

十字花科植物黄化突变特性及其分子机制研究进展

吴砚农, 郑伟尉, 陆伟杰, 臧运祥

(浙江农林大学 农业与食品科学学院 浙江省农产品品质改良技术研究重点实验室, 浙江 杭州 311300)

摘要: 十字花科 Brassicaceae 植物多数生长发育时间短, 生长过程中自然发生, 或使用物理或化学方法诱导, 常会出现一些颜色较淡或金黄的突变个体即黄化突变体。这些突变体表型直观, 表现为植株矮小, 叶绿素较低, 植株光合作用受抑制, 产量降低, 因此黄化突变常被视为有害突变。但近 20 a 来黄化突变体日益受到研究者的重视与青睐, 被用于研究植物叶绿体结构、叶绿素合成代谢等方面。本研究简要介绍了十字花科植物常见的黄化突变类型及其主要的外观特征, 综述了十字花科植物黄化突变体的叶绿体超微结构、光合色素及其光合性能, 并对十字花科植物黄化突变的遗传特性、分子机制进行了讨论, 为十字花科植物叶色突变研究及新品种选育提供理论基础。参 52

关键词: 植物学; 十字花科; 黄化突变; 叶绿素; 叶绿体; 分子机制; 综述

中图分类号: S718.3

文献标志码: A

文章编号: 2095-0756(2021)02-0412-08

Research progress on the characteristics and molecular mechanism of yellowing mutation in Brassicaceae

WU Yannong, ZHENG Weiwei, LU Weijie, ZANG Yunxiang

(The Key Laboratory for Quality Improvement of Agricultural Products of Zhejiang Province, College of Agriculture and Food Science, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China)

Abstract: During their short growth period, most Brassicaceae plants have some light-green or golden-colored mutants, named as yellow mutants, either naturally grown or induced physically or chemically. Such mutants, with intuitive phenotypes, such as shortness, low chlorophyll content and suppressed photosynthesis usually result in the reduction of yield, thus considered as harmful. In the past two decades, the phenomenon of yellowing mutation has attracted an increasing amount of attention from scholars with the research results applied in the study of plant chloroplast structure and chlorophyll metabolism. This review, with a brief introduction to the common types, phenotype characteristics, chloroplast ultrastructure, photosynthetic pigments and photosynthetic properties of yellowing mutants in Brassicaceae plants, is aimed at a discussion of the genetic characteristics and molecular mechanism of the yellowing mutation in the hope of providing a theoretical basis for the study of leaf color mutations and selection of new varieties in Brassicaceae plants. [Ch, 52 ref.]

Key words: botany; Brassicaceae; yellowing mutation; chlorophyll; chloroplast; molecular mechanism; review

十字花科 Brassicaceae 植物多为 1 年生或多年生的草本植物, 包含小白菜 *Brassica rapa* ssp. *chinensis*、甘蓝 *Brassica oleracea* var. *capitata*、油菜 *Brassica napus*、萝卜 *Raphanus sativus* 等蔬菜作物, 还有二月

收稿日期: 2020-01-16; 修回日期: 2020-07-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31572130); 浙江省自然科学基金资助项目 (LY20C150001)

作者简介: 吴砚农 (ORCID: 0000-0002-7757-2109), 从事蔬菜品质调控及分子机制研究。E-mail: 1435966317@qq.com。通信作者: 臧运祥 (ORCID: 0000-0002-3505-7539), 教授, 博士, 从事蔬菜品质调控及分子机制研究。E-mail: yxzang@zafu.edu.cn

兰 *Orychophragmus violaceus* 等观赏植物, 以及板蓝根 *Isatis tinctoria* 等药用植物等。十字花科植物中富含叶绿素, 且叶与茎中的叶绿素远高于其他色素, 因此外观上呈现绿色, 但在彩叶植物或者叶绿素缺失植物中, 由于其他色素大幅增加或叶绿素大幅减少而呈现彩色或黄色等。植物中存在着数量巨大的各类突变体, 常作为研究植物生理生化机制与基因组功能的重要材料^[1-3]。其中一类叶绿素缺失, 植株表型黄化的突变体, 称为黄化突变体^[4-5]。由于黄化性状易观察, 可以直观呈现植物体内叶绿素的多寡, 且影响植物光合作用及生长发育, 因此黄化突变体是研究叶绿素合成代谢的优良材料。本研究对十字花科植物中发现的黄化突变进行分类, 总结黄化突变体形态结构及光合色素含量的变化规律, 探求黄化形成原因与分子机制, 归纳黄化性状遗传模式, 为十字花科植物的叶绿素代谢及叶绿体发育等研究提供参考。

1 黄化突变类型及其外观特征

1.1 黄化突变类型

1.1.1 叶绿素缺失黄化突变 十字花科植物中已发现多个叶绿素缺失导致的黄化突变体。小白菜自交系‘564’和品种‘寒青’‘Hanqing’、‘华冠’‘Huaguan’中均发现黄化突变体^[6-8]。杨冲等^[9]从意大利引进的甘蓝杂交种 Hosom 自交分离后代中发现叶色黄化、植株矮小的突变体 YL-1。杜江涛^[10]和侯爱琳^[11]对大白菜 *Brassica rapa* ssp. *pekinensis* DH 系‘FT’进行甲基磺酸乙酯(EMS)诱变, 分别获得了稳定的黄化突变体 *lcm2*、*lcm3*。通过自发突变、EMS 诱变、氮离子束处理等方式, 甘蓝型油菜中也获得了多个黄化突变体, 如 *ny*、*bnac.ygl* 等^[12-15]。杨胜洪等^[16]发现: 抽薹期的油菜黄化突变体叶片的叶绿素含量和叶绿素与蛋白质比值只有野生型的一半。此外, FRICK 等^[17]发现: 拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 的 *porB-1porC-1* 双突变体在子叶期只含有少量的叶绿素 a, 形成了一个幼苗致死的黄色表型。

通过转基因技术也可获得黄化突变体。BANG 等^[18]研究发现: 拟南芥 *CHL27-T* 敲除突变体生长迟缓, 并且伴随着由叶绿体光系统 II 的反应中心损坏引起的发育缺陷。PRIVAT 等^[19]发现: 反义表达质体 *SIG2* 转录因子的拟南芥植物表现出叶绿素缺失的表征, 并且只表现在子叶中。KUMAR 等^[20]通过反义表达 *HEMA* 基因, 获得了表现出不同程度叶绿素缺失性状的拟南芥转基因植株, 如叶片斑块状黄化和全株黄化。以上研究表明: 黄化突变表现为植株全株黄化或部分黄化, 且黄化性状可稳定遗传。

1.1.2 叶绿素缺失白化突变 叶绿素是植物生长必不可少的光合色素, 如果叶绿素缺失突变导致叶绿素完全不可合成, 或叶绿素含量无法保证植株最低程度的光合作用, 植株表现出白化, 则易发生致死性突变。KOBAYASHI 等^[21]报道了 1 种类囊体膜脂质单氨基半乳糖二酰甘油(MGDG)合成酶 1 完全缺陷的拟南芥突变体, 只在蔗糖存在的情况下才能萌发为细小的白化植株, 且幼苗缺乏半乳糖, 光合膜被破坏, 光合能力受损严重。拟南芥白化突变体 *chl1* 的真叶有白色坏死斑点, 叶片发育畸形且不对称, 叶边缘缺刻严重, 生长缓慢, 植株矮小, 结实率低^[22]。白化突变植株与黄化突变植株相比, 叶绿素缺失更为严重, 植株生长受到的影响也更大, 甚至导致植株无法存活。

1.1.3 黄化复绿突变 在目前发现的黄化突变体中, 部分黄化突变体在生长过程中黄化性状减弱, 植株随时间延长逐渐复绿。郭士伟等^[7]发现小白菜黄化突变体在 6 叶龄前子叶和真叶均呈淡黄色, 在 6 叶龄后又逐渐复绿, 且不受环境影响。甘蓝型油菜黄化突变体 *ny* 在苗期前期叶片黄化明显, 其后叶色缓慢转变, 中后期及衰老期叶片复绿^[23]。黄化突变体复绿原因现在还未完全探明, 需要进一步深入研究。

1.2 黄化突变体表型

多数黄化突变体表现出营养生长缓慢, 生殖发育迟缓等现象。拟南芥 *CHL27* 敲除后的黄化突变体植株矮小, 叶片均匀呈浅绿色, 莲座叶弯曲, 开花较晚, 角果弯曲^[18]; *lzf1* 突变体幼苗叶绿体发育延迟^[24]。青梗菜是小白菜中一类束腰亮绿的优质品种, 其 564y 突变体播种后 5 d 出现叶色差异, 叶片黄化, 下胚轴伸长, 伴随植株细弱易倒, 大部分生长指标明显低于野生型^[6]。在甘蓝型油菜和芥菜 *Brassica juncea* 型油菜中发现的黄化突变体性状表现相似, 均出现初花期推迟, 花期较短等特点^[8, 25]。甘蓝黄化突变体 *yl-1*, 虽然仍能结球, 但单球质量只有对照的 39.0%^[9]。甘蓝型油菜黄化突变体 *Bnchd1*, 苗期叶脉间黄化, 抽薹期薹叶呈淡绿色, 整个生命周期内植株矮化, 叶绿体形态异常并伴随着叶绿素提早降解现象, 种子产量极低^[12]。这些研究表明: 黄化突变后植株的生长及发育阶段转变都受到不同程度的影响。

2 黄化突变体中叶绿体特性及光合性能

2.1 黄化突变叶绿体超微结构变化

叶绿体由被膜、类囊体和基质3部分构成,若叶绿体的类囊体受到破坏,植物的光合作用及其他生理过程都会受到不同程度的影响。多数黄化突变体具有类囊体结构变异和基粒片层数减少等特征^[26]。拟南芥 *FZL* 基因敲除突变体中类囊体形态异常,基粒堆叠杂乱,基粒和基质类囊体的相对比例发生改变^[27]。烟草 *Nicotiana tabacum* 黄化突变体中叶绿体体积变小,数目减少并缺乏大部分类囊体膜,部分叶绿体表现出双重形态^[28]。甘蓝型油菜的 *bnac.ygl* 突变体与正常植株 T6 的叶绿体形状都呈正常纺锤状,但突变体叶绿体的基粒堆叠较少,类囊体膜也明显减少^[14]。部分黄化突变体叶绿体中的嗜锲颗粒及淀粉粒含量也会发生变化。青梗菜 564y 突变体中叶绿体堆叠数明显变少,基粒片层结构难以观测,叶绿体淀粉粒数目较多^[6]。甘蓝型油菜黄化突变体中,叶绿体的数量、形状、膜结构均受影响,且类囊体缺失,叶绿体内无淀粉粒,嗜锲颗粒较多,而复绿的叶片细胞内则与正常叶片表现相近^[13],甘蓝型油菜突变体 *cr3529* 中也有类似特征^[26]。吴砚农^[29] 对小白菜黄化突变体 *BcL14y-1* 和 *BcL14y-2* 研究发现:*BcL14y-1* 黄化程度较轻,其叶绿体内类囊体堆叠数量有所减少,*BcL14y-2* 黄化程度较重,叶绿体形状不规则,除类囊体堆叠数大量减少外,基粒片层排列混乱,嗜锲颗粒聚集,有过量淀粉粒囤积。拟南芥 *arc* 突变体的每个叶肉细胞只有 2~15 个较大的叶绿体,虽然叶绿体个数减少,但作为补偿,单个质体体积增大,从而保持叶肉细胞体积恒定^[30]。OKAZAKI 等^[31] 研究发现:拟南芥过表达质体分裂蛋白(plastid division proteins, PDV)后,叶绿体数量增加但体积减小,而 PDV 表达水平降低则出现相反结果。正常绿色植物的叶绿体成纺锤状紧贴细胞壁,基粒堆叠数较多且片层结构规整,有少量淀粉粒和嗜锲颗粒分布,而黄化突变植株的叶绿体则会出现不同程度的变异,导致这些变异的原因及分子机制需要进一步深入研究。

2.2 黄化突变体内光合色素

多数表现出黄化性状的突变体中,叶绿素含量显著低于野生型,而类胡萝卜素发挥了主导作用,因此叶片呈现出黄色表型。叶绿素包括叶绿素 a 和叶绿素 b,在不同的黄化突变体中,两者质量下降幅度有所不同。陈艳丽^[14] 发现甘蓝型油菜黄化突变体 *bnac.ygl* 中,叶绿素 a 和叶绿素 b 的质量分数分别下降了 40.3% 和 57.7%,叶绿素 a/b 相较非突变品系 T6 显著提高,在其他不同的芥菜型油菜黄化突变体和甘蓝型油菜黄化突变体中也有类似表现^[9, 18, 22-23]。在青梗菜黄化突变体 *pylm* 中,叶绿素 a、叶绿素 b 质量分数分别下降了 62.0% 和 75.0%,类胡萝卜素质量分数也下降了 58.0%^[8],叶片中的血红素显著上升^[32]。大白菜黄化突变体 *lcm2* 的叶绿素 a、叶绿素 b 质量分数分别下降了 60.25% 和 70.91%^[10],而 *lcm3* 的叶绿素 a、叶绿素 b 质量分数则分别降低了 33.0% 和 53.0%^[11]。从前人研究结果可以看出:在各类黄化突变体中,叶绿素 a 和叶绿素 b 显著下降,尤其是叶绿素 b,因此,叶绿素 a 和叶绿素 b 在光系统反应中的功能差异及其机制值得进一步研究。

2.3 黄化突变体光合性能

光合作用的能力强弱与植物的生长发育及生殖阶段转变有关。在逆境条件下,叶绿素荧光参数也是衡量光合能力的重要指标^[33],黄化突变通常缺失叶绿素,意味着光合能力降低。与野生型相比,青梗菜 564y 黄化突变体净光合速率显著降低,气孔导度、蒸腾速率稍低,胞间二氧化碳摩尔分数稍高,同时各项荧光动力学参数均降低^[6]。油菜黄化突变体 *ny* 五叶期的净光合速率,心叶仅为野生型的 57.96%,平展叶也只有 69.62%,同时各项荧光参数显著低于野生型^[23]。甘蓝黄化突变体 *yl-1* 在苗期时,净光合速率显著低于野生型,而随着植株生长,突变体逐渐恢复部分光合能力,但仍差异显著^[9]。由于叶绿体结构改变及叶绿素含量降低,黄化植株的光合能力总体低于野生型植株。

3 黄化突变遗传特性及其分子机制

3.1 黄化突变遗传特性

黄化突变体的叶绿素合成或叶绿体组成受到影响,多由核基因突变造成的。黄化突变中显性突变较少。TSANG 等^[34] 构建的谷氨酸 1-半醛氨基转移酶(GSA-AT)甘蓝型油菜反义构建体(GSA),T1 代转基因

因株系中叶绿素含量减少, T2 代转基因株系的幼苗分离为深绿色、浅绿色和黄色 3 种不同的表型, 这表明 GSA 反义基因为显性遗传。

多数黄化突变为隐性突变, 包括单核隐性突变和多核隐性突变 2 种类型。甘蓝型油菜黄化突变体 *bnac.ygl* 的黄化性状由 1 对隐性核基因控制, 为单核隐性突变^[14-15]。芥菜型油菜突变体 *I638-y* 的黄化性状由 2 对隐性核基因 *GR1* 与 *GR2* 控制^[25, 35]; 甘蓝型油菜叶绿素缺失突变体 *Bnchd1* 的黄化性状由 2 个隐性基因 *BnChd1-1* 和 *BnChd1-2* 控制^[12]; 青梗菜黄化突变体 *pylm* 由 2 对隐性重叠基因 (*PY1* 和 *PY2*) 互作控制^[8]。

3.2 黄化突变分子机制

3.2.1 叶绿素合成受阻 黄化突变直接原因为叶绿素缺失, 因叶绿素合成途径受阻所致。参考吴自明等^[36]对被子植物叶绿素合成途径及反应所需酶的总结, 整理出以谷氨酸和 α -酮戊二酸为原料, 依次合成 L-谷氨酰-tRNA、谷氨酸酯-1-半醛、 δ -氨基酮戊酸、胆色素原、羟甲基胆后色素原、尿卟琳Ⅲ、粪卟啉原Ⅲ、原卟啉原Ⅸ、原卟啉Ⅸ、镁原卟啉Ⅸ、镁原卟啉Ⅸ单甲酯、二乙烯原叶绿素酸酯、原叶绿素酸酯、叶绿素酸酯, 最终合成叶绿素 a 和叶绿素 b 的途径。

这些中间产物由 20 多个基因编码的 15 种酶参与合成^[37]。甘蓝型油菜叶绿素 b 缺失突变体 *cr3529* 的叶绿素合成受阻于胆色素原合成尿卟琳Ⅲ的反应步骤^[38]。芥菜型油菜黄化突变体 *I638-y* 的黄化性状主要由叶绿素合成途径中粪卟啉原Ⅲ-原卟啉Ⅸ位点受阻引起^[39]。拟南芥镁原卟啉Ⅸ甲基转移酶 (CHLM) 敲除突变体, 由于镁原卟啉Ⅸ下游的阻断, 导致叶绿素生物合成中间物质的积累^[40]。LARKIN^[41]使用除草剂 Norflurazon 阻止叶绿体发育, 利用 *LHCB* 报告基因在叶绿体没有正常发育的情况下, 鉴定了 5 个 *LHCB* 受抑制的突变体 (*gun1~gun5*), 其中 *gun2*、*gun3*、*gun4*、*gun5* 影响质体酶合成所需的 4 种物质以及叶绿素前体物质镁原卟啉Ⅸ的水平。KOBAYASHI 等^[42]通过拟南芥叶绿素缺失突变体研究了类囊体脂基质主要物质 MgdG、GgdG 合成的关键酶 MGD1 和 DGD1 在拟南芥中的表达谱, 发现 MGD1 和 DGD1 的表达受光诱导, 其中细胞分裂素信号转导和长下胚轴 5 介导的光信号转导都起着关键作用。HUANG 等^[43]发现镁螯合酶 (CHL1) 的 I 亚基由拟南芥中的 2 个基因 *CHL1* 和 *CHL2* 编码, *CHL1* 和 *CHL2* 的双敲除突变体为白化性状, 而 *CHL1* 单敲除突变体为淡绿色, 这表明 *CHL2* 在一定程度上可以替代 *CHL1*。镁原卟啉Ⅸ是血红素和叶绿素的生物合成途径中的最后 1 个共同中间体, 因此血红素合成途径出现突变, 也会影响叶绿素的合成。青梗菜 *pylm* 黄化突变体的叶片血红素含量显著高于对照, 说明血红素具有反馈调节作用, 血红素过量积累反馈抑制谷氨酰-tRNA 还原酶的活性, 抑制 δ -氨基酮戊酸的合成^[32]。

3.2.2 叶绿体蛋白合成突变 叶绿体的合成是一个复杂的过程, 多数叶绿体蛋白由核基因编码, 再通过细胞质的加工处理, 最终在叶绿体内发挥功能^[44]。光调节锌指蛋白 1 (LZF1) 在拟南芥脱黄化过程中起正调节作用^[45]。拟南芥 Dynamin 超家族新成员 FZL, 为类似 FZO 的 1 种膜重塑蛋白, 其过表达后导致类囊体组织缺陷, 但其表达水平不影响叶绿体的形态及超微结构^[27]。沉默氨酰还原酶 (ARSs) 后, GluRS 和 SerRS 无法正常表达, 导致叶绿体异常, 类囊体发育不全, 表现出严重的黄化性状, 但许多编码叶绿体或线粒体靶向蛋白的核基因表达以及叶绿素的生物合成没有改变^[28]。

甘蓝型油菜 *cr3529* 突变体中, 类囊体膜蛋白 LHC II 的组成未发生改变, 但捕光色素蛋白复合物含量明显减少^[46]。MIURA 等^[47]对拟南芥叶斑突变体 *var2* 进行了研究, 认为蛋白质合成和降解之间的平衡是导致拟南芥叶色表型的决定因素之一。*GUN2* 和 *GUN3* 是已知光致变种 *hy1* 和 *hy2* 的等位基因, 是从血红素合成植物嗜铬蛋白所必需的, 而 *GUN5* 与另一个镁螯合酶亚基 (ChII) 突变体表型的比较表明: ChII 蛋白在质体信号转导途径中具有特定的功能^[48]。拟南芥 *VAR3* 基因突变后, 体细胞区域的叶绿体缺失或发育迟缓, 栅栏细胞数量大量减少^[49], 在 SAKAMOTO^[50] 的研究中也有类似报道。SJOGREN 等^[51]研究证明了拟南芥 CLP 蛋白酶对叶绿体发育和功能起到至关重要的作用。ZALTSMAN 等^[52]研究发现: FTSH 蛋白酶在叶绿体生物合成和类囊体的维持中起重要作用, 且其中部分 *FTSH* 基因可能存在冗余, 不同的 *FTSH* 基因突变体之间的杂交会出现白化、不育等多种新的表型。

4 展望

叶绿素是植物进行光合作用的主要色素,在光合作用的光吸收中起核心作用。目前模式植物拟南芥中叶绿素合成代谢、叶绿体结构功能已经了解得比较清楚。在此基础上,利用其他十字花科植物黄化突变体,研究十字花科植物黄化形成的分子机制,将为十字花科植物的相关研究奠定坚实基础。首先增加叶绿素含量,提高光合效率从而达到增产目的;其次将叶色变异应用于高光能育种研究,避免强光下光系统受到伤害,提高植物对强光的耐受性;再次利用叶色突变体植物具有的特殊利用价值,为创造叶色丰富的观赏品种提供宝贵资源。十字花科植物黄化突变不论在理论研究还是实践应用方面都将是重要的研究方向。

5 参考文献

- [1] 赵波. 甘蓝型油菜矮秆基因定位、克隆及功能分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.
ZHAO Bo. *Gentic Mapping, Cloning and Functional Analysis of Dwarf Genes in Brassica napus L.* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2017.
- [2] 张甜. 芥菜紫叶基因 *Bj.Pur* 定位及候选基因分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.
ZHANG Tian. *Mapping and Candidate Gene Analysis of Bj.Pur, a Gene Controlling Purple Leaf in Brassica juncea* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2017.
- [3] 赖艳, 付秋实, 吕建春, 等. 一个新的薄皮甜瓜叶色突变体的生理特性及超微结构分析[J]. 四川农业大学学报, 2018, 36(3): 372–379.
LAI Yan, FU Qiushi, LÜ Jianchun, *et al.* Analysis of physiological characteristics and chloroplast ultrastructure of a new leaf color mutant in melon [J]. *J Sichuan Agric Univ*, 2018, 36(3): 372–379.
- [4] 刘红艳, 周芳, 李俊, 等. 芝麻黄化突变体 YL1 的叶片解剖学及光合特性[J]. 作物学报, 2017, 43(12): 1856–1863.
LIU Hongyan, ZHOU Fang, LI Jun, *et al.* Anatomical structure and photosynthetic characteristics of a yellow leaf mutant YL1 in sesame (*Sesamum indicum* L.) [J]. *Acta Agronomica Sin*, 2017, 43(12): 1856–1863.
- [5] 杨小苗, 吴新亮, 刘玉凤, 等. 一个番茄 EMS 叶色黄化突变体的叶绿素含量及光合作用[J]. 应用生态学报, 2018, 29(6): 1983–1989.
YANG Xiaomiao, WU Xinliang, LIU Yufeng, *et al.* Analysis of chlorophyll and photosynthesis of a tomato chlorophyll-deficient mutant induced by EMS [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2018, 29(6): 1983–1989.
- [6] 迟鸣雨. 青梗菜黄化突变体生理特性及转录组分析[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2017.
CHI Mingyu. *Transcriptome and Physiological Characterization Analysis of a Chlorosis Mutant of Pakchoi* [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2017.
- [7] 郭士伟, 张云华, 金永庆, 等. 小白菜 (*Brassica chinensis* L.) 黄苗突变体的叶绿素荧光特性[J]. 作物学报, 2003, 29(6): 958–960.
GUO Shiwei, ZHANG Yunhua, JIN Yongqing, *et al.* Characterization of chlorophyll fluorescence in a mutant of *Brassica chinensis* L. with xanthan seedling leaves [J]. *Acta Agronomica Sin*, 2003, 29(6): 958–960.
- [8] 张琨, 刘志勇, 单晓菲, 等. 青梗菜黄化突变体 *pym* 遗传特性分析[J]. 沈阳农业大学学报, 2017, 48(1): 1–8.
ZHANG Kun, LIU Zhiyong, SHAN Xiaofei, *et al.* Genetic analysis of a yellow mutant *pym* in pakchoi [J]. *J Shenyang Agric Univ*, 2017, 48(1): 1–8.
- [9] 杨冲, 张扬勇, 方智远, 等. 甘蓝叶色黄化突变体 YL-1 的光合生理特性及其叶绿体的超微结构[J]. 园艺学报, 2014, 41(6): 1133–1144.
YANG Chong, ZHANG Yangyong, FANG Zhiyuan, *et al.* Photosynthetic physiological characteristics and chloroplast ultrastructure of yellow leaf mutant YL-1 in cabbage [J]. *Acta Horti Sin*, 2014, 41(6): 1133–1144.
- [10] 杜江涛. 大白菜金黄叶色突变基因 *lcm2* 的克隆及鉴定[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2018.
DU Jiangtao. *Cloning and Identification of a Golden Leaf Gene lcm2 in Chinese Cabbage* [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2018.
- [11] 侯爱琳. 大白菜叶片黄化突变基因 *lcm3* 的克隆与鉴定[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2018.
HOU Ailin. *Cloning and Identification of lcm3, a Leaf Chlorosis Mutation Gene in Chinese Cabbage* [D]. Shenyang:

- Shenyang Agricultural University, 2018.
- [12] ZHAO Hua, YU Lei, HUAI Zexun, *et al.* Mapping and candidate gene identification defining BnChd1-1, a locus involved in chlorophyll biosynthesis in *Brassica napus* [J]. *Acta Physiol Plant*, 2014, **36**(4): 859 – 870.
- [13] 董遵, 刘敬阳, 马红梅, 等. 甘蓝型油菜黄化 (苗) 突变体的叶绿素含量及超微结构[J]. 中国油料作物学报, 2000, **22**(3): 27 – 29, 34.
- DONG Zun, LIU Jingyang, MA Hongmei, *et al.* Chlorophyll contents and chloroplast ultrastructure of chlorophyll deficient mutant in *B. napus* [J]. *Chin J Oil Crop Sci*, 2000, **22**(3): 27 – 29, 34.
- [14] 陈艳丽. 甘蓝型油菜黄化突变体的基因定位[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011.
- CHEN Yanli. *Genetic Mapping of the Yellow Mutant Gene in Brassica napus*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2011.
- [15] ZHU Lixia, ZENG Xinhua, CHEN Yanli, *et al.* Genetic characterisation and fine mapping of a chlorophyll-deficient mutant (*BnaC.ygl*) in *Brassica napus* [J]. *Mol Breed*, 2014, **34**(2): 603 – 614.
- [16] 杨胜洪, 杜林方, 赵云, 等. 抽薹期叶绿素缺乏油菜突变体类囊体膜的研究[J]. 云南植物研究, 2001, **23**(1): 97 – 104.
- YANG Shenghong, DU Linfang, ZHAO Yun, *et al.* Study on the thylakoid membranes from a chlorophyll-deficient oilseed rape mutant at the bolting stage [J]. *Acta Bot Yunnan*, 2001, **23**(1): 97 – 104.
- [17] FRICK G, SU Qingxiang, APEL K, *et al.* An *Arabidopsis* porB porC double mutant lacking light-dependent NADPH: protochlorophyllide oxidoreductases B and C is highly chlorophyll-deficient and developmentally arrested [J]. *Plant J Cell Mol Biol*, 2003, **35**(2): 141 – 153.
- [18] BANG W Y, JEONG I S, KIM D W, *et al.* Role of *Arabidopsis* CHL27 protein for photosynthesis, chloroplast development and gene expression profiling [J]. *Plant Cell Physiol*, 2008, **49**(9): 1350 – 1363.
- [19] PRIVAT I, HAKIMI M A, BUHOT L, *et al.* Characterization of *Arabidopsis* plastid sigma-like transcription factors SIG1, SIG2 and SIG3 [J]. *Plant Mol Biol*, 2003, **51**(3): 385 – 399.
- [20] KUMAR A M, SÖLL D. Antisense HEMA1 RNA expression inhibits heme and chlorophyll biosynthesis in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2000, **122**(1): 49 – 56.
- [21] KOBAYASHI K, KONDO M, FUKUDA H, *et al.* Galactolipid synthesis in chloroplast inner envelope is essential for proper thylakoid biogenesis, photosynthesis, and embryogenesis [J]. *Proc Nat Acad Sci*, 2007, **104**(43): 17216 – 17221.
- [22] 白大勇. 拟南芥真叶白化突变体 *cfl1* 的基因克隆与初步功能分析[D]. 开封: 河南大学, 2013.
- BAI Dayong. *Map-based Cloning and Functional Analysis of True-Leaves-Etiolation Mutant cfl1 in Arabidopsis thaliana*[D]. Kaifeng: Henan University, 2013.
- [23] 肖华贵, 杨焕文, 饶勇, 等. 甘蓝型油菜黄化突变体的光合特性及叶绿素荧光参数分析[J]. 作物学报, 2013, **39**(3): 520 – 529.
- XIAO Huagui, YANG Huanwen, RAO Yong, *et al.* Photosynthetic characteristics and chlorophyll fluorescence kinetic parameters analyses of chlorophyll-reduced mutant in *Brassica napus* L. [J]. *Acta Agronomica Sin*, 2013, **39**(3): 520 – 529.
- [24] CHANG C S J, WU M S H. COP1-Mediated degradation of BBX22/LZF1 optimizes seedling development in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2011, **156**(1): 228 – 239.
- [25] 李玮, 于澄宇, 胡胜武. 芥菜型油菜叶片黄化突变体的初步研究[J]. 西北农林科技大学学报 (自然科学版), 2007, **35**(9): 79 – 82.
- LI Wei, YU Chengyu, HU Shengwu. Primary investigation on a chlorosis mutant in *Brassica juncea* L. [J]. *J Northwest A&F Univ Nat Sci Ed*, 2007, **35**(9): 79 – 82.
- [26] GAO Hongbo, SAGE T L, OSTERYOUNG K W. FZL, an FZO-like protein in plants, is a determinant of thylakoid and chloroplast morphology [J]. *Proc Nat Acad Sci*, 2006, **103**(17): 6759 – 6764.
- [27] KIM Y K, LEE J Y, CHO H S, *et al.* Inactivation of organellar glutamyl- and seryl-trna synthetases leads to developmental arrest of chloroplasts and mitochondria in higher plants [J]. *J Biol Chem*, 2005, **280**(44): 37098 – 37106.
- [28] 赵云, 王茂林, 李江, 等. 幼叶黄化油菜 (*Brassica napus* L.) 突变体 Cr3529 叶绿体超微结构观察[J]. 四川大学学报 (自然科学版), 2003, **40**(5): 974 – 977.
- ZHAO Yun, WANG Maolin, LI Jiang, *et al.* Observation of the chloroplast in chlorophyll-reduced seedling mutant Cr3529,

- Brassica napus* L. [J]. *J Sichuan Univ Nat Sci Ed*, 2003, **40**(5): 974 – 977.
- [29] 吴砚农. 小白菜黄化突变体生理特性及遗传特性分析[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2019.
WU Yannong. *Analysis of Physiological Characteristics and Genetic Characteristics of Pakchoi Yellowing Mutant*[D]. Hangzhou: Zhejiang A&F University, 2019.
- [30] AUSTIN J, WEBBER A N. Photosynthesis in *Arabidopsis thaliana* mutants with reduced chloroplast number [J]. *Photosynth Res*, 2005, **85**(3): 373 – 384.
- [31] OKAZAKI K, KABEYA Y, SUZUKI K, *et al.* The PLASTID DIVISION1 and 2 components of the chloroplast division machinery determine the rate of chloroplast division in land plant cell differentiation [J]. *Plant Cell*, 2009, **21**(6): 1769 – 1780.
- [32] 牟钰. 白菜黄化突变基因 *py2* 的精细定位[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2018.
MU Yu. *Fine Mapping of py2, a Gene Referred to Yellow Leaf Mutant in Pakoi (Brassica campestris L. ssp. chinensis)*[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2018.
- [33] 方怡然, 薛立. 盐胁迫对植物叶绿素荧光影响的研究进展[J]. 生态科学, 2019, **38**(3): 225 – 234.
FANG Yiran, XUE Li. Research advances in the effect of salt stress on plant chlorophyll fluorescence [J]. *Ecol Sci*, 2019, **38**(3): 225 – 234.
- [34] TSANG E W T, YANG Jingyi, CHANG Qing, *et al.* Chlorophyll reduction in the seed of *Brassica napus* with a glutamate 1-semialdehyde aminotransferase antisense gene [J]. *Plant Mol Biol*, 2003, **51**(2): 191 – 201.
- [35] 田颖, 黄谦心, 刘海衡, 等. 芥菜型油菜黄化突变体 L638-y 的遗传及黄化基因 *gr1* 的分子标记[J]. 西北农林科技大学学报 (自然科学版), 2012, **40**(12): 90 – 96.
TIAN Ying, HUANG Qianxin, LIU Haiheng, *et al.* Inheritance of chlorophyll-deficient mutant L638-y in *Brassica juncea* L. and molecular markers for chlorophyll-deficient gene *gr1* [J]. *J Northwest A&F Univ Nat Sci Ed*, 2012, **40**(12): 90 – 96.
- [36] 吴自明, 张欣, 万建民, 等. 叶绿素生物合成的分子调控[J]. 植物生理学报, 2008, **44**(6): 1064 – 1070.
WU Ziming, ZHANG Xin, WAN Jianmin, *et al.* Molecular regulation of chlorophyll biosynthesis [J]. *Plant Physiol Commun*, 2008, **44**(6): 1064 – 1070.
- [37] NAGATA N. Identification of a vinyl reductase gene for chlorophyll synthesis in *Arabidopsis thaliana* and implications for the evolution of prochlorococcus species [J]. *Plant Cell*, 2005, **17**(1): 233 – 240.
- [38] 孙捷音, 张年辉, 杜林方. 油菜叶绿素 b 减少突变体 Cr3529 叶绿素生物合成的研究[J]. 西北植物研究, 2007, **27**(10): 1962 – 1966.
SUN Jieyin, ZHANG Nianhui, DU Linfang. Chlorophyll biosynthesis in a chlorophyll b-deficient oilseed rape mutant Cr3529 [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 2007, **27**(10): 1962 – 1966.
- [39] 吕明, 刘海衡, 毛虎德, 等. 芥菜型油菜黄化突变体叶片叶绿素合成代谢变化[J]. 西北植物学报, 2010, **30**(11): 2177 – 2183.
LÜ Ming, LIU Haiheng, MAO Hude, *et al.* Changes of chlorophyll synthesis metabolism in chlorophyll-deficient mutant in *Brassica juncea* [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 2010, **30**(11): 2177 – 2183.
- [40] PONTIER D, ALBRIEUX C, JOYARD J, *et al.* Knock-out of the magnesium protoporphyrin IX methyltransferase gene in *Arabidopsis*: effects on chloroplast development and on chloroplast-to-nucleus signaling [J]. *J Biol Chem*, 2007, **282**(4): 2297 – 2304.
- [41] LARKIN R M. GUN4, a regulator of chlorophyll synthesis and intracellular signaling [J]. *Science*, 2003, **299**(5608): 902 – 906.
- [42] KOBAYASHI K, FUJII S, SASAKI D, *et al.* Transcriptional regulation of thylakoid galactolipid biosynthesis coordinated with chlorophyll biosynthesis during the development of chloroplasts in *Arabidopsis*[J]. *Front Plant Sci*, 2014, **5** (11) : 272. doi: 10.3389/fpls.2014.00272.
- [43] HUANG Yishuan, LI Hsomin. *Arabidopsis CHLI2* can substitute for *CHLI1* [J]. *Plant Physiol*, 2009, **150**(2): 636 – 645.
- [44] WATERS M T, LANGDALE J A. The making of a chloroplast [J]. *EMBO J*, 2009, **28**(19): 2861 – 2873.
- [45] CHANG C S J, LI Y H, CHEN L T, *et al.* LZFI1, a HY5-regulated transcriptional factor, functions in *Arabidopsis* de-etiolation [J]. *Plant J*, 2008, **54**(2): 205 – 219.

- [46] 张年辉, 杜林方, 赵云, 等. 叶绿素缺乏油菜突变体的 LHC II 多肽组成、蛋白含量与 *cab* 基因转录研究[J]. 西北植物学报, 2004, **24**(3): 484 – 487.
- ZHANG Nianhui, DU Linfang, ZHAO Yun, *et al.* Study on the polypeptide composition and content of LHC II and the *cab* gene transcription in chlorophyll-reduced mutant of oilseed rape seedlings [J]. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*, 2004, **24**(3): 484 – 487.
- [47] MIURA E, KATO Y, MATSUSHIMA R, *et al.* The balance between protein synthesis and degradation in chloroplasts determines leaf variegation in *Arabidopsis* yellow variegated mutants [J]. *Plant Cell*, 2007, **19**(4): 1313 – 1328.
- [48] MOCHIZUKI N, BRUSSLAN J A, LARKIN R, *et al.* *Arabidopsis* genomes uncoupled 5(GUN5) mutant reveals the involvement of Mg-chelatase H subunit in plastid-to-nucleus signal transduction [J]. *Proc Nat Acad Sci*, 2001, **98**(4): 2053 – 2058.
- [49] NAESTED H. *Arabidopsis* VARIEGATED 3 encodes a chloroplast-targeted, zinc-finger protein required for chloroplast and palisade cell development [J]. *J Cell Sci*, 2004, **117**(20): 4807 – 4818.
- [50] SAKAMOTO W. Coordinated regulation and complex formation of Yellow Variegated1 and Yellow Variegated2, chloroplastic FtsH metalloproteases involved in the repair cycle of Photosystem II in *Arabidopsis* thylakoid membranes [J]. *Plant Cell*, 2003, **15**(12): 2843 – 2855.
- [51] SJOGREN L L E, STANNE T M, ZHENG B, *et al.* Structural and functional insights into the chloroplast ATP-dependent clp protease in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2006, **18**(10): 2635 – 2649.
- [52] ZALTSMAN A, ORI N, ADAM Z. Two types of FtsH protease subunits are required for chloroplast biogenesis and Photosystem II repair in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2005, **17**(10): 2782 – 2790.