

苹果中 α -法尼烯的代谢途径及其分子调控

李萌 张元湖* 隋娜 孟庆伟

山东农业大学植物科学系, 泰安 271018

Metabolic Pathway and Molecular Regulation of α -Farnesene in Apples

LI Meng, ZHANG Yuan-Hu*, SUI Na, MENG Qing-Wei

Department of Plant Science, Shandong Agricultural University, Taian 271018

提要 概述了苹果中 α -法尼烯在虎皮病诱导和昆虫诱导中的作用、代谢途径及其分子调控机制, 尤其是3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶A还原酶(HMGR)对其合成的调控。

关键词 苹果; α -法尼烯; 虎皮病; 代谢; 分子调控

自1964年, Murray等^[1]从苹果天然蜡质层中鉴定出一种倍半萜物质法尼烯后, 1966年, Huelin和Murray^[2]又进一步查明这种物质是 α -法尼烯([3E, 6E]-3, 7, 11-trimethyl-1, 3, 6, 10-dodecatetraene)。众多实验证实此种物质与苹果贮藏中的生理病害——虎皮病的发生有关, 从而使苹果虎皮病研究进入了新的阶段。

人们在虎皮病研究中还发现 α -法尼烯普遍存在于植物体内, 除苹果外, 蛇麻花、香蕉、橙子、柑橘、柚子^[3]、梨树^[4]、棉花^[5]、玉米^[6]等植物以及蚂蚁、老鼠、地中海果蝇^[7~9]等动物也都有。另外, 还看到 α -法尼烯含量与植物的冷害程度呈正相关, 尤其是与昆虫的诱导性相关, 它是苹果蠹蛾幼虫、成虫的引诱剂^[10~12]。 α -法尼烯与昆虫诱导性研究已成为热点问题。

近几年来, 对 α -法尼烯代谢的研究有了新的进展。Rupasinghe等^[13]发现果皮中 α -法尼烯的生物合成是通过类异戊二烯途径中的甲羟戊酸途径, 而不是通过3-磷酸甘油醛/丙酮酸途径。 α -法尼烯生物代谢调控中的几个关键酶的基因已得到克隆, 研究最多的是3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A还原酶(3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase, HMGR)基因。Rupasinghe等^[14]、Pechous和Whitaker^[15]分别克隆了HMGR的Hmg1、Hmg2和Hmg1、Hmg3基因, 并对其表达特性进行了研究。FPP合成酶和 α -法尼烯合成酶基因也已克隆。现就这几个问题的研究进展作一介绍。

1 苹果中的 α -法尼烯

1.1 α -法尼烯与虎皮病 虎皮病是苹果、梨在低温贮藏中后期发生的最严重的生理病害, 其主要症状是: 在果实表面出现褐色至深褐色的不规则、凹陷形病斑, 形如烫伤, 故又称褐烫病, 亦称晕皮、果皮褐变。早在1903年就有关于虎皮病的报道。1919年, Brooks等^[16]提出苹果的自身代谢产生的挥发性物质致病的理论。60年代末、70年代初, 掀起了一个虎皮病研究的高潮。1966年, Huelin和Murray^[2]证实 α -法尼烯与虎皮病的发生相关。1968年, Huelin和Coggiola^[17]证实虎皮病可能是由 α -法尼烯的氧化产物引起的。1969年, Anet^[18]鉴定此物质为共轭三烯。1970年, Huelin和Coggiola^[19~21]比较施用与未施用二苯胺果实果皮中的 α -法尼烯在贮藏过程中变化曲线时, 发现抗氧化物质二苯胺可抑制 α -法尼烯的氧化并降低虎皮病的发生率, 且经 α -法尼烯的氧化产物处理的苹果出现了虎皮病症状。

虽然以共轭三烯含量代表 α -法尼烯氧化产物来说明虎皮病发生程度的事实或依据很多, 但也有相反的报道^[22~25]。例如: 贮藏在20℃左右的苹果虽大量产生共轭三烯, 但几乎不发生虎皮病; 同一采期苹果中共轭三烯含量相近, 但它们的虎皮病发生程度不同^[22~24]。Rowan等^[26]和Whitaker

收稿 2004-04-07 修定 2004-08-31

资助 山东省优秀中青年奖励基金(31153)。

* 通讯作者(E-mail: yyhahang@sdau.edu.cn, Tel: 0538-8241749)。

等^[27]分别在澳洲青苹和元帅苹果内鉴定了 α -法尼烯的氧化产物(主要是共轭三烯甘油酯), 认为其与虎皮病的发生相关。但是, 最近的研究显示, 共轭三烯甘油酯与虎皮病的发生不相关^[28]。而 α -法尼烯氧化产生的另外一种物质——6-甲基-5-庚烯-2-酮(MH0)则被认为能诱导虎皮病的发生^[28~30]。但Rupasinghe等^[31]则认为MH0与虎皮病的发生无关。Wang和Dilley^[32]发现低温贮藏的所有供试苹果品种在移至20℃时均有MH0产生, 但没有虎皮病发生; 而且, 敏感型和不敏感型果实产生的MH0量相近, 说明MH0并非虎皮病的致病因子。

总之, 众多的实验结果显示, α -法尼烯与虎皮病发生相关并不显著^[33], 但使用洛伐他汀(lovastatin)抑制法尼烯产生后, 虎皮病就不会发生, 说明法尼烯确是诱导虎皮病发生的重要因素^[34]。

1.2 α -法尼烯与昆虫诱导 除了发现 α -法尼烯与虎皮病的发生有关外, 人们还发现 α -法尼烯与昆虫的诱导性有关, 是苹果蠹蛾幼虫与成虫的引诱剂^[9~11]。蠹蛾是世界范围内的梨果类的最严重的一种害虫^[35], 只有在宿主植物存在时, 蠹蛾才能交配与产卵^[36]。

1969年, Murray^[37]从苹果外皮上分离到 α -法尼烯。1970年, Anet^[38]合成了6种 α -法尼烯立体异构体中的3种, 证实(*Z, E*)- α -法尼烯在苹果中占多数, 而(*E, E*)- α -法尼烯占少数。后来发现, 只有(*Z, E*)- α -法尼烯和(*E, E*)- α -法尼烯对蠹蛾的新生幼虫有吸引力, 且可以刺激怀孕的雌蛾产卵^[9, 10, 39, 40]。

1999年, Yan等^[41]发现绿色苹果的挥发性物质可以使蠹蛾繁殖周期提前, 并且可以刺激处女蛾和已交配雌蛾的嗅觉反应。2000年, Landolt等^[42]发现, 苹果果实人工用蠹蛾侵染后, 可以产生更多的(*E, E*)- α -法尼烯, 对新生蠹蛾幼虫更具吸引力。2003年, Yan等^[43]等发现, 应用1和0.1 μg 的 α -法尼烯可提高雌性蠹蛾的召集水平, 使产卵高峰提前, 交配的雌蛾对0.01 μg 的 α -法尼烯反应最高。

苹果的挥发性物质由许多成分混合而成, Sutherland和Hutching^[39]发现, 纯的 α -法尼烯对

幼虫的吸引力和刺激怀孕雌蛾产卵的能力比苹果的自然气味低。这就说明在苹果挥发性物质中还有除 α -法尼烯以外的其它成分起引诱和刺激作用。人们在充分了解苹果挥发性物质的作用机制后, 即可以找到一种控制虫害的新策略^[43]。

2 α -法尼烯的代谢途径

α -法尼烯是一种倍半萜类物质, 倍半萜类物质是由类异戊二烯途径合成的。近年来, 植物类异戊二烯代谢途径的研究取得了突破性进展, 一般认为, 在植物体中存在甲羟戊酸途径和3-磷酸甘油醛/丙酮酸途径两条类异戊二烯的代谢途径^[44](图1)。已证实, 甲羟戊酸途径提供合成倍半萜和三萜的异戊烯基焦磷酸(IPP), 而3-磷酸甘油醛/丙酮酸途径被认为是负责合成质体中类异戊二烯, 包括胡萝卜素、质体醌、叶绿素的异戊二烯基链, 单萜和双萜^[14]。

1969年, Murray^[37]发现 α -法尼烯可能源于一个法尼基或橙花叔基的中间体; 1995年, Salin等^[45]报道*E*- β -farnesene在松叶中由(*E, E*)-法尼基焦磷酸[(*E, E*)-FPP]合成; 还有很多报道表明倍半萜由FPP合成^[46]。

1998年, Rupasinghe等^[13]将苹果果皮的各个部分(表皮、皮层外部、皮层内部)分别进行离体标记, 结果表明: 从(*E, E*)-[1-³H]-FPP到 α -法尼烯的放射性标记的掺入仅限在果皮组织中, 而皮层中没有。这直接证明从FPP到 α -法尼烯的转化是在苹果果皮而不是在皮层中。采后3周由[1-³H]-FPP形成的法尼醇比 α -法尼烯高100倍, 在果皮、外皮层、内皮层3个分离部分的法尼醇量大体一致。由磷酸酶催化的从FPP到法尼醇的转化在其它植物组织中已有报道, 这似乎表明大量法尼醇的存在与果皮组织中FPP到 α -法尼烯转变有关, 法尼醇可能是FPP到 α -法尼烯转变的中间体。

但是, 果皮中己烷提取物的高压液相层析技术(HPLC)分析表明: 法尼醇在果皮的自然产物中并不占优势; (*E, E*)-法尼醇是由(*E, E*)-FPP合成的唯一可能的异构体, 但无论在分离的组织中还是在离体细胞系统中, (*E, E*)-[1-³H]-法尼醇并不能转化为 α -法尼烯。在离体细胞系统中, 随着 Mg^{2+} 浓度的增加, 标记的法尼醇含量减少, 表明法尼醇代谢形成了其它的产物。说明果皮中的 α -法尼



图1 植物体类异戊二烯代谢途径^[44]
(a) 甲羟戊酸途径; (b) 3-磷酸甘油醛/丙酮酸途径。

烯的生物合成通过类异戊二烯途径, FPP 到 α -法尼烯的转化由一个倍半萜合成酶—— α -法尼烯合成酶催化, 而不是以法尼醇为中间产物^[13]。

2001年, Rupasinghe 等^[14]采用掺入放射性标记的 IPP 前体的方法, 同时采用 lovastatin 抑制

HMGR 活性, 证实在贮藏的苹果果皮中的 α -法尼烯积累是通过经典的甲羟戊酸途径(图2), 而不是通过 3-磷酸甘油醛/丙酮酸途径。

以前, 对 α -法尼烯代谢的研究主要集中于 α -法尼烯的氧化及其与虎皮病发生的关系, 近年来, 对 α -法尼烯合成的研究逐渐增多。从以上研究可以看出, α -法尼烯的合成是通过经典的甲羟戊酸途径, 由 α -法尼烯合成酶催化, 经法尼基焦磷酸直接转化而来。由于 α -法尼烯是诱导虎皮病发生的原因, 而虎皮病的发生机制至今不清, 因此, 人们在了解 α -法尼烯合成途径及关键酶以后, 就可以在分子水平上研究虎皮病的发病机制。目前, 这一工作已经有了新的进展。

3 α -法尼烯代谢的分子调控

已知类异戊二烯途径的限速酶是 3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶(HMGR)。HMGR 是真核生物中一个高度保守的酶, 催化 3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A (HMGCoA) 到甲羟戊酸 (mevalonate, MVA) 的转化, 是 IPP 合成的限速酶。HMGR 由一个小的基因家族编码, 主要通过 cDNA 的 3' -UTRs 的序列差异加以区别, 分别命名为 *Hmg1*、*Hmg2*、*Hmg3*。它们编码不同的同

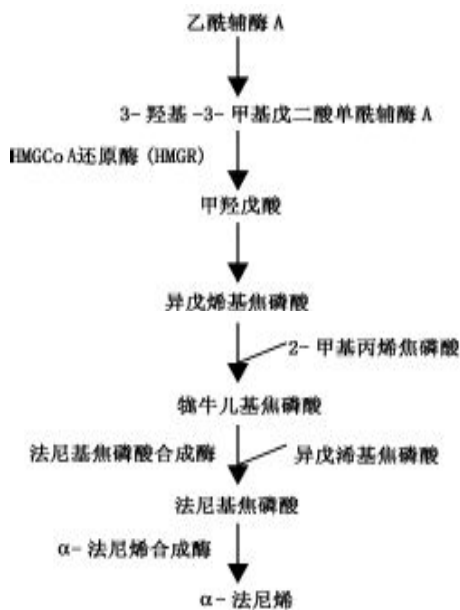


图2 α -法尼烯合成途径^[14]

工酶,受不同的模式调控^[15]。Rupasinghe等^[14]在苹果中克隆了HMGR的*Hmg1*(注册号AF316112)和*Hmg2*(注册号AF315713)cDNA,并对它们的表达特性进行了研究。他们发现,乙烯在采后苹果 α -法尼烯的产生中起很重要的作用,HMGR基因的特异表达可能受乙烯强烈诱导。*Hmg1*在贮存过程中是组成性表达,而*Hmg2* mRNA的积累出现在 α -法尼烯达到高峰和乙烯产量达到最高的时候。他们采用乙烯活动的抑制剂1-甲基环丙烯(1-MCP)对果实进行处理,发现1-MCP完全抑制了*Hmg2*的表达,而只部分地抑制*Hmg1*的表达。

药剂lovastatin不影响乙烯形成而几乎完全抑制 α -法尼烯和虎皮病发生的试验结果并不能说明乙烯不影响 α -法尼烯的形成^[47]。Ju和Curry^[48]发现把整个果食浸在HMGR的抑制剂lovastatin中可以消除 α -法尼烯的产生,同时发现 α -法尼烯的合成需要乙烯诱导的HMGR的转录与翻译。

Pechous等^[15]也在苹果中克隆了HMGR的*Hmg1*(注册号AY043490)和*Hmg3*(注册号AY043491)的cDNA。至此,GenBank已经报道了4个*Hmg1*的cDNA,Blast分析表明这些基因的开放阅读框架的核苷酸序列有98%~99%的同源性。他们还发现, α -法尼烯的合成不大可能通过*Hmg1*的转录调控,这与Rupasinghe等^[14]的结果一致;而*Hmg3*调控 α -法尼烯的合成也不大可能,因为其在组织中的转录水平非常低;而*Hmg2*的表达模式与 α -法尼烯的合成非常相似,在贮存后的前8周中快速增加,然后下降,1-MCP处理时几乎完全抑制它的表达。虽然如此,我们并不能肯定的说*Hmg2*的表达是 α -法尼烯合成唯一重要的方面。Ju和Curry^[48]报道,用放线菌素D处理苹果果皮圆片,可抑制 α -法尼烯的产生,加入MVA可以逆转而加入3-羟基-3-甲基戊二酰(3-hydroxy-3-methylglutaryl, HMG)则否,表明HMGR基因的转录是 α -法尼烯合成的关键。但是,既然HMGR的底物是HMGCoA而不是HMG,这就可以解释恢复 α -法尼烯合成的失败。也可能是乙烯促进了编码FPP合成酶和 α -法尼烯合成酶等基因的表达。

Rupasinghe等^[31]发现,1-MCP抑制乙烯合成的同时也减少了 α -法尼烯的积累,但并不改变 α -

法尼烯合成酶的活性。他们纯化了 α -法尼烯合成酶,并对其特性进行了研究。他们采用离子交换层析和凝胶渗透层析纯化了70倍,并发现此酶在pH 5.6时活性最高,且需二价金属离子 Mg^{2+} 或 Mn^{2+} 激活,酶活在10~20℃时最高,在0℃时保持最大活性的50%。果皮中的 α -法尼烯合成酶在采后活性最小,在空气中于0℃下放置后16周内活性增加,再贮藏则活性下降。他们还发现, α -法尼烯合成酶活性与 α -法尼烯的含量并不总是呈正相关,不同品种苹果间有较大差异。

Pechous等^[49]得到了 α -法尼烯合成酶(AFS-1)的cDNA(注册号AY182241),1728个碱基的开放阅读框架编码一个分子量大概66 kD的蛋白。分析苹果萜类合成酶基因序列的结果表明:它与几种单萜合成酶有很大的相似性。Northern杂交分析表明,在0.5℃下贮藏4周以后,AFS-1的转录增加4倍;而用1-MCP处理后,AFS-1的mRNA在冷藏4周后则快速下降,到第8周则已经几乎检测不到。他们认为,乙烯诱导的AFS-1的表达在低温贮藏前8周, α -法尼烯的释放中起关键作用。

从上述可以看出,HMGR是 α -法尼烯合成途径的第一个限速酶,它对 α -法尼烯的合成起很大的调控作用;另外,还有法尼基焦磷酸合成酶和 α -法尼烯合成酶等基因的表达对 α -法尼烯合成也有调控作用。乙烯则是通过诱导这几个酶基因的表达,进而对 α -法尼烯的合成产生重要影响的。由于 α -法尼烯合成酶直接参与 α -法尼烯的合成,所以 α -法尼烯合成酶基因的功能是目前的研究热点问题。

4 结束语

近年来,随着植物基因工程的发展,苹果的基因转化技术也取得了较大进展,植物基因工程技术在苹果品种改良中起巨大的作用^[50]。这表现在抗病虫害育种、选育矮化苹果品种、培育易生根的品种、选育耐贮运的品种、选育耐除草剂品种等多个方面。目前,已经获得抗虫转基因苹果植株,使用的抗虫基因主要有*Bt*和*CpTI*基因^[51];也有报道称*ipt*基因已转入苹果中以期获得矮化的品种^[52];转反义ACC氧化酶基因、反义ACC合成酶、反义PG基因的植株已经移栽入温室^[53],生

长表现正常, 相信不久会培育出理想的耐贮藏苹果; 另外, 来自拟南芥的 *als* 基因通过农杆菌介导转化皇家嘎拉苹果已经获得转基因植株, 并发现 *als* 基因按 1:1 分离比例稳定遗传^[54]; 还有, 采用基因工程选育耐除草剂苹果品种也将获得成功。由上看来, 虽然很多基因已经成功地转到苹果中, 但在苹果基因转化中还存在再生体系不成熟、转化效率不高、转化的目的基因有限等许多问题。

随着研究的不断深入, α -法尼烯代谢途径的各个酶基因的表达特性将会得到充分的研究。在人们了解了 α -法尼烯代谢的分子调控机制后, 就可以用基因技术对苹果的遗传特性进行改良, 选育出耐虎皮病的品种。采用调控 α -法尼烯合成的关键酶的基因克隆, 可以用反义 RNA 技术, 导入一段反义基因, 抑制其翻译, 以达到控制其合成的目的, 从根本上控制了病害的发生。我们实验室已经得到 α -法尼烯合成酶基因, 序列分析表明它与 Pechous 和 Whitake^[49] 得到的是同一基因, 目前正对其表达特性进行研究, 表达载体的构建工作也在进行中。

参考文献

- Murray KE, Huelin FE, Davenport JB. Occurrence of farnesene in the natural coating of apples. *Nature*, 1964, 204:80
- Huelin FE, Murray KE. α -Farnesene in the natural coating of apples. *Nature*, 1966, 210:1260~1261
- Yuen CMC, Tridjaja. Chilling injury development of Tahitian lime, Emperor mandarin, Marsh grape fruit and Valencia orange. *J Sci Food Agr*, 1995, 67:335~339
- Miller RL, Bills DD, Buttery RG. Volatile components from Bartlett and Bradford pear leaves. *J Agr Food Chem*, 1989, 37(6): 1476~1479
- Paul WP, James HT. *De novo* biosynthesis of volatiles induced by insect herbivory in cotton plants. *Plant Physiol*, 1997, 114:1161~1167
- Turlings TCJ, Lengwiler UB, Bernasconi ML et al. Timing of induced volatile emissions in maize seedling. *Planta*, 1998, 207(1): 146~152
- Anet EFLJ. Superficial scald. *CRIRO FD Res Q*, 1974, 34:4~8
- Ma WD, Miao ZS, Novotny MV. Induction of estrus in grouped female mice (*Mus domesticus*) by synthetic analogues of prenuptial gland constituents. *Chem Senses*, 1999, 24(3): 289~293
- Cosse AA, Todd JL, Millar JG et al. Electroantennographic and coupled gas chromatographic electroantennographic responses of the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* to male-produced volatile and mongo odor. *J Chem Ecol*, 1995, 21(1): 1823~1836
- Sutherland OUV, Hutchins RFN. α -Farnesene, a natural attractant for codling moth larvae. *Nature*, 1971, 239(15): 170~171
- Bradley SJ, Suckling DM. Factors influencing codling moth larvae response to α -farnesene. *Entomol Exp Appl*, 1995, 75: 221~227
- Hern A, Dorn S. Sexual dimorphism in the olfactory orientation of adult *Cyclia pomonella* in response to alpha-farnesene. *Entom Exp Appl*, 1999, 2(1): 63~72
- Rupasinghe HPV, Paliyath G, Murr DP. Biosynthesis of α -farnesene and its relation to superficial scald development in 'Delicious' apples. *J Am Soc Hortic Sci*, 1998, 123(5): 882~886
- Rupasinghe HPV, Kurt CA, Paliyath G et al. Cloning of *hmg1* and *hmg2* cDNA encoding 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase and their expression and activity in relation to α -farnesene synthesis in apple. *Plant Physiol Biochem*, 2001, 39:933~947
- Pechous SW, Whitaker BD. Cloning and bacterial expression of a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase cDNA (HMG1) from peel tissue of apple fruit. *J Plant Physiol*, 2002, 159:907~916
- Brooks C, Cooley JS, Fisher DF. Apple-scald. *J Agr Res*, 1919, 16(8): 195~197
- Huelin FE, Coggiola IM. Superficial scald, a functional disorder of stored apples. IV. Effect of variety, maturity, oiled wraps and diphenylamine on the concentration of α -farnesene in the fruit. *J Sci Food Agr*, 1968, 19:297~301
- Anet EFLJ. Autoxidation of α -farnesene. *Aust J Chem*, 1969, 22:2403~2410
- Huelin FE, Coggiola IM. Superficial scald, a functional disorder of stored apples. V. Oxidation of α -farnesene and its inhibition by diphenylamine. *J Sci Food Agr*, 1970, 21:44~48
- Huelin FE, Coggiola IM. Superficial scald, a functional disorder of stored apples. VI. Evaporation of α -farnesene from the fruit. *J Sci Food Agr*, 1970, 21:82~86
- Huelin FE, Coggiola IM. Superficial scald, a functional disorder of stored apples. VII. Effect of applied α -farnesene temperature and oxidation of α -farnesene in the fruit. *J Sci Food Agr*, 1970, 21:584~589
- Du ZY, Bramlage WJ. A modified hypothesis on the role of conjugated trienes in superficial scald development of stored apples. *J Am Soc Hortic Sci*, 1993, 118(6): 807~813
- Watkins CB, Barden BL, Bramlage WJ. Relationships between α -farnesene, ethylene production and superficial scald development of apples. *Acta Hortic*, 1993, 343:155~160
- Watkins CB, Bramlage WJ, Cregoe BA. Superficial scald of 'Granny Smith' apples is expressed as a typical chilling injury. *J Am Soc Hortic Sci*, 1995, 120(1): 58~94
- Rao MV, Watkins CB, Brown SK et al. Active oxygen species metabolism in 'White Angel' x 'Rome Beauty' apple

- selections resistant and susceptible to superficial scald. *J Am Soc Hortic Sci*, 1998, 123: 299~304
- 26 Rowan DD, Allen JM, Fieder S et al. Identification of conjugated triene oxidation products of α -farnesene in apple skin. *J Agr Food Chem*, 1995, 43:2040~2045
- 27 Whitaker BD, Solomos T, Harrison DJ. Quantification of α -farnesene and its conjugated trienol oxidation products from apple peel by C_{18} -HPLC with UV detection. *J Agr Food Chem*, 1997, 45:760~765
- 28 Whitaker BD, Saftner RA. Temperature-dependent autoxidation of conjugated trienols from apple peel yields 6-methyl-5-hepten-2-one, a volatile implicated in induction of scald. *J Agr Food Chem*, 2000, 48:2040~2043
- 29 Mir NA, Beaudry RM. Effect of superficial scald suppression by diphenylamine application on volatile evolution by stored 'Cortland' apple fruit. *J Agr Food Chem*, 1999, 47:7~11
- 30 Mir NA, Perez R, Beaudry RM. A poststorage burst of 6-methyl-5-hepten-2-one (MHO) may be related to superficial scald development in 'Cortland' apples. *J Am Soc Hortic Sci*, 1999, 124:173~176
- 31 Rupasinghe HPV, Paligath G, Muri DP. Sesquiterpene synthase: partial purification, characterization, and activity in relation to superficial scald development in apples. *J Am Soc Hortic Sci*, 2000, 125:111~119
- 32 Wang ZY, Dilley DR. Hypobaric storage reveals the nature of low temperature induction of superficial scald of apples. *Post Biol Technol*, 2000, 18:191~199
- 33 Emonger VE, Murri DP, Lougheed EC. Preharvest factors that predispose apples to superficial scald. *Post Biol Technol*, 1994, 4:289~300
- 34 Zhang YH, Shu HR. Relationship between ratio of α -farnesene to conjugated trienes, antioxidant activity and scald development on cool-stored apples. *Acta Hortic*, 2003, 501~507
- 35 Suski WS, Sokolowski RJ. Some responses to α -farnesene of newly hatched larvae of the codling moth *Laspeyresia pomonella* L. *Ekologia Polska*, 1985, 33:143~147
- 36 Geier P. The life history of codling moth *Cydia pomonella* (L) (Lepidoptera: Tortricidae) in the Australia capital territory. *Aust J Chem*, 2001, 11:323~367
- 37 Murray KE. α -Farnesene isolation from the natural coating of apples. *Aust J Chem*, 1969, 22:197~204
- 38 Anet EFLJ. Synthesis of (*E,Z*)- α -, (*Z,E*)- α -, and (*Z*)- β -farnesene. *Aust J Chem*, 1970, 23:2101~2108
- 39 Sutherland ORW, Hutchins RFN. Attraction of newly hatched codling moth larvae (*Laspeyresia pomonella*) to synthetic stereoisomers of farnesene. *J Insect Physiol*, 1973, 19: 723~727
- 40 Sutherland ORW, Hutchins RFN, Wearing CH. The role of the hydrocarbon α -farnesene in the behavior of codling moth larvae and adults. In: Browne LB (ed). *Experimental Analysis of Insect Behavior*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer, 1974. 249~263
- 41 Yan F, Witzgall P, Bengtsson M. Behavioral response of female codling moth *Cydia pomonella* to apple volatiles. *J Chem Ecol*, 1999, 25:1343~1351
- 42 Landolt PJ, Brumle JA, Smithhisler CL et al. Apple fruit infested with codling moth are more attractive to neonate codling moth larvae and possess increased amounts of (*E,E*)- α -farnesene. *J Chem Ecol*, 2000, 26:1685~1699
- 43 Yan FM, Marie B, Gyoray M et al. Roles of α -farnesene in the Behavior of codling moth females. *Zeitschrift fur Naturforschung*, 2003, 58:113~118
- 44 陈大华, 叶和春, 李国凤等. 植物类异戊二烯代谢途径的分子生物学研究进展. *植物学报*, 2000, 42(6): 551~558
- 45 Salin F, Pauly G, Charon J et al. Purification and characterization of *trans*- α -farnesene synthase from maritime pine (*Pinus pinaster* Ait) needles. *J Plant Physiol*, 1995, 146: 203~209
- 46 Croteau R, Cane DE. Monoterpene and sesquiterpene cyclases. *Method Enzymol*, 1985, 110:383~405
- 47 苑克俊, 孙玉刚, 张大鹏等. 苹果贮藏期间发生虎皮病的生理生化基础及其防治. *植物生理学通讯*, 2002, 38(5): 505~510
- 48 Ju Z, Curry EA. Lovastatin inhibits α -farnesene biosynthesis and scald development in 'Delicious' and 'Granny Smith' apples and 'Danjou' pears. *J Am Soc Hortic Sci*, 2000, 125: 626~629
- 49 Pechous SW, Whitaker BD. Cloning and functional expression of an (*E,E*)- α -farnesene cDNA from peel tissue of apple fruit. *Planta*, 2004, 219(1):84~94
- 50 秦玲, 王永熙, 李明等. 植物基因转化技术在苹果遗传改良中的应用. *西北植物学报*, 2002, 22(4): 1018~1024
- 51 James DJ, Uratsu S, Cheng JS et al. Acetosyringone and osmoprotectants like betaine or proline synergistically enhance *Agrobacterium*-mediated transformation of apple. *Plant Cell Rep*, 1993, 12:559~563
- 52 Trifonova A, Savova D, Ivanova K. *Agrobacterium*-mediated transformation of the apple cultivar Granny Smith. In: Schmidt H, Kellerhals M (eds). *Progress in Temperate Fruit Breeding*. Netherland: Kluwer Academic Publishers, 1994. 343~347
- 53 Yao JL, Cohen D, Atkinson R et al. Transgenic apple (*Malus domestica*). In: Bajaj YPS (ed). *Biotechnology in Agriculture and Forestry (Vol 44)*. Transgenic Tree. Berlin, Heidelberg, New York: Springer, 1999. 153~170
- 54 Yao JL, Cohen D, Brink RV et al. Assessment of expression and inheritance patterns of three transgenes with the aid of techniques for promoting rapid flowering of transgenic apple trees. *Plant Cell Rep*, 1999, 18:727~732