

番茄果实角质层的形成机理

邢亚莉, 史才雪, 李汉霞, 叶志彪*

(华中农业大学园艺林学学院, 园艺植物生物学教育部重点实验室, 武汉 430070)

摘 要: 番茄果实的角质层厚且没有气孔, 是研究鲜食果实角质层的理想材料。对番茄果实角质层的组分、形成、功能和调控因子进行了简要的综述, 为鲜食果实发育和采后生物学的研究提供理论依据。

关键词: 番茄; 角质层; 转录因子

中图分类号: S 641.2

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2016) 09-1726-09

Formation Mechanism of Tomato Fruit Cuticles

XING Ya-li, SHI Cai-xue, LI Han-xia, and YE Zhi-biao*

(Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education, Huazhong Agricultural University, College of Horticulture and Forestry Sciences, Wuhan 430070, China)

Abstract: The cuticle of tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit is relatively thick and does not contain stomata, which makes a suitable model system for fleshy fruit research. In this paper, the research on tomato fruit cuticle composition, formation, functions and regulatory factors were reviewed. It will provide theoretic foundation for fleshy fruit development and post-harvest biology.

Key words: tomato; cuticle; transcription factor

角质层作为植物的一级保护屏障, 发挥着重要的生理作用, 主要有防护非生物胁迫如渗透胁迫和辐射, 抵抗生物胁迫如病虫害, 防止植物体的过度失水等。果实的角质层对其生理和品质更是具有重要的影响, 它能够影响果实的外观 (色泽、质地、均一性), 采后处理的效果, 贮藏、运输和货架期等 (Saladié et al., 2007; Isaacson et al., 2009; Domínguez et al., 2011)。因此, 研究角质层生物合成及调控途径, 可以为提高果实的品质特性提供理论基础。

番茄 (*Solanum lycopersicum*) 是研究果实的模式植物, 其果实为研究角质层功能提供了一个合理的实验体系。与其他模式植物如拟南芥不同, 番茄果实的角质层较厚且不含有气孔, 是一个易于分离和处理的无孔均质材料 (Vogg et al., 2004)。同时, 番茄具有丰富的突变体材料和稳定的遗传转化体系, 这也为角质层的遗传研究提供了良好的基础。

本文主要总结了番茄果实角质层的组分、形成、功能以及与番茄角质层遗传调控相关的各种转录因子, 分析了角质层与果实成熟、采后品质的联系。

收稿日期: 2016-05-27; 修回日期: 2016-08-22

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31372081); 武汉市应用基础研究计划项目 (2014020101010070; 2013021702010584)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: zbye@mail.hzau.edu.cn)

1 番茄角质层的组分及形成

1.1 角质层的组分

角质层的主要组分为角质和蜡质。角质由 C_{16} 和 C_{18} 羟基、环氧羟基酯化脂肪酸组成 (Peschel et al., 2007), 还有酚类化合物、二羧酸和甘油等 (Stark & Tian, 2006)。角质由不溶性聚合物骨架构成, 非晶体状的蜡质镶嵌在角质中, 而上表皮的晶体状蜡质覆盖在植物表面。蜡质是疏水性化合物, 以复杂的混合物形式存在, 包括长链及超长链脂肪酸、烃类、醇类、醛类、酮类、酯类、三萜类、固醇类和黄酮类等 (Kolattukudy, 1980)。

角质层组分中的多糖 (Guzman et al., 2014) 和黄酮类物质, 赋予角质层结构以特殊的机械特性, 如多糖影响角质层的弹性或刚度特性, 酚类物质影响角质层的硬度 (Lopez-Casado et al., 2007; Tsubaki et al., 2012)。因此, 不同组分的角质层具有不同的弹性和应变力性能, 其调节植物器官的机械特性, 能够延伸植物器官和硬化表皮细胞壁 (Domínguez et al., 2011)。

1.2 角质层的形成

角质和蜡质合成的途径见图 1, 角质和蜡质合成的前体物质是脂肪酸, 合成蜡质的脂肪酸主要是 C_{16} 和 C_{18} 脂肪酸, 合成角质的主要是 $C_{16:0}$ 和 $C_{18:x}$ 羟基脂肪酸。在表皮细胞质体中脂肪酸合酶 (fatty acid synthase, FAS) 催化乙酰辅酶 A 和丙二酰基载体蛋白缩合, 通过不断缩合延伸成 C_{16} 或 C_{18} 酰基 - ACP; 继而由酰基 - ACP 硫解酶 (fatty acyl-ACP thioesterase, FAT) 催化产生长链脂肪酸 (C_{16} 和 C_{18}), 由质体外膜上的长链酰基辅酶 A 合成酶 (long-chain acyl-CoA synthetase, LACS) 催化形成相应的酰基辅酶 A, 再转移到内质网上。 C_{16} 或 C_{18} -CoA 在脂肪酸延长酶 (multienzyme fatty acid

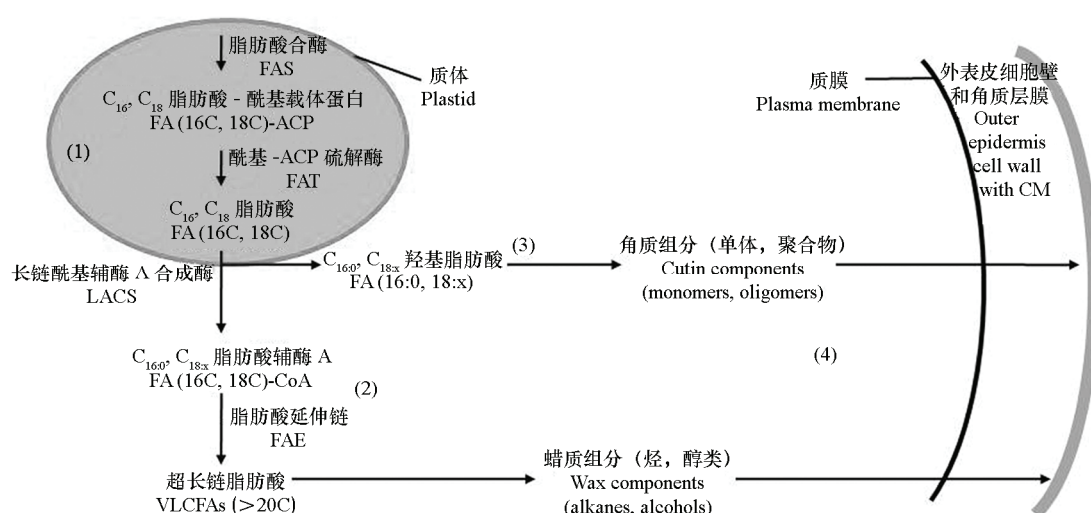


图 1 果实表皮角质单体和蜡质组分的生物合成途径

角质和蜡质的合成由脂肪酸开始, 其在质体中产生 (1); 在内质网中脂肪酸经过化学修饰成为蜡质单体 (2) 和角质组分 (3); 之后通过细胞壁运送到角质层膜 (4)。

Fig. 1 Biosynthetic pathways for cutin monomers and wax constituents in the fruit epidermis

Biosynthesis of cutin and waxes starts with fatty acids, which are produced in the plastids (1) and chemically modified to wax constituents (2) and cutin monomers (3) in the endoplasmic reticulum prior to transport to CM through the cell wall (4).

elongase, FAE) 的作用下延长为超长链脂肪酸 (VLCFAs), VLCFA 酯化为超长链醇类, 形成蜡质的组分; 随后角质和蜡质组分通过外表皮细胞壁到达角质层膜 (吉庆勋 等, 2012; Isabel et al., 2015)。

1.3 不同番茄品种果实角质层的组分

微型矮化番茄品种 ‘Micro-Tom’ 角质层的蜡质主要由超长链烷烃类和三萜类化合物组成。三十一烷烃普遍存在于上表皮蜡质, 而在表皮内的蜡质中它与五环三萜醇 α -、 β -、 δ - 香树素混合存在 (Vogg et al., 2004; Leide et al., 2007; Petit et al., 2014)。

番茄栽培品种 ‘Ailsa Creig’ (AC) 角质层中蜡质总量的 55% ~ 60% 组分由烷烃组成, 其中三十一烷烃占绝大部分, 其次是 C_{29} 和 C_{33} 烷烃; 香树素 (α 、 β 和 δ) 共占大约 18% 的蜡质组分 (Saladie et al., 2007)。分析角质的组分, 发现 C_{16} 角质单体 10, 16 - 二羟基 $C_{16:0}$ 酸大约占总单体含量的 74%。番茄果实角质层组分中的三十一烷烃、香树素和 10, 16 - 二羟基 $C_{16:0}$ 酸也在对加工番茄品种 ‘M82’ 的研究中被证实 (Hovav et al., 2007; Isaacson et al., 2009; Yeats et al., 2012; Shi et al., 2013)。

研究野生种番茄果实, 发现其角质层的蜡质含量约是栽培种番茄的 7 倍, 蜡质中酯类和三萜类化合物的含量与栽培种也存在差异。由此可以推测, 含有特殊角质层组分的品种可能具有更有利的农艺学性状 (Yeats et al., 2012)。

1.4 番茄果实成熟过程中角质层组分的变化

以往的研究普遍观察到的趋势是果实角质层的沉积在某一特定发育时期提前终止 (如甜樱桃) (Peschel et al., 2007), 而番茄例外。随着番茄果实的发育和成熟, 果实角质层的沉积持续增加, 长链脂肪族化合物的含量降低, 三萜类含量增加 (Baker et al., 1982)。

番茄 ‘Micro-Tom’ 果实从绿熟期到红熟期蜡质覆盖层持续增加 (Leide et al., 2007)。栽培番茄 Ailsa Creig 果实从绿熟期到红熟期蜡质的总量和二烯烃的比例增加, 而在同一期间每单位表面积角质单体的总量保持不变, 其组分的相对比例中除了 9, 10, 18 - 三羟基十八碳和 9, 10, 18 - 三羟基十八酸含量增加外, 其他均保持不变 (Saladie et al., 2007)。

番茄果实从绿熟阶段开始, 角质层的蜡质总量持续增加, 除了异烷烃外所有蜡质类物质的绝对含量逐步增加 (Kosma et al., 2010), 大多数角质单体以及 p - 香豆和 m - 香豆酸的含量也随着果实的发育而增加。

2 番茄果实角质层的功能

2.1 渗透性屏障

角质层的疏水特性使其成为阻止水分散失的有效屏障。番茄果实的角质层没有气孔, 通过角质层的蒸腾作用成为果实水分散失的主要模式 (Schreiber & Riederer, 1996)。

果实的角质层较厚, 但通过果实角质层散失的水分高于叶片角质层。水分的蒸发能够驱动韧皮部中水分的转运, 从而增加养分的吸收, 这可能会对番茄果实的发育和生理生化反应具有重要的意义 (Lee, 1989; Schreiber & Riederer, 1996)。

角质层的组分和厚度影响角质层的渗透性。相关研究发现番茄果实角质含量大量降低的突变体, 其果实的水分散失量增加 (Isaacson et al., 2009); 但是这种突变的重要性很难确定, 因为可能是角质层结构的变化而不是单个角质因子阻碍蒸腾作用。也有研究发现角质层蜡质的组分对番茄果

实角质层的水分散失有重要的屏障作用, 番茄果实角质层中高含量的环三萜和低含量的烷烃与水分的高渗透性相关 (Leide et al., 2007); 通过进一步研究果实的内外角质层蜡质, 发现果实的内角质层的蜡质对水分渗透起关键的作用 (Vogg et al., 2004)。

2.2 保护屏障

角质层对抵御病原菌提供了重要的生理屏障。有报道显示, 番茄果实角质严重减少的突变体对灰霉菌和微生物致病菌的敏感性增强 (Isaacson et al., 2009); 这种突变体的蜡质覆盖与野生型果实相似, 表明是角质起到了关键的屏障作用, 而不是蜡质的作用。另一个番茄突变体 ‘Delayed Fruit Deterioration’ (*dfd*) 的果实具有异常高含量的角质, 对水分散失和微生物的侵染表现出高抗性 (Saladié et al., 2007)。这些研究结果表明果实的角质对抵抗病原菌具有重要的作用。

除了抵抗微生物, 角质层也防范过量的太阳辐射。UV 辐射具有强破坏性, 一些物种的果实角质层能够通过过滤表面的特定波长的光, 允许对光合作用有用的辐射光到达叶绿体来降低这种辐射的破坏性 (Krauss et al., 1997)。这种过滤能力是普遍存在的, 如在番茄果实中紫外光能够导致蜡质含量和亚细胞结构的改变 (Charles et al., 2008)。

2.3 机械支持

生物力学应力在植物器官的表面作用最大。比较番茄果实的果皮 (保留一些细胞层和相关的细胞壁) 和分离的角质层 (已除去多糖), 发现它们具有相同的机械性能, 表明角质层提供重要的机械支持 (Matas et al., 2004; Bargel & Neinhuis, 2005)。不同的番茄品种和不同发育时期的果实角质层具有不同的机械性能, 这在一定程度上可以通过结构的差异 (如角质层生长成表皮下的细胞层的程度) 和组成的差异 (如成熟过程中黄酮类物质的积累) 来解释 (Matas et al., 2004; Bargel & Neinhuis, 2005; España et al., 2014b)。

3 番茄果实角质层形成的转录调控

3.1 已知功能的番茄果实角质层形成相关的转录因子

有关调控果实角质层形成的研究较少, 而与角质层蜡质或角质生物合成相关基因的报道也较少。

角质层的含量、组分和正确的结构组装由一系列步骤和相互关联的途径决定 (Post-Beittenmiller, 1996; Nawrath & Poirier, 2008; Pollard et al., 2008)。这些途径的多层次调控可能包括基因表达、蛋白修饰和细胞环境的变化等, 因此确定关键的调控点是一项困难的任务。解决这个课题的可行性方法是对果实角质层性状改变的突变体与野生型进行比较分析, 帮助鉴定果实角质层生物合成和功能的关键的候选基因、蛋白、代谢物和途径。

Kosma 等 (2010) 分析了迟熟番茄果实突变体 *rin* (ripening inhibitor)、*nor* (non ripening)、*Alc* (Alcobaca) 果实角质层角质和蜡质单体组分的发育变化, 发现蜡质 (整个发育时期) 和角质层脂质组分的改变 (果实发育的早期), 其中 C_{18} 单体的含量相对较高。另一个番茄突变体 ‘Delayed Fruit Deterioration’ (*dfd*) 经历正常的果实成熟过程, 但果实呈现极低的软化程度, 研究发现其角质层的组分和结构发生改变 (Saladie et al., 2007)。研究人员通过研究番茄果实的突变体或角质层相关基因改变的转基因系, 鉴定到一些与果实角质层形成相关的转录因子 (表 1), 这些调控因子在角质层结构、形成和代谢方面发挥着重要的作用。

表 1 已知功能的番茄果实角质层形成相关的转录因子
Table 1 Transcription factors with known functions related to tomato fruit cuticle formation

转录因子 Transcription factors	作用 Role	家族 Family	参考文献 Reference
CD2	角质 Cutin	HD-Zip IV	Isaacson et al., 2009; Nadakuduti et al., 2012
SISHN3	角质和蜡质 Cutin and wax	AP2	Shi et al., 2013
GDSL1	角质 Cutin	GDSL-motif lipase hydrolase	Yeats et al., 2010; Girard et al., 2012
LeCER6	蜡质 Wax	3-ketoacyl-CoA synthase	Vogg et al., 2004; Leide et al., 2007
MYB12	黄酮类 Flavonoids	R2R3MYB	Adato et al., 2009; Ballester et al., 2010
FUL1/TDR4 & FUL2/MBP7	角质层组装 Cuticle assembly	MADS-box	Mahjoub et al., 2009; Bemer et al., 2012
TAGL1	角质层组装 Cuticle assembly	MADS-box	Giménez et al., 2015
CHS	角质和蜡质 Cutin and wax	Chalcone synthase	España et al., 2014a

3.2 HD-Zip (homeodomain-leucine zipper) 家族

在番茄中，最早报道的与角质层相关的基因是通过图位克隆方法鉴定的 *CD2* (*CUTIN DEFICIENT 2*) 角质突变基因 (Isaacson et al., 2009)。*CD2* 在番茄果实表皮细胞层中表达，属于 HD-Zip IV 家族成员，其可能在番茄果实角质的生物合成中发挥着关键的调控作用。*cd2* 突变体果实角质层的角质含量降低了 95% ~ 98%，角质的缺陷引起角质层表面刚度和对真菌侵染的敏感性的增加，而蜡质含量和蒸腾失水率没有明显的变化，表明角质的含量与角质层的透水性没有相关性，但角质在对微生物侵染的防护上有重要的作用。另一个番茄角质层突变体 ‘*sticky peel*(*pe*)’ (Nadakuduti et al., 2012)，表现出表皮细胞功能缺陷的表型，包括花青素积累的减少、腺体毛密度的降低、毛状体派生的萜类物质的减少。遗传作图发现 *pe* 位点代表 *CD2* 的新等位基因，*pe* 的研究为 *CD2* 调控番茄果实表皮细胞的代谢提供了新的见解。

本实验室罗志丹 (2014) 也发现一类 HD-Zip 转录因子—非特异性脂转移蛋白 *nsLTP* (Non-specific lipid transfer protein) 参与番茄果实表层蜡质的积累。相比野生型对照，转 *nsLTP* 基因的干涉株系果实外表面覆有一层蜡粉状物质，进一步分析干涉株系和对照番茄果实蜡质的组分后发现 10 种蜡质组成成分存在显著差异。*nsLTP* 干涉系果实采后贮藏期的失水率较低，表现出良好的采后持水性；同时干涉系果实对灰霉病的抵御能力增强。*nsLTP* 蛋白与 PG 酶 (polygalacturonase, 关键的细胞壁水解酶) 之间存在互作关系；干涉 *nsLTP* 基因的表达，可降低番茄果实成熟期 PG 酶的活性，这也进一步证实了 *nsLTP* 蛋白参与对番茄果实软化的调节。

3.3 AP2 (APETALA2) 家族

AP2 家族蛋白调控不同的生物过程，包括激素合成、生殖发育、细胞增殖以及生物和非生物胁迫响应等，同时有研究指出该家族的一些成员能调控与角质层相关的基因。在拟南芥中最先发现 AP2 - 家族亚族成员 *WIN1/SHN1* 在角质层蜡质代谢过程发挥作用，对番茄中 *AtSHN1-3* 的 3 个直系同源物进行研究后发现，其中 *SISHN3* 在绿熟期番茄果实的外果皮中高效表达，*SISHN3* 沉默表达后导致番茄果实角质层的角质和蜡质含量降低 (Shi et al., 2013)，表明 *SISHN3* 是调控角质代谢和表皮细胞结构的相关基因。

3.4 GDSL 酯酶

GDSL 酯酶蛋白属于 α/β 水解酶家族，其在果皮邻近角质膜的表皮细胞中表达。提取脱脂番茄果皮的蛋白质，从中鉴定到 GDSL1；在发育的番茄果实表皮中，GDSL1 是主要表达的 GDSL 酯酶蛋白 (Yeats et al., 2010; Girard et al., 2012)。在 *GDSL1* 沉默表达的番茄转基因系中发现果实的角

质层厚度减少, 角质单体组分比例降低, 角质密度降低, 表明 GDSL1 特定参与番茄果实角质层的细胞外角质聚酯的沉积。之后的研究中 Petit 等 (2014) 通过 EMS 方法获得 ‘Micro-Tom’ 番茄一些果实亮度性状的突变体, 这些突变体的果实在蜡质和角质的含量和构成物、角质层厚度等方面都发生改变, 表明观察果实亮度是鉴定番茄角质层突变体的有效方法; 通过对其中的角质缺陷突变体进行遗传作图发现, 存在一个具有剪接突变的新的 GDSL 酯酶亚等位基因 *GDSL2*。

3.5 3-酮乙酰 CoA 合酶

番茄 *LeCER6* (又称 *SICER6*) 与拟南芥 *AtCER6* 具有高度同源性, 编码长链脂肪酸 β -酮乙酰辅酶 A (Vogg et al., 2004)。*LeCER6* 功能缺陷型突变体果实的蜡质缺少正构烷烃, 醛类长于 C_{30} , 同时蜡质也显著富含角质层内的萜类物质。而这些改变会影响果实角质层的渗透性, 表明这些化合物在果实角质层的蒸腾屏障特性上具有重要作用 (Leide et al., 2007)。*LeCER6* 在果实外果皮和内果皮中的表达随着果实的成熟过程逐渐增加, 这也支持了 *LeCER6* 与角质层蜡质的形成相关的假设。

3.6 R2R3-MYB 亚家族

除了角质和蜡质, 果实的角质层还含有一些次级代谢物, 如三萜类、固醇类、生物碱和苯丙酯类以及黄酮类等。MYB 转录因子对植物的发育、代谢和非生物及生物胁迫响应都有调控作用。根据含有 MYB 结构域的数量, 可将 MYB 家族分为 4 类: 1R-MYB, R2R3-MYB, 3R-MYB 和 4R-MYB 蛋白, 其中 R2R3-MYB 蛋白在植物中特定存在, 也是植物基因组中最丰富的亚族 (Dubos et al., 2010; Ambawat et al., 2013)。*MYB12* 在番茄果实黄酮类物质的调控途径中发挥着重要的作用 (Adato et al., 2009), 在番茄的一个粉红色果实 *y* 突变体中, 果皮中 *MYB12* 低水平的表达导致果实角质层中缺乏黄酮色素——柚配基查尔酮的积累, 同时 *y* 突变体果实角质层厚度、角质含量和蜡质组分也发生了改变 (Adato et al., 2009; Ballester et al., 2010)。在番茄中异源超量表达葡萄 *VvMYB5b* 会产生一系列多效性表型, 包括叶片结构和花形态的改变以及有光泽果实的外观; 分析其果实的化学成分发现总香树素含量减少, 特别是 β -香树素 (Mahjoub et al., 2009)。

3.7 MADS-box 家族

番茄 Fruitful 基因家族的 *FUL1* 和 *FUL2* 是属于 MADS-box 家族的两个紧密同系物, 它们对番茄果实成熟是冗余作用 (Bemer et al., 2012)。本实验室汪淑芬等 (Wang et al., 2014) 研究发现 *FUL1* 和 *FUL2* 在番茄果实成熟调控上功能冗余, 但对细胞分化和膨大具有不同的调控作用。超量表达 *FUL2* 的果实底部形成一个突起并且果皮变薄; *FUL1* 和 *FUL2* 双干涉系的果实的成熟受到抑制, 同时乙烯合成的关键基因 *ACS2* 的转录水平也显著降低, 说明 *FUL1* 和 *FUL2* 通过微调乙烯生物合成和成熟相关基因的表达调控番茄果实的成熟。

MADS-box 家族番茄成熟相关的调控因子也对果实角质层的形成有影响 (Bemer et al., 2012)。*FUL1/2* 沉默表达后果实的失水量增加, 而果皮和角质层的厚度没有变化, 转录组分析表明转基因系果实脂质和角质层的代谢发生改变, 与角质层代谢相关的基因在 *FUL1/2* 干涉系果实中上调表达。近期有研究发现另一个 MADS-box 家族 *ALQ/TAGL1* 基因的转录活性对番茄果实角质层的发育是必需的 (Giménez et al., 2015)。*TAGL1* 是番茄生殖发育的关键调控因子, 主要参与花发育、早期果实的发育和成熟。进一步的研究发现 *TAGL1* 也参与果实角质层发育的转录调控, *TAGL1* 干涉系果实角质层的厚度、刚度和组分含量 (角质、蜡质、多糖和酚类化合物) 显著降低, 而超量表达系角质层的数量及其组分显著上升, 表明 *TAGL1* 参与角质层发育的转录调控来介导角质层组分的生物合成。

这些结果支持角质层发育是番茄果实膨大和成熟过程中的一个重要过程。

3.8 查耳酮合酶

CHS 是多分支的黄酮类物质合成途径的第一个酶,利用 VIGS 系统瞬时沉默番茄 *CHS* 基因的表达引起角质层和表皮的变化 (España et al., 2014a), 果实角质层中黄酮类物质减少, 角质层数量、主要组分(角质、多糖)也发生改变;*CHS* 基因沉默表达后角质层的透水性降低, 说明 *CHS* 基因的表达与蜡质的积累呈负相关, 同时角质中脂类物质数量的降低也依赖于黄酮类物质的存在。

4 展望

番茄不同品种、不同发育时期的果实角质层的组成、结构存在很大的差异,而这种差异由遗传和环境因素共同决定;同时果实角质层对采后品质如水分损失、生物胁迫等具有重要的调节作用。分析番茄果实迟熟突变体 *rin* (ripening inhibitor), *nor* (non ripening), *Alc* (Alcobaca) 的果实角质层组分的发育变化,分析角质层和果实发育之间新的遗传联系,可为今后探讨角质层对果实货架期的重要性提供有价值的理论基础。

果实角质层的形成受一系列转录因子的调控,但目前对这些转录因子的研究都比较单一,没有研究它们之间的联系。在以后的角质研究中,这可能是需要被填补的内容。

野生种番茄具有丰富的遗传变异,是番茄遗传改良的重要资源。通过研究角质或蜡质合成相关基因的突变位点,开发分子标记,可用于辅助选择番茄育种。在未来的番茄育种中,可以利用有特殊角质层组分的野生番茄与栽培种番茄杂交,通过多次回交结合分子标记辅助选择,将相关的基因导入并聚合到栽培番茄品种中,实现番茄果实采后贮藏特性和风味特性的改良。未来的研究还应着眼于挖掘更多的与番茄果实角质层发育相关的基因或转录因子,同时研究这些转录因子之间的联系,以便形成明确的调控途径及调控网络;在此基础上探索角质层与果实采后生物学的关系。

References

- Adato A, Mandel T, Mintz-Oron S, Venger I, Levy D, Yativ M, Domínguez E, Wang Z H, de Vos R, Jetter R, Schreiber L, Heredia A, Rogachev I, Aharoni A. 2009. Fruit-surface flavonoid accumulation in tomato is controlled by a SIMYB12-regulated transcriptional network. *PLoS Genetics*, 5 (12): 823 - 851.
- Ambawat S, Sharma P, Yadav N R, Yadav R C. 2013. MYB transcription factor genes as regulators for plant responses: an overview. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 19 (3): 307 - 321.
- Baker E A, Bukovac M J, Hunt G M. 1982. Composition of tomato fruit cuticle as related to fruit growth and development// Cutler D F, Alvin K L, Price C E. *The Plant Cuticle*. London: Academic Press.
- Ballester A R, Molthoff J, Vos R, Hekkert B L, Orzaez D, Josefina-Patricia Fernández-Moreno, Tripodi P, Grandillo S, Martin C, Heldens J, Ykema M, Granell A, Bovy A. 2010. Biochemical and molecular analysis of pink tomatoes: deregulated expression of the gene encoding transcription factor SIMYB12 leads to pink tomato fruit color. *Plant Physiology*, 152 (1): 71 - 84.
- Bargel H, Neinhuis C. 2005. Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruit growth and ripening as related to the biomechanical properties of fruit skin and isolated cuticle. *Journal of Experimental Botany*, 56 (413): 1049 - 1060.
- Bemer M, Karlova R, Ballester A R, Tikunov Y M, Bovy A G, Wolters-Arts M, Rossetto P B, Angenent G C, Maagd R A. 2012. The tomato FRUITFULL homologs TDR4/FUL1 and MBP7/FUL2 regulate ethylene-independent aspects of fruit ripening. *The Plant Cell*, 24 (11): 4437 - 4451.
- Charles M T, Mercier J, Makhoul J, Arul J. 2008. Physiological basis of UV-C-induced resistance to *Botrytis cinerea* in tomato fruit: I. Role of pre-

- and post-challenge accumulation of the phytoalexin rishitin. *Postharvest Biology and Technology*, 47 (11): 10 – 20.
- Domínguez E, Cuartero J, Heredia A. 2011. An overview of plant cuticle biomechanics. *Plant Science*, 181 (2): 77 – 84.
- Dubos C, Stracke R, Grotewold E, Weissshaar B, Martin C, Lepiniec L. 2010. MYB transcription factors in *Arabidopsis*. *Trends in Plant Science*, 15 (10): 573 – 581.
- España L, Heredia-Guerrero J A, Reina-Pinto J J, Fernández-Muñoz R, Heredia A, Domínguez E. 2014a. Transient silencing of CHALCONE SYNTHASE during fruit ripening modifies tomato epidermal cells and cuticle properties. *Plant Physiology*, 166 (3): 1371 – 1386.
- España L, Heredia-Guerrero J A, Segado P, Benítez J J, Heredia A, Domínguez E. 2014b. Biomechanical properties of the tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit cuticle during development are modulated by changes in the relative amounts of its components. *New Phytologist*, 202 (3): 790 – 802.
- Giménez E, Eva Domínguez E, Pineda B, Heredia A, Moreno V, Lozano R, Angosto T. 2015. Transcriptional activity of the MADS Box *ARLEQUIN/TOMATO AGAMOUS-LIKE1* gene is required for cuticle development of tomato fruit. *Plant Physiology*, 168 (3): 1036 – 1048.
- Girard A L, Mounet F, Lemaire-Chamley M, Gaillard C, Elmorjani K, Vivancos J, Runavot J L, Quemener B, Petit J, Germain V, Rothan C, Marion D, Bakan B. 2012. Tomato GDSSL1 is required for cutin deposition in the fruit cuticle. *The Plant Cell*, 24 (7): 3119 – 3134.
- Guzman P, Fernandez V, Graca J, Cabral V, Kayali N, Khayet M, Gil L. 2014. Chemical and structural analysis of *Eucalyptus globulus* and *E. camaldulensis* leaf cuticles: a lipidized cell wall region. *Frontiers in Plant Science*, 5: 481.
- Hovav R., Chehanovsky N, Moy M, Jetter R, Schaffer A A. 2007. The identification of a gene (*Cwp1*) silenced during *Solanum* evolution, which causes cuticle microfissuring and dehydration when expressed in tomato fruit. *The Plant Journal*, 52 (4): 627 – 639.
- Isaacson T, Kosma D K, Matas A J, Buda G J, He Y, Yu B, Pravitasari A, Batteas J D, Stark R E, Jenks M A, Rose K C. 2009. Cutin deficiency in the tomato fruit cuticle consistently affects resistance to microbial infection and biomechanical properties, but not transpirational water loss. *The Plant Journal*, 60 (2): 363 – 377.
- Isabel L, Burcu B, Luis F Goulao. 2015. A focus on the biosynthesis and composition of cuticle in fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63 (16): 4005 – 4019.
- Ji Qing-xun, Liu De-chun, Liu Yong. 2012. Advances of plant cuticular wax biosynthesis and export pathway. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 28 (3): 225 – 232. (in Chinese)
- 吉庆勋, 刘德春, 刘 勇. 2012. 植物表皮蜡质合成和运输途径研究进展. *中国农学通报*, 28 (3): 225 – 232.
- Kolattukudy P E. 1980. Cutin, suberin, and waxes in the biochemistry of plants. New York: Academic Press: 571 – 645.
- Kosma D K, Parsons E P, Isaacson T, Lü S, Rose J K C, Jenks M A. 2010. Fruit cuticle lipid composition during development in tomato ripening mutants. *Physiologia Plantarum*, 139 (1): 107 – 117.
- Krauss P, Markstädter C, Riederer M. 1997. Attenuation of UV radiation by plant cuticles from woody species. *Plant Cell and Environment*, 20 (8): 1079 – 1085.
- Lee D R. 1989. Vasculture of the abscission zone of tomato fruit: implications for transport. *Canadian Journal of Botany*, 67: 1898 – 1902.
- Leide J, Hildebrandt U, Reussing K, Riederer M, Vogt G. 2007. The developmental pattern of tomato fruit wax accumulation and its impact on cuticular transpiration barrier properties: effects of a deficiency in a β -ketoacylcoenzyme A synthase (LeCER6). *Plant Physiology*, 144 (3): 1667 – 1679.
- Lopez-Casado G, Matas A J, Domínguez E, Cuartero J, Heredia A. 2007. Biomechanics of isolated tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit cuticles: the role of the cutin matrix and polysaccharides. *Journal of Experimental Botany*, 58 (14): 3875 – 3883.
- Luo Zhi-dan. 2014. Functional analysis of fruit color and texture regulated genes *SISGR1* and *nsLTP* in tomato [Ph. D. Dissertation]. Wuhan: Huazhong Agricultural University. (in Chinese)
- 罗志丹. 2014. 番茄果实颜色与质地调控基因 *SISGR1* 和 *nsLTP* 的功能鉴定 [博士论文]. 武汉: 华中农业大学.
- Mahjoub A, Hernould M, Joubès J, Decendit A, Mars M, Barrieu F, Hamdi S, Delrot S. 2009. Overexpression of a grapevine R2R3-MYB factor in tomato affects vegetative development, flower morphology and flavonoid and terpenoid metabolism. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47: 551 – 561.
- Matas A J, Cobb E D, Bartsch J A, Paolillo D J, Niklas K J. 2004. Biomechanics and anatomy of *Lycopersicon esculentum* fruit peels and

- enzyme-treated samples. *American Journal of Botany*, 91 (3): 352 – 360.
- Nadakuduti S S, Pollard M, Kosma D K, Allen C, Ohlrogge J B, Barry C S. 2012. Pleiotropic phenotypes of the sticky peel mutant provide new insight into the role of CUTIN DEFICIENT2 in epidermal cell function in tomato. *Plant Physiology*, 159 (3): 945 – 960.
- Nawrath C, Poirier Y. 2008. Pathways for the synthesis of polyesters in plants: cutin, suberin, and polyhydroxyalkanoates// Bohnert H J, Nguyen H, Lewis N G. *Advances in plant biochemistry and molecular biology I. Bioengineering and molecular biology of plant pathways*. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier.
- Peschel S, Franke R, Schreiber L, Knoche M. 2007. Composition of the cuticle of developing sweet cherry fruit. *Phytochemistry*, 68: 1017 – 1025.
- Petit J, Bres C, Just D, Garcia V, Mauxion J P, Marion D, Bakan B, Joubès J, Domergue F, Rothan C. 2014. Analyses of tomato fruit brightness mutants uncover both cutin-deficient and cutin-abundant mutants and a new hypomorphic allele of GDSL lipase. *Plant Physiology*, 164 (2): 888 – 906.
- Pollard M, Beisson F, Li Y, Ohlrogge J B. 2008. Building lipid barriers: biosynthesis of cutin and suberin. *Trends in Plant Science*, 13 (5): 236 – 246.
- Post-Beittenmiller D. 1996. Biochemistry and molecular biology of wax production in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 47: 405 – 430.
- Saladie M, Matas A J, Isaacson T, Jenks M A, Goodwin S M, Niklas K J, Xiaolin R, Labavitch J M, Shackel K A, Fernie A R, Lytovchenko A, O'Neill M A, Watkins C B, Rose K C. 2007. A reevaluation of the key factors that influence tomato fruit softening and integrity. *Plant Physiology*, 144 (2): 1012 – 1028.
- Schreiber L, Riederer M. 1996. Ecophysiology of cuticular transpiration: comparative investigation of cuticular water permeability of plant species from different habitats. *Oecologia (Berlin)*, 107 (4): 426 – 432.
- Shi J X, Adato A, Alkan N, He Y, Lashbrooke J, Matas A J, Meir S, Malitsky S, Isaacson T, Prusky D, Leshkowitz D, Schreiber L, Granell A R, Widemann E, Grausem B, Pinot F, Rose J K C, Rogachev I, Rothan C, Aharoni A. 2013. The tomato SISHINE3 transcription factor regulates fruit cuticle formation and epidermal patterning. *New Phytologist*, 197 (2): 468 – 480.
- Stark R E, Tian S. 2006. The cutin biopolymer matrix// Riederer M, Muller C. *Biology of the plant cuticle*. Oxford, UK: Blackwell Publishing.
- Tsubaki S, Ozaki Y, Yonemori K, Azuma J. 2012. Mechanical properties of fruit-cuticular membranes isolated from 27 cultivars of *Diospyros kaki* Thunb. *Food Chemistry*, 132 (4): 2135 – 2139.
- Vogg G, Fischer S, Leide J, Emmanuel E, Jetter R, Levy A A, Riederer M. 2004. Tomato fruit cuticular waxes and their effects on transpiration barrier properties: functional characterization of a mutant deficient in a very-long-chain fatty acid β -ketoacyl-CoA synthase. *Journal of Experimental Botany*, 55 (401): 1401 – 1410.
- Wang S F, Lu G, Hou Z, Luo Z D, Wang T T, Li H X, Zhang J H, Ye Z B. 2014. Members of the tomato FRUITFULL MADS-box family regulate style abscission and fruit ripening. *Journal of Experimental Botany*, 65 (12): 3005 – 3014.
- Yeats T H, Buda G J, Wang Z, Chehanovsky N, Moyle L C, Jetter R, Schaffer A A, Rose J K C. 2012. The fruit cuticles of wild tomato species exhibit architectural and chemical diversity, providing a new model for studying the evolution of cuticle function. *The Plant Journal*, 69 (4): 655 – 666.
- Yeats T H, Howe K J, Matas A J, Buda G J, Thannhauser T W, Jocelyn K C, Rose J K. 2010. Mining the surface proteome of tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit for proteins associated with cuticle biogenesis. *Journal of Experimental Botany*, 61 (13): 3759 – 3771.