

植物表皮蜡质合成及调控因子 WIN/SHN 的研究进展

李晓佩 王思宁 史晶晶 高志民

(国际竹藤中心 竹藤资源基因科学与基因产业化研究所 国家林业和草原局 北京市共建竹藤科学与技术重点实验室, 北京 100102)

摘要: 植物表皮蜡质是植物与外界环境直接接触的一层疏水保护层, 由于它能够调节植物体内的水分应对干旱、盐和冷等非生物胁迫, 因此对植物的生长和发育起着重要的作用。在不同的物种之间, 植物表皮蜡质的结构和组成均有着很大差异, 但都具有类似的蜡质合成途径, 对该途径的研究已经取得了显著的成果。多种转录因子参与了植物的蜡质生物合成, 其中隶属于 AP2 转录因子家族中的 WIN/SHN 通过与某些基因的启动子结合, 调节蜡质合成相关基因的表达, 从而影响蜡质的合成。在植物表皮蜡质合成的基础之上, 重点对调节蜡质形成的转录因子 WIN/SHN 的结构特点、表达模式、转录调节作用及其对生理和表型的影响, 以及对逆境的应答反应进行了综述, 并对蜡质合成的复杂性问题进行了论述。鉴于蜡质对生命科学和农业生产实践的重要价值, 深入开展包括 WIN/SHN 在内的遗传因子及环境因子对蜡质合成、调控与运转的机制研究将具有重要意义。

关键词: 蜡质; 生物合成; 蜡质诱导因子 WIN/SHN; 转录调控

DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2020-0572

Progress of Plant Cuticular Wax Synthesis and Its Regulatory Factor WIN/SHN

LI Xiao-pei WANG Si-ning SHI Jing-jing GAO Zhi-min

(International Center for Bamboo and Rattan Institute of Gene Science and Industrialization for Bamboo and Rattan Resources, Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration/Beijing for Bamboo & Rattan Science and Technology, Beijing 100102)

Abstract: Plant cuticular wax is a hydrophobic protective layer by which plants directly contact with the external environment. Because it can regulate the water in plants to deal with abiotic stresses such as drought, salt and cold, it plays an important role in plant growth and development. Among different species, the structure and composition of the plant cuticular wax vary largely, but all have similar wax synthesis pathways, and remarkable research results on these pathways has achieved. Many transcription factors (TFs) are involved in the wax biosynthesis of plants. WIN/SHN, which belongs to the AP2 TF family, regulates the expressions of wax synthesis-related genes by binding to their promoters, thereby affecting the waxy synthesis. Based on the synthesis of plant cuticular wax, this article focuses on the review of WIN/SHN TFs, including their structural characteristics, expression patterns, transcriptional regulation and the effects on physiology and phenotype, as well as their responses to stresses. Furthermore, the complexity of wax synthesis is also discussed. In view of the important value of wax for life science and agricultural production practice, it is of great significance to carry out in-depth research on the mechanism of wax synthesis, regulation, transport and deposition regulated by the genetic and environmental factors including WIN/SHN TFs.

Key words: wax; biosynthesis; wax induction factor WIN/SHN; transcriptional regulation

植物的失水方式主要依赖于气孔的蒸腾作用, 但是在遭遇非生物胁迫时, 植物的气孔关闭, 此时的失水方式转变为角质蒸腾, 因此植物角质层对于

体内的水分调节在此时显示出极为重要的作用, 对维持植物的生命活动具有重要意义^[1-3]。成熟的角质层由两部分组成, 一是分泌到最外侧的表皮蜡质

收稿日期: 2020-05-11

基金项目: 国际竹藤中心基本科研业务费专项资金项目(1632019008)

作者简介: 李晓佩, 女, 硕士研究生, 研究方向: 竹子分子育种; E-mail: 15207100438@163.com

通讯作者: 高志民, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 竹藤生长发育的分子基础; E-mail: gaozhimin@icbr.ac.cn

也可以称作蜡质层；二是由角质和镶嵌在细胞内的蜡质共同组成的聚合物构成所谓的角质层，它可以与细胞壁相连接^[4]。植物表皮蜡质作为覆盖在植物最外侧与空气水分直接接触的一层保护屏障，其组成成分较为复杂，由烷烃、醛类、酯类等有机物混合而成，其中以酯类为主^[5]。研究发现，蜡质的微观结构多样，有杆状、柱状、管状、丝状、片状、颗粒状等26类^[6-7]。但是，随着植物的生长发育，蜡质形态也随着植物的生长而改变，使植物更加适应环境。

在不同植物、不同器官中，虽然蜡质的结构和组成都具有一定的差异，但都具有相似的蜡质合成途径。由于蜡质在应对干旱、盐、温度、强光等多种非生物胁迫以及防止病虫害侵袭等生物胁迫均发挥着重要作用，因此了解植物表皮蜡质合成的途径及其调控转录因子对于深入理解蜡质的形成和其生物学功能具有重要意义。本文在介绍植物表皮蜡质合成的基础上，重点对参与蜡质合成调控的转录因子WIN/SHN进行综述，包括WIN/SHN的结构特点、表达模式，以及转录调节对植物生理与表型的影响，对逆境的应答反应等，最后对蜡质合成的复杂性等问题进行了讨论，以期对开展作物育种、栽培及病虫害防治等提供参考。

1 植物表皮蜡质的合成

蜡质主要是由C20到C34之间的长链脂肪酸组成的混合物，其中包括一些醛、醇、烷烃、酮和酯类^[4,8]及其他一些萜类等次级代谢物。一般组成酯类的碳链较长，最长可以达到60个碳原子，主要是通过酯键将甘油、苯丙烷和二羧酸聚合在一起形成蜡质^[9]，最后运输到细胞壁当中。蜡质的起始合成是在表皮细胞的质体中进行的，乙酰CoA在乙酰辅酶A羧化酶(Acetyl-CoA carboxylase, ACCase)的催化作用下形成二碳的供体丙二酰-ACP^[10]，之后是脂肪酸合成酶复合物(Fatty acid synthase complex, FAS)发挥作用，使碳链长度达到C16/C18，在酰基-ACP硫酯酶(Fatty acyl-ACP thioesterase, FAT)的作用下释放出来^[11-12]，并且运输到细胞质当中，与CoA结合。酰基-ACP硫酯酶调节表皮聚酯单体的链长分布，由其将酰基CoA引导至蜡和角质单体生物合成的不同

途径。脂肪酸的伸长和细胞色素P450依赖的羟基化发生在内质网上，酰基CoA在脂肪酸延伸酶复合物(Fatty acid elongase, FAE)的催化作用下形成超长链脂肪酸(Very long chain fatty acids, VLCFAs)^[2]，然后将VLCFA直接导入修饰它们所必需的不同酶复合物中，经过酰基还原途径生成偶数碳链的伯醇和酯类，脱羧途径生成偶数碳链的醛和奇数碳链的烷烃等不同的蜡质成分^[13-16]。另外，蜡质数量和组成在不同物种、不同器官及不同发育阶段存在着很大差异，如烷烃是拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)茎和叶蜡的主要成分。但在玉米(*Zea mays*)和水稻(*Oryza sativa*)叶中含量很低；仲醇和酮在拟南芥茎蜡中含量丰富，但在叶蜡中含量很低或检测不到^[17]。

到目前为止，通过研究拟南芥、水稻等植物及其突变体，蜡质合成途径所涉及的酶相对比较清晰^[12, 18]，但仍有新的酶被发现。如利用水稻突变体株系CM1337，克隆到了控制叶片沾水表型的WLS5基因，它编码一个烷烃末端羟化酶，以烷烃为底物催化产生超长奇数碳链伯醇的合成^[19]。另外，除了各种酶外，蜡质的生物合成还有许多转录因子参与，如AP2、MYB、bHLH和HD-ZIP等家族的转录因子对蜡质合成途径中的信号传导与调控均起到十分重要的作用^[20-22]，其中WAX INDUCER (WIN)/SHINE (SHN)是AP2家族的一类重要成员，参与蜡质合成的调节。

2 蜡质合成调节因子WIN/SHN

蜡质合成途径实际上是一个复杂的代谢过程，有许多调控因子参与并发挥着重要的作用。WIN/SHN由两个团队同时报道出来^[23-24]，是在拟南芥中第一个被确定下来用于负责蜡质产生和沉积的转录因子，同时它也是一个乙烯响应型的转录因子。WIN/SHN属于AP2/EREBP超家族ERF亚家族，ERF B-6^[25]或者ERF V^[26]，在转录水平上参与蜡质的合成调控。随着越来越多的WIN/SHN被鉴定，对其结构特点、表达模式以及对蜡质合成调节功能的认识也逐渐清晰。

2.1 WIN/SHN的基因结构与保守域

一般来讲，WIN/SHN的基因结构相对比较简单，都含有1个内含子与2个外显子，如拟南芥中

有 3 个重要的 WIN/SHN 同源基因 (*SHN1*、*SHN2* 和 *SHN3*)^[23-24]。随后在水稻中鉴定获得了 4 个与拟南芥 WIN/SHN 同源的基因 *OsWR1*-*OsWR4*, *OsWR1*-*OsWR4* 均含有 1 个内含子^[27]。在大豆 (*Glycine max*) 中的 10 个同源基因 (*GmSHN1*-*GmSHN10*) 中, 除 *GmSHN3* 与 *GmSHN4* 含有 2 个内含子与 3 个外显子外, 其他 *GmSHNs* 的基因结构与拟南芥相似^[28]。番茄 (*Solanum lycopersicum*) 中 3 个 WIN/SHN 同源基因 (*SISHN1*、*SISHN2* 和 *SISHN3*)^[29], 其中 *SISHN2* 除了在起始密码子处含有一个 82 bp 的内含子外, 在距离起始密码子 897 bp 处还另有一个内含子^[30]。内含子数量和位置的差异, 导致基因结构不同, 可能是影响其具体生物学功能的主要原因之一。

WIN/SHN 基因编码的氨基酸序列包含 1 个位于 N 端高度保守的 ERF/AP2 结构域, 并在其中心部分和 C 末端共享另外两个结构域^[21, 25], 即 CMV-1 和 CMV-2 结构域^[31]。水稻中 *OsWR1* 与拟南芥 WIN1/SHN1、SHN2 和 SHN3 蛋白序列的相似性分别为 68.8%、58.0% 和 57.8%, 而与 *OsWR2*、*OsWR3* 和 *OsWR4* 的相似性分别为 81.0%、41.4% 和 41.7%, 但都包含 3 个保守结构域^[27]。大豆中的 *GmSHN1*-*GmSHN10* 与拟南芥 WIN/SHN 的相似性达到 80% 以上^[28], 而番茄中的 *SISHN3* 与拟南芥中 SHN3 的相似性为 75%^[30]。不同植物中 WIN/SHN 的氨基酸序列虽然存在差异, 但是它们都具有 3 个保守结构域, 因此其功能也具有相似之处, 而彼此之间的差异性也造成了各自的功能独特性。

2.2 WIN/SHN 基因的表达模式

研究发现, WIN/SHN 基因家族的不同成员具有不同的组织表达模式。一些 WIN/SHN 基因表现为组织表达特异性, 如大麦 (*Hordeum vulgare*) 中 *HvNud* 是类似于 *SHN1*/*WIN1* 的一个基因, 缺失 17 bp 的自然变异导致了裸 (无壳) 大麦籽粒表型的出现, 具有种皮特异性表达模式^[32]。而拟南芥 *WIN1/SHN1* 在花序和根中表达, 在茎、成熟莲座叶和茎叶中不表达; *SHN2* 的表达模式与花药和角果开裂相关^[23]。水稻中的 *OsWR1* 与黄瓜 (*Cucumis sativus*) 中的 *CsWIN1* 表达模式相似, 都在叶中的表达量较高; 但是水稻根中的 *OsWR1* 表达量较弱, 黄瓜的根中

CsWIN1 却几乎不表达^[27, 33]。*OsWR2* 在水稻茎、叶片、叶鞘、穗和幼苗中的表达量较高, 而在根和种子中的表达较低^[34]。番茄中 *SISHN2* 与 *SISHN3* 表达模式相似, 均在未成熟的绿色果实 (IG) 外果皮中表达, 而 *SISHN1* 在发育过程中表现出与外果皮相关的特异性表达模式^[30, 35]。在大豆的 10 个同源基因中, 大部分都具有组织特异性, 如 *GmSHN1* 与 *GmSHN2* 只在花器官中表达^[28]。

而另一些 WIN/SHN 基因表现为组成型表达, 如拟南芥中的 *SHN3* 基因表达最广泛, 在所有器官当中都具有活性, 在维管系统和侧根尖部均有表达^[23]; 大豆中的 *GmSHN5* 在各组织中表达均较弱^[28]。还有一些基因表现明显的时空性, 如苹果 (*Malus pumila*) 中的 *MdSHN3* 的表达分析被扩展到果实的成熟绿色期和收获期, 结果发现表皮受损的品系在成熟绿色期 *MdSHN3* 表达降低 70 倍, 而收获期则更低^[36]; *MdSHINE2* 在幼叶、果皮、根和花瓣中显示出较高的表达, 而且幼叶的表达量要明显高于成熟叶片, 表明同一器官发育的不同阶段 *MdSHINE2* 的功能也存在差异^[37]。由此可见, 不同物种的 WIN/SHN 基因家族各成员在组织当中的表达有所不同, 同一个物种中的各基因成员在不同组织中的表达量也存在一定的差异, 表现出表达模式的多样性, 表明各自对蜡质的合成可能发挥着不同的功能。

2.3 WIN/SHN 的转录调节作用

2.3.1 WIN/SHN 的正调节

作为转录因子, WIN/SHN 通过对蜡生物合成相关基因的表达调节来影响其生物合成。通过染色质免疫沉淀 (Chromatin immunoprecipitation, CHIP) 和电泳迁移率改变分析 (Electrophoretic mobility shift assays, EMSA), 结果显示水稻 *OsWR1* 与 *OsLACS2/OsFAEI'-L* 基因启动子的 DRE 和 GCC-box 顺式元件结合, 直接调节其基因的表达, 在 *OsWR1* 过量表达的转基因水稻中, *OsLACS1*、*OsLACS1-2*、*OsFDH1/2*、*OsCER1/2*、*OsCUT1*、*OsKCSI*、*OsFAEI-L* 和 *OsFAEI'-L* 等基因的表达上调了 2 倍^[27], 表明 *OsWR1* 是水稻中蜡质合成相关基因的正向调节因子。在烟草 (*Nicotiana tabacum*) 中过表达大麦 *HvSHN1*, 同样上调了启动子含有 DRE 和 GCC-box 元件的抗逆应答基因的表

达^[38]。在拟南芥中有3个基因(*CER1*、*CER2*和*KCS1*)被鉴定为受WIN1/SHN1的调控,参与表皮蜡的生物合成,其中过表达WIN1/SHN1对*CER1*基因的上调作用最强,而角质层生物合成相关的另外3个基因*CER6/CUT1*、*CER3*和*FDH*的转录水平没有改变^[24]。在拟南芥中过表达大豆*GmSHN1/GmSHN9*,发现*AtLACS1/CER8*和*AtLACS3*(编码酰基辅酶A)、*AtGPAT4*和*AtGPAT6*(编码甘油3-磷酸酰基转移酶)、*AtCYP86A4*和*AtCYP86A7*(编码脂肪酸 ω -羟化酶)及*AtCD1*(编码角质合成酶)的表达均上调,其中在*GmSHN1-OE1*和*GmSHN9-OE1*转基因植株中*AtLACS1*分别增加3.5倍和6.5倍,*AtCD1*分别增加5.1倍和4.8倍,引起了叶片角质含量和组成发生了变化^[23-24],表明*GmSHN1*和*GmSHN9*可能都对脂肪酸延伸过程产生了积极的影响^[28]。

此外,利用抑制基因表达的方法也证明了WIN/SHN的转录调节作用。对大麦接种病原菌的研究中发现,敲除*HvWIN1*,提高了病害严重程度和真菌生物量,降低了亚油酸和棕榈酸等游离脂肪酸的丰度,证明HvWIN1可以调节表皮生物合成中的基因表达从而防御大麦镰刀菌赤霉病^[39-40]。用RNAi沉默*SISHN3*构建表达载体,转化番茄植株,导致与角质代谢的多个基因下调,其中MG时期番茄表皮中编码5个转录因子的基因表达均显著降低,包括*SISHN2*、*SIMIXTA*、*SIGL2*、*SIHDG11a*和*SIANL2c*^[30]。在*OsWRI*的RNAi沉默转基因水稻RI-WR1中,*OsLACS1*、*OsLACS1-2*、*OsFDH1/2*、*OsCER1/2*、*OsCUT1*、*OsKCS1*、*OsFAE1-L*和*OsFAE1-L'*等基因的表达均显著下调^[27]。另外,*SISHN3*可以激活2个转录因子基因(*SIMIXTA*和*SIGL2a*)和2个细胞色素P450(*SICYP86A68*和*SICYP86A69*)的启动子,由此表明*SISHN3*可能是直接作用于角质生物合成基因和表皮细胞构型相关调控因子,从而影响果皮形成和表皮构型^[30]。

2.3.2 WIN/SHN的负调节 WIN/SHN作为转录因子参与调控蜡质合成的同时,其自身的表达也受到其他转录因子的负调控,*NFX1-LIKE2*(*NFXL2*)和*SPY*是目前发现的2个主要的WIN/SHN负调节因子。研究发现,拟南芥*NFXL2*基因的缺失导致ABA和过氧化氢水平升高,气孔开度减小,抗旱性增强;

在*fxl2-1*突变体中*SHN1*、*SHN2*和*SHN3*的表达量较高,是可能导致角质层特性的改变,气孔密度降低,提高抗旱性的部分原因;在*fxl2-1*突变体中过表达*NFXL2-78*,*NFXL2-78*与*SHINE1*(*SHN1*)、*SHN2*、*SHN3*和*BODYGUARD1*(*BDG1*)基因的启动子直接结合,介导这些基因的表达减弱^[41]。*SPINDLY*(*SPY*)编码一种乙酰氨基葡萄糖转移酶,可以修饰靶蛋白并调节细胞中的蛋白活性。在拟南芥*spy-3*突变体中,*SHN1/WIN1*、*DREB1E*和*DDF1*的表达上调使其维持较高的水分含量,从而使耐旱性增强;而转基因拟南芥中*SPY*基因的过表达则降低了*WIN1/SHN1*基因的表达水平,降低了耐盐性和抗旱性^[42]。因此,*NFXL2*和*SPY*均对WIN/SHN起到负调控作用,进一步影响蜡质合成。

3 WIN/SHN的转录调节效应及其对逆境的应答反应

3.1 WIN/SHN的转录调节对生理及表型的影响

利用突变体是研究基因功能的重要手段。拟南芥突变体*Shine*(*shn*)与野生型相比,表现为叶片表面呈现明亮、发亮的绿色,蜡质含量增加,抗干旱胁迫能力增加^[43];生化实验显示,该突变体总角质蜡含量增加了6倍,主要是因为约占蜡质总量50%的烷烃增加了9倍,其中所有蜡质成分都有所增加,烷烃、仲醇和酮类的增长幅度较大,而C30脂肪酸、C30醛和C27/C29烷烃也有所增加^[23]。利用RNAi沉默技术所构建转基因植株也是研究基因功能的另一种方法,对科学研究具有重要意义。例如,*SISHN3*的RNAi转基因番茄果实呈现出特有的表型,其中果实的表面光泽度更高,分离角质层时所需的酶更少。通过对果实成熟绿色(MG)期表皮的透射电镜观察,证实RNAi果实的表皮比野生型薄的多。同时,RNAi系MG阶段的果实角质层中的总角质单体丰度降到了野生型的40%,其中芳烃、二元羧酸、中链和末端烷基化脂肪酸以及2-羟基化脂肪酸的含量显著降低,导致*SISHN3*RNAi系角质单体显著减少,酶法分离的MG果实角质层中的蜡总量也显著减少^[30]。

过表达*AtWIN1/AtSHN1*拟南芥的叶表皮蜡质含量比对照植株高4.5倍,改变了叶片和花瓣表皮

细胞结构、毛状体数量及气孔指数,增加了角质层的通透性,转基因植株表现出显著的抗旱性^[24]。*AtSHN2* 基因在水稻中过表达,使表皮蜡适度增加,水分利用效率提高;同时纤维素含量提高、木质素含量降低,但是茎秆强度没有明显改变^[44]。过表达 *OsWRI* 水稻 Ox-WR1 在开花期株高明显低于野生型,但叶片的蜡质含量增加了约 26%;而 *OsWRI* 的 RNAi 沉默转基因水稻 RI-WR1 幼苗叶片蜡质降低了 21%;与 RI-WR1 相比, Ox-WR1 植株叶片的 C30 脂肪酸增加了 36%,而伯醇含量略有下降^[27]。在拟南芥中过表达番茄 *SlSHN3* 和大豆 *GmSHN1-GmSHN7*,产生了与过表达 *AtSHN1* 相似的表型,叶片较小而有光泽,但叶指数(叶长/叶宽)与野生型相似^[23-24]。然而, *GmSHN8*、*GmSHN9* 和 *GmSHN10* 的转基因系叶片呈现出黄绿色且伴随着卷曲,叶柄细长,叶片指数高于野生型;而转 *GmSHN1* 与 *GmSHN9* 的株系叶片上毛状体减少,光泽度增加,转 *GmSHN1* 的 2 个株系蜡质的含量分别增加了 7.8 倍和 9.9 倍,其中 C31 和 C29 烷烃对蜡含量增加的贡献最大^[28]。

3.2 WIN/SHN对逆境的应答反应

WIN/SHN 除了参与蜡质生物合成调节外,还参与植物对逆境的应答反应。水稻 *OsWRI* 与拟南芥蜡质/角质调控逆境调节因子 *WIN1/SHN1* 高度相似,受干旱、脱落酸和盐诱导,干旱胁迫条件下 *OsWRI* 表达量在 1 h 后逐渐升高,2.5 h 达到最高;高盐和 ABA 胁迫分别在处理 6 h 和 9 h 后达到最高表达水平^[27]。小麦 (*Triticum aestivum*) *TdSHN1* 编码一个受非生物胁迫诱导的转录因子,盐 (NaCl)、干旱、脱落酸 (ABA) 和寒冷 (4℃) 等胁迫强烈诱导 *TdSHN1* 的表达,其中盐和 ABA 在胁迫 1 h 就达到峰值,而寒冷和干旱胁迫诱导峰值出现在 6 h;在酵母中表达 *TdSHN1* 能提高转基因酵母的抗旱、抗寒和抗氧化能力^[45]。大麦中 *HvSHN1* 的表达明显受到盐 (NaCl)、干旱、冷 (4℃) 和热 (37℃) 胁迫的诱导,其中盐和干旱处理 6 h 后 *HvSHN1* 的表达达到最高,而冷和热胁迫 24 h 后 *HvSHN1* 的表达达到最大值^[38]。

另外,对过表达 *WIN/SHN* 转基因植株的研究结果进一步支持了该类基因能够增强转基因植株对胁

迫的应答能力。对 *SHN1* 过表达拟南芥植株进行自然干旱处理,随后复水监测显示,野生型植株没有恢复过来,而过表达 *SHN1/WIN1* 的所有植株都能恢复,且更绿、更强壮,抵抗干旱的能力更强^[23, 46]。对过表达 *OsWRI* 基因水稻研究表明,在干旱胁迫后发现, *OsWRI* 通过调控蜡质合成相关基因的表达来调节长链脂肪酸 (C30)、烷烃 (C25 和 C31) 和酯 (C48) 等蜡质的组成成分,进一步提高植株的耐旱能力^[27]。*OsWRI* 的过表达还导致了不参与角质层生物合成的基因的上调,例如编码抗坏血酸过氧化物酶 (Ascorbate peroxidase, APX)、超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD) 和过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 的基因,但这些基因有可能独立地发挥作用来提高耐旱性;而在 *OsWRI* 基因的 RNAi 转基因株系 RI-WR1 中,仅 *CatA* 和 *CatB* 转录水平降低,表明 *OsWRI* 可能参与氧化应激反应和膜稳定性的调节,并且这种调节可能是对干旱反应中 *OsWRI* 调节的补偿^[27],这意味着 *OsWRI* 可能通过调控活性氧清除酶系统来提高水稻的抗旱能力。

4 问题与展望

植物表皮蜡质的生物合成途径涉及的酶相对比较清晰,但该合成途径的调控则是一个复杂的调控网络。虽然有许多转录因子参与到蜡质合成调节当中,但是目前所鉴定到的转录因子也非常有限。因此,一方面需要认识到蜡质合成的复杂性,对 WIN/SHN 的研究需要深入开展,并继续寻找和筛选其他调控因子;另一方面需要发掘蜡质对农业生产实践的价值,看到其应用前景。

研究发现,拟南芥中 MYB106 和 WIN1/SHN1 调节相似的基因集,主要是参与蜡和角质生物合成的基因,MYB106 可以正调控 WIN1/SHN1,它们协调调节角质的生物合成和蜡质积累^[47]。在水稻中表达 *AtSHN2* 基因,能够协调木质素生物合成的下调和纤维素及其他细胞壁生物合成途径基因的上调,影响到细胞壁的生物合成调控,并与 NAC 和 MYB 转录因子结合,调控细胞壁中木质素与纤维素的合成^[48]。因此,WIN/SHN 的功能可能具有多样性,它需要和其他的转录因子共同作用调控蜡质合成。另外,WIN/SHN 所参与的蜡质合成调控除了受植物内在因

子的影响外,还受到生物与非生物因素的影响,进而影响蜡质的合成与分泌。WIN1/SHN1可能是间接的通过调节蜡质合成相关基因,来提高蜡质的累积,从而完成对生物以及非生物的反应,提高植物的抗逆性^[23-24]。由此表明,WIN/SHN参与的蜡质合成与调控是一个复杂网络,对于WIN/SHN以及其它转录因子的研究还需要进一步深入。

蜡质对植物生命活动具有重要作用,参与植物应对干旱、盐、温度、强光等多种非生物胁迫,使得植物更加适应环境的变化^[49-55],同时对预防病虫害等生物胁迫也具有非常重要的意义^[7, 56]。我们相信,随着现代生物技术的快速发展与应用,将有更多的现代先进生物技术和手段帮助我们深入开展包括WIN/SHN在内的多种类型遗传因子及环境因子对蜡质合成、调控与运转的机制研究,解析植物蜡质在生命科学中的意义,这将对未来农业生产实践产生重要的科学价值和现实意义。

参 考 文 献

- [1] Yeats TH, Rose JKC. The formation and function of plant cuticles [J] . *Plant Physiology*, 2013, 163 (1) : 5-20.
- [2] Bernard A, Joubes J. *Arabidopsis* cuticular waxes : advances in synthesis, export and regulation [J] . *Progress in Lipid Research*, 2013, 52 (1) : 110-129.
- [3] Borisjuk N, Hrmova M, Lopato S. Transcriptional regulation of cuticle biosynthesis [J] . *Biotechnology Advances*, 2014, 32 (2) : 526-540.
- [4] Nawrath C. Unraveling the complex network of cuticular structure and function [J] . *Current Opinion in Plant Biology*, 2006, 9 (3) : 281-287.
- [5] 李灵之, 马杰, 向建华, 等. 植物角质层内外蜡质的差异及其与抗逆性的关系 [J] . *植物生理学报*, 2011, 47 (7) : 680-684.
Li LZ, Ma J, Xiang JH, et al. Composition differences of epicuticular and intracuticular wax layers and the relationship between cuticle and plant stress tolerance [J] . *Plant Physiology Journal*, 2011, 47 (7) : 680-684.
- [6] Eglinton G, Hamilton RJ. Leaf epicuticular waxes [J] . *Science*, 1967, 156 (3780) : 1322-1335.
- [7] Barthlott W, Neinhuis C, Cutler D, et al. Classification and terminology of plant epicuticular waxes [J] . *Botanical Journal of the Linnean Society*, 1998, 126 (3) : 237-260.
- [8] Kunst L, Samuels AL. Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax [J] . *Progress in Lipid Research*, 2003, 42 (1) : 51-80.
- [9] Zeng Q, Liu DC, Liu Y. The overview and prospect of chemical composition of plant cuticular wax [J] . *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33 (17) : 5133-5140.
- [10] Lee, SH, Stephens JL, Englund PT. A fatty-acid synthesis mechanism specialized for parasitism [J] . *Nature Reviews Microbiology*, 2007, 5 (4) : 287-297.
- [11] Li-Beisson Y, Shorrosh B, Beisson F, et al. Acyl-lipid metabolism [J] . *The Arabidopsis Book*, 2010, 8 : e0133.
- [12] Nawrath C, Schreiber L, Franke RB, et al. Apoplastic diffusion barriers in *Arabidopsis* [J] . *The Arabidopsis Book*, 2013, 11 : e0167.
- [13] Cheesbrough TM, Kolattukudy PE. Alkane biosynthesis by decarbonylation of aldehydes catalyzed by a particulate preparation from *Pisum sativum* [J] . *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 1984, 81 (21) : 6613-6617.
- [14] Metz JG, Pollard MR, Anderson L, et al. Purification of a jojoba embryo fatty acyl-coenzyme A reductase and expression of its cDNA in high erucic acid rapeseed [J] . *Plant Physiology*, 2000, 122 (3) : 635-644.
- [15] Li F, Wu X, Lam P, et al. Identification of the wax ester synthase/acyl-coenzyme A : diacylglycerol acyltransferase WSD1 required for stem wax ester biosynthesis in *Arabidopsis* [J] . *Plant Physiology*, 2008, 148 (1) : 97-107.
- [16] Kunst L, Samuels L. Plant cuticles shine : advances in wax biosynthesis and export [J] . *Current Opinion in Plant Biology*, 2009, 12 (6) : 721-727.
- [17] Lü SY, Zhao HY, Marais DL, et al. *Arabidopsis* ECERIFERUM9 involvement in cuticle formation and maintenance of plant water status [J] . *Plant Physiology*, 2012, 159 (3) : 930-944.
- [18] Jenks MA, Rashotte AM, Tuttle HA, et al. Mutants in *Arabidopsis thaliana* altered in epicuticular wax and leaf morphology [J] . *Plant Physiology*, 1996, 110 (2) : 377-385.
- [19] Zhang D, Yang H, Wang X, et al. Cytochrome P450 family member CYP96B5 hydroxylates alkanes to primary alcohols and is involved in rice leaf cuticular wax synthesis [J] . *New Phytologist*, 2020, 225 (5) : 2094-2107.

- [20] Todaka D, Nakashima K, Shinozaki K, et al. Toward understanding transcriptional regulatory networks in abiotic stress responses and tolerance in rice [J] . Rice, 2012, 5 (1) : 6-13.
- [21] Licausi F, Ohme-Takagi M, Perata P. APETALA2/Ethylene Responsive Factor (AP2/ERF) transcription factors : mediators of stress responses and developmental programs [J] . New Phytologist, 2013, 199 (3) : 639-649.
- [22] Nakashima K, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. The transcriptional regulatory network in the drought response and its crosstalk in abiotic stress responses including drought, cold, and heat [J] . Frontiers in Plant Science, 2014, 5 : 170.
- [23] Aharoni A, Dixit S, Jetter R, et al. The SHINE clade of AP2 domain transcription factors activates wax biosynthesis, alters cuticle properties, and confers drought tolerance when overexpressed in *Arabidopsis* [J] . The Plant Cell, 2004, 16 (9) : 2463-2480.
- [24] Broun P, Poindexter P, Osborne E, et al. WIN1, a transcriptional activator of epidermal wax accumulation in *Arabidopsis* [J] . Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101 (13) : 4706-4711.
- [25] Sakuma Y, Liu Q, Dubouzet JG, et al. DNA-binding specificity of the ERF/AP2 domain of *Arabidopsis* DREBs, transcription factors involved in dehydration- and cold inducible gene expression [J] . Biochemical and Biophysical Research Communication, 2002, 290 (3) : 998-1009.
- [26] Nakano T, Suzuki K, Fujimura T, et al. Genome-wide analysis of the ERF gene family in *Arabidopsis* and rice [J] . Plant Physiology, 2006, 140 (2) : 411-432.
- [27] Wang Y, Wan L, Zhang L, et al. An ethylene response factor OsWR1 responsive to drought stress transcriptionally activates wax synthesis related genes and increases wax production in rice [J] . Plant Molecular Biology, 2012, 78 (3) : 275-288.
- [28] Xu Y, Wu H, Zhao M, et al. Overexpression of the transcription factors GmSHN1 and GmSHN9 differentially regulates wax and cutin biosynthesis, alters cuticle properties, and changes leaf phenotypes in *Arabidopsis* [J] . International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17 (4) : 587.
- [29] Al-Abdallat A, Al-Debei H, Ayad J, et al. Over expression of *SISHN1* gene improves drought tolerance by increasing cuticular wax accumulation in tomato [J] . International Journal of Molecular Sciences, 2014, 15 (11) : 19499-19515.
- [30] Shi JX, Adato A, Alkan N, et al. The tomato SISHINE3 transcription factor regulates fruit cuticle formation and epidermal patterning [J] . New Phytologist, 2013, 197 (2) : 468-480.
- [31] Craft J, Samalova M, Baroux C, et al. New pOp/LhG4 vectors for stringent glucocorticoid-dependent transgene expression in *Arabidopsis* [J] . The Plant Journal, 2005, 41 (6) : 899-918.
- [32] Taketa S, Amano S, Tsujino Y, et al. Barley grain with adhering hulls is controlled by an ERF family transcription factor gene regulating a lipid biosynthesis pathway [J] . Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105 (10) : 4062-4067.
- [33] 李铖, 潘健, 连红莉, 等. 黄瓜蜡质合成调控基因 *CsWIN1* 的克隆与功能初步分析 [J] . 园艺学报, 2018, 45 (2) : 359-370.
- Li C, Pan J, Lian HL, et al. Cloning and functional analysis of *CsWIN1*, a transcription factor regulated the wax synthesis in *cucumber* [J] . Acta Horticulturae Sinica, 2018, 45 (2) : 359-370.
- [34] Zhou X, Jenks MA, Liu J, et al. Overexpression of transcription factor OsWR2 regulates wax and cutin biosynthesis in rice and enhances its tolerance to water deficit [J] . Plant Molecular Biology Reporter, 2014, 32 (3) : 719-731.
- [35] Isaacson T, Kosma DK, Matas AJ, et al. Cutin deficiency in the tomato fruit cuticle consistently affects resistance to microbial infection and biomechanical properties, but not transpirational water loss [J] . The Plant Journal, 2009, 60 (2) : 363-377.
- [36] Lashbrooke J, Aharoni A, Costa F. Genome investigation suggests *MdSHN3*, an APETALA2-domain transcription factor gene, to be a positive regulator of apple fruit cuticle formation and an inhibitor of russet development [J] . Journal of Experimental Botany, 2015, 66 (21) : 6579-6589.
- [37] Zhang YL, Zhang CL, Wang GL, et al. Apple AP2/EREBP transcription factor MdSHINE2 confers drought resistance by regulating wax biosynthesis [J] . Planta, 2019, 249 (5) : 1627-1643.
- [38] Djemal R, Mila I, Bouzayen M, et al. Molecular cloning and characterization of novel WIN1/SHN1 ethylene responsive transcription factor HvSHN1 in barley (*Hordeum vulgare* L.) [J] . Journal of Plant Physiology, 2018, 228 : 39-46.
- [39] Kumar A, Yogendra KN, Karre S, et al. WAX INDUCER1

- (HvWIN1) transcription factor regulates free fatty acid biosynthetic genes to reinforce cuticle to resist *Fusarium* head blight in barley spikelets [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67 (14): 4127-4139.
- [40] 陈伟, 刘德春, 杨莉, 等. 植物表皮蜡质及相关基因研究进展 [J]. *植物生理学报*, 2016, 52 (8): 1117-1127.
Chen W, Liu DC, Yang L, et al. Research progress of plant cuticular wax and related genes [J]. *Plant Physiology Journal*, 2016, 52 (8): 1117-1127.
- [41] Lisso J, Schröder F, Schippers JHM, et al. NFXL2 modifies cuticle properties in *Arabidopsis* [J]. *Plant Signaling & Behavior*. 2012, 7 (5): 551-555.
- [42] Qin F, Kodaira KS, Maruyama K, et al. SPINDLY, a negative regulator of gibberellic acid signaling, is involved in the plant abiotic stress response [J]. *Plant Physiology*, 2011, 157 (4): 1900-1913.
- [43] Kannangara R, Branigan C, Liu Y, et al. The transcription factor WIN1/SHN1 regulates cutin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. *The Plant Cell*, 2007, 19 (4): 1278-1294.
- [44] Karaba A. Improvement of water use efficiency in rice and tomato using *Arabidopsis* wax biosynthetic genes and transcription factors [D]. Wageningen: Wageningen University, 2007.
- [45] Djemal R, Khoudi H. Isolation and molecular characterization of a novel WIN1/SHN1 ethylene-responsive transcription factor TdSHN1 from durum wheat (*Triticum turgidum*. L. subsp. *durum*) [J]. *Protoplasma*, 2015, 252 (6): 1461-1473.
- [46] 王立山, 丁兵, 李玉花, 等. 植物表皮蜡质合成转运调控相关基因与干旱响应的研究进展 [J]. *园艺学报*, 2018, 45 (9): 1831-1843.
Wang LS, Ding B, Li YH, et al. Research progress of plant cuticular wax biosynthesis, export and regulation related genes responded to drought [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2018, 45 (9): 1831-1843.
- [47] Oshima Y, Shikata M, Koyama T, et al. MIXTA-like transcription factors and WAX INDUCER1/SHINE1 coordinately regulate cuticle development in *Arabidopsis* and *Torenia fournieri* [J]. *The Plant Cell*, 2013, 25 (5): 1609-1624.
- [48] Ambavaram MMR, Krishnan A, Trijatmiko KR, et al. Coordinated activation of cellulose and repression of lignin biosynthesis pathways in rice [J]. *Plant Physiology*, 2011, 155 (2): 916-931.
- [49] Bondada BR, Oosterhuis DM, Murphy JB, et al. Effect of water stress on the epicuticular wax composition and ultrastructure of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) leaf, bract, and boll [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 1996, 36 (1): 61-69.
- [50] Samdur MY, Manivel P, Jain VK, et al. Genotypic differences and water-deficit induced enhancement in epicuticular wax load in peanut [J]. *Crop Science*, 2003, 43 (4): 1294-1299.
- [51] Cameron KD, Teece MA, Smart LB. Increased accumulation of cuticular wax and expression of lipid transfer protein in response to periodic drying events in leaves of tree tobacco [J]. *Plant Physiology*, 2006, 140 (1): 176-183.
- [52] Kosma DK, Bourdenx B, Bernard A, et al. The impact of water deficiency on leaf cuticle lipids of *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2009, 151 (4): 1918-1929.
- [53] Seo PJ, Lee SB, Suh MC, et al. The MYB96 transcription factor regulates cuticular wax biosynthesis under drought conditions in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2011, 23 (3): 1138-1152.
- [54] Yang J, Zhao X, Liang L, et al. Overexpression of a cuticle-degrading protease Ver112 increases the nematicidal activity of *Paecilomyces lilacinus* [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 89 (6): 1895-1903.
- [55] Amid A, Lytovchenko A, Fernie AR, et al. The sensitive to freezing3 mutation of *Arabidopsis thaliana* is a cold-sensitive allele of homomeric acetyl-CoA carboxylase that results in cold-induced cuticle deficiencies [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63 (14): 5289-5299.
- [56] Uppalapati SR, Ishiga Y, Doraiswamy V, et al. Loss of abaxial leaf epicuticular wax in *Medicago truncatula* *irg1/palm1* mutants results in reduced spore differentiation of anthracnose and nonhost rust pathogens [J]. *The Plant Cell*, 2012, 24 (1): 353-370.

(责任编辑 狄艳红)