

## 辣椒 BAM 家族基因鉴定及表达模式分析

李 宁<sup>1</sup>, 尹延旭<sup>1</sup>, 高升华<sup>1</sup>, 王 畅<sup>1</sup>, 葛长军<sup>2</sup>, 谢 勇<sup>3</sup>, 王 飞<sup>1</sup>, 姚明华<sup>1</sup>

(1. 蔬菜种质创新与遗传改良湖北省重点实验室·湖北省农业科学院经济作物研究所 武汉 430064;  
2. 黄冈市农业科学院 湖北黄冈 438000; 3. 武汉楚为种业科技有限公司 武汉 430070)

**摘要:**  $\beta$ -淀粉酶(BAM)家族基因广泛存在于多种植物中,在植物生长、非生物胁迫响应等方面发挥重要作用。为进一步挖掘辣椒 BAM 家族成员信息,探究分析其表达模式及基因功能,利用生物信息学手段对辣椒 *CaBAM* 基因家族进行全基因组鉴定,并对基因结构、系统进化及表达模式进行分析。结果表明,辣椒中共有 10 个 *CaBAM* 基因,均为亲水性蛋白,分布于细胞核、细胞质、线粒体、叶绿体和质膜中。系统发育分析将 *CaBAM* 基因家族划分为 6 个组,催化残基 Glu-186 和 Glu-380 的保守性高于 Flexible loop 和 Inner loop。*CaBAM* 基因启动子区含有多个与逆境、发育等相关的顺式作用元件,转录组和在低温胁迫下的 qRT-PCR 验证试验分析表明,*CaBAM* 基因在不同组织和非生物胁迫下存在差异表达,*CaBAM4*、*CaBAM5* 和 *CaBAM6* 可能在辣椒生长发育及逆境胁迫中发挥作用。研究结果为进一步深入研究辣椒 *CaBAM* 基因家族功能提供了参考。

**关键词:** 辣椒; BAM 基因家族; 基因表达; 生物信息学

中图分类号: S641.3 文献标志码: A 文章编号: 1673-2871(2025)11-013-13

## Genome-wide identification and expression pattern analysis of BAM family gene in *Capsicum annuum*

LI Ning<sup>1</sup>, YIN Yanxu<sup>1</sup>, GAO Shenghua<sup>1</sup>, WANG Chang<sup>1</sup>, GE Changjun<sup>2</sup>, XIE Yong<sup>3</sup>, WANG Fei<sup>1</sup>, YAO Minghua<sup>1</sup>

(1. Hubei Key Laboratory of Vegetable Germplasm Innovation and Genetic Improvement/Institute of Cash Crops, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, Hubei, China; 2. Huanggang Academy of Agricultural Sciences, Huanggang 438000, Hubei, China; 3. Wuhan Chuwei Seed Technology Co., Ltd., Wuhan 430070, Hubei, China)

**Abstract:**  $\beta$ -amylase(BAM) family gene is widely present in various plants and plays a significant role in plant growth and responses to abiotic stress. To further explore the information of the BAM family members in pepper and analyze their expression patterns and gene functions, bioinformatics methods were employed to conduct genome-wide identification, gene structure, phylogenetic analysis, and expression pattern analysis of the *CaBAM* gene family in pepper. The results indicated that there were 10 *CaBAM* genes in pepper, all of which were hydrophilic proteins and distributed in the nucleus, cytoplasm, mitochondria, chloroplasts, and plasma membrane. Phylogenetic analysis divided the *CaBAM* gene family into 6 groups, and the conservation of catalytic residues Glu-186 and Glu-380 was higher than that of the flexible loop and inner loop. The promoter regions of *CaBAM* genes contained multiple cis-acting elements related to stress and development. Transcriptome and qRT-PCR analysis showed that *CaBAM* genes had differential expression in different tissues and under abiotic stress, and *CaBAM4*, *CaBAM5*, and *CaBAM6* might play roles in the growth and development of pepper and responses to abiotic stress. The research results provide a reference for further in-depth studies on the function of the *CaBAM* gene family in pepper.

**Key words:** Pepper; BAM gene family; Gene expression; Bioinformatics

收稿日期: 2025-05-06; 修回日期: 2025-07-25

基金项目: 湖北省现代农业产业技术体系专项资金资助(2024HBSTX4-06); 武汉市特派员产学研专项(2023110201030679); 湖北省农业科技创新中心创新团队项目(2025-620-000-001-01, 2025-620-000-001-007)

作者简介: 李 宁, 女, 研究员, 主要从事辣椒遗传育种与生物技术研究。E-mail: li\_ning@hbaas.ac.cn

通信作者: 王 飞, 男, 研究员, 主要从事辣椒遗传育种研究。E-mail: 20966954@qq.com

姚明华, 男, 研究员, 主要从事辣椒遗传育种研究。E-mail: yaomh\_2008@126.com

淀粉是由葡萄糖分子聚合而成的植物碳水化合物储存的主要形式,植物的生长发育依赖于淀粉代谢,以保证碳和能量的稳定供应<sup>[1]</sup>。淀粉代谢也是非胁迫反应的关键参与者,在低温<sup>[2]</sup>、干旱<sup>[3-4]</sup>、盐<sup>[5]</sup>及氧化<sup>[6]</sup>等非生物胁迫下发挥应激作用,淀粉降解释放为糖和其他衍生代谢物,以防止或减轻非生物胁迫应激造成的伤害<sup>[7]</sup>。淀粉水解为葡萄糖的过程涉及多种酶的催化,其中主要有3种酶,即 $\alpha$ -淀粉酶( $\alpha$ -amylase)、 $\beta$ -淀粉酶( $\beta$ -amylase)和淀粉磷酸化酶(starch phosphorylase)。 $\beta$ -淀粉酶又名淀粉 $\beta$ -1,4-麦芽糖苷酶,作用于淀粉从非还原部分切断 $\alpha$ -1,4糖苷键,从而获得水解产物 $\beta$ -麦芽糖和有限糊精<sup>[8]</sup>。 $\beta$ -淀粉酶属于糖基水解酶家族14(glucosyl hydrolase 14 families, GH-14),具有一个Glyco\_hydro\_14保守结构域(PF01373)<sup>[9]</sup>,该保守结构域含有2个高度保守的区域,分别位于N端和另外一个相对中心的位置<sup>[10-11]</sup>。 $\beta$ -淀粉酶(BAM)基因家族广泛存在于多种植物中,如拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中有9个、水稻(*Oryza sativa*)中有10个、玉米(*Zea mays*)中有13个、番茄(*Solanum lycopersicum*)中有8个BAM基因家族成员<sup>[11-15]</sup>。

在模式植物拟南芥中,AtBAMs的功能已经得到很好的表征<sup>[15]</sup>,除具有淀粉水解作用外,还参与多种非生物胁迫、能量代谢和发育<sup>[11-12,16]</sup>。AtBAM1是拟南芥叶片中淀粉降解的核心酶,负责在夜间或黑暗条件下催化淀粉降解为麦芽糖,为植物提供持续能量来源<sup>[17]</sup>,还表现出对低温、干旱等胁迫的响应能力<sup>[14]</sup>。AtBAM2编码的BAM活性远低于BAM1或BAM3,对淀粉降解贡献不显著<sup>[17-18]</sup>。BAM3是拟南芥叶片中主要的 $\beta$ -淀粉酶,在叶片、萼片和长角果中强烈表达,并受低温诱导<sup>[19]</sup>。BAM4和BAM9具有共同的特征,均定位在质体,缺乏水解淀粉 $\alpha$ -1,4糖苷键的能力<sup>[20]</sup>。BAM4是淀粉降解的调节剂,bam4突变体显示淀粉过量表型<sup>[18-19]</sup>;BAM9激活淀粉降解,响应不同环境条件的变化<sup>[20]</sup>。BAM5编码的酶活性占据了叶片总 $\beta$ -淀粉酶的90%以上<sup>[21]</sup>,BAM6是从BAM5的染色体片段重复进化而来,也具有催化活性<sup>[22-23]</sup>。BAM7和BAM8除了含有Glyco\_hydro\_14保守结构域之外,还具有BRASSINAZOLE RESISTANT1(BZR1)类型DNA结合域,BZR1-BAMS提供代谢信号,在控制植物生长和发育中发挥作用<sup>[24]</sup>。由此可见,BAM基因家族广泛地参与生长、非生物胁迫响应等,并且在非生物逆境胁迫中发挥重要作用。目前,茄科作物中关于BAM

基因家族的研究还较少。马铃薯中鉴定到受低温诱导表达的BAM成员StBAM1、StBAM9、StBAM7、PCT-BMY1, RNAi-StBAM1株系的 $\beta$ -淀粉酶活性降低、可溶性淀粉含量增加, RNAi-StBAM9株系的 $\beta$ -淀粉酶活性无显著变化,但呈现显著的淀粉累积表型<sup>[25-28]</sup>。

辣椒(*Capsicum annuum* L.)是一种重要的蔬菜和调味品,也是我国栽培面积最大的蔬菜作物<sup>[29]</sup>。辣椒生长过程中易受低温、高温、盐等非生物逆境胁迫,从而影响果实品质及产量。辣椒中BAM基因家族成员及功能尚不清楚,鉴定辣椒BAM基因家族并分析其在发育及非生物胁迫中的角色具有重要意义。鉴于此,笔者在全基因组水平对辣椒BAM基因家族成员进行鉴定,并利用生物信息学手段对该家族蛋白理化性质、进化关系、保守基序、基因结构、启动子顺式作用元件等进行预测,利用qRT-PCR对其在低温胁迫下的表达模式进行验证分析,以期为后续解析辣椒BAM基因家族的功能奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 辣椒CaBAM基因家族成员的鉴定

在辣椒PepperGD数据库(<http://ted.bti.cornell.edu/cgi-bin/pepper/index>)、茄科作物基因组SGN网站(<https://solgenomics.net/>)、拟南芥TAIR数据库(<https://www.arabidopsis.org/>)和水稻RGAP网站(<https://rice.uga.edu/index.shtml>),分别下载辣椒Zhangshugang、番茄(version SL4.0)、茄子(67/3, version 4.1)、拟南芥(version 10.0)和水稻(version 7.0)的基因组数据、基因组结构注释、CDS序列及蛋白序列等文件。在InterPro数据库(<https://www.ebi.ac.uk/interpro/search/text/>)下载 $\beta$ -淀粉酶保守结构域Glyco\_hydro\_14的HMM(PF01373),利用TBtools生信平台Simple HMM Search程序<sup>[29]</sup>,分别对辣椒、番茄、茄子、拟南芥和水稻进行检索,获得候选的BAM蛋白序列;进一步利用SMART(<http://smart.embl-heidelberg.de/>)和Conserved Domains(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>)程序对所有候选蛋白序列结构域进行鉴定,最终确定具有PF01373结构域的即为BAM家族成员。

### 1.2 辣椒CaBAM蛋白特征、结构域及启动子区顺式元件分析

利用TBtools生信平台(Version 2.310)Protein

Paramter Calc 页面对辣椒 CaBAM 家族蛋白质序列进行理化特征分析和染色体定位分析,利用 BUS-CA (<http://busca.biocomp.unibo.it/>) 进行 CaBAM 蛋白质亚细胞定位预测;利用 NCBI CDD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 和 MEME 在线程序 (<https://meme-suite.org/meme/index.html>) 分别分析 CaBAM 蛋白的保守结构域和蛋白基序;提取 CaBAM 基因家族成员起始密码子上游 2000 bp 序列,利用 PlantCare 网站 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 预测启动子区顺式元件;采用 TBtools 进行染色体定位、蛋白结构、基因结构和启动子元件等可视化绘图<sup>[30]</sup>。

### 1.3 辣椒 CaBAM 多序列比对及系统发育树构建

使用 Clustal Omega (<https://www.ebi.ac.uk/jdd/patcher/msa/clustalo>) 对鉴定出的辣椒、番茄、茄子、拟南芥和水稻 BAMs 蛋白进行多序列比对,构建上述几个物种的系统发育树,参数设置为默认参数,采用 iTOL (<https://itol.embl.de/>, Version 7) 对系统发育树进行编辑和美化。

### 1.4 辣椒 CaBAM 基因的表达模式分析

从 NCBI SRA 公共数据库下载辣椒 Zunla-1 不同组织及果实发育阶段 (PRJNA193077) 和辣椒 CM334 不同非生物胁迫处理 (PRJNA525913) 的转录组数据<sup>[31-32]</sup>,以辣椒 Zhangshugang 为参考基因组进行基因表达分析。Zunla-1 不同组织及果实发育阶段包括盛花期辣椒植株的根、茎、叶、未开放的花苞和完全盛开的花朵,不同发育阶段的幼果、绿熟期和破色期果实<sup>[31]</sup>。CM334 不同的非生物胁迫处理为 6 片真叶期辣椒幼苗,低温胁迫处理温度为 10 °C、高温胁迫处理温度为 40 °C,盐胁迫处理为 50 mL 400 mmol·L<sup>-1</sup> 的 NaCl 溶液,干旱胁迫处理为

50 mL 400 mmol·L<sup>-1</sup> 的甘露醇溶液,分别在处理 0、3、6、12、24、72 h 取叶片样品<sup>[32]</sup>。提取辣椒 CaBAM 基因在不同组织、发育阶段和非生物胁迫处理下的数字表达谱数据,利用 TBTools 生信平台 HeatMap 绘制基因表达热图<sup>[30]</sup>。

### 1.5 辣椒不同组织和在低温胁迫下 CaBAM 基因的 qRT-PCR 分析

试验辣椒材料为美人椒 17-03,是湖北省农业科学院经济作物研究所茄果课题组连续多代自交纯化育成的高代自交系材料。美人椒 17-03 的根、茎、叶、花、幼果、绿熟和红熟期的组织取样及低温处理均于 2020 年 6 月在蔬菜种质创新与遗传改良湖北省重点实验室完成,相关样品 RNA 保存于 -80 °C 超低温冰箱。在辣椒苗龄为 6 片真叶期进行低温处理,4 °C 下处理 0、1、3、6、12、24 和 48 h 时采集样品,取样部位为第 3 片完全展开的真叶,每组样品各取 5 株幼苗叶片进行混样并提取 RNA。

RNA 提取使用 MagZol 试剂 (Magen, 广州), 逆转录使用 HiScript II 1st Strand cDNA Synthesis Kit (Vazyme, 南京)。利用 Primer3 (<https://primer3.ut.ee/>) 设计引物, qRT-PCR 方法检测 CaBAM 基因的表达量,以 CaUBI3 为内参基因<sup>[33]</sup>。qRT-PCR 试验在 CFX384 Touch™ 荧光定量 PCR 检测系统 (Bio-Rad, 美国) 上进行, 反应体系及反应程序参照 Yu 等<sup>[34]</sup>的报道。每个样品设置 3 个重复, 采用 2<sup>ΔΔCT</sup> 法计算基因相对表达量。引物由武汉天一辉远公司合成,序列信息如表 1。

### 1.6 数据分析

采用 Excel 2019 处理数据及绘图,采用 SPSS 19.0 对数据进行差异显著性分析。

表 1 实时荧光定量 PCR 分析引物

Table 1 Primers for quantitative real-time PCR analysis

基因 Gene	引物名称 Primer name	正向引物序列 Forward primer sequences (5'-3')	反向引物序列 Reverse primer sequences (5'-3')
CaBAM1	qBAM1	CTCCATCATTCTCGGCTACTTC	TTAGCTGGCAGGATAAAGTGAG
CaBAM2	qBAM2	CTCATGCCGACCCAACT	CGCTGTGAGAAGCTCGTATT
CaBAM3	qBAM3	TGTGATGCTCCACTTGAC	CCCTTCAGCTCCAGAACTTT
CaBAM4	qBAM4	TCTGGTTGTGAACATCTCTCTT	ACCAGATGCCCTCAGACTAAC
CaBAM5	qBAM5	ACACATGCAACAAATGAGCAATC	TCATTATTGGTCTGGCAAAT
CaBAM6	qBAM6	ATCGGTGCAACGCCATTA	GCCATCGGTGATCTCCATATT
CaBAM7	qBAM7	GCCGGAGGCAATGAGATT	GGCTCGAGTAATTCCAGTCTTT
CaBAM8	qBAM8	AAAGGCAGCAGAGACATGG	TACCAACGCGAGAAGAAACTC
CaBAM9	qBAM9	GGATGATGACGACGAAGAGAAG	TGCTCCTGATATTGCTGATGG
CaBAM10	qBAM10	TGATTGGTCTGCCCTATAAGAGC	AAACCACGTCTCCTACATTCC

## 2 结果与分析

### 2.1 辣椒 *CaBAM* 基因家族鉴定及蛋白理化性质分析

从辣椒 *Zhangshugang* 基因组中共鉴定到 10 个 *CaBAM* 蛋白, 根据 *CaBAM* 基因在染色体上的分布顺序, 命名为 *CaBAM1*~*CaBAM10*。蛋白理化性质分析显示, *CaBAM* 蛋白长度为 366~694 aa, 理论等电

点和相对分子质量分别为 5.6~8.23 和 41.84~77.88 kDa。不稳定系数分布在 31.12~47.54 之间, 其中 *CaBAM1*、*CaBAM2*、*CaBAM6* 和 *CaBAM9* 的不稳定系数大于 40, 预测为不稳定蛋白; 脂溶指数均小于 100, 平均亲水性指数均为负数, 表明 *CaBAM* 蛋白均为亲水性蛋白。亚细胞定位预测表明, *CaBAM* 家族分布于细胞核、细胞质、线粒体、叶绿体和质膜中(表 2)。

表 2 辣椒 *CaBAM* 蛋白理化性质及亚细胞定位

Table 2 Physicochemical properties and subcellular localization of *CaBAM* proteins in pepper

编号 Accession	序列编号 Sequence ID	染色体位置 Chromosome position	蛋白 长度 Protein length/aa	蛋白特征 Protein characteristics					亚细胞定位 Subcellular location
				相对分子 质量 MW/kDa	理论等电点 Theoretical pI	不稳定系数 Instability index	脂溶指数 Aliphatic index	平均亲 水指数 GRAVY	
<i>CaBAM1</i>	Caz01g00840.1	Chr01	570	64.43	6.58	47.54	67.25	-0.350	线粒体 Mitochondrial
<i>CaBAM2</i>	Caz01g00900.1	Chr01	519	59.25	8.23	44.04	69.88	-0.239	叶绿体 Chloroplast
<i>CaBAM3</i>	Caz01g07750.1	Chr01	545	60.87	7.59	34.95	68.55	-0.451	叶绿体 Chloroplast
<i>CaBAM4</i>	Caz01g28740.1	Chr01	534	58.68	5.86	32.90	75.75	-0.289	细胞核 Nuclear
<i>CaBAM5</i>	Caz01g38970.1	Chr01	666	75.49	6.27	38.46	66.32	-0.530	细胞核 Nuclear
<i>CaBAM6</i>	Caz03g37400.1	Chr03	577	64.67	5.77	43.51	68.32	-0.414	细胞质 Cytoplasmic
<i>CaBAM7</i>	Caz07g14590.1	Chr07	626	71.68	7.93	35.65	76.52	-0.388	线粒体 Mitochondrial
<i>CaBAM8</i>	Caz08g07690.1	Chr08	366	41.84	6.90	31.12	70.68	-0.396	细胞核 Nuclear
<i>CaBAM9</i>	Caz08g07710.1	Chr08	694	77.88	5.60	44.17	69.86	-0.440	细胞核 Nuclear
<i>CaBAM10</i>	Caz12g11620.1	Chr12	396	44.93	8.17	39.03	75.18	-0.488	质膜 Plasma membrane

### 2.2 辣椒 **BAM** 家族蛋白系统发育树构建

构建了辣椒与茄科作物番茄、茄子、拟南芥及水稻共 5 种作物的 **BAM** 家族蛋白系统发育树(图 1)。结果表明, **BAM** 家族被划分为 6 个组, Group I 包括辣椒 *CaBAM3* 和 *CaBAM6*, *CaBAM3* 与番茄 *SlBAM6*、茄子 *SmBAM8* 聚类在一个亚组, *CaBAM6* 与番茄 *SlBAM8*、茄子 *SmBAM10* 聚类在一个亚组; Group II 包括 3 个辣椒 **BAM** 蛋白, *CaBAM1*、*CaBAM2* 和 *CaBAM4*, *CaBAM1* 与 *CaBAM2* 是平行基因对; Group III 包括辣椒 *CaBAM5*、*CaBAM8* 和 *CaBAM9*; Group V 包括辣椒 *CaBAM7* 和 *CaBAM10*, 与番茄 *SlBAM3* 和茄子 *SmBAM3* 聚在同一组; Group IV 仅包括水稻的 *OsBAM5* 和 *OsBAM6*, Group VI 仅包括拟南芥的 *At-*

*BAM5* 和 *AtBAM6*, 这两个亚组中没有辣椒、番茄和茄子的 **BAMs** 家族成员。

### 2.3 辣椒 *CaBAM* 蛋白结构域与基因结构预测

对 *CaBAM* 家族蛋白序列进行比对分析, 鉴定到 **BAM** 蛋白的 3 个高度保守的序列区域 Region I、Region II 和 Region III, 分别包含 1 个 Flexible loop(GGNVG)、1 个催化残基 Glu-186(GELR) 和 1 个 Inner loop(NFTC), 此外还包括 1 个催化残基 Glu-380(GENAL)。在 *CaBAM* 家族蛋白中, 催化残基 Glu-186 和 Glu-380 的保守性高于 Flexible loop 和 Inner loop(图 2)。进一步的保守基序(motif)预测显示, 7 个基序是 *CaBAM* 蛋白中共有的保守基序, 是 *CaBAM* 蛋白序列的重要组成部分, 如 Motif5 包括催化残基 Glu-186, Motif9 包括催化残

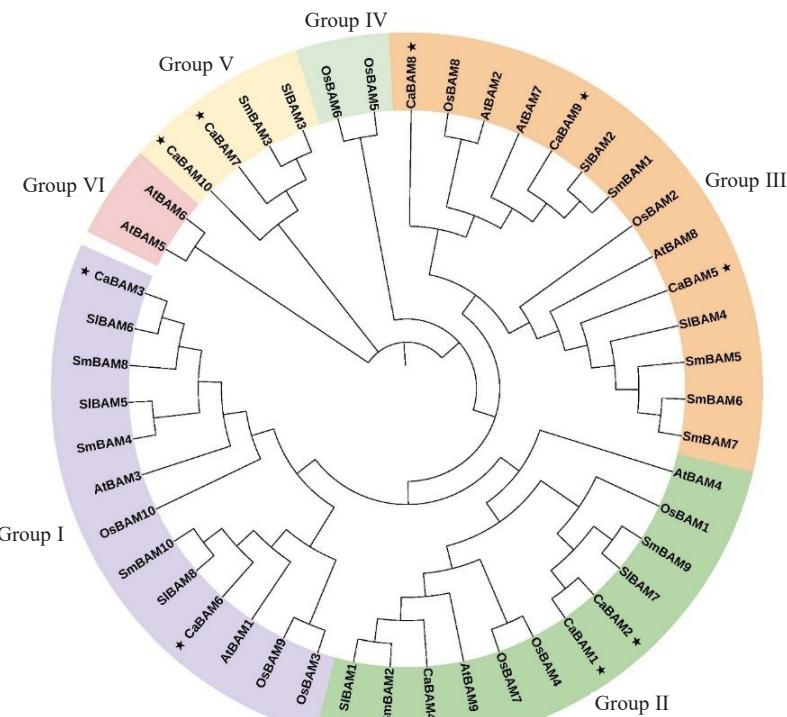


图 1 辣椒、番茄、茄子、拟南芥和水稻 BAM 蛋白序列系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree of BAM proteins in pepper, tomato, eggplant, *Arabidopsis* and rice

		Flexible loop																							
		*	300	*	320	*	340	*	360	*	380	*	400	*	420										
CaBam1	:	VQSFRA	ATGGVGVN	WVWGLC	KESTYRN	AKCALE	VAIAK	AKFCFL	WVRAV	AFH	FGT	DADP	PWHLAHIL	CHGNRVRVY	WPL	QW	REIEIDK	ODIAK	SFR	RINM	EYIS	LGQ			
CaBam2	:	VQSFRA	ATGGVGVN	WVWGLC	KESTYRN	AKCALE	VAIAK	AKFCFL	WVRAV	AFH	FGT	DADP	PWHLAHIL	CHGNRVRVY	WPL	QW	REIEIDK	ODIAK	SFR	RINM	EYIS	LGQ			
CaBam3	:	NASLMA	KSSGAE	GVM	DADWGLC	KESTYRN	AKCALE	VAIAK	AKFCFL	WVRAV	AFH	FGT	DADP	PWHLAHIL	CHGNRVRVY	WPL	QW	REIEIDK	ODIAK	SFR	RINM	EYIS	LGQ		
CaBam4	:	AAGLKA	KLLGVG	DL	PWHLAHIL	CHGNRVRVY	WPL	QW	REIEIDK	SFR	RINM	EYIS	LGQ	KESTYRN	AKCALE	VAIAK	AKFCFL	WVRAV	AFH	FGT	DADP	PWHLAHIL	CHGNRVRVY		
CaBam5	:	KEELCC	KGKNGV	WVWGLC	KESTYRN	AKCALE	VAIAK	AKFCFL	WVRAV	AFH	FGT	DADP	PWHLAHIL	CHGNRVRVY	WPL	QW	REIEIDK	ODIAK	SFR	RINM	EYIS	LGQ			
CaBam6	:	NASLCA	KSGAVESIM	DWNGVL	WVWGLC	KESTYRN	AKCALE	VAIAK	AKFCFL	WVRAV	AFH	FGT	DADP	PWHLAHIL	CHGNRVRVY	WPL	QW	REIEIDK	ODIAK	SFR	RINM	EYIS	LGQ		
CaBam7	:	EKQFRE	REAGVG	DL	DWNGVL	WVWGLC	KESTYRN	AKCALE	VAIAK	AKFCFL	WVRAV	AFH	FGT	DADP	PWHLAHIL	CHGNRVRVY	WPL	QW	REIEIDK	ODIAK	SFR	RINM	EYIS	LGQ	
CaBam8	:																								
CaBam9	:	VKQLRM	RSIN	WD	GVM	DWNGVL	WVWGLC	KESTYRN	AKCALE	VAIAK	AKFCFL	WVRAV	AFH	FGT	DADP	PWHLAHIL	CHGNRVRVY	WPL	QW	REIEIDK	ODIAK	SFR	RINM	EYIS	LGQ
CaBam10	:																								
		1	g	wwg	ve	p	y	w	y	k	fh	Region I	iplp	wv	pd	g	rn	s	d	g	Y	mrs			
		Chu-186																							
CaBam1	:	F	DTSF	FGF	WT	GGT	AGEL	RYE	Y	PLC	QCAW	TE	R	E	F	FCY	YR	IAS	NAC	K	RE	PE			
CaBam2	:	F	DTSPF	FGF	WT	GGT	AGEL	RYE	Y	PLC	QCAW	TE	R	E	F	FCY	YR	IAS	NAC	K	RE	PE			
CaBam3	:	F	ER	NS	YLG	WT	VE	FCY	YR	AGEL	RYE	Y	PLC	QCAW	TE	R	E	F	FCY	YR	IAS	NAC			
CaBam4	:	F	AT	SE	SMGT	WT	TG	FCY	YR	AGEL	RYE	Y	PLC	QCAW	TE	R	E	F	FCY	YR	IAS	NAC			
CaBam5	:	F	TE	DDL	FTG	DL	IS	VE	FCY	YR	AGEL	RYE	Y	PLC	QCAW	TE	R	E	F	FCY	YR	IAS	NAC		
CaBam6	:	F	ENNS	LG	ED	LG	WT	VE	FCY	YR	AGEL	RYE	Y	PLC	QCAW	TE	R	E	F	FCY	YR	IAS	NAC		
CaBam7	:	F	ENNS	LG	ED	LG	WT	VE	FCY	YR	AGEL	RYE	Y	PLC	QCAW	TE	R	E	F	FCY	YR	IAS	NAC		
CaBam8	:	F	ENNS	LG	ED	LG	WT	VE	FCY	YR	AGEL	RYE	Y	PLC	QCAW	TE	R	E	F	FCY	YR	IAS	NAC		
CaBam9	:	F	ENNS	LG	ED	LG	WT	VE	FCY	YR	AGEL	RYE	Y	PLC	QCAW	TE	R	E	F	FCY	YR	IAS	NAC		
CaBam10	:	F	TENN	LL	QCAG	TA	IE	FCY	YR	AGEL	RYE	Y	PLC	QCAW	TE	R	E	F	FCY	YR	IAS	NAC			
		F	f	1	6	6	6	G	Y	w	p	GefQCY	Y	1	A	g	5	p	ag	F	FF	g			
		Region II																							
CaBam1	:	*	440	*	460	*	480	*	500	*	520	*	540	*	560										
CaBam2	:	F	DTSPF	FGF	WT	GGT	AGEL	RYE	Y	PLC	QCAW	TE	R	E	F	FCY	YR	IAS	NAC	K	RE	PE			
CaBam3	:	F	ER	NS	YLG	WT	VE	FCY	YR	AGEL	RYE	Y	PLC	QCAW	TE	R	E	F	FCY	YR	IAS	NAC			
CaBam4	:	F	AT	SE	SMGT	WT	TG	FCY	YR	AGEL	RYE	Y	PLC	QCAW	TE	R	E	F	FCY	YR	IAS	NAC			
CaBam5	:	F	TE	DDL	FTG	DL	IS	VE	FCY	YR	AGEL	RYE	Y	PLC	QCAW	TE	R	E	F	FCY	YR	IAS	NAC		
CaBam6	:	F	ENNS	LG	ED	LG	WT	VE	FCY	YR	AGEL	RYE	Y	PLC	QCAW	TE	R	E	F	FCY	YR	IAS	NAC		
CaBam7	:	F	ENNS	LG	ED	LG	WT	VE	FCY	YR	AGEL	RYE	Y	PLC	QCAW	TE	R	E	F	FCY	YR	IAS	NAC		
CaBam8	:	F	ENNS	LG	ED	LG	WT	VE	FCY	YR	AGEL	RYE	Y	PLC	QCAW	TE	R	E	F	FCY	YR	IAS	NAC		
CaBam9	:	F	ENNS	LG	ED	LG	WT	VE	FCY	YR	AGEL	RYE	Y	PLC	QCAW	TE	R	E	F	FCY	YR	IAS	NAC		
CaBam10	:	F	TENN	LL	QCAG	TA	IE	FCY	YR	AGEL	RYE	Y	PLC	QCAW	TE	R	E	F	FCY	YR	IAS	NAC			
		*	580	*	600	*	620	*	640	*	660	*	680	*	700										
		Inner loop																							
CaBam1	:	VAS	IT	RE	HF	PE	SLT	GGY	NTS	IRD	FG	YGF	Y	CC	FT	EM	DAE	EKR	KNP	FV	---				
CaBam2	:	VAS	IT	RE	HF	PE	SLT	GGY	NTS	IRD	FG	YGF	Y	CC	FT	EM	DAE	EKR	KNP	FV	---				
CaBam3	:	VAS	IT	WH	NA	HA	EE	TT	Y	TR	DG	Y	Y	CC	FT	EM	DGE	QPH	SANCS	---	---				
CaBam4	:	V	PLV	SM	WR	PE	FCY	YR	TAN	DG	Y	Y	CC	FT	EM	DNH	QF	NE	LS	---	---				
CaBam5	:	-	-	A	Y	W	N	RS	HA	EE	TT	Y	PT	DCY	Y	Y	CE	VAA	DAD	LA	---				
CaBam6	:	-	-	A	Y	W	N	RS	HA	EE	TT	Y	PT	DCY	Y	Y	CE	VAA	DAD	LA	---				
CaBam7	:	-	-	A	Y	W	N	RS	HA	EE	TT	Y	PT	DCY	Y	Y	CE	VAA	DAD	LA	---				
CaBam8	:	-	-	A	Y	W	N	RS	HA	EE	TT	Y	PT	DCY	Y	Y	CE	VAA	DAD	LA	---				
CaBam9	:	-	-	A	Y	W	N	RS	HA	EE	TT	Y	PT	DCY	Y	Y	CE	VAA	DAD	LA	---				
CaBam10	:	-	-	A	Y	W	N	RS	HA	EE	TT	Y	PT	DCY	Y	Y	CE	VAA	DAD	LA	---				
		*	66	*	68	*	70	*	72	*	74	*	76	*	78	*	80	*	82	*	84				
		Region III																							
CaBam1	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam2	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam3	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam4	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam5	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam6	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam7	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam8	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam9	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam10	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
		*	7	*	9	*	11	*	13	*	15	*	17	*	19	*	21								
		Glu-380																							
CaBam1	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam2	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam3	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam4	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam5	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam6	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam7	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam8	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam9	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam10	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
		*	7	*	9	*	11	*	13	*	15	*	17	*	19	*	21								
		S																							
CaBam1	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam2	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam3	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam4	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam5	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam6	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam7	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam8	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam9	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
CaBam10	:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
		*	6	*	8	*	10	*	12	*	14	*	16	*	18										

图 2 辣椒 CaBAM 家族蛋白多序列比对结果

Fig. 2 Multiple sequence alignment results of pepper CaBAM family proteins

基 Glu-380, Motif3 和 Motif10 具有典型的 Glyco\_hydro\_14 结构域; CaBAM8 缺少 3 个 motifs, 即 motif 3/4/10; CaBAM10 缺少 2 个 motifs, 即 motif3/6,

CaBAM5 缺少 1 个 motifs, 即 motif10(图 3-A)。

基因结构分析表明,同一家族中不同基因之间的基因结构存在差异(图 3-B),*CaR4M* 基因家族包

含3~9个外显子, *CaBAM5* 和 *CaBAM9* 的外显子数目最多有9个;除 *CaBAM2*、*CaBAM6* 和 *CaBAM7* 外,其余成员均具有以非编码区域

(UTR)开头和结尾的完整结构。总体而言,聚类在同一组内的成员基因结构相似,暗示可能具有相似的功能。

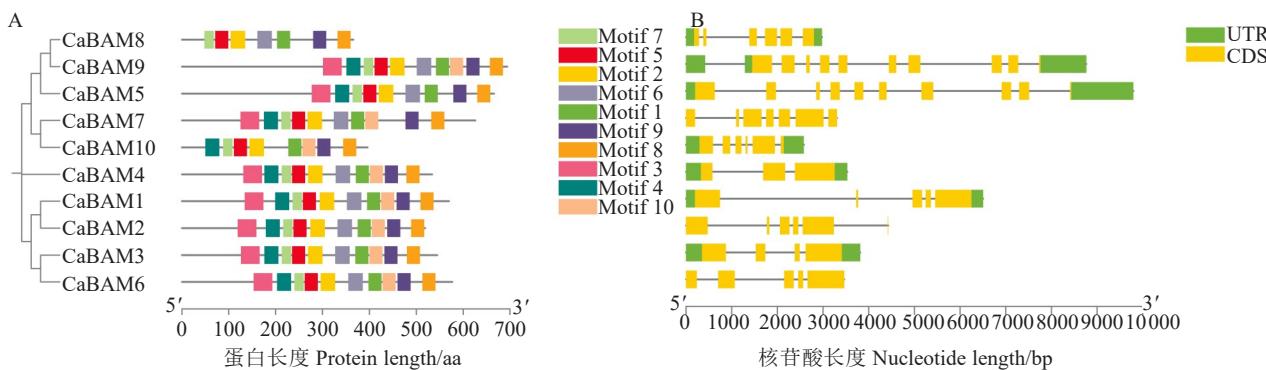


图3 辣椒CaBAM家族蛋白保守基序(A)和基因外显子/内含子结构(B)分布

Fig. 3 Distribution of conserved motifs (A) and exon/intron structures (B) in the CaBAM family genes in pepper

#### 2.4 辣椒CaBAM基因家族染色体定位及共线性分析

辣椒CaBAM基因家族不均匀地分布在辣椒的1、3、7、8和12号染色体上,其中1号染色体上分布的CaBAM基因最多,共有5个(图4)。进一步对辣椒与番茄、拟南芥和水稻3种作物进行物种间共线性分析,结果如图5所示,辣椒CaBAM和番茄SlBAM基因家族之间有7个同源基因对,辣椒CaBAM和拟南芥AtBAM、水稻OsBAM基因家族之间各有4个同源基因对。

#### 2.5 辣椒CaBAM基因启动子顺式作用元件预测

利用PlantCARE预测和分析启动子区顺式作用元件并进行可视化,这些顺式作用元件包括植物

激素响应元件、防御和胁迫响应元件以及生长发育相关响应元件,如与生长素相关的TGA-element、赤霉素相关的P-box、脱落酸相关的ABRE、参与非生物胁迫的DRE core和MBS等(图6)。启动子区不同的顺式作用元件分布可能反映CaBAM基因在辣椒生长发育及非生物胁迫等进程中的功能,如CaBAM4、CaBAM6等,具有较多数目的ABRE元件、G-box元件,CaBAM5具有较多的STRE元件,推测可能在生长发育及非生物胁迫中发挥不同的功能。

#### 2.6 辣椒CaBAM基因表达模式分析

辣椒不同组织中CaBAM的表达存在差异(图7),CaBAM4和CaBAM6在根、茎、叶、花蕾、花及果

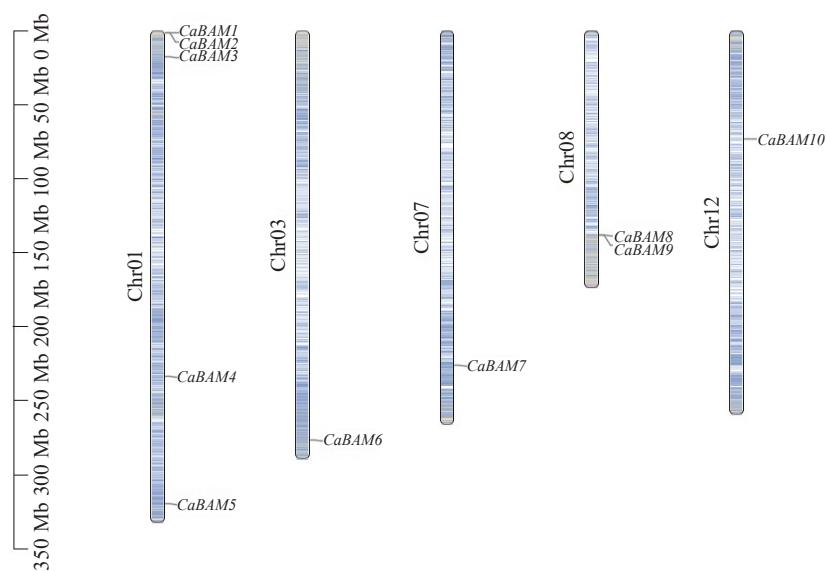


图4 辣椒CaBAM基因在染色体上的分布

Fig. 4 Distribution of CaBAM gene on chromosome in pepper

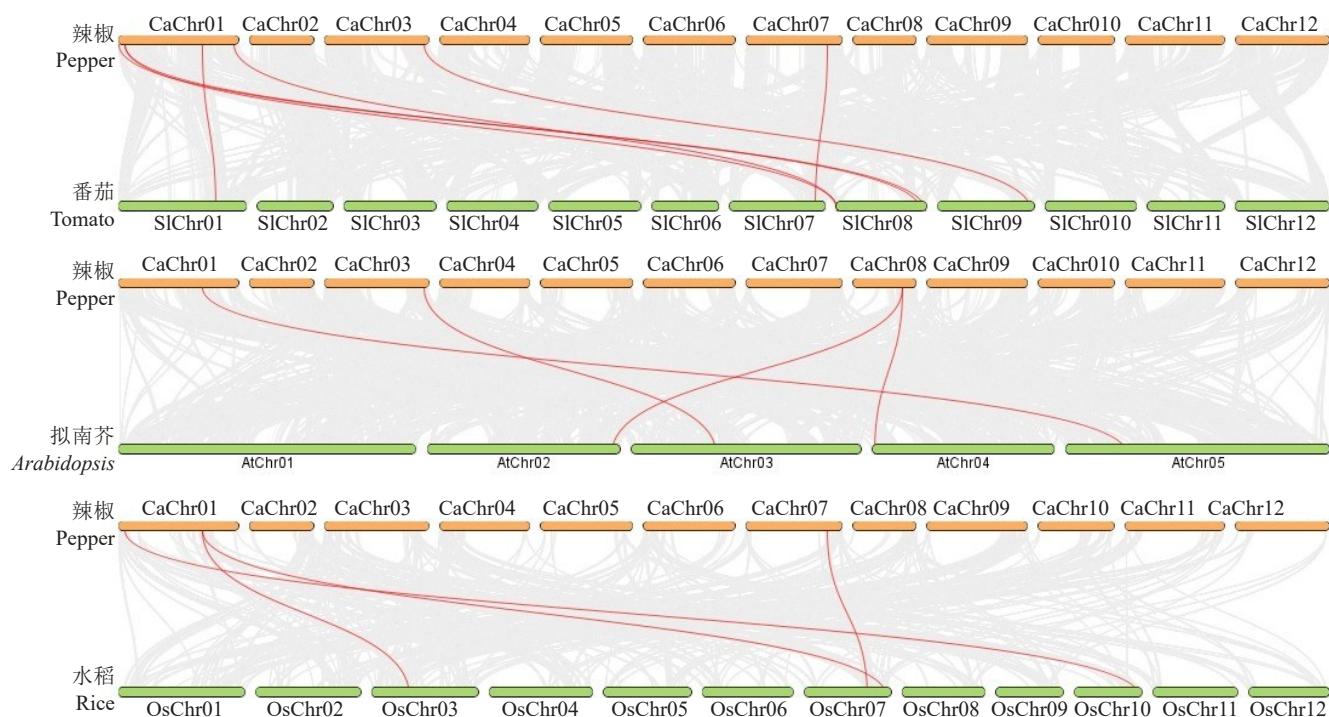


图 5 辣椒 CaBAM 基因与番茄、拟南芥和水稻的共线性分析  
Fig. 5 Collinearity analysis of pepper CaBAM gene with tomato, *Arabidopsis* and rice

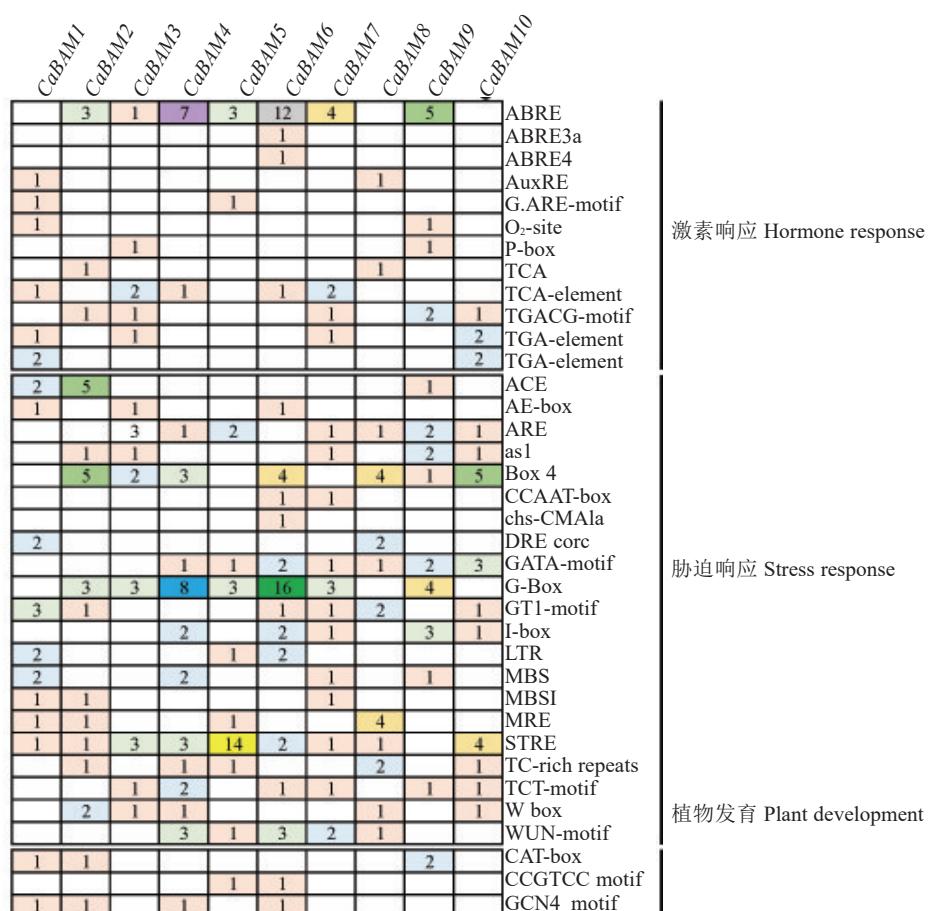


图 6 辣椒 CaBAM 家族基因顺式作用元件预测图

Fig. 6 Prediction and annotation of cis-acting elements in the CaBAM genes family of pepper

实发育过程中均具有较高的表达量,但在果实发育初期(F-Dev1)几乎不表达;而 *CaBAM5* 和 *CaBAM7* 则在果实发育初期表达量较高,在根、茎等组织及果实其他发育阶段则相对较低。*CaBAM3* 在茎、叶

及果实发育初期表达量较高,在根及果实发育后期表达量相对较低。*CaBAM1* 和 *CaBAM9* 在不同组织中均有表达,而 *CaBAM2*、*CaBAM8* 和 *CaBAM10* 在不同组织中的表达量均较低。

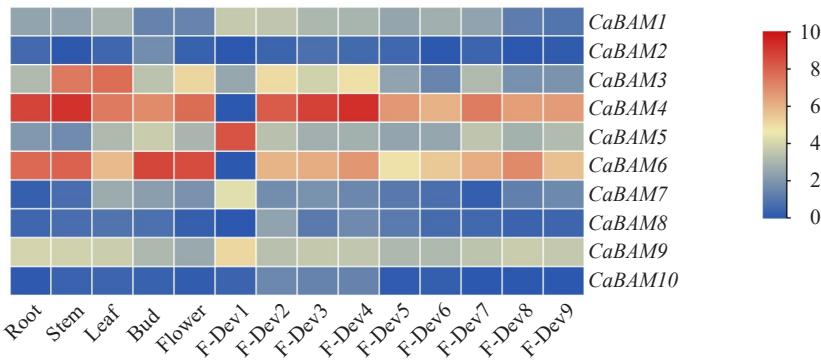


图 7 辣椒 *CaBAM* 在不同组织中的表达

Fig. 7 Expression of *CaBAM* in different tissues of pepper

注:Root、Stem、Leaf 分别为盛花期辣椒植株的根、茎、叶,Bud 为未开放的花苞,Flower 为完全盛开的花朵;F-Dev1 为 0~1 cm 长的辣椒果实,F-Dev2 为 1~3 cm 长的辣椒果实,F-Dev3 为 3~4 cm 长的辣椒果实,F-Dev4 为 4~5 cm 长的辣椒果实,F-Dev5 为绿熟期辣椒果实,F-Dev6 为破色期辣椒果实,F-Dev7 为破色期后 3 d 辣椒果实,F-Dev8 为破色期后 5 d 辣椒果实,F-Dev9 为破色期后 7 d 辣椒果实。

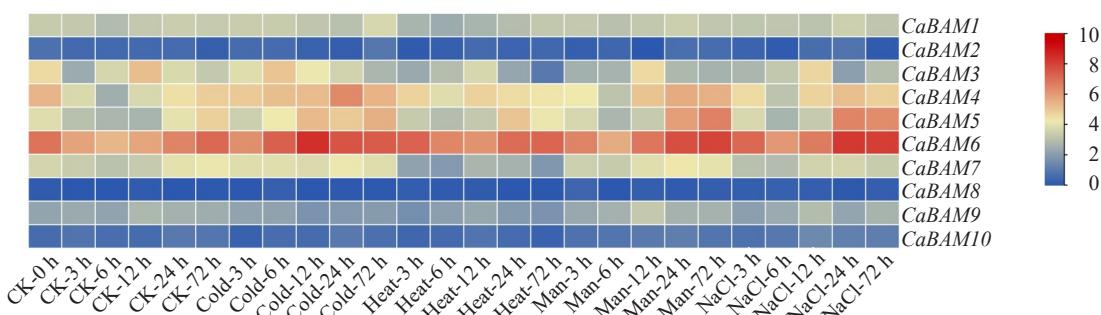
Note: Bud is closed flower bud, and flower is the fully blooming flower; F-Dev1 is the pepper fruit with a length of 0-1 cm, F-Dev2 is fruit with a length of 1-3 cm, F-Dev3 is the pepper fruit with a length of 3-4 cm, F-Dev4 is the pepper fruit with a length of 4-5 cm, F-Dev5 is mature green fruit, F-Dev6 is the breaker stage fruit, F-Dev7 is fruit 3 days after breaker, F-Dev8 is fruit 5 days after breaker, and F-Dev9 is fruit 7 days after breaker.

低温胁迫、热胁迫、干旱胁迫、NaCl 处理下辣椒叶片中 *CaBAM* 的表达也存在差异(图 8)。不同非生物胁迫处理下, *CaBAM2*、*CaBAM8* 和 *CaBAM10* 几乎不表达,这可能与这 3 个基因在叶片中的表达量较低有关; *CaBAM1* 和 *CaBAM9* 在不同非生物胁迫下与对照的表达差异不明显。*CaBAM3* 在低温胁迫下表达量升高,在热胁迫、干旱胁迫和盐处理下表达量降低; *CaBAM7* 在低温胁迫和干旱胁迫下表达量升高,在热胁迫和盐处理下表达量降低;在非生物胁迫下, *CaBAM4*、*CaBAM5* 和

*CaBAM6* 的表达量升高,其中 *CaBAM6* 的表达显著受非生物诱导。

## 2.7 辣椒 *CaBAM* 基因在不同组织及低温胁迫下的 qRT-PCR 表达分析

利用 qRT-PCR 方法对 *CaBAM* 基因家族在辣椒不同组织及低温胁迫下叶片中的相对表达量进行检测(图 9、图 10)。*CaBAM1* 在茎和花中的相对表达量显著高于其他组织, *CaBAM2* 在花中相对表达量显著高于其他组织, *CaBAM3*、*CaBAM4* 和 *CaBAM5* 在红熟果时期具有较高的相对表达量, 显

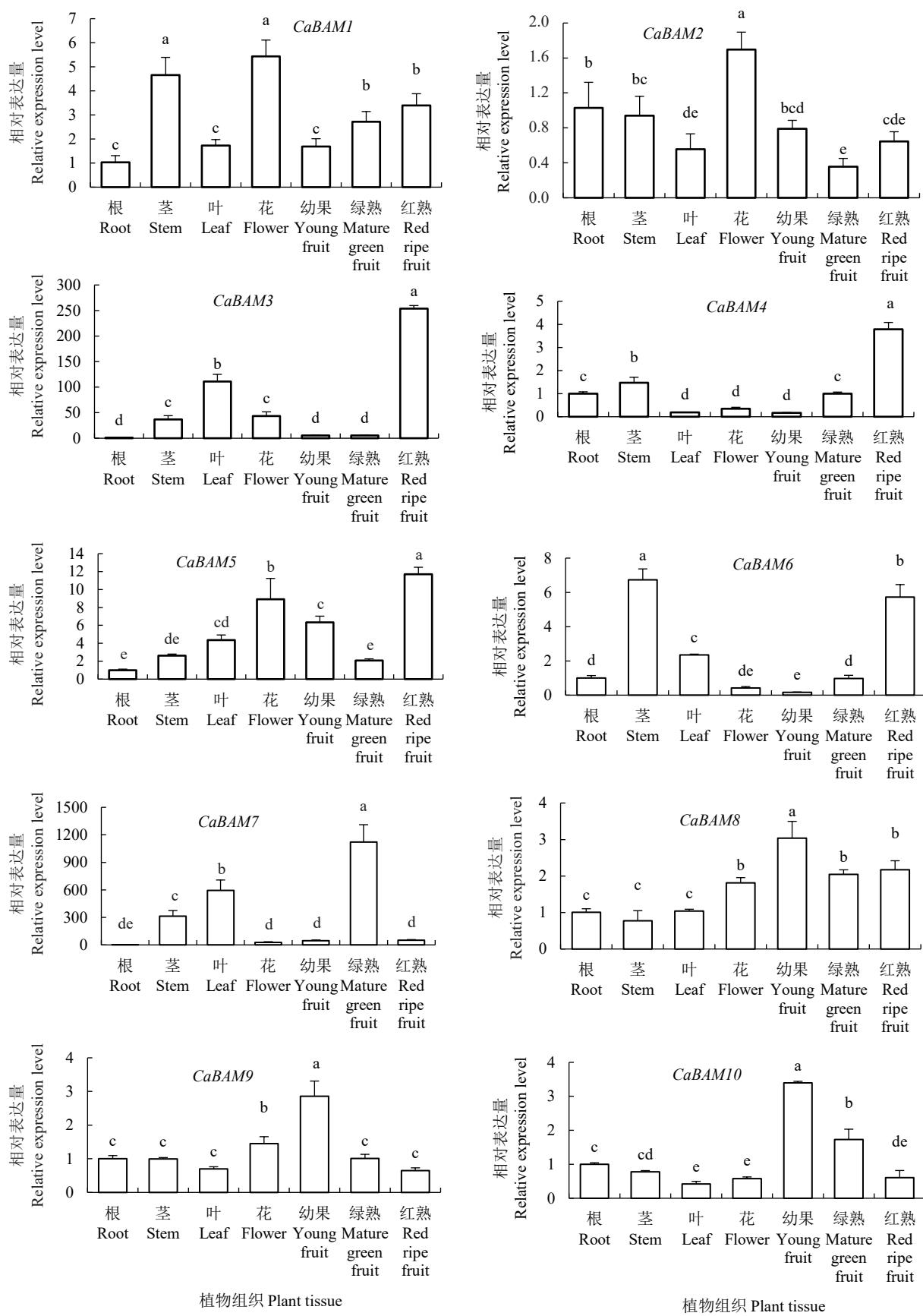


注:CK 为对照,Cold 为低温处理,Heat 为热胁迫处理,Man 为甘露醇干旱处理,NaCl 为盐胁迫处理,在处理 0、3、6、12、24、72 h 取叶片样品。

Note: CK represents the control group; Cold indicates low-temperature treatment; Heat indicates heat stress treatment; Man indicates mannitol-induced drought treatment, and NaCl indicates salt stress treatment. Leaf samples were collected at 0, 3, 6, 12, 24, and 72 h.

图 8 辣椒叶片 *CaBAM* 在非生物胁迫下的表达

Fig. 8 Expression of *CaBAM* in leaf of pepper under abiotic stress



注: 不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。下同。

Note: Different small letters indicate significant difference at 0.05 level. The same below.

图 9 CaBAM 基因不同组织表达模式的 qRT-PCR 分析

Fig. 9 qRT-PCR analysis of different tissue expression patterns of CaBAM genes

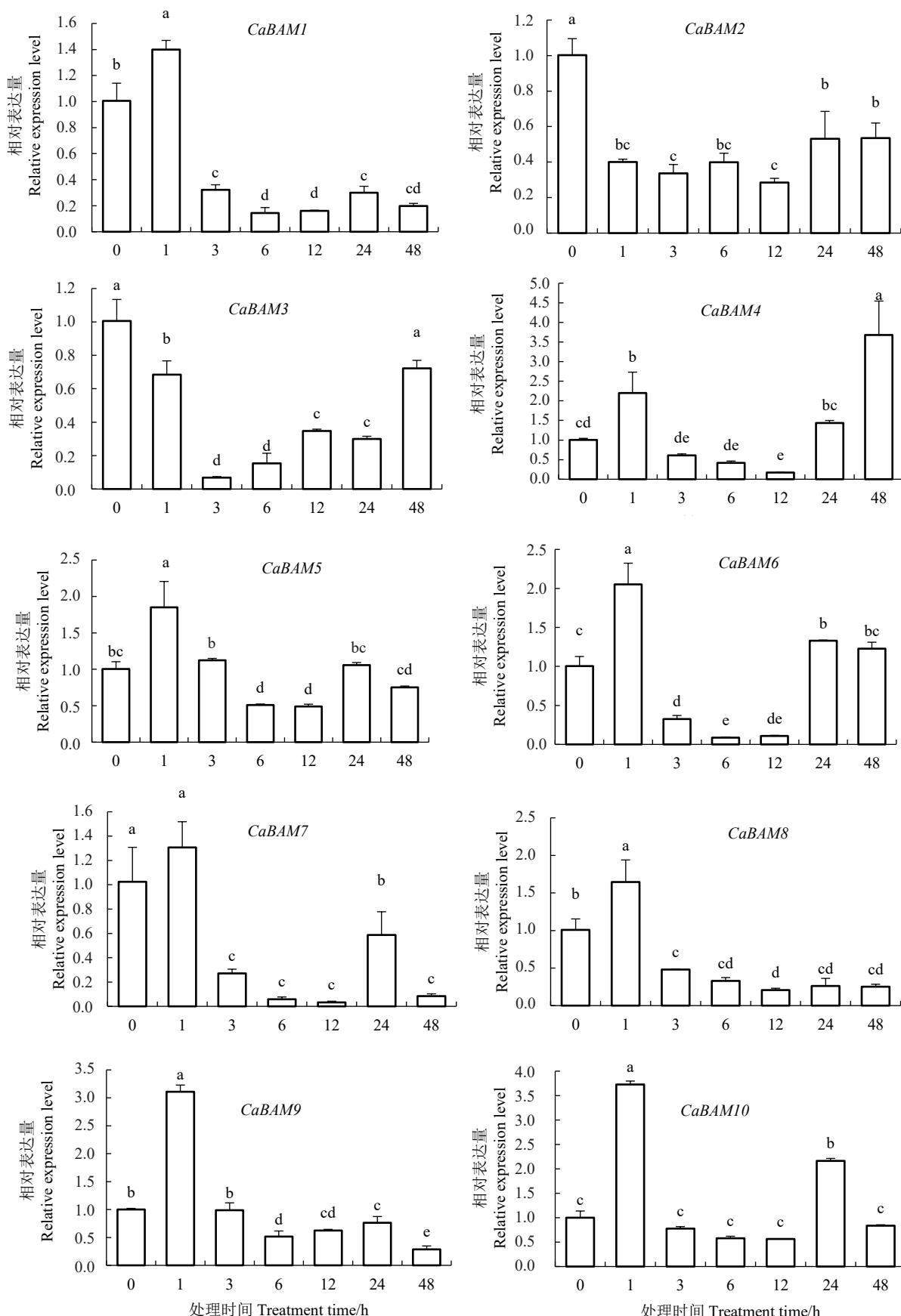


图 10 *CaBAM* 基因低温胁迫下的表达模式  
Fig. 10 Expression pattern of *CaBAM* genes under low temperature stress

著高于其他组织; *CaBAM6* 在茎中的相对表达量最高, 其次为红熟果期, 均显著高于其他组织; *CaBAM7* 在绿熟果时期的相对表达量显著高于叶, 在叶中的相对表达量显著高于茎; *CaBAM8*、*CaBAM9* 和 *CaBAM10* 在幼果时期具有较高的表达量, 均显著高于其他组织。

在低温胁迫处理下, *CaBAM1*、*CaBAM5*、*CaBAM6*、*CaBAM7*、*CaBAM8*、*CaBAM9* 和 *CaBAM10* 的相对表达趋势一致, 除 *CaBAM7* 外, 其他基因处理 1 h 时相对表达量显著上升, 随后相对表达量下降, 在处理 24 h 时相对表达量开始逐渐上升, 48 h 时相对表达量又开始下降。*CaBAM2* 低温胁迫处理 1 h 的表达量显著下降, 在处理 12 h 时的表达量最低, 然后又显著升高。*CaBAM3* 在低温胁迫处理 1 h 时表达量显著下降, 在处理 3 h 时表达量最低, 随后表达量开始上升, 24 h 时相对表达量略有下降, 48 h 时相对表达量显著上升。*CaBAM4* 在低温胁迫处理 1 h 时的相对表达量显著上升, 随后开始下降, 在处理 12 h 时相对表达量最低, 24 h 时相对表达量显著上升。

### 3 讨论与结论

在植物中,许多物种的 BAM 家族成员已被分析和鉴定,如拟南芥、水稻、香蕉、猕猴桃等<sup>[11,15,35-36]</sup>,这些 BAM 基因参与调节淀粉降解、植物生长发育和非生物胁迫反应<sup>[37]</sup>,拟南芥中 *AtBMY7* 能够响应热激<sup>[38]</sup>,杜梨 (*Pyrus betulaefolia*) 中 *PbrBAM3* 受冷应激诱导表达<sup>[39]</sup>,猕猴桃中 *AdBAM9* 与果实中葡萄糖含量变化密切相关<sup>[36]</sup>。然而关于辣椒 *CaBAM* 基因家族在生长发育、胁迫反应等方面的研究鲜有报道。

笔者利用辣椒基因组数据,共鉴定到 10 个 *CaBAM* 基因家族成员,不均匀分布在辣椒 5 条染色体上。根据与拟南芥、番茄等作物的同源性进行系统发育树分析,共划分为 6 个组,与前人的分类结果存在差异,如拟南芥 *AtBAM*<sup>[15]</sup> 和禾本科作物 *BAM*<sup>[11]</sup> 划分为 2 个亚组、番茄 *SIBAM* 划分为 6 个亚组<sup>[12]</sup>,可能是由于 *BAM* 基因家族的功能多样性。序列中功能结构域的保守性和保守基序的组成是基因家族的重要特征<sup>[40]</sup>,已知 *BAM* 蛋白中的活性位点残基 Glu186 和 Glu380 严格保守<sup>[41]</sup>。笔者在本研究中对 *CaBAM* 家族蛋白序列的分析也表明, Glu-186 和 Glu-380 高度保守,且保守性高于 Flexible loop 和 Inner loop。辣椒 *BAM* 家族绝大多数成

员包含全部 10 个 motif,但部分成员缺少部分保守基序,如 *CaBAM8* 缺少 motif 3/4/10,与甜瓜、甘薯类似,也可能是功能的多样性或丧失<sup>[40,42]</sup>。

启动子区的顺式调控元件作为分子开关在转录起始过程中起着至关重要的作用<sup>[43]</sup>,笔者对辣椒 *CaBAM* 的启动子区顺式调控元件进行分析以探究其功能。结果显示,该基因家族启动子区存在多个与植物激素响应元件、防御和胁迫响应元件以及生长发育相关响应元件,暗示 *CaBAM* 基因家族可能通过启动子响应非生物胁迫,参与对环境变化的响应和生长发育等。利用辣椒公共转录组数据对辣椒不同组织和非生物胁迫下 *CaBAM* 基因家族的表达进行分析,发现 *CaBAM3*、*CaBAM4*、*CaBAM5*、*CaBAM6* 和 *CaBAM7* 响应低温、高温等非生物胁迫,*CaBAM4* 和 *CaBAM6* 在根、茎、叶、花蕾、花及果实发育过程中均具有较高的表达量,*CaBAM3* 在茎、叶及果实发育初期表达量较高,显示辣椒中的 *BAM* 基因也参与非生物胁迫反应和果实发育。笔者进一步对该基因家族进行 qRT-PCR 验证,*CaBAM4*、*CaBAM5*、*CaBAM6*、*CaBAM7* 的相对表达量在低温胁迫初期呈显著上升趋势,表现出对低温的响应,这些基因的启动子区具有较多的 ABRE、G-box 等与非生物胁迫相关的元件,推测可能与辣椒非生物胁迫相关,但相关基因功能还有待进一步的分子生物学试验研究和验证。

综上所述,笔者对辣椒 *CaBAM* 基因家族进行了全基因组鉴定,共鉴定出 10 个家族成员,并利用生物信息手段分析该家族成员的蛋白理化性质、基因结构、染色体的物理分布;通过构建系统发育树和物种间共线性分析,初步明确了辣椒 *CaBAM* 家族与番茄、拟南芥等物种间 *BAM* 基因的亲缘关系。通过不同组织数字表达谱、非生物胁迫数字表达谱及 qRT-PCR 方法检测了辣椒叶片中 *CaBAM* 的相对表达量,显示 *CaBAM4*、*CaBAM5* 和 *CaBAM6* 在发育和非生物胁迫处理下均具有较高的表达量,暗示其可能在辣椒生长发育及逆境胁迫中发挥作用。本研究结果为深入研究辣椒 *CaBAM* 家族基因功能及其作用机制提供了理论依据。

### 参考文献

- [1] ZHANG D P, WANG Y Z. Beta-amylase in developing apple fruits: Activities, amounts and subcellular localization[J]. Science in China Series C, Life sciences, 2002, 45(4):429-440.
- [2] KAPLAN F, GUY C L.  $\beta$ -amylase induction and the protective role of maltose during temperature shock[J]. Plant Physiology, 2004, 135(3):1674-1684.

[3] WATKINSON J I, HENDRICKS L, SIOSON A A, et al. Tuber development phenotypes in adapted and acclimated, drought-stressed *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* have distinct expression profiles of genes associated with carbon metabolism[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2008, 46(1):34-45.

[4] YANG J, ZHANG J, WANG Z, et al. Activities of starch hydrolytic enzymes and sucrose-phosphate synthase in the stems of rice subjected to water stress during grain filling[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2001, 52(364):2169-2179.

[5] CHEN H J, CHEN J Y, WANG S J. Molecular regulation of starch accumulation in rice seedling leaves in response to salt stress[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2008, 30:135-142.

[6] SCARPECI T E, VALLE E M. Rearrangement of carbon metabolism in *Arabidopsis thaliana* subjected to oxidative stress condition: An emergency survival strategy[J]. *Plant Growth Regulation*, 2008, 54(2):133-142.

[7] ZEEMAN S C, DELATTE T, MESSERLI G, et al. Starch breakdown: Recent discoveries suggest distinct pathways and novel mechanisms[J]. *Functional Plant Biology*, 2007, 34(6):465-473.

[8] SCHEIDIG A, FRÖHLICH A, SCHULZE S, et al. Downregulation of a chloroplast-targeted  $\beta$ -amylase leads to a starch-excess phenotype in leaves[J]. *The Plant Journal*, 2002, 30(5):581-591.

[9] ŠTORCHOVÁ H, DRABEŠOVÁ J, CHÁB D, et al. The introns in *FLOWERING LOCUS T-LIKE (FTL)* genes are useful markers for tracking paternity in tetraploid *Chenopodium quinoa* Willd[J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2015, 62(6):913-925.

[10] TOTSUKA A, NONG H V, KADOKAWA H, et al. Residues essential for catalytic activity of soybean  $\beta$ -amylase[J]. *European Journal of Biochemistry*, 1994, 221(2):649-654.

[11] 杨泽峰, 徐暑晖, 王一凡, 等. 禾本科植物  $\beta$ -淀粉酶基因家族分子进化及响应非生物胁迫的表达模式分析[J]. 科技导报, 2014, 32(31):29-36.

[12] 李贤国, 陈兆龙, 王泽鹏, 等. 番茄  $\beta$ -BAM 基因家族全基因组鉴定及其盐胁迫和外源植物生长调节剂下的表达分析[J]. 农业生物技术学报, 2024, 32(5):1008-1019.

[13] SUN F, DING L, FENG W, et al. Maize transcription factor ZmBES1/BZR1-5 positively regulates kernel size[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2021, 72(5):1714-1726.

[14] VALERIO C, COSTA A, MARRI L, et al. Thioredoxin-regulated beta-amylase (BAM1) triggers diurnal starch degradation in guard cells, and in mesophyll cells under osmotic stress[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(2):545-555.

[15] MONROE J D, STORM A R. Review: The *Arabidopsis*  $\beta$ -amylase (BAM) gene family: Diversity of form and function[J]. *Plant Science*, 2018, 276:163-170.

[16] VINJE M A, WILLIS D K, DUKE S H, et al. Differential expression of two  $\beta$ -amylase genes (*Bmy1* and *Bmy2*) in developing and mature barley grain[J]. *Planta*, 2011, 233(5):1001-1010.

[17] KAPLAN F, GUY C L. RNA interference of *Arabidopsis* beta-amylase 8 prevents maltose accumulation upon cold shock and increases sensitivity of PSII photochemical efficiency to freezing stress[J]. *The Plant Journal*, 2005, 44(5):730-743.

[18] LI J, FRANCISCO P, ZHOU W X, et al. Catalytically-inactive  $\beta$ -amylase BAM4 required for starch breakdown in *Arabidopsis* leaves is a starch-binding-protein[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2009, 489(1):92-98.

[19] FRANCISCO P, LI J, SMITH S M. The gene encoding the catalytically inactive  $\beta$ -amylase BAM4 involved in starch breakdown in *Arabidopsis* leaves is expressed preferentially in vascular tissues in source and sink organs[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2010, 167(11):890-895.

[20] DAVID L C, LEE S K, BRUDERER E, et al. BETA-AMYLASE9 is a plastidial nonenzymatic regulator of leaf starch degradation[J]. *Plant Physiology*, 2021, 188(1):191-207.

[21] LIN T P, SPILATRO S R, PREISS J. Subcellular localization and characterization of amylases in *Arabidopsis* leaf[J]. *Plant Physiology*, 1988, 86(1):251-259.

[22] FULTON D C, STETTLER M, METTLER T, et al. Beta-AMYLASE4, a noncatalytic protein required for starch breakdown, acts upstream of three active beta-amylases in *Arabidopsis* chloroplasts[J]. *The Plant Cell*, 2008, 20(4):1040-1058.

[23] MONROE J D, STORM A R, BADLEY E M, et al.  $\beta$ -amylase1 and  $\beta$ -amylase3 are plastidic starch hydrolases in *Arabidopsis* that seem to be adapted for different thermal, pH, and stress conditions[J]. *Plant Physiology*, 2014, 166(4):1748-1763.

[24] REINHOLD H, SOYK S, ŠIMKOVÁ K, et al.  $\beta$ -amylase-like proteins function as transcription factors in *Arabidopsis*, controlling shoot growth and development[J]. *The Plant Cell*, 2011, 23(4):1391-1403.

[25] ZHANG H L, HOU J, LIU J, et al. The roles of starch metabolic pathways in the cold-induced sweetening process in potatoes[J]. *Starch-starke*, 2017, 69(1/2):1600194.

[26] ZHANG H L, LIU J, HOU J, et al. The potato amylase inhibitor gene *SbAI* regulates cold-induced sweetening in potato tubers by modulating amylase activity[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2014, 12(7):984-993.

[27] BAGNARESI P, MOSCHELLA A, BERETTA O, et al. Heterologous microarray experiments allow the identification of the early events associated with potato tuber cold sweetening[J]. *BMC Genomics*, 2008, 9(1):176.

[28] HOU J, LIU T F, REID S, et al. Silencing of  $\alpha$ -amylase *StAmy23* in potato tuber leads to delayed sprouting[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2019, 139:411-418.

[29] 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.

[30] CHEN C J, WU Y, LI J W, et al. TBtools-II: A "one for all, all for one" bioinformatics platform for biological big-data mining[J]. *Molecular Plant*, 2023, 16(11):1733-1742.

[31] QIN C, YU C S, SHEN Y, 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.

[32] KANG W H, SIM Y M, KOO N, et al. Transcriptome profiling of abiotic responses to heat, cold, salt, and osmotic stress of *Capsicum annuum* L. [J]. *Scientific Data*, 2020, 7(1):17.

[33] WAN H J, YUAN W, RUAN M Y, et al. Identification of reference genes for reverse transcription quantitative real-time PCR normalization in pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2011, 416 (1/2):24-30.

[34] YU C, LI N, YIN Y, et al. Genome-wide identification and function characterization of GATA transcription factors during development and in response to abiotic stresses and hormone treatments in pepper[J]. *Journal of Applied Genetics*, 2021, 62(2): 265-280.

[35] MIAO H X, SUN P G, MIAO Y L, et al. Genome-wide identification and expression analysis of the  $\beta$ -amylase genes strongly associated with fruit development, ripening, and abiotic stress response in two banana cultivars[J]. *Frontiers of Agricultural Science and Engineering*, 2016, 3(4):346-356.

[36] NARDOZZA S, BOLDINGH H L, OSORIO S, et al. Metabolic analysis of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) berries from extreme genotypes reveals hallmarks for fruit starch metabolism[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2013, 64(16):5049-5063.

[37] NAG M, LAHIRI D, GARAI S, et al. Regulation of  $\beta$ -amylase synthesis: A brief overview[J]. *Molecular Biology Reports*, 2021, 48(9):6503-6511.

[38] SPARLA F, COSTA A, LO S F, et al. Redox regulation of a novel plastid-targeted  $\beta$ -amylase of *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2006, 141(3):840-850.

[39] ZHAO L Y, YANG T Y, XING C H, et al. The  $\beta$ -amylase PbrBAM3 from pear (*Pyrus betulaefolia*) regulates soluble sugar accumulation and ROS homeostasis in response to cold stress[J]. *Plant Science*, 2019, 287:110184.

[40] 黄小芳, 毕楚韵, 黄伟群, 等. 甘薯  $\beta$ -淀粉酶家族基因的全基因组鉴定和表达分析[J]. 华南农业大学学报, 2021, 42(5):50-59.

[41] KANG Y N, ADACHI M, UTSUMI S, et al. The roles of glu186 and glu380 in the catalytic reaction of soybean  $\beta$ -amylase[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2004, 339(5):1129-1140.

[42] 韩江涛, 张帅博, 秦雅蕊, 等. 甜瓜  $\beta$ -淀粉酶基因家族的鉴定及对非生物胁迫的响应[J]. 生物技术通报, 2025, 41(3):171-180.

[43] 杨亚明, 丁毓端, 陈丽娟, 等. 苹果液泡铁离子转运蛋白基因家族的鉴定与表达分析[J]. 园艺学报, 2021, 48(2):205-218.