

引用格式:

邹昂霖, 徐向丽, 雷境涛, 宋卫武, 何鑫玺, 王帅斌, 蒲文宣, 彭宇, 傅志强, 刘志. 烟草PPO基因家族全基因组鉴定及其在烘烤过程中的表达分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2026, 52(2): 27–35.
ZOU A L, XU X L, LEI J T, SONG W W, HE X X, WANG S B, PU W X, PENG Y, FU Z Q, LIU Z. Genome-wide identification of PPO gene family in *Nicotiana tabacum* and their expression analysis during the flue-curing process[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2026, 52(2): 27–35.
投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



烟草PPO基因家族全基因组鉴定及其在烘烤过程中的表达分析

邹昂霖¹, 徐向丽^{2*}, 雷境涛¹, 宋卫武², 何鑫玺², 王帅斌², 蒲文宣², 彭宇², 傅志强¹, 刘志¹

(1. 湖南农业大学农学院, 湖南 长沙 410128; 2. 湖南中烟工业有限责任公司技术中心, 湖南 长沙 410007)

摘要: 基于最新公布的普通烟草基因组数据, 采用生物信息学方法鉴定获得13个*NtPPOs*基因, 家族成员基因结构相似, 蛋白基序保守; 所有*NtPPOs*均定位至具体的染色体上; 系统进化树分析结果显示, 烟草多酚氧化酶(PPO)蛋白与番茄、马铃薯的关系较近, 与大豆的关系较远。以‘翠碧一号’和‘K326’的中、上部成熟叶为材料, 分别采用Photoshop像素统计法和qRT-PCR等分析了烟叶烘烤变黄末期和定色初期的褐变特征、PPO活性及其家族基因的表达差异, 结果显示, 在烘烤过程中, ‘翠碧一号’和‘K326’烟叶的褐变率与PPO活性变化趋势同步, 二者呈极显著正相关, 且‘翠碧一号’的褐变率和PPO活性均显著高于‘K326’的; *NtPPOs*基因在不同叶位、品种及烘烤时期的表达模式不同, 大多数*NtPPOs*基因在上部叶的表达量高于中部叶的, 而*NtPPO11*和*NtPPO13*在2个品种中均不表达; 大部分*NtPPOs*基因在‘翠碧一号’变黄末期和定色初期叶片中的表达量高于同期‘K326’的, 其表达水平与PPO活性的变化趋势基本一致。综上, 在烟叶烘烤过程中, PPO家族不同基因的表达差异影响了PPO活性, 从而导致了烟叶褐变程度的差异。

关键词: 烟草; 多酚氧化酶(PPO)活性; PPO基因家族; 烟叶褐变; 烘烤过程

中图分类号: S572

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2026)02-0027-09

Genome-wide identification of PPO gene family in *Nicotiana tabacum* and their expression analysis during the flue-curing process

ZOU Anglin¹, XU Xiangli^{2*}, LEI Jingtao¹, SONG Weiwu², HE Xinxi², WANG Shuaibin²,
PU Wenxuan², PENG Yu², FU Zhiqiang¹, LIU Zhi¹

(1. College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China;

2. Technology Center, China Tobacco Hunan Industrial Co., Ltd., Changsha, Hunan 410007, China)

Abstract: Thirteen *NtPPO* genes were identified from the newly published genome of *Nicotiana tabacum* L. using bioinformatics methods. The gene structures of the family members were similar, and their protein motifs were conserved. All *NtPPOs* were mapped to specific chromosomes. The results of phylogenetic analysis showed that tobacco polyphenol oxidase(PPO) proteins are more closely related to those of tomato and potato, but are distantly related to those of soybean. The middle and upper mature leaves of the cultivars ‘CB-1’ and ‘K326’ were used as materials. Photoshop pixel method and qRT-PCR were used to analyze the browning characteristics, PPO activity and expression of PPO family genes in tobacco leaves at the later yellowing and color-fixing stages. The results showed that during the curing process, the browning rate and PPO activity of tobacco leaves of cultivars ‘CB-1’ and ‘K326’ changed synchronously, and exhibited a highly significant positive correlation. The browning rate and PPO activity of cultivar ‘CB-1’ were significantly higher than those of cultivar ‘K326’. The expression patterns of *NtPPO* genes varied with leaf position,

收稿日期: 2025-06-03

修回日期: 2025-11-04

基金项目: 湖南中烟工业有限责任公司科技项目(KY2023YC0019)

作者简介: 邹昂霖(2000—), 男, 湖南娄底人, 硕士研究生, 主要从事烟草育种与栽培研究, 190178624@qq.com; *通信作者, 徐向丽, 博士, 副研究员, 主要从事烟草育种与分子生物学研究, xuxl1010@hngytobacco.com

cultivar, and curing stage. The expression levels of most *NtPPO* genes in the upper leaves were higher than those in the middle leaves, while *NtPPO11* and *NtPPO13* were not expressed in either cultivar. The expression levels of most *NtPPO* genes in 'CB-1' leaves were higher than those in 'K326' leaves at the later yellowing and color-fixing stages, which was basically consistent with the trend of PPO activity. In summary, during the curing process of tobacco leaves, differential expression of *PPO* family genes affects PPO activity, thereby leading to the differences in the degree of browning of tobacco leaves.

Keywords: *Nicotiana tabacum*; polyphenol oxidase(PPO) activity; *PPO* gene family; browning in tobacco leaf; flue-curing process

多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)是一种可与铜离子结合的金属蛋白酶,由核基因编码并受多基因控制,广泛分布于动物、植物、真菌和细菌中^[1]。PPO由N末端转运肽、C末端保守结构域和酪氨酸酶(tyrosinase)结构域这3个典型保守结构域组成^[2],PPO先通过核基因编码合成前体蛋白,再通过N末端转运肽将前体蛋白转运到质体,同时C末端保守结构域发生水解剪切,使无活性的前体蛋白转变为具有催化功能的成熟酶形式^[3]。根据底物类型的不同,可将PPO分为酚酶、酪氨酸酶、儿茶酚酶、单酚氧化酶、邻苯二酚氧化酶等^[4]。

PPO是烟草植株中一种重要的酶,在生长发育过程中可抵御外部胁迫,也会通过酶促褐变反应影响烟叶品质^[5-6]。在有氧条件下,PPO催化烟叶细胞中的酚类化合物氧化成醌,醌进一步反应生成黑色素^[7]。在正常情况下,PPO主要存在于叶绿体和内囊体等质体中,而酚类底物存在于液泡中,两者之间被生物膜隔离^[8]。在烟叶烘烤过程中,细胞结构受损或生物膜破坏使底物多酚类物质和PPO相互接触并被活化,同时大量氧气的进入,诱发了酶促褐变反应的发生^[9]。烘烤期间发生的酶促褐变反应不仅引起烟叶挂灰、色泽劣变等现象,还会降低烟叶致香物质的含量,进而影响烟叶品质^[10],而这一劣变过程与PPO活性变化密切相关^[11-13]。

PPO由多基因家族编码。李琼等^[14]和刘银松等^[15]分别通过不同的烟草基因组数据库鉴定出了10个和12个*PPO*基因,并分析了它们在烟草各个组织、器官和不同成熟度烟叶中的表达情况,但一些基因的信息还不够完整。最近,Nicomics网站公布了最新的普通烟草基因组数据库序列^[16],本研究利用该数据库对烟草*PPO*基因家族成员进行鉴定,并分析了不同品种、不同部位和不同烘烤时期的烟叶褐变

情况、PPO活性变化规律及其与家族基因表达之间的关系,旨在为解析烟草*PPO*基因功能、揭示烟叶烘烤褐变分子调控机制及优化烟叶品质提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

以烤烟品种‘翠碧一号’和‘K326’为材料。

1.2 方法

1.2.1 烟草*PPO*基因的鉴定

从Nicomics网站(<http://lifenglab.hzau.edu.cn/Nicomics/>)获取烟草PPO蛋白序列,从茄科基因组网站(<https://solgenomics.net/>)获取番茄和马铃薯PPO蛋白序列,从EnsemblPlants网站(<http://plants.ensembl.org/index.html>)获取大豆PPO蛋白序列。以番茄PPO蛋白序列为种子序列,在Nicomics烟草基因组数据库(<http://lifenglab.hzau.edu.cn/Nicomics/Blast/index.php>)中进行BLAST比对,再在NCBI保守结构域数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>)中对获得的烟草PPO进行蛋白结构域分析,筛选包含PPO蛋白典型结构域的序列,用于后续研究。

1.2.2 烟草*PPO*基因家族进化树的构建

利用ClustalX软件对普通烟草、本氏烟草、大豆、马铃薯和番茄的*PPO*基因序列进行比对,采用MEGAX的最大似然法(Bootstrap值设为1 000)构建系统进化树。

1.2.3 烟草*PPO*基因的理化性质、染色体定位和基因结构分析

利用基因结构可视化在线平台GSDS(Gene Structure Display Server)分析烟草*PPO*基因结构并

绘制基因结构图;运用DNAMAN 6.0软件(按默认参数设置)对烟草PPO家族成员的保守结构域的氨基酸组成进行可视化分析;借助MEME保守基序在线分析工具(<http://meme-suite.org/tools/meme>),设置提取20个基序,最小基序长度为5 aa、最大基序长度为300 aa,完成对烟草PPO蛋白保守基序的鉴定与分析。

1.2.4 不同品种、部位和烘烤时期烟叶褐变率、PPO酶活性测定及*NtPPOs*基因表达分析

‘翠碧一号’烟叶在烘烤中表现为变黄速度较慢,变褐速度较快,且易烤性和耐烤性较差^[17];‘K326’上部叶在烘烤中变黄和变褐速度均较快,耐烤性较差,易烤性较好,下部叶表现与上部叶完全相反,中部叶的易烤性和耐烤性介于上部叶和下部叶之间^[18]。于2023年4月在湖南省浏阳市官渡镇种植2个品种,分别于2023年7月4日和7月12日采摘中部(8~13位叶)、上部(15~18位叶)成熟烟叶,采用气流下降式密集型烤房进行烘烤,分别于7月7日和7月14日取中部、上部变黄末期烟叶,于7月8日和7月15日取定色初期烟叶。

参照文献[19]的方法,分别选取烘烤变黄末期(Y)和定色初期(C)的烟叶,采用Photoshop像素法测定烟叶褐变区域占烟叶整体面积的比例,计算褐变率。

分别选取成熟期(M)及烘烤变黄末期(Y)和定色初期(C)的烟叶,去除主脉与较大的支脉(每份样品3个生物学重复),经液氮速冻后置于-80℃冰箱保存备用。试验时在液氮中将样品研磨成粉,采用北京索莱宝科技有限公司生产的多酚氧化酶活性检测试剂盒和BioTek Epoch全波长酶标仪测定PPO活性,采用SPSS 23软件中的最小显著差数法(LSD)对数据进行差异显著性分析。

利用GenStar RNA提取试剂盒提取RNA,运用Primer Premier 6.0软件设计基因引物(表1),以SYBR Premix Ex Taq(Takara公司)试剂盒为反应体系,采用两步法对*PPO*基因在不同品种、部位和烘烤时期烟叶中的相对表达量进行qRT-PCR测定,每份样品设计3个生物学重复。设置循环条件:95℃预变性10 min;95℃变性10 s,60℃退火及延伸30 s,共循环40次。采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 算法^[20]计算相对表达量。

表1 烟草*PPO*基因家族成员扩增引物

Table 1 Amplification primers for qRT-PCR analysis of tobacco <i>PPO</i> gene family members		
基因ID/名称	正向引物序列(5'—3')	反向引物序列(5'—3')
Nta24g03870.1	TTCGTCCTGCAGCTCATACT	AGGGAAGAAAAGCCACGAGA
Nta03g28100.1	GCCATGTATGCGAACCGTAG	GATCCGCTCCATTGAAGTCG
Nta15g17370.1	TCCTGTCCACATTTGGGTG	TGGGAATAGAAAAGCGGGTC
Nta04g22740.1	CACCATCACATAAGCACAA	TTCCTCCACCATCAACCA
Nta16g14050.1	CCAGCTTGCCACATGTTTCAT	CCAAACCACAGTCCTCAAGC
Nta19g09140.1	ACATTGGCGTGGTGGCAGTAA	GTGCGGGATACGGATTGCGGTA
Nta06g30520.1	TAGCAAGTCCCATCCCATCC	CCGGGATAGGAGGACAACAA
Nta03g28080.1	CGACAACGGCGAACATCAT	TAGGCACTATCGGCGGAAT
Nta16g13960.1	GTTCAGTTCCGCCAGCAAGCA	GCTCGTCCGCATTCACTGTCTT
Nta19g09130.1	AATCGTGGCTTTTCTTCCCG	TCGAACATAGCAGGCAAACG
Nta15g17450.1	GTTTCCAACAGGGTCCAAGC	TTTGCCAGCGACGGTGTAT
Nta16g13930.1	ACATTGGCGTGGTGGCAGTAA	GTGCGGGATACGGATTGCGGTA
Nta16g14130.1	CCTGGAGGTGCGTGTTGACTA	TTGGCATGGTGATCGGGAAGGA
<i>NtActin</i>	ACCTCTATGGCAACATTGTGCTCAG	TGGGAGCCAAAGCGGTGATT

2 结果与分析

2.1 烟草*PPO*基因的鉴定及其理化性质

结合结构域鉴定和蛋白序列同源搜索方法,基于普通烟草基因组数据,共鉴定出13个*NtPPOs*基因(表2)。各*NtPPOs*基因之间的碱基编码序列、氨基

酸序列长度和相对分子质量差异较小,其中*NtPPO12*的氨基酸序列长度最长,达633 aa,相对分子质量为71.83 kD;*NtPPO1*的氨基酸序列长度最短,为578 aa,相对分子质量为66.37 kD。13个成员的等电点为5.76~8.74,其中,10个*NtPPOs*的等电点

小于7，偏酸性；3个*NtPPOs*的等电点大于7，偏碱性。疏水性分析结果显示，13个蛋白的疏水性指数

表2 烟草*PPO*基因的特征

Table 2 The characteristics of <i>PPO</i> genes in tobacco						
基因名称	基因ID	编码序列长度/bp	氨基酸序列长度/aa	等电点	相对分子质量/kD	蛋白疏水性指数
<i>NtPPO1</i>	Nta24g03870.1	1 737	578	6.31	66.37	-0.53
<i>NtPPO2</i>	Nta03g28100.1	1 797	598	6.17	66.34	-0.38
<i>NtPPO3</i>	Nta15g17370.1	1 776	591	6.24	66.90	-0.52
<i>NtPPO4</i>	Nta04g22740.1	1 869	622	7.65	69.28	-0.43
<i>NtPPO5</i>	Nta16g14050.1	1 788	595	6.26	67.22	-0.49
<i>NtPPO6</i>	Nta19g09140.1	1 791	596	5.76	67.27	-0.49
<i>NtPPO7</i>	Nta06g30520.1	1 746	581	6.74	66.53	-0.45
<i>NtPPO8</i>	Nta03g28080.1	1 824	607	6.81	67.46	-0.43
<i>NtPPO9</i>	Nta16g13960.1	1 767	588	6.53	66.68	-0.53
<i>NtPPO10</i>	Nta19g09130.1	1 791	596	5.76	67.27	-0.49
<i>NtPPO11</i>	Nta15g17450.1	1 803	600	8.74	67.62	-0.50
<i>NtPPO12</i>	Nta16g13930.1	1 902	633	6.61	71.83	-0.49
<i>NtPPO13</i>	Nta16g14130.1	1 806	601	8.51	67.71	-0.48

2.2 烟草*PPO*基因的染色体定位

由图1可知，13个*NtPPOs*基因都有具体的染色体定位信息，其中4号、6号和24号染色体上都只有

1个*NtPPO*基因，3号、15号和19号染色体上各有2个*NtPPOs*基因，16号染色体上有4个*NtPPOs*基因。

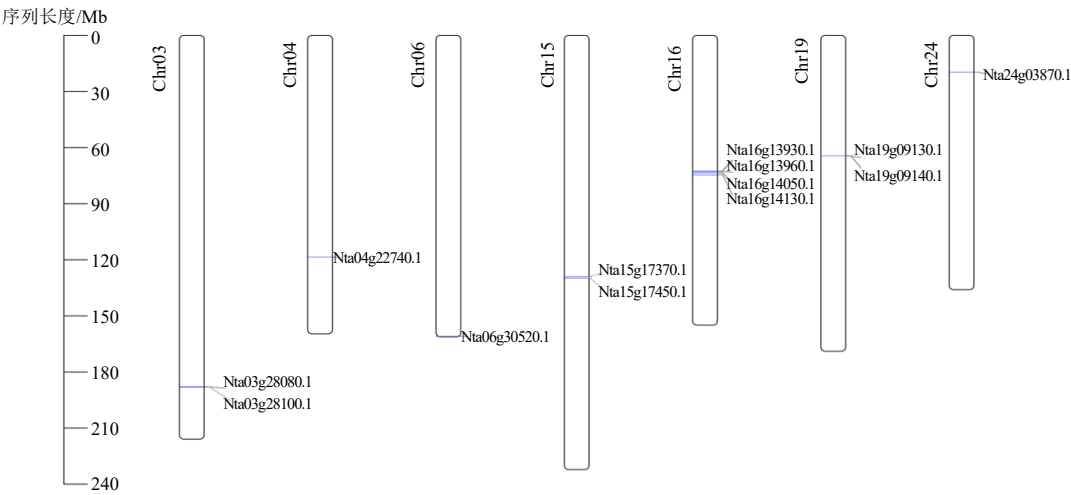


图1 烟草*PPO*基因的染色体分布

Fig. 1 Chromosomal location of *PPO* genes in tobacco

2.3 烟草*PPO*基因和蛋白质结构

*NtPPOs*的内含子个数为0~2个，其中*NtPPO3*、*NtPPO5*、*NtPPO6*、*NtPPO9*、*NtPPO10*和*NtPPO12*不含内含子，*NtPPO2*、*NtPPO4*、*NtPPO11*和*NtPPO13*仅含1个内含子，而*NtPPO1*、*NtPPO7*和

*NtPPO8*则含有2个内含子(图2)。由图3可以看出，各*NtPPO*蛋白的保守基序(motif)组成与整体分布位置基本一致，仅存在2处特异性差异：一是*NtPPO2*蛋白中的motif 19位置与其他*NtPPOs*蛋白的不一致；二是*NtPPO8*中多1个motif 19。

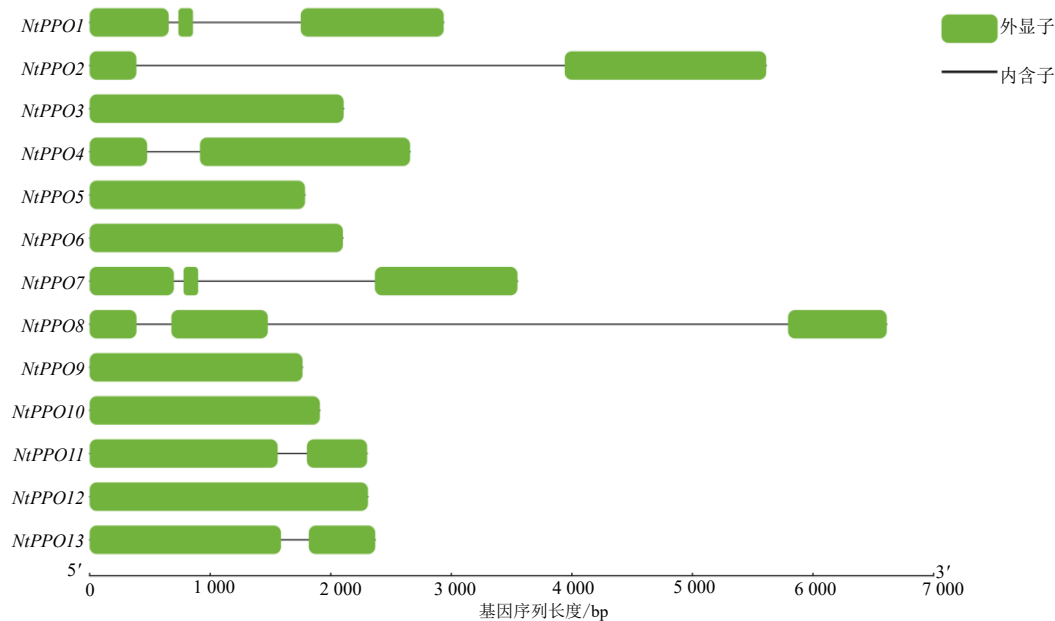


图2 烟草*PPO*基因结构

Fig. 2 *PPO* gene structure in tobacco

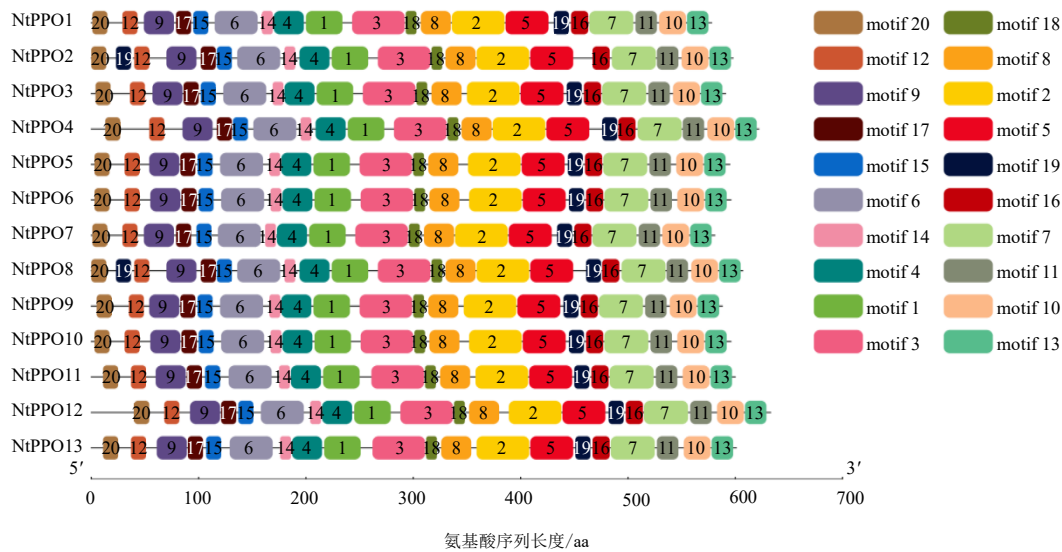


图3 烟草*PPO*蛋白的motif结构

Fig. 3 Motif structure of *PPO* protein in tobacco

2.4 烟草*PPO*家族成员进化分析

为了解烟草*PPO*家族成员的遗传关系和进化历程，根据*PPO*蛋白保守结构域中氨基酸的相似性，对大豆、本氏烟草、普通烟草、马铃薯和番茄共51个*PPO*同源蛋白序列进行分析并构建进化树(图4)。从图4可以看出，*PPO*蛋白可分为3个亚族，番茄和马铃薯中各有1个成员各占1个亚族，表明这2个成

员与其他成员亲缘关系较远，而其他49个成员共聚为1个亚族。据此推测番茄和马铃薯*PPO*蛋白形成独立进化分支，可能是物种特异性功能进化的结果。另外，普通烟草与本氏烟草之间的*PPO*蛋白亲缘关系最近，与番茄和马铃薯的*PPO*蛋白亲缘关系较近，而与大豆*PPO*蛋白的亲缘关系较远。

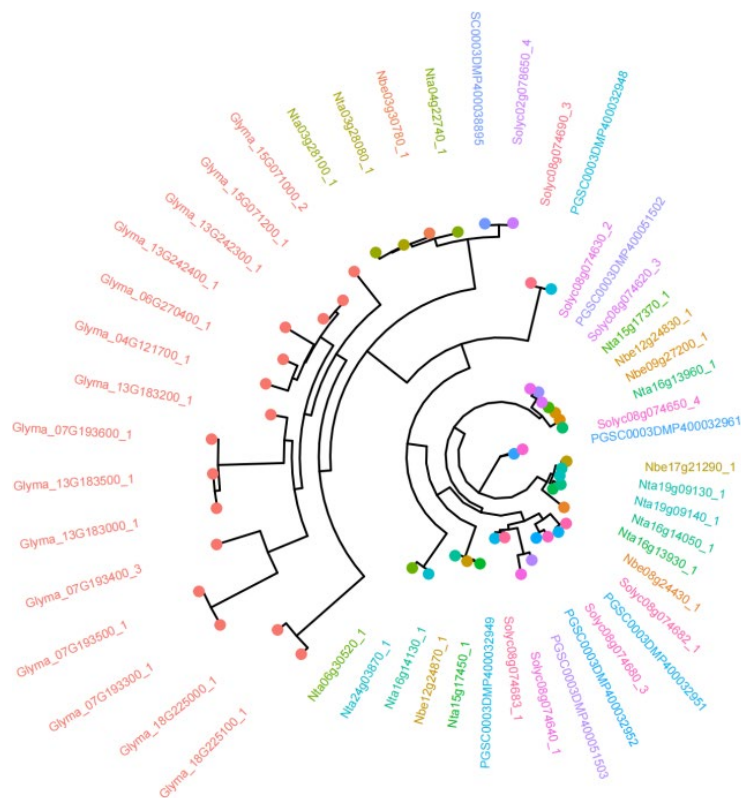


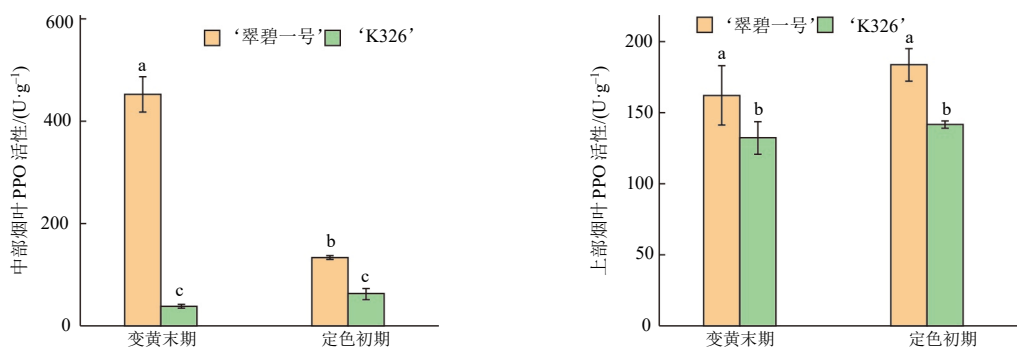
图4 大豆、本氏烟草、普通烟草、马铃薯和番茄的PPO进化分析结果

Fig. 4 Phylogenetic analysis of PPO in soybean, *Nicotiana benthamiana*, *Nicotiana tabacum*, potato and tomato

2.5 不同品种、部位和烘烤时期烟叶PPO活性与褐变率

本研究测定了‘翠碧一号’和‘K326’中、上部烟叶在烘烤过程中变黄末期与定色初期的PPO活性,结果(图5)显示:‘翠碧一号’中部烟叶PPO活

性随烘烤进程显著下降,而上部烟叶的变化不大;‘K326’中部及上部烟叶PPO活性在2个烘烤时期的变化都不明显;‘翠碧一号’中部和上部烟叶PPO活性在变黄末期与定色初期都显著高于‘K326’的。



同一指标不同小写字母表示2个品种不同时期间的差异有统计学意义($P<0.05$)。

图5 不同品种、部位和烘烤时期烟叶PPO活性

Fig. 5 PPO activity in tobacco leaves of different cultivars, parts, and flue-curing stages

从图6和图7可以看出:‘K326’的褐变率较低,烘烤变黄末期和定色初期2个时期的褐变率无显著差异,且中部叶的褐变率低于上部叶的;‘翠碧一

号’的褐变率较高,随烘烤进程推进褐变率呈上升趋势;整体来看,不同叶位、不同烘烤时期下,‘翠碧一号’的烟叶褐变率均显著或极显著高于‘K326’的。

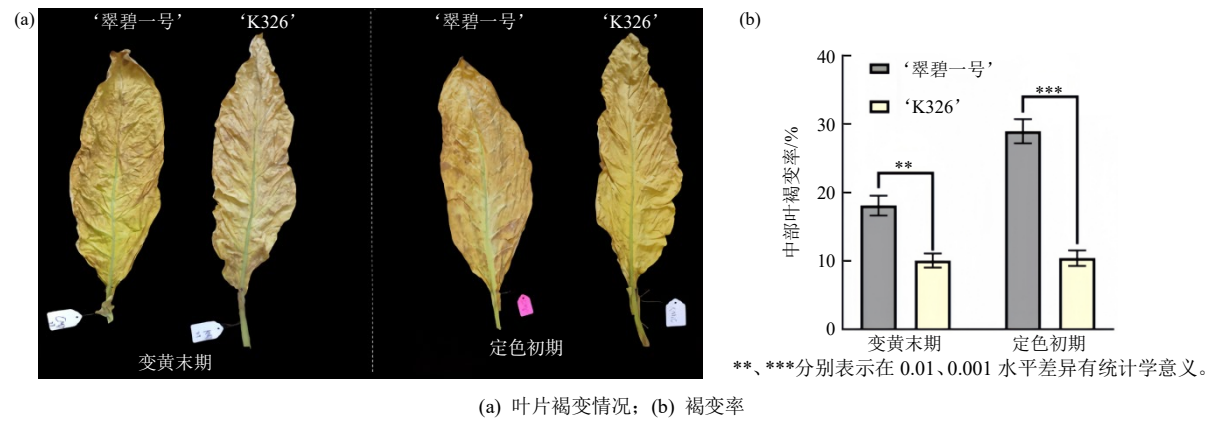


图6 中部叶在变黄末期和定色初期的褐变率

Fig. 6 The browning rate of middle leaves at later yellowing and color-fixing stages

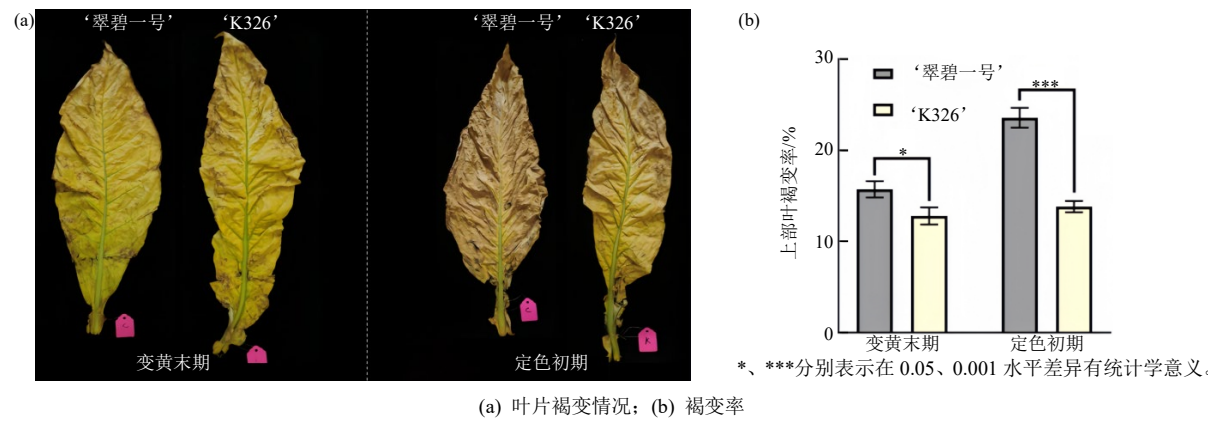


图7 上部叶在变黄末期和定色初期的褐变率

Fig. 7 The browning rate of upper leaves at later yellowing and color-fixing stages

对不同部位和不同烘烤时期烟叶的PPO活性与褐变率进行相关性分析。结果(表3)显示，不同部位和烘烤时期的PPO活性与褐变率均呈极显著正相关。

表3 PPO活性与褐变率的相关系数

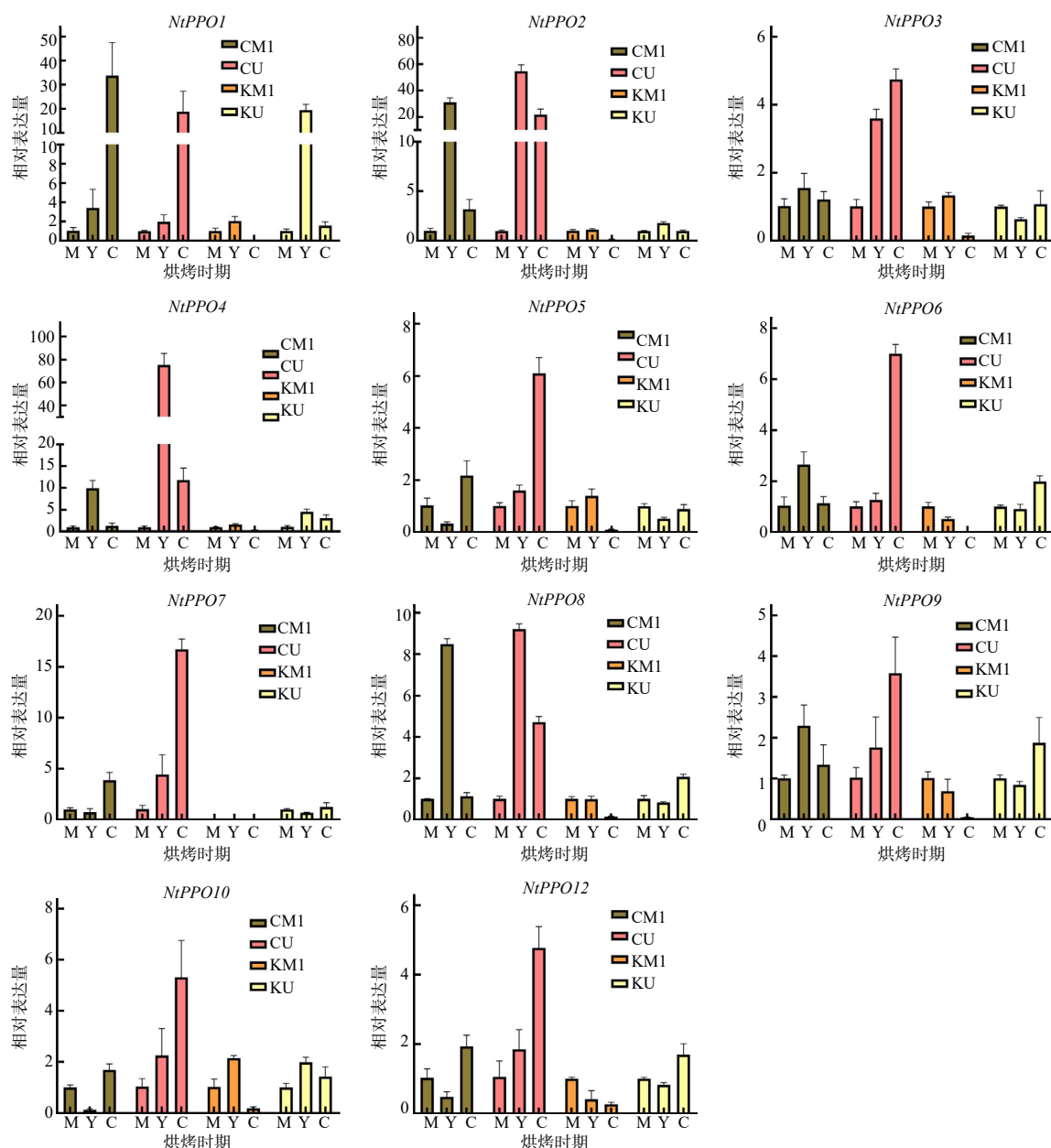
指标	相关系数			
	中部叶PPO活性	上部叶PPO活性	变黄末期PPO活性	定色初期PPO活性
中部叶褐变率	0.972**			
上部叶褐变率		0.925**		
变黄末期褐变率			0.900**	
定色初期褐变率				0.892**

注：**表示性状间的相关性极显著($P<0.01$)。

2.6 不同品种、部位和烘烤时期烟叶PPO基因的表达分析

采用qRT-PCR方法分析了‘翠碧一号’和‘K326’PPO基因家族成员在不同部位及不同烘烤时期的表达情况。结果(图8)显示，13个PPO基因家族成员中，*NtPPO11*和*NtPPO13*在‘翠碧一号’和

‘K326’烟叶中均没有检测到表达产物；对于中部烟叶，除*NtPPO5*和*NtPPO10*外，其余9个基因在‘翠碧一号’变黄末期和定色初期的表达量均高于同时期‘K326’的；对于上部烟叶，除*NtPPO1*外，其余10个基因在‘翠碧一号’变黄末期和定色初期的表达量均高于同时期‘K326’的。



CM1为‘翠碧一号’中部叶, CU为‘翠碧一号’上部叶, KM1为‘K326’中部叶, KU为‘K326’上部叶; M、Y、C分别为成熟期、变黄末期和定色初期。

图8 不同品种、部位和烘烤时期烟叶中*PPO*基因的相对表达量

Fig. 8 Relative expression levels of *PPO* genes in tobacco leaves of different cultivars, parts, and flue-curing stages

3 结论与讨论

酶促褐变反应是许多农产品加工和生产中常见的生理现象,不但影响产品外观,还影响产品的质地、风味及营养价值^[21],而*PPO*是影响酶促褐变反应的关键酶,因此,深入探究烟草烘烤过程中*PPO*基因的表达模式与*PPO*酶活性的关系对完善烟叶调制技术、提升烟叶品质具有重要意义。

*PPO*由多基因家族编码,且*PPO*基因家族在不同物种中的基因数量不同,马铃薯中含有12个*PPO*

基因^[22],番茄中含有7个^[23],苹果中含有16个^[24],白杨中含有13个^[25],而菠萝中仅含有2个^[26]。本研究基于Nicomics网站发布的最新普通烟草基因组序列信息^[16],共鉴定了13个*PPO*基因,较前人的研究^[14-15]多鉴定出1个*PPO*基因(Nta16g13930.1),且所有基因均具有明确的染色体定位信息,分别定位于3、4、6、15、16、19和24号染色体上,其中16号染色体上存在4个*PPO*基因。

本研究中,‘翠碧一号’的*PPO*活性和褐变率均显著高于‘K326’的,且*PPO*活性与褐变率呈极

显著正相关, 这表明PPO活性可能是引起烟叶褐变的重要因素。通常情况下, 各PPO基因成员在不同情况下具有特定的表达变化模式, 并存在时空性^[27]。李琼等^[14]研究发现, Nta06g30520.1和Nta03g28080.1在根中的表达量较高, 其余PPO基因皆在生殖器官中高表达; 刘银松等^[15]研究发现, Nta06g30520.1在不同成熟度烟叶中表达变化幅度明显, 可作为判断烟叶采收时期的标记基因。其他作物中的PPO基因表达也呈现出时空差异性, 如芒果PPO基因在“桂七”果皮中表达量高, 在“贵妃”果皮中表达量低^[28]; 丝瓜中3个PPO基因*LcPPO1*、*LcPPO2*、*LcPPO3*在根、茎、叶、花和果实中的表达程度均不一致^[29]。本研究结果显示, PPO基因在“翠碧一号”和“K326”的中、上部烟叶中的表达情况存在较大差异, 除成熟期外, “翠碧一号”的PPO基因相对表达量大多高于“K326”的。段杜薇等^[30]研究发现, 敲除*NtPPOE*基因会导致烟草中PPO活性降低, 而过表达*NtPPOE*基因则会提升PPO活性, 可见PPO基因的表达直接影响酶活性。综上可推测, 烘烤过程中“翠碧一号”烟叶PPO基因的高表达提升了酶活性, 进而更易诱发烟叶褐变与挂灰现象。

参考文献:

- [1] MAYER A M. Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places? A review[J]. *Phytochemistry*, 2006, 67(21): 2318–2331.
- [2] MISHRA B B, GAUTAM S. Polyphenol oxidases: biochemical and molecular characterization, distribution, role and its control[J]. *Enzyme Engineering*, 2016, 5(1): 141–149.
- [3] ROBINSON S P, DRY I B. Broad bean leaf polyphenol oxidase is a 60-kilodalton protein susceptible to proteolytic cleavage[J]. *Plant Physiology*, 1992, 99(1): 317–323.
- [4] 夏秀华. 多酚氧化酶的研究进展[J]. *粮食与食品工业*, 2013, 20(6): 53–55, 60.
- [5] WEYBREW J A, LONG R C. Phenolics and acids in leaf and their relationship to smoking quality and aroma[J]. *Tobacco Science*, 1969(13): 118–124.
- [6] BHONWONG A, STOUT M J, ATTAJARUSIT J, et al. Defensive role of tomato polyphenol oxidases against cotton bollworm(*Helicoverpa armigera*) and beet armyworm(*Spodoptera exigua*)[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2009, 35(1): 28–38.
- [7] WALKER J R L, FERRAR P H. Diphenol oxidases, enzyme-catalysed browning and plant disease resistance[J]. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 1998, 15(1): 457–498.
- [8] QI J, LI G Q, DONG Z, et al. Transformation of tobacco plants by Yali PPO-GFP fusion gene and observation of subcellular localization[J]. *American Journal of Translational Research*, 2016, 8(2): 698–704.
- [9] 杨树勋. 烟叶烘烤原理的探索与发现[J]. *作物研究*, 2018, 32(3): 265–270.
- [10] 雷东锋, 马长德, 莫晓燕, 等. 烟叶中PPO的抑制效应[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2002, 30(S1): 130–134.
- [11] 李晓辉, 甄焕菊, 牛慧伟, 等. 成熟度对不同烤烟品种烘烤过程中多酚类物质含量及PPO活性变化的影响[J]. *山东农业科学*, 2021, 53(4): 59–65.
- [12] 岳诚, 邹聪明, 陈疏影, 等. 不同成熟度对上部烟叶烘烤过程中生理指标的影响[J]. *云南农业大学学报(自然科学)*, 2020, 35(1): 75–81.
- [13] 吕作新, 刘好宝, 刘彩萍. 烟叶烘烤过程中的酶促棕色化反应及其调控途径[J]. *中国烟草科学*, 1997, 18(2): 21–23.
- [14] 李琼, 王雪云, 宋卫武, 等. 普通烟草PPO基因家族的鉴定与表达分析[J]. *烟草科技*, 2018, 51(8): 9–13.
- [15] 刘银松, 林建枫, 张永毅, 等. 烟草PPO基因家族鉴定与不同成熟度烟叶烘烤过程中PPO活性分析[J]. *中国烟草学报*, 2023, 29(3): 47–56.
- [16] WANG J B, ZHANG Q L, TUNG J, et al. High-quality assembled and annotated genomes of *Nicotiana tabacum* and *Nicotiana benthamiana* reveal chromosome evolution and changes in defense arsenals[J]. *Molecular Plant*, 2024, 17(3): 423–437.
- [17] 仙立国, 黄一兰, 王松峰, 等. 翠碧一号鲜烟叶素质及烘烤特性研究[J]. *中国烟草学报*, 2020, 26(3): 66–73.
- [18] 方明, 邱坤, 谭方利, 等. 郴州烤烟K326品种烘烤特性探究[J]. *天津农业科学*, 2019, 25(2): 23–27.
- [19] 张宜冰, 阳苇丽, 雷云康, 等. 晾制过程中雪茄烟叶颜色变化的能量代谢机制研究[J]. *中国烟草学报*, 2025, 31(2): 132–144.
- [20] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402–408.
- [21] 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.
- [22] 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.

- Antagonistic regulation of leaf flattening by phytochrome B and phototropin in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2013, 54(1): 69–79.
- [13] BRODRIBB T J, SUSSMILCH F, MCADAM S A M. From reproduction to production, stomata are the master regulators[J]. *The Plant Journal*, 2020, 101(4): 756–767.
- [14] 王恺帝, 王士林, 徐陶, 等. 植物叶片表面结构表征及其润湿性能分析[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2025, 51(6): 69–78.
- [15] WANG X X, HUANG J L, PENG S B, et al. Leaf rolling precedes stomatal closure in rice(*Oryza sativa*) under drought conditions[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2023, 74(21): 6650–6661.
- [16] WANG L, XU J, NIAN J Q, et al. Characterization and fine mapping of the rice gene *OsARVL4* regulating leaf morphology and leaf vein development[J]. *Plant Growth Regulation*, 2016, 78(3): 345–356.
- [17] 耿晓东, 王菊秋, 周英, 等. 不同光照强度下3种萱草属植物的光合特性与叶绿素荧光特性[J]. *分子植物育种*, 2023, 21(4): 1322–1329.
- [18] 刁俊明, 陈桂珠. 盆栽桐花树对不同遮光度的生理生态响应[J]. *生态学杂志*, 2011, 30(4): 656–663.
- [19] 陈妍, 张艳芳, 赵令敏, 等. 光照强度对山药光合特性的影响和Rubisco羧化酶基因的克隆及表达分析[J]. *植物生理学报*, 2023, 59(6): 1169–1183.
- [20] ZHAO X, CHEN T T, FENG B H, et al. Non-photochemical quenching plays a key role in light acclimation of rice plants differing in leaf color[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 7: 1968.
- [21] 周振翔, 李志康, 陈颖, 等. 叶绿素含量降低对水稻叶片光抑制与光合电子传递的影响[J]. *中国农业科学*, 2016, 49(19): 3709–3720.

责任编辑: 毛友纯

英文编辑: 罗 维

(上接第 35 页)

- [23] THIPYAPONG P, STEFFENS J C. Tomato polyphenol oxidase (differential response of the polyphenol oxidase F promoter to injuries and wound signals)[J]. *Plant Physiology*, 1997, 115(2): 409–418.
- [24] 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.
- [25] TRAN L T, CONSTABEL C P. The polyphenol oxidase gene family in poplar: phylogeny, differential expression and identification of a novel, vacuolar isoform[J]. *Planta*, 2011, 234(4): 799–813.
- [26] ZHOU Y C, O' HARE T J, JOBIN-DECOR M, et al. Transcriptional regulation of a pineapple polyphenol oxidase gene and its relationship to blackheart[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2003, 1(6): 463–478.
- [27] 王曼玲, 胡中立, 周明全, 等. 植物多酚氧化酶的研究进展[J]. *植物学通报*, 2005(2): 215–222.
- [28] 魏婷婷, 赵志常, 汪自松, 等. 芒果果实多酚氧化酶(PPO)基因的克隆与表达分析[J]. *中国热带农业*, 2023(5): 9–17, 70.
- [29] 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.
- [30] 段杜薇, 田培, 李芳芳, 等. 多酚氧化酶基因*NtPPOE*差异表达的效应分析[J]. *分子植物育种*, 2021, 19(3): 724–729.

责任编辑: 毛友纯

英文编辑: 罗 维