

# 猕猴桃 PG 基因在果实贮藏过程中的表达及其与硬度的关系

罗 静, 郭琳琳, 黄玉南, 王 超, 乔成奎, 谢汉忠\*, 方金豹\*

(中国农业科学院郑州果树研究所, 郑州 450009)

**摘 要:** 为鉴定猕猴桃果实贮藏过程中参与果胶降解的关键酶多聚半乳糖醛酸酶 (PG) 基因, 以 ‘徐香’ 猕猴桃为试材, 利用转录组测序 (RNA-seq) 和实时荧光定量 (qRT-PCR) 技术, 研究了猕猴桃 PG 基因在不同成熟进程及外源乙烯诱导后果实中的表达变化。根据 RNA-seq 结果, 可以将 37 个 PG 基因在采后不同时期的表达趋势分为 4 类, Achn325011、Achn240441、Achn071601 和 Achn100411, 分别在采后 2、4、6 和 8 d 有表达高峰。鉴于果实硬度在常温贮藏 6 d 较 4 d 时急剧下降, 因此利用 qRT-PCR 重点验证了其中的 2 类 14 个基因, 发现 4 个基因在采后 2 d 和 4 d 明显上调, 与果实硬度在 6 d 时的下降相关。进一步利用外源乙烯处理果实, 发现其中 1 个基因 Achn071601 在处理与对照果实中的差异表达与同时期果实硬度的变化趋势一致, 是猕猴桃关键的 PG 基因。

**关键词:** 猕猴桃; 贮藏; 转录组测序; PG 基因

**中图分类号:** S 663.4

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2018) 05-0865-10

## Relationship Between PG Gene Expression and Fruit Firmness During Kiwifruit Storage

LUO Jing, GUO Linlin, HUANG Yunan, WANG Chao, QIAO Chengkui, XIE Hanzhong\*, and FANG Jinbao\*

(Zhengzhou Fruit Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450009, China)

**Abstract:** RNA-sequence and real-time quantitative polymerase chain reaction (PCR) technique (qRT-PCR) were used to identify the expression of key polygalacturonase (PG) genes involved in pectin degradation in kiwifruit, stored at room temperature at different time periods during storage. The expression pattern of 37 PG genes could be divided into 4 groups according to the RNA-sequence results of different samples stored at room temperature. For example, Achn325011, Achn240441, Achn071601 and Achn100411 genes present a peak expression at 2, 4, 6 and 8 days after harvest. Fourteen PG genes belonging to groups 1 and 4 were verified using the qRT-PCR as a decrease in fruit firmness on the 6 d after storage was observed. Among these PG genes, the expression of 4 genes was related to the fruit firmness change. Moreover, the expression of these 4 genes was also evaluated in kiwifruits treated with exogenous ethylene. The results of ethylene treatment showed that the expression of a single gene called Achn071601 was consistent with the fruit firmness change during the storage period. Therefore,

收稿日期: 2017-12-05; 修回日期: 2018-04-13

基金项目: 中国农业科学院科技创新工程项目 (CAAS-ASTIP-2018-ZFRI-10); 国家农产品质量安全风险评估重大专项

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: xiehanzhong@caas.cn; Tel: 0371-65330995, 0371-65330935)

Achn071601 should be considered as a key PG gene in kiwifruit.

**Keywords:** kiwifruit; storage; RNA-seq; PG gene

猕猴桃是典型的呼吸跃变型果实,有明显的生理后熟过程,采后果实质地易软化,影响其商品性(许淼等,2017)。因此,探讨猕猴桃果实成熟软化机理具有重要意义。

研究表明,果实后熟过程中的硬度下降与细胞壁相关酶的活性有关,因此在生产中常用外源药剂处理抑制猕猴桃采后果实中这些酶的活性,从而延长贮藏期(丁建国等,2003;李佩燕等,2013;李桦等,2017)。陈昆松等(2000)研究发现,猕猴桃果实采收时, $\beta$ -半乳糖苷酶基因表达水平最高,随后呈下降趋势。虽然 $\beta$ -半乳糖苷酶基因的表达可为外源乙烯所诱导,但在果实乙烯跃变期间却没发现 $\beta$ -半乳糖苷酶基因显著的表达变化。Zhang等(2006)利用猕猴桃表达序列标签数据库克隆了脂氧合酶Lox基因家族6个成员,发现它们在猕猴桃果实成熟过程中具有不同的表达谱,AdLox1和AdLox5对乙烯敏感,表达水平随果实内源乙烯积累趋于增强,与Lox酶活性表现一致;同样,这两个基因表达可被外源乙烯所诱导,而其余4个成员则对乙烯不敏感。杨绍兰等(2007)克隆了猕猴桃的 $\alpha$ -expansin(EXP)基因,Northern杂交结果表明AdEXP1在采收当天的果实中表达很弱,随着果实成熟衰老进程加快而表达趋于增强。

多聚半乳糖醛酸酶(Polygalacturonase, PG)是果胶酶的一种,通过催化果胶分子的解聚,促进果实软化(魏潇等,2011)。目前关于PG活性增强与果实成熟软化的关系已经在番茄、苹果(刘静轩等,2017)、梨、葡萄、桃、柿(宋康华等,2010)和香蕉等多个树种上得到证实,也在这些树种上分离出了大量PG基因(高晓铭等,2016)。在猕猴桃上,Wang等(2000)克隆了3个PG基因CkPGA、CkPGB和CkPGC,其中CkPGA和CkPGB在果实和花瓣上均有表达,而CkPGC则仅在成熟果实表达,其表达量可以达到CkPGA和CkPGB的50倍。陈义挺等(2017)以‘米良1号’猕猴桃果实为材料,研究了室温、低温和脱落酸处理下猕猴桃果实硬度的变化,同时对AcPG的表达进行了分析,发现AcPG参与了猕猴桃果实软化过程。

随着高通量测序技术的发展,转录组测序(RNA-Seq)作为一种高效便捷的基因表达分析手段,在不少研究中得到广泛应用。高洁(2013)利用转录组测序对黄肉猕猴桃‘金丰’果实着色过程中相关差异基因的表达进行了解析,发现果实成熟期与转色期之间有1457个差异表达基因,其中12个调控叶绿素合成及14个调控类胡萝卜素合成的基因可能与该黄肉猕猴桃的呈色机理有关。Tang等(2017)对猕猴桃雄性和雌性花进行了转录组测序,共鉴定出2503个差异表达的基因,其中1793个基因在雌花中表现为上调,710个下调。

目前猕猴桃的PG基因多数从表达序列标签库或者同源序列克隆获得,可能导致鉴定到的基因并不全面。为了从转录组水平研究PG基因与猕猴桃果实硬度变化的关系,以中国猕猴桃主栽品种‘徐香’为试材,在果实成熟后进行常温贮藏,对贮藏后不同时期的果肉进行转录组测序,鉴定其中PG基因的表达,并分析PG与硬度变化的关系,为发掘猕猴桃中果实质地性状形成相关的PG基因,解析猕猴桃果实成熟软化的分子机制奠定研究基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料及其贮藏期间果实硬度测定

2016年9月,自猕猴桃主产区河南省西峡县一商品果园采摘6年生‘徐香’猕猴桃(*Actinidia*

*chinensis*) 大小一致、无病虫害的成熟果实, 迅速运至实验室, 常温贮藏 (25 °C、湿度约 60%)。  
贮藏 2、4、6 和 8 d, 分别取 6~8 个果实, 去皮, 采用 FT327 型果实硬度计 (Fruit Test™, 意大利) 测定果实去皮硬度, 随后取混合果肉至液氮冷冻后 -80 °C 保存, 供提取 RNA。

1.2 外源乙烯处理试验

2017 年 10 月, 采摘猕猴桃果实, 以乙烯利 (购自中国农业科学院郑州果树研究所果树生长发育调控中心) 为外源乙烯处理的试剂 (浓度为 500 mg·kg<sup>-1</sup>), 浸果 3 min, 取出晾干, 室温保存。在处理 1~7 d, 每天采用 TA-XT plus 型质构仪 (Stable Micro Systems, 英国) 测定果实去皮硬度, 探头直径 5 mm, 测定速度 2.0 mm·s<sup>-1</sup>, 下降位移 5.0 mm。另取样冷冻保存备用提取 RNA。

1.3 RNA 提取及反转录

利用多糖多酚植物 RNA 提取试剂盒 (华越洋公司, 北京) 提取果肉 RNA, 加 DNase I (TaKaRa 公司, 大连) 去除 DNA, 利用琼脂糖电泳和 NanoDrop 2000 (Thermo, Waltham, MA, USA) 检测 RNA 的纯度, 利用 1st Strand cDNA Synthesis Kit (TAKARA 公司, 大连) 进行反转录合成单链 cDNA。

1.4 RNA-seq

利用单链 cDNA、dNTPs、RNase H 和 DNA polymerase I 合成双链 cDNA, 添加接头, 纯化并构建测序文库, 在 HiSeq 2500 (Illumina, San Diego, CA, USA) 上进行测序, 试剂全部来自 Illumina 公司。测序结果去除接头和低质量序列后, 利用 TopHat 2 (Kim et al., 2013) 软件将序列比对至参考基因组 (Huang et al., 2013), 基因表达量采用 FPKM (Fragments per kb per million reads) 值表示。

1.5 荧光定量 PCR 验证

根据果实硬度的变化, 选择 14 个在采后处理中期有明显上调的基因采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 法进行 RNA-seq 结果的验证, 目的基因和内参 *Actin* 基因特异引物见表 1。  
qRT-PCR 反应试剂盒购自 TaKaRa 生物技术公司, 按照说明书添加适量的 cDNA 模板、引物和荧光染料, 在 ABI7900HT 实时定量 PCR 仪 (ABI, Carlsbad, CA, USA) 上进行反应。程序为 95 °C 3 min; 95 °C 3 s, 60 °C 20 s, 40 个循环; 95 °C 15 s, 60 °C 15 s, 95 °C 15 s。参考 Livak & Schmittgen (2001) 的方法, 根据原始 Ct 值计算目的基因的相对表达量。

表 1 进行验证的 14 个目的基因和内参基因的 qRT-PCR 引物  
Table 1 The primers for reference and 14 specific genes verified by qRT-PCR

基因	Accession	正向引物序列 Forward primer	反向引物序列 Reverse primer	产物大小/bp Product size
<i>Actin</i>		GTGCTCAGTGGTGGTTCAA	GACGCTGTATTTCTCTCAG	126
Achn240441		ACTACAACGAGCATCCCGAT	TCCCTATTACAGACCCCTGG	228
Achn114381		AAGGGCTGTCCGGATTAAGA	GCTTTTGGGTCATAGCCTTC	150
Achn032311		AGCATTCCTCAGGGAGACGA	GTCCCAGTGATGTTCCGGTA	216
Achn057911		GTTGATAACGGAATTTGGCG	GCAATCAATGGCCAATTTTATG	225
Achn071601		GGCAGGTACCCGAAAGAAGA	GATCGGATTGCCAACATTATTC	171
Achn080501		CCAATAACATTCTCAGGGCC	TCCATTGATGGTTCCACCTC	165
Achn100771		GAATGCACAAAGGTGGCTCT	TTGAGACACGTCGACATG	140
Achn118371		TAAAGACATGGCAGGGCG	TCGCTGCATGCGAAATGT	214
Achn144331		TTTCTGAAGTCGAGCTCCCA	ACATCCACACAGGGCAGGTT	175
Achn208711		TAAAGCAACGGTAGCCAGAC	CAATGCGATTATTGACACA	176
Achn228271		TTGCCAAGTCTTGACTCGGA	CATGAAATTGATGGCTGCG	193
Achn236671		TCCTTTCACTTCCATATGCCTG	ACAGCCTGACCATCGGAATC	192
Achn184431		ACTGTGCTTCGTGGTGGTTG	GTGTTTCATCGTCACGCCATC	150
Achn032321		GCATCCACTTGCAGAACTCA	TTTTGTCTTTCCTAGCCCT	165

## 2 结果与分析

### 2.1 PG 基因在染色体上的分布

猕猴桃有 29 条染色体, 根据基因组功能注释结果 (Huang et al., 2013), PG 基因共 37 个, 分布在 17 条染色体 (图 1), 其中第 17 号染色体有 4 个, 第 6、7、12、18 和 20 号染色体各有 3 个, 其他染色体上分布的较少。PG 基因在单个染色体上的分布也没有明显规律, 在第 6、7、11、13、15、17、18 和 20 号染色体上存在 2 个基因成对排列的现象, 其余基因则彼此之间距离较远。

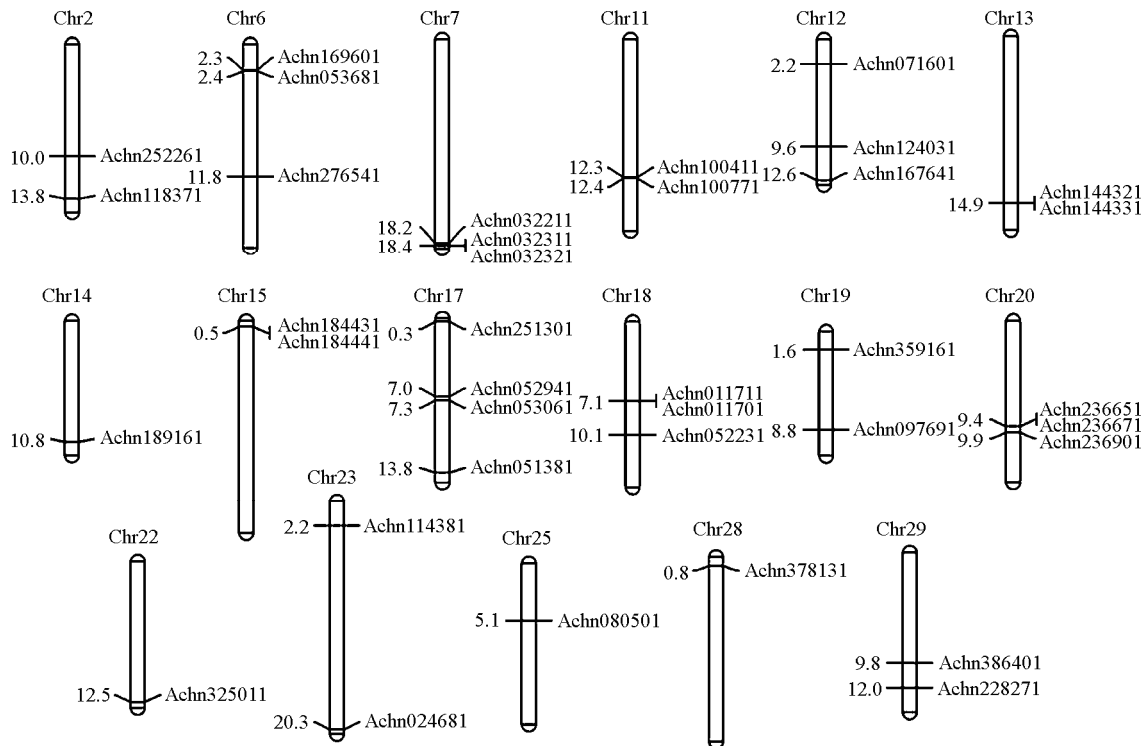


图 1 猕猴桃基因组上 PG 基因的分布  
Fig. 1 The PG genes in kiwifruit genome

### 2.2 常温贮藏过程中果实硬度的变化

如图 2 所示, 常温贮藏 2 d 和 4 d, 果实硬度差异不大, 4 d 时为  $13.56 \text{ kg} \cdot \text{cm}^{-2}$ 。随着贮藏时间的延长, 果实硬度明显下降, 贮藏 6 d 时果实硬度为  $2.01 \text{ kg} \cdot \text{cm}^{-2}$ , 仅为贮藏初期的 14.8%; 贮藏 8 d 与 6 d 时相比变化不明显。

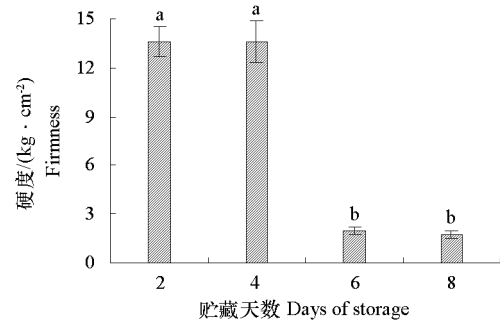


图 2 猕猴桃常温贮藏过程中硬度的变化  
Fig. 2 The change of fruit firmness of kiwi fruit stored with room temperature

### 2.3 常温贮藏过程中 PG 基因的表达变化

在果实贮藏过程中, 转录组测序共检测出 25 109 个表达的基因。其中贮藏 2 d 时表达基因最多, 达到 22 939 个; 4 d 和 8 d 表达基因

分别有 22 156 和 22 165 个; 而 6 d 时 (果实硬度显著下降) 表达基因最少, 仅有 21 670。根据 PG 基因的全基因组注释, 37 个 PG 基因中, 仅有 28 个基因检测到有表达的转录本, 这 28 个基因在不同贮藏期的相对表达量变化如图 3 所示。

根据 28 个 PG 基因在贮藏后不同时期的表达趋势, 将它们分成 4 类 (图 3), 即 1、2、3、4 类基因分别在贮藏 6、8、2 和 4 d 有明显表达。由于猕猴桃果实硬度在贮藏 2 和 4 d 差异不大, 6 和 8 d 之间差异也不明显, 仅在 6 d 有明显下降。鉴于基因表达变化可能出现在表型变化之前, 所以推测第 1 类 (贮藏 6 d 明显表达) 和第 4 类 (贮藏 4 d 明显表达) 基因可能与果实的硬度下降相关。

为验证 RNA-seq 得到的基因表达结果, 选择第 1 类中的 6 个基因 (Achn080501、Achn208711、Achn071601、Achn228271、Achn032311 和 Achn144331) 和第 4 类的 8 个基因 (Achn032321、Achn240441、Achn114381、Achn184431、Achn057911、Achn236671、Achn118371 和 Achn100771) 进行了 qRT-PCR 分析 (图 4)。

从图 4 可以看出, 3 个第 1 类基因 (Achn208711、Achn228271 和 Achn032311) 和 4 个第 4 类基因 (Achn032321、Achn057911、Achn236671 和 Achn118371), 利用 RNA-seq 得到的基因 FPKM 值均小于 1, 表明该类基因表达量非常低, 暗示其可能不是导致果实硬度降低的关键基因。另外的 3 个第 1 类基因 (Achn080501、Achn071601 和 Achn144331) 和 4 个第 4 类基因 (Achn240441、Achn114381、Achn184431 和 Achn100771), 利用 RNA-seq 所得到的基因 FPKM 值均大于 1, 与利用 qRT-PCR 得到的基因相对表达量的相关性分别为 -0.193、0.996、0.931、-0.309、0.431、0.999 和 0.747, 即除了 Achn080501 和 Achn240441 之外, 其余基因的表达结果在两种方法间是比较一致的。其中, 第 4 类基因 Achn184431 利用 qRT-PCR 和 RNA-seq 得到的相对表达量在贮藏第 4 天分别是第 2 天的 1.75 倍和 2.00 倍, 而第 4 类基因 Achn240441 利用 qRT-PCR 和 RNA-seq 得到相对表达量在贮藏后第 4 天分别为第 2 天的 0.94 倍和 2.58 倍; 2 个第 1 类基因 Achn071601 和 Achn144331 在 6 d 也较 4 d 明显上调, 利用 qRT-PCR 得到的相对表达量分别达到 8.41 倍和 7.81 倍; 该结果暗示这 4 个基因可能是导致 ‘徐香’ 猕猴桃果实硬度下降的关键基因。

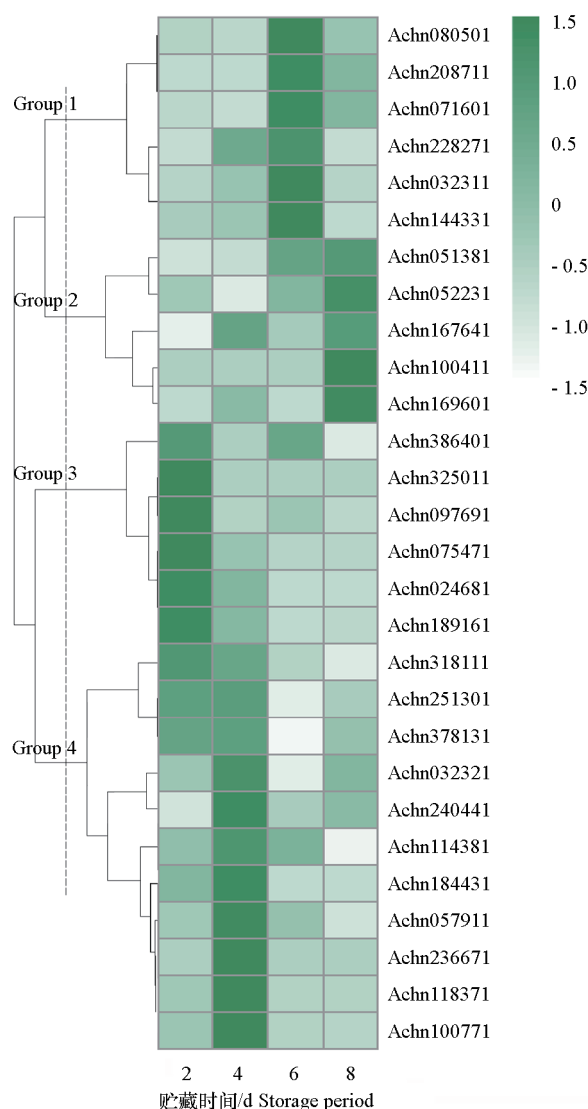
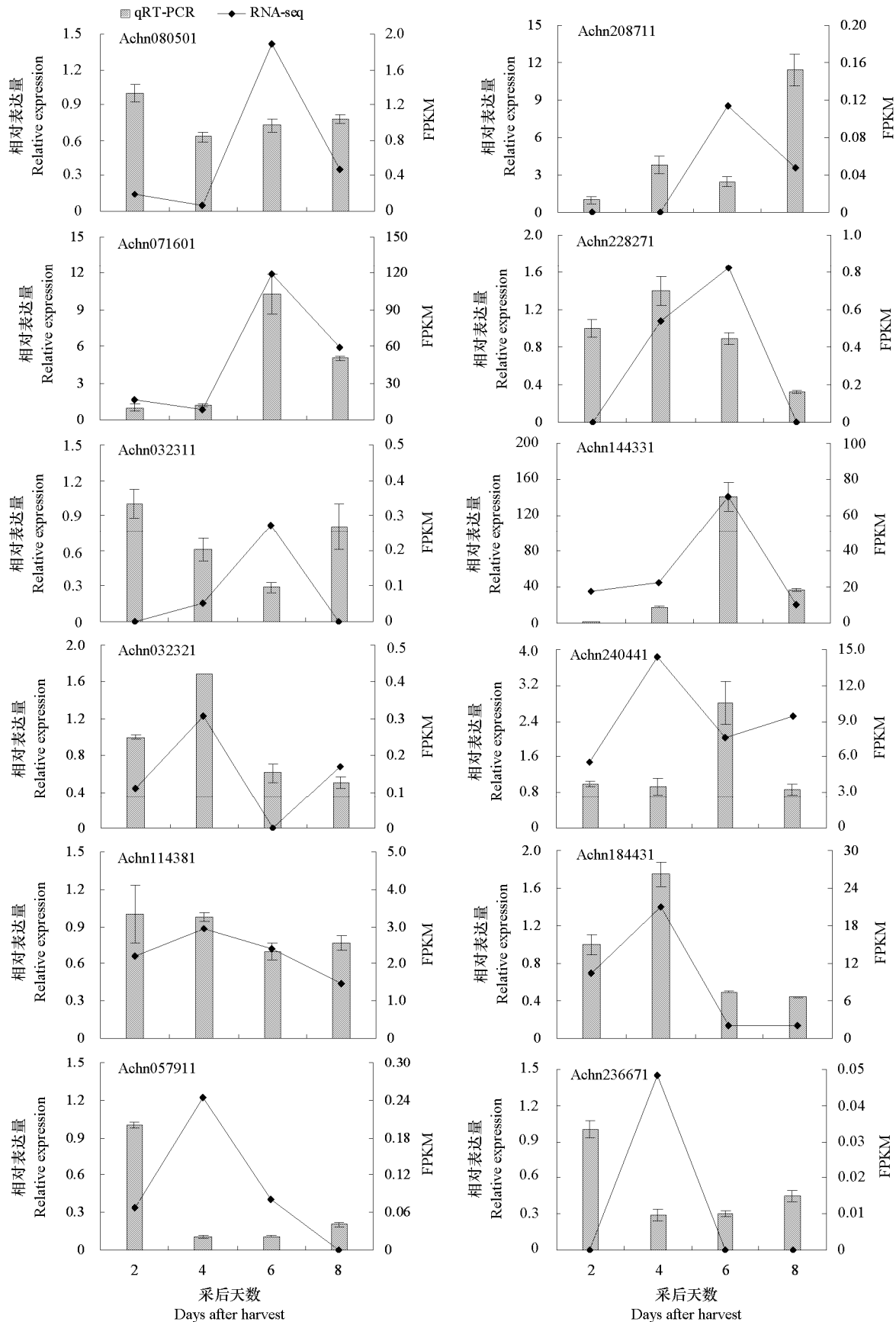


图 3 转录组测序分析猕猴桃果实常温贮藏过程中 PG 基因的表达变化

Fig. 3 The relative expression of PG genes in kiwifruit stored with room temperature using RNA-seq



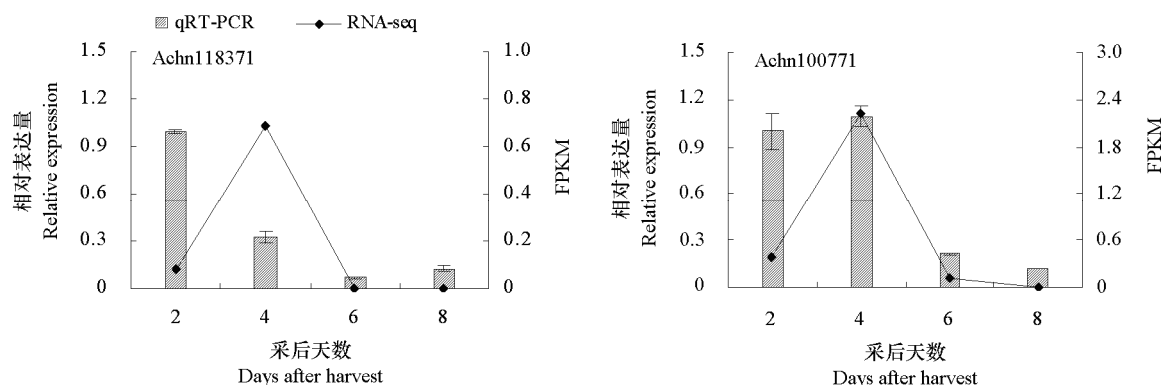


图 4 14 个基因的 qRT-PCR 与 RNA-seq 结果比较

Fig. 4 The comparative expression results between qRT-PCR and RNA-seq of fourteen genes

## 2.4 外源乙烯对 PG 基因表达的诱导作用

PG 基因的表达通常受到乙烯的诱导 (陈昆松 等, 2000; Zhang et al., 2006)。对照果实在贮藏 1 d 和 5 d 时硬度快速下降, 其他时期相对稳定; 而外源乙烯处理的果实硬度持续下降 (图 5)。

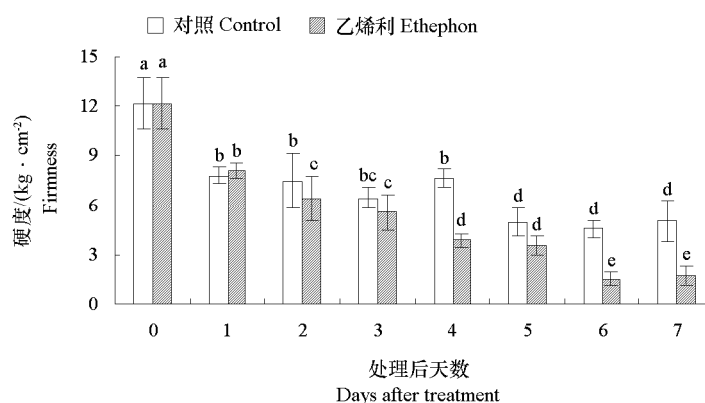


图 5 外源乙烯处理果实硬度的变化

Fig. 5 The firmness change of fruit treated with exogenous ethylene

外源乙烯处理后的果实, 上述 4 个表达差异较大的基因的表达变化如图 6 所示。

对照果实的 Achn184431 基因在贮藏 4 d 时有 1 个明显的高峰, 而外源乙烯处理的 Achn184431 则随着贮藏期的延长呈下降趋势。在整个贮藏期, Achn184431 的表达量虽然在对照与处理间的个别时期差异不明显, 但总体趋势显示对照均高于乙烯处理, 表明其不受外源乙烯的诱导。

对照的 Achn240441 基因在处理 4 d 时有 1 个强度不明显的表达高峰, 而乙烯处理的 Achn240441 的表达量峰值出现在 2 d 时。比较对照与处理果实中该基因的表达, 显示在贮藏 2 ~ 6 d 内, 对照高于处理, 说明其与同时期处理的果实硬度下降无关。

对照的 Achn144331 基因在贮藏 4 d 时出现表达高峰, 而乙烯处理的果实贮藏 2、4 和 6 d 均低于对照, 最高值出现在贮藏 7 d 时。由于外源乙烯处理与对照果实硬度变化最明显的差异出现在乙烯处理后 4 d, 因此, 该基因在贮藏 7 d 的高表达可能与外源乙烯诱导无关。

Achn071601 基因在对照果实贮藏 6 d 时出现表达高峰,而在处理果实中随着贮藏时间的延长呈上升趋势,在 7 d 时表达最高。比较其在对照和处理果实中的表达,发现从采后 2 d 开始, Achn071601 在处理果实的表达均高于对照,与同期果实硬度在处理和对对照果实间的差异一致,暗示其可能是导致果实硬度下降的原因。

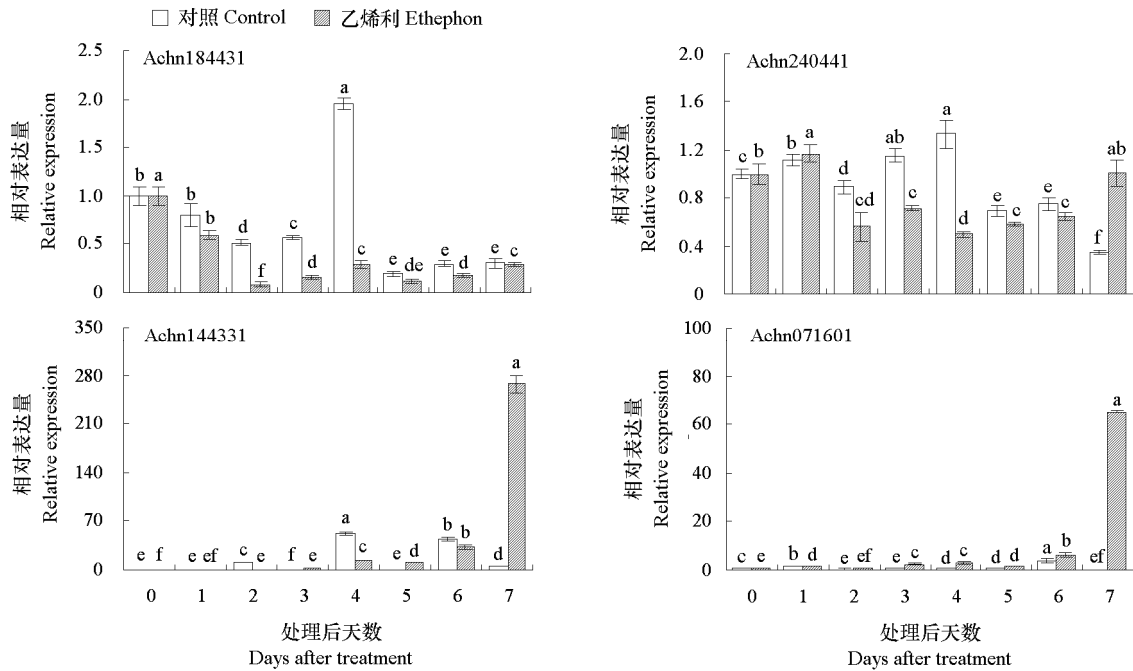


图 6 外源乙烯处理果实后 4 个 PG 基因的表达变化

不同字母表示处理内不同处理时期间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Fig. 6 Expression of 4 PG genes in fruit treated with exogenous ethylene

Different letters mean significant difference at 0.05 level among different storage stages in same treatment.

### 3 讨论

在猕猴桃基因组测序和注释完成之前,对关键基因的克隆多使用图位克隆或者同源克隆的方法。图位克隆依赖遗传图谱的构建和精细定位,进展缓慢;而同源克隆则可能只克隆到某个基因家族中的部分成员,遗漏全基因组的信息。如 Wang 等 (2000) 在猕猴桃中克隆的 3 个基因 *CkPGA*、*CkPGB* 和 *CkPGC*, 分别对应猕猴桃基因组 Achn124031、Achn080501 和 Achn051381 基因。在本研究中, Achn124031 在‘徐香’猕猴桃果实中不表达, Achn080501 虽然有表达,但表达量较低,且 qRT-PCR 显示其在整个果实贮藏过程中变化不明显; Achn051381 在果实贮藏 6 d 有表达,且随着贮藏时间的延长持续上调,趋势与 Wang 等 (2000) 的结果类似。然而 Achn051381 基因在贮藏 8 d 的 FPKM 值仅为 1.33, 表达量远小于同时期本研究新鉴定的 2 个关键基因,如 Achn071601 (59.18) 和 Achn144331 (10.25)。陈义挺等 (2017) 根据猕猴桃转录组数据库克隆到 1 个 PG 基因 *AcPG*, 该基因在猕猴桃‘米良 1 号’果实室温贮藏 7 d 后表达水平急剧下降至贮藏前的 1/5。本研究中发现 *AcPG* 基因对应 Achn118371, 虽然 qRT-PCR 表明其在‘徐香’猕猴桃果实贮藏 6 d 后同样较贮藏 2 d



同样有明显下调, 但表达量较低, 可能并不是导致‘徐香’猕猴桃果实硬度下降的关键基因。

猕猴桃基因组测序于 2013 年完成 (Huang et al., 2013), 为全面系统地研究基因家族的所有成员提供了重要的基础。在本研究中, 基于基因组注释结果可以看出, PG 基因共有 37 个, 远多于前人研究中所涉及的 PG 基因数量。利用 RNA-seq 结合 qRT-PCR 技术, 本研究初步筛选出 4 个表达量较高且在果实常温贮藏条件下硬度变化关键期发生明显上调的 PG 基因; 进一步通过外源乙烯处理猕猴桃果实, 发现其中 Achn071601 的诱导表达与果实硬度的变化密切相关。

综上所述, 本研究利用 RNA-seq 技术从转录组层面鉴定出 4 个与果实硬度变化相关的 PG 基因, 通过外源乙烯处理则推测 Achn071601 可能是‘徐香’猕猴桃中调控果实贮藏期果实硬度变化的重要候选基因。

## References

- Chen Kun-song, Zhang Shang-long, Ross G S. 2000. Expression pattern of  $\beta$ -galactosidase gene in ripening *Actinidia chinensis* fruit. *Acta Phytophysiological Sinica*, 26 (2): 117 – 122. (in Chinese)
- 陈昆松, 张上隆, Ross G S. 2000.  $\beta$ -半乳糖苷酶基因在猕猴桃果实成熟过程的表达. *植物生理学报*, 26 (2): 117 – 122.
- Chen Yi-ting, Lai Rui-lian, Cheng Chun-zhen, Feng Xin, Qu Meng-meng, Liu Ping-yuan, Chen Wen-guang, Wu Ru-jian. 2017. Cloning and expression of polygalacturonase gene (*AcPG*) during fruit softening of kiwifruit (*Actinidia chinensis*). *Journal of Agricultural Biotechnology*, 25 (2): 205 – 213. (in Chinese)
- 陈义挺, 赖瑞联, 程春振, 冯 新, 屈蒙蒙, 刘萍元, 陈文光, 吴如健. 2017. 猕猴桃果实软化过程中 *AcPG* 基因的克隆与表达. *农业生物技术学报*, 25 (2): 205 – 213.
- Ding Jian-guo, Chen Kun-song, Xu Wen-ping, Xu Chang-jie. 2003. Regulation of 1- methylcyclopropene on the ripening and softening of postharvest kiwifruit. *Acta Horticulturae Sinica*, 30 (3): 277 – 280. (in Chinese)
- 丁建国, 陈昆松, 许文平, 徐昌杰. 2003. 1-甲基环丙烯处理对美味猕猴桃果实熟软化的影响. *园艺学报*, 30 (3): 277 – 280.
- Gao Jie. 2013. Studies on variation of the flesh pigments and analysis of transcriptome and DGE in color turning phases of yellow kiwifruit [M. D. Dissertation]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University. (in Chinese)
- 高 洁. 2013. 黄肉猕猴桃果实发育过程中色素变化及转录组与转色期 DGE 分析 [硕士论文]. 南昌: 江西农业大学.
- Gao Xiao-ming, Li Yan-mei, Zhao Yao-zun, Jia Li-jun, Yang Ying-jun. 2016. Recent advance on the relationship between fruit ripening and polygalacturonase gene. *Journal of Hebei Agricultural Science*, 20 (2): 51 – 54. (in Chinese)
- 高晓铭, 李艳梅, 赵要尊, 贾利军, 杨英军. 2016. 多聚半乳糖醛酸酶基因表达与果实成熟. *河北农业科学*, 20 (2): 51 – 54.
- Huang S X, Ding J, Deng D J, Tang W, Sun H H, Liu D Y, Zhang L, Niu X L, Zhang X, Meng M, Yu J D, Liu J, Han Y, Shi W, Zhang D F, Cao S Q, Wei Z J, Cui Y L, Xia Y H, Zeng H P, Bao K, Lin L, Min Y, Zhang H, Miao M, Tang X F, Zhu Y Y, Sui Y, Li G W, Sun H J, Yue J Y, Sun J Q, Liu F F, Zhou L Q, Lei L, Zheng X Q, Liu M, Huang L, Song J, Xu C H, Li J W, Ye K Y, Zhong S L, Lu B R, He G H, Xiao F M, Wang H L, Zheng H K, Fei Z J, Liu Y S. 2013. Draft genome of the kiwifruit *Actinidia chinensis*. *Nature Communications*, 4: 2640.
- Kim D, Pertea G, Trapnell C, Pimentel H, Kelley R, Salzberg S L. 2013. TopHat2: accurate alignment of transcriptomes in the presence of insertions, deletions and gene fusions. *Genome Biology*, 14: R36.
- Li Hua, Liang Chun-qiang, Lü Jiang, Li Jia-ying, Rao Jing-ping. 2017. Effects of oxalic acid treatment on lignification and related enzymes activities in ‘Huayou’ kiwifruit during cold storage. *Acta Horticulturae Sinica*, 6 (44): 1085 – 1093. (in Chinese)
- 李 桦, 梁春强, 吕 苙, 李佳颖, 饶景萍. 2017. 草酸对冷藏‘华优’猕猴桃果实木质化及相关酶活性的影响. *园艺学报*, 6 (44): 1085 – 1093.
- Li Pei-yan, Zhou Gang, Zhou Qiao-li, Zhao Jing, Zheng Xiao-lin. 2013. Effect of potassium oxalate treatment on softening in *Actinidia eriantha* ‘Walter’ fruit. *Acta Horticulturae Sinica*, 40 (8): 1553 – 1559. (in Chinese)
- 李佩艳, 周 刚, 周巧丽, 赵 静, 郑小林. 2013. 草酸钾处理对‘华特’毛花猕猴桃果实熟软化的影响. *园艺学报*, 40 (8): 1553 –

- 1559.
- Liu Jingxuan, Xu Haifeng, Wang Deyun, Zhang Zongying, Wang Yicheng, Zuo Weifang, Wang Nan, Jiang Shenghui, Mao Zhiquan, Chen Xuesen. 2017. Changes of firmness, aroma, cell wall-modifying enzyme activities and analysis of related-gene expression in 2 red flesh apple strains during fruit storage. *Acta Horticulturae Sinica*, 44 (2): 330 – 342. (in Chinese)
- 刘静轩, 许海峰, 王得云, 张宗营, 王意程, 左卫芳, 王楠, 姜生辉, 毛志泉, 陈学森. 2017. 两个耐贮性不同的红肉苹果株系果实硬度与香气成分及相关酶活性与基因表达差异分析. *园艺学报* 44 (2): 330 – 342.
- Livak K J, Schmittgen T D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method. *Methods*, 25: 402 – 408.
- Song Kang-hua, Rao Jing-ping, Chang Xiao-xiao Zhu Qing-gang. 2011. Studies on cloning and real-time expression of endo-1,4- $\beta$ -glucanase gene in persimmon fruit. *Acta Horticulturae Sinica*, 38 (10): 1893 – 1900. (in Chinese)
- 宋康华, 饶景萍, 常晓晓, 祝庆刚. 2010. 柿果实内切-1,4- $\beta$ -葡聚糖酶基因克隆与定量表达分析. *园艺学报*, 38 (10): 1893 – 1900.
- Tang P, Zhang Q, Yao X H. 2017. Comparative transcript profiling explores differentially expressed genes associated with sexual phenotype in kiwifruit. *PLoS ONE*, 12 (7): e0180542.
- Wang Z Y, MacRae E A, Wright M A, Bolitho K M, Ross G S, Atkinson R G. 2000. Polygalacturonase gene expression in kiwifruit: relationship to fruit softening and ethylene production. *Plant Molecular Biology*, 42 (2): 317 – 328.
- Wei Xiao, Liu Wei-sheng, Liu Ning, Zhang Qiu-ping, Zhang Yu-ping, Liu Shuo, Liu You-chun. 2011. Phylogenetic analysis and genomic localization of polygalacturonase genes related to fruit softening. *Acta Horticulturae Sinica*, 38 (9): 1791 – 1799. (in Chinese)
- 魏潇, 刘威生, 刘宁, 章秋平, 张玉萍, 刘硕, 刘有春. 2011. 果实软化相关 PG 基因的进化分析和基因组定位. *园艺学报*, 38 (9): 1791 – 1799.
- Xu Miao, Chen Qing-hong, Luo Xuan, Gao Lei, Zhang Lei. 2017. Research advances on storage technique of kiwifruit. *Hubei Agricultural Sciences*, 56 (5): 809 – 812. (in Chinese)
- 许淼, 陈庆红, 罗轩, 高磊, 张蕾. 2017. 猕猴桃贮藏保鲜技术研究进展. *湖北农业科学*, 56 (5): 809 – 812.
- Yang Shao-lan, Chen Miao-jin, Zhang Bo, Li Xian, Xu Chang-jie, Chen Kun-song. 2007. Expression pattern and regulation of *Ad-EXPI* gene in kiwifruit treated with ASA. *Journal of Fruit Science*, 24 (6): 778 – 782. (in Chinese)
- 杨绍兰, 陈妙金, 张波, 李鲜, 徐昌杰, 陈昆松. 2007. 乙酰水杨酸调控猕猴桃果实后熟软化进程中的 *Ad-EXPI* 基因表达. *果树学报*, 24 (6): 778 – 782.
- Zhang B, Chen K S, Bowen J, Allan A, Espley R, Karunairetnam S, Ferguson I. 2006. Differential expression within the *LOX* gene family in ripening kiwifruit. *Journal of Experimental Botany*, 57 (14): 3825 – 3836.