

5-氨基乙酰丙酸促进桃果皮提前着色机制研究

郭磊, 蔡志翔, 张斌斌, 许建兰, 宋宏峰, 马瑞娟*

(江苏省农业科学院园艺研究所, 南京 210014)

摘要: 在‘早白花’桃果实着色前, 用 300、100 和 50 mg · L⁻¹ 的 5-氨基乙酰丙酸 (5-aminolevulinic acid, ALA) 溶液涂布果实。结果表明: ALA 处理可促进果皮提前着色, 促使果实提前成熟, 且以 300 mg · L⁻¹ 效果最为明显, 比对照早约 5 d。ALA 处理还显著促进了 *UFGT*、*DFR*、*LDOX* 和 *CHS* 的提前表达, 并且基因表达水平与花色苷的积累趋势具有很好的一致性。据此推测 ALA 可能参与了桃果实成熟以及花色苷合成的调控, 对果皮花色苷提前合成具有促进作用。

关键词: 桃; 5-氨基乙酰丙酸; 着色; 基因表达

中图分类号: S 662.1

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2013) 06-1043-08

The Mechanism Analysis of Anthocyanin Accumulation in Peach Accelerated by ALA

GUO Lei, CAI Zhi-xiang, ZHANG Bin-bin, XU Jian-lan, SONG Hong-feng, and MA Rui-juan*

(Institute of Horticulture, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: 5-aminolevulinic acid (ALA) solutions of 300, 100 and 50 mg · L⁻¹, respectively, were applied on ‘Zaobaihua’ peach before coloring. The results showed that high concentration of ALA (300 mg · L⁻¹) could accelerate fruit ripening and skin coloration by activating *UFGT*, *DFR*, *LDOX* and *CHS* expression. A highly similar pattern was observed between the expression of four related genes and the accumulation of anthocyanin in fruit skin. The data indicate that ALA might be involved in the regulation of ripening and anthocyanin accumulation in peach, and promoted the level of anthocyanin.

Key words: peach; 5-aminolevulinic acid; coloration; gene expression

随着市场对桃果实品质要求的提高, 果皮色泽逐渐成为桃外观品质的重要指标之一。中国南方地区, 大部分晚熟桃品种存在着色困难的现象, 影响了果实商品性和经济价值。因此, 有必要通过科学方法改善晚熟桃的着色。

5-氨基乙酰丙酸 (ALA) 作为生物体内卟啉化合物生物合成的第一个关键前体, 它参与植物生长发育的调节过程。适宜浓度的 ALA 可提高植物叶片净光合速率, 促进叶片同化产物向根系分配 (汪良驹等, 2004), 大幅度提高多种作物产量, 并增强植物抗冷性和耐盐性 (汪良驹等, 2003)。ALA 作为一种植物生长促进剂或者抗逆增强剂已经有研究报道 (Nishihara et al., 2003; Wang et al., 2005)。还有报道指出 ALA 与花青素的合成积累有密切关系, 但仅从果皮花青素积累以及果皮 PAL

收稿日期: 2013-01-17; **修回日期:** 2013-05-07

基金项目: 江苏省农业科技自主创新项目 [CX (11) 1009]; 现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-31)

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

酶活性变化等生理层面阐明了 ALA 促进苹果着色的原因 (汪良驹 等, 2004; 王中华 等, 2006)。作者前期研究发现 ALA 同样与桃果实成熟和着色有一定关系。本试验中以晚熟桃品种‘早白花’为材料, 研究了 ALA 处理对果实着色相关生理指标和基因表达的影响, 以期探讨 ALA 调控桃果皮花色素苷积累的机制, 为桃果实着色调控的深入研究提供帮助, 为生产应用提供参考。

1 材料与方 法

1.1 试验材料与处理取样

试验于 2012 年进行。试材取自江苏省农业科学院国家果树种质南京桃资源圃保存的 8 年生‘早白花’。树形为自然开心形, 落花后 5 周左右根据树体大小疏果, 留果量基本一致。在 8 棵树中, 选长势相近的 24 个主枝, 1 个处理随机选 6 个主枝, 2 个主枝为 1 个重复, 共设 3 次重复。

5-氨基乙酰丙酸 (5-aminolevulinic acid, ALA) 试验浓度分别设定为 300、100、50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。试验于 7 月 11 日果实转色前进行, 处理时以纱布浸渍不同浓度 ALA 溶液涂布果面 2 次至果面完全湿润, 以涂布清水作为对照, 处理后随即套白色单层纸袋。

各处理每 5 d 取样 1 次, 参照牛景等 (2006) 的方法判断桃果实成熟度, 至果实成熟, ALA 处理共取样 4 次, 对照共取样 5 次。取样时随机从各处理的主枝上采摘果实 36 个, 每重复 12 个, 共 3 次重复。样品带回实验室, 立即测定单果质量、颜色指数、可溶性固形物含量、可滴定酸含量, 然后用削皮器刮下果皮, 立即置于液氮中, 保存在 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, 用于花色素苷含量测定和 RNA 提取。

1.2 果实质量、可溶性固形物和色泽测定

单果质量使用分析天平测定, 可溶性固形物含量用数字折射仪 (PR-101, Atago, 日本) 测定。

用 HunterLab Color Quest XE 色差计 (Hunter Associates Laboratory Inc, USA) 测定果实 4 个点 (腹部、背部、两个侧面) 的色泽。其中 L^* 表示颜色的亮度, 取值范围为 [1, 100], a^* 、 b^* 表示颜色组分, 取值范围为 [-60, 60], a^* 值为红绿色差指标 (正值代表红色程度, 正值越大, 红色越深; 负值代表绿色程度, 绝对值越大, 绿色越深); b^* 值为黄蓝色差指标 (正值代表黄色程度, 正值越大, 黄色越深; 负值代表蓝色程度, 绝对值越大, 蓝色越深)。利用 a^* 和 b^* 值可以计算出色调角 (hue angle, h^*), $h^* = \arctangent\ b^*/a^*$ 。 h^* 为综合颜色指标, 从 0 至 180 依次表现为紫红、红、橙、黄、黄绿、绿、蓝绿色。

花青苷的提取及测定都在避光和低温条件下进行。果皮加液氮研磨后, 称取 1 g, 加入 5 mL 预冷的 1% 盐酸—甲醇溶液, 置 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下避光浸提 24 h。之后在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下, $12\ 000\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 20 min。花色素苷质量分数的测定采用 pH 示差检测法 (Dussi et al., 1995), 1 mL 的上清液分别加入 2 mL pH 值为 1.0 和 4.5 的缓冲液, 混匀静置 10 min 后, 测定 520 nm 和 700 nm 下的吸光值。

1.3 果皮 RNA 的提取与 cDNA 合成及荧光定量 PCR 分析

桃果皮总 RNA 的提取采用 CTAB 法 (陈长宝 等, 2009), 利用 EppendorfBioPhotometer plus 核酸蛋白测定仪 (Eppendorf, 德国) 进行初步定量后, DNase I 处理和 cDNA 第一链合成的所有操作均依照 TaKaRa 公司的 PrimeScript RT reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒说明书进行。

根据桃已登录序列分别设计 *UFGT*、*DFR*、*F3H*、*LDOX* 和 *CHS* 等 5 个基因的特异性引物序列, 同时以桃看家基因 *TEF2* 为内标基因, 内标和目的基因的引物序列委托 Invitrogen 公司合成, 见表 1。应用 ABI 7500 实时定量 PCR 仪 (Applied Biosystems, USA), 使用 SYBRGreen (TaKaRa, 日本) 试剂, 以桃不同发育时期的果皮 cDNA 为模板进行 qRT-PCR 检测, 扩增体系含 $2\ \mu\text{L}$ cDNA, 上下游

引物各 0.8 μL , 10 μL 反应 MIX, 6 μL ddH₂O 以及 0.4 μL ROX Reference Dye II, 总体系 20 μL 。反应程序为 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 34 s, 40 个循环。表达量用相对表达量 $2^{-\Delta\text{CT}}$ 来表示。试验设 3 次重复。

本试验采用完全随机区组设计, 试验数据分析采用 DPS3.01 软件, 作图采用 Excel 软件。

表 1 荧光定量 PCR 扩增引物

Table 1 Primers of real-time quantitative PCR

基因 Gene	登录号 Accession number	上游引物 Forward primer 5' - 3'	下游引物 Reverse primer 5' - 3'	产物长度/bp Product size
<i>PpUFGT</i>	JX149550.1	CGTCAAACACTCGCACGAC	GTGAAGTGCAGCTCGGCTAT	134
<i>PpDFR</i>	HM543571.1	TGAGAAACATGAGGCTGACG	TAACAGCCAACCGGAAAAAC	156
<i>PpF3H</i>	HM543570.1	GGAGCAACAATTGCAGGACT	CATCCACTGGCTAAGCACAT	154
<i>PpLDOX</i>	EU292219	GACTGAGCCGCAATCTTCC	TCAACAAAGCAGGTAGACAGTAGC	97
<i>PpCHS</i>	JN391444.1	ATCTCCGTGAAGTTGGGCTTACATT	GTGTGCAATCCAGAATAGTGAGTTCCA	140
<i>TEF2</i>		GGTGTGACGATGAAGAGTGATG	TGAAGGAGAGGGAAGGTGAAAG	

2 结果与分析

2.1 ALA 处理对果实生长的影响

对照果实在处理后 25 d 成熟, ALA 处理果实在处理后 20 d 成熟, 提早了 5 d 左右。ALA 处理与对照果实的生长都呈线性增长趋势 (图 1)。

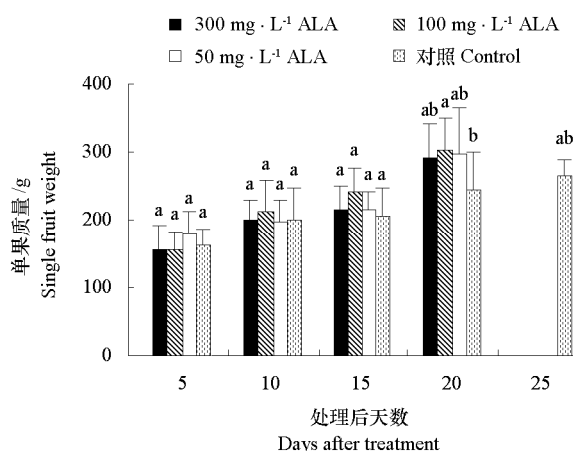


图 1 不同浓度 ALA 处理对‘早白花’桃单果质量的影响

不同字母表示各处理及对照之间达 0.05 显著水平 (25 d 与 20 d 数据同时进行比较分析), 下同。

Fig. 1 Effects of different concentrations of ALA on the fruit weight of ‘Zaobaihua’ peach

Different letters mean significantly different at $P < 0.05$ level. Carry on comparative analysis on the dates of 25 d and 20 d. The same below.

2.2 ALA 处理对果实可溶性固形物和可滴定酸含量的影响

ALA 处理 20 d 后的成熟果实单果质量和可溶性固形物含量与对照 (25 d 时, 成熟果实) 相比没有显著差异, 但 300 和 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ALA 处理的可滴定酸含量分别为 0.11% 和 0.10%, 显著低于对照的 0.13% (图 2)。

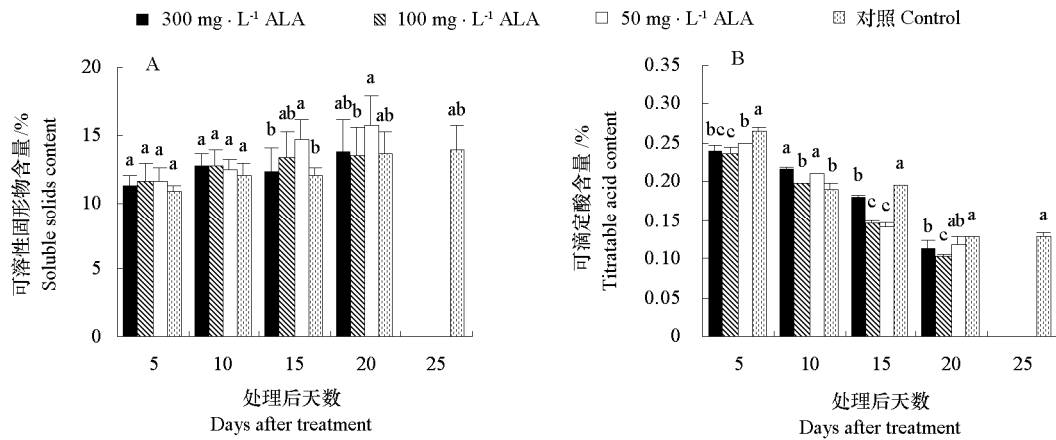


图2 不同浓度 ALA 处理对‘早白花’桃可溶性固形物和可滴定酸含量的影响

Fig. 2 Effects of different concentrations of ALA on soluble solids content and titratable acid content of 'Zaobaihua' peach

2.3 ALA 处理对果面色泽参数的影响

在果实发育成熟的过程中,随着果皮颜色由绿色转为红色,对照和处理色泽指标 a^* 值和 a^*/b^* 由负转正,并逐渐升高,且以处理果实的 a^* 值和 a^*/b^* 增加速度更为迅速,处理后 20 d, 300 和 100 mg·L⁻¹ ALA 处理果实的 a^* 值、 a^*/b^* 都显著高于对照,但与对照果实成熟时(处理后 25 d)无显著差异;色泽指标 b^* 和 h^* 值表现的下降趋势相似,处理后 20 d, 300 和 100 mg·L⁻¹ ALA 处理的 b^* 和 h^* 值显著低于对照,但与对照成熟时(处理后 25 d)基本无显著性差异(图 3)。

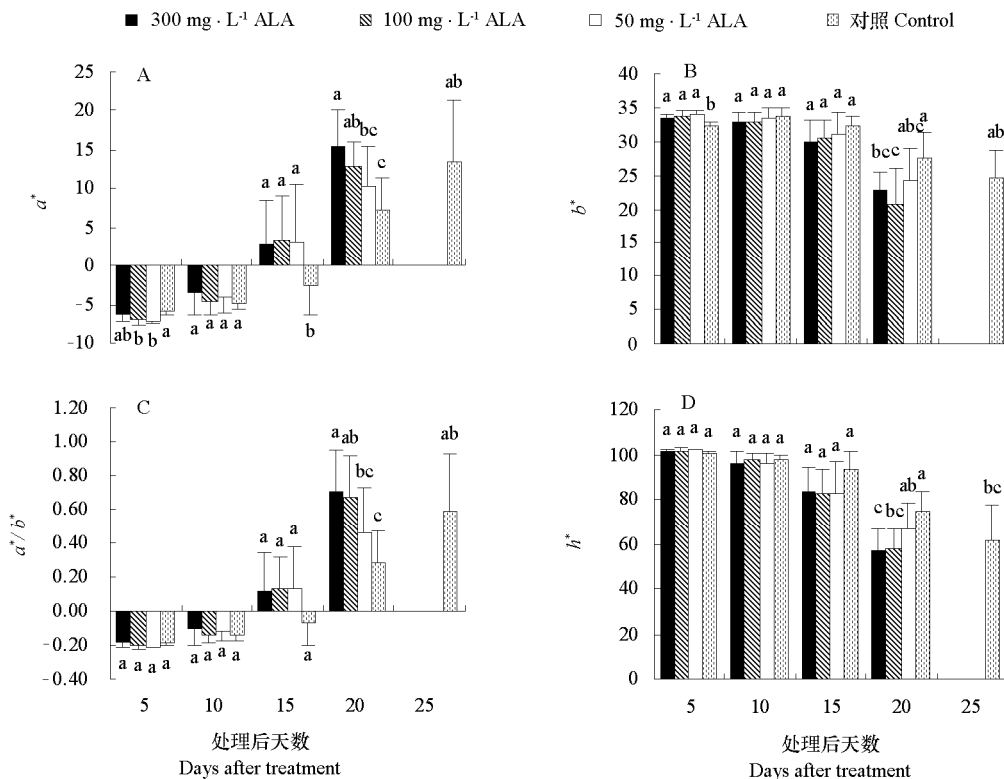


图3 不同浓度 ALA 处理对‘早白花’桃果面色泽参数的影响

Fig. 3 Effects of different concentrations of ALA on the skin color parameters of 'Zaobaihua' peach

因此, ALA 处理, 尤其是 300 和 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理, 虽然没有显著增加成熟果实的着色, 但显著促进了桃果皮提前着色。该结果与样品的视觉观察结果 (图 4) 一致。

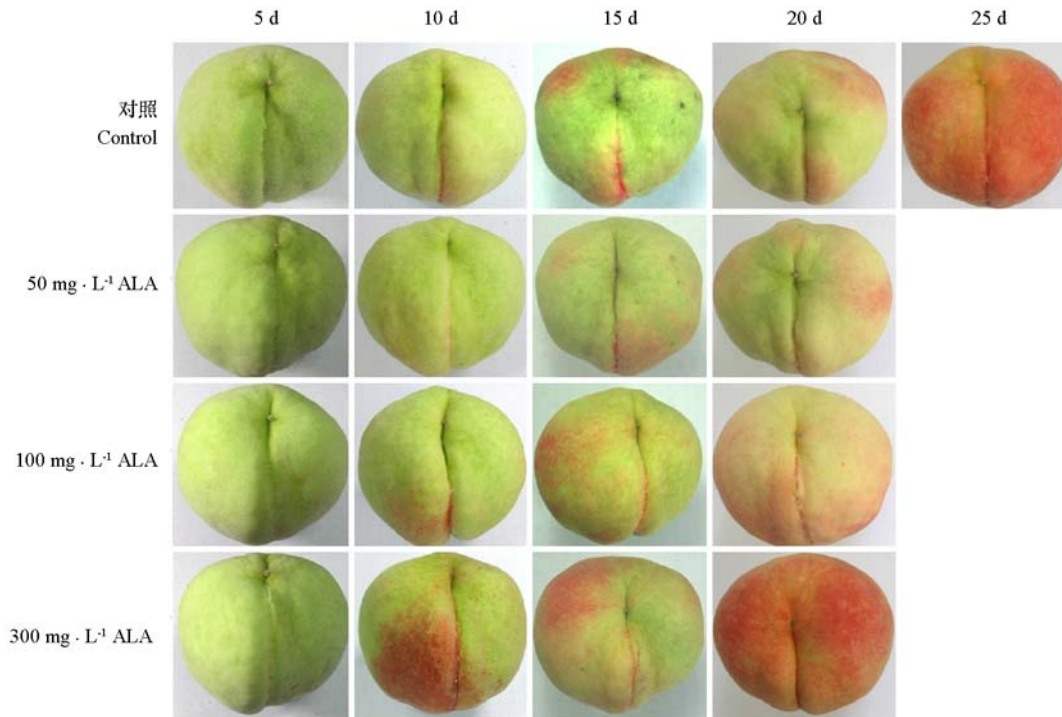


图 4 不同浓度 ALA 处理对‘早白花’桃果面色泽的影响

Fig. 4 Effects of different concentrations of ALA on the skin color of ‘Zaobaihua’ peach

2.4 ALA 处理对果皮花色素苷积累的影响

‘早白花’果皮中花色素苷含量随果实发育呈明显的上升趋势 (图 5, A), ALA 处理后果皮花色素苷含量在前期没有明显增加, 处理后 10 d, 300 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的果皮花色素苷含量开始迅速增加, 至处理后 20 d, 300 和 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的花色素苷含量分别达到 5.20 和 3.56 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ FW, 而 50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理与对照仅为 2.51 和 2.04 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ FW, 差异显著。至对照果实成熟时 (处理后 25 d) 其果皮中花色素苷含量可达到 4.66 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ FW, 与处理后 20 d 时 300 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ALA 处理的果皮花色素苷含量并没有显著性差异。因此, ALA 处理在增加果皮花色素苷总量方面效果并不显著, 但促进了果皮总花色素苷的提前合成与积累, 本试验中以 300 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ALA 处理效果最显著。

2.5 ALA 处理对果皮花色素苷合成相关基因表达的影响

实时定量 qRT-PCR 分析结果 (图 5) 表明, ALA 处理对 *F3H* 的表达诱导效果不显著。*UFGT*、*DFR*、*LDOX* 和 *CHS* 的表达显著受 ALA 处理诱导, 处理后 15 d, 300 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的 4 个基因的表达水平显著上调且相对表达量达到最高值, 分别为对照的 2.78、6.22、2.25 和 5.42 倍; 处理后 20 d, 不同浓度 ALA 处理的 4 个基因表达量虽有所下降, 但仍显著高于对照; 对照果实在成熟时 (处理后 25 d) 4 个基因才大量表达。值得注意的是 50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ALA 处理后 10 d 显著诱导了 *DFR*、*LDOX* 和 *CHS* 的表达, 但随着果实继续发育, 诱导效果低于 300 和 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理。

UFGT、*DFR*、*LDOX* 和 *CHS* 的表达与花青素苷的积累表现出良好的一致性, 特别是 300 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理使 4 个基因的表达高峰提前, 推测这是本研究中 ALA 处理后‘早白花’果皮色素提前合成与积累的原因。

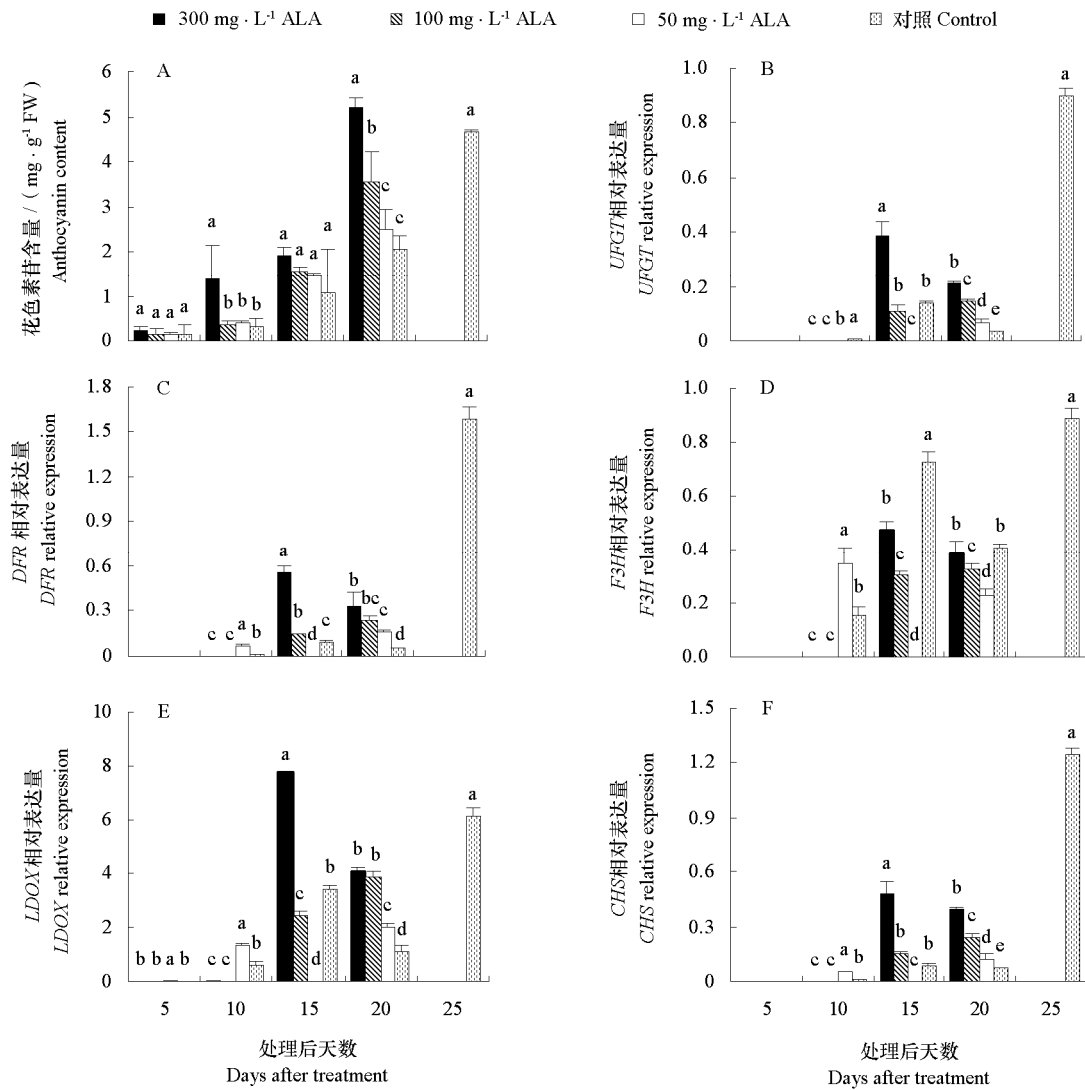


图5 不同浓度 ALA 处理对桃果皮花青苷含量及花青苷合成结构基因表达的影响

Fig. 5 Effects of different concentrations of ALA on anthocyanin content and the relative expression of anthocyanin structural genes

3 讨论

果实成熟是一个非常复杂的发育调控过程(朱明月等, 2005)。有研究表明 ALA 处理可显著降低采收时梨果实淀粉含量, 意味着 ALA 处理可能促进果实提早成熟(申明等, 2011)。该结果与本试验中 ALA 处理使‘早白花’桃果实提前成熟的结果类似, 这暗示了 ALA 在桃果实成熟过程中起到了一定的调控作用。

花色素苷合成的数量和时间决定了果实红色的表现和着色的时期。ALA 能够提高苹果早期花色素积累的速率和总平均速率(王中华等, 2006)。同样, 本试验中 ALA 处理(300 和 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)使得‘早白花’果皮色素代谢发生变化并促进了果实的提前着色。体现在果皮的 a^* 值和 a^*/b^* 值提前显著增大; b^* 值和 h^* 值提前显著下降。ALA 处理后, 果实各颜色指标的变化更迅速、更明显。

花色素苷的积累最终取决于基因的调节, 影响花色素合成代谢的基因分为结构基因和调节基因, 不同植物的花色素合成过程中关键酶基因的表达涉及多种调控因子, 且调控因子调控的关键酶基因也不尽相同(许志茹等, 2008; 葛翠莲等, 2012)。在模式植物花色素苷合成途径分子生物学

机理的研究基础上, 果树植物花色苷合成研究近几年进展迅速, 苹果、葡萄中花色苷合成途径已经比较明确 (Boss et al., 1996; Kobayashi et al., 2002; 张学英 等, 2004), 与其花色苷合成相关基因的调控机制研究也有很大进展 (El-Kereamy et al., 2002, 2003; Kondo et al., 2002; Takos et al., 2006)。然而, 有关桃果实着色过程中相关基因的表达前人研究相对较少。Tsuda 等 (2004) 通过研究比较白肉桃和红润桃中花青素合成基因的表达得出, *CHS* 和 *DFR* 是红润桃中调节花青素合成的关键基因。本研究中, ALA 处理果实进入着色期后花色苷合成相关基因转录水平总体提高, 并在一定时间内随花色苷的合成上调表达。ALA 处理 (300 和 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 显著促进了基因 *UFGT*、*DFR*、*LDOX* 和 *CHS* 的转录, 转录水平明显高于对照。本研究中 *F3H* 的转录水平和花色苷合成未见明显一致性, 这与 Ageorges 等 (2006) 和刘闯萍和王军 (2008) 在葡萄上研究的结果相似, 可能是因为 *F3H* 和果皮的花色苷合成没有紧密关系, 而与果实其他部位花色苷的合成有关。

ALA 处理后 ‘早白花’ 果皮 *UFGT*、*DFR*、*LDOX* 和 *CHS* 基因的表达规律与果皮花青苷的积累规律呈现了良好的一致性, ALA 处理明显促进了 4 个基因表达高峰的提前。暗示了 *UFGT*、*DFR*、*LDOX* 和 *CHS* 的提前表达可能是 ALA 处理后果皮提前着色的原因, 同时再次证实了桃果皮中花色苷的合成受到了多个基因的协同调控。当 4 个基因表达下调后, 花色苷仍在大量合成积累, 该结果与郭磊等 (2012) 研究结果相似, 这可能是由于 4 个基因均位于花青素合成的上游, 当基因大量表达后, 果皮产生花青素合成相关酶蛋白, 此时即便上游基因不再大量表达, 已有酶的活性也能维持花青素合成, 同时, 大量合成的花色苷也可能反馈抑制上游基因的表达, 导致花色苷含量的峰值与 4 个基因表达水平最高时期不一致。

ALA 处理能够有效促进 *UFGT*、*DFR*、*LDOX* 和 *CHS* 4 个结构基因的表达高峰提前, 进而促进 ‘早白花’ 果皮花色苷提前合成积累, 这从一定程度上揭示了 ALA 影响果实着色的机理。同时, 本研究结果也证实了 ALA 处理可作为一种有效的方法用于桃果实成熟与着色机制的研究。

References

- Ageorges A, Fernandez L, Viallet S, Merdinoglu D, Terrirt N, Romieu C. 2006. Four specific isogenes of the anthocyanin metabolic pathway are systematically co-expressed with the red colour of grape berries. *Plant Science*, 170: 372 - 383.
- Boss P K, Davies C, Robinson S P. 1996. Analysis of the expression of anthocyanin pathway genes in developing *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz grape berries and the implications for pathway regulation. *Plant Physiol*, 111: 1059 - 1066.
- Chen Chang-bao, Zhu Shu-hua, Zhou Jie. 2009. Improved CTAB method for total RNA extraction of mature Feicheng peach fruit. *Shandong Agricultural Sciences*, (5): 102 - 104. (in Chinese)
- 陈长宝, 朱树华, 周杰. 2009. 改良 CTAB 法提取成熟肥城桃果实的总 RNA. *山东农业科学*, (5): 102 - 104.
- Dussi M C, Sugar D, Wrolstad R E. 1995. Characterizing and quantifying anthocyanin in red pears and the effect of light quality on fruit color. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 120 (5): 785 - 789.
- El-Kereamy A, Chervin C, Souquet J, Moutounet M, Monje M, Nepveu F, Mondies H, Ford C M, Heeswijck R, Roustan J. 2002. Ethanol triggers grape gene expression leading to anthocyanin accumulation during berry ripening. *Plant Science*, 163: 449 - 454.
- El-Kereamy A, Chervin C, Roustan J P, Cheynier V, Souquet J M, Moutounet M, Raynal J, Ford C, Latché A, Pech J C, Bouzayen M. 2003. Exogenous ethylene stimulates the long-term expression of genes related to anthocyanin biosynthesis in grape berries. *Physiologia Plantarum*, 119: 175 - 182.
- Ge Cui-lian, Huang Chun-hui, Xu Xiao-biao. 2012. Research on anthocyanin biosynthesis in fruit. *Acta Horticulturae Sinica*, 39 (9): 1655 - 1664. (in Chinese)
- 葛翠莲, 黄春辉, 徐小彪. 2012. 果实花青素生物合成研究进展. *园艺学报*, 39 (9): 1655 - 1664.
- Guo Lei, Wang Tao, Yue Lin-xu, Fang Jing-gui, Chen Ji-lin, Song Chang-nian, Leng Xiang-peng. 2012. Influence of main-branch-girdling on berry coloring and expression of some related genes in ‘Fujiminori’ grapevine. *Acta Horticulturae Sinica*, 39 (3): 409 - 416. (in Chinese)

- 郭磊, 王涛, 岳林旭, 房经贵, 陈济林, 宋长年, 冷翔鹏. 2012. 藤稔葡萄主枝环剥对果实着色及相关基因表达的影响. 园艺学报, 39 (3): 409 - 416.
- Kobayashi S, Ishimaru M, Hiraoka K, Honda C. 2002. Myb-related genes of the Kyoho grape (*Vitis labruscana*) regulate anthocyanin biosynthesis. *Planta*, 215: 924 - 933.
- Kondo S, Hiraoka K, Kobayashi S, Honda C, Terahara N. 2002. Changes in the expression of anthocyanin biosynthetic genes during apple development. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127 (6): 971 - 976.
- Liu Chuang-ping, Wang Jun. 2008. Anthocyanin biosynthesis in grapevine. *Plant Physiology Communications*, 44 (2): 363 - 377. (in Chinese)
- 刘闯萍, 王军. 2008. 葡萄花色苷的生物合成. 植物生理学通讯, 44 (2): 363 - 377.
- Niu Jing, Zhao Jian-bo, Wu Ben-hong, Li Shao-hua, Liu Guo-jie, Jiang Quan. 2006. Sugar and acid content in peach and nectarine derived from different countries and species. *Acta Horticulturae Sinica*, 33 (1): 6 - 11. (in Chinese)
- 牛景, 赵剑波, 吴本宏, 李绍华, 刘国杰, 姜全. 2006. 不同来源桃种果实糖酸组分含量特点的研究. 园艺学报, 33 (1): 6 - 11.
- Nishihara E, Kondo K, Parvez M M, Takahashi K, Watanabe K, Tanaka K. 2003. Role of 5-aminolevulinic acid (ALA) on active oxygen-scavenging system in NaCl-treated spinach (*Spinacia oleracea*). *Journal of Plant Physiol*, 160 (9): 1085 - 1091.
- Shen Ming, Duan Chun-hui, Zhang Zhi-ping, Cheng Yun, Wang Liang-ju, Li Bai-jian. 2011. Effects of exogenous ALA on thinning and fruit quality in 'Hosui' pear (*Pyrus pyrifolia*). *Acta Horticulturae Sinica*, 38 (8): 1515 - 1522. (in Chinese)
- 申明, 段春慧, 张治平, 程云, 汪良驹, 李百健. 2011. 外源 ALA 处理对 '丰水' 梨疏花与果实品质的影响. 园艺学报, 38 (8): 1515 - 1522.
- Takos A M, Jaffe F W, Jacob S R, Bogs J, Robinson S P, Walker A R. 2006. Light-induced expression of a MYB gene regulates anthocyanin biosynthesis in red apples. *Plant Physiol*, 142 (3): 1216 - 1232.
- Tsuda T, Yamaguchi M, Honda C, Moriguchi T. 2004. Expression of anthocyanin biosynthesis genes in the skin of peach and nectarine fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129 (6): 857 - 862.
- Wang L J, Jiang W B, Liu H, Liu W Q, Kang L, Hou X L. 2005. Promotion by 5-aminolevulinic acid of germination of pakchoi (*Brassica campestris* ssp. *chinensis* var. *communis* Tsen et Lee) seeds under salt stress. *Journal of Integrative Plant Biology*, 47: 1084 - 1091.
- Wang Liang-ju, Jiang Wei-bing, Zhang Zhen, Yao Quan-hong, Matsui H, Ohara H. 2003. Biosynthesis and physiological activities of 5-aminolevulinic acid (ALA) and its potential application in agriculture. *Plant Physiol Commun*, 39 (3): 185 - 192. (in Chinese)
- 汪良驹, 姜卫兵, 章镇, 姚泉洪, 松井弘之, 小原均. 2003. 5-氨基乙酰丙酸生物合成和生理活性及其在农业生产中的潜在应用. 植物生理学通讯, 39 (3): 185 - 192.
- Wang Liang-ju, Wang Zhong-hua, Li Zhi-qiang, Liu Hui, Liu Wei-qin, Chen Zong-yuan, Yan Pu, Sun Dun-qian. 2004. Effect of 5-aminolevulinic acid on enhancing apple fruit coloration. *Journal of Fruit Science*, 21: 512 - 515. (in Chinese)
- 汪良驹, 王中华, 李志强, 刘晖, 刘卫琴, 陈宗元, 颜璞, 孙敦乾. 2004. 5-氨基乙酰丙酸促进苹果着色的效应. 果树学报, 21: 512 - 515.
- Wang Zhong-hua, Tang Guo-hui, Li Zhi-qiang, Wang Liang-ju. 2006. Promotion of 5-aminolevulinic acid and genistein on anthocyanin accumulation in apples. *Acta Horticulturae Sinica*, 33 (5): 1055 - 1058. (in Chinese)
- 王中华, 汤国辉, 李志强, 汪良驹. 2006. 5-氨基乙酰丙酸和金雀异黄酮促进苹果花青素积累的效应. 园艺学报, 33 (5): 1055 - 1058.
- Xu Zhi-ru, Li Chun-lei, Cui Guo-xin, Sun Yan. 2008. MYB protein of anthocyanin biosynthesis in plant. *Plant Physiology Communications*, 44 (3): 597 - 604. (in Chinese)
- 许志茹, 李春雷, 崔国新, 孙燕. 2008. 植物花青素合成中的 MYB 蛋白. 植物生理学通讯, 44 (3): 597 - 604.
- Zhang Xue-ying, Zhang Shang-long, Luo Jun, Ye Zheng-wen, Li Shi-cheng. 2004. Advances in research on fruit anthocyanin synthesis. *Journal of Fruit Science*, 21 (5): 456 - 460. (in Chinese)
- 张学英, 张上隆, 骆军, 叶正文, 李世诚. 2004. 果实花色苷合成研究进展. 果树学报, 21 (5): 456 - 460.
- Zhu Ming-yue, Shen Wen-tao, Zhou Peng. 2005. Research advances on mechanism of fruit ripening and softening. *Molecular Plant Breeding*, 3 (3): 421 - 426. (in Chinese)
- 朱明月, 沈文涛, 周鹏. 2005. 果实成熟软化机理研究进展. 分子植物育种, 3 (3): 421 - 426.