

番木瓜果实成熟相关基因的 cDNA-AFLP 分析及克隆

申艳红, 陈晓静*, 卢秉国, 何玮毅

(福建农林大学园艺学院, 园艺植物遗传育种研究所, 福州 350002)

摘要: 为了探讨番木瓜果实成熟机理, 利用 cDNA-AFLP 技术对破色期和半黄期的番木瓜果实进行基因差异表达分析, 获得了 50 个与果实成熟相关的差异基因片段, 其中 28 个与 GenBank 数据库中的功能基因同源, 分别参与了果实成熟过程中基因表达调控, DNA 与蛋白质合成及运输, 蛋白质降解, 能量代谢, 营养物质代谢和逆境胁迫反应等过程。在差异片段序列基础上设计特异引物, 采用 cDNA 末端快速扩增 (RACE) 技术成功克隆了 4 条差异基因 cDNA 全长, 分别命名为 *CpGMP*、*CpPAA1*、*CpPOD* 和 *CpMYB*。半定量 RT-PCR 分析结果表明, 随着果实的成熟衰老, 4 个基因的表达量相应变化, 说明其可能参与果实的成熟过程。

关键词: 番木瓜; 果实; 成熟; cDNA-AFLP; 差异表达; RACE

中图分类号: S 667.9; Q 78

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) 06-1081-08

cDNA-AFLP Analysis and Cloning of Fruit Ripening-related Genes from Papaya

SHEN Yan-hong, CHEN Xiao-jing*, LU Bing-guo, and HE Wei-yi

(College of Horticulture, Institute of Genetics & Breeding in Horticultural Plants, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: In order to explore molecular mechanism of fruit ripening and the key softening-related genes, cDNA-AFLP technique was used to identify differentially expressed genes during papaya fruit ripening. Fifty transcript-derived fragments (TDFs) were obtained from the analysis of semi-yellow and color-break stage of papaya fruit. Bioinformatics analysis showed that 28 TDFs were homologous to the known functional genes, which could be divided into different functional groups including gene expression regulation, DNA and protein synthesis and transport, protein degradation, energy metabolism, nutrient metabolism and stress responding. Using specific primers designed from the sequences of TDFs, four differential expression genes were cloned by rapid amplification of cDNA ends (RACE). Semi-quantitative RT-PCR analysis showed that the expression of four genes changed accordingly during fruit ripening, indicating the possible role of these genes in the ripening of papaya.

Key words: *Carica papaya*; fruit; ripening; cDNA-AFLP; differential expression; RACE

收稿日期: 2011-01-25; 修回日期: 2011-05-16

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (2010J05048)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: xjchen804@sina.com)

番木瓜 (*Carica papaya* L.) 属呼吸跃变型果实, 采收后在 18 °C 以上迅速成熟、变黄、软化, 且低于 10 °C 会造成冷害, 因此在运输和储藏中的损失较大 (谢庆昌, 2001)。为了解决果实的快速软化问题, 越来越多的研究转向基因工程调控相关基因表达, 从而培育耐储运新品种。然而, 番木瓜果实成熟软化相关基因分离和克隆的研究较少, 迄今仅从番木瓜中分离了 ACC 合酶基因 (Neupane et al., 1998; Hidalgo et al., 2005)、ACC 氧化酶基因 (Lin et al., 1997)、 β -Gal 基因 (Othman et al., 1998)、PME 基因 (Baldé et al., 2005) 和 PG 基因 (FJ007645) 等。番木瓜果实成熟软化相关基因的研究只是个别基因的克隆。本研究中采用 cDNA-AFLP 技术 (Bachem et al., 1996; Money et al., 1996) 对不同成熟度番木瓜果实进行了分析, 以期获得成熟、衰老相关基因, 为分子育种提供材料, 并为研究成熟、衰老机理提供依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

2008 年 11 月, 在福建漳州市农业科学研究所摘取番木瓜红肉栽培品种 ‘马来 10 号’ 果实, 参照 Miller 和 McDonald (1999) 划分方法, 根据果皮色泽变化划分成熟度。绿色期 (Green stage): 果皮深绿色, 果肉白色, 种子已经变褐; 破色期 (Color-break stage): 果皮浅绿, 果顶开始出现两条黄色条纹, 果肉由靠近果腔部位开始从内向外逐渐变红, 种子变为黑色; 半黄期 (Semi-yellow stage): 果皮从果顶开始, 呈放射状变黄, 约 50% 果皮呈黄色, 果肉橙红色, 果实仍较硬; 全黄期 (Full yellow stage): 大部分果皮已变黄, 果肉呈现均匀橙红色, 果实已经变软。将这 4 个时期的果肉分别切成小块并立即投入液氮中, -80 °C 保存备用。

1.2 试剂

ExTaq、dNTPs、T₄DNA 连接酶、pMD18-T 载体购自 TaKaRa 公司, Taq^α I、Ase I 购自 New England Biolabs 公司; 丙烯酰胺、甲叉丙烯酰胺、TEMED、琼脂糖凝胶回收试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司; RevertAidTM First Strand cDNA Synthesis Kit 购自 Fermentas 公司; Super SMARTTM PCR cDNA Synthesis Kit 购自 BD Biosciences Clontech 公司; 其余为国产分析纯试剂。

1.3 cDNA-AFLP 分析

番木瓜果肉总 RNA 提取采用热硼酸小量法 (申艳红和陈晓静, 2009), 双链 cDNA 合成参照 Super SMARTTM PCR cDNA Synthesis Kit 说明书进行。

参照卢秉国等 (2009) 方法, 将破色期和半黄期果实的 cDNA 各取 200 ng 分别进行 Ase I 和 Taq^α I 双酶切, 与接头连接, 预扩增和选择性扩增后, 聚丙烯酰胺电泳。

用干净刀片将差异条带从聚丙烯酰胺胶上割下, 放到 50 μL TE 高盐溶液中, 94 °C 水浴 30 min, 取 2 μL 作为模板进行 PCR 扩增。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。将目的片段割胶回收, 与 pMD18-T 载体连接, 转化 DH5α 大肠杆菌。将阳性克隆送北京三博远志生物技术有限责任公司测序。用 DNAMAN 软件将测序结果去掉载体和引物序列, 在 NCBI 网站上用 Blastn 或 Blastx 进行同源性分析, 并将获得的 TDFs (Transcript-derived fragments) 登录到 GenBank 数据库。

1.4 RACE 技术克隆差异基因 cDNA 全长

根据 Super SMARTTM PCR cDNA Synthesis Kit 合成双链 cDNA 的特点, 设计 3' RACE 接头引物 TY-DOWN (5'-AGTGGTATCAACGCAGAGTACTTT-3') 和 5' RACE 接头引物 TY-UP (5'-TATCAACG

CAGAGTACGCGG-3'), 分别与在差异片段序列基础上设计的特异引物组成半巢式扩增引物对, 扩增差异基因的 3' 和 5' 端序列。

1.5 番木瓜差异基因不同成熟度果实的表达分析

提取绿色期、破色期、半黄期与全黄期 4 个成熟度番木瓜果实总 RNA, 分别取 1 μg 用 RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit 逆转录为单链 cDNA。以番木瓜 *actin* 基因 (申艳红 等, 2010) 为内参, 参照陈观水等 (2007) 的 PCR 体系进行半定量 RT-PCR 扩增。

2 结果与分析

2.1 番木瓜不同成熟度果实的 cDNA-AFLP 分析

利用 *Ase* I 和 *Taq*^α I 酶切组合的 128 对引物分别对破色期和半黄期的番木瓜果肉进行 cDNA-AFLP 分析, 图 1 为部分选择性扩增产物聚丙烯酰胺凝胶电泳图。两个成熟期果实条带大部分一致, 差异条带较少, 说明两个时期表达的基因大部分相同, 仅有一小部分基因有表达差异。

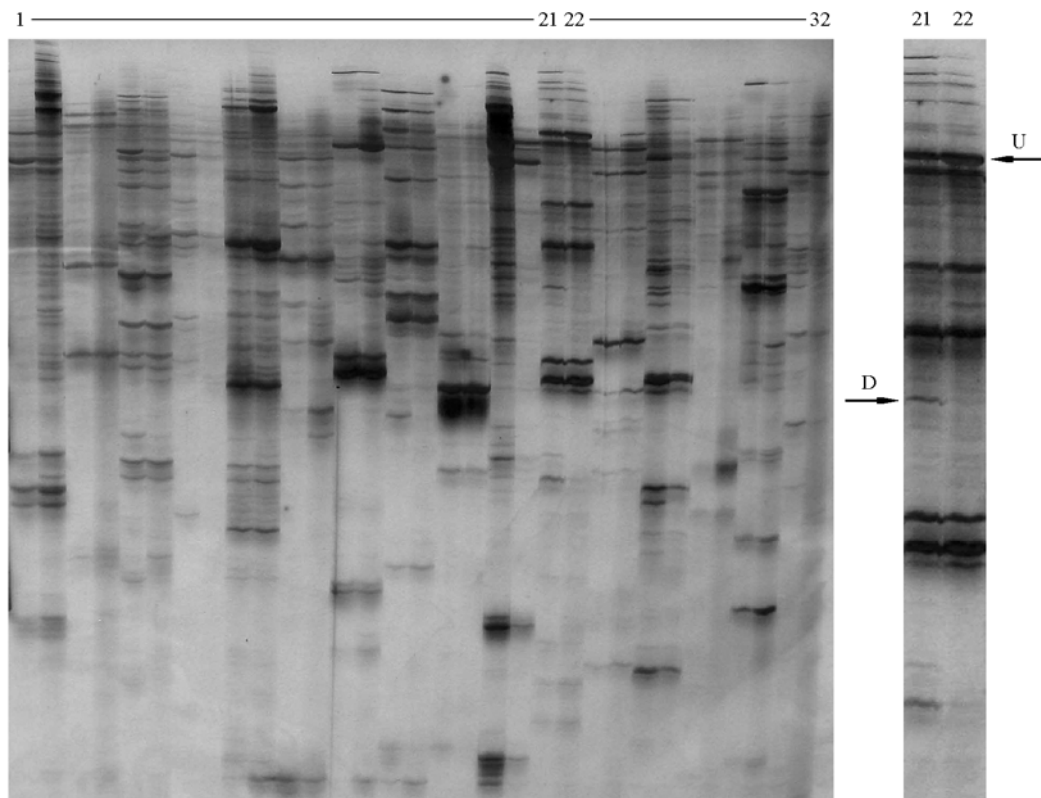


图 1 部分选择性扩增聚丙烯酰胺电泳图

奇数代表破色期; 偶数代表半黄期; D: 下调表达; U: 上调表达。

Fig. 1 Polyacrylamide gel electrophoresis result of part selective amplification

Odd numbers showed Color-break stage; Even numbers showed Semi-yellow stage; D: Down-regulated expression; U: Up-regulated expression.

将差异片段回收后进行 2 次扩增、测序, 得到的 TDFs 序列被命名为 CpFR (*Carica papaya* fruit ripening transcripted), 提交到 GenBank 数据库, 登录号为 GO477519 ~ GO477568。同源性分析结果见表 1, 在 50 个 TDFs 中, 28 个 (56%) 与 GenBank 数据库中的功能基因同源, 5 个 (10%) 与

表 1 番木瓜不同成熟度果实 cDNA-AFLP 差异片段序列同源性分析

Table 1 Homologies of cDNA-AFLP fragment expressed at different ripening stages of papaya fruit

差异片段 TDFs	登录号 Accession No.	长度/bp Length	同源性 Homology	分值/E 值 Score/E-value	表达模式 Expression pattern
CpFR1	GO477519	575	MYBR6 from <i>Malus × domestica</i> (AAZ20445)	90.1/1e-16	U
CpFR2	GO477520	259	Proteasome subunit alpha type-6 from tobacco (Q9XG77)	153/7e-36	U
CpFR3	GO477521	371	SRF3 from <i>Arabidopsis thaliana</i> (NP_192248)	192/1e-47	D
CpFR4	GO477522	317	Peroxidase 21 from <i>A. thaliana</i> (NP_001118461)	169/2e-40	D
CpFR5	GO477523	452	RNA binding protein from <i>Zea mays</i> (NP_001150360)	172/1e-41	D
CpFR6	GO477524	282	Heavy metal ATPase from <i>Populus trichocarpa</i> (XP_002299685)	153/7e-36	D
CpFR7	GO477525	284	L-allo-threonine aldolase from <i>Ricinus communis</i> (XP_002521974)	114/6e-24	D
CpFR8	GO477526	296	Ribosomal protein small subunit 28 from <i>Helianthus annuus</i> (AAM78552)	70.1/9e-11	D
CpFR9	GO477527	222	Ribonucleotide reductase small subunit from <i>Glycine max</i> (AAD32302)	124/4e-27	U
CpFR10	GO477528	169	Nucleobase ascorbate transporter from <i>P. trichocarpa</i> (XP_002315809)	112/2e-23	U
CpFR11	GO477529	407	NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2 from <i>Oenothera berteriana</i> (P93401)	129/2e-28	D
CpFR12	GO477530	413	Hypothetical protein from <i>R. communis</i> (XP_002513944)	240/4e-62	U
CpFR13	GO477531	216	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit from <i>A. thaliana</i> (NP_567754)	94.4/5e-18	U
CpFR14	GO477532	412	WD-40 repeat family protein from <i>A. thaliana</i> (NP_568993)	248/1e-64	U
CpFR15	GO477533	172	Eukaryotic release factor 1 homolog from <i>A. thaliana</i> (AAA91169)	114/6e-24	U
CpFR16	GO477534	293	Phosphoesterase family protein from <i>A. thaliana</i>	129/1e-28	D
CpFR17	GO477535	224	Protein binding from <i>A. lyrata</i> (XP_002872053)	119/2e-25	U
CpFR18	GO477536	258	TMS membrane family protein from <i>A. thaliana</i>	86.7/1e-15	U
CpFR19	GO477537	306	Fad NAD binding oxidoreductases from <i>R. communis</i> (XP_002515651)	113/3e-25	D
CpFR20	GO477538	387	Predicted protein from <i>P. trichocarpa</i> (XP_002325841)	77.8/4e-13	D
CpFR21	GO477539	297	Outward rectifying potassium channel from <i>P. tremula × P. tremuloides</i> (CAC05488)	59.7/1e-07	D
CpFR22	GO477540	545	Zinc finger family protein from <i>A. thaliana</i> (NP_188629)	211/2e-53	U
CpFR23	GO477541	491	C2 domain-containing protein from <i>A. thaliana</i> (NP_200364)	135/1e-39	U
CpFR24	GO477542	343	40S ribosomal protein S6 from <i>R. communis</i> (XP_002513953)	117/5e-25	U
CpFR25	GO477543	813	Transcription factor jumonji (jmc) domain-containing protein from <i>A. thaliana</i> (NP_197485)	155/4e-36	U
CpFR26	GO477544	331	Peroxidase 21 precursor, putative from <i>R. communis</i> (XP_002519557)	190/5e-47	D
CpFR27	GO477545	318	GDP-mannose pyrophosphorylase from <i>Malpighia glabra</i> (ABB53473)	191/3e-47	U
CpFR28	GO477546	538	Unknown protein from <i>A. thaliana</i> (NP_671841)	102/3e-20	D
CpFR29	GO477547	359	Protein phosphatase 2c, putative from <i>R. communis</i> (XP_002528831)	139/2e-31	U
CpFR30	GO477548	260	Chitinase from <i>Hevea brasiliensis</i> (CAA09110)	76.3/1e-12	U
CpFR31*	GO477549	180	14-3-3 protein from <i>P. × canescens</i> (AF121194)	105/7e-20	U
CpFR32	GO477550	365	Predicted protein from <i>P. trichocarpa</i> (XP_002325025)	158/2e-37	U
CpFR33	GO477551	350	Hypothetical protein from <i>Vitis vinifera</i> (CAN69266)	49.7/1e-04	D
CpFR 34 ~ 50	GO477552 ~ GO477568	-	No homology	-	-

注: D 代表下调表达; U 代表上调表达; CpFR31*为 Blastn 搜索结果。

Note: D showed down-regulated expression; U showed up-regulated expression; CpFR31* is the research result of Blastn.

未知功能的基因同源, 17 个 (34%) 未找到同源基因, 这些序列可能是一些未知功能的新基因片段。在 50 个 TDFs 中, 23 个在破色期表达量比半黄期高 (下调表达), 27 个在半黄期表达量升高 (上调表达)。将 50 个 TDFs 按功能分为 8 类: 基因表达调控、DNA 与蛋白质合成及运输、蛋白质降解、能量代谢、营养物质代谢、逆境胁迫反应、未知功能和无同源性 (表 2)。

表 2 番木瓜果实成熟相关基因的功能分类
Table 2 Functional classification of genes expressed during papaya fruit ripening

功能 Function	CpFR 序号 The number of CpFR	总数 Total number	百分率/% Percentage
基因表达调控 Gene expression regulation	1, 3, 5, 14, 16, 22, 21, 23, 25, 29, 31	11	22
DNA 与蛋白质合成及运输 DNA and protein synthesis and transport	8, 9, 13, 15, 18, 24	6	12
蛋白质降解 Protein degradation	2, 7, 17	3	6
能量代谢 Energy metabolism	11, 19	2	4
营养物质代谢 Nutrient metabolism	10, 27	2	4
逆境胁迫反应 Stress responding	4, 6, 26, 30	4	8
未知功能 Predicted protein	12, 20, 28, 32, 33	5	10
无同源性 No homology	34 ~ 50	17	34

2.2 获得差异表达基因 cDNA 全长

以自行设计的 RACE 通用引物与差异片段特异引物扩增双链 cDNA, 成功扩增了 CpFR1、CpFR2、CpFR26 和 CpFR27 差异基因片段的全长 cDNA 序列 (表 3)。经分析可知 CpFR1 编码 MYB 蛋白, 是植物中普遍存在的一种转录因子, 参与基因的转录调控 (陈俊和王宗阳, 2002), 将其命名为 *CpMYB*; CpFR2 编码 20S 蛋白酶体 α 亚基 6, 是泛素-蛋白酶体途径中降解蛋白质的核心部分, 将其命名为 *CpPAAL* (Coux et al., 1996); CpFR26 编码过氧化物酶, 可有效清除活性氧、自由基, 降低膜脂过氧化作用和丙二醛积累, 从而延缓果实衰老进程 (吴彩娥 等, 2000), 将其命名为 *CpPOD*; CpFR27 编码 GDP - D - 甘露糖焦磷酸化酶, 是维生素 C 合成途径中的关键酶 (Wheeler et al., 1998), 将其命名为 *CpGMP*。

表 3 番木瓜果实成熟差异表达基因的克隆
Table 3 Cloning of differential expression genes of fruit ripening from papaya

差异片段 TDFs	基因 Gene	编码蛋白 Protein	登录号 Accession No.	长度/bp Length	功能 Function
CpFR1	<i>CpMYB</i>	MYB 蛋白 MYB protein	FJ887038	1510	转录因子 Transcription factor
CpFR2	<i>CpPAAL</i>	20S 蛋白酶体 α 亚基 6 20S proteasome subunit alpha type-6	FJ755458	1025	参与蛋白质降解 Protein degradation
CpFR26	<i>CpPOD</i>	过氧化物酶 Peroxidase	FJ696417	1124	清除活性氧 Scavenging reactive oxygen species
CpFR27	<i>CpGMP</i>	GDP - D - 甘露糖焦磷酸化酶 GDP-mannose pyrophosphorylase	FJ489652	1544	维生素 C 合成关键酶 Key enzyme of vitamin C synthesis

2.3 差异基因在不同成熟度果实中的表达

从图 2 可以看出, 4 个差异基因随着番木瓜的成熟衰老, 表达量也相应变化。*CpGMP*、*CpPAA1* 与 *CpMYB* 基因表达趋势基本相同, 在绿色期和破色期表达量较低, 半黄期表达量最高, 全黄期有所下降; *CpPOD* 基因则破色期表达量最大, 半黄期和全黄期表达量有所下降。

半定量 RT-PCR 分析结果与 cDNA-AFLP 分析结果相符合, 即 *CpGMP*、*CpPAA1* 与 *CpMYB* 基因半黄期比破色期表达量升高, 而 *CpPOD* 基因在半黄期表达量下降。

随着果实的成熟衰老推进, 4 个基因的表达量也相应变化, 说明这 4 个基因可能参与了果实成熟过程。

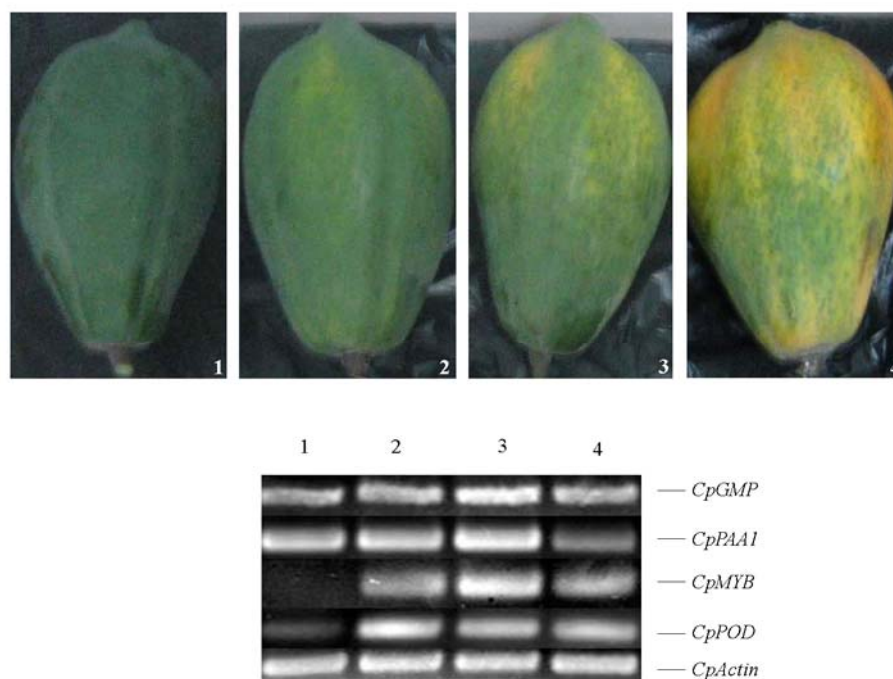


图 2 番木瓜 *GMP*、*PAA1*、*MYB* 和 *POD* 基因不同成熟度果实表达量分析

1. 绿色期; 2. 破色期; 3. 半黄期; 4. 全黄期。

Fig. 2 Expression analysis of *GMP*, *PAA1*, *MYB* and *POD* gene at different ripening stages of papaya fruit

1. Green stage; 2. Color-break stage; 3. Semi-yellow stage; 4. Full yellow stage.

3 讨论

果实成熟是一系列复杂生理生化变化的过程, 基因差异表达是导致这些变化的根本原因。根据本研究中对差异片段功能分类结果可以看出, 番木瓜果实成熟过程可能涉及基因表达调控、DNA 与蛋白质合成及运输、蛋白质降解、能量代谢、营养物质代谢、植物逆境胁迫反应等方面。其中物质和能量代谢为果实成熟提供了物质基础和动力支持; 信号转导系统则启动乙烯生成、果实变软等特定基因的表达, 开启相关代谢途径; 转录因子的合成与分解可精确调控相关基因的表达与关闭, 控制果实成熟过程中的各项生理活动。同时, 在果实成熟过程中还发现与植物逆境胁迫反应有关基因的表达变化, 几丁质酶等的表达量提高有利于保护果实不被侵害。

本试验建立了 cDNA-AFLP 与 RACE 技术相结合, 快速扩增差异基因全长的技术体系。成功克隆了 *CpGMP*、*CpPAA1*、*CpMYB* 与 *CpPOD* 4 条差异基因全长。所克隆的 4 条差异基因随着果实成熟衰老, 表达量相应发生变化, 这可能预示着它们共同参与了这一生理过程。植株衰老的过程是一种氧化过程, *CpGMP* 参与合成的维生素 C 以及 *CpPOD* 编码的过氧化物酶都是重要的抗氧化剂 (吴彩娥 等, 2000; 安华明 等, 2004), 这两个基因在番木瓜破色期和半黄期大量表达, 有延缓果实衰老的作用。*CpPAA1* 参与蛋白质降解, *CpMYB* 参与基因转录调控, 均在果实成熟衰老过程中具有重要功能。

果实成熟相关基因的研究越来越多, 但基本上都是同源克隆法, 分离的都是已知基因, 得到的信息量少。作者将 cDNA-AFLP 技术应用到成熟差异表达基因的分离, 获得了 50 个与果实成熟相关的 TDFs, 成功克隆了 4 条差异基因全长 cDNA 序列, 并分析了其伴随果实成熟的表达差异, 为番木瓜果实成熟机理和耐贮运分子育种研究提供参考。

References

- An Hua-ming, Chen Li-geng, Fan Wei-guo, Hu Xi-qin. 2004. Advances in research on function, biosynthesis and metabolism of ascorbic acid in higher plants. *Chinese Bulletin of Botany*, 21 (5): 608 - 617. (in Chinese)
- 安华明, 陈力耕, 樊卫国, 胡西琴. 2004. 高等植物中维生素 C 的功能、合成及代谢研究进展. *植物学通报*, 21 (5): 608 - 617.
- Bachem C W B, van der Hoeven R S, de Bruijn S M, Vreugdenhil D, Zabeau M, Visser R G F. 1996. Visualization of differential gene expression using a novel method of RNA fingerprinting based on AFLP: Analysis of gene expression during potato tuber development. *The Plant Journal*, 9 (5): 745 - 753.
- Baldé A, Gouveia M M C, Pais M S. 2005. Papaya (*Carica papaya*) fruit ripening I-Pectinmethylesterase (PME) cDNA cloning and expression during fruit development and ripening. *Essays in Bioinformatics*. Amsterdam: IOS Press.
- Chen Guan-shui, Pan Da-ren, Zhou Yi-fei, Lin Sheng, Gao Li-hua, Yang Zhi-wei. 2007. Establishment of the semi-quantitative RT-PCR system of nonexpressor of pathogenesis-related genes 1 (NPR1) gene in sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.). *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University: Natural Science Edition*, 36 (1): 56 - 59. (in Chinese)
- 陈观水, 潘大仁, 周以飞, 林生, 高丽华, 杨志伟. 2007. 甘薯 *NPR1* 基因半定量 RT-PCR 检测方法的建立. *福建农林大学学报: 自然科学版*, 36 (1): 56 - 59.
- Chen Jun, Wang Zong-yang. 2002. Progress in the study of plant MYB transcription factors. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 28 (2): 81 - 88. (in Chinese)
- 陈俊, 王宗阳. 2002. 植物 MYB 类转录因子研究进展. *植物生理与分子生物学学报*, 28 (2): 81 - 88.
- Coux O, Tanaka K, Goldberg A L. 1996. Structure and functions of the 20S and 26S proteasomes. *Annual Review of Biochemistry*, 65: 801 - 847.
- Hidalgo M S P, Tecson-Mendoza E M, Laurena A C, Botella J R. 2005. Hybrid 'Sinta' papaya exhibits unique ACC synthase 1 cDNA isoforms. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 38 (3): 320 - 327.
- Lin C T, Lin M T, Shaw J F. 1997. Cloning and characterization of a cDNA for 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase from papaya fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45 (2): 526 - 530.
- Lu Bing-guo, He Wei-yi, Shen Yan-hong, Jiang Ji-mou, Chen Xiao-jing, Chen Wei, Lu Liu-xin. 2009. Cloning and sequence analysis of the full-length cDNA of glyceral-dehyde-3-phosphate dehydrogenase gene from longan cotyledon embryo. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University: Natural Science Edition*, 38 (5): 507 - 511. (in Chinese)
- 卢秉国, 何玮毅, 申艳红, 蒋际谋, 陈晓静, 陈伟, 吕柳新. 2009. 龙眼子叶胚 3-磷酸甘油醛脱氢酶基因的 cDNA 克隆及序列分析. *福建农林大学学报: 自然科学版*, 38 (5): 507 - 511.
- Miller W R, McDonald R E. 1999. Irradiation, stage of maturity at harvest, and storage temperature during ripening affect papaya fruit quality. *HortScience*, 34 (6): 1112 - 1115.
- Money T, Reader S, Qu L J, Dunford R P, Moore G. 1996. AFLP-based mRNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 24 (13):

2616 - 2617.

Neupane K R, Mukatira U T, Kato C, Stiles J I. 1998. Cloning and characterization of fruit-expressed ACC synthase and ACC oxidase from papaya (*Carica papaya* L.). *Acta Horticulturae*, 461: 329 - 337.

Othman R, Choo T S, Ali Z M, Zainal Z, Lazan H. 1998. A full-length beta-galactosidase cDNA sequence from ripening papaya (*Carica Papaya* L. cv. Eksotika). *Plant Physiology*, 118: 1102.

Shen Yan-hong, Chen Xiao-jing. 2009. Effective extraction of total RNA in papaya pulp with an optimized mini-preparation hot borate method. *South China Fruits*, 38 (2): 7 - 9. (in Chinese)

申艳红, 陈晓静. 2009. 改良热硼酸小量法提取番木瓜果肉 RNA. *中国南方果树*, 38 (2): 7 - 9.

Shen Yan-hong, Chen Xiao-jing, He Wei-yi, Lu Bing-guo. 2010. Cloning, sequence and express patterns analysis of *Actin* gene from *Carica Papaya* L. *Journal of Fruit Science*, 27 (6): 859 - 862. (in Chinese)

申艳红, 陈晓静, 何玮毅, 卢秉国. 2010. 番木瓜肌动蛋白 *CpActin* 基因的克隆及在果肉中的表达研究. *果树学报*, 27 (6): 859 - 862.

Wheeler G L, Jones M A, Smirnoff N. 1998. The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. *Nature*, 393: 365 - 369.

Wu Cai-e, Wang Wen-sheng, Kou Xiao-hong. 2000. Relationship between ripening and senescence of fruits and antioxidase. *Storage and Process*, (1): 5 - 8. (in Chinese)

吴彩娥, 王文生, 寇晓红. 2000. 果实成熟衰老与保护酶系统的关系. *保鲜与加工*, (1): 5 - 8.

Xie Qing-chang. 2001. Effects of harvest maturing, reserve temperature, maturation temperature, and forced warm air treatment on the quality of papaya 'Tainong No 2'. *China Horticulture*, 47 (4): 391 - 408. (in Chinese)

谢庆昌. 2001. 采收成熟度、贮藏温度、后熟温度及强制热风处理对‘台农二号’番木瓜品质的影响. *中国园艺*, 47 (4): 391 - 408.

征 订

《果树钙素营养与生理》

本书是针对目前我国果实品质下降和生理病害日趋严重的现实编写的。全书共分六章，比较详细地总结了果树缺钙症、果实钙素营养水平的调节， Ca^{2+} 在树体内的运转与分配规律，钙与花芽分化、花粉萌发和花粉管生长、结实及发育之间的关系，钙参与果实成熟衰老和抗逆性的调控机制，以及典型缺钙症——苹果苦痘病研究的评述等。本书由关军锋，[德]索尔编著，科学出版社2005年7月出版，可作为大专院校和科研单位的果树学、植物生理学、植物营养学等相关专业人员的参考书。定价：52元（含邮费）。

《果品品质研究》

《果品品质研究》由关军锋主编，是根据我国果品生产发展方向和在果品品质研究日益受到重视的前提下编写的。全书共分五篇，第一篇系统介绍果品品质的概念、风味物质及绿色果品的生产；第二篇着重阐述了采前果实品质的发育机理及影响因素，如生态、水分、激素的调控及果实品质的遗传和改良；第三篇总结了减少采后果实品质损失的策略及途径，介绍了重要氧化酶的理化性质；第四篇分析了主要果实生理病害的发生机理和控制途径；第五篇介绍了果实品质的数学评价方法和常见果品品质的测定技术。定价：30元（含邮费）。

购书者请通过邮局汇款至北京中关村南大街12号中国农科院蔬菜花卉所《园艺学报》编辑部，邮编 100081。