



植物遗传资源学报

Journal of Plant Genetic Resources

ISSN 1672-1810, CN 11-4996/S

《植物遗传资源学报》网络首发论文

题目：番茄叶色基因 *Slhc1* 精细定位及候选基因分析
作者：阮美颖，柴亚倩，周国治，王荣青，叶青静，万红建，姚祝平，李志邈，程远
DOI：10.13430/j.cnki.jpgr.20240320004
网络首发日期：2024-11-07
引用格式：阮美颖，柴亚倩，周国治，王荣青，叶青静，万红建，姚祝平，李志邈，程远. 番茄叶色基因 *Slhc1* 精细定位及候选基因分析[J/OL]. 植物遗传资源学报. <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240320004>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

番茄叶色基因 *Sllc1* 精细定位及候选基因分析

阮美颖¹, 柴亚倩^{1,2}, 周国治¹, 王荣青¹, 叶青静¹, 万红建¹, 姚祝平¹, 李志邈¹, 程远¹

(¹浙江省农业科学院蔬菜研究所, 杭州 310021; ²石河子大学农学院, 石河子 832003)

摘要: 叶色突变体作为厘清植物叶绿素生物合成及叶绿体发育机制的重要工具, 对于探究植物生长发育进程具有重要意义。本研究以绿色叶片番茄材料 CR11A 和浅黄色叶片番茄材料 CH09-805 为亲本, 通过构建遗传群体明确叶色的遗传规律; 对不同叶色植株开展叶片叶绿体超微结构观测及叶绿素含量测定, 并进一步利用 BSA-Seq 及分子标记筛选进行叶色基因定位, 开展候选基因分析。研究结果表明 F₁ 植株叶片为绿色、F₂ 群体植株叶片出现 12 (绿色):3 (浅黄色):1 (金黄色) 的分离比, 说明番茄叶色性状受两对基因控制且存在显性上位效应; 通过叶绿体超微结构观测及叶绿素含量测定, 发现金黄色叶片叶绿体超微结构严重受损, 其叶绿素含量显著低于浅黄色叶片与绿色叶片; 利用 BSA-Seq 及分子标记筛选将番茄叶色基因 *Sllc1* 定位于 7 号染色体 114.53 kb 的物理距离, 候选区间内包括 13 个注释基因, 结合基因注释信息及表达量鉴定, 推测 *Solyc07g053630* 与 *Solyc07g053640* 为 *Sllc1* 的候选基因。本研究获得番茄叶色的候选基因, 为番茄叶色形成分子机制解析奠定重要的材料基础及基因资源。

关键词: 番茄; 叶色; BSA-Seq; 分子标记; 候选基因

*Fine-mapping and Candidate Gene Analysis of Tomato Leaf Color Gene *Sllc1**

Ruan Meiyang¹, Chai Yaqian^{1,2}, Zhou Guozhi¹, Wang Rongqing¹, Ye Qingjing¹, Wan Hongjian¹, Yao Zhuping¹, Li Zhimiao¹, Cheng Yuan¹

(¹Institute of Vegetables, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021; ²College of Agriculture, Shihezi University, Shihezi 832003, Xinjiang)

Abstract: Leaf color mutants are valuable tools for elucidating the mechanisms of chlorophyll biosynthesis and chloroplast development, and they play a significant role in understanding plant growth and development processes. In this study, green-leafed tomato material CR11A and yellow-leafed tomato material CH09-805 were used as parents to construct a genetic population to clarify the genetic rules of leaf color. Leaf chloroplast ultrastructure observation and chlorophyll content determination were performed on plants with different leaf colors. Furthermore, BSA-Seq and molecular marker screening were used for leaf color gene mapping and candidate gene analysis. The results showed that the F₁ plants had green leaves, and the F₂ population exhibited a segregation ratio of 12(green): 3(yellow): 1(golden), indicating that tomato leaf color traits are controlled by two pairs of genes with dominant epistasis. Observation of chloroplast ultrastructure and determination of chlorophyll content revealed that the chloroplast ultrastructure of golden yellow leaves was severely damaged, and their chlorophyll content was significantly lower than that of pale yellow and green leaves. Using BSA-Seq and molecular marker screening, the tomato leaf color gene *Sllc1* was mapped to a 114.53 kb physical distance on chromosome 7. The candidate interval included 13 annotated genes. Based on gene annotation information and expression

第一作者研究方向为茄果类蔬菜新品种选育研究, E-mail: ruanmy@zaas.ac.cn; 柴亚倩为共同第一作者

通信作者: 程远, 研究方向为番茄、辣椒育种技术研究, E-mail: chengyuan@zaas.ac.cn

基金项目: 浙江省农业(蔬菜)新品种选育重大科技专项(2021C02065); 国家自然科学基金(32341044); 国家现代农业产业技术体系资助(CARS-23-G44); 浙江省重点研发计划项目(2024C02003, 2021C02052)

Fundation Projects: Zhejiang Province Agricultural (Vegetable) New Varieties Breeding Major Science and Technology Project (2021C02065); National Natural Science Foundation of China (32341044); National Modern Agricultural Industry Technology System Support (CARS-23-G44); Zhejiang Key Research and Development Project (2024C02003, 2021C02052)

identification, *Solyc07g053630* and *Solyc07g053640* were identified as candidate genes for *Sllc1*. This study identified candidate genes for tomato leaf color, providing important material and gene resources for elucidating the molecular mechanisms of tomato leaf color formation.

Key words: tomato; leaf color; bsa-seq; molecular marker; candidate gene

叶片是植物光合作用的主要器官, 直接影响光合效率, 进而影响植物的生长发育与产量形成^[1]。叶色突变主要是由控制叶绿体发育与光合色素等合成相关基因突变而导致, 这些基因的变异将直接或间接影响光合色素的合成与降解^[2]。叶色突变体可作为探讨叶绿体超微结构^[1]、光合色素合成与降解等相关基因表达与调控的重要材料^[3-4]; 亦可用于杂交制种与种子纯度鉴定, 降低生产成本^[5]。

目前, 园艺作物叶色突变研究已取得较多进展。Su 等^[6]利用 BSA-Seq 和 RNA-Seq 克隆到 4 个调控生菜叶色的基因, 其中 bHLH 转录因子突变导致花青素代谢途径被阻断而产生绿色叶片; 其他 3 个基因 (*R2R3-MYB*、*R3-MYB*、*WD-40*) 突变会促进花青素积累, 进而表现出不同的叶片色泽。Zhang 等^[7]利用正向遗传学克隆到控制莴苣叶色的基因 *LsGLK*, 发现其下游 CACTA 转座子插入导致可变剪切事件的发生, 导致浅绿色莴苣的形成。黄瓜中存在一种叶色突变体 *SC3IIY*, 与正常叶片相比, 其叶片的叶绿体类囊体片层排列紊乱、数量少且层次不清, 且其内部有较多空小泡且无明显的淀粉粒; 进一步定位到叶色突变基因 *Csa3G042730*, 推测出该基因可能通过调控叶绿体分裂相关蛋白影响叶绿体发育导致黄瓜黄色真叶形成^[8]。通过大白菜突变体库筛选出一种高光合效率、叶绿素积累及叶色更深的突变体, 遗传分析发现该叶色深绿突变性状由单基因控制; 结合 MutMap 明确该叶色突变基因为 *BrFC2*, 其保守结构域发生单碱基突变 (*dBrFC2*), 过表达该突变基因则出现叶色深绿表型且血红素和叶绿素含量同时提高^[9]。Liu 等^[10]通过对辣椒光敏感突变体 *yl1* 及其野生型 6421 在不同光照条件下的表型和生化分析, 发现光照强度可影响类胡萝卜素生物合成, bHLH71-like 转录因子在辣椒叶片黄化过程中发挥正向调控作用。园艺作物叶色突变研究可为深入解析叶色突变分子机制奠定理论基础, 为园艺作物的遗传改良与品种选育提供新的策略。

作为园艺作物研究的模式植物, 番茄 (*Solanum lycopersicum*) 在世界范围内广泛栽培。目前, 关于番茄色泽研究集中于果实、叶脉及叶片。Liu 等^[11]研究发现番茄中调控叶绿素合成和叶绿体发育的关键基因 *SIRCM1*, 该基因编码的蛋白质 Lutescent1 对番茄果实的叶绿素合成和叶绿体发育起着重要作用。Lu 等^[12]综合运用全基因组关联分析和基因定位, 锁定一个调控叶脉明暗的主要候选基因 *Solyc05g054030*, 采用 CRISPR/Cas9 技术及过表达验证该基因为番茄叶脉中特异性表达且调控叶脉明暗的关键基因。关于番茄叶色的研究, 有研究表明叶绿体结构受损、色素含量降低及低水平的活性氧清除能力是导致番茄叶片黄化突变的主要因素^[1]; Song 等^[13]鉴定到一个类囊体及光合作用表现缺陷的番茄斑叶突变体, 经基因定位、表达量分析及 CRISPR/Cas9 技术确定 *vg* 基因的下调表达是导致番茄杂色叶表型出现的原因, *vg* 在番茄叶绿体发育、叶绿素合成及光合作用中发挥重要作用。

本研究以绿色叶片及浅黄色叶片番茄为试验材料, 通过构建遗传群体明确叶色基因的遗传规律; 利用叶绿体超微结构观测及叶绿素含量分析明确番茄叶片颜色变异的生理生化机制; 利用 BSA-Seq 及分子标记

筛选定位番茄叶色基因，结合基因组注释信息及候选基因变异分析，明确 *Sllc1* 的候选基因。研究结果为后续基因功能验证及其分子机制解析奠定重要基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

分别以绿色叶片番茄材料 CR11A 为母本 (P_1)、浅黄叶片番茄材料 CH09-805 为父本 (P_2) 构建 F_1 及 F_2 群体。于 2022 年春季种植于浙江省农业科学院杨渡科研创新基地，其中， F_2 群体为 415 株，株距为 40 cm，行距为 50 cm，每畦两行种植，采用常规管理方法进行田间管理。

1.2 番茄幼苗叶片叶绿素含量测定

分别取双亲、 F_1 及 F_2 群体（绿色、浅黄色、金黄色）叶片（去除叶脉）约 1.0 g 于液氮中研磨至匀浆；利用 10 mL 无水乙醇抽提样品，样品变白后过滤，最终用无水乙醇定容至 30 mL；以无水乙醇为空白对照，使用分光光度计在 649 nm 和 655 nm 下测定吸光值。

叶绿素 a = $0.03 (13.7D_{665} - 5.76D_{649})$ ；

叶绿素 b = $0.03 (25.8D_{649} - 7.6D_{665})$ ；

总叶绿素 = $0.03 (\text{叶绿素 a} + \text{叶绿素 b})$ ；

其中，叶绿素 a 表示叶绿素 a 的含量；叶绿素 b 表示叶绿素 b 的含量；总叶绿素表示总叶绿素的含量。利用 Microsoft Excel 2003 进行数据整理，采用 R 4.3.1 进行数据分析 ($P < 0.05$)，利用 Origin 2023 绘图。

1.3 番茄幼苗叶片叶绿体超微结构观测

分别取 F_2 群体的绿色、浅黄色及金黄色叶片，用 2.5% (v/v) 戊二醛溶液固定，0.1 mol/L PBS 缓冲液冲洗；1.0% (v/v) 四氧化锇固定，再次用 PBS 缓冲液 (0.1 mol/L) 冲洗；最后乙醇分级脱水，Spurr 试剂盒（美国 Electron Microscopy Sciences 公司）进行包埋，70°C 聚合剂聚合。利用 Leica UC6 超微切片仪（Leica, Wetzlar, Germany）切片，室温下，用醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色，最后在 H7650 显微镜（HITACHI, Tokyo, Japan）下观察叶绿体超微结构。

1.4 番茄叶片颜色性状调查与统计

植株四片真叶期，对亲本及 F_2 群体中单株番茄叶色进行表型数据统计和拍照，经卡方检验，分析 F_2 群体中的叶片颜色分离比。

1.5 BSA 混池构建与测序

采用 CTAB 法从亲本及 F_2 植株的叶片中提取基因组 DNA^[14]。从 F_2 群体中构建三个 DNA 混池，即绿色叶片池 (F_2 -N)、浅黄色叶片池 (F_2 -Y) 和金黄色叶片池 (F_2 -G)。取每个样本至少 1 μ g 基因组 DNA 用于 Illumina 测序的文库构建。根据说明使用 Illumina TruSeq Nano DNA 样品试剂盒（Illumina, San Diego, USA）构建大小约为 450 bp DNA 片段插入双末端测序文库。利用 TBS380（Invitrogen, CA, USA）检测 DNA 质量，库的测序工作由南京集思慧远生物科技有限公司完成，使用 Illumina Novaseq 6000 平台进行双端 150 bp 的测序。

利用 Trimmomatic 默认参数对原始配对末端读数进行处理和质量控制^[15]。使用 BWA 软件将高质量的

测序读数与番茄参考基因组进行比对^[16]。通过 Picard 工具去除 PCR 重复读数后，使用自定义 Perl 脚本计算测序深度和覆盖率。利用 GATK 软件对有效的 BAM 文件进行 SNPs 和 InDels 检测^[17]。随后，通过质量过滤生成变异调用格式（VCF）文件，使用 VCFtools 对 vcf 文件进行过滤^[18]。利用 ANNOVAR 对检测到的变异（SNP 和 InDels）进行注释^[19]。去除小于 0.3 或大于 0.7 的两个批量中的 SNP/InDel-index 后，使用自定义 perl 脚本计算 $\Delta(\text{SNP/InDel-index})$ ，并使用 R 脚本绘制曼哈顿图。使用 10-kb 滑动窗口，以超过 1-Mb 为间隔计算 SNP/InDel-index。

1.6 候选基因的精细定位

1.6.1 SSR 引物合成和 PCR 程序 为进一步缩小定位区间，在初定位区域内开发新的 SSR 分子标记（表 1）。这些 SSR 分子标记首先在两个亲本池、F₁、F₂-N、F₂-Y 和 F₂-G 之间进行筛选，选择具有多态性且呈现共分离的引物，在 F₂ 群体的浅绿植株及金黄植株进行重组单株筛选。12 μL 的 PCR 反应体系如下：2 μL 模板 DNA（50 ng/ μL ）、6 μL Taq 2 \times PCR Master（浙江易禾基因科技有限公司）、上下游引物（10 $\mu\text{mol/L}$ ）各 0.5 μL 、加灭菌 ddH₂O 至 12 μL 。PCR 扩增程序：预变性 94 $^{\circ}\text{C}$ 4 min，94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s，55 $^{\circ}\text{C}$ 45 s，72 $^{\circ}\text{C}$ 45 s，35 个循环，72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。

表 1 用于定位 *Sllc1* 的 29 对 SSR 引物

Table 1 29 pairs of SSR primers used to map tomato leaf color

引物名称	位置	正向引物 5' -3'	反向引物 5' -3'
Primer name	Position	Forward primer 5'-3'	Reverse primer 5'-3'
SSR-1	60456724	TCAAACGGTTTAGGTCGTCA	AAAAACGCTGTGAACTGGCT
SSR-168	60747214	TCATTGTGTTGTTCAAATGTCG	CCCAACTTTTACTCGGTCCA
SSR-193	60777491	AGAAGTGCACATGGAGTTGC	TCAAATTGACTTTCGAAAAATG
SSR-209	60805234	CAAATGCGTATGATCCAAGG	GGGGCATATTTGACCCTTTT
SSR-250	60873273	TGTTGTTTTTGCTTGCAAGATT	TAGATGTTGAACCCCTTCGC
SSR-313	60977651	GGGGGTCAATTACCCAAGT	TCCATGCTGGTTGCAAATAA
SSR-365	61048131	TGGAATATTTATGTAAAGAAGCCCT	TTTTTCGACGATAGAAATCGC
SSR-431	61267542	ATTTTGCCAATGTTTCATCC	TGCAACGAAGATCCAGTTGA
SSR-502	61902146	GGTTGAGAAGCAGAGGATGC	GCAGGAACACCAACTCCATT
SSR-504	61914340	GGGTATGTCTGTCTTCAGTGCTT	GCATCCATGTGTCCAAAAGA
SSR-506	61916579	TGATTGTTGGATGATTTTTGTTG	GAATTTGTGTCACCTTAGCTTTGA
SSR-511	61923026	GCTAGTTTCGGAGGAGTG GTT	TTTGGGCCATAITTTAAATTCC
SSR-515	61926643	AAGGTGGTCTGGACCATGAA	TGAAAAATTGCAGGTCAATGAG
SSR-516	61926693	AAGGTGGTCTGGACCATGAA	TGAAAAATTGCAGGTCAATGAG
SSR-518	61942450	CGGCACATTTTCATCCAATA	TTCTCTCTTTTGGCCGCTA
SSR-519	61947945	TTGGGTATTCTCCGCTGTT	CCCTGAGCTAGTGGGAACTG
SSR-524	61961804	TGGCATTGGACCTCTATTCC	GCACAGAAATTTCAGCAGCA

SSR-527	61988034	TCGTTTCATTGTATGCTTGCC	TAAATGAAGCCATCACGCAA
SSR-530	62001178	AAATGCTTTTTGAAAATTGAACAC	TCATGGTGATTTTGCAATCC
SSR-532	62001486	GGATTGCAAAATCACCATGA	CAAGAATGCTTTTGAAATTTAAGG
SSR-538	62019471	TCTCCGAAAAATACAACCACAA	TCTCGGAGAAATCATTGTTGC
SSR-547	62076329	TGCCATGTTCTTCCTTAGCA	AAAAAGCACATCGGCAAAC
SSR-553	62093075	CTTGATCTTAACCTTGCGCC	ACGAGAAAAGTTTCAGCTGCC
SSR-554	62104577	CAACTGCACGGAATTGTACG	AAGATTCTGGGTCGGGTCT
SSR-555	62104666	CAACTGCACGGAATTGTACG	AAGATTCTGGGTCGGGTCT
SSR-557	62104795	AGACCCGACCCAGAAATCTT	AGCTGCTGCTACTGCACCAT
SSR-571	62151829	GCTATGAAAGGGACATAGCTGC	AAAAGGTGAGCGTTTCCAGA
SSR-602	63835056	ACCAATTGGCACTTGTTCTT	GGGGAAGGGGTGAATTGTAG
SSR-603	63836393	TTTAAACTGCCAAAGGCCAC	TTGGTTCATCTTTCACTCGCT

1.6.2 非变性聚丙烯凝胶电泳 PCR 扩增产物用聚丙烯酰胺凝胶检测，电泳缓冲液为 0.5×TBE，恒定电压 300 V，电泳 3 h，电泳结束后，先用去离子水清洗一遍凝胶，再用硝酸银溶液染色 12 min，去离子水清洗一遍，然后加入氢氧化钠-甲醛溶液显色 5 min，去离子水清洗一遍，最后使用保鲜膜包胶，拍照记录，统计条带。所用引物均由北京擎科生物科技有限公司（杭州分公司）合成。

1.6.3 荧光定量 PCR (qRT-PCR) 利用 Primer6 设计候选基因的 qRT-PCR 特异性引物（表 2），北京擎科生物科技有限公司（杭州分公司）合成。PCR 产物长度为 150~300 bp，提取植株双亲及 F2 各表型叶片的总 RNA（天根植物 RNA 提取试剂盒）并反转录（天根反转录试剂盒）得到 cDNA 后利用南京诺唯赞 AceQ qPCR SYBR Green Master Mix (High ROX Premixed)试剂盒与 StepOne 实时荧光定量 PCR 系统（ABI, Foster City, CA, USA）进行 qRT-PCR，20 μL 反应体系如下：2×ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 为 10 μL，上下游引物各 0.4 μL，cDNA 为 1 μL，加灭菌 ddH₂O 至 20 μL。每个基因设置 3 个生物学重复，相对定量的最终值与内参基因 *Actin* 对照相比^[20]，测试样本中基因表达的倍数变化，采用 2^{-ΔΔCT} 法分析候选基因的相对表达量。

表 2 qRT-PCR 特异性引物序列

Table 2 qRT-PCR specific primer sequence

基因 ID	正向引物 5' -3'	反向引物 5' -3'
Gene ID	Forward primer 5' -3'	Reverse primer 5' -3'
<i>Solyc07g053630</i>	GCATACCACCCGTATCGTCG	GGACATACAGGATGAAAGTCGC
<i>Solyc07g053640</i>	ATTGAAGCACCAGCACCCT	TGTAGGACTCGTCCGTGTTG
<i>Solyc02g064700(Actin)</i>	TTGGGAAGGTTCTGGGGACT	ATGGTTTCCTGCTGTGTCGT

2 结果与分析

2.1 幼苗叶片叶绿体超微结构观测

母本与父本叶片颜色分别是绿色与浅黄色，F₁ 的叶片颜色为绿色，F₂ 群体中出现 3 种叶片颜色：绿色、浅黄色与金黄色（图 1A）。对 F₂ 群体中绿色、浅黄色及金黄色叶片进行叶绿体超微结构观察（图 1B），发现绿色叶片叶绿体在细胞中最稳定，其叶绿体数量较多、基粒结构清晰且排列紧密；浅黄色叶片次之；金黄色叶片叶绿体体积缩小、片层结构模糊不清、其超微结构严重受损。

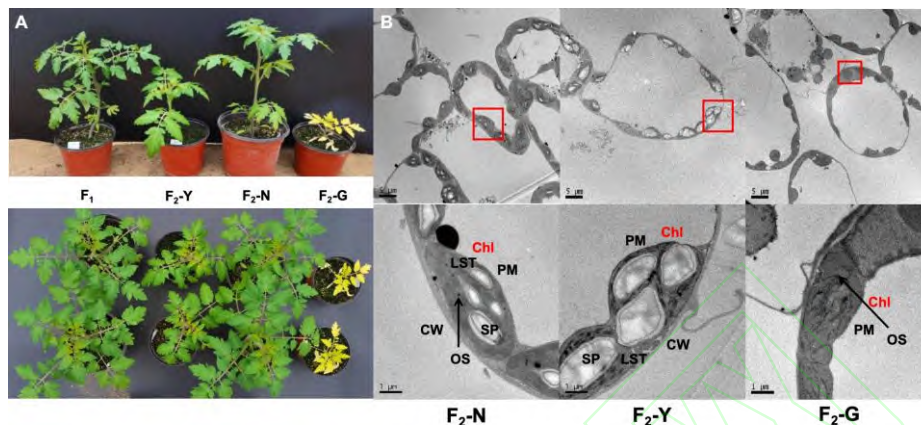


图 B 中，红色框内的结构为叶绿体；Chl：叶绿体；PM：质膜；CW：细胞壁；SP：淀粉粒；LST：基粒片层；OS：嗜饿颗粒

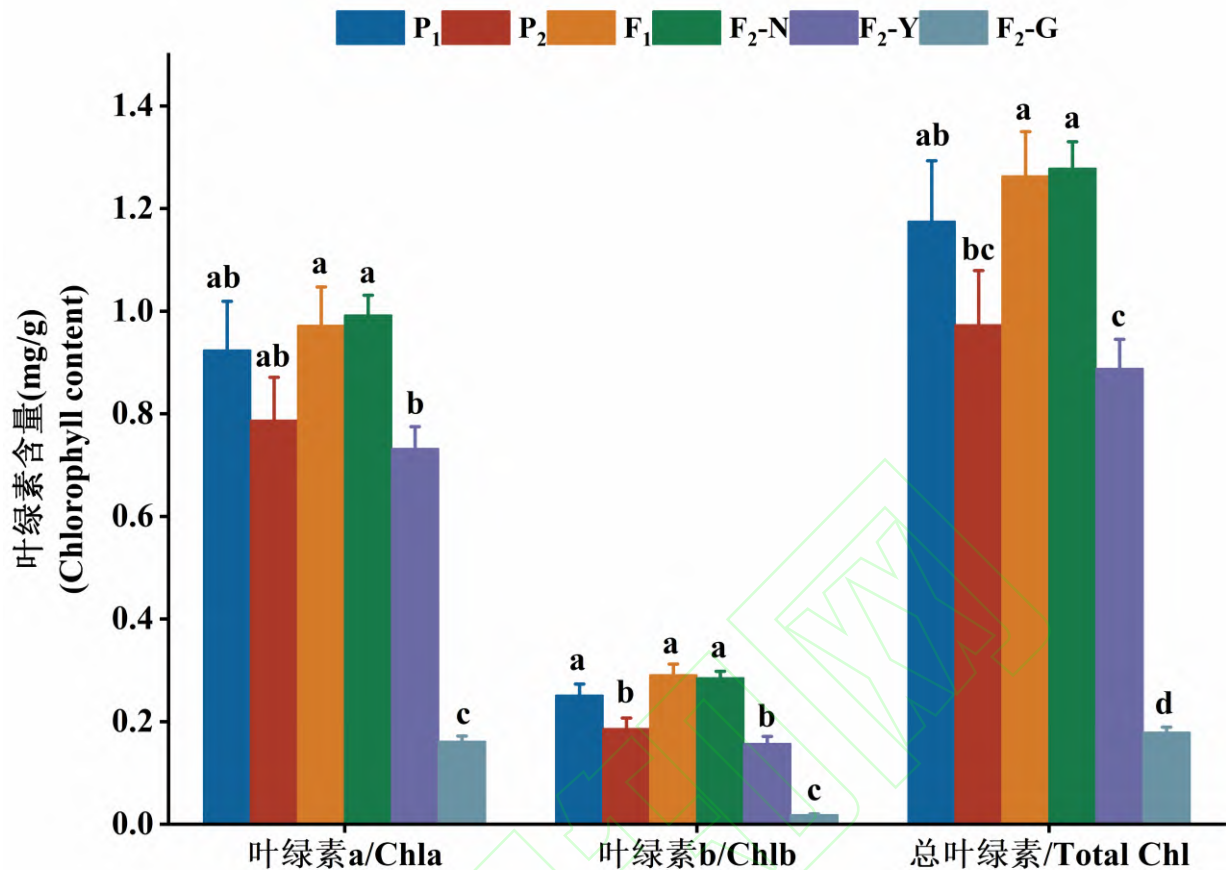
In the figure B, the structure in the red box is chloroplast; Chl: chloroplast; PM: plasma membrane; CW: cell wall; SP: Starch granules; LST: grain-based lamella; OS: Hungry granule

图 1F₂ 群体中不同叶色的表型 (A) 与叶绿体超微结构 (B)

Fig. 1 Phenotypes (A) and Chloroplast ultrastructure (B) of different leaf colors in F₂ population

2.2 幼苗叶片叶绿素含量分析

通过测定双亲、F₁ 及 F₂ 群体中绿色、浅黄色及金黄色叶片叶绿素含量，发现母本 CR11A 叶片的叶绿素 a、叶绿素 b 及总叶绿素含量分别为 0.924mg/g、0.251mg/g、1.175mg/g；父本 CH09-805 叶片的叶绿素 a、叶绿素 b 及总叶绿素含量分别为 0.787mg/g、0.186mg/g、1.058mg/g；母本的各项叶绿素含量分别比父本高 17.41%、34.95% 和 20.76%。F₂-N 的叶绿素 a 含量分别比 F₂-Y 与 F₂-G 高 35.52%、516.15%；F₂-N 的叶绿素 b 含量分别比 F₂-Y 与 F₂-G 高 81.53%、1483.33%；F₂-N 的总叶绿素含量分别比 F₂-Y 与 F₂-G 高 43.92%、613.97%。F₂ 群体中其叶片各叶绿素含量差异显著 ($P>0.05$)，且 F₂-N 的各项叶绿素含量均与母本及 F₁ 中各叶绿素含量差异不显著 ($P>0.05$)（图 2）。



图中，P₁表示母本；P₂表示父本；F₁是由P₁与P₂杂交得到；F₂-N、F₂-Y、F₂-G分别代表F₂群体的绿色、浅黄色及金黄色植株；采用单因素方差分析（ANOVA）评估显著性（ $P < 0.05$ ），不同字母表示差异显著；下同

In the figure, P₁ represents the mother; P₂ is the father; F₁ is a cross between P₁ and P₂; F₂-N, F₂-Y and F₂-G were green, light yellow and golden yellow plants obtained from F₁; Univariate analysis of variance (ANOVA) was used to evaluate the significance ($P < 0.05$), and different letters indicated significant difference;

The same as below

图 2 双亲及 F₁ 与 F₂ 群体中不同叶色叶片的叶绿素含量分析

Fig.2 Chlorophyll content analysis of leaves with different leaf color in both parents and F₁ and F₂ populations

2.3 番茄幼苗叶片颜色遗传规律分析

对番茄幼苗叶片颜色表型调查发现，F₁ 植株表现为正常绿色，F₂ 群体中出现 3 种叶片颜色表型，有 289 株绿色叶片植株，100 株浅黄色叶片植株，26 株金黄色叶片植株，符合 12:3:1 的孟德尔遗传比例（ $\chi^2 = 7.92 < \chi_{0.01}^2 = 9.21$ ）（表 3）。表明番茄叶色性状受两对基因控制且存在显性上位效应，将两对基因分别命名为 *Leaf color 1*（*Slc1*）和 *Leaf color 2*（*Slc2*）。

表 3 番茄叶片颜色性状的遗传分析

Table 3 Genetic analysis of tomato leaf color trait

群体	总株数	绿叶株数	浅黄叶株数	金黄叶株数	预期比例	卡方值/ χ^2
Population	Total individuals	Individuals of green leaf	Individuals of yellow leaf	Individuals of gold leaf	Expected ratio	Chi-square value/ χ^2

P ₁ (CR11A)	30	30	0	0	-	-
P ₂ (CH09-805)	30	0	30	0	-	-
F ₁	30	30	0	0	-	-
F ₂	415	289	100	26	12:3:1	7.92

-:无数据

-:No data

2.4 测序质量评估与分析

对双亲进行测序，父母本 Clean reads 总数分别为 76717111 和 80366369；总碱基数分别为 76717111 bp 和 80366369 bp，平均测序深度分别为 27.40×和 30.06×，基因组比对率≥93.31%（表 4）。

对 F₂-N、F₂-Y 与 F₂-G 进行 BSA-Seq 测序，Clean reads 总数在 42841416-114339444；各混池总碱基数为 12852424800~34301833200 bp，平均测序深度为 16.08×~42.59×，基因组比对率≥88.64%（表 4）。说明所有样本测序质量合格，数据比对率高，有利于后续的变异检验及性状的基因定位。

表 4 BSA-Seq 测序结果

Table 4 Results of BSA-Seq

样本 Samples	Clean reads 总数 Total number of Clean reads	总碱基数 (bp) Total base number (bp)	基因组对比率 (%) Genome comparison ratio (%)	平均测序深度 (×) Average sequencing depth (×)
P ₁ (CR11A)	76717111	76717111	96.63	27.40
P ₂ (CH09-805)	80366369	80366369	93.31	30.06
F ₂ -N	113292703	33987810900	97.81	42.51
F ₂ -Y	114339444	34301833200	97.73	42.59
F ₂ -G	42841416	12852424800	88.64	16.08

2.5 SNP 检测与注释

根据测序结果进行 SNP 位点分析，5 个样本中，F₂-N 中最少，为 4309569 个，亲本 P₂ 中最多，为 4716390 个。五个样本之间，同一类型的 SNP 数量和比例大致相当。所有 SNP 变异中，已确定的位置信息包括 15 种类型，其中，以位于基因区间的 SNP 位点最多，同义终止密码子突变类型的 SNP 最少（表 5）。

表 5 变异位点注释统计表

Table 5 Statistical table of annotation of variation sites

序 号 N o.	变异位点信息 Variation site information	P ₁ (CR11A)	P ₂ (CH09-805)	F ₂ -N	F ₂ -Y	F ₂ -G
1	基因区间	34322	3370798	314	331	334

		43		0542	2463	7080
2	基因上游区域（5k 以 内）	56653	673378	580	624	631
		5		352	630	286
3	基因下游区域（5k 以 内）	35128	395065	346	370	374
		7		526	911	632
4	剪切受体突变	274	298	276	285	282
5	剪切供体突变	249	269	242	251	261
6	内含子	13981	162224	143	153	153
		6		664	315	869
7	非同义编码突变	39287	45912	398	422	426
				89	78	19
8	同义编码突变	24786	31571	267	281	284
				50	40	22
9	同义终止密码子突变	87	109	91	99	100
10	起始密码子丢失	208	235	209	220	223
11	起始密码子获得	519	684	596	625	652
12	终止密码子丢失	344	376	341	356	355
13	终止密码子获得	1278	1326	115	128	127
14	5'非翻译区	9977	13357	6	3	6
15	3'非翻译区	14958	20214	112	121	123
16	其他	478	574	82	22	18
17	SNP 总数	45823	4716390	171	178	183
7		26		52	85	58
				501	510	513
				430	456	461
				9569	5373	2246

2.6 BSA-Seq 及分子标记筛选对番茄叶色基因 *Sllc1* 精细定位

利用 F₂ 群体进行 BSA-Seq 测序，分析 F₂ 群体 3 个混池的 Δ （SNP-index）值分布，可找到控制番茄叶色性状基因的定位区域。通过对 F₂-N 和 F₂-Y 进行分析，将番茄叶色基因定位于 7 号染色体 60450305~63932942 bp 之间，物理距离为 3.48 Mb；通过对 F₂-N 和 F₂-G 进行分析，将番茄叶色基因定位

于 4 号染色体 2434439~2665624 bp 及 7 号染色体 60850272~63026879 bp 之间，物理距离分别为 0.23 Mb 和 2.18 Mb（图 3A）。共同将番茄叶色基因定位在 7 号染色体 60850272~63026879 bp 之间，物理距离为 2.18Mb，本研究对该定位区域进行进一步分析。

以亲本、F₁、F₂（绿色、浅黄色、金黄色）叶片的 DNA 为模板，选取初定位区域进行 SSR 分子标记筛选，获得 29 对扩增效果好且呈现共分离的 SSR 分子标记（表 1）。经重组单株的统计分析，将叶色基因定位于 7 号染色体 SSR-502~SSR-571（61902146~62151829），物理距离为 249.68 kb 的候选区间内（图 3B）；进一步进行 SSR 筛选，获得 16 对共分离 SSR 分子标记（表 1），对重组单株统计分析发现，番茄叶色候选区间缩小至 SSR-524 与 SSR-547 之间，标记位置为 61961804 和 62076329，区间大小为 114.53 kb（图 3C）。



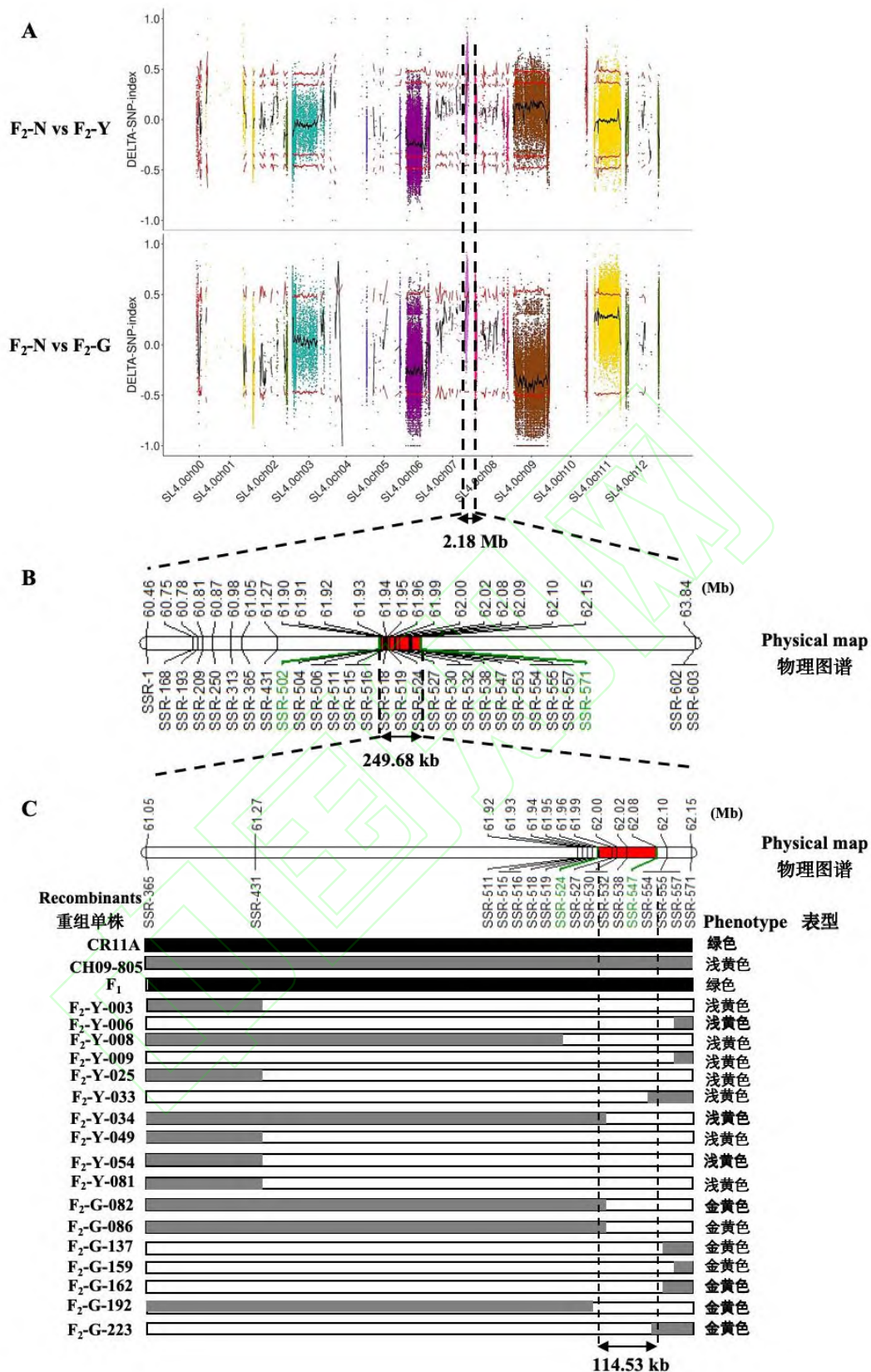


图 3 利用 BSA-Seq 及分子标记筛选对 *Sllc1* 精细定位

Fig. 3 Fine-mapping of *Sllc1* using BSA-Seq and molecular maker screening

2.7 候选基因分析

番茄基因组注释及全基因组测序数据表明 114.53 kb 的候选区间内共有 13 个基因, 包括 *Solyc07g053610* (含 homeobox-DDT 结构域的蛋白)、*Solyc07g053620* (类 DnaJ 蛋白)、*Solyc07g053630* (类 Golden1 蛋白)、*Solyc07g053640* (含 GATA 锌指结构域的类蛋白 14)、*Solyc07g053650* (26S 蛋白酶非 ATP 酶调节亚基 2 同源体 A)、*Solyc07g053660* (DDB1 和 CUL4 相关因子 13 DDB1-and CUL4-associated factor 13)、*Solyc07g053670* (蛋白质核融合缺陷 6, 类叶绿体/线粒体异构体)、*Solyc07g053680* (含 NAC 结构域的类蛋白 78)、*Solyc07g053690* (未特征化蛋白 At4g28440)、*Solyc07g053700* (网状体样蛋白 B17)、*Solyc07g053710* (类酪氨酸氨基转移酶)、*Solyc07g053720* (类 S-烷基硫代羟胺裂解酶) 及 *Solyc07g053730* (类核仁 GTP 结合蛋白) (表 6)。

候选区间内, *Solyc07g053640*、*Solyc07g053700*、*Solyc07g053710*、*Solyc07g053720* 发生非同义突变; *Solyc07g053630*、*Solyc07g053640*、*Solyc07g053700* 及 *Solyc07g053710* 发生同义突变; 变异发生在内含子区域的基因有: *Solyc07g053610*、*Solyc07g053630* 及 *Solyc07g053650*; 变异发生在基因上下游的基因有: *Solyc07g053620*、*Solyc07g053680*、*Solyc07g053690* 及 *Solyc07g053730*; 此外, *Solyc07g053660* 的变异发生在 3' 非翻译区 (表 6)。结合基因注释信息及基因变异信息, 预测 *Solyc07g053630* 和 *Solyc07g053640* 为 *Sllc1* 的候选基因。

表 6 候选区间内基因的变异信息

Table 6 Variation information of genes in the candidate interval

基因 -ID	位置	影响	编码改变	注释
Gene -ID	Position	Effects	Code-change	Annotation
<i>Solyc07g053610</i>	61961804	内含子	EXON_ID=2	含 homeobox-DDT 结构域的蛋白
<i>Solyc07g053610</i>	61963709	内含子	EXON_ID=2	
<i>Solyc07g053620</i>	--	上游	--	类 DnaJ 蛋白
<i>Solyc07g053630</i>	61989906	内含子	EXON_ID=5	类 Golden1 蛋白
<i>Solyc07g053630</i>	61990098	同义密码子编码	taC/taT	
<i>Solyc07g053640</i>	62019388	非同义密码子编码	Gtt/Ttt	含 GATA 锌指结构域的类蛋白 14
<i>Solyc07g053640</i>	62019396	同义密码子编码	tcC/tcT	
<i>Solyc07g053640</i>	62019487	非同义密码子编码	Gac/Aac	
<i>Solyc07g053650</i>	62028142	内含子	EXON_ID=11	26S 蛋白酶非 ATP 酶调节亚基 2 同源体 A
<i>Solyc07g053660</i>	62040708	3'非翻译区	--	DDB1 和 CUL4 相关因子 13
<i>Solyc07g053670</i>	--	--	--	蛋白质核融合缺陷 6, 类叶绿体/线粒体异构体
<i>Solyc07g053680</i>	--	上游	--	含 NAC 结构域的类蛋白 78
<i>Solyc07g053690</i>	--	上游	--	未特征化蛋白 At4g28440
<i>Solyc07g053700</i>	62059249	同义密码子编码	ctC/ctT	网状体样蛋白 B17
<i>Solyc07g053700</i>	62059258	同义密码子编码	gcT/gcC	

<i>Solyc07g053700</i>	62059262	非同义密码子编码	aTt/aCt	
<i>Solyc07g053710</i>	62062266	非同义密码子编码	Ttt/Att	类酪氨酸氨基转移酶
<i>Solyc07g053710</i>	62063462	同义密码子编码	ttG/ttA	
<i>Solyc07g053710</i>	62064520	非同义密码子编码	Aaa/Gaa	
<i>Solyc07g053720</i>	62069951	非同义密码子编码	cTg/cGg	类 S-烷基硫代羟胺裂解酶
<i>Solyc07g053730</i>	--	上游	--	类核仁 GTP 结合蛋白
<i>Solyc07g053730</i>	--	下游	--	

2.8 候选基因表达量分析

通过检测 *Solyc07g053630* 和 *Solyc07g053640* 在双亲及 F₂ 不同叶色植株中的表达量发现，*Solyc07g053630* 和 *Solyc07g053640* 在 P₁ 与 F₂ 的绿叶中的表达量均显著高于 P₂ 及 F₂ 的黄色与金黄色叶片（ $P<0.05$ ），2 个基因在 F₂ 的金黄色叶片中的表达量亦显著低于 P₂ 与 F₂ 的浅黄色叶片（ $P<0.05$ ）。表明 *Solyc07g053630* 和 *Solyc07g053640* 均可能参与调控番茄叶片叶绿素合成或叶绿体发育过程。

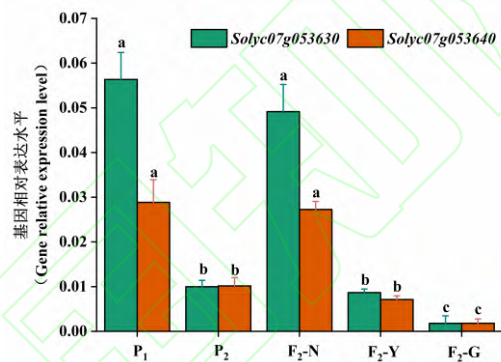


图 4 *Solyc07g053630* 和 *Solyc07g053640* 在双亲与 F₂ 群体叶片中的表达量鉴定

Fig.4 Identification of *Solyc07g053630* and *Solyc07g053640* expression levels in leaves of both parents and F₂ populations

3 讨论

叶片是作物进行光合作用的重要组织器官，为植物生长发育提供营养基础与能量保障。叶片颜色等性状与作物光合作用效率直接相关，进而影响作物产量形成^[21]。叶绿体是植物光合作用的主要场所^[22]，其结构、数量及叶绿素含量均与叶片颜色相关^[23]。研究发现，叶片黄化导致甜瓜叶绿体发育异常，使其光合色素含量及比例均发生变化^[24]。本研究对 F₂ 不同表型的叶片进行细胞学观测与叶绿素含量测定，发现金黄色叶片的叶绿体超微结构严重受损，而绿色叶片中叶绿体数量最多、基粒结构清晰且排列紧密；此外，金黄色叶片叶绿素含量也显著低于绿色叶片。据此看出，番茄黄化突变体形成可能是其叶绿体数目及其基粒片层结构等发育异常，进而使叶绿素合成受阻所致^[5]。

近年来，植物叶色性状的遗传模式受到大量研究者的广泛关注。叶色突变相关基因纷繁复杂，可能与细胞核基因有关，亦可能与细胞质基因有关，其突变体有单基因控制的，亦有多基因控制的，控制叶色突变体材料不同，遗传模式也存在差异^[5]。诸多研究提出控制番茄叶色突变的基因属于单基因隐性遗传^[25]。

^{27]}。但本研究采用绿色叶片番茄材料 CR11A 为母本，浅黄色叶片番茄材料 CH09-805 为父本，构建 F₁ 及 F₂ 群体。F₂ 群体叶片颜色符合 12:3:1 的孟德尔遗传比例，初步证明番茄叶色遗传符合两个基因的显性上位互作模型。

GLK 转录因子是植物中的一类重要调控蛋白，在叶绿体发育及叶绿素合成中起重要作用。GLK 转录因子直接参与调控与光合作用相关基因的表达，缺乏或功能失活的 GLK 基因会导致叶绿体发育受损，叶绿素含量减少，光合作用效率下降，从而影响植物的生长发育^[27]。目前已在拟南芥^[28]、水稻^[29]、小麦^[30]及白桦树^[31]等植物中发现 GLK 参与作物叶绿体发育及叶绿素合成过程。本研究对于番茄叶色基因定位候选区间内亦存在 1 个 GLK 基因：Solyc07g053630，该基因编码类 Golden1 蛋白，变异发生在内含子区域（EXON_ID=5）。该变异可能通过影响 mRNA 的加工、稳定性和运输等多个层面间接影响类 Golden1 蛋白的合成、结构和功能。

Zinc finger 在植物各组织的叶绿素代谢和叶绿体形态建成中扮演重要角色^[32]。研究发现番茄 OBV 基因的突变会引起叶脉变暗，该基因负责编码含 C₂H₂ 锌指结构域的转录因子，在调控叶绿体的发育及光合作用过程中起着至关重要的作用^[12]。通过对黄瓜绿色叶片与黄色叶片进行 RNA-Seq 分析发现大多 GATA（锌指同源结构域转录因子家族）在绿色叶片中上调表达，其中 8 个 GATA 基因在绿叶与黄叶间差异表达，推测出他们与黄瓜叶片叶绿素合成有关^[33]。此外，在辣椒、拟南芥及西瓜等作物上也发现 Zinc finger 参与调控植物叶绿素合成及叶绿体发育等生理过程^[34-36]。本研究中，Solyc07g053640 即为编码含 GATA 锌指结构域的一类蛋白 14 的基因，可发生非同义突变（Gac/Aac）。

结合定位区间内基因组注释信息、表达量鉴定及相关文献报道，进一步将 Solyc07g053630 与 Solyc07g053640 预测为番茄叶色突变的候选基因，但后续仍需利用后续基因功能验证进一步确定其功能与调控机制。

4 结论

本研究利用绿色叶片与浅黄色叶片番茄材料构建遗传群体，明确了番茄叶色性状由两对基因控制且存在显性上位效应；采用 BSA-Seq 及分子标记筛选将番茄叶色基因 *Sllc1* 定位于 7 号染色体 114.53 kb 的候选区间内，定位区间内包含 13 个基因，结合基因注释与荧光定量预测 Solyc07g053630 与 Solyc07g053640 为番茄叶色突变的候选基因。

参考文献

- [1] Cheng M Z, Meng F Y, Mo F L, Chen X L, Zhang H, Wang A X. Insights into the molecular basis of a yellow leaf color mutant (*ym*) in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Scientia Horticulturae*, 2022, 293:110743
- [2] Lin N, Gao Y M, Zhou Q Y, Ping X K, Li J N, Liu L Z, Yin J M. Genetic mapping and physiological analysis of chlorophyll-deficient mutant in *Brassica napus* L. *BMC Plant Biology*, 2022, 22(1):44
- [3] Rong H, Tang Y Y, Zhang H, Wu P Z, Chen Y P, Li M R, Wu G J, Jiang H W. The Stay-Green Rice like (*SGRL*) gene regulates chlorophyll degradation in rice. *Journal of Plant Physiology*, 2013, 170(15):1367-1373
- [4] Zhao L, Yang Y L, Hu P Y, Qiao Q, Lv G G, Li J Q, Liu L, Wei J J, Dong Z D, Chen F. Genetic mapping and analysis of candidate leaf color genes in common winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Molecular Breeding*, 2023, 43(6):48

- [5] 赖艳. 甜瓜叶色突变体的生理特性、遗传分析与基因初步定位.成都: 四川农业大学, 2018
- Lai Y. Physiological characteristics, genetic analysis and preliminary gene localization of melon leaf color mutants.Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2018
- [6] Su W Q, Tao R, Liu W Y, Yu C C, Yue Z, He S P, Lavelle D, Zhang W Y, Zhang L, An G H, Zhang Y, Hu Q, Larkin R M, Michelmore R W, Kuang H H, Chen J J. Characterization of four polymorphic genes controlling red leaf colour in lettuce that have undergone disruptive selection since domestication. *Plant biotechnology journal*, 2020, 18(2): 479-490
- [7] Zhang L, Qian J L, Han Y T, Jia Y, Kuang H H, Chen J J. Alternative splicing triggered by the insertion of a CACTA transposon attenuates *LsGLK* and leads to the development of pale - green leaves in lettuce. *The Plant Journal*, 2022, 109(1):182-195
- [8] Zhang T T, Dong X Y, Yuan X, Hong Y Y, Zhang L L, Zhang X, Chen S X. Identification and characterization of *CsSRP43*, a major gene controlling leaf yellowing in cucumber. *Horticulture Research*, 2022, 9:uhac212
- [9] Liu M Y, Ma W, Su X J, Zhang X M, Lu Y, Zhang S W, Yan J H, Feng D L, Ma L S, Taylor A, Ge Y J, Cheng Q, Xu K D, Wang Y H, Li N, Gu A X, Zhang J, Luo S X, Xuan S X, Chen X P, Scrutton N S, Li C W, Zhao J J, Shen S X. Mutation in a chlorophyll-binding motif of Brassica ferrochelatase enhances both heme and chlorophyll biosynthesis. *Cell Reports*, 2022, 41(10):111758
- [10] Liu Z B, Mao L, Yang B Z, Cui Q Z, Dai Y H, Li X Q, Chen X S, Dai X Z, Zou X X, O L J, yang S. A multi-omics approach identifies bHLH71-like as a positive regulator of yellowing leaf pepper mutants exposed to high-intensity light. *Horticulture Research*, 2023, 10(7):uhad098
- [11] Liu G Z, Yu H Y, Yuan L, Li C X, Ye J, Chen W F, Wang Y, Ge P F, Zhang J H, Ye Z B, Zhang Y Y. *SIRCM1*, which encodes tomato Lutescent1, is required for chlorophyll synthesis and chloroplast development in fruits. *Horticulture Research*, 2021, 8(1):128
- [12] Lu J H, Pan C Y, Li X, Huang Z J, Shu J S, Wang X X, Lu X X, Zhang H, Su W Y, Zhang M, Du Y C, Liu L, Guo Y M, Li J M. OBV (obscure vein), a C2H2 zinc finger transcription factor, positively regulates chloroplast development and bundle sheath extension formation in tomato (*Solanum lycopersicum*) leaf veins. *Horticulture Research*, 2021, 8(1):230
- [13] Song J W, Guo L J, Shang L L, Wang W Q, Yu C Y, Ye Z B, Zhang J H. VG encoding a thylakoid formation protein, regulates the formation of variegated leaves in tomato. *Horticultural Plant Journal*, 2023, 9(1):98-108
- [14] Saghai-Maroo M A, Soliman K M, Jorgensen R A, Allard R. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1984, 81(24):8014-8018
- [15] Bolger A M, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 2014, 30(15):2114-2120
- [16] Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows - Wheeler transform. *bioinformatics*, 2009, 25(14):1754-1760
- [17] McKenna A, Hanna M, Banks E, Sivachenko A, Cibulskis K, Kernysky A, Garimella K, Altshuler D, Stacey G, Daly M, DePristo M A. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome research*, 2010, 20(9):1297-1303
- [18] Danecek P, Auton A, Abecasis G, Albers C A, Banks E, DePristo M A, Handsaker R E, Lunter G, Marth G T, Sherry S T, McVean G, Durbin R, 1000 Genomes Project Analysis Group. The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*, 2011, 27(15):2156-2158
- [19] Wang K, Li M, & Hakonarson H. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic acids research*, 2010, 38(16): e164-e164
- [20] 黄少勇.番茄核雄性不育基因 *ms-7* 的定位与功能分析.乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2023
- Huang S Y. The Mapping and Functional Analysis of Genic Male Sterility *ms-7* in Tomato. Urumchi: Xinjiang Agricultural University, 2023

- [21] 宋丽华. 番茄黄叶基因 NV 的遗传定位及生理特性研究.北京: 中国农业科学院, 2016
- Song L H. Genetic localization and physiological characteristics of NV gene in tomato yellow leaves. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2016
- [22] Zhang K J, Li Y, Zhu W W, Wei Y F, Njogu M K, Lou Q F, Li J, Chen J F. Fine mapping and transcriptome analysis of virescent leaf gene *v-2* in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 570817
- [23] Miao H, Zhang S P, Wang M, Wang Y, Weng Y Q, Gu X F. Fine mapping of virescent leaf gene *v-1* in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17(10): 1602
- [24] 邵勤,于泽源,李兴国, 李为, 高艳娟. 叶色黄化突变体甜瓜叶片内部生理生化变化的研究.中国蔬菜, 2013 (14):59-65
- Shao Q, Yu Z Y, Li X G, Li W, Gao Y J. Study on physiological and biochemical changes in leaf of Muskmelon with yellowing mutant . *Chinese Vegetables*, 2013 (14):59-65
- [25] 程谟桢. 番茄黄化突变体 *ym* 的黄化迟熟机制与关键基因 *Slym1* 鉴定.黑龙江: 东北农业大学, 2021
- Cheng M Z. Mechanism of yellowing late ripening and identification of key gene *Slym1* of tomato yellowing mutant *ym*. Heilongjiang:Northeast Agricultural University, 2021
- [26] 邹滔. 番茄苗期黄化突变体 *lmy1* 的表型鉴定与遗传分析. 杭州: 浙江大学,2021
- Zou T. Phenotypic identification and genetic analysis of tomato yellow mutant *lmy1* in seedling stage. Hangzhou:Zhejiang University,2021
- [27] 张添棋. 番茄叶色突变体资源创制及基因定位.上海: 华东师范大学, 2022
- Zhang T Q. Resource creation and gene localization of tomato leaf color mutants. Shanghai:East China Normal University, 2022
- [28] Zhang D, Tan W, Yang F, Han Q, Deng X, Guo H, Lin, H. A BIN2-GLK1 signaling module integrates brassinosteroid and light signaling to repress chloroplast development in the dark. *Developmental Cell*, 2021, 56(3):310-324
- [29] Zhang C, Zhang J X, Tang Y J, Liu K W, Liu Y, Tang J Q, Zhang T, Yu H X. DEEP GREEN PANICLE1 suppresses GOLDEN2-LIKE activity to reduce chlorophyll synthesis in rice glumes. *Plant Physiology*, 2021, 185(2):469-477
- [30] [30] Yeh S Y, Lin H H, Chang Y M, Chang Y L, Chang C K, Huang Y C, Ho Y W, Lin C Y, Zheng J Z, Jane W N, Ng C Y, Lu M Y, Lai I-L, To K Y, Li W H, Ku M S. Maize Golden2-like transcription factors boost rice chloroplast development, photosynthesis, and grain yield. *Plant Physiology*, 2022, 188(1): 442-459
- [31] Gang H, Li R, Zhao Y, Liu G, Chen S, Jiang J. Loss of GLK1 transcription factor function reveals new insights in chlorophyll biosynthesis and chloroplast development. *Journal of experimental botany*, 2019, 70(12):3125-3138
- [32] Schwechheimer C, Schröder P M, Blaby-Haas C E. Plant GATA factors: their biology, phylogeny, and phylogenomics. *Annual review of plant biology*, 2022, 73: 123-148
- [33] Zhang K J, Jia L, Yang D K, Hu Y C, Njogu M K, Wang P Q, Lu X M, Yan C S. Genome-wide identification, phylogenetic and expression pattern analysis of *gata* family genes in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plants*, 2021, 10(8): 1626
- [34] Borovsky Y, Monsonogo N, Mohan V, Shabtai S, Kamara I, Faigenboim A, Hill T, Chen S Y, Stoffel K, Deynze A V, Paran, I. The zinc - finger transcription factor CcLLOL1 controls chloroplast development and immature pepper fruit color in *Capsicum chinense* and its function is conserved in tomato. *The Plant Journal*, 2019, 99(1):41-55
- [35] Zhang C J, Huang Y, Xiao Z Y, Yang H L, Hao Q N, Yuan S L, Chen H F, Chen L M, Chen S L, Zhou X N, Huang W J. A GATA transcription factor from

soybean (*Glycine max*) regulates chlorophyll biosynthesis and suppresses growth in the transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Plants*, 2020, 9(8):1036

- [36] Liu S, Gao Z Q, Wang X Z, Luan F S, Dai Z Y, Yang Z Z, Zhang, Q. Nucleotide variation in the phytoene synthase (CPSy1) gene contributes to golden flesh in watermelon (*Citrullus lanatus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 2022, 135:185-200

