植物遗传资源学报
Journal of Plant Genetic Resources
ISSN 1672-1810,CN 11-4996/S

《植物遗传资源学报》网络首发论文

题目：普通丝瓜果实褐变鉴定评价及 PPO 基因家族分析
作者：柴亚倩，高璐瑶，董文其，石玉洁，张鹏，周胜军，朱育强，王欣，孙玉燕
DOI：10.13430/j.cnki.jpgr.20250916003
收稿日期：2025-09-16
网络首发日期：2025-12-19
引用格式：柴亚倩，高璐瑶，董文其，石玉洁，张鹏，周胜军，朱育强，王欣，孙玉燕．普通丝瓜果实褐变鉴定评价及 PPO 基因家族分析[J/OL]．植物遗传资源学报．https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20250916003

植物遗传资源学报
Journal of Plant Genetic Resources　DOI:10.13430/j.cnki.jpgr.20250916003

普通丝瓜果实褐变鉴定评价及 *PPO* 基因家族分析

柴亚倩，高璐瑶，董文其，石玉洁，张鹏，周胜军，朱育强，王欣，孙玉燕

（浙江省农业科学院蔬菜研究所，杭州 310021）

摘要：丝瓜果实褐变会导致其感官品质与营养品质劣变。多酚氧化酶（PPO，polyphenol oxidase)是氧化酚类进而引起褐变的关键酶。因此，对普通丝瓜种质资源进行褐变评价并系统分析 *PPO* 基因家族可为果实褐变研究奠定材料基础及基因资源。本研究对 158 份普通丝瓜种质资源开展基于 a^*值的褐变评价，筛选出 2022 与 2023 年共有的高耐褐变及褐变敏感种质资源各 11 份。在普通丝瓜全基因组水平共鉴定到 7 个 *PPO* 基因家族成员（*LcPPO1~7*），均位于 6 号染色体，呈簇状分布；LcPPO1~7 均属于亲水性不稳定蛋白，亚细胞定位预测位于叶绿体，各成员之间高度保守。对 *LcPPO1~7* 的基因表达与褐变度 a^*值进行相关性分析，仅 *LcPPO3* 与 a^*值呈极显著正相关，且在易褐变种质资源果实中高表达；此外，在高耐褐变材料 YN-20 与褐变敏感材料 Z-37 中，*LcPPO3* 的基因表达与 PPO 活性均呈显著差异，且与 YN-20 相比，随鲜切时间延长，Z-37 中的 *LcPPO3* 相对表达量及 PPO 活性均显著上升，表明 *LcPPO3* 为普通丝瓜果实褐变的关键基因。研究结果为普通丝瓜果实褐变研究及耐褐变丝瓜品种培育提供重要的材料基础及理论依据。

关键词：普通丝瓜；多酚氧化酶；种质资源；褐变；基因表达

Identification and Evaluation of Fruit Browning and Analysis of the PPO Gene Family in *Luffa cylindrica*

CHAI Yaqian, GAO Luyao, DONG Wenqi, SHI Yujie, ZHANG Peng, ZHOU Shengjun, ZHU Yuqiang, WANG Xin, SUN Yuyan

(*Institute of Vegetables, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021*)

Abstract: The fruit browning of *Luffa cylindrica* can lead to deterioration in their sensory and nutritional qualities. Polyphenol oxidase (PPO) is a key enzyme oxidizing phenolic compounds and responsible for the browning process. Therefore, evaluating the fruit browning of *Luffa cylindrica* germplasm resources and systematically analyzing the *PPO* gene family can provide material basis and genetic resources for browning research. In this study, the fruit browning evaluation was conducted on 158 *Luffa cylindrica* germplasm resources based on the a^* value in both 2022 and 2023, which identified 11 highly browning-resistant and 11 browning-sensitive germplasm resources. At the whole-genome level of *Luffa cylindrica*, seven *PPO* gene family members (*LcPPO1~7*) were identified, which located on chromosome 6 and showed a cluster distribution. LcPPO1~7 are all hydrophobic unstable proteins, located in the chloroplast and highly conserved. Correlation analysis was conducted between the gene expression of *LcPPO1~7* and the browning degree a^* value. Only *LcPPO3* showed significantly positive correlation with a^* value, and it was highly expressed in the browning-sensitive germplasm resources. In addition, in the highly browning-resistant material YN-20 and the

收稿日期：2025-09-16

第一作者研究方向为蔬菜遗传育种与分子生物学，E-mail : cyq15509465023@163.com

通信作者：孙玉燕，研究方向为蔬菜遗传育种与分子生物学，E-mail : sunyy@zaas.ac.cn

基金项目：浙江省农业（蔬菜）新品种选育重大科技专项（2021C02065-2-4）；浙江省农作物种质资源精准鉴定项目（2022JZJD003）；科技基础资源调查专项（2023FY101204）

Foundation projects : Zhejiang Major Science and Technology Project for New Vegetable Variety Breeding (2021C02065-2-4); The Project for Precise Identification of Crop Germplasm Resources in Zhejiang Province (2022JZJD003); Special Project on Investigation of Basic Scientific Resources (2023FY101204)

browning-sensitive material Z-37, the gene expression of *LcPPO3* and PPO activity showed significant differences, and compared with YN-20, the relative expression level of *LcPPO3* and PPO activity in Z-37 significantly increased with the extension of fresh-cut time, indicating that *LcPPO3* is a key gene in the fruit browning of *Luffa cylindrica*. These results provide important material basis and theoretical basis for the study of *Luffa cylindrica* fruit browning and breeding of browning resistant varieties.

Key words: *Luffa cylindrica*; polyphenol oxidase; germplasm resources; browning; gene expression

丝瓜（2n=2x=26）隶属葫芦科（Cucurbitaceae）丝瓜属（*Luffa*），为一年生攀援性草本植物，起源于亚洲热带及亚热带地区[1-2]。丝瓜富含蛋白质、维生素、膳食纤维和微量元素，具有较高的营养价值[3]，此外，具清热凉血、促进消化酶活性、解毒等药用功效[4]。丝瓜属包括 9 个种，其中栽培种包括普通丝瓜（*Luffa cylindrica* (L.) Roem.）和有棱丝瓜（*Luffa acutangula* (L.) Roxb.）[5]。果实褐变现象常发生于普通丝瓜中，导致其感官品质及营养品质劣变，严重降低产品的商品性和适销性[6]。目前，每年仍有大约 50%的果蔬因褐变问题而大大降低适销性[6]。

果蔬褐变包括非酶促褐变和酶促褐变，其中非酶促褐变包括美拉德反应、焦糖化反应及脱酶叶绿素褐变等，反应较为复杂；酶促褐变反应需要 3 个条件：底物（酚类物质）、氧气与相关酶[7]。当果蔬遭遇机械损伤、极端温度等逆境胁迫时，酚类物质与多酚氧化酶（PPO，polyphenylene oxide）、过氧化物酶（POD，peroxidase）等氧化酶在氧气存在的条件下，发生反应生成醌类物质，进一步与氨基酸等聚合生成类黑素，导致褐变发生[8]。

果蔬不同品种间遗传组成不同会造成褐变敏感性的差异[9]。如马铃薯在鲜切 7 h 后，闽薯的褐变程度显著低于黄金 13[10]。对 69 个不同来源的茄子地方品种及商业品种的酚类物质含量及褐变度进行比较，发现商业品种的酚类物质含量相较地方品种低 20%，其褐变度亦较低[11]。Yataka、Gala、Sansa 和 Fuji 等苹果材料中，褐变敏感性最低的为 Sansa，其 PPO 活性亦最低[12]。此外，对于易褐变的普通丝瓜 35D-7 果实中的主要酚酸类代谢物，如紫丁香苷、异绿原酸 A 等的含量均显著高于耐褐变的 2D-2[13]。目前，丝瓜褐变评价的方法主要基于沸水浴法[14]或分光光度法[15]，并利用频次分布对褐变进行分级。沸水浴法主要反映作物的非酶促褐变。分光光度法测定褐变的工作量较大，不利于大规模种质资源或育种材料的批量鉴定评价。在苹果[16]和马铃薯[9]等作物中，已被证实色差值 a^*值是与褐变更加关联的评价指标。鉴于此，基于 a^*值建立一种更加直观便捷的分级方法，可为普通丝瓜果实褐变精准鉴定评价奠定重要的技术支撑，为耐褐变品种培育提供重要的材料基础。

多酚氧化酶（PPO）为植物体内扮演双重角色的含铜氧化还原酶[17]，广泛存在于植物根、茎、叶、花及果实等器官中[18]。PPO 的催化活性主要依赖于 PPO1_DWL 与酪氨酸酶等特定结构域[18]。PPO 的多基因家族特性决定其功能的多样性[19]，PPO 在应对植物生物与非生物胁迫的防御[20-21]、组织器官色泽形成[22]、花粉发育[23]、光合作用[24]、褐变[25]等生物过程中发挥重要作用。系统鉴定及分析 *PPO* 基因家族对果蔬酶促褐变控制至关重要。板栗包含 3 个 *PPO* 基因家族成员，其中 *CmPPO1* 与果实褐变显著相关[26]；香蕉的 10 个 *PPO* 基因家族成员中，*MaPPO1* 与 *MaPPO6* 是褐变的主要基因[27]；橄榄中的 18 个 *PPO* 基因家族成员，*OePPO5* 是果实褐变的主要效应基因[28]；莴苣的 17 个 *PPO* 基因家族成员中，*LsPPO4*、*LsPPO4* 及 *LsPPO12* 与褐变表型及 PPO 活性呈显著正相关，其中 *LsPPO4* 呈相对较高的相对表达量，在莴苣褐变中发挥主要作

用[29]。已有报道表明 PPO 是引起丝瓜褐变的关键酶，能够在 O_2 的参与下对酚类底物催化氧化成醌，导致果实发生褐变[30]，并进一步对丝瓜 PPO 的酶学特性进行了研究[31-32]。此外，通过转录组测序获得了 3 个 *LcPPOs*（*LcPPO1*、*LcPPO2* 和 *LcPPO3*）的 cDNA 序列，鉴定到 2 个 *LcPPOs* 在普通丝瓜果实褐变中发挥重要作用[30]。

自 2020 年丝瓜参考基因组发布以来[1]，*LcPPOs* 基因家族成员的系统鉴定及其在果实褐变中的作用未见报道。基于此，本研究对 158 份普通丝瓜种质资源的果实褐变表型进行连续两年的鉴定评价，筛选出褐变极端材料；利用生物信息学方法在全基因组水平鉴定普通丝瓜 *PPO* 基因家族成员，基于褐变表型与 *LcPPOs* 表达的相关性分析筛选出果实褐变关键基因；进一步对褐变极端材料在不同鲜切时间的 PPO 活性及褐变关键基因的表达模式进行分析。研究结果为后续耐褐变丝瓜品种培育提供重要的材料基础与基因资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

用于果实褐变鉴定评价的 158 份普通丝瓜种质资源由浙江省农业科学院黄瓜丝瓜育种研究室从国内外收集并保存（详见 https：//doi.org/ 10.13430/j.cnki.jpgr.20250916003，附表 1）。2022 和 2023 年春季，经育苗后定植于浙江省农业科学院杨渡科研创新基地的连栋温室内，株距 40 cm，行距（带沟）150 cm。授粉后 10 d，每份种质资源选取 9 个形状均匀、无病虫害且无机械损伤的果实，连续两年进行褐变表型鉴定评价。2025 年春季，将筛选出的褐变敏感性不同的种质资源 YN-20、Z-12、SP41-2 白籽、ZJ-1、SP59-1、ZJ-14、SP20-2、ZJ-16、SP10-1、SP14-2、Z-107、2011C-S13、Z-102、ZJ-20、Z-37 种植于浙江省农业科学院杨渡科研创新基地，授粉后 10 d（2025 年 6 月 15 日），每份种质选取 9 个形状均匀、无病虫害且无机械损伤的果实，削皮后，将中段果肉切成 1 cm^3 的切块，放置于-80℃冰箱，用于后续 *LcPPO3* 表达模式分析与多酚氧化酶活性测定。

1.2 普通丝瓜种质资源褐变表型鉴定评价

为评估 158 份普通丝瓜种质资源果实的褐变程度，将 3 个果实作为 1 次生物学重复，削去果皮（约 1 mm），切取中段果肉（长约 5 cm），利用匀浆机研磨至匀浆，使用色差仪（HunterLab ColorFlex，美国）测定果肉匀浆 L^*、b^*和 a^*值，3 次生物学重复。由于 L^*和 b^*值的分布较为分散，a^*值与褐变程度表现出较强的相关性[16]，故后续用 a^*值来表征褐变。参照吴依榕[33]的分类方法，利用样本均值-标准差分类法进行褐变分级，分别计算每年 158 份果实褐变表型 a^*值的均值与标准差，a^*值＜均值−标准差的为高耐褐变种质资源；均值−标准差≤a^*值≤均值+标准差的为中耐褐变种质资源；a^*值＞均值+标准差的为褐变敏感种质资源。采用 R 软件（版本 4.3.1）对 158 份普通丝瓜种质资源的褐变 a^*值进行描述性统计及相关性分析，利用 R 软件（版本 4.3.1）绘制词云图。

1.3 普通丝瓜 *LcPPOs* 基因家族生物信息学分析

1.3.1 ***LcPPOs*** **基因家族成员鉴定** 在葫芦科作物基因组数据库（http://cucurbitgenomics.org/v2/）下载普通丝瓜参考基因组（http://cucurbitgenomics.org/v2/organism/33）。在 Pfam 数据库（https://pfam.xfam.org/）获取 PPO 的隐马尔科夫模型（HMM，hidden markov model）文件（PF00264、PF12142、PF12143），利用 HMMER 3.0 筛选符合 HMM 模型的蛋白序列文件（E-value < 0.001）。

1.3.2 ***LcPPOs*** **的染色体定位与系统发育分析** 根据普通丝瓜基因组注释信息，利用 TBtools v2.309 中的 Gene Location Visualize 工具进行 *LcPPOs* 染色体定位信息可视化，并依据各 *LcPPOs* 在染色体上的位置命名为

LcPPO1~7。

1.3.3 葫芦科作物 *PPO* 基因家族的系统发育分析 利用葫芦科基因组数据库（http://cucurbitgenomics.org/v2/）下载已发表的黄瓜、西瓜、甜瓜、南瓜、苦瓜及冬瓜的 PPO 家族蛋白质序列，使用 MEGA 11 软件中默认参数的 ClustalW 对普通丝瓜和其他物种的 PPO 蛋白序列进行比对，采用临接法构建多物种系统发育树，利用自展法检验，Bootstrap 值设置为 1000。

1.3.4 LcPPOs 的蛋白理化性质与亚细胞定位分析 基于 LcPPOs 的蛋白序列，利用 ExPASy 中的 protparam（https://web.expasy.org/protparam/）获得各成员的蛋白理化性质（氨基酸个数、不稳定系数、平均亲水性及脂溶指数）；利用 WoLF PSORT（https://wolfpsort.hgc.jp/）获得各成员的亚细胞定位信息。

1.3.5 *LcPPO* 基因家族结构域预测 采用 MEME 在线工具（https://meme-suite.org/meme/tools/meme）对普通丝瓜 *LcPPO* 基因家族成员的氨基酸序列进行保守基序分析，设定保守基序数量为 12 个，随后使用 TBtools v 2.309 进行可视化。利用 GSDS 在线工具（https://gsds.gao-lab.org/Gsds_help.php）进行 *LcPPOs* 的基因结构分析。

1.3.6 LcPPO 蛋白的二级与三级结构预测 利用在线网站 SOPMA（http://www.ibcp.fr/pre-dict.html）对 LcPPO1~7 蛋白二级结构进行预测；利用 Swiss-Model 网站（https://swissmodel.expasy.org/）对 LcPPO1~7 蛋白的三级结构进行预测。

1.3.7 *PPO* 基因家族的共线性分析 使用 TBtools v2.309 中 Advanced Circos 和 Multiple Synteny Plot 分析葫芦科作物（http://cucurbitgenomics.org/v2/）中普通丝瓜与有棱丝瓜、黄瓜、西瓜、甜瓜、冬瓜及苦瓜物种间的共线性关系。

1.3.8 *LcPPOs* 启动子顺式作用元件分析 利用 TBtool v2.309 中的 Gtf/Gff3 Sequences Extract 工具提取 *LcPPOs* 起始密码子上游 2000 bp 的核苷酸序列作为启动子序列，将获取的序列载入 PlantCARE 网站（https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/）得到各成员的顺式作用元件，依据不同功能分类后利用 TBtools v2.309 中的 BioSequence StructureIllustrator-Basic Biosequence View 工具进行可视化。

1.4 *LcPPOs* 表达模式分析

利用植物总 RNA 提取试剂盒（北京全式金生物技术有限公司）分别提取 YN-20、Z-12、SP41-2 白籽、ZJ-1、SP59-1、ZJ-14、SP20-2、ZJ-16、SP10-1、SP14-2、Z-107、2011C-S13、Z-102、ZJ-20、Z-37 的果肉（授粉后 10 d）以及 YN-20（高耐褐变）与 Z-37（褐变敏感）根、茎、叶、花、幼果的 RNA。使用 PrimeScript FAST RT reagent Kit with gDNA Eraser（宝日医生物技术（北京）有限公司）反转录试剂盒进行 cDNA 反转录。采用 TB Green® Premix Ex Taq™ II FAST qPCR（宝日医生物技术（北京）有限公司）进行 qRT-PCR，25 μL 反应体系：TB Green Premix Ex Taq Ⅱ Fast qPCR （2×）为 12.5 μL，上下游引物各 1 μL，cDNA 为 2 μL，加灭菌 ddH_2O 至 25 μL。qRT-PCR 程序：95℃预变性 30 s；95℃变性 5 s，60℃退火与延伸 30 s，40 个循环；95℃ 15 s，60℃ 1 min，95℃ 15 s。内参基因为 *18 S rRNA*，采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法分析基因的相对表达量，引物序列见表 1。利用 Origin 2024 软件绘制箱线图及热图。

表 1 本研究所用 qRT-PCR 引物

Table 1 qRT-PCR primers used in this study

基因名称 Gene name	正向引物（5’-3’） Forward primer （5’-3’）	反向引物（5’-3’） Reverse primer （5’-3’）

LcPPO1	GCTCGAGATCCCTTGTTCTATG	CCAGGATGGGTCTGTGTAATC
LcPPO2	GAGCAGGTCAAGAGGCTTATAG	CCATGTCCTCACGATACTTCTG
LcPPO3	GAGAAAGAGGAGGAAGAGGAGA	GCTCCCAGCAAACTCAGTATTA
LcPPO4	GAAGGAGAAAGACGACGAAGAG	CTCAGTGTTATCCGCTCTAATCTC
LcPPO5	CGCAAGAGACCCAATCTTCTAC	GAGGAAGGAGGTGTTGAGAAAG
LcPPO6	CAACGCCTCCTTCATCTTCTAC	TAGACGTAGCCGAGGTTTCT
LcPPO7	CTCGGACTTGGAGGCATTTAT	TCGTCTACTATTGTGGCAATCTC
18S rRNA	GTGTTCTTCGGAATGACTGG	ATCGTTTACGGCATGGACTA

1.5 PPO 活性测定与 *LcPPOs* 的氨基酸序列比对分析

于 2025 年 6 月 15 日采集 YN-20 与 Z-37 果实并切取中间果肉，冷冻研磨至粉末，称取 0.1 g，按照多酚氧化酶（PPO）试剂盒（微量法）（苏州科铭生物技术有限公司）说明书对 PPO 活性进行测定，3 次生物学重复。利用 R 软件（版本 4.3.1）进行单因素方差分析并利用 Origin 2024 软件绘制柱状图。利用福建省农科院鉴定到的褐变关键基因（*LcPPO1*）的 NCBI 登录号检索该基因编码的蛋白质序列[30]，利用 DNAMAN V6 软件将其与本研究鉴定到的基因的蛋白质序列进行比对分析。

2 结果与分析

2.1 基于 a^*值对 158 份普通丝瓜种质资源的果实褐变评价

2022 与 2023 年，对 158 份普通丝瓜种质资源的褐变表型进行鉴定评价，统计分析显示两年的 a^*值均呈正态分布（图 1）。2022 年 a^*值的平均值为 -6.01，标准差为 1.34，最大值为 -3.05，最小值为 -9.66，变异系数绝对值为 22.27%，峰度为 -0.27，偏度为 -0.0024；2023 年 a^*值的平均值为 -6.32，标准差为 1.12，最大值为 -3.32，最小值为 -9.81，变异系数绝对值为 17.79%，峰度为 0.16，偏度为 0.12。结果表明，普通丝瓜种质资源果实褐变性状存在广泛的遗传变异。

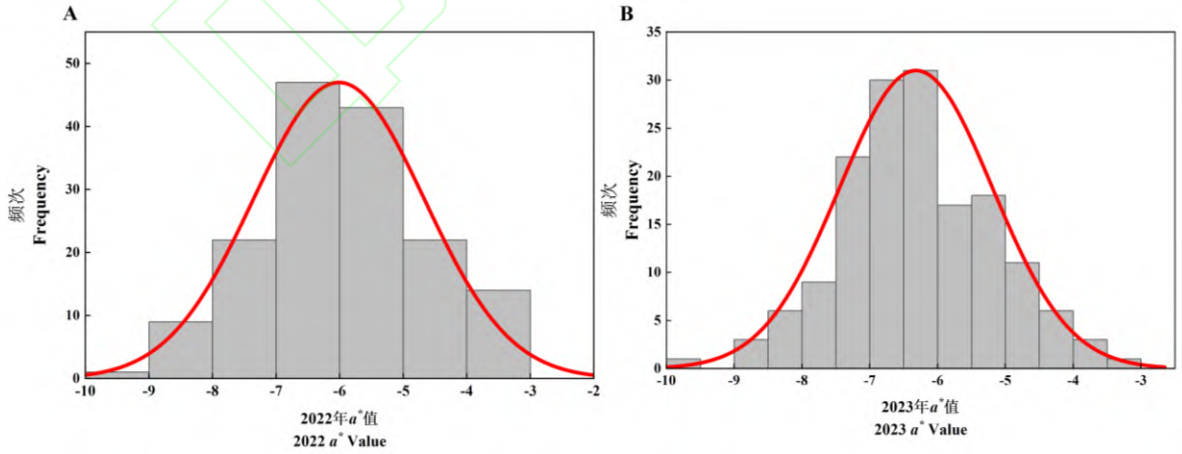


图 1 158 份普通丝瓜种质资源 a^*值分布

Fig. 1 Distribution of a^* values of 158 *Luffa cylindrica* germplasm resources

利用样本均值-标准差分类法，基于 a^*值可将 158 份普通丝瓜种质资源的褐变表型分为 3 个等级：高耐褐变、中耐褐变及褐变敏感。2022 年，高耐褐变（$a^* < -7.35$）种质资源 24 份，均值为 -8.07，变异系数绝

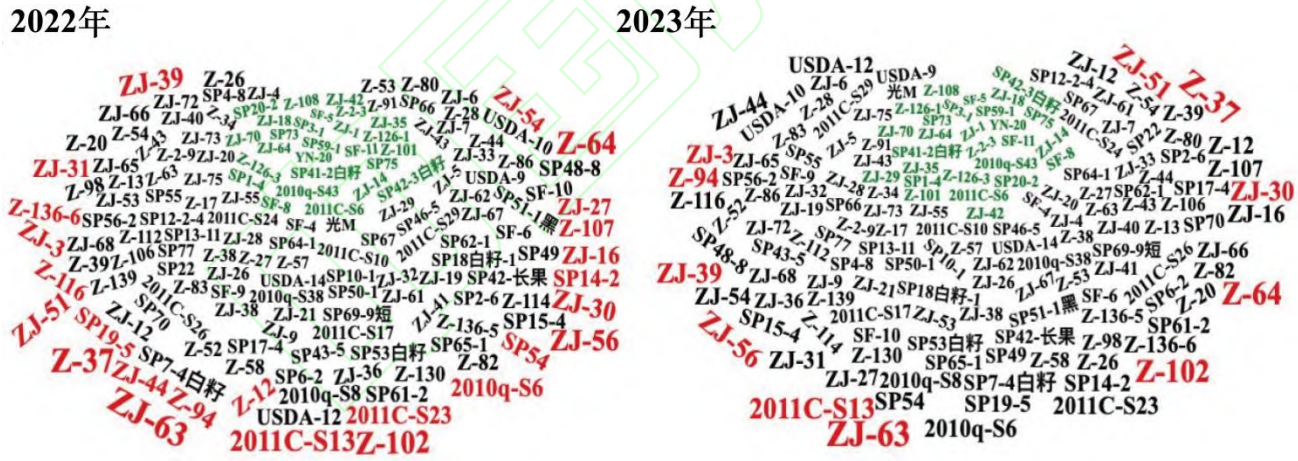
对值为 7.00%；中耐褐变（－7.35 ≤ a^* ≤－4.67）种质资源 108 份，均值为 －6.05，变异系数绝对值为 12.00%；褐变敏感（a^* >－4.67）种质资源 26 份，均值为 －3.96，变异系数绝对值为 12.00%（表 3）。2023 年，高耐褐变（a^* <－7.44）种质资源 25 份，均值为 －8.01，变异系数绝对值为 6.00%；中耐褐变（－7.44 ≤ a^* ≤－5.20）种质资源 108 份，均值为 －6.34，变异系数绝对值为 9.00%；褐变敏感（a^* >－5.20）种质资源 25 份，均值为 －4.52，变异系数为 －11.00%（表 2）。

结合 2022 与 2023 年褐变表型，筛选出两年共有的褐变极端种质资源 22 份，包括高耐褐变种质资源 11 份（YN-20、2010q-S43、SP20-2、SP41-2 白籽、SP42-3 白籽、SP59-1、SP73、Z-2-3、ZJ-1、ZJ-64 和 SF-5）和褐变敏感种质资源 11 份（2011C-S13、Z-37、Z-64、Z-94、Z-102、ZJ-3、ZJ-30、ZJ-39、ZJ-51、ZJ-56 和 ZJ-63）（图 2，表 3）。

表 2 158 份普通丝瓜种质资源果实褐变分级描述

Table 2 Grading description of fruit browning in 158 *Luffa cylindrica* germplasm resources

年份 Year	果实褐变分级 Fruit browning grading	种质资源份数 Material number	平均值 Average	标准差 Standard Deviation	变异系数 Coefficient of Variation	a^*值 Numerical range
2022	高耐褐变	24	－8.07	0.57	7.00%	a^* <－7.35
	中耐褐变	108	－6.05	0.73	12.00%	－7.35 ≤ a^* ≤－4.67
	褐变敏感	26	－3.96	0.49	12.00%	a^* >－4.67
2023	高耐褐变	25	－8.01	0.50	5.00%	a^* <－7.40
	中耐褐变	108	－6.34	0.57	9.00%	－7.40 ≤ a^* ≤－5.20
	褐变敏感	25	－4.52	0.51	11.00%	a^* >－5.20



绿色字体表示高耐褐变种质资源；黑色字体表示中耐褐变种质资源；红色字体表示褐变敏感种质资源

Green indicates high browning-resistant germplasm resources; black indicates moderate browning-resistant germplasm resources; red indicates browning-sensitive germplasm resources

图 2 158 份普通丝瓜种质资源果实褐变分级

Fig. 2 Fruit browning grading of 158 *Luffa cylindrica* germplasm resources

表 3 2022 与 2023 年筛选出的共有褐变极端种质资源信息

Table 3 The information on extreme quality resources with browning characteristics that were selected in 2022 and 2023

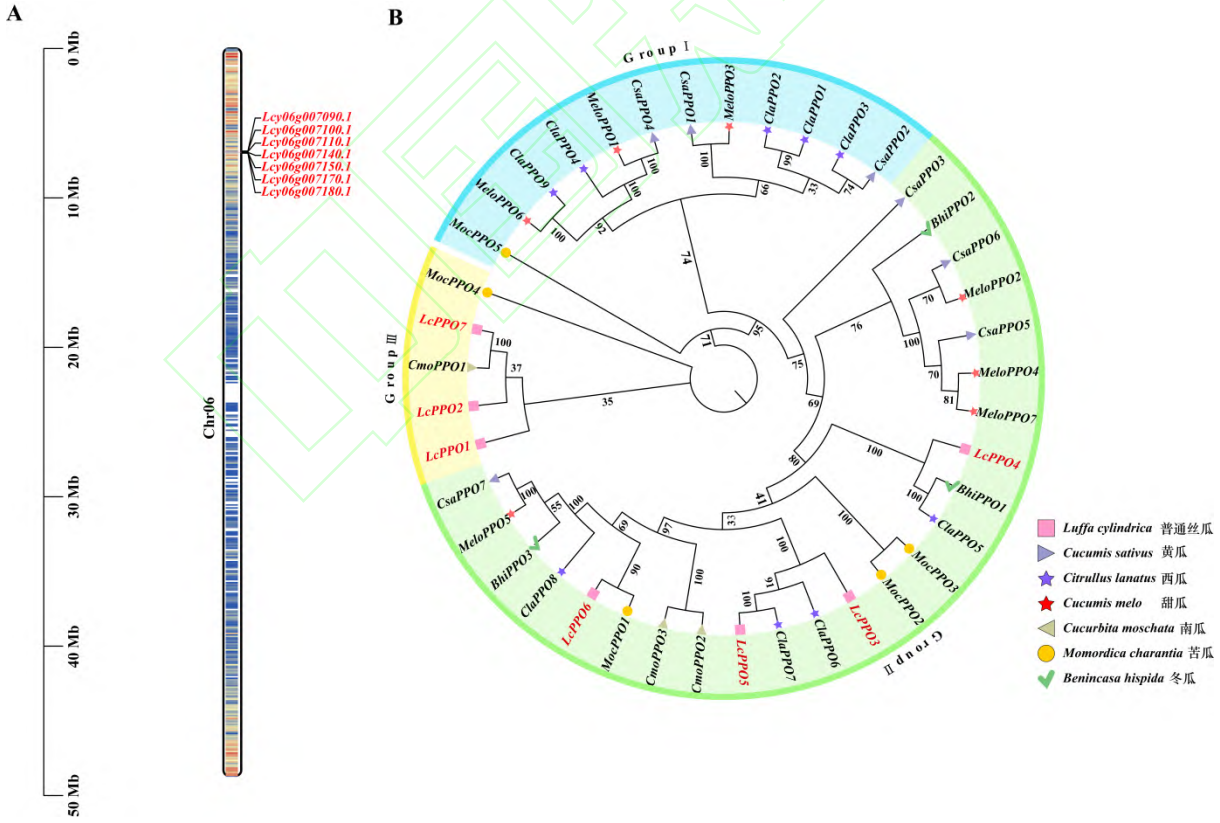
果实褐变分级 Fruit browning grading	种质资源编号 Germplasm resource ID	种质资源名称 Germplasm resource name	来源地 Area of source	果实褐变分级 Fruit browning grading	种质资源编号 Germplasm resource ID	种质资源名称 Germplasm resource name	来源地 Area of source
高耐褐变 HR	YN-20	糯米丝瓜	浙江省	褐变敏感 S	2011C-S13	丝瓜	浙江省

2010q-S43	丝瓜	浙江省	Z-37	罗丝瓜	山东省
SP20-2	蛇天罗	浙江省	Z-64	安乡棒丝瓜	湖南省
SP41-2 白籽	开化丝瓜	浙江省	Z-94	源杂 1 号	福建省
SP42-3 白籽	长兴丝瓜	浙江省	Z-102	肉丝瓜	四川省
SP59-1	长兴丝瓜	浙江省	ZJ-3	白丝瓜	浙江省
SP73	岱山丝瓜	浙江省	ZJ-30	菜丝瓜	浙江省
Z-2-3	巴中丝瓜	四川省	ZJ-39	永康白皮丝瓜	浙江省
ZJ-1	漫池丝瓜	浙江省	ZJ-51	药山白丝瓜	浙江省
ZJ-64	中长丝瓜	浙江省	ZJ-56	络瓜	浙江省
SF-5	丝瓜	浙江省	ZJ-63	白丝瓜	浙江省

2.2 *LcPPOs* 生物信息学分析

2.2.1 *LcPPOs* 染色体分布及系统进化分析 基于 Pfam、HMMER 和葫芦科基因组数据库鉴定到 7 个 *PPO* 基因家族成员，分别为 *Lcy06g007090*、*Lcy06g007100*、*Lcy06g007110*、*Lcy06g007140*、*Lcy06g007150*、*Lcy06g007170* 及 *Lcy06g007180*，紧密排列于 6 号染色体（图 3A），依据其在染色体上的位置分别命名为 *LcPPO1~7*。

为明确 *LcPPOs* 的潜在功能，构建普通丝瓜、黄瓜、西瓜、甜瓜、南瓜、苦瓜及冬瓜中的 *PPO* 基因家族的系统进化树。结果表明，葫芦科不同物种的 *PPO* 基因家族被分为 3 个亚群，其中普通丝瓜与西瓜之间的遗传距离最近；*LcPPOs* 分布于亚群II与亚群III ，其中 *LcPPO3* 与 *LcPPO5* 的遗传距离最近（图 3B）。



A：*LcPPOs* 的染色体分布；B：葫芦科物种 PPO 蛋白系统发育分析

A: Chromosomal localization of *LcPPOs*; B: Phylogenetic analysis of PPO protein in cucurbitaceae

图 3 *LcPPOs* 的染色体分布及葫芦科作物 PPO 蛋白系统发育分析

Fig. 3 Chromosomal localization of *LcPPOs* and phylogenetic analysis of PPO protein in cucurbitaceae

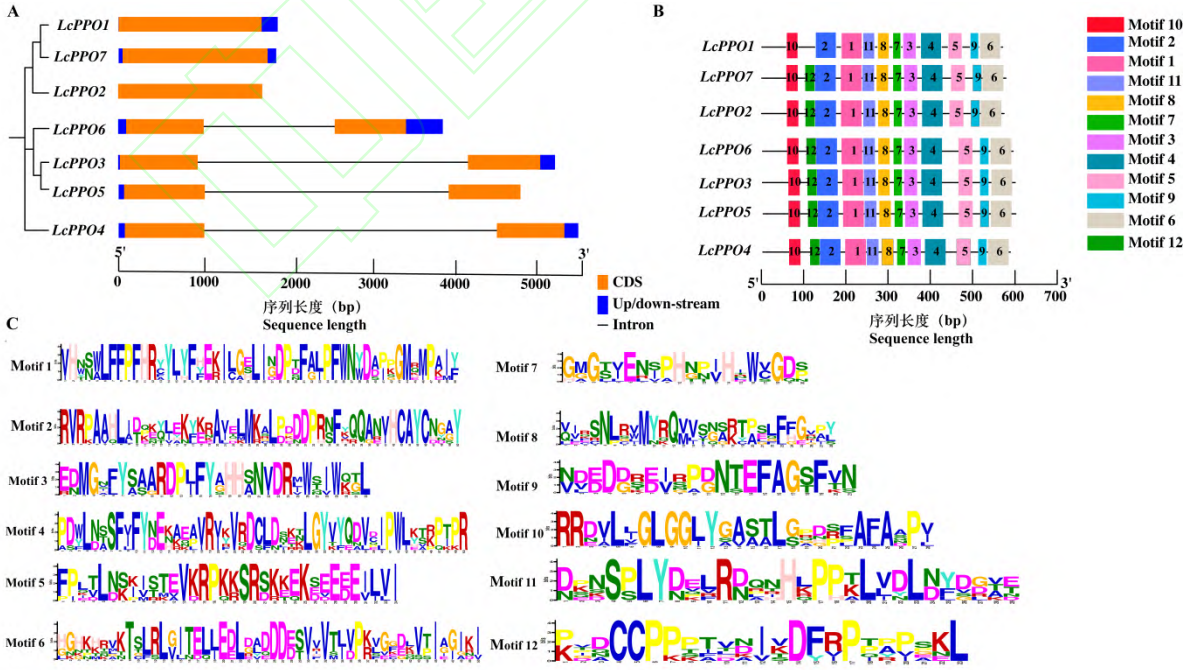
2.2.2 LcPPOs 理化性质分析及亚细胞定位预测 对 *PPO* 基因家族的理化性质进行分析，结果显示 LcPPO1~7 的氨基酸数目为 570~736，氨基酸数目最少的为 LcPPO1，最多的为 LcPPO2；等电点为 5.82~6.97，最小的为 LcPPO2，最大的为 LcPPO6；不稳定系数为 47.21~59.25，均为不稳定蛋白；脂溶指数介于 72.98~80.37 之间，其中 LcPPO5 的脂溶指数最低，LcPPO3 的脂溶指数最高；平均亲水性系数均小于 0，均为亲水性蛋白；此外，LcPPO1~7 均定位于叶绿体（表 4）。

表 4 LcPPOs 理化性质分析

Table 4 Physicochemical properties analysis of LcPPOs

蛋白名称 Protein_name	基因 ID Gene_ID	编码氨基酸数目 Amino acid number	等电点 pI	不稳定系数 Instability index	平均亲水性 Grand average of hydropathicity	脂溶指数 Aliphatic index	亚细胞定位 Subcellular localization
LcPPO1	*Lcy06g007090*	570	6.51	55.94	−0.539	75.02	叶绿体
LcPPO2	*Lcy06g007100*	736	5.82	47.21	−0.490	75.92	叶绿体
LcPPO3	*Lcy06g007110*	598	6.66	52.36	−0.419	80.37	叶绿体
LcPPO4	*Lcy06g007140*	586	6.26	48.37	−0.477	78.87	叶绿体
LcPPO5	*Lcy06g007150*	608	6.31	50.42	−0.476	72.98	叶绿体
LcPPO6	*Lcy06g007170*	593	6.97	59.25	−0.474	76.02	叶绿体
LcPPO7	*Lcy06g007180*	578	6.17	48.54	−0.566	74.50	叶绿体

2.2.3 *LcPPOs* 基因结构与 LcPPOs 保守基序分析 普通丝瓜 *PPO* 基因家族成员基因结构分析结果显示，*LcPPO1~7* 基因的外显子 1~4 之间。其中，*LcPPO2* 仅含有 1 个外显子，*LcPPO3*、*LcPPO4* 和 *LcPPO6* 均含有 4 个外显子，且位于同一亚家族 PPO 的外显子数量相当（图 4A）。LcPPOs 家族成员保守基序分析结果显示，除 LcPPO1 蛋白有 11 种保守基序（motif）外（缺少 motif 12），其余 LcPPOs 蛋白均具有 12 种保守基序，且其排列方式一致（图 4B、C）。结果表明，LcPPOs 成员高度保守。



A：*LcPPOs* 基因结构；B：LcPPOs 保守基序；C：*LcPPOs* 基序标志

A: The genetic structure of *LcPPOs*; B: Conserved motifs of LcPPOs; C: The Logo of 12 motifs in *LcPPOs*

图 4 *LcPPOs* 基因结构与保守基序分析

Fig. 4 Conserved motifs and gene structure analysis of *LcPPOs*

2.2.4 LcPPOs 的蛋白质结构分析 对 PPO 蛋白的二级结构分析（表 5），结果显示，LcPPO1~7 主要由 α-螺旋（21.25%~24.41%）和无规则卷曲（54.74%~58.36%）构成，其中，LcPPO3 的 α-螺旋与无规则卷曲均占比最高，LcPPO6 的 α-螺旋占比最低，LcPPO1 的无规则卷曲占比最低。延伸链（14.55%~18.12%）与 β-折叠（2.68%~3.86%）占比相对较小，其中，LcPPO2 的延伸链占比最高，LcPPO1 的 β-折叠占比最高。对 PPO 蛋白三级结构分析（图 5），结果显示，LcPPO1、LcPPO2、LcPPO4 及 LcPPO5 的构象更紧凑，而 LcPPO3、LcPPO6 及 LcPPO7 表现出末端无规则卷曲延伸较长的特点，可能对应信号肽、跨膜区等柔性结构。

表 5 LcPPOs 蛋白二级结构分析

Table 5 Analysis of the secondary structure of LcPPOs protein

蛋白名称 Protein name	蛋白登录号 Protein locus ID	二级结构（%） Secondary structure			
		α-螺旋 α-helix	延伸链 Extended strand	β-折叠 β-turn	无规则卷曲 Random coil
LcPPO1	Lcy06g007090.1	23.86	17.54	3.86	54.74
LcPPO2	Lcy06g007100.1	22.65	18.12	3.31	55.92
LcPPO3	Lcy06g007110.1	24.41	14.55	2.68	58.36
LcPPO4	Lcy06g007140.1	22.18	17.41	3.41	57.00
LcPPO5	Lcy06g007150.1	22.86	16.78	3.45	55.91
LcPPO6	Lcy06g007170.1	21.25	16.69	3.71	58.35
LcPPO7	Lcy06g007180.1	21.45	17.47	3.63	57.44

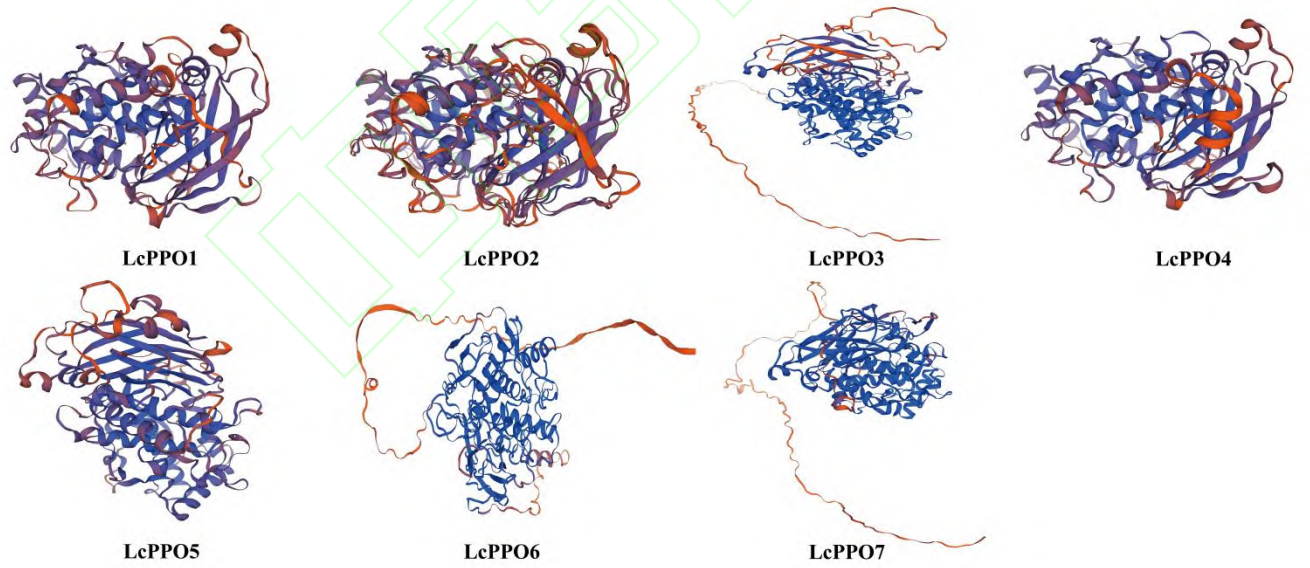


图 5 LcPPOs 蛋白的三级结构

Fig. 5 The tertiary structure of LcPPOs protein

2.2.5 *LcPPOs* 的共线性分析 物种间共线性分析结果显示，普通丝瓜与有棱丝瓜、黄瓜、西瓜、甜瓜及苦瓜之间均仅有 1 组共线性基因对，与冬瓜之间有 2 组共线性基因对。表明 *PPO* 基因家族在葫芦科近缘物种间的保守性较低，经历了高度的物种特异性进化，且该过程伴随着大规模的基因复制、丢失与功能分化（图 6）。

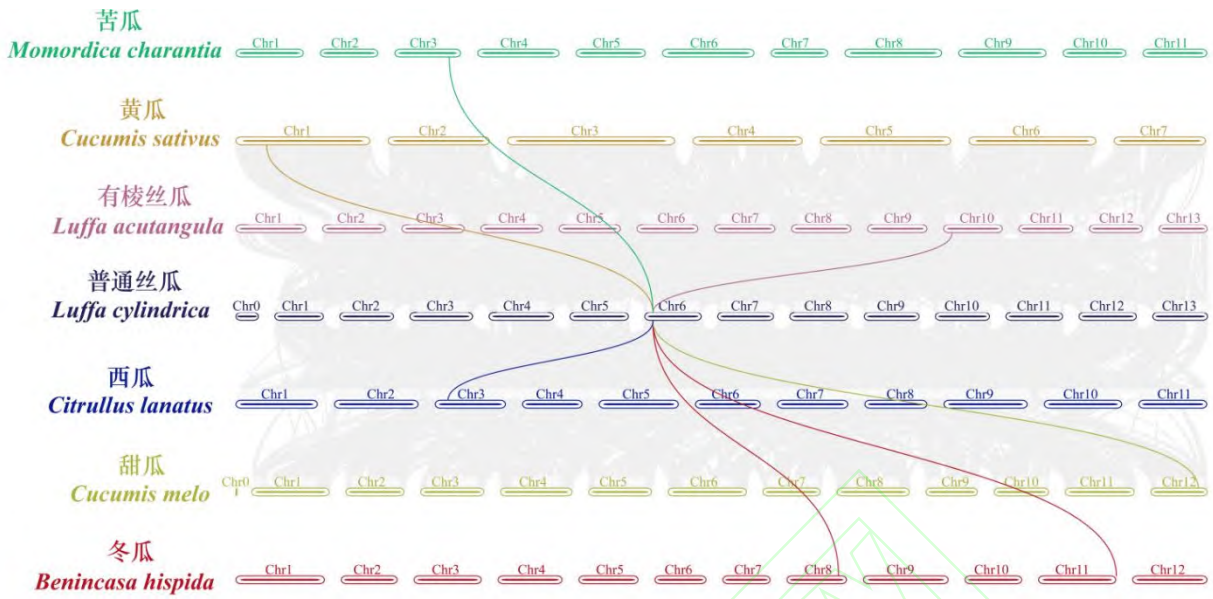


图 6 葫芦科作物物种间 *PPOs* 共线性分析

Fig. 6 Collinearity analysis of *PPOs* among species of Cucurbitaceae

2.2.6 ***LcPPOs* 启动子顺式作用元件分析** 利用 Plantcare 数据库对 7 个 *LcPPOs* 上游 2000 bp 进行顺式作用元件分析（图 7），发现光响应元件与激素响应元件在 *LcPPOs* 中广泛存在。其中，大量顺式作用元件可响应激素，如脱落酸（Abscisic acid responsiveness）、生长素（Auxin responsiveness）、赤霉素（Gibberellin-responsive element）、茉莉酸甲酯（MeJA-responsiveness）及水杨酸（Salicylic acid responsiveness），非生物胁迫，如低温（Low-temperature responsiveness）、伤口响应元件（Wound-responsiveness），厌氧诱导（Anaerobic induction）。各类顺式作用元件在 *LcPPOs* 中呈现不均匀分布的特征，如低温诱导响应元件仅分布于 *LcPPO1* 与 *LcPPO5* 的启动子区，伤口响应元件仅存在于 *LcPPO2* 与 *LcPPO7* 的启动子区。此外，各 *LcPPOs* 中存在大量 MYB 结合位点。

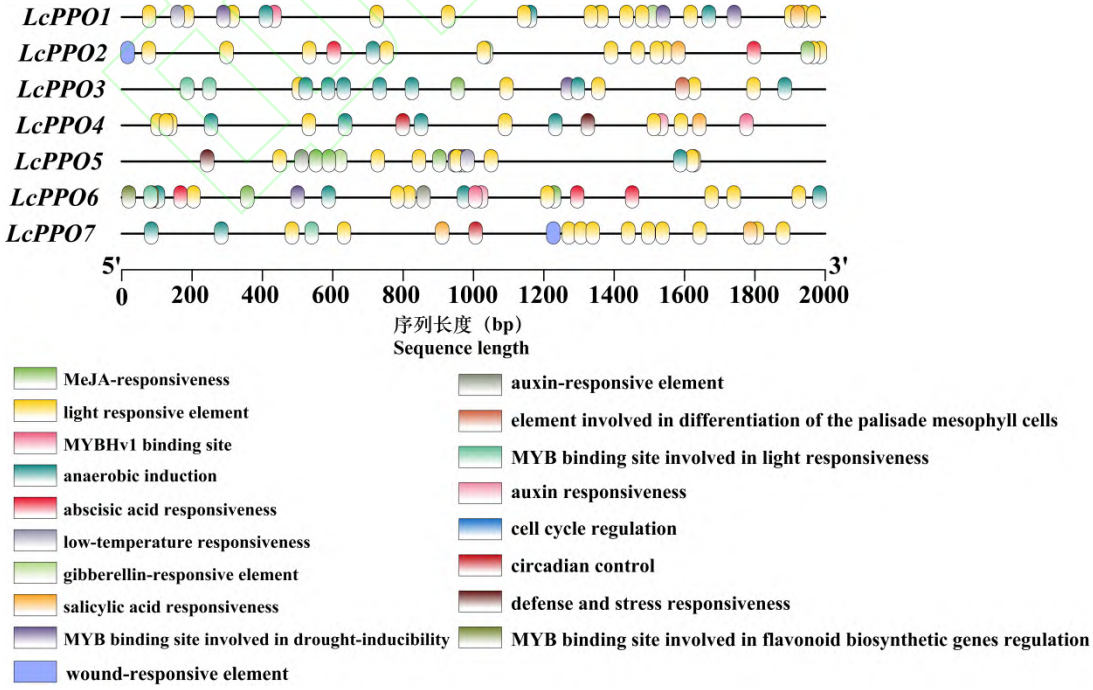
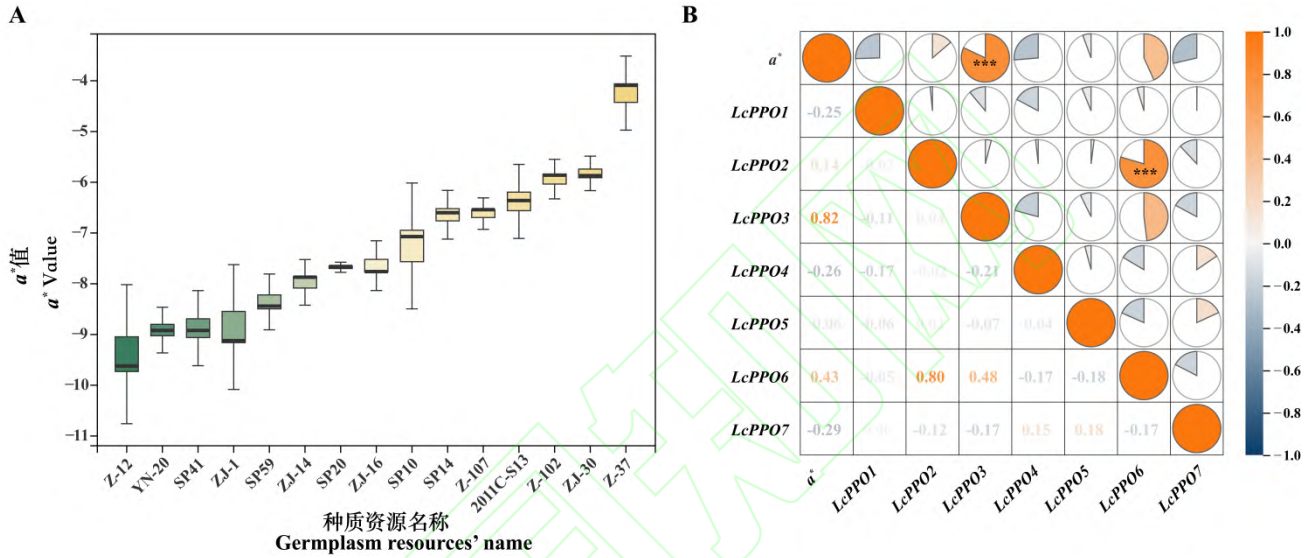


图 7 *LcPPOs* 启动子顺式作用元件分析

Fig. 7 Analysis of cis-acting elements in the promoter of *LcPPOs*

2.3 *LcPPOs* 基因表达与褐变分析

2.3.1 *LcPPOs* 相对表达量与褐变 a^*值的相关性分析 为鉴定 *LcPPOs* 的相对表达量与普通丝瓜果实褐变的关系，分别测定 15 份褐变敏感性不同种质资源的 a^*值（图 8A）与 *LcPPOs* 的相对表达量，并将 a^*值与 *LcPPOs* 相对表达量作相关性分析，发现仅 *LcPPO3* 的相对表达量与 a^*值呈极显著正相关（r = 0.82，$P < 0.001$），其余 *LcPPOs* 的相对表达量与 a^*值相关性均不显著（图 8B），表明普通丝瓜果实褐变可能与 *LcPPO3* 的表达水平密切相关。



A：种质资源褐变度 a^*值；B：a^*值与 *LcPPOs* 表达量的相关性分析

A: The browning degree a^* values of germplasm resources; B: Correlation analysis of a^* values and and *LcPPOs* expression

图 8 不同种质资源褐变度 a^*值及与 *LcPPOs* 表达量的相关性分析

Fig. 8 Correlation analysis of browning degree a^* values and *LcPPOs* expression

2.3.2 *LcPPOs* 在褐变极端材料不同组织的表达模式分析 为进一步明确与普通丝瓜果实褐变相关的 *LcPPOs*，利用课题组前期筛选出的 YN-20（高耐褐变）与 Z-37（褐变敏感）的根、茎、叶、花、幼果对 *LcPPOs* 进行 qRT-PCR 分析，发现 *LcPPO2* 与 *LcPPO3* 在 YN-20 与 Z-37 各组织中的表达差异较大，且在幼果中表达量较高。其中，*LcPPO3* 在褐变敏感 Z-37 幼果中的相对表达量是高耐褐变 YN-20 幼果中的的 3.94 倍（图 9）。

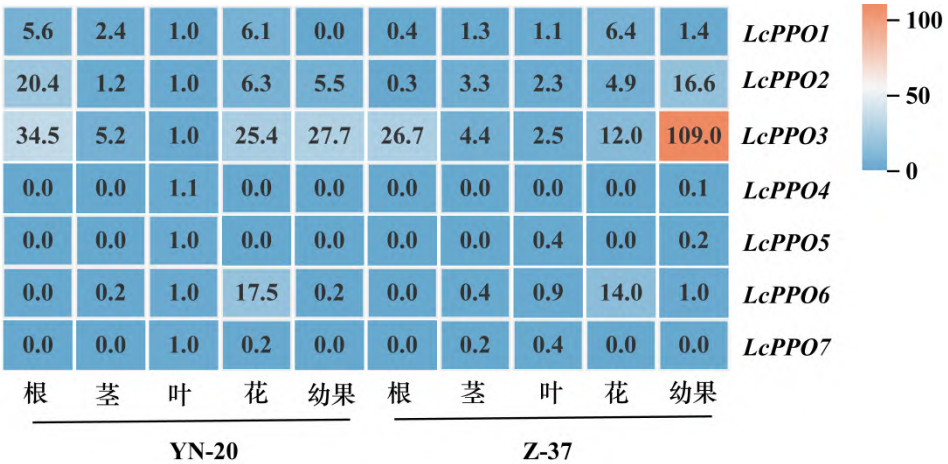
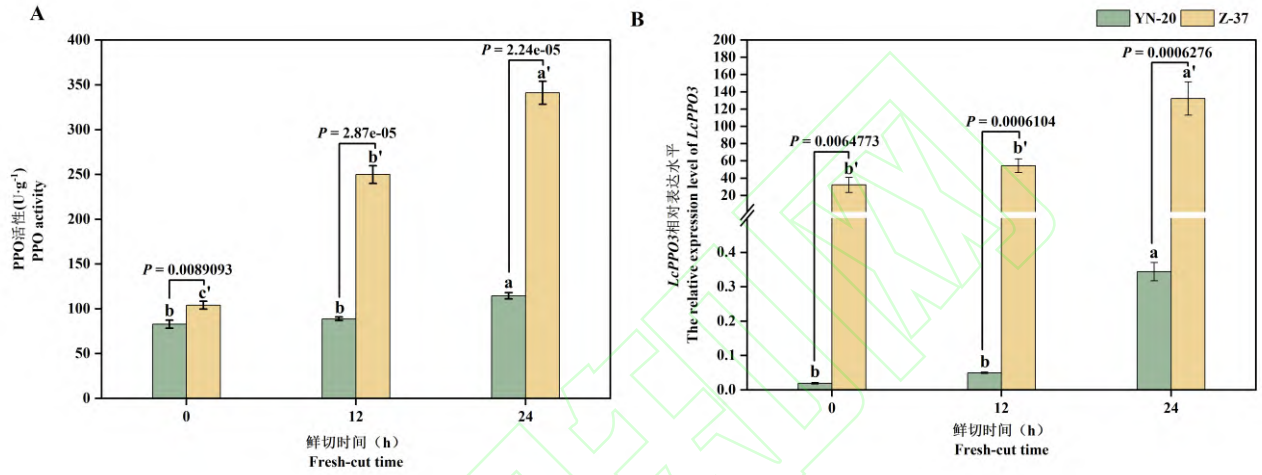


图 9 *LcPPOs* 在不同组织的表达模式

Fig. 9 The expression patterns of *LcPPOs* in different tissues

2.3.3 ***LcPPO3*** **基因表达及 PPO 活性分析** 为进一步明确 *LcPPO3* 在普通丝瓜果实褐变中的作用，分别测定 YN-20（高耐褐变）与 Z-37（褐变敏感）不同鲜切时间（0、12、24 h）的 PPO 活性与 *LcPPO3* 的基因表达，结果发现 Z-37 在各鲜切时间点的 PPO 活性均显著高于 YN-20；在鲜切 24 h，Z-37 的 PPO 活性为 YN-20 的 2.98 倍（图 10A）。此外，在各鲜切时间点，Z-37 中 *LcPPO3* 的相对表达量均显著高于 YN-20；在鲜切 24 h，Z-37 的 *LcPPO3* 相对表达量是 YN-20 的 384.85 倍（图 10B）。以上结果表明，*LcPPO3* 在普通丝瓜果实褐变中发挥重要作用。



a、b 和 c 表示 YN-20 在不同鲜切时间点的差异显著性，而 a′、b′和 c′表示 Z-37 在不同鲜切时间点的差异显著性。

a, b, and c indicate differences in YN-20 at different time points, whereas a′, b′, and c′represent differences in Z-37

图 10 YN-20 与 Z-37 在不同鲜切时间点的 PPO 活性及 *LcPPO3* 基因表达

Fig. 10 The PPO activity and relative expression of *LcPPO3* between YN-20 and Z-37 at different fresh-cut time points.

2.4 ***LcPPO3*** **的氨基酸序列同源性分析**

将本研究鉴定到的 *LcPPO3* 与福建省农科院鉴定到的参与丝瓜果实褐变关键基因 *LcPPO1*（NCBI 登录号：KM506756）[30]的氨基酸序列序列进行比对（图 11），二者的序列一致性达 95.82%。其中，*LcPPO3* 的 CuA/B 结合结构域分别位于第 190~207 及 346~357 位，核心结构域无差异，而序列差异发生在 552~553、555~557、559~576 及 578~579 位，进一步验证 *LcPPO3* 是普通丝瓜果实褐变的关键基因。

绿色框内的氨基酸序列表示酪氨酸酶；红色框内的氨基酸序列分别表示 CuA 与 CuB 结合结构域

The amino acid sequence within the green box represents the tyrosine ; the amino acid sequences within the red boxes respectively represent the binding domains of CuA and CuB

图 11 氨基酸序列比对结果

Fig. 11 The amino acid sequence alignment results

3 讨论

种质资源的褐变精准鉴定评价有助于耐褐变材料的筛选，进而培育出耐褐变的丝瓜新品种[34]。早期，以沸水浴结合计算褐变指数的方法将丝瓜褐变等级分为 5 级[14]，但此方法鉴定的褐变只能反映丝瓜的非酶促褐变[35]。此后，有研究利用褐变度（分光光度法测定）的频次分布将 123 份丝瓜种质资源分为 3 级[15]。庄尹宏[31]利用褐变度为评价指标，对褐变度进行概率分级，将 38 份普通丝瓜种质资源分为 5 级。Luo 等[16]基于摄影技术与 MATLAB 整合的褐变监测方法评估各颜色参数在褐变中的适用性，发现 a^*值与褐变指数表现出更强的规律性，指出 a^*值是监测鲜切富士苹果褐变的更佳指标。本研究结合 2022 与 2023 年 158 份普通丝瓜果实中段果肉匀浆的 a^*值，进一步利用均值±标准差的方法进行综合评价分级，筛选出两年共有的高耐褐变及褐变敏感种质资源各 11 份；其中，YN-20 与 Z-37 在 2 年的高耐褐变及褐变敏感材料中均排名前 5，作为后续丝瓜果实褐变研究的材料。

目前，多个物种的 *PPO* 基因家族成员被鉴定出来，家族成员数量因物种而异，而与基因组大小无直接关联[36]，如拟南芥和油菜等十字花科植物普遍缺失 *PPO* 基因[27]；香蕉中的 10 个 *PPO* 基因家族成员分散于 4 条染色体[27]；苹果中的 16 个 *PPO* 基因家族成员分散于 2、4、5、10 号染色体上[37]；莴苣的 17 个 *PPO* 基因家族成员分别位于 2、3、4、7、8、9 号 6 条染色体上[29]；橄榄的 18 个 *PPO* 基因家族成员分布于 13 和 21 号染色体[28]。这些物种的 *PPO* 基因家族成员分散于不同染色体上，表现出分散重复特性，可能是驱动 *PPO* 基因家族功能分化的关键驱动力。本研究在普通丝瓜中鉴定到 7 个 *LcPPOs*，均位于 6 号染色体，除 LcPPO1 蛋白有 11 种保守基序外，其余 LcPPO 蛋白均含有 12 种保守基序，表明 *LcPPOs* 可能通过串联重复进化形成基因簇，更利于其协同调控普通丝瓜的生长发育及次生代谢过程。

亚细胞定位预测表明 LcPPOs 家族成员均位于叶绿体，与香蕉[27]、橄榄[28]、莴苣[29]及南果梨[38]等 PPO 亚细胞定位结果一致，表明各 PPO 蛋白的功能相对保守。酚酶区域分布假说提出酚类物质位于液泡中，PPO

位于叶绿体中，在适宜的环境条件下，酚酶呈区室化分布，但当细胞膜损伤后，酚酶直接接触导致褐变发生[7]，本研究的亚细胞定位预测结果进一步验证了酚酶区域分布假说。

本研究利用 15 份褐变敏感性不同的普通丝瓜种质资源的 a^*值与果实 *LcPPOs* 相对表达量进行相关性分析，发现仅 *LcPPO3* 基因表达与 a^*值呈极显著正相关。此外，利用 YN-20（高耐褐变）与 Z-37（褐变敏感）的根、茎、叶、花、幼果进行 qRT-PCR 分析，发现 7 个 *LcPPOs* 中有 3 个基因家族成员（*LcPPO4*、*LcPPO5* 与 *LcPPO7*）在其各组织中表达量均较低，这与先前在香蕉[27]、毛白杨[39]中的研究结果相似。*LcPPO2* 与 *LcPPO3* 在 Z-37 果实中特异性高表达，其中，*LcPPO3* 在 Z-37 幼果中的相对表达量是 YN-20 幼果中的的 3.94 倍。为进一步验证 *LcPPO3* 与丝瓜果实褐变的关系，分析 YN-20 与 Z-37 在鲜切 0 h、12 h 及 24 h 的 PPO 活性及 *LcPPO3* 的相对表达水平，发现 Z-37 中的 PPO 活性与 *LcPPO3* 的表达量均随鲜切时间增加而显著上升，而 YN-20 中 PPO 活性与 *LcPPO3* 的表达量相对较稳定，以上 *LcPPO3* 的表达模式与 PPO 活性的变化趋势与课题组前期已发表的实验结果一致[32]。而基于 Wu 等[1]参考基因组鉴定到的 *LcPPO3* 的氨基酸序列与福建省农科院鉴定到的参与丝瓜果实褐变的关键基因 *LcPPO1*（NCBI 登录号：KM506756）[30]的蛋白序列相似性达 95.82%，此外，差异的氨基酸并不处于酪氨酸酶的铜离子结合结构域上（图 11）。以上结果表明，*LcPPO3* 是普通丝瓜果实褐变的关键基因。

对 *LcPPOs* 上游 2000 bp 进行顺式作用元件分析，发现 *LcPPO1* 与 *LcPPO5* 启动子区存在低温诱导响应元件，表明 *LcPPO1* 与 *LcPPO5* 可能响应普通丝瓜对低温胁迫的应答。*LcPPO2* 与 *LcPPO7* 启动子区存在伤口响应元件，表明 *LcPPO2* 与 *LcPPO7* 可能在普通丝瓜伤口愈合中发挥重要作用。在本研究的 *LcPPOs* 的顺式作用元件预测中发现，各 *LcPPOs* 的启动子区存在大量 MYB 结合位点。目前已有大量研究表明 MYB 转录因子参与果蔬褐变，如 PuMYB4 与 PuMYB86 通过正调控 *PuPPO1* 的表达，加剧南果梨果皮褐变[37]，R2R3MYB 转录因子可作为马铃薯酶促褐变基因（*StPPO1-3*）的正调控因子[40]。后续可通过验证丝瓜中 MYB 转录因子对 *LcPPOs* 的转录调控作用，进一步探究普通丝瓜果实褐变的分子机理。

参考文献

[1] Wu H, Zhao G, Gong H, Li J X, Luo C X, He X L, Luo S B, Zheng X M, Liu X X, Guo J J, Chen J Q, Luo J N. A high-quality sponge gourd (*Luffa cylindrica*) genome. Horticulture Research, 2020, 7(1):128

[2] 朱海生,温文旭,刘建汀,叶新如,陈敏氡,王彬,张前荣,李永平,温庆放.丝瓜苯丙氨酸解氨酶基因 PAL 克隆及表达分析.植物遗传资源学报,2018,19(2):305-313

Zhu H S, Wen W X, Liu J T, Ye X R, Chen M D, Wang B, Zhang Q R, Li Y P, Wen Q F. Cloning and expression analysis of phenylalanine ammonia-lyase PAL gene from *Luffa cylindrical*. Journal of Plant Genetic Resources, 2018,19(2):305-313.

[3] Tyagi R, Sharma V, Sureja A K, Munshi A D, Arya L, Saha D, Verma M. Genetic diversity and population structure detection in sponge gourd (*Luffa cylindrica*) using ISSR, SCoT and morphological markers. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2020, 26(1): 119-131

[4] 曹诚娟. 普通丝瓜果长性状表型鉴定及相关基因挖掘.福州: 福建农林大学, 2025

Cao C J. Phenotypic Identification of Fruit Length Trait and Mining of Related Genes in Luf acylindrica.

Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2025.

[5] Prakash K, Pandey A, Radhamani J, Bisht I S. Morphological variability in cultivated and wild species of *Luffa* (Cucurbitaceae) from India. Genetic resources and crop evolution, 2013, 60(8): 2319-2329

[6] Zou H, Li C Z, Wei X Y, Xiao Q, Tian X C, Zhu L C, Ma B Q, Ma F W, Li M J. Expression of the polyphenol oxidase gene *MdPPO7* is modulated by MdWRKY3 to regulate browning in sliced apple fruit. Plant Physiology, 2025, 197(1): kiae614

[7] Zuo W, Lu L, Su M, Zhang J, Li Y, Huang S, Li C, Wang N, Zhang Z, Chen X. Analysis of differentially expressed genes and differentially abundant metabolites associated with the browning of Meihong red-fleshed apple fruit. Postharvest Biology and Technology, 2021, 174, 111437

[8] Martinez M V, Whitaker J R. The biochemistry and control of enzymatic browning. Trends in Food Science & Technology, 1995, 6(6), 195-200

[9] Qiao L P, Gao M, Wang Y S, Tian X J, Lu L F, Liu, X. Integrated transcriptomic and metabolomic analysis of cultivar differences provides insights into the browning mechanism of fresh-cut potato tubers. Postharvest Biology and Technology, 2022, 188, 111905

[10] Wang T T, Yan T, Shi J K, Sun Y M, Wang Q G, Li Q Q. The stability of cell structure and antioxidant enzymes are essential for fresh-cut potato browning. Food Research International, 2023, 164, 112449

[11] Prohens J, Rodríguez-Burruezo A, Raigón M D, Nuez F. Total phenolic concentration and browning susceptibility in a collection of different varietal types and hybrids of eggplant: Implications for breeding for higher nutritional quality and reduced browning. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2007, 132(5): 638-646

[12] Wang W Y, Bi J F, Hu J X, Li X. Metabolomics comparison of four varieties apple with different browning characters in response to pretreatment during pulp processing. Food Research International, 2024, 190: 114600

[13] 王雅慧,刘晓宏,雍明丽,熊爱生,苏小俊.基于代谢组学分析丝瓜果肉褐变过程酚酸类物质变化.中国农业科学,2021,54(22):4869-4879

Wang Y H, Liu X H, Yong M L, Xiong A S, Su X J. Analysis of changes in phenolic acids of *Luffa cylindrica* pulp during browning based on metabolomics. Scientia Agricultura Sinica, 2021,54(22):4869-4879

[14] 王成,王辉,娄丽娜,苏小俊.普通丝瓜果肉褐变的鉴定方法.江苏农业科学,2012,40(11):137-138

Wang C, Wang H, Lou L N, Su X J. The identification method for the browning of the flesh of *Luffa cylindrica*. Jiangsu Agricultural Sciences, 2012, 40(11): 137-138

[15] 花秀凤,陈铣,黄斌斌.普通丝瓜果肉褐变的变异及低褐变品种的筛选.中国农学通报,2013,29(19):103-106

Hua X F, Chen X, Huang B B. *Luffa cylindrica* Roem flesh browning variation and low browning varieties selection. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2013, 29(19): 103-106

[16] Luo S H, Li C Z, Li X J, Shen J D, Li J, Zhang X Y, Wu Y, He K Z, Jiang Y, Tang Y Q. Real-time optical monitoring of enzymatic browning in fresh-cut apples: integrating photography with physiological and

transcriptomic insights. Food Chemistry, 2025, 495(3): 146552

[17] Wu S, Sun M, Lian H S. Insights into the molecular mechanisms of browning tolerance in *luffa*: a transcriptome and metabolome analysis. Frontiers in Plant Science, 2025, 16: 1530531

[18] Zhao Z, Wang F, Deng M, Fan G Q. Identification and Analysis of *PPO* Gene Family Members in *Paulownia fortunei*. Plants, 2024, 13(15): 2033

[19] 李婷婷,李玉蕊,鄢敏丽,张海星,王瑞红,柯卫东,郭宏波.莲藕*PPO*基因家族成员鉴定与分析.农业生物技术学报,2022,30(1):38-49

Li T T, Li Y R, Yan M L, Zhang H X, Wang R H, Ke W D, Guo H B. Identification and analysis of *PPO* gene family members in Lotus (*Nelumbo nucifera*). Journal of Agricultural Biotechnology, 2022, 30(1): 38-49

[20] Li L, Steffens J C. Overexpression of polyphenol oxidase in transgenic tomato plants results in enhanced bacterial disease resistance. Planta, 2002, 215(2): 239-247

[21] 刘波,池明,曹梦琦,唐达,杨恒照,张卫华,薛聪.过表达马铃薯 *StuPPO9* 基因对烟草抗旱能力的影响.作物学报,2024,50(9):2237-2247

Liu B, Chi M, Cao M Q, Tang D, Yang H Z, Zhang W H, Xue C. Impact of potato *StuPPO9* gene overexpression on drought resistance in *Nicotiana benthamiana*. Acta Agronomica Sinica, 2024, 50(9): 2237-2247

[22] Li Z M, Zhou H G, Chen Y, Chen M Y, Yao Y T, Luo H H, Wu Q, Wang F L, Zhou Y W. Analysis of transcriptional and metabolic differences in the petal color change response to high-temperature stress in various chrysanthemum genotypes. Agronomy, 2024, 14(12): 2863

[23] Wei X M, Shu J, Fahad S, Tao K L, Zhang J W, Chen G L, Liang Y C, Wang M Q, Chen S Y, Liao J G. Polyphenol oxidases regulate pollen development through modulating flavonoids homeostasis in tobacco. Plant Physiology and Biochemistry, 2023, 198: 107702

[24] Chen X, Yang B X, Huang W, Wang T T, Li Y H, Zhong Z H, Zhong Z H, Yang L, Li S X, Tian J K. Comparative proteomic analysis reveals elevated capacity for photosynthesis in polyphenol oxidase expression-silenced *Clematis terniflora* DC. leaves. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(12): 3897

[25] Li J F, Deng Z Y, Dong H H, Tsao R, Liu X R. Substrate specificity of polyphenol oxidase and its selectivity towards polyphenols: Unlocking the browning mechanism of fresh lotus root (*Nelumbo nucifera Gaertn*.). Food Chemistry, 2023, 424: 136392

[26] 程丽莉,程运河,曹庆昌,胡广隆,兰彦平.板栗 *PPO* 基因家族鉴定及生物信息学分析.果树学报,2020,37(9):1305-1313

Chen L L, Cheng Y H, Cao Q C, Hu G L, Lan Y P. Identification and bioinformatics analysis of *PPO* gene family in Chinese chestnut (*Castanea mollissima*). Journal of Fruit Science, 2020, 37(9): 1305-1313

[27] Qin F, Hu C H, Dou T X, Sheng O, Yang Q S, Deng G M, He W D, Gao H J, Li C Y, Dong T, Yi G J, Bi F C.

Genome-wide analysis of the polyphenol oxidase gene family reveals that *MaPPO1* and *MaPPO6* are the main contributors to fruit browning in *Musa acuminate*. Frontiers in Plant Science, 2023, 14: 1125375

[28] Liu Q Q, Wang C H, Cui Q Z, Fan Y T, Zhang J G, Rao G D. Genome-wide analysis of the polyphenol oxidase gene family in Olea europaea provides insights into the mechanism of enzymatic browning in olive fruit. Antioxidants, 2023, 12(9): 1661

[29] Guo M, Tang Y M, Yang Y W, Luo J H, Gao J. Identification and expression analysis of polyphenol oxidase gene family members in response to wound stress in lettuce (*Lactuca sativa* L.). Plants, 2025, 14(6): 972

[30] 朱海生, 康娟, 刘建汀, 陈敏氡, 李永平, 王彬, 林碧英, 温庆放. 丝瓜多酚氧化酶*PPO*基因家族的克隆与表达分析. 核农学报, 2018, 32(8): 1502-1512

Zhu H S, Kang J, Liu J T, Chen M D, Li Y P, Wang B, Lin B Y, Wen Q F. Cloning and expression analysis of the *PPO* gene family of sponge gourd (*Luffa cylindrica*). Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2018, 32(8): 1502-1512

[31] 庄尹宏.丝瓜褐变分级与总酚及相关酶活性分析.福州: 福建农林大学,2016

Zhuang Y H. Analyze the total phenols and related enzymes' activity on *luffa* browning classification. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2016

[32] Chai Y Q, Zhang P, Gao L Y, Shi Y J, Dong W Q, Zhou S J, Wang X, Zhu Y Q, Diao M, Sun Y Y. Transcriptome and metabolome profiling reveal the mechanism underlying fruit browning in sponge gourd (*Luffa cylindrica*). Postharvest Biology and Technology, 2026, 231, 113926

[33] 吴依榕.普通小麦苗期耐低氮种质资源筛选及全基因组关联分析.南京: 南京农业大学,2023

Wu Y R. Screening of low nitrogen tolerance germplasm resources and Genome-wide association study of common wheat at seedling stage. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2023

[34] Chen P, Li J, Luo Q, Zong J, Gao J, Qin R, Ran H, Zhao T, Fu Y. Transcriptome and physiological analysis revealed the difference of resistance to fresh-cut browning among sweetpotato genotypes. Postharvest Biology and Technology, 2023, 205: 112504

[35] 王海艳,王立春,李凤云,田国奎,娄树宝,李成君,郝智勇.马铃薯抗褐变种质资源的鉴定与筛选.植物遗传资源学报,2018,19(2):263-270

Wang H Y, Wang L C, Li F Y, Tian G K, Lou S B, Li C J, Hao Z Y. Identification and selection for potato anti-browning germplasm resources. Journal of Plant Genetic Resources, 2018, 19(2): 263-270

[36] Tran L T, Taylor J S, Constabel C P. The polyphenol oxidase gene family in land plants: Lineage-specific duplication and expansion. BMC genomics, 2012, 13(1): 395

[37] 闫洪波,李桂琴,宋亚伟,孟钰玉,王云松,关军锋. 5 种蔷薇科树种多酚氧化酶比较基因组学分析.热带作物学报,2017,38(2):320-327

Yan H B, Li G Q, Song Y W, Meng Y Y, Wang Y S, Guan J F. Comparative genomics analysis of the polyphenol oxidase genes among five rosaceae species. Chinese Journal of Tropical Crops, 2017, 38(2):

320-327

[38] 孙扬扬.转录因子 *PuMYB4*/*86* 协同调控冷藏南果梨果皮褐变的分子机制.沈阳: 沈阳农业大学,2024
Sun Y Y. Molecular mechanism of transcriptional factor *PuMYB4*/*86* synergistically regulating pericarp browning of cold stored‘Nanguo’pears. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2024

[39] He F, Shi Y J, Zhao Q, Zhao K J, Cui X L, Chen L H, Yang H B, Zhang F, Mi J X, Huang J L, Wan X Q. Genome-wide investigation and expression profiling of polyphenol oxidase (PPO) family genes uncover likely functions in organ development and stress responses in *Populus trichocarpa*. BMC Genomics, 2021, 22(1): 731

[40] Meng Z, Ma Y R, Wang Q G, Li Q Q. The *R2R3-MYB* transcription factor *StODO1* functions as a positive regulator of polyphenol oxidase and enzymatic browning in *Solanum tuberosum* L. Postharvest Biology and Technology, 2025, 227: 113575