**不同木薯品种（系）类胡萝卜素代谢通路相关基因和蛋白表达水平变化分析**

**邓昌哲1, 2 姚慧1,3 安飞飞1 李开绵1 陈松笔1[[1]](#footnote-1)\***

（1中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所/农业部木薯种质资源保护与利用重点实验室，海南儋州 571737; 2海南大学农学院, 海南海口 570228;）

摘 要:【目的】探究不同木薯品种（系）的在膨大期和成熟期类胡萝卜素代谢通路相关基因和酶表达水平的变化。【方法】用HPLC检测块根β-胡萝卜素含量的变化，用qRT-PCR的方法对类胡萝卜素代谢通路相关基因进行定量分析，用Western blot对类胡萝卜素相关酶表达水平进行分析。【结果】SC9和紫叶黄心木薯成熟期类胡萝卜素合成相关的PSY2和LYCB基因的显著上调及降解相关的NCED3和CCD1的显著下调表达是其类胡萝卜积累的原因之一。粉红木薯PSY2和LYCB的显著下调是造成β-类胡萝卜素含量降低的原因之一。分子伴侣HSP70在成熟期下调表达与PDS基因具有一致性。活性氧相关酶GR和APX伴随质体的发育呈现上调表达。【结论】木薯中类胡萝卜素合成途径的关键基因PSY2和LCYB及降解途径的NCED3和CCD1调控块根类胡萝卜素的积累，谷胱甘肽还原酶（GR）和抗坏血酸过氧化物酶（APX）参与了块根有色体发育。

关键词：木薯；类胡萝卜素；类胡萝卜素相关基因；活性氧相关酶

**Analysis the different cassava varieties(lines) carotenoid pathways related genes and protein expression**

Deng changzhe1,2 ，Yao Hui1,3，An Feifei1，Li Kaimian1，Chen Songbi\*

(*Hainan University, Haikou*, 570228; *Tropical Crops Genetic resources Institute，Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences /Key Laboratory of Ministry of Agriculture for Germplasm resources Conservation and Utilization of Cassava，Hainan Danzhou* 571737)

Abstract [Objective] Explore the varieties of cassava carotenoid genes and enzymes in different growth period. [Method] HPLC was used to detect the carotenoid of cassava root variation. qRT-PCR was applied analyze the changes of the gene expression regarding β-carotene biosynthetic pathway, Western blot was analyzed the carotenoid enzymes change. [Result]In mature period, the SC9 and BGM019 carotenoid synthesis genes PSY and LYCB up-regulated and carotenoid degradation genes CCD1 and NCED3 down-regulated that was the one reason which made the carotenoid accumulation. Mirasol carotenoid synthesis gene LYCB extreme down-regulated was one of the carotenoid content decline. Chaperone protein HSP70 at mature period down-regulated consistent with PDS gene. ROS related enzymes ascorbate peroxidase and glutathione reductase expression of maturity was higher than expansion period. [Conclusion] Changes in carotenoid content in different varieties of cassava by both the synthesis and degradation related gene, while the active oxygen related enzymes GR and APX change is also accompanied by changes in carotenoid content.

Key words: cassava; carotenoid; Carotenoid related genes; ROS related enzymes

木薯（*Manihot esculenta* Crantz）为大戟科木薯属植物，不仅具有高光效和高淀粉积累特性，而且耐贫瘠和干旱，对环境适应能力强。木薯与马铃薯和红薯并列世界三大薯类作物，是世界热区近8亿人的主粮[1-3]。然而普通栽培木薯品种类胡萝卜素含量较低，长期食用会引起视力下降，夜盲症、干眼病等症状。因此，选育高类胡萝卜素含量木薯品种，成为育种学家关注的焦点。

前人研究表明，类胡萝卜素合成的直接前体为牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸(GGPP)，来源于质体中2–C–甲基–D–赤藓醇–4–磷酸(MEP)途径合成的异戊烯二磷酸(IPP)。1–脱氧–D–木酮糖–5–磷酸还原异构酶 (DXS)是MEP途径第一个催化酶，最开始由拟南芥*cla-1*突变体分离获得，该突变体最显著特征是不能积累类胡萝卜素和叶绿素而表现白化特征【4】。而1–脱氧–D–木酮糖–5–磷酸合成酶（DXR）是MEP第二步催化酶，DXR的特异抑制剂处理番茄可以完全抑制幼苗发育但对果实成熟没有影响【5】。转基因实验表明，超表达DXS和DXR能够提高拟南芥种子类胡萝卜素含量12%，而干涉DXS将降低13%的类胡萝卜素。

八氢番茄红素合成酶（PSY）催化GGPP形成无色的八氢番茄红素，是类胡萝卜素合成途径关键限速酶【6】。木薯中存在3个*PSY*基因，其中*PSY1*和*PSY2*在组织中有表达，而*PSY3*几乎不表达【7】。而八氢番茄红素的脱氢反应是由去饱和酶（PDS）和ζ-胡萝卜素去饱和酶（ZDS）作用形成。它们参与线状类胡萝卜素的合成，同时也是类胡萝卜素合成中重要的限速酶【8】。番茄红素环化是类胡萝卜素代谢中一个主要的分支点，植物中存在两条支流（LYCB和LYCE）控制着番茄红素向下转化，使类胡萝卜素合成途径中出现β和ε两分支。在β分支中，番茄红素分子的两端被LYCB环化形成β-胡萝卜素；在ε路径中，番茄红素经LYCB和LYCE环化后形成α-胡萝卜素。通过氨基酸序列比对推测，LYCB和LYCE可能有共同的起源[9]。在非血红素铁加氧酶类羟化酶（HYD）的作用下，环化后的类胡萝卜素形成β，β类胡萝卜素。而该酶定位在质体膜及类囊体膜上[10]。在β路径中，经羟化反应后β-类胡萝卜素形成玉米黄素，并在环氧酶（ZEP）的作用下生成紫黄质。

在植物中，有两条主要的类胡萝卜素的裂解途径，分别为类胡萝卜素双加氧酶(CCDs)和9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶(NCEDs)共同作用完成。拟南芥*CCD1*缺陷型突变体种子的类胡萝卜素含量增加，说明CCD1可以催化类胡萝卜素的裂解作用 [11]。NCED催化紫黄质或新黄质裂解形成ABA的前体C15黄素质，是调控类胡萝卜素向ABA转化的限速酶【12】。

在烟草蜜腺细胞中的有色体是由淀粉体发育而来的【13】。转化过程中最显著的变化为淀粉逐渐消失，类胡萝卜素积累结构有色体逐渐形成。有色体的发育往往受到一些关键调控因子的影响。*OR*是一个功能获得性基因，它导致花椰菜菜头出现橙色变异；研究表明*OR*可以控制非有色质体向有色体的转变【14】。分子伴侣是一系列热激蛋白，其参与蛋白质的折叠和去折叠，组装和去组装【15,16】。分子伴侣在质体的形成中至关重要，其中HSP90和HSP70在细胞质中含量最丰富，并招募其他前体蛋白转运到质体中，并在质体发生和转化扮演重要的作用[17]。果实成熟的一个特征就是产生活性氧。一些研究发现活性氧作为一个中心因子参与细胞中复杂的信号网络，并作为一个特殊的信号分子参与其中【18】。质体产生活性氧并作为第二信使参与一系列的级联反应，并诱导有色体特殊类胡萝卜素基因在有色体分化中的表达。活性氧稳态的维持需要细胞内的过氧化物酶。细胞内的一些酶参与了氧化还原水平的维持，例如抗坏血酸过氧化物酶、谷胱甘肽还原酶、谷胱甘肽过氧化物酶和超氧化物歧化酶，并且这些高度富集与有色体中【19，20】。



图1：植物类胡萝卜素合成途径

本研究通过分析四个不同木薯品种（系）块根在膨大期和成熟期β-类胡萝卜素含量的变化，研究类胡萝卜素合成途径相关基因及酶的表达水平变化结合为今后选育高类胡萝卜素含量木薯新品种提供科学依据。

1 材料与方法

* 1. 材料

以木薯栽培品种华南6068；华南9号；深黄木薯BGM019和粉红木薯Mirasol为研究材料。以华南6068为对照，其特点为类胡萝卜素含量低，以华南9号，紫叶黄心木薯BGM019和粉红木薯Mirasol为实验组，在植后6个月（膨大期），9个月（成熟期）挖取块根，每个品种挖取3次，用双蒸水洗净后切碎液氮冻存。材料均由中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所国家木薯种质资源圃提供。

* 1. 方法

1.2.1块根β-胡萝卜素的提取

块根类β-胡萝卜素的提取参照Lucia[21]，称取5.0g SC9块根用液氮碾磨至粉末状，转入10ml离心管，加入2ml冷丙酮涡混，再加入2ml冷冻石油醚涡混。4℃，3000rpm，离心5min后取上清液，转入10ml离心管，剩余残渣加入1ml石油醚再次涡混、离心，重复抽提3次，直到残渣变成无色，收集的样品液用氮气吹干，加入500 μl丙酮溶解后转入棕色样品瓶中。用YCM Carotenoid S-3柱、30℃柱温、流动相甲醇/叔丁基甲醚(70/30, v/v)、流速1ml/min、进样量20 μl和450nm测定波长进行HPLC分析。

1.2.2 RNA样品的提取及反转录

参照TIANGEN RNAprep Pure Plant Kit多糖多酚试剂盒说明书进行木薯块根总RNA提取。RNA反转录参照TAKARA公司PrimeScriptTM RT regant Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time)进行基因组去除及反转录。

1.2.3 块根蛋白质提取及Western Blot检测

蛋白质的提取与溶解参照Carvalho【22】等丙酮沉淀法提取块根蛋白质，后加入适量的1×SDS loading buffer（1M Tris-HCL(pH 6.8 )、0.2M DTT、4% SDS、20%甘油）溶解。采用SDS-PAGE对溶解后的蛋白样品进行电泳，电泳结束后置于转膜仪（iBlotTM Dry Blotting System）转移到醋酸纤维膜（PVDF）后进行Western Blot检测。相关方法参照Carvalho【22】等。以各个木薯品种Actin作为内参，其中APX、GR、Fe-SOD、HSP70抗体稀释倍数分别为1:1000、1:1000、1:2000和1:2000。

1.2.4 数据分析

Western Blot条带利用Image J软件进行图片数据转换，用EXCEL 2016 plus和SPSS 22.0统计软件对数据进行分析，差异显著性分析采用新复极差法 (Duncan) 和最小显著差异法 (LSD)。

表1： 类胡萝卜素合成途径相关基因实时定量PCR引物

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 基因名称 | 上游引物 | 下游引物 |
| *Actin*  *DXS*  *DXR*  *PSY1*  *PSY2*  *PDS*  *ZDS*  *HYD*  *CCD1*  *LYCE*  *LYCB*  *ZEP*  *NCED2*  *NCED3*  *OR* | TGATGAGTCTGGTCCATCCA  GACCGAGATGTAAAGCCAGA  ATATGCTTTCCCCTGCTGA  CCGACGAGACGGCCATT  GCAGCATCAAGCATATCAAAGG  CGTGAATTTAGCCGGACTTC  TGATAACATCAGTGCCCGTTGT  TGGCACGTTGGCAATGG  GGAGGTAGAGAAGAAGCAAGGAAA  GACAGAGTCGACCCAAGGAATC  CTAGTTGCTCGGCCTGGAGTA  CCTACTGTGACCGAATCAAATG  GAGGGATTGCTTGCAGATACG  TGGGATGGTTCATGCTGTCC  ACTGAGCTTGTCCGGTTCTC | CCTCCTACGACCCAATCTCA  CGCACCAGTGGACAAGATAC  GCTGCCCCAAAATCCTT  CATAGGATTAGGTAGTGGAAGCAATTTA  TGGGAAGCAAGGTTGGAAGA  GCTTTGCATGCCAATTGTTG  CCTCCGTCTTAGTGGCAAACA  TTGTACACGATGGTCTTGTTCACA  TCACCTCCACGATCGGAACT  CTTCCATACTTTCTTCCGCTTACC  CTTAATCTAGCCACCATCCTTTCC  AAAACCAGCCCGCCAAT  CAAATAAAAAACGAACCCAGAAAAA  TATCCCAGAGTGGCCATGGA  CAAAATCCAGCGGCGTTA |

1. 结果与分析
   1. 不同时期四个木薯品种（系）β-胡萝卜素含量分析

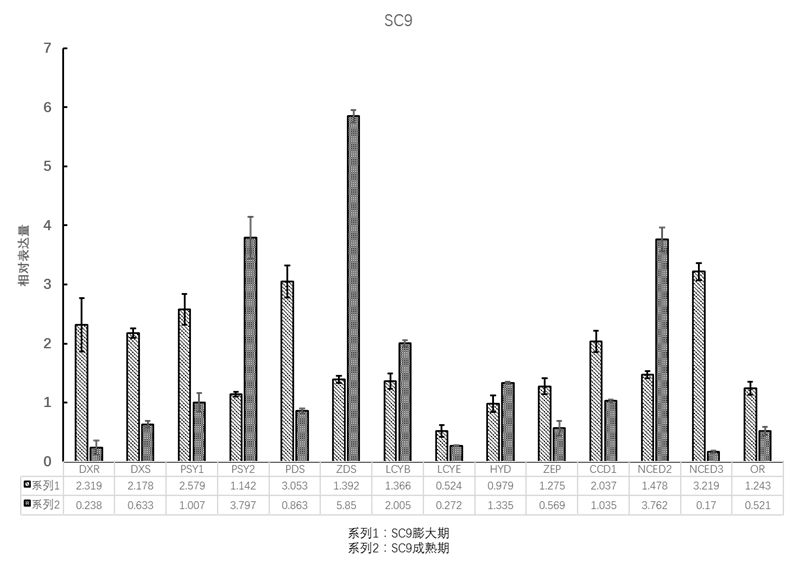
四个木薯品种（系）不同时期β-胡萝卜素含量的变化如图2所示

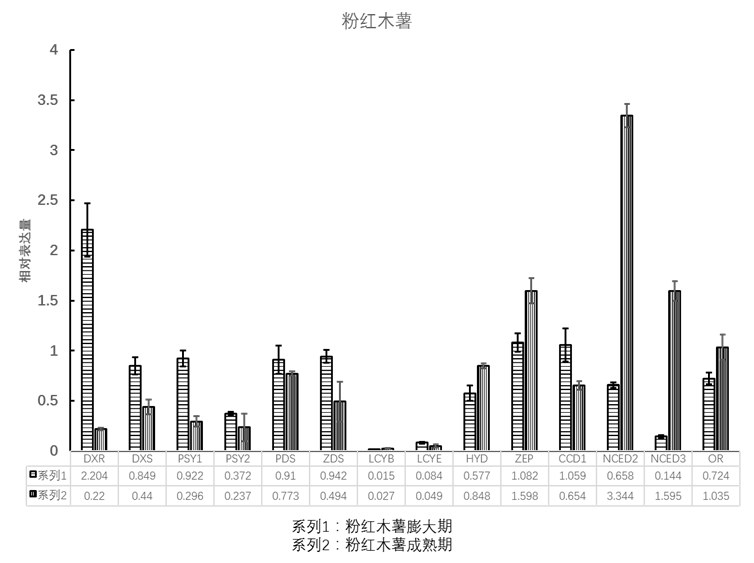
图2 四个木薯品种不同时期β-类胡萝卜素含量

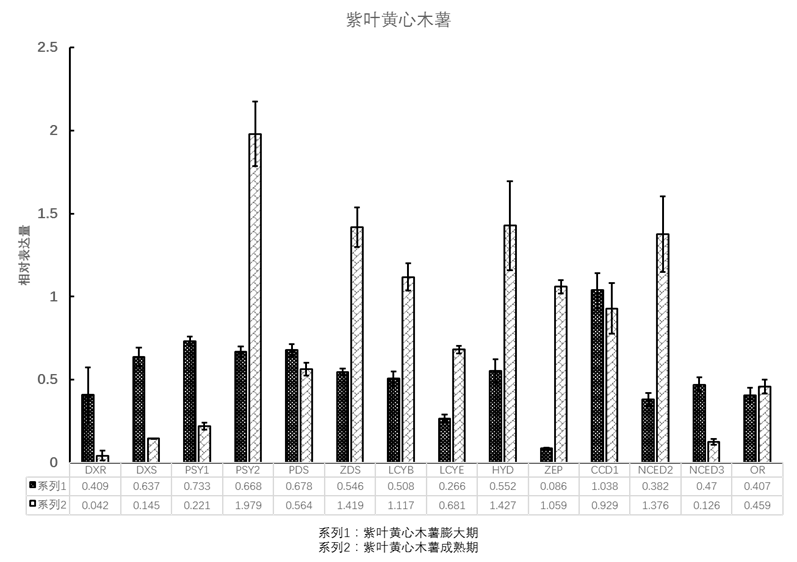
在四个木薯品种（系）膨大期、成熟期中，SC9的β-胡萝卜素含量显著高于SC6068、BGM101、粉红木薯Mirasol。在膨大期及成熟期中，β-胡萝卜素的含量从高到低依次为SC9>紫叶黄心木薯>SC6068>粉红木薯Mirasol，且膨大期SC9及紫叶黄心木薯的β-胡萝卜素含量显著低于成熟期，但成熟期SC6068的β-胡萝卜素含量显著低于膨大期，而粉红木薯β-胡萝卜素含量在成熟期和膨大期变化差异不大。

* 1. 不同时期类胡萝卜素合成及代谢途径相关基因表达分析

对四个不同木薯品种（系）膨大期和成熟期均以华南6068作为对照，类胡萝卜素合成途径相关基因的表达水平变化结果如图3所示。







DXR:1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸还原异构酶基因 DXS: 1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸合成酶基因 PSY1:八氢番茄红素合成酶1基因 PSY2: 八氢番茄红素合成酶2基因 PDS: β-胡萝卜素羟化酶基因 ZDS: ζ-胡萝卜素脱氢酶基因 LYCB: 番茄红素β-环化酶基因 LYCE: 番茄红素ε-环化酶基因 HYD: 八氢番茄红素脱氢酶基因 ZEP:玉米黄质环化酶基因 CCD1:胡萝卜素裂解双加氧酶 NCED2:9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶2基因 NCED3: 9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶3基因；OR:质体发育基因

图3 不同木薯品种（系）膨大期和成熟期类胡萝卜素代谢途径相关基因表达分析

首先，在SC9参与类胡萝卜素合成相关基因中，MEP途径的DXR、DXS在膨大期显著高于成熟期，而类胡萝卜素核心催化酶PSY1、PSY2基因与类胡萝卜素脱氢反应相关的PDS、ZDS基因在两个时期呈现不同的表达。PSY1与PDS在膨大期的表达量显著高于成熟期，而PSY2和PDS则在成熟期有高表达。控制类胡萝卜素分支的关键酶LYCE和LYCB也有着不同的表达。LYCB在成熟期的显著高表达与LYCE的低表达促使类胡萝卜素沿着β途径向下游转化，而类胡萝卜素积累的关键酶HYD也在成熟期中有高表达。而在类胡萝卜素降解相关基因CCD1、NCED3在成熟期的表达量显著低于成熟期表明SC9的类胡萝卜素得以积累。而NCED2与NCED3不同表达量提示其有不同的功能。

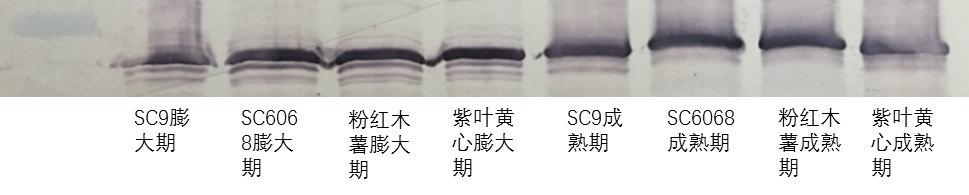
粉红木薯Mirasol在类胡萝卜素合成途径相关基因中除去HYD及ZEP在膨大期显著低于成熟期外，其他合成基因（DXR、DXS、PSY1、PSY2、PDS、ZDS）在成熟期下调表达。值得注意的是，控制番茄红素向下游转化的LYCB，LYCE基因在两个时期的表达量与对照相比呈现极显著的下调，是导致粉红木薯β-类胡萝卜素含量低于其他三个品种的原因之一。而降解途径相关基因CCD1在成熟期的表达量下调，而NCED2、NCED3上调。调控质体发育的OR基因在膨大期显著低于成熟期。

紫叶黄心木薯涉及类胡萝卜素合成相关基因的表达量与SC9相似。其中MEP途径的DXR和DXS，核心催化酶PSY1在膨大期的表达量显著高于成熟期，羟化酶PDS略有下调，但差异并不显著。而

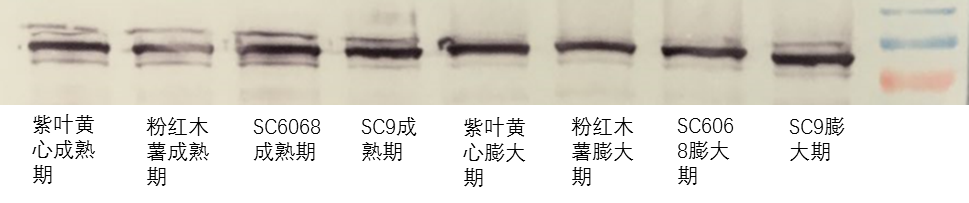
核心催化酶PSY2与脱氢酶ZDS在成熟期高表达，控制类胡萝卜素支流的LYCE和LYCB在成熟期都有高表达，表明紫叶黄心木薯的类胡萝卜素都有向α和β下游途径转化，造成β-类胡萝卜素低于SC9。而涉及降解途径的CCD1与NCED3表达量高于成熟期，而NCED2基因则显著低于成熟期。涉及质体相关发育的OR基因在两个时期内差异并不显著。

2.3不同时期类胡萝卜素途径相关酶表达分析

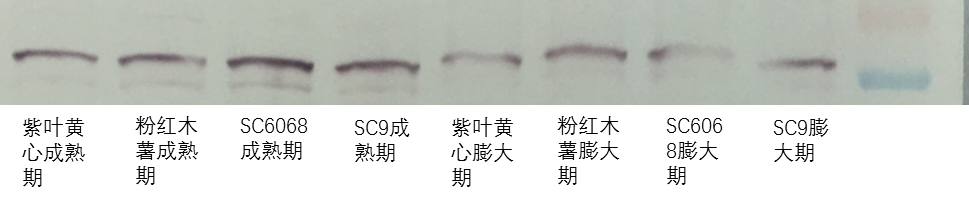
Actin不同时期表达量



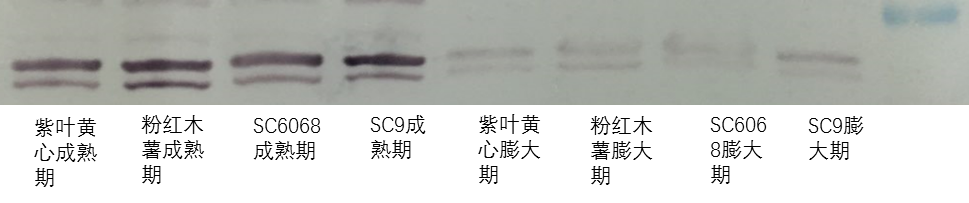
HSP70不同时期表达量



GR不同时期表达量



APX不同时期表达量



Fe-SOD不同时期表达量



图4 四个木薯品种不同生长期类胡萝卜素相关酶表达量

四个木薯品种不同生育期分子伴侣相关酶HSP70的差异并未有显著区别，但成熟期相对于膨大期有略有下调。谷胱甘肽还原酶（GR）的表达量除了粉红木薯两个时期差异并不大外，其他三个木薯品种在成熟期都显著高于膨大期，SC6068的GR表达量都显著高于三个品种。四个木薯品种抗坏血酸过氧化物酶（APX）在成熟期的表达量都显著高于膨大期，但其在膨大期和成熟期内相关差异并不显著。而超氧化物歧化酶(SOD)在SC9和SC6068的成熟期呈现上调表达，其中SC6068呈显著上调的表达；而粉红木薯在成熟期的表达量显著下调，而紫叶黄心木薯在两个时期内差异并不显著。

3.讨论

在高等植物中，番茄红素环化的步骤是类胡萝卜和合成重要的分支点，LYCB与LYCE是两个参与其中的关键酶【23】。在本研究中SC9和紫叶黄心木薯在膨大期和成熟期LYCB显著上调表达，使得类胡萝卜素的代谢途径向下游的类胡萝卜素合成，而紫叶黄心木薯LYCE上调表达也造成一部分的番茄红素向下游α-类胡萝卜素途径的转化，使得紫叶黄心木薯的β-类胡萝卜素含量低于SC9。粉红木薯两个番茄红素分支酶基因（LYCB和LYCE）在两个时期相对于对照SC6068极显著下调表达造成β-类胡萝卜素含量的降低。PSY是决定植物组织中类胡萝卜素总量的核心催化酶【24】， 在木薯中，PSY1主要参与叶片类胡萝卜素合成，而PSY2主要在块根中表达【25】，SC9和紫叶黄心木薯中PSY2在成熟期的表达量显著高于膨大期，表明这两个品种在成熟期的类胡萝卜素合成活性相当活跃。而粉红木薯Mirasol膨大期的PSY2在成熟期的表达量显著下调，表明随着生长发育的进行其类胡萝卜素合成的相关能力降低。

在类胡萝卜素降解相关基因中，与对照SC6068相比，SC9的CCD1基因在成熟期显著下调表明类胡萝卜素的积累很可能与CCD1的低转录活性有关，造成类胡萝卜素降解受到阻碍。研究表明，CCD1可以在类胡萝卜素C9-C10为切割番茄红素、胡萝卜素、玉米黄质等形成芳香类物质【26】。此外，*NCED2*和*NCED3*的在不同生育期表达趋势并不一致，NCED2在三个品种中的成熟期的表达量都要高于膨大期，而NCED3的表达趋势与NCED2相反。在木薯中，NCED2在叶片中高表达，而NCED3在块根中的表达量要高于NCED2【7】，而NCED是控制类胡萝卜素向ABA转化的限速酶。SC9和紫叶黄心木薯在成熟期NCED3基因的表达量显著低于膨大期，也是类胡萝卜素在成熟期高于膨大期的原因之一。

分子伴侣HSP70在品种间差异不显著但都随着生长发育的进行呈现下调的趋势，其表达的下调也伴随着PDS表达的下调，与HSP70在水仙花有色体中组成蛋白质复合体并调控八氢番茄红素脱氢酶（PDS）的活性【27】结果相一致。细胞内活性氧相关酶：谷胱甘肽还原酶（GR）与抗坏血酸过氧化物酶（APX）在四个品种成熟期的表达量要高于膨大期，高活性的活性氧相关酶能够保护质体相关组分免受氧化胁迫并使质体能够适应有色体发育过程中代谢变化，维持质体的稳态，与辣椒转色中有色体的合成伴随着活性氧相关酶高表达【28】结果相一致。但相同时期内品种间活性氧相关酶的表达差异并不显著，可能其只参与质体的转化但不涉及类胡萝卜素的积累。而超氧化物歧化酶（Fe-SOD）在不同品种发生的变化可能参与不同的功能。

4. 结论

本研究对四个木薯品种的膨大期和成熟期类胡萝卜素相关酶和基因的研究，类胡萝卜素合成及降解关键基因的变化是造成了不同品种间类胡萝卜素含量的变化的原因之一，而活性氧相关酶的变化也涉及到质体发育过程的变化。这些研究结果有助于了解不同品种木薯类胡萝卜素分子机制，为将来进一步提高木薯块根类胡萝卜素含量奠定基础。

参考文献

[1] 张振文，李开绵，叶剑秋，等.木薯光合作用特性研究［J］.云南大学学报自然科学版，2007，29( 6) : 628 － 632．

[2] 陈冠喜，李开绵，叶剑秋，等.6个木薯品种生长发育及产量性状的初步研究［J］.热带农业科学，2009，29( 6) : 26 － 29．

[3] Li K，Zhu W，Zeng K，Zhang Z，et al．Proteome Characterization of cassava ( Manihot esculenta Crantz) somatic embryos，plantlets and tuberous roots[J]. Proteome Science，2010, (8) : 10．

[4] Estevez, J.M, Cantero, A, Reindl，A, Reichler, S, and Leon，P. (2001).1-Deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase, a limiting enzyme for plastidic isoprenoid biosynthesis in plants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 276, 22901-22909.

[5] Rodriguez-Concepcion, M., Ahumada, L, Diez-Juez, E., Sauret-Giieto, S., Lois, L.M., Gallego, F., Carretero-Paulet, L., Campos, N., and Boronat, A. (2001).1-Deoxy-d-xylulose 5-phosphate reductoisomerase and plastid isoprenoid biosynthesis during tomato fruit ripening. The Plant Journal, 27, 213-222.

[6] Terol J, Naranjo MA, Ollitrault P, Talon M. Development of genomic resources for *Citrus clementina*: Characterization of three deep-coverage BAC libraries and analysis of 46,000 BAC end sequences. BMC Genomics, 2008, 9.

[7] Jacobo Arango, Ralf Welsch. Characterization of phytoene synthases from cassava and their involvement in abiotic stress-mediated responses. Planta, 232:1251-1262.

[8] Josse EM, Simkin AJ, Gaffe J, Laboure AM, Kuntz M, Carol P A plastid terminal oxidase associated with carotenoid desaturation during chromoplast differentiation. Plant Physiology, 2000, 123: 1427-1436.

[9] Yu Q, Schaub P, Ghisla S, Al-Babili S, Krieger-Liszkay A, Beyer P The lycopene cyclase CrtY from Pantoea ananatis (ex Erwinia uredovora) catalyzes an FADrea-dependent non-redox reaction. Journal of Biological Chemistry, 2010, 285:12109.

[10] Vallabhaneni R, Wurtzel ET. Timing and biosynthetic potential for carotenoid accumulation in genetically diverse germplasm of maize. Plant Physiology, 2009, 150: 562-572.

[11] Schwartz, S.H., Qin, X., and Zeevaart, J.A. (2001). Characterization of a novel carotenoid cleavage dioxygenase from plants. Journal of Biological Chemistry, 276, 25208-25211.

[12] Nambara, E., and Marion-Poll, A. (2005). Abscisic acid biosynthesis and catabolism. Annual Review Plant Biology, 56,165-185.

[13] Horner HT, Healy RA, Ren G, Fritz D, Klyne A, Seames C. et al. Amyloplast to

chromoplast conversion in developing ornamental tobacco floral nectaries provides sugar for nectar and antioxidants for protection. Amer. J. Bot***.*** 2007, 94: 12-24.

[14] Lu S, Van Eck J, Zhou X, Lopez AB, O'Halloran DM, Cosman KM, Conlin BJ,

Paolillo DJ, Garvin DF, Vrebalov J, Kochian LV, Kupper H, Earle ED, Cao J, Li L.

The cauliflower Or gene encodes a DnaJ cysteine-rich domain-containing protein that

mediates high levels of beta-carotene accumulation. Plant Cell, 2006, 18: 3594-3605.

[15] W. Sun, M. Van Montagu, N. Verbruggen, Small heat shock protein and stress tolerance in plants. Biochim. Biophys. Acta 1577 (2002) 1–9.

[16] W. Wang, B. Vinocur, O. Shoseyov, Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response A. Altman, Trends Plant Sci. 9 (2004) 244–252.

[17] ú. Flores-Perez, P. Jarvis, Molecular chaperone involvement in chloroplast protein import. Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res. 1833 (2013) 332–340.

[18] R. Mittler, S. Vanderauwera, N. Suzuki, G. Miller, V.B. Tognetti, K. Vandepoele, M. Gollery, V. Shulaev, B.F. Van, ROS signaling: The new wave? Trends Plant Sci. 16 (2011) 300–309.

[19] F. Bouvier, R.A. Backhaus, B. Camara, Induction and control of chromoplast-specific carotenoid genes by oxidative stress. J. Biol. Chem. 273 (1998) 30651–30659.

[20] G. Galvez-Valdivieso, P.M. Mullineaux, The role of reactive oxygen species in signalling from chloroplasts to the nucleus. Physiol. Plant.. 138 (2010) 430–439.

[21] Lucia M,Alcides R, Ronoel L, et al. Retention of total carotenoid and β-carotene in yellow sweet cassava (*Manihot esculenta Crantz*) after domestic cooking [J]. Food and Nutrition Research 2012, 56: 15788-DOI: 10.3042

[22] Camalho L J C B, Lippolis J, Chen S, et al. Characterization of carotenoid-protein complexes and gene expression analysis associated with carotenoid sequestration in pigmented cassava (Marrihot esculerrto Crantz) storage root [J] The Open Biochemistry, Journal, 2012, (6) :116-130.

[23] Cazzonelli C, Pogson B. Source to sink: regulation of carotenoid biosynthesis in plants. Trends in Plant Science, 2010, 15: 266-274.

[24] Burkhardt PK, Beyer P, Wunn J, Kloti A, Armstrong GA, Schledz M, von Lintig J, Potrykus I. Transgenic rice (*Oryza sativa*) endosperm expressing daffodil (*Narcissus pseudonarcissus*) phytoene synthase accumulates phytoene, a key intermediate of provitamin A biosynthesis. Plant Journal, 1997, 11:1071一1078.

[25] Ralf Welsch, Jacobo Arango, Cornelia Bar, Provitamin A Accumulation in Cassava (Manihot esculenta) Roots Driven by a Single Nucleotide Polymorphism in a Phytoene Synthase Gene. The plant cell, Vol.22: 3348-3356.

[26] Simkin AJ, Schwartz SH, Auldridge M, Taylor Mq Klee HJ. The tomato carotenoid cleavage dioxygenase 1 genes contribute to the formation of the flavor volatiles β-ionone, pseudoionone, and geranylacetone. Plant Journal, 2004, 40: 882-892

[27] S. Al Babili, J. Lintig, A novel, soluble form of phytoene desaturase from Narcissus pseudonarcissus chromoplasts is Hsp70-complexed and competent for flavinylation, membrane association and enzymatic activation. Plant J. 9 (1996) 601–612.

[28] I. Egea, C. Barsan, W. Bian, E. Purgatto, A. Latche, C. Chervin, M. Bouzayen, J.C. Pech, Chromoplast differentiation: current status and perspectives. Plant Cell Physiol. 51 (2010) 1601–1611.

1. \* 收稿日期

   基金项目：国家自然科学基金面上项目 (No.31271776)；海南省高层次创新创业人才基金(No.2012-2016)

   第一作者简历：硕士研究生，研究方向：植物生化与分子生物学；E-mail:dczlovefjy@icloud.com

   通讯作者：陈松笔，男，研究员，研究方向：作物遗传育种和蛋白质组学；E-mail: songbichen@catas.cn [↑](#footnote-ref-1)