

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201411029

张亮行, 张帆涛, 聂丽, 等. 水稻黄绿叶突变体 *ygl-63* 的特征和基因定位 [J]. 广西植物, 2016, 36(8):891-896

ZHANG LX, ZHANG FT, NIE L, et al. Characteristics and gene mapping of yellowish green leaf mutant *ygl-63* in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Guihaia*, 2016, 36(8):891-896

水稻黄绿叶突变体 *ygl-63* 的特征和基因定位

张亮行¹, 张帆涛^{1,2*}, 聂丽¹, 万令飞¹,
梁剑秋¹, 张雨佳¹, 马羊帅¹, 谢建坤¹

(1. 江西师范大学 生命科学学院, 南昌 330022; 2. 江西师范大学 江西省亚热带植物资源保护与利用重点实验室, 南昌 330022)

摘要: 叶绿体的正常发育对于植物至关重要, 突变体研究是探明叶绿体发育过程中基因功能的有效途径。叶色突变体已引起人们广泛的关注, 通过对各种植物材料的研究, 叶色突变的分子机制已取得一定进展, 但远未被阐明, 尤其在水稻当中。目前, 已报道的水稻叶色突变体, 主要表现为黄化、白化、亮绿、条斑条纹、温敏变色、转绿和转紫等。该研究使用甲基磺酸乙酯(EMS)处理粳稻日本晴, 获得一份遗传稳定的突变体 *ygl-63*, 其整个生育期叶片均表现为黄绿色。通过测定 *ygl-63* 和野生型苗期叶片的叶绿素含量发现, *ygl-63* 中叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量与野生型相比分别下降了 31.9%、42.2% 和 34.1%, 同时叶绿素 a/b 值较野生型增加。这表明叶绿素含量的降低是导致 *ygl-63* 黄绿叶突变性状的主要原因, 并且叶绿素 b 的降幅大于叶绿素 a。在成熟后调查主要农艺性状发现 *ygl-63* 单株有效穗数和结实率分别减少 8.9% 和 8.5%; 千粒重增加 10.4%; 而株高、穗长和每穗着粒数和野生型相比差异并不显著。通过测量微量元素发现, *ygl-63* 种子中的铁和锌含量较野生型显著降低, 分别减少 85.7% 和 64.8%。将 *ygl-63* 与正常绿色品种明恢 63 杂交获得 F₁ 和 F₂ 群体, 进行遗传分析发现, *ygl-63* 突变性状受 1 对隐性基因控制, 通过基因定位, 将该基因定位到水稻第 11 染色体长臂的分子标记 InDel-3 和 InDel-5 之间约 2.4 cM 范围内。该基因被认为是一个新的水稻叶色突变基因, 暂命名为 *ygl-63(g)*。所得结果为今后对 *ygl-63(g)* 基因的进一步研究奠定了基础。

关键词: 水稻, 叶色突变体, 甲基磺酸乙酯, 微量营养元素, 分子标记, 遗传分析, 基因定位

中图分类号: Q945.45 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2016)08-0891-06

Characteristics and gene mapping of yellowish green leaf mutant *ygl-63* in rice (*Oryza sativa* L.)

ZHANG Liang-Xing¹, ZHANG Fan-Tao^{1,2*}, NIE Li¹, WAN Ling-Fei¹,
LIANG Jian-Qiu¹, ZHANG Yu-Jia¹, MA Yang-Shuai¹, XIE Jian-Kun¹

(1. College of Life Sciences, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China; 2. Key Laboratory of Protection and Utilization of Subtropic Plant Resources of Jiangxi Province, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China)

Abstract: Chloroplasts are important organelles in green plants for photosynthesis, and normal development of chloroplasts is important to plants. Mutant analysis is a useful approach to illuminate the function of gene in complex biological

收稿日期: 2014-11-23 修回日期: 2015-03-31

基金项目: 国家自然科学基金(31201191, 31660386); 江西省自然科学基金(20132BAB214009, 20142BAB204012); 江西省教育厅项目(GJJ14248); 江西省亚热带植物资源保护与利用重点实验室开放基金(YRD201403) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31201191, 31660386); Natural Science Foundation of Jiangxi (20132BAB214009, 20142BAB204012); Jiangxi Program of Education Office (GJJ14248); Open Fund of Jiangxi Key Laboratory of Protection and Utilization of Subtropical Plant Resources (YRD201403)].

作者简介: 张亮行(1986-), 男, 硕士研究生, 主要从事水稻分子生物学研究, (E-mail) 121084760@qq.com.

***通讯作者:** 张帆涛, 博士, 硕士生导师, 研究方向为水稻遗传育种与分子生物学, (E-mail) zhang84004@163.com.

process of chloroplast development. Nowadays, extensive attention has been paid to the leaf-color mutation, and certain achievements have been made by studying various organisms, but the mechanism of mutation and the responsible loci have not been fully understood at molecular level, especially in rice. Up to now, many leaf-color mutants were reported in rice, mainly featured by etiolation, albino, brilliant green, stripe, temperature sensitive allochromasia, turning green and purple in leaf color. In this study, a rice yellowish green leaf mutant *ygl-63* was identified, which derived from Nipponbare (*Oryza sativa* ssp. *japonica*) treated by ethyl methanesulfonate (EMS). The mutant *ygl-63* exhibited distinct yellowish green leaf trait throughout the growth period. To characterize the yellowish green leaf phenotype of the *ygl-63* mutant, we measured its chlorophyll contents at the seedling stage. Compared to that of its wild-type parent Nipponbare, the content of chlorophyll (Chl) a, Chl b and total chlorophyll decreased significantly in the mutant *ygl-63*, with 31.9%, 42.2% and 34.1% respectively, indicating that the mutant phenotype of *ygl-63* was resulted from reduced chlorophyll level. In addition, the ratio of Chl a/b was increased, due likely to the potential of Chl b synthesis in suffering a more severe decline than Chl a in the *ygl-63* mutant; and at maturity, the number of productive panicles per plant and seed setting rate reduced by 8.9% and 8.5%, respectively; the 1 000-grain weight increased by 10.4%; but the plant height, panicle length and the number of spikelets per panicle were not affected remarkably with its wild-type parent Nipponbare. Meanwhile, by measuring the contents of micronutrients, we found that the Fe and Zn contents in the seeds of *ygl-63* mutant were significantly reduced by 85.7% and 64.8% respectively, compared with its wild-type parent Nipponbare. Genetic analysis of F₁ and F₂ generations of *ygl-63* mutant crossed with the normal green variety Minghui 63 (*Oryza sativa* ssp. *indica*) showed that the mutant trait of *ygl-63* was controlled by a single recessive nuclear gene. Genetic mapping of the mutant gene was conducted by using SSR and InDel molecular markers and 166 F₂ plants from the cross of *ygl-63* with the normal green variety Minghui 63, and the mutant gene of *ygl-63* was finally mapped on the long arm of rice chromosome 11. The genetic distances from the target gene to the markers InDel-3 and InDel-5 were 0.9 and 1.5 cM, respectively. The gene *ygl-63* was considered to be a new rice yellowish green leaf mutant and its mutant gene was tentatively named as *ygl-63(g)*. These results will provide the information for the cloning and functional analysis of *ygl-63(g)* gene in the future.

Key words: rice, leaf color mutant, ethyl methanesulfonate, micronutrients, molecular marker, genetic analysis, gene mapping

光合作用是绿色植物利用叶绿素等光合色素,在可见光的照射下,将二氧化碳和水转化为有机物,并释放出氧气的生化过程(Leister et al, 2003)。叶片是植物进行光合作用的主要器官,其中的叶绿体不仅参与了重要的光合作用,将光能转化为化学能,同时,叶绿体还参与了植物体内的各种代谢产物的合成途径(黄晓群等,2007;程欣等,2013)。突变体在植物的生理、生化和功能基因组研究等方面具有重要作用(杨松涛等,2010;张霞等,2012)。迄今为止,在许多高等植物中都发现了叶色相关突变体,如水稻(胡忠等,1981)、大豆(Ghirardi et al, 1988)、大麦(Krol et al, 1995)、小麦(Falbel et al, 1996)、玉米(Greene et al, 1998)和拟南芥(Carol et al, 1999)等。叶色突变不仅影响植物的光合作用,而且会破坏植物正常的生长发育,甚至导致植株死亡(Jung et al, 2003; Nakanishi et al, 2005; Zhang et al, 2006)。基因分别编码水稻叶绿体发育必需的核苷酸还原酶

以拟南芥为模式植物,叶色调控机制的研究已取得重要进展,其合成叶绿素 b 所需酶的编码基因都已被克隆(Nagata et al, 2005; Beale et al, 2005)。水稻作为重要的粮食作物和单子叶模式植物,许多叶色基因相继被报道,但是迄今为止,只有其中少数基因被克隆,水稻叶色调控的分子机理还远未被阐明(李育红等,2011)。OsPPR1 是一个水稻叶绿体发育相关的基因,该基因表达水平的降低可引起水稻叶片发生白化(Gothandam et al, 2005);OsCAO1 和 OsCAO2 基因编码水稻叶绿素酸酯 α 加氧酶,OsCAO1 受光诱导,而 OsCAO2 则在黑暗条件下起作用(Lee et al, 2005);OsChlD 和 OsChlI 基因分别编码 ChlD 和 ChlI 亚基,它们是水稻失绿突变体 Chlorina-1 和 Chlorina-9 的突变相关基因(Zhang et al, 2006);YGL1 基因位于水稻第 5 染色体上,负责编码水稻叶绿素合酶(Wu et al, 2007);RNRLI 和 RNRSI 的大亚基和小亚基(Yoo et al, 2009);OsDVR 基因

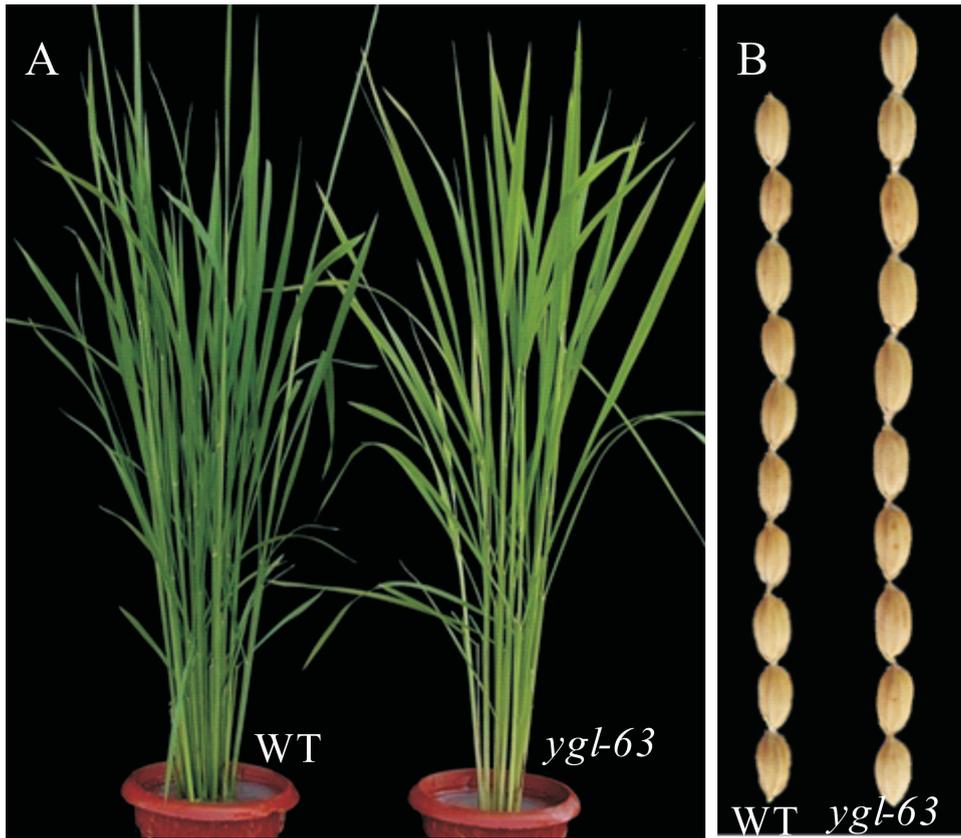


图 1 *ygl-63* 和野生型亲本在分蘖期的表型(A)与种子的比较(B)

Fig. 1 Plant phenotype of the *ygl-63* and the wild type at tillering stage (A) and comparison of the mature grains (B)

编码水稻联乙烯还原酶,该酶可以催化水稻中联乙烯叶绿素 a 转化为单乙烯叶绿素 a (Wang et al, 2010)。本研究通过 EMS 诱变获得了一份水稻黄绿叶突变体,暂命名为 *ygl-63*,其整个生育期叶片均呈现黄绿色。与野生型亲本相比,*ygl-63* 的单株有效穗数和结实率显著减少,千粒重显著增加,种子中的铁和锌元素含量较野生型显著降低。此外,通过构建遗传群体,对突变体进行了遗传分析和基因定位,为进一步图位克隆突变基因奠定了基础。

1 材料与方 法

1.1 材料及田间试验

用化学诱变剂甲基磺酸乙酯(EMS)处理日本晴(粳稻),获得一份黄绿叶突变体,连续进行多代自交后发现突变体性状不发生分离,表明该突变体遗传稳定,暂命名为 *ygl-63*。以日本晴为野生型对照。将 *ygl-63* 与正常绿叶籼稻品种明恢 63 杂交,分

别播种 F_1 和 F_2 群体,用于遗传分析和基因定位。

1.2 叶绿素含量的测定

于苗期取突变体 *ygl-63* 和野生型亲本相同部位的叶片,分别进行叶绿素 a 和叶绿素 b 含量的测定,并计算叶绿素总含量及叶绿素 a 和叶绿素 b 的比值(Chl a/b),测定方法参照 Lichtenthaler(1987)。

1.3 微量营养元素铁和锌含量的测定

将突变体 *ygl-63* 和野生型亲本的种子自然风干后,委托农业部稻米及制品质量监督检验测试中心测定种子中铁和锌元素的含量。

1.4 基因池的构建、定位群体和总 DNA 的提取

以突变体 *ygl-63* 与明恢 63 杂交获得 F_2 群体。从群体中分别选取 20 株正常植株和 20 株突变植株构建正常基因池和突变基因池,并利用群体中的 166 株突变植株进行基因定位。DNA 提取方法参照 McCouch et al(1998)。

1.5 分子标记和遗传图谱的构建

简单序列重复标记(SSR)来自 Gramene 数据库

(<http://www.gramene.org/microsat/>)。运用 Primer 3 (v. 0.4.0) (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/primer3/>) 在线软件设计插入缺失标记 (InDel)。PCR 反应总体系及 PCR 程序参照 Panaud et al (1996) 进行, 将扩增产物电泳和成像后记录结果。所得数据用 Mapmaker 3.0 作图软件进行连锁分析, 并使用 Kosambi 函数将重组率进行转化, 获得遗传距离 (厘摩, cM), 进而构建分子标记连锁图谱。

2 结果与分析

2.1 *ygl-63* 的特征与主要农艺性状

相比野生型, 突变体 *ygl-63* 植株的整个生育期均表现为黄绿叶表型。同时, 突变体 *ygl-63* 的单株有效穗数和结实率分别减少 8.9% 和 8.5%, 千粒重增加 10.4%, 达到差异极显著水平 ($P < 0.05$)。而株高、穗长和每穗着粒数等农艺性状在突变体 *ygl-63* 和野生型亲本之间差异不显著 (图 1, 表 1)。

表 1 *ygl-63* 和野生型的农艺性状

Table 1 Agronomic traits of the *ygl-63* and the wild type

性状 Trait	野生型 Wild type	<i>ygl-63</i>	比野生型增减 Compared with wild type (%)
株高 Plant height (cm)	103.6 ± 2.7	101.2 ± 3.5	-2.3
单株有效穗数 Productive panicles per plant	10.1 ± 0.8	9.2 ± 0.7	-8.9 *
穗长 Panicle length (cm)	20.3 ± .9	20.1 ± 1.1	-0.9
每穗着粒数 Spikelets per panicle	95.7 ± 3.5	96.2 ± 3.7	0.5
结实率 Seed setting rate (%)	92.3 ± 1.2	84.5 ± 1.5	-8.5 *
千粒重 1 000-grain weight (g)	23.1 ± 0.3	25.5 ± 0.4	10.4 *

注: * $P = 0.05$ 差异显著。下同。

Note: * Significantly different at $P = 0.05$. The same below.

2.2 *ygl-63* 叶绿素含量分析

经测定, 突变体 *ygl-63* 中总叶绿素、叶绿素 a 和叶绿素 b 含量与野生型亲本相比分别减少 34.1%、31.9% 和 42.2%, 叶绿素 a/b 值较野生型亲本增加 17.6%, 均达到差异极显著水平 ($P < 0.05$) (表 2)。表 2 结果表明, 叶绿素含量减少是导致 *ygl-63* 黄绿叶突变性状的主要原因, 并且 *ygl-63* 中叶绿素 b 含

量的降幅较叶绿素 a 更大。

表 2 *ygl-63* 和野生型的叶绿素含量

Table 2 Chlorophyll contents of the *ygl-63* and the wild type

材料 Material	总叶绿素 Chl (mg · g ⁻¹)	叶绿素 a Chl a (mg · g ⁻¹)	叶绿素 b Chl b (mg · g ⁻¹)	叶绿素 a/b Chl a/b
野生型 Wild type	2.96 ± 0.19	2.32 ± 0.17	0.64 ± 0.07	3.63 ± 0.12
<i>ygl-63</i>	1.95 ± 0.08	1.58 ± 0.12	0.37 ± 0.06	4.27 ± 0.19
比对照增减 Compared with the wild type (%)	-34.1% *	-31.9% *	-42.2% *	17.6% *

2.3 微量营养元素的含量分析

通过测定野生型亲本和突变体 *ygl-63* 种子中铁和锌微量元素的含量, 发现突变体 *ygl-63* 种子中的铁和锌元素含量分别为 2.32 和 13.7 mg · kg⁻¹, 均明显低于野生型亲本种子中的铁 (16.26 mg · kg⁻¹) 和锌 (38.9 mg · kg⁻¹) 的含量, 分别减少 85.7% 和 64.8%, 达到差异极显著水平 ($P < 0.05$) (表 3)。

表 3 *ygl-63* 和野生型谷粒中铁和锌的含量

Table 3 Fe and Zn contents in grains of the *ygl-63* and the wild type

材料 Material	铁 Fe (mg · kg ⁻¹)	锌 Zn (mg · kg ⁻¹)
野生型 Wild type	16.26	38.9
<i>ygl-63</i>	2.32	13.7
比野生型增减 Compared with the wild type (%)	-85.7% *	-64.8% *

2.4 *ygl-63* 的遗传分析

将 *ygl-63* 与明恢 63 进行杂交, 所得 F₁ 植株均表现为正常叶色。在 F₂ 群体中叶色发生了明显的分离, 从中随机选取 677 株植株进行调查, 发现正常叶色的植株为 511 株, 突变型黄绿色为 166 株, 经卡方 (χ^2) 测验, 其分离比例符合 3 : 1 ($\chi^2 = 0.06 < \chi^2_{0.05} = 3.84$), 表明 *ygl-63* 的突变性状受 1 对隐性基因控制, 将该基因暂命名为 *ygl-63(g)*。

2.5 *ygl-63(g)* 的分子标记定位

在水稻 12 条染色体上, 选取 230 对较均匀分布的 SSR 引物扩增定位群体的双亲 DNA, 筛选出具有多态性的引物, 然后用这些引物扩增正常基因池和

突变基因池, 结果发现引物 RM2110 和 RM4601 在两池之间表现有明显差异, 推测两引物可能与 *ysl-63(g)* 基因位点相连锁。随后利用 F₂ 群体中的 20 株正常叶色植株和 20 株突变叶色植株进行验证, 证明了两引物确与 *ysl-63(g)* 位点有连锁关系。利用定位群体将 *ysl-63(g)* 基因定位在水稻第 11 号染色体引物 RM2110 和 RM4601 之间约 12.0 cM 的范围内。随后在两引物之间进一步的设计合成更多的分子标记, 将 *ysl-63(g)* 基因最终定位在引物 InDel-3 (F: TGCTTTCATCAAGATTGTGC, R: GGGGTAC-TGCTTGACTGCTC) 和 InDel-5 (F: CCACGCGATGATGTTAAGGT, R: GCAGCACAGTTTGCATTAGC) 之间约 2.4 cM 的范围内, 遗传距离分别约为 0.9 cM 和 1.5 cM (图 2)。

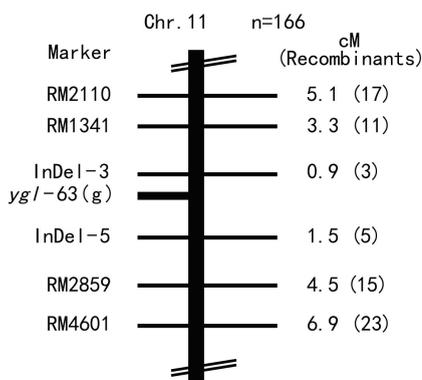


图 2 *ysl-63(g)* 基因在第 11 染色体长臂上基因定位

Fig. 2 Gene mapping of *ysl-63(g)* on the long arm of chromosome 11

3 讨论与结论

本研究中, 我们利用化学诱变剂 EMS 诱变梗稻品种日本晴, 获得了一份遗传稳定的水稻突变体 *ysl-63*, 该突变体在全生育期均表现出黄绿叶的突变表型。目前所发现的大多数水稻叶色调控基因在使得叶色发生变化的同时也会引起其他性状的变化。例如水稻黄绿叶突变体 D83, 该突变体与野生型相比, 成熟期每穗着粒数和千粒重分别减少 9.45% 和 10.76% (李秀兰等, 2010); 水稻黄绿叶突变体 507_{ys}, 与野生型相比, 突变体 507_{ys} 在成熟期株高、每穗着粒数、每株有效穗数和结实率分别减少 8.3%、7.4%、51.0% 和 11.6% (李燕群等, 2014); 水稻

黄绿叶突变体 *ysl10*, 与野生型相比, 突变体 *ysl10* 在成熟期株高、穗长和结实率均发生了显著的降低或减少 (杨海莲等, 2014)。同样, 突变体 *ysl-63* 除叶色变异外, 还伴随有单株有效穗数和结实率显著降低, 而千粒重显著增加的变异性状。单株有效穗数、结实率和千粒重是决定水稻产量的关键因素, 对 *ysl-63* 进一步的研究将有利于探明水稻产量调控机理, 其结果对于增加水稻产量具有重要的理论意义。

此外, 我们通过测定微量营养元素, 发现突变体 *ysl-63* 种子中的铁和锌元素含量较野生型亲本显著降低, 分别减少 85.7% 和 64.8%。铁和锌作为人体必需的微量营养元素, 对人们的身体健康极为重要 (郑建仙等, 1999)。缺铁性贫血和缺锌可引发营养不良、免疫功能下降、生长发育迟缓和智力降低等一系列疾病, 已对我国的国民健康和社会发展构成了巨大威胁, 缓解铁锌等微量营养元素缺乏所带来的危害迫在眉睫 (何一哲等, 2012)。补充铁锌等微量营养元素, 最好采取食补 (韩龙植等, 2003)。水稻作为我国重要的粮食作物, 全国有近三分之二的人口以稻米为主食, 对其进行品质改良, 尤其是提高稻米中微量营养元素的含量, 是当今水稻育种的一项重要任务 (孙明茂等, 2006)。对于突变体 *ysl-63* 的进一步研究将有助于理解水稻种子微量营养元素含量的调控机理, 为改良水稻品质奠定理论基础。

通过构建分离群体, 我们将突变基因 *ysl-63(g)* 定位在水稻第 11 染色体, 位于标记 InDel-3 和 InDel-5 之间, 遗传距离约为 2.4 cM。目前, 在同一条染色体共有 6 个叶色相关基因被定位, 即 V9 (Sato et al, 1984), *tsc1* (Dong et al, 2001), *OsPPR1* (Gothandam et al, 2005), Z1 (张道允等, 2008), Z2 (Chai et al, 2011) 和 *yl11* (刘朝辉等, 2012)。其中, V9 突变体在幼苗期表现出几乎纯白色, 在移栽后叶片表现为浅绿色和白色叶脉; *tsc1* 突变体是一个温敏叶色突变体, 苗期低温时表现叶绿素缺失, 高温时正常绿色; *OsPPR1* 突变体表现出叶片白化, 并伴随有致死表型; Z1、Z2 突变体均表现出斑马叶表型; *yl11* 突变体的苗期呈现出淡黄色表型, 从分蘖期开始叶片的黄色逐渐加深, 到达成熟期时叶片呈现出完全黄色的表型。可见, *ysl-63* 与这些叶色突变体的表型性状有很大差异, 是一个新型的水稻叶绿素缺失突变体。同时, 从定位结果分析, *ysl-63(g)* 基因被定位在水稻第 11 染色体长臂分子标记 InDel-3 和 InDel-5 之间, 与同一染色体的叶色基因

不在同一范围内,说明 *ygl-63(g)* 基因是一个新的水稻叶色突变基因。今后我们将在已有基础上扩大定位群体,在初定位区间发展新的分子标记,精细定位、克隆 *ygl-63(g)* 基因,并进一步对该基因的功能进行研究。

参考文献:

- BEALE SI, 2005. Green genes gleaned [J]. Trends Plant Sci, 10: 309-312.
- CAROL P, STEVENSON D, BISANZ C, et al, 1999. Mutations in the *Arabidopsis* gene *IMMUTANTS* cause a variegated phenotype by inactivating a chloroplast terminal oxidase associated with phytoene desaturation [J]. Plant Cell, 11:57-68.
- CHAI CL, FANG J, LIU Y, et al, 2011. *ZEBRA2*, encoding a carotenoid isomerase, is involved in photoprotection in rice [J]. Plant Mol Biol, 75:211-221.
- CHENG X, REN DY, MA J, et al, 2013. Identification and gene mapping of leaf pale yellow-reversible mutant *pyr1* in rice [J]. Acta Agr Sin, 39(6):992-998. [程欣, 任德勇, 马娇, 等, 2013. 水稻叶片灰白转黄突变体 *pyr1* 的鉴定与基因定位 [J]. 作物学报, 39(6):992-998.]
- DENG JX, 1999. Functional foods [M]. 北京: 中国轻工业出版社: 355-428. [郑建仙, 1999. 功能性食品 [M]. 北京: 中国轻工业出版社: 355-428.]
- DONG YJ, DONG WQ, SHI SY, et al, 2001. Identification and genetic analysis of a thermo-sensitive seedling-colour mutant in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Breed Sci, 51:1-4.
- FALBEL TG, MEEHL JB, STAEHELIN LA, 1996. Severity of mutant phenotype in a series of chlorophyll-deficient wheat mutants depends on light intensity and the severity of the block in chlorophyll synthesis [J]. Plant Physiol, 12:821-832.
- GHIRARDI ML, MELIS A, 1988. Chlorophyll b deficiency in soybean mutants effects on photosystem stoichiometry and chlorophyll antenna size [J]. Biochim Biophys, 932:130-137.
- GOTHANDAM KM, KIM ES, CHO H, et al, 2005. OsPPR1, a pentatricopeptide repeat protein of rice is essential for the chloroplast biogenesis [J]. Plant Mol Biol, 58:421-433.
- GREENE BA, ALLRED DR, MORISHIGE DT, 1998. Hierarchical response of light harvesting chlorophyll proteins in a light-sensitive chlorophyll b-deficient mutant of maize [J]. Plant Physiol, 87:357-364.
- HAN LZ, NAN ZH, QUAN DX, et al, 2003. Prebreeding and nutritive characteristic evaluation on special rice [J]. J Plant Genet Res, 4(3):207-213. [韩龙植, 南钟浩, 全东兴, 等, 2003. 特种稻种质创新与营养特性评价 [J]. 植物遗传资源学报, 4(3):207-213.]
- HE YZ, LEI XG, ZHANG CD, et al, 2012. Research of nutritional quality and utilization of iron zinc-rich colored wheat [J]. J Plant Genet Res, 13(4):672-677. [何一哲, 雷小刚, 张成东, 等, 2012. 富铁锌彩粒小麦营养品质与开发利用研究 [J]. 植物遗传资源学报, 13(4):672-677.]
- HU Z, PENG LP, CAI YH, 1981. A yellow-green nucleus mutant of rice [J]. Acta Genet Sin, 8(3):256-261. [胡忠, 彭丽萍, 蔡永华, 1981. 一个黄绿色的水稻细胞核突变体 [J]. 遗传学报, 8(3):256-261.]
- HUANG XQ, WANG PR, ZHAO HX, et al, 2007. Genetic

- analysis and molecular mapping of a novel chlorophyll-deficient mutant gene in rice [J]. Chin Rice Sci, 21(4):355-359. [黄晓群, 王平荣, 赵海新, 等, 2007. 一个新的水稻叶绿素缺失突变基因的遗传分析和分子标记定位 [J]. 中国水稻科学, 21(4):355-359.]
- JUNG KH, HUR J, RYU CH, et al, 2003. Characterization of a rice chlorophyll-deficient mutant using the T-DNA gene-trap system [J]. Plant Cell Physiol, 44:463-472.
- KROL M, SPANGFORT MD, HUNER NP, 1995. Chlorophyll a/b binding proteins, pigment conversions and early light induced proteins in a chlorophyllless barley mutant [J]. Plant Physiol, 107:873-883.
- LEE S, KIM JH, YOO ES, et al, 2005. Differential regulation of chlorophyll a oxygenase genes in rice [J]. Plant Mol Biol, 57: 805-818.
- LEISTER D, 2003. Chloroplast research in the genomic age [J]. Trends Genet, 19:47-56.
- LI XL, SUN XQ, WANG PR, et al, 2010. Genetic analysis and gene mapping of a novel yellow-green leaf mutant in rice [J]. Acta Agr Sin, 39(6):1 050-1 054. [李秀兰, 孙小秋, 王平荣, 等, 2010. 一个新的水稻黄绿叶突变体的遗传分析与基因定位 [J]. 作物学报, 39(6):1 050-1 054.]
- LI YH, WANG BH, DAI ZY, et al, 2011. Morphological structure and genetic mapping of a new leaf color mutant in rice [J]. Chin J Rice Sci, 25(6):587-593. [李育红, 王宝和, 戴正元, 等, 2011. 一个水稻新型叶色突变体的形态结构与遗传定位 [J]. 中国水稻科学, 25(6):587-593.]
- LI YQ, PU X, LI CM, et al, 2014. Genetic identification and candidate gene analysis of yellow-green leaf mutant 507ys in rice [J]. Sci Agric Sin, 47(2):221-229. [李燕群, 蒲翔, 李春梅, 等, 2014. 水稻 507ys 黄绿叶突变体的遗传鉴定与候选基因分析 [J]. 中国农业科学, 47(2):221-229.]
- LICHTENTHALER HK, 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes [J]. Meth Enzymol, 148: 350-382.
- LIU CH, LI XY, ZHANG JH, et al, 2012. Characteristics and molecular mapping of a novel chlorophyll-deficient yellow-leaf mutant in rice [J]. Hereditas (Beijing), 34(2):223-229. [刘朝辉, 李小红, 张建辉, 等, 2012. 一个新的水稻叶绿素缺失黄叶突变体的特征及基因分子定位 [J]. 遗传, 34(2):223-229.]
- NAGATA N, TANAKA R, SATOH S, et al, 2005. Identification of a vinyl reductase gene for chlorophyll synthesis in *Arabidopsis thaliana* and implications for the evolution of prochlorococcus species [J]. Plant Cell, 17:233-240.
- NAKANISHI H, NOZUE H, SUZUKI K, et al, 2005. Characterization of the *Arabidopsis thaliana* mutant *pcb2* which accumulates divinyl chlorophylls [J]. Plant Cell Physiol, 46: 467-473.
- PANAUD O, CHEN X, MCCOUCH SR, 1996. Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice [J]. Mol Gen Genet, 252: 597-607.
- SATOH H, IWATA N, OMURA T, 1984. Linkage analysis in rice. On the loci of new virescent genes, *v-9(t)* and *v-10(t)* and *v-11(t)* [J]. Jpn J Breed, 34:286-287.
- SUN MM, HONG XT, LI GX, et al, 2006. Progress of genetic re-