

不同溶质桃果实的软化与乙烯合成相关基因的差异表达

杨 勇^{1,2}, 马瑞娟¹, 张斌斌¹, 宋志忠¹, 张春华¹, 郭绍雷¹, 俞明亮^{1,2,*}

(¹江苏省农业科学院园艺研究所, 江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室, 南京 210014; ²南京农业大学园艺学院, 南京 210095)

摘要: 以八成熟 Stonyhard 型桃‘霞脆’和‘有名白桃’、软溶质桃‘银花露’、硬溶质桃‘湖景蜜露’、不溶质桃‘金童 6 号’的果实为试材, 研究了 25 ℃和 4 ℃贮藏条件下果实软化及乙烯生物合成途径相关基因表达水平的差异。结果显示: 两种贮藏温度下, Stonyhard 型桃‘有名白桃’和‘霞脆’果实释放极少量乙烯; 25 ℃常温条件下, Stonyhard 型桃果实硬度保持较高水平, 但 4 ℃低温诱导了‘有名白桃’果实软化。实时荧光定量 PCR 表明, 软溶质、硬溶质和不溶质桃的 *PpACSI* 基因均具有高表达丰度, 而 Stonyhard 型‘霞脆’和‘有名白桃’的表达水平极低; 两种贮藏温度下, 5 个桃品种果实在整个贮藏期间均未检测到 *PpACS2* 和 *PpACS3* 基因的表达。此外, 低温诱导了 *PpACO1* 基因在 Stonyhard 型桃‘霞脆’和‘有名白桃’中的表达, ‘有名白桃’果实 *endo-PG* 基因受低温刺激表达也上调。说明不同肉质类型的桃贮藏期间果实软化与乙烯的生物合成关系密切, 不同温度下通过调节相关基因的表达水平进而调控果实软化进程。

关键词: 桃; 乙烯; 生物合成途径; 软化; 基因表达

中图分类号: S 662.1

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2015) 10-1869-10

Differential Expression Analysis in Fruit Softening and Ethylene Biosynthetic Pathways in Peaches of Different Flesh Textures

YANG Yong^{1,2}, MA Rui-juan¹, ZHANG Bin-bin¹, SONG Zhi-zhong¹, ZHANG Chun-hua¹, GUO Shao-lei¹, and YU Ming-liang^{1,2,*}

(¹Institute of Horticulture, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Jiangsu Key Laboratory for Horticultural Crop Genetic Improvement, Nanjing 210014, China; ²College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: To study the expression difference of genes involved in fruit softening and ethylene biosynthetic pathways under different temperature storage, different peach cultivars of ‘Xiacui’ and ‘Yumyeong’ with stonyhard, ‘Yinhualu’ with soft-melting, ‘Hujing Milu’ with hard-melting, and ‘Babygold 6’ with non-melting in 8 tenth maturity were collected as test materials. The results showed that only a little ethylene production were detected after harvest with fruits of ‘Yumyeong’ and ‘Xiacui’,

收稿日期: 2015-05-14; 修回日期: 2015-09-23

基金项目: 江苏省农业科技自主创新资金项目[CX(14)2015]; 国家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: mly1008@aliyun.com)

under either room temperature (25 °C) or low temperature (4 °C). The fruit firmness of stonyhard cultivars retain at high level under room temperature with time going on, whereas low temperature induced ‘Yumyeong’ fruit to soften. Real-time quantitative PCR results indicated that *PpACS1* gene was highly expressed in soft-melting, hard-melting and non-melting cultivars, but extremely low in stonyhard peaches. However, *PpACS2* or *PpACS3* could not be detected in all five cultivars. Moreover, cold treatment induced the expression level of *PpACO1* gene in ‘Xiacui’ and ‘Yumyeong’ peaches, and significantly enhanced *endo-PG* expression in ‘Yumyeong’ peaches. In conclusion, this study revealed that fruit softening of peaches with different flesh textures were closely related to ethylene biosynthesis during the storage period, which were controlled via regulating relevant gene expression levels under different storage temperatures.

Key words: *Prunus persica*; ethylene; biosynthetic pathway; soften; gene expression

桃的果肉的质地分为软溶质、硬溶质、不溶质和绵等4种类型(王力荣等, 2005), 日本桃专家Yoshida提出了一种新的桃肉质类型——Stonyhard, 表现为果实在发育期和采后均基本不发生软化现象, 且能正常着色, 口感良好(Haji et al., 2001, 2004)。遗传分析表明, Stonyhard (*hd*) 是一个不同于溶质(*M*)/不溶质(*m*) (Haji et al., 2005) 的隐性遗传位点(Yoshida, 1976)。一般而言, 桃果实属呼吸跃变型, 在成熟过程中, 果实质地发生改变, 导致硬度下降, 并伴随着乙烯释放的增加, 相关基因的表达水平上调。

ACC(乙烯生物合成的直接前体物质)合成酶(ACS)和ACC氧化酶(ACO)是调控乙烯合成的关键酶(Yang & Hoffman, 1984; 徐昌杰等, 1998; 殷学仁等, 2009)。ACS和ACO都由多基因家族编码, 其表达水平受发育进程和环境因素的综合影响(Kende, 1993; Zarembinski & Theologis, 1994)。阚娟等(2012)研究发现软溶质桃‘雨花3号’果实采后硬度迅速下降, 乙烯释放量显著增加, ACS和ACO基因的表达水平呈先升后降的趋势, 而不溶质桃‘加纳岩’果实在成熟过程中硬度变化缓慢, 仅在成熟末期有明显下降, 整体保持较高水平, ACS和ACO的表达水平也相对较低。Hayama等(2006)的研究表明溶质桃‘Akatsuki’果实采后软化迅速, *endo-PG*基因表达水平快速升高, 而Stonyhard类型桃‘Manami’果实采后果实硬度无明显变化, *endo-PG*基因表达水平一直处于较低水平。

本研究中采用气相色谱技术研究了不同果肉质地桃果实采后乙烯的释放规律, 结合硬度变化和乙烯合成途径与软化相关基因的表达分析, 以期进一步探讨桃果实软化的机制, 为深入研究桃果实软化机制和乙烯生物合成机理提供理论依据, 为桃果实贮藏保鲜提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料与处理

供试桃材料为5个品种: 软溶质桃‘银花露’果实采后软化迅速, 货架期极短, 仅为2~3 d, 不耐贮藏; 硬溶质桃‘湖景蜜露’的货架期稍长, 为4~5 d; 不溶质桃‘金童6号’采后硬度维持在稳定水平, 即使完全成熟, 其硬度也不显著下降; Stonyhard型桃‘有名白桃’即果实时熟软化能力能够被外源乙烯恢复, 是典型的Stonyhard melting(能够恢复)型, ‘霞脆’则属于Stonyhard non-melting(不能恢复)类型(Haji et al., 2005), 这两个品种果实硬度高, 采后果肉组织软化缓

慢, 硬度变化不显著, 货架期长达 15 d 左右。

供试品种均种植于江苏省农业科学院桃试验园。树体健壮, 树形为自然开心形, 每个品种各 3 株, 单株重复。试验植株按常规栽培措施管理。

于 2014 年采收树冠中部以上外围光照条件良好的八成熟果实, 采后立即带回实验室, 选留大小均匀、成熟度相对一致、无病虫害的果实备用。

试验设置如下: 一组果实单层放置于内衬厚度为 0.04 mm 聚乙烯保鲜袋的塑料托盘内, 敞口, 放置于室温为 (25 ± 1) °C 的货架上 (保持环境湿度 75% 左右); 另一组果实单层放置于内衬厚度为 0.04 mm、打孔的聚乙烯保鲜袋的塑料托盘内, 轻扎袋口, 置于温度为 (4 ± 0.5) °C、相对湿度为 75% 的冷库中。每组 70 个果实, 3 次重复, 共计 210 个。每次随机取 10 个果实进行相关指标测定, 3 次重复。

1.2 果实乙烯释放速率与硬度的测定

将 10 个果实置于 5 L 的密闭容器中密封 2 h 后抽取气体测定乙烯含量, 3 次重复。以单位鲜样质量 (FW) 的果实在单位时间内释放的乙烯量表示果实的乙烯释放量 $\mu\text{L} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 。乙烯测定用 GC-7890A 型气相色谱仪 (Agilent), 色谱条件为: FID 检测器, Hp-Plot q 毛细管柱 ($20 \text{ m} \times 0.53 \text{ mm} \times 20 \mu\text{m}$), 分流比 10, 载气 He, 柱温 40 °C, 检测器温度 220 °C, 进样量 1 mL, 以鲜果测定, 重复 3 次。

在果实缝合线两侧中部用 TA. XT. Plus 型质构仪测定去皮硬度 (果肉硬度), 探头直径 8 mm, 测试深度 5 mm, 贯入速度 $1 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ 。取两个点的平均值作为每个果实的去皮硬度。

1.3 相关基因的表达分析

果肉总 RNA 的提取采用改良 CTAB 法 (史宝胜和卓丽环, 2006); DNA 污染去除采用 DNase I (Promega 公司) 消化; RNA 反转录使用 PrimeScript™ Double Strand cDNA Synthesis Kit 试剂盒 (TaKaRa), 操作均按各试剂的使用说明书进行。

根据桃已登录序列采用 Primer 5.0 分别设计 *ACTIN*、*ACSI*、*ACS2*、*ACS3*、*ACO1* 和 *endo-PG* 6 个基因的特异性引物序列 (表 1), 引物由上海 Invitrogen 生物公司合成; 荧光染料使用 SYBR Green (TaKaRa); 荧光定量分析用 ABI 7500 实时定量 PCR 仪。扩增体系及反应程序参照郭磊等 (2013) 的方法, 3 次重复。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法 (Livak & Schmittgen, 2001) 进行分析, 以内参基因 *ACTIN* (Tong et al., 2009) 的表达量为标准确定目的基因的表达量。

表 1 RT-PCR 所用引物
Table 1 Sequences of the primers used for RT-PCR

基因 Gene	引物序列 (5' - 3') Sequence of the primer (5' - 3')	片段长度/bp Fragment length
<i>PpACTIN</i>	F: GTTATTCTTCATCGCGTCTTCG R: CTTCACCATTCCAGTCCATTGTC	112
<i>PpACSI</i>	F: GGCAAGGTTCTGGAGACAA R: CACAATCACAGCCAAGCA	187
<i>PpACS2</i>	F: TGCACAGCAGCAGGAGTAAA R: CCAGGATCAGCCAAGCAGAA	203
<i>PpACS3</i>	F: ATGCTGGTTGTTGCTGG R: AACCTGGTTCAGAGCAGTGG	147
<i>PpACO1</i>	F: GCAACTACCCTCCTGCCC R: TGGCCATCTTGAGGAGCTG	127
<i>endo-PG</i>	F: ACAACATGTGGTGAGTGGA R: CCATCGGTGTTAGGGCTGTT	130

2 结果与分析

2.1 果实乙烯释放速率的变化

如图 1 所示, 25 °C 整个贮藏期间, 软溶质品种 ‘银花露’、硬溶质品种 ‘湖景蜜露’、不溶质品种 ‘金童 6 号’ 桃果实的乙烯释放速率均呈先升后降的趋势, 伴随有典型的乙烯释放高峰, ‘银花露’ 采后乙烯释放迅速增加, 并于贮藏 3 d 达到释放峰值, 为 $31.25 \mu\text{L} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$; ‘湖景蜜露’ 和 ‘金童 6 号’ 在采后贮藏初期乙烯释放水平较低, 贮藏 4 d 后加快; Stonyhard 型品种 ‘霞脆’ 和 ‘有名白桃’ 乙烯释放速率极低, 无典型的乙烯释放高峰。

4 °C 低温显著抑制了不同品种果实的乙烯释放速率。贮藏初期, ‘银花露’、‘湖景蜜露’、‘金童 6 号’ 桃果实的乙烯释放量均快速降低, 仅 ‘银花露’ 在贮藏 8 d 才有乙烯峰值出现, 且仅为 $1.79 \mu\text{L} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 。Stonyhard 型品种 ‘霞脆’ 和 ‘有名白桃’ 果实的乙烯生物合成保持在极低水平。

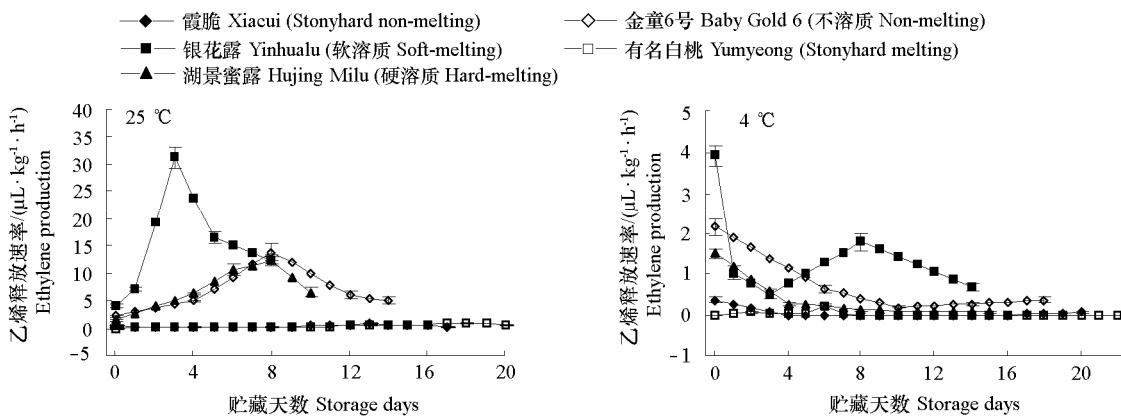


图 1 不同品种桃乙烯释放速率的变化
Fig. 1 Changes in ethylene production of different peach cultivars

2.2 果实硬度的变化

由图 2 可以看出, 25 °C 常温贮藏条件下, 软溶质 ‘银花露’ 和硬溶质 ‘湖景蜜露’ 桃贮藏初期果实快速变软, 不溶质 ‘金童 6 号’ 缓慢软化, 果实硬度一直较稳定 ($2.95 \sim 2.39 \text{ kg} \cdot \text{cm}^{-2}$), Stonyhard 型 ‘霞脆’ 和 ‘有名白桃’ 硬度呈缓慢下降趋势, 整体保持较高水平。各品种贮藏末期, ‘银花露’、‘湖景蜜露’、‘金童 6 号’、‘霞脆’ 和 ‘有名白桃’ 果实硬度的下降幅度分别为 78.5%、91.6%、19.0%、19.7% 和 24.8%。

4 °C 贮藏条件下, ‘银花露’ 和 ‘湖景蜜露’ 桃果实的软化速率降低, ‘湖景蜜露’ 在 6~8 d 果实硬度出现短暂上升现象, ‘金童 6 号’ 贮藏末期的果实硬度高于贮藏 0 d 时硬度, ‘霞脆’ 桃果实硬度变化不大, 一直保持在较高水平范围, ‘有名白桃’ 果实硬度降低较快, 由贮藏初期时的 $6.42 \text{ kg} \cdot \text{cm}^{-2}$ 降至 $3.11 \text{ kg} \cdot \text{cm}^{-2}$, 下降幅度达到 51.6%。

表明低温缓解了软溶质 ‘银花露’ 和硬溶质 ‘湖景蜜露’ 的软化进程, 诱导了 Stonyhard 型 ‘有名白桃’ 果实的软化。

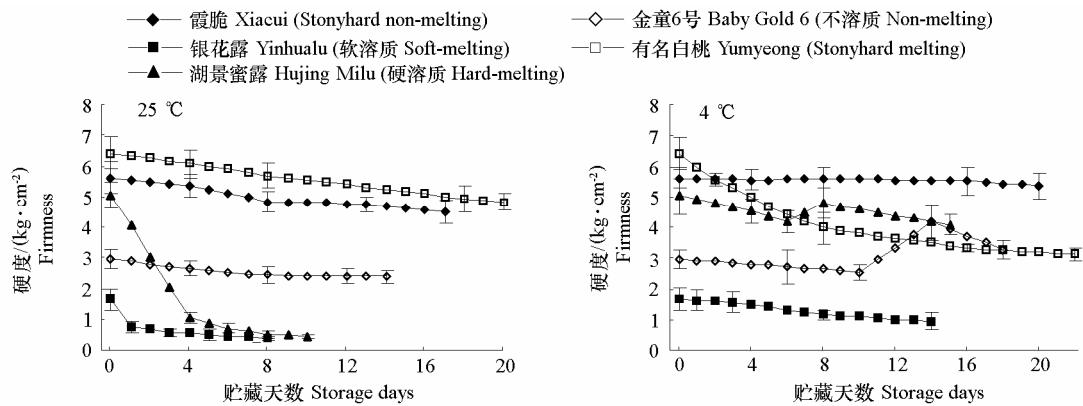


图 2 不同品种桃果肉硬度的变化
Fig. 2 Changes in flesh firmness of different peach cultivars

2.3 相关基因的表达分析

2.3.1 *PpACSI*

如图 3 所示, 常温贮藏条件下, *PpACSI* 基因在软溶质 ‘银花露’ 桃果实贮藏 0~3 d 时转录表达水平稳步上升, 并在贮藏 5 d 达到峰值, 3~5 d 保持在稳定水平, 5 d 后明显下降; 硬溶质 ‘湖景蜜露’ 在贮藏 0~5 d 表达量较低, 5~10 d 表达量显著上升, 10 d 后表达量有所下降。

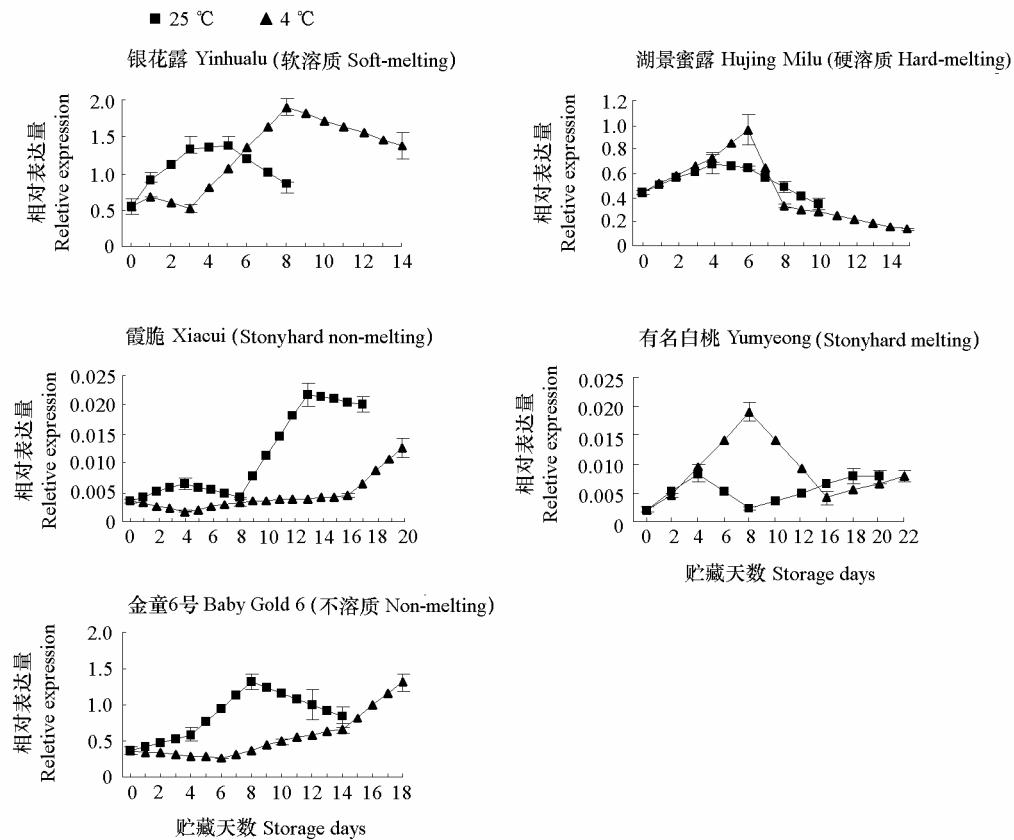


图 3 桃不同品种 *PpACSI* 基因的表达分析
Fig. 3 Expression analysis of *PpACSI* in different peach cultivars

‘蜜露’和不溶质‘金童6号’呈先升后降的趋势；相对而言，Stonyhard型‘霞脆’和‘有名白桃’果实中的转录表达水平极低。

4℃贮藏条件下，‘银花露’和‘金童6号’果实的*PpACSI*基因表达水平在贮藏中后期有较大幅度的上调，‘湖景蜜露’在0~6d内迅速上升并达到峰值，随后明显下降；‘霞脆’和‘有名白桃’仍在极低水平范围内波动。

表明两种贮藏条件下，Stonyhard型桃相比于软溶质、硬溶质以及不溶质桃果实，*PpACSI*基因的表达受抑制。

2.3.2 *PpACO1*

如图4所示，常温贮藏条件下，*PpACO1*基因在软溶质‘银花露’、硬溶质‘湖景蜜露’果实中的转录表达水平呈明显上升趋势、不溶质‘金童6号’采后8d内逐步上升，达到峰值后保持在一个稳定水平，Stonyhard型‘霞脆’和‘有名白桃’则稳定在较低水平。

4℃贮藏条件下，‘银花露’和‘金童6号’果实*PpACO1*基因的转录表达水平显著低于常温贮藏，‘湖景蜜露’的相对表达最高值仅为常温贮藏条件下的46%，‘有名白桃’和‘霞脆’果实中呈先升后降趋势，表达高峰分别为贮藏0d时的4.3倍和4.1倍，分别为常温贮藏条件下峰值的2.0倍和1.8倍。

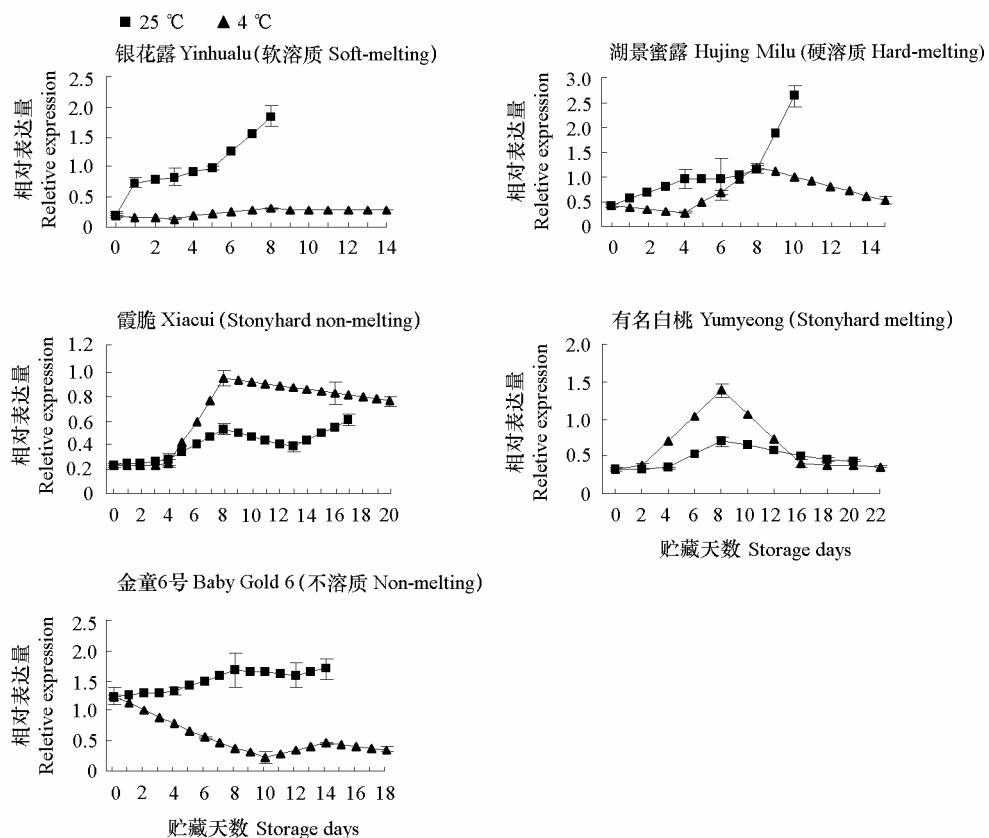


图4 桃不同品种*PpACO1*基因的表达分析
 Fig. 4 Expression analysis of *PpACO1* in different peach cultivars

表明常温贮藏条件下, *PpACO1* 基因在 Stonyhard 型桃中转录表达水平较其它溶质类型低; 低温抑制了 *PpACO1* 基因在软溶质、硬溶质和不溶质桃果实上的表达, 而诱导了其在 Stonyhard 桃上的表达。

2.3.3 *endo-PG*

如图 5 所示, 常温条件下, *endo-PG* 基因转录表达水平在软溶质 ‘银花露’、硬溶质 ‘湖景蜜露’ 果实中随贮藏时间的延长逐步上升, 达到峰值后下降, Stonyhard 型 ‘霞脆’ 和 ‘有名白桃’ 整个贮藏过程中表达丰度较低, 不溶质 ‘金童 6 号’ 表达丰度极低。

4 °C 条件下, 贮藏 0~3 d, ‘银花露’ 桃果实的 *endo-PG* 基因转录表达水平较低, 变化不大, 之后快速上升, 并于 8 d 达到峰值, 此时表达丰度为贮藏 0 d 的 6.3 倍, 硬溶质 ‘湖景蜜露’ 和 Stonyhard non-melting (不能恢复) 型 ‘霞脆’ 果实中的表达丰度维持在较低水平, Stonyhard melting (能够恢复) ‘有名白桃’ 果实在贮藏 0~8 d *endo-PG* 基因表达量快速积累并达到峰值, 为常温下峰值的 6.4 倍。

表明两种贮藏温度下, *endo-PG* 基因在不溶质果实中表达丰度均极低, 低温抑制了硬溶质和 Stonyhard non-melting 型桃果实中 *endo-PG* 基因的表达, 诱导了 Stonyhard melting 型桃 *endo-PG* 基因的表达。

另外, 本试验中未检测到 *PpACS2* 和 *PpACS3* 基因的表达量。

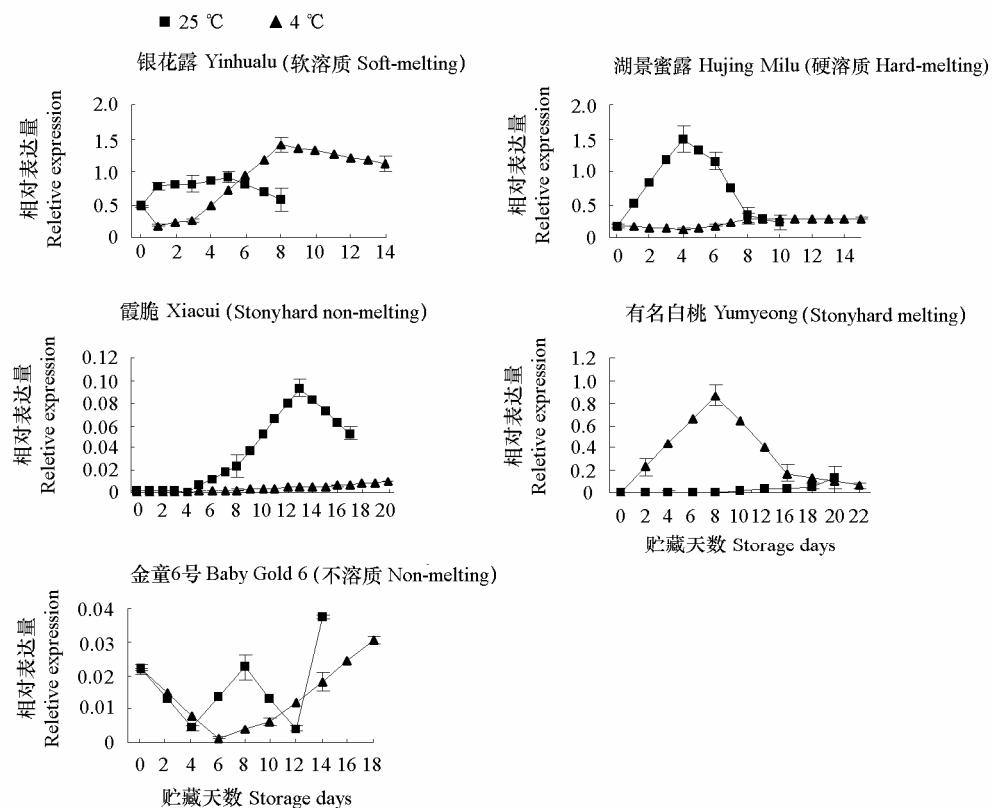


图 5 桃不同品种 *endo-PG* 基因的表达分析
Fig. 5 Expression analysis of *endo-PG* in different peach cultivars

3 讨论

Stonyhard 型桃果实在成熟过程中不合成或极少合成乙烯 (Haji et al., 2001)。对 Stonyhard 型品种‘有名白桃’施加外源 ACC 后, 可恢复乙烯合成能力, 表明 ACC 合成酶是 Stonyhard 型桃乙烯合成的关键酶之一 (Haji et al., 2003)。Tatsuki 等 (2006) 进一步研究发现 *PpACS1* 表达受抑制是 Stonyhard 型桃果实乙烯生物合成受阻的主要原因。本研究中发现: 常温条件下, ‘银花露’、‘湖景蜜露’桃果实均有正常乙烯释放峰值出现, 且释放变化趋势与 *PpACS1* 基因的转录表达水平保持一致, 此外 *PpACS1* 基因具有较高的表达丰度, 而在 Stonyhard 型桃中该基因的转录表达受抑制, 在整个贮藏过程中表达水平极低, 这与前人的研究结果 (Tatsuki et al., 2006) 一致。然而不同的是, 相较于不溶质桃‘加纳岩’而言 (阙娟等, 2012), ‘金童 6 号’的乙烯释放峰值较高, 达到 $13.73 \mu\text{L} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, 且 *PpACS1* 和 *PpACO1* 的相对表达量亦较高, 这可能是由于品种差异所致。低温条件下, 软溶质、硬溶质和不溶质桃果实的乙烯释放量较常温下大幅降低, 这与前人的报道 (茅林春和张上隆, 1999; 马书尚等, 2003; 郭艳萍等, 2009) 一致, 且尽管在贮藏中后期 *PpACS1* 基因也出现了较高的表达峰值, 然而乙烯释放仍保持极低水平, 这表明乙烯的生物合成是受多基因共同调控的, 且受外界贮藏环境影响而变化。Stonyhard 型‘霞脆’和‘有名白桃’果实在整个低温贮藏期间并未检测到 *PpACS1* 基因表达丰度的明显增加, 而保持极低水平。

两种贮藏温度下, 5 个桃品种果实在整个贮藏过程中均未检测到 *PpACS2* 和 *PpACS3* 基因的表达, 这与 Tatsuki 等 (2006) 在溶质桃‘Akatsuki’与 Stonyhard 桃‘Yumyeong’、‘Odoroki’和‘Manami’上的研究结果一致, 说明 *PpACS2* 和 *PpACS3* 基因在桃成熟果实中不表达或表达水平极低。*PpACO1* 基因在桃果实成熟过程中对乙烯的生物合成也具有重要影响 (Callahan et al., 1992; Lester et al., 1994; Tonutti et al., 1997; Mathooko et al., 2001)。本试验中发现低温抑制了 *PpACO1* 基因在软溶质、硬溶质和不溶质桃果实上的表达, 而诱导了其在 Stonyhard 桃上的表达。这可能是由于 Stonyhard 和非 Stonyhard 型桃果实在受到低温胁迫时, 具有不同的应答机制, 还需要进一步的研究。

果实软化是一个涉及细胞壁降解的极其复杂的进程, 由诸多细胞壁修饰酶共同调控 (Brownleader et al., 1999; Brummel & Harpster, 2001), 其中 *endo-PG* 活性的提高被认为是桃果实软化、果肉溶解所必需的 (Fishman et al., 1993)。本研究中发现低温延缓了软溶质桃‘银花露’果实的软化进程, 贮藏 3 d 后果实时才明显软化, 这可能与贮藏前期果实 *endo-PG* 基因表达受抑制有关; 硬溶质桃‘湖景蜜露’在低温贮藏条件下, 果实硬度未出现明显降低, 这与其在常温条件下的表现形成鲜明对比, 且 *endo-PG* 基因的相对表达水平也较常温贮藏保持极低水平; 不溶质桃‘金童 6 号’在两种贮藏条件下, 果实 *endo-PG* 基因的相对表达水平都处于极低水平, 与此同时, 其果肉组织也均未发生明显软化, 低温贮藏后期, ‘金童 6 号’果实硬度的大幅上升可能是果实发生了冷害现象所致。有意思的是, Stonyhard melting 型‘有名白桃’在常温条件下果实硬度下降缓慢, 却受低温诱导果实软化速率明显加快, 这可能与其 *endo-PG* 基因的表达水平受低温刺激显著上调有关, 然而相同的情况并没有在 Stonyhard non-melting 型‘霞脆’上发生, 其果实硬度在两种贮藏条件下均保持较高水平, 这可能是由于‘霞脆’果实的 *endo-PG* 基因表达受抑制所致。虽然二者均为 Stonyhard 肉质类型, 但在软化机制上可能存在差异, 有待进一步研究。

References

- Brownleader M D, Jackson P, Mobasher A, Pantelides A T, Sumar S, Trevan M, Dey P M. 1999. Molecular aspects of cell wall modifications during fruit ripening. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 39 (2): 149 – 164.
- Brummel D A, Harpster M H. 2001. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. *Plant Molecular Biology*, 47: 311 – 340.
- Callahan A M, Morgens P H, Wright P, Nichols Jr K E. 1992. Comparison of pch313 (pTOM13 homolog) RNA accumulation during fruit softening and wounding of two phenotypically different peach cultivars. *Plant Physiology*, 100 (1): 482 – 488.
- Fishman M L, Levaj B, Gillespie D. 1993. Changes in the physicochemical properties of peach fruit pectin during on-tree ripening and storage. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 118 (3): 343 – 349.
- Gao Hai-yan, Chen Hang-jun, Chen Wen-xuan, Song Li-li, Mao Jin-lin, Zhou Yong-jun, Zhen Yong-hua. 2009. Effects of harvest maturity on quality and chilling injury of juicy peaches during low temperature storage. *Scientia Agricultura Sinica*, 42 (2): 612 – 618. (in Chinese)
- 郜海燕, 陈杭君, 陈文烜, 宋丽丽, 毛金林, 周拥军, 郑永华. 2009. 采收成熟度对冷藏水蜜桃果实品质和冷害的影响. 中国农业科学, 42 (2): 612 – 618.
- Guo Lei, Cai Zhi-xiang, Zhang Bin-bin, Xu Jian-lan, Song Hong-feng, Ma Rui-juan. 2013. Fruit coloration and expression of some related genes in peach with external ABA treatment. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 33 (9): 1750 – 1755. (in Chinese)
- 郭 磊, 蔡志翔, 张斌斌, 许建兰, 宋宏峰, 马瑞娟. 2013. 外源脱落酸对桃果实着色及相关基因表达的影响. 西北植物学报, 33 (9): 1750 – 1755.
- Guo Yan-ping, Ma Hui-ling, Wang Gui-xi, Liang Li-song. 2009. Effect of the ethylene on the peach fruit quality and relative physiological mechanism during the MA storage and shelf life. *Journal of Northwest A & F University*, 37 (3): 34 – 37. (in Chinese)
- 郭艳萍, 马慧玲, 王贵禧, 梁丽松. 2009. 乙烯对桃果实MA贮藏期和货架期品质及有关生理机制的影响. 西北农林科技大学学报, 37 (3): 34 – 37.
- Haji T, Yaegaki H, Yamaguchi M. 2001. Changes in ethylene production and flesh firmness of melting, nonmelting and Stonyhard peaches after harvest. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 70: 458 – 459.
- Haji T, Yaegaki H, Yamaguchi M. 2003. Softening of stony hard peach by ethylene and the induction of endogenous ethylene by 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC). *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 72 (3): 212 – 217.
- Haji T, Yaegaki H, Yamaguchi M. 2004. Varietal differences in the relationship between maturation characteristics, storage life and ethylene production in peach fruit. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 73 (2): 97 – 104.
- Haji T, Yaegaki H, Yamaguchi M. 2005. Inheritance and expression of fruit texture melting, non-melting and stony hard in peach. *Scientia Horticulturae*, 105 (2): 241 – 248.
- Hayama H, Shimada T, Fujii H, Ito A, Kashimura Y. 2006. Ethylene regulation of fruit softening and softening-related genes in peach. *Journal of Experimental Botany*, 57 (15): 4071 – 4077.
- Kan Juan, Liu Jun, Jin Chang-hai. 2012. Study on the relationship between peach fruit softening, cell wall degradation related glycosidase and ethylene biosynthesis. *Scientia Agricultura Sinica*, 45 (14): 2931 – 2938. (in Chinese)
- 阚 娟, 刘 俊, 金昌海. 2012. 桃果实成熟软化与细胞壁降解相关糖苷酶及乙烯生物合成的关系. 中国农业科学, 45 (14): 2931 – 2938.
- Kende H. 1993. Ethylene biosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology*, 44 (1): 283 – 307.
- Lester D R, Speirs J, Orr G, Brady C J. 1994. Peach (*Prunus persica*) endopolygalacturonase cDNA isolation and mRNA analysis in melting and nonmelting peach cultivars. *Plant Physiology*, 105 (1): 225 – 231.
- 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 (4): 402 – 408.
- Ma Shu-shang, Tang Yan, Wu Chun-lin, Liu Ya-long, Du Guang-yuan. 2003. Effect of 1-MCP and storage temperatures on respiration, ethylene production and fruit quality of peach and nectarine. *Acta Horticulturae Sinica*, 30 (5): 525 – 529. (in Chinese)
- 马书尚, 唐 燕, 武春林, 刘亚龙, 杜光源. 2003. 1-甲基环丙烯和温度对桃和油桃贮藏品质的影响. 园艺学报, 30 (5): 525 – 529.

- Mao Lin-chun, Zhang Shang-long. 1999. Responses of polyamines and ethylene in peaches to chilling stress. *Acta Horticulturae Sinica*, 26 (6): 360 – 363. (in Chinese)
- 茅林春, 张上隆. 1999. 采后桃果实中多胺和乙烯对低温胁迫的反应. *园艺学报*, 26 (6): 360 – 363.
- Mathooko F M, Tsunashima Y, Owino W Z O, Kubo Y, Inaba A. 2001. Regulation of genes encoding ethylene biosynthetic enzymes in peach (*Prunus persica* L.) fruit by carbon dioxide and 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology*, 21 (3): 265 – 281.
- Shi Bao-sheng, Zhou Li-huan. 2006. Modification and comparation of total RNA extraction methods from *Prunus cerasifera* leaves. *Molecular Plant Breeding*, 4 (5): 721 – 725. (in Chinese)
- 史宝胜, 卓丽环. 2006. 紫叶李叶片总 RNA 提取方法的改进与比较. *分子植物育种*, 4 (5): 721 – 725.
- Tatsuki M, Hiji T, Yamaguchi M. 2006. The involvement of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase isogene, *PpACS1*, in peach fruit softening. *Journal of Experimental Botany*, 57 (6): 1281 – 1289.
- Tong Z G, Gao Z H, Wang F, Zhou J, Zhang Z. 2009. Selection of reliable reference genes for gene expression studies in peach using real-time PCR. *BMC Molecular Biol*, 10 (1): 71.
- Tonutti P, Bonghi C, Ruperti B, Tornielli G B, Ramina A. 1997. Ethylene evolution and 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase gene expression during early development and ripening of peach fruit. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 122 (5): 642 – 647.
- Wang Li-rong, Zhu Geng-rui, Fang Wei-chao, Ma Rui-juan, Yu Ming-liang, Jiang Quan, Zhao Jian-bo, Guo Ji-ying, Shen Zhi-jun. 2005. Descriptors and data standard for peach. Beijing: China Agriculture Press: 47. (in Chinese)
- 王力荣, 朱更瑞, 方伟超, 马瑞娟, 俞明亮, 姜全, 赵剑波, 郭继英, 沈志军. 2005. 桃种质资源描述规范和数据标准. 北京: 中国农业出版社: 47.
- Xu Chang-jie, Chen Kun-song, Zhang Shang-long. 1998. Advances in ethylene biosynthesis and its control. *Chinese Bulletin of Botany*, 15 (S1): 54 – 61. (in Chinese)
- 徐昌杰, 陈昆松, 张上隆. 1998. 乙烯生物合成及其控制研究进展. *植物学通报*, 15 (S1): 54 – 61.
- Yang S F, Hoffman N E. 1984. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annu Rev Plant Physiol*, 35 (1): 155 – 189.
- Yin Xue-ren, Zhang Bo, Li Xian, Chen Kun-song. 2009. Ethylene signaltransduction during fruit ripening and senescence. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (1): 133 – 140. (in Chinese)
- 殷学仁, 张波, 李鲜, 陈昆松. 2009. 乙烯信号转导与果实成熟衰老的研究进展. *园艺学报*, 36 (1): 133 – 140.
- Yoshida M. 1976. Genetical studies on the fruit quality of peach varieties. III. Texture and keeping quality. *Bulletin of the Fruit Tree Research Station*, 3: 1 – 16.
- Zarembinski T I, Theologis A. 1994. Ethylene biosynthesis and action: A case of conservation. *Plant Molecular Biology*, 26: 1579 – 1597.