

芒果果实多酚氧化酶 (PPO) 基因的克隆与表达分析

魏婷婷^{1,3} 赵志常^{1*} 汪自松² 黄团² 刘彩华² 罗睿雄¹ 高爱平^{1*}

(¹中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所 海南海口 571101

²广西芒果生物学重点实验室 广西百色 533000

³华中农业大学园艺林学学院 湖北武汉 430070)

摘要: 多酚氧化酶 (Polyphenol oxidase, PPO) 是引起水果褐变的关键酶。为了研究芒果果实中PPO基因的功能, 本试验采用RACE方法从‘贵妃’芒果果实中克隆得到了1个PPO基因, 该基因cDNA序列全长为1930bp, 开放阅读框为1782bp, 编码593个氨基酸。芒果PPO基因编码的多酚氧化酶属于亲水性蛋白质, 分子重量为66.82KD, 等电点为6.95, 不含跨膜结构和信号肽, 为非分泌蛋白, 包含Tyrosinase、PPO1_DWL和PPO1_KFDV保守结构域。芒果PPO蛋白的二级结构无规则卷曲、 β -折叠和 α -螺旋占比分别为63.58%、22.60%和13.83%, 三级结构与模板6els.1.A一致性达70.94%, 可能与C2H2 and C2HC zinc fingers superfamily protein (TT1), Multidrug resistance protein, mate family (TT12) 和Autoinhibited H(+)-ATPase isoform 10 (AHA10) 等存在相互作用。聚类分析表明该蛋白与开心果、橄榄、克莱门柚和甜橙等植物的亲缘关系较近。通过qRT-PCR分析, 芒果PPO基因主要在‘桂七’果皮中表达量较高, 而在‘贵妃’果皮中表达量较低。该基因的克隆及其功能的研究对芒果抗酶促褐变品种的培育以及分子改良具有重大意义。

关键词: 芒果; 多酚氧化酶; 克隆; 表达分析

Cloning and Expression Analysis of Polyphenol Oxidase (PPO) Gene from Mango Fruit

WEI Tingting^{1,3}, ZHAO Zhichang^{1*}, WANG Zisong², HUANG Tuan², LIU Caihua²,
LUO Ruixiong¹, GAO Aiping^{1*}

(¹Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences,
Haikou 571101, Hainan;

²Guangxi Key Laboratory of Mango Biology, Baise 533000, Guangxi;

³College of Horticulture and Forestry, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei)

基金项目: 广西芒果生物学重点实验室开放课题 (GKLBM02202); 国家香蕉产业技术体系项目 (CARS-31-26); 海南省重点研发计划 (ZDYF2020052)。

作者简介: 魏婷婷 (1997—), 女, 硕士, 研究方向为果树种质资源。E-mail: 455029193@qq.com

***通信作者:** 高爱平 (1970—), 男, 博士, 研究员, 研究方向为果树种质资源。E-mail: aipinggao@126.com; 赵志常 (1977—), 男, 博士, 副研究员, 研究方向为热带果树遗传育种及分子生物学。E-mail: longanzz@126.com

Abstract: Polyphenol oxidase (PPO) is a key enzyme that causes fruit browning. In order to study the function of *PPO* gene in mango fruit, a *PPO* gene was cloned from the 'Guifei' mango fruit by RACE method. The full-length cDNA sequence of *PPO* gene was 1930bp and the open reading frame was 1782bp, encoding 593 amino acids. Polyphenol oxidase encoded by *PPO* gene of mango belonged to hydrophilic protein with molecular weight of 66.82KD and isoelectric point of 6.95. It was a non-secretory protein without transmembrane structure or signal peptide, containing the conserved domain of Tyrosinase, PPO1_DWL and PPO1_KFDV. The proportions of random coil, β -pleated sheet and α -helix in the secondary junction were 63.58%, 22.60% and 13.83%. The consistency of the tertiary structure with the template 6els.1.A was 70.94%. There might be interactions with proteins such as C2H2 and C2HC zinc fingers superfamily protein (TT1), Multidrug resistance protein, mate family (TT12), and Autoinhibited H(+)-ATPase isoform 10 (AHA10). Cluster analysis showed that PPO protein of mango was closely related to pistachio, olive, citrus clementina and sweet orange. By qRT-PCR analysis, *PPO* expression level was higher in 'Guiqi' pericarp, but lower in 'Guifei' pericarp. The cloning of this gene and the study of its function were of great significance for the breeding and molecular improvement of mango resistant varieties to enzymatic browning.

Keywords: mango; Polyphenol oxidase; cloning; expression analysis

芒果 (*Mangifera indica* L.) 属漆树科 (Anacardiaceae) 芒果属 (*Mangifera*) 常绿果树, 主要分布于热带、亚热带国家和地区, 是世界第二大热带水果。由于其果肉细腻, 香气宜人, 富含碳水化合物、矿物质、粗纤维、维生素和多酚等物质^[1], 深受人们喜爱, 素有“热带果王”之美誉。芒果果实采后的运输、加工环节易发生褐变, 限制着芒果产业的发展。根据是否由酶参与反应引起, 褐变分为酶促褐变和非酶促褐变两大类, 其中酶促褐变是果实褐变的主要原因^[2]。多酚氧化酶 (Polyphenol oxidase, PPO) 是参与芒果酶促褐变过程的关键酶, 其在有氧条件下, 催化酚类化合物产生醌类物质, 而由醌类物质进一步与细胞内大分子聚合反应产生的色素物质将会沉积在损伤组织表面, 导致水果组织表面发生褐变, 从而导致果实中对人体健康有重要作用的酚类物质减少^[3]。在果树中, *PPO* 基因已经从苹果^[4]、梨^[4]、桃^[4]、草莓^[4]、杏子^[5]、葡萄^[6]等果实中获得了克隆, 而对芒果果实的 *PPO* 基因的研究尚未见到相关报道。

本研究采用RACE方法, 从“贵妃”芒果果实中克隆得到了1个*PPO*基因, 并分析其相关生物学信息, 以进一步研究其功能, 希望为抗酶促褐变的芒果品种的培育提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料的选取及芒果果皮DNA和RNA的提取

本研究选取来自海南省农业农村厅儋州芒果种质资源圃完全成熟的“贵妃”芒和“桂七”芒两个品种的果实, 用刀片取芒果果皮后立即放入液氮速冻, 而后保存在-80℃冰箱备用。

采用多糖多酚植物基因组DNA提取试剂盒和多糖多酚植物总RNA提取试剂盒 (北京天根) 分别提取芒果果皮DNA和RNA, 操作步骤参照试剂盒的说明书进行。RNA的单链结构和RNase的高活性导致RNA极易降解, 因此在RNA的提取过程中, 需使用无RNase活性的耗材, 操作要熟练迅速, 并加入适量的DNase I 酶液 (RNase-free) 去除残留的DNA, 最后用RNase-free双蒸水溶解。提取完成后, 用1.0%的琼脂糖凝胶电泳检测RNA的完整性和DNA是否被完全去除。

1.2 芒果*PPO*基因全长cDNA序列的获得

以提取的RNA为模板, 利用SMARTer™ RACE cDNA扩增试剂盒 (Clontech) 反转录合成芒果RNA的第一链cDNA, 并分别扩增出3'端和5'端的cDNA。对PCR产物进行电泳分析后, 回收目的基因片段, 与pMD-19T连接, 转化大肠杆菌, 鉴定

表1 生物信息学分析软件

生物信息学分析软件	网址	功能
NCBI-BLAST	https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi	序列比对分析
NCBI-ORF	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/	开放阅读框及氨基酸序列查询
NCBI-CDD	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi	保守结构域分析
SWISS-MODEL	http://swissmodel.expasy.org/	蛋白质三级结构预测
DeepTMHMM	https://dtu.biolib.com/DeepTMHMM	跨膜结构预测
SignalP 4.1	https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?SignalP-4.1	信号肽预测
WoLF PSORT	http://www.gen script.com/wolf-psort.html	亚细胞定位
Protparam	www.expasy.ch/tools/protparam.html	蛋白理化性质分析
NetPhos 3.1	https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?NetPhos-3.1	磷酸化位点预测
ProtScale	https://web.expasy.org/protscale/	蛋白质亲水性/疏水性分析
STRING	https://string-db.org/	蛋白相互作用分析

表2 引物序列信息

引物名称	类型	序列
TUBB	内参引物	F: GTCGCTACCTCACTGCTTCA R: CACAGACACTGGACTTGACATTA
PPO	目的基因引物	F: CTATCTTCTTCGCTCATC R: CTTTTCTCTTCCCTCCTA

后将阳性克隆进行测序。根据获得基因的3'端和5'端的序列结果,设计特异引物,进行全长cDNA序列扩增,并进行回收纯化、连接、转化、筛选以及测序。

1.3 芒果PPO基因生物信息学分析

使用NCBI-BLAST对克隆序列比对分析;ORF finder查找芒果PPO基因的开放阅读框并翻译其氨基酸序列;CDD预测芒果PPO蛋白保守结构域;使用在线软件对芒果PPO蛋白的三级结构、跨膜结构、信号肽、亚细胞定位、理化性质、磷酸化位点、亲水性/疏水性及互作蛋白进行分析预测,各网站的具体网址和功能见表1;使用DNAMAN软件进行同源序列比对及二级结构预测;使用MEGA 11构建系统进化树;使用Bioedit软件对蛋白的氨基酸含量进行分析。

1.4 芒果PPO基因的qRT-PCR分析

使用Beacon Designer 7设计荧光定量引物,

以TUBB基因为内参基因,并委托上海生工公司合成,本试验所用引物见表2。使用诺唯赞生物技术有限公司ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix试剂盒进行qRT-PCR反应,体系配制如下:SYBR, 5 μ L, cDNA, 1 μ L, H₂O, 2.4 μ L,上下游引物各0.8 μ L,共10 μ L。qRT-PCR反应条件为:预变性,95 $^{\circ}$ C 30s;循环反应,95 $^{\circ}$ C 10s,60 $^{\circ}$ C 30s,40个循环;熔解曲线采集程序为机器默认,95 $^{\circ}$ C 15s,60 $^{\circ}$ C 60s,95 $^{\circ}$ C 15s。使用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法进行数据整理,计算基因相对表达水平,每个样品设置3次生物学重复。

2 结果与分析

2.1 芒果PPO基因的获得

根据RACE扩增结果进行拼接,最后得到芒果PPO基因的全长cDNA序列,测序后cDNA序列全长

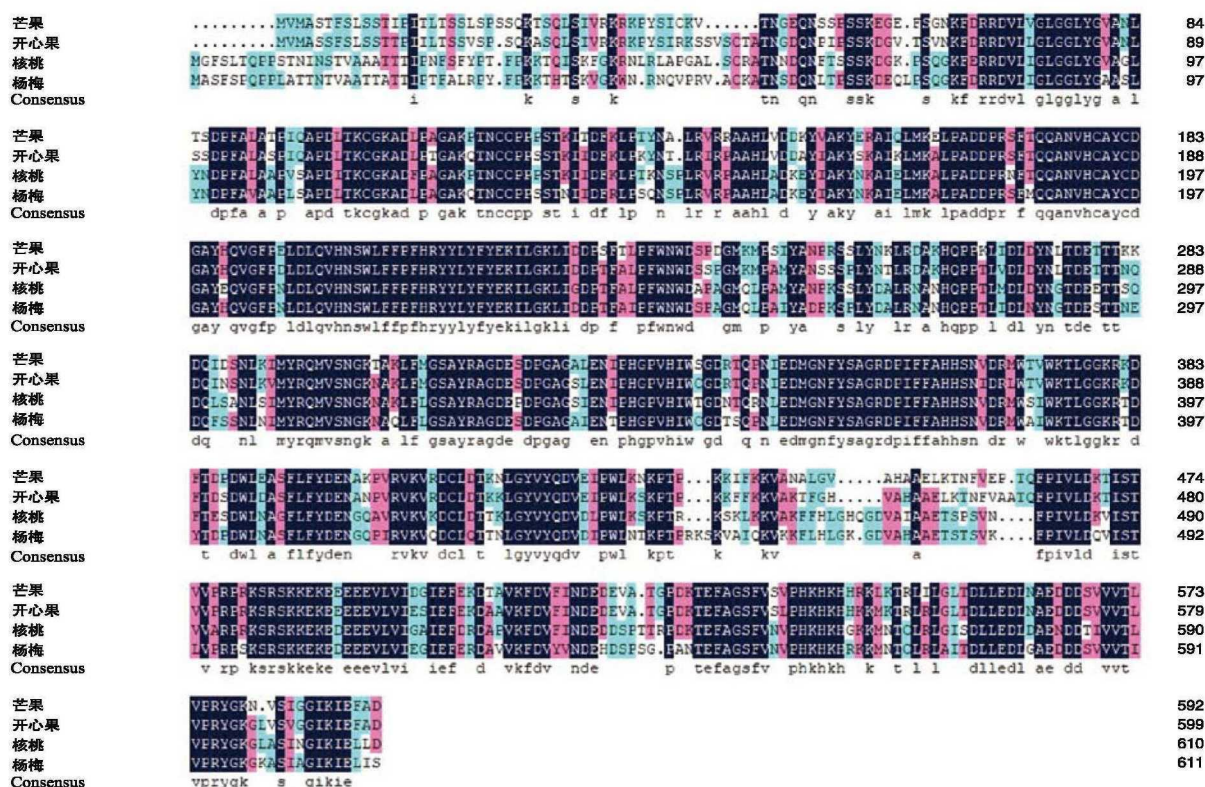


图1 4种作物PPO蛋白序列的比对

为1930bp，开放阅读框为1782bp，编码593个氨基酸。通过测序分析得到的基因序列与NCBI登录的开心果（*Pistacia vera* L.）、核桃（*Juglans regia* L.）、杨梅（*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.）的PPO蛋白序列比对，序列之间具有较高的同源性（图1），确定克隆的基因为芒果PPO基因。

2.2 芒果PPO蛋白基本理化性质

由ProtParam在线分析可知芒果PPO蛋白分子量为66.82KD，等电点（pI）为6.95；共包含9375个原子，原子组成为C₃₀₀₅H₄₆₆₀N₈₀₂O₈₉₁S₁₇；脂肪系数（aliphatic index）为75.62，不稳定指数（instability index）为37.43，说明该蛋白的稳定性较好；其总平均亲水性（grand average of hydropathicity, GRAVY）为-0.503，表明该蛋白是亲水性蛋白。采用Protscale在线分析工具中的Kyte & Doolittle算法进一步分析芒果PPO蛋白的亲水性/疏水性（图2），从整体上看，亲水氨基酸

（负值）多于疏水氨基酸（正值），且554位的亮氨酸分值最高（2.100），疏水性最强，489位的谷氨酸分值最低（-3.633），亲水性最强。利用Bioedit软件对芒果PPO蛋白的氨基酸含量进行分析，结果表明天冬氨酸、赖氨酸、亮氨酸、脯氨酸和丝氨酸含量较高，而半胱氨酸、色氨酸和蛋氨酸含量较少（图3）。

2.3 芒果PPO蛋白的跨膜结构域、信号肽、磷酸化位点与亚细胞定位的预测

利用在线工具DeepTMHMM和SignalP 4.1分别对芒果PPO蛋白的跨膜结构和信号肽进行了预测，图4中没有出现峰信号位置且芒果PPO蛋白的全部氨基酸均位于细胞膜外侧，表明该蛋白不含跨膜结构，图5显示芒果PPO蛋白不含信号肽，表明芒果PPO蛋白为非分泌蛋白，不参与物质的跨膜运输。使用NetPhos 3.1预测芒果PPO蛋白质的磷酸化位点（图6），总共预测出28个丝氨酸磷酸化位点，6个

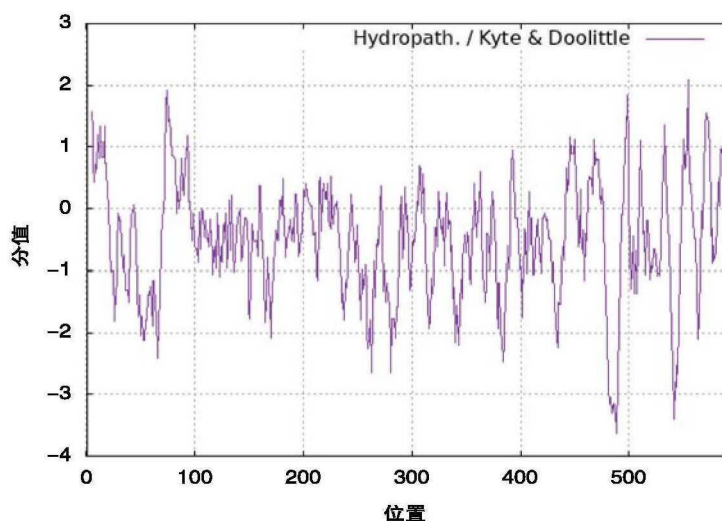


图2 芒果PPO蛋白亲水性/疏水性预测

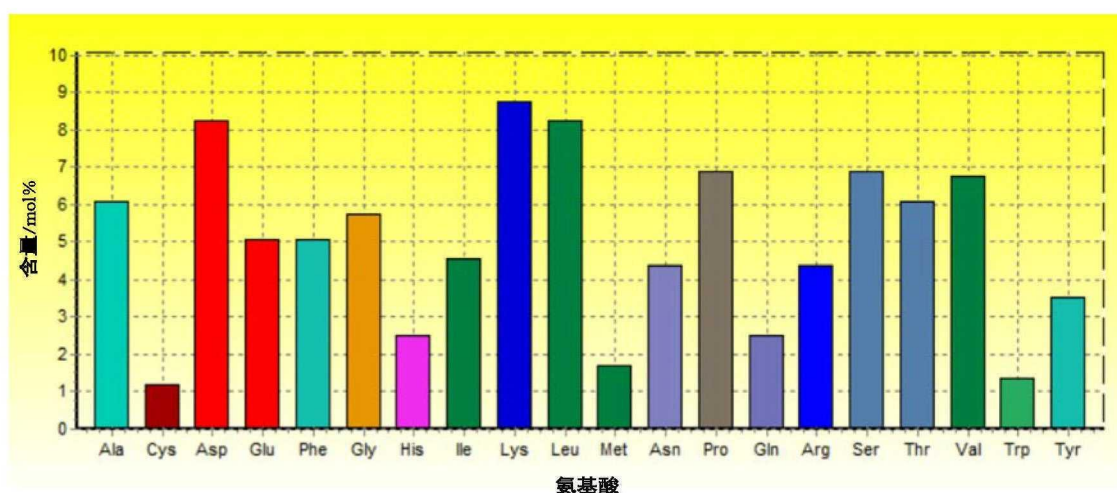


图3 芒果PPO蛋白氨基酸含量

酪氨酸磷酸化位点, 23个苏氨酸磷酸化位点。采用WoLF PSORT在线软件进行亚细胞定位预测, 结果显示该蛋白主要定位于叶绿体中。

2.4 芒果PPO蛋白的结构、互作蛋白预测及保守结构域分析

通过DNAMAN软件预测芒果PPO蛋白的二级结构, 该蛋白的二级结构多数为无规则卷曲和 β -折叠, 占比分别为63.58%和22.60%, 也有少量的 α -螺旋结构, 占比13.83% (图7)。通过Swiss-Model

在线软件预测芒果PPO蛋白三级结构可能的构型 (图8), 该蛋白三级结构与模板6els.1.A一致性达70.94%。STRING软件分析表明该蛋白可能与C2H2 and C2HC zinc fingers superfamily protein (TT1), Multidrug resistance protein, mate family (TT12) 和 Autoinhibited H(+)-ATPase isoform 10 (AHA10) 等蛋白存在相互作用 (图9)。NCBI-CDD分析表明芒果PPO蛋白包含Tyrosinase、PPO1_DWL和PPO1_KFDV这三个保守结构域 (图10)。

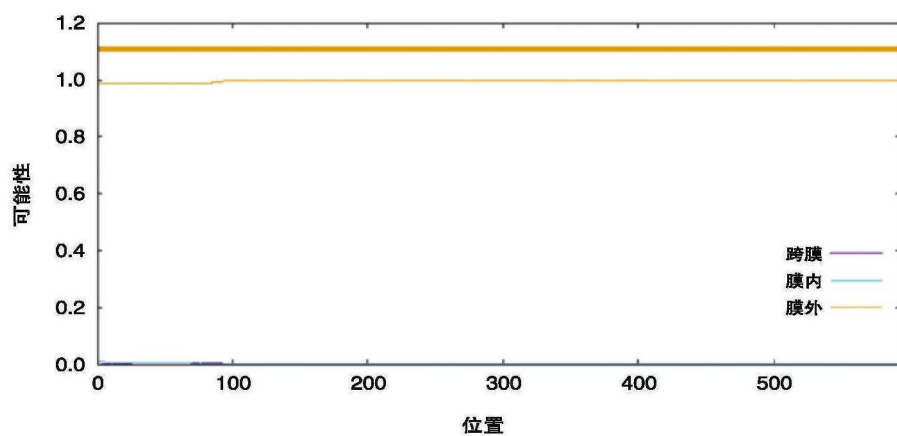


图4 芒果PPO蛋白跨膜结构预测

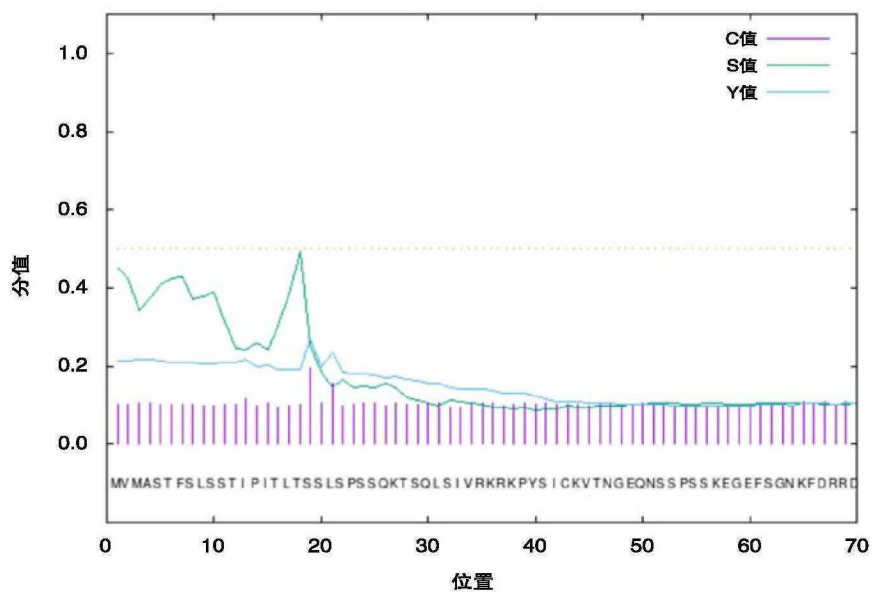


图5 芒果PPO蛋白信号肽预测

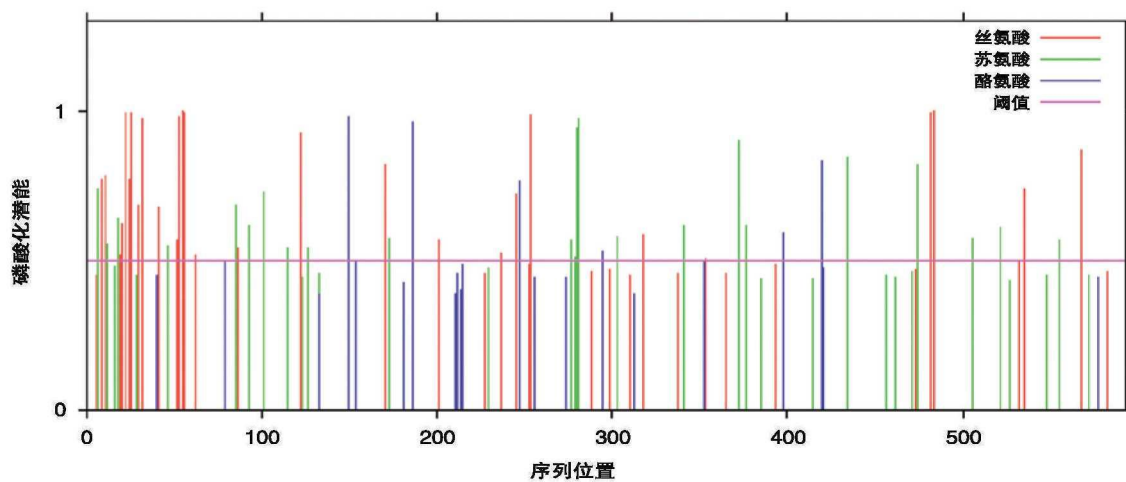


图6 芒果PPO蛋白磷酸化修饰预测

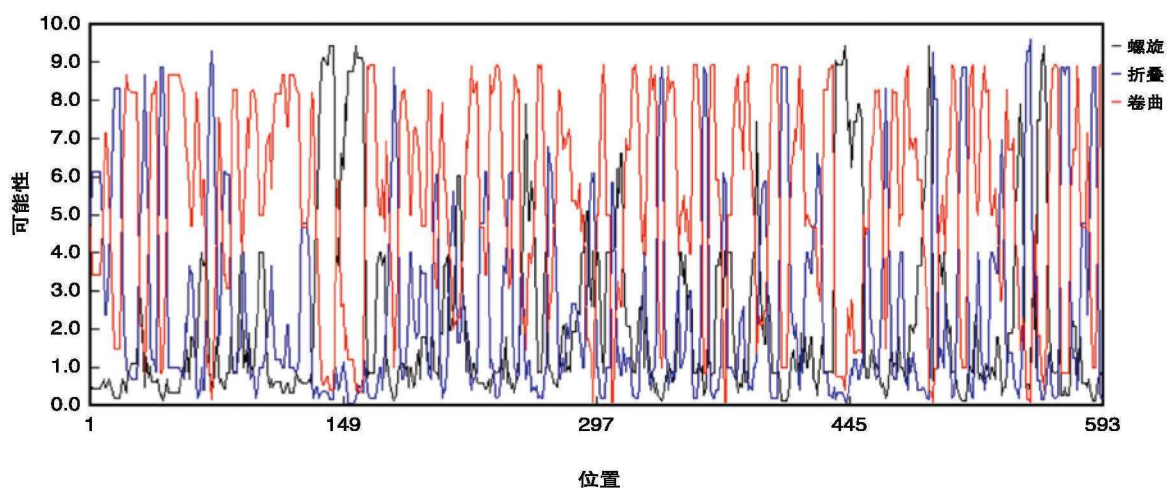


图7 芒果PPO蛋白的二级结构预测

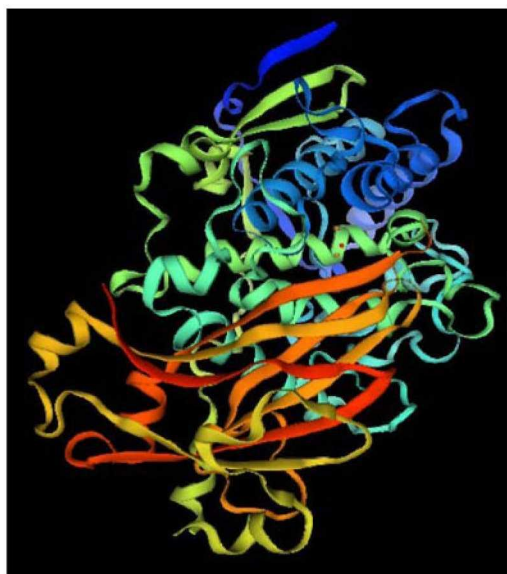


图8 芒果PPO蛋白的三级结构预测

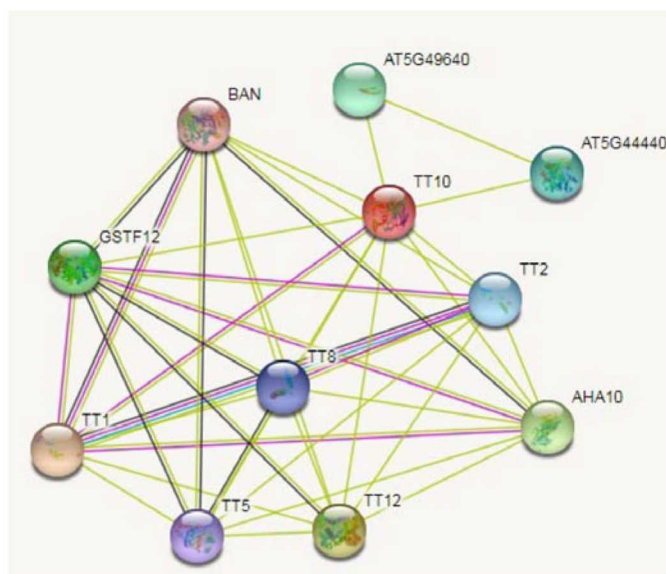


图9 芒果PPO互作蛋白预测

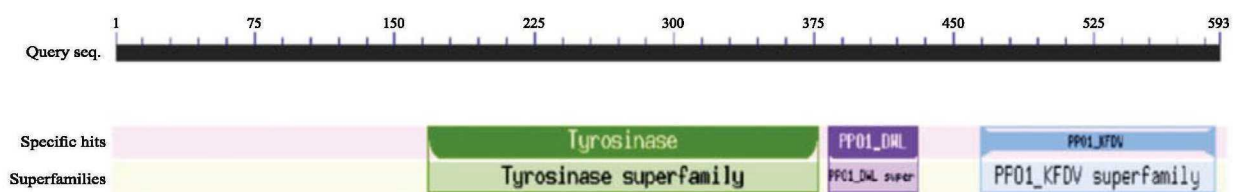


图10 芒果PPO蛋白的保守结构域分析

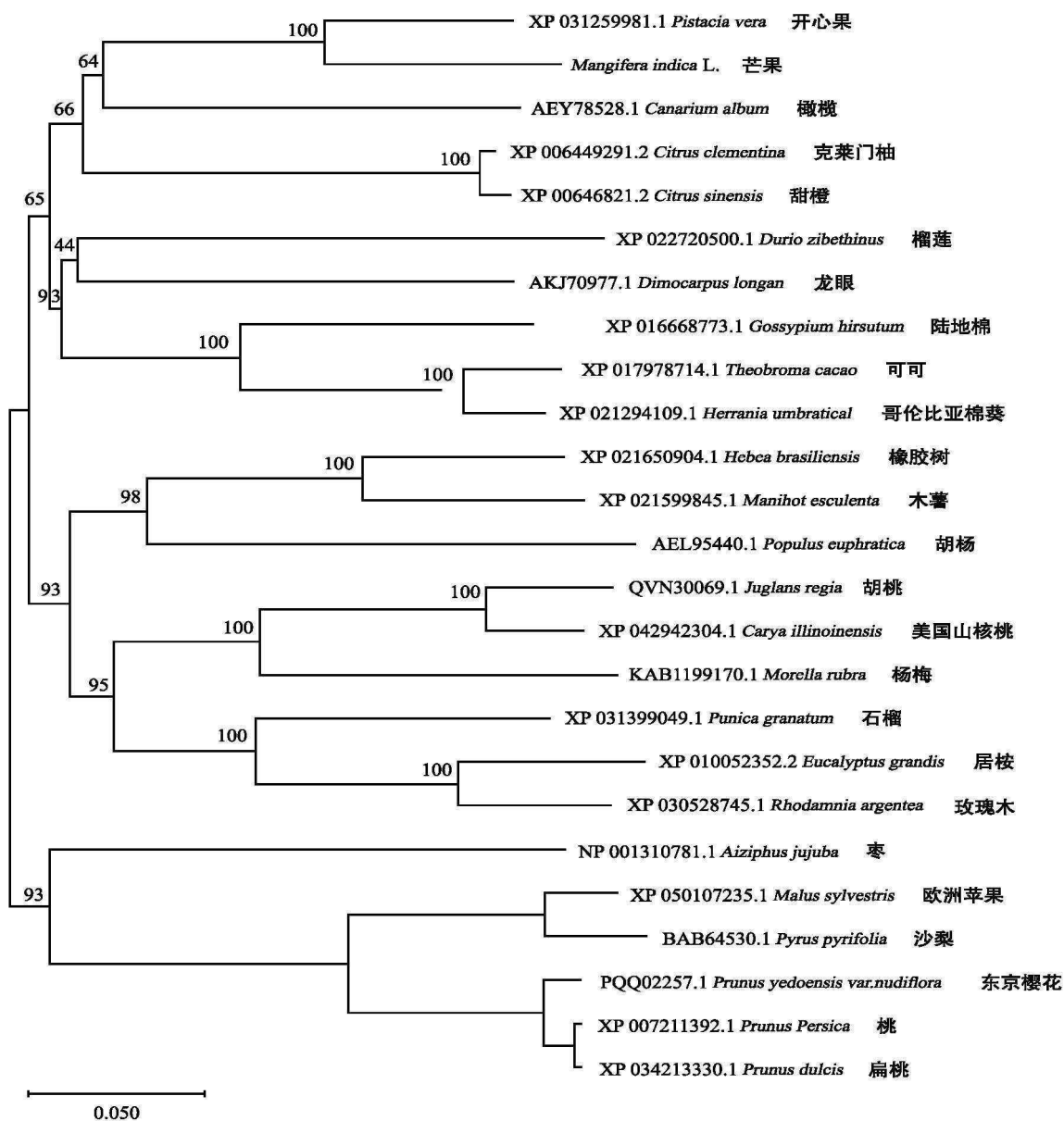


图11 芒果PPO蛋白系统发育树

2.5 芒果PPO蛋白系统进化树构建

在NCBI数据库中对芒果PPO蛋白序列进行比对,利用MEGA 11软件中的Neighbor-Joining法构建系统发育树,结果显示芒果PPO蛋白与开心果、橄榄、克莱门柚和甜橙的亲缘关系较近(图11)。

2.6 芒果PPO基因的qRT-PCR分析

为分析芒果PPO基因在不同芒果品种中的表达模式,通过qRT-PCR分析,该基因主要在绿色品

种‘桂七’果皮中表达量较高,而在红色品种‘贵妃’果皮中表达量较低(图12)。

3 讨论与结论

褐变是果实加工和贮藏过程中最常见的问题^[7],其不仅影响果实外观品质,还会影响果实的质地、风味和营养价值^[8],因此对果实褐变的研究显得尤为重要。酚类物质、酶和活性氧是产生酶促褐变

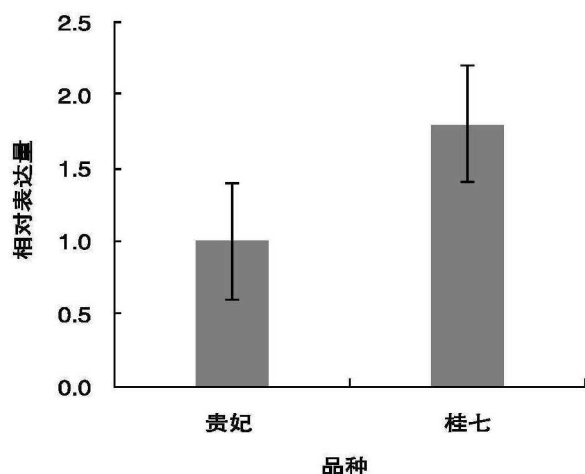


图12 芒果PPO基因在不同着色芒果果实中的表达分析

的3个条件^[9]。PPO是1种广泛存在于植物体内的含铜蛋白酶，在荔枝^[7]、雪花梨^[8]、芒果^[9]等褐变研究中，PPO活性与果实褐变程度呈正相关。用不同浓度钙结合壳聚糖膜、不同浓度的L-半胱氨酸、抗坏血酸、亚硫酸氢钠、柠檬酸以及醋酸处理芒果果实，在一定程度上均能抑制芒果PPO活性的上升，从而抑制芒果果实褐变，保持果实色泽优良^[12,13]。

PPO基因具有多基因家族特性，大多数植物中的PPO都是由多个基因编码，比如番茄含有7个PPO基因^[14]，马铃薯含有12个PPO基因^[15]，香蕉和茶树中至少含有4个PPO基因^[16,17]，小麦和丝瓜的PPO蛋白至少由3个不同的基因编码^[18,19]，而本研究从‘贵妃’芒中成功克隆出1个PPO基因，其PPO基因家族是否还有其他成员，有待进一步研究。以芒果DNA为模板进行PCR扩增，发现芒果PPO编码基因和丝瓜中的PPO编码基因一样没有内含子^[19]，但香蕉^[16]、小麦^[20]、水稻^[21]中的PPO基因含有内含子。芒果PPO蛋白包含多酚氧化酶的典型序列标签：Tyrosinase、PPO1_DWL和PPO1_KFDV，这与黄晨^[22]研究结果一致。

PPO基因的表达较复杂，在不同植物、生长发育阶段和组织中，PPO基因家族的表达模式均不相同^[23]。程丽莉等^[24]表明PPO基因在板栗弱褐变‘YG’品种的胚乳和胚芽中表达量最高，表达差异与果实褐变程度不一致；PPO基因在番茄幼

嫩的花组织和‘橙红丹桂’花的顶壳期表达量最高^[25,26]。本研究中芒果PPO基因在绿色品种‘桂七’果皮中表达量较高，而在红色品种‘贵妃’果皮中表达量较低，这可能与酚类物质含量、PPO等相关酶活性、膜结构、膜脂过氧化作用以及芒果生理状态等相关。

参考文献

- [1] Sivakumar D, Jiang Y, Yahia ME. Maintaining mango (*Mangifera indica* L.) fruit quality during the export chain[J]. Food Research International, 2011, 44(5): 1254–1263.
- [2] 孙蕾, 王大明, 乔勇进, 等. 果实褐变机理及研究进展[J]. 经济林研究, 2002, 2: 92–94.
- [3] 郑晓燕, 谭琳, 艾斌凌, 等. 多酚氧化酶对主要热带水果品质的影响[J]. 中国南方果树, 2017, 46(5): 131–134.
- [4] 闫洪波, 李桂琴, 宋亚伟, 等. 5种蔷薇科树种多酚氧化酶比较基因组学分析[J]. 热带作物学报, 2017, 38(2): 320–327.
- [5] Chevalier T, Mbeguie-A-Mbeguie D, Gaillard F, et al. Molecular cloning and characterization of apricot fruit polyphenol oxidase[J]. Plant physiology, 1999, 4: 119.
- [6] 刘峰娟, 冯作山, 白羽嘉, 等. 无核白葡萄多酚氧化酶基因的克隆与序列分析[J]. 保鲜与加工, 2017, 17(6): 13–19.
- [7] 姚隆洋. 芒果干燥过程品质变化及贮藏稳定性研究[D]. 江南大学, 2020.
- [8] 郑嘉敏. 龙眼果皮PPO的纯化、鉴定及其酶促褐变机制研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2021.
- [9] 王彬, 陈敏敏, 朱海生, 等. 果蔬酶促褐变研究进展[J]. 中国农学通报, 2016, 32(28): 189–194.
- [10] 蒋跃明. 荔枝果实采后果皮褐变的研究[D]. 广州: 中山大学, 1999.
- [11] 杨增军, 王成荣, 冯双庆. 采后浸钙对雪花梨果肉褐变的影响[J]. 园艺学报, 1995, 22(3): 225–229.
- [12] 蒋依辉, 何万欢, 孟祥春, 等. 壳聚糖涂膜结合浸钙处理对芒果褐变及两种酶活性的影响[J]. 包装工程, 2010, 31(13): 7–10, 31.
- [13] 汤凤霞, 魏好程, 曹禹. 芒果多酚氧化酶的特性及抑制研究[J]. 食品科学, 2006, 12: 156–160.
- [14] Newman SM, Eannetta NT, Yu HF, et al. Organisation of the tomato polyphenol oxidase gene family[J]. Plant Molecular Biology, 1993, 21(6): 1053–1058.
- [15] 王丽, 王万兴, 索海翠, 等. 马铃薯多酚氧化酶基因家族生物信息学及表达分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2019, 45(6): 601–610.
- [16] Gooding PS, Bird C, Robinson SP. Molecular cloning and

»» (下转第70页)

重点,培育一批“大而优”“小而美”且有影响力的农产品品牌。鼓励龙头企业加强自主创新,打造一批具有较强竞争力的企业品牌和产品品牌,增强商标注册、专利申请的热情。扎实推进“一村一品”绿色食品、有机食品、地理标志产品的“两品一标”认证;加强品牌创建与保护工作,如积极申报全国乡村特色产品、中国农业品牌目录、全国名特优新农产品认定等。利用冬交会、消博会、农展会、丰收节等渠道促进品牌营销,以及利用微博、微信、抖音视频等现代信息传播工具,形成线上线下相结合的营销策略,不断提升“一村一品”产品知名度,提升品牌影响力。

(五)“筑巢引凤”,加强农村专业人才培养

在“一村一品”乡村特色产业的打造过程中,从主导产品的确定到产品的生产、加工、销售等一系列环节,农民都扮演着重要的角色,因此对他们专业技能和经营能力也提出了更高要求。为此,各地要制定“筑巢引凤”奖补优待政策,吸纳更多的外出农民工、大学生返乡创业,发挥好乡贤能人作用,助推“一村一品”发展。此外,围绕主导产业,大力开展实用技术和职业技能培训,培养有知识、懂技术、会经营和善管理的生产型、复合型高级人才,为“一村一品”发展提供人才支撑。

参考文献

- [1] 计思佳,陈创森.海口施茶村以党建为引领发展特色产业和生态旅游[N].海南日报,2023-03-24.
- [2] 唐春霞.破解农村发展“瓶颈”实施“村集体公司+龙头企业+农户”模式 抱罗镇抱功村壮大村集体经济惠及村民[N].侨乡文昌报,2020-03-06.
- [3] 张文君.东方三家镇红草村发展鳄鱼特色养殖,助推乡村振兴[N].海南日报,2022-04-07.
- [4] 李学山,孟凡盛,吴启迪.澄迈县沙土村:种地瓜种出的“全国乡村特色产业亿元村”[EB/OL].<http://hi.people.com.cn/n2/2022/0711/c231190-40032599.html>,2022-07-11.
- [5] 陈钰婷.海口美兰区茄苳村:让田园成“游园”流量变“留量”[N].海口日报,2022-10-10.
- [6] 王胜.“一村一品”引智助推海南农村经济发展[N].海南日报,2013-12-17.
- [7] 操戈,邓卫哲.海南昌江县打造香水菠萝“一村一品”特色产业[N].农民日报,2019-04-17.
- [8] 操戈,邓卫哲.海南乐东:“三品”战略助推热带农业提质增效[N].农民日报,2021-11-24.
- [9] 王玮.海南自贸港热带特色高效农业发展路径探索[J].中国农学通报,2022,38(21):158-164.
- [10] 何鸿,黄海令,牟爽,等.推进海南撂荒地复耕工作的建议[N].海南日报,2022-06-29.
- [11] 段勇兵,鲍高亮.完善海南农产品冷链物流 助力热带特色高效农业发展[J].今日海南,2022-11-15.
- [12] 海南省统计局.海南省第三次全国农业普查主要数据公报[N].海南日报,2018-01-21.
- [13] 开发与应用[J].杭州:中国水稻科学,2011,25(1):37-42.
- [14] 黄晨.茶树多酚氧化酶基因的克隆及其对胁迫的响应[D].南京:南京农业大学,2018.
- [15] Carsten G, Christoph E, Bernt K.The crystal structure of catechol oxidase: New insight into the function of type-3 copper proteins[J]. Accounts of chemical research,2002, 35(3):183-191.
- [16] 程丽莉,程运河,兰彦平,等.板栗PPO基因克隆及生物信息学分析[J].西南农业学报,2020,33(7):1360-1365.
- [17] Thipyapong P, Joel DM, Steffens JC. Differential expression and turnover of the tomato polyphenol oxidase gene family during vegetative and reproductive development[J]. Plant physiology,1997,113(3):707-718.
- [18] 母洪娜,王良桂,孙陶泽.桂花多酚氧化酶(PPO)基因的克隆及表达分析[J].分子植物育种,2017,15(2):441-446.
- [19] characterisation of banana fruit polyphenol oxidase[J]. Planta,2001,213(5):748-757.
- [20] 郑楚楚.茶树PPO基因家族的表达及SNP分析[D].长沙:湖南农业大学,2019.
- [21] Anderson JV, Morris CF.Purification and analysis of wheat grain polyphenol oxidase (PPO) protein[J]. Cereal Chemistry,2003,80(2):135-143.
- [22] 朱海生,康娟,刘建汀,等.丝瓜多酚氧化酶PPO基因家族的克隆与表达分析[J].核农学报,2018,32(8):1502-1512.
- [23] He XY, He ZH, Zhang LP, et al. Allelic variation of polyphenol oxidase (PPO) genes located on chromosomes 2A and 2D and development of functional markers for the PPO genes in common wheat[J]. Theoretical and Applied Genetics,2007,115(1):47-58.
- [24] 杨杰,曹卿,王军,等.水稻多酚氧化酶基因功能标记的

“
(上接第17页)