

磷脂酶 D 在果实发育和成熟过程中的作用

袁海英^{1,2} 陈力耕^{1*} 何新华¹ 李素芳³

(¹浙江大学农业与生物技术学院园艺系, 杭州 310029; ²新疆农业大学园艺系, 乌鲁木齐 830052; ³中国计量学院生命科学学院, 杭州 310018)

摘要:结合作者的研究工作着重综述了磷脂酶 D 催化的磷脂代谢途径与特性、磷脂酶 D 与果实发育和成熟的关系、磷脂酶 D 参与的衰老相关的生理生化进程和磷脂酶 D 基因、蛋白质结构及其表达模式, 并探讨了磷脂酶 D 在果实发育和成熟进程中的可能作用机理。

关键词:磷脂酶; 果实; 发育; 成熟; 综述

中图分类号: S 66; Q 946.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2005) 05-0933-06

The Potential Role of Phospholipase D in Fruit Development and Ripening Process

Yuan Haiying^{1, 2}, Chen Ligeng^{1*}, He Xinhua¹, and Li Sufang³

(¹Department of Horticulture, College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China;

²Department of Horticulture, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052; ³College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018)

Abstract: Phospholipase D (PLD) is the most prevalent enzyme in plant tissues that hydrolyzes phospholipids. PLD plays important roles in cellular activities concerning from membrane biogenesis and degradation to signal transduction. Based on the authors' work, this review focuses on PLD-catalyzed pathway of phospholipids in plants, the relationship between PLD and fruit development, senescence-related physiological and biochemical processes by PLD, and gene cloning, expression patterns and protein structure of PLD. The role of PLD in fruit development and ripening was also discussed.

Key words: Phospholipase D (PLD); Fruit; Development; Ripening; Review

磷脂酶是水解磷脂的一类酶, 根据其水解位点的不同, 可分为磷脂酶 A₁、磷脂酶 A₂、磷脂酶 B、磷脂酶 C 和磷脂酶 D^[1]。磷脂酶 D (PLD; EC3.1.4.4) 在植物组织中普遍存在, 它催化水解磷脂末端的磷酸二酯键形成磷脂酸和亲水性的胆碱等^[1]。磷脂是生物膜的主要骨架部分。膜脂不仅是细胞膜结构部分区域化中的一个疏水屏障, 而且在细胞生命活动中起着重要作用^[2, 3], 在高等植物中, 这些功能包括膜蛋白的定位^[4]、作为脂肪酸转化中的底物^[5]及激活一些酶类^[6]等。而几乎所有这些功能的实现都离不开磷脂酶的水解作用。尽管早在 20 世纪 40 年代就从胡萝卜和菠菜叶提取物中发现了具有活性的磷脂酶 D^[7], 但对它在植物体内的生理功能却知之甚少。近年来的研究表明, 在植物种子萌发、器官衰老及逆境胁迫时都存在磷脂酶 D 催化磷脂的水解作用^[8~10]。本文结合作者的研究工作, 通过对磷脂酶 D 与一些果实发育成熟因子关系的论述, 探讨了磷脂酶 D 对果实发育调控的可能机制, 为进一步针对果实采后衰老提出可能的调控方法提供参考。

1 磷脂酶 D 催化的磷脂代谢途径及磷脂酶 D 特性

高等植物中由磷脂酶 D 起始的磷脂代谢途径如下: 磷脂酶 D 分解磷脂形成磷脂酸; 磷脂酸不稳

收稿日期: 2005-04-18; 修回日期: 2005-09-08

基金项目: 国家留学基金资助项目; 加拿大自然科学基金资助项目

*通讯作者 Author for correspondence (E-mail: lgchen@zju.edu.cn)

致谢: 本研究于加拿大圭尔夫大学植物农学系 Gopinadhan Paliyath 博士实验室完成, 得到 Paliyath 博士的指导及实验室其他人员的帮助, 在此一并致谢!

定可直接进入磷脂再生循环,参与膜的构建^[11];磷脂酸在磷脂酸磷酸酯酶作用下形成二酰基甘油,二酰基甘油作为第2信使而参与到细胞内的信号传导过程^[3];此外二酰基甘油在非特异性酯酰基水解酶作用下也可释放出游离的脂肪酸,其中不饱和游离脂肪酸又可被脂氧合酶氧化,生成过氧化物和游离自由基,从而毒害细胞膜系统^[11,12]。在植物生长发育的不同阶段,磷脂酶D所起的作用不同。当磷脂代谢以最终生成过氧化物和游离自由基为主时,这些产物会导致细胞膜完整性及功能的丧失,引起细胞死亡并最终致使植物器官组织的衰老。利用放射性标记的磷脂侵入膜内,在不同时间间隔检测其代谢产物,进一步验证了磷脂酶D催化起始磷脂的降解^[13]。一些相关的研究也为这些途径提供了证据,如非特异性酯酰基水解酶常以二酰基甘油为底物^[14];脂氧合酶则专一催化游离不饱和脂肪酸^[15]等。

磷脂酶D可以多种磷脂为底物,但不同种类的磷脂酶D在水解不同的磷脂时表现出不同的活性。目前已知的5种磷脂酶D对底物、 Ca^{2+} 浓度及4,5-二磷酸磷脂酰肌醇的需求各有不同^[16],其中磷脂酶D在离体条件下当 Ca^{2+} 浓度为毫摩尔级时,其催化活性最高,这在柑橘、大豆中已得到验证^[17,18]。磷脂酶D和磷脂酶D当 Ca^{2+} 浓度在微摩尔级时具有活性,且其活性依赖于4,5-二磷酸磷脂酰肌醇;磷脂酶D活性受油酸调控,其他不饱和脂肪酸对其活性影响不大^[19];磷脂酶D只能以磷脂酰胆碱为底物,其活性也依赖于4,5-二磷酸磷脂酰肌醇但不需要 Ca^{2+} ^[16]。 Ca^{2+} 作为细胞内信使分子调节着一系列的细胞生理进程,并且在细胞内的分布区域和水平上进行短暂调整,从而在细胞信号传导过程中起主要作用,产生不同的生理反应^[20];磷脂酰肌醇类作为另一类细胞信号分子,在植物细胞蛋白与膜的联系、相关酶的活性调节中起主要作用^[3];不同磷脂酶D的活化需要不同的 Ca^{2+} 浓度及4,5-二磷酸磷脂酰肌醇等条件,由此产生不同的代谢趋势,使磷脂酶D在器官衰老、环境胁迫、激素处理等多种条件下的生理过程中发挥作用^[10,21]。

在正常情况下植物细胞质中自由 Ca^{2+} 浓度大约为0.1 mmol/L,而在液泡、内质网中却储存了大量的 Ca^{2+} ,液泡中的 Ca^{2+} 浓度可高达0.1 mol/L^[22]。当受到一些环境刺激,如激素处理、冷热胁迫、渗透胁迫、干旱、损伤等时,其中的 Ca^{2+} 就会外泄引起细胞质中 Ca^{2+} 浓度的改变^[20]。 Ca^{2+} 浓度的提高相应地会引起细胞质和质膜中磷脂酶D相对分布水平的改变,这种细胞内的重新定位被认为是磷脂酶D活性的重要调控方式^[23,24]。

2 磷脂酶D与果实发育和成熟的关系

有关磷脂酶D与果实发育和成熟的研究报道多集中于1年生作物番茄果实上。有报道,在番茄果实果皮组织微粒体膜中检测到了磷脂酶D的活性^[25];在番茄果实成熟过程中,果皮组织中总磷脂含量下降了20%~25%,而磷脂酸含量则增加了近两倍;伴随着这些变化,质膜的流动性也随之降低^[26];用磷脂酶D的特异性抑制剂溶血磷脂酰乙醇胺处理番茄嫩叶及果实均延迟了它们的衰老进程^[27]。

此外,在番茄果实成熟衰老进程中磷脂酶D的活性变化与果实呼吸跃变中乙烯的变化过程相似,由此推断反义抑制磷脂酶D的活性可以保持果实采后品质及延长货架期^[28]。Jandus等研究发现,磷脂酶D参与了膜磷脂的降解,引起膜完整性的丧失,最终导致果实的成熟衰老。同时他们也认为除磷脂酶D外,还存在其他因子或其他磷脂酶类共同参与调节果实的自然衰老进程^[29]。Pinheiro等也发现在转入反义磷脂酶D基因的樱桃番茄植株中,果实发育期间的磷脂酶D表达水平及活性均有降低,转基因果实的衰老进程延迟,证实尽管在不同品种中存在差异,但磷脂酶D在促进果实衰老中仍起直接作用^[30]。

作者在对草莓果实发育成熟过程中的磷脂酶D的研究中发现,Aromas品种线粒体膜磷脂酶D的活性变化在果实绿果期、绿果膨大期、白果期,转色期及成熟期变化不大,而微粒体膜(包括质膜,内质网膜等)磷脂酶D的活性则随果实发育活性不断增强,至白果期达到活性最高峰,之后又有所

下降。对草莓果实磷脂酶 D生化特性的深入研究后认为磷脂酶 D也参与调节草莓果实的发育成熟^[31]。尽管在与衰老相关的膜完整性丧失过程中存在膜脂肪酸的过氧化及自由基伤害^[32],但不容置疑的是在与果实成熟衰老相关的细胞内变化中,磷脂酶 D依然起着关键作用,一旦衰老启动则高的磷脂酶 D活性会直接促进细胞膜磷脂的降解,有效地控制磷脂酶 D在果实发育中后期的变化,将会有助于降低果实的衰败速率,延长果实的贮藏寿命。

3 磷脂酶 D参与的与衰老相关的生理生化进程

3.1 磷脂酶 D与膜的衰老

有研究表明,在植物衰老及受胁迫伤害时磷脂酶 D活性增加是细胞膜受损的第一步^[11]。在对康乃馨^[33]、花椰菜^[34]及番茄^[35]的研究中都观察到了磷脂酶 D活性的增强和磷脂酸的形成。在这些植物中,膜的降解起始于磷脂酶 D,磷脂酶 D催化分解磷脂形成磷脂酸;磷脂含量的大幅降低,甾醇类与磷脂类相对比例升高降低了双层膜的流动性;膜流动性的降低及不饱和脂肪酸含量的降低使得离子的泄漏量增加,并最终导致细胞内区域化的丧失及细胞膜的衰老。对豇豆叶磷脂类酶降解产物的分析表明在由于干旱诱导的膜磷脂降解途径中,磷脂酶 D也起主要作用^[5]。

3.2 乙烯信号传导途径中的磷脂酶 D

研究发现磷脂酶 D参与了乙烯的信号传导途径;用乙烯处理拟南芥叶片后磷脂酶 D基因表达水平、蛋白含量以及酶活性都升高;反义抑制磷脂酶 D基因表达后拟南芥叶片由乙烯促使的衰老速率得以降低^[36]。

经乙烯处理后的西瓜果实,其磷脂酶 D mRNA水平及酶活性提高,衰老进程加速;而经乙烯作用抑制剂 1-MCP处理后磷脂酶 D活性降低,衰老进程明显延迟^[37,38]。此外,培养中的胡萝卜细胞通过氧化和乙醛酸循环分解利用细胞内的磷脂以适应葡萄糖的缺乏。其中氧化的底物游离脂肪酸是由磷脂酶 D参与的脂解途径及其后的酰基水解酶形成的;而乙烯调控着磷脂酶 D酰基水解酶途径^[39]。因此在胡萝卜细胞培养早期葡萄糖饥饿条件下,磷脂酶 D也参与了乙烯信号的传导。在番茄果实发育和成熟过程中磷脂酶 D与果实乙烯的生成量密切相关,磷脂酶 D受抑制转基因番茄果实的乙烯生成高峰明显延迟,果实的衰老进程也随之延迟^[30];乙烯通过与受体的结合引起细胞质 Ca^{2+} 水平的升高,活化磷脂酶 D;磷脂酶 D位于乙烯信号传导途径的下游,磷脂酶 D的活化加速了细胞膜的降解和衰老进程,从而促进果实的衰老。

3.3 脱落酸信号传导途径中的磷脂酶 D

用脱落酸对蓖麻叶处理后发现,与对照相比处理叶磷脂酶 D活性升高,磷脂酶 D与微粒体膜间的联系增强,并且磷脂酶 D mRNA的水平也有所增高^[8]。用 $50\text{ }\mu\text{mol/L}$ 的脱落酸处理拟南芥离体叶,1 d后叶片开始变黄,至第3天几乎完全变黄;用相同浓度脱落酸处理磷脂酶 D缺陷型拟南芥的离体叶,需近10 d叶片才会完全变黄;通过检测离子渗漏率、叶绿素和磷脂含量及光合能力等也证明磷脂酶 D缺陷型拟南芥叶片的衰老得到延迟;这些结果表明磷脂酶 D是脱落酸作用过程中的一个重要因素^[36]。

在对扁豆保卫细胞原生质体研究中发现,磷脂酶 D抑制剂正丁醇处理后脱落酸诱导的生理反应受抑制;进一步的研究证实磷脂酶 D参与了脱落酸的信号传导途径^[40]。此外 Mcanish等^[41]也发现脱落酸处理可引起细胞内 Ca^{2+} 浓度升高,而磷脂酶 D活性受高 Ca^{2+} 浓度调控,因此由脱落酸引发的 Ca^{2+} 流也能激活磷脂酶 D。近年来的研究表明在果实的成熟衰老过程中,脱落酸起着非常重要的促进作用^[42];在多种植物中,脱落酸对磷脂酶 D的诱导调控作用表明脱落酸是信号传导途径中的上游信号,它激活磷脂酶 D调控下游一些参与能量代谢和转换的蛋白,诱发成熟衰老进程的启动。

4 磷脂酶 D基因、蛋白结构及其表达

自1994年 Wang等从蓖麻中获得了纯化的磷脂酶 D并测得其 N端的氨基酸序列,获得磷脂酶 D

的第 1 个 cDNA 全长克隆后^[43], 至今已在拟南芥^[16, 44~46]、水稻、玉米^[47, 48]、番茄^[28, 30]、草莓^[31]、甘蓝^[49]、烟草^[50]、花生^[51]等多种植物中都获得了磷脂酶 D 的 cDNA。磷脂酶 D 基因是一个多基因家族, 从拟南芥中已分离获得了 5 种不同的磷脂酶 D cDNA。通过序列分析及生化特性分析证实从蓖麻、甘蓝、烟草、水稻、玉米及番茄中获得的磷脂酶 D 都属于磷脂酶 D 家族^[52], 其氨基酸序列的一致性可达 73%~90%; 其中两个单子叶植物水稻、玉米磷脂酶 D 蛋白可达 90% 的一致性, 并均由 812 个氨基酸组成^[47]。草莓磷脂酶 D 与其他植物磷脂酶 D 也表现出较高的一致性, 分别达到与拟南芥的 74% 到蓖麻的 84%^[31]; 而拟南芥磷脂酶 D₁、D₂ 和 D₃ 则属于不同的亚族^[16]。

对目前所获得的植物磷脂酶 D 蛋白进行氨基酸序列分析和比对后发现, 在目前已知的磷脂酶 D 序列中存在着一些共有的序列组织结构。这些共有的结构域可明显归结为两大类: 一类为绝大多数磷脂酶 D 类包括拟南芥磷脂酶 D₁、D₂ 和 D₃、草莓磷脂酶 D 及其他植物磷脂酶 D 所共有的结构, 包括典型的磷脂酶 D 家族活性结构域 (HKD 结构域), 与 Ca^{2+} 调控密切相关的 C2 结构域, 与磷脂酰肌醇类调节有关的 PIP_2 结构域和潜在的与磷脂结合有关的 'IYIENQFF' 结构; 而另一类则为拟南芥磷脂酶 D₄ 及哺乳动物磷脂酶 D 所共有的结构, 没有 C2 结构域, 却多了 PX 和 PH 结构域。相关研究表明磷脂酶 D 蛋白结构上的这些共性及差异与相应磷脂酶 D 蛋白的功能及调控密切相关。

将结合有 - 葡糖苷酸酶报告基因的蓖麻磷脂酶 D 基因启动子转入烟草, 在转基因植株快速生长的营养组织及柱头、子房和花粉粒中磷脂酶 D 启动子都有高的表达活性; 而在花瓣、萼片、花柱、花丝及花药表皮中则相对较低^[53]。以编码番茄磷脂酶 D 的 *LEPLD₂* 基因 3' 非编码区的 305 个核苷酸片段为探针, 与番茄果实组织总 RNA 进行杂交发现, 在整个果实发育和成熟阶段都存在 *LEPLD₂* 的转录活性, 并且花后 10 d 活性较低, 随后表现稳步上升, 当果皮发育至粉红色时其转录活性达到最高峰; 之后保持稳中略降^[28]。在转入反义磷脂酶 D 基因的樱桃番茄植株中, 果实发育期间的磷脂酶 D 表达水平及活性均有降低, 果实的衰老进程相应得以延迟, 证实了磷脂酶 D 在促进果实衰老中所起的直接作用^[30]。

5 小结

磷脂酶 D 调节果实衰老的可能机理有: 分解磷脂, 加剧细胞膜的降解和衰老; 下游产物游离脂肪酸中的不饱和脂肪酸发生过氧化, 过氧化产物和此过程产生的游离自由基进一步毒害细胞膜系统; 下游产物激活其它一些与果实成熟衰老相关酶、如脂氧合酶等, 共同作用加速果实的成熟衰老; 参与乙烯、脱落酸等衰老因子的信号传导, 促进果实的成熟衰老。

参考文献:

- 1 Wang XM. Plant phospholipases Annu. Rev. Plant Physiol Plant Mol Biol, 2001, 52: 211~231
- 2 Zvejtick D, Athesstaedt K, Daum G. Intracellular lipid particles of eukaryotic cells Biochim. Biophys. Acta, 2000, 1469: 101~120
- 3 Meijer H J, Munnik T. Phospholipid-based signaling in plants, Annu. Rev. Plant Biol, 2003, 54: 265~306
- 4 Cruz De Carvalho M H, Laffray D, Louquet P. Comparison of the physiological responses of *Phaseolus* and *Vigna* cultivars when submitted to drought conditions Environ. Exp. Bot., 1998, 40: 197~207
- 5 ElMaarouf H, Zuily-Fodil Y, Gareil M, Lameta A D, Phan-Thi A T. Enzymatic activity and gene expression under water stress of phospholipase D in two cultivars of *Vigna unguiculata* L. Walp. differing in drought tolerance Plant Mol Biol, 1999, 39: 1257~1265
- 6 Scherer G F. The functional relationship of plant lipid-derived second messengers and plant lipid-activated protein kinase Biochim. Soc. Trans., 1995, 23: 871~875
- 7 Hanahan D J, Chaikoff I L. The phosphorus containing lipids of the carrot J. Biol. Chem., 1947, 168: 233~240
- 8 Ryu S B, Wang X M. Expression of phospholipase D during castor bean leaf senescence Plant Physiol, 1995, 108: 713~719
- 9 Frank W, Munnik T, Kerkmann K, Salamini F, Bartels D. Water deficit triggers phospholipase D activity in the resurrection plant *Croton tiglium* a *plantagineum*. Plant Cell, 2000, 12: 111~124
- 10 Wang X M. Multiple forms of phospholipase D in plants: the gene family, catalytic and regulatory properties, and cellular functions Prog. Lipid Res., 2000, 39: 109~149
- 11 Paliyath G, Drouillard M J. The mechanism of membrane deterioration and disassembly during senescence Plant Biochem. Physiol., 1992,

- 30: 789 ~ 812
- 12 Thompson J E. The molecular basis for membrane deterioration during senescence. In: Nooden L D, Leopold A C, ed. Senescence and aging in plants. San Diego: Academic Press, 1988. 51 ~ 83
 - 13 Duxbury C L, Legge R L, Paliyath G, Barber R F, Thompson J E. Alterations in membrane protein conformation in response to senescence-related changes in membrane fluidity and sterol concentration. *Phytochemistry*, 1991, 30: 63 ~ 68
 - 14 Galliard T. Degradation of acyl lipids: hydrolytic and oxidative enzymes. In: Stumpf P K, Conn E E, ed. The biochemistry of plants. New York: Academic Press, 1980. 86 ~ 116
 - 15 Todd J F, Paliyath G, Thompson J E. Characteristics of a membrane-associated lipoxygenase in tomato fruits. *Plant Physiol*, 1990, 94: 1225 ~ 1232
 - 16 Qin C B, Wang X M. The Arabidopsis phospholipase D family: characterization of a Ca^{2+} -independent and phosphatidylcholine-selective PLD 1 with distinct regulatory domains. *Plant Physiol*, 2002, 128: 1057 ~ 1068
 - 17 Witt W, Yelenosky G, Mayer T R. Purification of phospholipase D from citrus callus tissue. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1987, 259: 164 ~ 170
 - 18 Abou-salham A, Teissere M, Gardies A M, Verger R, Noat G. Phospholipase D from soybean (*Glycine max* L.) suspension cultured cells: purification, structural and enzymatic property. *Plant Cell Physiol*, 1995, 36 (6): 989 ~ 996
 - 19 Katagiri T, Takahashi S, Shinozaki K. Involvement of a novel Arabidopsis phospholipase D, AtPLD, in dehydration-inducible accumulation of phosphatidic acid in stress signaling. *Plant J.*, 2001, 26: 595 ~ 605
 - 20 Berridge M J, Bootman M D, Lipp P. Calcium - a life and death signal. *Nature*, 1998, 395: 645 ~ 648
 - 21 Wang X M. Phospholipase D in hormonal and stress signaling. *Current Opinion in Plant Biology*, 2002, 5: 408 ~ 414
 - 22 Trewavas A J, Malho R. Signal perception and transduction: the origin of the phenotype. *Plant Cell*, 1997, 9: 1181 ~ 1195
 - 23 Pappan K, Wang X M. Molecular and biochemical properties and physiological roles of plant phospholipase D. *Biochim. Biophys. Acta*, 1999, 1439: 151 ~ 166
 - 24 Wang C X, Zien C A, Afithile M, Welti R, Hilderbrand D F, Wang X M. Involvement of phospholipase D in wound induced accumulation of jasmonic acid in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2000, 12: 2237 ~ 2246
 - 25 Todd J F, Paliyath G, Thompson J E. Effect of chilling on the activities of lipid degrading enzymes in tomato fruit microsomal membranes. *Plant Physiol. Biochem.*, 1992, 30: 517 ~ 522
 - 26 Whitaker B D. Lipid changes in mature-green tomato fruit during ripening, during chilling and after rewarming subsequent to chilling. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 1994, 119: 994 ~ 999
 - 27 Farag K M, Palta J P. Use of lysophosphatidyl-ethanolamine, a natural lipid, to retard tomato leaf and fruit senescence. *Physiol. Planta*, 1993, 87: 515 ~ 521
 - 28 Whitaker B D, Smith D L, Green K C. Cloning, characterization and functional expression of a phospholipase D cDNA from tomato fruit. *Physiol. Planta*, 2001, 112: 87 ~ 94
 - 29 Jandus J. Phospholipase D during tomato fruit ripening. *Plant Physiol. Biochem.*, 1997, 35: 123 ~ 128
 - 30 Pinheiro R G, Almquist K C, Novotna Z, Paliyath G. Developmental regulation of phospholipase D in tomato fruits. *Plant Physiol. Biochem.*, 2003, 41: 223 ~ 240
 - 31 Yuan H Y, Chen L G, Paliyath G, Sullivan A, Murr D P. Characterization of microsomal and mitochondrial phospholipase D activities and cloning of a phospholipase D alpha cDNA from strawberry fruits. *Plant Physiol. Biochem.*, 2005, 43: 535 ~ 547
 - 32 Vick B A. Oxygenated fatty acids of the lipoxygenase pathway. In: Moore T S, ed. Lipid metabolism in plants. London: CRC Press, 1993. 167 ~ 194
 - 33 Paliyath G, Lynch D V, Thompson J E. Regulation of membrane phospholipids catabolism in senescing carnation flowers. *Physiol. Planta*, 1987, 71: 503 ~ 511
 - 34 Deschene A, Paliyath G, Loughheed E C, Dumbroff E B, Thompson J E. Membrane deterioration during postharvest senescence of broccoli florets, modulation by temperature and controlled atmosphere storage. *Postharvest Biol. Technol.*, 1991, 1: 19 ~ 31
 - 35 McComac D J, Todd J F, Paliyath G, Thompson J E. Modulation of bilayer fluidity affects lipid catabolism in microsomal membranes of tomato fruits. *Plant Physiol. Biochem.*, 1993, 31: 1 ~ 8
 - 36 Fan L, Zheng S, Wang X M. Antisense suppression of phospholipase D retards abscisic acid- and ethylene-promoted senescence of postharvest *Arabidopsis* leaves. *Plant Cell*, 1997, 9: 2183 ~ 2196
 - 37 Karakurt Y, Huber D J. Ethylene-induced gene expression, enzyme activities and water-soaking in immature and ripe watermelon (*Citullus lanatus*) fruit. *J. Plant Physiol.*, 2004, 161 (4): 381 ~ 388
 - 38 Mao L C, Que F, Huber D J. 1-methylcyclopropane and CaCl_2 treatments affect lipolytic enzymes in fresh cut watermelon fruit. *Acta Botanica Sinica*, 2004, 46: 1402 ~ 1407
 - 39 Lee S H, Chae H S, Lee T K, Kim S H, Shin S H, Cho B H, Cho S H, Kang B G, Lee W S. Ethylene-mediated phospholipase catabolism pathway in glucose-starved carrot suspension cells. *Plant Physiol*, 1998, 116: 223 ~ 229
 - 40 Jacob T, Ritchie S, Asmann S M, Gilroy S. Abscisic acid signal transduction in guard cells is mediated by phospholipase D activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, 96: 12192 ~ 12197
 - 41 Mcanish M R, Brownlee C, Sarsag M. Involvement of second messengers in the action of ABA. In: Davis W J, Jones H G, eds. Abscisic

- acid: physiology and biochemistry. Oxford: Bios Scientific Publishers, 1991. 137 ~ 152
- 42 尹金华, 高飞飞, 胡桂兵, 祝曙华. ABA和乙烯对荔枝果实成熟和着色的调控. 园艺学报, 2001, 28 (1): 65 ~ 67
Yin J H, Gao F F, Hu G B, Zhu S H. Roles of abscisic acid and ethylene in the regulation of litchi ripening and coloration. Acta Horticulturae Sinica, 2001, 28 (1): 65 ~ 67 (in Chinese)
- 43 Wang X M, Xu L, Zheng L. Cloning and expression of phosphatidylcholine-hydrolyzing phospholipase D from *Ricinus communis* L. J. Biol Chem., 1994, 269: 20312 ~ 20317
- 44 Dyer J H, Zheng S, Wang X M. Cloning and nucleotide sequence of a cDNA encoding phospholipase D from *Arabidopsis*. Plant Physiol., 1995, 109: 1497
- 45 Pappan K, Qin W, Dyer J H, Zheng L, Wang X M. Molecular cloning and functional analysis of polyphosphoinositide-dependent phospholipase D PLD from *Arabidopsis*. J. Biol Chem., 1997, 272: 7055 ~ 7061
- 46 Qin W, Pappan K, Wang X M. Molecular heterogeneity of phospholipase D: cloning of PLD and regulation of PLD, $\frac{3}{2}$ and $\frac{3}{1}$ by polyphosphoinositide and calcium. J. Biol Chem., 1997, 272: 28267 ~ 28273
- 47 Ueki J, Morioka S, Komari T, Kumashiro T. Purification and characterization of phospholipase D from rice (*Oryza sativa* L.) and cloning of cDNA for PLD from rice and maize (*Zea mays* L.). Plant Cell Physiol., 1995, 36: 903 ~ 914
- 48 Morioka S, Ueki J, Komari T. Characterization of two distinctive genomic clones for phospholipase D from rice. Plant Physiol., 1997, 114: 396
- 49 Pannenberg I, Mansfeld J, Ulbrich-Hofmann R. Identification of two isoenzymes of phospholipase D from cabbage (*Brassica oleracea* var capitata). Plant Physiol., 1998, 118: 1102
- 50 Lein W, Saalbach G. Cloning and direct G-protein regulation of phospholipase D from tobacco. Biochim. Biophys. Acta, 2001, 1530: 172 ~ 183
- 51 Xu G, Guo B Z, Holbrook C C. Identification and partial sequence of a PLD-like gene encoding for phospholipase D in peanut. J. Peanut Sci., 2001, 30 (4): 1 ~ 10
- 52 Wang X M. Molecular analysis of phospholipase D. Trends Plant Sci., 1997, 2: 261 ~ 266
- 53 Xu L, Zheng S, Zheng L, Wang X M. Promoter analysis and expression of phospholipase D gene from castor bean. Plant Physiol., 1997, 115: 387 ~ 395

欢迎订阅 2006年 《广东农业科学》

《广东农业科学》是由广东省农科院和华南农业大学主办的国内外公开发行的农业综合性技术类期刊。主要报道农业科研和生产的新成果、新技术以及国内外农业科技新动态。栏目有粮食作物、经济作物、园艺园林、土壤肥料、植物保护、蚕桑、特种种养、贮藏加工、畜牧兽医、水产养殖、专论与综述、品种介绍。逢双月 10 日出版, 大 16 开, 98 页。每期定价 6.00 元, 全年 36.00 元, 邮发代号 46-43。可直接向编辑部订阅。汇款地址: 广州市五山广东省农科院情报所《广东农业科学》编辑部。邮编: 510640。联系电话: 020 - 87582498; 87593196; 87546495 (传真)。

欢迎订阅 2006年 《河北果树》

《河北果树》是河北省果树学会主办的果树专业技术期刊, 主要刊登落叶果树的品种资源、栽培管理、病虫害防治、贮藏加工等方面的新成果、新技术、新知识和新信息。开设栏目有: 专题论述、试验研究、经验交流、百花园、工作历、广告与信息。本刊通俗易懂、科学实用、技术先进、内容丰富、信息量大、可读性强、发行面广。本刊国内外公开发行, 双月刊, 单月 15 日出版, 国际标准大 16 开, 64 页, 每期定价 5.00 元, 全年 6 期共 30.00 元。欢迎广大果农和果树科技工作者到当地邮局 (所) 订阅, 邮发代号 18-247。未能及时从邮局订阅的读者, 可全年随时汇款至编辑部直接订阅, 免费邮寄。编辑部尚有 2002、2003、2004 年合订本可邮购。同时欢迎投稿和发布广告。地址: 河北省昌黎果树研究所《河北果树》编辑部。邮编: 066600。联系电话: 0335 - 2987632 (兼传真)。