

# OsGSK2 与 OsGLK1 互作调控水稻叶绿素合成与叶绿体发育

赵楚瑄, 纪晓楠, 刘梦雨, 韩丹, 许可可, 刘喜

(淮阴师范学院生命科学学院, 江苏淮安 223300)

**摘要:** 水稻是我国乃至世界最重要的粮食作物之一, 养育了全世界将近 50% 的人口。叶绿素是水稻光合作用的重要色素, 叶绿素的合成决定光合作用的效率, 影响着植物的产量和品质。在本研究中, 发现糖原合成酶激酶 OsGSK2 过表达 *Go-2* 植株成熟期呈现叶片深绿色的表型。相比野生型, *Go-2* 植株叶绿素含量显著升高, 叶绿体类囊体片层增多。酵母双杂交和双分子荧光互补实验证实 OsGSK2 与转录因子 OsGLK1。荧光定量 PCR 结果表明, OsGLK1 直接调控的靶基因 *OsPORB*、*OsCAO1*、*LHCB1* 等转录水平显著上调。研究结果初步揭示了 OsGSK2 与 OsGLK1 互作调控水稻叶绿素合成和叶绿体发育的分子机理, 进一步拓展了水稻糖原合成酶激酶的分子功能, 丰富了水稻叶色调控的分子网络, 为水稻高光合分子育种提供了理论依据。

**关键词:** 水稻; OsGSK2; OsGLK1; 叶绿素合成; 叶绿体发育

## OsGSK2 Interacts with OsGLK1 to Regulate Chlorophyll Synthesis and Chloroplast Development in Rice

ZHAO Chuxuan, JI Xiaonan, LIU Mengyu, HAN Dan, XU Keke, LIU Xi

(School of Life Science, Huaiyin Normal University, Huai'an 223300, Jiangsu)

**Abstract:** Rice is one of the most important food crops in China and even the world, feeding nearly 50% of the world's population. Chlorophyll is an important pigment in rice photosynthesis, and its synthesis determines the efficiency of photosynthesis, ultimately affecting plant yield and quality. In this study, it was found that the glycogen synthase kinase OsGSK2 overexpressed *Go-2* plants exhibited a dark green leaf phenotype at heading date. Compared with the wild type, the chlorophyll contents of *Go-2* plants were significantly increased, and the thylakoid lamellae of chloroplasts were increased. Yeast two hybrid and bimolecular fluorescence complementary experiments confirmed that OsGSK2 interacts with the transcription factor OsGLK1. The fluorescence quantitative PCR results showed that the transcripts of OsGLK1 target genes (*OsPORB*, *OsCAO1*, *LHCB1*, etc) were significantly up-regulated. These results provided preliminarily insights on the molecular mechanism of the interaction between OsGSK2 and OsGLK1 in regulating rice chlorophyll synthesis and chloroplast development, extending the molecular function of rice glycogen synthase kinase, enriching the regulation network of rice leaf color, and providing theoretical basis for high photosynthetic molecular breeding in rice.

**Key word:** rice; OsGSK2; OsGLK1; chlorophyll synthesis; chloroplast development

水稻是我国乃至世界上最重要的粮食作物之一, 提供了全球近 50% 人口的来源。水稻增产对保障食物安全和人民生活水平具有极其重要的作用<sup>[1]</sup>。稻米的营养价值高, 含有碳水化合物, 蛋白质, 脂肪和灰分等成分。水稻可以适应多种生态环境并且水稻是一种高产作物, 它保障了粮食安全, 农民收入, 经济发展和社会稳定。

叶绿素在水稻中起着重要的调控作用, 涉及到光合作用、生长发育和环境适应等方面<sup>[2]</sup>。叶绿素是水稻光合作用的关键色素, 它能够吸收光能并转化为化学能以支持植物的生长和发育; 叶绿素通过吸收光能来保护其他叶绿素和光合色素免受过量光能的损伤; 叶绿素的合成和功能需要营养元素的支持, 特别是氮、铁和镁等元素。叶绿素对这些元素的吸收、转运和利用起到调控作用, 确保水稻植株的正常生长和光合作用的进行<sup>[3-4]</sup>。叶绿素的合成和调控涉及多个基因的参与: *Protochlorophyllide oxidoreductase* (*POR*)、

第一作者研究方向为水稻分子育种, E-mail: 1847549271@qq.com

通信作者: 刘喜, 研究方向为水稻遗传育种, E-mail: 1240623244@qq.com

**基金项目:** 江苏省自然科学基金 (BK20191055); 江苏高校“青蓝工程”优秀青年骨干教师; 江苏省大学生创新创业训练计划重点项目 (202210323029Z)

**Foundation projects:** Jiangsu Natural Science Foundation (BK20191055); Outstanding Young Backbone Teachers of the "Blue Project" in Jiangsu Universities; Jiangsu University Student Innovation Program (202210323029Z)

*Magnesium-chelatase subunit I* (*CHLI*)、*Geranylgeranyl reductase* (*GGR*)、*chlorophyll a oxygenase* (*CAO*) 等<sup>[5-6]</sup>。*POR* 基因编码光合体中的一个关键酶，参与叶绿素 a 的合成过程，它催化光合体中的光合色素前体原叶绿素酸转化为叶绿素 a<sup>[7]</sup>。*CHLI* 基因编码镁离子螯合酶复合物 I 亚基，参与叶绿素合成的第一个关键步骤<sup>[8]</sup>。*GGR* 基因参与叶绿素合成途径中色素的前体还原<sup>[9]</sup>。

*OsGSK2* 编码一个与拟南芥 *BIN2* 同源的类 *GSK3/SHAGGY* 激酶，广泛参与水稻油菜素内酯 (*BR*) 信号转导、株高、籽粒发育、种子萌发、抗病毒等多个细胞信号传导通路和生物学过程相关<sup>[10-12]</sup>。在水稻中，*OsGSK2* 过表达植株 *Go-1*、*Go-2* 均表现出叶色深绿、矮化、叶片直立、分蘖减少、抽穗延迟等表型<sup>[13]</sup>。研究者通过生物化学、分子生物学等技术手段筛选到 10 余个 *OsGSK2* 的互作蛋白 (*DLT*、*RLA1/SMOS1*、*OML4*、*OsBZR1* 等)，揭示了 *OsGSK2* 在水稻株型、籽粒大小、抗病毒病等的调控机制<sup>[14-15]</sup>。然而，*OsGSK2* 在水稻叶绿素合成和叶绿体发育过程中的作用机制仍是未知的。

相比 *Go-1*，在 *Go-2* 植株中 *OsGSK2* 的表达水平更高，叶色深绿表型更为显著<sup>[13]</sup>。本研究拟通过 *OsGSK2* 过表达植株 *Go-2* 叶色表型观察、叶绿素含量测定、叶绿体透射电镜观察、*OsGSK2* 互作蛋白筛选、基因表达分析等方法明确 *OsGSK2* 在水稻叶绿素合成和叶绿体发育过程中的作用，初步揭示其调控叶色的分子机理，拓展了 *OsGSK2* 的分子功能，为水稻高光合育种提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 水稻材料

研究材料：粳稻中花 11 和 *OsGSK2* 过表达植株 *Go-2*<sup>[13]</sup>。*GO-2* 来自于中国农业科学院童红宁研究员的赠与。所有水稻材料种植淮阴师范学院生物科技园内。

### 1.2 叶绿素含量测定

叶绿素含量测定：在成熟期，剪取野生型和过表达植株 *Go-2* 叶片各 0.1g，置于 95% 无水乙醇中，黑暗放置 48 h，利用双通道紫外分光光度计测定在 663、645、470 nm 波长下的吸光值，具体叶绿素含量测定方法参考许子怡等<sup>[16]</sup>，设置 3 个生物学重复。

### 1.3 透射电镜观察

在成熟期，取田间生长的野生型和过表达植株 *Go-2* 叶片，置于 2.5% 戊二醛固定液中，抽真空 2 h，而后置于 4℃ 保存。将固定好的样品避光送至青岛科创质量检测有限公司进行后续样品的处理和透射电镜观察。

### 1.4 互作载体构建

酵母双杂交：设计引物分别扩增基因 *OsGSK2* 与 *OsGLK1* 的全长编码区，并利用限制性内切酶 *EcoRI/BamHI* 酶切载体 pGBKT7 与 pGADT7。利用南京诺唯赞生物科技股份有限公司研发的重组试剂盒 (#C112-01) 进行片段和载体融合，而后转化大肠杆菌，测序鉴定阳性克隆。

双分子荧光互补：设计引物分别扩增基因 *OsGSK2* 与 *OsGLK1* 的编码区（去除终止密码子），并用限制性内切酶 *PacI/SpeI* 酶切载体 p2YN 与 p2YC。重组载体融合与转化如上所述。载体构建所用引用引物序列如表 1 所示。

转录激活活性分析：设计引物分别扩增基因 *OsGSK2*、*OsGLK1* 的编码区（去除终止密码子）以及 ~2 kb 的 *OsHEMA* 启动子，并用限制性内切酶 *XbaI/BamHI* 酶切载体 pAN580 以 *PstI/SpeI* 酶切载体及 pGreen II 0800-LUC。重组载体融合与转化如上所述。载体构建所用引用引物序列如表 1 所示。

表 1 本研究构建载体所用引物序列

Table 1 Primers used in the construction of vectors in this study

引物名称 Primer name	正向引物 Forward primer sequence(5'→3')	反向引物 Revers primer sequence ( 5'→3' )
OsGLK1-AD	GGAGGCCAGTGAATTCATGCTTG CCGTGTCGCCGGC	CGAGCTCGATGGATCCTCATCCAC ACGCTGGAGGAA
OsGSK2-BD	CATGGAGGCCGAATTCATGGACC	GCAGGTCGACGGATCCTTAGCTCC

	AGCCGGCGCCGGC	CAGTATTGAAGA
OsGLK1-p2YC	CATTTACGAACGATAGTTAATTA AATGCTTGCCGTGTCGCCGGC	CACTGCCACCTCCTCCACTAGTTCC ACACGCTGGAGGAA
OsGSK2-p2YN	CATTTACGAACGATAGTTAATTA AATGGACCAGCCGGCGCCGGC	CACTGCCACCTCCTCCACTAGTGCT CCCAGTATTGAAGAA
OsGLK1-pAN580	CGGAGCTAGCTCTAGAATGCTTG CCGTGTCGCCGGC	TGCTCACCATGGATCCTCCACACG CTGGAGGAA
OsGSK2-pAN580	CGGAGCTAGCTCTAGAATGGACC AGCCGGCGCCGGC	TGCTCACCATGGATCCGCTCCCAG TATTGAAGA
OsHEMA-PRO-L UC	TTGATATCGAATTCCTGCAGCAA CGGCGCGAGAAAGGAAC	TAGAACTAGTGGATCCCAGATCAA GAAAGCACCAGC

## 1.5 酵母双杂交

将 OsGSK2-BD、AD、OsGLK1-AD、BD 等质粒进行组合，利用 Takara 酵母转化试剂盒 (#630439) 分别转入酵母感受态细胞 AH109 中，涂布于酵母缺陷培养基 (-Leu-Trp, DDO)，置于 30℃ 培养 2~3 d。每个组合挑选 3~5 个单克隆置于酵母筛选培养基 (-Ade/-His/-Leu/-Trp, QDO) 上 3~5 d，观察酵母生长情况。

## 1.6 双分子荧光互补 (BiFC)

将 OsGSK2-p2YN、OsGLK1-p2YC 等重组质粒转入农杆菌 EHA105 中，进而侵染一月龄的烟草，放置 2~3 d，利用激光共聚焦显微镜观察拍照。BiFC 具体操作步骤参考 Lan 等<sup>[17]</sup>。

## 1.7 转录激活活性分析

OsGLK1-pAN580、OsGSK2-pAN580、pAN580 质粒与 OsHEMA-PRO-LUC 进行组合，转化水稻原生质体，利用 Promega 双荧光素酶测定试剂盒 (#E1910) 检测 LUC 活性，设置 3 个生物学重复。具体操作参考 Promega 试剂盒说明书和 Zhang 等<sup>[18]</sup>。

## 1.8 RNA 提取

在成熟期，取野生型和过表达植株 *Go-2* 叶片，液氮研磨，置于 2.0 mL 离心管中，利用天根生化 RNA Easy Fast 植物组织 RNA 快速提取试剂盒 (#DP452) 提取 RNA，置于 -80℃ 保存备用。

## 1.9 荧光定量 PCR

以野生型和过表达植株 *Go-2* 叶片 cDNA 为模板，利用 TB Green® Premix Ex Taq™ (Tli RNaseH Plus, #RR420L, Takara) 试剂在伯乐 CFX96 荧光定量 PCR 仪进行荧光定量 PCR，设置 3 个生物学重复。以水稻内参基因 *UBQ* (*LOC\_Os03g13170*) 作为对照，基因表达所用引物如表 2 所示。叶绿素合成相关基因的表达分析引物参考 Zeng 等<sup>[19]</sup>。

表 2 基因表达水平分析所用引物

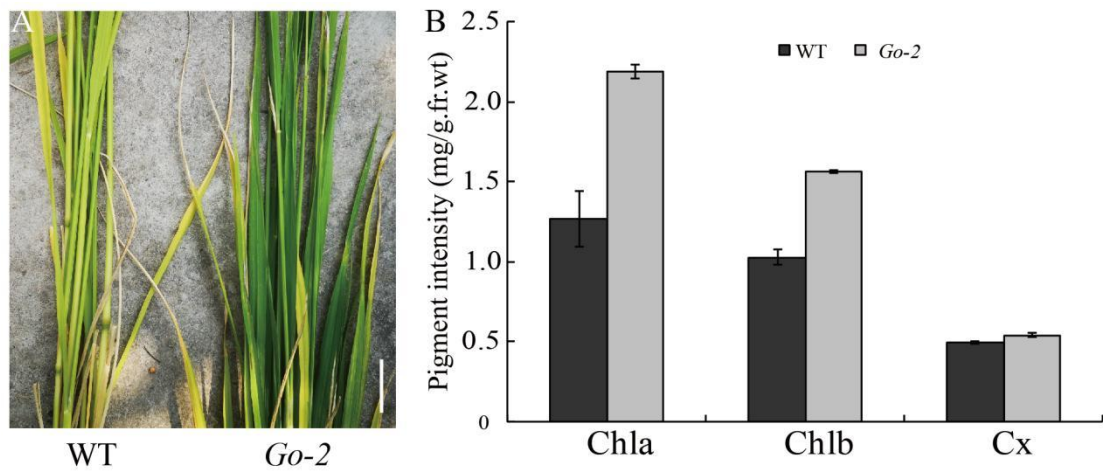
Table 2 Primers used for gene expression level analysis

基因名称 Gene name	正向引物 Forward primer sequence(5'→3')	反向引物 Revers primer sequence (5'→3')
<i>LHCB2</i>	ACCATGCGCCGCACCGTCAA	ATAGCCCCGCCGTGTCCCAC
<i>LHCA3</i>	ACCAAGAGCGAGGCGGAGATGA	TGGAACCTGAGGCTGGTGAGG
<i>LHCA1</i>	TGCTGGCTTTTGTGGGTTTC	ATGT
<i>LHCB6</i>	TGGCTCGCTCCCCGGTGACTT	TCTCGGGATGATGATGTCGC
<i>LHCB4</i>	AGCGCTTCCGCGAGTGCAGCTCAT	CTCCACGCCTGCCCGACGAA
<i>LHCA2</i>	AGAGCTTGCGGTGGAACGTG	TACGACGACCCATCCACCAG
		GGATGCCGATCTTGGTCAGG

## 2 结果与分析

### 2.1 *OsGSK2* 过表达植株 *Go-2* 表型分析

与野生型相比，*OsGSK2* 过表达植株 *Go-2* 在成熟期叶片深绿色（图 1A）。为进一步分析 *Go-2* 叶片深绿色的原因，在成熟期分别取野生型和 *Go-2* 的叶片，测定光合色素含量。如图 1B 所示，相比野生型，叶绿素 a、叶绿素 b 以及类胡萝卜素含量在过表达植株 *Go-2* 都显著升高。



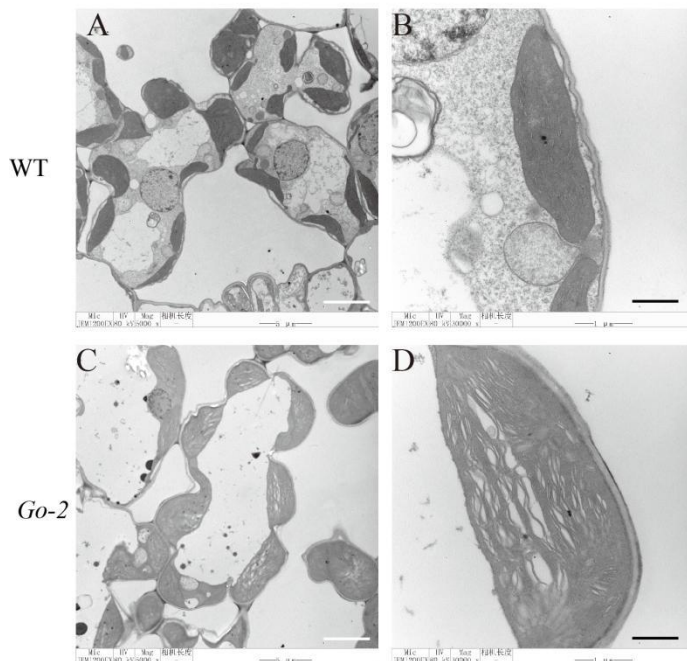
A: 在成熟期野生型和 *Go-2* 转基因植株表型。比例尺为 5 cm；B: 在成熟期野生型和 *Go-2* 转基因植株叶绿素含量测定  
A: At maturity, wild-type and *Go-2* transgenic plant phenotypes. Bars=5cm; B: Determination of chlorophyll content of wild-type and *Go-2* transgenic plants at maturity

图 1 *OsGSK2* 过表达植株 *Go-2* 成熟期叶色深绿

Fig.1 *OsGSK2* overexpressed plant *Go-2* with dark green leaves at maturity

## 2.2 透射电镜观察叶绿体形态结构

为了解 *OsGSK2* 基因是否影响水稻叶绿体发育，通过透射电镜观察成熟期野生型和 *Go-2* 剑叶叶绿体超微结构。如图 2 所示，相比野生型，*OsGSK2* 过表达植株叶绿体类囊体增多，基粒片层结构增多。



A-B: 野生型的叶绿体透射电镜观察。C-D: *Go-2* 的叶绿体透射电镜观察。A 与 C 标尺为 5  $\mu\text{m}$ ；B 与 D 标尺为 1  $\mu\text{m}$ 。

A-B: Transmission electron microscope observation of wild-type chloroplasts. C-D: Chloroplast observation of *Go-2* by transmission electron microscope. Bars=5  $\mu\text{m}$  in A and C; Bars=1  $\mu\text{m}$  in B and D.

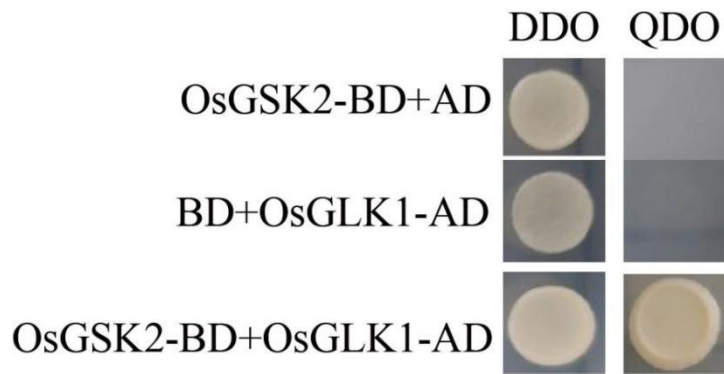
图 2 叶绿体透射电镜观察

Fig.2 Transmission electron microscopy observation of chloroplasts

### 2.3 OsGSK2 与 OsGLK1 互作

为深入解析 OsGSK2 调控水稻叶绿体发育和叶绿素合成的分子机理,利用酵母双杂交系统筛选 OsGSK2 的互作蛋白。利用实验室已构建好的 26 个叶绿素合成和叶绿体相关蛋白酵母载体,与 OsGSK2 进行酵母互作“一对一”筛选。如图 3 所示,转入 OsGSK2-BD+ OsGLK1-AD 质粒的酵母细胞在酵母筛选培养基上生长良好,而对照组不能正常生长。OsGLK1 编码一个 Golden2-Like 转录因子,参与控制叶绿体发育<sup>[20]</sup>。

为进一步验证 OsGSK2 与 OsGLK1 互作关系的真实性,构建了 OsGSK2 与 OsGLK1 双分子荧光互补载体,侵染烟草,通过激光共聚焦显微镜观察荧光信号,从而确定 OsGSK2 与 OsGLK1 的互作。如图 4 所示,在烟草细胞中,可以观察到 OsGSK2 与 OsGLK1 组合的荧光信号,而对照组没有荧光。上述结果显示,OsGSK2 与 OsGLK1 存在互作关系。

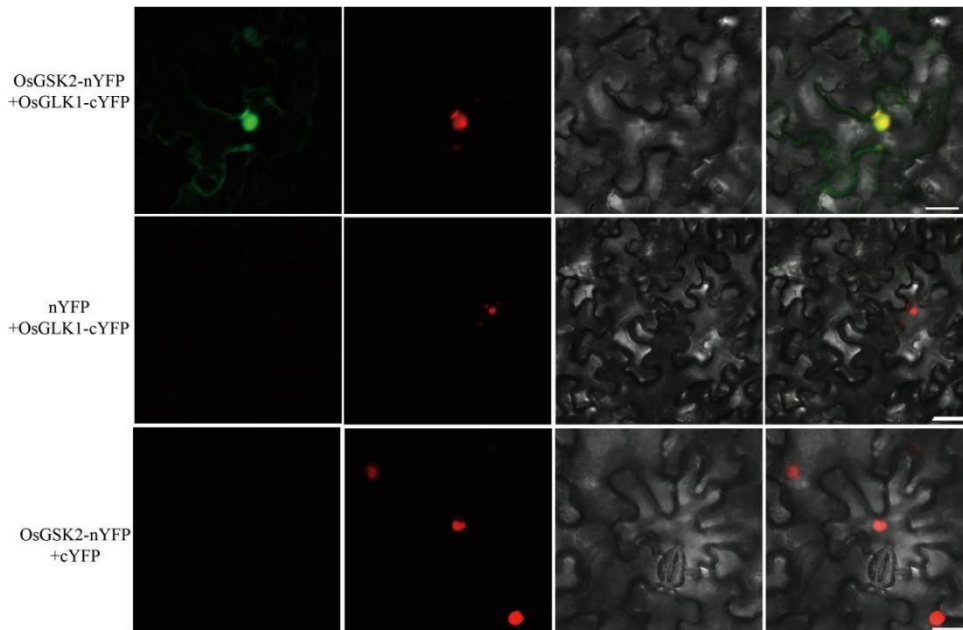


DDO: 酵母基础培养基; QDO: 酵母选择培养基

DDO: Yeast basic culture medium; QDO: Yeast selection medium

图 3 酵母双杂交分析

Fig.3 Yeast two hybrid analysis



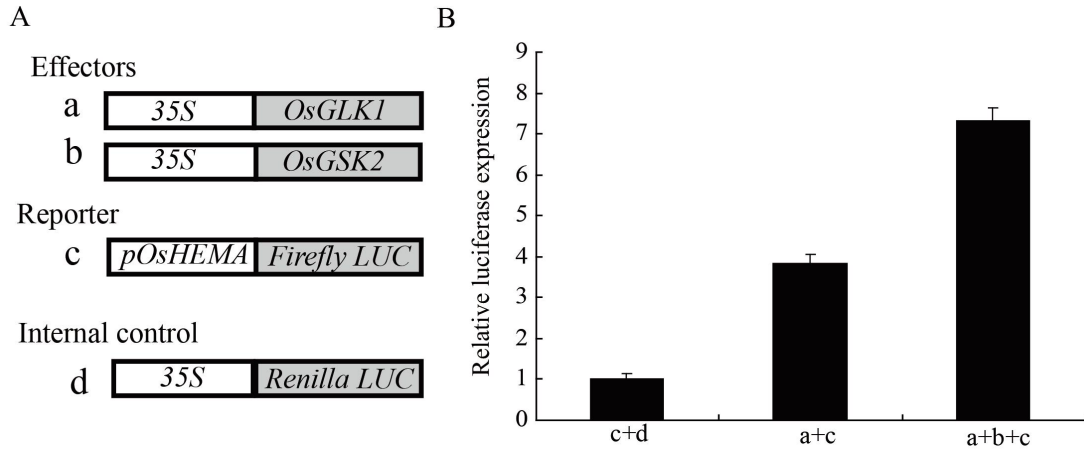
比例尺为 10 μm

Bars=10 μm

图 4 双分子荧光互补分析

Fig.4 Bimolecular fluorescence complementary analysis

为进一步探究 OsGSK2 与 OsGLK1 互作的生物学意义,通过荧光素酶活性检测分析 OsGSK2 与 OsGLK1 互作对其转录活性的影响。如图 5 所示,相比对照, OsGLK1 可以显著激活 *OsHEMA* 的表达;当 OsGSK2 与 OsGLK1 同时存在时, *OsHEMA* 的表达更高。上述结果表明, OsGSK2 与 OsGLK1 互作增强 OsGLK1 的转录活性。



A: 转录活性检测过程中使用的载体构建示意图; B: 转录活性检测。设置 3 次生物学重复

A: Schematic diagram of vector construction used for transactivation assays; B: Transcription activity detection. Three biological replicates were performed

图 5 *OsGLK1* 转录活性分析

Fig.5 *OsGLK1* transcription activity analysis

## 2.4 叶绿素合成基因表达分析

前期研究, OsGLK1 可以直接结合叶绿素合成基因 *OsPORB*、*OsCAOI* 的启动子, 进而正调控其表达<sup>[21]</sup>。利用荧光定量 PCR 分析了叶绿素合成相关基因 *OsHEMA*、*OsPORB*、*OsCAOI* 在野生型和 *OsGSK2* 过表达植株 *Go-2* 中的表达情况。相比野生型, *OsHEMA*、*OsPORB*、*OsCAOI* 的表达水平在 *OsGSK2* 过表达植株 *Go-2* 中显著升高(图 6)。上述结果表明, *OsGSK2* 过表达激活了叶绿素合成基因的表达。

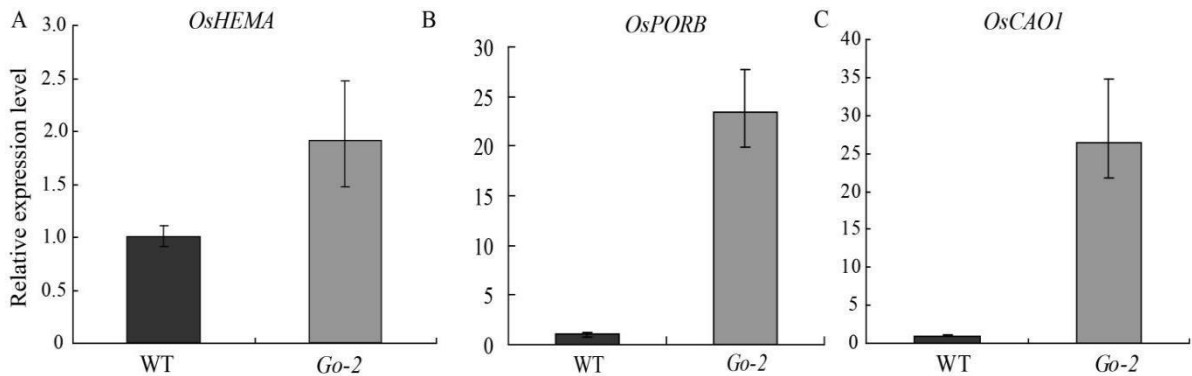


图 6 叶绿素合成基因表达分析

Fig.6 The expression level of chlorophyll synthesis genes

## 2.5 光合作用相关基因表达分析

转录因子 OsGLK1 直接调控 7 个光捕获复合体亚基(*LHCB1*、*LHCB6*、*LHCB2*、*LHCB4*、*LHCA1*、*LHCA2*、*LHCA3*) 的表达, 控制水稻叶绿体发育<sup>[21]</sup>。相比野生型, *LHCB6*、*LHCB4*、*LHCA2*、*LHCB2*、*LHCA3*、*LHCA1*

的表达水平在过表达植株 *Go-2* 中均显著提高（图 7）。

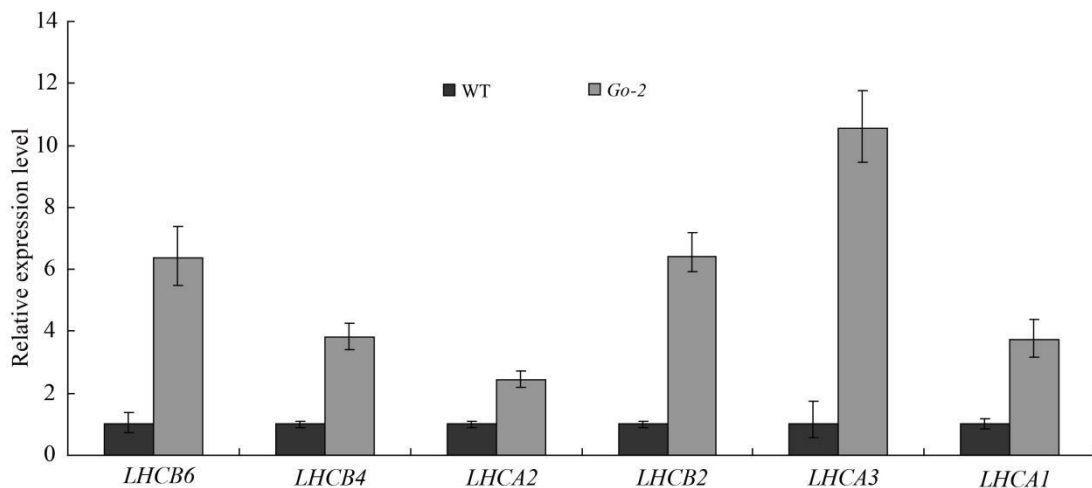


图 7 光合作用相关基因表达分析

Fig.7 The expression level of genes related to photosynthesis

### 3 讨论

水稻是世界上最重要的粮食作物之一，也是世界上超过半数人口的主要粮食来源之一。水稻既可以作为食物，也可以用于生物燃料和工业原料的生产<sup>[22]</sup>。水稻在食物安全、经济发展、能源和工业生产以及生态系统保护方面都具有重要性<sup>[23]</sup>。叶绿体是水稻最重要的光合器官，直接关联水稻产量。因此，挖掘水稻叶绿体相关基因具有重要的科学价值和经济价值。

叶色相关突变体是研究水稻叶绿素合成和叶绿体发育的理想材料<sup>[24]</sup>。目前，在水稻中已经克隆鉴定出超过 120 个叶色相关基因，初步揭示了水稻叶绿素合成和叶绿体发育的分子机制<sup>[24-25]</sup>。前期研究表明，糖原合成酶激酶基因 *OsGSK2* 过表达植株叶片表现出深绿色的表型<sup>[13]</sup>。然而，*OsGSK2* 参与调控水稻叶色的分子机理仍是未知的。

在本研究中，*OsGSK2* 过表达植株 *Go-2* 成熟期叶片呈现深绿色，叶绿素含量显著升高，叶绿体类囊体片层结构增多，证明了 *OsGSK2* 正调控水稻叶绿素合成和叶绿体发育。酵母双杂交、双分子荧光互补以及荧光素酶活性检测实验证实 *OsGSK2* 与 Golden2 -Like 转录因子 *OsGLK1* 互作，并增强 *OsGLK1* 的转录活性。此外，*OsGLK1* 下游靶基因 (*OsPORB*、*OsCAO1*、*LHCB1* 等) 的转录水平在 *Go-2* 植株体内显著上调。*OsPORB* 是水稻中的 NADPH:原叶绿素酸酯氧化还原酶 B，催化叶绿素合成中的原叶绿素酸酯光还原成叶绿素酸酯，受高光诱导迅速上调表达，是维持依赖光的叶绿素合成所必需的<sup>[26]</sup>。*OsPORB* 突变体叶呈淡绿色，叶绿素 a、b 以及类胡萝卜素含量显著降低，株高矮化，提前衰老<sup>[26]</sup>。*OsCAO1* 是叶绿素 a 加氧酶基因，催化叶绿素 a 合成叶绿素 b，其突变体表现出叶色变淡、株高变矮的表型<sup>[27-28]</sup>。综上，*OsGSK2* 通过与 *OsGLK1* 互作，进而增强 *OsGLK1* 的转录激活活性，促进下游叶绿素合成和叶绿体发育相关基因的表达，进而调控水稻叶色。

### 参考文献

[1]黄欣乐,郑百龙.产量及面积视角的中国水稻生产变动.江苏农业科学, 2020, 48(2):311-316

Huang X L, Zheng B L. Changes in rice production in China from the perspective of yield and area. Jiangsu Agricultural Science, 2020, 48 (2): 311-316

[2]杨颜榕, 黄纤纤, 赵亚男, 汤佳玉, 刘喜. 水稻叶色基因克隆与分子机制研究进展.植物遗传资源学报, 2020, 21(4):794-803

Yang Y R, Huang Q Q, Zhao Y N, Tang J Y, Liu X. Advances on gene isolation and molecular mechanism of rice leaf color genes. Journal of Plant Genetic Resources, 2020, 21(4):794-803

- [3]李佳佳, 于旭东, 蔡泽坪, 吴繁花, 罗佳佳, 郑李婷, 楚文清. 高等植物叶绿素生物合成研究进展. 分子植物育种, 2019, 17(18):6013-6019  
Li J J, Yu X D, Cai Z P, Wu F H, Luo J J, Zheng L T, Chu W Q. An overview of chlorophyll biosynthesis in higher plants. *Molecular Plant Breeding*, 2019, 17(18):6013-6019
- [4]于宇璇, 刘储睿, 唐文竹. 利用蛋白质组学技术探究叶绿素含量对植物生长的影响. 质谱学报, 2023, 44(4):545-555  
Yu Y X, Liu C R. Exploring the effect of chlorophyll content on plant growth using proteomics techniques. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2023, 44 (4): 545-555
- [5]董书琦, 陈达, 秦巧平, 吴国平, 张志国, 倪迪安. 高等植物叶绿素和类胡萝卜素代谢研究进展. 植物生理学报, 2023, 59(5):793-802  
Dong S Q, Chen D, Qin Q P, Wu G P, Zhang Z G, Ni D A. Advances in metabolism of chlorophylls and carotenoids in higher plants. *Plant Physiology Journal*, 2023, 59(5):793-802
- [6]李根, 张成, 王强, 王科, 刘思汐, 杨 勋, 吴继开, 卿秋静. 植物叶绿素代谢途径及其分子调控. 四川农业科技, 2021(4):41-45  
Li G, Zhang C, Wang Q, Wang K, Liu S X, Yang X, Wu J K, Qing Q J. Plant chlorophyll metabolism pathway and its molecular regulation. *Sichuan Agricultural Science and Technology*, 2021 (4): 41-45
- [7]Liang M, Gu D, Lie Z, Yang Y, Lu L, Dai G, Peng T, Deng L, Zheng F, Liu X. Regulation of chlorophyll biosynthesis by light-dependent acetylation of NADPH:protochlorophyll oxidoreductase A in *Arabidopsis*. *Plant Science*, 2023, 330:111641
- [8]Ma Y Y, Shi J C, Wang D J, Liang X, Wei F, Gong C M, Qiu L J, Zhou H C, Folta K M, Wen Y Q, Feng J Y. A point mutation in the gene encoding magnesium chelatase I subunit influences strawberry leaf color and metabolism. *Plant Physiology*, 2023, 192(4):2737-2755
- [9]Zhou F, Wang C Y, Gutensohn M, Jiang L, Zhang P, Zhang D, Dudareva N, Lu S. A recruiting protein of geranylgeranyl diphosphate synthase controls metabolic flux toward chlorophyll biosynthesis in rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114 (26):6866-6871
- [10]He Y, Hong G, Zhang H, Tan X, Li L, Kong Y, Sang T, Xie K, Wei J, Li J, Yan F, Wang P, Tong H, Chu C, Chen J, Sun Z. The OsGSK2 kinase integrates brassinosteroid and jasmonic acid signaling by interacting with OsJAZ4. *Plant Cell*, 2020, 32(9):2806-2822
- [11]Hu J, Huang J, Xu H, Wang Y, Li C, Wen P, You X, Zhang X, Pan G, Li Q, Zhang H, He J, Wu H, Jiang L, Wang H, Liu Y, Wan J. Rice stripe virus suppresses jasmonic acid-mediated resistance by hijacking brassinosteroid signaling pathway in rice. *PLoS Pathogens*, 2020, 16(8):e1008801
- [12]Mao J, Li W, Liu J, Li J. Versatile physiological functions of plant GSK3-like kinases. *Genes (Basel)*. 2021, 12(5):697
- [13]Tong H, Liu L, Jin Y, Du L, Yin Y, Qian Q, Zhu L, Chu C. DWARF AND LOW-TILLERING acts as a direct downstream target of a GSK3/SHAGGY-like kinase to mediate brassinosteroid responses in rice. *Plant Cell*. 2012, 24(6):2562-2577
- [14]Song Y, Wang Y, Yu Q, Sun Y, Zhang J, Zhan J, Ren M. Regulatory network of GSK3-like kinases and their role in plant stress response. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14:1123436
- [15]Youn J H, Kim T W. Functional insights of plant GSK3-like kinases: multi-taskers in diverse cellular signal transduction pathways. *Molecular Plant*, 2015, 8(4): 552-565
- [16]许子怡, 程行, 沈奇, 赵亚男, 汤佳玉, 刘喜. 水稻黄绿叶突变体 *yg13* 的鉴定与基因功能分析. 中国农业科学, 2021, 54(15):3149-3157  
Xu Z Y, Cheng H, Shen Q, Zhao Y N, Tang J Y, Liu X. Identification and gene functional analysis of yellow green leaf mutant *yg13* in rice. *Scientia Agricultura Sinica*, 2021, 54(15):3149-3157



- [17]Lan J, Lin Q, Zhou C, Liu X, Miao R, Ma T, Chen Y, Mou C, Jing R, Feng M, Nguyen T, Ren Y, Cheng Z, Zhang X, Liu S, Jiang L, Wan J. *Young Leaf White Stripe* encodes a P-type PPR protein required for chloroplast development. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2023, 65(7):1687-1702
- [18]Zhang C, Zhang J, Tang Y, Liu K, Liu Y, Tang J, Zhang T, Yu H. DEEP GREEN PANICLE1 suppresses GOLDEN2-LIKE activity to reduce chlorophyll synthesis in rice glumes. *Plant Physiology*, 2021, 185(2):469-477
- [19]Zeng Z Q, Lin T Z, Zhao J Y, Zheng T H, Xu L F, Wang Y H, Liu L L, Jiang L, Chen S H, Wan J M. *OsHemA* gene, encoding glutamyl-tRNA reductase (GluTR) is essential for chlorophyll biosynthesis in rice (*Oryza sativa*). *Journal of Integrative Agriculture*, 2020, 19(3):612-623
- [20]Nakamura H, Muramatsu M, Hakata M, Ueno O, Nagamura Y, Hirochika H, Takano M, Ichikawa H. Ectopic overexpression of the transcription factor *OsGLK1* induces chloroplast development in non-green rice cells. *Plant Cell and Physiology*, 2009, 50(11):1933-1949
- [21]Sakuraba Y, Kim E Y, Han S H, Piao W, An G, Todaka D, Yamaguchi-Shinozaki K, Paek N C. Rice Phytochrome-Interacting Factor-Like1 (*OsPIL1*) is involved in the promotion of chlorophyll biosynthesis through feed-forward regulatory loops. *Journal of Experimental Botany*, 2017, 68(15):4103-4114
- [22]Yu H, Hu M, Hu Z, Liu F, Yu H, Yang Q, Gao H, Xu C, Wang M, Zhang G, Wang Y, Xia T, Peng L, Wang Y. Insights into pectin dominated enhancements for elimination of toxic Cd and dye coupled with ethanol production in desirable lignocelluloses. *Carbohydrate Polymers*, 2022, 286:119298
- [23]文杜娟, 陈风波. 杂交水稻种植对社会经济的影响. *作物研究*, 2014, 28(4):402-405  
Wen D J, Chen F B. The social and economic impact of hybrid rice planting. *Crop Research*, 2014, 28 (4): 402-405
- [24]徐明远, 何鹏, 赖伟, 陈梁海, 戈伶俐, 刘世强, 杨寅桂. 植物叶色变异分子机制研究进展. *分子植物育种*, 2021, 19(10):3448-3455  
Xu M Y, He P, Lai W, Chen L H, Ge L L, Liu S Q, Yang Y G. Advances in molecular mechanism of plant leaf color variation. *Molecular Plant Breeding*, 2021, 19(10):3448-3455
- [25]戴若惠, 钱心好, 孙静蕾, 芦涛, 贾绮玮, 陆天麒, 路梅, 饶玉春. 水稻叶色调控机制及相关基因研究进展. *植物学报*, 2023, 1-14  
Dai R H, Qian X Y, Sun J L, Lu T, Jia Q W, Lu T Q, Lu M, Rao Y C. Research progress on the mechanism of leaf color regulation and related genes in rice. *Chinese Bulletin of Botany*, 2023, 1-14
- [26]Kang S J, Fang Y X, Zou G X, Ruan B P, Zhao J, Dong G J, Yan M X, Gao Z Y, Zhu L. *White-Green Leaf Gene* encoding protochlorophyllide oxidoreductase B is involved in chlorophyll synthesis of rice. *Crop Science*, 2015, 55(1): 284-293
- [27]Yang Y, Xu J, Huang L, Leng Y, Dai L, Rao Y, Chen L, Wang Y, Tu Z, Hu J, Ren D, Zhang G, Zhu L, Guo L, Qian Q, Zeng D. *PGL*, encoding chlorophyllide a oxygenase 1, impacts leaf senescence and indirectly affects grain yield and quality in rice. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(5):1297-310
- [28]Lee S, Kim J H, Yoo E S, Lee C H, Hirochika H, An G. Differential regulation of chlorophyll a oxygenase genes in rice. *Plant Molecular Biology*, 2005, 57(6):805-818