

乙烯信号转导与果实成熟衰老的研究进展

殷学仁, 张 波, 李 鲜, 陈昆松*

(浙江大学果实分子生理与生物技术实验室, 农业部园艺植物生长发育与生物技术重点开放实验室, 杭州 310029)

摘 要: 综述了乙烯信号转导途径各级别元件及其编码基因在果实成熟衰老中的研究进展, 主要包括相关基因家族成员及其表达调控、成熟衰老相关乙烯信号转导途径元件的鉴别与功能分析、乙烯信号转导在果实成熟衰老进程中的调控机制等, 并提出了乙烯信号转导的研究重点与方向。

关键词: 乙烯; 乙烯信号转导; 基因家族; 果实; 成熟衰老

中图分类号: S 601 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2009) 01-0133-08

Ethylene Signal Transduction During Fruit Ripening and Senescence

YN Xue-ren, ZHANG Bo, LI Xian, and CHEN Kun-song*

(Laboratory of Fruit Molecular Physiology and Biology, The State Key Laboratory of Horticultural Plant Growth, Development and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: The present paper review progresses in ethylene signal transduction and its regulation during fruit ripening and senescence, including isolation of gene family members, analysis of gene expression, identification of ripening-related components. Perspective for further studies of the ethylene signal transduction in ripening fruit is also discussed.

Key words: ethylene; ethylene signal transduction; gene family; fruit; ripening and senescence

乙烯广泛参与植物生长发育过程, 其中乙烯在果实成熟衰老进程中的作用是研究热点之一。《Plant Science》杂志专题刊载了乙烯信号转导研究的最新进展及其发展趋势 (Bennett & Lababitch, 2008; Cara & Giovannoni, 2008; Pech et al., 2008)。

目前乙烯生物合成途径已经清楚, 主要包括: 蛋氨酸 甲基腺苷蛋氨酸 (SAM, S-adenosylmethionine) 1-氨基环丙烷-1-羧酸 (ACC, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid) 乙烯, 其中 ACC 合成酶 (ACS) 催化 SAM 合成 ACC, 而 ACC 氧化酶 (ACO) 则将 ACC 转变为乙烯; 它们是调控乙烯合成的关键酶 (Yang & Hoffman, 1984; 徐昌杰等, 1998)。

乙烯生物合成是乙烯作用的上游部分, 有关乙烯如何实现其生物学功能的下游研究起步较晚, 但进展较快。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。利用各种突变体材料和克隆得到的众多乙烯信号转导元件基因, 使乙烯信号转导研究在模式植物拟南芥中取得了显著进展, 并已建立了相关的线性模型, 即乙烯 ETR 家族 CTR 家族 EN3/ELs ERF 乙烯反应相关基因的表达。由 ETRs 和 ERSs 等编码的乙烯受体在内质网膜上感知乙烯信号, 与下游类似于 Raf 的蛋白激酶 CTR1 协同负调控乙烯反应; EN2 及其下游的 EN3/ELs 位于 CTR1 下游, 正调控乙烯反应。EN3/ELs 是一类植物特有的核蛋白, 其编码基因属于一个小的转录因子基因家族。研究表明转录控制是调控乙烯反应的主要机制 (Chen et al., 2005; 安丰英和郭红卫, 2006)。目前已有许多关于拟

收稿日期: 2008-08-29; 修回日期: 2008-12-16

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30571284); 中国博士后科学基金项目 (20070421208)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: akun@zju.edu.cn)

致谢: 感谢新西兰国家园艺与食品研究所 Ian Ferguson 院士为本论文撰写提供的帮助。

南芥乙烯信号转导方面的综述,介绍了乙烯反应突变体的筛选鉴定、乙烯信号转导元件的克隆分离、相关元件在植物发育过程和逆境胁迫下的表达模式、亚细胞定位以及乙烯信号转导与其他激素信号转导的互作效应等 (Wang et al, 2002; 王中凤和应铁进, 2004; Chen et al, 2005; 安丰英和郭红卫, 2006; 陈涛和张劲松, 2006)。

本文中以模式果实番茄成熟衰老相关的乙烯信号转导研究报道为主线,结合猕猴桃和苹果等多年生果实的最新研究进展,在本研究小组关于“乙烯受体与果实成熟调控”综述(魏绍冲等, 2004)的基础上,进一步从乙烯信号转导不同级别元件入手,介绍相关基因家族成员及其表达调控、成熟衰老相关乙烯信号转导途径元件的鉴别、乙烯信号转导在果实成熟衰老进程中的调控机制,以期明确果实成熟衰老进程中乙烯信号转导的研究重点与方向。

1 果实乙烯信号转导元件的克隆

乙烯受体是整个乙烯信号转导途径的最上游元件。目前已从番茄 (Zhou et al, 1997; Tieman et al, 2001; Alexander & Grierson, 2002; Tourmier et al, 2003; Yokotani et al, 2003; Adams-Phillips et al, 2004; Li et al, 2007; Wang et al, 2007b); 猕猴桃 (Yin et al, 2008); 苹果 (Tatsuki et al, 2007; Wang et al, 2007a; Wiersma et al, 2007); 李 (El-Sharkawy et al, 2007); 梨 (El-Sharkawy et al, 2003); 桃 (Rasori et al, 2002; Trainotti et al, 2006; Begheldo et al, 2007); 柿子 (Pang et al, 2007); 草莓 (Trainotti et al, 2005); 柑橘 (Katz et al, 2004) 等多种果实中分离得到数量不等的乙烯受体编码基因 (表 1), 其中最早获得的果实乙烯受体基因为番茄 *NR* (*LeETR3*) (Wilkinson et al, 1995)。研究表明,番茄果实至少存在 6 个乙烯受体基因 (*LeETR1*~*LeETR6*) (Alexander & Grierson, 2002), 猕猴桃 (Yin et al, 2008) 和苹果 (Tatsuki et al, 2007; Wiersma et al, 2007) 均至少含有 5 个乙烯受体编码基因。除了跃变型果实,人们还从草莓和柑橘等非跃变型果实中克隆了多个乙烯受体编码基因。

表 1 成熟果实中乙烯信号转导元件的克隆

Table 1 Cloning of genes encoding elements in ethylene signal transduction pathway in ripening fruit

果实 Fruit	乙烯受体 Ethylene receptor	<i>CTR1</i>	<i>EN2</i>	<i>EN3/ELs</i>	<i>ERFs</i>
番茄 Tomato	6	4	1	4	9+50*
猕猴桃 Kiwifruit	5	2		4#	>14#
苹果 Apple	5	1	2		2
李 Plum	2	1			1
桃 Peach	3	1	1		
梨 Pear	4				
柿子 Persimmon	3				
草莓 Strawberry	3				
柑橘 Citrus	2				

注: * 法国 NP-ENSAT 的 Mondher Bouzayen 小组, 私人通讯; # 本实验室未发表数据。

Note: * Private communications, Mondher Bouzayen group of NP-ENSAT in France; # Unpublished data

果实 *CTR1* 及其下游级别元件的克隆报道要少于乙烯受体。番茄和猕猴桃果实中分别有 4 个和 2 个 *CTR1* 编码基因家族成员, 苹果、李和桃等果实则仅有 1 个 *CTR1* 基因 (表 1)。利用猕猴桃 EST 库, 我们已经分别获得了 4 个 *EN3/ELs* 和 14 个 *ERF* 的全长序列 (未发表数据)。

2 乙烯受体与果实成熟衰老

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 (Chang & Meyerowitz, 1995; O'Malley et al, 2005)。根据结构域, 乙烯受体可分为 ETR1 亚家族和 ETR2 亚家族。例如拟南芥 *AtETR1* 和 *AtERS1* 属于 ETR1 亚家族, 而 *AtETR2*、*AtERS2* 和 *AtEN4* 则属于 ETR2 亚家族。多重乙烯受体缺失型突变体 (缺失两个或两个以上乙烯受体) 植株呈组成型乙烯反应, 因此乙烯受体作为负反馈调控因子参与了乙烯信号转导 (Hua & Meyerowitz, 1998; Qu et al, 2007)。

2.1 番茄果实乙烯受体

在番茄果实 6 个乙烯受体基因家族成员中, *LeETR4* 具有最高的表达丰度, 约占成熟果实组织总 RNA 的 0.04%, *LeETR1*、*LeETR2*、*NR* 和 *LeETR5* 分别约为 0.01%、0.002%、0.03% 和 0.01% (Lashbrook et al, 1997; Tieman & Klee, 1999)。番茄果实在成熟衰老进程中, *NR*、*LeETR4*、*LeETR5* 和 *LeETR6* 等成员的表达水平趋于增强, 而 *LeETR1* 和 *LeETR2* 则维持稳定 (Lashbrook et al, 1997; Kevany et al, 2007)。果实在成熟衰老进程中乙烯受体基因的表达水平与乙烯积累呈正相关关系, 似乎与乙烯受体的负反馈调控作用相矛盾。目前有两种观点解释上述现象。1) 乙烯受体与乙烯的解离模型: 果实成熟进程中产生的乙烯通过与受体结合产生生理效应, 由于受体与乙烯之间在结合后需要时间实现解离, 由此促使组织生成更多受体用于结合乙烯 (O'Malley et al, 2005); 2) 乙烯受体基因转录水平的变化并不等同于其蛋白水平的变化: 番茄果实乙烯受体的蛋白质含量随果实成熟加快而显著降解, 乙烯受体的表达增强可能用于合成新的乙烯受体蛋白质 (Kevany et al, 2007)。

转基因研究为进一步明确乙烯受体在果实成熟、衰老进程中的功能提供了证据。*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)。在 *NR* 反义植株中 *LeETR4* 表达的增强可以弥补 *NR* 转录本的减少, 并保持植株野生型性状; 而在 *LeETR4* 的反义植株中, 其他乙烯受体基因表达水平基本稳定。*LeETR6* 的作用可能与 *LeETR4* 类似 (Tieman et al, 2000; Kevany et al, 2007)。通过调控 *LeETR4* 和 *LeETR6* 基因表达可有效调节果实对乙烯的敏感性。虽然 *NR* 转录本在番茄果实成熟后期积累, 但是反义 *NR* 并不能加速番茄果实的成熟进程, 表明 *NR* 参与果实成熟衰老的调控, 但不是必要成员 (Wilkinson et al, 1995; Tieman et al, 2000; Kevany et al, 2008)。

2.2 其它跃变型果实乙烯受体

越来越多的研究显示, 乙烯受体基因家族不同成员在果实成熟进程中具有表达差异。苹果 ETR1 亚家族成员 *MdERS1* 表达水平在成熟、衰老进程中维持稳定, 而 *MdETR1* 则随乙烯积累而表达增强 (Dal Cin et al, 2006)。桃果实的两个乙烯受体表达模式也不一致, 其中 *PpERS1* 在成熟、衰老进程中的表达水平趋于增强, 而 *PpETR1* 则维持基本稳定水平; 1-MCP 处理显著抑制 *PpERS1* 转录本积累 (Dal Cin et al, 2006)。也有研究显示, 不同亚家族的乙烯受体基因表达模式可能相似。梨果实 *PcETR1a* 和 *PcERS1a* 同属于 ETR1 亚家族, *PcETR5* 为 ETR2 亚家族成员, 它们的表达水平在果实成熟衰老进程中均显著增强 (El-Sharkawy et al, 2003)。类似结果在柿子果实中也有报道 (Pang et al, 2007)。

我们从多年生果树猕猴桃果实中分离了 5 个乙烯受体基因家族成员。研究发现 *AdETR1* 表达水平受外源和内源乙烯下调, 不同于番茄等果实 (Yin et al, 2008)。根据乙烯受体负反馈调控理论, 认为 *AdETR1* 转录本水平下降导致其对乙烯信号转导抑制效果的减弱, 进而活化整个信号转导途径, 由此推测 *AdETR1* 可能是猕猴桃乙烯受体家族中调控乙烯信号转导的关键成员。猕猴桃果实 *AdERS1b* 对乙烯不敏感, 其表达模式与果实软化密切相关; 而其它 3 个乙烯受体基因 (*AdETR2a*、*AdETR2b* 和 *AdERS1a*) 的转录本水平均随猕猴桃果实乙烯跃变而积累 (Yin et al, 2008)。拟南芥上的研究表明 ETR1 可以作为其他蛋白 (RTE) 参与乙烯信号转导的媒介 (Resnick et al, 2006; Zhou et al, 2007), 猕猴桃 *AdETR1* 可能通过与 *CTR1* 以外的蛋白作用参与成熟进程, 而 *AdERS1b* 可能通过 *CTR1*

途径的乙烯信号转导方式调控猕猴桃果实软化进程。

2.3 非跃变型果实乙烯受体

非跃变型果实的乙烯受体研究也取得了进展。成熟柑橘果实贮藏过程中 *CsETR1* 和 *CsERS1* 表达水平基本稳定, 而幼小果实组织中的 *CsERS1* 可被外源乙烯诱导表达, 推测 *CsETR1* 参与系统 I 乙烯生理效应发挥, *CsERS1* 调节果实对乙烯的敏感性 (Katz et al, 2004)。草莓 *FaETR1* 和 *FaERS1* 在果实成熟进程中表达水平维持基本不变, 而 *FaETR2* 具有最高转录本水平并于白色期达到高峰, 其表达水平可被乙烯处理显著诱导; 白色期果实对乙烯具有最高敏感性, *FaETR2* 表达水平可被诱导 10 倍左右, 红色成熟期果实则对乙烯的敏感性较低 (Trainotti et al, 2005)。上述结果显示非跃变型果实的乙烯敏感性受果实发育阶段影响, 乙烯受体不同成员对乙烯处理的响应存在差异。

2.4 乙烯受体转录本丰度与蛋白质含量的关系

在番茄果实上的研究显示, 乙烯受体蛋白与其基因表达模式相反: *NR*、*LeETR4* 和 *LeETR6* 的表达水平在果实成熟、衰老进程中趋于增强, 然而对应的蛋白水平则呈现为下降趋势, 蛋白质含量与转录本丰度的比值在未成熟的绿色果实中最高, 而在破白、转色阶段显著下降 (Kevany et al, 2007)。同时, 研究还显示 *NR*、*LeETR4* 和 *LeETR6* 的表达水平受乙烯处理显著诱导, 而受体蛋白质含量则明显下降。根据乙烯受体的负反馈调控理论, 推测受体蛋白降解激活了乙烯信号转导途径, 由此参与了果实成熟进程 (Kevany et al, 2007); 但也有研究显示, 乙烯受体基因表达和蛋白质水平在甜瓜果实发育进程中相一致 (Sato-Nara et al, 1999; Takahashi et al, 2002)。乙烯受体的基因表达模式及其翻译的蛋白质水平在果实成熟衰老进程中是否一致, 仍有待于进一步研究。目前有关果实乙烯受体的研究主要在转录本水平展开。模式果实番茄乙烯受体蛋白的进展为进一步研究其它果实乙烯受体的作用机制提供了新方向。

3 *CTR1* 与果实成熟衰老

迄今从番茄果实中共分离得到 4 个 *CTR1* 基因家族成员——*LeCTR1*、*TCTR2* (*LeCTR2*)、*LeCTR3* 和 *LeCTR4*, 其中 *TCTR2* 为组成型表达, 与拟南芥 *AtCTR1* 类似; *LeCTR1* 随果实成熟、衰老而表达增强并对外源乙烯敏感, *LeCTR3* 和 *LeCTR4* 在叶片中表达较强, 但它们对乙烯处理不敏感 (Alexander & Grierson, 2002; Adams-Phillips et al, 2004)。在拟南芥 *ctr1-8* 突变体中过量表达番茄 *CTR1* 同源基因中, *LeCTR3* 和 *LeCTR4* 能补偿 *AtCTR1* 的功能, 而 *LeCTR1* 只能部分补偿 *AtCTR1* 功能 (Adams-Phillips et al, 2004)。猕猴桃 2 个 *CTR1* 同源基因均在果实发育阶段初期具有较强表达水平, 随后呈下降趋势 (Yin et al, 2008); 但在果实采后成熟、衰老进程中, *AdCTR1* 随乙烯跃变而表达增强, 并被 1-MCP 处理抑制, 而 *AdCTR2* 则呈组成型表达模式 (Yin et al, 2008)。苹果 *MdCTR1* 和桃 *PpCTR1* 在果实后熟进程中表达变化不大, 1-MCP 对于 *MdCTR1* 表达的影响主要在成熟后期 (Dal Cin et al, 2006)。*PdCTR1* 在李果实发育初期表达较高, 而在成熟衰老进程中维持稳定水平 (Pang et al, 2007)。

番茄和猕猴桃果实具有多个 *CTR1* 基因, 且表达模式存在差异; 而拟南芥仅存在单个 *CTR1*, 推测果实中 *CTR1* 的作用可能较为复杂。近来研究表明, MAPK 激酶级联反应参与了乙烯信号转导; 当 *CTR1* 失活时, MKK9-MPK3/6 被激活, 进而通过调控 *EN3* 的磷酸化实现乙烯信号转导 (Yoo et al, 2008)。*CTR1* 可能通过 *EN2* 到 *EN3* 的途径, 或者通过 MAPK 激酶级联反应直接影响 *EN3*, 进而调控乙烯信号转导途径。

4 *EN3/ELs* 与果实成熟衰老

EN3/ELs 是位于细胞核内的乙烯信号转导元件, 它可以识别启动子区含有初级乙烯反应元件

(PERE) 的目标基因; 而 PERE 序列不仅存在于下游 ERF 的启动子区, 还存在于一些果实成熟、衰老相关基因的启动子区, 如 *ACO* (Blume et al, 1997; Lasserre et al, 1997)。对番茄 *EN3* 同源基因 (*LeEIL1* ~ *LeEIL4*) 的研究显示, *EIL* 基因在果实成熟、衰老进程中表达水平维持基本稳定 (Yokotani et al, 2003)。通过转基因手段抑制 *LeEILs* 表达可以显著影响番茄植株的乙烯反应, 认为通过调节 *LeEILs* 的 mRNA 水平可实现对果实成熟衰老的调控 (Tieman et al, 2001); 但是番茄 *EIL* 基因家族成员之间可能具有功能冗余性 (Tieman et al, 2001)。香蕉中至少含有 5 个 *EIL* 基因, 其中 *MaEIL2* 在果实成熟进程中呈上升趋势, 也可被外源乙烯处理诱导, 其它 *EIL* 基因家族成员的表达水平则无明显变化 (Mbéguié A Mbéguié et al, 2008)。猕猴桃 4 个 *EIL* 基因 (命名为 *AdEIL1* ~ *AdEIL4*) 在果实成熟进程中的转录本水平维持稳定, 但是它们均可被低温处理明显诱导, 认为 *EIL* 可能参与了低温对果实成熟进程的调控 (未发表数据)。我们的研究还显示, 冷害温度 (0 °C) 处理也可显著诱导枇杷果实 *EIL* 的转录本积累, 推测 *EIL* 表达增强可能是冷敏型果实对低温胁迫的响应 (未发表数据)。

5 *ERFs* 与果实成熟衰老

ERF 是乙烯信号转导途径中最下游元件, 具有 AP2/ERF 结构域, 是一类能识别 GCC 盒的转录因子。*ERF* 在植物中由一个大基因家族编码。目前, 在拟南芥中发现 12 个亚族 122 个 *ERF* 基因, 在水稻中 15 个亚族 139 个 *ERF* 基因 (Nakano et al, 2006)。表 1 显示, 从番茄果实中已得到约 60 个 *ERF* 基因 (法国 NP-ENSAT 的 Mondher Bouzayen 小组, 私人通讯), 苹果和李子中分别获得 2 个和 1 个。我们利用 EST 库从猕猴桃果实中分离了 14 个 *ERF* 全长序列 (未发表数据)。

目前有关 *ERF* 在果实成熟衰老进程中的研究较少。番茄 *LeERF2* (AAO34704, 第 IV 族 *ERF*) 表达水平在果实成熟衰老进程中呈增强趋势 (Toumier et al, 2003)。Wang 等 (2007a) 认为同属于第 IV 族 *ERF* 的苹果 *MdERF1* 与 *LeERF2* 相似, 参与了果实成熟、衰老进程; 转基因研究进一步显示, 抑制属于第 V 族 *ERF* 的 *LeERF1* (AAL75809, 第 V 族 *ERF*) 可有效延缓番茄果实的成熟进程 (Li et al, 2007), 表明 *ERF* 在果实成熟衰老进程中具有重要的调控作用。

拟南芥 *ERF* 基因在植株逆境胁迫和生长发育过程中也具有重要作用。*CBFs* (第 III 族 *ERF*)、*DREB2s* (第 II 族 *ERF*)、*AtEBP* (第 I 族 *ERF*) 和 *AtERF14* (第 IV 族 *ERF*) 参与干旱、涝害、低温和热胁迫等抗逆反应 (Büttner & Singh, 1997; Sakuma et al, 2006a, 2006b; Novillo et al, 2007; Olate-Sánchez et al, 2007), *DDFs* (第 VI 族 *ERF*) 参与赤霉素的合成 (Magome et al, 2004), *LEP* (第 VII 族 *ERF*) 调控幼苗发育 (Ward et al, 2006), 而 *DRL* (第 VIII 族 *ERF*) 则是雄蕊形成的关键因子 (Nag et al, 2007)。

研究显示, 逆境相关基因的启动子区多具有 GCC 盒 (Brown et al, 2003), 但迄今尚未发现果实成熟、衰老相关基因在启动子区含有 GCC 盒; 因此, *ERF* 如何与目标基因联系进而调控果实成熟进程有待阐明。苹果的 *PG* 启动子区虽然不含有 GCC 盒, 但是部分 *ERF* 基因也可实现对 *PG* 基因的转录调控, 认为 *ERF* 可能通过识别启动子区的其他序列调节果实成熟衰老进程 (新西兰 HortResearch 的 Schaffer, 私人通讯)。

6 新的乙烯不敏感突变体

近年来人们从番茄植株中分离了 *Green-ripe* (*Gr*) 和 *Never-ripe2* (*Nr2*) 两种新型突变体, 它们与 *nr* (*never-ripe*) 类似, 其果实均不能正常成熟 (Barry & Giovannoni, 2006)。研究显示 *Gr/Nr2* 突变体植株对于乙烯反应具有组织特异性。花的衰老脱落与根的伸长等乙烯反应受到抑制, 而在胚轴伸长以及叶柄偏上性等乙烯反应方面则表现正常 (Barry & Giovannoni, 2006)。进一步研究显示, *Gr/Nr2* 定位在番茄一号染色体, 同时发现一个未知基因 (*GR*) 存在于 *Gr/Nr2* 位点。在 *Gr* 突变体中过量表

达 *GR* 可以逆转突变体的表现型, 说明了 *GR* 基因在番茄果实成熟进程中的重要作用。然而关于 *GR* 是否类似 *RTE1* 通过乙烯受体参与调控乙烯信号转导有待于进一步研究。

7 总结与展望

越来越多的研究显示, 乙烯信号转导途径不同级别元件的基因家族成员在果实成熟进程中具有表达与功能差异。然而, 相关报道主要集中在番茄、苹果和猕猴桃等果实乙烯信号转导上游元件编码基因的表达与调控 (如乙烯受体和 *CTR1*)。以不同种类果实为研究对象, 从基因家族角度对直接影响成熟、衰老相关基因表达的 *EN3/ELs* 和 *ERFs* 等乙烯信号转导下游元件的研究将是果实成熟衰老机理与调控研究的重点, 可进一步丰富与完善乙烯信号转导的作用机制。

近年来持续增长的果实 EST 信息 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, 包括苹果、桃、葡萄和柑橘等), 以及正在进行和已经完成的基因组测序计划 (如番茄和葡萄), 为开展不同果实乙烯信号转导不同级别元件的基因家族研究提供了条件。利用转录本和蛋白质水平的表达调控以及转基因等研究手段可进一步阐明乙烯调控果实成熟、衰老的内在作用机制。

References

- Adams-Phillips L, Barry C, Kannan P, Leclercq J, Latch \acute{e} A, Bouzayen M, Giovannoni J J. 2004. Evidence that *CTR1* mediated ethylene signal transduction in tomato is encoded by a multigene family whose members display distinct regulatory features. *Plant Molecular Biology*, 54: 387 - 404.
- Alexander L, Grierson D. 2002. Ethylene biosynthesis and action in tomato: A model for climacteric fruit ripening. *Journal of Experimental Botany*, 53: 2039 - 2055.
- An Feng-ying, Guo Hong-wei. 2006. Molecular mechanism of ethylene signal transduction. *Chinese Bulletin of Botany*, 23 (5): 531 - 542. (in Chinese)
- 安丰英, 郭红卫. 2006. 乙烯信号转导的分子机制. *植物学通报*, 23 (5): 531 - 542.
- Barry C S, Giovannoni J J. 2006. Ripening in the tomato green-ripe mutant is inhibited by ectopic expression of a protein that disrupts ethylene signaling. *Proceedings National Academy Sciences USA*, 103: 7923 - 7928.
- Begheldo M, Manganaris G A, Bonghi C, Tonutti P. 2007. Different postharvest conditions modulate ripening and ethylene biosynthetic and signal transduction pathways in Stony Hard peaches. *Postharvest Biology and Technology*, 48: 84 - 91.
- Bennett A B, Labavitch J M. 2008. Ethylene and ripening-regulated expression and function of fruit cell wall modifying proteins. *Plant Science*, 175: 130 - 136.
- Blume B, Barry C S, Hamilton A J, Bouzayen M, Grierson D. 1997. Identification of transposon-like elements in non-coding regions of tomato ACC oxidase genes. *Molecular and General Genetics*, 254: 297 - 303.
- Brown R L, Kazan K, McGrath K C, Maclean D J, Manners J M. 2003. A role for the GCC-box in jasmonate-mediated activation of the *PDF1*. 2 gene of *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 132: 1020 - 1032.
- B \ddot{u} tner M, Singh K B. 1997. *Arabidopsis thaliana* ethylene-responsive element binding protein (AtEBP), an ethylene-inducible GCC box DNA-binding protein interacts with an ocs element binding protein. *Proceedings National Academy Sciences USA*, 94: 5961 - 5966.
- Cara B, Giovannoni J J. 2008. Molecular biology of ethylene during tomato fruit development and maturation. *Plant Science*, 175: 106 - 113.
- Chang C, Meyerowitz E M. 1995. The ethylene hormone response in *Arabidopsis*: A eukaryotic two-component signaling system. *Proceedings National Academy Sciences USA*, 92: 4129 - 4133.
- Chen Tao, Zhang Jin-song. 2006. Ethylene biosynthesis and signal pathway model. *Chinese Bulletin of Botany*, 23 (5): 519 - 530. (in Chinese)
- 陈 涛, 张劲松. 2006. 乙烯的生物合成与信号转导. *植物学通报*, 23 (5): 519 - 530.
- Chen Y F, Etheridge N, Schaller G E. 2005. Ethylene signal transduction. *Annals of Botany*, 95: 901 - 915.
- Dal Cin V, Rizzini F M, Botton A, Tonutti P. 2006. The ethylene biosynthetic and signal transduction pathways are differently affected by 1-MCP in apple and peach fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 42: 125 - 133.
- El-Sharkawy I, Jones B, Li Z G, Lelièvre J M, Pech J C, Latch A. 2003. Isolation and characterization of four ethylene perception elements and their expression during ripening in pears (*Pyrus communis* L.) with/without cold requirement. *Journal of Experimental Botany*, 54: 1615 -

1625.

- El-Sharkawy I, Kim W S, El-Kereamy A, Jayasankar S, Svircev A M, Brown D C W. 2007. Isolation and characterization of four ethylene signal transduction elements in plums (*Prunus salicina* L.). *Journal of Experimental Botany*, 58: 3631 - 3643.
- Hua J, Meyerowitz E M. 1998. Ethylene responses are negatively regulated by a receptor gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Cell*, 94: 261 - 271.
- Katz E, Lagunes P M, Rios J, Weiss D, Goldschmidt E E. 2004. Molecular and physiological evidence suggests the existence of a system II-like pathway of ethylene production in non-climacteric *Citrus* fruit. *Planta*, 219: 243 - 252.
- Kevany B M, Taylor M G, Klee H J. 2008. Fruit-specific suppression of the ethylene receptor *LeETR4* results in early-ripening tomato fruit. *Plant Biotechnology Journal*, 6: 295 - 300.
- Kevany B M, Tieman D M, Taylor M G, Dal Cin V, Klee H J. 2007. Ethylene receptor degradation controls the timing of ripening in tomato fruit. *The Plant Journal*, 51: 458 - 467.
- Lashbrook C C, Tieman D M, Klee H J. 1999. Differential regulation of the tomato ETR gene family throughout plant development. *The Plant Journal*, 15: 243 - 252.
- Lasserre E, Godard F, Bouquin T, Hernandez J A, Pech J C, Roby D, Balague C. 1997. Differential activation of two ACC oxidase gene promoters from melon during plant development and in response to pathogen attack. *Molecular and General Genetics*, 254: 211 - 222.
- Li Y C, Zhu B Z, Xu W T, Zhu H L, Chen A J, Xie Y H, Shao Y, Luo Y B. 2007. LeERF1 positively modulated ethylene triple response on etiolated seedling, plant development and fruit ripening and softening in tomato. *Plant Cell Report*, 26: 1999 - 2008.
- Magome H, Yamaguchi S, Hanada A, Kamiya Y, Oda K. 2004. Dwarf and delayed-flowering 1, a novel *Arabidopsis* mutant deficient in gibberellin biosynthesis because of overexpression of a putative AP2 transcription factor. *The Plant Journal*, 37: 720 - 729.
- Mbémé A M, Hubert O, Fils-lycaon B, Chillet M, Baurens F C. 2008. EN3-like gene expression during fruit ripening of Cavendish banana (*Musa acuminata* cv. Grande naine). *Physiologia Plantarum* 133: 435 - 448.
- Nag A, Yang Y Z, Jack T. 2007. DORN SCHENCK LIKE, an AP2 gene, is necessary for stamen emergence in *Arabidopsis*. *Plant Molecular Biology*, 65: 219 - 232.
- Nakano T, Suzuki K, Fujimura T, Shinshi H. 2006. Genome-wide analysis of the *ERF* gene family in *Arabidopsis* and rice. *Plant Physiology*, 140: 411 - 432.
- Novillo F, Medina J, Salinas J. 2007. *Arabidopsis* *CBF1* and *CBF3* have a different function than *CBF2* in cold acclimation and define different gene classes in the CBF regulon. *Proceedings National Academy Sciences USA*, 104: 21002 - 21007.
- Olate-Sánchez L, Anderson J P, Young J, Singh K B. 2007. AtERF14, a member of the ERF family of transcription factors, plays a nonredundant role in plant defense. *Plant Physiology*, 143: 400 - 409.
- O'Malley R C, Rodriguez F I, Esch J J, Binder B M, O'Donnell P, Klee H J, Bleeker A B. 2005. Ethylene-binding activity, gene expression levels, and receptor system output for ethylene receptor family members from *Arabidopsis* and tomato. *The Plant Journal*, 41: 651 - 659.
- Pang J H, Ma B, Sun H J, Ortiz G I, Imanishi S, Sugaya S, Gemma H, Ezura H. 2007. Identification and characterization of ethylene receptor homologs expressed during fruit development and ripening in persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.). *Postharvest Biology and Technology*, 44: 195 - 203.
- Pech J C, Bouzayen M, Latch A. 2008. Climacteric fruit ripening: Ethylene-dependent and independent regulation of ripening pathways in melon fruit. *Plant Science*, 175: 114 - 120.
- Qu X, Hall B P, Gao Z Y, Schaller G E. 2007. A strong constitutive ethylene-response phenotype conferred on *Arabidopsis* plants containing null mutation in the ethylene receptor *ETR1* and *ERS1*. *BMC Plant Biology*, 7: 3.
- Rasori A, Ruperti B, Bonghi C, Tonutti P, Ramina A. 2002. Characterization of two putative ethylene receptor genes expressed during peach fruit development and abscission. *Journal of Experimental Botany*, 53: 2333 - 2339.
- Resnick J S, Wen C K, Shockey J A, Chang C. 2006. *REVERSION-TO-ETHYLENE SENSITIVITY1*, a conserved gene that regulates ethylene receptor function in *Arabidopsis*. *Proceedings National Academy Sciences USA*, 103: 7917 - 7922.
- Sakuma Y, Maruyama K, Qin F, Osakabe Y, Shinozaki K, Yamaguchi-shinozaki K. 2006a. Dual function of an *Arabidopsis* transcription factor DREB2A in water-stress-responsive and heat-stress-responsive gene expression. *Proceedings National Academy Sciences USA*, 103: 18822 - 18827.
- Sakuma Y, Maruyama K, Osakabe Y, Qin F, Seki M, Shinozaki K, Yamaguchi-shinozaki K. 2006b. Functional analysis of an *Arabidopsis* transcription factor DREB2A, involved in drought-response gene expression. *The Plant Cell*, 18: 1292 - 1309.
- Sato-Nara K, Yuhashi K I, Higashi K, Hosoya K, Kubota M, Ezura H. 1999. Stage- and tissue-specific expression of ethylene receptor homolog genes during fruit development in muskmelon. *Plant Physiology*, 119: 321 - 329.

- Takahashi H, Kobayashi T, Sato-Nara K, Tomita KO, Ezura H. 2002. Detection of ethylene receptor protein Cm-ERS1 during fruit development in melon (*Cucumis melo* L.). *Journal of Experimental Botany*, 53: 415 - 422.
- Tatsuki M, Endo A, Ohkawa H. 2007. Influence of time from harvest to 1-MCP treatment of apple fruit quality and expression of genes for ethylene biosynthesis enzymes and ethylene receptors. *Postharvest Biology and Technology*, 43: 28 - 35.
- Tiemann D M, Ciardi J A, Taylor M G, Klee H J. 2001. Members of the tomato *LeEL* (*EN3-like*) gene family are functionally redundant and regulate ethylene responses throughout plant development. *The Plant Journal*, 26: 47 - 58.
- Tiemann D M, Klee H J. 1999. Differential expression of two novel members of the tomato ethylene-receptor family. *Plant Physiology*, 120: 165 - 172.
- Tiemann 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: 5663 - 5668.
- Toumier B, Sanchez-Ballesta M, Jones B, Pesquet E, Regad F, Latch É A, Pech J, Bouzayen M. 2003. New members of the tomato ERF family show specific expression pattern and diverse DNA-binding capacity to the GCC box element. *FEBS letters*, 550: 149 - 154.
- Trainotti L, Bonghi C, Ziliotto F, Zanin D, Rasori A, Casadoro G, Ramina A, Tonutti P. 2006. The use of microarray μ PEACH1.0 to investigate transcriptome changes during transition from pre-climacteric to climacteric phase in peach fruit. *Plant Science*, 170: 606 - 613.
- Trainotti L, Pavanello A, Casadoro G. 2005. Different ethylene receptors show an increased expression during the ripening of strawberries: Does such an increment imply a role for ethylene in the ripening of these non-climacteric fruits? *Journal of Experimental Botany*, 56: 2037 - 2046.
- Wang A, Tan D M, Takahashi A, Li T Z, Harada T. 2007a. MdERFs, two ethylene-response factors involved in apple fruit ripening. *Journal of Experimental Botany*, 58: 3743 - 3748.
- Wang J, Chen G P, Hu Z L, Chen X Q. 2007b. Cloning and characterization of the EN2-homology gene *LeEN2* from tomato. *DNA Sequence*, 18: 33 - 38.
- Wang K L C, Li H, Ecker J R. 2002. Ethylene biosynthesis and signaling networks. *The Plant Cell*, (Supplement): S131 - S151.
- Wang Zhong-feng, Ying Tie-jin. 2004. Research progress of ethylene signal transduction in plants. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 30 (6): 601 - 608. (in Chinese)
- 王中凤, 应铁进. 2004. 植物乙烯信号转导研究进展. *植物生理与分子生物学报*, 30 (6): 601 - 608.
- Ward J M, Smith A M, Shah P K, Galanti S E, Yi H, Demianski A J, Graaff E V D, Keller B, Neff M M. 2006. A new role for the *Arabidopsis* AP2 transcription factor, LEAPY PETDLE, in gibberellin-induced germination is revealed by misexpression of a homologous gene, SOB2/DRNLIKE. *The Plant Cell*, 18: 29 - 39.
- Wei Shao-chong, Chen Kun-song, Luo Yun-ba. 2004. Ethylene receptor and its regulation in ripening fruits. *Acta Horticulturae Sinica*, 31 (4): 543 - 548. (in Chinese)
- 魏绍冲, 陈昆松, 罗云波. 2004. 乙烯受体与果实成熟调控. *园艺学报*, 31 (4): 543 - 548.
- Wiersma P A, Zhang H, Lu C, Quail A, Toivonen P M A. 2007. Survey of the expression of genes for ethylene synthesis and perception during maturation and ripening of 'Sunrise' and 'Golden Delicious' apple fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 44: 204 - 211.
- Wilkinson J Q, Lanahan M B, Yen H C, Giovannoni J J, Klee H J. 1995. An ethylene-inducible component of signal transduction encoded by never-ripe. *Science*, 270: 1807 - 1809.
- Xu Chang-jie, Chen Kun-song, Zhang Shang-long. 1998. Advances in ethylene biosynthesis and its control. *Chinese Bulletin of Botany*, 15 (Supplement): 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 (增刊): 54 - 61.
- Yang S F, Hoffman N E. 1984. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annu Rev Plant Physiol*, 35: 155 - 189.
- Yin X R, Chen K S, Allan A C, Wu R M, Zhang B, Lallu N, Ferguson I B. 2008. Ethylene-induced modulation of genes associated with the ethylene signaling pathway in ripening kiwifruit. *Journal of Experimental Botany*, 59: 2097 - 2108.
- Yokotani N, Tamura S, Nakano R, Inaba A, Kubo Y. 2003. Characterization of a novel tomato EN3-like gene (*LeEL4*). *Journal of Experimental Botany*, 54: 2775 - 2776.
- Yoo S D, Cho Y H, Tena G, Xiong Y, Sheen J. 2008. Dual control of nuclear EN3 by bifurcate MAPK cascades in C_2H_4 signalling. *Nature*, 451: 789 - 796.
- Zhou J, Tang X, Martin G B. 1997. The Pto kinase conferring resistance to tomato bacterial speck disease interacts with proteins that bind a cis element of pathogenesis-related genes. *EMBO Journal*, 16: 3207 - 3218.
- Zhou X, Liu Q, Xie F, Wen C K. 2007. RTE1 is a Golgi-associated and ETR1-dependent negative regulator of ethylene responses. *Plant Physiology*, 145: 75 - 86.