

三明野生蕉 *Ran* 基因克隆及其组织特异性与低温胁迫表达分析

张雅玲¹, 方智振^{1,2}, 赖钟雄^{1*}

(¹福建农林大学园艺学院园艺植物生物工程研究所, 福州 350002; ²福建省农业科学院果树研究所, 福州 350013)

摘要:【目的】探讨三明野生蕉 *Ran* 基因在低温胁迫响应过程中的作用。【方法】通过 RT-PCR 与 RACE 相结合的方法和 qRT-PCR 克隆 *Ran* 基因, 并对其在响应低温胁迫和水杨酸处理过程中的表达进行分析。【结果】分离得到 6 条含有完整开放阅读框的 *Ran* 基因 cDNA 序列, 编码的蛋白质与其他植物 *Ran* 蛋白高度同源, 带有 GTP 水解结构域、RanGAP 结合结构域和酸性尾巴等典型结构域。qPCR 分析结果表明, 三明野生蕉 *Ran* 基因在根、叶片、花序轴、苞片、花、果皮和果肉中均有表达, 在根中表达量最低, 在叶片、花和果肉中的表达量较高。此外, 低温胁迫和水杨酸处理可显著影响三明野生蕉 *Ran* 基因的表达。【结论】三明野生蕉 *Ran* 基因与细胞分裂、低温胁迫响应和水杨酸信号转导有关。

关键词: 野生蕉; 低温胁迫; *Ran* 基因; 基因表达

中图分类号: S668.1 文献标志码: A 文章编号: 1009-9980(2015)01-0026-11

Cloning and expression analysis of *Ran* gene in different tissues and under low temperature stress in Sanming yesheng jiao (*Musa itinerans*)

ZHANG Yaling¹, FANG Zhizhen^{1,2}, LAI Zhongxiong^{1*}

(¹Institut of Horticultural Biotechnology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, 350002, China; ²Fruit Research Institut, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, 350013, China)

Abstract: 【Objective】The objective of the study is to elucidate the mechanism of *Ran* gene involved in response to low temperature stress. 【Method】The cDNA sequence of *Ran* gene in Yesheng jiao from Sanming was isolated by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) with rapid amplification of cDNA ends (RACE). The expression of this gene in response to low temperature stress and under salicylic acid treatment was determined by real-time quantitative PCR (qRT-PCR). 【Result】6 *Ran* gene cDNA sequences that containing complete open reading frames were isolated from leaves of Sanming yesheng jiao (*Musa itinerans* Cheesman). All of them encode proteins that show high homology with *Ran* proteins from other plant species and contain characteristic domains of the *Ran* proteins including GTP Hydrolysis domain, RanGAP-binding domain and acidic tail. Results of qPCR analysis indicated that *Ran* genes were expressed in root, leaf, peduncle, bract, flower, peel and pulp in Sanming yesheng jiao. The lowest mRNA expression was found in root, and the higher expression in leaf, flower and pulp. In addition, the expression levels of *Ran* genes were affected significantly by low temperature stress and under salicylic acid treatment in wild musa from Sanming. 【Conclusion】*Ran* genes were involved in cell division and responses to low temperature stress and salicylic acid signal transduction in Sanming yesheng jiao.

Key words: Sanming yesheng jiao (*Musa itinerans*); Low temperature stress; *Ran* gene; Gene expression

收稿日期: 2014-05-29 接受日期: 2014-08-30

基金项目: 国家香蕉产业体系专项资金(CARS-32-11); 福建省重大农业科技平台(2008N2001)

作者简介: 张雅玲, 女, 硕士。Tel: 0591-83789484, E-mail: 451476856@qq.com

*通信作者 Author for correspondence. E-mail: laizx01@163.com

Ran 是一类广泛存在于真核生物中的极为保守的小 G 蛋白,在细胞核质运输、细胞周期进程、纺锤体组装、中心体复制、染色体列队、染色体分离、微管组装等过程中扮演重要的角色^[1]。此外,Ran 还参与细胞的信号转导^[2]。目前,植物 Ran 功能及其作用机制的研究较少。研究表明植物 Ran 与酵母和动物的 Ran 蛋白具有相似的功能^[3]。Ran 在不同的组织中均有表达,其中分生组织中的表达量较高^[4-5]。研究表明抑制 *OsRAN2* 的表达可导致水稻发育异常^[6]。Chen 等^[7]研究发现敲除 *OsRAN2* 可导致纺锤体组装异常,植株生长受抑制。因此,Ran 在植物的生长发育过程中发挥着重要的作用。

大量研究表明,外界环境条件的改变可影响植物 Ran 蛋白的表达^[7-10]。Wang 等^[3]研究发现超表达 *TaRAN1* 的水稻和拟南芥植株对生长素的敏感性显著提高。盐胁迫、渗透胁迫和 ABA 处理可降低水稻 *OsRAN2* 的转录水平,超表达 *OsRAN2* 的水稻和拟南芥植株对盐胁迫和 ABA 高度敏感,植株中与 ABA 和胁迫响应有关的基因表达量提高^[6]。由此可见,Ran 蛋白在植物胁迫响应过程中发挥着重要的作用。

香蕉(*Musa spp.*)是全球重要的经济作物和粮食作物^[11]。香蕉在生长发育过程中易受生物胁迫和非生物胁迫的影响,造成生产上的损失。选育抗性强的新品种是解决香蕉生产中低温等障碍的根本途径。栽培香蕉多为三倍体,很难通过常规杂交育种进行抗逆香蕉新品种的选育。采用生物技术手段进行品种改良,是培育抗性品种的有效途径^[12]。野生蕉蕴藏着大量优异的基因资源,是香蕉遗传改良的重要种质来源^[13]。

阿宽蕉(*Musa itinerans* Cheesman),也称走地蕉,是我国广东、福建、广西等华南地区广泛存在的香蕉野生近缘种。其果实不能食用,但耐寒性较强,可作研究芭蕉属植物抗寒力的重要材料。目前,尚未见香蕉 *Ran* 基因的相关报道。赖钟雄等^[14-15]调查发现福建省有大量抗逆性较强的野生蕉资源。其中,三明野生蕉能够耐受-5℃的低温^[15]。超表达 *OsRAN* 可显著提高水稻的抗寒性^[7]。因此,我们从三明野生蕉中分离得到 6 条 *Ran* 基因 cDNA 序列,并对其在不同组织中和低温胁迫条件下的表达情况进行分析,以期探讨三明野生蕉 *Ran* 基因在胁迫响应过程中作用奠定基础,为通过栽培措施和遗传改良提高香蕉抗性提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

三明野生蕉(*Musa itinerans* Cheesman) *Ran* 基因 cDNA 序列克隆及其在低温胁迫条件下的表达分析以其组培苗为材料,组培苗的培养与继代参照张锐^[16]的方法。三明野生蕉 *Ran* 基因组织特异性表达分析,以三明野生蕉的根、叶片、花序轴(基部)、苞片、花、果皮和果肉为材料。不同温度处理的三明野生蕉组培苗,处理温度分别为 0℃、4℃、13℃、20℃、28℃,处理时间为 36 h。选择生长健壮一致的三明野生蕉组培苗在 8℃条件下分别处理 1 h、4 h、8 h、12 h、24 h、36 h,用于分析低温胁迫过程中三明野生蕉 *Ran* 基因表达变化情况。选择生长健壮一致的组培苗,分别在 8℃条件下用 0.5 mmol·L⁻¹ 的水杨酸处理 1 h、4 h、8 h、12 h、24 h,用于分析水杨酸对三明野生蕉 *Ran* 家族基因表达的影响,以用水处理 1 h、4 h、8 h、12 h、24 h 的组培苗作为对照。以上处理均重复 3 次。以组培苗叶片提取总 RNA 与 DNA,用于 *Ran* 基因的克隆与表达分析。用不同温度处理的三明野生蕉组培苗叶片提取总 RNA,用于荧光定量 PCR。

1.2 方法

1.2.1 三明野生蕉组培苗叶片总 RNA 和 DNA 的提取 用天泽柱式植物 RNAOUT2.0(北京天恩泽基因科技有限公司)提取三明野生蕉组培苗叶片的总 RNA,具体操作步骤参考说明书。采用 CATB 法提取三明野生蕉组培苗叶片的 DNA。用 1.0% 的非变性琼脂糖凝胶电泳结合超微量紫外分光光度计,选择符合要求的 RNA 和 DNA 用于后续研究。

1.2.2 三明野生蕉 *Ran* 基因的克隆 cDNA 的合成 由 RevertAid™ first-strand cDNA synthesis Kit (Fermentas)完成。根据香蕉基因组以及 GeneBank 上的相关序列设计引物进行 *Ran* 基因部分 cDNA 序列的扩增,根据所得到的基因序列进一步设计引物,用来克隆 *Ran* 基因 cDNA 3'末端和 5'末端序列。3'RACE 方法参照 RevertAid™ first-strand cDNA synthesis Kit (Fermentas)说明书。5'RACE 参照 5'RACE System for Rapid Amplification of cDNA Ends,Version 2.0 (Invitrogen)的说明书完成。然后再以得到的 cDNA 3'末端和 5'末端序列为依据设计引物,扩增三明野生蕉 *Ran* 基因开放阅读框序列。引物合成相关事宜委托北京六合华大基因科技股份有限公司完成。PCR 反应程序为: 94℃ 3 min; 94℃ 30 s,退火(温度根据引物具体退火温度而定)20 s,72℃,时间根据目的片段长度而定;35 个循环;72℃ 10 min。用于

三明野生蕉 *Ran* 基因克隆的引物名称及序列见表 1。PCR 扩增产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳分离后, 采用 Gel/PCR Extraction Kit (BIOMIGA) 进行目的片

段的回收, 并将目的片段连接到 pMD 18-T (Takara) 上进行测序。测序委托北京六合华大基因科技股份有限公司或上海博尚生物技术有限公司完成。

表 1 *Ran* 基因克隆所用引物

Table 1 Primers used for cloning of *Ran* genes

名称 Name	引物序列 Primer sequence (5'-3')	名称 Name	引物序列 Primer sequence (5'-3')
Rf-5	ATGTCGCGTTCAAACGAAGCAGAG	Rr-22	GGTTCAAGACAAAGACTGCTCAC
Rf8	ATGTTGGTCCGGCCTCAGCTTAGTAG	R3-1	GCTAGAAAACCTTGCAGGGGACC
Rf15	ACGCCCTCTTCCACCTTTGG	R3-2	CTTTGTGTAATCACCTGCTCTTGC
Rf16	ACGTCTCCTCTGTTCCTCTTCG	R5-1	CATCGAACATGATAATNGCACATTG
Rf20	CTCCTTCCGACTCGCCCTC	R5-2	CCCACAGTTTGTRAAAGAAATCCAA
Rr-5	CTAATCGAATACATCATCATCGTC	AP	GGCCACGCGTCGACTAGTAC(T) ₁₂
Rr-8	CTAATCAAACACATCATCATCGTCAT	AP3	GGCCACGCGTCGACTAGTA(G) ₁₂
Rr-20	TGAAGGCAAAAGCCTCGAAC	AUAP	GGCCACGCGTCGACTAGTAC

1.2.3 实时荧光定量 PCR 分析 采用天泽柱式植物 RNAOUT2.0 (北京天恩泽基因科技有限公司) 或者 E. Z.N.A Plant RNA KIT (OMEGA) 提取不同温度处理的三明野生蕉组培苗叶片的总 RNA。用 Prime-Script™ RT reagent Kit (Perfect Real Time, Takara) 进行 cDNA 的合成, 操作方法参见说明书。qPCR 反应体系如下: SYBR® Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus, Takara) 10.0 μL, 上下游引物分别为 0.8 μL, 引物浓度为 10 μmol·L⁻¹, RNase-free Water (Fermentas) 7.4 μL。PCR 程序为: 95 °C 30 s; 95 °C 5 s, 60 °C 30 s (实际退火温度根据引物

确定), 72 °C 30 s, 40 循环; 反应结束后, 根据扩增曲线和熔解曲线分析结果, 确定扩增的特异性。每个反应重复 3 次。qPCR 反应在 Lighcycler 480 (Roche Applied Science, Switzerland) 上进行。数据分析参照 Lin 等^[17]报道的方法。以 18S 为内参基因。由于 *MusaRan3B-1*, *MusaRan3B-2* 和 *MusaRan3D-1* 序列的相似性很高, *MusaRan3A-3* 和 *MusaRan3A-4* 序列的相似性很高, 难以通过设计特异性引物进行区分, 故仅设计引物对其总量进行分析。实时荧光定量 PCR 分析所用引物见表 2。

表 2 实时荧光定量 PCR 分析所用引物

Table 2 Primers used for qPCR analysis

目的基因 Target gene	引物序列 Primer sequence (5'-3')
<i>MusaRan3B-1</i> , <i>MusaRan3B-2</i> , <i>MusaRan3D-1</i>	正向 Forward: GAATCACCTGCTCTTGCACC 反向 Reverse: CATCAGGAAGAGGCTGGG
<i>MusaRan3A-3</i> , <i>MusaRan3A-4</i>	正向 Forward: AGAACTGGTGCAGCCGCTG 反向 Reverse: CCTGAAATGGTTCAAACACTTAAAG
<i>MusaRan3A-2</i>	正向 Forward: TCCTGGTTCAAGTCCAAGTTCA 反向 Reverse: CCATCTACTCTACATCACTTTTCAG

2 结果与分析

2.1 三明野生蕉 *Ran* 基因 cDNA 序列克隆与序列分析

根据小果野蕉 (*Musa acuminata*) 基因组^[18]中和 GenBank 上公布的 *Ran* 基因保守序列设计引物 2 对引物 (Rf-5/Rr-5 和 Rf-8/Rr-8) 用于三明野生蕉 *Ran* 基因 cDNA 片段的扩增, 得到 2 个 *Ran* 基因 cDNA 片段, 并测序。根据测序结果设计引物用于 3'RACE

和 5'RACE。以 R5-1/AP3 和 R5-2/AUAP 为引物, 分离得到 *Ran* 基因 1 条 5'末端序列。以 R5-1/AP3 和 R5-3/AUAP 为引物, 分离得到 *Ran* 基因 1 条 5'末端序列。以 R5-2/AP3 和 R5-3/AUAP 为引物, 分离得到 *Ran* 基因 1 条 5'末端序列。以 R3-1/AUAP 和 R3-2/AUAP 为引物, 分离得到 *Ran* 基因 1 条 3'末端序列。根据得到 *Ran* 基因 5'和 3'末端序列设计引物, 用于扩增带有完整 ORF 的 *Ran* 基因 cDNA, 共扩增得到 6 条带有完整开放阅读框的 *Ran* 基因 cDNA 序

列, 分别为 *MusaRan3A-2*、*MusaRan3A-3*、*MusaRan3A-4*、*MusaRan3B-1*、*MusaRan3B-2* 和 *MusaRan3D-1*(表3)。对6条 *MusaRan* 基因 cDNA 序列进行比对发现这些序列高度同源(表4和图1)。*Musa-*

Ran3A-2、*MusaRan3A-3*、*MusaRan3A-4*、*MusaRan3B-1*、*MusaRan3B-2* 和 *MusaRan3D-1* 序列均含有一个 663 bp 的开放阅读框, 分别编码含 221 个氨基酸残基的蛋白质 *MusaRan3A*、*MusaRan3B* 和 *Musa-*

表3 三明野生蕉 *Ran* 基因及其推导蛋白基本信息

Table 3 Basic information of *MusaRan* gene and deduced proteins

基因名称 Gene name	引物(正向/反向) Primer(forward/reverse)	长度 Length /bp	GenBank 登录号 GenBank accession	编码蛋白名称 Name of encoded protein	编码蛋白长度(aa) Length of encoded protein	相对分子质量 Relative molecular weight/ku	等电点 Isoelectric point
<i>MusaRan3A-2</i>	Rf-15/Rr-20	892	KC294628	<i>MusaRan3A</i>	221	25.073 5	6.38
<i>MusaRan3A-3</i>	Rf-15/Rr-20	940	KC294629	<i>MusaRan3A</i>	221	25.073 5	6.38
<i>MusaRan3A-4</i>	Rf-16/Rr-20	897	KC294631	<i>MusaRan3A</i>	221	25.073 5	6.38
<i>MusaRan3B-1</i>	Rf-20/Rr-22	886	KC294635	<i>MusaRan3B</i>	221	25.089 5	6.38
<i>MusaRan3B-2</i>	Rf-15/Rr-20	898	KC294627	<i>MusaRan3B</i>	221	25.089 5	6.38
<i>MusaRan3D-1</i>	Rf-16/Rr-20	873	KC294630	<i>MusaRan3D</i>	221	25.059 5	6.38

表4 *MusaRan* cDNA 序列同源性

Table 4 Homology among predicted *MusaRan* cDNA sequences

	<i>MusaRan3A-2</i>	<i>MusaRan3A-3</i>	<i>MusaRan3A-4</i>	<i>MusaRan3B-1</i>	<i>MusaRan3B-2</i>	<i>MusaRan3D-1</i>
<i>MusaRan3A-2</i>						
<i>MusaRan3A-3</i>	93.94					
<i>MusaRan3A-4</i>	93.29	95.20				
<i>MusaRan3B-1</i>	97.22	93.40	94.41			
<i>MusaRan3B-2</i>	98.89	94.57	93.51	98.33		
<i>MusaRan3D-1</i>	95.66	91.91	95.66	98.19	96.77	

Ran3D(表3)。

2.2 三明野生蕉 *Ran* 蛋白序列的比较分析和系统进化分析

通过 Blast 分析发现, *MusaRan3A*、*MusaRan3B* 和 *MusaRan3D* 与拟南芥、向日葵、葡萄、毛果杨和龙眼等的 *Ran* 蛋白高度同源。分析表明, *MusaRan3A*、*MusaRan3B* 和 *MusaRan3D* 均带有 GTP 水解结构域(G1-G5)、*RanGAP* 结合结构域和酸性尾巴等典型的 *Ran* 蛋白保守结构域(图2)。将 *MusaRan3A*、*MusaRan3B* 和 *MusaRan3D* 与拟南芥 *Ran* 蛋白以及已公布的小果野蕉基因组(*Musa acuminata*)中的预测 *Ran* 蛋白的氨基酸序列进行比对分析, 发现三明野生蕉 *Ran* 蛋白与拟南芥 *Ran* 蛋白和已公布的小果野蕉基因组中的预测 *Ran* 蛋白高度同源, 但已公布的小果野蕉基因组中的预测 *Ran* 蛋白在 N 端明显比三明野生蕉 *Ran* 蛋白多出一段长度不等的多肽(图2)。本研究采用多对引物进行三明野生蕉 *Ran* 基因 cDNA 5'末端扩增, 但均未扩增到更长的 5'末端, 且 Blast 分析结果表明本研究分离到的三明野生蕉 *Ran* 基因编码的蛋白质的氨基酸序列长度与 GenBank 上其他物

种的 *Ran* 蛋白一致。小果野蕉基因组中 *Ran* 蛋白 N 端与三明野生蕉 *Ran* 蛋白的差异可能与物种差异或小果野蕉基因组蛋白预测过程中将 5'UTR 序列纳入编码区序列有关。

不同物种中均只有少量 *Ran* 成员, 其中人和酵母仅有 1 个成员, 拟南芥拥有 4 个成员^[19-20]。已公布的小果野蕉基因组中共有 9 个编码 *Ran* 蛋白的基因(<http://banana-genome.cirad.fr/>)。这表明 *Ran* 基因家族成员数量在进化过程中有所增加。三明野生蕉和小果野蕉分属不同种, 2 者 *Ran* 基因家族成员数量可能存在一定的差异。因此, 目前无法确定三明野生蕉 *Ran* 基因家族成员数量, 其具体组成有待进一步研究确定。采用 Mega 5 的邻位相连法对三明野生蕉 *Ran* 蛋白与小果野蕉和其他植物 *Ran* 蛋白的进化关系进行分析(图3), 结果表明 *MusaRan3A*、*MusaRan3B* 和 *MusaRan3D* 与已公布的小果野蕉基因组中 *Achr4T00780*、*Achr5T09850*、*Achr1T11790*、*Achr1T05300*、*Achr1T14580*、*AchrUn_randomT07 030*、*Achr6T01500* 和 *Achr6T01550* 编码的 *Ran* 蛋白列为一个分支, 与 *AtRan3*、*MtRan* 和 *VvRan3* 的亲缘关系较近。

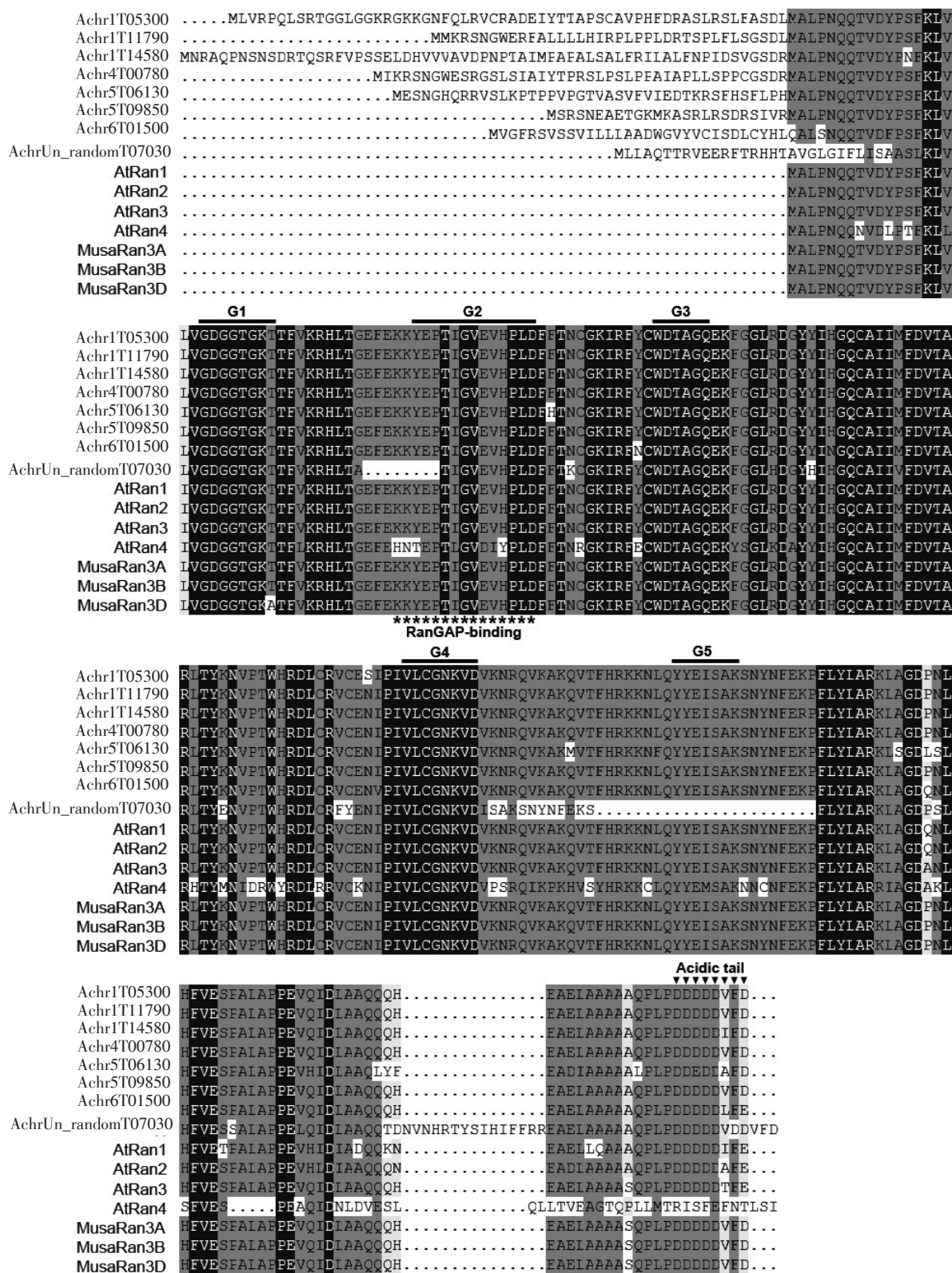
Ran3A-2	ACGCCCTCTTCCACCTTTTGATCGCACGCTCTCTCTGTTCCCTCTTCGGAAGT	GATC	TAATGGCATTTGCCGAATCAGCAAA	80
Ran3A-3	ACGCCCTCTTCCACCTTTTGATCGCACGCTCTCTCTGTTCCCTCTTCGGAAGT	GATC	TAATGGCATTTGCCGAATCAGCAAA	80
Ran3A-4	ACGTCTCTCTGTTCCCTCTTCGGAAGT	GATC	TAATGGCATTTGCCGAATCAGCAAA	55
Ran3B-1	ACCTTTTGATCGCACGCTCTCTCTGTTCCCTCTTCGGAAGT	GATC	TAATGGCATTTGCCGAATCAGCAAA	68
Ran3B-2	ACGCCCTCTTCCACCTTTTGATCGCACGCTCTCTCTGTTCCCTCTTCGGAAGT	GATC	TAATGGCATTTGCCGAATCAGCAAA	80
Ran3D-1	ACGTCTCTCTGTTCCCTCTTCGGAAGCGATC	TAATGGCATTTGCCGAATCAGCAAA	55	
Ran3A-2	CCGTTGATTACCCGAGCTTTAAGCTCGTCTCTCGTGGTGACGGAGGGACTGGAAG	ACGACGTTTGTGAAGAGGCACCTT	160	
Ran3A-3	CCGTTGATTACCCGAGCTTTAAGCTCGTCTCTCGTGGTGACGGAGGGACTGGAAG	ACGACGTTTGTGAAGAGGCACCTT	160	
Ran3A-4	CCGTTGATTACCCGAGCTTTAAGCTCGTCTCTCGTGGTGACGGAGGGACTGGAAG	ACGACGTTTGTGAAGAGGCACCTT	135	
Ran3B-1	CCGTTGATTACCCGAGCTTTAAGCTCGTCTCTCGTGGTGACGGAGGGACTGGAAG	ACGACGTTTGTGAAGAGGCACCTT	148	
Ran3B-2	CCGTTGATTACCCGAGCTTTAAGCTCGTCTCTCGTGGTGACGGAGGGACTGGAAG	ACGACGTTTGTGAAGAGGCACCTT	160	
Ran3D-1	CCGTTGATTACCCGAGCTTTAAGCTCGTCTCTCGTGGTGACGGAGGGACTGGAAG	ACGACGTTTGTGAAGAGGCACCTT	135	
Ran3A-2	ACTGGTGAATTTGAGAAGAAGTATGAGCCTACTATTGGTGTGAGGTCCATCCTTT	GGATTTTTTTCACAACTGTGGGAA	240	
Ran3A-3	ACTGGTGAATTTGAGAAGAAGTATGAGCCTACTATTGGTGTGAGGTCCATCCTTT	GGATTTTTTTCACAACTGTGGGAA	240	
Ran3A-4	ACTGGTGAATTTGAGAAGAAGTATGAGCCTACTATTGGTGTGAGGTCCATCCTTT	GGATTTTTTTCACAACTGTGGGAA	215	
Ran3B-1	ACTGGTGAATTTGAGAAGAAGTATGAGCCTACTATTGGTGTGAGGTCCATCCTTT	GGATTTTTTTCACAACTGTGGGAA	228	
Ran3B-2	ACTGGTGAATTTGAGAAGAAGTATGAGCCTACTATTGGTGTGAGGTCCATCCTTT	GGATTTTTTTCACAACTGTGGGAA	240	
Ran3D-1	ACTGGTGAATTTGAGAAGAAGTATGAGCCTACTATTGGTGTGAGGTCCATCCTTT	GGATTTTTTTCACAACTGTGGGAA	215	
Ran3A-2	GATCCGCTTCTATTGCTGGGATACAGCTGGTCAAGAAAAATTCGGTGGTCTTAGGGATGGTTACTACATCCACGGTCAAT		320	
Ran3A-3	GATCCGCTTCTATTGCTGGGATACAGCTGGTCAAGAAAAATTCGGTGGTCTTAGGGATGGTTACTACATCCACGGTCAAT		320	
Ran3A-4	GATCCGCTTCTATTGCTGGGATACAGCTGGTCAAGAAAAATTCGGTGGTCTTAGGGATGGTTACTACATCCACGGTCAAT		295	
Ran3B-1	GATCCGCTTCTATTGCTGGGATACAGCTGGTCAAGAAAAATTCGGTGGTCTTAGGGATGGTTACTACATCCACGGTCAAT		308	
Ran3B-2	GATCCGCTTCTATTGCTGGGATACAGCTGGTCAAGAAAAATTCGGTGGTCTTAGGGATGGTTACTACATCCACGGTCAAT		320	
Ran3D-1	GATCCGCTTCTATTGCTGGGATACAGCTGGTCAAGAAAAATTCGGTGGTCTTAGGGATGGTTACTACATCCACGGTCAAT		295	
Ran3A-2	GTGCCATTATTATGTTTCGATGTTACTGCCAGGTTAAACATACAAAAATGTCCCAACA	TGGCACCCGGGATCTGTGCAGGGTC	400	
Ran3A-3	GTGCCATTATTATGTTTCGATGTTACTGCCAGGTTAAACATACAAAAATGTCCCAACA	TGGCACCCGGGATCTGTGCAGGGTC	400	
Ran3A-4	GTGCCATTATTATGTTTCGATGTTACTGCCAGGTTAAACATACAAAAATGTCCCAACA	TGGCACCCGGGATCTGTGCAGGGTC	375	
Ran3B-1	GTGCCATTATTATGTTTCGATGTTACTGCCAGGTTAAACATACAAAAATGTCCCAACA	TGGCACCCGGGATCTGTGCAGGGTC	388	
Ran3B-2	GTGCCATTATTATGTTTCGATGTTACTGCCAGGTTAAACATACAAAAATGTCCCAACA	TGGCACCCGGGATCTGTGCAGGGTC	400	
Ran3D-1	GTGCCATTATTATGTTTCGATGTTACTGCCAGGTTAAACATACAAAAATGTCCCAACA	TGGCACCCGGGATCTGTGCAGGGTC	375	
Ran3A-2	TGCGAGAATATTTCCTATTGTTCTCTGTGGCAACAAGGTCGATGTGAAGAACAGGCCAGGTTAAAGCTAAGCAAGTTACATT		480	
Ran3A-3	TGCGAGAATATTTCCTATTGTTCTCTGTGGCAACAAGGTCGATGTGAAGAACAGGCCAGGTTAAAGCTAAGCAAGTTACATT		480	
Ran3A-4	TGCGAGAATATTTCCTATTGTTCTCTGTGGCAACAAGGTCGATGTGAAGAACAGGCCAGGTTAAAGCTAAGCAAGTTACATT		455	
Ran3B-1	TGCGAGAATATTTCCTATTGTTCTCTGTGGCAACAAGGTCGATGTGAAGAACAGGCCAGGTTAAAGCTAAGCAAGTTACATT		468	
Ran3B-2	TGCGAGAATATTTCCTATTGTTCTCTGTGGCAACAAGGTCGATGTGAAGAACAGGCCAGGTTAAAGCTAAGCAAGTTACATT		480	
Ran3D-1	TGCGAGAATATTTCCTATTGTTCTCTGTGGCAACAAGGTCGATGTGAAGAACAGGCCAGGTTAAAGCTAAGCAAGTTACATT		455	
Ran3A-2	CCACAGAAAGAAGAACCTC CAATACATGAGATCTCTGCAAAGAGCAATTATAACT	TTGAGAAGCCCTTCTGTATCTTG	560	
Ran3A-3	CCACAGAAAGAAGAACCTC CAATACATGAGATCTCTGCAAAGAGCAATTATAACT	TTGAGAAGCCCTTCTGTATCTTG	560	
Ran3A-4	CCACAGAAAGAAGAACCTC CAATACATGAGATCTCTGCAAAGAGCAATTATAACT	TTGAGAAGCCCTTCTGTATCTTG	535	
Ran3B-1	CCACAGAAAGAAGAACCTC CAATACATGAGATCTCTGCAAAGAGCAATTATAACT	TTGAGAAGCCCTTCTGTATCTTG	548	
Ran3B-2	CCACAGAAAGAAGAACCTC CAATACATGAGATCTCTGCAAAGAGCAATTATAACT	TTGAGAAGCCCTTCTGTATCTTG	560	
Ran3D-1	CCACAGAAAGAAGAACCTC CAATACATGAGATCTCTGCAAAGAGCAATTATAACT	TTGAGAAGCCCTTCTGTATCTTG	535	
Ran3A-2	CTAGAAAACCTTGACGGGGACCCAAATCTTCACTTTGTTGAATCACCTGCTCTTGCACTCCAGAAAGTCAGATTGACCTG		640	
Ran3A-3	CTAGAAAACCTTGACGGGGACCCAAATCTTCACTTTGTTGAATCACCTGCTCTTGCACTCCAGAAAGTCAGATTGACCTG		640	
Ran3A-4	CTAGAAAACCTTGACGGGGACCCAAATCTTCACTTTGTTGAATCACCTGCTCTTGCACTCCAGAAAGTCAGATTGACCTG		615	
Ran3B-1	CTAGAAAACCTTGACGGGGACCCAAATCTTCACTTTGTTGAATCACCTGCTCTTGCACTCCAGAAAGTCAGATTGACCTG		628	
Ran3B-2	CTAGAAAACCTTGACGGGGACCCAAATCTTCACTTTGTTGAATCACCTGCTCTTGCACTCCAGAAAGTCAGATTGACCTG		640	
Ran3D-1	CTAGAAAACCTTGACGGGGACCCAAATCTTCACTTTGTTGAATCACCTGCTCTTGCACTCCAGAAAGTCAGATTGACCTG		615	
Ran3A-2	GCTGCACAGCAACAGCATGAGGCAGAACTGGCTGCAGCCGCTGCCAGCCTCTTCC	TGATGATGATGATGATGATGATTTGA	720	
Ran3A-3	GCTGCACAGCAACAGCATGAGGCAGAACTGGCTGCAGCCGCTGCCAGCCTCTTCC	TGATGATGATGATGATGATGATTTGA	720	
Ran3A-4	GCTGCACAGCAACAGCATGAGGCAGAACTGGCTGCAGCCGCTGCCAGCCTCTTCC	TGATGATGATGATGATGATGATTTGA	695	
Ran3B-1	GCTGCACAGCAACAGCATGAGGCAGAACTGGCTGCAGCCGCTGCCAGCCTCTTCC	TGATGATGATGATGATGATGATTTGA	708	
Ran3B-2	GCTGCACAGCAACAGCATGAGGCAGAACTGGCTGCAGCCGCTGCCAGCCTCTTCC	TGATGATGATGATGATGATGATTTGA	720	
Ran3D-1	GCTGCACAGCAACAGCATGAGGCAGAACTGGCTGCAGCCGCTGCCAGCCTCTTCC	TGATGATGATGATGATGATGATTTGA	695	
Ran3A-2	TTAGGATTTTCTGGTTCAAAGTCAAGTTCAAGTTCAGTGAGGTCCTC	CAGAGTCGTTGAGCAGTCTTTTAAGTGTGTAACCAT	800	
Ran3A-3	TTAGGATTTTCTGGTTCAAAGTCAAGTTCAGTGAGGTCCTC	CAGAGTCGTTGAGCAGTCTTTTAAGTGTGTAACCAT	798	
Ran3A-4	TTAGGATTTTCTGGTTCAAAGTCAAGTTCAGTGAGGTCCTC	CAGAGTCGTTGAGCAGTCTTTTAAGTGTGTAACCAT	773	
Ran3B-1	TTAGGATTTTCTGGTTCAAAGTCAAGTTCAGTGAGGTCCTC	CAGAGTCGTTGAGCAGTCTTTTAAGTGTGTAACCAT	788	
Ran3B-2	TTAGGATTTTCTGGTTCAAAGTCAAGTTCAGTGAGGTCCTC	CAGAGTCGTTGAGCAGTCTTTTAAGTGTGTAACCAT	800	
Ran3D-1	TTAGGATTTTCTGGTTCAAAGTCAAGTTCAGTGAGGTCCTC	CAGAGTCGTTGAGCAGTCTTTTAAGTGTGTAACCAT	775	
Ran3A-2	***			
Ran3A-2	TTACAGGGGTTTTTACTTGC CAAGGAGTTGAGCTTTTAATCTG	AAAAGTGA	TGTAGAGTAGATGGATTAATTGGT	874
Ran3A-3	TTACAGGGGTTTTTACTTGC CAAGGAGTTGAGCTTTTAATCTG	AAAAGTGA	TGTAGAGTAGATGGATTAATTGGT	878
Ran3A-4	TTACAGGGGTTTTTACTTGC CAAGGAGTTGAGCTTTTAATCTG	AAAAGTGA	TGTAGAGTAGATGGATTAATTGGT	853
Ran3B-1	TTACAGGGGTTTTTACTTGC CAAGGAGTTGAGCTTTTAATCTG	AAAAGTGA	TGTAGAGTAGATGGATTAATTGGT	868
Ran3B-2	TTACAGGGGTTTTTACTTGC CAAGGAGTTGAGCTTTTAATCTG	AAAAGTGA	TGTAGAGTAGATGGATTAATTGGT	880
Ran3D-1	TTACAGGGGTTTTTACTTGC CAAGGAGTTGAGCTTTTAATCTG	AAAAGTGA	TGTAGAGTAGATGGATTAATTGGT	855
Ran3A-2	TCGAGGCTTTTGCCTTCA			892
Ran3A-3	TCGAGGCTTTTGCCTTCA	TATGCAGCAGAATTTGTTGGTAAAAA		938
Ran3A-4	TCGAGGCTTTTGCCTTCA	TATGCAGCAGAATTTGTTGGTAAAA		897
Ran3B-1	TCGAGGCTTTTGCCTTCA			886
Ran3B-2	TCGAGGCTTTTGCCTTCA			898
Ran3D-1	TCGAGGCTTTTGCCTTCA			873

图1 *MusaRan* 基因的核苷酸序列比对

序列间存在差异的碱基用黑色和灰色阴影标出,起始密码子用下划线标出,终止密码子用星号标出

Fig. 1 Multiple alignments of nucleotide acid sequence of *MusaRan* genes from *Musa*

Different bases between sequences were indicated with black and gray shade, start codons were indicated with underline, termination condons were indicated with asterisk

图2 香蕉与拟南芥 *Ran* 蛋白氨基酸序列比对

A~H. 为小果野蕉基因组预测的 *Ran* 蛋白, GTP 结合与水解结构域 (G1 - G5) 以粗线表示。RanGAP 结合结构域和酸性 C 末端区域分别以星号 and 三角形表示。

Fig. 2 Multiple alignments of RAN sequences from *Musa* and *Arabidopsis*

A to H. were predicted *Ran* proteins from *Musa* genome, Conserved GTP binding and hydrolysis domains (G1-G5) were indicated by bold lines. The effector-binding domain (RanGAP-binding) and the acidic C-terminal region (acidic tail) are indicated with asterisks and triangles, respectively.

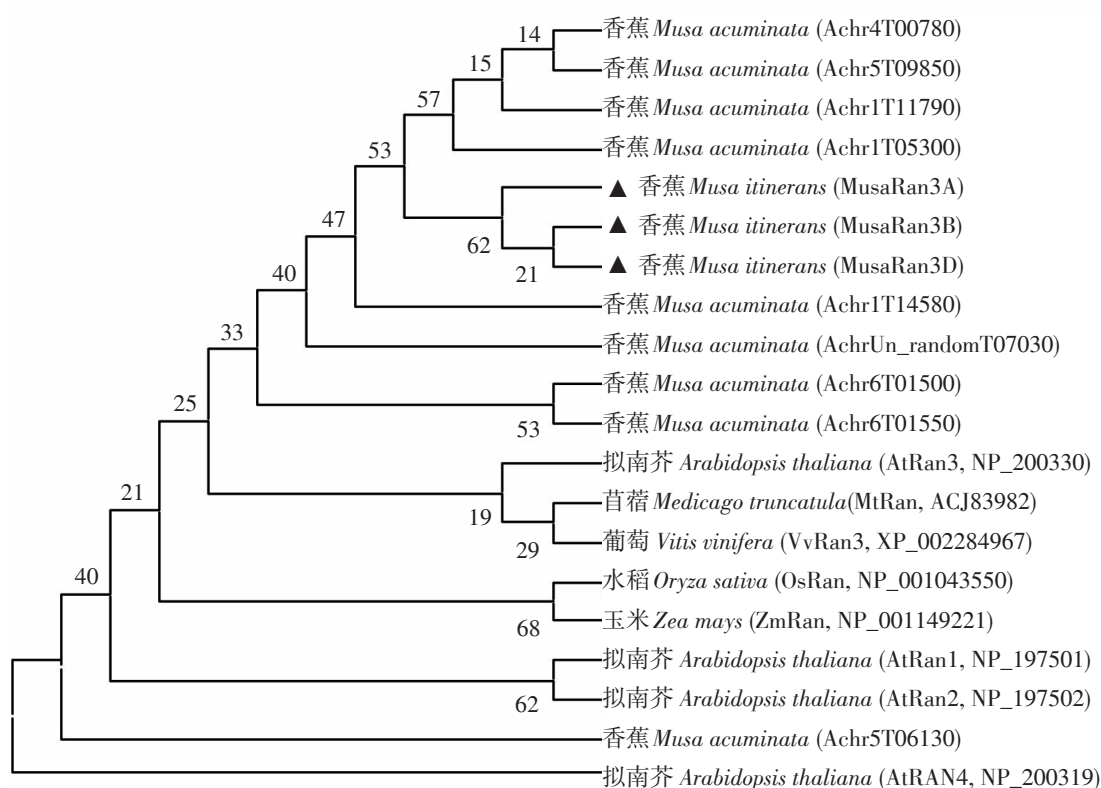


图3 MusRan与其他植物Ran蛋白的系统进化分析

Fig. 3 Phylogenetic relationships of Ran proteins from *Musa* and selected plant species

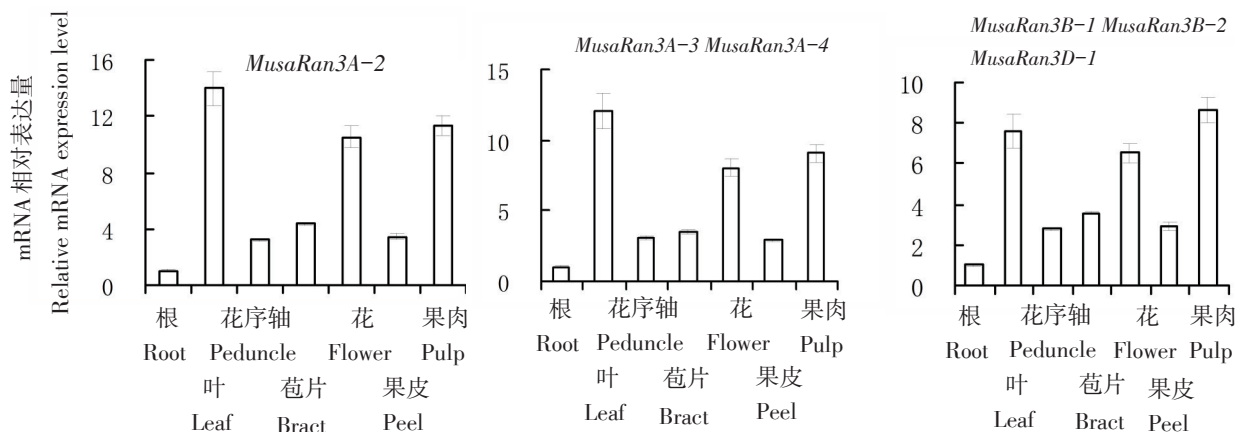
以上结果均表明, *MusaRan3A-2*、*MusaRan3A-3*、*MusaRan3A-4*、*MusaRan3B-1*、*MusaRan3B-2* 和 *MusaRan3D-1* 为 *Ran* 基因序列。

2.3 三明野生蕉 *Ran* 基因表达的组织特异性分析

采用实时荧光定量PCR对三明野生蕉不同组织中 *Ran* 基因的转录水平进行分析,发现三明野生蕉 *Ran* 基因在根、叶片、花序轴、苞片、花、果皮和果肉中均有表达,在根、花序轴、苞片和果皮中的表达

量较低,其中以根中的表达量最低,叶片、花和果肉中的表达量较高(图4),表明三明野生蕉 *Ran* 基因的表达具有显著的组织特异性。*Ran* 基因在根中的表达量最低可能与本研究以老根而非生长旺盛的幼根为材料进行分析有关。三明野生蕉 *Ran* 基因在叶片、花和果肉的高表达可能与这些组织中细胞分裂较为旺盛有关。

2.4 低温胁迫下三明野生蕉 *Ran* 基因的表达分析

图4 三明野生蕉 *Ran* 基因在不同组织中的表达分析Fig. 4 Expression analysis of *MusaRans* in different tissues of Sanming yesheng jiao

采用不同温度(0℃、4℃、13℃、20℃和28℃)处理组培苗,并分析不同低温条件对三明野生蕉 *Ran* 基因表达的影响。结果表明,当温度降到20℃时, *MusaRan3A-2* 的表达量明显上升,而当温度低于20℃时, *MusaRan3A-2* 的表达量随着温度的降低而下降。在28℃到13℃之间, *MusaRan3A-3*、*MusaRan3A-4*、*MusaRan3B-1*、*MusaRan3B-2* 和 *Musa-*

Ran3D-1 的表达量随着温度的降低而升高,当温度低于13℃时, *MusaRan3A-3*、*MusaRan3A-4*、*MusaRan3B-1*、*MusaRan3B-2* 和 *MusaRan3D-1* 的表达量随着温度的降低而下降(图5)。以上结果表明,三明野生蕉 *Ran* 基因与低温胁迫的响应有关,且不同转录本对低温的响应模式存在一定的差异。

为了进一步了解低温对三明野生蕉 *Ran* 基因表

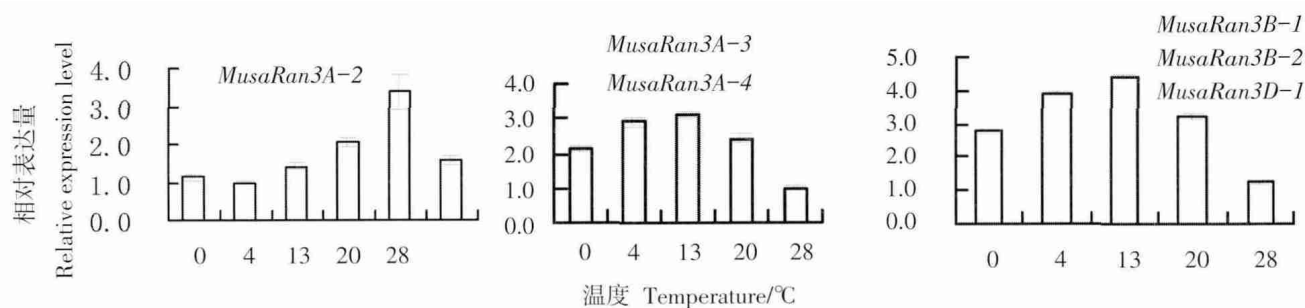


图5 低温胁迫下三明野生蕉 *Ran* 基因的表达分析

Fig. 5 Expression analysis of *MusaRans* under low temperature stresses

达的影响,分析了8℃处理过程中三明野生蕉 *Ran* 基因的表达情况。结果如图6所示。在低温处理的前4 h, *MusaRan3B-1*、*MusaRan3B-2* 和 *MusaRan3D-1* 的表达量略有上升,处理8 h后表达量迅速降低到最低水平,并维持在较低的水平。 *MusaRan3A-2*、*MusaRan3A-3*、*MusaRan3A-4* 和 *MusaRan3C-1* 的表

达量在8℃处理1 h后有所降低,处理4 h后其表达量与对照的表达量相当;与其他 *MusaRan* 基因相似,处理8 h后 *MusaRan3A-3*、*MusaRan3A-4* 和 *MusaRan3C-1* 的表达量迅速降低到最低水平,并维持在较低的水平。以上结果表明,三明野生蕉 *Ran* 基因与低温胁迫的响应有关,且不同转录本对低温的响

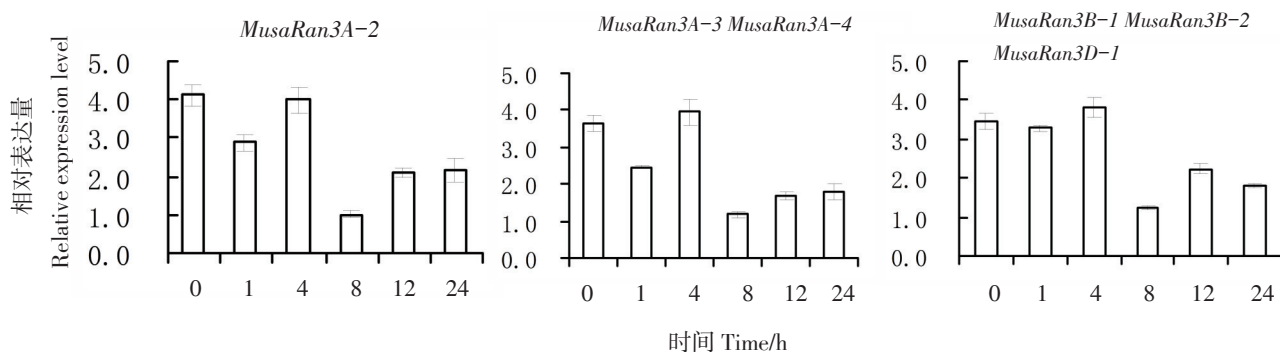


图6 8℃处理条件下三明野生蕉 *Ran* 基因的表达分析

Fig. 6 Expression analysis of *MusaRans* under 8 °C treatment

应模式存在一定的差异。

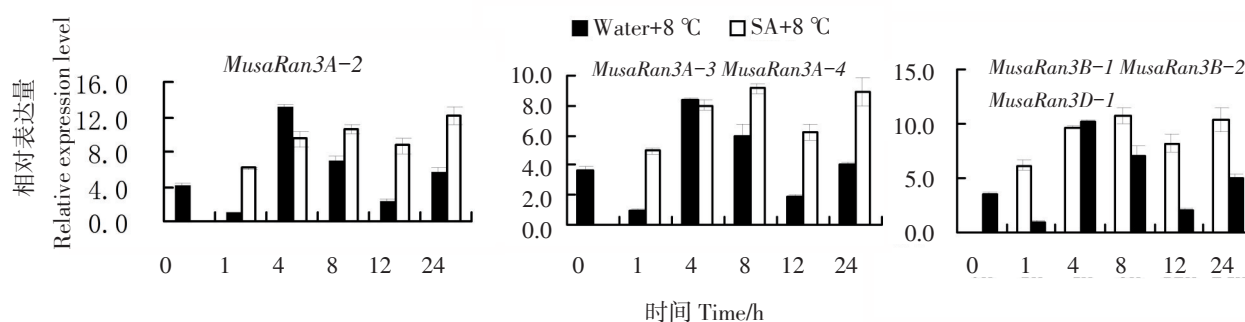
2.5 SA 处理对三明野生蕉 *Ran* 基因表达的影响

研究进一步分析了SA处理对三明野生蕉 *Ran* 家族基因表达的影响。从图7中可以看出,SA可显著提高8℃处理1 h、8 h、12 h、24 h时三明野生蕉组培苗 *MusaRan3A-2*、*MusaRan3A-3*、*MusaRan3A-4*、*MusaRan3B-1*、*MusaRan3B-2* 和 *MusaRan3D-1* 的表达量。相反地,SA使8℃处理4 h时 *MusaRan3A-2*、*MusaRan3A-3*、*MusaRan3A-4*、*MusaRan3B-1*、*Musa-*

Ran3B-2 和 *MusaRan3D-1* 的表达量出现不同程度的降低。以上结果表明,三明野生蕉 *Ran* 家族基因与低温胁迫下SA的信号转导有关。

3 讨论

在胁迫条件下,植物只能通过基因表达的重编程,调整自身代谢和结构以适应环境。各种环境信号通过特异调控蛋白传导到细胞核中以启动相关基因的转录。转录完成后还需要将mRNA运出细胞核

图7 水杨酸处理条件下三明野生蕉 *Ran* 基因的表达分析Fig. 7 Expression analysis of *MusaRans* under SA treatment

并翻译成蛋白质。可见,植物响应外界环境条件的变化离不开物质的核质转运。蛋白的核质分区是调控植物温度胁迫等信号转导途径的重要方式^[21]。核质转运是植物响应激素、胁迫和环境变化等的信号转导途径中的一个关键步骤^[22]。miRNA等非编码RNA在植物响应胁迫的过程中扮演着重要的角色^[23]。*Ran*与蛋白质和RNA的核质转运之间密切相关。因此,本研究从三明野生蕉中分离得到6条*Ran*基因cDNA序列,并对其在不同组织中和低温胁迫条件下的表达情况进行分析,有助于了解香蕉*Ran*基因与胁迫响应的关系,为进一步研究*Ran*基因在植物胁迫响应过程中的功能与作用机制奠定基础。

3.1 三明野生蕉 *Ran* 基因可能与细胞分裂有关

在动物上,有大量研究结果表明*Ran*在快速分裂的组织中大量表达,在细胞分裂过程中扮演重要的角色^[24-26]。与动物上的研究结果相似,*Ran*在植物分生组织中的表达水平较高^[5,27]。Wang等^[3]研究发现超表达*TaRAN1*可使拟南芥原分生组织、根尖分生组织中的细胞数量和分蘖数量增加,削弱顶端优势。该结果表明植物*Ran*也与细胞分裂密切相关。与之一致的是,本研究发现三明野生蕉*Ran*基因在叶片、花和幼果果肉中的表达量较高。此外,序列分析结果表明,三明野生蕉*Ran*蛋白MusaRan3A, MusaRan3B和MusaRan3D均与其他植物的*Ran*蛋白高度同源,这意味着它们可能具有相似的功能。因此,三明野生蕉*Ran*基因可能在细胞分裂中发挥着重要作用。

3.2 三明野生蕉 *Ran* 基因参与低温胁迫响应

香蕉对低温极为敏感,如果实在11℃下就容易发生冷害^[28]。我国香蕉主要分布于易发生低温寒流的亚热带北缘区域,低温是影响我国香蕉产业发展的一个重要限制因素^[29]。近年来,在我国南方亚热带香蕉种植区域冬春寒流频发,导致香蕉减产、迟

产、劣产,甚至全园绝收^[30]。开展香蕉对低温胁迫的响应机制的研究可以为通过栽培措施和遗传改良提高香蕉抗性提供科学依据。本研究对三明野生蕉*Ran*基因在低温胁迫下的表达情况进行分析,发现低温胁迫可显著影响三明野生蕉*Ran*基因的表达,且不同转录本对低温的响应模式存在一定的差异。该结果表明三明野生蕉*Ran*基因与低温胁迫有关,这与Paul等^[31]的研究结果一致。Chen等^[7]研究发现4℃低温处理可显著提高水稻*OsRAN2*的转录水平。本研究中不同*MusaRan*转录本的表达也受低温处理的影响。但与Chen等^[7]的研究结果不同的是,在8℃低温处理8h后,不同*MusaRan*转录本的表达量均显著下降,并维持在较低水平。这种差异这可能与物种和低温处理所用的温度不同有关。同时,不同基因在低温胁迫响应过程中的作用可能有所不同。*Ran*基因在植物胁迫响应过程中的具体功能与作用机制还有待进一步研究。

3.3 三明野生蕉 *Ran* 基因与水杨酸信号转导有关

水杨酸是一种广泛存在于植物中的能够在逆境中参与植物胁迫响应的酚类物质^[32],在植物胁迫响应与信号转导中扮演着重要的角色^[33]。Kang等^[34]研究发现水杨酸可提高香蕉苗对低温胁迫的抗性。本研究采用0.5 mmol·L⁻¹水杨酸处理三明野生蕉组培苗,发现水杨酸处理可显著提高不同三明野生蕉*MusaRan*转录本的表达量,该结果表明*MusaRan*与水杨酸的信号转导有关。然而*MusaRan*在水杨酸信号转导通路中所处的位置和具体作用还有待进一步研究。

参考文献 References:

- [1] CLARKE P R, ZHANG C. Spatial and temporal coordination of mitosis by *Ran* GTPase[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2008, 9(6): 464-477.
- [2] HE H, WANG Q, ZHENG W, WANG J, SONG Q Z. Function of nuclear transport factor 2 and *Ran* in the 20E signal transduction

- pathway in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*[J]. BMC Cell Biology, 2010, 11(1): 1.
- [3] WANG X, XU Y, HAN Y, BAO S, DU J, MING Y, XU Z, CHONG K. Overexpression of *RAN1* in rice and *Arabidopsis* alters primordial meristem, mitotic progress, and sensitivity to auxin[J]. Plant Physiology, 2006, 140(1): 91–101.
- [4] WANG Xin. Functional analysis of TaRAN1, a small GTP-binding protein during cell cycle and development in plant[D]. Beijing: Chinese Academy of Sciences, 2004.
王昕. 一种小G蛋白TaRAN1在植物细胞周期和发育过程中的功能研究[D]. 北京: 中国科学院, 2004.
- [5] LYU S, FAN Y, JIN C. Overexpression of a Ran GTPase homologous gene, *FaRan* from tall fescue, in transgenic *Arabidopsis*[J]. Biologia Plantarum, 2011, 55(2): 331–334.
- [6] ZANG A, XU X, NEILL S, CAI W. Overexpression of *OsRAN2* in rice and *Arabidopsis* renders transgenic plants hypersensitive to salinity and osmotic stress[J]. Journal of Experimental Botany, 2010, 61(3): 777–789.
- [7] CHEN N, XU Y, WANG X, DU C, DU J, YUAN M, XU Z, CHONG K. *OsRAN2*, essential for mitosis, enhances cold tolerance in rice by promoting export of intranuclear tubulin and maintaining cell division under cold stress[J]. Plant, Cell & Environment, 2011, 34(1): 52–64.
- [8] XU C, HUANG B. Root proteomic responses to heat stress in two *Agrostis* grass species contrasting in heat tolerance[J]. Journal of Experimental Botany, 2008, 59(15): 4183–4194.
- [9] KAZUYA Y, AKIKO M, MASAYOSHI K, AKIHO Y, KINYA A. Programmed proteome response for drought avoidance/tolerance in the root of a C3 *Xerophyte* (wild watermelon) under water deficits[J]. Plant and Cell Physiology, 2008, 49(2): 226–241.
- [10] MAHONG B, ROYTRAKUL S, PHAONAKLOP N, WONGRATANANA J, YOKTHONGWATTANA K. Proteomic analysis of a model unicellular green alga, *Chlamydomonas reinhardtii*, during short-term exposure to irradiance stress reveals significant down regulation of several heat-shock proteins[J]. Planta, 2012, 235(3): 499–511.
- [11] YAN Yuanyuan, WANG Jingyi, FENG Suping, CHEN You, WU Yaoting. Construction and primary analysis of a SSH cDNA library of the young fruit of banana[J]. Journal of Fruit Science, 2013, 30(3): 373–380.
颜园园, 王静毅, 冯素萍, 陈友, 武耀廷. 香蕉幼果 SSH 文库构建及初步分析[J]. 果树学报, 2013, 30(3): 373–380.
- [12] BAKRY F, CARREEL F, JENNY C, HORRY J P. Genetic improvement of banana[C]//JAIN S M, PRIYADARSHAN P M. Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species. Springer New York, 2009.
- [13] CHEN Yaping, CHEN Yunfeng, HUANG Xia, XIAO Wang, HUANG Xuelin. PCR-RFLP analysis of three wild bananas and their resistance to *Fusarium* Wilt[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2008, 35(1): 19–26.
陈雅平, 陈云凤, 黄霞, 肖望, 黄学林. 3个野生香蕉株系的PCR-RFLP分析及其对枯萎病抗性的研究[J]. 园艺学报, 2008, 35(1): 19–26.
- [14] LAI Zhongxiong, CHEN Yuan, LIN Yuling, ZHAO Qiaoyang, CHEN Yiting. Discovery and taxonomy of wild banana (*Musa* spp., ‘AA’ Group) in Fuzhou[J]. Subtropical Agriculture Research, 2007, 3(1): 1–5.
赖钟雄, 陈源, 林玉玲, 赵巧阳, 陈义挺. 福州野生蕉 (*Musa* spp., AA Group) 的发现及其分类学地位的初步确定[J]. 亚热带农业研究, 2007, 3(1): 1–5.
- [15] LAI Zhongxiong, CHEN Yuan, LIN Yuling, ZHAO Qiaoyang, CHEN Yiting, ZHANG Zhitong. Investigation of basic biological characteristics of wild banana (*Musa* spp., ‘AB’ Group) in Sanming City[J]. Subtropical Agriculture Research, 2007b, 2(4): 241–244.
赖钟雄, 陈源, 林玉玲, 赵巧阳, 陈义挺, 张知通. 三明野生蕉基本生物学特性调查[J]. 亚热带农业研究, 2007b, 2(4): 241–244.
- [16] ZHANG Rui. RAPD analysis, *in vitro* culture and cloning of *SOD* gene of the banana (*Musa* Spp.) germplasm in Fujian province[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2011.
张锐. 福建野生蕉资源 RAPD 分析, 离体培养与 SOD 基因克隆[D]. 福州: 福建农林大学, 2011.
- [17] LIN Y, LAI Z. Reference gene selection for qPCR analysis during somatic embryogenesis in longan tree[J]. Plant Science, 2010, 178(4): 359–365.
- [18] D’HONT A, DENOEU D, AURY J M, BAURENS F C, CARREEL F, GARSMEUR O, NOEL B, BOCS S, DROC G, ROUARD M, SILVA C DA, JABBARI K, CARDI C, POULAIN J, SOUQUET M, LABADIE K, JOURDA C, LENGELLE J, RODIERGOUD M, ALBERTI A, BERNARD M, CORREA M, AYYAMPALAYAM S, MCKAIN M R, LEEBENS-MACK J, BURGESS D, FREELING M, MBEGUIE A MBEGUIE D, CHABANNES M, WICKER T, PANAUD O, BARBOSA J, HRIBOVA E, HESLOP-HARRISON P, HABAS R, RIVALLAN R, FRANCOIS P, POIRON C, KILIAN A, BURTHIA D, JENNY C, BAKRY F, BROWN S, GUIGNON V, KEMA G, DITA M, WAALWIJK C, JOSEPH S, DIEVART A, JAILLON O, LECLERCQ J, ARGOUT X, LYONS E, ALMEIDA A, JERIDI M, DOLEZEL J, ROUX N, RISTERUCCI A M, WEISSENBAACH J, RUIZ M, GLASZMANN J C, QUETIER F, YAHIAOUI N, WINCKER P. The banana (*Musa acuminata*) genome and the evolution of monocotyledonous plants[J]. Nature, 2012, 488(7410): 213–217.
- [19] TAKAI Y, SASAKI T, MATOZAKI T. Small GTP-binding proteins[J]. Physiological Reviews, 2001, 81(1): 153–208.
- [20] MA Q H. Small GTP-binding proteins and their functions in plants[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2007, 26(4): 369–388.
- [21] MERKLE T. Nucleo-cytoplasmic partitioning of proteins in plants: implications for the regulation of environmental and developmental signalling[J]. Current Genetics, 2003, 44(5): 231–260.
- [22] IRIS M, DAVID E S. Regulation of nucleocytoplasmic trafficking in plants[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2011, 14(5): 538–546.
- [23] CECILIA C C, PALOMAR M, MARIO A V, REYES J, ALEJAN-

- DRAA C. Non-coding RNAs in the plant response to abiotic stress [J]. *Planta*, 2012, 236(4): 943–958.
- [24] QIAO X, PHAM D, LUO H, WU J. Ran overexpression leads to diminished t cell responses and selectively modulates nuclear levels of c-Jun and c-Fos [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(8): 5488–5496.
- [25] XIA F, LEE C W, ALTIERI D C. Tumor cell dependence on Ran-GTP - directed mitosis [J]. *Cancer Research*, 2008, 68(6): 1826–1833.
- [26] ABE H, KAMAI T, SHIRATAKI H, OYAMA T, ARAI K, YOSHIDA K I. High expression of Ran GTPase is associated with local invasion and metastasis of human clear cell renal cell carcinoma [J]. *International Journal of Cancer*, 2008, 122(10): 2391–2397.
- [27] HAIZEL T, MERKLE T, PAY A, FEJES E, NAGY F. Characterization of proteins that interact with the GTP-bound form of the regulatory GTPase Ran in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Journal*, 1997, 11(1): 93–103.
- [28] HE Lihong, CHEN Jianye, WANG Hailan, KUANG Jianfei, LU Wangjin. Cloning and expression analysis of two fragments of *HSP70* cDNA in the peel of banana during storage at high and low temperature [J]. *Journal of Fruit Science*, 2012, 29(2): 241–245.
贺立红, 陈建业, 王海蓝, 邝健飞, 陆旺金. 香蕉果皮 2 个 *HSP70* 基因片段的克隆及其在热激和冷藏过程中的表达 [J]. *果树学报*, 2012, 29(2): 241–245.
- [29] LIU Kai, HU Chunhua, DU Faxiu, ZHANG Yu'e, WEI Yuerong, YI Ganjun. Over-expression of the *arabidopsis CBF1* gene in *Dongguandajiao* (*Musa* spp. ABB group) and detection of its cold resistance [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45(008): 1653–1660.
刘凯, 胡春华, 杜发秀, 张玉娥, 魏岳荣, 易干军. 东莞大蕉超表达拟南芥 *CBF1* 基因及其抗寒性检测 [J]. *中国农业科学*, 2012, 45(008): 1653–1660.
- [30] LIN Guimei, LI Xiaoquan, WEI Shaolong, ZOU Yu, MOU Haifei, LI Chaosheng, WEI Huafang, ZHANG Jinzhong. Investigation on chilling affected banana plantations during early spring season and restoration strategies [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2012, 43(1): 46–49.
林贵美, 李小泉, 韦绍龙, 邹瑜, 牟海飞, 李朝生, 韦华芳, 张进忠. 2011 年早春我国香蕉寒害调查及寒害后恢复对策 [J]. *南方农业学报*, 2012, 43(1): 46–49.
- [31] PAUL A, KUMAR S. Responses to winter dormancy, temperature, and plant hormones share gene networks [J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2011, 11(4): 659–664.
- [32] MUTLU S, KARADAGOGUÖ, ATICI O, NALBANTOGLU B. Protective role of salicylic acid applied before cold stress on antioxidative system and protein patterns in barley apoplast [J]. *Biologia Plantarum*, 2013, 57(3): 507–513.
- [33] MARTÍNEZ C, PONS E, PRATS G, LEÓN J. Salicylic acid regulates flowering time and links defence responses and reproductive development [J]. *The Plant Journal*, 2004, 37(2): 209–217.
- [34] KANG G, WANG C, SUN G, WANG Z. Salicylic acid changes activities of H_2O_2 -metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2003, 50(1): 9–15.

• 新书推介 •

欢迎邮购《果树学报》2014 年增刊(樱桃专刊)

《果树学报》2014 年增刊(樱桃专刊)是中国园艺学会樱桃分会召开的 2014 年中国樱桃年会征集精选的论文集,共收录 42 篇论文,内容包括国内外樱桃研究现状与动态,樱桃产业现状、存在问题及发展建议,樱桃分子生物学、种质资源和遗传育种、栽培生理生态、植物保护与果品质量安全、研究技术方法、新品种选育等,内容丰富,基本上概括了有关樱桃科研和生产的主要及最新研究进展和成果,是一本非常有实际应用价值的樱桃专刊。该专刊可供科研、生产领域的读者参阅。每本 40 元(含挂号邮资费)。

邮购地址:河南省郑州市航海东路南 中国农业科学院郑州果树研究所杂志社,邮编 450009

邮购电话:0371-65330982

