

NaCl、蔗糖和 KH_2PO_4 对红叶桃离体叶片花色苷合成基因表达的影响

文 杨¹, 韩 键¹, 姜卫兵^{1,*}, 王小青¹, 房经贵¹, 张斌斌², 马瑞娟²

(¹南京农业大学园艺学院, 南京 210095; ²江苏省农业科学院园艺研究所, 南京 210014)

摘 要: 为探明外源化学物质对红叶桃叶片着色的影响及其机制, 以‘筑波 5 号’离体叶片为试材, 研究不同浓度 NaCl、蔗糖及 KH_2PO_4 处理对叶片中花色苷生物合成途经相关基因表达水平的影响。结果显示: 低浓度 NaCl (100 和 200 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 短时间 (4 h) 处理能提高花色苷合成结构基因 *CHI*、*UFGT* 和转录因子基因 *MYB10*、*bHLH33* 的表达水平; 0.3% 蔗糖处理 8 h 对 *UFGT*、*MYB10* 和 *bHLH33* 的表达促进作用显著; 0.2% KH_2PO_4 处理 8 h 对 *CHI*、*UFGT*、*MYB10*、*bHLH33* 和 *WD40* 的表达也具有显著的促进作用, 而且 *CHI* 的表达在一定范围内随蔗糖及 KH_2PO_4 浓度增大和处理时间延长, 效果更明显。除了 0.2% KH_2PO_4 处理 8 h 提高了 *WD40* 的转录外, NaCl、蔗糖及 KH_2PO_4 对 *MYB15* 和 *WD40* 的表达均具有显著抑制作用。

关键词: 红叶桃; 荧光定量 PCR; 花色苷生物合成; 基因表达

中图分类号: S 662.1

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2016) 11-2214-09

NaCl, Sucrose and KH_2PO_4 Effects the Expression of Anthocyanins Synthesis Gene on Red-leaf Peach *in vitro*

WEN Yang¹, HAN Jian¹, JIANG Wei-bing^{1,*}, WANG Xiao-qing¹, FANG Jing-gui¹, ZHANG Bin-bin¹, and MA Rui-juan²

(¹College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; ²Institute of Horticulture, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: The leaves of ‘Zhuhbo-5’ peach *in vitro* were as the test materials, using the fluorescent quantitative PCR technology to analysis related gene expression level of anthocyanins biosynthesis via different concentrations of NaCl, sucrose and KH_2PO_4 treatment. The result showed, NaCl treatment can improve the expression level of *CHI*, *UFGT*, *MYB10*, *bHLH33* genes, and suppress *MYB15* and *WD40* genes expression. For *CHI* gene, sucrose and KH_2PO_4 treatment can significantly improve its expression, and within a certain range, the expression levels were positively correlated with concentration and time. The expression level of *UFGT* in three concentrations of sucrose began to increase after 8 h, the concentration of 0.3% was the best. *MYB10* gene transcription level increased by sugar processing, consistent with the *CHI*. Concentration of 0.8% sucrose treatment decreased *bHLH33* expression, concentration of 0.3% and

收稿日期: 2016-07-15; 修回日期: 2016-11-07

基金项目: 江苏省优势学科建设项目 (2011PAPD); 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: weibingj@sohu.com)

0.5%, after 8 h showed positive regulation function, and in 0.3% 8 h was the best effect. KH_2PO_4 treatment improved *UFGT*, *MYB10*, *bHLH33* and *WD40* expression at 0.2%, and the peak-expression was after 8 h treatment. In this experiment, sucrose was inhibitory effected on *WD40* gene. The result of this study was to further clarify the mechanism of anthocyanins synthesis and provide certain theoretical basis to improve ornamental period.

Key words: *Prunus persica* f. *atropurpurea*; fluorescence quantitative PCR; anthocyanins biosynthesis; gene expression

红叶桃 (*Prunus persica* f. *atropurpurea*) 是蔷薇科观叶植物, 5 月是其观赏的最佳时期, 叶色鲜红, 夏季随着温度的升高, 红色消退呈绿色, 9 月左右叶片衰老, 红色又逐渐显现, 但是呈现出暗红色。这种现象的发生对观叶植物来说, 不仅观赏期缩短, 观赏价值也大大降低。本试验室前期进行了大量生理研究, 发现红叶桃、紫叶李等彩叶植物成色原因主要是叶片花色苷积累造成的 (姜卫兵 等, 2006), 且发现矢车菊素为桃叶片呈现红色的物质基础 (王明玉 等, 2014)。花色苷的合成途径已比较清楚, 有结构基因 (*PAL*、*CHS*、*CHI*、*F3H*、*DFR*、*ANS* 及 *UFGT* 等)、调节基因 (*TFs*, *MYB*、*bHLH* 及 *WD40* 等) 参与调控花色苷的合成。花色苷的合成及相关酶活性受环境因子及外源化学物质的调控, 如光照 (He et al., 2010)、温度 (Ubi et al., 2006; Yamane et al., 2006; Akifumi et al., 2012)、水分状态 (Castellarin et al., 2007)、pH 值、激素水平 (Ban et al., 2003; Jeong et al., 2004; Belhadj et al., 2008; Palapol et al., 2009)、糖、盐、矿质元素 (郭世乾 等, 2006)、络氨酸 (Zhou et al., 2014)、L-谷氨酸和鼠李糖 (韩键 等, 2012b) 等。

本试验室研究发现植物生长调节剂、矿质元素等对花色苷积累有促进作用 (姜卫兵 等, 2009), 初夏对红叶桃叶面分别喷施蔗糖和 KH_2PO_4 (徐莉莉 等, 2011) 以及 KH_2PO_4 和蔗糖混合溶液 (韩键 等, 2012a) 均可促进花色苷的积累, 但对花色苷合成途径中相关基因的表达没有进行研究。基于此, 本试验中以红叶桃 ‘筑波 5 号’ 为试材, 利用荧光定量 PCR 技术, 探讨了不同浓度 NaCl、蔗糖及 KH_2PO_4 处理对花色苷合成结构基因 (*CHI*、*UFGT*) 及转录因子 (*MYB10*、*MYB15*、*bHLH33* 及 *WD40*) 表达变化的影响, 深入研究外源化学物质对其叶片着色的调控机制, 为红叶桃等观叶植物延长观赏期, 提高观赏价值提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试材及其处理

试材取自江苏省农业科学院国家果树种质南京桃资源圃的红叶桃 ‘筑波 5 号’ 成年树。2014 年 9 月 10 日采集树冠中部外围、无明显伤害或病虫害的带叶柄成熟叶片, 擦净用冰盒带回试验室。

1.2 处理方法

试验在人工气候培养箱进行, 光照强度为 $150 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 温度为 $(20 \pm 3) ^\circ\text{C}$, 经过预试验, 将 NaCl 设置为 100、200 和 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 蔗糖 0.3%、0.5% 和 0.8%, KH_2PO_4 0.2%、0.3% 和 0.5% (去离子水配制), 以去离子水作为对照。均加入 0.2% 体积的吐温 - 80。

在小烧杯中分别加入处理溶液和蒸馏水 50 mL, 用脱脂棉包裹红叶桃叶片的叶柄, 插入小烧杯中, 并用滴管吸取处理液涂抹叶片正反面, 对照叶片用蒸馏水涂抹。将所有处理置于人工气候培养

箱中连续光照。一定时间再涂抹，保证叶片一直有处理液。在 4、8 和 12 h 处理后，从处理及对照中分别取 4 片叶，用蒸馏水冲洗 2 次，用脱脂棉擦干，锡纸包裹后液氮速冻，保存在 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中，以备 RNA 提取及后续试验。

1.3 RNA 提取、cDNA 制备及荧光定量 PCR

按照植物总 RNA 提取试剂盒 Karroten（南京赛吉科技有限公司）产品说明书进行桃叶片 RNA 的提取，并用 TaKaRa Recombinant DNase I（RNase-free）去除 RNA 中的 DNA。提取的 RNA 立即进行反转录，或保存在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。

以提取的总 RNA 为模板，利用 TaKaRa Prime ScriptTM RT-PCR 反转录试剂盒合成 cDNA。

使用 ABI 7500 Real-time PCR System 仪器，荧光定量试剂盒 SYBR[®] Premix Ex TaqTM（Perfect Real Time）。在冰上配制 PCR 反应液，SYBR Green I Master Mix 10.0 μL ，PCR Forward Primer 0.4 μL ，PCR Reverse Primer 0.4 μL ，ROX Reference Dye II（50 $\times$ ）0.4 μL ，加 cDNA 模板 1 μL ，dH₂O 补足总体积为 20.0 μL 。荧光定量 PCR 反应程序：预变性 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s，（95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s，60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s）40 个循环，72 $^{\circ}\text{C}$ 10 s。荧光产物在每个循环的最后一步进行检测。每个模板做 3 个平行，用平均值表示总 RNA 的 CT 值。采用 $\Delta\Delta\text{CT}$ 法对荧光定量 PCR 扩增数据进行处理，目的基因的相对含量通过计算 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 值来确定。

根据桃已登录序列，分别使用 NCBI 在线设计 *CHI*、*UFGT*、*MYB10*、*MYB15*、*bHLH33* 和 *WD40* 引物序列，桃看家基因 *TEF2* 为内标 ACTIN，引物由北京鼎国昌盛生物技术有限公司合成（表 1）。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列
Table 1 Primer sequence of real-time quantitative PCR

基因 Gene name	正向引物序列（5' - 3'） Forward primer	反向引物序列（5' - 3'） Reverse primer
<i>CHI</i> (Ppa011476m)	TGCTGTGAGGGATAGATTGGC	GTGGCAGAAGTTGCTGGAAAA
<i>UFGT</i> (Ppa005162m)	GGTGTGTTGATGTGGCTGATGG	CAAAGGAAGGCGTCGGTAATC
<i>MYB10</i> (Ppa016711m)	TCGCGGACGGATTATTGCAT	GGTCTCCCACCAATCACGTT
<i>MYB15</i> (Ppa004560m)	GATGGGCTATGCCCTGTCAA	AATGCCGCCAGATTCATCCA
<i>bHLH33</i> (Ppa002645m)	ACCCATGTTCTTCGCGATGGA	TCGCACCACACATCAAAGGA
<i>WD40</i> (Ppa005673m)	AGGCTATCGGAAGCAGTTGG	TCTTCTTCGTGCCTTTGGGG
<i>TEF2</i> (Ppa001368m)	GGTGTGACGATGAAGAGTGATG	TGAAGGAGAGGGAAGGTGAAAG

1.4 数据处理与分析

各数据均 3 次以上重复，取平均值用于分析。用 SPSS 19.0 软件进行基因表达水平的数据统计分析，采用 Excel 软件作图（Microsoft 2003，美国）。

2 结果与分析

2.1 NaCl 处理对桃叶片花色苷合成相关基因表达的影响

图 1 所示，与对照相比，处理 4 h，100 和 200 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 使 *CHI* 的表达水平增长了 3 倍以上；200 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 上调 *UFGT* 的表达；100 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 处理对 *bHLH33* 表达表现出促进作用。100、200 和 300 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaCl，8 h 及 12 h 处理时 *CHI*、*UFGT* 及 *bHLH33* 的表达与对照相比均受抑制。这说明低浓度（100、200 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ）NaCl 处理 4 h，能够正向调控 *CHI*、*UFGT* 和 *bHLH33* 的转录。

100 和 300 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 处理下, *MYB10* 的表达水平随着处理时间的延长而下降, 在 4、8 h 时, 与处理相比均有促进作用; 200 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 处理与之相反, 表达水平随处理时间延长而升高, 8 h 和 12 h 处理时高于对照, 12 h 时达到对照的 5.99 倍。

NaCl 的 3 个浓度, 随着进程的延长, *MYB15* 及 *WD40* 的表达水平呈现下降趋势, 且与对照相比均表现为抑制表达; 同一处理时间下, 浓度越高, 下调作用越明显。

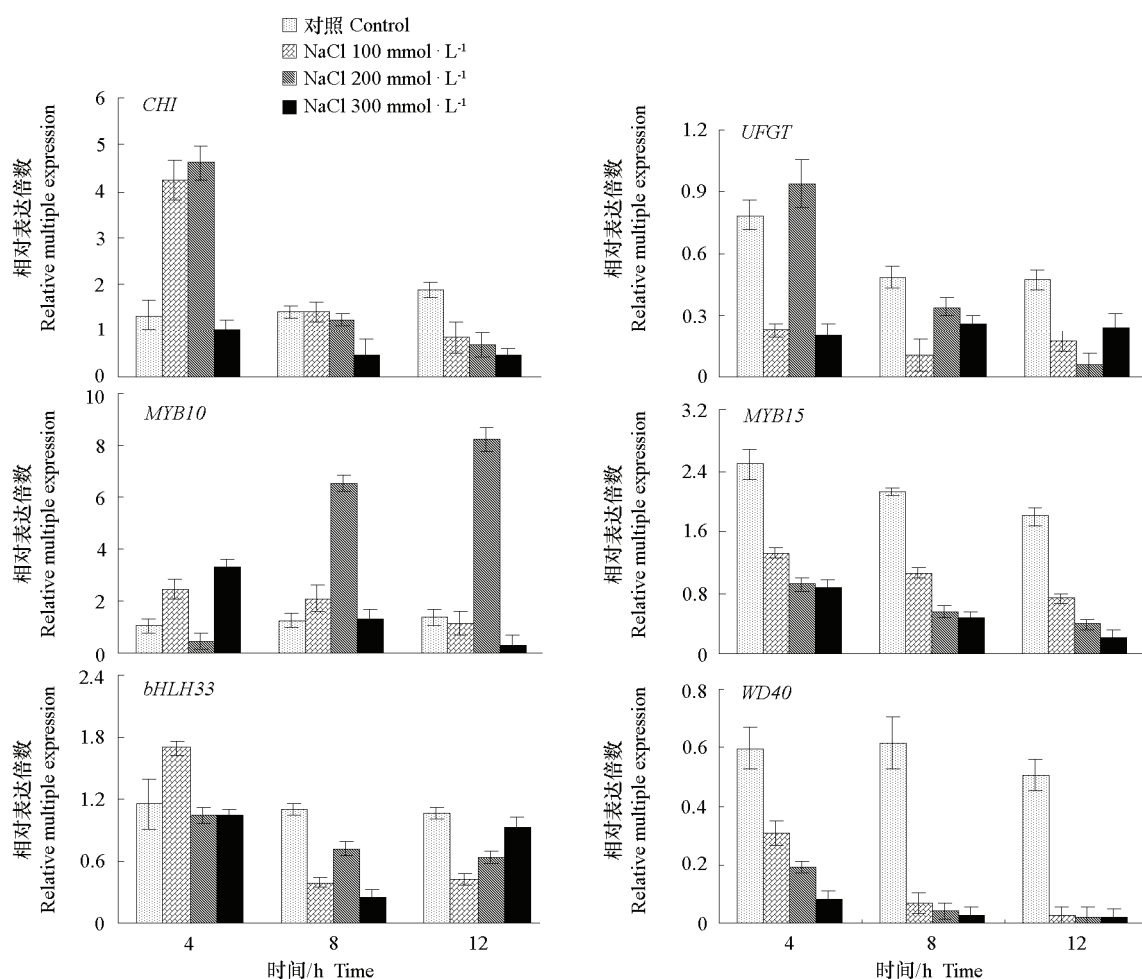


图 1 NaCl 处理后不同时间桃叶片花色苷合成相关基因表达变化

Fig. 1 The expression changing of anthocyanins synthesis related genes in different hours after NaCl treatment

2.2 蔗糖处理对桃叶片花色苷合成相关基因表达的影响

由图 2 可以看出: *CHI* 的表达水平随蔗糖浓度和处理时间的增加而增加, 与对照相比均具有促进作用。 *MYB10* 的表达水平随处理时间的延长均呈现先上升后下降的趋势, 与对照相比, 皆受正向调控, 0.8%蔗糖处理 8 h 为对照的 5.88 倍。表明蔗糖对 *CHI* 及 *MYB10* 的表达具有上调作用。

随着蔗糖处理时间的延长, *UFGT* 的表达水平呈上升趋势, *bHLH33* 为先上升后下降; 同一处理时间下, 随浓度的增加, *UFGT* 先降低后升高, *bHLH33* 为降低; 4 h 处理时, 各浓度蔗糖对 *UFGT* 及 *bHLH33* 表达均表现抑制现象, 相反, 8 h 及 12 h 时, 0.3% 和 0.5% 的蔗糖均能促进 *UFGT* 及 *bHLH33* 的转录。低浓度条件下延长处理时间可显著促进 *UFGT* 及 *bHLH33* 的表达。

随蔗糖浓度及处理时间的延长, *MYB15* 和 *WD40* 的表达水平呈现下降趋势, 且与对照相比表现为抑制表达; 同一处理时间下, 浓度越高下调作用越明显。

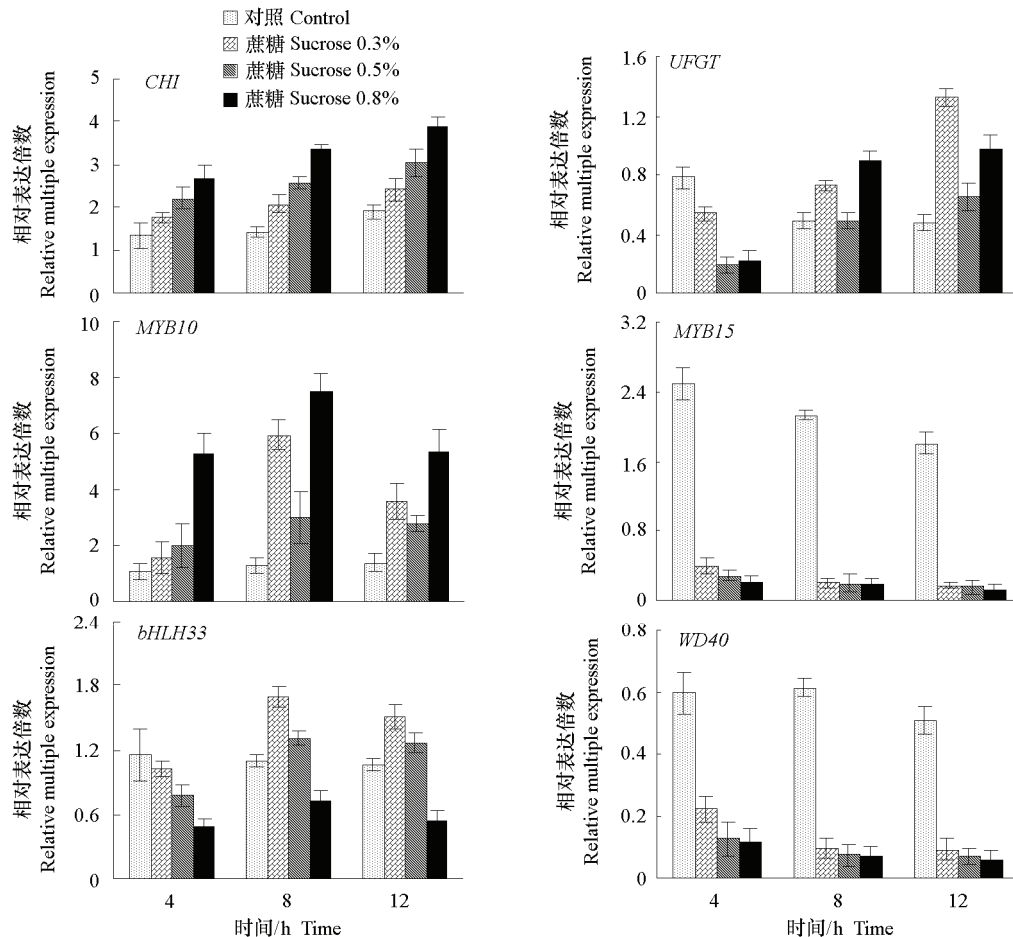


图2 蔗糖处理后不同时间桃叶片花色苷合成相关基因表达变化

Fig. 2 The expression changing of anthocyanins synthesis related genes in different hours after sucrose treatment

2.3 KH_2PO_4 处理对桃叶片花色苷合成相关基因表达的影响

由图 3 可知, *CHI* 的转录水平随 KH_2PO_4 浓度和处理时间的增加而升高。说明 KH_2PO_4 能够促进 *CHI* 的表达。

0.2%低浓度 KH_2PO_4 处理 (8 h) 能极大地促进 *UFGT*、*bHLH33* 及 *WD40* 的表达, 具有正向调控作用, 而 0.3%与 0.5% KH_2PO_4 作用相反。

在 KH_2PO_4 0.2%及 0.3%浓度下, 随处理时间延长 *MYB10* 表达水平先上升后下降; 同一处理时间下, 随浓度的提高, 表达水平上升, 且对 *MYB10* 的表达均起到促进作用; 0.5% KH_2PO_4 抑制 *MYB10* 的表达。

随 KH_2PO_4 浓度及处理时间的增加, *MYB15* 基因的表达受到抑制, 且浓度越高, 抑制作用越明显。

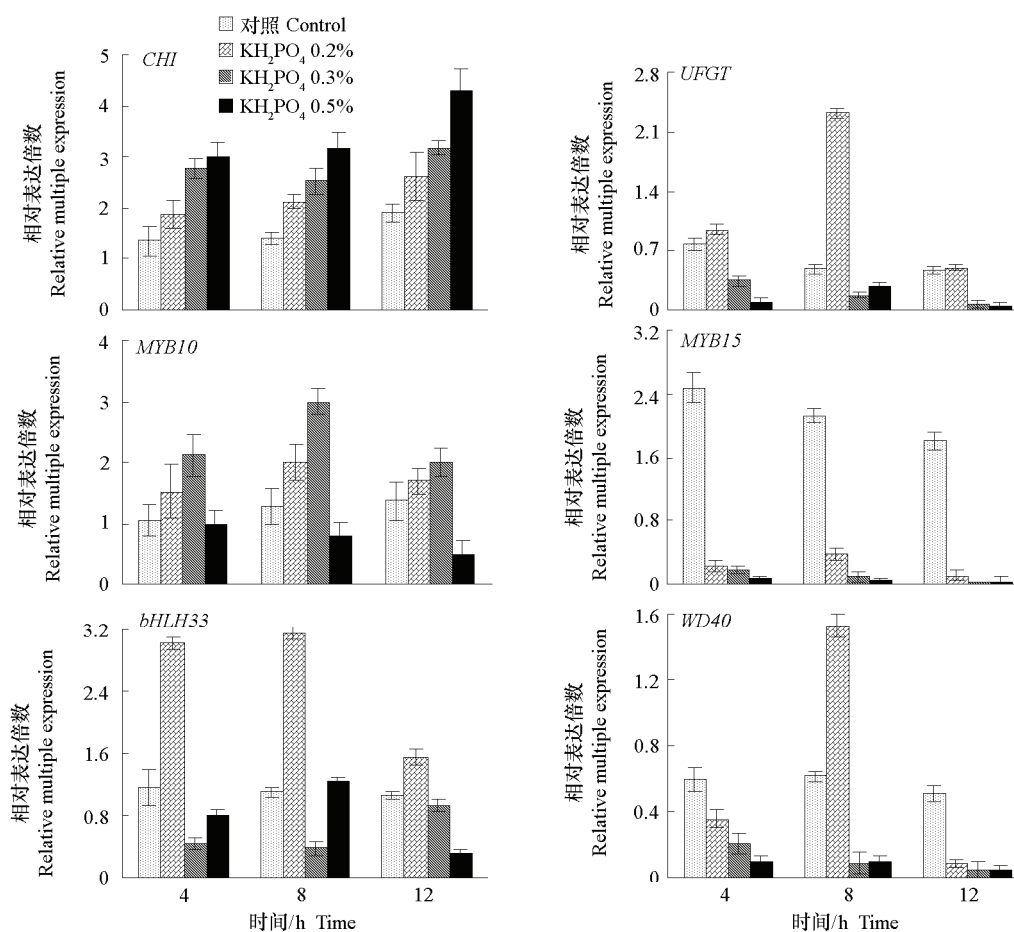


图 3 KH_2PO_4 处理后不同时间桃叶片花色苷合成相关基因表达变化

Fig. 3 The expression changing of anthocyanins synthesis related genes in different hours after KH_2PO_4 treatment

3 讨论

在对苹果、草莓与荔枝（王慧聪 等，2004）的研究中发现，花青素的积累与 *UFGT* 有着重要的关系，*UFGT* 也是葡萄果皮花青素生物合成的关键酶（Boss et al., 1996）。侯夫云等（2009）发现 *UFGT* 控制葡萄红色的表达。有研究发现，*MdMYBA* 或 *MdMYB10* 是苹果果皮花色苷生物合成的关键调控基因（Ban et al., 2007）。拟南芥的 *AtMYB4*（Hemm et al., 2001）、*AtMYB3/7/32*（Hailing et al., 2000），草莓 *FaMYB1*（Aharoni et al., 2001），苹果 *MdMYB16/17/111*（Kui et al., 2010）及桃 *PpMYB15/123*（Daniela et al., 2013）等部分 R2R3-MYB 蛋白对花色苷的积累起抑制作用。

NaCl 胁迫对类黄酮合成的影响，主要是通过对其合成过程中的关键酶的影响而决定的。50 和 100 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 处理番茄和紫甘蓝种子，发现其根、胚轴和子叶的花色苷含量均提高（Eryilmaz, 2006）。1%、3%及 5%的 NaCl 使接骨木和黑醋栗花色苷含量增加 1%~5%，且 3%和 5%浓度作用差别不显著（Eva et al., 2006），与盐浓度增加，花色苷含量增加研究结果不同。本试验中发现，NaCl 处理能抑制 *MYB15* 及 *WD40* 的表达，但 NaCl 低浓度（100 及 200 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ）及短时间（4 h）处理，能促进 *CHI* 及 *UFGT* 在红叶桃叶片中的表达，原因可能是正调控因子 *MYB10* 和 *bHLH33* 的上调，以及 *MYB15* 负调控因子的下调引起；或是可溶性糖及 PAL 酶活性急速上升引起的（胡晓立 等，

2010)。高浓度长时间 NaCl 胁迫, 花色苷的含量不断下降, 可能是可溶性糖主要参与组织的渗透调节作用(陈淑芳 等, 2005)。

蔗糖除了作为能量来源, 还参与高等植物的生长发育进程(Smeekens, 2000)。研究发现, 当拟南芥种子种在含有蔗糖的培养基中, 能促进子叶或叶片花色苷积累(Ohto et al., 2001); 在萝卜胚轴(Hara et al., 2003)及苹果细胞(Larronde et al., 1998)培养中也发现该现象, 并且花色素的积累水平与蔗糖的浓度成正比(孟祥春 等, 2007)。蔗糖作为内生的触发器, 调控葡萄浆果表皮花色苷生物合成基因的表达(Prasanta et al., 2012)。本研究中发现, 外源蔗糖能促进红叶桃‘筑波 5 号’叶片 *CHI*、*UFGT*、*MYB10* 及 *bHLH33* 的转录, 而抑制 *MYB15* 及 *WD40* 的表达, 但拟南芥研究认为外源蔗糖对 *CHI* 的表达水平受诱导变化不明显(Solfanelli et al., 2006)。蔗糖促进花色苷生物合成基因表达的原因可能是正调控转录因子 *GL3*、*TT8* 和 *PAP1* 的上调, 以及负调控因子 *MYBL2* 的下调引起的, 并发现蔗糖诱导花色苷积累的作用需要光照协同作用(Jeong et al., 2010)。本研究发现, *CHI* 及 *MYB10* 的表达与蔗糖质量浓度及处理时间呈正相关, 可能在蔗糖促进红叶桃叶片花色苷的合成过程中具有重要的作用。

钾离子能提高叶片的光合作用, 增加可溶性糖的积累, 并促使糖从枝叶向果实运输, 从而促进果实花青素合成。钾离子对叶片花色苷合成基因影响的研究较少。本试验研究发现, *CHI* 的表达水平随 KH_2PO_4 处理浓度及处理时间的增加而升高; 对 *UFGT*、*MYB10* 及 *bHLH33* 的正调控作用表现出一定的复杂性, 总体来说 0.2% KH_2PO_4 处理 8 h 促进作用最显著, 浓度过高或处理时间过长会降低或抑制相关基因的表达, 浓度过低或处理时间过短上调作用不明显; KH_2PO_4 处理对 *MYB15* 及 *WD40* 表现出负调控作用。与徐莉莉等(2011)对 *CHI* 的研究结果不一致, 可能是因为花色苷的大量积累, 负反馈抑制了合成相关基因的表达。

综上所述, NaCl、蔗糖及 KH_2PO_4 这 3 种外源物质, 使红叶桃‘筑波 5 号’叶片的 *CHI*、*UFGT*、*MYB10*、*bHLH33* 表达出现不同程度的上调, 其可能是参与叶片花色苷合成过程中的有益基因; *MYB15* 的表达受到强烈的抑制; *WD40* 仅受蔗糖正向调控。其相关机理需进一步研究。

References

- Aharoni A, Devos C, Wein M, Sun Z, Greco R, Kroon A, Mol J, Ann P. 2001. The strawberry FaMYB1 transcription factor suppresses anthocyanin and flavonol accumulation in transgenic tobacco. *The Plant Journal*, 28 (3): 319 – 332.
- Akifumi A, Hiroshi Y, Yoshiko K, Shozo K. 2012. Flavonoid biosynthesis-related genes in grape skin are differentially regulated by temperature and light conditions. *Planta*, 236: 1067 – 1080.
- Ban Y, Honda C, Hatsuyama Y, Lgarashi M, Bessho H, Moriguchi T. 2007. Isolation and functional analysis of a MYB transcription factor gene that is a key regulator for the development of red coloration in apple skin. *Plant Cell Physiol*, 48 (7): 958 – 970.
- Ban T, Ishimaru M, Kobayashi S, Goto-Yamamoto N, Horiuchi S. 2003. Absciscic acid and 2,4-D affect the expression of anthocyanin biosynthetic pathway genes in ‘Kyoho’ grape berries. *Hortic Sci, Biotechnol*, 78: 586 – 589.
- Belhadj A, Telef N, Saigne C, Cluzet S, Barrieu F, Hamdi S, Mérillon J. 2008. Effect of methyl jasmonate in combination with carbohydrates on gene expression of PR proteins, stilbene and anthocyanin accumulation in grapevine cell cultures. *Plant Physiol Biochem*, 46: 493 – 499.
- Boss P K, Davies C, Robinson S P. 1996. Expression of anthocyanin biosynthesis pathway genes in red and white grapes. *Plant Mol Biol*, 32, 565 – 569.
- Castellarin S, Pfeiffer A, Sivilotti P, Degan M, Peterlunger E, Gaspero G. 2007. Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in ripening fruits of grapevine under seasonal water deficit. *Plant, Cell and Environment*, 30: 1381 – 1399.
- Chen Shu-fang, ZhuYue-lin, LiuYou-liang, Li Shi-jun. 2005. Effects of NaCl stress on activities of protective enzymes, contents of osmotic adjustment substances and photosynthetic characteristics in grafted tomato seedlings. *Acta Horticulturae Sinica*, 32 (4): 609 – 613. (in

- Chinese)
- 陈淑芳, 朱月林, 刘友良, 李式军. 2005. NaCl 胁迫对番茄嫁接苗保护酶活性、渗透调节物质含量及光合特性的影响. 园艺学报, 32 (4): 609 - 613.
- Daniela R, Espley R V, Henry-Kirk R A, Andreotti C, Ziosi V, Hellens R P, Costa G, Allan A C. 2013. Transcriptional regulation of flavonoid biosynthesis in nectarine (*Prunus persica*) by a set of R2R3 MYB transcription factors. BMC Plant Biology, 13 (68): 1471 - 1484.
- Eva M H, Anja H, Heiko S. 2006. Influence of acids, salt, sugars and hydrocolloids on the colour stability of anthocyanin rich black currant and elderberry concentrates. Eur Food Res Technol, 223: 83 - 90.
- Eryilmaz F. 2006. The relationships between salt stress and anthocyanin content in higher plants. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 20: 1, 47 - 52.
- Guo Shi-qian, Wang Chun-zhi, Li Ying, Yang Xiao-nan. 2006. Effect of fertilization on the anthocyanin content and phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activities in Nanguo pear. Chinese Agricultural Science Bulletin, 22 (2): 313 - 315. (in Chinese)
- 郭世乾, 王春枝, 李 瑛, 杨晓男. 2006. 施肥对南果梨花青素含量及苯丙氨酸解氨酶活性的影响. 中国农学通报, 22 (2): 313 - 315.
- Hailing J, Eleonora C, Paul B, Adrian P, Frank M, Jonathon J, Chiara T, Bernd W, Cathie M. 2000. Transcriptional repression by *AtMYB4* controls production of UV-protecting sunscreens in *Arabidopsis*. The Embo Journal, 19 (22): 6150 - 6161.
- Han Jian, Luo Xiao-meng, Zhang Bin-bin, Weng Mang-ling, Hua Xiang-ping, Jiang Wei-bing. 2012a. Effects of mixed solution application of KH_2PO_4 and sucrose on leaf pigmentation of red-leaf peach in summer. Jiangsu J Agr Sci, 28 (2): 421 - 425. (in Chinese)
- 韩 键, 骆晓梦, 张斌斌, 翁忙玲, 化香平, 姜卫兵. 2012a. 夏季喷施磷酸二氢钾和蔗糖混合液对红叶桃叶片呈色的影响. 江苏农业学报, 28 (2): 421 - 425.
- Han Jian, Shang Gao-pan, Zhang Bin-bin, Weng Mang-ling, Xie Zhi-hua, Jiang Wei-bing. 2012b. Effects of foliar spraying of L-glutamic acid and rhamnose solution on changes of pigment content and physiological properties in leaves of red-leaf peach in summer. Journal of Nanjing Agricultural University, 35 (3): 19 - 24. (in Chinese)
- 韩 键, 尚高攀, 张斌斌, 翁忙玲, 谢智华, 姜卫兵. 2012b. 夏季叶面喷施 L - 谷氨酸和鼠李糖对红叶桃叶片色素变化及相关生理特性的影响. 南京农业大学学报, 35 (3): 19 - 24.
- Hara M, Oki K, Hoshino K, Kuboi T. 2003. Enhancement of anthocyanin biosynthesis by sugar in radish (*Raphanus sativus*) hypocotyl. Plant Sci, 164: 259 - 265.
- He F, Mu L, Yan G L, Liang N, Pan Q H, Wang J, Reeves M J, Duan C Q. 2010. Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. Molecules, 15: 9057 - 9091.
- Hemm M R, Herrmann K M, Chapple C. 2001. AtMYB4: a transcription factor general in the battle against UV. Trends in Plant Science, 6 (4): 135 - 136.
- Hou Fu-yun, Wang Qing-mei, Li Ai-xian, Zhang Hai-yan, Dong Shun-xu, Xie Bei-tao. 2009. The research progress of plant anthocyanin synthetase. Chinese Agricultural Science Bulletin, 25 (21): 188 - 190. (in Chinese)
- 侯夫云, 王庆美, 李爱贤, 张海燕, 董顺旭, 解备涛. 2009. 植物花青素合成酶的研究进展. 中国农学通报, 25 (21): 188 - 190.
- Hu Xiao-li, Yang Jian-min, Chen Dong-liang, Feng Chen-jing, Meng Qing-rui, Li Yan-hui. 2010. Effect of NaCl stress on leaf coloration of *Prunus cerasifera* var. *atropurea*. Scientia Silvae Sinicae, 46 (12): 64 - 69. (in Chinese)
- 胡晓立, 杨建民, 陈东亮, 冯晨静, 孟庆瑞, 李彦慧. 2010. NaCl 胁迫对紫叶李叶片色泽的影响. 林业科学, 46 (12): 64 - 69.
- Jeong S T, Goto-Yamamoto N, Kobayashi S, Esaka M. 2004. Effects of plant hormones and shading on the accumulation of anthocyanins and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in grape berry skins. Plant Science, 167: 247 - 252.
- Jeong S W, Das P K, Jeoung S C, Song J Y, Lee H K, Kim Y K, Kim W J, Park Y I, Yoo S D, Choi S B, Choi G, Park Y I. 2010. Ethylene suppression of sugar-induced anthocyanin pigmentation in *Arabidopsis thaliana*. Plant Physiol, 154: 1515 - 1531.
- Jiang Wei-bing, Xu Li-li, Weng Mang-ling, Han Jian. 2009. Environmental factors and exogenous chemicals affect on plant anthocyanin. Ecology and Environmental Sciences, 18 (4): 1546 - 1552. (in Chinese)
- 姜卫兵, 徐莉莉, 翁忙玲, 韩 键. 2009. 环境因子及外源化学物质对植物花色苷的影响. 生态环境学报, 18 (4): 1546 - 1552.

- Jiang Wei-bing, Zhang Meng, Shen Zhi-jun. 2006. Study on photosynthetic characteristics of different season of red-leaf peach and purple-leaf plum. Horticultural Plant Journal, 33 (3): 577 - 582. (in Chinese)
- 姜卫兵, 庄 猛, 沈志军. 2006. 不同季节红叶桃、紫叶李的光合特性研究. 园艺学报, 33 (3): 577 - 582.
- Kui L W, Karen B, Karryn G. 2010. An R2R3 MYB transcription factor associated with regulation of the anthocyanin biosynthetic pathway in Rosaceae. BMC Plant Biology, 10: 50.
- Larronde F, Krisa S, Decendit A, Chèze C, Deffieux G, Mèrillon J M. 1998. Regulation of polyphenol production in *Vitis vinifera* cell suspension cultures by sugars. Plant Cell Rep, 17: 946 - 950.
- Meng Xiang-chun, Peng Jian-zong, Wang Xiao-jing. 2007. Anthocyanin accumulation and CHS, DFR gene expression regulated by light and sugar in *Gerbera hybrida* ray floret. Acta Horticulturae Sinica, 34 (1): 227 - 230. (in Chinese)
- 孟祥春, 彭建宗, 王小菁. 2007. 光和糖对非洲菊花色苷积累及 CHS、DFR 基因表达的影响. 园艺学报, 34 (1): 227 - 230.
- Ohto M, Onai K, Furukawa Y, Aoki E, Araki T, Nakamura K. 2001. Effects of sugar on vegetative development and floral transition in *Arabidopsis*. Plant Physiol, 127: 252 - 261.
- Palapol Y, Ketsa S, Lin-Wang K, Ferguson L B, Allon A C. 2009. A MYB transcription factor regulates anthocyanin biosynthesis in mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) fruit during ripening. Planta, 229: 1323 - 1334.
- Prasanta K D, Dong H S, Choi S B, Park Y. 2012. Sugar-hormone cross-talk in anthocyanin biosynthesis. Mol Cells, 34: 501 - 507.
- Smeekens S. 2000. Sugar-induced signal transduction in plants. Plant Mol Bio, 51: 49 - 81.
- Solfanelli C, Poggi A, Loreti E, Alpi A, Perata P. 2006. Sucrose-specific induction of the anthocyanin biosynthetic pathway in *Arabidopsis*. Plant Physiol, 140: 637 - 646.
- Ubi B E, Honda C, Bessho H, Kondo S, Wada M, Kobayashi S, Moriguchi T. 2006. Expression analysis of anthocyanin biosynthetic genes in apple skin: Effect of UV-B and temperature. Plant Science, 170: 571 - 578.
- Wang Hui-cong, Huang Xu-ming, Hu Gui-bing, Hang Hui-bai. 2004. Studies on the relationship between anthocyanin biosynthesis and related enzymes in litchi pericarp. Scientia Agricultura Sinica, 37 (12): 2028 - 2032. (in Chinese)
- 王慧聪, 黄旭明, 胡桂兵, 黄辉白. 2004. 荔枝果皮花青苷合成与相关酶的关系研究. 中国农业科学, 37 (12): 2028 - 2032.
- Wang Ming-yu, Jiang Wei-bing, Han Jian, Wang Xiao-qing, Zhang Bin-bin, Ma Rui-juan. 2014. Study on anthocyanin composition and the coloring rule of peaches with different red leaf coloration types. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 34 (7): 1364 - 1370. (in Chinese)
- 王明玉, 姜卫兵, 韩 健, 王小青, 张斌斌, 马瑞娟. 2014. 不同红叶性状桃叶片花色苷种类鉴定及呈色规律研究. 西北植物学报, 34 (7): 1364 - 1370.
- Xu Li-li, Jiang Wei-bing, Han Jian, Weng Mang-ling, Cheng Chun-yan, Hua Xiang-ping. 2011. Effects of foliage spray of KH_2PO_4 and sucrose solution on changes of pigments and net photosynthetic rate in leaves of red-leaf peach in early summer. Scientia Silvae Sinicae, 47 (3): 170 - 174. (in Chinese)
- 徐莉莉, 姜卫兵, 韩 健, 翁忙玲, 程春燕, 化香平. 2011. 初夏叶面喷施 KH_2PO_4 和蔗糖对红叶桃叶片色素变化及净光合速率的影响. 林业科学, 47 (3): 170 - 174.
- Yamane T, Jeong S T, Goto-Yamamoto N, Koshita Y, Kobayashi S. 2006. Effects of temperature on anthocyanin biosynthesis in grape berry skins. Amer J Enol Viticult, 57: 54 - 59.
- Zhou Z, Zhi T, Liu Y, Chen Y, Ren C. 2014. Tyrosine induces anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. American Journal of Plant Sciences, 5: 328 - 331.