

辣椒果实类胡萝卜素生物合成研究进展

李全辉^{1,2}, 邵登魁¹, 李江¹, 王亚艺¹, 巩振辉²

(¹ 青海大学农林科学院园艺研究所 / 青海省蔬菜遗传与生理重点实验室, 西宁 810016; ² 西北农林科技大学园艺学院, 杨凌 712100)

摘要: 辣椒是全世界广泛栽培的蔬菜作物之一, 成熟的辣椒果实中含有 α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素、玉米黄质、叶黄素、隐黄质、辣椒红素及辣椒玉红素等多种不同的类胡萝卜素; 由于类胡萝卜素生物合成途径存在差异调控方式, 最终在辣椒果实中积累不同成分和含量的类胡萝卜素, 从而导致不同辣椒果实颜色的形成。同时, 辣椒果实含有的各种类胡萝卜素因具有重要保健及经济价值, 也越来越受到育种家重视。本文系统概述了辣椒果实颜色与类胡萝卜素组分、类胡萝卜素生物合成途径、关键酶基因的功能及相关转录调控机制等方面的研究进展, 总结了当前研究中存在的问题, 并提出相应的研究展望, 对今后高类胡萝卜素辣椒新品种选育、人为调控类胡萝卜素生物合成、改善辣椒果实品质具有重要的意义。

关键词: 辣椒; 果实颜色; 类胡萝卜素; 生物合成

Research Progress of Carotenoid Biosynthesis in Pepper Fruit

LI Quan-hui^{1,2}, SHAO Deng-kui¹, LI Jiang¹, WANG Ya-yi¹, GONG Zhen-hui²

(¹ The Institute of Horticulture, Academy of Agriculture and Forestry, Qinghai University/Qinghai Key Laboratory of Vegetable Genetics and physiology, Xining 810016; ² College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling 712100)

Abstract: Pepper is one of the globally cultivated vegetable crops, the mature fruits of which contains different carotenoids, such as α -carotene, β -carotene, zeaxanthin, lutein, cryptoxanthin, capsanthin and capsanthin. Since the different regulation mechanisms of carotenoid biosynthesis are present, carotenoids with different components and contents are accumulated, thus resulting in the diversity of fruit colors. At the same time, various carotenoids contained in pepper fruit are increasingly valued by breeders because of their important health and economic value. This article systematically summarizes the research progress of color and carotenoid components, the biosynthesis pathway of carotenoids, the function of key enzyme genes and related transcriptional regulatory mechanisms in pepper fruits. Moreover, we suggest the problems in current research and proposes corresponding research prospects. It is of great significance to breed high carotenoid pepper varieties, purposeful regulate the biosynthesis of carotenoids and improve the quality of *capsicum* fruit in the future.

Key words: pepper; fruit color; carotenoid; biosynthesis

辣椒 (*Capsicum* spp.) 起源于拉丁美洲热带地区, 共有 5 个栽培种 (*C. annuum*、*C. baccatum*、*C. chinense*、*C. frutescens* 和 *C. pubescens*), 是全世界范围内栽培

最古老和广泛的蔬菜作物之一^[1]。由于所含类胡萝卜素种类和含量不同, 辣椒果实从最初的绿色、墨绿色、乳白色、紫色等到成熟后的棕色、黄色、橙色、

收稿日期: 2018-07-20 修回日期: 2018-09-11 网络出版日期: 2018-11-19

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20181116.1520.001.html>

第一作者研究方向为蔬菜作物遗传育种与分子生物学, E-mail: liquanhui_2008@163.com

通信作者: 巩振辉, 研究方向为蔬菜作物遗传育种与分子生物学, E-mail: zhong@nwsuaf.edu.cn

基金项目: 青海省重大科技专项计划项目 (2016-NK-A8); 国家自然科学基金 (31772309); 青海省农林科学院中青年基金项目 (2014-NKY-04); 青海省科学技术厅重点实验室项目 (2017-ZJ-Y18)

Foundation project: The Key Sci-tech Project of Qinghai Province (2016-NK-A8), The National Natural Science Foundation of China (31772309), Middle Youth Foundation of the Academy of Agriculture and Forestry, Qinghai University (2014-NKY-04), Key Laboratory Project of Science and Technology Department of Qinghai Province (2017-ZJ-Y18)

红色、紫色等,其颜色丰富多彩;同时,作为直观和重要的性状,辣椒果实颜色也一直受到育种家的重视,目前已经选育包括红色、橙色、黄色、乳白色、紫色等各种不同颜色的辣椒新品种。

辣椒果实颜色是由于积累不同类胡萝卜素组分和含量形成的。类胡萝卜素广泛分布于自然界,由所有光合生物(蓝细菌、藻类和植物)以及非光合微生物(如真菌和一些细菌)合成^[2]。类胡萝卜素是由八个异戊二烯(ip)单元组成的类异戊二烯化合物,包括黄色、橙色和红色等一系列亲脂性物质,这些物质负责许多花卉,如金盏花^[3];果蔬,如西红柿^[4]、木瓜^[5]、橘子和桔子^[6];以及根茎类(胡萝卜)^[7]等作物的着色。类胡萝卜素大多存在于植物的叶绿体和有色体膜的细胞内,包括 α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素、叶黄素、玉米黄质、紫黄质、新黄质以及辣椒红素等^[8]。发色团长度决定了类胡萝卜素分子的吸收光谱,因此决定了它的颜色^[9]。

辣椒果实含有的各种类胡萝卜素也有重要保健及经济价值。人类不能直接从内源类异戊二烯前体合成维生素A,但植物类胡萝卜素(β -胡萝卜素、 α -胡萝卜素、 γ -胡萝卜素和 β -隐黄质等)可作为膳食为人类提供维生素A原^[10]。除营养价值之外,类胡萝卜素作为抗氧化剂被认为可以降低癌症和心血管疾病的风险^[11]; α -胡萝卜素和 β -胡萝卜素可抑制皮肤、肺、肝和结肠中的肿瘤发生^[12]。番茄红素预防心血管疾病和可能的前列腺癌^[13]。同样,富含类胡萝卜素的饮食习惯可以降低年龄相关的黄斑病变风险^[14];通过饮食摄入玉米黄质和叶黄素与降低黄斑风险之间呈显著的相关性^[2, 15]。脱辅基类胡萝卜素也具有功能性活性,可用于预防癌症和其他退行性疾病^[10]。此外,类胡萝卜素具有最重要的生态功能,因为它们起到引诱剂和种子散布剂的作用^[16]。由类胡萝卜素裂解双加氧酶氧化裂解产生的脱辅基类胡萝卜素,具有一系列重要的生物活性,如植物激素(ABA)、视黄酸以及芳香挥发性的 β -紫罗酮(传粉引诱剂及水果和蔬菜香料)、 β -环柠檬醛、香叶醛、香叶基丙酮、阿司匹林、 α -大马酮和 β -大马酮等,它们负责一些花卉及多种食物的香味及风味^[17-19]。此外,成熟红色辣椒果实中所含的辣椒红素和辣椒玉红素作为自然源的食品添加剂和增色剂,被广泛应用于食品和化妆品行业,近年来越来越受到研究人员的

重视^[20]。

1 辣椒果实成熟过程中类胡萝卜素含量及其组成

辣椒果实在成熟过程中,各种色素的组成和含量在形态、生理和代谢等方面经历了广泛的变化。目前红色辣椒中已鉴定分离的类胡萝卜素结构已超过50种^[21-26]。这些组成成分的变化受基因型、成熟度和生长条件的影响^[26-27]。辣椒绿色果实主要由叶绿素控制,绿色辣椒直接提取物主要由游离类胡萝卜素组成^[22, 24, 28]。对辣椒品种Bola和Agridulce几个成熟阶段(绿色期、转色期I、转色期II、成熟期I、成熟期II)的色素含量研究表明,叶绿素物质(Chlorophyllic pigments)(叶黄素和新黄质)在成熟期I和成熟期II逐步消失;合成红色素(β -胡萝卜素和紫黄质)的中间物质浓度开始增加,而玉米黄质、辣椒红素、 β -隐黄质等物质从头开始合成^[29]。而有一些辣椒品种在果实整个成熟阶段都能够保留叶绿素(延迟叶绿素衰老),由于叶绿素和红色类胡萝卜素的组合产生深褐色辣椒果实^[30],例如,品种Negral在整个果实成熟的阶段都存在叶绿素(在绿色阶段叶绿素近14%),而Bola Roja到果实完全成熟阶段,不含任何叶绿素^[31]。

然而,辣椒果实中类胡萝卜素含量与组分随果实成熟而变化;对红色辣椒6个不同成熟阶段类胡萝卜素的相对含量进行详细研究发现,35种不同的已知类胡萝卜素随着发育阶段而变化,叶绿素在绿色阶段是最丰富的,随着果实成熟进一步减少,在果实红色或深红色阶段缺失;早期阶段,辣椒红素水平较低,随着发育时期的增长逐渐增加,直至红色阶段含量达到最高; β -胡萝卜素在整个果实的生长和成熟过程中几乎不变^[32]。彩色甜椒在果实转色期叶绿素含量逐步减少,在此过程中,成熟果为白色和绿色的品种类胡萝卜素含量逐渐增加,为淡黄色的品种类胡萝卜素含量逐渐减少^[33]。戴雄泽等^[34]研究发现,由绿色转为红色的辣椒品种,成熟期具有较高的总类胡萝卜素和辣椒红素含量;由乳白色转为红色的品种,成熟期辣椒红素含量较高,而总类胡萝卜素含量较低;由绿色转为橙色的品种,成熟期总类胡萝卜素含量较高,而没有辣椒红素合成;黄色辣椒品种,成熟期总类胡萝卜素含量较低。也有研究显示,辣椒红色成熟果实中总类胡萝

卜素与未成熟相比,含量可从2倍增加至60倍,例如,在黑椒果实中,总类胡萝卜素含量从未成熟绿色果实中的48.5 mg/100 g增加至成熟红色果实中的3211 mg/100 g,增加了66倍^[35]。一般来说,未成熟的绿色辣椒果实中有丰富的叶黄素、 β -胡萝卜素和新黄素等;在绿色甜椒中它们的比例分别为:叶黄素(40.8%),新黄素(15.1%)和 β -胡萝卜素(13.4%)^[36]。而在红色甜椒果实中主要的类胡萝卜素为辣椒红素(35%)、 β -胡萝卜素(11.6%)和紫罗兰素(10%)^[37]。具有氧化形式的类胡萝卜素,如带有酰基环戊醇末端基团的类胡萝卜素赋予辣椒果实明亮的红色,最有代表性的例子是辣椒红素,辣椒红素和辣椒红素-5,6-环氧化物^[38]。在成熟晚期,辣椒果实中辣椒红素和辣椒玉红素的比值显著增加^[39],也有报道辣椒红素-5,6-环氧化物、辣椒红素-3,6-环氧化物、葫芦黄素A、新黄素、叶黄素等也在红色辣椒中占有显著的比例^[40-41]。

黄色辣椒果实中,紫黄素、玉米黄素及叶黄质等是主要的类胡萝卜素^[42]。在成熟果为黄色辣椒果实中,类胡萝卜素含量和组分与红色果实相比有很大的不同,在未成熟的黄色辣椒果实中含有丰富的紫黄质(34%)、花黄素(10.5%)、叶黄素(9.2%)和玉米黄素(8.5%)等类胡萝卜素,而没有辣椒红素、辣椒玉红素及隐辣椒质等红色的类胡萝卜素^[35]。

橙色辣椒果实中,Lang等^[43]认为其色素主要成分为紫黄素和玉米黄素(16%),而Deli等^[39]测定的主要色素成分为叶黄素(37.8%)、 β -胡萝卜素(19.8%)和新黄质(5.5%)。Rodríguez-Burruezo等^[44]对橙黄色辣椒果实色素成分研究发现,紫罗兰黄素是主要的类胡萝卜素(占类胡萝卜素总量的37%~68%),其次是顺-紫黄质、花黄素和叶黄素(5%~14%)。紫色辣椒果实中花青素是主要的色素成分^[45]。

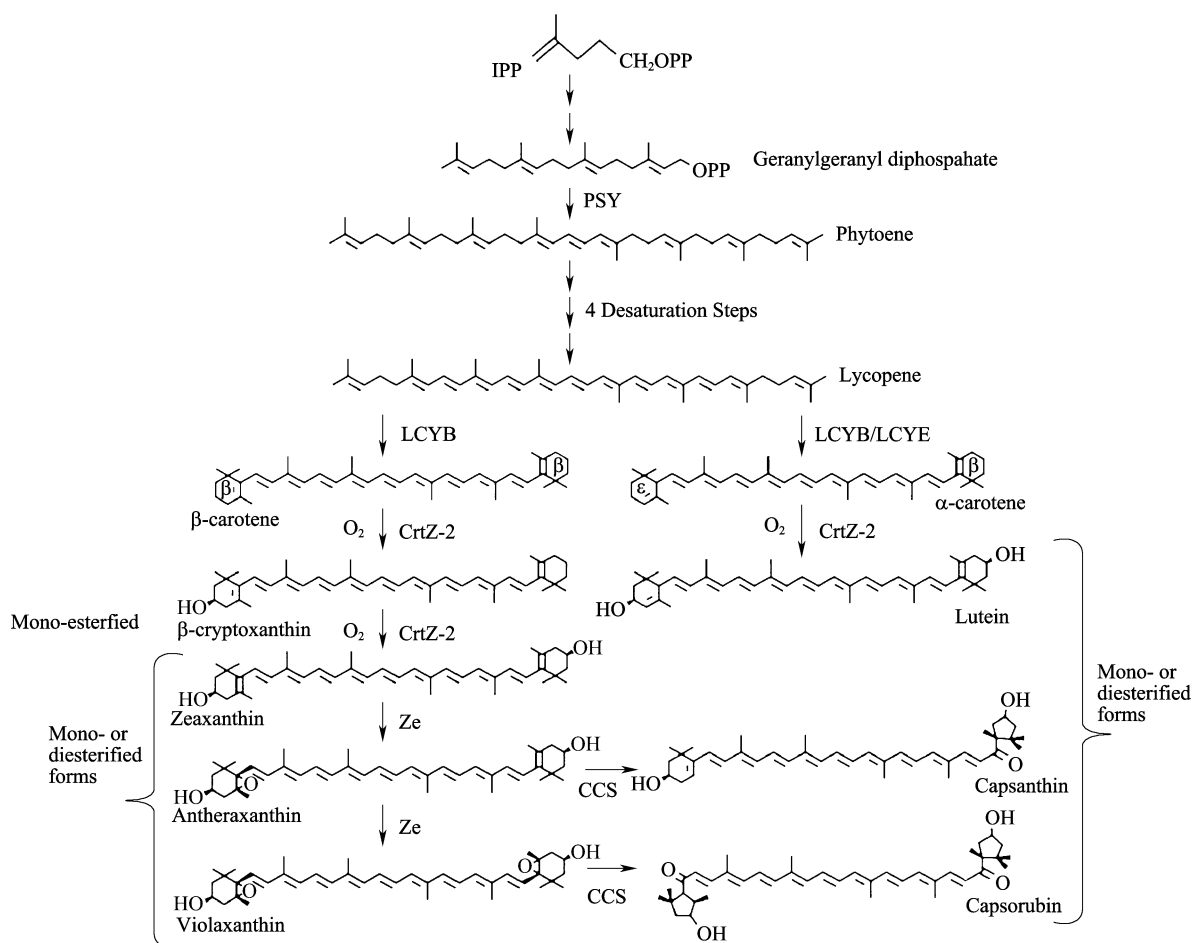
Hornero-Méndez等^[41]通过研究不同栽培种红色辣椒在果实成熟过程中单个类胡萝卜素含量累积的变化,揭示了总类胡萝卜素含量与红色和黄色色素比(R/Y)以及辣椒红素-玉米黄质比(cap/Zeax)之间呈反比关系;他们认为这一关系似乎与品种的种类胡萝卜素生成能力有关,因此在辣椒作物选择和育种时不仅要寻求更高的类胡萝卜素含量,而且要尝试增加这些比值。例如,品种Mana的类胡萝卜素含量高达(13208 mg/kg),但R/Y(1.25)和Cap/

Zeax(3.38)的比值却非常低,而品种Negral具有较高的类胡萝卜素含量(8797 mg/kg)和高R/Y和cap/Zeax比值,因此在育种过程中可以通过直接杂交的方法改进栽培种Mana相关类胡萝卜素含量的比值。Guzman等^[46]对8个栽培品种的红色、橙色、黄色辣椒果实进行了研究,发现在辣椒果皮组织中最丰富的类胡萝卜素是 β -胡萝卜素、辣椒红素和辣椒玉红素;在所有品种中, β -胡萝卜素、辣椒红素以及总类胡萝卜素存在很大程度的变异;通过分析八氢番茄红素合成酶(PSY, phytoene synthase)、番茄红素 β -环化酶(LCY-B, lycopene- β -cyclase)、 β -胡萝卜素羟化(BCH, β -carotene hydroxylase)以及辣椒红素/辣椒玉红素合酶(CCS, Capsanthin-capsorubin synthase)基因序列表明,特定类胡萝卜素生物合成酶的不同等位基因与橙色果实中特定类胡萝卜素的积累有关,这些不同的等位基因可用来开发选择高 β -胡萝卜素(高维生素A原)含量的分子标记。

2 辣椒类胡萝卜素生物合成途径

植物体中的类胡萝卜素生物合成途径通过C₅化合物异戊烯基焦磷酸(IPP, Isopentenyl pyrophosphate)与赤霉素(Gibberellin)、叶绿素(Chlorophyll)及叶绿醌(Phylloquinone)等其他生物合成途径紧密相关。自20世纪50年代发现甲羟戊酸(MVA, Mevalonate)途径以来,认为IPP是通过甲羟戊酸从乙酰辅酶A(Acetyl coenzyme A)合成的^[47]。虽然在某些特定的情况下,如黄化苗,MVA途径可能有助于类胡萝卜素的生物合成^[15],但在光照条件下,植物类胡萝卜素主要还是通过甲基赤藓糖醇磷酸(MEP, Methylerythritol phosphate)的衍生途径合成而来^[48-50]。

所有植物类胡萝卜素均由IPP及其异构体二甲基烯丙基焦磷酸酯(DMAPP, 2-methyl acrylic diphosphate)单元合成(图1)。将3个IPP分子加入DMAPP分子便产生类胡萝卜素的直接前体牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸(GGPP, Geranylgeranyl pyrophosphate),该反应由GGPP合酶(GGPS, Geranylgeranyl pyrophosphate synthase)催化^[2]。该酶已从辣椒色素母细胞中分离为同源二聚体(74kDa)^[52]。GGPP是各种质体类异戊二烯的共同前体,包括赤霉素、叶绿素、生育酚、叶绿醌、质体醌和类胡萝卜素等^[2]。

图 1 类胡萝卜素生物合成途径^[51]Fig.1 Carotenoid biosynthetic pathway^[51]

类胡萝卜素合成途径,第1步(图1)是八氢番茄红素(Phytoene)的形成。它是由八氢番茄红素合成酶(PSY)将两分子牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸(GGPP)对头缩合形成^[53]。八氢番茄红素分子是一个由具有共轭双键的40碳类异戊二烯多烯链构成,这种结构形成植物类胡萝卜素的基本骨架并决定了它们的物理和生物学特性^[2]。第2步是番茄红素(Lycopene)的形成。八氢番茄红素通过八氢番茄红素脱氢酶(PDS, Phytoene desaturase)转化为六氢番茄红素(Phytofluene)和ζ-胡萝卜素(ζ-carotene)。所产生的ζ-胡萝卜素由ζ-胡萝卜素异构酶(Z-ISO, ζ-carotene isomerase)异构化并且通过ζ-胡萝卜素脱氢酶(ZDS, ζ-carotene desaturase)两次脱氢成为链孢红素(7,9,9'-tri-cis-neurosporene)和四-顺式-番茄红素(7,9,7'9'-tetra-cis-lycopene),然后在胡萝卜素异构酶(CRTISO, Carotenoid isomerase)的作用下异构化为全反式番茄红素(All-trans-lycopene)(红色)^[54-56]。第3步是

番茄红素的环化(图1)。全反式番茄红素的环化是类胡萝卜素生物合成途径中番茄红素转化为α-胡萝卜素(α-carotene)或β-胡萝卜素(β-carotene)的重要分支。α-胡萝卜素是由番茄红素β-环化酶(LCY-B, Lycopene-β-cyclase)和番茄红素ε-环化酶(LCY-E, Lycopene-ε-cyclase)催化的,番茄红素ε-环化酶(LCY-E)将ε环连接到番茄红素产生δ-胡萝卜素(δ-carotene),然后番茄红素β-环化酶将β环连接到δ-胡萝卜素的末端以产生α-胡萝卜素,而β-胡萝卜素仅由番茄红素β-环化酶催化,其在番茄红素的每个最终末端添加β环以产生β-胡萝卜素^[2]。第4步是由β,β-胡萝卜素(β,β-carotene)或β,ε-胡萝卜素(β,ε-carotene)的3和3'碳原子分别通过单独的酶进行羟基化形成玉米黄质(Zeaxanthin)和叶黄素(Lutein),每个羟基化酶对β-或ε-环具有特异性^[32,53]。β-胡萝卜素中两个β-紫罗兰酮环(β-ionone rings)的羟基化产生玉米黄质,而α-胡萝卜素中的一个β-环和一

个 ϵ -环的羟基化形成叶黄素。玉米黄质很容易在玉米黄素环氧酶 (*ZEP*, Zeaxanthin epoxidase) 的催化下, 将 5, 6-环氧基引入 3-羟基 β -环, 进而转化为紫黄质 (*Violaxanthin*)^[32, 57-58]。最后是辣椒红素 (*Capsanthin*) 和辣椒玉红素 (*Capsorubin*) 的合成。此步骤在辣椒红素/辣椒玉红素合成酶 (*CCS*) 催化下, 将 5, 6-环氧玉米黄质和紫黄质分别转化为辣椒红素和辣椒玉红素。同时, 通过新黄素合成酶 (*NSY*, Neoxanthin synthase), 将紫黄质转化为新黄质 (*Neoxanthin*)^[2, 59]。紫黄质还可以通过 9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶 (*NCED*, 9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase) 和醛氧化酶 (*AO*, Aldehyde oxidase) 的作用转化为黄氧素并随后转化为脱落酸^[59-60]。显然, 在成熟的红色辣椒果实中, 辣椒红素和辣椒玉红素是果实呈现红色的主要色素成分, 并在类胡萝卜素生物合成的最后一步形成。

3 辣椒果实中类胡萝卜素生物合成的调控

植物已经进化出复杂的调控机制来控制类胡萝卜素的生物合成与积累^[61]。截至目前, 已经从拟南芥、番茄、辣椒、水仙花以及万寿菊等几种植物中克隆了类胡萝卜素生物合成的关键基因。这些基因受到高度调控并与植物颜色性状密切相关^[62]。在番茄果实和万寿菊花瓣中的研究已经表明, 类胡萝卜素积累主要受类胡萝卜素生物合成基因的转录调控控制^[63-64]。在辣椒作物中, 对类胡萝卜素生物合成的转录调控机制尚未明确。但根据现有的研究进展可以看出, 不同的辣椒属作物, 总类胡萝卜素含量具有非常大的差异^[65]。这也说明辣椒类胡萝卜素生物合成存在基因型差异, 同时也可能存在多种调控方式及步骤。

国内外研究认为, 辣椒成熟果实的颜色主要由 y 、 cl 、 $c1$ 和 $c2$ 位点控制, 他们之间的相互作用导致辣椒果实产生不同的成熟果色。早期研究使用 RFLP 和特异性 PCR 扩增分析了辣椒红色和黄色果实 F_2 子代中 *CCS* 基因的多态性, 结果显示 *CCS* 基因完全与红色成熟果实共分离, 证明了黄色辣椒果实可能是由于 *CCS* 基因缺失形成的。Popovsky 等^[66]构建了红果 \times 黄果、红果 \times 白果杂交群体, 对回交一代群体的果实颜色进行遗传分析, 发现红果中能扩增出 *CCS* 基因, 而黄果则扩增不到, 也证

实了红色果实与 *CCS* 基因有关, 同时 y 位点和 *CCS* 基因共分离, 也表明两个基因统一性。*CCS* 基因最早被 Bouvier 等^[67]在 1994 年分离纯化出来, 并得到了全长 1750 bp 的 cDNA 序列, 同年, Houlne 等^[68]从已成熟果实为材料构建的 cDNA 文库中也筛选分离出了 *CCS* 基因 cDNA 片段, 此后, 对 *CCS* 基因的表达特性的研究表明, 该基因在叶绿体分化时被诱导表达, 并只在成熟果实中表达。

此外, 诸多研究表明, *CCS* 基因的结构变异是导致辣椒成熟果实颜色发生改变的重要影响因素之一。Popovsky 等^[66]证实了黄色辣椒果实中 *CCS* 基因 5' 端存在 240 bp 碱基缺失, 表明该基因决定了辣椒红色成熟果实的颜色。运用 Southern 杂交和测序分析发现, 在橙色果实中检测到 *CCS* 基因下游区域存在的 211 bp 碱基序列, 而通过 RT-PCR 验证却没有在成熟的橙色果实发现 *CCS* 基因的转录产物^[43]。Ha 等^[62]研究发现在果实中未积累辣椒红素的辣椒品种 Y2 和 Y3 在其基因组中具有 *CCS* 基因的编码区和启动子区。通过对来自 *CCS* 编码区的核苷酸序列进行多重比较, 发现 Y2 和 Y3 中存在两种结构突变: Y2 品种的 *CCS* 基因中存在一移码突变, 导致翻译提前终止, Y3 材料中 *CCS* 基因 599 bp 处的单碱基突变产生提前终止密码子, 其结果 Y2 中 *CCS* 基因翻译成含有 495 个氨基酸的多肽产物, 而 Y3 中只有 119 个氨基酸。在橙色辣椒品种 Fogo 中发现一种新的 *CCS* 变异基因 (*ccs-3*), 导致该品种不积累辣椒红素和辣椒玉红素, 最后证实这种 *ccs-3* 变异基因在核苷酸位置 1283bp 处碱基缺失, 引起移码突变, 生成早期终止密码子, 从而产生了只含 423 个氨基酸的多肽产物^[49]。Laura 等^[51]研究发现在携带突变 *ccs-3* 等位基因的品种 Fogo 中, 能检测到该基因的转录产物, 但没有积累 *CCS* 蛋白, *ccs-3* 的提早终止阻止了辣椒红素和辣椒玉红素生物合成; 在其他 2 个橙色品种 Orange Grande 和 Oriole 中, 都存在野生型的 *CCS* 基因, 但没有检测到 *CCS* 基因的转录本, 也没有积累辣椒红素; 在橙色品种 Canary 中很容易检测到 *PSY*、*LCYB*、*CrtZ-2* 和 *CCS* 等基因的转录产物, 但没有 *CCS* 蛋白质积累, 也没有红色类胡萝卜素的合成。因此, 他们认为非结构基因控制辣椒果实颜色的形成、类胡萝卜素的生物合成, 在一定程度上可通过酶基因的转录进行调控。Li 等^[69]在黄色果实品系 CK7 中发现 *CCS* 基因起始密码子下游 1095 bp 处

的突变产生了提前终止密码子,以及起始密码子下游 1265 bp 处碱基缺失引起下游结构位移,导致辣椒果实颜色呈现黄色。

PSY 基因催化八氢番茄红素的形成,*PSY* 基因的遗传变异在辣椒成熟果色的形成中也起着非常重要的调控作用。Huh 等^[70]利用红色辣椒 TF68 和橙色辣椒 Habanero 杂交,其 F_1 表现为红色, F_2 群体红色和橙色果实按 3:1 分离,利用类胡萝卜素代谢途径的 *GGPS*、*PSY*、*PDS*、*LCY-B* 和 *CCS* 等基因开发相应的分子标记,遗传分析表明:*PSY* 基因和 F_2 群体表型共分离,推测控制辣椒红色果实形成的 *c2* 位点可能就是 *PSY* 基因,并将该基因定位到第 4 条染色体上。QTL 和 HPLC 分析也表明,*PSY* 就是控制辣椒红色成熟果色的位点。进一步分析表明 *PSY* 基因位点与其他候选 *CCS* 基因不连锁,说明 *PSY* 和 *CCS* 独立分离。最后推测辣椒橙色表型可能是 *PSY* 活性降低的结果,而不是缺乏红色素。因此,这种酶也被认为是类胡萝卜素生物合成的限速步骤^[71]。Kim 等^[72]在黄色辣椒 Habanero 的果实中发现一个 *PSY* 基因剪接体突变,导致 *PSY* 基因结构发生改变和转录提前终止,进而引起果实颜色发生改变;而也有研究发现在红色与橙色辣椒果实中均检测到 *PSY* 基因,因此他们推断 *PSY* 基因不是造成果实红色与橙色差异的主要原因^[43]。

c1 位点基因可能具有修饰 *y* 和 *c2* 位点基因的作用^[73],但尚未见到相关基因克隆的报道。*c1* 位点与 *CaSGR* 基因密切相关。通常在辣椒果实成熟过程中,由于叶绿体转化为色素体,随着类胡萝卜素合成的增加,叶绿素含量呈急剧下降趋势;而 *CaSGR* 基因的突变,使果实成熟过程中叶绿素降解能力受到抑制,辣椒果实因同时含叶绿素和不同成分的类胡萝卜素而呈棕色(或绿色)^[74-75],但 *CaSGR* 基因以何种机制降解叶绿素目前还不清楚。Brand 等^[76]研究了 *GLK2* 的作用,*GLK2* 是一种和 *GOLDEN2* 相似的转录因子,可调节叶绿体发育、控制辣椒叶绿素含量和未成熟果实颜色的自然变异;结果表明辣椒 *GLK2* (*CaGLK2*) 和控制辣椒叶绿体发育和叶绿素含量的 QTL 位点 *pc10* 是一致的,*CaGLK2* 和果实颜色在遗传背景、序列变异以及表达等方面存在复杂和多层次的调控模式。

此外,类胡萝卜素的代谢途径中的其他基因的结构变异及表达差异也对辣椒果实颜色起重要的调控作用。Borovsky 等^[73]利用 EMS 诱变得到一个

橙色果实突变体,该突变是由 *CHY2* 基因中的 709 bp 处的 A 突变为 G 所致,导致突变的 *CHY2* 合成和积累黄色类胡萝卜素(β -胡萝卜素),因此他们也认为 *CHY2* 基因控制辣椒橙色果实形成。对辣椒果实类胡萝卜素生物合成途径的关键基因 *CCS*、*PSY*、*LCY-B* 和 *CRT-Z* 进行基因沉默研究,结果表明当沉默单个基因时红色品种的辣椒果实呈橙色或黄色,几个基因同时沉默时,果实也没有显示正常的红色;高效液相色谱分析表明,当单个或几个基因同时沉默时,与辣椒红素合成相关的类胡萝卜素(如 β -胡萝卜素、 β -隐黄素或玉米黄质)含量有不同程度的降低,而辣椒红素含量的降低更为显著^[77]。同时,在红色、黄色以及橙色辣椒品种中,对以上 4 个基因的表达情况进行分析,结果表明,*CCS*、*PSY*、*LCY-B* 和 *CRT-Z* 等基因是辣椒果实中辣椒红素合成的必需基因,其表达模式的多样性导致了辣椒果实颜色的多样性^[78]。

在辣椒果实颜色形成的过程中,某些外源活性物质及环境对辣椒类胡萝卜素的积累具有重要的作用。将活性氧(ROS, reactive oxygen species)诱导化合物如甲萘醌,叔丁基过氧化氢或百草枯及促氧化剂如二酰胺或丁硫氨酸亚砷胺添加到绿色辣椒果实的果皮时,能迅速并显著地诱导多种胡萝卜素合成基因 mRNA 的表达。研究发现甲萘醌诱导 *GGPS* 和 *CCS* 基因表达,而叔丁基过氧化氢诱导 *GGPS*、*PSY*、*PDS*、*ZEP* 和 *CCS* 基因表达,但不诱导 *LCY-B*。用百草枯处理辣椒果皮能强烈诱导 *CCS* 基因 mRNA 的积累,并且用二酰胺和丁硫氨酸亚砷胺处理的果皮表现出 *GGPS* 和 *CCS* 基因的过表达;类似地,通过杀草强抑制过氧化氢酶活性可诱导类胡萝卜素合成相关基因 mRNA (*GGPS*、*PSY*、*PDS*、*LCY-B*、*ZEP* 和 *CCS*) 的表达,导致离体的绿色果皮中辣椒红素的合成^[79]。在黑暗条件下对类胡萝卜素生物合成的调控机制也进行了研究,结果表明,用除草剂处理的辣椒材料转移到黑暗条件下时,类胡萝卜素生物合成被完全阻断,在黑暗条件下,所有分析基因的转录产物均呈下降趋势^[80]。

类胡萝卜素生物合成是一个多步骤(多基因)生物途径,一般情况下多步骤的生物合成必有转录因子调节,转录因子协调参与基因的表达。但截至目前,在转录水平上对辣椒类胡萝卜素生物合成途径调控机制的理解非常有限,只鉴定出两种与拟南芥 *PSY* 基因互作的转录因子(*RAP2.2* 和 *PIFs*)^[81-82],

而在辣椒作物中还未见转录因子调控辣椒果实类胡萝卜素合成与积累的报道。结构基因启动子序列与功能的研究可更好地了解辣椒类胡萝卜素的生物合成的转录调节机制,截至目前,在辣椒作物中,仅研究了 *CCS* 基因的启动子序列及结构,证实 *CCS* 基因启动子序列存在 ABA(脱落酸响应)、ELI(诱发响应)、HD(同源结构域)和 WUN(伤口应答)等顺式作用元件,表明了 *CCS* 基因的表达调控所有这些因素的可能性。此外 *CCS* 基因启动子在不同的辣椒种中存在序列差异, *Capsicum annuum* L. 中存在 3 个重复序列,而 *C.chinense* Jacq. 中存在 4 个重复序列,这些重复的相似性为 84.8%~97.7%,且均存在一系列的顺式作用元件,功能鉴定结果表明:这些重复序列对 *CCS* 基因的表达影响不显著^[83],这一结果说明辣椒橙色果实的形成可能存在更为复杂的调控机理。

4 问题与展望

辣椒果实颜色是丰富多彩的,而类胡萝卜素不同组分和含量的积累,对辣椒果实颜色的形成起着非常重要的作用^[84];果实颜色是辣椒重要的品质性状之一。经国内外众多学者研究,已基本建立了辣椒果实中的类胡萝卜素生物合成途径,并对此途径中一些重要的类胡萝卜素组分及相应的代谢酶及编码基因也进行了一些研究,但辣椒果实中含有多种类胡萝卜素色素,其中仍有许多未知色素,有待进一步了解;通过对特定颜色性状突变体的研究,初步了解了辣椒果实颜色形成过程中的一些关键基因的调控机制,但这也仅限于 *CCS*、*PSY* 等几个少数基因,对辣椒果实类胡萝卜素生物合成过程中其他结构基因的研究报道相对较少;同时对相关基因的转录调控机制也所知甚少,截至目前,在辣椒作物中转录因子调控类胡萝卜素生物合成的报道也相对较少。

因此,今后辣椒果实类胡萝卜素生物合成的研究,一方面,随着近几年高通量组学技术的快速发展,应加强辣椒果实类胡萝卜素生物合成的组学研究,发现并分离辣椒果实中其他未知色素,为进一步详细阐述辣椒果实颜色形成提供理论依据;另一方面,应加强辣椒类胡萝卜素生物合成途径转录调控机制的研究。启动子区域的克隆功能研究,有助于我们更深入的了解辣椒类胡萝卜素生物合成的转录调控机制,但截至目前,只有 *CCS* 基因启

动子有相关的研究报道,而其他结构基因的启动子的研究未见报道。此外,应加强辣椒高类胡萝卜素种质资源的收集与评价,并开发与之连锁的分子标记,为高类胡萝卜素辣椒新品种选育奠定基础。

参考文献

- [1] Paran I, van der Knaap. Genetic and molecular regulation of fruit and plant domestication traits in tomato and pepper. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(14): 3841-3852
- [2] Botella-Pavía P, Rodríguez-Concepción M. Carotenoid biotechnology in plants for nutritionally improved foods. *Physiologia Plantarum*, 2006, 126(3): 369-381
- [3] Hadden W L, Watkins R H, Levy L W, Regalado E. Carotenoid composition of Marigold (*Tagetes erecta*) flower extract used as nutritional supplement. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1999, 47(10): 4189-4194
- [4] Fraser P D, Truesdale M R, Bird C R, Schuch W, Bramley P. Carotenoid biosynthesis during tomato fruit development. *Plant Physiology*, 1994, 105: 405-413
- [5] Skelton R L, Yu Q, Srinivasan R, Manshardt R, Moore P H, Ray M. Tissue differential expression of lycopene β -cyclase gene in papaya. *Cell Research*, 2006, 16(8): 731-739
- [6] Kato M, Ikoma Y, Matsumoto H, Sugiura M, Hyodo H, Yano M. Accumulation of carotenoids and expression of carotenoid biosynthetic genes during maturation in citrus fruit. *Plant Physiology*, 2004, 134(2): 824-837
- [7] Bartley G E, Scolnik P A. Plant carotenoids: Pigments for photoprotection, visual attraction, and human health. *Plant Cell*, 1995, 7(7): 1027-1038
- [8] Delgado-Vargas F, Peredes-López O. Natural colorants for food and nutraceutical uses, FL, USA, CRC Press: Boca Raton, 2003: 327
- [9] Weedon B C L, Moss G P. ChemInform Abstract: Structure and Nomenclature. *Cheminform*, 1995, 26(32): 27-70
- [10] Sharoni Y, Linnewiel-Hermoni K, Khanin M, Salman H, Veprik A, Danilenko M, Levy J. Carotenoids and apocarotenoids in cellular signaling related to cancer: A review. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2012, 56(2): 259-269
- [11] Li L, Van Eck J. Metabolic engineering of carotenoid accumulation by creating a metabolic sink. *Transgenic Research*, 2007, 16(5): 581-585
- [12] Nishino H, Tokuda H, Satomi Y, Masuda M, Bu P, Onozuka M, Yamaguchi S, Okuda Y, Takayasu J, Tsuruta J. Cancer prevention by carotenoids. *Pure & Applied Chemistry*, 1999, 71: 2273-2278
- [13] Sporn M B, Liby K T. Is lycopene an effective agent for preventing prostate cancer? *Cancer Prevention Research*, 2013, 6(5): 384-386
- [14] Snodderly D M. Evidence for protection against age-related macular degeneration by carotenoids and antioxidant vitamins. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1995, 62(6S): 1448-1461
- [15] Rodríguez-Concepción M, Forés O, Martínez-García J F,

- Gonzalez V, Phillips M A, Ferrer A, Boronat A. Distinct light-mediated pathways regulate the biosynthesis and exchange of isoprenoid precursors during *Arabidopsis* seedling development. *Plant Cell*, 2004, 16 (1): 144-156
- [16] Zhu C, Naqvi S, Capell T, Christou P. Metabolic engineering of ketocarotenoid biosynthesis in higher plants. *Archives of Biochemistry & Biophysics*, 2009, 483 (2): 182-190
- [17] Auldrige M E, McCarthy D R, Klee H J. Plant carotenoid cleavage oxygenases and their apocarotenoid products. *Current Opinion in Plant Biology*, 2006, 9 (3): 315-321
- [18] Walter M H, Floss D S, Strack D. Apocarotenoids: Hormones, mycorrhizal metabolites and aroma volatiles. *Planta*, 2010, 232 (1): 1-17
- [19] Wang R K, Lu J J, Xing G N, Gai J Y, Zhao T J. Molecular evolution of two consecutive carotenoid cleavage dioxygenase genes in strigolactone biosynthesis in plants. *Genetics and Molecular Research*, 2011, 10 (4): 3664-3673
- [20] Ranjith A, Ramesh B, Natarajan R B, Ramakrishna M, Lekshmi P C, Vidya M. Red pepper (*Capsicum annuum*) carotenoids as a source of natural food colors: analysis and stability-a review. *Journal of Food Science and Technology*, 2015, 52 (3): 1258-1271
- [21] Almela L, Jos M, Lopez-Roca C M E, Alcdart M D. Carotenoid composition of new cultivars of red pepper for paprika. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1991, 39 (9): 1606-1609
- [22] Cervantes-Paz B, Yahia E M, Ornelas-Paz J J, Victoria-Campos C I, Ibarra Junquera V, Pérez-Martínez J D, Escalante-Minakata P. Antioxidant activity and content of chlorophylls and carotenoids in raw and heat-processed Jalapeño peppers at intermediate stages of ripening. *Food Chemistry*, 2014, 146: 188-196
- [23] Collera-Zúñiga O, Jiménez F G, Gordillo R M. Comparative study of carotenoid composition in three mexican varieties of *Capsicum annuum* L. *Food Chemistry*, 2005, 90 (1-2): 109-114
- [24] Giuffrida D, Dugo P, Torre G, Bignardi C, Cavazza A, Corradini C, Dugo G. Characterization of 12 *Capsicum* varieties by evaluation of their carotenoid profile and pungency determination. *Food Chemistry*, 2013, 140 (4): 794-802
- [25] Guil-Guerrero J L, Martínez-Guirado C, Rebolloso-Fuentes M D M, Carrique-Pérez A. Nutrient composition and antioxidant activity of 10 pepper (*Capsicum annuum*) varieties. *European Food Research & Technology*, 2006, 224 (1): 1-9
- [26] Howard L R, Talcott S T, Brenes C H, Villalon B. Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2000, 48 (5): 1713-1720
- [27] Marín A, Ferreres F, Tomás-Barberán F A, Gill M I. Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2004, 52 (12): 3861-3869
- [28] Breithaupt D E, Schwack W. Determination of free and bound carotenoids in paprika (*Capsicum annuum* L.) by LC/MS. *European Food Research & Technology*, 2000, 211 (1): 52-55
- [29] Mínguez-Mosquera M I, Hornero-Méndez D. Formation and transformation of pigments during the fruit ripening of *Capsicum annuum* cv. Bola and Agridulce. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1994, 42 (1): 38-44
- [30] Roca M, Hornero-Méndez D, Gandul-Rojas B, Mínguez-Mosquera M I. Stay-green phenotype slows the carotenogenic process in *Capsicum annuum* (L.) fruits. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2006, 54 (23): 8782-8787
- [31] Almela L, Fernández-López J A, Candela M E, Egea C, Alcázar M D. Changes in pigments, chlorophyllase activity, and chloroplast ultrastructure in ripening pepper for paprika. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1996, 44 (7): 1704-1711
- [32] Deli J, Molnár P, Matus Z, Tóth G. Carotenoid composition in the fruits of red paprika (*Capsicum annuum* var. *lycopersiciforme rubrum*) during ripening; Biosynthesis of carotenoids in red paprika. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2001, 49 (3): 1517-1523
- [33] 吴雪霞, 薛林宝, 陈建林, 朱为民. 彩色甜椒果实转色期色素的消长规律. *长江蔬菜*, 2005 (5): 38-40
- Wu X X, Xue L B, Chen J L, Zhu W M. Ebb and flow of pigment of colour sweet pepper fruit in colour-changed period. *Journal of Changjiang Vegetables*, 2005 (5): 38-40
- [34] 戴雄泽, 王利群, 陈文超, 张竹青, 杨博智, 邹学校, 刘志敏. 辣椒果实发育过程中果色与类胡萝卜素的变化. *中国农业科学*, 2009, 42 (11): 4004-4011
- Dai X Z, Wang L Q, Chen W C, Zhang Z Q, Yang B Z, Zou X X, Liu Z M. Changes of fruit colors and carotenoid contents during the development of pepper fruit. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42 (11): 4004-4011
- [35] Deli J, Matus Z, Szabolcs J. Carotenoid composition in the fruits of black paprika (*Capsicum annuum* variety *longum nigrum*) during ripening. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1992, 40 (11): 2072-2076
- [36] Matsufuji H, Ishikawa K, Nunomura O, Chino M, Takeda M. Anti-oxidant content of different coloured sweet peppers, white, green, yellow, orange and red (*Capsicum annuum* L.). *International Journal of Food Science & Technology*, 2007, 42 (12): 1482-1488
- [37] Curl A L. The carotenoids of red bell peppers. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1962, 10 (6): 504-509
- [38] Sun T, Xu Z, Wu C T, Janes M, Prinyawiwatkul W, No H K. Antioxidant activities of different colored Sweet Bell peppers (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2007, 72 (2): S98-S102
- [39] Deli J, Matus Z, Toth G. Carotenoid composition in the fruits of *Capsicum annuum* Cv. *Szentesi Koszarvu* during ripening. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1996, 44 (3): 711-716
- [40] Mínguez-Mosquera M I, Hornero-Mendez D. Separation and quantification of the carotenoid pigments in red peppers (*Capsicum annuum* L.), paprika, and oleoresin by reversed-phase HPLC. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1993, 41 (10): 1616-1620
- [41] Hornero-Méndez D, Gómez-Ladrón de G R, Mínguez M, María I. Carotenoid biosynthesis changes in five red pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivars during ripening. Cultivar selection for breeding. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2000, 48 (9): 3857-3864
- [42] Matus Z, Deli J, Szabolcs J. Carotenoid composition of yellow pepper during ripening: isolation of beta-cryptoxanthin 5,

- 6-epoxide. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1991, 39 (11): 1907-1914
- [43] Lang Y Q, Yanagawa S, Sasanuma T, Sasakuma T. Orange fruit colour in *Capsicum* due to deletion of capsanthin-capsorubin synthesis gene. *Breeding Science*, 2004, 54: 33-39
- [44] Rodríguez-Burruezo A, González-Mas M C, Nuez F. Carotenoid composition and vitamin A value in ají (*Capsicum baccatum* L.) and rocoto (*C. pubescens* R. & P.), 2 pepper species from the Andean region. *Journal of Food Science*, 2010, 75 (8): S446-S453
- [45] 隋益虎, 陈劲枫, 杨学玲, 李晶晶, 史建磊. 辣椒叶片花青素含量的遗传分析. *南京农业大学学报*, 2009, 32 (3): 19-24
Sui Y H, Chen J F, Yang X L, Li J J, Shi J L. Inheritance of anthocyanin contents in leaves of chili pepper. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2009, 32 (3): 19-24
- [46] Guzman I, Hamby S, Romero J, Bosland P W, O'Connell M A. Variability of carotenoid biosynthesis in orange colored *Capsicum* spp. *Plant Science*, 2010, 179 (1): 49-59
- [47] Fraser P D, Bramley P M. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in Lipid Research*, 2004, 43 (3): 228-265
- [48] Lichtenthaler, Hartmut K. The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1999, 50 (1): 47-65
- [49] Eisenreich W, Rohdich F, Bacher A. Deoxyxylulose phosphate pathway to terpenoids. *Trends in Plant Science*, 2001, 6 (2): 78-84
- [50] Rodríguez-Concepción M, Boronat A. Elucidation of the methylerythritol phosphate pathway for isoprenoid biosynthesis in bacteria and plastids. A metabolic milestone achieved through genomics. *Plant Physiology*, 2002, 130 (3): 1079-1089
- [51] Laura R U, Ivette G, Wathsala R, Richard D, Richins, Mary A. Carotenoid accumulation in orange-pigmented *Capsicum annuum* fruit, regulated at multiple levels. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63 (1): 517-526
- [52] Dogbo O, Camara B. Purification of isopentenyl pyrophosphate isomerase and geranylgeranyl pyrophosphate synthase from *Capsicum* chromoplasts by affinity chromatography. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1987, 920 (2): 140-148
- [53] Moise A R, Al-Babili S, Wurtzel E T. Mechanistic aspects of carotenoid biosynthesis. *Chemical Reviews*, 2013, 114 (1): 164-193
- [54] Li Q, Farre G, Naqvi S, Breitenbach J, Sanahuja G, Bai C, Sandmann G, Capel T, Christou P, Zhu C. Cloning and functional characterization of the maize carotenoid isomerase and β -carotene hydroxylase genes and their regulation during endosperm maturation. *Plant Physiology*, 2010, 153 (6): 1053-1068
- [55] Zhu C, Sanahuja G, Yuan D, Farré G, Arjó G, Berman J, Zorrilla-López U, Banakar R, Bai C, Pérez-Massot E. Biofortification of plants with altered antioxidant content and composition: Genetic engineering strategies. *Plant Biotechnology Journal*, 2013, 11 (2): 129-141
- [56] Chen Y, Li F, Wurtzel E T. Isolation and characterization of the Z-ISO gene encoding a missing component of carotenoid biosynthesis in plants. *Plant Physiology*, 2010, 153 (1): 66-79
- [57] Quinlan R F, Shumskaya M, Bradbury L M T, Beltrán J, Ma C, Kennelly E J, Wurtzel E T. Synergistic interactions between carotene ring hydroxylases drive lutein formation in plant carotenoid biosynthesis. *Plant Physiology*, 2012, 160 (1), 204-214
- [58] Adams B D, Gilmore A M, Up W W A. SERIAL REVIEWS CAROTENOID 3 In vivo functions of carotenoids in higher plants. *Faseb Journal Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 1996, 10 (4): 403-412
- [59] Seo M, Koshiba T. Complex regulation of ABA biosynthesis in plants. *Trends in Plant Science*, 2002, 7 (1): 41-48
- [60] Schwartz S H, Qin X, Zeevaert J A D. Elucidation of the indirect pathway of abscisic acid biosynthesis by mutants, genes, and enzymes. *Plant Physiology*, 2003, 131: 1591-1601
- [61] María G G, Neftalí O A. Biochemistry and Molecular Biology of Carotenoid Biosynthesis in Chili Peppers (*Capsicum* spp.). *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, 14 (9): 19025
- [62] Ha S H, Kim J B, Park J S, Lee S W, Cho K J. A comparison of the carotenoid accumulation in *Capsicum* varieties that show different ripening colours: Deletion of the capsanthin-capsorubin synthase gene is not a prerequisite for the formation of a yellow pepper. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58 (12): 3135-3144
- [63] Ronen G, Carmel-Goren L, Zamir D, Hirschberg J. An alternative pathway to beta-carotene formation in plant chromoplasts discovered by map-based cloning of Beta and old-gold color mutations in tomato. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2000, 97 (20): 1102-1107
- [64] Moehs C P, Tian L, Osteryoung K W, DellaPenna D. Analysis of carotenoids biosynthetic gene expression during marigold petal development. *Plant Molecular Biology*, 2001, 45 (3): 281-293
- [65] Levy A, Harel S, Palevitch D, Akiri B, Menagem E, Kanner J. Carotenoid pigments and β -carotene in paprika fruits (*Capsicum* spp.) with different genotypes. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1995, 43 (2): 362-366
- [66] Popovsky S, Paran I. Molecular genetics of the γ locus in pepper: Its relation to capsanthin-capsorubin synthase and to fruit color. *Theoretical & Applied Genetics*, 2000, 101 (1-2): 86-89
- [67] Bouvier F, Hugueney P, D'Harlingue A, Kuntz M, Camara B. Xanthophyll biosynthesis in chromoplasts: Isolation and molecular cloning of an enzyme catalyzing the conversion of 5, 6-epoxycarotenoid into ketocarotenoid. *Plant Journal*, 1994, 6 (1): 45-54
- [68] Houlne G, Schantz M L, Meyer B, Pozueta-Romero J, Schantz R. A chromoplast-specific protein in *Capsicum annuum*: characterization and expression of the corresponding gene. *Current Genetics*, 1994, 26 (5-6): 524-527
- [69] Li Z, Wang S, Gui X L, Chang X B, Gong Z H. A further analysis of the relationship between yellow ripe-fruit color and the capsanthin-capsorubin synthase gene in pepper (*Capsicum* spp.) indicated a new mutant variant in *C. annuum* and a tandem repeat structure in promoter region. *PLoS One*, 2013, 8 (4): e61996
- [70] Huh J H, Kang B C, Nahm S H, Kim S, Ha K S, Lee M

- H.A candidate gene approach identifies phytoene synthase as the locus for mature fruit color in red pepper (*Capsicum* spp.). *Theoretical & Applied Genetics*, 2001, 102 (4): 524-530
- [71] Thorup T A, Tanyolac B, Livingstone K D, Popovsky S, Paran I, Jahn M. Candidate gene analysis of organ pigmentation loci in the *Solanaceae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 97 (21): 11192-11197
- [72] Kim O R, Cho M C, Kim B D, Huh J H. A splicing mutation in the gene encoding phytoene synthase causes orange coloration in Habanero pepper fruits. *Molecular & Cells*, 2010, 30 (6): 569-574
- [73] Borovsky Y, Tadmor Y, Bar E, Meir A, Lewinsohn E, Paran I. Induced mutation in β -CAROTENE HYDROXYLASE results in accumulation of β -carotene and conversion of red to orange color in pepper fruits. *Theoretical & Applied Genetics*, 2013, 126 (3): 557-565
- [74] 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. *Plant Physiology*, 2008, 147 (1): 179-187
- [75] Borovsky Y, Paran I. Chlorophyll breakdown during pepper fruit ripening in the chlorophyll retainer mutation is impaired at the homolog of the senescence-inducible stay-green gene. *Theoretical & Applied Genetics*, 2008, 117 (2): 235-240
- [76] Brand A, Borovsky Y, Hill T, Rahman K A, Bellalou A, Van D A. *CaGLK2* regulates natural variation of chlorophyll content and fruit color in pepper fruit. *Theoretical & Applied Genetics*, 2014, 127 (10): 2139-2148
- [77] Tian S L, Li L, Chai W G, Shah S N, Gong Z H. Effects of silencing key genes in the capsanthin biosynthetic pathway on fruit color of detached pepper fruits. *BMC Plant Biology*, 2014, 14 (1): 1-12
- [78] Tian S L, Li L, Shah S N M, Gong Z H. The relationship between red fruit colour formation and key genes of capsanthin biosynthesis pathway in *capsicum annum*. *Biologia Plantarum*, 2015, 59 (3): 507-513
- [79] Bouvier F, Backhaus R A, Camara B. Induction and control of chromoplast-specific carotenoid genes by oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, 1998, 273 (46): 30651-30659
- [80] Simkin A J, Zhu C, Kuntz M, Sandmann G. Light-dark regulation of carotenoid biosynthesis in pepper (*Capsicum annum*) leaves. *Journal of Plant Physiology*, 2003, 160 (5): 439-443
- [81] Welsch R, Maass D, Voegel T, DellaPenna D, Beyer P. Transcription factor RAP2.2 and its interacting partner SINAT2: Stable elements in the carotenogenesis of Arabidopsis leaves. *Plant Physiology*, 2007, 145 (3): 1073-1085
- [82] Toledo-Ortiz G, Huq E, Rodríguez-Concepción M. Direct regulation of phytoene synthase gene expression and carotenoid biosynthesis by phytochrome-interacting factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107 (25): 11626-11631
- [83] Li Z, Wang S, Gui X-L, Chang X B, Gong Z H. A further analysis of the relationship between yellow ripe-fruit color and the capsanthin-capsorubin synthase gene in pepper (*Capsicum* spp.) indicated a new mutant variant in *C. annum* and a tandem repeat structure in promoter region. *PLoS One*, 2013, 8 (4): e61996
- [84] 宋钊, 夏碧波, 李颖, 张白鸽, 徐小万, 程蛟文, 曹健, 胡开林. 辣椒果色相关研究进展. *植物遗传资源学报*, 2018, 19 (1): 21-28
- Song Z, Xia B B, Li Y, Zhang B G, Xu X W, Cheng J W, Hu K L. Research progress on pepper fruit color. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2018, 19 (1): 21-28