

茶树新梢中纤维素酶活性及相关基因表达差异分析

周汉琛, 杨婷, 雷攀登, 丁勇, 黄建琴*

(安徽省农业科学院茶叶研究所, 安徽 黄山 245000)

摘要: 为了解茶树新梢中纤维素酶的生理特征, 对 3 个茶树(*Camellia sinensis*)品种新梢中纤维素酶活性的变化和相关基因的表达进行了研究。结果表明, 3 个茶树品种新梢中的纤维素酶活性差异显著, ‘平阳特早’和‘鳊早 2 号’随着叶片成熟度增加, 内切葡聚糖酶和外切葡聚糖酶活性升高, ‘舒茶早’则相反。 β -葡萄糖苷酶活性在 3 个茶树品种都是在 1 芽 3 叶时期最低, 且幼嫩部位的酶活性高于成熟部位, 但其酶活性高于外切葡聚糖酶活性。半定量 RT-PCR 结果表明, 5 个纤维素酶相关基因在 3 个茶树品种新梢中均有表达, 有 2 个 β -葡萄糖苷酶同源基因的表达量差异显著。因此, 纤维素酶可能在茶叶的品质形成中起作用。

关键词: 茶树; 纤维素酶; 葡聚糖酶; 半定量 RT-PCR

doi: 10.11926/jtsb.3651

Differences Analysis of Cellulase Activity and Its Related Gene Expression in Shoots of *Camellia sinensis*

ZHOU Han-chen, YANG Ting, LEI Pan-deng, DING Yong, HUANG Jian-qin*

(Tea Research Institution, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Huangshan 245000, Anhui, China)

Abstract: In order to understand the characteristics of cellulase in shoots of *Camellia sinensis*, the changes in cellulase activity and related gene expressions in three cultivars of *C. sinensis* were studied. The results showed that the cellulase activity in the three cultivars had significant difference. The activities of the endo-glucanase and exo-glucanase in ‘Pingyang Tezao’ and ‘Fuzao No. 2’ increased with leaf maturity, which was contrary to the ‘Shuchazao’. The β -glucosidase activity in the three cultivars was the lowest at stage of three leaves with a bud, and its activity in young parts was higher than that in maturity parts in shoots. Otherwise, the activity of β -glucosidase in tea shoots was higher than that of exo-glucanase. The expressions of five cellulase-related genes could be detected in shoots of three cultivars by semi-quantitative PCR, in which the expression of two homologous genes had significant difference. Therefore, the glucanase would play a role in quality formation of tea.

Key words: *Camellia sinensis*; Cellulase; Glucanase; Semi-quantitative RT-PCR

纤维素酶是一种多组分的复合酶系^[1], 目前确定含有 3 种主要组分: 内切葡聚糖酶(Endoglucanase, EG, EC 3.2.1.4)、外切葡聚糖酶(Exoglucanase, EXG, EC 3.2.1.91)和 β -葡萄糖苷酶(β -Glucosidase, BG, EC 3.2.1.21)。内切葡聚糖酶能随机切割纤维素

链生成各种糖或者寡糖, 并产生额外的外切作用位点, 而外切葡聚糖酶作用于纤维素链生成可溶的纤维糊精和纤维二糖; β -葡萄糖苷酶能水解纤维二糖和寡糖生成葡萄糖^[2-3]。纤维素酶能够促进细胞间物质和水分的运转, 调控植物的伸长、成熟与脱落,

收稿日期: 2016-07-22

接受日期: 2016-10-09

基金项目: 安徽省农业科学院院长基金项目(15B0837); 安徽省农业科学院科技创新团队项目(13C0815); 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-23)资助

This work was supported by the President Foundation of Anhui Academy of Agricultural Sciences (Grant No. 15B0837), the Scientific and Technical Innovation Group Foundation of Anhui Academy of Agricultural Sciences (Grant No. 13C0815), and the National Modern Agricultural Industry Technology System Project of China (Grant No. CARS-23).

作者简介: 周汉琛(1989~), 女, 硕士, 主要从事茶叶生物化学研究。E-mail: teazhc@163.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: Tuesday1011@163.com

如降解细胞壁物质软化果实等, 在植物的生长发育中发挥着重要作用^[4-5]。

茶树(*Camellia sinensis*)是我国重要的经济作物, 主要生长在气候湿热的热带、亚热带地区。茶树新梢是茶树重要的组织部位, 无论是在生长发育过程中, 还是在茶叶加工过程中都具有重要作用。有研究表明纤维素酶在茶叶加工过程中能够提高茶叶内含物的含量^[6], 促使可溶性糖类较多的积累, 为茶叶奠定物质基础。另外 β -葡萄糖苷酶与芳樟醇、香叶醇等茶叶香气的生成密切相关, 且参与了茶树对病虫害的防御反应^[7-8]。目前关于茶树纤维素酶的研究大多集中在 β -葡萄糖苷酶, 而关于茶树鲜叶中内切葡聚糖酶和外切葡聚糖酶的研究鲜有报道。因此, 本研究分析内切葡聚糖酶、外切葡聚糖酶和 β -葡萄糖苷酶在茶树新梢中的活性变化, 另对 GenBank 中登录的茶树纤维素酶相关基因进行搜索和半定量 RT-PCR 分析, 为研究纤维素酶在茶叶品质形成和茶树生长发育过程中的作用提供理论参考。

1 材料和方法

1.1 材料

以茶树 [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] 品种 ‘皋早 2 号’ (‘Fuzao No. 2’, FZ)、‘平阳特早’ (‘Pingyang Tezao’, PT)、‘舒茶早’ (‘Shuchazao’, SC) 为供试材料。样品于 2016 年 4 月采自安徽省黄山市试验茶园中的 5 年生茶树植株。

1.2 叶片粗酶液的提取

准确称取茶树新鲜叶片 2 g, 加入 20 mL 的 100 mmol L⁻¹ 柠檬酸三钠-柠檬酸缓冲液 (pH 5.0)、等量不溶性聚乙烯吡咯烷酮 (Polyvinylpyrrolidone, PVPP) 和 0.5 g 石英砂置于冰上研磨至糊状。匀浆液以 8000×g 于 4℃ 下离心 5 min, 取上清液再于 4℃ 下以 10000×g 离心 10 min, 上清液即为粗酶液^[9]。

1.3 纤维素酶活性测定

内切葡聚糖酶活性测定采用 DNS 法^[10], 反应体系为: 200 μ L 酶液、200 μ L 5 g L⁻¹ 羧甲基纤维素钠和 600 μ L 100 mmol L⁻¹ 柠檬酸三钠-柠檬酸缓冲液 (pH 5.0), 49℃ 反应 2 h 后, 加入 3 mL DNS 试剂, 煮沸 10 min, 用酶标仪 Multiskan GO 于 540 nm 下测吸光值, 以反应前加 3 mL DNS 试剂终止反应为对照。外切葡聚糖酶和 β -葡萄糖苷酶活性测定时, 底物分别为 10 mmol L⁻¹ PNPC 和 10 mmol L⁻¹ *p*-NPG, 反应体系和条件与内切葡聚糖酶相同, 反应结束后, 加入 2.5 mL 的 1 mol L⁻¹ Na₂CO₃ 终止反应, 用酶标仪 Multiskan GO 于 405 nm 下测定吸光值, 以反应前加 2.5 mL Na₂CO₃ 终止反应为对照^[11]。

内切葡聚糖酶活性根据还原糖标准曲线计算, 以 1 mL 粗酶液 10 min 催化生成 1 μ mol 葡萄糖为 1 个酶活单位 [U (10 min)⁻¹ mL⁻¹]。外切葡聚糖酶和 β -葡萄糖苷酶活性用对硝基苯酚标准曲线计算, 以 1 mL 粗酶液 10 min 催化生成 1 μ mol 对硝基苯酚为 1 个酶活单位 [U (10 min)⁻¹ mL⁻¹]。

1.4 纤维素酶相关基因的半定量 RT-PCR 分析

利用 Primer Premier 6 软件设计半定量引物 (表 1), 总 RNA 提取试剂为 RNAiso for Polysaccharide-rich Plant Tissue, 反转录试剂盒为 PrimeScript™ 1st Strand cDNA Synthesis Kit, PCR 使用高保真 Ex-Taq DNA 聚合酶, 目的条带大小用 DL500 DNA Marker 衡量, 以上试剂均购自 TaKaRa 公司。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 基因为内参基因进行 RT-PCR 扩增。PCR 反应程序为: 94℃ 变性 3 min; 94℃ 30 s, 60℃ 30 s, 72℃ 1 min, 30 个循环; 72℃ 延伸 5 min。PCR 扩增在 Apollo ATC201/401 PCR 仪上进行, 扩增产物采用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测。用定量软件 Image J 计算所检测基因的相对表达量。

表 1 茶树纤维素酶相关基因 RT-PCR 引物序列

Table 1 Primer sequence of cellulase-related gene in *Camellia sinensis*

引物 Primer	序列 Sequence	引物 Primer	序列 Sequence
GAPDH-F	TTGGCATCGTTGAGGGTC	CaBG2-F	GCAGGAAGCCACGCTGACAATCTTG
GAPDH-R	CAGTGGGAACACGGAAGC	CaBG2-R	TCACTGGACGGCCACTAATGAGGAC
CaEG-F	TGTCAGTGGATACGCAGATGAGTTG	CaBG3-F	TCCTCATTCGTGCCAACGCCAACT
CaEG-R	CGGAGGTGAGATAGTCGGAGTAGA	CaBG3-R	ACTGATCTCATCGGCAGCAACAAGC
CaBG1-F	TGGCAGCGAAAGGGTCAGTTGTAGT	CaBG4-F	AGCGGAGGAGTGAACAAGGAAGGT
CaBG1-R	GGCGATACCTTCCTTGTTCATCCT	CaBG4-R	ACAGCAGCAGCATGAGAAAGAAGCA

1.5 数据处理

采用 Excel 2007 进行数据整理, DPS 处理系统对数据进行单因素方差分析。所有数据均为 3 次重复的平均值。

2 结果和分析

2.1 新梢的纤维素酶活性

从图 1 可见,‘平阳特早’和‘鳧早 2 号’的新梢嫩度低于‘舒茶早’,前两者新梢展开度更高。从图 2 可见,内切葡聚糖酶、外切葡聚糖酶和 β -葡萄糖苷酶活性在 3 个茶树品种不同嫩度新梢中差异显著。内切葡聚糖酶和外切葡聚糖酶在‘平阳特早’和‘鳧早 2 号’的一芽三叶中活性最高,而在‘舒茶早’的一芽一叶中活性最高。 β -葡萄糖苷酶活性在 3 个茶树品种都是一芽三叶中最低。3 个茶树品种新梢中的 β -葡萄糖苷酶活性比外切葡聚糖酶活性高,如‘鳧早 2 号’一芽一叶、一芽二叶、一芽三叶中的 β -葡萄糖苷酶活性分别为 0.058、0.030、0.031 U (10 min)⁻¹ mL⁻¹,而外切葡聚糖酶活性则只有 0.013、0.012、0.016 U (10 min)⁻¹ mL⁻¹。

2.2 一芽三叶不同部位的纤维素酶活性

将茶树一芽三叶不同部位分别进行纤维素酶活性测定。结果表明,‘平阳特早’与‘鳧早 2 号’的内切葡聚糖酶活性随叶片成熟度的增加而升高,表现为芽<第一叶<第二叶<第三叶,与‘舒茶早’呈现相

反趋势(图 3)。3 个茶树品种外切葡聚糖酶活性都是以第二叶最低,第三叶最高。在‘舒茶早’中 β -葡萄糖苷酶活性随叶片嫩度降低而降低,表现为芽>第一叶>第二叶>第三叶,而‘平阳特早’和‘鳧早 2 号’都是以第一叶的酶活性最高。

2.3 纤维素酶相关基因 RT-PCR 分析

为了解茶树纤维素酶在 mRNA 水平的表达情况,通过 Primer Premier 6 设计半定量引物,对 GenBank 中搜索到的 5 个茶树纤维素酶相关基因进行半定量 RT-PCR 分析,包括 4 个 β -葡萄糖苷酶基因和 1 个内切葡聚糖酶基因,未找到茶树外切葡聚糖酶基因序列。5 个茶树纤维素酶相关基因分别命名为 *CaBG1* (登录号: AM285295.2)、*CaBG2* (登录号: KF933435.1)、*CaBG3* (登录号: AF537127.1)、*CaBG4* (登录号: HQ679938.2) 和 *CaEG* (登录号: KF750634.1)。RT-PCR 结果表明,5 个茶树纤维素酶相关基因在 3 个茶树品种中均有表达(图 4)。以‘舒茶早’的基因表达量为相对值 1,用定量软件 Image J 计算,这 5 个基因在‘平阳特早’和‘鳧早 2 号’中的表达量分别为 1.30 和 1.04 (*CaEG*)、1.14 和 1.01 (*CaBG1*)、0.97 和 1.02 (*CaBG2*)、1.54 和 1.28 (*CaBG3*)、1.30 和 1.89 (*CaBG4*),这与图 4 的结果一致。同源基因 *CaBG3* 与 *CaBG4* 在 3 个茶树品种新梢中的表达量与其他 3 个基因存在显著差异。对同源基因 *CaBG3* 在新梢不同部位中的表达量进行 RT-PCR 分析,结果表明,

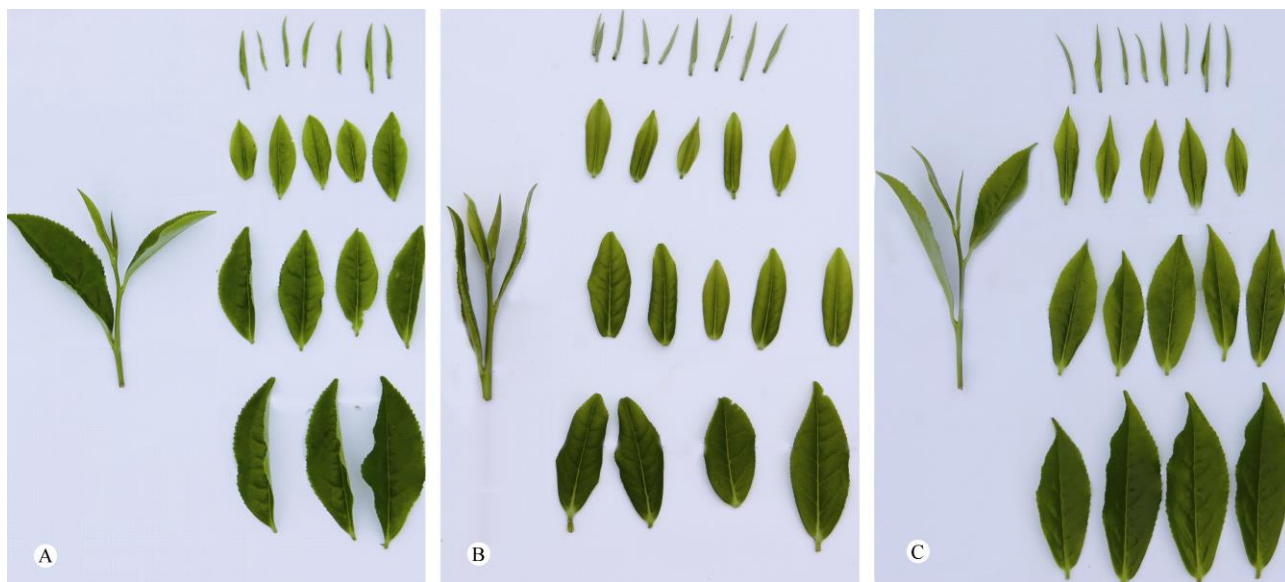


图 1 不同茶树品种新梢。A: ‘平阳特早’; B: ‘舒茶早’; C: ‘鳧早 2 号’。

Fig. 1 Shoots of different tea cultivars. A: ‘Pingyang Tezao’; B: ‘Shuchazao’; C: ‘Fuzao No. 2’.

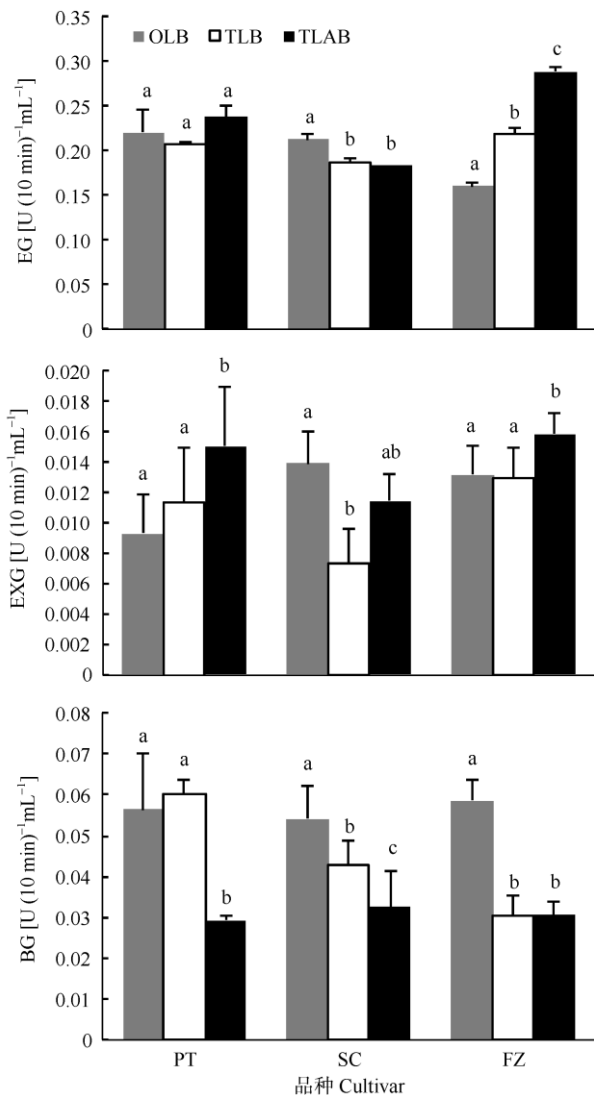


图2 茶树新梢中纤维素酶活性。OLB: 一芽一叶; TLB: 一芽二叶; TLAB: 一芽三叶; PT: ‘平阳特早’; SC: ‘舒茶早’; FZ: ‘皂早 2 号’。柱上不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下图同。

Fig. 2 Cellulase activities in shoots of three tea cultivars. OLB: One leaf with a bud; TLB: Two leaves with a bud; TLAB: Three leaves with a bud; PT: ‘Pingyang Tezao’; SC: ‘Shuchazao’; FZ: ‘Fuzao No. 2’. Different letters above column indicate significant difference at 0.05 level. The same is following Figures.

以第一叶的表达量为 1, ‘平阳特早’第二叶和第三叶表达量分别为 0.93 和 0.77, ‘皂早 2 号’是 1.05 和 0.86。

β-葡萄糖苷酶活性在‘平阳特早’和‘皂早 2 号’中均表现为第一叶 > 第二叶 > 第三叶, 半定量 RT-PCR 结果表明, ‘平阳特早’β-葡萄糖苷酶同源基因 *CaBG3* 表达量呈现相同趋势, 这说明 β-葡

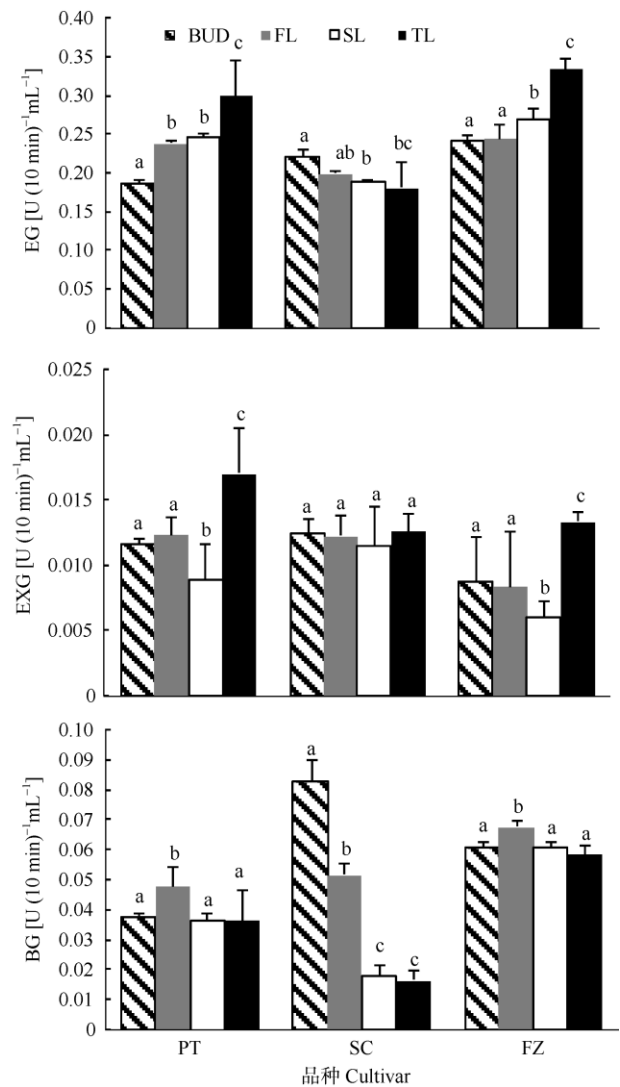


图3 茶树一芽三叶不同部位纤维素酶活性。BUD: 芽; FL: 第一叶; SL: 第二叶; TL: 第三叶。

Fig. 3 Cellulase activities in different parts of three leaves with a bud. BUD: Bud; FL: 1st leaf; SL: 2nd leaf; TL: 3rd leaf.

萄糖苷酶基因 *CaBG3* 表达量与酶活性变化趋势相同。

3 讨论

3.1 纤维素酶活性差异与茶叶品质

高等植物细胞壁是由纤维素、半纤维素、果胶物质等大分子组成, 纤维素是细胞壁的骨架^[12]。纤维素酶作为细胞壁代谢水解酶参与植物的生长发育过程。在果实软化过程中, 随着果实成熟度增加, 纤维素酶活性上升, 纤维素、半纤维素等细胞壁物

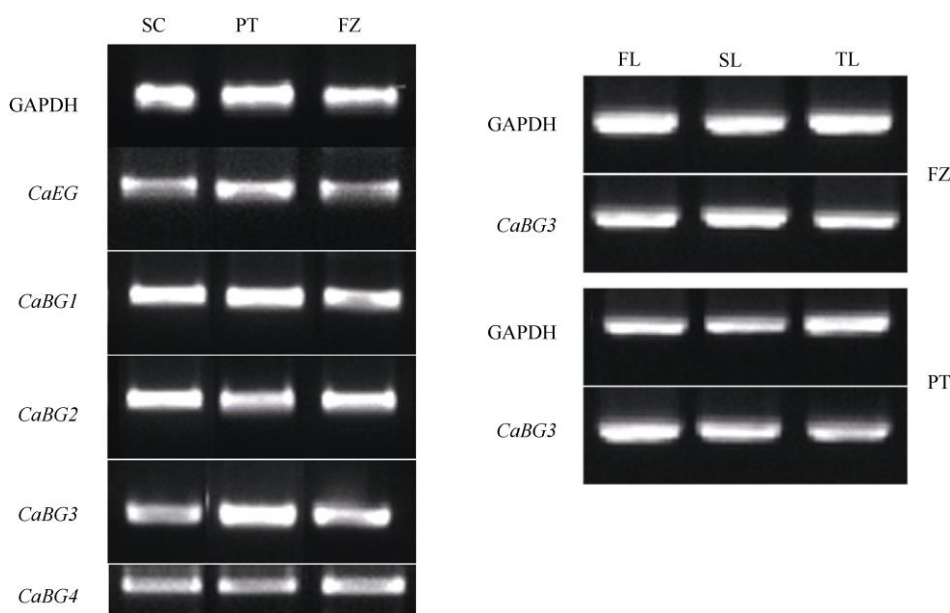


图4 茶树纤维素酶相关基因表达的 RT-PCR 分析。FL: 第一叶; SL: 第二叶; TL: 第三叶。

Fig. 4 Expression of cellulase-related genes in *Camellia sinensis* by RT-PCR. FL: 1st leaf; SL: 2nd leaf; TL: 3rd leaf.

质发生降解,产生糖类物质^[13-14]。在茶叶加工过程糖苷酶,茶树鲜叶中的糖苷类香气前体可以水解生成相应的醇类香气,增加茶叶香气,提升茶叶品质。对茶树品种‘龙井43’和‘毛蟹’的研究表明, β -葡萄糖苷酶活性在幼嫩部位高,表现为芽>第一叶>第二叶>第三叶,且不同品种间的 β -葡萄糖苷酶活性差异大^[15]。本试验中,茶树品种‘舒茶早’与前者研究结果一致。内切葡聚糖酶和外切葡聚糖酶在‘平阳特早’和‘鳊早2号’中都是随着叶片成熟度增加而增加,以第三叶的酶活性最高,而 β -葡萄糖苷酶活性则是以第一叶的活性最高。目前在名优茶加工中,有追求鲜叶原料越来越小、越来越嫩的现象,而根据本研究结果,名优茶加工并非原料越嫩越好,也许适当选取有一定成熟度的新梢制茶,品质会更醇厚。

3.2 纤维素酶活性与基因表达差异分析

每种酶都是基因表达的最终产物,而且多数并不是单一基因表达的结果,而是基因家族表达的结果。内切葡聚糖酶、外切葡聚糖酶和 β -葡萄糖苷酶都有基因家族。在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中,有25个内切葡聚糖酶同工酶基因以及47个 β -葡萄糖苷酶同工酶基因^[16]。通过GenBank仅搜索到5个茶树纤维素酶相关基因序列,

其中葡萄糖苷酶4个,内切葡聚糖酶1个。与其他物种相比,茶树中被鉴定出的纤维素酶相关基因太少,还有待深入研究。在茶树品种‘龙井43’中, β -葡萄糖苷酶基因的表达以第三叶>第二叶>一芽一叶,酶活性则为一芽一叶>第二叶>第三叶,基因表达量与酶活性呈现相反趋势^[17]。本研究中 β -葡萄糖苷酶基因AF537127在‘平阳特早’中的表达量与酶活性变化趋势相同,即基因表达量高,酶活性高,而‘鳊早2号’中基因表达量和酶活性变化趋势之间并没有明显的相关性,这可能是只对单一基因的表达量进行分析,并没有涉及同工酶基因的定量分析所导致的。另外,从基因表达到酶活性涉及到一系列过程,如基因的翻译、蛋白质的修饰等,这些因素都有可能造成基因表达量与酶活性之间的差异。

综上所述,茶树新梢中纤维素酶活性不仅在品种间存在差异,在品种内不同部位也存在差异,这种差异与纤维素酶相关基因表达差异之间并没有明显的相关性。根据新梢不同部位中纤维素酶活性差异可以为制茶过程中鲜叶的选取提供参考。另外,纤维素酶活性与基因表达差异也涉及到茶树的生长发育状态,以后可以通过同工酶基因的克隆以及定量分析不同时期、不同生态条件下纤维素酶基因表达量来确定两者之间的关系。

参考文献

- [1] LIBERTINI E, LI Y, MCQUEEN-MASON S J. Phylogenetic analysis of the plant endo- β -1,4-glucanase gene family [J]. *J Mol Evol*, 2004, 58(5): 506–515. doi: 10.1007/s00239-003-2571-x.
- [2] WOODWARD J. Synergism in cellulase systems [J]. *Bioresour Techn*, 1991, 36(1): 67–75. doi: 10.1016/0960-8524(91)90100-X.
- [3] TOMME P, WARREN R A J, GILKES N R. Cellulose hydrolysis by bacteria and fungi [J]. *Adv Microb Physiol*, 1995, 37: 1–81. doi: 10.1016/S0065-2911(08)60143-5.
- [4] GONG Y L, WEI C, WANG Z B, et al. Research progress of cellulase and pectinase in the extraction of tea leaves [J]. *J Tea Sci*, 2013, 33(4): 311–321. doi: 10.3969/j.issn.1000-369X.2013.04.005.
龚玉雷, 魏春, 王芝彪, 等. 生物酶在茶叶提取加工技术中的应用研究 [J]. *茶叶科学*, 2013, 33(4): 311–321. doi: 10.3969/j.issn.1000-369X.2013.04.005.
- [5] PENG L T, RAO J P, YANG S Z, et al. Changes in cell wall components and related hydrolytic enzymes in fruit softening [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2002, 10(3): 271–280. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2002.03.014.
彭丽桃, 饶景萍, 杨书珍, 等. 果实软化的胞壁物质和水解酶变化 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2002, 10(3): 271–280. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2002.03.014.
- [6] TANG H, YANG W L, WEN H T. Dynamic changes in cellulase activity and related biochemical components during oolong tea processing [J]. *Tea Commun*, 2003(2): 19–21.
唐颖, 杨伟丽, 文海涛. 乌龙茶加工中纤维素酶的活性与相关生化成分的动态变化 [J]. *茶叶通讯*, 2003(2): 19–21.
- [7] TAKEO T. Variation in amounts of linalol and geraniol produced in tea shoots by mechanical injury [J]. *Phytochemistry*, 1981, 20(9): 2149–2151. doi: 10.1016/0031-9422(81)80104-5.
- [8] YANG Z Y, BALDERMANN S, WATANABE N. Recent studies of the volatile compounds in tea [J]. *Food Res Int*, 2013, 53(2): 585–599. doi: 10.1016/j.foodres.2013.02.011.
- [9] JIANG C J, LI Y Y, WAN X C, et al. The daily change of β -glucosidase activity in bud-leaf of tea [J]. *J Plant Physiol*, 2000, 36(4): 324–326.
江昌俊, 李叶云, 宛晓春, 等. 茶芽叶中 β -葡萄糖苷酶活性的日变化 [J]. *植物生理通讯*, 2000, 36(4): 324–326.
- [10] ANDREWS P K, LI S L. Cell wall hydrolytic enzyme activity during development of nonclimacteric sweet cherry (*Prunus avium* L.) fruit [J]. *J Hort Sci Biotechn*, 1995, 70(4): 561–567. doi: 10.1080/14620316.1995.11515327.
- [11] JIANG C J, LI Y Y. The research about determination condition of β -D-glucosidase in tea [J]. *J Anhui Agri Univ*, 1999, 26(2): 212–215.
江昌俊, 李叶云. 茶叶中 β -D-葡萄糖苷酶活性测定条件的研究 [J]. *安徽农业大学学报*, 1999, 26(2): 212–215.
- [12] HENDRIKS A T W M, ZEEMAN G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass [J]. *Bioresour Techn*, 2009, 100(1): 10–18. doi: 10.1016/j.biortech.2008.05.027.
- [13] SHE W Q, ZHAO X L, PAN D M, et al. Relationship between cell wall metabolism and fruit juicy sac granulation during fruit mature stage of Pummelo [*Citrus grandis* (L.) Osbeck ‘Guanxi-miyou’] [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2008, 16(6): 545–550.
余文琴, 赵晓玲, 潘东明, 等. 细胞壁代谢与琯溪蜜柚果实成熟过程汁胞粒化的关系 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2008, 16(6): 545–550.
- [14] CHEN Y H, ZHANG H, LIN H T, et al. Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on softening and cell wall metabolism of harvested *Averrhoa carambola* fruits [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2013, 21(6): 566–571. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2013.06.011.
陈艺晖, 张华, 林河通, 等. 1-甲基环丙烯处理对采后杨桃果实软化和细胞壁代谢的影响 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2013, 21(6): 566–571. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2013.06.011.
- [15] LUO Y P, DONG S S, TONG Q Q, et al. Variation of β -glucosidase activity during the development of the shoots of seven tea cultivars [J]. *J Tea Sci*, 1997, 17(S1): 25–28.
骆耀平, 董尚胜, 童启庆, 等. 7 个茶树品种新梢生育过程中 β -葡萄糖苷酶活性变化 [J]. *茶叶科学*, 1997, 17(S1): 25–28.
- [16] XU Z W, ESCAMILLA-TREVIÑO L, ZENG L H, et al. Functional genomic analysis of *Arabidopsis thaliana* glycoside hydrolase family 1 [J]. *Plant Mol Biol*, 2004, 55(3): 343–367. doi: 10.1007/s11103-004-0790-1.
- [17] CHEN L, ZHAO L P, MA C L, et al. Differential expression analysis of β -glucosidase and β -primeverosidase genes in tea plant (*Camellia sinensis*) [J]. *Acta Hort Sin*, 2009, 36(1): 87–92. doi: 10.3321/j.issn:0513-353X.2009.01.014.
陈亮, 赵丽萍, 马春雷, 等. 茶树 β -葡萄糖苷酶和 β -樱草糖苷酶基因表达差异分析 [J]. *园艺学报*, 2009, 36(1): 87–92. doi: 10.3321/j.issn:0513-353X.2009.01.014.