

若干双子叶与单子叶植物细胞壁果胶结构单糖组成特征研究

程小乔 李 科 陈雪梅 蒋湘宁 盖 颖

(北京林业大学生物科学与技术学院)

摘要: 为了系统研究被子植物初生壁果胶结构单糖的组成成分及其与被子植物两纲分类的关系, 结合单糖单一环式的衍生化方法, 采用 GC/MS 测定 22 种被子植物初生壁果胶中单糖组分及含量, 并对测得的结果进行主成分、 t 检验和香农-威纳指数分析。结果表明: 被子植物细胞壁果胶由木糖、鼠李糖、岩藻糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖 7 种单糖组成, 其中鼠李糖、阿拉伯糖和半乳糖含量较高; 岩藻糖和甘露糖含量极少。主成分分析筛选出决定 22 种被子植物间糖含量差异的 5 种果胶单糖分别为: 木糖、阿拉伯糖、半乳糖、鼠李糖和葡萄糖。主成分二维图和 t 检验结果显示: 可通过果胶单糖含量实现被子植物中双子叶和单子叶两纲植物的区分, 且木糖和半乳糖决定了两纲间的显著性差异 ($P < 0.01$)。同时香农-威纳指数结果显示了被子植物两纲在单糖含量的多样性上也存在差异, 且双子叶植物的单糖多样性显著高于单子叶植物 ($P < 0.01$)。

关键词: 果胶单糖; 植物分类; 主成分分析; 双子叶植物; 单子叶植物

中图分类号: Q532; S718.3 文献标志码: A 文章编号: 1000-1522(2012)05-0044-06

CHENG Xiao-qiao; LI Ke; CHEN Xue-mei; JIANG Xiang-ning; GAI Ying. **Comparison of pectin structural monosaccharides in cell wall of dicotyledon and monocotyledon.** *Journal of Beijing Forestry University* (2012) 34(5) 44-49 [Ch, 22 ref.] College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, 100083, P. R. China.

To study the angiosperm pectin monosaccharide components and content in primary cell wall as well as its relation with plants' systematics between dicotyledon and monocotyledon, gas chromatograph-mass spectrometry (GC/MS) was performed to detect the pectin monosaccharide components and content in 22 angiosperms and the data were analyzed by principal component analysis (PCA), Student's test and Shannon-Weiner index analysis. Seven monosaccharides were found in angiosperm pectin including xylose, rhamnose, fucose, arabinose, galactose, glucose and mannose. The pectin was particularly rich in rhamnose, arabinose and galactose, but with little fucose and mannose. Five pectin monosaccharides were screened from 22 plants by PCA, and they were xylose, arabinose, rhamnose, galactose, and glucose respectively. Two-dimensional chart and Student's test showed that the significantly different content of xylose or galactose in pectin could provide a reference for distinguishing class dicotyledon from class monocotyledon ($P < 0.01$). The Shannon-Wiener index showed the more diversities of monosaccharide in dicotyledon than monocotyledon ($P < 0.01$). Taken together, the different content of pectin monosaccharide could provide a reference for the angiosperms' systematics between dicotyledon and monocotyledon.

Key words pectin monosaccharide; plant systematics; principal component analysis (PCA); dicotyledon; monocotyledon

果胶是一类杂合、分支、高度水合的混合多糖, 广泛存在于植物细胞壁中^[1]。自 1825 年, 法国人 J. Bracon-not 第一次从胡萝卜中提取到果胶, 并将这种能形成凝胶的物质命名为“Pectin(果胶)”以来,

人们就一直致力于果胶研究。果胶作为细胞壁主要的基质多糖, 对细胞组织起着粘合和软化作用, 同时还能抵御病原体侵染和昆虫危害。果胶因具有良好的凝胶、增稠、稳定等性能, 而被广泛应用于食品、医

收稿日期: 2012-03-26

基金项目: 北京林业大学新进教师科研启动基金(2010BLX03)。

第一作者: 程小乔。主要研究方向: 生物化学与分子生物学。电话: 18046510798 Email: xiaoqiao0202@gmail.com 地址: 100083 北京市清华东路 35 号北京林业大学生物技术与科学学院。

责任作者: 盖颖, 博士。主要研究方向: 树木生长发育与木材形成。电话: 010-62338063 Email: gaiying@bjfu.edu.cn 地址: 同上。

本刊网址: <http://journal.bjfu.edu.cn>

药、化工、纺织等行业,对改善人们的生活发挥了积极作用。

目前关于果胶的研究主要集中在其功能应用上,如可通过基因工程改善细胞壁多糖成分来改造植株提高农作物抗性,增加作物产量^[2],又如 Jackson 等^[3]发现果胶能诱导雄性激素依赖性和雄性激素非依赖性前列腺癌细胞程序性死亡,而不会对非致癌细胞产生影响。在果胶糖结构方面的研究主要集中在较低等植物细胞壁多糖的研究,包括藻类^[4]、苔藓^[5-6]和蕨类^[7]等,研究的方法通常是利用模式植物如拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、玉米(*Zea mays*)等突变体^[8]。尤其是2000年拟南芥全基因组测序公示完成之后,更是大量的结合分子遗传学利用拟南芥突变体来研究细胞壁包括果胶多糖的合成和功能^[9-10],对于糖结构与进化关系的分析研究极少,仅有的也是笼统地从细胞壁多糖的低聚合物上进行进化分析的^[11-12]。尚未见详尽系统的关于

被子植物初生壁果胶单糖组分及其与植物分类关系的研究报道。

本研究以22种被子植物,包括13种双子叶和9种单子叶植物为材料,利用气相色谱质谱法(GC/MS)检测初生壁果胶中相应单糖的组分及含量,并讨论分析了单糖组分与被子植物两纲间的分类关系,以期为进一步深入探索植物细胞壁多糖形成机制以及系统进化研究提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验共选取22种被子植物,包括13种双子叶植物和9种单子叶植物为试材,详见表1。其中烟草由北京林业大学科研楼组培室提供;胶州卫矛采自北京林业大学校园内;小麦和玉米采自安徽安庆农家农田;其余植物均采自北京植物园。

表1 植物材料
Tab. 1 Plant materials

植物分类	植物名		采集地	特性
双子叶植物	木兰科(Magnoliaceae)	紫玉兰(<i>Magnolia liliflora</i>)	北京植物园	栽培
	桑科(Moraceae)	印度榕(<i>Ficus elastica</i>)	北京植物园	栽培
	木麻黄科(Casuarinaceae)	木麻黄(<i>Casuarina equisetifolia</i>)	北京植物园	栽培
	山茶科(Theaceae)	山茶花(<i>Camellia japonica</i>)	北京植物园	栽培
	木棉科(Bombacaceae)	瓜栗(<i>Pachira macrocarpa</i>)	北京植物园	栽培
	杜鹃花科(Ericaceae)	杂种杜鹃(<i>Rhododendron hybridum</i>)	北京植物园	栽培
	桃金娘科(Myrtaceae)	番石榴(<i>Psidium guajava</i>)	北京植物园	栽培
	卫矛科(Celastraceae)	胶州卫矛(<i>Euonymus kiautschovicus</i>)	北京林业大学	野生
	楝科(Meliaceae)	四季米仔兰(<i>Aglaia duperreana</i>)	北京植物园	栽培
	茄科(Solanaceae)	烟草(<i>Nicotiana tabacum</i>)	北京林业大学	组培苗
	茄科(Solanaceae)	番茄(<i>Lycopersicon esculentum</i>)	北京植物园	栽培
	木犀科(Oleaceae)	木犀(<i>Osmanthus fragrans</i>)	北京植物园	栽培
	紫葳科(Bignoniaceae)	蓝花楹(<i>Jacaranda mimosifolia</i>)	北京植物园	栽培
	单子叶植物	棕榈科(Arecaceae)	棍棒椰子(<i>Hyophorbe verchaffeltii</i>)	北京植物园
禾本科(Poaceae)		小麦(<i>Triticum aestivum</i>)	安徽安庆农田	栽培
禾本科(Poaceae)		玉米(<i>Zea mays</i>)	安徽安庆农田	栽培
禾本科(Poaceae)		佛肚竹(<i>Bambusa ventricosa</i>)	北京植物园	栽培
凤梨科(Bromeliaceae)		虎纹凤梨(<i>Vriesea splendens</i>)	北京植物园	栽培
凤梨科(Bromeliaceae)		端红凤梨(<i>Neoregelia spactabilis</i>)	北京植物园	栽培
芭蕉科(Musaceae)		鹤望兰(<i>Strelitzia reginae</i>)	北京植物园	栽培
龙舌兰科(Agavaceae)		龙血树(<i>Dracaena cambodiana</i>)	北京植物园	栽培
	兰科(Orchidaceae)	硬叶兰(<i>Cymbidium bicolor</i>)	北京植物园	栽培

实验试剂:二甲基亚砩(DMSO)、1-甲基咪唑、乙酸酐、二氯甲烷、三氟乙酸(TFA)、硼氢化钠、21种标准单糖等均为国产分析纯。淀粉酶和果胶酶购自Sigma公司。二甲基亚砩在使用之前采用氢氧化钾脱水处理。

1.2 主要仪器设备

气相色谱质谱联用仪(Thermo Trace DSQ GC/

MS, AS3000 自动进样器),微量注射器,紫外-可见分光光度计(Thermo Spectronic, Helios),真空冷冻干燥仪(ZD-A1L),真空旋干仪、高速冷冻离心机(HITACHI SCR20BC),超净工作台(ZHICHENG, ZHJH-1109B),控温摇床(SUKUN, SKY-2102C),-80℃超低温冰箱(SANYO),透析袋(3 500 kD 孔膜)等。

1.3 实验方法

1.3.1 植物初生壁粉末的制备和果胶多糖片段的提取

新鲜植物叶片剔除叶轴和主叶脉,按 Popper 等^[13]方法和 Foster 等^[14]操作规范提取植物初生壁粉末,备用。

参照 Persson 等^[15]提取拟南芥细胞壁多糖组分的方法,称取细胞壁粉末 100.00 mg,每组样品设置 6 个重复,加入 200.00 mL 果胶酶反应液(3 μ L/mL),放入摇床(200 r/min)在 24 $^{\circ}$ C 条件下分解 24 h。离心收集上清液,并重复以上步骤用果胶酶消解 2 次,再换用蒸馏水洗涤沉淀 3 次,合并所有上清液过玻璃纤维滤膜。接着在 100 $^{\circ}$ C 沸水浴中煮 20 min 使得过量果胶酶变性,此时溶液中主要包含果胶多糖片段。剩余沉淀中继续加入 200.00 mL 50.00 mmol/L 和 5.00 mmol/L EGTA 溶液,放入摇床(200 r/min)在 24 $^{\circ}$ C 条件下反应 24 h,收集上清液并重复使用上述 Na_2CO_3 溶液收集 2 次,再采用蒸馏水洗涤沉淀 3 次,合并所有上清液并过玻璃纤维滤膜后,按每 16 mL 样品加入 100 μ L 乙酸的比例中和过量 Na_2CO_3 。中和后的成分主要是剩余未完全被果胶酶消解的果胶多糖成分。将所有收集的果胶多糖片段分装入透析袋透析 3 d,用真空旋干仪浓缩后转移到培养皿,在 -80 $^{\circ}$ C 冻干后放入真空冷冻干燥仪 24 h,冻干至呈白色粉末,备用。

1.3.2 GC/MS 测定细胞壁果胶单糖组分

称取 20.00 mg 冻干的果胶多糖片段,加 1.00 mL 2 mol/L 的 TFA,放入摇床(200 r/min)在 24 $^{\circ}$ C 条件下水解 24 h,取上清液于真空旋干仪中旋干,即获得果胶单糖。参照李科等发明专利^[16]加入 200.00 μ L DMSO 复溶旋干的果胶单糖,并加入 60.00 μ L 乙酸酐和 20.00 μ L 1-甲基咪唑(催化剂),震荡均匀后在室温条件下反应 5 min。加入 400.00 μ L 水反应 3 min,以除去多余的乙酸酐终止反应。最后加入 400.00 μ L 二氯甲烷,震荡均匀,涡旋 5 min 静置分层,取下层有机相 1.00 μ L 进 GC/MS 仪。以 24 种糖标样的峰图谱及各糖特征碎片离子为对照进行对应积峰,根据样品峰面积和各种单糖的响应值计算其含量。

气相色谱质谱条件:色谱柱为 30 m \times 0.318 mm \times 0.25 μ m DB-17 毛细管柱,进样口温度为 250 $^{\circ}$ C,He 为载气,流速为 1.0 mL/min。炉温升温程序为:100 $^{\circ}$ C 保持 3.5 min,之后以 15 $^{\circ}$ C/min 升至 160 $^{\circ}$ C(保持 20 min),接着以 15 $^{\circ}$ C/min 升至 200 $^{\circ}$ C(保持 15 min),最后以 20 $^{\circ}$ C/min 升至 280 $^{\circ}$ C(保持 5 min)。采用分流进样,进样 1 μ L,分流比

为 10:1。质谱为 EI 源(电子轰击源),电子能量 70 eV,离子源温度 260 $^{\circ}$ C。

1.3.3 数据的统计处理

运用 Excel 2010 进行数据计算以及绘图;运用 SPSS17.0 软件进行差异显著性分析。调用 R 软件 vegan 包进行主成分分析^[17-19]。主成分分析是采用标准差法对测量的数据进行标准化处理,计算出相关系数矩阵,求出相关系数矩阵的特征值与特征向量,并根据特征值计算出各个主成分的贡献率。以累计贡献率达到 80% 以上为依据,确定主成分个数。再根据各种糖的特征向量,建立主成分的函数表达式、计算出主成分值。

2 结果与分析

2.1 被子植物初生壁果胶单糖组分与含量

采用 GC/MS 测得 22 种被子植物初生壁果胶由木糖、鼠李糖、岩藻糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖和甘露糖 7 种单糖组成,22 种植物各组分含量如表 2 所示,各组分相应的平均含量分别为 10.57%、35.08%、2.23%、19.35%、17.73%、10.03% 和 5.01%,其中鼠李糖、阿拉伯糖和半乳糖的含量普遍较高。

2.2 被子植物初生壁果胶单糖组分的主成分分析

对 22 种被子植物初生壁果胶单糖组分进行主成分分析,结果如表 3 所示。其中第 1 主成分贡献率最大,为 48.21%,前 3 个主成分累计贡献率达到 90.52%;故选取前 3 个主成分作为被子植物初生壁果胶单糖含量的重要主成分。

根据计算单糖组分相关矩阵的特征向量,得到相应的主成分函数式:

$$y_1 = 0.424x_1 - 0.009x_2 - 0.032x_3 - 0.296x_4 - 0.275x_5 + 0.158x_6 + 0.031x_7$$

$$y_2 = 0.141x_1 - 0.345x_2 - 0.001x_3 + 0.275x_4 - 0.057x_5 + 0.027x_6 - 0.041x_7$$

$$y_3 = 0.146x_1 + 0.117x_2 - 0.009x_3 + 0.080x_4 - 0.008x_5 - 0.235x_6 - 0.090x_7$$

由以上主成分函数式可知:在第 1 主成分 y_1 中,木糖载荷系数(x_1)的绝对值最大,为 0.424,其次是阿拉伯糖(0.296)和半乳糖(0.275),说明这 3 种糖是构成第 1 主成分方差变异的主要因素;同理得到鼠李糖和阿拉伯糖是构成第 2 主成分方差变异的主要因素,葡萄糖是第 3 主成分中方差变异的主要因素。以上主成分特征向量的结果分析表明:22 种被子植物果胶单糖组分间的差异主要体现在木糖、阿拉伯糖、半乳糖、鼠李糖和葡萄糖。

表 2 被子植物叶片初生壁果胶中单糖含量

Tab. 2 Components and contents of pectin monosaccharide in angiosperm primary cell wall		%						
植物种类		糖组分						
		木糖	鼠李糖	岩藻糖	阿拉伯糖	半乳糖	葡萄糖	甘露糖
双子叶植物	紫玉兰	4.64 ± 0.09	36.27 ± 0.21	2.77 ± 0.07	22.31 ± 0.12	21.63 ± 0.09	9.39 ± 0.02	2.99 ± 0.07
	印度榕	4.25 ± 0.04	36.04 ± 0.19	2.86 ± 0.02	17.52 ± 0.06	15.83 ± 0.06	17.09 ± 0.09	6.41 ± 0.04
	木麻黄	5.55 ± 0.11	29.63 ± 0.08	2.36 ± 0.04	33.74 ± 0.11	19.88 ± 0.07	6.37 ± 0.04	2.48 ± 0.05
	山茶花	4.37 ± 0.02	25.17 ± 0.07	3.27 ± 0.06	32.30 ± 0.13	21.97 ± 0.12	9.94 ± 0.08	2.99 ± 0.03
	瓜栗	2.47 ± 0.05	30.56 ± 0.14	2.94 ± 0.02	25.38 ± 0.08	32.03 ± 0.22	4.06 ± 0.02	2.56 ± 0.04
	杂种杜鹃	4.86 ± 0.09	42.30 ± 0.31	3.34 ± 0.06	14.80 ± 0.06	27.97 ± 0.13	4.64 ± 0.02	2.08 ± 0.02
	番石榴	3.43 ± 0.05	29.72 ± 0.10	2.30 ± 0.07	35.96 ± 0.23	17.19 ± 0.10	7.56 ± 0.04	3.84 ± 0.04
	胶州卫矛	3.27 ± 0.01	37.10 ± 0.22	3.71 ± 0.09	27.26 ± 0.13	21.88 ± 0.23	3.72 ± 0.03	3.07 ± 0.03
	四季米仔兰	3.43 ± 0.02	33.51 ± 0.22	2.48 ± 0.03	28.79 ± 0.09	22.14 ± 0.11	6.30 ± 0.05	3.35 ± 0.02
	烟草	3.31 ± 0.06	34.58 ± 0.11	2.86 ± 0.05	13.68 ± 0.08	19.15 ± 0.14	7.66 ± 0.07	18.76 ± 0.09
	番茄	2.91 ± 0.02	54.70 ± 0.35	1.35 ± 0.02	9.05 ± 0.04	20.10 ± 0.12	4.94 ± 0.02	6.96 ± 0.06
	木犀	5.47 ± 0.13	36.70 ± 0.11	2.54 ± 0.06	15.72 ± 0.11	16.69 ± 0.07	18.35 ± 0.09	4.54 ± 0.03
单子叶植物	蓝花楹	2.78 ± 0.01	50.60 ± 0.31	1.98 ± 0.06	12.58 ± 0.04	18.42 ± 0.11	11.05 ± 0.05	2.60 ± 0.02
	棍棒椰子	19.03 ± 0.11	26.43 ± 0.09	1.10 ± 0.02	13.02 ± 0.03	10.22 ± 0.05	22.68 ± 0.12	7.52 ± 0.04
	小麦	22.19 ± 0.13	36.04 ± 0.31	1.32 ± 0.04	14.84 ± 0.12	12.09 ± 0.07	7.67 ± 0.04	5.86 ± 0.03
	玉米	27.69 ± 0.21	38.03 ± 0.22	1.05 ± 0.03	14.85 ± 0.09	9.67 ± 0.05	5.07 ± 0.05	3.63 ± 0.02
	佛肚竹	13.33 ± 0.10	25.29 ± 0.25	1.82 ± 0.02	16.34 ± 0.13	18.07 ± 0.21	16.94 ± 0.19	8.21 ± 0.06
	虎纹凤梨	27.95 ± 0.09	33.15 ± 0.23	1.25 ± 0.02	8.82 ± 0.07	5.98 ± 0.05	20.06 ± 0.25	2.78 ± 0.03
	端红凤梨	21.73 ± 0.16	31.84 ± 0.34	1.19 ± 0.01	16.85 ± 0.15	13.69 ± 0.24	10.34 ± 0.12	4.36 ± 0.06
	鹤望兰	23.72 ± 0.29	33.71 ± 0.21	1.60 ± 0.02	23.48 ± 0.24	11.31 ± 0.13	3.39 ± 0.04	2.78 ± 0.02
	龙血树	13.40 ± 0.07	33.51 ± 0.11	2.49 ± 0.04	16.38 ± 0.05	20.26 ± 0.08	9.37 ± 0.11	4.57 ± 0.07
	硬叶兰	12.80 ± 0.05	36.78 ± 0.26	2.58 ± 0.03	11.99 ± 0.23	13.87 ± 0.12	14.04 ± 0.10	7.95 ± 0.05

表 3 被子植物叶片初生壁果胶中单糖组分的主成分贡献率

Tab. 3 Total variance explained of pectin monosaccharide in angiosperm primary cell wall				%
参量	第 1 主成分	第 2 主成分	第 3 主成分	
特征值	1.35	00.80	00.38	
贡献率	48.21	28.64	13.66	
累计贡献率	48.21	76.85	90.52	

2.3 被子植物初生壁果胶单糖组分的分布特点

根据被子植物果胶单糖含量的主成分因子值，以第 1 主成分值为横坐标，第 2 主成分值为纵坐标作二维图(如图 1)。由图 1 可知双子叶和单子叶植物可以明显地在坐标轴中被区分开来。表明果胶单糖组分可以为被子植物双子叶和单子叶植物 2 纲的分类提供参考依据。进一步分析 2 纲植物各自的分布区域，发现 2 纲差别主要体现在第 1 主成分轴上，更确切的说是在木糖和半乳糖的方向轴上差异明显，即木糖和半乳糖决定了双子叶植物与单子叶植物纲间的主要差异。

2.4 被子植物初生壁果胶单糖组分的 t 检验和香农-威纳指数分析

为了进一步证实和探索细胞壁果胶单糖与被子植物分类间的关系，对双子叶与单子叶植物初生壁

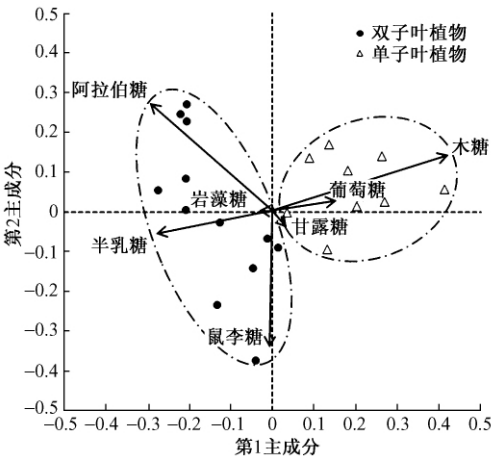


图 1 植物叶片细胞壁果胶单糖成分主成分分析结果
Fig. 1 Two-dimensional chart of pectin monosaccharide in angiosperm primary cell wall by PCA

果胶单糖含量是否存在显著差异进行 t 检验和香农-威纳指数计算(见表 4)。结果表明: 2 纲在木糖、岩藻糖和半乳糖含量上存在极显著差异 (P < 0.01), 阿拉伯糖含量存在一般性显著差异 (P < 0.05)。同时, 从香农-威纳指数可以看出双子叶植物显著高于单子叶植物 (P < 0.01), 这说明 2 纲在初生壁果胶单糖含量的多样性差异极显著。

表4 被子植物初生壁果胶单糖组分的 *t* 检验结果

Tab. 4 Student's test of pectin monosaccharide in angiosperm primary cell wall

参 量	木糖	鼠李糖	岩藻糖	阿拉伯糖	半乳糖	葡萄糖	甘露糖	香农-威纳指数
双子叶植物均值 /%	3.90	36.68	2.67	22.24	21.14	8.54	4.82	2.24
单子叶植物均值 /%	20.20	32.75	1.60	15.17	12.80	12.17	5.30	2.41
<i>P</i> 值	3.3×10^{-5}	0.17	6.2×10^{-4}	0.022	3.9×10^{-4}	0.18	0.74	0.008
是否存在显著差异*	是***	否	是***	是**	是***	否	否	是***

注: ***相关显著水平 $P < 0.01$, ** $0.01 < P < 0.05$, * $0.05 < P < 0.1$ 。

3 结论与讨论

果胶是大多数被子植物初生细胞壁的主要成分^[20],也是植物细胞壁多糖家族中最复杂的高分子多糖类物质^[1]。本研究选取22种被子植物为试材,分级提取分离出各植物叶片初生细胞壁和初生壁果胶多糖,结合单糖单一式衍生化方法采用气相色谱-质谱法(GC/MS)对22种被子植物初生壁果胶结构单糖组分和含量进行检测。

测定结果表明:果胶中的单糖组分共包括木糖、鼠李糖、岩藻糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖和甘露糖7种,其中鼠李糖含量的均值最高,其次是阿拉伯糖和半乳糖。植物初生壁果胶结构可分为2个区域:1)光滑区(smooth region),其为同型/均聚半乳糖醛酸聚糖(HG);2)毛发区/须状区(hairy region),其包括鼠李半乳糖醛酸聚糖 I(RGI)和鼠李半乳糖醛酸聚糖 II(RGII)2种结构。鼠李糖是果胶结构域中RGI和RGII的主要成分。RGI结构域中一半的鼠李糖常连有很长的阿拉伯聚糖和阿拉伯半乳糖^[1]。鼠李糖、阿拉伯糖和半乳糖是被子植物果胶结构的特征性成分^[21]。

岩藻糖和甘露糖在被子植物初生壁果胶中含量均值最低,这与 Popper 等^[4,11]对初生细胞壁的研究结果一致。他们的研究方法是直接酶解植物整个细胞壁再通过纸层析(PC)和纸电泳(PE)所产生的单糖和低聚糖进行半定量测定,结果显示甘露糖在轮藻、苔藓和较原始的蕨类植物的初生壁中的含量比裸子、被子和较高级的蕨类植物更加丰富。同时已有报道显示甘露糖的聚合物包括葡聚甘露聚糖、半乳甘露聚糖和半乳葡聚甘露聚糖在被子植物细胞壁中含量也很低^[1]。由此可知甘露糖在低等植物初生壁中含量丰富,甘露糖以及甘露糖的聚合物在高等被子植物中含量很低。

本研究测定的数据还显示:22种被子植物之间初生壁果胶单糖的含量存在差异,通过主成分分析筛选出决定22种被子植物间糖含量差异的5种果胶单糖为:木糖、阿拉伯糖、半乳糖、鼠李糖和葡萄糖。按照克郎奎斯特的分类系统,被子植物从进化意义上可分为2纲:双子叶植物和单子叶植物。采用主成分因子值绘制的二维图可以将22种被子植

物中双子叶和单子叶植物在坐标轴中区分开来,说明双子叶植物和单子叶植物的初生壁果胶单糖组分含量存在明显的差异,从而可以通过测定植物初生壁果胶单糖含量为被子植物在2纲上的分类提供理论参考。由主成分二维图的分布以及 *t* 检验的验证结果,发现木糖和半乳糖决定了被子植物中双子叶植物和单子叶植物2纲间的显著性差异($P < 0.01$)。其中木糖在双子叶植物初生壁果胶中含量均值为3.90%,显著低于单子叶植物(20.20%)。Popper 等^[11]于2003年通过高效液相色谱法(HPLC)测得低等植物藻类的整个初生壁中木糖含量极低,仅为0.02%。Nothnagel 等^[20]通过GC/MS测得苔藓、蕨类和裸子植物初生壁果胶木糖含量也较低,为2%~10%不等。由此可知在植物系统进化中,木糖在低等植物初生壁中含量极其微量,在较高等植物初生壁果胶中含量相对较高,但依旧处于低水平(10%之内),但是木糖在相对高等的单子叶植物果胶中达到较高含量。

半乳糖是区别双子叶植物和单子叶植物2纲的第2种单糖,其含量在双子叶植物中的均值为21.14%,明显高于单子叶植物(12.80%)。Popper 等^[4]通过纸层析跑的细胞壁糖组分结果图显示了蕨类和双子叶植物初生壁中半乳糖含量丰富,单子叶植物中含量相对较低。Nothnagel 等^[20]测得的数据显示苔藓、蕨类和裸子植物中果胶半乳糖占初生壁果胶总单糖的20%左右。由此可知:半乳糖在苔藓、蕨类、裸子植物和双子叶植物中含量较丰富,在单子叶植物初生壁果胶中含量相对较低。

本研究中的香农-威纳指数分析揭示出双子叶植物和单子叶植物在果胶单糖含量的多样性上也存在差异,双子叶植物单糖含量多样性显著高于单子叶植物($P < 0.01$)。初步推断:植物初生壁果胶单糖结构组分随着进化的演替,越来越趋向于有序性和同质性。

Stebbins^[22]在1993年就提出细胞壁组分的差异可能在维管植物进化演替中起主导作用。本研究提供了22种被子植物,包括13种双子叶植物和9种单子叶植物果胶单糖含量测定的数据,为进一步深入探索植物细胞壁多糖形成机制提供参考。同时分析并讨论了单糖组分与植物分类之间的关系,以

期为植物系统进化研究提供参考。本研究仅测定了被子植物初生壁果胶单糖组分及含量,而对于细胞壁中纤维素、半纤维素等其他多糖的结构中单糖组分及含量在整个系统进化过程中(包括低等植物到高等植物,细化到界、门、纲、目、科、属、种)的规律还有待于深入研究。

参 考 文 献

- [1] CARPITA N C, MCCANN M C, BUCHANAN B B, et al. *Biochemistry and molecular biology of plants* [M]. Rockville Md: American Society of Plant Physiologists Publishing, 2000: 52–108.
- [2] HIYAMA K, LAM T B T, STONE B A. Covalent cross-links in the cell wall [J]. *Plant Physiology*, 1994, 104(2): 315–320.
- [3] JACKSON C L, DREADEN T M, THEOBALD L K, et al. Pectin induces apoptosis in human prostate cancer cells: Correlation of apoptotic function with pectin structure [J]. *Glycobiology*, 2007, 17(8): 805–819.
- [4] POPPER Z A, FRY S C. Primary cell wall composition of bryophytes and charophytes [J]. *Annals of Botany*, 2003, 91(1): 1–12.
- [5] LEON Y. Cell wall structure of selected epiphytic mosses from a montane forest in the venezuelan andes [J]. *Cryptogamie Bryologie*, 2006, 27(4): 421–431.
- [6] LAWTON M A, SAIDASAN H. Cell wall genomics in the recombinogenic moss *Physcomitrella patens* [J]. *Routes to Cellulosic Ethanol*, 2011, 3(14): 241–261.
- [7] SILVA G B, IONASHIRO M, CARRARA T B, et al. Cell wall polysaccharides from fern leaves: Evidence for a mannan-rich type iii cell wall in *Adiantum raddianum* [J]. *Phytochemistry*, 2011, 72(18): 2352–2360.
- [8] CARPITA N C, MCCANN M C. The functions of cell wall polysaccharides in composition and architecture revealed through mutations [J]. *Plant and Soil*, 2002, 247(1): 71–80.
- [9] REITER W D. *Arabidopsis thaliana* as a model system to study synthesis, structure, and function of the plant cell wall [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 1998, 36(1–2): 167–176.
- [10] DESPREZ T, JURANIEC M, CROWELL E F, et al. Organization of cellulose synthase complexes involved in primary cell wall synthesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2007, 104(39): 15572–15579.
- [11] POPPER Z A, FRY S C. Primary cell wall composition of pteridophytes and spermatophytes [J]. *New Phytologist*, 2004, 164(1): 165–174.
- [12] NOTHNAGEL A L, NOTHNAGEL E A. Primary cell wall structure in the evolution of land plants [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2007, 49(8): 1271–1278.
- [13] POPPER Z A, SADLER I H, FRY S C. 3-O-methyl-galactose residues in lycophyte primary cell walls [J]. *Phytochemistry*, 2001, 57(5): 711–719.
- [14] FOSTER C E, MARTIN T M, PAULY M. Comprehensive compositional analysis of plant cell walls (lignocellulosic biomass) part II: Carbohydrates [J]. *Journal of Visualized Experiments*, 2010, 37: 1837.
- [15] PERSSON S, CAFFALL K H, FRESHOUR G, et al. The *Arabidopsis* irregular xylem8 mutant is deficient in glucuronoxylan and homogalacturonan, which are essential for secondary cell wall integrity [J]. *Plant Cell*, 2007, 19(1): 237–255.
- [16] 李科, 陈雪梅, 蒋湘宁, 等. 一种用于多羟基化合物定性或定量分析的衍生化方法: 中国, 101531557 [P]. 2009–09–16.
- [17] 裴鑫德. 多元统计分析及其应用 [M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1991: 196–247.
- [18] 邹渊渊, 伍岳庆, 姚宇. 基于主成分和回归分析的烟叶质量分析模型 [J]. *计算机应用*, 2011, 31(2): 81–84.
- [19] 姚改芳, 张绍铃, 曹玉芬, 等. 不同栽培种梨果实中可溶性糖组分及含量特征 [J]. *中国农业科学*, 2010, 43(20): 4229–4237.
- [20] CARPITA N C. Structure and biogenesis of the cell walls of grasses [J]. *Annual review of plant biology*, 1996, 47(1): 445–476.
- [21] O'Neill M A, YORK W S. The composition and structure of plant primary cell walls [M] // JOCELYN K C. *The Plant Cell Wall*. Oxford: Blackwell Publishing, 2003: 1–54.
- [22] STEBBINS G L. Comparative aspects of plant morphogenesis: A cellular, molecular, and evolutionary approach [J]. *American Journal of Botany*, 1992, 79(5): 589–598.

(责任编辑 赵 勃)