

# 草莓果实发育过程中糖代谢相关基因的表达分析

柴叶茂, 贾海锋, 李春丽, 秦 岭, 沈元月\*

(农业应用新技术北京市重点实验室, 北京农学院植物科学技术学院, 北京 102206)

**摘 要:** 为了分析草莓 (*Fragaria × ananassa* Duch.) 果实发育过程中可溶性糖积累与相关基因表达量的关系, 以‘杜克拉’草莓 7 个发育时期的果实为试材, 利用实时荧光定量 RT-PCR 的方法, 分析果实发育中蔗糖转运蛋白及糖代谢关键酶(酸性转化酶、蔗糖合成酶和蔗糖磷酸合成酶) 4 个基因的表达量以及可溶性糖含量的变化趋势。结果表明, 蔗糖、葡萄糖和果糖含量随着果实发育都呈逐渐增加的趋势, 尤其蔗糖积累与果实成熟的关系较密切。随着果实发育, 蔗糖磷酸合成酶基因表达量呈逐渐增加的趋势, 尤其在果实发育的后期增加较快; 蔗糖合成酶和酸性转化酶基因表达量除了白熟期和转色期外, 呈逐渐降低的趋势; 蔗糖转运蛋白基因表达量呈先升后降, 降后又升的变化趋势, 尤其在白熟期前急剧增加。结合可溶性糖和基因变化趋势分析表明, 蔗糖转运蛋白和蔗糖磷酸合成酶在草莓果实发育过程中发挥着重要的作用。

**关键词:** 草莓; 果实; 发育; 可溶性糖; 蔗糖转运蛋白; 荧光定量 PCR

**中图分类号:** S 663.1

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2011) 04-0637-07

## Transcriptional Analysis of Sugar Metabolism-related Genes During Strawberry Fruit Development

CHAI Ye-mao, JIA Hai-feng, LI Chun-li, QIN Ling, and SHEN Yuan-yue\*

(Beijing Key Laboratory for Agricultural Application and New Technique, College of Plant Science and Technology, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China)

**Abstract:** To analyze the relationship of sugar accumulation with sugar-related gene expression during strawberry fruit development, receptacle of ‘Fugilia’ strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) was used and real-time RT-PCR primers were designed to analyze both changes of the mRNA expression of four sugar accumulation-related genes and soluble sugar contents, respectively. The main results showed that sucrose, glucose and fructose contents increased continually during fruit development, in particular sucrose accumulation was closely related to fruit ripening. The mRNA expression level of sucrose phosphate synthase (SPS) gene increased gradually during fruit development, and a rapid increase occurred in later developmental stages; The mRNA expression level of sucrose synthase (SS) and acid invertase (AI) decreased continually in addition to white or turning stages; The mRNA expression level of sucrose

收稿日期: 2010-11-22; 修回日期: 2011-03-15

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30971977); 北京市自然科学基金项目 (6082005); 北京市自然科学基金和北京市教委联合资助重点项目 (KZ200910020001)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: sfmn@tom.com)

transporter (SUT1) displayed increased firstly, and then declined, finally increased again, in particular increased rapidly before white period. Combinational analysis of the changes of soluble sugars content and gene expression demonstrated that sucrose carrier and sucrose phosphate synthase play an important role in regulation of strawberry fruit ripening.

**Key words:** strawberry; fruit; development; soluble sugars; sucrose transporter; real-time RT-PCR

糖是果实生长发育的物质基础,与果实发育密切相关。果实中糖的种类及比例也直接关系到果实的甜度及风味(陶红等,2010)。在草莓果实中,糖积累主要以蔗糖、葡萄糖和果糖3种可溶性糖的形式存在(Forney & Breenp, 1985)。蔗糖是“源—库”间叶片光合同化物的主要运输形式,因此蔗糖的运输和代谢在果实发育中起着关键的作用(Yamaki, 1995)。果实内蔗糖的运输主要依靠蔗糖转运蛋白(sucrose transporter, SUT)(Sauer, 2007),而蔗糖代谢的相关酶主要为转化酶(invertase, Ivr)、蔗糖合成酶(sucrose synthase, SS)和蔗糖磷酸合成酶(sucrose phosphate, SPS)(Hubbard et al., 1991)。果实中转化酶主要包括酸性转化酶(acid invertase, AI)和中性转化酶(neutral invertase, NI)。由于酸性转化酶与果实发育关系密切(Pan et al., 2006),因此,作者重点研究转化酶中酸性转化酶的作用。

尽管通过生物化学方法证实了酸性转化酶、蔗糖合成酶、蔗糖磷酸合成酶和蔗糖转运蛋白与草莓果实的发育有关(Ofosu-Anim et al., 1996; 陈俊伟等, 2007),但目前草莓果实糖积累的分子机制还不清楚。为此,本研究中利用分子生物学方法,在通过对草莓果实中酸性转化酶、蔗糖合成酶、蔗糖磷酸合成酶和蔗糖转运蛋白基因的序列分析的基础上,设计实时荧光定量 PCR 引物,研究上述4个基因和可溶性糖在草莓果实发育过程中的变化规律,为揭示草莓果实中可溶性糖积累的分子机制和果实品质的调控奠定研究基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试材为‘杜克拉’草莓(*Fragaria × ananassa* Duch. ‘Fugilia’),于2009年取自北京农学院试验基地。采集花后7~28 d的果实,参照文献(Fait et al., 2008)将果实划分为7个时期:小绿(幼果期,花后7 d)、大绿(大果期,花后14 d)、浅绿(绿熟期,花后18 d)、纯白(白熟期,花后21 d)、始红(始熟期,花后23 d)、片红(转色期,花后25 d)、全红(成熟期,花后28 d)。每个时期样品设置3个重复。摘取鲜样后立即用刀片将果肉与种子分离,收集果肉液氮冷冻,贮存于-80℃超低温冰箱中待用。

### 1.2 可溶性糖含量测定

从-80℃超低温冰箱中取样品25 g,在液氮中研磨成粉末,准确称量0.5 g,加入10 mL 80%乙醇于80℃水浴3 min,10 000 × g离心10 min,收集上清于100 mL三角烧瓶中,残渣用10 mL 80%乙醇于80℃水浴20 min,10 000 × g离心10 min,重复2次,合并上清,剩余残渣用80%乙醇1 mL洗涤过滤,滤液移入10 mL试管中加2滴5%α-萘酚,混匀后,沿管壁缓缓加入浓硫酸,分层处如无紫色环出现,说明样品中的糖被完全提出。合并后的上清在沸水中蒸干,用20 mL超纯水洗2次,定容到50 mL,取2 mL过LC-18固相萃取柱,弃去最初的1 mL,收集后面的1 mL过0.45 μm滤膜,上机检测。

色谱条件为: 美国安捷伦公司高效液相色谱仪 Agilent Technologies 1200 Series,  $6.5 \times 300$  mm Sugar-Pak<sup>TM</sup>-1 柱 (Waters 公司), 化学工作站版本为 B.02.01-SR2, 流动相为超纯水, 流速  $0.4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 柱温  $60^\circ\text{C}$ , 示差折光检测器, 检测器温度  $50^\circ\text{C}$ , 进样量  $20 \mu\text{L}$ 。所用标样蔗糖购自 Sigma 公司。测定结果回收率分别为葡萄糖 90.61%, 果糖 86.30%, 蔗糖 97.61%。

### 1.3 总 RNA 的提取及 cDNA 第一链的合成

用 EASYspin 植物 RNA 快速提取试剂盒 (北京博迈德科技发展有限公司) 提取草莓果实中的总 RNA。以提取的总 RNA 为模板, 利用 Clontech SMART<sup>TM</sup> Library 试剂盒 (购自 Clontech) 合成 cDNA 第一链用于扩增 *SUT* 基因片段。

### 1.4 基因片段的克隆

从 GenBank 的核酸 (nr) 数据库中检索到草莓中的 AI、SPS、SS 等基因的部分序列, 其登录号分别为: AB275667.1、AB267869.1 和 AB275666.1。再根据 GenBank 中的已知的其他物种的序列, 设计了 *SUT1* 基因的兼并引物: *SUT1* 上游 5'-TT (C/G) GGGTGGG (C/A) CC (T/G) CCAGCT GTC-3', 下游 5'-AG (C/T) AAACA (A/G) ATCGAT (A/T) TGAAGAAGC-3'。

PCR 反应条件为  $94^\circ\text{C}$  预变性 5 min,  $94^\circ\text{C}$  变性 30 s,  $55^\circ\text{C}$  退火 30 s,  $72^\circ\text{C}$  延伸 1 min, 35 个循环;  $72^\circ\text{C}$  最后延伸 10 min。PCR 产物经回收、纯化, 与 PMD19-T Vector (购自宝生物工程公司) 连接, 转化 DH5 $\alpha$  (购自天根公司) 感受态细胞, 蓝白斑筛选后测序 (上海生工生物工程技术服务有限公司)。

### 1.5 实时荧光定量 PCR 分析

对 7 个时期样品分别提取总 RNA, 并加入 DNase I 酶祛除 DNA 污染, 体系为  $2 \mu\text{L}$  DNA 酶,  $45 \mu\text{L}$  总 RNA 和  $5 \mu\text{L}$  DNase I 酶 buffer。 $37^\circ\text{C}$  放置 12~15 min, 然后用 RNA 清洁试剂盒纯化 RNA (购自北京博迈德科技发展有限公司), 并使用 MMLV First cDNA Synthesis Kit (购自上海生物工程技术服务有限公司) 合成第一链 cDNA, 利用软件 Primer 5 设计了荧光引物。

引物 SPS (AB267869.1) 上游: 5'-GAATGTCCCTATGTTATTTACTGG-3'; 下游: 5'-TCCTGTCTG GTGCTGGTTAT-3'。SS (AB275666.1) 上游: 5'-TTATCCCTCGCATTCTTATT-3'; 下游: 5'-CAATTCC CTTCTCGGTTCTA-3'。AI (AB275667.1) 上游: 5'-CCGATACCGAGTCCGATGA-3', 下游: 5'-TTCAA CAACTGCTCCTGCTT-3'。*SUT1* 上游: 5'-CTACAGCGACCGTAACACC-3', 下游: 5'-ACAACAAATA CAGCCACAGC-3'; *ACTIN* (AB116565.1) 上游: 5'-TGGGTTTGCTGGAGATGAT-3', 下游: 5'-CAGTT AGGAGAACTGGG TGC-3'。

以 *ACTIN* 为内参基因, 按照 SYBR Premix Ex Taq<sup>TM</sup> 试剂盒 (购自宝生物工程有限公司) 操作指导, 采用实时荧光定量 PCR (real-time quantitative PCR, RT-qPCR) 的方法, 检测基因的相对表达量。

对反转录所得的 cDNA 分别进行 5 个梯度稀释 ( $1$ 、 $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ ), 实施荧光定量反应, 然后绘制相对标准曲线。相关基因和内标 *ACTIN* 基因 RT-qPCR 扩增的总反应体系为  $20 \mu\text{L}$ , 包括:  $10 \mu\text{L}$  SYBR premix Ex Taq 混合液,  $2 \mu\text{L}$  cDNA,  $0.4 \mu\text{L}$  上游引物 ( $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),  $0.4 \mu\text{L}$  下游引物 ( $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),  $7.2 \mu\text{L}$  无核酸污染的灭菌水。反应程序为:  $94^\circ\text{C}$  预变性 2 min,  $94^\circ\text{C}$  变性 20 s,  $55^\circ\text{C}$  退火 30 s,  $72^\circ\text{C}$  延伸 30 s, 40 个循环, 每次循环第 3 步进行荧光采集。最后从  $60^\circ\text{C}$  升温至  $95^\circ\text{C}$ , 每隔 30 s 上升  $0.5^\circ\text{C}$ , 总共 71 个循环。检测其荧光值, 绘制熔点曲线。标准品 cDNA 和待测样品均设置 3 次重复。

## 2 结果与分析

### 2.1 草莓果实中可溶性糖含量变化

从图 1 可以看出, 草莓果实中蔗糖、葡萄糖和果糖含量总体上呈增加的趋势。葡萄糖和果糖呈现了相似的变化趋势, 而蔗糖的增加趋势先慢后快, 从小绿果 (花后 7 d) 至浅绿果 (花后 18 d), 同葡萄糖和果糖相比, 蔗糖积累最慢; 浅绿至纯白 (花后 18 ~ 21 d), 蔗糖迅速增加; 纯白至始红 (花后 21 ~ 23 d), 三者呈现了相似的变化趋势; 始红至全红 (花后 23 ~ 28 d), 蔗糖再次迅速增加, 并且积累最快, 最终含量是果糖和葡萄糖的 1.25 倍。

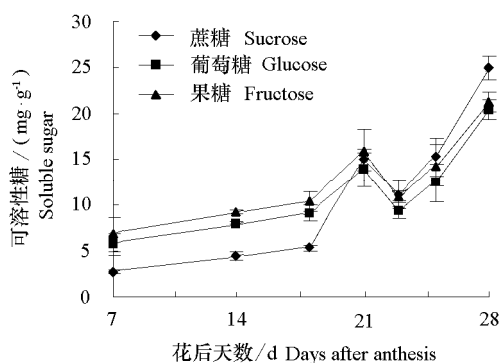


图 1 草莓果实发育过程中可溶性糖变化

Fig. 1 The change of soluble sugar content during strawberry fruit development

### 2.2 草莓果实中蔗糖转运蛋白基因的克隆

通过对 NCBI 核酸数据库靶基因序列搜索, 发现草莓中存在可直接用于实时荧光定量 PCR 分析的 *SPS*、*SS*、*AI* 基因的部分序列, 而无 *SUT1* 基因序列的相关信息。为了设计该基因实时荧光定量特异 PCR 引物, 设计兼并引物, 从草莓果肉 cDNA 库中克隆 *SUT1* 基因部分片段。图 2 和图 3 分别为通过 RT-PCR 技术克隆得到的 *SUT1* 573 bp 的条带及其核苷酸序列 (命名为 *FaSUT1*)。基于 *FaSUT1* 基因 NCBI BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 同源性序列分析表明, *FaSUT1* 与 *Betula pendula* (AF168771.1)、*Juglans regia* (AY504969.1)、*Vitis vinifera* (XM002267804.1) 和 *Nicotiana tabacum* (FM164639.1) 的同源基因相似性分别为 73%、72%、71% 和 69%, 相似性较高。该序列推测蛋白含有一个蔗糖转运蛋白超家族保守序列 (图 4), 表明已成功克隆到了 *SUT1* 基因片段, 可以用于设计荧光引物做 RT-PCR。

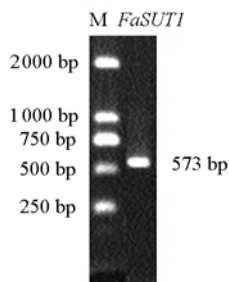


图 2 *FaSUT1* 基因扩增片段

Fig. 2 The amplified fragment of *FaSUT1* gene

M: DL 2000 marker.

```

5'-ttcgggtgggcccctccagctgtcgttgcactccctacgtccagcaattcggggtccac
S G G P S S C R C S L P T S S N S G S H
acaagtgggcgcgtgtcgtcgtcgtcggccctatctcggcttactggcgggtgcaa
T S G P L S S G S A A L S P A Y W P V Q
cccatcgtcggctactacagcgcgtaacacctctcgtttcggacgtcgtcgtctttc
P I V G Y Y S D R N T S R F G R R R S F
attgccgcggggcaggcctcgtcgcctcgcgttttcatgatcggttacgccgcgac
I A A G A G L V A I A V F M I G Y A A D
ataggtgtccgcaccggcgactcgtgggagaatccacgaagccaagagctgtggtgta
I G V R T G D S W E K S T K P R A V A V
tttgtttaggggttttgattctagatgtggcaataacatgcttcaaggccatgcagg
F V V G F W I L D V A N N M L Q G P C R
gctcttttgagacatatacagctcgcgtgaagaaatgagaacggcaaatgctctc
A L L A D I S G S D L K K M R T A N A L
ttctattcttcattggcgttggcaacgtcctcgttatgccgtggatcgttaaaaagt
F S F F M A V G N V L G Y A A G S L K S
ctttacaagatctttcccttactacgacaaaagcatgcgacgtttactgcgccaacctc
L Y K I F P F T T T K A C D V Y C A N L
aagagctgcttctcatatcgattgtttgt-3'
K S C F F I S I C L

```

图 3 *FaSUT1* 基因部分 cDNA 序列及其推导的氨基酸序列

Fig. 3 A fragment of cDNA sequence of *FaSUT1* gene and its deduced amino acid sequence

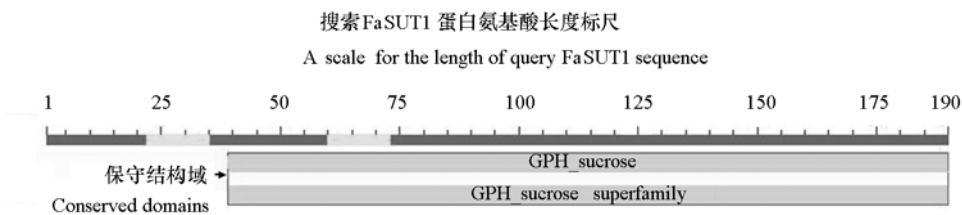


图 4 *FaSUT1* 氨基酸保守序列

GPH-sucrose (superfamily) 代表蔗糖-质子共运输蛋白 (超家族), 该类蛋白含有 12 个跨膜区域。

Fig. 4 The deduced conserved amino acid sequence of *FaSUT1*

GPH (Glycoside-Pentoside-Hexuronide)-sucrose (superfamily) represents sucrose-proton co-transportation transporters (superfamily) with 12 trans-membrane regions.

### 2.3 草莓果实发育过程中蔗糖代谢相关酶及载体基因表达量变化趋势

根据上述克隆的 *FaSUT1* 基因片段和其他基因已知的部分核酸序列, 设计实时荧光定量特异 PCR 引物, 对果实发育过程中各基因表达量进行分析。从图 5 可以看出, *SPS* 表达量随着果实发育呈逐渐增加的趋势, 但也明显分为 3 个不同的变化阶段: 从小绿至浅绿表达量缓慢增加; 纯白至始红表达量增加明显加快; 片红至全红表达量迅速增加; *SS* 基因表达量随着果实发育, 除了纯白果外都呈逐渐降低的趋势; *AI* 基因表达量随着果实发育, 除了片红果外呈逐渐降低的趋势, 尤其果实后期发育降幅较大; *SUT1* 基因表达量随着果实发育基本上呈先升后降、降中有升的变化趋势, 尤其浅绿至白果表达量迅速增加并达到高峰, 随后伴随着色呈现降—升—降变化趋势, 全红时降至最低点。

总之, 从小绿至全红草莓整个果实发育过程中, *AI* 和 *SS* 基因表达量呈先高后低逐渐降低的变化趋势, 只是降中升高时期不同; *SPS* 基因呈先低后高的持续增加变化趋势; *SUT1* 基因表达量呈先升后降复杂的变化趋势 (图 5)。

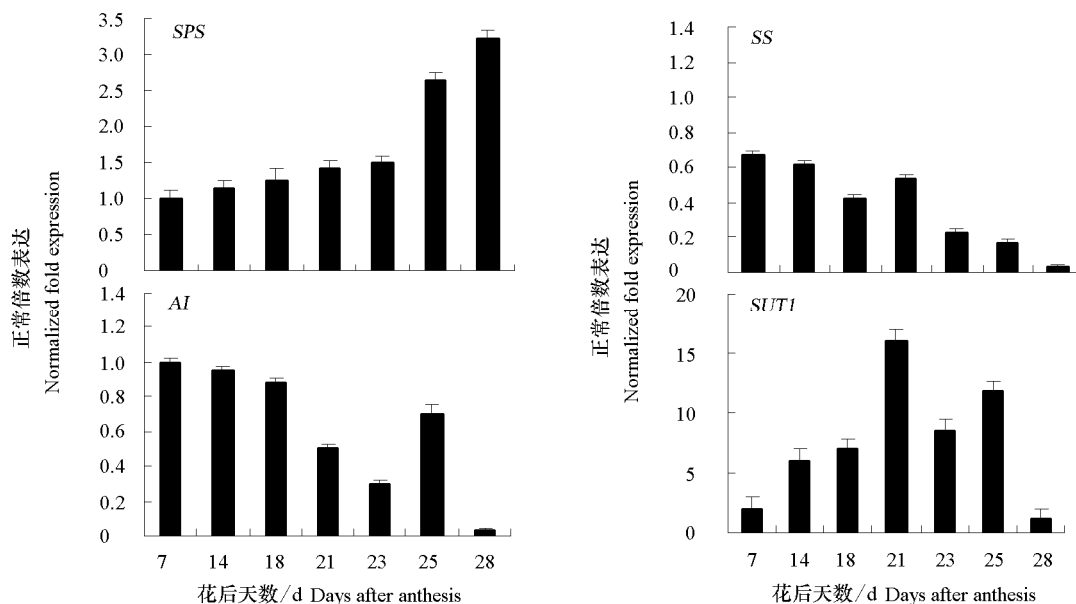


图5 草莓果实发育过程中蔗糖代谢相关酶及载体基因表达量变化趋势

Fig. 5 The changing trend of sucrose metabolism-related enzymes and its transporter during strawberry fruit development

### 3 讨论

糖的运输和分配是果实发育的物质基础,是决定作物产量和品质的重要因素。前人证实果实发育期间糖积累的强度与糖代谢相关酶的活性密切相关(Vizzolo et al., 2003)。陈俊伟等(2007)以设施栽培花后1~8周栃乙女草莓果实为试材,通过生物化学方法分别检测了糖代谢关键酶蛋白的活性,发现草莓果实的总糖含量随果实发育持续积累,但蔗糖的快速积累对果实后期糖的积累贡献最大;在果实发育前期草莓酸性转化酶活性随果实发育而下降,但在果实发育后期,酸性转化酶活性活力随果实成熟而急剧上升;在果实蔗糖快速积累期蔗糖磷酸合成酶反而降到较低水平;在整个果实发育过程中,蔗糖合成酶合成方向和降解方向酶的活性呈逐渐下降相似的变化趋势。作者认为,蔗糖磷酸合成酶和蔗糖合成酶对草莓果实后期蔗糖的快速积累贡献较少(陈俊伟等, 2007)。

本研究中发现:(1)杜克拉草莓果实从小绿至浅绿的前期发育过程中,果实中糖积累主要以葡萄糖和果糖为主,蔗糖含量相对较低,这与果实中酸性转化酶基因高水平表达相吻合。这是因为在酸性转化酶活性较高的条件下,蔗糖积累较少(Darnell et al., 1994),该基因转录水平结果与陈俊伟等酶活检测结果基本一致;(2)果实从浅绿至始红期发育过程中,3种可溶性糖先是快速增加,而后又迅速降低,在白熟期形成了第一次高峰。相关基因表达水平分析表明,果实变浅绿后蔗糖磷酸合成酶和蔗糖合成酶基因转录水平略微升高,酸性转化酶基因转录水平显著降低,蔗糖转运蛋白基因转录水平急剧升高至白熟期达高峰,这些基因的转录变化有助于蔗糖快速积累;(3)果实从始红至全红着色期,蔗糖合成酶基因表达水平持续降低,蔗糖转运蛋白和酸性转化酶基因表达都有一次升高过程,蔗糖磷酸合成酶基因表达水平急剧升高,这些基因的转录变化不仅促进了蔗糖的快速积累,而且有助于己糖的积累。这是因为,要实现果实发育后期蔗糖和己糖同时快速增加,首先蔗糖积累强度要大(通过SPS和SUT1库高表达实现),部分蔗糖在酸性转化酶基因高转录水平作用下可同时提高己糖积累量。同前人相关酶蛋白活性检测结果(陈俊伟等, 2007)比较分析发现,果实发育后期蔗糖合成酶基因转录水平与其酶活水平的变化完全吻合;酸性转化酶基因转录水平与其酶活水平的变化基本一致;蔗糖磷酸合成酶基因转录水平与其酶活水平的变化呈相反的趋势。出现这

种情况, 可能与草莓品种有关, 也可能与蔗糖磷酸合成酶基因存在翻译后加工有关。

总之, 杜克拉草莓果实从花后到浆果成熟只需要 1 个月左右的时间, 从果实褪绿到成熟时间更短, 一般只需两周左右。在如此短的时间内, 草莓果实大小不但要增加 1 倍左右, 而且要完成一系列生理变化过程, 其中最明显的变化是褪绿和着色。由于伴随果实褪绿和着色, 蔗糖含量呈现了两次急剧上升: 第一次升高主要归因于蔗糖转运蛋白基因高水平表达; 第二次升高除了蔗糖转运蛋白外, 主要归因于蔗糖磷酸合成酶基因高水平表达。前人研究表明, 植物中的蔗糖在细胞间的运输有两种途径: 通过胞间连丝进行的共质体途径和通过细胞间隙进行运输的质外体途径, 质外体途径中需要通过载体将糖装载入细胞 (Oparka & Prior 1988; Oparka, 1990)。Zhang 等 (2006) 研究发现, 在葡萄果实发育中, 前期当可溶性糖的积累水平很低时, 果实内韧皮部卸载采取共质体途径; 当果实发育进入成熟期, 可溶性糖含量迅猛升高时, 韧皮部卸载路径适应性地转换为质外体载体介导路径。值得关注的是, 蔗糖磷酸合成酶基因高水平表达发生在着色前, 因此该基因对调控草莓果实成熟启动具有重要的意义。通过细胞生物学和分子生物学进一步揭示蔗糖转运蛋白在草莓果实发育中的功能将是后续研究的重要内容。

## References

- Chen Jun-wei, Qin Qiao-ping, Xie Ming, Jiang Gui-hua, Xu Hong-xia, Cheng Jian-hui, Wu Jiang, Sun Chong-bo. 2007. Characteristics of sucrose and hexose metabolism in relation to sugar accumulation in developing strawberry fruit. *Journal of Fruit Science*, 24 (1): 49 - 54. (in Chinese)
- 陈俊伟, 秦巧平, 谢 鸣, 蒋桂华, 徐红霞, 程建徽, 吴 江, 孙崇波. 2007. 草莓果实蔗糖和己糖的代谢特性及其与糖积累的关系. *果树学报*, 24 (1): 49 - 54.
- Darnell R L, Cano-Medrano R, Koch K E, Every M L. 1994. Differences in sucrose metabolism relative to accumulation of sucrose levels in fruit of wild and domestic *V. accinium* species. *Physiologia Plantarum*, 92: 336 - 342.
- Fait A, Hanhineva K, Beleggia R, Dai N, Rogachev I, Nikiforova V J, Fernie A R, Aharoni A. 2008. Reconfiguration of the achene and receptacle metabolic networks during strawberry fruit development. *Plant Physiol*, 148 (2): 730 - 750.
- Forney C F, Breenp J. 1985. Collection and characterization of phloem exudates from strawberry pedicels. *HortScience*, 20: 413 - 414.
- Hubbard N L, Pharr D M, Huber S C. 1991. Sucrose phosphate synthase and other sucrose metabolizing enzymes in fruits of various species. *Physiologia Plantarum*, 82: 191 - 196.
- Ofosu-Anim J, Kanayama Y, Yamaki S. 1996. Sugar uptake into strawberry fruit is stimulated by abscisic and indoleacetic acid. *Physiologia Plantarum*, 97: 169 - 174.
- Oparka K J. 1990. What is phloem unloading? *Plant Physiology*, 94: 393 - 396.
- Oparka K J, Prior D A M. 1988. Movement of lucifer yellow CH in potato tuber storage tissues: A comparison of symplastic and apoplastic transport. *Planta*, 176: 533 - 540.
- Pan Q H, Yu X C, Zhang N, Zou X, Peng C C, Wang X L, Zou K Q, Zhang D P. 2006. Activity, but not expression, of soluble and cell wall-bound acid invertases is induced by abscisic acid in developing apple fruit. *Journal of Integrative Plant Biology*, 48: 536 - 549.
- Sauer N. 2007. Molecular physiology of higher plant sucrose transporters. *FEBS Lett*, 581 (12): 2309 - 2317.
- Tao Hong, Cui Ji-fang, Nie Lan-chun. 2010. Research process on sugar accumulation in fruits. *Journal of Anhui Agri Sci*, 38 (1): 42 - 44. (in Chinese)
- 陶 红, 崔纪芳, 卮兰春. 2010. 果实糖分积累研究进展. *安徽农业科学*, 38 (1): 42 - 44.
- Vizzolo G, Pinton R, Varanmin Z, Gosta G. 2003. Sucrose accumulation in developing peach fruit. *Physiologia Plantarum*, 96: 225 - 230.
- Yamaki S. 1995. Physiology and metabolism of fruit development biochemistry of sugar metabolism and compartmentation in fruits. *Acta Hort*, 398: 109 - 120.
- Zhang X Y, Wang X L, Wang X F, Xia G H, Pan Q H, Fan R C, Wu F Q, Yu X C, Zhang D P. 2006. A shift of phloem unloading from symplastic to apoplastic pathway is involved in developmental onset of ripening in grape berry. *Plant Physiology*, 142 (1): 220 - 232.