

辣椒果实 SGR 基因的克隆与功能分析

秦于玲, 刘维侠, 曹振木, 刘琳, 朱丹, 殷晓敏, 刘子记*

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

摘要: 滞绿基因 (*STAY-GREEN*, *SGR*) 是一个调控植物叶绿素降解的关键基因, 在调控植物衰老方面发挥着重要作用。为研究 *SGR* 基因在辣椒果实着色过程中的调控作用, 采用同源基因克隆法, 利用 PCR 技术从辣椒果实 cDNA 中扩增出 *CaSGR* 基因, 对其蛋白序列进行生物信息学分析, 并构建病毒诱导基因沉默 (VIGS) 载体, 初步验证基因功能。结果表明: *CaSGR* 基因的 ORF 为 792 bp, 编码 263 个氨基酸; 生物信息学分析发现, 茄科作物 *SGR* 基因相对保守, 克隆的 *CaSGR* 蛋白与番茄、马铃薯的 *SGR* 蛋白进化关系较近; 构建 *CaSGR* VIGS 载体并注射辣椒叶片, 成功获得沉默植株, 沉默植株叶片白化, 果实颜色改变, *CaSGR* 基因的表达量显著降低, 果实中叶绿素与 β -胡萝卜素含量明显增高。本研究为深入解析 *CaSGR* 基因在辣椒果实着色中的分子调控机制提供基础, 并为培育高类胡萝卜素含量的辣椒新品种提供理论依据。

关键词: 辣椒; *CaSGR* 基因; VIGS 技术; 叶绿素; β -胡萝卜素

中图分类号: S641.3 文献标志码: A

Cloning and Functional Analysis of the *SGR* Gene in *Capsicum annum* Fruits

QIN Yuling, LIU Weixia, CAO Zhenmu, LIU Lin, ZHU Dan, YIN Xiaomin, LIU Ziji*

Institute of Tropical Crops Genetic Resources, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou, Hainan 571101, China

Abstract: *STAY-GREEN* (*SGR*) is a key gene that regulates chlorophyll degradation in plants and plays an important role in controlling plant senescence. To investigate the regulatory role of the *SGR* gene in the fruit coloration process of pepper, the homologous gene cloning method was employed to amplify the *CaSGR* gene from pepper fruit cDNA using PCR technology in this study. Bioinformatics analysis was conducted on its protein sequence, and a virus-induced gene silencing (VIGS) vector was constructed to preliminarily verify the gene function. The results showed that ORF of *CaSGR* was 792 bp, encoding 263 amino acids. Bioinformatics analysis revealed that *SGR* was relatively conserved among Solanaceae crops, and *SGR* had a closer evolutionary relationship with *SGR* from tomato and potato. *CaSGR* VIGS vector was constructed and injected into pepper leaves, successfully obtaining silenced plants. The silenced plants exhibited leaf whitening, fruit color changed, and *CaSGR* expression levels reduced significantly. Additionally, the chlorophyll and β -carotene content in the fruits of the silenced plants increased markedly. This study would provide a foundation for further elucidating the molecular regulatory mechanisms of *CaSGR* in pepper fruit coloration and offer theoretical support for breeding new pepper varieties with high carotenoid content.

Keywords: *Capsicum annum*; *CaSGR* gene; VIGS technology; chlorophyll; β -carotene

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.07.004

辣椒 (*Capsicum* spp.) 是全球重要的蔬菜和调味品, 近几年我国辣椒种植面积均稳定在 210 万 hm^2 左右, 产业规模居蔬菜首位^[1-3]。辣椒果色是最直观的外在品质性状和经济性状, 辣椒果实

收稿日期 2025-03-18; 接受日期 2025-03-28

基金项目 海南省科技计划三亚崖州湾科技城联合项目 (No. 320LH067); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (No. 1630032022009)。

作者简介 秦于玲 (1982—), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 蔬菜遗传育种。*通信作者 (Corresponding author): 刘子记 (LIU Ziji), E-mail: liuziji1982@163.com。

因含有类胡萝卜素种类不同而呈现不同的颜色，同时辣椒果实着色过程伴随叶绿素的降解和类胡萝卜素的合成^[4]。

滞绿基因 (*Stay-green*, *SGR*) 可延迟植物衰老过程中的叶绿素降解，导致叶片保持绿色，对植物生物量、品质和保鲜有重要影响。*SGR* 基因在高等植物中以基因家族形式存在，一般有 2 个或 3 个同源基因都参与植物叶绿素降解调控^[5-6]，目前 *SGR* 基因在拟南芥^[7]、番茄^[8]、辣椒^[9]等作物中研究较多。SATO 等^[10]在拟南芥中过表达 *AtSGR1* 会加速叶片叶绿素的降解，而呈现叶片黄化；SAKURABA 等^[11]研究发现，拟南芥中的 *STAY-GREEN2* (*SGR2*) 基因是一个负调控因子，它在叶片衰老过程中抑制叶绿素降解，可见其与在拟南芥的同源基因发挥的功能完全不同；刘宇华^[6]在研究辣椒果实着色中发现，*CaSGR2* 和 *CaSGR- LIKE* 在果实发育的整个过程中不表达或低表达，叶绿素降解主要由 *CaSGR1* 调控；番茄果实中 RNA 沉默 *SISGR1* 或 CRISPR/Cas9 编辑 *SISGR1*，会使成熟番茄果实呈现棕色，番茄红素和 β -胡萝卜素含量增加，研究发现是 *SISGR1* 与 *SIPSY1* 相互作用，从而调控番茄果实番茄红素的积累^[12-14]。

对于尚未建立稳定的遗传转化体系的植物来说，利用病毒诱导的基因沉默 (*virus-induced gene silencing*, *VIGS*) 方法验证基因功能，是较高效、便捷的手段^[15]。ZHOU 等^[16]建立了高效的辣椒 *VIGS* 体系，在多个品种实现高达 100% 的沉默效率；ZHANG 等^[17]通过构建与辣椒花青素合成相关的 *TRV2-MYB* 载体，发现 *MYB* 转录因子抑制辣椒花青素的合成；利用 *VIGS* 沉默辣椒素合成的基因 (*Comt*、*pAmt*、*Kas*)，辣椒果实中辣椒素含量明显降低^[18]；申龙斌等^[19]研究发现，在海南黄灯笼辣椒沉默凯氏带膜蛋白 *CASP*，沉默植株中基因的表达量显著下降，可见 *VIGS* 技术在辣椒基因功能研究中具有广阔的应用前景。

本课题组前期在辣椒果实不同着色时期的转录组数据中发现 *SGR* 基因差异表达显著，本研究从辣椒果实中克隆 *CaSGR* 基因，利用生物信息学软件分析 *CaSGR* 基因亚细胞定位及进化关系等，构建 *VIGS* 载体，分析沉默植株的基因表达以及叶绿素、 β -胡萝卜素的含量，以期为研究 *CaSGR* 在辣椒果实着色中的调控作用提供基础。

1 材料与方法

1.1 材料

提取 RNA 的实验材料来自自主选育的辣椒高代自交系 17SCa2m，种植于海南省儋州试验场五队 (19°33.66'N, 109°31.63'E)，采取成熟辣椒果实，去除胎座和种子，立即放入液氮中，-80℃ 冰箱保存。

1.2 方法

1.2.1 辣椒果实 RNA 提取及 cDNA 合成 根据天根多糖多酚 RNA 提取试剂盒 (DP441) 说明书提取辣椒果实 RNA，使用全式金反转录试剂盒 (AE311) 反转录 cDNA，琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性，使用 NanoDrop 检测 RNA 浓度。

1.2.2 辣椒果实 *CaSGR* 基因克隆 利用 Primer 5.0 软件设计 *CaSGR-F* 和 *CaSGR-R* 的引物 (表 1)，以上述得到的 cDNA 为模板，PCR 扩增目的片段。PCR 反应体系为：10×PCR Buffer 5 μ L、2 mmol/L dNTPs 5 μ L、25 mmol/L MgSO₄ 3 μ L、引物 1.5 μ L、TOYOBO KOD-Plus-Neo 酶 1 μ L、cDNA 2 μ L、ddH₂O 32.5 μ L。PCR 扩增程序为：94℃ 2 min；98℃ 10 s，58℃ 30 s，72℃ 30 s，循环 30 次；72℃ 10 min；4℃ 保存。用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测，将胶回收 PCR 产物、连接 pEASY-T1 Cloning Kit 载体和转化大肠杆菌感受态细胞 DH5 α ，菌落 PCR 筛选阳性克隆送至生工生物工程 (上海) 股份有限公司测序。

表 1 本研究中的引物序列
Tab. 1 Primer sequences used in this study

引物名称 Primer name	引物序列 (5'-3') Primer sequences (5'-3')
CaSGR-F	CGGGATCCCCGATGGGGACTTTGACTGCTTCT
CaSGR-R	GGGGTACCCCTCAGCTTTGCTGCTCTTGC
VIGS-F	CTCTAGAG TCTAGAACGTTTCATAGTTGTCAAGT
VIGS-R	CGGATCCG GGATCCCATCCTTATTATACCAACC
qRT-PCR-F	CCTGCTGTTCTCCTTTCT
qRT-PCR-R	CAACTTCTTCCCCTTTTA
Actin-F	CCACCTCTTCACTCTCTGCTCT
Actin-R	ACTAGGAAAAACAGCCCTTGGT

1.2.3 *SGR* 基因生物信息学分析 通过 NCBI 数据库的 ORF finder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) 工具找出基因的开放阅读框 ORF 和翻译出的蛋白序列；在 NCBI 数据库 Blastp 并下载拟南芥和茄科作物的 *SGR* 蛋白序列，使用 MEGA

7 软件采用 neighbour joining (NJ) 系统发育方法分析进化关系^[20],并用 ITOL (<https://itol.embl.de/>) 在线软件美化;使用 ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>) 和 Cell-PLoc 2.0 (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Cell-PLoc-2/>)^[21] 在线软件预测分子量、等电点和亚细胞定位;使用 DNAMAN 软件对 SGR 蛋白序列进行多重比对分析。

1.2.4 VIGS 载体的构建 利用 SGN VIGS (<https://vigs.solgenomics.net/>) 在线软件设计 *CaSGR* VIGS 片段,根据片段设计引物(表 1),以上述 1.2.2 中的阳性质粒为模板 PCR 扩增 VIGS 片段,经测序验证后,与酶切后的 TRV2 连接,转化到 DH5 α 感受态细胞。经双酶切验证后,将重组质粒转化到 GV3101 感受态细胞,PCR 检测成功的菌液用于 VIGS 注射实验。

1.2.5 注射辣椒幼苗 待辣椒幼苗生长至 3~4 片真叶期,分别挑取 TRV2-*CaPDS*、TRV2-*CaSGR*、TRV2 和 TRV1 已转化农杆菌 GV3101 的单克隆,在含有卡那霉素的液体 LB 培养基中 28 °C 震荡培养 24 h,4000 r/min 离心 20 min,收集菌体。用添加乙酰丁香酮的 MES 缓冲液重悬浮 2 次,调整 TRV1 的 OD₆₀₀ 为 0.4,TRV2-*CaPDS*、TRV2-*CaSGR* 和 TRV2 的 OD₆₀₀ 为 0.2,将 TRV2-*CaPDS*、TRV2-*CaSGR* 和 TRV2 分别与 TRV1 等量混合,28 °C 黑暗放置 3~4 h。用 2 mL 的注射器将菌液注入到辣椒子叶和真叶中,于 16 °C,16 h 光照/8 h 黑暗培养 3 d。移到 23 °C 16 h 光照、20 °C 8 h 黑暗的环境下培养,直至出现白化表型和目标表型。

1.2.6 *CaSGR* 基因表达分析 注射 120 d 后,采取红熟期的辣椒,去除果柄、胎座和种子,利用试剂盒提取辣椒果实 RNA,通过 Primer 5.0 软件设计 *CaSGR* 基因的 qRT-PCR 特异性引物(表 1)。qRT-PCR 反应体系(20 μ L)为:SYBR 10 μ L,cDNA 模板 1 μ L,正反向引物各 0.8 μ L,ddH₂O 7.4 μ L。qRT-PCR 反应程序:95 °C 1 min;95 °C 10 s,55 °C 30 s,72 °C 15 s,40 个循环。每个样品 3 次重复,以 *actin* 作为内参基因,采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 的方法分析目标基因的表达情况,利用 Excel 软件作图,利用 SPSS 软件作显著性分析。

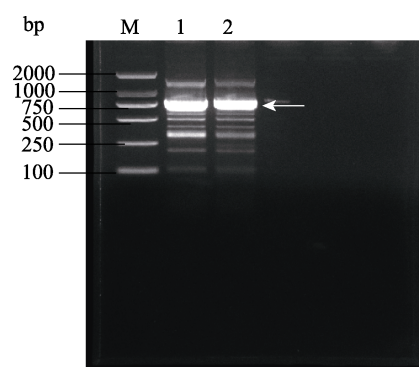
1.2.7 叶绿素与 β -胡萝卜素的测定 以未注射辣椒为对照(CK),对照植株和沉默植株在 23 °C 16 h 光照、20 °C 8 h 黑暗的培养箱中培养约 120 d,采取辣椒果实,取样方法同 1.2.6,采用分光光度法测定叶绿素含量^[22]; β -胡萝卜素含量测

定参照 QIN 等^[23]的方法。

2 结果与分析

2.1 辣椒 *CaSGR* 基因的克隆

利用特异引物 *CaSGR*-F/R 和高保真酶,以辣椒果实的 cDNA 为模板进行 PCR 扩增,经琼脂糖电泳检测得到 1 条约 800 bp 的条带(图 1)。测序后经过 NCBI 的 ORF finder 工具分析发现,该基因的 ORF 为 792 bp,编码 263 个氨基酸。将该基因在 NCBI 数据库 Blast,发现与辣椒(EU196733.1、AM746208.2、NM_001324918.1)的 *SGR* 基因一致,将其命名为 *CaSGR*。



M: DL2000 DNA marker.

图 1 *CaSGR* 基因的克隆

Fig. 1 Cloning of *CaSGR*

2.2 茄科作物 *SGR* 基因家族成员的性质分析

利用克隆的基因核苷酸序列在 NCBI 数据库中搜索分析,获得茄科作物中的 27 个 *SGR* 基因,其中辣椒 *SGR* 基因 3 个,番茄 *SGR* 基因 4 个,马铃薯 *SGR* 基因 8 个,烟草 *SGR* 基因 12 个,另外在数据库中搜索到拟南芥 *SGR* 基因 2 个。辣椒 *SGR* 同源基因的序列长度差异明显,最短的为 801 bp,最长的为 1281 bp。茄科作物之间的 *SGR* 蛋白质序列长度和分子量差异不明显,说明不同种属间 *SGR* 基因相对保守。理论等电点均大于 7,表明 *SGR* 均是碱性蛋白。亚细胞定位预测显示,有 5 个 *SGR* 蛋白定位在叶绿体,12 个同时定位在叶绿体、细胞核,4 个同时定位在细胞膜、细胞核,7 个定位在细胞核(表 2)。

2.3 *SGR* 蛋白序列的多序列比对和进化关系分析

利用 DNAMAN 软件将克隆的 *CaSGR* 基因编码的蛋白序列与辣椒、番茄的 *SGR* 蛋白序列进行多序列比对结果显示,蛋白序列相似度为 88.94%,

表 2 茄科作物 SGR 基因家族成员的相关分析
Tab. 2 Relative analysis of members of SGR family in Solanaceae crops

作物种类 Crop species	基因 ID Gene ID	核苷酸长度 Gene length/bp	氨基酸长度 Amino acid length	等电点 pI	分子量 Molecular weight/kDa	亚细胞定位 Predicted subcellular localization
辣椒(<i>Capsicum annuum</i>)	EU196733.1	1281	266	9.26	29.94	叶绿体
	AM746208.2	801	266	9.26	29.94	叶绿体
	NM_001324918.1	995	266	9.26	29.94	叶绿体
CaSGR		918	263	9.19	29.60	叶绿体；细胞核
野生番茄(<i>Solanum pennellii</i>)	XM_015229006.2	1271	272	8.84	30.55	叶绿体；细胞核
樱桃番茄(<i>Lycopersicon esculentum</i>)	DQ100158.1	1206	272	8.85	30.53	叶绿体
番茄(<i>Solanum lycopersicum</i>)	NM_001247794.1	1169	272	8.85	30.53	叶绿体
	XM_004252594.4	1039	247	8.56	27.90	细胞核
野生马铃薯(<i>Solanum verrucosum</i>)	XM_049506185.1	1210	272	8.99	30.46	叶绿体；细胞核
窄叶马铃薯(<i>Solanum stenotomum</i>)	XM_049521326.1	1221	272	8.88	30.46	叶绿体；细胞核
	XM_049543335.1	948	247	8.90	28.15	细胞核
马铃薯(<i>Solanum tuberosum</i>)	XM_015303798.1	878	248	8.32	28.13	细胞膜；细胞核
	XM_015303797.1	910	248	8.32	28.13	细胞膜；细胞核
	XM_006364069.2	1177	246	8.32	27.90	细胞核
	XM_006358786.2	1283	272	8.87	30.48	叶绿体；细胞核
	XM_006364068.2	1182	247	8.79	28.18	细胞核
绒毛状烟草(<i>Nicotiana tomentosiformis</i>)	XM_009608848.4	1468	265	8.89	29.77	叶绿体；细胞核
	XM_009628189.4	1291	259	8.85	29.10	细胞膜；细胞核
烟草(<i>Nicotiana tabacum</i>)	XM_016644658.1	1440	267	9.10	29.99	叶绿体；细胞核
	EU294209.1	805	267	9.19	29.95	叶绿体；细胞核
	XM_016651072.1	1460	267	8.75	29.86	叶绿体；细胞核
	XM_016642907.1	1289	259	8.85	29.10	细胞膜；细胞核
	XM_016645914.1	1452	259	8.72	29.08	细胞核
南美烟草(<i>Nicotiana sylvestris</i>)	XM_009800664.2	1514	267	8.75	29.86	叶绿体；细胞核
	XM_009804691.2	1471	259	8.72	29.08	细胞核
美洲烟草(<i>Nicotiana attenuate</i>)	XM_019401856.1	1523	267	8.88	29.86	叶绿体；细胞核
	XM_019404849.1	1423	254	8.79	28.68	细胞核
	XM_019406621.1	1012	260	9.00	29.49	叶绿体；细胞核
拟南芥(<i>Arabidopsis thaliana</i>)	AY699948.1	1116	271	8.88	30.75	叶绿体
	AY850161.1	1301	268	8.83	30.05	叶绿体

与数据库中辣椒 SGR 蛋白的序列相比，CaSGR 在 155~157 处有 3 个氨基酸（VLK）缺失（图 2）。利用 MEGA 7 软件将 CaSGR 蛋白序列与拟南芥、茄科作物的 SGR 蛋白序列进行系统进化树分析发现，CaSGR 蛋白与番茄、马铃薯的 SGR 蛋白进化关系较近，与烟草和拟南芥的 SGR 蛋白进化关系较远（图 3）。

2.4 CaSGR VIGS 载体的构建

使用带有酶切位点的特异性引物扩增 CaSGR 基因的病毒诱导基因沉默（VIGS）靶片段。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测，条带大小一致（图 4）。回收靶片段，同时双酶切回收产物和 TRV2 载体，并将酶切后的片段与 TRV2 载体连接，转化到 DH5α 感受态细胞中，对重组质粒进行酶切

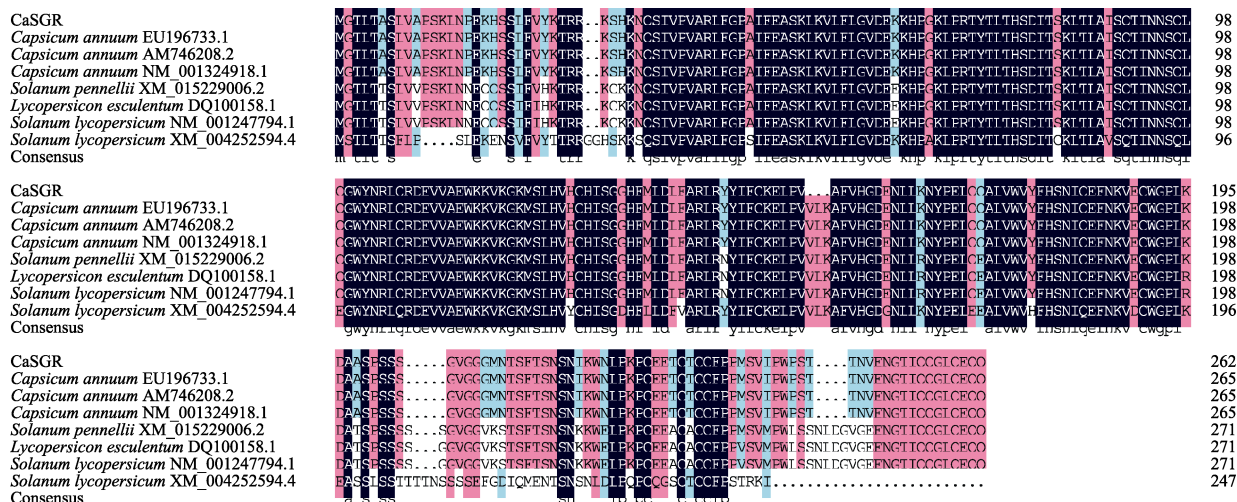


图 2 SGR 蛋白序列同源比对

Fig. 2 Homology alignment of SGR sequences

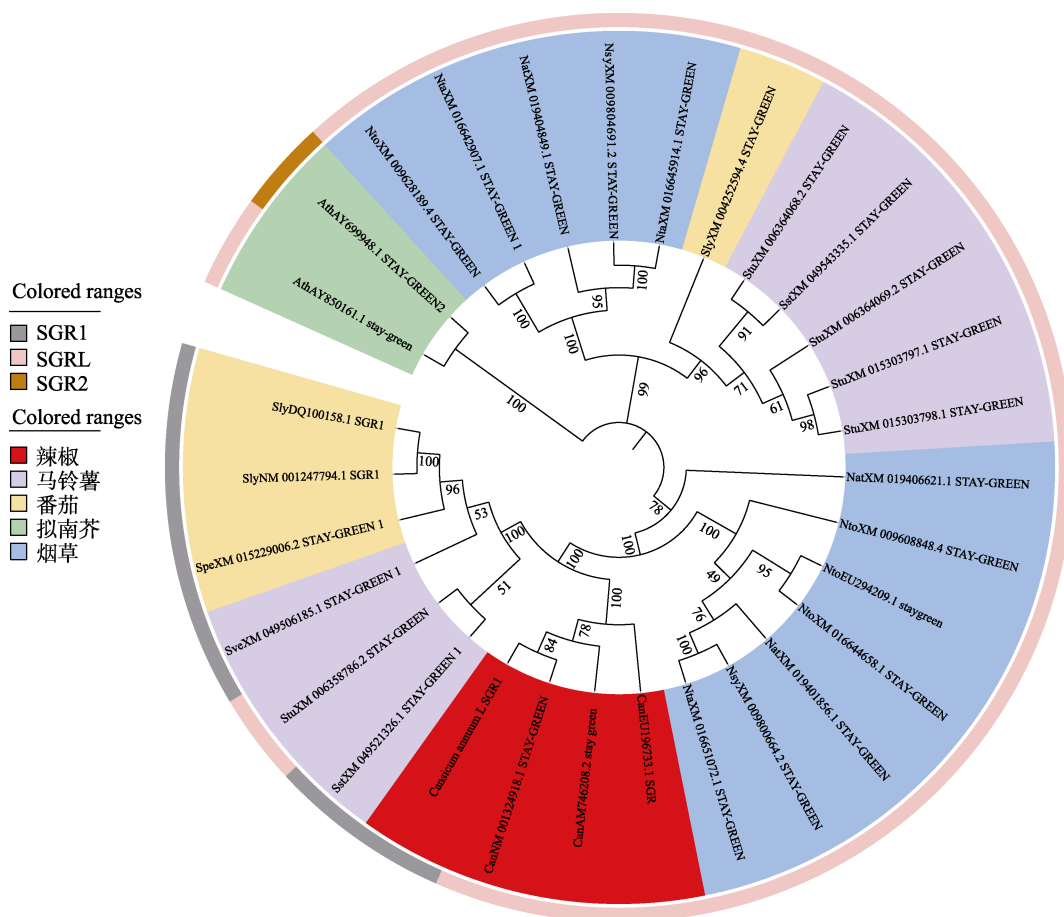


图 3 拟南芥、茄科作物 SGR 蛋白遗传进化关系分析

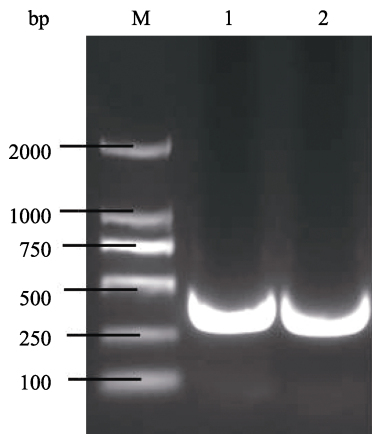
Fig. 3 Analysis of genetic evolutionary relationships of SGR in *Arabidopsis thaliana* and Solanaceae crops

鉴定 (图 5), 并送公司测序, 经比对和靶片段一致, 表明成功构建 *CaSGR* VIGS 载体。

2.5 VIGS 沉默植株获得及基因表达分析

采用叶片注射法将 TRV2-*CaSGR* 与 TRV1 等

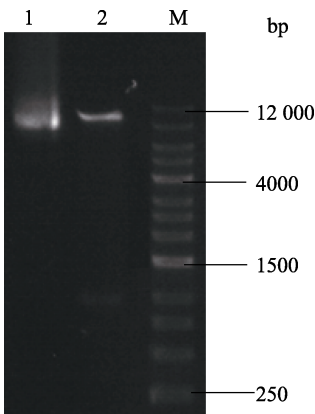
比例混合, 注射到辣椒叶片中, 22 d 左右叶片出现较为明显的白化现象。注射 120 d 后观察植株表型, 注射 TRV2-*CaPDS* 的植株白化依然明显, 大部分叶片呈白化特征, 辣椒果实也有变化, 比



M: DL2000 DNA marker.
图 4 *CaSGR* 靶序列的 PCR 扩增
Fig. 4 PCR amplification of *CaSGR* target sequence

对照和注射 TRV2-*CaSGR* 的颜色略浅（图 6）。

为检测基因的沉默效率，取沉默植株的辣椒果实，利用 qRT-PCR 分析 *CaSGR* 基因的表达量。结果显示（图 7），3 组实验组辣椒果实中 *CaSGR*



M: DL12000 DNA marker; 1: TRV2-*CaSGR* 载体未酶切;
2: TRV2- *CaSGR* 载体酶切。
M: DL12000 DNA marker: 1: TRV2-*CaSGR* vector undigested;
2: TRV2-*CaSGR* vector digested.

图 5 TRV2-*CaSGR* 载体的酶切鉴定

Fig. 5 Restriction enzyme digestion of TRV2-*CaSGR* vector

基因的表达量显著低于对照组，说明成功沉默该基因。



图 6 VIGS 注射后的辣椒植株表型
Fig. 6 Phenotype of pepper plants after VIGS injection

2.6 叶绿素与 β -胡萝卜素的测定

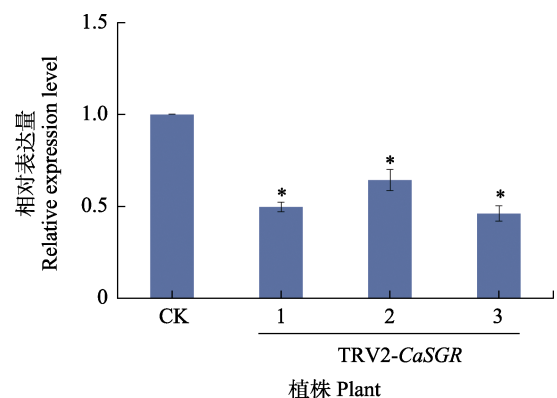
测定对照和 3 个沉默辣椒植株的果实叶绿素与 β -胡萝卜素含量，结果显示（表 3），3 个沉默辣椒植株的果实叶绿素与 β -胡萝卜素含量显著高于对照，叶绿素含量分别是对照的 2.35、4.92、2.07 倍， β -胡萝卜素含量分别是对照的 2.60、3.21、3.22 倍。

3 讨论

本研究通过克隆辣椒 *CaSGR* 基因，构建 VIGS 载体，并测定沉默株系中与辣椒果实着色相关的叶绿素和 β -胡萝卜素含量，为深入研究该基因在

辣椒果实着色过程中的作用提供有力支撑。

本研究成功获得了长度为 792 bp、编码 263 个氨基酸的基因片段，与数据库中辣椒 SGR 蛋白序列相比，*CaSGR* 在第 155~157 位置存在 3 个氨基酸缺失，这一差异并未对辣椒果实的叶绿素降解产生影响。但在他人研究中指出编码区单碱基的突变可引起 *SGR* 基因功能的缺失^[6]，如 LIU 等^[9]在辣椒滞绿突变体中发现 *CaSGR1* 编码区第 342 位核苷酸由 G 突变成 A，导致第 114 位氨基酸转化成终止密码子，翻译提前终止；EFRATI 等^[24]研究叶绿素滞绿基因 *cl* 时发现，第 340 位核苷酸处碱基 T 突变成 C，氨基酸由 Trp 变为 Arg；在



*表示显著差异 ($P<0.05$)。
* indicates significant difference ($P<0.05$).
图 7 *CaSGR* 基因沉默效率检测
Fig. 7 Detection of *CaSGR* gene silencing efficiency

表 3 辣椒 *CaSGR* 基因沉默株系的叶绿素与 β -胡萝卜素的测定
Tab. 3 Determination of chlorophyll and β -carotene in pepper *CaSGR* gene-silenced lines

植株 Plant	叶绿素含量 Chlorophyll content/(mg·g ⁻¹)	β -胡萝卜素含量 β -carotene content/(μ g·g ⁻¹)
CK	0.014±0.003 ^c	8.24±1.37 ^b
TRV2- <i>CaSGR</i> -1	0.033±0.002 ^b	21.43±1.98 ^a
TRV2- <i>CaSGR</i> -2	0.069±0.005 ^a	26.47±4.33 ^a
TRV2- <i>CaSGR</i> -3	0.029±0.002 ^b	26.61±2.85 ^a

注：不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$).

番茄^[8]、豌豆^[25]等滞绿突变体中也均发现有碱基突变，从而导致氨基酸的改变。

CaSGR VIGS 载体的成功构建为研究该基因的功能提供了关键技术手段。本研究通过叶片注射法实现了 *CaSGR* 基因的沉默，沉默植株叶片出现明显白化现象，果实颜色也发生变化，同时基因表达量显著降低，证明了 *CaSGR* 基因在辣椒果实着色过程中发挥着重要作用。而沉默植株果实中叶绿素与 β -胡萝卜素含量的显著增加，这与前人在研究 *SGR* 基因沉默后阳性植株的表型不太一致。如杨亮等^[14]利用 CRISPR/Cas9 技术编辑番茄 *SISGR1* 基因，阳性植株的番茄果实叶绿素、 β -胡萝卜素和番茄红素含量显著提高；HU 等^[12]干扰沉默番茄的 *SISGR1*，沉默植株叶片和果实的叶绿素降解变低；ZHOU 等^[26]通过 RNA 干扰 *MsSGR* 获得沉默紫花苜蓿株系，沉默株系中苜蓿仍呈现绿色。但与 SAKURABA 等^[11]研究拟南芥中的 *STAY-GREEN2* (*SGR2*) 基因功能一致，该研究发现是一个负调控因子，在叶片衰老过程中抑制叶

绿素降解，本研究中的 *CaSGR* 基因可能与拟南芥 *SGR2* 基因是同一类型，也有可能是 3 个氨基酸的缺失导致的沉默植株中叶绿素降解延缓。

本研究明确了 *CaSGR* 基因与辣椒果实叶绿素和 β -胡萝卜素含量的关联，但具体的分子调控机制尚不清楚，有待进一步探索。未来可利用酵母双杂交、免疫共沉淀等技术筛选与 *CaSGR* 蛋白相互作用的蛋白，构建其调控网络。同时，还可以为分析该基因的启动子序列是否与叶绿素降解和类胡萝卜素合成过程中结构基因有相互作用奠定基础。摸清 *CaSGR* 在辣椒果实着色过程中的调控作用，将有助于培育高类胡萝卜素含量的辣椒新品种，提升辣椒的营养价值和商品价值。

参考文献

[1] 邹学校, 胡博文, 熊程, 戴雄泽, 刘峰, 欧立军, 杨博智, 刘周斌, 索欢, 徐昊, 朱凡, 远方. 中国辣椒育种 60 年回顾与展望[J]. 园艺学报, 2022, 49(10): 2099-2118.
ZOU X X, HU B W, XIONG C, DAI X Z, LIU F, OU L J, YANG B Z, LIU Z B, SUO H, XU H, ZHU F, YUAN F. Review and prospects of pepper breeding for the past 60 years in China[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2022, 49(10): 2099-2118. (in Chinese)

[2] 邹学校, 杨莎, 戴雄泽, 胡博文, 徐昊, 朱凡, 裴宋宇, 远方. 中国辣椒产业快速发展 40 年回顾与展望[J]. 园艺学报, 2025, 52(1): 247-258.
ZOU X X, YANG S, DAI X Z, HU B W, XU H, ZHU F, PEI S Y, YUAN F. The rapid development of China's chili pepper industry over the past 40 years[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2025, 52(1): 247-258. (in Chinese)

[3] ZHANG K, YU H L, ZHANG L K, CAO Y C, LI X, MEI Y J, WANG X, ZHANG Z H, LI T Y, JIN Y, FAN W Y, GUAN C C, WANG Y H, ZHOU D Y, CHEN S M, WU H M, WANG L H, CHENG F. Transposon proliferation drives genome architecture and regulatory evolution in wild and domesticated peppers[J]. Nature Plants, 2025, 11(2): 359-375.

[4] 秦于玲, 申龙斌, 曹振木. 辣椒不同发育时期果实着色的转录组分析[J]. 分子植物育种, 2020, 18(17): 5576-5583.
QIN Y L, SHEN L B, CAO Z M. Transcriptome analysis of fruits coloration at different developmental stages in Capsicum annum[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(17): 5576-5583. (in Chinese)

[5] CHEN J Y, REN G D, KUAI B K. The mystery of mendel's stay-green: magnesium stays chelated in chlorophylls[J].

- Molecular Plant, 2016, 9 (12): 1556-1558.
- [6] 刘宇华. 基于转录组学与靶向代谢组学解析辣椒果实颜色的形成[D]. 长沙: 湖南大学, 2020.
LIU Y H. Analysis of pepper fruit color formation mechanism based on transcriptomics and targeted metabolomics[D]. Changsha: Hunan University, 2020. (in Chinese)
 - [7] REN G D, AN K, LIAO Y, ZHOU X, CAO Y J, ZHAO H F, GE X C, KUAI B K. Identification of a novel chloroplast protein *AtNYE1* regulating chlorophyll degradation during leaf senescence in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology, 2007, 144(3): 1429-1441.
 - [8] BARRY C S, MCQUINN R P, CHUNG M Y, BESUDEN A, GIOVANNONI J J. Amino acid substitutions in homologs of the STAY-GREEN protein are responsible for the green-flesh and chlorophyll retainer mutations of tomato and pepper[J]. Plant Physiology, 2008, 147: 179-187.
 - [9] LIU Y H, OU L J, LIU Z B, LYU J H, WANG J, SONG J S, YANG B Z, CHEN W C, YANG S, LIU W, ZOU X X. A novel single-base mutation in *CaSGR1* confers the stay-green phenotype in pepper[J]. Horticultural Plant Journal, 2023, 9(2): 293-305.
 - [10] SATO T, SHIMODA Y, MATSUDA K, TANAKA A, ITO H. Mg-dechelation of chlorophyll a by stay-green activates chlorophyll b degradation through expressing non-yellow coloring 1 in *Arabidopsis thaliana*[J]. Journal of Plant Physiology, 2018, 222: 94-102.
 - [11] SAKURABA Y, PARK S Y, KIM Y S, WANG S H, YOO S C, HÖRTENSTEINER S, PAEK N C. *Arabidopsis* STAY-GREEN2 is a negative regulator of chlorophyll degradation during leaf senescence[J]. Molecular Plant, 2014, 7(8): 1288-1302.
 - [12] HU Z L, DENG L, YAN B, PAN Y, LU M, CHEN X Q, HU T Z, CHEN G P. Silencing of the *LeSGR1* gene in tomato inhibits chlorophyll degradation and exhibits a stay-green phenotype[J]. Biologia Plantarum, 2011, 55(1): 27-34.
 - [13] LUO Z D, ZHANG J H, LI J H, YANG C X, WANG T T, OUYANG B, LI H X, GIOVANNONI J, YE Z B. A STAY-GREEN protein *SISGR1* regulates lycopene and β -carotene accumulation by interacting directly with *SIPSY1* during ripening processes in tomato[J]. New Phytologist, 2013, 198(2): 442-452.
 - [14] 杨亮, 刘欢, 马燕勤, 李菊, 王海娥, 周玉洁, 龙海成, 苗明军, 李志, 常伟. 利用 CRISPR/Cas9 技术创制高番茄红素番茄新材料[J]. 园艺学报, 2024, 51(2): 253-265.
YANG L, LIU H, MA Y Q, LI J, WANG H E, ZHOU Y J, LONG H C, MIAO M J, LI Z, CHANG W. Creating high lycopene fruit using CRISPR/Cas9 technology in tomato[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2024, 51(2): 253-265. (in Chinese)
 - [15] 李杰, 罗江宏, 万子龙, 杨萍. VIGS 技术在辣椒基因功能研究中的应用进展[J]. 河南农业科学, 2021, 50(6): 9-15.
LI J, LUO J H, WAN Z L, YANG P. Application progress of VIGS technology in the research of pepper gene function[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2021, 50(6): 9-15. (in Chinese)
 - [16] ZHOU Y Z, DENG Y T, LIU D, WANG H Z, ZHANG X, LIU T T, WANG J B, LI Y, OU L J, LIU F, ZOU X X, OUYANG B, LI F. Promoting virus-induced gene silencing of pepper genes by a heterologous viral silencing suppressor[J]. Plant Biotechnology Journal, 2021, 19(12): 2398-2400.
 - [17] ZHANG Z, LI D W, JIN J H, YIN Y X, ZHANG H X, CHAI W G, GONG Z H. VIGS approach reveals the modulation of anthocyanin biosynthetic genes by *CaMYB* in chili pepper leaves[J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 7(6): 500.
 - [18] ABRAHAM-JUÁREZ M D R, ROCHA-GRANADOS M D C, LÓPEZ M G, RIVERA-BUSTAMANTE R F, OCHOA-ALEJO N. Virus-induced silencing of *Comt*, *pAmt* and *Kas* genes results in a reduction of capsaicinoid accumulation in chili pepper fruits[J]. Planta, 2008, 227(3): 681-695.
 - [19] 申龙斌, 秦于玲, 刘子记, 曹振木. 黄灯笼辣椒 *CcCASP1* 基因的克隆与 VIGS 载体构建[J]. 分子植物育种, 2022, 20(20): 6742-6749.
SHEN L B, QIN Y L, LIU Z J, CAO Z M. Molecular cloning and VIGS expression vector construction of *CcCASP1* gene in *Capsicum chinense*[J]. Molecular Plant Breeding, 2022, 20(20): 6742-6749. (in Chinese)
 - [20] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. Molecular Biology & Evolution, 2016, 33(7): 1870-1874.
 - [21] CHOU K C, SHEN H B. Cell-PLoc 2.0: an improved package of web-servers for predicting subcellular localization of proteins in various organisms[J]. Natural Science, 2010, 3(2): 153-162.
 - [22] ARNON D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *beta vulgaris*[J]. Plant Physiology, 1949, 24(1): 1-15.
 - [23] QIN Y L, DJABOU A S M, AN F F, LI K M, LI Z G, YANG L, WANG X J, CHEN S B. Proteomic analysis of

- injured storage roots in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) under postharvest physiological deterioration[J]. PLoS One, 2017, 12(3): e0174238.
- [24] EFRATI A, EYAL Y, PARAN I. Molecular mapping of the chlorophyll retainer (cl) mutation in pepper (*Capsicum* spp.) and screening for candidate genes using tomato ESTs homologous to structural genes of the chlorophyll catabolism pathway[J]. Genome, 2005, 48(2): 347-351.
- [25] SATO Y, MORITA R, NISJIMURA M, YAMAGUCHI H, KUSABA M. Mendel's green cotyledon gene encodes a positive regulator of chlorophyll-degrading pathway[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2007, 104(35): 14169-14174.
- [26] ZHOU C, HAN L, PISLARIU C, NAKASHIMA J, FU C X, JIANG Q Z, QUAN L, BLANCAFLOR E B, TANG Y H, BOUTON J H, UDVARDI M, XIA G M, WANG Z Y. From model to crop: functional analysis of a *STAY-GREEN* gene in the model legume *Medicago truncatula* and effective use of the gene for alfalfa improvement[J]. Plant Physiology, 2011, 157(3): 1483-1496.