

早熟苹果花青苷积累与其相关酶活性及乙烯生成之间的关系

刘 金¹, 魏景立², 刘美艳¹, 宋 杨¹, 冯守千¹, 王传增¹, 陈学森^{1,*}

(¹ 山东农业大学作物生物学国家重点实验室, 山东泰安 271018; ² 山东省冠县国有毛白杨林场, 山东冠县 252500)

摘 要: 以生长发育期相近但着色不同的早熟苹果‘泰山早霞’(红色)和‘辽伏’(绿色)为试材, 研究果实生长发育过程中果皮花青苷含量和 PAL、CHI、UFGT 活性, 以及乙烯释放速率的变化。结果显示: ①在果实发育过程中, ‘泰山早霞’花青苷含量与苯丙氨酸解氨酶(PAL)、查尔酮异构酶(CHI)、类黄酮半乳糖苷转移酶(UFGT)活性均明显高于‘辽伏’。②两个早熟苹果在采收前均有乙烯释放高峰, 并且乙烯释放高峰早于花青苷的迅速积累; 喷施 1-MCP 后果实的乙烯释放速率降低, 花青苷合成随之显著减少; 说明乙烯启动并调控早熟苹果成熟期花青苷的积累。③‘泰山早霞’发育后期花青苷含量与 UFGT 活性显著正相关, 乙烯可能是通过调控 UFGT 酶的活性来促进花青苷的合成。

关键词: 苹果; 早熟; 花青苷; 苯丙氨酸解氨酶; 查尔酮异构酶; 类黄酮半乳糖苷转移酶

中图分类号: S 661.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2012) 07-1235-08

The Relationships Between the Enzyme Activity of Anthocyanin Biosynthesis, Ethylene Release and Anthocyanin Accumulation in Fruits of Precocious Apple Cultivars

LIU Jin¹, WEI Jing-li², LIU Mei-yan¹, SONG Yang¹, FENG Shou-qian¹, WANG Chuan-zeng¹, and CHEN Xue-sen^{1,*}

(¹State Key Laboratory of Crop Biology, Shandong Agriculture University, Tai'an, Shandong 271018, China; ²Guanxian State Forest of Populus Tomentosa, Guanxian, Shandong 252500, China)

Abstract: Fruits of precocious red ‘Taishan Zaoxia’ and green ‘Liaofu’ apple cultivars demand for the same growth period before ripening were investigated. The results indicated that: ①The content of anthocyanin and the activities of PAL, CHI and UFGT in ‘Taishan Zaoxia’ were higher than those in ‘Liaofu’ ($P < 0.05$). ②The release of ethylene in both cultivars peaked before harvesting and the rapid accumulation of anthocyanin. The ethylene release of the fruit reduced after the application of 1-MCP, and followed by the significant decrease of the anthocyanin release; The ethylene promoted and affected the accumulation of anthocyanin at the ripening stage of precocious apples. ③The content of anthocyanin was positively correlated with the activities of UFGT in ‘Taishan Zaoxia’ during fruits ripening. The production of ethylene is closely related to the synthesis of anthocyanin by mediating the activity of UFGT.

收稿日期: 2012-02-17; **修回日期:** 2012-05-14

基金项目: 国家重点基础研究发展计划课题 (2011CB100606); 国家自然科学基金项目 (31171932)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: chenxs@sdau.edu.cn)

Key words: apple; precocious; anthocyanin; phenylalanine ammonia-lyase; chalcone isomerase; glycosyltransferase

选育并推广优质早熟品种是我国苹果品种结构优化调整的重要内容之一（过国南 等，2009）。‘泰山早霞’（原名‘早丰甜’）是近几年选育的早熟苹果新品种，果实发育期约为 75 d，成熟时果面着色可达 95%以上，综合经济性状优良（王海波 等，2007a, 2007b; 陈学森 等，2008），但是采后自然状态下果实极易软化变绵（刘超超 等，2011; 刘美艳 等，2012）。

刘超超等（2011）研究发现‘泰山早霞’果实硬度在花后 70 d 开始明显下降，至 75 d 接近发育期的最低点，而且在 75 d 有一个明显的乙烯释放高峰及多聚半乳糖醛酸酶（PG）活性高峰。进一步的试验表明，在刚着色或着色面不足 1/2 的泰山早霞果箱内滴 1 滴液体的乙烯抑制剂 1-MCP 后熏蒸 18 h，可有效阻止果实硬度的迅速下降、PG 酶活性升高以及乙烯释放量的增加，并且处理后的酯类含量明显低于对照（刘超超，2011），说明泰山早霞果实质地变化与香味物质代谢均受乙烯调控。此外，研究表明果实花青苷的合成与乙烯关系密切，乙烯或乙烯复合物能够促进果实花青苷的生物合成（Blanpied et al., 1975; Faragher & Brohier, 1984）。对苹果（Wang & Dilley, 2001; Mohamed & Anton, 2002）、梨（MacLean et al., 2007）、香蕉（Golding et al., 1998）、葡萄（Chervin et al., 2004）、草莓（Jiang et al., 2001）、山竹果（Palapol et al., 2009）等果实施用乙烯抑制剂 1-MCP，明显延迟了花青苷的积累，抑制了花青苷的合成。

因此，本研究中以果实发育期相近的两个早熟苹果品种‘泰山早霞’（红色）和‘辽伏’（绿色）为试材，重点探讨果实发育后期乙烯生成与花青苷积累及其相关酶活性之间的关系，探讨果实着色的生理机制，为提高果实品质提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于 2009—2011 年在山东农业大学作物生物学国家重点实验室进行。试材为生长发育期相近但着色程度不同的早熟苹果品种‘泰山早霞’（红色）和‘辽伏’（绿色），均采自山东聊城冠县‘泰山早霞’示范基地。选长势一致的植株采样，均自盛花后第 5 周开始采样，每 7 d 采样 1 次，两个品种每次各采果 10~20 个（具体数量依据果实大小而定），放入冰盒，迅速带回实验室，立即进行处理。

在采收前 12 d 选择长势一致的植株，喷施山东营养源食品科技有限公司生产的液体 1-MCP，施用浓度为 $150 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ ，以喷清水作为对照，每 2 d 采果 1 次，各采 10 个。所有样品均用小刀刮下果皮（厚度 0.5 mm 左右）用液氮分别冷冻，保存到 -80°C 冰箱待用。果皮用来测定花青苷及苯丙氨酸解氨酶（PAL）、查尔酮异构酶（CHI）、类黄酮半乳糖苷转移酶（UFGT）酶活性。

1.2 果皮花青苷含量测定

参照 Pirie 和 Mullins（1976）的方法，取 0.5 g 样品，加入 10 mL 预冷的 1% 盐酸—甲醇溶液，避光室温浸提 2 h。用分光光度计测定提取液在 530 nm 和 600 nm 处的吸光值，二者之差即为花青苷的相对含量。差值每增加 0.01 定义为一个单位 U。设取样重复 3~5 次。

1.3 乙烯释放速率的测定

取苹果果实置于玻璃容器中，密封好后室温下存放 6~16 h，抽取 10 mL。乙烯释放速率以单位

果实质量在单位时间内的乙烯释放量来表示, 单位是 $\mu\text{L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 。

1.4 果皮 PAL、CHI 活性测定

取果皮样品加液氮研磨后, 准确称取 1 g 粉末, 加入 10 mL 提取液 [$0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ (pH 7.0), $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 抗坏血酸, $0.018 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \beta$ -巯基乙醇], 冰浴匀浆, 4°C 下 $12\,000 \times \text{g}$ 离心 30 min, 上清液为酶粗提液, 用于检测 PAL、CHI 酶活性 (Lister & Lancaster, 1996)。

1.5 果皮 UFGT 活性测定

果皮 UFGT 活性测定参照 Lister 和 Lancaster (1996) 的方法, 并略作修改。取果皮样品加液氮研磨后, 准确称取 1 g 粉末, 加入 8.0 mL 提取液 [$0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (pH 8.8) 硼酸缓冲液, $0.005 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \beta$ -巯基乙醇, $0.001 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA, $0.001 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ DTT, 5% PVP], 冰浴匀浆, 4°C 下 $12\,000 \times \text{g}$ 离心 30 min。

取上清液 200 μL , 加入 200 μL $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甘氨酸缓冲液 (pH 8.5), 30 μL $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的槲皮素底物和 20 μL $15 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 UDP 半乳糖, 在 30°C 水浴中反应 20 min。加入 150 μL 20% 三氯乙酸甲醇溶液终止反应。6 500 $\times \text{g}$ 离心 5 min 后取上清液保存于 -20°C , 待测。

采用高效液相色谱法检测 UFGT 的酶活性。检测条件: C_{18} 柱, 流动相 A 为 10% (体积比) 醋酸水溶液, B 为乙腈, A:B = 85:15。流速为 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 洗脱 20 min, 产物槲皮素-3-半乳糖苷在 350 nm 下约 8 min 时被洗脱下来。标样为槲皮素-3-半乳糖苷 (quercetin-3-galactoside), UFGT 酶活性以样品中槲皮素-3-半乳糖苷的含量表示。

2 结果与分析

2.1 不同着色早熟苹果发育过程中果皮花青苷含量的变化

不同着色早熟苹果果实发育过程中果皮花青苷含量的测定结果见图 1。可以看出, 两种颜色早熟苹果花青苷的积累趋势存在显著差异。

红色的‘泰山早霞’苹果在盛花后前 5 周内的幼果期花青素含量较高, 之后下降, 盛花后第 9 周开始直到采收再次升高, 采收时花青苷含量高达 $40.22 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 。

而绿色的‘辽伏’苹果花青苷含量相对于‘泰山早霞’在整个发育期内变化不大, 至采收时也仅是与幼果时持平, 维持在 $1.3 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 左右。

2.2 不同着色早熟苹果果皮 PAL、CHI、UFGT 酶活性变化

由图 2 可以看出, 两个早熟苹果品种果实不同发育时期 PAL、CHI、UFGT 酶活性变化趋势基本一致, 其中红色的‘泰山早霞’苹果 3 种酶活性均明显高于绿色的‘辽伏’苹果, 个别时期甚至于高出 2~3 倍。

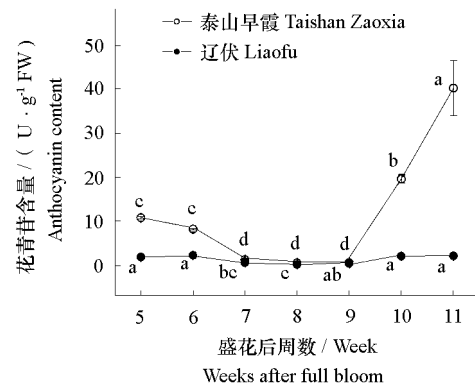


图 1 不同着色早熟苹果整个发育过程中果皮花青苷含量变化

Fig. 1 Changes of anthocyanin content in different coloured precocious apple cultivars during fruit development

‘泰山早霞’苹果 PAL、CHI 酶活性总体呈下降趋势，幼果期最高，随着果实发育逐渐降低，到果实成熟时有小幅上升；‘泰山早霞’苹果 UFGT 酶活性在盛花后第 8 周降到最低，成熟时大幅升高与幼果期持平。

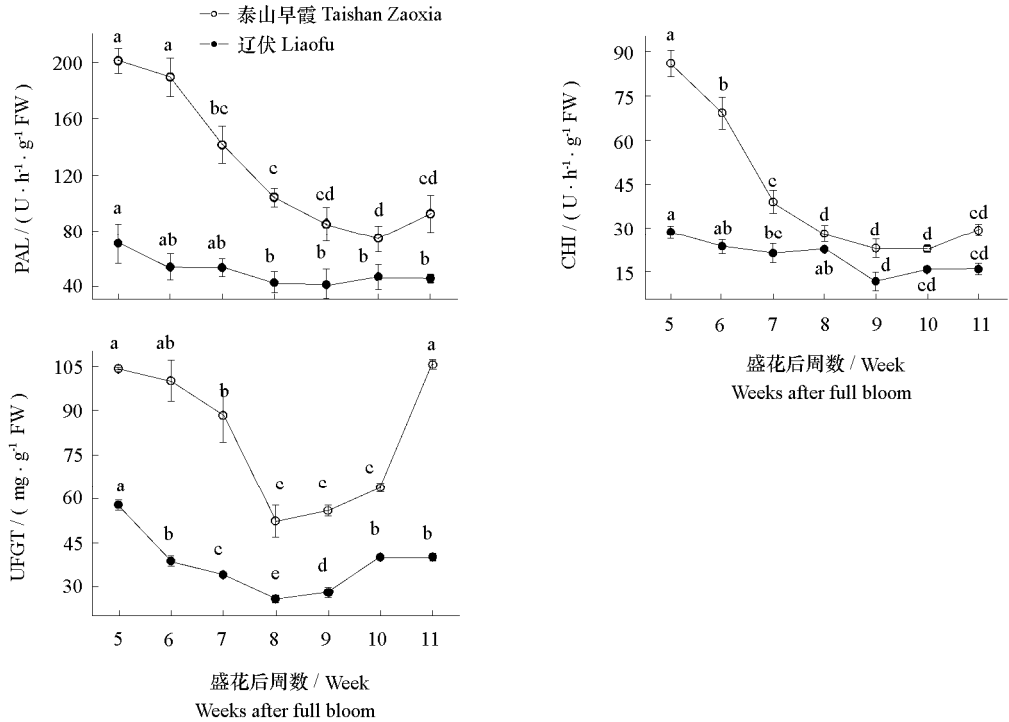


图 2 不同着色早熟苹果整个发育过程中果皮 PAL、CHI、UFGT 活性的变化

Fig. 2 Changes of PAL, CHI, UFGT enzyme activity in different coloured precocious apple cultivars during fruit development

2.3 不同着色早熟苹果果皮花青苷含量与 PAL、CHI、UFGT 酶活性的相关性分析

由表 1 可以看出，两种苹果在整个发育过程（盛花后 5~11 周）中，花青苷含量的变化与 PAL、CHI、UFGT 酶活性的变化的相关性并不高，但到成熟期（盛花后 9~11 周开始），相关性增大，其中‘泰山早霞’苹果花青苷含量与 CHI、UFGT 的相关系数（ $n = 3$ ）分别为 0.99、1.00，达到显著和极显著水平。

表 1 不同着色早熟着色苹果果皮花青苷含量与花青苷合成相关酶的相关性系数

Table 1 The correlation coefficient of anthocyanin content and the enzyme activity of anthocyanin biosynthesis in fruits of different coloured precocious apple cultivars

酶活性 Enzyme activity	花青苷 Anthocyanin			
	整个过程 Total (5 ~ 11 weeks)		成熟期 Ripening (9 ~ 11 weeks)	
	泰山早霞 Taishan Zaoxia	辽伏 Liaofu	泰山早霞 Taishan Zaoxia	辽伏 Liaofu
PAL	- 0.34	0.20	0.72	0.64
CHI	- 0.26	- 0.12	0.99*	0.71
UFGT	0.44	0.54	1.00**	0.87

注：* 表示 5% 的差异显著水平；**表示 1% 差异极显著水平。
Note: * means the significant level of 5% and ** means the significant level of 1%.

2.4 不同着色早熟苹果乙烯释放速率的变化

由图 3 可以看出, 两种早熟苹果在果实发育早期乙烯释放速率很低, 从盛花后第 8 ~ 9 周开始均有升高, ‘泰山早霞’ 苹果乙烯释放速率最高达 $87.5 \text{ nL} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$, 而 ‘辽伏’ 苹果最高值仅为 $9.6 \text{ nL} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 。

2.5 喷施 1-MCP 对红色 ‘泰山早霞’ 苹果乙烯释放速率及花青苷含量的影响

‘泰山早霞’ 果实成熟期喷施 1-MCP 后乙烯释放受到抑制, 花青苷的积累显著减少。自然状态下对照乙烯释放从 6 月 28 日开始迅速增加, 而花青苷的快速积累则是从 7 月 2 日开始。喷施 1-MCP 后果实的乙烯释放减慢, 直到 7 月 2 日才有小幅上升, 花青苷的积累也显著延迟, 在乙烯释放速率加快后花青苷的积累也逐渐加快 (图 4, 图 5)。

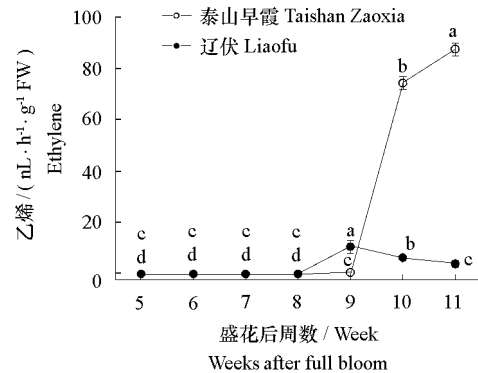


图 3 不同着色早熟苹果整个发育过程中乙烯释放速率的变化

Fig. 3 Changes of ethylene release in different coloured precocious apple cultivars during fruit development

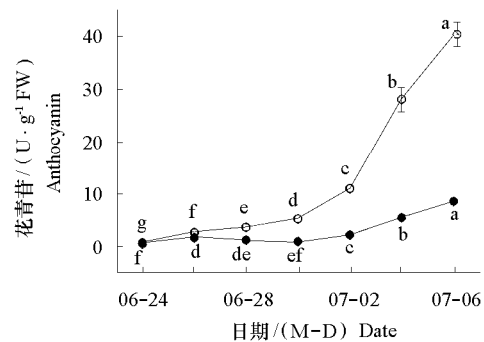
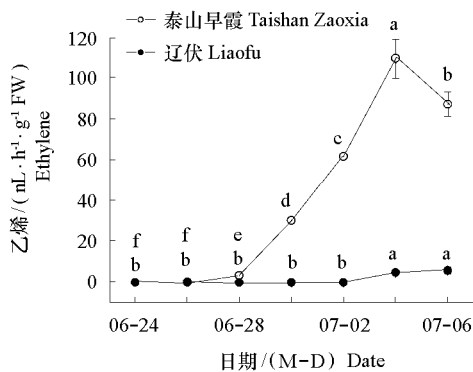


图 4 早熟红色苹果 ‘泰山早霞’ 喷施 1-MCP 后果实乙烯释放速率及花青苷含量的变化

Fig. 4 Changes of ethylene release and anthocyanin content in red precocious ‘Taishan Zaoxia’ treatment with 1-MCP



图 5 早熟红色苹果 ‘泰山早霞’ 喷施 1-MCP 10 d 后 (下) 与对照 (上) 果实着色的比较

Fig. 5 The coloration difference between the control (up) and the treated (down) fruits of ‘Taishan Zaoxia’ 10 d after the application of 1-MCP

3 讨论

3.1 早熟苹果果实发育过程中花青苷积累与 PAL、CHI、UFGT 酶活性之间的关系

花青苷是引起植物花果呈现颜色的主要物质,其含量和成分直接决定果实的色泽品质(Holton & Cornish, 1995)。花青苷合成始于苯丙氨酸代谢,苯丙氨酸转氨酶(PAL)是苯丙氨酸代谢途径的第一个酶(Ju et al., 1995)。Ju 等(1995)等对‘金冠’苹果的研究发现, PAL 催化了花青苷合成途径中前体物质的生成,但与花青苷的积累并无直接关系。崔艳涛等(2006)研究发现李果实中花青苷的积累与 PAL 活性的变化也不同步。查尔酮异构酶(CHI)作为花青苷合成途径中的重要酶,在类黄酮类化合物的转化中起着重要的作用。刘晓静等(2009)研究发现: CHI 酶活性在‘国光’红色芽变苹果果皮中明显升高。冯守千等(2008)在对砂梨的研究中也发现 CHI 酶活性与着色期花青苷含量的密切相关。类黄酮半乳糖苷转移酶(UFGT)是花青苷合成途径中的最后一个酶,主要是使不稳定的花青素与糖结合成稳定的花青苷。UFGT 是葡萄果皮花青苷积累的关键酶(Paul et al., 1996),也与红色砂梨发育后期花青苷的积累密切相关(冯守千 等, 2008)。Ju 等(1995)在对‘国光’和‘金冠’苹果的研究中发现,果实成熟过程中, UFGT 活性与花青苷的合成相关,但并不是唯一的关键酶。

本研究中发现,整个发育过程中,‘辽伏’苹果花青苷含量均低于‘泰山早霞’,相应地 3 种酶的活性也均明显低于‘泰山早霞’苹果,说明两种着色程度不同的苹果花青苷含量存在显著差异,这与 Lister 和 Lancaster (1996)的研究结果相同;而 PAL 和 CHI 酶活性的最高值均出现在幼果期,与花青苷的合成高峰并不完全一致,认为高活性的 PAL 和 CHI 酶与早熟苹果早期花青苷的合成有关,而且为成熟期花青苷的合成准备了充足的前体物质,因此在成熟期两种酶活性降低后花青苷依然可以大量积累;‘泰山早霞’苹果在幼果期和成熟期 UFGT 酶有两次活性高峰,与果实花青苷的积累高峰的出现基本一致且在成熟时两者达到极显著相关,说明 UFGT 酶的活性与果实花青苷的积累密切相关。

3.2 早熟苹果果实发育过程中乙烯生成与花青苷积累之间的关系

在许多果实的发育和成熟过程中,乙烯起到了至关重要的调控作用(Cornelius & James, 2007)。Mohamed 和 Anton (2002)对‘乔纳金’苹果研究发现花青苷积累比其他有关成熟现象对乙烯处理的反应要快许多,并且施用乙烯利极大增加了花青苷而不是其它类黄酮成分的积累。自然状态下,果实乙烯释放与花青苷积累过程变化规律一致,当果实受到伤害时果皮中乙烯和花青苷同时增多,但花青苷出现晚于乙烯生成(潘增光 等, 1995)。李秀菊等(1998)在对‘红富士’苹果的研究中却发现果实乙烯的生成落后于花青苷积累,因此推测果实乙烯的生成在果实花青苷积累过程中不是关键诱导因素。1-MCP 是乙烯作用抑制剂,可有效抑制植物对外源或内源乙烯的敏感性(Sisler & Serek, 1997)。

在本研究的参试品种中,‘泰山早霞’苹果成熟期生成大量乙烯后接着便有大量花青苷迅速合成,而‘辽伏’苹果成熟期乙烯生成量较少,花青苷的合成也少。对‘泰山早霞’施用 1-MCP 后乙烯的释放明显延迟,花青苷的积累也迅速减缓,说明乙烯启动并调控早熟苹果‘泰山早霞’成熟期花青苷的积累。从成熟过程中乙烯生成与 3 种酶活性的变化趋势来看,推测乙烯是通过启动花青苷合成途径下游的酶活性如 UFGT 酶来调控‘泰山早霞’果实花青苷的积累的,对此还要从分子方面做进一步的研究。

References

- Blanpied G D, Forshey C G, Styles W C, Green D W, Lord W J, Bramlage W J. 1975. Use of ethephon to stimulate red color without hastening ripening of 'McIntosh' apples. *J Amer Soc Hort Sci*, 100: 379 - 381.
- Chen Xue-sen, Xin Pei-gang, Zhang Tai-yan, Zhang Yan-min, Peng Fu-tian, Zhou Chao-hua, Jiang Yuan-mao, Chen Xiao-liu, Wang Hai-bo. 2008. A new very early-ripening apple cultivar 'Taishan Zaoxia'. *Acta Horticulturae Sinica*, 35 (1): 148. (in Chinese)
- 陈学森, 辛培刚, 张太岩, 张艳敏, 彭福田, 周朝华, 姜远茂, 陈晓流, 王海波. 2008. 极早熟苹果新品种 '泰山早霞'. *园艺学报*, 35 (1): 148.
- Chervin C, El-Kereamy A, Roustan J P, Latch A, Lamon J, Bouzayen M. 2004. Ethylene seems required for the berry development and ripening in grape, a non-climacteric fruit. *Plant Sci*, 167: 1301 - 1305.
- Cornelius S B, James J G. 2007. Ethylene and fruit ripening. *J Plant Growth Regul*, 26: 143 - 159.
- Cui Yan-tao, Meng Qing-rui, Wang Wen-feng, Feng Chen-jing, Yang Jian-min. 2006. Changes and relationship of anthocyanin, endogenous hormone and enzyme activity in the skin of Angelino plum fruit. *Journal of Fruit Science*, 23 (5): 699 - 702. (in Chinese)
- 崔艳涛, 孟庆瑞, 王文凤, 冯晨静, 杨建民. 2006. 安哥诺李果皮花青素与内源激素、酶活性变化规律及其相关性. *果树学报*, 23 (5): 699 - 702.
- Faragher J D, Brohier R L. 1984. Anthocyanin accumulation in apple skin during ripening: Regulation by ethylene and phenylalanine ammonia-lyase. *Sci Hort*, 22: 89 - 96.
- Feng Shou-qian, Chen Xue-sen, Zhang Chun-yu, Liu Xiao-jing, Liu Zun-chun, Wang Hai-bo, Wang Yan-ling, Zhou Chao-hua. 2008. A study of the relationship between anthocyanin biosynthesis and related enzymes activity in *Pyrus pyrifolia* 'Mantianhong' and its bud sports 'Aoguan'. *Scientia Agricultura Sinica*, 41 (10): 3184 - 3190. (in Chinese)
- 冯守千, 陈学森, 张春雨, 刘晓静, 刘遵春, 王海波, 王延玲, 周朝华. 2008. 砂梨品种 '满天红' 及其芽变品系 '奥冠' 花青苷合成与相关酶活性研究. *中国农业科学*, 41 (10): 3184 - 3190.
- Golding J B, Shearer D, Wyllie S G, McGlasson W B. 1998. Application of 1-MCP and propylene to identify ethylene-dependent ripening processes in mature banana fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 14: 87 - 98.
- Guo Guo-nan, Yan Zhen-li, Zhang Heng-tao, Zhang Shun-ni, Liu Zhen-zhen. 2009. Current situation of production of early and mid season apple cultivars in China and progress in breeding for early and mid season apple cultivars. *Acta Horticulturae Sinica*, 26 (6): 871 - 877. (in Chinese)
- 过国南, 阎振立, 张恒涛, 张顺妮, 刘珍珍. 2009. 我国早、中熟苹果品种的生产现状、选育进展及发展展望. *果树学报*, 26 (6): 871 - 877.
- Holton T A, Cornish E C. 1995. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. *Plant Cell*, 7: 1071 - 1083.
- Jiang Y M, Joyce D C, Terry L A. 2001. 1-methylcyclopropene treatment affects strawberry fruit decay. *Postharvest Biology and Technology*, 23: 227 - 232.
- Ju Z G, Liu C L, Yuan Y B. 1995. Activities of chalcone synthase and UDPGal: Flavonoid 3-O-glycosyltransferase in relation to anthocyanin synthesis in apple. *Sci Hort*, 63: 175 - 185.
- Ju Z G, Yuan Y B, Liou C L, Xin S H. 1995. Relationships among phenylalanine ammonia-lyase activity, simple phenol concentrations and anthocyanin accumulation in apple. *Sci Hort*, 61: 215 - 226.
- Li Xiu-ju, Liu Yong-sheng, Shu Huai-rui. 1998. The changes of pigmentation and hormonal in bagging Fuji apple. *Acta Horticulturae Sinica*, 25 (3): 209 - 213. (in Chinese)
- 李秀菊, 刘用生, 束怀瑞. 1998. 红富士苹果套袋果实色泽与激素含量的变化. *园艺学报*, 25 (3): 209 - 213.
- Lister C E, Lancaster J E. 1996. Developmental changes in enzymes of flavonoid biosynthesis in the skins of red and green apple cultivars. *Journal Science of Food Agriculture*, 71: 313 - 320.
- Liu Chao-chao. 2011. Preliminary study of the softening mechanism on early-ripening apple varieties [M. D. Dissertation]. Tai'an: Shandong Agricultural University. (in Chinese)
- 刘超超. 2011. 早熟苹果品种软化机理的初步研究 [硕士论文]. 泰安: 山东农业大学.

- Liu Chao-chao, Wei Jing-li, Xu Yu-ting, Jiao Qi-qing, Sun Hai-bing, Wang Chuan-zeng, Chen Xue-sen. 2011. Preliminary study on firmness and related physiological indices of three early-ripening apple cultivar during late development of the fruit. *Acta Horticulturae Sinica*, 38 (10): 133 - 138. (in Chinese)
- 刘超超, 魏景利, 徐玉亭, 焦其庆, 孙海兵, 王传增, 陈学森. 2011. 苹果 3 个早熟品种果实发育后期硬度及其相关生理指标的初步研究. *园艺学报*, 38 (10): 133 - 138.
- Liu Mei-yan, Wei Jing-li, Liu Jin, Fang Long, Song Yang, Cui Mei, Wang Chuan-zeng, Chen Xue-sen. 2012. The regulation of 1-methylcyclopropene on softening and expression of relevant genes in 'Taishan Zaoxia' apple. *Acta Horticulturae Sinica*, 39 (5): 845 - 852. (in Chinese)
- 刘美艳, 魏景利, 刘 金, 房 龙, 宋 杨, 崔 美, 王传增, 陈学森. 2012. '泰山早霞' 苹果采后 1 - 甲基环丙烯处理对其软化及相关基因表达的影响. *园艺学报*, 39 (5): 845 - 852.
- Liu Xiao-jing, Feng Bao-chun, Feng Shou-qian, Wang Hai-bo, Shi Jun, Wang Na, Chen Wei-yi, Chen Xue-sen. 2009. Studies on anthocyanin biosynthesis and activities of related enzymes of 'Ralls' and its bud mutation. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (9): 1249 - 1254. (in Chinese)
- 刘晓静, 冯宝春, 冯守千, 王海波, 石 俊, 王 娜, 陈为一, 陈学森. 2009. '国光' 苹果及其红色芽变花青苷合成与相关酶活性的研究. *园艺学报*, 36 (9): 1249 - 1254.
- MacLean D D, Murr D P, DeEll J R, Mackay A B, Kupferman E M. 2007. Inhibition of PAL, CHS, and ERS1 in 'Red Anjou' pear (*Pyrus communis* L.) by 1-MCP. *Postharvest Biology and Technology*, 45: 46 - 55.
- Mohamed A A, Anton de Jager. 2002. Formation of flavonoids, especially anthocyanin and chlorogenic acid in 'Jonagold' apple skin: Influences of growth regulators and fruit maturity. *Sci Hort*, 93: 257 - 266.
- Palapol Y, Ketsa S, Lin-Wang K, Ferguson I B, Allan A C. 2009. A MYB transcription factor regulates anthocyanin biosynthesis in mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) fruit during ripening. *Planta*, 229: 1323 - 1334.
- Pan Zeng-guang, Fan Hui, Shu Huai-rui. 1995. The relationship between anthocyanidin content and rate of ethylene production in apple fruit. *Plant Physiology Communications*, 31 (5): 338 - 340. (in Chinese)
- 潘增光, 范 晖, 束怀瑞. 1995. 苹果果实花青素形成与乙烯释放量的关系. *植物生理学通讯*, 31 (5): 338 - 340.
- Paul K B, Christopher D, Simon P R. 1996. Expression of anthosynthesis pathway genes in red and white grapes. *Plant Molecular Biology*, 32: 565 - 569.
- Pirie A, Mullins M G. 1976. Changes in anthocyanin and phenolics content of grapevine leaf and fruit tissues treated with sucrose, nitrate abscisic acid. *Plant Physiology*, 58: 468 - 472.
- Sisler E C, Serek M. 1997. Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level: Recent developments. *Physiologia Plantarum*, 100 (3): 577 - 582.
- Wang Hai-bo, Chen Xue-sen, Xin Pei-gang, Feng Tao, Shi Jun, Ci Zhi-juan. 2007a. GC - MS analysis of volatile components in several early apple cultivars. *Journal of Fruit Science*, 24 (1): 11 - 15. (in Chinese)
- 王海波, 陈学森, 辛培刚, 冯 涛, 石 俊, 慈志娟. 2007a. 几个早熟苹果品种香气成分的 GC - MS 分析. *果树学报*, 24 (1): 11 - 15.
- Wang Hai-bo, Chen Xue-sen, Xin Pei-gang, Zhang Xiao-yan, Ci Zhi-juan, Shi Jun, Zhang Hong. 2007b. Study on sugar and acid constituents in several early apple cultivars and evaluation of their flavor quality. *Journal of Fruit Science*, 24 (4): 513 - 516. (in Chinese)
- 王海波, 陈学森, 辛培刚, 张小燕, 慈志娟, 石 俊, 张 红. 2007b. 几个早熟苹果品种果实糖酸组分及风味品质的评价. *果树学报*, 24 (4): 513 - 516.
- Wang Z Y, Dille D R. 2001. Aminoethoxyvinylglycine, combined with ethephon, can enhance red color development without over-ripening apples. *HortScience*, 36: 28 - 331.