

引用格式:

杨光彬, 王瑾, 陈恺琳, 单庆云, 崔苏菲, 熊程, 邹学校, 刘峰. 辣椒 MADS-box 基因家族的鉴定及表达分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2023, 49(5): 558–566.

YANG G B, WANG J, CHEN K L, SHAN Q Y, CUI S F, XIONG C, ZOU X X, LIU F. Identification and expression analysis of the MADS-box gene family in *Capsicum annuum*[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2023, 49(5): 558–566.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



## 辣椒 MADS-box 基因家族的鉴定及表达分析

杨光彬<sup>1</sup>, 王瑾<sup>3,6</sup>, 陈恺琳<sup>3</sup>, 单庆云<sup>3</sup>, 崔苏菲<sup>3</sup>, 熊程<sup>2,3,4,5</sup>, 邹学校<sup>2,3,4,5</sup>, 刘峰<sup>2,3,4,5\*</sup>

(1.湖南大学隆平分院, 湖南 长沙 410125; 2.岭南现代农业实验室, 广东 广州 510642; 3.湖南农业大学园艺学院, 湖南 长沙 410128; 4.园艺作物种质创新与新品种选育教育部工程研究中心, 湖南 长沙 410128; 5.蔬菜生物学湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410128; 6.南京农业大学园艺学院, 江苏 南京 210095)

**摘要:** 利用辣椒的全基因组数据鉴定到 104 个 MADS-box 基因, 对它们的理化性质、染色体定位、系统进化关系、蛋白保守基序和组织表达水平进行分析。结果表明: 辣椒 MADS-box 基因家族各成员在染色体上的分布不均, 理化性质差异较大, 104 个家族成员编码的氨基酸长度为 100~567 aa, 蛋白相对分子质量为 11 203.9~63 559.7, 蛋白理论等电点(PI)为 4.63~10.46, 系统进化树分析结果表明, 辣椒 MADS-box 基因家族可分为 2 大类, 与拟南芥和番茄的进化关系类似; 组织表达水平分析结果表明, *CaMADSs* 主要在花、果实和种子中表达, 在叶片中表达量相对较低, 推测 MADS-box 基因可能参与调控果实的发育和成熟。

**关键词:** 辣椒; MADS-box 基因家族; 基因表达

中图分类号: S641.3; Q786

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2023)05-0558-09

## Identification and expression analysis of the MADS-box gene family in *Capsicum annuum*

YANG Guangbin<sup>1</sup>, WANG Jin<sup>3,6</sup>, CHEN Kailin<sup>3</sup>, SHAN Qingyun<sup>3</sup>, CUI Sufei<sup>3</sup>,  
XIONG Cheng<sup>2,3,4,5</sup>, ZOU Xuexiao<sup>2,3,4,5</sup>, LIU Feng<sup>2,3,4,5\*</sup>

(1.Longping Branch, Hunan University, Changsha, Hunan 410125, China; 2.Laboratory of Lingnan Modern Agriculture, Guangzhou, Guangdong 510642, China; 3.College of Horticulture, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 4.ERC for Germplasm Innovation and New Variety Breeding of Horticultural Crops, Changsha, Hunan 410128, China; 5.Key Laboratory for Vegetable Biology of Hunan Province, Changsha, Hunan 410128, China; 6.College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095, China)

**Abstract:** In this study, 104 MADS-box genes were identified from pepper by using the whole genome data of pepper, and their physical and chemical properties, chromosome location, phylogenetic relationship, protein conserved motifs and tissue expression levels were analyzed. The results showed that the members of MADS-box gene family in pepper were uneven distribution on chromosomes and their physical and chemical properties were quite different. The length of amino acids encoded by 104 family members was 100-567 aa, the relative molecular masses of proteins were 11 203.9-63 559.7, and the theoretical isoelectric points(PI) of proteins were 4.63-10.46. Phylogenetic analysis showed that the MADS-box gene family of pepper could be divided into two categories, which were similar to the evolutionary relationship between *Arabidopsis thaliana* and tomato. The analysis of tissue expression level showed that *CaMADSs* were mainly expressed in flowers, fruits and seeds, and was less expressed in leaves, speculating that MADS-box gene might be involved in

收稿日期: 2022-12-06

修回日期: 2023-10-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(32002058、32130097); 国家自然科学基金联合基金项目(U19A202); 湖南省科技创新计划项目(2021JC0007)

作者简介: 杨光彬(1999—), 女, 湖南常德人, 硕士研究生, 主要从事辣椒果实发育及分子育种研究, [gbinyang@163.com](mailto:gbinyang@163.com); \*通信作者, 刘峰, 博士, 研究员, 主要从事辣椒种质资源重要性状功能基因挖掘及新种质创制研究, [liufengrich@126.com](mailto:liufengrich@126.com)

regulating fruit development and ripening.

**Keywords:** pepper; MADS-box gene family; gene expression

辣椒(*Capsicum annuum* L.)是一种重要的蔬菜和香料作物,由于辣椒素和抗坏血酸含量较高,越来越被关注<sup>[1-2]</sup>。研究表明,MADS-box 基因在植物的发育过程中(尤其是在花器官形成和果实成熟过程中)发挥重要作用<sup>[3-8]</sup>。研究人员已经对多种植物进行了 MADS-box 基因的全基因组分析<sup>[9-11]</sup>,但对辣椒 MADS-box 基因研究较少,仅有 4 个辣椒 MADS-box 基因被初步验证功能<sup>[12-15]</sup>。本研究,根据辣椒全基因组序列<sup>[16-17]</sup>鉴定了 104 个辣椒 MADS-box 基因,分析了它们的基本信息,包括进化关系、基因结构、保守基序、染色体定位和种间共线性,同时预测了它们的亚细胞定位、顺式元件和表达模式,并通过 qRT-PCR 验证基因表达图谱,旨在了解辣椒的 MADS-box 家族成员及潜在功能,为研究 MADS-box 家族在辣椒中的作用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试辣椒材料为野生型‘S8’,由湖南农业大学园艺学院提供。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 辣椒 MADS-box 基因的鉴定

通过蛋白质保守结构域提取号 PF00319 (SRF-TF 结构域)和 PF01486 (K-box 结构域)从 Pfam 数据库(<http://pfam.xfam.org/>)<sup>[18]</sup>下载 MADS 结构域的隐马尔可夫模型(HMM)图谱,设定截断参数  $E \leq 0.01$ ,运用 HMMER SEARCH 3.0 程序在下载 HMM 谱中识别含有 MADS 结构域的蛋白质<sup>[19]</sup>。利用 SMART(simple modular architecture research tool)数据库预测辣椒中存在 MADS-box 保守结构域的候选蛋白<sup>[20]</sup>,参考 2 个高质量的辣椒基因组数据 CM334(<http://peppergenome.snu.ac.kr/download.php>)和 Zunla-1(<http://peppersequence.genomics.cn/>),运用 ExPaSy 在线工具([https://web.expasy.org/compute\\_pi/](https://web.expasy.org/compute_pi/))计算相对分子质量和理论等电点<sup>[21]</sup>,并通过 softberry online tool(<http://www.softberry.com>)预测基因的亚细胞定位。

#### 1.2.2 保守基序、基因结构和系统发育分析

运用在线工具 Multiple EM(MEME, [\[meme-suite.org/meme/tools/meme\]\(https://meme-suite.org/meme/tools/meme\)\)挖掘基序\(motif\),并用 DNAMAN8.0.8\(Lynnon Biosoft\)进行比对;运用 Gene Structure Display Server 绘制 CaMADSs 的基因结构<sup>\[22\]</sup>;利用 MEGA-X 程序<sup>\[23\]</sup>根据 1000 次步长检验\(bootstrap test\)的相邻连接法\(NJ\)构建 CaMADSs 的无根系统发育树,CaMADSs 的完整蛋白质序列来源于 Zunla-1 参考基因组。](https://</a></p></div><div data-bbox=)

#### 1.2.3 染色体定位和共线性分析

利用 Zunla-1 参考基因组获取染色体位置,运用 TBtools 进行分析和绘图<sup>[24]</sup>;利用 MCScanX 分析基因共线性和同线性;通过 KaKs\_Calculator1.2<sup>[25]</sup>计算同义替换率( $K_s$ )和非同义替换率( $K_a$ )。

#### 1.2.4 启动子区域的顺式元件分析

运用 PlantCARE 在线工具(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)预测 CaMADSs 启动子区顺式元件<sup>[26]</sup>。

#### 1.2.5 辣椒 MADS-box 基因家族表达分析

用于 RNA-seq 分析的原始数据均来源于 PepperHub (<http://PepperHub.hzau.edu.cn/>)<sup>[27]</sup>,通过 Fastqc<sup>[28]</sup>和 Trimmomatic-0.36<sup>[29]</sup>过滤低质量序列;利用 HISAT2 比对参考基因组 Zunla-1 序列,获得配对末端测序读数<sup>[30]</sup>,并通过 FeatureCounts 计算读数之和<sup>[31]</sup>;采用 Rv3.6.1 中的 DESeq2 包实现计数数据归一化<sup>[32]</sup>,并构建热图。

#### 1.2.6 总 RNA 的提取和 qRT-PCR 分析

取‘S8’的花蕾、完全开放的花、未成熟绿色果、绿色成熟果、破色期果、成熟果、幼叶、成熟叶、绿色成熟果中的种子以及成熟果中的种子,采用 TransZol Up(全式金生物技术有限公司,北京)提取样品总 RNA,然后使用 Evo M-MLV 预混物(艾科瑞生物技术公司)合成用于 qRT-PCR 的 cDNA。按照 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix(诺唯赞,南京)20  $\mu$ L 体系配制反应试剂,通过 LightCycle® 96 实时荧光定量 PCR 仪(Roche,瑞士)运行 qRT-PCR 程序,以辣椒基因 Capana04g001698 为内参<sup>[33]</sup>,进行 3 次重复。采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  方法计算基因相对表达水平<sup>[34]</sup>。所有引物均通过 GenScript 网站(<https://www.genscript.com/tools/real-time-pcr-taqman-primer-design-tool>)设计,如表 1 所示。

表 1 用于 qRT-PCR 的基因和引物

基因登录号	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')
Capana00g004709	TGTGCTTTGTGATGCTGAGG	CCATGCAGGAATCATTGGCA
Capana02g003248	AAGCTCATGTCAAGGGCTGA	GCAGCTCAGAAATGGACTCG
Capana04g000272	AGTTGAGCAGGAAGGAGACT	TGGTTGAAGGCGTAAGGCTA
Capana07g001940	AGATGCTCGCAACAACCTCC	ATACACAAGCCGGAGAGGAG
Capana08g000973	TACAAAGCGCAGACAAGGTC	GAACGTGATAACAGCGGCTT
Capana11g002005	GCAGCAGCTCAAGTATGTCC	GCTGATGGTTGGGTTCTTTC
Capana04g001698	GCCTAGAAATTTGAGCCTCATT	AAGATGGTATTGTTGCTGATGG

1.2.7 统计分析

使用 SPSS 软件进行数据分析。

2 结果与分析

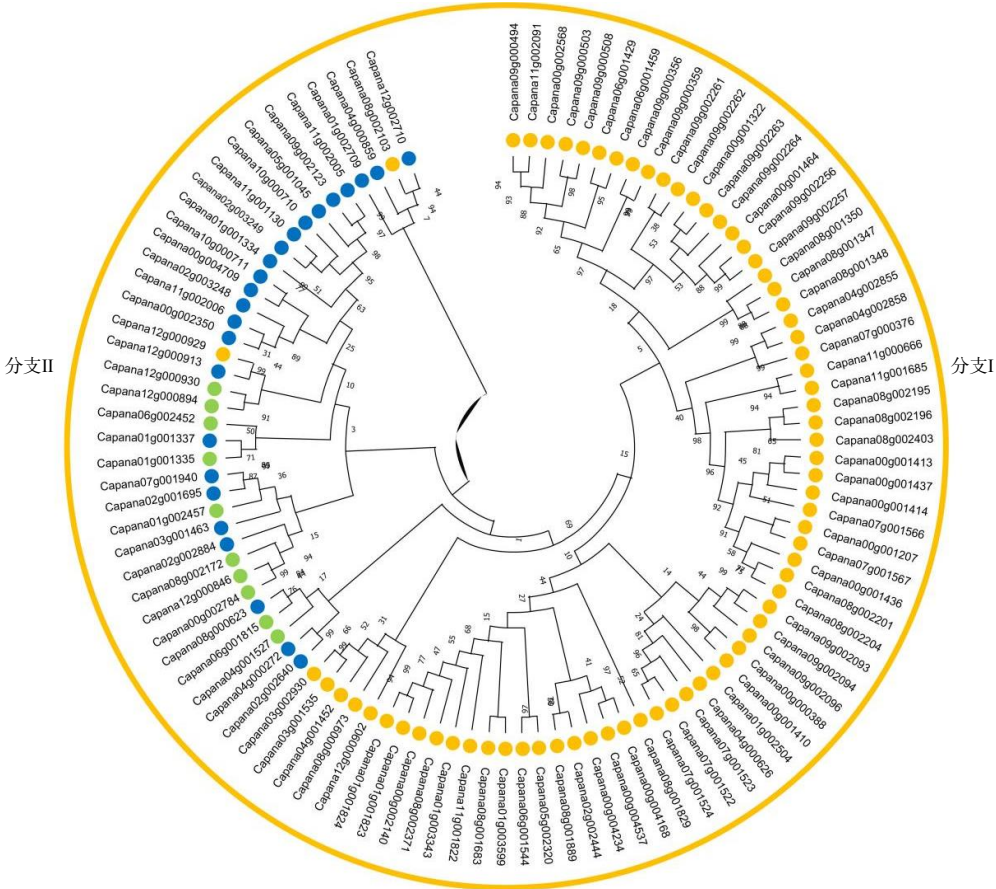
2.1 辣椒 MADS-box 基因家族的鉴定

依据 HMM MADS 模型找到了 104 个包含在 CM334 和 Zunla-1 基因组数据库的辣椒 MADS-box 基因，根据其染色体位置，将其重命名为 *CaMADS1*、*CaMADS2*、*CaMADS3*、…、*CaMADS104*。通过分析，其氨基酸序列的长度为 100~567 aa，相对分子质量为 11 203.9 ~ 63 559.7，*CaMADS* 基因的

等电点(PI)为 4.63~10.46。亚细胞定位的预测结果表明，除 *CaMADS94* (*Capana11g001822*)存在于胞外结构中，其余均定位在细胞核中。

2.2 辣椒 MADS-box 基因的分类和系统发育分析

运用 MEGA 5.02 并采用 NJ 方法构建系统发育树(图 1)，结果表明，分类结果与拟南芥、番茄类似<sup>[10]</sup>，104 个基因可分为分支 I 和 II，几乎所有只含 MADS 结构域的基因都属于分支 I (*Capana08g002103* 和 *Capana12g000929* 只含 1 个 MADS 结构域除外)，其余小部分基因属于分支 II。



黄色圆点代表仅含 MADS 结构域的基因；蓝色圆点代表含有 MADS 结构域和 K-box 结构域的基因；绿色圆点代表仅含 K-box 结构域的基因。

图 1 辣椒 MADS-box 基因的系统发育分析结果

Fig.1 Phylogenetic relationships of MADS-box genes in pepper

2.3 辣椒 MADS-box 基因的保守结构域和基因结构分析

为深入了解 MADS-box 基因的结构多样性、相似性及进化关系，分析了内含子-外显子的排列和保守基序，从结果(图 2)可以看出，辣椒 MADS-box

基因包含 0~9 个内含子，50%以上的 *CaMADS* 基因没有内含子，104 个 MADS-box 基因中只有 21 个(20.2%)含有 5 个以上的内含子。另外，在辣椒 MADS-box 蛋白中鉴定到 8 个保守基序。

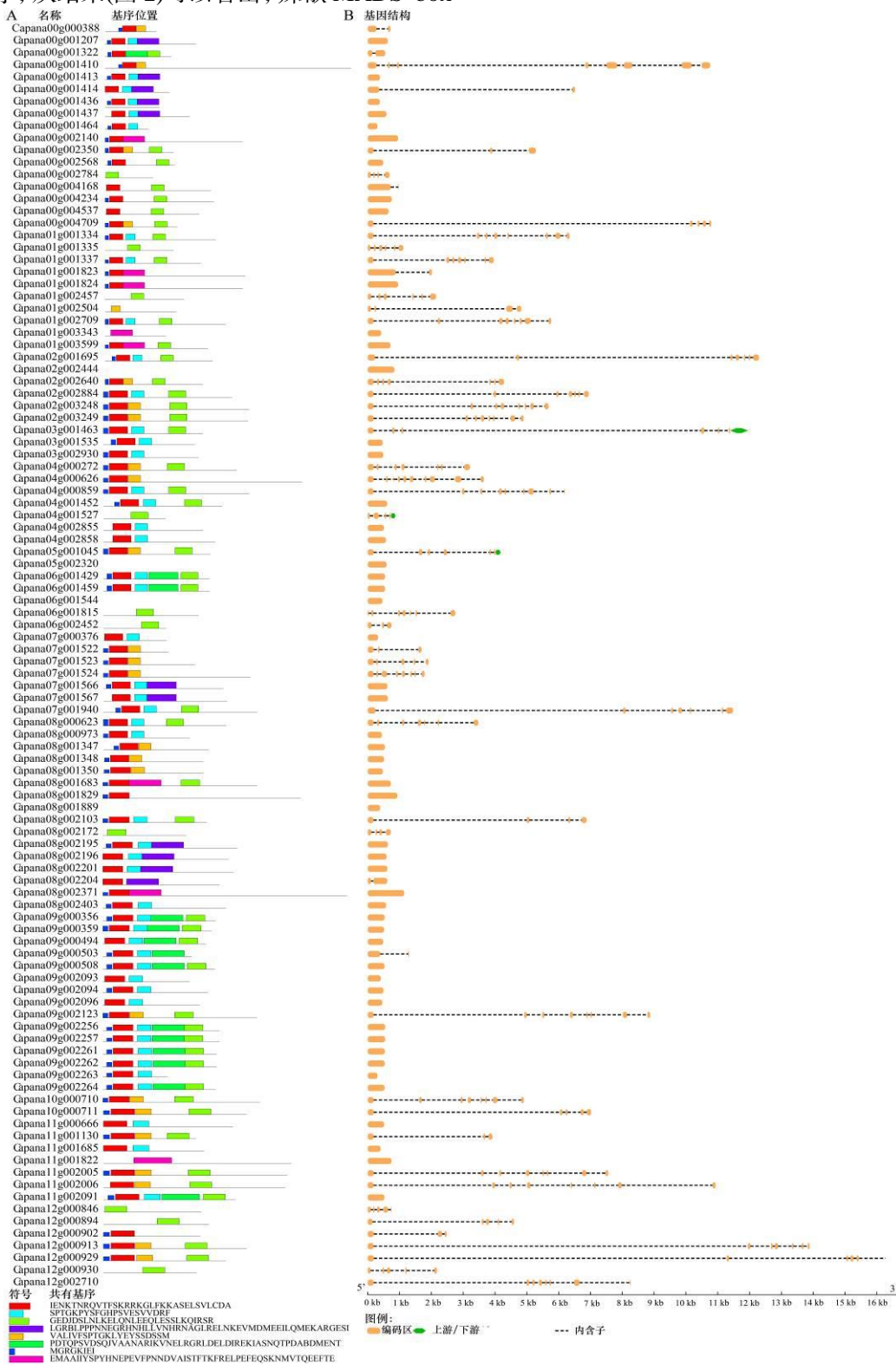


图 2 辣椒 MADS-box 基因的基序位置和基因结构

Fig.2 Gene structure and motif locations of MADS-box genes in pepper



2.4 辣椒 MADS-box 基因的染色体定位和种间共线性分析

根据辣椒基因组注释,绘制了辣椒 MADS-box 基因的染色体定位及基因共线性图(图 3)。结果表明,MADS-box 基因不均匀地分布在 12 条染色体上。辣椒 MADS-box 基因多数集中在 08 至 12 染色体上,许多被定位在 00 染色体上,01 至 07 染色体上辣椒 MADS-box 基因数量相对较少,05 染色体

上只有 2 个 MADS-box 基因,03 染色体上只有 3 个 MADS-box 基因。红色曲线表示 5 组 CaMADS 重复基因对,每组重复基因对的  $K_a$  和  $K_s$  值及其比值( $K_a/K_s$ )列于表 2,重复基因对的  $K_a$  值为 0.280 ~ 0.329,  $K_s$  值为 0.997 ~ 2.145。 $K_a/K_s$  值为评价进化选择压力的指标,均小于 1.00,说明辣椒在进化过程中存在纯合选择。

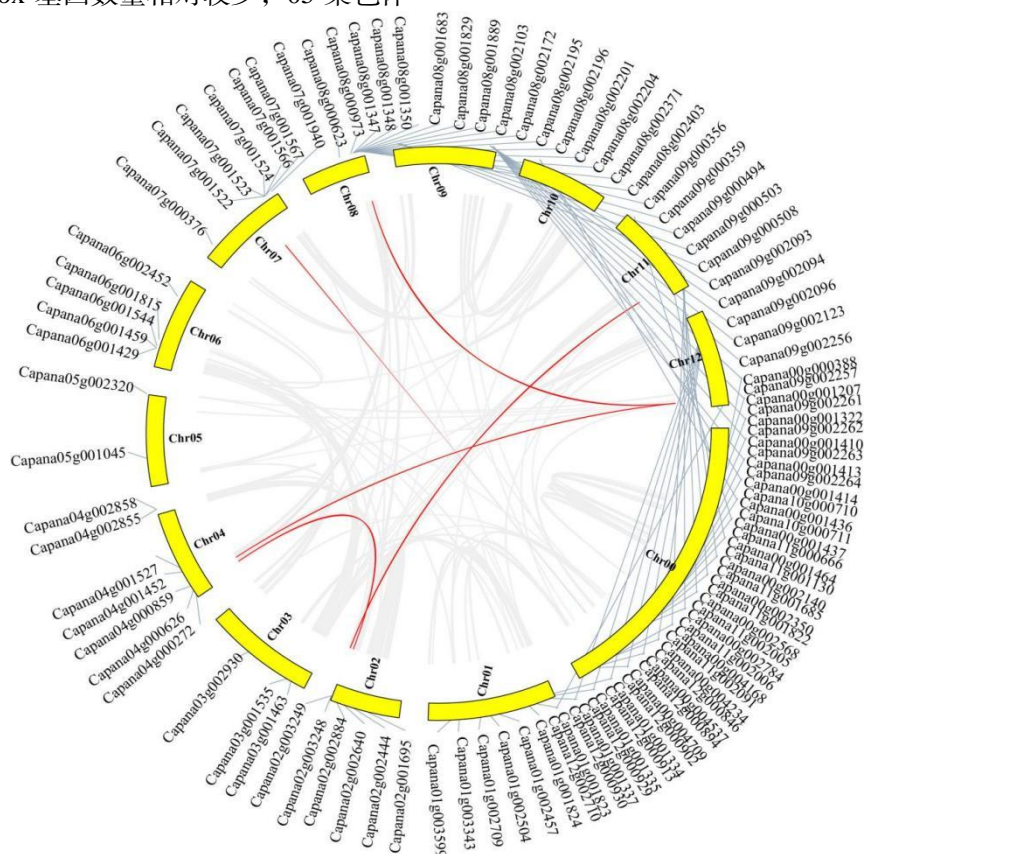


图 3 辣椒 MADS-box 基因的染色体定位及基因共线性

Fig.3 Chromosomal locations and synteny of MADS-box genes in pepper

表 2 辣椒 MADS-box 基因的复制基因对

Table 2 Duplication pairs for MADS-box genes in pepper

多拷贝基因对	同义替换率( $K_a$ )	非同义突替换率( $K_s$ )	$K_a/K_s$	同义替换位点	非同义替换位点
Capana02g002640/Capana04g000272	0.319	1.927	0.166	141.500	518.500
Capana02g003248/Capana11g002006	0.329	2.145	0.154	152.750	555.250
Capana02g003249/Capana11g002005	0.310	1.373	0.226	155.333	555.667
Capana04g000859/Capana12g002710	0.280	1.298	0.216	138.833	536.167
Capana08g002103/Capana12g002710	0.287	0.997	0.288	89.000	331.000

2.5 辣椒 MADS-box 基因启动子区顺式元件的预测

本研究鉴定到 7 个细胞发育顺式调控元件,负责胚乳、分生组织、栅栏叶肉细胞、类黄酮生物合成和细胞周期调控;预测了 13 个与激素相关的顺

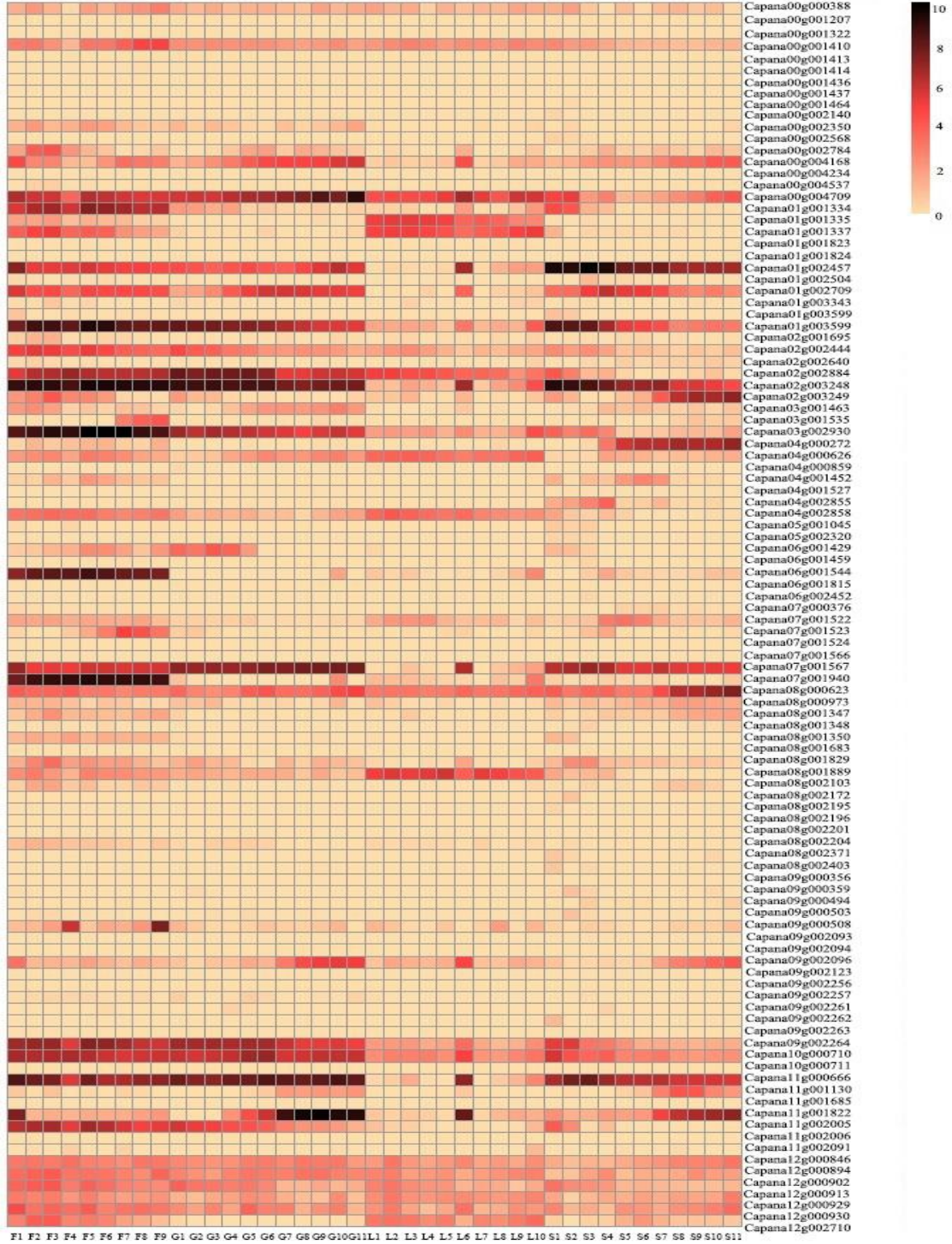
式元件,涉及乙烯、茉莉酸甲酯、赤霉素、水杨酸和生长素;还预测到 33 个与胁迫相关的顺式调控元件,包括非生物胁迫(光、低温、干旱反应和厌氧诱导)和生物胁迫(创伤响应等)。其中 71 个基因含有参与 ABA 反应的 ABRE 顺式作用元件,73 个 *CaMADSs*

基因含有参与乙烯反应的 ERE 顺式作用元件。

2.6 辣椒 MADS-box 基因在不同器官中的表达谱预测

基于 PepperHub 数据集构建了分层聚类热图(图 4), 包含了花发育的 9 个时期(F1、F2、⋯、F9)、

果实发育的 11 个时期(G1、G2、⋯、G11)、叶片发育的 10 个时期(L1、L2、⋯、L10)和种子发育的 11 个时期(S1、S2、⋯、S11)。基因表达谱显示, 辣椒中大量 *CaMADSs* 基因在花、果实和种子中高表达, 在叶中低表达。



F1、F2、⋯、F9 代表花的 9 个发育阶段; G1、G2、⋯、G11 代表果实的 11 个发育阶段; L1、L2、⋯、L10 代表叶片的 10 个发育阶段; S1、S2、⋯、S11 代表种子的 11 个发育阶段。

图 4 辣椒 MADS-box 基因在 4 种组织不同发育阶段的表达量热图

Fig.4 Heat map representation of pepper MADS-box genes in 4 tissues at different developmental stages



## 2.7 辣椒 MADS-box 基因在果实发育阶段的差异表达分析

基于转录组数据集选择了 6 个呈现不同表达趋势的辣椒 MADS-box 基因, *CaMADS17* 在整个发育时期均有表达, 其中, 在果实发育成熟阶段表达量较高; *CaMADS32* 在花、果、叶中均有表达, 在果实发育初期表达量较高; *CaMADS37* 在花和幼果中的表达量相对较高; *CaMADS57* 在果实和种子中表达量较高, 且随着果实和种子逐渐成熟, 表达量显著增加; *CaMADS59* 在各阶段均有表达, 在种子发育成熟时期表达水平尤为突出; *CaMADS95* 在果实发育后期和成熟种子中的表达水平较高。通过 qRT-PCR 进行验证, 结果(表 3)发现 *CaMADS17* 表

达量在花、果实和种子发育期间均呈现上升趋势, 在果实成熟阶段达最高值。*CaMADS32* 在果实发育初期表达量最高, 约为花中的 4 倍, 成熟果的 2 倍。*CaMADS37* 在花器官中具有较高的表达水平, 在其余组织中几乎无表达。*CaMADS57* 在成熟果实中表达量最高, 随果实逐渐成熟表达量显著增加, 在叶中表达量接近 0。*CaMADS59* 在成熟种子中表达量最高(197.02), 约是花中表达量的 70 倍, 成熟果表达量的 8 倍。*CaMADS95* 在果实初期几乎不表达, 但随果实发育表达量迅速上升, 果实成熟时达到最高值(216.59), 在成熟种子中的表达量也较高, 达 133.70。qRT-PCR 验证结果与表达谱预测趋势基本一致。

表 3 辣椒中 6 个 MADS-box 基因 4 种组织不同发育阶段的相对表达量

Table 3 Relative expression of 6 pepper MADS-box genes in 4 tissues at different developmental stages

基因名称	相对表达量									
	YFB	F	IMG	MG	BR	MF	YL	ML	SG	SR
<i>CaMADS17</i>	(0.98±0.03)e	(3.37±0.09)d	(1.17±0.12)e	(1.17±0.12)e	(9.89±0.70)c	(47.94±3.86)a	(0.85±0.08)e	(0.86±0.00)e	(0.46±0.05)e	(23.91±1.90)b
<i>CaMADS32</i>	(1.01±0.04)d	(1.38±0.06)c	(4.93±0.35)a	(1.49±0.06)c	(0.78±0.05)e	(2.41±0.16)b	(0.56±0.01)f	(0.46±0.09)f	(0.11±0.01)g	(0.59±0.02)ef
<i>CaMADS37</i>	(0.99±0.01)b	(1.08±0.02)a	(0.21±0.00)c	(0.04±0.00)de	(0.01±0.00)fg	(0.04±0.00)de	(0.00±0.00)g	(0.00±0.00)g	(0.01±0.00)fg	(0.02±0.00)ef
<i>CaMADS57</i>	(0.98±0.03)f	(1.40±0.12)f	(4.81±0.05)d	(3.94±0.11)e	(6.95±0.29)c	(19.49±0.89)a	(0.01±0.00)g	(0.01±0.00)g	(3.86±0.20)e	(15.70±1.26)b
<i>CaMADS59</i>	(1.01±0.02)c	(2.66±0.03)c	(2.67±0.11)c	(6.43±0.42)c	(4.30±0.21)c	(24.45±2.53)b	(2.56±0.17)c	(3.35±0.18)c	(24.32±0.93)b	(197.02±3.25)a
<i>CaMADS95</i>	(0.93±0.07)d	(3.22±0.18)d	(0.87±0.03)d	(16.76±0.18)c	(128.92±1.09)b	(216.59±4.54)a	(0.22±0.05)d	(0.19±0.02)d	(1.85±0.04)d	(133.70±0.20)b

YFB 花蕾; F 完全开放的花; IMG 未成熟绿色果; MG 绿色成熟果; BR 破色期果; MF 成熟果; YL 幼叶; ML 成熟叶; SG 绿色成熟果中种子; SR 成熟果中种子。不同小写字母示同行数据的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

## 3 结论与讨论

基因家族的全基因组分析方法是了解基因结构、进化和功能的有效分析方法。本研究结果显示, 辣椒 MADS 家族中 104 个 *CaMADS* 基因, 与番茄中 131 个 MADS 家族成员<sup>[10]</sup>数量接近, 推测该家族在进化中是保守的。对外显子和内含子数量和分布特征的分析结果表明, 大多数 *CaMADS* 基因具有相似的结构。表明这些基因在植物发育中的生物学功能相对保守。

鉴于基因的表达模式能反映其功能<sup>[35]</sup>, 对不同生育时期辣椒 MADS-box 基因家族在花、果实、叶和种子的表达模式进行分析。结果显示, 该家族基因主要在生殖器官中出现高的表达量, 在叶片中的表达量相对较低。qRT-PCR 结果显示, 6 个基因的

表达水平均随果实发育升高或降低, 可能正向或反向调控果实发育。*CaMADS17*、*CaMADS57*、*CaMADS59* 和 *CaMADS95* 随果实的成熟其相对表达量上升, 表明它们可能促进果实成熟。此外, 这 4 个基因在成熟种子中表达。根据这些结果推测, 辣椒的 MADS-box 基因可能参与调控果实的发育和成熟, 包括影响果实成熟时间、果实色泽和风味等<sup>[36-39]</sup>, 这在很多作物, 如番茄、草莓等中已经被验证。*CaMADS37* 在花器官中的表达水平较高, 但在果实中显著降低, 这可能意味着该基因主要参与花器官发育的调控。此外, *CaMADS17*、*CaMADS32*、*CaMADS57* 和 *CaMADS95* 都属于分支 II, 推测分支 II 中的转录因子更可能参与调控辣椒果实的发育和成熟, 这与吕山花等<sup>[40]</sup>的研究结果基本一致。但其潜在的功能与分子调控机制还需进一步研究。

## 参考文献:

- [1] RAMCHIARY N, KOLE C. The Capsicum Genome[M]. Berlin: Springer, 2019.
- [2] 邹学校, 马艳青, 戴雄泽, 等. 辣椒在中国的传播与产业发展[J]. 园艺学报, 2020, 47(9): 1715–1726.
- [3] ZHAO D, CHEN Z, XU L, et al. Genome-wide analysis of the MADS-box gene family in maize: gene structure, evolution, and relationships[J]. Genes, 2021, 12(12): 1956.
- [4] TAPIA-LÓPEZ R, GARCÍA-PONCE B, DUBROVSKY J G, et al. An AGAMOUS-related MADS-box gene, *XALI* (*AGL12*), regulates root meristem cell proliferation and flowering transition in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology, 2008, 146(3): 1182–1192.
- [5] ZHANG H, FORDE B G. An *Arabidopsis* MADS box gene that controls nutrient-induced changes in root architecture[J]. Science, 1998, 279: 407–409.
- [6] DE BODT S, RAES J, VAN DE PEER Y, et al. And then there were many: MADS goes genomic[J]. Trends in Plant Science, 2003, 8(10): 475–483.
- [7] HECK G R, PERRY S E, NICHOLS K W, et al. AGL15, a MADS domain protein expressed in developing embryos[J]. The Plant Cell, 1995, 7(8): 1271–1282.
- [8] SLUGINA M A, EFREMOV G I, SHCHENNIKOVA A V, et al. Characterization of *RIN* isoforms and their expression in tomato fruit ripening[J]. Cells, 2021, 10(7): 1739.
- [9] PARENICOVÁ L, DE FOLTER S, KIEFFER M, et al. Molecular and phylogenetic analyses of the complete MADS-box transcription factor family in *Arabidopsis*: new openings to the MADS world[J]. The Plant Cell, 2003, 15(7): 1538–1551.
- [10] WANG Y S, ZHANG J L, HU Z L, et al. Genome-wide analysis of the MADS-box transcription factor family in *Solanum lycopersicum*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(12): 2961.
- [11] SCHILLING S, KENNEDY A, PAN S R, et al. Genome-wide analysis of MIKC-type MADS-box genes in wheat: pervasive duplications, functional conservation and putative neofunctionalization[J]. The New Phytologist, 2020, 225(1): 511–529.
- [12] DONG T T, CHEN G P, TIAN S B, et al. A non-climacteric fruit gene *CaMADS-RIN* regulates fruit ripening and ethylene biosynthesis in climacteric fruit[J]. PLoS One, 2014, 9(4): e95559.
- [13] CHEN R G, MA J H, LUO D, et al. CaMADS, a MADS-box transcription factor from pepper, plays an important role in the response to cold, salt, and osmotic stress[J]. Plant Science, 2019, 280: 164–174.
- [14] BOROVSKY Y, RAZ A, DORON-FAIGENBOIM A, et al. Pepper fruit elongation is controlled by *Capsicum annuum ovate family protein 20*[J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 815589.
- [15] WU S, CLEVENGER J P, SUN L, et al. The control of tomato fruit elongation orchestrated by *sun*, *ovate* and *fs8.1* in a wild relative of tomato[J]. Plant Science, 2015, 238: 95–104.
- [16] QIN C, YU C S, SHEN Y O, et al. Whole-genome sequencing of cultivated and wild peppers provides insights into *Capsicum* domestication and specialization[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111(14): 5135–5140.
- [17] KIM S, PARK M, YEOM S I, et al. Genome sequence of the hot pepper provides insights into the evolution of pungency in *Capsicum* species[J]. Nature Genetics, 2014, 46(3): 270–278.
- [18] EL-GEHALI S, MISTRY J, BATEMAN A, et al. The Pfam protein families database in 2019[J]. Nucleic Acids Research, 2019, 47(D1): D427–D432.
- [19] FINN R D, CLEMENTS J, EDDY S R. HMMER web server: interactive sequence similarity searching[J]. Nucleic Acids Research, 2011, 39(suppl\_2): W29–W37.
- [20] LETUNIC I, KHEDKAR S, BORK P. SMART: recent updates, new developments and status in 2020[J]. Nucleic Acids Research, 2021, 49(D1): D458–D460.
- [21] GASTEIGER E, GATTIKER A, HOOGLAND C, et al. ExPASy: the proteomics server for in-depth protein knowledge and analysis[J]. Nucleic Acids Research, 2003, 31(13): 3784–3788.
- [22] HU B, JIN J P, GUO A Y, et al. GS2.0: an upgraded gene feature visualization server[J]. Bioinformatics, 2015, 31(8): 1296–1297.
- [23] KUMAR S, STECHER G, LI M, et al. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms[J]. Molecular Biology and Evolution, 2018, 35(6): 1547–1549.
- [24] CHEN C J, CHEN H, ZHANG Y, et al. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. Molecular Plant, 2020, 13(8): 1194–1202.
- [25] ZHANG Z, LI J, ZHAO X Q, et al. KaKs\_Calculator: calculating Ka and Ks through model selection and model averaging[J]. Genomics, Proteomics & Bioinformatics, 2006, 4(4): 259–263.
- [26] LESCOT M, DÉHAIS P, THIJS G, et al. PlantCARE, a database of plant *cis*-acting regulatory elements and a portal to tools for *in silico* analysis of promoter sequences[J]. Nucleic Acids Research, 2002, 30(1): 325–327.
- [27] LIU F, YU H Y, DENG Y T, et al. PepperHub, an



- informatics hub for the chili pepper research community[J]. *Molecular Plant*, 2017, 10(8): 1129–1132.
- [28] BROWN J, PIRRUNG M, MCCUE L A. FQC dashboard: integrates FastQC results into a web-based, interactive, and extensible FASTQ quality control tool[J]. *Bioinformatics*, 2017, 33(19): 3137–3139.
- [29] BOLGER A M, LOHSE M, USADEL B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data[J]. *Bioinformatics*, 2014, 30(15): 2114–2120.
- [30] KIM D, PAGGI J M, PARK C, et al. Graph-based genome alignment and genotyping with HISAT2 and HISAT-genotype[J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37(8): 907–915.
- [31] LIAO Y, SMYTH G K, SHI W. FeatureCounts: an efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features[J]. *Bioinformatics*, 2014, 30(7): 923–930.
- [32] VARET H, BRILLET-GUÉGUEN L, COPPÉE J Y, et al. SARTools: a DESeq2- and edgeR-based R pipeline for comprehensive differential analysis of RNA-Seq data[J]. *PLoS One*, 2016, 11(6): e0157022.
- [33] WANG J, YANG G, CHEN Y, et al. Genome-Wide characterization and anthocyanin-related expression analysis of the B-BOX gene family in *Capsicum annuum* L.[J]. *Frontiers in Genetics*, 2022, 13: 847328.
- [34] SCHMITTGEN T D, LIVAK K J. Analyzing real-time PCR data by the comparative  $C_T$  method[J]. *Nature Protocols*, 2008, 3(6): 1101–1108.
- [35] 李宁, 沈瑶, 夏碧波, 等. 辣椒基因组中 XTH 基因家族的鉴定与表达特征分析[J]. *热带作物学报*, 2018, 39(2): 317–324.
- [36] LI S, CHEN K S, GRIERSON D. Molecular and hormonal mechanisms regulating fleshy fruit ripening[J]. *Cells*, 2021, 10(5): 1136.
- [37] WANG S F, LU G, HOU Z, et al. Members of the tomato *FRUITFULL* MADS-box family regulate style abscission and fruit ripening[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(12): 3005–3014.
- [38] LIU G Z, LI C X, YU H Y, et al. *GREEN STRIPE*, encoding methylated TOMATO AGAMOUS-LIKE 1, regulates chloroplast development and Chl synthesis in fruit[J]. *The New Phytologist*, 2020, 228(1): 302–317.
- [39] BARTLETT M E. Changing MADS-box transcription factor protein-protein interactions as a mechanism for generating floral morphological diversity[J]. *Integrative and Comparative Biology*, 2017, 57(6): 1312–1321.
- [40] 吕山花, 孟征. MADS-box 基因家族基因重复及其功能的多样性[J]. *植物学通报*, 2007, 42(1): 60–70.

责任编辑: 毛友纯

英文编辑: 柳 正