木质化的研究表明, HCT的下调调节可以改变木质素的含量及单体比例, 提高饲料的消化率。

1.3 甲基化反应

木质素单体生物合成需经3'和5'位置的两步甲基化反应。此反应过程中涉及咖啡酸/5-羟基阿魏酸-O-甲基转移酶(COMT)与咖啡酰辅酶A-O-甲基转移酶(CCoAMT)两个不同底物水平上的甲基化酶。

1.3.1 咖啡酸/5-羟基阿魏酸-O-甲基转移酶(COMT)

COMT是苯丙烷代谢途径中的一个甲基化酶, Goujon等(2003)研究指出, 在用插入突变获得的拟南芥Atomd突变体中, 当缺乏COMT活性时, 几乎不生成S-木质素, 但却出现了大量5-羟基-G木质素(S木质素的前体)。Jouanin等(2000)研究发现, 在转基因杨树中当COMT活性几乎被全部抑制时, 木质素含量降低。由此可见, 在转基因植物中木质素的含量受COMT活性被抑制程度的影响。

1.3.2 咖啡酰辅酶A-O-甲基转移酶(CCoAMT)

CCoAOMT是木质素合成中另外一个催化甲基化作用的酶, CCoAOMT最早被发现于裸子植物的松树中, Li等(1999)对次生木质部中CCoAOMT的表达对木质素生物合成途径的重要作用的研究指出, CCoAOMT对咖啡酰CoA的活力是5-羟基阿魏酰CoA的3.2倍, 这就进一步证实了松树中主要含G-木质素。Zhong等(1998)对转基因烟草的研究发现, 当CCoAOMT反义表达时, 总木质素含量下降, 但G-木质素含量的减少比S-木质素多, 即S/G比值增加。Guo等(2001)在转基因苜蓿中, CCoAOMT被抑制造成G-木质素下降50%。但对S木质素没有影响。黄春琼等(2008)对反义CCoAOMT基因调控烟草木质素的生物合成研究指出: 用农杆菌介导法导入苧麻反义CCoAOMT基因的烟草与野生型对照相比木质素平均含量降低, 而纤维素平均含量升高, 并且植株生长。由此推测CCoAOMT对G-木质素合成有调控作用, 而且可以通过对CCoAOMT基因表达的调控而改善纤维植物的纤维品质。

1.4 还原反应

木质素生物合成途径中的还原酶主要有两种, 即肉桂酰辅酶A还原酶(CCR)和肉桂醇脱氢酶(CAD)。

1.4.1 肉桂酰辅酶A还原酶(CCR)

肉桂酰辅酶A还原酶(cinnamoyl-CoA reductase,

CCR)是木质素生物合成特异途径的第一个关键酶, CCR作为催化木质素生物合成的氧化还原反应的第一个酶, 它控制木质素合成途径中碳素的进入, 还可催化3种羟基肉桂酸的CoA酯还原生成相应的肉桂醛, 因此它可能是木质素生物合成的限速酶之一, 而且CCR的活性强弱决定了植物体总木质素含量的多少(赵华燕等, 2004)。赵文超和薛永常(2009)、薛永常等(2008)等对杨树中CCR基因研究也证明了, CCR是木质素特异途径的第一个关键酶, 而且决定了植物体的总木质素含量。如果通过基因工程手段调节木质素生物合成途径中的该基因表达以调控CCR的活性, 降低植物木质素含量, 对植物的综合利用起到重要的作用。

1.4.2 肉桂醇脱氢酶(CAD)

CAD催化G-型木质素单元和S-型木质素单元形成的最后一步反应, Halpin等(1994)通过CAD活性的抑制调控木质素品质的研究中指出, 在转基因烟草中降低CAD的活性, 醛醇比的变化较大, 表明松柏醛的还原被抑制程度相对较高, 由此推测CAD可能具有底物选择亲和性或者存在不同的CAD同工酶。Baucher等(1999)研究发现: 抑制CAD活性木质素分子中S残基含量降低, 苜蓿木质素的S/G比率下降。Pilate等(2002)通过对杨树中CAD反义抑制发现, 木质素含量改变甚微, 但其组成与结构发生较大的变化。由此可见, CAD在植物组织的木质素合成过程中起着非常重要的作用, 是木质素苯丙烷途径中还原反应的重要调节酶。

2 木质素单体的聚合

木质素单体合成以后, 需要脱氢聚合才能形成木质素。最初证明漆酶在有氧的条件下能够产生木质素, 以后又发现过氧化物酶(POD)可有效地催化该聚合反应, 它通过催化各种木质醇单体发生脱氢聚合反应, 参与并调节木质素在细胞壁的聚合过程。

2.1 过氧化物酶(POD)

在过氧化物酶(Peroxidase, POD)是在木质素合成的最后一步起作用的酶, 它通过催化各种木质醇单体发生脱氢聚合反应, 参与并调节木质素在细胞壁的聚合过程, 使植物细胞壁的伸展性发生改变, 对植物生长也有调节作用(Shadle et al., 2007)。一些

植物中几种参与木质素合成反应的过氧化物酶同工酶已分离出来。Zwliha等(1999)利用过氧化物酶基因Shpx6a, 反向转入杨树, 木质素含量降低, 表明过氧化物酶确实与木质素单体聚合有关。吴晓丽等(2008)对离体毛竹笋纤维素和木质素含量及POD和PAL活性研究证明: 离体后贮藏的竹笋纤维素、木质素含量随贮藏时间的延长而增加, 同时, POD活性随贮藏时间的延长, 活性均显著增加, 而且, 低温对纤维素的影响高于木质素。由此, 我们可以通过调节温度来调节纤维素/木质素的比例, 从而提高相应植物的品质。

3 结语与展望

3.1 木质素合成途径中相关酶基因的调控

综上所述, 如表1所示, 大量试验证明, 利用现代生物技术和基因工程手段在杨树、烟草、苜蓿等植物中, 通过调节木质素单体生物合成中CCoAOMT、CAD、4CL、F5H等单个酶基因的活性, 可以改变3种木质素单体的相对比例及连接键的类型, 可成功降低木质素含量, 改变其组分, 从而达到改善改善纤维植物的纤维品质, 使其具有更高的经济效益。然而由于木质素的合成与多个酶有关, 不同酶系之间有多种相互作用, 所以抑制单一酶的表达活性, 往往会造成顾此失彼的结果, 如将反义PAL基因转化到杨树中的实验发现, 转基因植株虽然木质素含量降低了, 但植物出现了非正常生长(薛永常等, 2003)。因此, 在不影响植物正常生长的前提下, 选择合适的基因、合理调控各基因间的相互作用对于调控木质素生物合成是很重要的。Zhao等(2002)将CAD与CCoAOMT反义基因以共整合载体方式导入烟草中, 发现2个基因同时被抑制引起的木质素含量下降程度比单基因分别抑制时要显著。Abbott等(2002)利用3个正义基因结构CAD₂/COMT/CCR进行了烟草转化, 所获得转基因烟草的木质素含量明显减少。由此可见, 与以往抑制单个基因表达相比, 利用双价和多基因的共抑制结构, 能更有效地调控植物体内木质素合成途径。

3.2 转基因研究中启动子的选择

在苯丙烷代谢途径中几个特异性表达的启动子已被克隆, 如CAD、4CL、COMT和PAL基因的启动子(Capellades et al., 1996; Feuillet et al., 1995;

表 1 木质素生物合成相关基因的研究进展

Table 1 Recent advance in study of lignin biosynthesis gene

基因 Gene	转基因植物 Transgenic plant	方法 Method	木质素含量 Lignin content	木质素组分 Lignin constituents	文献 Ref.
PAL	烟草 <i>Tobacco</i>	反义抑制 Antisense	下降 Decreased		Reddy et al., 2000
	烟草 <i>Tobacco</i>	共抑制 Sence	下降 Decreased	S/G 增加 Increased S/G	Sewalt et al., 1997
TAL	稻科植物	共抑制 Sence	下降 Decreased	S/G 增加 Increased S/G	薛永常等, 2003 Xue et al., 2003
		共抑制 Sence	下降 Decreased	S/G 下降 S/G 下降	Chen et al., 2007
C4H	烟草 <i>Tobacco</i>	共抑制 Sence	下降 Decreased	S/G 下降 Decreased S/G	Hu et al., 1999
	杨树 <i>Poplar</i>	共抑制 Sence	下降 Decreased	S/G 下降 Decreased S/G	
	烟草 <i>Tobacco</i>	反义抑制 Antisense	下降 Decreased	S/G 下降 Decreased S/G	Sewalt et al., 1997
	杨树 <i>Poplar</i>	共抑制 Sence	下降 Decreased	S,G 均下降 Decreased S/G	
C3H	杨树 <i>Poplar</i>	共抑制 Sence	下降 Decreased		聂会忠等, 2008 Nie et al., 2008
	毛竹 <i>PhrUostachys edulis</i>	共抑制 Sence	下降 Decreased	S,G 均下降 Decreased S/G	杨学文等, 2009 Yang et al., 2009
	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	突变体	下降 Decreased	S,G 均下降 Decreased S/G	Franke et al., 2002
	拟南芥、烟草与杨树 <i>Arabidopsis thaliana Tobacco and Poplar</i>	共抑制 Sence	不变 Unchange	S/G 增加 Increased S/G	
4CL	毛白杨 <i>PopulustomentosaCarr</i>	共抑制 Sence	下降 Decreased		贾彩红等, 2004 Jia et al., 2004
	烟草 <i>Tobacco</i>	共抑制 Sence	下降 Decreased		梁海泳等, 2006 Liang et al., 2006
	杨树 <i>Poplar</i>	反义抑制 Antisense	下降 Decreased	S,G 均下降 Decreased S,G	HU et al., 1999
	烟草 <i>Tobacco</i>	共抑制 Sence	下降 Decreased	S/G 下降 Decreased S/G	Lu et al., 2004
	紫花苜蓿 <i>Medicago sativa</i>	共抑制 Sence	下降 Decreased		
	HCT	紫花苜蓿 <i>Medicago sativa</i>	共抑制 Sence	下降 Decreased	
COMT	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	共抑制 Sence	下降 Decreased	S/G 降低 Decreased S/G	Goujon et al., 2003
	杨树 <i>Poplar</i>	共抑制 Sence	不变 Unchange		Jouanin et al., 2000
	杨树 <i>Poplar</i>	反义抑制 Antisense	不变 Unchange	S/G 降低 Decreased S/G	Lapierre et al., 1999
	烟草 <i>Tobacco</i>	反义抑制 Antisense	下降 Decreased	S,G 均下降 Decreased S,G	
	烟草 <i>Tobacco</i>	反义抑制 Antisense	下降 Decreased	S,G 均下降 Decreased S,G	Sewalt et al., 1997
	烟草 <i>Tobacco</i>	反义抑制 Antisense	下降 Decreased	S,G 均下降 Decreased S,G	

续表 1

Continuing table 1

基因 Gene	转基因植物 Transgenic plant	方法 Method	木质素含量 Lignin content	木质素组分 Lignin constituents	文献 Ref.	
CCoAOMT	烟草 <i>Tobacco</i>	反义抑制 Antisense	下降 Decreased	S/G 增加 Increased S/G	黄春琼等, 2008 Huang et al., 2008	
	苜蓿 <i>Alfalfa</i>	共抑制 Sence	下降 Decreased	S/G 增加 Increased S/G	Guo et al., 1998	
	杨树 <i>Poplar</i>	共抑制 Sence	下降 Decreased	S/G 增加 Increased S/G	Meyermans et al., 2000	
	杨树 <i>Poplar</i>	反义抑制 Antisense	下降 Decreased	S/G 增加 Increased S/G	Zhong et al., 2000	
	烟草 <i>Tobacco</i>	反义抑制 Antisense	下降 Decreased	S/G 增加 Increased S/G	Zhong et al., 1998	
	CCR	杨树 <i>Poplar</i>	共抑制 Sence	下降 Decreased		赵文超等(2009), Zhao et al., 2009
		烟草 <i>Tobacco</i>	反义抑制 Antisense	下降 Decreased	S/G 增加 Increased S/G	Piqemal et al., 1998
		拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	突变体			Jones et al., 2001
CAD		烟草 <i>Tobacco</i>	共抑制 Sence		S/G 降低 Decreased S/G	Halpin et al., 1994
	苜蓿 <i>Alfalfa</i>	反义抑制 Antisense	不变 Unchange	S/G 降低 Decreased S/G	Baucher et al., 1999	
	玉米 <i>Zea mays</i>	突变体	下降 Decreased	S,G 均下降 Decreased S,G	Halpin et al., 1998	
	POD	杨树 <i>Poplar</i>	增强 Increased	下降 Decreased		Zwliha et al., 1999
		竹笋 <i>bamboo shoots</i>	增强 Increased	下降 Decreased		吴晓丽等, 2008 Wu et al., 2008
烟草 <i>Tobacco</i>		反义抑制 Antisense	下降 Decreased	S/G 增加 Increased S/G	Zhong et al., 1998	

Hauffe et al., 1993)。但由于这些启动子本身的表达效率不够高, 所以转基因抑制木质素合成的研究极少使用此类启动子。大部分关于木质素合成生物调控的遗传操作都选用组成型强启动子CaMV 35S, 它能启动所转入的基因在所有植物组织中进行非特异性表达, 这可能对植物的正常生长及抗逆性造成负面影响。Jouanin等(2000)通过对抑制COMT活性的转基因杨树的木质化研究指出, 通过对CaMV双35S启动子构建的表达载体与桉树CAD启动子构建的表达载体分别转入杨树的对比发现, 含有CaMV双35S启动子表达载体的杨树中COMT活性几乎被全抑制, 而含有桉树CAD启动子构建的表达载体的杨树只有部分抑制。显然, 使用木质化部

位特异性表达的启动子, 比使用组成型启动子更有利于保持植物的抗逆性。通过基因克隆等技术优化特异性表达的启动子, 使其表达效率得到提高, 成为木质素合成生物调控的遗传操作的首选启动子将是以后研究的重要方面。并且, 继续通过研究构建出木质素合成途径中其他基因的启动子, 使在此方面的研究更方便, 研究效率更高。

3.3 木质素生物合成中转录调控

尽管目前还不清楚转录因子直接激活木质素生物合成中的哪些基因, 但是几个MYB基因已经被研究, 它们可能参与调控苯丙烷代谢途径(Rogers et al., 2004; Deluc et al., 2006; Fornale et al., 2006)。这些MYB蛋白通过与启动子区的AC顺式作用元件相

结合来调控苯丙烷生物合成中相关基因的表达。然而, 仅仅有包括来自于松树的PtMYB4 (Patzlaff et al., 2003)和来自于桉树的EgMYB2 (Goicoechea et al., 2005)在内的几个MYB基因被认为与木质结构和木质素生物合成有关。PtMYB4与EgMYB2在次生木质部表达, 并且与木质素生物合成基因启动子中的AC顺式作用元件相结合, 它们在烟草中发生过表达时, 可以对木质素生物合成基因进行正向调控。另外, 过表达的PtMYB4导致沉积木质素的异位, 而且过表达的EgMYB2可能通过增加木质素的沉积而使纤维素和微管中的次生壁加厚。虽然目前还没有PtMYB4与EgMYB2功能的相关证据, 但是现有的一些资料指出, 它们与木质素生物合成途径的转录调控有关。此外, 来自于白杨的MYB基因PttMYB21a在木质形成时期表达, 而且它的过表达对木质素合成中的一个甲基化酶COMT的表达有抑制作用(Karpinska et al., 2004)。除此之外, LIM转录因子可以结合启动子区的Pal box顺式作用元件, 在转基因烟草中, 下调LIM基因, 抑制木质素的生物合成(Kawaoka et al., 2000)。因此, 进一步研究转录因子如何共同调控木质素的生物合成是十分重要的。

3.4 木质素在生产应用中的研究

大多数人研究木质素是基于木材中木质素的研究, 以期对以木材利用为主的造纸工业及牧草利用过程当中存在许多不利的因素的改善, 通过调节木质素合成中关键酶基因的表达, 以改变木质素的含量或单体组成, 以满足工业不同用材的需要及畜牧用草的需要, 提高其在实际应用中的效率。其实在许多植物中都存在木质素, 而且在不同的组织器官中其功能也不同, 因此通过对各种植物中不同组织器官中木质素的研究, 来研究木质素的更多功能, 从而解决更多实际应用中的问题和改变植物的不良品质。例如降低植物中木质素总含量, 减少造纸行业对环境污染及提高饲料植物的消化率和利用率(Guo et al., 2001), 这将具有十分美好的经济前景。

作者贡献

倪志勇、吕淑萍是本研究的实验设计和实验研究的执行人; 倪志勇及吕淑萍完成数据分析, 论文初稿的写作; 吕淑萍参与实验设计, 试验结果分析; 范玲是项目的构思者及负责人, 指导实验设计, 数据分析, 论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由农业部转基因重大专项课题(2009ZX08005-011B)、国家自然科学基金项目(31060173)、国家“863”项目(2006AA10Z184)、新疆自治区高技术研究发展计划项目(200611101)共同资助。

参考文献

- Abbott J.C., Barakate A., Pincon G., Legrand M., Lapierre C., Mila I., Schuch W., and Halpin C., 2002, Simultaneous suppression of multiple genes by single transgenes, down-regulation of three unrelated lignin biosynthetic genes in tobacco, *Plant Physiology*, 128(3): 844-853
- Baucher M., Bernard-Vailhe M.A., Chabbert B., Besle J.M., Opsomer C., Van M.M., and Botterman J., 1999, Down-regulation of cinnamyl alcohol dehydrogenase in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.) and the effect on lignin composition and digestibility, *Plant Molecular Biology*, 39(3): 437-447
- Capellades M., Torres M.A., Bastisch I., Stiefel V., Vignols F., Bruce W.B., Peterson D., Puigdomenech P., and Rigau J., 1996, The maize caffeic acid O-methyltransferase gene promoter is active in transgenic tobacco and maize plant tissue, *Plant Molecular Biology*, 31(2): 307-322
- Chen H., Jiang H.X., and Morgan J.A., 2007, Non-natural cinnamic acid derivatives as substrates of cinnamate 4-hydroxylase1, *Phytochemistry*, 68(3): 306-311
- Chen Y.Z., Tan X.F., and Clapham D., 2003, Lignin biosynthesis and genetic regulation, *Jiangxi Nongye Daxue Xuebao (Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis)*, 25(4): 613-617 (陈永忠, 谭晓风, David Clapham, 2003, 木质素生物合成及其基因调控研究综述, *江西农业大学学报*, 25(4): 613-617)
- Deluc L., Barrieu F., Marchive C., Lauvergeat V., Decendit A., Richard T., Carde J.P., Merillon J.M., and Hamdi S., 2006, Characterization of grapevine R2R3-MYB transcription factor that regulates the phenylpropanoid pathway, *Plant Physiology*, 140(2): 499-511
- Feuillet C., Lauvergeat V., Deswarte C., Pilate G., Boudet A., and Grima-Pettenati J., 1995, Tissue- and cell-specific expression of a cinnamyl alcohol dehydrogenase promoter in transgenic poplar plants, *Plant Molecular Biology*, 27(4): 651-667
- Fornale S., Sonbol F.M., Maes T., Capellades M., Puigdomenech P., Rigau J., and Caparros-Ruiz D., 2006, Down-regulation of the maize and *Arabidopsis thaliana* caffeic acid O-methyl-transferase genes by two new maize

- R2R3-MYB transcription factors, *Plant Mol Biol*, 62(6): 809-823
- Franke R., Humphreys J.M., Hemm M.R., Denault J.W., Ruegger M.O., Cusumano J.C., and Chapple C., 2002, The *Arabidopsis*: REF8 gene encodes the 3-hydroxylase of phenylpropanoid metabolism, *Plant J.*, 30(1): 33-45
- Fu Y., Li X.L., and Xue Y.C., 2006, Cloning and identification of lignin biosynthesis F5H gene, *Anhui Nongye Kexue (Journal of Anhui Agri. Sci.)*, 34(8): 1553-1555 (付月, 李学龙, 薛永常, 2006, 木质素合成酶基因F5H的克隆及其鉴定, *安徽农业科学*, 34(8): 1553-1555)
- Goicoechea M., Lacombe E., Legay S., Mihaljevic S., Rech P., Jauneau A., Lapiere C., Pollet B., Verhaegen D., Chaubet-Gigot N., and Grima-Pettenati J., 2005, EgMYB2, a new transcriptional activator from eucalyptus xylem, regulates secondary cell wall formation and lignin biosynthesis. *Plant J.*, 43(4): 553-567
- Goujon T., Sibout R., Pollet B., Nussaume L., Bechtold N., Lu F., Ralph J., Milal, Barriere Y., Lapiere C., and Jouanin L., 2003, A new *Arabidopsis thaliana* mutant deficient in the expression of O-methyltransferase impacts lignins and sinapoyl esters, *Plant Molecular Biology*, 51(6): 973-989
- Guo D.J., Chen F., Inoue K., Blount J.W., and Dixon R.A., 2001, Downregulation of caffeic acid 3-O-methyltransferase and caffeoyl coa 3-O-methyltransferase in transgenic alfalfa: Impacts on lignin structure and implications for the biosynthesis of G and S lignin, *The Plant Cell*, 13(1): 73-88
- Halpin C., Holt K., Chojecki J., Oliver D., Chabbert B., Monties B., Edwards K., Barakate A., and Foxon G.A., 1998, Brown-midrib maize(bm1)-a mutation affecting the cinnamyl alcohol dehydrogenase gene, *Plant J.*, 14(5): 545-553
- Halpin C., Knight M.E., Foxon G.A., Campbell M.M., Boudet A.M., Boon J.J., Chabbert B., Tollier M.T., and Schuch W., 1994, Manipulation of lignin quality by downregulation of cinnamyl alcohol dehydrogenase, *Plant J.*, 6(3): 339-350
- Hauffe K.D., Lee S.P., Subramaniam R., and Douglad C.J., 1993, Combinatorial interactions between positive and negative cis-acting elements control spatial patterns of 4CL-1 expression in transgenic tobacco, *The Plant Journal*, 4(2): 235-253
- Hu W. J., Harding S. A., Lung J., Popko J. L., Ralph J., Stokke D. D., Tsai C.J., and Chiang V.L., 1999, Repression of lignin biosynthesis promotes cellulose accumulation and growth in transgenic trees, *Nature Biotechnology*, 17(8): 808-812
- Huang C.Q., Liu G.D., and Guo A.P., 2008, Lignin biosynthesis regulated by antisense CCoAOMT gene in tobacco, *Anhui Nongye Kexue (Journal of Anhui Agri. Sci.)*, 36(19): 8026-8027, 804 (黄春琼, 刘国道, 郭安平, 2008, 反义CCoAOMT基因调控烟草木质素的生物合成, *安徽农业科学*, 36(19): 8026-8027, 804)
- Jia C.H., Wang H.Z., Du K.J., Song Y.R., and Wei J.H., 2004, Relationship of lignin content with the stem color in the transgenic poplar with depressed expression of 4CL gene, *Nongye Shengwu Jishu Xuebao (Journal of Agricultural Biotechnology)*, 12(6): 621-624 (贾彩红, 王宏芝, 杜克久, 宋艳茹, 魏建华, 2004, 抑制4CL基因表达的转基因毛白杨中木质素含量与茎秆颜色的关系, *农业生物技术学报*, 12(6): 621-624)
- Jin S.Y., Lu M.Z., and Gao J., 2008, Research progress of lignin in biosynthesis with genetic engineering technology and its application prospect in bamboo improvement, *Anhui Nongye Kexue (Journal of Anhui Agri.Sci.)*, 36(20): 8497-8499, 8548 (金顺玉, 卢孟柱, 高健, 2008, 基因工程调控木质素生物合成研究现状及在竹子上改良的应用前景, *安徽农业科学*, 36(20): 8497-8499, 8548)
- Jones L., Ennos A.R., and Turner S.R., 2001, Cloning and characterization of irregular xylem4(irx4) a severely lignin-deficient mutant of *Arabidopsis*, *Plant J.*, 26(2): 205-216
- Jouanin L., Goujin T., and Lapiere C., 2000, Lignification in transgenic poplars with extremely reduced caffeic acid O-methyltransferase activity, *Plant Physiol*, 123(4): 1363-1373
- Karpinska B., Karlsson M., Srivastava M., Stenberg A., Schrader J., Sterky F., Bhalerao R., and Wingsle G., 2004, MYB transcription factors are differentially expressed and regulated during secondary vascular tissue development in hybrid aspen, *Plant Mol Biol.*, 56(2): 255-270
- Kawaoka A., Kaothien P., Yoshida K., Endo S., Yamada K., and Ebinuma H., 2000, Functional analysis of tobacco LIM protein Ntlm 1 involved in lignin biosynthesis, *Plant J.*, 22(4): 289-301
- Lapiere C., Pollet B., Petit-Conil M., Toval G., Romero J., Pilate G., Leple J.C., Boerjan W., Boerjan W., Ferret V.V., De Nadai V., and Jouanin L., 1999, Structural alterations of lignins in transgenic poplars with depressed cinnamyl alcohol dehydrogenase or caffeic acid O-methyltransferase activity have an opposite impact on the efficiency of industrial kraft pulping, *Plant Physiol*, 119(1): 153-164

- Li J.H., Zhang Y.W., Niu Z.T., Lu M.Z., and Carl J.D., 2007, Advances in study of lignin biosynthesis and genetic engineering modification, *Shijie Linye Yanjiu*(World Forestry Research), 20(1): 29-37 (李金花, 张绮纹, 牛正田, 卢孟柱, Carl J.D., 2007, 木质素生物合成及其基因调控的研究进展, *世界林业研究*, 20(1): 29-37)
- Li L., Osakabe Y., Joshi C.P., and Chiang V.L., 1999, Secondary xylem-specific expression of caffeoyl-coenzyme A 3-O-methyltransferase plays an important role in the methylation pathway associated with lignin biosynthesis in loblolly pine, *Plant Molecular Biology*, 40(4): 555-565
- Li W., Xiong J., and Chen X.Y., 2003, Advances in the research of physiological significances and genetic regulation of lignin metabolism, *Xibei Zhiwu Xuebao* (*Acta Bot. Boreo-Occident. Sin.*), 23(4): 675-681 (李伟, 熊谨, 陈晓阳, 2003, 木质素代谢的生理意义及其遗传控制研究进展, *西北植物学报*, 23(4): 675-681)
- Liang H.Y., Xia X.Y., and Feng X.S., 2006, *UGPase* and anti-sense *4CL* and their regulation of synthesis of lignin and cellulose in transgenic tobacco (*Nicotiana tabacum* L.), *Zhiwu Shenglixue Tongxun* (*Plant Physiology Communications*), 42(6): 1067-1072 (梁海泳, 夏秀英, 冯雪松, 2006, *UGPase*和反义*4CL*基因对转基因烟草纤维素和木质素合成的调控, *植物生理学通讯*, 42(6): 1067-1072)
- Lin L., Hu J., and Zhan H.Y., 1998, Plant lignin biosynthesis regulation, *Zhongguo Zhaozhi Xuebao* (*Transactions of China Pulp and Paper*), 13: 79-85 (林鹿, 胡健, 詹怀宇, 1998, 植物木质素生物合成的控制, *中国造纸学报*, 13: 79-85)
- Logemann E., Pamiške M., and Hahlbrock K., 1995, Modes of expression and common structural features of the complete phenylalanine ammonia-lyase gene family in parsley, *Proc Natl Acad Sci. USA*, 92(13): 5905-5909
- Lu H., Zhao Y.L., and Jiang X.N., 2004, Stable and specific expression of 4-coumarate: Coenzyme A ligase gene (*4CLI*) driven by the xylem-specific *Pto4CLI* promoter in the transgenic tobacco, *Biotechnol Lett.*, 26(14): 1147-1152
- Meyermans H., Morreel K., Lapierre C., Pollet B., De Bruyn A., Busson R., Herdewijn P., Devreese B., Van Beeumen J., Marita J. M., Ralph J., Chen C., Burggraeve B., Van Montagu M., Messens E., and Boerjan W., 2000, Modifications in lignin and accumulation of phenolic glucosides in poplar xylem upon down-regulation of caffeoyl-coenzyme a O-methyltransferase, an enzyme involved in lignin biosynthesis, *The Journal of Biological Chemistry*, 275(47): 36899-36909
- Nakashima J., Chen F., Jackson L., Shadle G., and Dixon R.A., 2008, Multi-site genetic modification of monolignol biosynthesis in alfalfa (*Medicago sativa*): effects on lignin composition in specific cell types, *Dixon.New Phytologist*. 179(3): 738-750
- Nie H.Z., and Xue Y.C., 2008, Evolution analysis of c3h cDNA fragment from Poplar, Xibei Zhiwu Xuebao (*Acta Botanica Boreo-Occidentalia Sinica*), 28(5): 889-894 (聂会忠, 薛永常, 2008, 杨树木质素合成酶c3h基因的克隆及其序列分析, *西北植物学报*, 28(5): 889-894)
- Osakabe K., Tsao C.C., Li L., Popko J.L., Umezawa T., Carraway D.T., Smeltzer R.H., Joshi C.P., and Chiang V.L., 1999, Coniferyl aldehyde 5-hydroxylation and methylation direct syringyl lignin biosynthesis in angiosperms, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 96(16): 8955-8960
- Patzlaff A., McInnis S., Courtenay A., Surman C., Newman L.J., Smith C., Bevan M.W., Mansfield S., Whetten R.W., Sederoff R.R., and Campbell M.M., 2003, Characterization of a pine MYB that regulates lignification, *Plant J.*, 36(6): 743-754
- Pilate G., Guiney E., Holt K., Petit-Conil M., Lapierre C., Leple J.C., Pollet B., Mila I., Webster E.A., Marstorp H.G., Hopkins D.W., Jouanin L., Boerjan W., Schuch W., Cornu D., and Halpin C., 2002, Field and pulping performances of transgenic trees with altered lignification, *Nat. Biotechnol.*, 20: 607-612
- Piqemal J., Lapierre C., Myton K., O'Connell A., Schuch W., Grima-Pettenati J., and Boudet A.M., 1998, Down-regulation of cinnamoyl-CoA reductase induces significant changes of lignin profiles in transgenic tobacco plants, *Plant J.*, 13(1): 71-83
- Raes J., Rohde A., Christensen J.H., Van de Peer Y., and Boerjan W., 2003, Genome-wide Characterization of the Lignification toolbox in Arabidopsis, *Plant Physiology*, 133(3): 1051-1071
- Reddy J.T., Korth K.L., Wesley S.V., Howles P.A., Rasmussen S., Lamb C., and Dixon R.A., 2000, Post-transcriptional regulation of phenylalanine ammonia-lyase expression in tobacco following recovery from gene silencing, *Source Plant Biology Division*, 381(8): 655-65
- Reddy M.S., Chen F., Shadle G., Jackson L., Aljoe H., and Dixon R.A., 2005, Targeted down-regulation of cytochrome P450 enzymes for forage quality

- improvement in alfalfa (*Medicago sativa* L), Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 102(46): 16573-16578
- Rogers L.A, and Campbell M.M., 2004, The genetic control of lignin deposition during plant growth and development, New Phytol, 164(1): 17-30
- Rugger M., Myer K., and Casumano J.C., 1999, Regulation of ferulate-5-hydroxylase expression in Arabidopsis in the context of sinapate ester biosynthesis, Plant Physiol, 119(1): 101-110
- Sewalt V. J. H., Ni W., Blount J.W., Jung H.G., Masoud S.A., Howles P.A., Lamb C., and Dixon R.A., 1997, Reduced lignin content and altered lignin composition in transgenic tobacco down-regulated in expression of L-phenylalanine ammonia-lyase or cinnamate 4-hydroxylase, Plant Physiol, 115(1): 41-50
- Shadle G., Chen F., Srinivasa Reddy M.S., Jackson L., Nakashima J., and Dixon R.A., 2007, Down-regulation of hydroxycinnamoyl CoA: Shikimate hydroxycinnamoyl transferase in transgenic alfalfa affects lignification, development and forage quality, Phytochemistry, 68(11): 1521-1529
- Song F.N., Xing L., Chen S., Dai C., Liu X.M., 2009, Expression and isolation of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) gene in *Betula platyphylla*, Dongbei Linye Daxue Xuebao (Journal of Northeast forestry university), 37(12): 14-17, 47 (宋福南, 邢磊, 陈肃, 戴超, 刘雪梅, 2009, 白桦莽丙氨酸解氨酶(PAL)基因的分离及其表达, 东北林业大学学报, 37(12): 14-17, 47)
- Wu X.L., Gu X.P., Su M.Y., and Yue J.J., 2008, Study on contents of cellulose, lignin and activities of POD, PAL in excised bamboo shoots of *Phyllostachys edulis*, Linye Kexue Yanjiu (Forest Research), 21(5): 697-701 (吴晓丽, 顾小平, 苏梦云, 岳晋军, 2008, 离体毛竹笋纤维素和木质素含量及POD和PAL活性研究, 林业科学研究, 21(5): 697-701)
- Xue Y.C., Li J.H., Lu M.Z., Zhang Q.W., and Zhang Q.W., 2003, The lignin subunits biosynthesis pathway and its rewriting, Linye Kexue (Scientia Silvae Sinicae), 39(6): 146-153 (薛永常, 李金花, 卢孟柱, 张绮纹, 2003, 木质素单体生物合成途径及其修订, 林业科学, 39(6): 146-153)
- Xue Y.C., Zhao Y.L., Zhao W.Z., and Wang X.X., 2008, Cloning and identification of lignin biosynthesis CCR gene from *Populus euramericana* cv. "74P76", Liaoning Linye Keji (Journal of Liaoning Forestry Science & Technology), 5: 17-21, 30 (薛永常, 赵一玲, 赵文超, 王雪霞, 2008, 欧美杨107木质素生物合成酶CCR基因的克隆及其鉴定, 辽宁林业科技, 5: 17-21, 30)
- Yang S.H., ed., 2001, Chemical fibre plants, Light industry publishing company of China, Beijing, China, pp.71-75 (杨淑慧, 2001, 植物纤维化学, 中国轻工业出版社, 中国, 北京, pp.71-75)
- Yang X.W., Peng Z.H., Gao Z.M., and Li X.P., 2009, Study on the cloning and expression of a p-Coumarate 3-hydroxylase gene in *Phyllostachys edulis*, Anhui Nongye Kexue (Journal of Anhui Agri. Sci.), 37(29): 14051-14053, 14197 (杨学文, 彭镇华, 高志民, 李雪平, 2009, 毛竹香豆酸-3-羟基化酶基因的克隆与表达研究, 安徽农业科学, 37(29): 14051-14053, 14197)
- Zeliha I., Tijen O., and Ahu A., 1999, Reduced leaf peroxidase activity is associated with reduced lignin content in transgenic poplar, Plant Biotechnology, 16(5): 381-387
- Zhang X.Y., Guo A.P., He L.K., and Kong H., 2006, Advances in study of lignin biosynthesis and its genetic manipulation, Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular plant breeding), 4(3): 431-437 (章霄云, 郭安平, 贺立卡, 孔华, 2006, 木质素生物合成及其基因调控的研究进展, 分子植物育种, 4(3): 431-437)
- Zhao H.Y., Wei J. H., and Song Y. R., 2004, Advances in research on lignin biosynthesis and its genetic engineering, Zhiwu Shengli Yu Fenzi Shengwuxue Xuebao (Journal of Plant Physiology and Molecular Biology), 30(4): 361-37 (赵华燕, 魏建华, 宋艳茹, 2004, 木质素生物合成及其基因工程研究进展, 植物生理与分子生物学报, 30(4): 361-370)
- Zhao H.Y., Wei J.H., Zhang J.Y., Liu H.R., Wang T., and Song Y.R., 2002, Lignin biosynthesis by suppression of two O-methyl-transferases, China Sci. Bull, 47(13): 1092-1095
- Zhao W.Z., and Xue Y.C., 2009, The sequence analysis and protein structure prediction of lignin biosynthesis CCR gene in poplar, Shengwu Xinxixue (China Journal of Bioinformatic), 7(2): 81-84 (赵文超, 薛永常, 2009, 杨树木质素合成酶CCR基因的序列分析及蛋白结构预测, 生物信息学, 7(2): 81-84)
- Zhong R., Morrison W. H., Negrel J., and Ye Z.H., 1998, Dual methylation pathways in lignin biosynthesis, The Plant Cell, 10(12): 2033-2046
- Zhong R.Q., Morrison W.H., Himmelsbah D.S., Poole F.L., and Ye Z.H., 2000, Essential role of caffeoyl caffeoyl coenzyme A O-methyltransferase in lignin biosynthesis in woody poplar plants, Plant Physiol, 124(2): 563-578