

エチレンによる果実の成熟・老化制御機構

立木美保

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構

果樹研究所果実鮮度保持研究チーム

305-8605 茨城県つくば市

Ethylene Regulation of Fruit Ripening and Senescence

Miho TATSUKI

Research Team for High Quality Fruit Production, National Institute of Fruit Tree Science
National Agriculture and Food Research Organization
Tsukuba, Ibaraki 305-8605, Japan

Summary

Fruit ripening is either 'climacteric' or 'non-climacteric'. Respiration of climacteric fruit rises at the onset of ripening as production of ethylene increases. Ethylene promotes components of fruit ripening including changes in skin color, flesh texture, and flavor. The normal ripening of all climacteric fruit requires ethylene, but characteristics of its production vary considerably among cultivars. In contrast, ethylene is not a necessary requirement for complete maturation of non-climacteric fruit. A recent report describes a functional role for ethylene in non-climacteric fruit maturation. In this review, the regulatory mechanism of ethylene biosynthesis and the effects of ethylene in fruit ripening are presented.

Key words : ethylene, ACC synthase, ACC oxidase, ethylene receptor, climacteric fruit, non-climacteric fruit, 1-methylcyclopropene

1. はじめに

果実では、一般的に成熟に伴い、果皮におけるクロロフィルの分解とアントシアニン、カロテノイドなどの色素の生成、果肉硬度の低下、芳香の生成、デンプンの分解と糖含量の増加、糖組成の変化、酸含量の低下などの様々な生化学的、生理学的な変化が起こる (Seymour et al., 1993)。果実は、成熟に伴う呼吸量の変化を指標として、成熟に伴い呼吸量が増加するクライマクテリック型と増加しないノンクライマクテリック型に大別され、リンゴ、モモ、セイヨウナシ等は前者に、カンキツ、ブドウ、オウトウ、イチゴ等は後者に分類される。クライマ

クテリック型果実の多くは、呼吸量の増加に伴いエチレン生成量も増大し、このエチレンによって成熟が加速される (Lelièvre et al., 1997a)。しかし、クライマクテリック型果実の中でも成熟時のエチレン生成量は樹種や品種によって大きく異なる。また近年、ノンクライマクテリック型果実の成熟にもエチレンが関与する可能性が報告されている (Chervin et al., 2004, El-Kereamy et al., 2003a, Pietro et al., 2006, Tesniere et al., 2004, Trainotti et al., 2005)。そこで、本総説においては、クライマクテリック型、ノンクライマクテリック型果実におけるエチレン生成制御機構と果実成熟・老化に及ぼす

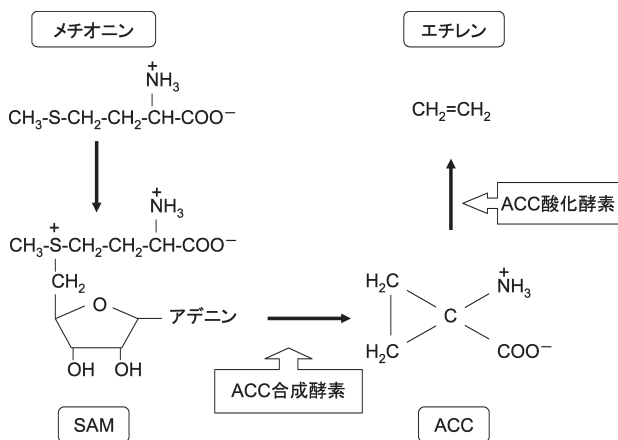
エチレンの影響について分子レベルで詳細に解説する。

2. エチレン生合成機構

エチレンは、炭素2つと水素4つから成る単純な構造をした常温常圧では気体状の植物ホルモンである。植物に対するエチレンの作用としては、果実等における成熟・老化の促進が良く知られているが、それ以外に発芽の促進、上偏成長の促進、茎の伸長成長阻害、茎の横方向への肥大促進、フック形成促進、キュウリ等の雌花形成促進、葉や花の老化促進および器官脱離促進等極めて広範囲にわたっており、植物の一生における様々な過程に影響を及ぼしている (Abeles et al., 1992)。

エチレンは高等植物のあらゆる組織・器官で生成されているが、その生成速度は組織・器官の成長段階によって異なる (Abeles et al., 1992)。例えば、植物体全体のエチレン生成量は、発芽から芽生えの初期に比較的多いが、栄養成長後期になると次第に減少する。一方、葉や花弁におけるエチレン生成量は老化時期に増大し、特に離層では一過的に多量のエチレンが生成され、落葉・落弁が起こる。また、果実におけるエチレン生成量は、未熟な段階では少ないが、成熟に伴って増大する。このように、植物体のエチレン生成は遺伝的にプログラムされた正常な生育過程で発生する内在的刺激によって制御されている。また、外的な刺激によっても、その生成量は変化する。例えば、組織が物理的な傷害等のストレスを受けた場合、病原体に感染した場合などは、傷害等を受けた周りの組織におけるエチレン生成量が増大する。このように、植物は、生育過程で発生する内在的刺激や、外部からの刺激によってエチレンの生成量を増減させることで、多種多様な生理現象を制御している。

高等植物における主要なエチレン生合成経路を第1図



第1図 エチレン生合成経路

に示した (Adams・Yang 1979)。このうちメチオニンから S-アデノシルメチオニン (SAM) を合成する経路は全ての生物に共通する反応である。一方、SAM から 1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸 (ACC) を経て、エチレンに至る経路は ACC 経路と呼ばれ、SAM を ACC に変換する ACC 合成酵素 (ACC synthase, ACS) と ACC を酸化してエチレンを合成する ACC 酸化酵素 (ACC oxidase, ACO) は高等植物に固有の酵素である。通常、植物の組織内には SAM が大量に存在しているため、ACC 合成酵素の遺伝子発現量が増加し、本酵素が合成されると、速やかに SAM から ACC が合成され、ACC 酸化酵素によりエチレンが作られる。ACC 合成酵素タンパク質は代謝回転が速いため、本酵素の活性は mRNA 発現およびタンパク質合成速度に依存している。また、ACC 酸化酵素 mRNA はエチレン生成量の少ない組織においても発現が認められることから、エチレン生成速度は主に組織内の ACC 含量に依存しており、SAM から ACC への変換がエチレン生成の律速段階となる。

これら二つの酵素には複数のアイソザイムが存在しており、種々の植物からこれらをコードする複数の遺伝子が単離されている。これらの遺伝子については、発現部位、発現時期、刺激に対する発現様式が詳細に解析されており、エチレンを生成する組織や生成を引き起こす刺激が異なると、働くアイソザイムも異なることが明らかにされている (Kende, 1993; 森・立木, 1998; 佐藤・水野, 2003; Zarembinski・Theologis, 1994)。これらのことから、植物が多様なエチレン生成パターンを示すのは、エチレン生成に関わる酵素に複数のアイソザイムが存在し、各々が別々の役割を担っているためと考えられる。

エチレン生成は様々な要因によって制御されており、その仕組みは非常に複雑であるが、エチレン自身がエチレン生成を制御するという特徴がある。成熟果実等におけるエチレン生成はエチレンによって促進され、エチレン生成量が幾何級数的に増加することから「自己触媒的なエチレン生成」と呼ばれる。一方、栄養成長期などにおけるエチレン生成の多くは反対にエチレンによって抑制されるため「自己抑制的なエチレン生成」と呼ばれる。

3. エチレンシグナル伝達系

シロイヌナズナのエチレン非感受性変異体の解析により、エチレンシグナル伝達系に関わる様々なタンパク質が同定されている (Chang・Shockey, 1999; Bleecker・Kende, 2000; Wang et al., 2002)。その中でもエチレンと直接結合することによりエチレンシグナル伝達の出発点となるエチレン受容体については、シロイヌナズナ

やトマトを中心に分子遺伝学的、分子生物学的、生化学的解析手法によって研究が進められている。エチレン受容体は分子量65,000~85,000のタンパク質で、ジスルフィド結合を持つホモ二量体で、ER膜に存在すると考えられている (Chen et al., 2002, Ma et al., 2006)。エチレンは受容体タンパク質のN末端側に3つまたは4つ存在する膜貫通ドメインに結合すると考えられている。シロイヌナズナではエチレン受容体は5種類存在することが明らかになっている。このうち一つの受容体にエチレン結合能が低下する変異が生じた場合、植物体はエチレンに対して非感受性になる。また、エチレン受容体の単独破壊株では表現型に顕著な変化は見られないが、二重、三重、四重の多重破壊株は恒常的なエチレン応答性を示した (Hua・Meyerowitz, 1998)。以上のことから、エチレン受容体の機能は重複しており、さらに、エチレン受容体はエチレンシグナル伝達系を負に制御していると推測されている (Ciardi et al., 2000; Tieman et al., 2000)。すなわち、エチレン受容体はエチレン非存在下では活性型として、シグナルの下流因子を積極的に抑制するが、エチレンと結合することで不活性化される。その結果シグナルの下流因子が活性化され、エチレンシグナルが伝わるというものである。これまでにシロイヌナズナ、トマト以外の植物からもエチレン受容体遺伝子が単離され、それらの発現は、様々な外的刺激や果実成熟等の内在的的刺激、エチレン等により制御されていることが報告されている (Bassett et al., 2002; Cin et al., 2005, El-Sharkawy et al., 2003; Katz et al., 2005; Lashbrook et al., 1998; Mita et al., 1998, 2002; Rasori et al., 2002; Sato-Nara et al., 1999; Tatsuki・Endo 2006; Trainotti et al., 2005; Yamasaki et al., 2000; Yau et al., 2004)。

4. 果実の成熟期におけるエチレン生成とエチレンが成熟に及ぼす影響

果実のエチレン生成量は、未熟な段階では極微量であるが、成熟が進むのに伴い急増する。このような果実の成熟過程におけるエチレン生成の変化は、二段階に制御されていると考えられている (McMurchie et al., 1972)。最初の段階はシステム1と呼ばれ、栄養成長期の各種器官や未熟果実で認められるような生成量が増大しない段階のエチレン生成を指す。これに対し、成熟果実で見られるようなエチレン生成は、システム2と呼ばれ、システム1によって生成される微量のエチレンによって誘導されると考えられている (McMurchie et al., 1972, Lelièvre et al., 1997)。

果実成熟期におけるエチレン生成制御機構についてはトマトで最も良く研究されている。トマト果実のエチレン生成には *LeACS1A*, *LeACS2*, *LeACS4*, *LeACS6* という4種類のACC合成酵素アイソザイムが関与しており、未熟果実、緑熟果実では *LeACS1A*, *LeACS6* が機能しており、これらがシステム1のエチレン生成を担うと考えられている (Nakatsuka, et al., 1998, Barry et al., 2000)。一方、システム1から2への移行期には *LeACS4*, 果実成熟後期のシステム2のエチレン生成には *LeACS2* が機能しているというモデルが提唱されている (Barry et al., 2000)。一般的にシステム1のエチレン生成は「自己抑制的なエチレン生成」でありトマトの *LeACS1A*, *LeACS6* の発現はエチレンにより抑制されることが明らかになっている。これに対し、システム2は「自己触媒的なエチレン生成」であることが多い。トマトでは、*LeACS2* の発現がエチレンにより促進されるため成熟に伴いエチレン生成が急増するものと考えられる。

成熟に伴い生成されるエチレンは、クロロフィル分解酵素、カロテノイド合成酵素等の色素合成に関わる酵素、果肉軟化を引き起こす細胞壁修飾酵素の遺伝子発現を誘導し活性化させる (Hayama et al., 2006a, b; Hisawa et al., 2003; Trebitsh et al., 1993; Marty et al., 2005)。その結果、クロロフィルの分解やカロテノイドなど色素の合成、果肉硬度の低下、香气成分の増加等が起り、果実の成熟が促進される (Alexander・Grierson 2002)。果実成熟におけるこのようなエチレンの役割は、アミノエトキシビニルグリシン (AVG)、アミノオキシ酢酸 (AOA) などのエチレン生成阻害剤を処理することによって成熟が遅れることでも確認されている。またエチレン受容体と結合してエチレン作用を阻害するノルボルナジエン (NDB) や1-メチルシクロプロペン (1-methylcyclopropene; 1-MCP) を処理をすることによっても同様な効果が確認されている (Abeles et al., 1992; Blankenship・Dole, 2003)。更に、トマトでは、遺伝子組換え技術によりACC合成酵素やACC酸化酵素の発現を抑制することによってエチレン生成量が低下した形質転換体 (Hamilton et al., 1990; Oeller et al., 1991; Picton et al., 1993) や、エチレン結合能が欠損したエチレン受容体遺伝子を大量発現させることによりエチレン感受性を低下させた形質転換体 (Wilkinson et al., 1997) が作出されており、これらの形質転換体では果実の成熟が非形質転換体に比べて大幅に遅延することが報告されている。果樹においてもACC合成酵素またはACC酸化酵素を抑制させた形質転換リングが作出され、エチレン生成

が抑制された果実では果肉硬度が高く保たれ、貯蔵性が向上したことが報告されている (Dandekar et al., 2004).

5. クライマクテリック型果実におけるエチレン生成と作用

エチレンにより成熟が促進されるクライマクテリック型果実の中でも、エチレンの生成量や作用は樹種や品種により大きく異なる。以下、主な樹種について紹介する。

リンゴ：貯蔵性は一般的に高いとされているが、その程度は品種により大きく異なる。リンゴは、成熟時のエチレン生成量も品種間差が大きいことから、貯蔵性とエチレン生成量の関連性について議論されてきた (Gussmana et al., 1993; 吉岡ら, 1989)。Sunako ら (1999) はリンゴ成熟期に誘導される2種類の ACC 合成酵素アイソジーン (*MdACSI*) を単離し、一方のゲノム配列上の転写開始点の上流にレトロトランスポゾン的一种である SINE (short interspersed DNA elements) の特徴を有している162bpの塩基挿入があることを確認した (*MdACSI-2*)。更に、リンゴ品種間で比較を行い *MdACSI* の遺伝子型は、塩基挿入のない *MdACSI-1* をホモに持つ *MdACSI-1/1-1* と、*MdACSI-1/1-2* ヘテロタイプ、*MdACSI-2/1-2* ホモタイプの3群に分けられることを明らかにした。また、*MdACSI-2* は転写活性が低下していることが明らかにされ、このことが *MdACSI-2/1-2* ホモタイプにおけるエチレン生成量が少ない原因と考えられている。*MdACSI-2/1-2* ホモタイプである「ふじ」「さんさ」等の品種はエチレン生成量が少ないだけでなく、貯蔵性も比較的高いことから、*MdACSI* の遺伝子型が貯蔵性に大きく関与している可能性が示された (Harada et al., 2000)。しかし、Oraguzie ら (2004) は *MdACSI-2/1-2* ホモタイプであっても貯蔵中における果肉硬度の低下が著しい品種もあることから、エチレン生成量の遺伝子型と貯蔵性の間に強い相関はないと結論づけている。一方、エチレン生成量を決める遺伝子型は、収穫前落果の多寡と関連している可能性も示唆されている (Sato et al., 2004)。

果肉の軟化速度はリンゴの貯蔵性を決める要因の一つであるが、Wakasa ら (2006) は果肉硬度の低下は細胞壁分解酵素の一つであるポリガラクトクチュロナーゼ (PG) 遺伝子の mRNA 発現量と相関関係にあり、ACC 酸化酵素遺伝子の発現量、エチレン生成量との強い相関は見られないと報告している。しかし、著者らは果肉硬度の低下していない組織においても PG の発現量が高いことを

確認しており (Tatsuki et al., 2006a)、エチレン生成量と PG 発現量が果肉硬度の低下に及ぼす影響については更なる研究が必要である。エチレンは有機酸代謝においても主要な役割を担っていると考えられ、1-MCP 処理をした果実や、エチレン生成を抑制した形質転換リンゴ果実では、有機酸含量の低下が抑制されることが確認されている (Defilippi et al., 2004)。

リンゴでは1-MCP 処理による果実の鮮度保持効果が高い (Fan et al., 1999a, b; Rupasinghe, 2000; Watkins et al., 2000; DeEll et al., 2002)。著者らはリンゴ果実より3種類のエチレン受容体遺伝子 (*MdETR1*, *MdERS1*, *MdERS2*) を単離し、その発現解析を行っている (Tatsuki・Endo, 2006; Tatsuki et al., 2006a)。*MdETR1* mRNA の発現量は果実成熟過程において常に一定レベルを保っていたが、*MdERS1*, *MdERS2* の発現量は成熟が進むのに伴い増加していた。成熟果実に1-MCP を処理するとエチレン生成が抑制された。これは成熟期に働く *MdACSI* の発現がエチレンにより自己触媒的な制御を受けていることが原因と考えられる。また、1-MCP を処理した果実では *MdERS1*, *MdERS2* の発現量は減少するが、*MdETR1* の発現量は一定レベルを保っていた。これらの結果から、1-MCP を処理した果実では1-MCP によってブロックされたエチレン受容体と、新たに合成されエチレンが結合していない *MdETR1* によって、エチレンシグナル伝達系が長期間にわたり抑制されると考えられた。その結果としてリンゴでは1-MCP による鮮度保持効果が長期間持続するものと推測された (Tatsuki・Endo, 2006)。更に著者らは1-MCP 処理時の果実におけるエチレン生成量とエチレン受容体の発現量が、1-MCP の鮮度保持効果に影響を及ぼす可能性があるかと推測している (Tatsuki et al., 2006a)。

モモ：我が国で一般に栽培されているモモは「溶質」と呼ばれるタイプに属している。「溶質」のモモは収穫後にエチレン生成量が増大し、果肉硬度が急速に低下する。この結果、モモ特有のとろりとした柔らかな肉質となるが貯蔵性が極めて低い。一方、缶詰等の加工用に使用されるモモは「不溶質」と呼ばれ、成熟に伴いエチレン生成量は増大するが果肉硬度の低下は緩やかで、溶質のモモに比べて貯蔵性が高い。溶質と不溶質のモモの軟化速度の違いはエチレンによるものではなく PG 活性に依存することが明らかにされている (Pressey・Avants, 1973, 1978)。PG にはエンド型とエキソ型の2種類が存在し、溶質のモモは両タイプの PG 活性を持っているが、不溶質はエキソ型の PG 活性しか持っていないため軟化

が緩やかと考えられている。

モモには「溶質」、「不溶質」という区分以外に「硬肉」と呼ばれるタイプが存在する。硬肉のモモは、成熟に伴い溶質のモモと同様な果皮色の変化や糖度の上昇等が認められるが、エチレン生成の上昇や果肉硬度の急激な低下は見られない (Haji et al., 2001, 2004)。硬肉を決める *hd* 遺伝子座は劣性で (Yoshida, 1976)、溶質、不溶質を決める *melting (M)/non-melting (m)* 遺伝子座とは異なることが遺伝学的な解析により明らかにされている (Haji et al., 2005)。また、硬肉の果実は外的にエチレン処理をすると細胞壁分解酵素活性が上昇し (Hayama et al., 2006b) 果肉が溶質のモモと同様に急激に軟化することから (Haji et al., 2003; Hayama et al., 2003)、細胞壁分解・修飾酵素やエチレンシグナル伝達系に関しては溶質と同様と考えられる。著者らは硬肉のモモにおける ACC 合成酵素アイソジーンの発現様式を解析し、果実成熟期に機能する ACC 合成酵素 (*PpACSI*) の発現が抑制されていることを明らかにした。また、硬肉のモモであっても、傷害等により誘導されるエチレン等果実成熟期以外のエチレン生成は正常に起こる。以上の結果より硬肉のモモでは *PpACSI* の発現が果実成熟期特異的に抑制されているため、成熟に達してもエチレン生成が起こらず軟化しないことが明らかとなった (Tatsuki et al., 2006)。

果実の軟化には多くの細胞壁分解・修飾酵素が複雑に関与している (Brummel・Harpster, 2001) が、モモ果実の成熟期におけるこれらの酵素遺伝子の網羅的発現解析を行ったところ、軟化はエチレン生成量が増加する前から始まっており、この時期に発現する細胞壁分解・修飾酵素遺伝子の多くは、その転写がエチレンによって抑制されていることが明らかにされた (Trainotti et al., 2003)。硬肉のモモの研究からモモの軟化にエチレンが必要であることが証明された。しかしながら、硬肉のモモも全く軟化しないわけではなく果肉硬度が 3~4 kg までは低下することから、初期の軟化過程においてはエチレン濃度は重要ではないと思われる。一方、エチレン処理による硬肉のモモの軟化は処理濃度が高いほど著しく、濃度依存的に細胞壁修飾酵素遺伝子の発現も制御されていることが明らかにされている (Hayama et al., 2006a)。以上のことから、モモの軟化は 2 段階に制御されており、初期の軟化はエチレン非依存的に起こるが、モモ特有のとりとした肉質となる後期の軟化にはエチレン濃度が重要であると推測される。硬肉のモモ果実では微量のエチレンは生成されているため、システム 1 のエチレン生成は起こるが、果実成熟におけるシステム 2

のエチレン生成機能が欠損しているため、高濃度のエチレンを必要とする後期の軟化が起こらないと言える。

一般に、モモ果実における 1-MCP 処理の効果は他のクライマクテリック型果実と比べて小さい。そこで Hayama ら (2005) は 1-MCP の果実への吸収効率を上げるため、減圧条件下で 1-MCP 処理を行った。減圧条件下で処理することにより 1-MCP の処理効果は若干高まったが、リンゴ等に比べるとまだ不十分であり、モモ果実において 1-MCP の処理効果が低い原因は、果実内部への 1-MCP 拡散量の差ではないと推測されている (Hayama et al., 2005)。一方、収穫 10 日前にエチレン生成阻害剤である AVG を樹上散布すると、樹上での成熟が 3~4 日遅れ、収穫直後および 2°C にて 2 週間貯蔵した後の果肉硬度が高く維持される (Cline, 2006)。また、収穫後果実に AVG 処理を行うと、エチレン生成量は抑制され、果肉の軟化もわずかに抑制された (Bregoli et al., 2006)。

このようにモモの軟化にエチレンが必要であることは明らかになったが、軟化抑制に関しては、効果的な 1-MCP 処理技術の開発もしくはエチレン生成制御法などの新たな鮮度保持技術の開発が期待される。

ニホンナシ：品種によるエチレン生成量の違いは著しい (Itai et al., 1999, Kitamura et al., 1981)。「幸水」、「新水」、「長十郎」等の品種は急激なエチレン生成が起こり貯蔵性も低い、「二十世紀」、「晩三吉」等の品種はエチレン生成量が少なく、一ヶ月以上も鮮度が保持される。ニホンナシからは 3 種類の ACC 合成酵素アイソジーン (*PPACSI*, 2, 3) が単離されており、これらの成熟果実における発現様式が解析されている (Itai, et al., 1999, 2003)。*PPACSI* はエチレン生成量の特に多い ($\geq 10 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$) 「新水」等の品種、*PPACSI2* はそれよりエチレン生成量の少ない ($0.1\text{--}10 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$) 「二十世紀」等の品種で発現している (Itai et al., 1999)。

カキ：カキは他のクライマクテリック型果実とは異なり、果実成熟初期の若いステージに収穫した果実のエチレン生成量が多いことが報告されている (Takata, 1983)。「平核無」の場合、未熟果実を収穫すると、数日以内に $10 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$ 以上のエチレンが生成され、軟化するが、成熟果実の場合は、収穫後直にはエチレンが生成されず、その後も $0.5 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$ 程度のエチレンしか生成されない。

カキからは 3 種類の ACC 合成酵素 (*DK-ACSI*, 2, 3) と 2 種類の ACC 酸化酵素をコードする遺伝子が単離

されており、収穫後果実における発現様式とエチレン生成との関係が解析されている (Nakano et al., 2002, 2003). カキでは収穫後にへたからの蒸散に起因する乾燥ストレスによりへた部位における *DK-ACS2* の発現が増加し、エチレンの生成が誘導されると考えられている。さらに、このエチレンにより果肉部のエチレン生成が自己触媒的に促進され、多量のエチレンが生成されることで、軟化が起こることが明らかにされている (Nakano et al., 2003). そこで、有孔ポリエチレン袋で包装することにより、貯蔵・流通中におけるへたからの水分損失を防ぎ、乾燥ストレスによるエチレン生成を抑制することにより鮮度保持を図る技術が開発されている (中野ら, 2001, 播磨ら, 2002).

セイヨウナシ：セイヨウナシは追熟を必要とする代表的な果実で、収穫直後の果肉は硬いが、その後エチレンを生成し、特有の柔らかな肉質となる。ただし、この際のエチレン生成は、リンゴ、ニホンナシと同様に品種による違いが大きい。‘Passe-Crassane’、‘D’Anjou’などの品種は、収穫後そのまま室温に放置したのではエチレン生成が起こらないため、追熟させるためには収穫後1～2週間低温処理を行った後に室温に戻す必要がある (Gerasopoulos・Richardson, 1997b; Bower et al., 2003). これは、低温処理が刺激となり、自己触媒的なエチレン生成が促進されるためであることが明らかになっている (Knee, 1993; Gerasopoulos・Richardson, 1997b; Lelièvre et al., 1997b). 一方、‘Old Home’等の品種は低温処理をしなくてもエチレンを生成し追熟する。‘Passe-Crassane’と‘Old Home’、およびこれらを交配して得られた後代系統を用いて、ACC合成酵素アイソジーン (*PcACS*) の発現を解析したところ、低温処理を必要とする品種において発現しているアイソジーンは *PcACS1a*, *PcACS2a* であるのに対し、必要としない品種は *PcACS1 (a/b)* と *PcACS2a* であることが明らかとなった (El-Sharkawy et al., 2004).

キウイフルーツ：キウイフルーツもセイヨウナシと同様に追熟により軟化する果実であるが、セイヨウナシとは異なり、多くの品種では樹上の果実も収穫果実も自らはエチレンを生成しない。このため、追熟には人為的なエチレン処理を必要とし (矢野・長谷川, 1993b), 無処理では著しく追熟が遅延する (矢野・長谷川, 1993a). 果実に20時間又は24時間のエチレン処理 ($500\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 又は $1000\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$) を行うと、数日後からACC合成酵素 *AD-ACS1* の発現とエチレン生成が上昇することが報告さ

れている (Whittaker et al., 1997; Xu et al., 1998). このようにキウイフルーツは、外から与えられたエチレンにより自己触媒的なエチレン生成を開始するため、継続的にエチレンを処理する必要はない。キウイフルーツもエチレン生成に低温処理を必要とするセイヨウナシと同様に果実成熟におけるシステム1に相当するエチレン生成が欠損していると思われる。なお、キウイフルーツのエチレン生成特性が解明されるまでは、エチレンを処理することなく出荷していたが、一部の果実では軟化等の追熟現象が認められていた。キウイフルーツは収穫後に軟腐病を発病することがあり、このような果実では発病部位においてエチレンが生成されるため (Hasegawa・Yano, 1990), 出荷箱等に軟腐病罹病果実が混在していると追熟が進行する。また、中国系キウイフルーツのエチレン生成量は品種間で大きく異なり (Xu et al., 1998), このような差異はACC酸化酵素ではなく、ACC合成酵素遺伝子における発現の相違に由来するものとされている (Xu et al., 1998).

6. ノンクライマクテリック型果実におけるエチレンの作用

ノンクライマクテリック型果実は成熟にエチレンを必要としないと考えられてきたが、近年の研究により本タイプの果実でもエチレンが成熟過程で生成され、それにより成熟が促進される可能性が明らかにされている。ここでは、代表的なノンクライマクテリック型果実であるカンキツ、ブドウ、イチゴについて紹介する。

カンキツ：カンキツでは、エチレン処理によって呼吸の上昇やクロロフィルの分解 (Purvis・Barmore 1981; Trebitsh et al., 1993), カロテノイド生成 (Stewart・Wheaton, 1972) による果皮色の変化が促進されることが以前より報告されている。更に、エチレンを処理したパレンシアオレンジ果実から、エチレンにより発現が誘導される12個の遺伝子が単離され、その中の幾つかの遺伝子の発現はフラベドにおいて果実成熟過程やエチレン処理をすることにより誘導されることが明らかにされている (Alonso et al., 1995). 近年、クライマクテリック型果実の成熟過程でみられるようなシステム1, 2のエチレン生成システムがパレンシアオレンジにも存在すると報告されている (Katz et al., 2004). 幼果にエチレン処理をするとシステム2のような自己触媒的なエチレン生成が起こるが、成熟果実にエチレン処理をした場合は果皮の脱緑は促進されるものの、システム2のようなエチレン生成は誘導されないため、システム1, 2のエチ

レン生成は効果に限って起こると考えられている (Katz et al., 2004).

ブドウ：果実におけるエチレン生成量は少ないが、果実の成熟にエチレンが関与している可能性が示唆されている。アルコールデヒドロゲナーゼ (ADH) の遺伝子発現量と酵素活性は果実の成熟に伴い増加するが (Tesniere・Verries, 2000), 1-MCP 処理をすると ADH の遺伝子発現が抑制され、一方、エチレン処理をすると ADH の遺伝子発現と酵素活性が上昇したことから、ADH の遺伝子発現にはエチレンが関与していると報告されている (Tesniere et al., 2004)。また、エチレンを処理すると、アントシアニン合成に関与する遺伝子の発現量が増加することも報告されている (El-Kereamy et al., 2003a)。更に、樹上の果実に1-MCP を処理することによって果実の肥大、酸の減少、アントシアニンの蓄積といった果実成熟が阻害されることが報告されている (Chervin et al., 2004)。

イチゴ：果実のエチレン生成量はリンゴ等のクライマクテリック型果実の1/20から1/2000と少なく、収穫後の成熟果においてエチレン処理は成熟を促進させないと報告されている (Perkins-Veazie et al., 1996)。また、エチレン処理や1-MCP 処理も果実の貯蔵性には影響しないと報告されている (Bower et al., 2003b)。しかし、近年イチゴの成熟にもエチレンが関与しているという研究結果が相次いで報告されている。Trainotti ら (2005) はイチゴから2種類のACC酸化酵素遺伝子 (*FaACOL*, *FaACO2*) と3種類のエチレン受容体遺伝子 (*FaEtr1*, *FaErs1*, *FaEtr2*) を単離し、果実成熟過程とエチレンおよびオーキシン処理を行った果実における発現様式を解析した。その結果、クライマクテリック型果実においてみられるように、エチレン生成量の増加に伴いエチレン受容体 mRNA 蓄積の増加が観察されたことから、イチゴでは少量のエチレンで果実成熟に伴う生理現象が引き起されているのではないかと推測されている (Trainotti et al., 2005)。一方、Tian ら (2000) はイチゴ果実のエチレン感受性について、ノンクライマクテリック型果実のエチレン受容体の機能は、クライマクテリック型果実のものとは違う可能性を指摘している。Pietro ら (2006) は、開花から果実成熟期まで経時的にエチレン生成量と二酸化炭素排出量を測定している。エチレン生成量は果実肥大期までは少なく、肥大期に一度上昇した後再び減少し、果実が赤く色づき始めるまで低いレベルで維持される。その後、エチレン生成量は再び上昇を始め、それ

と同時に二酸化炭素排出量も3倍に上昇する。肥大期前のエチレン生成はエチレンにより抑制されるが、それ以降のエチレン生成はエチレンにより促進されることから、クライマクテリック型果実に見られるシステム1、システム2のエチレン生成と似ており、また、二酸化炭素排出パターンもクライマクテリック型果実のものと同様であると報告されている (Pietro et al., 2006)。

7. おわりに

クライマクテリック型果実において、成熟に伴って生成されるエチレンは、着色や果肉の軟化、香氣成分の生成等を促進するなど高品質果実を生産する上で重要な役割を担っているが、その一方で老化を加速し、過度の果肉軟化や生理障害の発生を引き起こすなど果実品質を劣化させる厄介者でもある。果実の成熟・老化の鍵を握っているエチレンを制御することができれば、高品質な完熟果実を消費者に届ける上で最も有効な手段になると考えられる。ノンクライマクテリック型果実は、成熟に必ずしもエチレンが必要ではないと考えられてきたが、ここで紹介したようにノンクライマクテリック型果実の成熟にもエチレンが関与しているという研究結果が近年報告されている。このように成熟に伴うエチレン生成については、最近の研究により多くの知見が蓄積してきたが、詳細な制御機構等未解明な点も多く残されている。更なる研究の発展が期待される。

摘 要

果実は成熟期に呼吸量の増加するクライマクテリック型と増加しないノンクライマクテリック型に大別される。クライマクテリック型果実の多くは、呼吸量とともにエチレン生成も増加し、生成されるエチレンにより果皮色の変化、果肉硬度の低下、芳香の生成などの果実成熟が促進される。また近年、ノンクライマクテリック型果実の成熟にもエチレンが関与する可能性が示されている。本総説では、果実におけるエチレン生成制御機構と、果実の成熟・老化に及ぼすエチレンの影響について最近の知見について紹介する。

謝 辞 本原稿は榎村芳記研究調整役、果実鮮度保持研究チーム中村ゆりチーム長、羽山裕子主任研究員に校閲していただきました。ここに厚く感謝の意を表します。

引用文献

- 1) Abeles F.B., P.W. Morgan and M.E. Saltveit, Jr (eds.). 1992. Ethylene in plant biology, 2nd edn. Academic Press, San Diego.
- 2) Adams, D.O. and S.F. Yang. 1979. Ethylene biosynthesis: identification of ACC as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 76 : 170-174.
- 3) Alexander, L. and D. Grierson. 2002. Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening. J. Exp. Bot. 53 : 2039-2055.
- 4) Alonso, J.M., J. Chamarro and A. Granell. 1995. Evidence for the involvement of ethylene in the expression of specific RNAs during maturation of the orange, a non-climacteric fruit. Plant Mol. Biol. 29 : 385-90.
- 5) Barry, C.S., M.I. Llop-Tous and D. Grierson. 2000. The regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase gene expression during the transition from system-1 to system-2 ethylene synthesis in tomato. Plant Physiol. 123 : 979-986.
- 6) Bassett, C.L., T.S. Artlip and A.M. Callahan. 2002. Characterization of the peach homologue of the ethylene receptor, *PpETR1*, reveals some unusual features regarding transcript processing. Planta 215 : 679-688.
- 7) Blankenship, S.M. and J.M. Dole. 2003. 1-Methylcyclopropane: a review. Postharv. Biol. Technol. 28 : 1-25.
- 8) Bleecker, A.B. and H. Kende. 2000. Ethylene: a gaseous signal molecule in plants. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 16 : 1-18.
- 9) Bower, J.H., W.V. Biasi and E.J. Mitcham. 2003a. Effect of ethylene in the storage environment on quality of 'Bartlett' pears. Postharv. Biol. Technol. 28 : 371-379.
- 10) Bower, J.H., W.V. Biasi and E.J. Mitcham. 2003b. Effects of ethylene and 1-MCP on the quality and storage life of strawberries. Postharv. Biol. Technol. 28 : 417-423.
- 11) Bregoli, A.M.V. Ziosi, S. Biondi, B. Claudio, G. Costa and P. Torrigiani. 2006. A comparison between intact fruit and fruit explants to study the effect of polyamines and aminoethoxyvinylglycine (AVG) on fruit ripening in peach and nectarine (*Prunus persica* L. Batch) Postharv. Biol. Technol. 42 : 31-40.
- 12) Brummel, D.A. and M.H. Harpster. 2001. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. Plant Mol. Biol. 47 : 311-340.
- 13) Chang, C. and J. Shockey. 1999. The ethylene-response pathway: signal perception to gene regulation. Curr. Opin. Plant Biol. 2 : 352-358.
- 14) Chen, Y.F., M.D. Randlett, J.L. Findell and G.E. Schaller. 2002. Localization of the ethylene receptor ETR1 to the endoplasmic reticulum of *Arabidopsis*. J. Biol. Chem. 277 : 19861-19866.
- 15) Chervin, C., A. El-Kereamy, J.P. Roustan, A. Latche, J. Lamon and M. Bouzayen. 2004. Ethylene seems required for the berry development and ripening in grape, a non-climacteric fruit. Plant Sci. 167 : 1301-1305.
- 16) Ciardi, J.A., D.M. Tieman, S.T. Lund, J.B. Jones, R.E. Stall and H.J. Klee. 2000. Response to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in tomato involves regulation of ethylene receptor gene expression. Plant Physiol. 123 : 81-92.
- 17) Cin, V.D., M. Danesin, A. Boschetti, A. Dorigoni and A. Ramina. 2005. Ethylene biosynthesis and perception in apple fruitlet abscission (*Malus domestica* (L.) Borkh). J. Exp. Bot. 56 : 2995-3005.
- 18) Cline, J.A. 2006. Effect of aminoethoxyvinylglycine and surfactants on preharvest drop, maturity, and fruit quality of two processing peach cultivars. HortScience 41 : 377-382.
- 19) Dandekari A.M., G. Teo, B.G. Defilippi, S.L. Uratsu, A.J. Passey, A.A. Kader, J.R. Stow, R.J. Colgan and D. J. James. 2004. Effect of down-regulation of ethylene biosynthesis on fruit flavor complex in apple fruit. Transgenic Res. 13 : 373-384.
- 20) DeEll J.R., D.P. Murr, D. Murray, H. Porteous and H. P.V. Rupasinghe. 2002. Influence of temperature and duration of 1-methylcyclopropane (1-MCP) treatment on apple quality Postharv. Biol. Technol. 24 : 349-353.
- 21) Defilippi B.G., A.M. Dandekar and A.A. Kader. 2004. Impact of suppression of ethylene action or biosynthesis on flavor metabolites in apple (*Malus domestica* Borkh) fruits. J. Agric. Food Chem. 52 : 5694-5701.
- 22) El-Kereamy, A., C. Chervin, J.P. Roustan, V. Cheynier, J.-M. Souquet, M. Moutounet, J. Raynal, C. Ford, A. Latché, J.-C. Pech and M. Bouzayen. 2003a.

- Exogenous ethylene stimulates the long-term expression of genes related to anthocyanin biosynthesis in grape berries. *Physiol. Plant.* 119: 175-182.
- 23) El-Sharkawy, I., B. Jones, Z.G. Li, J.M. Lelièvre, J.C. Pech and A. Latche. 2003b. Isolation and characterization of four ethylene perception elements and their expression during ripening in pears (*Pyrus communis* L.) with/without cold requirement. *J. Exp. Bot.* 54, 1615-1625.
- 24) El-Sharkawy, I., B. Jones, L. Gentzbittel, J.M. Lelièvre, J.C. Pech and A. Latche. 2004. Differential regulation of ACC synthase genes in cold-dependent and -independent ripening in pear fruit. *Plant, Cell & Environ.* 27: 1197-1210.
- 25) Fan, X., S.M. Blankenship and J.P. Mattheis. 1999a. 1-Methylcyclopropene inhibits apple ripening. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 124: 690-695.
- 26) Fan, X., J.P. Mattheis and S. Blankenship. 1999b. Development of apple superficial scald, soft scald, core flush, and greasiness is reduced by MCP. *J. Agric. Food Chem.* 47: 3063-3068.
- 27) Gerasopoulos, D. and D.G. Richardson. 1997. Storage-temperature-dependent time separation of softening and chlorophyll loss from the autocatalytic ethylene pathway and other ripening events of 'Anjou' pears. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 122: 680-685.
- 28) Gussman, C.D., J.C. Goffreda and T.J. Gianfagna. 1993. Ethylene production and fruit-softening rates in several apple fruit ripening variants. *HortSci.* 28: 135-137.
- 29) Haji T., H. Yaegaki and M. Yamaguchi. 2001. Changes in ethylene production and flesh firmness of melting, nonmelting and stony hard peaches after harvest. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 70: 458-459.
- 30) Haji T., H. Yaegaki and M. Yamaguchi. 2003. Softening of stony hard peach by ethylene and the induction of endogenous ethylene by 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC). *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 72: 212-217.
- 31) Haji T., H. Yaegaki and M. Yamaguchi. 2004. Varietal differences in the relationship between maturation characteristics, storage life and ethylene production in peach fruit. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 73: 97-104.
- 32) Haji T., H. Yaegaki and M. Yamaguchi. 2005. Inheritance and expression of fruit texture melting, non-melting and stony hard in peach. *Sci. Hort.* 105: 241-248.
- 33) Hamilton, A.G., G.W. Lycett and D. Grierson. 1990. Antisense gene that inhibits synthesis of the hormone ethylene in transgenic plants. *Nature* 346: 284-286.
- 34) Harada T., T. Sunako, Y. Wakasa, J. Soejima, T. Satoh and M. Niizeki. 2000. An allele of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene (*Md-ACS1*) accounts for the low ethylene production in climacteric fruits of some apple cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 101: 742-746.
- 35) 播磨真志・中野龍平・山内 勸・北野欣信・久保康隆・稲葉昭次・富田栄一. 2002. 有孔および無孔ポリエチレン包装によるハウス栽培 '刀根早生' 果実の軟化抑制技術の確立. *園学雑.* 71: 284-291.
- 36) Hasegawa, Y. and M. Yano. 1990. Effect of the rot on the ethylene production during ripening in kiwifruit. *J. Jpn. Soc. Cold. Reserv. Food.* 16: 21-24.
- 37) Hayama, H., A. Ito, T. Moriguchi and Y. Kashimura. 2003. Identification of a new expansin gene closely associated with peach fruit softening. *Postharv. Biol. Technol.* 29: 1-10.
- 38) Hayama, H., A. Ito and Y. Kashimura. 2005. Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment under sub-atmospheric pressure on the softening of 'Akatsuki' peach. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 74: 398-400.
- 39) Hayama, H., T. Shimada, H. Fujii, A. Ito and Y. Kashimura. 2006a. Ethylene-regulation of fruit softening and softening-related genes in peach. *J. Exp. Bot.* 57: 4071-4077.
- 40) Hayama, H., M. Tatsuki, A. Ito and Y. Kashimura. 2006b. Ethylene and fruit softening in the stony hard mutation in peach. *Postharv. Biol. Technol.* 41: 16-21.
- 41) Hiwasa, K., Y. Kinugasa, S. Amano, Hashimoto A., Nakano R, Inaba A., Kubo Y. 2003. Ethylene is required for both the initiation and progression of softening in pear (*Pyrus communis* L.) fruit. *J. Exp. Bot.* 54: 771-779.
- 42) Hua, J. and E.M. Meyerowitz. 1998. Ethylene responses are negatively regulated by a receptor gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Cell* 94: 261-271.
- 43) Itai, A., T. Kawata, K. Tanabe, F. Tamura, M. Uchiyama, M. Tomomitsu and N. Shiraiwa. 1999. Identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase genes controlling the ethylene level of

- ripening fruit in Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). Mol. Gen. Genet. 262 : 42-49.
- 44) Itai, A., K. Tanabe, F. Tamura and M. Tomomitsu. 2003. Cloning and characterization of a cDNA encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) synthase (PPACS3) from ripening fruit of Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 72 : 99-106.
- 45) Katz, E., P.M. Lagunes, J. Riov, D. Weiss and E.E. Goldschmidt. 2004. Molecular and physiological evidence suggests the existence of a system II-like pathway of ethylene production in non-climacteric citrus fruit. Planta. 219 : 243-52.
- 46) Katz, E., J. Riov, D. Weiss and E.E. Goldschmidt. 2005. The climacteric-like behaviour of young, mature and wounded citrus leaves. J. Exp. Bot. 56, 1359-1367.
- 47) Kende, H. 1993. Ethylene biosynthesis. Annu. Rev. Plant Physiol. 44 : 283-307.
- 48) Kitamura, T., T. Iwata, T. Fukushima, Y. Furukawa and T. Ishiguro. 1981. Studies on the maturation-physiology and storage of fruits and vegetables II. Respiration and ethylene production in reference to species and cultivars of pear fruit. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 49 : 608-616.
- 49) Knee, M. 1993. Pome fruits. In: Seymour, G., J. Taylor and G. Tucker. (eds.). Biochemistry of fruit ripening. p.325-346. London, Chapman and Hall.
- 50) Lashbrook, C.C., D.M. Tieman and H.J. Klee. 1998. Differential regulation of the tomato ETR gene family throughout plant development. Plant J. 15 : 243-252.
- 51) Lelièvre, J.M., A. Latché, B. Jones, M. Bouzayen and J.C. Pech. 1997a. Ethylene and fruit ripening. Physiol. Plant. 101 : 727-739.
- 52) Lelièvre, J.M., L. Tichit, P. Dao, L. Fillion, Y.W. Nam, J.C. Pech and A. Latché. 1997b. Effects of chilling on the expression of ethylene biosynthetic genes in Passe-Crassane pear (*Pyrus communis* L.) fruits. Plant Mol. Biol. 33 : 847-855.
- 53) Ma B., M.-L. Cui, H.-J. Sun, K. Takada, H. Mori, H. Kamada and H. Ezura. 2006. Subcellular localization and membrane topology of the melon ethylene receptor CmERS1. Plant Physiol. 141 : 587-597.
- 54) Marty, I., S. Bureau, G. Sarkissian, B. Gouble, J.M. Audergon and G. Albagnac. 2005. Ethylene regulation of carotenoid accumulation and carotenogenic gene expression in colour-contrasted apricot varieties (*Prunus armeniaca*). J Exp Bot. 56 : 1877-1886.
- 55) McMurchie, E.J., W.B. McGlasson and I.L. Eaks. 1972. Treatment of fruits with propylene gives information about the biogenesis of ethylene. Nature 237 : 235-236.
- 56) Mita, S., S. Kawamura, K. Yamawaki, K. Nakamura and H. Hyodo. 1998. Different expression of genes involved in the biosynthesis and perception of ethylene during ripening of passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). Plant Cell Physiol. 39 : 1209-1217.
- 57) Mita, S., S. Kawamura and T. Asai. 2002. Regulation of the expression of a putative ethylene receptor, PeERS2, during the development of passion fruit (*Passiflora edulis*). Physiol. Plant. 114 : 271-280.
- 58) 森 仁志・立木美保. 1998. エチレン生合成の制御機構. p.138-150. 秀潤社, 東京.
- 59) 中野龍平・播磨真志・久保康隆・稲葉昭次. 2001. 有孔ポリエチレン包装によるカキ '刀根早生' ハウス促成栽培果実の軟化抑制. 園学雑. 70 : 385-392.
- 60) Nakano, R., S. Inoue, Y. Kubo and A. Inaba. 2002. Water stress-induced ethylene in the calyx triggers autocatalytic ethylene production and fruit softening in 'Tonewase' persimmon grown in a heated plastic-house. Postharv. Biol. Technol. 25 : 293-300.
- 61) Nakano, R., E. Ogura, Y. Kubo and A. Inaba. 2003. Ethylene Biosynthesis in Detached Young Persimmon Fruit Is Initiated in Calyx and Modulated by Water Loss from the Fruit. Plant Physiol. 131 : 276-286.
- 62) Nakatsuka, A., S. Murachi, H. Okunishi, S. Shiomi, R. Nakano, Y. Kubo, and A. Inaba. 1998. Differential expression and internal feedback regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase, and ethylene receptor genes in tomato fruit during development and ripening. Plant Physiol. 118 : 1295-1305.
- 63) Oeller, P.W., M.W. Lu, L.P. Taylor, D.A. Pike and A. Theologis. 1991. Reversible inhibition of tomato fruit senescence by antisense RNA. Science 254 : 437-439.
- 64) Oraguzie, N.C., H. Iwanami, J. Soejima, T. Harada and A. Hall. 2004. Inheritance of the *Md-ACS1* gene and its relationship to fruit softening in apple (*Malus × domestica* Borkh.). Theor. Appl. Genet. 108 : 1526-1533.
- 65) Perkins-Veazie P.M., D.J. Huber and J.K. Brecht. 1996. *In vitro* growth and ripening of strawberry fruit

- in the presence of ACC, STS or polypropylene. *Ann. Appl. Biol.* 128 : 105-116.
- 66) Picton, S., S.L. Barton, M. Bouzayen, J. Hamilton and D. Grierson. 1993. Altered fruit ripening and leaf senescence in tomatoes expressing an antisense ethylene-forming enzyme transgene. *Plant J.* 3 : 469-481.
- 67) Pietro P.M.I., L. Luc-Jan, M.-E. Nieves, K.J. Euan, T. M. Michael, V.D. Howard and J.M.H. Frans. 2006. Ethylene and carbon dioxide production by developing strawberries show a correlative pattern that is indicative of ripening climacteric fruit. *Physiol. Plant.* 127 : 247-259.
- 68) Pressey, R. and J.K. Avants. 1973. Separation and characterization of endopolygalacturonase and exopolygalacturonase from peach. *Plant Physiol.* 52 : 252-256.
- 69) Pressey, R. and J.K. Avants. 1978. Difference in polygalacturonase composition of clingstone and freestone peaches. *J. Food Sci.* 43 : 1415-1423.
- 70) Purvis A.C. and C.R. Barmore. 1981. Involvement of Ethylene in Chlorophyll Degradation in Peel of Citrus Fruits. *Plant Physiol.* 68 : 854-856.
- 71) Rasori, A., B. Ruperti, C. Bonghi, P. Tonutti and A. Ramina. 2002. Characterization of two putative ethylene receptor genes expressed during peach fruit development and abscission. *J. Exp. Bot.* 53 : 2333-2339.
- 72) Rupasinghe H.P.V., D.P. Murr, G. Paliyath and L. Skog. 2000. Inhibitory effect of 1-MCP on ripening and superficial scald development in 'MaIntosh' and 'Delicious' apples. *J. Hort. Sci. Biotech.* 75 : 271-276.
- 73) Sato, T., T. Kubo, T. Akada, Y. Wakasa, M. Niizeki and T. Harada 2004. Allelotype of a ripening-specific 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene defines the rate of fruit drop in apple. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 129 : 32-36.
- 74) 佐藤隆英・水野真二. 2003. エチレン生合成の調節機構. *植物の生長調節.* 38 : 187-202.
- 75) Sato-Nara, K., K.I. Yuhashi, K. Higashi, K. Hosoya, M. Kubota and H. Ezura. 1999. Stage- and tissue-specific expression of ethylene receptor homolog genes during fruit development in muskmelon. *Plant Physiol.* 119 : 321-329.
- 76) Seymour, G., J.E. Taylor and G.A. Tucker (eds.). 1993. *Biochemistry of Fruit Ripening*, Chapman and Hall.
- 77) Sisler, E.C. and M. Serek. 1997. Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level : recent developments. *Physiol. Plant.* 100 : 577-582.
- 78) Stewart, I. and T.A. Wheaton. 1972. Carotenoids in citrus. Their accumulation induced by ethylene. *J. Agric. Food Chem.* 20 : 448-449.
- 79) Sunako T., W. Sakuraba, M. Senda, S. Akada, R. Ishikawa, M. Niizeki and T. Harada. 1999. An allele of the ripening-specific 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase gene (*ACSI*) in apple fruit with a long storage life. *Plant Physiol.* 119 : 1297-1304.
- 80) Takata, M. 1983. Respiration, ethylene production and ripening of Japanese persimmon fruit harvested at various stages of development. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 52 : 78-84.
- 81) Tatsuki, M. and A. Endo. 2006. Analyses of expression patterns of ethylene receptor genes in apple (*Malus domestica* Borkh.) fruits treated with or without 1-methylcyclopropene (1-MCP). *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 75 : 481-487.
- 82) Tatsuki, M., A. Endo and H. Ohkawa. 2007. Influence of time from harvest to 1-MCP treatment on apple fruit quality and expression of genes for ethylene biosynthesis enzymes and ethylene receptors. *Postharv. Biol. Technol.* 43 : 28-35.
- 83) Tatsuki, M., T. Haji and M. Yamaguchi. 2006. The involvement of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase isogene, *Pp-ACSI*, in peach fruit softening. *J. Exp. Bot.* 57 : 1281-1289.
- 84) Trebitsh, T., E.E. Goldschmidt and J. Rivov. 1993. Ethylene induces *de novo* synthesis of chlorophyllase, a chlorophyll degrading enzyme, in *Citrus* fruit peel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90 : 9441-9445.
- 85) Tesniere, C. and C. Verries. 2000. Molecular cloning and expression of cDNAs encoding alcohol dehydrogenases from *Vitis vinifera* L. during berry development. *Plant Sci.* 157 : 77-88.
- 86) Tesniere, C., M. Pradal, A. El-Kereamy, L. Torregrosa, P. Chatelet, J.P. Roustan and C. Chervin. 2004. Involvement of ethylene signalling in a non-climacteric fruit : new elements regarding the regulation of *ADH* expression in grapevine. *J. Exp. Bot.* 55 : 2235-2240.
- 87) Tian, M.S., S. Prakash, H.J. Elgar, H. Young, D.M. Burmeister and G.S. Ross. 2000. Responses of strawberry fruit to 1-methylcyclopropene (1-MCP) and

- ethylene. *Plant Growth Regul.* 32 : 83-90.
- 88) Tieman, D.M., M.G. Taylor, J.A. Ciardi and H.J. Klee. 2000. The tomato ethylene receptors NR and LE-ETR4 are negative regulators of ethylene response and exhibit functional compensation within a multigene family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97 : 5663-5668.
- 89) Trainotti, L., D. Zanin and G. Casadoro. 2003. A cell wall-oriented genomic approach reveals a new and unexpected complexity of the softening in peaches. *J. Exp. Bot.* 54 : 1821-1832.
- 90) Trainotti, L., A. Pavanello and G. Casadoro. 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? *J. Exp. Bot.* 56 : 2037-2046.
- 91) Wakasa, Y., H. Kudo, R. Ishikawa, S. Akada, M. Senda, M. Niizeki and T. Harada. 2006. Low expression of an endopolygalacturonase gene in apple fruit with long-term storage potential. *Postharv. Biol. Technol.* 39 : 193-198.
- 92) Wang, K.L.-C., H. Li. and J.R. Ecker. 2002. Ethylene biosynthesis and signaling networks. *Plant Cell* 14 : S131-S151.
- 93) Watkins C.B., J.F. Nock and B.D. Whitaker. 2000. Responses of early, mid and late season apple cultivars to postharvest application of 1-methylcyclopropene (1-MCP) under air and controlled atmosphere storage conditions. *Postharv. Biol. Technol.* 19 : 17-32.
- 94) Whittaker, D.J., G.S. Smith and R.C. Gardner. 1997. Expression of ethylene biosynthetic genes in *Actinidia chinensis* fruit. *Plant Mol. Biol.* 34 : 45-55.
- 95) Wilkinson, J.Q., M.B. Lanahan, D.G. Clark, A.B. Bleecker, C. Chang, E.M. Meyerowitz, H.J. Klee. 1997. A dominant mutant receptor from *Arabidopsis* confers ethylene insensitivity in heterologous plants. *Nat. Biotech.* 15 : 444-447.
- 96) Xu, Z.C., Y. Ikoma, M. Yano, K. Ogawa and H. Hyodo. 1998. Varietal differences in the potential to produce ethylene and gene expression of ACC synthase and ACC oxidase between 'Kui mi' and 'Hong xin' of chinese kiwifruit. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 67 : 204-209.
- 97) Yamasaki, S., N. Fujii and H. Takahashi. 2000. The ethylene-regulated expression of *CS-ETR2* and *CS-ERS2* genes in cucumber plants and their possible involvement with sex expression in flowers. *Plant Cell Physiol.* 41 : 608-616.
- 98) 矢野昌充・長谷川美典. 1993a. 収穫後におけるキウイフルーツのエチレン生成と果実軟腐病の関係について. *園学雑.* 62 : 443-449.
- 99) 矢野昌充・長谷川美典. 1993b. キウイフルーツの収穫後における自己触媒的なエチレン生成の特徴について. *園学雑.* 62 : 625-632.
- 100) Yau, C.P., L. Wang, M. Yu, Zee, S.Y. and W.K. Yip. 2004. Differential expression of three genes encoding an ethylene receptor in rice during development, and in response to indole-3-acetic acid and silver ions. *J. Exp. Bot.* 55 : 547-556.
- 101) Yoshida, M. 1976. Genetical studies on the fruit quality of peach varieties. III. Texture and keeping quality. *Bull. Fruit Tree Res. Stat.* 3, 1-16.
- 102) 吉岡博人・青葉幸二・福元將志. 1989. リンゴ果実の貯蔵に伴う品質及び生理的变化と果実の成熟期の関連. *園学雑.* 58 : 31-36.
- 103) Zarembinski, T.I. and Theologis, A. 1994. Ethylene biosynthesis and action : a case of conservation. *Plant Mol. Biol.* 26 : 1579-1597.