

芒果乙烯信号转导关键基因 *MiCTR1* 的克隆与序列分析

袁芳¹, 王春艳^{1*}, 李丽^{2,3*}, 许丹妮¹, 李志红¹, 甘婷^{2,3}, 隆宇涵^{2,3}

1. 广西民族师范学院化学与生物工程学院, 广西崇左 532200; 2. 广西壮族自治区农业科学院农产品加工研究所, 广西南宁 530007; 3. 广西果蔬贮藏与加工新技术重点实验室, 广西南宁 530007

摘要: 芒果属于典型的呼吸跃变型果实, 采后代谢旺盛且对乙烯非常敏感, CTR1 是乙烯信号转导途径的负调控因子, 在乙烯信号通路中发挥着核心作用。为了研究芒果 CTR1 在芒果采后贮藏过程中的表达模式及可能的作用, 本研究从台农 1 号芒果转录组数据库中筛选 1 个 CTR 基因 (*MiCTR1*), 利用生物学方法对其编码的蛋白质进行测序分析, 并对 *MiCTR1* 基因在芒果后熟过程中经乙烯抑制剂 1-MCP 处理后的表达模式进行分析。结果表明: *MiCTR1* 的开放阅读框 (ORF) 长度为 1551 bp, 编码 516 个氨基酸, 预测蛋白的分子式为 $C_{2503}H_{3932}N_{712}O_{797}S_{26}$, 总原子数为 7970, 分子量为 57.58 kDa, 理论等电点 (pI) 为 5.72, 负电荷和正电荷的氨基酸残基总数分别为 64 和 50 个, 脂肪系数为 70.78, 亲水性总平均值为 -0.596, 有 111 个磷酸化位点, 且以丝氨酸 (Ser) 的磷酸化修饰为主, 苏氨酸 (Thr) 为辅, 无跨膜结构, 无信号肽, 亚细胞预测分析显示其定位于细胞核。蛋白质结构域预测发现, *MiCTR1* 蛋白含有 1 个保守的 PB1 结构域, 位于氨基酸序列 189~285 处。系统进化分析表明, *MiCTR1* 与扁桃 (*Prunus dulcis*)、桃 (*Prunus persica*)、甜樱桃 (*Prunus avium*)、杏 (*Prunus armeniaca*)、梅 (*Prunus mume*) 的亲缘关系较近。荧光定量 PCR 结果显示, *MiCTR1* 的相对表达量在芒果后熟过程中升高, 且经 1-MCP 处理后其表达量下调。本研究结果为芒果后熟的分子机制提供基础。

关键词: 芒果; 乙烯响应转录因子; CTR; 克隆; 表达分析

中图分类号: S667 文献标志码: A

Cloning and Sequence Analysis of Key Ethylene Signal Transduction Gene *MiCTR1* in Mango

YUAN Fang¹, WANG Chunyan^{1*}, LI Li^{2,3*}, XU Danni¹, LI Zhihong¹, GAN Ting^{2,3}, LONG Yuhan^{2,3}

1. College of Chemistry and Biological Engineering, Guangxi Minzu Normal University, Chongzuo, Guangxi 532200, China; 2. Agro-food Science and Technology Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530007, China; 3. Guangxi Key Laboratory of Fruits and Vegetables Storage-processing Technology, Nanning, Guangxi 530007, China

Abstract: Mango is a typical respiration leap fruit, with vigorous postharvest metabolism and very sensitive to ethylene. CTR1 is a negative regulator of the ethylene signaling pathway and plays a central role in the ethylene signaling pathway. In order to study the possible role of mango CTR1 expression pattern in mango postharvest storage, a CTR gene (*MiCTR1*) was screened from the Tainung No.1) mango transcriptome database, and its encoded gene was used using biological methods. The protein was sequenced and analyzed, and the expression pattern of *MiCTR1* gene during mango ripening and under 1-MCP treatment was analyzed. The results showed that the length of the open reading frame of *MiCTR1* was 1551 bp, encoding 516 amino acids, The molecular formula of the predicted protein was $C_{2503}H_{3932}N_{712}O_{797}S_{26}$, the total atomic number was 7970, and the weight of the protein was 57.58 kDa, the theoretical isoelectric point (pI) was 5.72, the fat coefficient was 70.78, and the overall average hydrophilicity was -0.596, with 111 phosphorylation sites, and the phosphorylation modification of serine was the main one, supplemented by threonine, had no transmembrane structure and no signal peptide. Subcellular prediction analysis showed that it was located in the nucleus. Protein domain prediction *MiCTR1* protein contained a con-

收稿日期 2024-03-01; 修回日期 2024-03-23

基金项目 国家重点研发计划专项 (No. 2021YFD1600100); 国家自然科学基金项目 (No. 3230181455); 广西重点研发计划项目 (桂科 AB23075095)。

作者简介 袁芳 (1986—), 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 农产品贮藏与加工。*通信作者 (Corresponding author): 王春艳 (WANG Chunyan), E-mail: wcy1510016681@163.com; 李丽 (LI Li), E-mail: lili@gxaas.net。

served PB1 domain located at amino acid sequence 189–285. Phylogenetic analysis showed that *MiCTR1* was closely related to *Prunus dulcis*, *Prunus persica*, *Prunus avium*, *Prunus armeniaca*, *Prunus mume*. The results of fluorescence quantitative PCR showed that the relative expression of *MiCTR1* increased during the ripening process of mango, and 1-MCP down-regulated its expression. In this study, the *MiCTR1* gene was cloned in mango and its biological analysis was analyzed, and its expression pattern during postharvest storage was analyzed, which would provide a basis for the molecular mechanism of mango ripening.

Keywords: mango; ethylene-responsive transcription factor; *CTR*; cloning; expression analysis

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2024.10.004

芒果 (*Mangnifera indica* L.) 是著名的热带水果, 营养丰富、风味独特, 中国的芒果产量居世界第二^[1-3], 其中, 台农 1 号芒果 (Tainung No.1) 在我国海南、广东、广西等地均有大面积种植, 它不仅品质优良, 还丰产性好、适应性强。芒果属于典型的呼吸跃变型果实, 采后代谢旺盛且对乙烯非常敏感, 容易后熟而变黄、变软, 继而腐烂, 致使其品质大幅降低, 货架期短, 影响芒果产业的发展^[4]。*CTR1* 是乙烯信号转导途径中重要的负调控因子, 乙烯受体接收到乙烯信号后, 能够与 *CTR1* 反应, 共同完成乙烯反应的负调控模式^[5]。*CTR1* 由多基因家族编码, 它们在结构和基因时空表达上各有特点^[6]。目前已经分离拟南芥^[7]中的 *AcCTR1* 基因, 在模式植物的基础上, *CTR* 基因在其他果实中的研究也取得了进展。番茄^[8]和番木瓜^[6]中分别分离出 4 个 *CTR* 基因, 分别为 *LeCTR1~4* 和 *CpCTR1~4*, 苹果中分离了 5 个 *MdCTR* 基因^[9], 猕猴桃中分离了 2 个 *AdCTR* 基因^[10], 而在大多数植物或果实中只分离到 1 个 *CTR1* 基因, 如小麦^[11]、大豆^[12]、梨^[13]、甘蔗^[14]、甜瓜^[15]等。随着研究的深入, 每一种果实中可能将会有更多的 *CTR* 基因不断被克隆。*CTR1* 直接影响果实成熟、衰老、软化进程, 在植物的生长、果实成熟过程中发挥重要的负调控作用, 且在不同植物中表达模式可能不同。在番茄果实成熟过程中, 4 个 *CTR1*-like 基因中只有 *LeCTR1* 转录本含量随着果实后熟进程而明显增强, 且能被外源乙烯所诱导^[8]。木瓜的 4 个 *CTR1*-like 基因中, *CpCTR2* 和 *CpCTR4* 与果实硬度呈显著负相关, 表明 *CpCTR* 可能在果实软化中起重要作用^[6]。桃子 *PpCTR1* 基因的表达量在乙烯释放量达到最大量时相应减少, 表明 *PpCTR1* 基因与果实成熟软化有密切关系^[16]。

课题组前期已经分离并克隆了乙烯受体基因^[17], 但芒果的 *CTR1* 基因的分离和鉴定还未见报道。本研究以台农 1 号芒果为材料, 结合芒果

全基因组和转录组数据, 对 *MiCTR1* 基因进行克隆和序列分析, 并通过实时荧光定量 PCR 检测其在芒果采后不同时期的相对表达量, 揭示乙烯抑制剂 1-MCP 处理对采后芒果 *CTR1* 基因表达的调控机制, 为研究 *CTR1* 在果实成熟、衰老中的作用提供科学依据, 进而为延长果实的贮藏寿命奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

台农 1 号芒果采摘于广西百色市, 挑选大小均匀、成熟度 8~9 成的果实为材料。1-甲基环丙烯 (1-MCP) 购于龙杏生技制药股份有限公司; 植物总 RNA 提取试剂盒购自广州美基生物科技有限公司; RNAPrep Pure 植物总 RNA 提取试剂盒购自天根生化科技 (北京) 有限公司; HiScript® II Q RT SuperMix for qPCR 试剂盒和 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司。

1.2 方法

1.2.1 样品处理 芒果采摘之后参照 YUAN 等^[18]的方法进行处理, 分为对照组 (CK) 和处理组 (0.1 mg/L 1-MCP), 处理之后的芒果分别用厚度为 0.007 mm 的聚乙烯薄膜袋子分装, 置于 25 °C, 相对湿度为 85%~90% 的条件下贮藏 10 d, 每 2 d 取样测定乙烯释放速率和实时荧光定量分析。果肉样品用液氮冷冻后, 于 -80 °C 冰箱保存备用。

1.2.2 乙烯释放速率检测 参照 MIKUŁA 等^[19]的方法, 采用乙烯分析测定仪检测果实的乙烯释放速率, 结果以 $\mu\text{L}/(\text{kg} \cdot \text{min})$ 计。

1.2.3 总 RNA 的提取及 cDNA 第一链的合成 按照 HiPure HP Plant RNA Mini Kit 提植物总 RNA 小提试剂盒说明书, 提取芒果组织总 RNA。取总 RNA 1 μg 使用 HiScript® II Q RT SuperMix for qPCR 试剂盒反转录合成 cDNA 第一链, 用于后续基因克隆和实时荧光定量分析。

1.2.4 基因克隆 根据前期芒果转录组测序数据结果，使用 Premier 5.0 软件设计基因特异性引物（表 1），由生工生物工程（上海）股份有限公司合成引物。以采后芒果果皮 cDNA 为模板扩增目的片段全长。扩增反应体系（50 uL）：2×Es Taq Master Mix (Dye) 25.0 μL，10 μmol/L 引物各 2.0 μL，cDNA 模板 2 μL，ddH₂O 补足至 50.0 μL。扩增程序：94 ℃预变性 3 min；94 ℃变性 30 s，48 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 1.5 min，35 个循环。PCR 产物经 1.0%琼脂糖凝胶电泳检测，切胶回收，连接至 pMD19-T 载体上，转化至 E.coli DH5α 感受态细胞，在含有氨苄霉素的 LB 固体培养基上筛选阳性克隆，菌液送生工生物工程（上海）股份有限公司测序。

1.2.5 生物信息学分析 使用 ExPASy-ProtParam、TMPRED、SignalP 5.0 Serve 和 NetPhos 3.1 软件预测 MiCTR1 蛋白的理化特性、跨膜结构、信号肽和磷酸化位点；使用 NCBI 的 CD-Search 软件分析蛋白的保守结构域；使用 SOPMA 和 Phyre2 软件分析蛋白质二、三级结构；使用 DNAMAN 5.0 软件进行不同物种间同源基因的多序列比对分析；使用 MEGA 6.0 软件的 Neighbor-Joining 法构建系统发育进化树，并进行 1000 次 Bootstrap 检验。

1.2.6 实时荧光定量分析 通过 qRT-PCR 检测 *MiCTR* 基因的表达情况，以芒果 *Actin1* 为内参基因^[20]，荧光定量 PCR 引物见表 1。参照 Transstart Tip Green qPCR Super Mix 试剂盒说明书配制反应体系（20.0 μL）：2×Trans Taq HiFiPCR Super Mix 10.0 μL，cDNA 模板 1.0 μL，10 μmol/L 引物各 0.5 μL，ddH₂O 补足至 20.0 μL。扩增程序：94 ℃预变性 30 s；94 ℃ 5 s；60 ℃ 30 s，共进行 40 个循环。每个反应设 3 次重复，采用 2^{-ΔΔC_t} 法计算 *MiCTR* 基因的相对表达量。

表 1 引物序列信息
Tab. 1 Primer sequence information

引物名称 Primer name	引物序列（5'-3'） Primer sequence (5'-3')	用途 Application
MiCTR-F	CACAATCCAATCGGTGCTCA	基因克隆
MiCTR-R	CAATCCACTACAGTCCTCCG	
MiCTR-qF	GATCATGAGGAGCCGTGTCA	基因荧光 定量 PCR
MiCTR-qR	GACTTAGGAGCTTGGGCCTG	
qActin1-F	CTCTGCCCCAAGCAAAGATG	
qActin1-R	TGTTGTGCAGCTAGCATTGGA	

1.3 数据处理
使用 SPSS Statistics 17.0 软件进行数据分析，使用 Duncan 法比较平均值之间的差异显著性，使用 Origin 软件制图。

2 结果与分析

2.1 *MiCTR1* 基因克隆和序列分析
利用 RACE 技术克隆获得 *MiCTR1* 基因的 3' 末端和 5'末端序列，将其与中间片段进行拼接，获得 *MiCTR1* 基因。*MiCTR1* 基因的 cDNA 开放阅读框长度为 1551 bp，编码 516 个氨基酸。将 *MiCTR1* 蛋白的氨基酸序列与其他物种的同源蛋白经过 BLAST 比对分析发现（图 1），其与阿月浑子（*Pistacia vera*, XP_031265951.1）、全缘黄连木（*Pistacia integerrima*, KAJ0042545.1）、苦楝树（*Melia azedarach*, KAJ4705780.1）、甜橙（*Citrus sinensis*, XP_031265951.1）、巴西橡胶树（*Hevea brasiliensis*, XP_021639805.2）的相似度分别为 85.16%、85.35%、70.02%、68.64%、62.06%，表明 *MiCTR1* 与其他物种的同源性蛋白相似度较高。

2.2 *MiCTR1* 蛋白的理化性质预测
通过 ExPASy 软件中的 Protparam 预测 *MiCTR1* 蛋白的理化性质，该蛋白的分子式为 C₂₅₀₃H₃₉₃₂N₇₁₂O₇₉₇S₂₆，总原子数为 7970，分子量为 57.58 kDa，理论等电点（pI）为 5.72，负电荷和正电荷的氨基酸残基总数分别为 64（Asp+Glu）和 50（Arg+Lys）个，脂肪系数为 70.78。

MiCTR1 蛋白在氨基酸序列的第 253 和第 137 处有疏水峰和亲水峰（图 2），分别为 1.689 和 -2.878。亲水值在-2.000 以下的亲水峰有 20 个，而疏水值在+2.000 以上的疏水峰为 0 个。其亲水性氨基酸明显多于疏水性氨基酸，且亲水性总平均值为-0.596，故推测 *MiCTR1* 蛋白为亲水性蛋白。

2.3 *MiCTR1* 蛋白磷酸化位点预测
利用 NetPhos 3.1 软件预测 *MiCTR1* 蛋白磷酸化位点（磷酸化位点阈值为 0.5），如图 3 所示，*MiCTR1* 蛋白含有 111 个磷酸化位点，其中含丝氨酸（Ser）82 个，苏氨酸（Thr）15 个，酪氨酸（Tyr）14 个。由此可预测，*MiCTR1* 蛋白调控乙烯信号转导是以丝氨酸（Ser）的磷酸化修饰为主，苏氨酸（Thr）为辅。

2.4 *MiCTR1* 蛋白跨膜结构、信号肽、亚细胞定位预测
利用 TMHMM Server v5.0 软件对 *MiCTR1*

通过 ExPASy 软件中的 SOPMA 对 MiCTR1 蛋白进行二级结构预测, 结果如图 7 所示, 该蛋白由 α -螺旋 (16.09%)、延伸链 (12.79%)、 β -转角 (1.74%) 和无规则卷曲 (69.38%) 4 种结

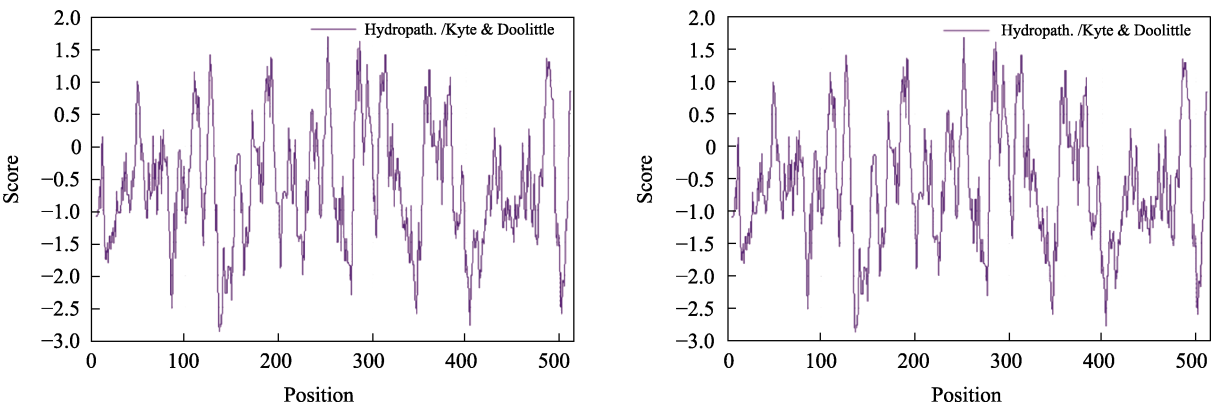


图 2 *MiCTR1* 蛋白亲水性和疏水性预测
Fig. 2 Prediction of hydrophobicity for *MiCTR1* protein

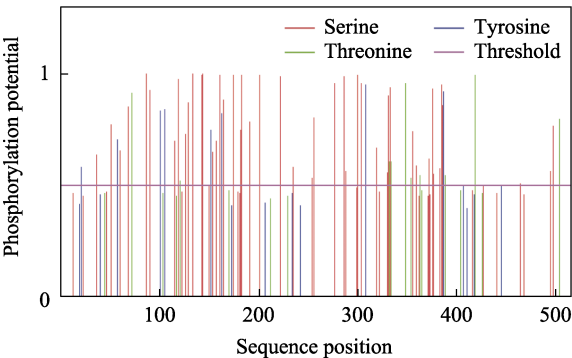


图 3 *MiCTR1* 蛋白的磷酸化位点预测
Fig. 3 Phosphorylation site prediction of *MiCTR1* protein

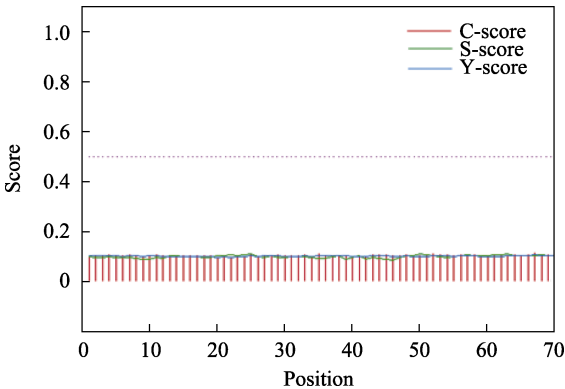


图 5 *MiCTR1* 蛋白的信号肽预测
Fig. 5 Signal peptide prediction of *MiCTR1* protein

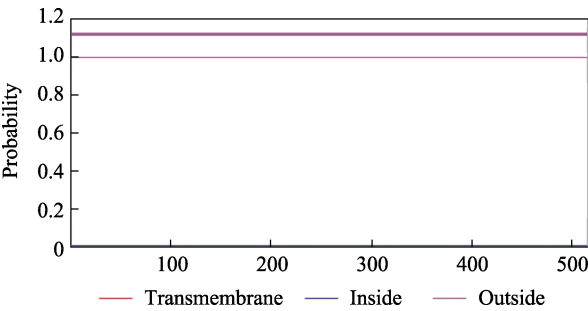


图 4 *MiCTR1* 蛋白的跨膜结构域预测
Fig. 4 Prediction of the transmembrane domain of *MiCTR1* protein

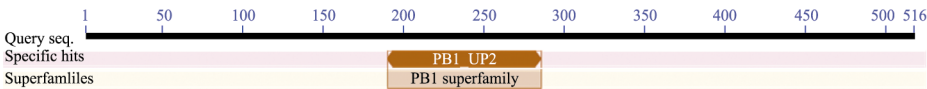


图 6 *MiCTR1* 蛋白结构域分析
Fig. 6 Protein domain analysis of *MiCTR1*

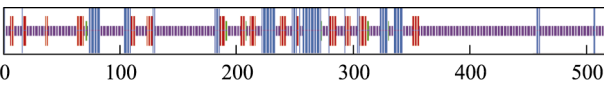


图 7 *MiCTR1* 蛋白的二级结构
Fig. 7 Secondary structure of *MiCTR1* protein

构组成，其中以无规则卷曲为主。利用 SWISS-MODEL 软件预测 *MiCTR1* 蛋白的三级结构，结果如图 8 所示，该蛋白有 7 个 β -折叠，4 个 α -螺旋。

2.7 系统发育进化分析

使用 MEGA 6.0 软件的 Neighbor-Joining 法构建 *MiCTR1* 与其他物种 *CTR1* 氨基酸序列的系统发育进化树，结果表明（图 9），*MiCTR1* 与扁桃（*Prunus dulcis*）、桃（*Prunus persica*）的 *CTR1* 亲缘关系最近，其次是甜樱桃（*Prunus avium*）、杏（*Prunus armeniaca*）、梅（*Prunus mume*）。

2.8 *MiCTR1* 基因在芒果贮藏期的表达分析

CTR1 能与乙烯受体家族成员结合而被激活，阻碍乙烯的传递使植物表现出乙烯响应不敏感。由图 10A 所示，对照组的 *MiCTR1* 基因在贮藏



图 8 MiCTR1 蛋白的三级结构
Fig. 8 Tertiary structure of MiCTR1 protein

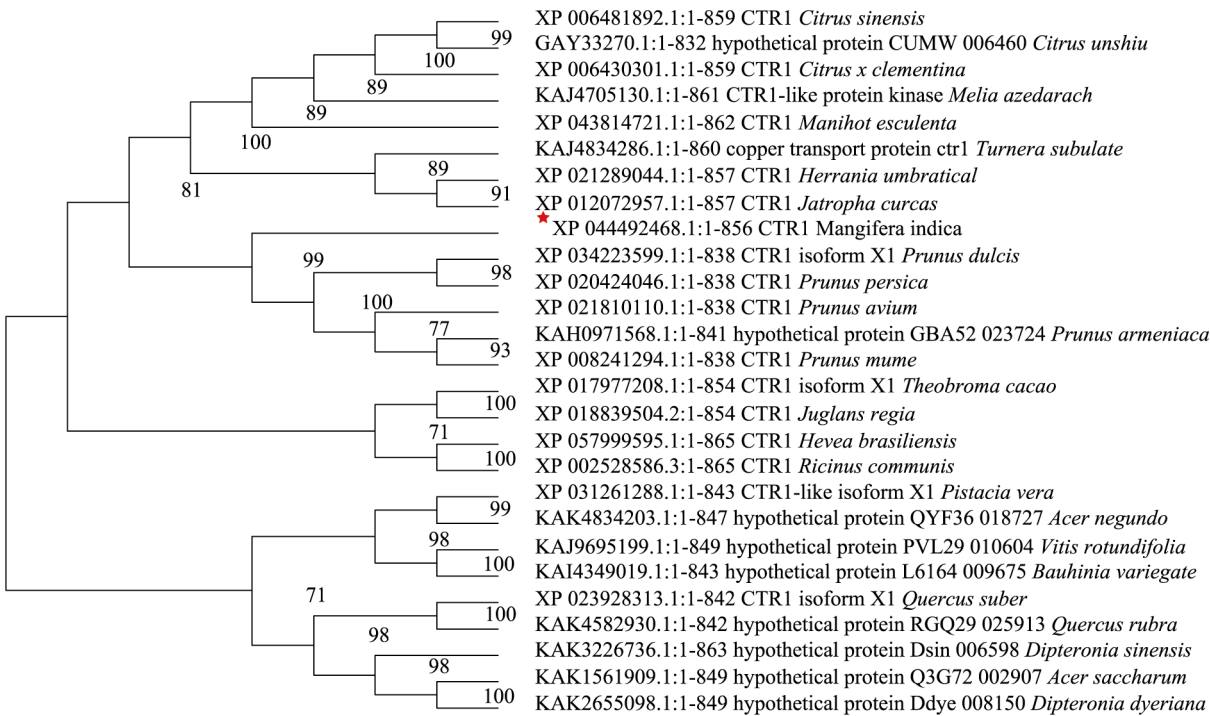
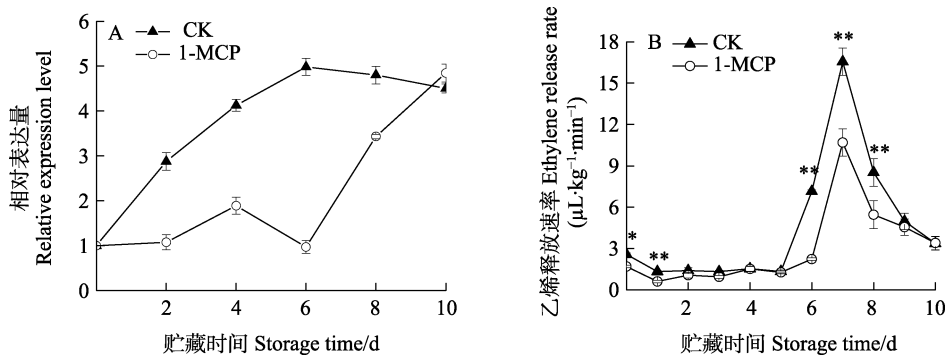


图 9 MiCTR1 系统发育分析
Fig. 9 Phylogenetic analysis of MiCTR1



*表示差异显著 ($P<0.05$), **表示差异极显著 ($P<0.01$)。
* indicates significant difference ($P<0.05$), ** indicates extremely significant difference ($P<0.01$).

图 10 贮藏期 MiCTR1 基因的表达 (A) 及乙烯释放速率 (B)

Fig. 10 Expression level of MiCTR1 gene (A) and ethylene release rate (B) during mango storage

由图 10B 所示, 处理组芒果在采后贮藏的前 6 d 内乙烯释放速率比较慢, 在第 6 天开始快速上升, 第 7 天达到最高峰后快速下降。对照组芒果的乙烯释放速率从第 5 天开始快速上升, 到第 7

0~6 d 内的表达量快速上调, 而后缓慢下调。处理组的 MiCTR1 基因的表达量在 2~4 d 内上调, 4~6 d 出现短暂下调之后, 在贮藏后期上调。相比对照, 乙烯抑制剂 1-MCP 处理下调了 MiCTR1 基因的表达, 但在贮藏第 10 天的表达量高于对照。前期研究显示, 在贮藏的 0~6 d, 1-MCP 处理的芒果软化程度更低^[18], 这可能与 MiCTR1 基因的表达特性有关, 表明 MiCTR1 基因在芒果的后熟软化中起作用。

天达到最高峰,而后快速下降。结果表明,经 1-MCP 处理后的芒果未推迟乙烯释放速率高峰的出现,但是极显著降低了峰值 ($P<0.01$)。

3 讨论

本研究克隆了台农 1 号芒果 *MiCTR1* 基因,通过生物学信息分析发现,*MiCTR1* 基因编码的蛋白为亲水蛋白,无跨膜结构和信号肽,*MiCTR1* 蛋白含有一个 PBI 结构域,亚细胞定位在细胞核,这与番木瓜^[6]中 *CpCTR*s 的定位结果一致。同源分析发现,*MiCTR1* 与扁桃、桃的 *CTR1* 亲缘关系最近。

芒果采后后熟软化受到乙烯转导的影响,*CTR1* 在乙烯信号通路中发挥着核心作用^[21]。本研究中 *MiCTR1* 基因的相对表达量在芒果采后贮藏的前 6 d 快速上升。前期的研究显示芒果硬度在相同时期快速下降^[18],二者刚好呈现相反的趋势,这与番木瓜^[6]的结论一致。*MiCTR1* 基因在芒果后熟期间表达上调,推测其可能在芒果的软化中起作用。此外,榴莲^[22]、苹果^[23]中 *CTR1* 基因的表达也分别在果实成熟期间上调。*CTR* 基因的表达还受到乙烯和乙烯抑制剂的影响,1-MCP 处理显著抑制番木瓜 *CpCTR*s^[6]、桑葚 *MaCTR1*^[21]、榴莲 *DzCTR1*^[22]、晚熟品种李子 *PsCTR1*^[24] 的表达,这与本研究结果一致。经 1-MCP 处理的苹果果实中 *MdCTR1* 基因的相对表达量高于对照果实^[25],说明乙烯抑制剂对 *CTR1* 基因的表达调控在不同物种中存在差异。乙烯对 *CTR* 基因的表达调控也存在物种差异,在番茄中,*LeCTR1* 的表达在其花衰老和果实成熟期间上调,并且被乙烯高度上调^[26],乙烯还使榴莲^[22]、梨子^[13]和李子^[24]的 *CTR1* 的表达上调,而桑葚 *MaCTR1*^[21] 的表达受到乙烯的抑制,而最早从拟南芥中分离出来的 *AtCTR1*,其表达则不受包括乙烯在内的外部刺激的影响^[27]。

在本研究中,对照组的乙烯释放量在贮藏的 6~8 d 最高,而 *MiCTR1* 基因的相对表达量在第 6 天和第 8 天也相对较高,说明乙烯能使 *MiCTR1* 基因表达上调。而 1-MCP 处理组芒果 *MiCTR1* 基因的表达则未出现这样的规律。由于 *CTR1* 是乙烯信号转导的负调节因子,因此还有报道指出特定组织中 *CTR1* 的水平与该组织的乙烯敏感性呈负相关^[28]。西葫芦 *CpCTR1* 和 *CpCTR2* 在雄花花

瓣中的表达高于雌花,可能是雄花对乙烯的敏感性较低导致的^[29]。芒果果实在成熟过程中对乙烯的敏感性可能也会发生变化,因此,*MiCTR1* 基因的表达随着果实的后熟软化上调,同时也受到乙烯抑制剂的调控。

参考文献

- [1] PENG Y, FEI L, LIU X, SUN G Z, HAO K, CUI N B, ZHAO L, JIE F L. Coupling of regulated deficit irrigation at maturity stage and moderate fertilization to improve soil quality, mango yield and water-fertilizer use efficiency[J]. *Scientia Horticulturae*, 2023, 307: 111492.
- [2] MA X W, WU H X, LIU L Q, YAO Q S, WANG S B, ZHAN R L, XING S S, ZHOU Y G. Polyphenolic compounds and antioxidant properties in mango fruits[J]. *Scientia Horticulturae*, 2011, 129(1): 102-107.
- [3] AKTHER S, JOTHI J S, BADSHA M R, RAHMAN M M, DAS G B, ALIM M A. Drying methods effect on bioactive compounds, phenolic profile, and antioxidant capacity of mango powder[J]. *Journal of King Saud University Science*, 2023, 35(1): 102370.
- [4] SINGH Z, SINGH R K, SANE V A, NATH P. Mango-postharvest biology and biotechnology[J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2013, 32(4): 217-236.
- [5] 殷学仁, 张波, 李鲜, 陈昆松. 乙烯信号转导与果实成熟衰老的研究进展[J]. *园艺学报*, 2009(1): 133-140.
- [6] YIN X R, ZHANG B, LI X, CHEN K S. Research progress on ethylene signaling and fruit ripening and senescence[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2009 (1): 133-140. (in Chinese)
- [7] ZHU X, ZOU Y, FU D, CHEN Y C, MAO J, LIU L, CHEN W X, LU W J, LI X P. Molecular cloning, characterizing, and expression analysis of *CTR1* genes in harvested papaya fruit[J]. *European Food Research and Technology*, 2014, 238: 503-513.
- [8] HUA J, SAKAI H, NOURIZADEH S, CHEN Q H G, BLEECKER A B, ECKER J R, MEYEROWITZ E M. EIN4 and ERS2 are members of the putative ethylene receptor gene family in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 1998, 10(8): 1321-1332.
- [9] ADAMS-PHILLIPS L, BARRY C, KANNAN P, LECLERCQ J, BOUZAYEN, JIM GIOVANNONI M. Evidence that *CTR1*-mediated ethylene signal transduction in tomato is encoded by a multigene family whose members display distinct regulatory features[J]. *Plant Molecular Biology*, 2004, 54: 387-404.
- [10] 张梦媛. MeJA 对采后苹果果实品质和乙烯生物合成及其信号转导途径关键基因表达的影响[D]. 锦州: 渤海大学,

- 2019.
- ZHANG M Y. Effects of MeJA on quality and expression of key genes involved in ethylene biosynthesis and signal transduction pathway during postharvest ripening of apple fruit[D]. Jinzhou: Bohai University, 2019. (in Chinese)
- [10] YIN X, CHEN K, ALLAN A C, WU R M, ZHANG B, LALLU N, FERGUSON L B. Ethylene-induced modulation of genes associated with the ethylene signalling pathway in ripening kiwifruit[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(8): 2097-2108.
- [11] 秘彩莉, 温小杰, 张学勇, 刘旭. 小麦类 *CTR1* 基因的克隆和特性分析[J]. *中国农业科学*, 2009, 42(11): 3785-3794.
- BI C L, WEN X J, ZHANG X Y, LIU X. Cloning and characterization of a putative *CTR1* gene from wheat[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42(11): 3785-3794. (in Chinese)
- [12] 张楠楠, 薛冬, 崔晓霞, 赵晋铭, 郭娜, 王海荣, 邢邯. 大豆组成型三重反应基因 *GmCTR1* 的克隆与功能分析[J]. *中国农业科学*, 2017, 50(16): 3082-3091.
- ZHANG N N, XUE D, CUI X X, ZHAN J M, GUO N, WANG H T, XING H. Cloning and functional analysis of the *CTR1* in soybean[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(16): 3082-3091. (in Chinese)
- [13] EL-SHARKAWY I, JONES B, LI Z G, PECH J C, LATCHÉ A. Isolation and characterization of four ethylene perception elements and their expression during ripening in pears (*Pyrus communis* L.) with/without cold requirement[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2003, 54(387): 1615-1625.
- [14] 王凡伟, 肖冬, 李杨瑞, 何龙飞, 王爱勤. 甘蔗乙烯信号转导途径关键基因 *CTR1* 的克隆与表达分析[J]. *分子植物育种*, 2020, 18(3): 827-833.
- WANG F W, XIAO D, LI Y R, HE L F, WANG A Q. Cloning and expression analysis of the gene of a key factor *CTR1* in sugarcane ethylene signal transduction pathway[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(3): 827-833. (in Chinese)
- [15] 姚远, 高峰, 郝金凤, 哈斯, 阿古拉. 甜瓜乙烯信号转导途径关键因子基因 *CTR1* 的克隆及表达特性分析[J]. *生物技术通报*, 2011(11): 83-87.
- YAO Y, GAO F, HAO J F, HA S, A G L. Cloning and expression analysis of a key gene *CTR1* in ethylene signal transduction in *Cucumis melo*[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2011(11): 83-87. (in Chinese)
- [16] 智军海. 桃[*Prunus persica* (L.) Batsch]乙烯信号转导途径基因 *CTR1* 和 *EIN2* 的克隆与表达分析[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2010.
- ZHI J H. Cloning and expression analysis of *CTR1* and *EIN2* involved ethylene signaling[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2010. (in Chinese)
- [17] 李丽, 孙健, 易萍, 饶川艳, 李昌宝, 何雪梅, 零东宁, 肖占仕, 盛金凤, 唐雅园, 李杰民, 郑凤锦. 芒果乙烯受体 *ETR1* 和 *ERS1* 基因的克隆及序列分析[J]. *南方农业学报*, 2018, 49(6): 1053-1060.
- LI L, SUN J, YI P, RAO C Y, LI C B, HE X M, LING D N, XIAO Z S, SHENG J F, TANG Y Y, LI J M, ZHENG F J. Cloning and sequence analysis of ethylene receptor *ETR1* and *ERS1* genes from mango (*Mangifera indica* L.)[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2018, 49(6): 1053-1060. (in Chinese)
- [18] YUAN F, WANG C Y, YI P, LI L, WU G F, HUANG F, HUANG M, GAN T. The effects of combined 1-methylcyclopropene and melatonin treatment on the quality characteristics and active oxygen metabolism of mango fruit during storage[J]. *Foods*, 2023, 12(10): 615-1625.
- [19] MIKULA A, TOMASZEWICZ W, DZIURKA M, KAŻMIERCZAK A, GRZYB M, SOBCZAK M, ZDAŃKOWSKI P, RYBCZYŃSKI J. The origin of the cyathea delgadii sternb. somatic embryos is determined by the developmental state of donor tissue and mutual balance of selected metabolites[J]. *Cells*, 2021, 10(6): 1388.
- [20] LUO C, HE X H, CHEN H, HU Y, OU S J. Molecular cloning and expression analysis of four actin genes (*MiACT*) from mango[J]. *Biologia Plantarum*, 2013, 57(2): 238-244.
- [21] LIU C, ZHAO A, ZHU P, LI J, HAN L, WANG X L, FAN W, LÜ R H, WANG C H, LI Z G, LU C, YU M D. Characterization and expression of genes involved in the ethylene biosynthesis and signal transduction during ripening of mulberry fruit[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0122081.
- [22] THONGKUM M, IMSABAI W, BURNS P, BURNS P, MCATEE P A, SCHAFFER R J, ALLAN A C, KETSA S. The effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on expression of ethylene receptor genes in durian pulp during ripening[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018, 125: 232-238.
- [23] YANG X, SONG J, CAMPBELL-PALMER L, FILLMORE S, ZHANG Z Q. Effect of ethylene and 1-MCP on expression of genes involved in ethylene biosynthesis and perception during ripening of apple fruit[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2013, 78: 55-66.
- [24] EL-SHARKAWY I, KIM W S, EL-KEREAMY A, JAYASANKAR S, SVIRCEV A M, BROWN D C W. Isolation and characterization of four ethylene signal transduction elements in plums (*Prunus salicina* L.)[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(13): 3631-3643.
- [25] ZHOU S, LI J, YIN B, ZHANG X, XU J. Effect of 1-MCP on storage quality and the mechanism involved in ethylene signal transduction in a new early-maturing apple variety 'Taihangzaohong' fruits during cold storage[J]. *Journal of Applied Botany & Food Quality*, 2022, 95: 67-75.

- [26] LECLERCQ J, ADAMS-PHILLIPS L C, ZEGZOUTI H, JONES B, LATCHÉ A, GIOVANNONI J J, PECH J C, BOUZAYEN M. LeCTR1, a tomato *CTR1*-like gene, demonstrates ethylene signaling ability in arabidopsis and novel expression patterns in tomato[J]. *Plant Physiology*, 2002, 130(3): 1132-1142.
- [27] KIEBER J J, ROTHENBERG M, ROMAN G, FELDMANN K A, ECKER J R. CTR1, a negative regulator of the ethylene response pathway in arabidopsis, encodes a member of the raf family of protein kinases[J]. *Cell*, 1993, 72(3): 427-441.
- [28] KLEE H J. Control of ethylene - mediated processes in tomato at the level of receptors[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 53(377): 2057-2063.
- [29] MANZANO S, MARTÍNEZ C, GÓMEZ P, GARRIDO D, JAMILENA M. Cloning and characterisation of two *CTR1*-like genes in *Cucurbita pepo*: regulation of their expression during male and female flower development[J]. *Sexual Plant Reproduction*, 2010, 23: 301-313.