木材形成过程中次生壁沉积和细胞程序性死亡的分子调控机制

李慧^{1,2,3}, 郭晓蕊¹, 刘雅琳¹, 陆海^{1,2,3*}

1. 北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083;

2. 北京林业大学, 林木育种国家工程实验室, 北京 100083;

3. 北京林业大学林木分子设计育种高精尖创新中心, 北京 100083

* 联系人, E-mail: luhai1974@bjfu.edu.cn

收稿日期: 2019-06-11; 接受日期: 2019-11-22; 网络版发表日期: 2020-02-13

中央高校基本科研业务费专项(批准号: 2019ZY30)资助

摘要 木材的形成经历了维管形成层细胞的增殖, 木质部细胞的分化和扩张, 次生细胞壁的沉积和细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD)的过程. 近年来, 基于遗传学和组学分析, 人们已经从模式植物拟南芥和杨树中鉴定出许多调控次生壁沉积的关键转录因子和转录抑制因子. 这些转录因子调控层次分明, 共同构成次生壁沉积的转录调控网络, 不仅在次生壁组分木质素、纤维素、木聚糖等物质的生物合成过程中起重要作用, 而且可激活下游调控细胞程序性死亡相关的水解酶, 启动木质部细胞的程序化死亡过程. 对这些基因的生物学功能和调控网络进行解析, 为阐明木材形成的分子生物学机制奠定了理论基础. 本文综述了木材形成过程中次生壁沉积的转录调控网络和细胞程序性死亡相关的酶学机制及其最新研究进展.

关键词 木材, 次生壁, 转录因子, 程序性死亡, 蛋白酶

木材是重要的可再生资源, 不仅可用作生物质能源, 而且可作为建筑和家具生产以及造纸业的原材料. 木材是木本植物维管形成层分化产生的次生木质部连年沉积、附加的结果. 次生木质部的发育是一个连续的发育过程, 包括维管形成层细胞的增殖, 木质部细胞的分化和扩张, 次生细胞壁的沉积并伴随着细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD). 最终成熟的次生木质部包括木质部薄壁细胞、木质纤维、导管和管状分子(tracheary elements, TE)^[1,2].

木材的形成是一个严格受基因编码调控的复杂的

动态生物学过程, 解析参与木材形成过程中的关键调控因子以及作用机制, 为利用分子生物学手段进行改良木材性状, 提高木材的生长速率和提高木材产量意义重大. 目前研究木材形成的模式系统, 除了杨树等木本模式植物以外, 草本植物拟南芥和体外诱导管状分子分化的百日草悬浮细胞也是理想的研究木材形成和管状分子分化的模式系统^[3]. 本文对调控次生壁的形成, 细胞程序性死亡过程中关键因子特别是转录因子和重要酶的生物学功能、作用机理及其调控网络的最新研究进展进行了综述.

引用格式: 李慧, 郭晓蕊, 刘雅琳, 等. 木材形成过程中次生壁沉积和细胞程序性死亡的分子调控机制. 中国科学: 生命科学, 2020, 50: 123–135
Li H, Guo X R, Liu Y L, et al. The molecular mechanism in secondary wall deposition and programmed cell death of wood formation (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2020, 50: 123–135, doi: [10.1360/SSV-2019-0133](https://doi.org/10.1360/SSV-2019-0133)

1 次生细胞壁形成的转录调控机制

次生壁主要由纤维素、半纤维素(木聚糖、木葡聚糖、甘露聚糖等)、木质素以及少量的结构蛋白和酶构成^[4]。次生壁的形成发生在木质部细胞径向生长结束之后,木质部细胞的细胞壁加厚过程涉及纤维素、半纤维素、细胞壁蛋白和木质素的合成和沉积。木质素主要沉积在木质部导管和纤维等厚壁组织中,可增加细胞壁的机械强度和疏水性,并且在机械支撑、水分运输和病害防御中起重要作用^[5]。

1.1 NAC转录因子

次生壁的沉积由次生壁成分合成基因和次生壁转录因子共同调控^[6]。其中,NAC(NAM/ATAF/CUC)和MYB转录因子分别作为第一级和第二级主开关,共同激活一系列下游转录因子和次生壁物质合成基因^[7,8]。人们在拟南芥中鉴定出一些与次生壁形成相关的含有NAC结构域的转录因子,主要包括VASCULAR-RELATED NAC-DOMAIN(VND1,2,3,4,5,6,7),SECONDARY WALL-ASSOCIATED NAC DOMAIN(SND1, SND2),NAC SECONDARY WALL THICKENING PROMOTING FACTOR(NST1, NST2, NST3)(图1,表1),过表达任何一个转录因子都能导致本来不含木质素的细胞中出现木质素的异位沉积^[31]。这些NAC转录因子之间功能存在冗余,为了克服基因功能的冗余性,人们一般通过将转录因子与EAR抑制元件进行融合构建载体,来抑制该类转录因子共同调控的下游基因的表达,获得显性抑制(dominant repression)的转基因植株,从而研究基因被显性抑制后对植株表型的影响^[16,32]。VND1-7与木质部导管分化过程相关,过表达VND1-7可以诱导拟南芥和杨树表皮和叶肉等细胞分化形成导管,出现次生壁的异位积累^[9,10]。将强抑制元件SRDX分别与VND6或VND7融合后转化拟南芥,获得显性抑制基因表达的转基因拟南芥中导管形成受阻,根生长发育受抑制^[10]。SND1是激活次生壁物质合成途径的主要转录开关,SND1在束间维管束纤维和木质部纤维中特异表达,通过融合SRDX元件显性抑制SND1基因表达可导致纤维细胞壁明显变薄;过表达SND1能激活次生壁合成基因的表达,导致非木质化的细胞出现次生壁的异位沉积,从而产生叶片卷曲,植株矮化的表型^[16]。另外,NST1和NST3也是调节次生壁加

厚的重要转录因子,同时敲除SND1和NST3会阻碍次生壁增厚和纤维细胞中木质素沉积,植株呈现倒伏,不能直立生长的表型^[13]。

通过对NAC转录因子所调控的下游靶基因的启动子进行截短和电泳迁移率检测,人们发现了一段19 bp的不完美的回文保守序列:(T/A)NN(C/T)(T/C/G)TNNNNNNNA(A/C)GN(A/C/T)(A/T),该序列被称为SNBE元件(secondary wall NAC binding element),该元件是NAC转录因子结合所必需的,突变SNBE元件中任何一个核苷酸都会导致NAC转录因子与之结合的能力丧失^[33]。全基因组分析发现,除了SND1和VND7直接激活的下游MYB等转录因子以外,一些与次生壁合成、细胞程序性死亡相关基因启动子也存在多个SNBE元件。另外有研究报道,一些受VND6直接调控的靶基因启动子上含有一段核心序列CTTNAAAGCNA,该序列被称为TERE元件(TE-specific cis-element),该元件在管状分子中特异表达^[11]。靶基因中存在相同的顺式作用元件说明了NAC转录因子所调控的基因具有一定的共性,将顺式作用元件突变之后,转录因子与靶基因的结合会发生改变^[33]。在研究木质部发育相关的未知基因时,通过对未知基因的顺式作用元件进行分析,可预测未知基因是否可能被这些与次生壁形成相关的关键转录因子所调控,从而为下一步研究提供思路。

1.2 MYB转录因子

在植物基因组中,MYB是一类植物特异的转录因子,其N端含有一段约51~52个氨基酸组成的MYB结构域,根据MYB结构域的个数,可分为R1-MYB, R2R3-MYB, R1R2R3-MYB三个亚类,植物中绝大多数MYB转录因子属于R2R3-MYB类亚家族。拟南芥中一些调控次生壁合成的MYB转录因子,作为NAC转录因子的下游靶基因被鉴定出来。MYB46和MYB83不仅是SND1的靶基因,同时也是VND6和VND7的靶基因。SND1除了直接激活MYB46, MYB83, SND3, MYB103和KNAT7外,还调控许多其他转录因子的表达,包括SND2, MYB85, MYB52, MYB54, MYB69, MYB42, MYB43和MYB20^[34]。MYB46和MYB83在调控次生壁形成方面具有冗余性,而且拟南芥myb46 myb83双突变体的次生壁表现出比nst1 nst3更严重的缺陷。在拟南芥中过表达MYB46和MYB83可以激活纤维素、木聚糖和木

图 1 次生壁形成的转录调控网络, A: 拟南芥中次生壁形成的转录调控网络; B: 杨树中次生壁形成的转录调控网络. 绿色方框: 一级转录调控; 蓝色方框: 二级转录调控; 灰色方框: 三级转录调控; 橙色方框和圆圈: 转录抑制因子; 白色圆圈: 转录因子; 实线表示直接调控; 虚线表示直接/间接调控未知; 箭头: 正调控, 平箭头: 负调控

Figure 1 The transcriptional regulatory network of secondary wall formation. A: The transcriptional regulatory network of secondary wall formation in *Arabidopsis*; B: The transcriptional regulatory network of secondary wall formation in *Populus*. Green block: The first layer of transcriptional regulatory network; blue block: the second layer of transcriptional regulatory network; grey block: the third layer of transcriptional regulatory network; orange block and circle: transcription repressor; white circle: transcription factor; solid line indicates directly regulation while dotted line indicates unknown directly or indirectly regulation; arrow: positive regulation; flat arrow: negative regulation

质素合成相关基因的表达, 导致次生壁的异位沉积^[35]. 通过对MYB46所调控的下游基因启动子序列进行分析发现, MYB46和MYB83通过结合一段7 bp的保守DNA序列SMRE元件(secondary wall MYB-responsive element), 来激活下游次生壁合成相关基因的表达. MYB46不仅能激活下游转录因子的表达, 而且能激活与木聚糖和木质素合成相关的基因表达^[36].

木质素是植物次生细胞壁的主要成分, 由芥子醇、松柏醇、香豆醇三种单体聚合而成. 木质素单体在细胞质中通过苯丙烷途径合成, 然后转运到细胞壁中聚合成木质素^[37]. 在苯丙烷代谢途径合成木质素的过程中, R2R3-MYB转录因子发挥重要的调控作用^[38]. 研究发现, 木质素合成基因启动子中的AC元件是驱动木质素合成的调节元件, 特定的MYB转录因子与AC元件结合, 从而调控木质素合成基因的表达^[34]. 木质素合成途径中的多个基因, 如PAL, C4H, 4CL, C3H,

CCoAOMT, CCR和CAD的启动子区均含有一个或多个AC元件, 包括AC-I(ACCTACC), AC-II(ACCAACC)或AC-III(ACCTAAC)^[39]. 在拟南芥中发现, 受NAC转录因子调控的下游基因MYB58和MYB63与木质素的合成有关, MYB58能直接与4CL1的AC元件结合, 并激活木质素合成基因的表达. 通过RNAi(RNA interference)抑制MYB58和MYB63的表达会导致拟南芥中木质素含量下降, 次生壁变薄, 但并不影响纤维素和木聚糖的含量; 而过表达会导致木质素的异位积累^[18]. 除NAC和MYB两大家族的转录因子外, 还有很多其他的蛋白包括Class III HOMEODOMIAN LEUCINE ZIPPER(HD-ZIP III) 转录因子和LATERAL ORGAN BOUNDARIES DOMAIN(LBD)家族蛋白, 也参与管状分子的分化和次生壁的形成. 例如, 拟南芥中hb5发生突变后, 束间和束中纤维细胞中木质化程度增加; hb15突变体除了束间和束中纤维细胞中木质化程度增加, 木质部

表 1 拟南芥中调节次生壁形成的转录因子

Table 1 Transcription factors in regulating secondary wall formation in *Arabidopsis*

拟南芥	转录因子	表达定位	功能	参考文献	
正调控	一级主开关	VND1	维管组织	过表达: 次生壁异位沉积	[9]
		VND2	维管组织	过表达: 次生壁异位沉积	
		VND3	维管组织	过表达: 次生壁异位沉积; 抑制表达: 减少导管细胞壁加厚	
		VND4	维管组织	过表达: 次生壁异位沉积	
		VND5	维管组织	过表达: 次生壁异位沉积	
		VND6	后生木质部	参与PCD和次生壁形成调控	[10,11]
		VND7	初生木质部	抑制表达: 抑制初生木质部的形成	[10,12]
		NST1	束间纤维和木质部纤维、花药内皮层	调控茎纤维细胞和花药内层细胞次生壁加厚; 功能存在冗余	[7,13~15]
		NST2	束间纤维和木质部纤维、花药内皮层		
	NST3/SND1	束间纤维和木质部纤维	过表达: 次生壁异位沉积; 抑制表达: 减少纤维细胞壁加厚	[13,16]	
	二级主开关	MYB46	纤维和导管	过表达: 次生壁异位沉积; 抑制表达: 减少细胞壁加厚	[15]
		MYB83	纤维和导管	过表达: 次生壁异位沉积; 抑制表达: 减少细胞壁加厚, 与MYB46功能冗余	[17]
	特异调控木质素合成	MYB85	束间纤维和木质部	过表达:在茎的表皮细胞、皮质细胞中产生木质素异位沉积; 显性抑制: 纤维细胞中细胞壁增厚显著降低	[5]
		MYB58, MYB63	纤维和导管	过表达特异激活木质素生物合成基因并同时伴有木质素的异位沉积; 显性抑制: 木质素含量降低, 次生壁增厚减弱	[18]
		BLH6		调控木质素形成	[19]
		调控至少一种组分	SND2, SND3	纤维和木质部	过表达: 异位沉积; 抑制表达: 减少次生壁沉积
	MYB103		纤维和木质部	过表达: 纤维中细胞壁增厚; 显性抑制: 纤维细胞中细胞壁增厚显著降低; 调控S型木质素的合成	[5,20]
	MYB52, MYB54, MYB42, MYB43, MYB69, MYB20		纤维和木质部	抑制表达: 次生壁缺陷; 调控三种细胞壁组分	[5,7]
负调控	VNI2	木质部和韧皮部	抑制VND7的转录活性; 过表达导致导管缺陷	[21]	
	KNAT7	束间纤维和木质部	突变体: 束间纤维细胞中次生壁厚度增加; 过表达的表型相反	[22,23]	
	XND1	木质部	负调控PCD和次生壁合成	[24,25]	
	WRKY12		NST2和次生壁形成的转录抑制因子	[26]	
	MYB75		MYB75与KNAT7形成复合体抑制次生壁形成	[23,27]	
	OFPI, OFP4		与KNAT7形成复合体抑制次生壁形成	[22,28]	
	MYB4, MYB7, MYB32		木质素负调控因子	[29]	
	MYB52, HB5, HB15		木质素合成负调控因子, 突变体导致次生壁木质素高度沉积	[5,19]	
	其他	LBD18, LBD30	正反馈调节VND7的表达	[30]	

细胞附近的薄壁细胞也发生木质素的异位沉积, 而过表达*HB15*导致木质部区域减少^[19]. *LBD18/ASL20*和*LBD30/ASL19*通过正反馈调节VND6与VND7参与管状分子的分化, 其中,*LBD30*为VND7的直接靶基因. 过表达*LBD18*和*LBD30*的表型与过表达VND6与VND7的表型一致, 均能诱导薄壁细胞产生管状分子^[30].

1.3 转录抑制因子

另外, 一些调节次生壁合成的负调控因子也被报道, 包括XND1(XYLEM NAC DOMAIN 1), KNAT7 (KNOTTED1-LIKE HOMEODOMAIN PROTEIN7), VNI2(VND-INTERACTING2)和WRKY12等. 这些负调控因子一方面通过直接与靶基因结合来调控次生壁组成物的合成, 另一方面通过与其他转录因子形成复合物, 间接调控下游基因的表达. 例如, *KNAT7*是*SND1*直接调控的靶基因^[5], 丧失功能的*knat7*突变体中, 束间纤维细胞壁厚度增加, 而过表达*KNAT7*的转基因拟南芥和杨树均表现相反的表型^[22,40]. 在拟南芥中过表达*XND1*导致木质部管状分子的缺乏, 胚轴木质部区域缺乏, 次生壁加厚^[24]. 而WRKY12可能位于NAC转录的上游, 体内实验证明, WRKY12可直接结合在*NST2*基因的启动子区, 抑制下游*NST2*基因的表达. WRKY12是调控髓细胞次生壁形成的转录抑制因子, *wrky12*突变体髓细胞中的次生壁加厚, 并且木质素、木聚糖、纤维素增加, 茎中生物量积累增加^[26].

有些转录抑制因子与其他转录因子形成复合体, 一起调控下游基因的表达. VND-INTERACTING2 (VNI2)是一个NAC转录抑制因子, 可与VND1-5, VND7结合, 抑制木质部细胞的分化^[21]. MYB75是次生壁形成的负调控因子, *myb75*突变体中纤维细胞次生壁厚度增加, 同时木质素合成相关基因表达上调^[23]. 体内和体外实验均证明, *KNAT7*与MYB75形成蛋白复合体, 共同调控次生壁的形成^[23,27].

1.4 杨树转录因子

在杨树中, 存在类似的NAC-MYB转录调控网络^[41](图2, 表2), 来自杨树的NAC转录因子(PtVNS/PtWND, WOOD-ASSOCIATED NAC DOMAIN)在功能上已经被鉴定, 12个*PtVNS/PtWND*在木质部中表达, 过表达这些基因均能诱导杨树叶片和拟南芥幼苗中次生壁增厚, 但是次生壁加厚的程度有所差异^[42].

这些编码杨树NAC转录因子(PtWNDs)的基因, 不仅在序列上与拟南芥*SND1*存在相似性, 而且在功能上也高度同源. 在拟南芥*snd1 nst1*双突变体中表达这些*PtWNDs*, 均能使双突变体茎倒伏的表型恢复到正常状态, 且能使束间纤维细胞中次生壁的异常表型恢复正常; 过表达*PtWND2B*和*PtWND6B*能够诱导一些次生壁合成基因和相关转录因子的表达, 同时也能诱导纤维素、木聚糖和木质素的沉积^[43]. 通过研究杨树中6个与纤维素合成相关的MYB转录因子发现, 过表达*PdMYB10*, *PdMYB199*使木质纤维和束间纤维细胞的细胞壁增厚, 而过表达*PdMYB90*, *PdMYB167*, *PdMYB92*, *PdMYB125*使纤维细胞的细胞壁变薄^[56].

研究人员通过分析芯片表达数据, 鉴定出多个在木质部和维管组织发育过程中表达量较高的R2R3-MYB转录因子^[57,58]. 其中, 杨树中*PtMYB3*和*PtMYB20*是*PtWND2*的靶基因, *PtMYB3*和*PtMYB20*是拟南芥MYB46和MYB83的同源基因, 在功能上也具有同源性, 在拟南芥*myb46 myb83*双突变体中表达*PtMYB3*或*PtMYB20*可以弥补双突变体中导管细胞壁的缺陷; 在拟南芥中过表达*PtMYB3*或*PtMYB20*能促进纤维素、木聚糖和木质素的合成基因上调, 增加纤维素、木聚糖和木质素的含量, 并且导致叶表皮细胞中出现这些物质的异位沉积, 说明*PtMYB3*和*PtMYB20*同时参与激活了这三种次生壁组成物的合成途径^[35]. 通过对杨树*PtMYB2/3/20/21*、桉树*Eg-MYB2*和松树*PtMYB4*所结合的启动子元件进行分析发现, 一段7 bp的保守序列ACC(A/T)A(A/C)(T/C), 与拟南芥的SMRE元件类似, 这些转录因子通过与下游靶基因的SMRE元件位点结合调控次生壁合成相关基因的表达^[48].

在杨树中, *PtMYB6*被鉴定出是控制花青素合成和次生壁加厚的负调控因子, 与拟南芥一样, *PtMYB6*与*KNAT7*一起结合形成蛋白复合体, 共同抑制木质素和花青素合成基因的表达^[53], 说明不同物种的MYB转录因子在调控次生壁合成方面存在一定的共性.

随着组学技术和生物信息学的发展, 将转录组测序(RNA-seq)与染色质免疫共沉淀(ChIP-seq)测序结合, 极大地丰富了木材形成相关的转录调控网络, 一些新的调控木质部发育相关的转录因子被报道, 而且体外实验证实, 这些转录因子与下游靶基因的DNA, 以及

图2 木质部细胞程序性死亡过程中的酶学调控机制

Figure 2 The enzymatic regulatory mechanism of PCD in xylem cells

转录因子之间的结合确实存在^[59]。这些新发现的转录因子在次生壁形成中的功能, 它们的表达水平发生改变之后是否会影响木质部发育相关的表型改变, 以及哪些次生壁组分会受到影响, 需要通过实验验证。

2 细胞程序性死亡的酶学调控机制

木质化结束后, 管状分子和纤维细胞进入了细胞程序性死亡阶段, 管状分子的程序性死亡过程包括细胞器的降解, 同时伴随着原生质体的降解和部分未木质化次生壁的降解^[60]。植物细胞的液泡裂解被认为在管状分子的PCD过程中起关键作用, 其触发了木质部细胞的程序性死亡。当液泡裂解后, 液泡中的蛋白酶、DNases和RNases等水解酶释放到原生质中, 继而引发细胞内容物的完全降解^[60,61]。

2.1 参与程序性死亡的核酸酶

许多核酸酶参与了木质部细胞的程序性死亡过程。与植物PCD相关的核酸酶, 根据其所需离子的不同, 分为 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ 依赖或 Zn^{2+} 依赖的核酸酶, 以及

其他离子($\text{Co}^{2+}/\text{Mn}^{2+}$)依赖的核酸酶。在百日草细胞诱导细胞死亡的过程中发现, 一个分子量大小为43 kD的 Zn^{2+} 依赖S1类核酸酶ZINNIA ENDONUCLEASE1 (ZEN1), 能够特异性水解单链DNA。该酶定位于液泡中, 可能与细胞死亡有关^[62]。随后研究证实, ZEN1是管状分子降解细胞内容物的关键核酸酶, 在降解细胞核DNA中起着重要作用, 反义抑制ZEN1的表达抑制了核DNA的降解, 但是并不影响液泡裂解^[63]。说明应该还存在其他的酶类, 在管状分子的分化中起到降解液泡和其他内容物的作用。另外, 在拟南芥中还发现一个分子量大小为38 kD的 Zn^{2+} 依赖核酸酶BFN1, 同时具有RNase和DNase活性, 既能降解RNA也能降解单链DNA, 在衰老的花、叶和茎等多个组织中表达^[64,65]。在叶片衰老过程中, 研究人员观察到BFN1从内质网转运到细胞核, 最后定位于细胞核中, 介导细胞核中DNA的降解, 从而参与器官衰老、木质部细胞成熟等发育相关的多个PCD过程^[66]。

在毛白杨中, 人们发现一个在维管组织中特异表达的 Ca^{2+} 依赖核酸酶PtCDD, 其能降解活体内的基因组DNA, 过表达PtCDD可以促进导管的分化, 而抑制

表 2 杨树中调节次生壁形成的转录因子
Table 2 Transcription factors in regulating secondary wall formation in *Populus*

杨树	转录因子	表达定位	功能	参考文献
正调控	PtVNS/ PtrWNDs	木质部	过表达: 次生壁异位沉积	[42,43]
	PtrWND2, PtrWND6	导管、纤维、韧皮部纤维、射线薄壁细胞	显性抑制: 次生壁厚度减少; 过表达: 次生壁异位沉积	[43,44]
	PtrWND1, PtrWND3, PtrWND4, PtrWND5	导管、纤维、射线薄壁组织	木材形成中的转录激活因子	[43]
	PtoVNS11	维管组织	过表达: 木质素大量沉积和次生壁增厚	[45]
	PtrSND1	木质部	木材形成中的转录激活因子	[41,46,47]
	PtrMYB3, PtrMYB20	导管、纤维、韧皮部纤维、射线薄壁细胞	过表达: 表皮细胞壁中木质素、纤维素、木聚糖异位沉积	[35]
	PtrMYB2, PtrMYB21	木质部导管、纤维	过表达: 表皮细胞壁中木质素、纤维素、木聚糖异位沉积; 显性抑制: 次生壁厚度减少	[48]
	PtrMYB074/50	导管、木质部纤维	PtrSND1的直接靶基因	[41]
	PtSND2/ PtrNAC154	木质部	显性抑制: 次生壁厚度减少, 纤维素和木质素含量下降; 过表达: 树皮增加, 次生木质部减少	[49,50]
	PtrMYB28	次生木质部	激活木质素合成基因	[34]
负调控	PtrMYB152	木质部	过表达: 导管和纤维细胞壁厚度增加	[51]
	PtoMYB92	木质部	过表达: 次生壁厚度增加, 木质素异位沉积	[52]
	PtrMYB26, PtrMYB90, PtrNAC156, PtrNAC157	木质部	被WND2和WND6诱导, 至少调控一种次生壁组分的基因表达	[44]
	PtrMYB18, PtrMYB74, PtrMYB75, PtrMYB121, PtrNAC150, PtrZF1, PtrGATA1	木质部	被WND2和WND6诱导, 激活纤维素、木质素、木聚糖基因表达	[44]
	PtrKNAT7	维管组织	过表达: 纤维细胞壁变薄; 突变体: 纤维细胞壁增厚, 木质素增加	[40]
	PtrMYB6	根、茎、叶	过表达: 次生壁沉积减少, 次生壁合成基因的表达受抑制	[53]
	PopNAC122	木质部、韧皮部、形成层和树皮	过表达: 木质部发育受阻	[50]
	PtrEPSP	叶片原生质体细胞核中	过表达: 木质素异位沉积, 木质素含量增加	[54]
	PttMYB021	木质部和韧皮部纤维	反义抑制: 植株变矮, 木质素含量增加	[55]

*PtCDD*基因表达会延迟次生壁的沉积并影响次生木质部的发育^[67].

2.2 参与程序性死亡的蛋白酶

动物细胞PCD过程主要由半胱天冬氨酸蛋白酶类

(caspases)介导, 该酶类通过水解天冬氨酸残基C末端的肽键, 激活下游的caspases酶或分解细胞内相关的底物蛋白, 导致细胞结构和代谢的改变, 最后引起细胞凋亡^[68]. 在植物细胞中, 并未发现该类酶的存在, 但在植物中发现一些蛋白酶具有类似caspases的功能.

对百日草悬浮细胞进行分析发现, 管状分子的形成需要半胱氨酸蛋白酶和丝氨酸蛋白酶的参与^[69,70]. 最早的药理学研究发现, 在百日草悬浮细胞培养体系中添加蛋白酶抑制剂能够抑制管状分子内容物降解和管状分子的分化^[71]. 在诱导管状分子分化的悬浮细胞中不仅检测到蛋白水解酶的活性^[72], 而且分离得到一个编码20 kD大小的半胱氨酸蛋白酶基因*p48h-17*, 该基因与管状分子分化有关^[70]. 在百日草管状分子分化过程中发现, 半胱氨酸蛋白酶ZCP4在导管分化早期表达, 且ZCP4中11 bp的核酸序列(CTTGAAAGCAA)是管状分子特异表达所必需的元件^[59,73]. 随后, 越来越多的研究发现, 蛋白酶在木质部细胞的PCD中发挥重要作用. 在杨树中发现一个具有caspase-3活性的20S蛋白酶参与木质部发育, 利用蛋白酶抑制剂可以抑制管状分子的PCD过程^[74]. 两个在拟南芥木质部特异表达的木瓜类半胱氨酸蛋白酶XYLEM CYSTEINE PROTEASE1(XCP1)和XCP2, 与百日草ZCP4同源, 它们在管状分子中特异表达, 定位于液泡中, 可能作为自噬作用的效应器参与导管分化^[75]. *xcp1 xcp2*双突变体的管状分子中内容物降解不完全^[76]. 拟南芥AtMC9也是一个在木质部中特异表达的金属蛋白酶, 参与调节导管分子的自噬. 丧失功能的*atmc9*突变体中表现出导管分子自噬缺陷^[77].

具有caspase-1活性的液泡加工酶(vacuolar processing enzymes, VPEs)属于半胱氨酸蛋白酶legumain家族, 该酶类以无活性的蛋白前体形式在细胞质中合成, 进入液泡后, 在酸性环境下通过自我催化的方式转变为成熟形式, 形成具有功能活性的酶^[78]. 当VPE被沉默后, 病毒诱导产生的PCD过程中液泡的裂解受到抑制^[79]. 有报道指出VPE在杨树茎的木质部纤维中表达^[80,81], 本团队^[82]研究发现, 拟南芥 γ VPE在纤维细胞的PCD中起重要作用, γ vpe突变体中纤维细胞内容物降解延迟, 次生壁增厚且木质素含量增加. 另外, 本团队^[83]研究发现, 木瓜蛋白酶(papain)家族的半胱氨酸蛋白酶CEP1不仅在花药中表达, 参与调控绒毡层的PCD过程; 也在茎的木质部细胞中特异表达, 参与调控导管分子和纤维细胞的PCD过程. 当*cepi*突变后, 拟南芥导管分子和纤维细胞PCD过程受阻, 纤维细胞的次生壁增厚^[84]. γ VPE与CEP1均存在于木质部细胞中, 且在功能上类似, 因此, 本团队猜测蛋白酶之间是否发生了级联催化激活的过程, 从而导致细胞程序性死亡. 体外激

活实验证明, γ VPE成熟酶能够激活CEP1成熟, 在拟南芥野生型植株中, 随着茎的发育成熟, CEP1能够完全转变成成熟酶的形式, 而在 γ vpe突变体的成熟茎中, 还有部分CEP1以酶原的形式存在^[82]. 说明先成熟的蛋白酶VPE能够激活其他蛋白酶, 从而引发级联反应, 导致液泡膜裂解, 进一步触发PCD进程. 是否有其他蛋白酶参与木质部细胞的程序性死亡过程? 这些酶之间是否存在级联激活的关系, 哪些酶处于级联激活的上游, 哪些酶处于下游? 随着越来越多相关研究的开展, 蛋白酶之间的调控网络会逐渐被揭示.

次生壁形成与木质部细胞PCD是两个相互独立, 又相互依赖、紧密偶联的过程, 次生壁的形成和细胞程序化死亡可能通过一个共同的信号级联途径调控, 但在某一点的调控上出现了差别. 调控次生壁形成的关键转录因子的表达发生改变, 次生壁的形成受影响的同时, PCD过程也会受影响, 在拟南芥中过表达*XND1*不仅抑制次生壁的形成, 也会抑制木质部管状分子PCD过程^[24]. VND6和VND7转录激活后, 不仅能导致细胞壁形成相关基因的表达量上调, 也能导致细胞死亡相关基因, 如*XCP1*, *XCP2*和*AtMC9*的表达量上调^[11]. *XCP1*的启动子上含有NAC转录因子结合的关键元件SNBE序列, 能够与VND6, VND7和SND1结合, 说明NAC转录因子可能通过直接调控PCD相关的关键酶基因的表达来调控细胞的死亡过程^[33]. 同样, 当调控PCD过程的酶发生改变, 次生壁的沉积过程也会受到影响. 例如, 调控PCD过程的半胱氨酸蛋白酶CEP1发生突变后, 不仅纤维细胞和管状分子的细胞内容物降解延迟, 而且与细胞壁合成相关的基因表达上调, 细胞壁的厚度增加^[84]. 说明次生壁形成与木质部细胞PCD过程是相互偶联的过程, 与木质部发育相关的关键转录因子除了通过与相关的蛋白酶基因的启动子结合, 直接调控木质部细胞的PCD过程. 其是否也可能通过影响蛋白之间的互作效率, 进而间接影响木质部相关蛋白酶或合成酶的活性, 这一过程值得进一步探究.

3 总结与展望

植物木材的形成是复杂的生物途径, 众多转录因子、酶、调控基因参与其中, 转录因子分级依次直接或间接调控木材的形成, 且互相关联发挥促进或抑制

作用. 有的直接调控次生壁形成和细胞程序性死亡过程, 有的间接调控这些过程, 这些基因、酶、转录因子之间形成了极为庞大的调控网络.

近年来, 随着分子生物学研究技术的不断发展, 木材形成的分子调控网络不断被更新, 新的调控因子不断

被解析, 本文主要对调控木材形成的转录和酶学调控网络进行了综述, 阐明了木材形成过程中次生壁形成和细胞程序性死亡过程中的分子调控网络. 这些理论研究成果将为分子水平上控制木材形成过程, 改良木材性状并提高木本植物的经济价值提供重要的理论指导.

参考文献

- 1 Bollhöner B, Prestele J, Tuominen H. Xylem cell death: Emerging understanding of regulation and function. *J Exp Bot*, 2012, 63: 1081–1094
- 2 Turner S, Gallois P, Brown D. Tracheary element differentiation. *Annu Rev Plant Biol*, 2007, 58: 407–433
- 3 Nieminen K M, Kauppinen L, Helariutta Y. A weed for wood? *Arabidopsis* as a genetic model for xylem development. *Plant Physiol*, 2004, 135: 653–659
- 4 He X Q, Cui K M. Progress in study of secondary wall formation in plants (in Chinese). *Chin Bull Bot*, 2002, 19: 513–522 [贺新强, 崔克明. 植物细胞次生壁形成的研究进展. *植物学通报*, 2002, 19: 513–522]
- 5 Zhong R, Lee C, Zhou J, et al. A battery of transcription factors involved in the regulation of secondary cell wall biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2008, 20: 2763–2782
- 6 Taylor-Teeples M, Lin L, de Lucas M, et al. An *Arabidopsis* gene regulatory network for secondary cell wall synthesis. *Nature*, 2015, 517: 571–575
- 7 Zhong R, Ye Z H. Secondary cell walls: Biosynthesis, patterned deposition and transcriptional regulation. *Plant Cell Physiol*, 2014, 56: 195–214
- 8 Nakano Y, Yamaguchi M, Endo H, et al. NAC-MYB-based transcriptional regulation of secondary cell wall biosynthesis in land plants. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 288
- 9 Zhou J, Zhong R, Ye Z H. *Arabidopsis* NAC domain proteins, VND1 to VND5, are transcriptional regulators of secondary wall biosynthesis in vessels. *PLoS ONE*, 2014, 9: e105726
- 10 Kubo M, Udagawa M, Nishikubo N, et al. Transcription switches for protoxylem and metaxylem vessel formation. *Genes Dev*, 2005, 19: 1855–1860
- 11 Ohashi-Ito K, Oda Y, Fukuda H. *Arabidopsis* VASCULAR-RELATED NAC-DOMAIN6 directly regulates the genes that govern programmed cell death and secondary wall formation during xylem differentiation. *Plant Cell*, 2010, 22: 3461–3473
- 12 Yamaguchi M, Kubo M, Fukuda H, et al. Vascular-related NAC-DOMAIN7 is involved in the differentiation of all types of xylem vessels in *Arabidopsis* roots and shoots. *Plant J*, 2008, 55: 652–664
- 13 Mitsuda N, Iwase A, Yamamoto H, et al. NAC transcription factors, NST1 and NST3, are key regulators of the formation of secondary walls in woody tissues of *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2007, 19: 270–280
- 14 Mitsuda N, Seki M, Shinozaki K, et al. The NAC transcription factors NST1 and NST2 of *Arabidopsis* regulate secondary wall thickenings and are required for anther dehiscence. *Plant Cell*, 2005, 17: 2993–3006
- 15 Zhong R, Richardson E A, Ye Z H. The MYB46 transcription factor is a direct target of SND1 and regulates secondary wall biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2007, 19: 2776–2792
- 16 Zhong R, Demura T, Ye Z H. SND1, a NAC domain transcription factor, is a key regulator of secondary wall synthesis in fibers of *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2006, 18: 3158–3170
- 17 McCarthy R L, Zhong R, Ye Z H. 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*, 2009, 50: 1950–1964
- 18 Zhou J, Lee C, Zhong R, et al. MYB58 and MYB63 are transcriptional activators of the lignin biosynthetic pathway during secondary cell wall formation in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2009, 21: 248–266
- 19 Cassan-Wang H, Goué N, Saidi M N, et al. Identification of novel transcription factors regulating secondary cell wall formation in *Arabidopsis*. *Front Plant Sci*, 2013, 4: 189
- 20 Öhman D, Demedts B, Kumar M, et al. MYB103 is required for *FERULATE-5-HYDROXYLASE* expression and syringyl lignin biosynthesis in *Arabidopsis* stems. *Plant J*, 2013, 73: 63–76

- 21 Yamaguchi M, Ohtani M, Mitsuda N, et al. VND-INTERACTING2, a NAC domain transcription factor, negatively regulates xylem vessel formation in *Arabidopsis*. [Plant Cell](#), 2010, 22: 1249–1263
- 22 Li E, Wang S, Liu Y, et al. OVATE FAMILY PROTEIN4 (OFP4) interaction with KNAT7 regulates secondary cell wall formation in *Arabidopsis thaliana*. [Plant J](#), 2011, 67: 328–341
- 23 Bhargava A, Mansfield S D, Hall H C, et al. MYB75 functions in regulation of secondary cell wall formation in the *Arabidopsis* inflorescence stem. [Plant Physiol](#), 2010, 154: 1428–1438
- 24 Zhao C, Avci U, Grant E H, et al. XND1, a member of the NAC domain family in *Arabidopsis thaliana*, negatively regulates lignocellulose synthesis and programmed cell death in xylem. [Plant J](#), 2008, 53: 425–436
- 25 Yamaguchi M, Demura T. Transcriptional regulation of secondary wall formation controlled by NAC domain proteins. [Plant Biotech](#), 2010, 27: 237–242
- 26 Wang H, Avci U, Nakashima J, et al. Mutation of WRKY transcription factors initiates pith secondary wall formation and increases stem biomass in dicotyledonous plants. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2010, 107: 22338–22343
- 27 Bhargava A, Ahad A, Wang S, et al. The interacting MYB75 and KNAT7 transcription factors modulate secondary cell wall deposition both in stems and seed coat in *Arabidopsis*. [Planta](#), 2013, 237: 1199–1211
- 28 Liu Y, Douglas C J. A role for OVATE FAMILY PROTEIN1 (OFP1) and OFP4 in a BLH6-KNAT7 multi-protein complex regulating secondary cell wall formation in *Arabidopsis thaliana*. [Plant Signal Behav](#), 2015, 10
- 29 Preston J, Wheeler J, Heazlewood J, et al. AtMYB32 is required for normal pollen development in *Arabidopsis thaliana*. [Plant J](#), 2004, 40: 979–995
- 30 Soyano T, Thitamadee S, Machida Y, et al. *ASYMMETRIC LEAVES2-LIKE19/LATERAL ORGAN BOUNDARIES DOMAIN30* and *ASL20/LBD18* regulate tracheary element differentiation in *Arabidopsis*. [Plant Cell](#), 2008, 20: 3359–3373
- 31 Grima-Pettenati J, Soler M, Camargo E L O, et al. Transcriptional regulation of the lignin biosynthetic pathway revisited: New players and insights. [Adv Bot Res](#), 2012, 61: 173–218
- 32 Hiratsu K, Matsui K, Koyama T, et al. Dominant repression of target genes by chimeric repressors that include the EAR motif, a repression domain, in *Arabidopsis*. [Plant J](#), 2003, 34: 733–739
- 33 Zhong R, Lee C, Ye Z H. Global analysis of direct targets of secondary wall NAC master switches in *Arabidopsis*. [Mol Plant](#), 2010, 3: 1087–1103
- 34 Zhong R, Ye Z H. Transcriptional regulation of lignin biosynthesis. [Plant Signal Behav](#), 2009, 4: 1028–1034
- 35 McCarthy R L, Zhong R, Fowler S, et al. The poplar MYB transcription factors, PtrMYB3 and PtrMYB20, are involved in the regulation of secondary wall biosynthesis. [Plant Cell Physiol](#), 2010, 51: 1084–1090
- 36 Zhong R, Ye Z H. MYB46 and MYB83 bind to the SMRE sites and directly activate a suite of transcription factors and secondary wall biosynthetic genes. [Plant Cell Physiol](#), 2012, 53: 368–380
- 37 Bonawitz N D, Chapple C. The genetics of lignin biosynthesis: Connecting genotype to phenotype. [Annu Rev Genet](#), 2010, 44: 337–363
- 38 Zhao Q. Lignification: Flexibility, biosynthesis and regulation. [Trends Plant Sci](#), 2016, 21: 713–721
- 39 Raes J, Rohde A, Christensen J H, et al. Genome-wide characterization of the lignification toolbox in *Arabidopsis*. [Plant Physiol](#), 2003, 133: 1051–1071
- 40 Li E, Bhargava A, Qiang W, et al. The class II *KNOX* gene *KNAT7* negatively regulates secondary wall formation in *Arabidopsis* and is functionally conserved in *Populus*. [New Phytol](#), 2012, 194: 102–115
- 41 Chen H, Wang J P, Liu H, et al. Hierarchical transcription factor and chromatin binding network for wood formation in *Populus trichocarpa*. [Plant Cell](#), 2019, 31: 602–626
- 42 Ohtani M, Nishikubo N, Xu B, et al. A NAC domain protein family contributing to the regulation of wood formation in poplar. [Plant J](#), 2011, 67: 499–512
- 43 Zhong R, Lee C, Ye Z H. Functional characterization of poplar wood-associated NAC domain transcription factors. [Plant Physiol](#), 2010, 152: 1044–1055
- 44 Zhong R, McCarthy R L, Haghighat M, et al. The poplar MYB master switches bind to the SMRE site and activate the secondary wall biosynthetic program during wood formation. [PLoS ONE](#), 2013, 8: e69219
- 45 Wang L, Lu W, Ran L, et al. R2R3-MYB transcription factor MYB6 promotes anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis but inhibits secondary cell wall formation in *Populus tomentosa*. [Plant J](#), 2019, 99: 733–751

- 46 Zhong R, McCarthy R L, Lee C, et al. Dissection of the transcriptional program regulating secondary wall biosynthesis during wood formation in poplar. *Plant Physiol*, 2011, 157: 1452–1468
- 47 Yang L, Hou Y, Zhao X, et al. Identification and characterization of a wood-associated NAC domain transcription factor PtoVNS11 from *Populus tomentosa* Carr. *Trees*, 2015, 29: 1091–1101
- 48 Lin Y C, Li W, Sun Y H, et al. SND1 transcription factor-directed quantitative functional hierarchical genetic regulatory network in wood formation in *Populus trichocarpa*. *Plant Cell*, 2013, 25: 4324–4341
- 49 Lin Y C J, Chen H, Li Q, et al. Reciprocal cross-regulation of VND and SND multigene TF families for wood formation in *Populus trichocarpa*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: E9722–E9729
- 50 Wang H H, Tang R J, Liu H, et al. Chimeric repressor of PtSND2 severely affects wood formation in transgenic *Populus*. *Tree Physiol*, 2013, 33: 878–886
- 51 Grant E H, Fujino T, Beers E P, et al. Characterization of NAC domain transcription factors implicated in control of vascular cell differentiation in *Arabidopsis* and *Populus*. *Planta*, 2010, 232: 337–352
- 52 Wang S, Li E, Porth I, et al. Regulation of secondary cell wall biosynthesis by poplar R2R3 MYB transcription factor PtrMYB152 in *Arabidopsis*. *Sci Rep*, 2014, 4: 5054
- 53 Li C, Wang X, Ran L, et al. PtoMYB92 is a transcriptional activator of the lignin biosynthetic pathway during secondary cell wall formation in *Populus tomentosa*. *Plant Cell Physiol*, 2015, 56: 2436–2446
- 54 Xie M, Muchero W, Bryan A C, et al. A 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase functions as a transcriptional repressor in *Populus*. *Plant Cell*, 2018, 30: 1645–1660
- 55 Karpinska B, Karlsson M, Srivastava M, et al. MYB transcription factors are differentially expressed and regulated during secondary vascular tissue development in hybrid aspen. *Plant Mol Biol*, 2004, 56: 255–270
- 56 Wang Z G. Function characterization of six key MYB transcription factors involved in *Populus* wood formation (in Chinese). Dissertation for Master's Degree. Guangzhou: Jinan University, 2013 [王增光. 6个参与杨树木材形成的关键MYB转录因子的功能解析. 硕士学位论文. 广州: 暨南大学, 2013]
- 57 Wilkins O, Nahal H, Foong J, et al. Expansion and diversification of the *Populus* R2R3-MYB family of transcription factors. *Plant Physiol*, 2009, 149: 981–993
- 58 Guo W, Zhao S T, Lu M Z. Analysis of MYB transcription factor involved in development of secondary vascular system in tobacco and *Populus tomentosa* (in Chinese). *For Res*, 2016, 29: 25–33 [郭伟, 赵树堂, 卢孟柱. 烟草和毛白杨次生维管发育相关MYB转录因子分析. 林业科学研究, 2016, 29: 25–33]
- 59 Pyo H, Demura T, Fukuda H. Spatial and temporal tracing of vessel differentiation in young *Arabidopsis* seedlings by the expression of an immature tracheary element-specific promoter. *Plant Cell Physiol*, 2004, 45: 1529–1536
- 60 Escamez S, Tuominen H. Programmes of cell death and autolysis in tracheary elements: When a suicidal cell arranges its own corpse removal. *J Exp Bot*, 2014, 65: 1313–1321
- 61 Fukuda H. Tracheary element differentiation. *Plant Cell*, 1997, 9: 1147–1156
- 62 Aoyagi S, Sugiyama M, Fukuda H. *BEN1* and *ZEN1* cDNAs encoding S1-type DNases that are associated with programmed cell death in plants. *FEBS Lett*, 1998, 429: 134–138
- 63 Ito J, Fukuda H. *ZEN1* is a key enzyme in the degradation of nuclear DNA during programmed cell death of tracheary elements. *Plant Cell*, 2002, 14: 3201–3211
- 64 Pérez-Amador M A, Abler M L, De Rocher E J, et al. Identification of BFN1, a bifunctional nuclease induced during leaf and stem senescence in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2000, 122: 169–180
- 65 Farage-Barhom S, Burd S, Sonogo L, et al. Expression analysis of the BFN1 nuclease gene promoter during senescence, abscission, and programmed cell death-related processes. *J Exp Bot*, 2008, 59: 3247–3258
- 66 Farage-Barhom S, Burd S, Sonogo L, et al. Localization of the *Arabidopsis* senescence- and cell death-associated BFN1 nuclease: From the ER to fragmented nuclei. *Mol Plant*, 2011, 4: 1062–1073
- 67 Wang J G. Study the function of *PtCDD*, a Ca^{2+} dependent nuclease, that is involved in secondary xylem development in *Populus tomentosa* (in Chinese). Dissertation for Doctoral Degree. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2015 [王俊刚. 毛白杨钙离子依赖的核酸酶*PtCDD*基因在次生木质部发育中的功能研究. 博士学位论文. 北京: 中国林业科学研究院, 2015]

- 68 Earnshaw W C, Martins L M, Kaufmann S H. Mammalian caspases: Structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. *Annu Rev Biochem*, 1999, 68: 383–424
- 69 Beers E P, Freeman T B. Proteinase activity during tracheary element differentiation in *Zinnia* mesophyll cultures. *Plant Physiol*, 1997, 113: 873–880
- 70 Ye Z H, Varner J E. Induction of cysteine and serine proteases during xylogenesis in *Zinnia elegans*. *Plant Mol Biol*, 1996, 30: 1233–1246
- 71 Woffenden B J, Freeman T B, Beers E P. Proteasome inhibitors prevent tracheary element differentiation in *Zinnia* mesophyll cell cultures. *Plant Physiol*, 1998, 118: 419–430
- 72 Minami A, Fukuda H. Transient and specific expression of a cysteine endopeptidase associated with autolysis during differentiation of *Zinnia* mesophyll cells into tracheary elements. *Plant Cell Physiol*, 1995, 36: 1599–1606
- 73 Yamamoto R, Demura T, Fukuda H. Brassinosteroids induce entry into the final stage of tracheary element differentiation in cultured *Zinnia* cells. *Plant Cell Physiol*, 1997, 38: 980–983
- 74 Han J J, Lin W, Oda Y, et al. The proteasome is responsible for caspase-3-like activity during xylem development. *Plant J*, 2012, 72: 129–141
- 75 Funk V, Kositsup B, Zhao C, et al. The *Arabidopsis* xylem peptidase XCP1 is a tracheary element vacuolar protein that may be a papain ortholog. *Plant Physiol*, 2002, 128: 84–94
- 76 Avci U, Earl Petzold H, Ismail I O, et al. Cysteine proteases XCP1 and XCP2 aid micro-autolysis within the intact central vacuole during xylogenesis in *Arabidopsis* roots. *Plant J*, 2008, 56: 303–315
- 77 Bollhöner B, Zhang B, Stael S, et al. *Post mortem* function of AtMC9 in xylem vessel elements. *New Phytol*, 2013, 200: 498–510
- 78 Hara-Nishimura I, Hatsugai N. The role of vacuole in plant cell death. *Cell Death Differ*, 2011, 18: 1298–1304
- 79 Hatsugai N, Kuroyanagi M, Yamada K, et al. A plant vacuolar protease, VPE, mediates virus-induced hypersensitive cell death. *Science*, 2004, 305: 855–858
- 80 Moreau C, Aksenov N, Lorenzo M G, et al. A genomic approach to investigate developmental cell death in woody tissues of *Populus* trees. *Genome Biol*, 2005, 6: R34
- 81 Courtois-Moreau C L, Pesquet E, Sjödin A, et al. A unique program for cell death in xylem fibers of *Populus* stem. *Plant J*, 2009, 58: 260–274
- 82 Cheng Z, Zhang J, Yin B, et al. γ VPE plays an important role in programmed cell death for xylem fiber cells by activating protease CEP1 maturation in *Arabidopsis thaliana*. *Int J Biol Macromol*, 2019, 137: 703–711
- 83 Zhang D, Liu D, Lv X, et al. The cysteine protease CEP1, a key executor involved in tapetal programmed cell death, regulates pollen development in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2014, 26: 2939–2961
- 84 Han J, Li H, Yin B, et al. The papain-like cysteine protease CEP1 is involved in programmed cell death and secondary wall thickening during xylem development in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 2019, 70: 205–215

The molecular mechanism in secondary wall deposition and programmed cell death of wood formation

LI Hui^{1,2,3}, GUO XiaoRui¹, LIU YaLin¹ & LU Hai^{1,2,3}

1 College of Biological Sciences and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;

2 National Engineering Laboratory for Tree Breeding, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;

3 Beijing Advanced Innovation Center for Tree Breeding by Molecular Design, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

Wood formation occurs through continuous steps involving cambium cell proliferation, xylem cell specification and expansion, secondary wall deposition and programmed cell death (PCD). Recently, many key transcription factors/repressors and enzymes involved in secondary wall formation and PCD processes have been identified based on genetics and omics analysis in model plants *Arabidopsis* and poplar. All these hierarchical transcription factors build the transcriptional regulatory network of secondary wall deposition. These transcription factors not only play important role in regulating the biosynthesis of secondary wall components including lignin, cellulose and xylan, but also activate downstream hydrolytic enzymes and trigger PCD process. To analyze the biological function and regulatory network of these genes, it will provide the theoretical foundation for elucidating the molecular mechanism of wood formation. In this paper, we review the advances of transcriptional regulatory network in secondary wall deposition and enzymatic mechanism in PCD of wood formation.

wood, secondary wall, transcription factors, PCD, protease

doi: [10.1360/SSV-2019-0133](https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2019-0133)