

# 一氧化氮对番茄果实采后成熟和 *Le-ETR4* 基因表达的影响

杨虎清, 吴峰华, 常银子\*

(浙江农林大学农业与食品科学学院, 浙江临安 311300)

**摘要:** 以破色期的‘卡罗’番茄果实为试材, 研究了 NO 供体硝普钠 (SNP)  $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  处理 30 min 对番茄果实采后成熟的作用, 并采用 Northern 杂交技术检测 NO 对番茄乙烯受体基因 *Le-ETR4* 表达的影响。结果表明,  $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP 处理降低了番茄果实的乙烯释放速率, 抑制了 ACC 氧化酶 (ACC oxidase, ACO)、纤维素酶 (Cellulase) 和多聚半乳糖醛酸酶 (Polygalacturonase, PG) 的活性, 延缓了果实的色泽变化和软化, 同时显著抑制了番茄乙烯受体基因 *Le-ETR4* 的表达。以上结果说明 NO 主要通过抑制番茄乙烯的生物合成和乙烯受体基因表达来控制成熟相关酶的活性, NO 可以在生理水平和乙烯受体水平调控番茄果实的成熟。

**关键词:** 番茄; 采后; 成熟; 一氧化氮; 乙烯; *Le-ETR4*

**中图分类号:** S 641.2

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2010) 08-1257-07

## Effects of Nitric Oxide on Postharvest Ripening and *Le-ETR4* Expression of Tomato Fruit

YANG Hu-qing, WU Feng-hua, and CHANG Yin-zi\*

(School of Agriculture and Food Science, Zhejiang A & F University, Lin'an, Zhejiang 311300, China)

**Abstract:** The effects of NO on postharvest ripening of breaking tomato fruit (*Lycopersicon esculentum*) were investigated using  $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP treatment for 30 min. Northern hybridization method was taken to detect the expression of *Le-ETR4*. The results indicated that dipping fruits in  $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP treatment for 30 min obviously reduced ethylene production rate, inhibited the activities of cellulase, polygalacturonase and ACC oxidase, and delayed color development and fruit softening. NO treatment also significantly repressed the expression of *Le-ETR4*. These results demonstrate that NO can inhibit activities of ripening-related enzymes through suppressing ethylene synthesis and expression of ethylene receptor gene. The ripening process of tomato can be regulated by NO both on a physiological and ethylene receptor level.

**Key words:** tomato; postharvest; ripening; nitric oxide; ethylene; *Le-ETR4*

番茄果实在成熟过程中发生一系列生理、生化反应和结构上的变化, 并且当成熟启动时会伴随着乙烯合成的增加 (Lelievre et al., 1997)。在园艺生产中, 人们一直期望通过调控乙烯的合成、感

收稿日期: 2010-01-21; 修回日期: 2010-04-14

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30400304)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: yanghq@zjfc.edu.cn)

知和生物学效应来控制果蔬的成熟过程。

一氧化氮 (NO) 是植物中普遍存在的信号分子, 参与调控植物的生长、发育、成熟衰老及其胁迫响应等生理过程 (Wendehenne et al., 2004)。通过对一些果蔬和花卉的研究发现, 果实采后可以产生NO, 随着果实的成熟和衰老, 组织内源NO的释放量逐渐降低, 乙烯的释放量逐渐升高 (Leshem & Pinchasov, 2000)。番茄 (Eum et al., 2009)、花椰菜 (Soegiarto & Wills, 2004)、梨 (Sozzi et al., 2003)、草莓 (Zhu & Zhou, 2007) 等采用外源低浓度NO熏蒸处理, 其内源乙烯合成受到抑制, 成熟和衰老得到延缓, 货架寿命延长。因此, 目前认为NO是通过抑制乙烯的生物合成来延缓果实的后熟衰老, 但NO对乙烯的感受和信号转导的影响目前还鲜有报道。

本研究中探讨了NO处理对番茄果实采后20 d贮藏过程中成熟、软化、乙烯合成和*Le-ETR4*基因表达的影响, 以期进一步了解NO对番茄果实成熟过程的调控机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料及其处理

番茄 (*Lycopersicon esculentum*) ‘卡罗’果实2008年4月采自浙江省农业科学院园艺研究所。参考美国番茄成熟度分级国家标准, 当果实绿熟或花蒂出现第一丝红色时 (破色, BK) 采收, 当天运回浙江农林大学果蔬采后生理与分子生物学实验室。

羧甲基纤维素、果胶、抗坏血酸钠为SIGMA公司产品; NO供体为硝普钠 (SNP), 由北京双鹤药业公司生产。硫酸亚铁、三羟甲基氨基甲烷 (TRIS)、二硫苏糖醇 (DTT) 琼脂糖、聚乙烯吡咯烷酮 (K<sub>30</sub>) 为进口分装; 尼龙膜为AMRESCO公司产品; 含*Le-ETR4* cDNA的pBS质粒由美国佛罗里达大学Harry Klee博士惠赠。其它试剂为国产分析纯。

用无氧重蒸水配制50  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的SNP溶液, 室温 (20  $^{\circ}\text{C}$ ) 浸泡果实30 min (预备试验设25、50和100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP各处理30 min, 发现50  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP处理30 min能有效抑制番茄果实转红, 与100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP处理没有显著差异, 而浸泡处理时间过长会伤害果实, 通常为30 min), 3次重复, 每重复处理番茄约1 kg; 对照果实用蒸馏水做同样处理。待果实表面水分晾干后单层随机摆放在白瓷盘中, 用保鲜膜 (0.05 mm) 封口, 在20  $^{\circ}\text{C}$ 、70%相对湿度下贮藏。贮藏期间每隔2 d观察果实成熟情况和取样测定有关生理指标。各个重复处理在不同成熟期分别取3个果实, 将果壁切成豌豆大的小块, 立即以液氮速冻后, 储于-70  $^{\circ}\text{C}$  备用。

### 1.2 测定方法

#### 1.2.1 番茄红素含量与乙烯释放速率的测定

每个重复处理取5.0 g果壁组织测定番茄红素含量 (Fish et al., 2002)。每重复处理各取10个果实, 用SP6800A气相色谱仪 (山东鲁南华工仪器厂) 测定乙烯释放速率 (杨虎清等, 2003)。

#### 1.2.2 果实硬度测定

各个重复处理分别取5个果实, 用TA-XT2i型质构仪测定果实赤道线上相对4个部位的去皮果肉硬度。探头直径5 mm, 测试深度6 mm, 贯入速度1  $\text{mm} \cdot \text{s}^{-1}$ , 读取最大值, 取平均值。

#### 1.2.3 果实颜色指数测定

果实颜色指数 (tomato colour index, TCI) 用WSC-S测色色差计测定。记录L (亮度)、A (绿色—红色) 和B (蓝色—黄色)。每个重复处理测定10个果实, 每个果实沿赤道测定4个对称点, 取其平均值。根据公式  $2000a / (A^2 + B^2)^{1/2}$  (Richardson & Hobson, 1987) 计算。

### 1.2.4 纤维素酶活性测定

参照 Elena 和 Alan (1996) 的粘度法测定纤维素酶 (Cellulase) 活性。从各个重复处理中取 5.0 g 果壁组织研磨, 以 1.3% 羧甲基纤维素 (Sigma) 为底物, 30 °C 下保温 60 min, 以煮沸 30 min 的酶液作对照。一个酶活力单位为每克果肉每分钟内测试体系粘度下降 1%, 结果以  $\text{U} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$  表示。

### 1.2.5 多聚半乳糖醛酸酶活性测定

参照 Taylor 等 (1994) 的粘度法测定多聚半乳糖醛酸酶 (polygalacturonase, PG) 活性。从液氮速冻的各个重复处理中取 5.0 g 果壁组织研磨。以 1% 柑橘果胶 (Sigma) 为底物, 30 °C 下保温 60 min, 以煮沸 30 min 的酶液作对照, 1 个酶活力单位为每克果肉每分钟内测试体系粘度下降 1%, 以  $\text{U} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$  表示。

### 1.2.6 ACC 氧化酶活性测定

参照 Barry 等 (1996) 方法测定 ACC 氧化酶 (ACO) 活性, 从各个重复处理中取 5.0 g 果壁组织研磨, 取 0.5 g 样品粉末置于 1.5 mL 的 eppendorf 管中, 加入 1.0 mL 样品提取液 (含 Tris-HCl 缓冲液  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 7.5, 10% 甘油 (体积比), 抗坏血酸钠  $30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 5% PVP,  $\text{FeSO}_4$   $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , DTT  $5.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 摇匀, 在  $12\,000 \times g$  (4 °C) 下离心 2 次 (各 0.5 和 10 min); 立即将 0.2 mL 上清液注入盛有 1.8 mL 酶反应液 [含 Tris-HCl 缓冲液  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 7.5, 10% 甘油 (体积比), 抗坏血酸钠  $30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{NaHCO}_3$   $30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , ACC  $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{FeSO}_4$   $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ] 的玻璃管中, 30 °C 水浴中密闭保温 20 min。抽气测定乙烯浓度, 活性单位为  $\text{nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 。

### 1.2.7 番茄 *Le-ETR4* 基因表达水平的检测

提取番茄果实 RNA 采用异硫氰酸胍法, RNA 甲醛变性凝胶电泳及转移至尼龙膜、杂交、洗膜等按 Sambrook 等 (1989) 的方法进行。以 600 bp 大小的 *Le-ETR4* 基因片段为探针进行 Northern 杂交, 探针标记采用 Promega Promega-Gene Label 试剂盒。

### 1.2.8 数据分析

所有测定均重复 3 次, 结果所列的数据是 3 次重复的平均值。采用 SPSS 13.0 对数据进行处理, 试验数据采用 ANOVA 进行邓肯氏多重差异分析 (取  $P < 0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 番茄果实乙烯释放速率的变化

如图 1 所示, 采后番茄果实的乙烯释放速率随着果实的成熟而逐渐增加, 对照果实在采后 4 d 出现乙烯释放高峰, 峰值为  $11.15 \text{ nL} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1} \text{FW}$ , 处理果的乙烯释放高峰出现在处理后 6 d, 峰值为  $7.87 \text{ nL} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1} \text{FW}$ , 显著低于对照果 ( $P < 0.05$ )。

高峰过后处理果实和对照果实的乙烯释放速率逐渐下降, 8 d 后两者之间差异不显著 ( $P > 0.05$ )。

说明 NO 处理能降低番茄乙烯释放速率, 这有助于延缓果实的成熟衰老。

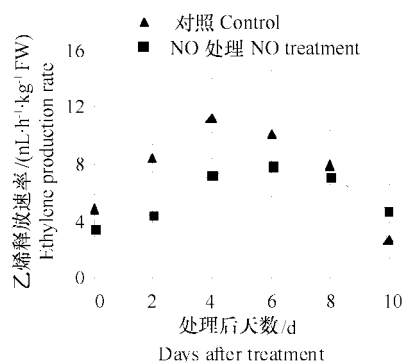


图 1 番茄果实乙烯释放速率的变化

Fig. 1 Change of ethylene production rate in tomato fruit

## 2.2 NO 处理对番茄红素合成和果实色泽的影响

从图 2 可知,对照果实的颜色指数在成熟过程中迅速增加,在采后 6 d 时就基本转红,到 12 d 时番茄颜色指数 (TCI) 达到 58.27,番茄红素含量达到  $109.52 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$ ,果实外表呈现正常的红色 (因为果实色泽是以果实表面测定的,而番茄红素是以果壁组织测定的,因此,图 2 中番茄红素合成滞后于色泽形成)。

而 NO 处理在前 6 d 几乎完全抑制了番茄果实色泽的形成,在采后 12 d 才出现转红的迹象,番茄红素含量为  $67.05 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$ ,只相当于对照的 61%,TCI 指数为 21.68,果实外表呈现橘黄色,可见 NO 处理显著 ( $P < 0.05$ ) 抑制了番茄红素的合成和果实着色。

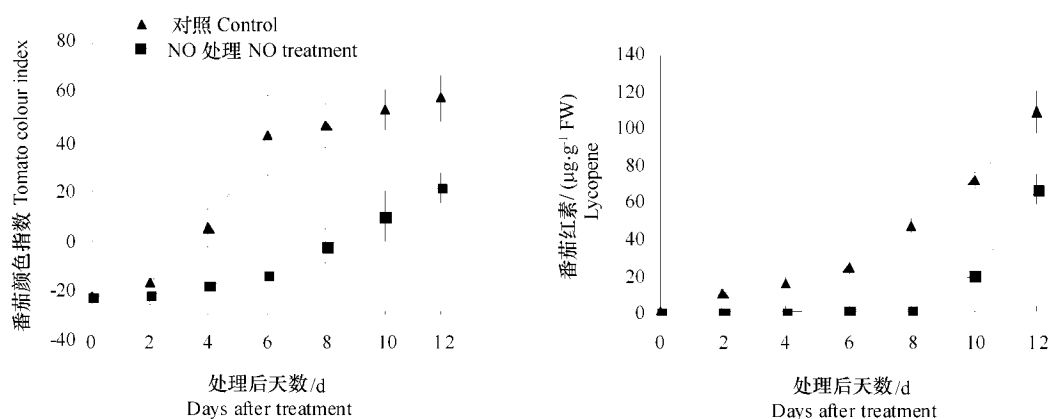


图 2 番茄果实色泽和番茄红素含量的变化

Fig. 2 Changes of colour development and pigment content in tomato fruit

## 2.3 番茄果实硬度变化

从图 3 可见,对照果实在破色后果肉硬度迅速下降,到破色后 12 d,果肉硬度为  $22.2 \text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,只有破色前的 21.1%。

与对照果实相比,NO 处理的果实硬度下降缓慢,到破色后 12 d,仍高达  $37.7 \text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,显著 ( $P < 0.05$ ) 高于对照果实。

这表明 NO 处理能够抑制采后番茄果实的软化过程。

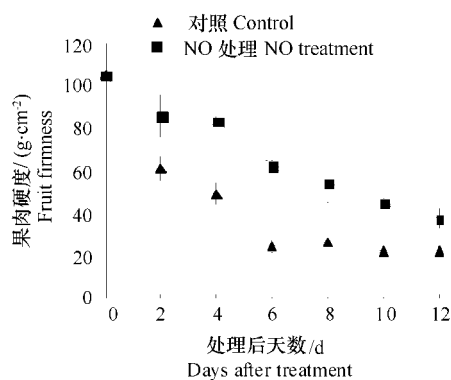


图 3 番茄果实硬度变化

Fig. 3 Change of firmness in tomato fruit

## 2.4 番茄果实纤维素酶和 PG 酶活性的变化

由图 4 可知,对照和 NO 处理的番茄在采后纤维素酶和 PG 酶的活性均呈现逐渐增加的趋势,但 NO 处理抑制了纤维素酶和 PG 酶的活性升高,在采后 2~8 d 时显著 ( $P < 0.05$ ) 低于对照果,之后纤维素酶和 PG 酶的活性变化逐渐趋于平稳,对照和 NO 处理果实之间无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

之后纤维素酶和 PG 酶的活性变化逐渐趋于平稳,对照和 NO 处理果实之间无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

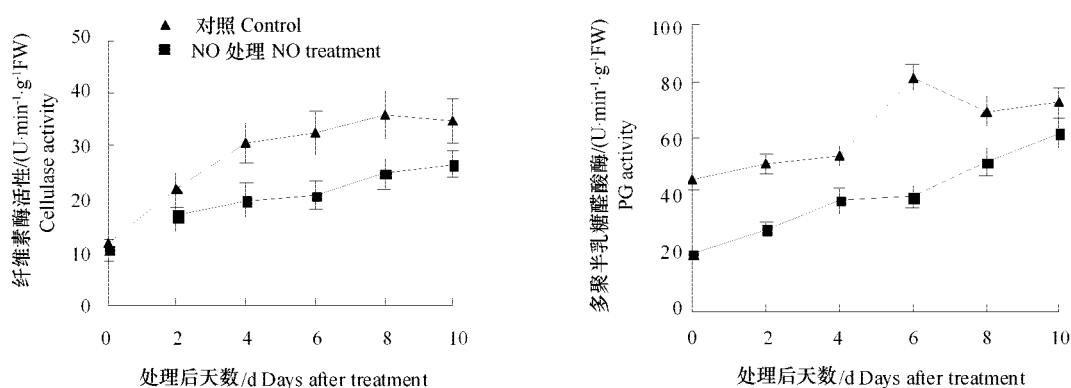


图 4 番茄果实纤维素酶和 PG 活性的变化

Fig. 4 Changes of activities of cellulase and PG in tomato fruit

## 2.5 NO 对番茄果实 ACC 氧化酶活性的影响

如图 5 所示, 番茄在采后 ACC 氧化酶活性呈现先上升然后下降的趋势。

对照果实在采后 6 d 出现活性高峰, 峰值为  $17.64 \text{ nL} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ , NO 处理抑制了 ACC 氧化酶活性, 其峰值也在 6 d 出现, 但峰值只有  $9.62 \text{ nL} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ , 显著低于对照 ( $P < 0.05$ ), 然后随着果实的成熟 ACC 氧化酶活性逐渐下降。在整个成熟过程中, NO 处理果的 ACC 氧化酶活性都低于对照果实, 表明 NO 处理能够显著抑制果实的 ACC 氧化酶活性。这个结果与前面 NO 处理乙烯释放速率的差异相一致。

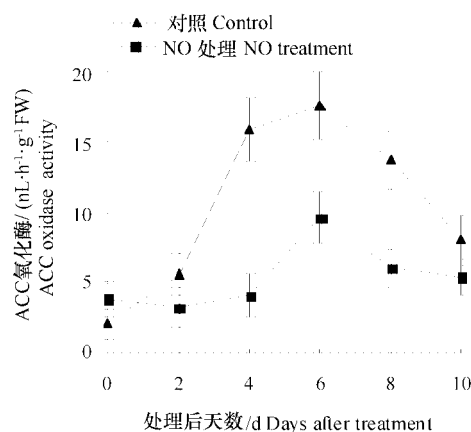
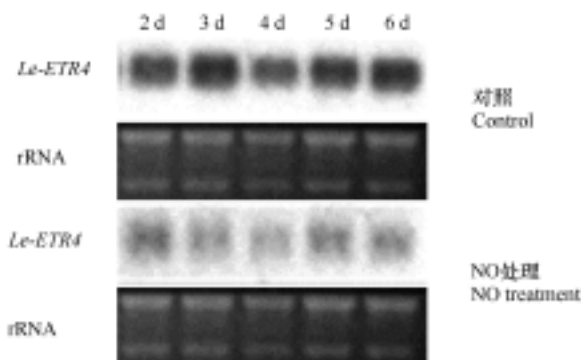


图 5 番茄果实 ACC 氧化酶活性的变化

Fig. 5 Change of ACC oxidase activity in tomato fruit

## 2.6 NO 对番茄果实 *Le-ETR4* 基因表达的影响

分别提取番茄果实的总 RNA, 用 *LeETR4* cDNA 为探针, 研究 NO 处理对 *LeETR4* 基因表达的影响。结果如图 6, NO 明显抑制了乙烯释放高峰前番茄果实 *LeETR4* 基因的表达。

图 6 NO 处理对番茄果实 *Le-ETR4* 表达的影响 (20 )Fig. 6 Effects of NO treatment on expression of *Le-ETR4* in tomato (20 )

### 3 讨论

1-氨基环丙烷-1-羧酸 (ACC) 是乙烯合成的直接前体, 而 ACC 氧化酶 (ACO) 和 ACC 合成酶 (ACS) 是乙烯合成途径的两个限速酶。前人研究发现, 用  $5 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $10 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$  的 NO 熏蒸处理肥城桃果实, 能抑制 ACC 氧化酶活性, 减少乙烯的生物合成 (Zhu et al., 2006);  $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP 处理能显著抑制丰香草莓的 ACC 合成酶活性和乙烯生成量 (Zhu & Zhou, 2007);  $200 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$  NO 能延缓番茄果实成熟, 抑制绿熟和破色期 ACO 基因家族 *LeACO1*、*LeACO2* 和 *LeACO4* 的表达, 但对 ACS 基因的表达没有影响 (Eum et al., 2009)。本试验结果表明, NO 处理后番茄果实的 ACO 活性降低, 乙烯释放速率显著降低, 果实的颜色形成和软化过程均受到抑制。番茄中番茄红素生物合成的关键酶是八氢番茄红素合成酶 (PSY) 和八氢番茄红素脱氢酶 (PDS), 乙烯处理可以促进 PSY 基因的表达, 乙烯能调节八氢番茄红素的合成 (Bird et al., 1991)。纤维素酶对不同果实的软化作用不同, 在桃、番茄、梨果实成熟软化过程中纤维素酶起关键作用 (Huber, 1983)。PG 酶主要分解细胞中胶层的多聚半乳糖醛酸, 许多研究也表明, 苹果、梨、香蕉、番茄等果实等的软化与 PG 酶密切相关。在果实成熟过程中, 乙烯的作用是一个“可变电阻器”, 而不仅仅是成熟的引发剂, 果实内必须连续保持乙烯的存在来诱导必须基因的表达 (Theologis, 1992)。因此, 干扰乙烯的合成过程和信号转导将会影响各个阶段的成熟进程。因此推测 NO 主要通过抑制乙烯的合成来控制八氢番茄红素合成酶、纤维素酶和 PG 酶基因的表达, 进而延缓番茄果实软化和颜色变化。

NO 处理还抑制了番茄乙烯受体基因 *Le-ETR4* 的表达。乙烯生物合成是乙烯作用的上游部分, 目前认为, 乙烯的生物学效应是通过乙烯信号转导途径得以实现的。乙烯受体是乙烯信号转导途径的第一级元件, 是一类具有乙烯结合能力的与细菌双组分信号转导系统相似的蛋白家族。目前已分离出 6 个番茄乙烯受体基因, 即 *Le-ETR1*、*Le-ETR2*、*NR (Le-ETR3)*、*Le-ETR4*、*Le-ETR5* 和 *Le-ETR6*, 这些受体基因在果实中的表达模式各不相同, 而 *LeETR1* 和 *LeETR2* 则维持稳定 (Lashbrook et al., 1998; Kevany et al., 2007)。转基因研究证明 *LeETR4* 具有“功能性补偿作用 (functional compensation)”, 可能是乙烯受体水平的监控器, 具有调节果实组织乙烯敏感性的作用 (Tieman et al., 2000)。因此推测 NO 通过抑制 *LeETR4* 的表达水平降低了番茄果实对乙烯的敏感性, 结果影响了成熟相关基因的正常表达, 延缓了果实的成熟。Rodriguez 等 (1999) 研究发现, 铜离子 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) 是拟南芥乙烯受体 ETR1 感受乙烯信号的协同因子, 铜离子与 ETR1 的 N-端跨膜  $\alpha$ -螺旋疏水区结合形成受体复合体, 乙烯与复合体结合导致受体构象变化, 从而引发外源乙烯的生理效应, 调节铜离子则可能改变受体活性。刘孟臣等 (2007) 认为, NO 能够将果实乙烯受体的协同因子  $\text{Cu}^{2+}$  还原成  $\text{Cu}^+$ , 而  $\text{Cu}^+$  不能与乙烯受体结合, 从而抑制了外源乙烯发挥催化作用。Wills 等 (2000) 则推测 NO 具有 1-MCP 的作用, 能够与乙烯竞争性地结合受体。因此, 关于 NO 调控乙烯生物学效应的作用机制, 还有待进一步研究。

### References

- Barry C S, Blume B, Bouzayen M, Cooper W, Halmilton A J, Grienson D. 1996. Difference expression of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase gene family of tomato. *The Plant Journal*, 9 (4): 525–535.
- Bird C R, Ray J Y, Fletcher T D. 1991. Using antisense RNA to study gene function inhibition of carotenoid in transgenic tomato. *Plant Physiology*, 9: 635–639.
- Elena D C, Alan B B. 1996. Pedicel breakstrength and cellulase gene expression during tomato flower abscission. *Plant Physiology*, 111 (3): 813–820.
- Eum H L, Kim H B, Choi S B, Lee S K. 2009. Regulation of ethylene biosynthesis by nitric oxide in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit

- harvested at different ripening stages. *European Food Research and Technology*, 228 (3) : 331 – 338.
- Fish W W , Perkins-Veazie P , Collins J K. 2002. A quantitative assay for lycopene that utilizes reduced volumes of organic solvents. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15 (3) : 309 – 317.
- Huber D J . 1983. The role of cell wall hydrolases in fruit softening. *Horticultural Reviews*, 5 : 169 – 219.
- Kevany B M , Tieman D M , Taylor M G , DalCin V , Klee H J. 2007. Ethylene receptor degradation controls the timing of ripening in tomato fruit. *The Plant Journal*, 51 (3) : 458 – 467.
- Lashbrook C C , Tieman D M , Klee H J. 1998. Differential regulation of the tomato ETR gene family throughout plant development. *The Plant Journal*, 15 (2) : 243 – 252.
- Lelievre J M , Latche A , Jones B , Bouzayen M , Pech J C. 1997. Ethylene and fruit ripening. *Physiologia Plantarum*, 101 (4) : 727 – 739.
- Leshem Y Y , Pinchasov Y. 2000. Non-invasive photoacoustic spectroscopic determination of relative endogenous nitric oxide and ethylene content stoichiometry during the ripening of strawberries *Fragaria ananassa*( Duch. ) and avocados *Persea americana*( Mill. ). *Journal of Experimental Botany*, 51 (349) : 1471 – 1473
- Liu Meng-chen , Song Wei-hong , Zhu Shu-hua , Zhou Jie. 2007. Effects of nitric oxide and exogenous ethylene treatments on ethylene biosynthesis in Feicheng peach. *Scientia Agricultura Sinica*, 40 (11) : 2582 – 2586. (in Chinese)
- 刘孟臣, 宋卫红, 朱树华, 周 杰. 2007. 一氧化氮和外源乙烯处理对肥城桃果实乙烯生物合成的影响. *中国农业科学*, 40 (11) : 2582 – 2586.
- Richardson C , Hobson G E. 1987. Compositional changes in normal and mutant tomato fruit during ripening and storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 40 (3) : 245 – 252.
- Rodriguez F I , Esch J J , Hall A E , Binder B M , Schaller G E , Bleecker A B. 1999. A copper cofactor for the ethylene receptor ETR1 from *Arabidopsis*. *Science*, 283 (5404) : 996 – 998.
- Sambrook J , Fritsch E F , Maniatis T. 1989. *Molecular cloning : A laboratory manual*. 2nd ed. New York : Cold Spring Harbor Laboratory Press : 31 – 58.
- Soegiarto L , Wills R B H. 2004. Short term fumigation with nitric oxide gas in air to extend the postharvest life of broccoli , green bean and bokchoy. *Hortotechnology*, 14 (4) : 538 – 539.
- Sozzi G O , Trinchero G D , Frascina A A. 2003. Delayed ripening of ' Bartlett ' pears treated with nitric oxide. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 78 (6) : 899 – 903.
- Taylor M A , Rabe E , Dodd M C. 1994. Effect of storage of regimes on pectolytic enzymes , pectic substances , internal conductivity and gel breakdown in cold stored Songold plum. *Journal of Horticultural Science*, 69 (3) : 527 – 534.
- Theologis A. 1992. One rotten apple spoils the whole bushel : The role of ethylene in fruit ripening. *Cell*, 70 (2) : 181 – 184.
- Tieman D M , Taylor M G , Ciardi J A , Klee H J. 2000. The tomato ethylene receptors NR and *LeETR4* are negative regulators of ethylene response and exhibit functional compensation within a multigene family. *Proceedings National Academy Sciences USA*, 97 (10) : 5663 – 5668.
- Wendehenne D , Durner J , Klessig D F. 2004. Nitric oxide : A new player in plant signalling and defence responses. *Current Opinion in Plant Biology*, 7 (4) : 449 – 455.
- Wills R B H , Ku V V V , Leshem Y Y. 2000. Fumigation with nitric oxide to extend the postharvest life of strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 18 (1) : 75 – 79.
- Yang Hu-qing , Ying Tie-jin , Xiang Qing-ning. 2003. Characters of postharvest physiology of antisense *LeETR1* transgenic tomato fruits. *Acta Horticulturae Sinica*, 30 (4) : 404 – 408. (in Chinese)
- 杨虎清, 应铁进, 向庆宁. 2003. 转反义*LeETR1* 基因番茄采后生理特性的研究. *园艺学报*, 30 (4) : 404 – 408.
- Zhu S H , Liu M C , Zhou J. 2006. Inhibition by nitric oxide of ethylene biosynthesis and lipoxygenase activity in peach fruit during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 42 (1) : 41 – 48.
- Zhu S H , Zhou J. 2007. Effect of nitric oxide on ethylene production in strawberry fruit during storage. *Food Chemistry*, 100 (4) : 1517 – 1522.