

综述 Reviews

植物表皮蜡质及相关基因研究进展

陈伟, 刘德春, 杨莉, 刘山蓓, 刘勇*

江西农业大学农学院, 南昌330045

摘要: 植物表皮蜡质是覆盖在所有陆生植物与空气接触部位的一层疏水性的保护屏障, 具有调节植物非气孔性失水、抵抗紫外线伤害、维持植物表面的清洁、抵御病虫害侵袭等功能, 对植物的生长发育以及适应外界环境起到了非常重要的作用。植物表皮蜡质分为内表皮蜡质和外表皮蜡质, 内表皮蜡质一般为无定型状态, 外表皮蜡质多自我组装成各种形态的蜡质晶体。植物表皮蜡质成分复杂, 一般由脂肪族化合物包括脂肪酸、烷烃、醛、醇、酮、酯以及萜类和一些小分子次级代谢物组成。目前关于植物表皮蜡质合成及运输机理的研究取得了重要的进展。研究者们从植物突变体中鉴定出了大量蜡质合成、运输及调控相关基因, 完善了植物蜡质合成调控网络, 为后续研究奠定了坚实的基础。本文对近年来植物表皮蜡质的合成与运输途径及其相关基因的研究进行了综述, 并对植物蜡质研究的前景进行探讨与展望。

关键词: 植物表皮蜡质; 合成; 转运; 调控; 蜡质相关基因

植物表皮角质层由角质和蜡质组成, 是覆盖在所有陆生植物与空气接触部位的一层疏水性屏障。植物表皮蜡质具有阻止植物组织内部非气孔性失水(Schreiber 2010; Chen等2014)、防止紫外线伤害(Kinnunen等2001; Skórska和Szwarc 2007; Wang等2007)、维护表面清洁与表面防水(Neinhuis和Barthlott 1997)、抵御病虫害侵袭等功能(Castillo等2010; Hansjakob等2010), 对适应外界环境起到了非常重要的作用。有研究表明, 果实表皮的蜡质组成和结构对其贮藏性能也有较大影响(Wang等2014)。植物表皮蜡质可分为内表皮蜡质和外表皮蜡质, 内表皮蜡质通常在角质层形成过程中填充在其致密的网状结构内, 而外表皮蜡质堆积在角质层最外层并且自我组装成各种形态的蜡质晶体(杆状、柱状、管状、丝状、片状、颗粒状等)(Barthlott等1998; Eglinton和Hamilton 1967)。植物表皮蜡质成分非常复杂, 主要由碳原子数在18~36之间的脂肪族化合物(包括长链脂肪酸、烃、醛、醇、酮等)和碳链较长的蜡质酯类(最长可达60个碳原子)组成(Shepherd和Griffiths 2006), 还包括萜类和其他一些次级代谢物如黄酮类和固醇类物质。不同植物表皮蜡质成分、含量和结构不同, 即使是同一植株各组织器官之间以及不同生长发育时期其蜡质的含量和分布也有差异。例如, 有前人研究比较了5种柑橘果皮的蜡质结构与成分, 结果表明无论在果皮蜡质晶体的结构、大小、分布密度、含量、组成成分以及所占比重方面都存

在差异(王敏力等2014)。沙漠苔藓, 其叶片的蜡质晶体含量是随着叶龄变化的, 老叶比新叶要含有更多的蜡质晶体, 同时含有更多的超长链化合物, 沙漠苔藓主要的蜡质成分为脂肪酸、醇和烷烃, 十六烷酸和二十四烷的合成被认为可能是沙漠苔藓叶片蜡质累积的第一步(Xu等2009)。拟南芥的茎、长角果、柱头上的蜡质成分主要组装成柱状的晶体, 而叶片的蜡质层则表现为无定型状态(Jenks等1995)。拟南芥各器官的蜡质成分也不尽相同, 有研究结果表明拟南芥各器官的表皮蜡质成分主要表现为: 茎为烷烃(44%)>仲醇(23%)>伯醇(12%)>酮(9%)>醛(7%)>酯(5%), 莲座叶为烷烃(73%)>醛(14%)>伯醇(8%)>酯(4%), 角果为烷烃(64%)>仲醇(11%)>伯醇(10%)>酮(9%)>醛(5%), 花为烷烃(62%)>仲醇(15%)>酮(14%)>伯醇(5%), 种子为烷烃(51%)>仲醇(18%)>伯醇(13%)>酮(9%)=醛(9%) (Bernard和Joubès 2013)。另外, 环境因素也会影响植物蜡质的含量、结构和组分(李婧婧等2011)。

植物表皮蜡质的合成与运输过程十分复杂, 参与这一过程的酶和基因甚多, 由于这些酶大都与膜蛋白结合, 不易分离, 且往往组合成多酶复合

收稿 2016-03-28 修定 2016-06-20

资助 国家自然科学基金(31160384和31460511)、江西省自然科学基金(20142BAB204008)和江西省教育厅科技计划项目(GJJ14308)。

* 通讯作者(E-mail: liuyongjxau@163.com)。

物共同起作用,所以对参与植物表皮蜡质合成与运输相关的酶与基因的研究比较困难。近年来,随着分子生物学技术的快速发展,借助模式植物拟南芥、水稻等蜡质突变体研究材料,部分植物蜡质合成及运输机制已被阐明,同时一些蜡质相关基因也被鉴定和克隆,为阐明植物蜡质合成和运输的分子机制奠定了基础。本文对目前已经鉴定的参与植物表皮蜡质合成及运输的相关基因最新研究进展进行了综述,并对研究过程中可能存在的问题进行了探讨。

1 植物表皮蜡质成分的合成途径

目前,通过对包括拟南芥、水稻和番茄在内的多种植物蜡质合成的研究,已经基本阐明了植物蜡质合成的代谢途径。简单来说,植物表皮蜡质的合成主要分为三步:首先是质体内 C_{16}/C_{18} 饱和脂肪酸的从头合成;第二步是超长链脂肪酸(very long chain fatty acids, VLCFAs)的合成,由 C_{16}/C_{18} 脂肪酸进一步延伸合成VLCFAs作为蜡质合成的直接前体物质,这一步发生在内质网上;第三步是由VLCFAs合成蜡质组分,主要包括酰基还原途径和脱羧途径两条途径。酰基还原途径合成的蜡质成分的碳链长度一般为偶数,主要生成伯醇和蜡酯;脱羧途径主要负责奇数碳原子数蜡质成分的合成,合成的大多数是烷烃,还包括醛、仲醇和酮等。

1.1 VLCFAs的合成

VLCFAs的合成首先是 C_{16} 和 C_{18} 饱和脂肪酸在质体内从头合成,然后 C_{16} 和 C_{18} 饱和脂肪酸在长链酰基辅酶A合酶(long-chain acyl-CoA synthase, LACS)的作用下酯化为相应的酰基辅酶A,再进入内质网,在脂肪酸延伸酶(fatty acid elongase, FAE)复合体的作用下,经过多个循环反应,最终延伸为20~34个碳原子的VLCFAs。通过上述途径合成的VLCFAs是植物蜡质成分合成的直接前体物质。LACS酶负责把 C_{16} 和 C_{18} 饱和脂肪酸酯化为具有反应活性的酰基辅酶A,在VLCFAs合成过程中起了重要的作用。在LACS基因家族中与蜡质合成有关的包括LACS1/CER8、LACS2和LACS4。研究发现,拟南芥功能缺失型突变体*lacs1/cer8*的茎和叶片表皮蜡质总量减少,其中 C_{29} 烷烃含量显著减少,而 $C_{26}\sim C_{30}$ 自由脂肪酸含量有所增加。同时还发现突变体 C_{16} 角质单体含量下降,而 C_{18} 角质单体含量增

加,说明LACS1/CER8基因不仅与植物表皮蜡质合成有关,在植物角质的生物合成中也起了一定的作用(Lu等2009)。有研究表明,拟南芥*lacs2*突变体角质含量减少但蜡质含量没有受影响,因此LACS2被认定为与植物角质合成有关(Schnurr等2004)。然而进一步研究表明,与*lacs1*单突变体相比,*lacs1/lacs2*双突变体中烷烃、仲醇、酮等蜡质成分含量减少得更加显著,表明LACS2可能具有增强LACS1蜡质合成的功能(Weng等2010; Lu等2009)。而且,与*lacs1*和*lacs2*单突变体相比,*lacs1 lacs2*双突变体角质含量也减少得更加明显,表明LACS1和LACS2在角质和蜡质合成中有功能重叠现象(Weng等2010; Lu等2009)。有研究发现,LACS1和LACS4在蜡质合成途径中有累加效应(Jessen等2011),因为*lacs4*突变体中蜡质组分醛、烷烃及其衍生物的含量减少,而*lacs1 lacs4*双突变体蜡质含量均低于*lacs1*或*lacs4*单突变体。FAE为一种多酶复合物,负责催化合成VLCFAs。每一个FAE催化的循环反应都包括4个连续的反应,每经过一个循环,其底物酰基链增加2个碳原子,最终产物VLCFAs的碳原子数达到20~34。这4个连续的反应分别由4种酶控制:首先是以丙二酸单酰辅酶A(malonyl-CoA)和乙酰辅酶A(acyl-CoA)为底物在 β -酮脂酰辅酶A合酶(β -ketoacyl-CoA synthase, KCS)的催化下缩合成 β -酮脂酰辅酶A(β -ketoacyl-CoA),然后是 β -ketoacyl-CoA在 β -酮脂酰辅酶A还原酶(β -ketoacyl-CoA reductase, KCR)作用下还原为 β -羟酰辅酶A(β -hydroxyacyl-CoA),接着是 β -hydroxyacyl-CoA在 β -羟酰辅酶A脱水酶(β -hydroxyacyl-CoA dehydratase, HCD)作用下脱水生成烯酰辅酶A(enoyl-CoA),最后为enoyl-CoA在烯酰辅酶A还原酶(enoyl-CoA reductase, ECR)作用下的还原为酰基辅酶A(增加2个碳原子)。FAE在植物表皮蜡质前体VLCFAs的合成中非常重要,其中KCS是关键的限速酶,并且具有严格的碳链长度特异性。KCS家族中有21个基因在拟南芥基因组中被注释(Joubès等2008),其中许多已被详细阐明与植物表皮蜡质成分的生物合成有关。例如:拟南芥KCS18/FAE1在拟南芥正在发育的种子中特异表达,主要负责脂肪酸碳链长度从 C_{18} 到 C_{20} 或 C_{22} 的延伸(James Jr等1995),KCS18/FAE1的异常表达会导致拟南芥表皮蜡质中

非正常碳链VLCFAs的累积(Millar和Kunst 1997)。拟南芥*KCSI*与*KCSI8/FAE1*具有高度的序列相似性。有研究发现*KCSI*表达完全缺失的突变体表皮蜡质中 C_{26} ~ C_{30} 醇和醛含量显著减少,但 C_{29} 烷烃和 C_{29} 酮含量受到的影响较小(Todd等1999),表明*KCSI*基因与植物表皮蜡质合成有关。有研究表明,*KCS2*与*KCS20*基因在拟南芥表皮蜡质及根软木脂生物合成中存在功能冗余现象(Lee等2009)。*KCS6/CER6*是功能研究较为清楚的*KCS*家族基因,它编码一个超长链脂肪酸缩合酶。研究发现*KCS6/CER6*功能缺失型突变体植株茎表皮蜡质含量严重减少,仅为野生型的6%~7%,在低湿度条件下也表现出部分雄性不育(Fiebig等2000; Millar等1999)。并且*KCS6/CER6*基因还受光照、渗透胁迫、脱落酸等非生物因素诱导,*CER6*的表达水平是影响拟南芥茎表皮蜡质含量高低的一个重要因素(Hooker等2002)。*CER10*编码烯酰辅酶A还原酶(ECR),拟南芥*CER10*突变体中,总蜡质化合物的数量减少,茎表皮蜡质含量减少60%(Zheng等2005)。*KCRI*和*KCR2*在拟南芥的角果、花、茎、叶以及正在发育的胚胎中都有表达,但只有*KCRI*能够在根中检测到表达,抑制*KCR*活性导致植物表皮蜡质含量减少并且影响超长链脂肪酸化合物鞘脂类、甘油三酯、甘油糖脂等的合成(Beaudoin等2009)。拟南芥*PAS2*基因具有HCD活性,与植物的生长发育关系密切,*pas2*突变体会导致种子中贮存的三酰甘油酯、表皮蜡质、鞘脂类化合物等含量的减少(Bach等2008)。并且*KCRI*和*PAS2*功能完全缺失还会导致胚胎致死现象(Bach等2008; Beaudoin等2009)。*KCS*、*KCR*、*HCD*、*ECR*都是VLCFAs延伸所必须的酶类。另外,在拟南芥*cer2*突变体中,所有蜡质组分都减少,特别表现为超过28个碳原子的蜡质组分含量显著减少,28及以下碳原子数的蜡质成分反而过度积累,说明 C_{28} VLCFAs的合成受阻,由此推测*CER2*也可能与VLCFAs的合成有关(McNevin等1993)。虽然拟南芥*CER2*突变体中,其长角果和茎表皮表现出明亮的光泽,但叶表皮蜡质并不受影响,说明*CER2*基因的表达具有器官、组织特异性(Jenks等1995)。后来Xia等(1996)从拟南芥中克隆出了*CER2*基因,发现该基因编码一种约47 kDa的蛋白,并在玉米中找到了其同源基

因*GLOSSY2*基因(Velasco等2002)。进一步研究发现*CER2*属于乙酰辅酶A依赖型酰基转移酶BAHD超家族成员,参与不同底物的酰基化反应,产生多种次生代谢产物(Yu等2009)。后来有研究者发现了一个特异性影响叶表皮蜡质的*CER2*同源基因*CER2-like1*,对它们蜡质突变体的分析表明,*CER2*是负责 C_{28} ~ C_{30} VLCFA酰基链的延伸,而*CER2-like1*则是负责 C_{30} ~ C_{32} VLCFA酰基链的延伸反应(Haslam等2012)。Haslam等(2015)进一步研究表明,*CER2-like*蛋白在 C_{28} ~ C_{34} 脂肪酸的延伸具有独特的生化与生理功能,对于同一个缩合酶具有不同的底物特异性。

1.2 植物蜡质成分合成

1.2.1 酰基还原途径

VLCFAs可以通过两条途径合成蜡质成分,其中之一就是酰基还原途径,主要负责合成偶数碳原子的伯醇和蜡酯。有研究者在加州希蒙得木(*Simmondsia chinensis*)正在发育的种子中克隆出了编码脂肪酰辅酶A还原酶(fatty acyl-CoA reductase, FAR)的基因*FAR* (Miwa 1971),这种酶负责催化脂肪酰辅酶A直接还原为伯醇,伯醇可以在蜡质合成酶(wax synthase, WS)的作用下进一步转化成蜡酯。目前在拟南芥中也发现的1个编码FAR的基因*CER4*,*cer4*突变体表现出伯醇和蜡酯显著减少,说明该基因在超长链伯醇的形成中起了非常重要的作用(Rowland等2006)。进一步分析拟南芥*cer4*突变体茎表皮长链蜡酯发现这些蜡酯的酰基链几乎都是 C_{16} ,表明 C_{16} -酰基辅酶A是拟南芥茎表皮蜡质中蜡酯合成主要的酰基底物(Lai等2007)。蜡酯是酰基还原途径的最终产物,在植物中,蜡酯除了在表皮蜡质层中可以找到,在一些植物的油性种子中也有高浓度的累积。*WSD1*是蜡质合成酶/甘油二酯酰基转移酶(wax ester synthase/acyl-coenzyme A: diacylglycerol acyltransferase, WS/DGAT)双功能基因家族成员,在拟南芥茎蜡酯合成中起了非常重要的作用。*wsd1*突变体中,茎表皮蜡质中蜡酯含量显著减少,并且在大肠杆菌与酵母中表达*WSD1*基因,蜡酯含量显著增加,表明*WSD1*主要负责蜡酯合成(Li等2008)。

1.2.2 脱羧途径

VLCFAs还可以通过脱羧途径形成包括超长

链烷烃、醛、仲醇和酮等蜡质组分。关于蜡质成分中烷烃的形成机制目前比较认可的是二步法合成,首先是偶数碳的VLCFAs在脂肪酰基辅酶A还原酶(FAR)的作用下还原为偶数碳的醛,然后经醛脱羧酶(aldehyde decarbonylase, AD)催化失去一个碳原子生成奇数碳原子的烷烃。超长链烷烃还可在中链烷烃羟化酶(mid-chain alkane hydroxylase, MAH)的作用下进一步转化为仲醇和酮。超长链烷烃被认为是最主要的植物表皮蜡质组分,在控制角质层渗透性方面起了非常重要的作用。很多植物蜡质缺陷型突变体,都表现出烷烃数量显著减少。目前,有关调控植物蜡质中烷烃合成的基因研究较多。*CER1*是拟南芥发现的第一个蜡质合成基因,它编码醛脱羧酶(AD),负责把超长链醛转化为超长链烷烃。Aarts等(1995)发现拟南芥*CER1*功能缺失型突变体*cer1*茎表皮蜡质成分中的烷烃、仲醇和酮含量下降,而醛含量上升,呈现出茎光亮表型并且在低湿度情况下表现出雄性不育;相反,过表达*CER1*的转基因植株则增加了奇数碳原子(主要是C₂₉、C₃₁)烷烃的含量。Bourdenx等(2011)研究发现*CER1*基因的正常表达还会影响植株的角质层渗透性和对生物及非生物胁迫的抗性。此外在甘蓝型油菜(*Brassica napus* L.) (Pu等2013)、黄瓜(*Cucumis sativus* L. var. *sativus*) (Wang等2015)、大葱(*Allium fistulosum* L. var. *giganteum* Makion) (奥娜等2016)等作物中也发现了*CER1*同源基因,进一步证实*CER1*基因在超长链烷烃的生物合成中起着非常重要的作用。后来有研究发现*cer22*突变体与*cer1*突变体在蜡质成分上有相同的变化,证实*CER22*等同于*CER1*基因,重新把*CER22*命名为*CER1-6* (Sakuradani等2013)。进一步分析*cer1*突变体转录水平和*cer1-6*突变体茎表皮蜡质含量和成分表明*cer1-6*是*CER1*的一个弱等位突变(Sakuradani等2013)。Chen等(2003)从拟南芥中克隆出了*WAX2*基因,该基因编码一个约632个氨基酸的膜蛋白,同时影响角质膜层和表皮蜡质的结构和组成;与野生型相比,*wax2*突变植株叶片和茎总蜡质含量减少超过78%,醛、烷烃、仲醇、酮成比例减少,而酸、伯醇和蜡酯含量增加,说明脱羧途径受阻,酰基还原途径得到增强;不仅如此,*wax2*突变植株气生器官之间(特别是花芽)还会出现

后殖融合现象,在低湿度条件下育性降低,表皮渗透性增加。*CER3*在拟南芥的根、茎、叶、花、顶端分生组织等都有表达(Hannoufa等1996)。Rowland等(2007)证明拟南芥*CER3*基因不编码E3泛素连接酶,而是*WAX2/YRE/FLP1*的等位基因,与蜡质和角质的生物合成有关,但对叶角质形成不起主要作用。最近,研究发现酵母中*CER1*和*CER3*互作共表达可以产生超长链烷烃,而拟南芥*CYT5s* (cytochrome b5 isoforms)是*CER1*特殊的辅酶因子,可以提高烷烃合成中氧化还原依赖型*CER1*的活性,从而增加烷烃的生成(Bernard等2012)。由此,研究者们提出了一个植物烷烃合成新模型,*CER1*与*CER3*和*CYT5s*互作催化超长链酰基辅酶A合成超长链烷烃。因此,*CER1*与*CER3*是VLCFAs合成烷烃的核心组件,*CER3*可能为还原酶起作用,而*CER1*则具有醛脱羧酶活性(Bernard等2012)。玉米*GLOSSY1* (*GL1*)为*CER3/WAX2*的同源基因,它不仅影响角质层蜡质的合成而且对植物表皮发育有多重效应,会改变毛状体的大小,还影响角质的结构(Sturaro等2005)。最近,在水稻中也克隆出一个与拟南芥*CER3/WAX2*和玉米*GL1*同源的基因*WSL2*,水稻*ws12*突变体中与野生型相比叶表皮总蜡质含量减少了80%,其中减少最多的是C₂₂~C₃₂脂肪酸的含量,说明*WSL2*与VLCFAs的延伸有关(Mao等2012)。水稻*WSL3* (*Wax crystal-sparse leaf 3*)基因编码β-酮脂酰辅酶A还原酶(β-ketoacyl-CoA reductase, KCR),与拟南芥*AtKCR1*和酵母*YBR159w*基因同源,通过参与VLCFA的延伸影响水稻叶片蜡质的生成,水稻*WSL3*突变体与野生型(WT)相比蜡质负载量显著减少,特别是烷烃含量为WT的42.6%,醛为WT的20%,酯为WT的31.1% (Gan等2016)。在拟南芥的叶片中,烷烃是脱羧途径中的终极产物,而拟南芥茎表皮的烷烃能够被连续氧化进一步修饰,产生仲醇和酮。Greer等(2007)从拟南芥中鉴定了*MAH1*基因,该基因编码中链烷烃羟化酶,定位在内质网上,催化由烷烃转化为仲醇和酮的反应,*mah1*突变体与野生型相比仲醇和酮的含量减少,烷烃的含量增加,说明*MAH1*在仲醇和酮合成过程中起了重要的作用。

cer1、*cer3*、*cer6*、*wax2*等拟南芥突变体在低湿度条件下均表现出花粉育性降低,高湿度下

又有所恢复,说明蜡质化合物对花粉粒的生理机能也有影响。蜡质化合物的减少会改变花粉粒含油层脂质的成分和结构,影响花粉粒的水合作用(Hulskamp等1995; Zinkl等1999)。与花粉发育有关的基因还有水稻的*WDA1*基因(Jung等2006),该基因突变体花粉囊的各层细胞中超长链脂肪酸的合成显著减少,影响育性。

2 植物表皮蜡质运输基因

关于植物表皮蜡质合成后的转运机制目前研究的还不是特别清楚。合成的蜡质需要要从内质网(endoplasmic reticulum, ER)运输到质膜(plasma membrane, PM),再转运到质外体,然后从质外体经过跨细胞壁运输,到达表皮角质层,从而组装成表皮蜡质晶体。目前关于蜡质成分从ER运输到PM的运输机制存在两种假说,分别为囊泡分泌和高尔基体介导假说。囊泡分泌假说认为蜡质可以以小囊泡的形式运输到高尔基体,再运输到质膜(Kunst和Samuels 2003)。而高尔基体介导假说认为蜡质成分通过内质网与质膜的接触部位直接运输。如果该假说成立,那么蜡质成分就必须出现在ER的特殊位点,才能与PM的特殊位点相接触。然而这些推测仍需要进一步的试验验证。

蜡质成分运输到质膜后要穿越脂质双分子层进入到质外体。有研究发现,ABC(ATP binding cassette)转运蛋白可能参与这一过程(Bird等2007; Pighin等2004; Schulz和Frommer 2004)。第一个从植物中克隆的ABC转运蛋白由*CER5*编码,命名为ABC*G12*。Pighin等(2004)研究证明植物角质层脂质运输需要ABC转运蛋白的参与,并发现拟南芥*cer5*突变体茎和叶表皮蜡质含量减少,在蜡质分泌细胞的细胞质中堆积了一些片状的油脂夹杂物,后证实*CER5*编码ABC*G12*转运蛋白,定位于细胞质膜,参与植物表皮蜡质的运输。分析该基因编码的序列揭示*CER5*编码一个假定的半ABC-转运体。每一个ABC蛋白包含了一个典型的ATP也称核苷酸结合结构域(nucleotide-binding domain, NBD)和各种不同数目的跨膜结构域(transmembrane domains, TMDs)。1个有功能的ABC转运体包含了2个NBDs和2个TMDs结构域,并由1个唯一的多肽编码或者把2个基因分别编码的半大小单元联合在一起。研究表明,NBD结构域通过水解ATP为转运

提供了能量,TMDs负责底物识别和质膜运输;另外,由于在*cer5*突变体的表面仍然可以观察到一些蜡质,说明除ABC*G12*外,还有其他的蜡质转运蛋白参与植物表皮蜡质转运(Pighin等2004)。拟南芥的基因组中,有28个基因被注释为编码假定的半大小单元的ABC转运体(McFarlane等2010)。研究表明,*abcg11*突变体与*cer5*突变体表型相似,其茎和叶片表皮总蜡质含量减少并且ABC*G11*蛋白也定位于质膜。ABC*G11*还与营养器官中角质单体的输出有关(Bird等2007)。有研究者在体外使用双分子荧光互补和蛋白运输实验证明ABC*G11*可以与ABC*G12*结合形成同源二聚体,但ABC*G12*没有类似的功能。此外,在*abcg11 abcg12*双突变体中发现,ABC*G12*蛋白停留于内质网,表明ABC*G12*在运输蜡质成分到质膜是依赖ABC*G11*的。相反,ABC*G11*运输蜡质到质膜的过程可以不依赖ABC*G12*完成。这表明ABC*G12*必须与ABC*G11*结合行使运输功能,而ABC*G11*能够与多种蛋白互作转运脂质化合物(McFarlane等2010)。另外,其他的ABC转运体中,ABC*G13*与拟南芥花的角质层分泌有关(Panikashvili等2011);而ABC*G26*与拟南芥的花粉发育有关,在*abcg26*突变体中,花粉粒数量减少,导致雄性不育(Kuromori等2011)。近期,Zhao等(2015)研究表明,水稻ABC*G26*与ABC*G15*基因协同合作调控水稻的雄性生殖,*OsABC*G26**主要负责脂质分子从绒毡层细胞运输到花药壁层,而*OsABC*G15**则负责脂质分子从绒毡层细胞到花药室的运输,最终用于花粉外壁的发育。拟南芥ABC*G9*和ABC*G31*与花粉外被固醇的累积有关(Hyunju等2014)。现存最早的陆生植物苔藓角质层蜡质的沉积也需要ABC转运体的参与(Buda等2013)。此外还有玉米*Glossy13*(Li等2013)、拟南芥ABC*G32*(Bessire等2011)、大麦ABC*G31*(Yang等2013)等都与各种蜡质组分的胞外运输有关。最近也有研究发现ABC*G*型ABC转运体还与植物激素的运输有关系(Borghini等2015)。

蜡质成分从质外体到植物表皮的跨壁转运目前认为的主要有两种,一种是通过脂转运蛋白(lipid transfer proteins, LTPs)(Kader 1996; Samuels和McFarlane 2012; Yeats和Rose 2008),另一种是靠细胞壁内一些蛋白和糖类形成的局部疏水区通过细

胞壁(宋百成等2013), 最终到达植物表皮。关于LTPs将蜡质输送到角质层的功能已被证实(Kunst和Samuels 2003; Yeats和Rose 2008)。在*ltpg1* (*Glycosylphosphatidylinositol-Anchored Lipid Transfer Protein 1*)突变体中, 茎和角果表皮的C₂₉烷烃含量减少, 而在叶片中变化较小(小于5%), 叶片中其他蜡质化合物含量变化也较小(Debono等2009), 因此, 推测LTPG1在运输C₂₉烷烃到植物表皮可能具有底物和空间特异性。Kim等(2012)研究发现LTPG2 (*Glycosylphosphatidylinositol-Anchored Lipid Transfer Protein 2*)与LTPG1功能相似, 作用于拟南芥角质层蜡质的转运。Sun等(2015)研究表明在拟南芥中超表达盐芥非特异性脂转运蛋白TsnsLTP4会增加外表皮蜡质沉积, 特别是超过C₂₇的蜡质组分, 还显著增强对非生物胁迫的抗性; 在转基因盐芥中敲除基因TsnsLTP4, 表皮蜡质沉积的数量显著减少。另外, TsnsLTP4蛋白亚细胞定位于细胞壁, 可以分泌到细胞外间隙, 进一步表明该蛋白可能具有转运蜡质成分到细胞壁外的功能。

3 植物表皮蜡质合成与转运的调控基因

植物表皮蜡质合成过程除直接受相关合成基因控制, 还会受到各种环境因子的影响, 而转录因子在这个过程中也起了非常重要的作用, 它可以调控植物代谢路径中相关基因的表达来抵御某些非生物胁迫。分析一些蜡质基因的表达, 发现它们在年幼发育的器官中优先表达, 因此, 所有蜡质生物合成与运输基因可能需要与细胞扩张进程同步。*WIN1/SHN1*是一个乙烯响应型转录因子。有研究表明, 在*AtWIN1/SHN1*超表达植株中, 茎和叶表皮蜡质含量与野生型相比高出很多(其中叶片为野生型的4.5倍), 同时一些蜡质合成相关基因(*CER1*、*KCS1*、*CER2*等)发生上调表达, 说明*WIN1/SHN1*基因可以通过调节蜡质合成相关基因的表达来提高拟南芥蜡质的累积, 从而增强抗旱性(Aharoni等2004; Broun等2004)。Kumar等(2016)也研究发现大麦(*Hordeum vulgare* L.)转录调控因子HvWIN1可以通过调控下游自由脂肪酸合成基因(*CYP86A2*、*CYP89A2*、*LACS2*、*GPAT6*等)的表达来增强角质层, 抵抗大麦小穗赤霉病(*Fusarium head blight*, FHB)。Wang等(2012)在水稻中发现了一个拟南芥*WIN1/SHN1*的同源基因*WRI*, 主要在叶

中表达。*OsWRI*是水稻中一个蜡质合成相关基因正向调控因子, 受干旱胁迫(脱落酸、盐渍等因素)诱导表达, 转录激活蜡质合成相关基因(如*OsLACS1*、*OsLACS1-2*、*OsFDH1*、*OsFDH2*、*OsCER1*、*OsCER2*、*OsCUT1*、*OsKCS1*等)的表达, 增加蜡质的生成, 减少了水分损失, 增强了抗旱性。*OsWR2*是水稻另一个蜡质合成调控基因, 在表皮组织高度表达, 转录调控水稻角质层蜡质和角质的生物合成; *OsWR2*超表达株系增加了蜡质和角质的总含量, 改变了表皮蜡质晶体类型和角质膜的亚显微结构, 减少了角质层渗透性, 增强了水稻的耐旱性, 同时19个已知的蜡质和角质合成相关基因也发生上调表达(Zhou等2014)。最近, Xu等(2016)从大豆(*Glycine max*)中鉴定出了拟南芥的*SHN*家族同源基因, 发现在拟南芥中超表达转录因子基因*GmSHN1*和*GmSHN9*可以增加蜡质和角质的合成。其中转基因植株叶角质层蜡质含量分别增加了7.8倍和9.9倍, 叶角质含量分别提高了11.4倍和5.7倍, 一些蜡质和角质合成及叶片发育相关基因发生上调表达, 说明*GmSHN1*和*GmSHN9*可以通过调控下游蜡质和角质基因表达来调节叶的发育进程和蜡质、角质的合成。*FAE1*是一个种子特异性β-酮脂酰辅酶A合酶(KCS), 催化超长链脂肪酸延伸的第一步缩合反应。有研究发现MYB96转录因子可以通过与*FAE1*基因的启动子结合激活该基因的表达, 调控脂肪酸的延伸, 提高C₂₀脂肪酸的含量, 在拟南芥种子的发育和成熟中起一定的作用(Lee等2015)。也有报道MYB96转录激活超长链脂肪酸缩合酶基因的表达和角质层蜡质生物合成来提高植株的耐旱性(Seo等2011)。Hooker等(2007)从拟南芥克隆出了*CER7*基因, 拟南芥*cer7*突变体表现出表皮蜡质减少, 蜡质合成相关基因*CER3/WAX2*的转录水平降低。进一步研究发现*CER7*蛋白是酵母核糖核酸酶RRP45p的同源物, 具有3'-5'核糖核酸外切酶活性, 作为一个RNA加工核心外来体亚基来调控*CER3/WAX2*的表达, 进而影响角质层蜡质的合成。刘小凤等(2014)在黄瓜中也发现黄瓜*CER7*有类似核糖核酸酶功能, 会影响黄瓜的蜡质合成。在转基因苜蓿中, 超表达*WXP1*基因, 会诱导一系列蜡质合成相关基因的表达, 增加叶片总蜡质含量(主要增加的是C₃₀伯醇), 提高植物的

抗旱性(Zhang等2005)。Zhang等(2007)通过把苜蓿2个乙烯响应型转录因子(ethylene responsive transcription factor, ERF)基因*WXP1*及其同源基因*WXP2*转到拟南芥中,增加了叶片蜡质含量,并且提高了植株的抗旱性。但不同的是,与*WXP1*转基因植株相比,*WXP2*转基因植株蜡质组分(除了烷烃)如伯醇含量是降低的,并且表现出对低温更加敏感,而且导致植株生长缓慢。因此,指出*WXP1*是可以通过遗传转化方法来提高植株抗旱性和耐冻性的有用候选基因。这些调控基因的发掘为遗传育种、改良性状提供了一个新的视点。

4 展望

植物表皮蜡质合成及转运是一个十分复杂庞大的网络,需要许多基因及酶的参与。虽然我们已知晓了其中一部分基因及酶的功能,但还远远不够。植物表皮蜡质运输的机制目前仍不清楚,对于蜡质如何从内质网运输到质膜,再从质膜运输到细胞壁最终到达植物表皮的具体运输机制仍需要深入的研究和探讨。各种环境因子如何影响植物表皮蜡质的合成以及植物表皮蜡质与植株生长发育的关系,这些问题都有待进一步的研究。植物表皮蜡质作为植物与外界接触的最后一道屏障,尤其对于抵御一些病虫害的侵袭非常重要。植物表皮蜡质的化学成分和形态特征往往成为植物与病虫相互作用的媒介,会影响昆虫或病原菌对寄主植物的选择,一般蜡质含量少、光滑的植物表皮病虫害的附着量也相对较少,研究植物表皮蜡质的理化特性对于提高农作物的抗病虫害性意义非凡。另外,对一些植物表皮蜡质合成转录调控因子的发现可以为遗传改良植株抗性提供新的途径。目前,蜡质研究虽然主要局限于模式植物,但对其他植物的研究也逐渐增多,像对一些果实,如苹果、柑橘等果皮蜡质的研究,这有助于通过基因工程来改良果实的外观品质、贮藏性能以及货架期等,对于减少由化学合成的果蜡所带来的各种不必要的安全隐患具有非常重要的意义。同时,我们也知道植物的许多蜡质成分可以作为润滑油添加剂,这种润滑油不仅环保,还能具有很好的抗磨性,因此提取植物蜡质成分作为润滑油添加剂具有广阔的应用前景。随着各种生物技术的迅速发展和研究方法的增多,相信在不久的将来,

越来越多的植物表皮蜡质的特性、合成及转运机制将逐步被详细阐明。

参考文献

- Aarts MG, Keijzer CJ, Stiekema WJ, Pereira A (1995). Molecular characterization of the *CER1* gene of *Arabidopsis* involved in epicuticular wax biosynthesis and pollen fertility. *Plant Cell*, 7 (12): 2115–2127
- Aharoni A, Dixit S, Jetter R, Thoenes E, van Arkel G, Pereira A (2004). The SHINE clade of AP2 domain transcription factors activates wax biosynthesis, alters cuticle properties, and confers drought tolerance when overexpressed in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 16 (9): 2463–2480
- Ao N, Zhao H, Pei YX, Wang YQ (2016). Cloning and expression analysis of *AfCER1* gene in welsh onion. *J Shanxi Agric Sci*, 44 (5): 569–574, 582 (in Chinese with English abstract) [奥娜, 赵泓, 裴雁曦, 王永勤(2016). 大葱*AfCER1*基因的克隆及表达分析. 山西农业科学, 44 (5): 569–574, 582]
- Bach L, Michaelson LV, Haslam R, Bellec Y, Gissot L, Marion J, Da CM, Boutin JP, Miquel M, Tellier F, et al (2008). The very-long-chain hydroxy fatty acyl-CoA dehydratase PASTICCINO2 is essential and limiting for plant development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105 (38): 14727–14731
- Barthlott W, Neinhuis C, Cutler D, Ditsch F, Meusel I, Theisen I, Wilhelm H (1998). Classification and terminology of plant epicuticular waxes. *Bot J Linn Soc*, 126 (3): 237–260
- Beaudoin F, Wu X, Li F, Haslam RP, Markham JE, Zheng H, Napier JA, Kunst L (2009). Functional characterization of the *Arabidopsis* beta-ketoacyl-coenzyme A reductase candidates of the fatty acid elongase. *Plant Physiol*, 150 (3): 1174–1191
- Bernard A, Domergue F, Pascal S, Jetter R, Renne C, Faure JD, Haslam RP, Napier JA, Lessire R, Joubes J (2012). Reconstitution of plant alkane biosynthesis in yeast demonstrates that *Arabidopsis ECERIFERUM1* and *ECERIFERUM3* are core components of a very-long-chain alkane synthesis complex. *Plant Cell*, 27 (3): 619–634
- Bernard A, Joubès J (2013). *Arabidopsis* cuticular waxes: advances in synthesis, export and regulation. *Prog Lipid Res*, 52 (1): 110–129
- Bessire M, Borel S, Fabre G, Carraca L, Efremova N, Yephremov A, Cao Y, Jetter R, Jacquat AC, Metraux JP, et al (2011). A member of the PLEIOTROPIC DRUG RESISTANCE family of ATP binding cassette transporters is required for the formation of a functional cuticle in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 23 (5): 1958–1970
- Bird D, Beisson F, Brigham A, Shin J, Greer S, Jetter R, Kunst L, Wu X, Yephremov A, Samuels L (2007). Characterization of *Arabidopsis* ABCG11/WBC11, an ATP binding cassette (ABC) transporter that is required for cuticular lipid secretion. *Plant J*, 52 (3): 485–498
- Borghini L, Kang J, Ko D, Lee Y, Martinoia E (2015). The role of ABCG-type ABC transporters in phytohormone transport. *Biochem Soc Trans*, 43 (5): 924–930
- Bourdenx B, Bernard A, Domergue F, Pascal S, Leger A, Roby D,

- Pervent M, Vile D, Haslam RP, Napier JA, et al (2011). Overexpression of *Arabidopsis ECERIFERUM1* promotes wax very-long-chain alkane biosynthesis and influences plant response to biotic and abiotic stresses. *Plant Physiol*, 156 (1): 29–45
- Broun P, Poindexter P, Osborne E, Jiang CZ, Riechmann JL (2004). WIN1, a transcriptional activator of epidermal wax accumulation in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101 (13): 4706–4711
- Buda GJ, Barnes WJ, Fich EA, Park S, Yeats TH, Zhao L, Domozych DS, Rose JK (2013). An ATP binding cassette transporter is required for cuticular wax deposition and desiccation tolerance in the moss *Physcomitrella patens*. *Plant Cell*, 25 (10): 4000–4013
- Castillo L, Díaz M, González A (2010). *Clytostoma callistegioides* (Bignoniaceae) wax extract with activity on aphid settling. *Phytochemistry*, 71 (17-18): 2052–2057
- Chen G, Komatsuda T, Ma JF, Li C, Yamaji N, Nevo E (2014). A functional cutin matrix is required for plant protection against water loss. *Plant Signal Behav*, 6 (9): 1297–1299
- Chen X, Goodwin S, Boroff V, Liu X, Jenks M (2003). Cloning and characterization of the *WAX2* gene of *Arabidopsis* involved in cuticle membrane and wax production. *Plant Cell*, 15 (5): 1170–1185
- Debono A, Yeats TH, Rose JKC, Bird D, Jetter R, Kunst L, Samuels L (2009). *Arabidopsis* LTPG is a glycosylphosphatidylinositol-anchored lipid transfer protein required for export of lipids to the plant surface. *Plant Cell*, 21 (4): 1230–1238
- Eglinton G, Hamilton RJ (1967). Leaf epicuticular waxes. *Science*, 156 (3780): 1322–1335
- Fiebig A, Mayfield JA, Miley NL, Chau S, Fischer RL, Preuss D (2000). Alterations in *CER6*, a gene identical to *CUT1*, differentially affect long-chain lipid content on the surface of pollen and stems. *Plant Cell*, 12 (10): 2001–2008
- Gan L, Wang XL, Cheng ZJ, Liu LL, Wang JL, Zhang Z, Ren YL, Lei CL, Zhao ZC, Zhu SS, et al (2016). *Wax crystal-sparse leaf 3* encoding a β -ketoacyl-CoA reductase is involved in cuticular wax biosynthesis in rice. *Plant Cell Rep*, doi: 10.1007/s00299-016-1983-1
- Greer S, Wen M, Bird D, Wu X, Samuels L, Kunst L, Jetter R (2007). The cytochrome P450 enzyme CYP96A15 is the midchain alkane hydroxylase responsible for formation of secondary alcohols and ketones in stem cuticular wax of *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 145 (3): 653–667
- Hannoufa A, Negruk V, Eisner G, Lemieux B (1996). The *CER3* gene of *Arabidopsis thaliana* is expressed in leaves, stems, roots, flowers and apical meristems. *Plant J*, 10 (3): 459–467
- Hansjakob A, Bischof S, Bringmann G, Riederer M, Hildebrandt U (2010). Very-long-chain aldehydes promote *in vitro* prepenetration processes of *Blumeria graminis* in a dose- and chain length-dependent manner. *New Phytol*, 188 (4): 1039–1054
- Haslam TM, Haslam R, Thoraval D, Pascal S, Delude C, Domergue F, Fernandez AM, Beaudoin F, Napier JA, Kunst L, et al (2015). ECERIFERUM2-LIKE proteins have unique biochemical and physiological functions in very-long-chain fatty acid elongation. *Plant Physiol*, 167 (3): 682–692
- Haslam TM, Manas-Fernandez A, Zhao L, Kunst L (2012). *Arabidopsis ECERIFERUM2* is a component of the fatty acid elongation machinery required for fatty acid extension to exceptional lengths. *Plant Physiol*, 160 (3): 1164–1174
- Hooker TS, Lam P, Zheng H, Kunst L (2007). A core subunit of the RNA-processing/degrading exosome specifically influences cuticular wax biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 19 (3): 904–913
- Hooker TS, Millar AA, Kunst L (2002). Significance of the expression of the CER6 condensing enzyme for cuticular wax production in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 129 (4): 1568–1580
- Hulskamp M, Kopczak SD, Horejsi TF, Kihl BK, Pruitt RE (1995). Identification of genes required for pollen-stigma recognition in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 8 (5): 703–714
- Hyunju C, Kiyoshi O, Yu-Young K, Jun-Young J, Saet Buyl L, Yasuyo Y, Toshiya M, Mi Chung S, Shozo F, Youngsook L (2014). The role of *Arabidopsis* ABCG9 and ABCG31 ATP binding cassette transporters in pollen fitness and the deposition of sterol glycosides on the pollen coat. *Plant Cell*, 26 (1): 310–324
- James Jr DW, Lim E, Keller J, Plooy I, Ralston E, Dooner HK (1995). Directed tagging of the *Arabidopsis* *FATTY ACID ELONGATION1 (FAE1)* gene with the maize transposon activator. *Plant Cell*, 7 (3): 309–319
- Jenks MA, Tuttle HA, Eigenbrode SD, Feldmann KA (1995). Leaf epicuticular waxes of the *eceriferum* mutants in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 108 (1): 369–377
- Jessen D, Olbrich A, Knufer J, Kruger A, Hoppert M, Polle A, Fulda M (2011). Combined activity of *LACS1* and *LACS4* is required for proper pollen coat formation in *Arabidopsis*. *Plant J*, 68 (4): 715–726
- Joubès J, Raffaele S, Bourdenx B, Garcia C, Laroche-Traineau J, Moreau P, Domergue F, Lessire R (2008). The VLCFA elongase gene family in *Arabidopsis thaliana*: phylogenetic analysis, 3D modelling and expression profiling. *Plant Mol Biol*, 67 (5): 547–566
- Jung KH, Han MJ, Lee DY, Lee YS, Schreiber L, Franke R, Faust A, Yephremov A, Saedler H, Kim YW, et al (2006). *Wax-deficient anther1* is involved in cuticle and wax production in rice anther walls and is required for pollen development. *Plant Cell*, 18 (11): 3015–3032
- Kader JC (1996). Lipid-transfer proteins in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 47 (1): 627–654
- Kim H, Lee SB, Kim HJ, Min MK, Hwang I, Suh MC (2012). Characterization of glycosylphosphatidylinositol-anchored lipid transfer protein 2 (LTPG2) and overlapping function between LTPG/LTPG1 and LTPG2 in cuticular wax export or accumulation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 53 (8): 1391–1403
- Kinnunen H, Huttunen S, Laakso K (2001). UV-absorbing compounds and waxes of Scots pine needles during a third growing season of supplemental UV-B. *Environ Pollut*, 112 (2): 215–220
- Kumar A, Yogendra KN, Karre S, Kushalappa AC, Dion Y, Choo TM (2016). WAX INDUCER1 (HvWIN1) transcription factor regulates free fatty acid biosynthetic genes to reinforce cuticle to resist Fusarium head blight in barley spikelets. *J Exp Bot*, doi: 10.1093/jxb/erw187

- Kunst L, Samuels AL (2003). Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax. *Prog Lipid Res*, 42 (1): 51–80
- Kuromori T, Ito T, Sugimoto E, Shinozaki K (2011). *Arabidopsis* mutant of *AtABCG26*, an ABC transporter gene, is defective in pollen maturation. *J Plant Physiol*, 168 (16): 2001–2005
- Lai C, Kunst L, Jetter R (2007). Composition of alkyl esters in the cuticular wax on inflorescence stems of *Arabidopsis thaliana cer* mutants. *Plant J*, 50 (2): 189–196
- Lee HG, Park B, Kim HU, Seo PJ (2015). MYB96 stimulates C18 fatty acid elongation in *Arabidopsis* seeds. *Plant Biotechnol Rep*, 9 (3): 161–166
- Lee SB, Jung SJ, Go YS, Kim HU, Kim JK, Cho HJ, Park OK, Suh MC (2009). Two *Arabidopsis* 3-ketoacyl CoA synthase genes, *KCS20* and *KCS2/DAISY*, are functionally redundant in cuticular wax and root suberin biosynthesis, but differentially controlled by osmotic stress. *Plant J*, 60 (3): 462–475
- Li F, Wu X, Lam P, Bird D, Zheng H, Samuels L, Jetter R, Kunst L (2008). Identification of the wax ester synthase/acyl-coenzyme A:diacylglycerol acyltransferase WSD1 required for stem wax ester biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 148 (1): 97–107
- Li JJ, Huang JH, Xie SC (2011). Plant wax and its response to environmental conditions: an overview. *Acta Ecol Sin*, 31 (2): 565–574 (in Chinese with English abstract) [李婧婧, 黄俊华, 谢树成(2011). 植物蜡质及其与环境的关系. *生态学报*, 31 (2): 565–574]
- Li L, Li D, Liu S, Ma X, Dietrich CR, Hu HC, Zhang G, Liu Z, Zheng J, Wang G, et al (2013). The maize *glossy13* gene, cloned via BSR-Seq and Seq-walking encodes a putative ABC transporter required for the normal accumulation of epicuticular waxes. *PLoS ONE*, 8 (12): e82333
- Liu XF, An JB, Zhang LX, Wang WJ, Xu C, Ren HZ (2014). Cloning and expression analysis of *CsCER7*, a relative gene may regulate wax synthesis in cucumber. *Acta Hort Sin*, 41 (4): 661–671 (in Chinese with English abstract) [刘小凤, 安静波, 张立新, 王文娇, 徐冲, 任华中(2014). 黄瓜调控蜡质合成相关基因*CsCER7*的克隆与表达分析. *园艺学报*, 41 (4): 661–671]
- Lu S, Song T, Kosma DK, Parsons EP, Rowland O, Jenks MA (2009). *Arabidopsis CER8* encodes LONG-CHAIN ACYL-COA SYNTHETASE 1 (LACS1) that has overlapping functions with LACS2 in plant wax and cutin synthesis. *Plant J*, 59 (4): 553–564
- Mao B, Cheng Z, Lei C, Xu F, Gao S, Ren Y, Wang J, Zhang X, Wang J, Wu F (2012). *Wax crystal-sparse leaf2*, a rice homologue of *WAX2/GLI*, is involved in synthesis of leaf cuticular wax. *Planta*, 235 (1): 39–52
- McFarlane HE, Shin JH, Bird DA, Samuels AL (2010). *Arabidopsis* ABCG transporters, which are required for export of diverse cuticular lipids, dimerize in different combinations. *Plant Cell*, 22 (9): 3066–3075
- McNevin JP, Woodward W, Hannoufa A, Feldmann KA, Lemieux B (1993). Isolation and characterization of *eceriferum (cer)* mutants induced by T-DNA insertions in *Arabidopsis thaliana*. *Genome*, 36 (3): 610–618
- Millar AA, Clemens S, Zachgo S, Giblin EM, Taylor DC, Kunst L (1999). *CUT1*, an *Arabidopsis* gene required for cuticular wax biosynthesis and pollen fertility, encodes a very-long-chain fatty acid condensing enzyme. *Plant Cell*, 11 (5): 825–838
- Millar AA, Kunst L (1997). Very-long-chain fatty acid biosynthesis is controlled through the expression and specificity of the condensing enzyme. *Plant J*, 12 (1): 121–131
- Miwa TK (1971). Jojoba oil wax esters and derived fatty acids and alcohols: Gas chromatographic analyses. *J Am Oil Chem Soc*, 48 (6): 259–264
- Neinhuis C, Barthlott W (1997). Characterization and distribution of water-repellent, self-cleaning plant surfaces. *Ann Bot-London*, 79 (6): 667–677
- Panikashvili D, Shi JX, Schreiber L, Aharoni A (2011). The *Arabidopsis* ABCG13 transporter is required for flower cuticle secretion and patterning of the petal epidermis. *New Phytol*, 190 (1): 113–124
- Pighin JA, Zheng H, Balakshin LJ, Goodman IP, Western TL, Jetter R, Kunst L, Samuels AL (2004). Plant cuticular lipid export requires an ABC transporter. *Science*, 306 (5696): 702–704
- Pu Y, Gao J, Guo Y, Liu T, Zhu L, Xu P, Yi B, Wen J, Tu J, Ma C, et al (2013). A novel dominant glossy mutation causes suppression of wax biosynthesis pathway and deficiency of cuticular wax in *Brassica napus*. *BMC Plant Biol*, 13: 215
- Rowland O, Lee R, Franke R, Schreiber L, Kunst L (2007). The *CER3* wax biosynthetic gene from *Arabidopsis thaliana* is allelic to *WAX2/YRE/FLP1*. *FEBS Lett*, 581 (18): 3538–3544
- Rowland O, Zheng H, Hepworth SR, Lam P, Jetter R, Kunst L (2006). *CER4* encodes an alcohol-forming fatty acyl-coenzyme A reductase involved in cuticular wax production in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 142 (3): 866–877
- Sakuradani E, Zhao L, Haslam TM, Kunst L (2013). The *CER22* gene required for the synthesis of cuticular wax alkanes in *Arabidopsis thaliana* is allelic to *CER1*. *Planta*, 237 (3): 731–738
- Samuels L, McFarlane HE (2012). Plant cell wall secretion and lipid traffic at membrane contact sites of the cell cortex. *Protoplasma*, 249 (Supplement 1): 19–23
- Schnurr J, Shockey J, Browse J (2004). The acyl-CoA synthetase encoded by *LACS2* is essential for normal cuticle development in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 16 (3): 629–642
- Schreiber L (2010). Transport barriers made of cutin, suberin and associated waxes. *Trends Plant Sci*, 15 (10): 546–553
- Schulz B, Frommer WB (2004). A plant ABC transporter takes the lotus seat. *Science*, 306 (5696): 622–625
- Seo PJ, Lee SB, Suh MC, Park MJ, Go YS, Park CM (2011). The MYB96 transcription factor regulates cuticular wax biosynthesis under drought conditions in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 23 (3): 1138–1152
- Shepherd T, Griffiths DW (2006). The effects of stress on plant cuticular waxes. *New Phytol*, 171 (3): 469–499
- Skórska E, Szwarc W (2007). Influence of UV-B radiation on young triticale plants with different wax cover. *Biol Plantarum*, 51 (1): 189–192
- Song BC, Zhang XH, Ren PP, Li FJ (2013). Research progress of plant cuticle wax synthesis and its roles during fruits and vege-

- tables storage. *Northern Hortic*, (13): 212–216 (in Chinese with English abstract) [宋百成, 张新华, 任配培, 李富军(2013). 植物表皮蜡质合成及其在果蔬贮藏中的作用研究进展. *北方园艺*, (13): 212–216]
- Sturaro M, Hartings H, Schmelzer E, Velasco R, Salamini F, Motto M (2005). Cloning and characterization of *GLOSSY1*, a maize gene involved in cuticle membrane and wax production. *Plant Physiology*, 138 (1): 478–489
- Sun W, Li Y, Zhao Y, Zhang H (2015). The *tsnsLTP4*, a nonspecific lipid transfer protein involved in wax deposition and stress tolerance. *Plant Mol Biol Rep*, 33 (4): 962–974
- Todd J, Post-Beittenmiller D, Jaworski JG (1999). *KCS1* encodes a fatty acid elongase 3-ketoacyl-CoA synthase affecting wax biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 17 (2): 119–130
- Velasco R, Korfhage C, Salamini A, Tacke E, Schmitz J, Motto M, Salamini F, Doring HP (2002). Expression of the *glossy2* gene of maize during plant development. *Maydica*, 47 (2): 71–81
- Wang J, Hao H, Liu R, Ma Q, Xu J, Chen F, Cheng Y, Deng X (2014). Comparative analysis of surface wax in mature fruits between Satsuma mandarin (*Citrus unshiu*) and 'Newhall' navel orange (*Citrus sinensis*) from the perspective of crystal morphology, chemical composition and key gene expression. *Food Chem*, 153: 177–185
- Wang ML, Liu DC, Yang L, Zeng Q, Wang YC, Wu Q, Liu SB, Liu Y (2014). Comparative analysis of different *Citrus* wax morphological structure and composition. *Acta Horti Sin*, 41 (8): 1545–1553 (in Chinese with English abstract) [王敏力, 刘德春, 杨莉, 曾琼, 王玥辰, 吴启, 刘山蓓, 刘勇(2014). 不同种类柑橘的蜡质结构与成分比较. *园艺学报*, 41 (8): 1545–1553]
- Wang S, Duan L, Eneji AE, Li Z (2007). Variations in growth, photosynthesis and defense system among four weed species under increased UV-B radiation. *J Integr Plant Biol*, 49 (5): 621–627
- Wang W, Zhang Y, Xu C, Ren J, Liu X, Black K, Gai X, Wang Q, Ren H (2015). Cucumber *ECERIFERUM1* (*CsCER1*), which influences the cuticle properties and drought tolerance of cucumber, plays a key role in VLC alkanes biosynthesis. *Plant Mol Biol*, 87 (3): 219–233
- Wang Y, Wan L, Zhang L, Zhang Z, Zhang H, Quan R, Zhou S, Huang R (2012). An ethylene response factor OsWR1 responsive to drought stress transcriptionally activates wax synthesis related genes and increases wax production in rice. *Plant Mol Biol*, 78 (3): 275–288
- Weng H, Molina I, Shockey J, Browse J (2010). Organ fusion and defective cuticle function in a *lacs1 lacs2* double mutant of *Arabidopsis*. *Planta*, 231 (5): 1089–1100
- Xia Y, Nikolau BJ, Schnable PS (1996). Cloning and characterization of *CER2*, an *Arabidopsis* gene that affects cuticular wax accumulation. *Plant Cell*, 8 (8): 1291–1304
- Xu SJ, Jiang PA, Wang ZW, Wang Y (2009). Crystal structures and chemical composition of leaf surface wax depositions on the desert moss *Syntrichia caninervis*. *Biochem Syst Ecol*, 37 (6): 723–730
- Xu YY, Wu HY, Zhao MM, Wu W, Xu YN, Gu D (2016). Overexpression of the transcription factors GmSHN1 and GmSHN9 differentially regulates wax and cutin biosynthesis, alters cuticle properties, and changes leaf phenotypes in *Arabidopsis*. *Int J Mol Sci*, 17 (4): 587
- Yang Z, Zhang T, Lang T, Li G, Chen G, E N (2013). Transcriptome comparative profiling of barley *eibi1* mutant reveals pleiotropic effects of *HvABCG31* gene on cuticle biogenesis and stress responsive pathways. *Inter J Mol Sci*, 14 (10): 20478–20491
- Yeats TH, Rose JK (2008). The biochemistry and biology of extracellular plant lipid-transfer proteins (LTPs). *Protein Sci*, 17 (2): 191–198
- Yu X, Gou J, Liu C (2009). BAHD superfamily of acyl-CoA dependent acyltransferases in *Populus* and *Arabidopsis*: bioinformatics and gene expression. *Plant Mol Biol*, 70 (4): 421–442
- Zhang JY, Broeckling CD, Blancaflor EB, Sledge MK, Sumner LW, Wang ZY (2005). Overexpression of *WXPI*, a putative *Medicago truncatula* AP2 domain-containing transcription factor gene, increases cuticular wax accumulation and enhances drought tolerance in transgenic alfalfa (*Medicago sativa*). *Plant J*, 42 (5): 689–707
- Zhang JY, Broeckling CD, Sumner LW, Wang Z (2007). Heterologous expression of two *Medicago truncatula* putative ERF transcription factor genes, *WXPI* and *WXP2*, in *Arabidopsis* led to increased leaf wax accumulation and improved drought tolerance, but differential response in freezing tolerance. *Plant Mol Biol*, 64 (3): 265–278
- Zhao GC, Shi JX, Liang WQ, Xue FY, Luo Q, Zhu L, Qu GR, Chen MJ, Schreiber L, Zhang DB (2015). Two ATP binding cassette G transporters, rice ATP binding cassette G26 and ATP binding cassette G15, collaboratively regulate rice male reproduction. *Plant Physiol*, 169 (3): 2064–2079
- Zheng H, Rowland O, Kunst L (2005). Disruptions of the *Arabidopsis* enoyl-CoA reductase gene reveal an essential role for very-long-chain fatty acid synthesis in cell expansion during plant morphogenesis. *Plant Cell*, 17 (5): 1467–1481
- Zhou X, Jenks MA, Liu J, Liu A, Zhang X, Xiang J, Zou J, Peng Y, Chen X (2014). Overexpression of transcription factor OsWR2 regulates wax and cutin biosynthesis in rice and enhances its tolerance to water deficit. *Plant Mol Biol Rep*, 32 (3): 719–731
- Zinkl GM, Zwiebel BI, Grier DG, Preuss D (1999). Pollen-stigma adhesion in *Arabidopsis*: a species-specific interaction mediated by lipophilic molecules in the pollen exine. *Development*, 126 (23): 5431–5440

Research progress of plant cuticular wax and related genes

CHEN Wei, LIU De-Chun, YANG Li, LIU Shan-Bei, LIU Yong*

College of Agriculture, Jiangxi Agriculture University, Nanchang 330045, China

Abstract: Plant cuticular wax is a hydrophobic barrier that covers the aerial surfaces of all terrestrial plants. It has the function of regulating the plant non-stomatal water loss, protecting against UV damage, maintaining the plant surface clean, resistance to insects and pathogens, and so on. It plays an important role in plant growth and adaptation to environment. Plant cuticular wax is divided into intracuticular wax and epicuticular wax, the intracuticular wax is generally amorphous state, and the epicuticular wax is always self-assembled into various forms of wax crystal. The chemical composition of plant cuticular wax is complex, and it is generally composed of aliphatic compounds including fatty acids, alkanes, aldehydes, alcohols, ketones, esters, terpenes and small molecular secondary metabolites. At present, it has made great progress about plant cuticular wax synthesis and transport mechanism. Researchers identified a large number of wax synthesis, transport and regulation related genes from the mutant plants, and improved the plant wax synthesis regulatory networks, which laid a solid foundation for further research. This paper reviewed the recent research progress about the plant wax synthesis and export pathways. The future of the wax-related research was also discussed and prospected in this paper.

Key words: plant cuticular wax; synthesis; transport; regulation; wax-related gene

Received 2016-03-28 Accepted 2016-06-20

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 31160384 and 31460511), Natural Science Foundation of Jiangxi Province (Grant No. 20142BAB204008) and Science and Technology Planning Project of Jiangxi Province Education Department (Grant No. GJJ14308).

*Corresponding author (E-mail: liuyongjxau@163.com).