

植物体内的叶绿素降解与滞绿突变体

田风霞¹, 惠振², 王国坤¹, 范振宇¹, 王玮^{1,*}

¹山东农业大学生命科学学院作物生物学国家重点实验室, 山东泰安 271018; ²山东龙大植物油有限公司, 山东聊城 252000

Chlorophyll Degradation and Stay-Green Mutant in Plant

TIAN Feng-Xia¹, HUI Zhen², WANG Guo-Kun¹, FAN Zhen-Yu¹, WANG Wei^{1,*}

¹State Key Laboratory of Crop Science, College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Taian, Shandong 271018, China; ²Shandong Longda Vegetable Oil Limited Company, Liaocheng, Shandong 252000, China

提要: 文章介绍植物体内叶绿素降解途径和滞绿突变体的新类型研究进展。

关键词: 叶绿素降解; 滞绿突变; 衰老

叶绿素(chlorophyll, Chl)在光合作用的能量捕获与传递中起作用。在叶绿体中, 叶绿素与类囊体膜蛋白形成复合体, 如 PS I、PS II 以及细胞色素 *b₆/f* 复合体。高等植物中, 有 2 种类型的叶绿素, 即叶绿素 *a* 和叶绿素 *b*。其中叶绿素 *a* 占的比例大, 且所有的色素蛋白复合体中都含有; 而叶绿素 *b* 不仅量少, 而且只在捕光色素复合体 I (light-harvesting complex I, LHC I) 和捕光色素复合体 II (LHC II) 中存在。LHC I 和 LHC II 分别由 *Lhca* 和 *Lhcb* 所编码(Allen 和 Forsberg 2001)。

高等植物的叶片衰老最初发生在叶绿体向有色体的转化过程中, 在此过程中叶绿素发生降解。滞绿(stay green)突变体是指在衰老过程中叶绿素不降解或降解不明显的突变体, 其最明显的特征是植株生育末期叶片保持绿色的时间较长, 甚至完全不黄化。滞绿突变体的这一明显外在表型以及在提高农作物产量中所展现的巨大潜能, 吸引了人们的研究兴趣。本文介绍植物滞绿突变体的研究进展并对其在农业生产中的应用前景作了展望。

1 叶绿素的降解途径

在植物衰老以及成熟过程中叶绿素降解一直是生物学中的谜, 直到人们认识并对非荧光叶绿素代谢产物(non-fluorescent chlorophyll catabolite, NCC)的结构有所了解以后, 才对叶绿素的降解途径有比较好的阐明(Kräutler 等 1991)。除了拟南芥中的 NCC-3 以外, 所有的 NCC 都是从植物的叶绿素 *a* 转化而来的(Müller 等 2006)。一般认为, 从叶绿素 *b* 到叶绿素 *a* 的转化是降解的早期阶段(Hörtensteiner 2006)。降解首先发生在叶绿体中, 最终的叶绿素降解产物 NCC 运输到液泡中(Kräutler 等 1991)。

在叶片衰老过程中 Chl 不断分解, 原有的类胡萝卜素致使叶片呈黄色而黄化, 这是一种从衰老的组织中回收营养的主动过程(Matile 2000)。正常生长发育的植物中, 大部分 Chl 存在于叶中的蛋白质复合体中, 以游离态形式存在的 Chl 会对细胞造成光氧化损伤。为了避免游离态 Chl 及其有色代谢产物对细胞造成光氧化伤害, 植物细胞必须快速降解这些物质。Chl 的分解代谢反应分 2 个阶段。前一个阶段是所有植物所共有的, 即 Chl 降解成无色的呈蓝色荧光的中间产物(primary fluorescent chlorophyll catabolite, pFCC), 这一阶段需要 4 种酶(图 1)。首先, Chl 被叶绿素酶催化脱去植醇基形成脱植基叶绿素 *a*, 然后由脱镁螯合酶去除镁离子形成脱镁叶绿酸 *a* (Suzuki 等 2005), 接下来脱镁叶绿酸 *a* 经过由脱镁叶绿酸 *a* 加氧酶和红色叶绿素代谢产物还原酶催化的两步反应转化成 pFCC, 中间过程形成一种不稳定的中间产物红色叶绿素代谢产物(red chlorophyll catabolite, RCC)。最后, pFCC 经过几次修饰之后运输至液泡中。在第二个阶段, 经过修饰的 pFCC 在液泡中发生非酶学异构形成最终的非荧光叶绿素代谢产物 NCC, 这是在液泡的酸性 pH 条件下进行物种特异性修饰的过程, 最后转化形成单吡咯氧化降解产物。

以上是早期人们对叶绿素降解途径模式的看法或认识, 后来随着近年来新研究资料的积累, 人

收稿 2009-11-27 修定 2010-03-09

资助 国家自然科学基金(30671259)和国家科技支撑计划(2006BAD01A02-15)。

* 通讯作者(E-mail: wangw@sdau.edu.cn; Tel: 0538-8246166)。

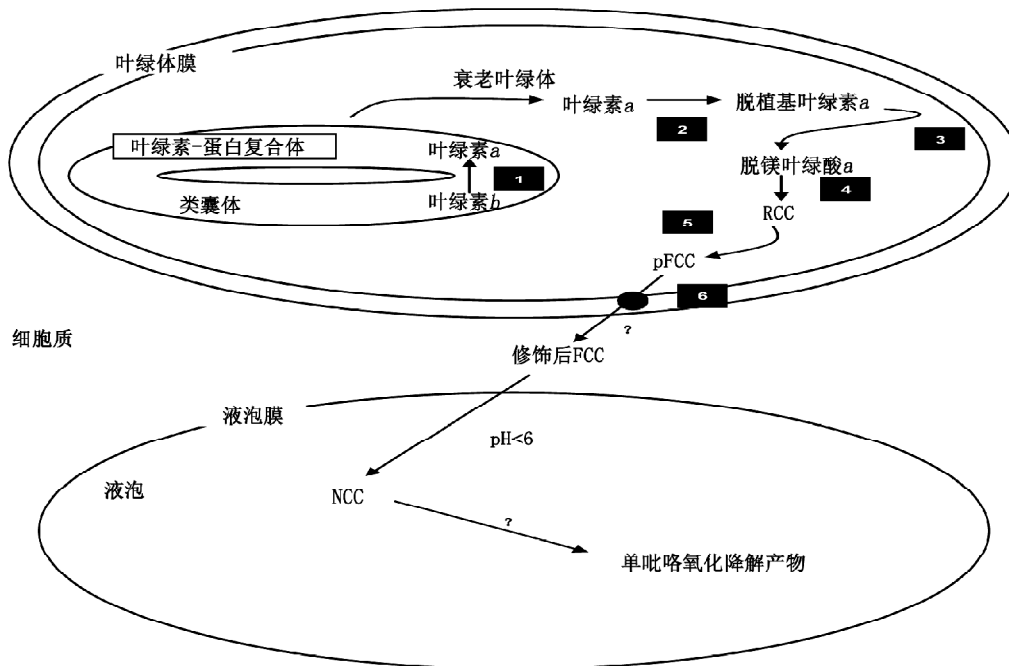


图1 高等植物细胞内叶绿素的降解模式(Hörtensteiner 2006)

1: 叶绿素 *b* 还原酶; 2: 叶绿素酶; 3: 脱镁螯合酶; 4: 脱镁叶绿素 *a* 加氧酶; 5: 红色叶绿素代谢产物还原酶; 6: 叶绿素代谢物转运器。

们认为这一模式有以下几个问题值得关注:

1.1 叶绿素酶作用需要重新评估 长期以来一直认为叶绿素酶是叶绿素降解途径中的第一个酶。从叶绿素 *a* 向脱植基叶绿素 *a* 和植醇的转变是由叶绿素酶催化的, 最先在柑属植物 *Citrus sinensis* (Jacob-Wilk 等 1999) 中得到证实。从 *C. sinensis* 分离到相应的 cDNAs 以后, 又从拟南芥中分离到 AtCLH1 和 AtCLH2 的基因 (Jacob-Wilk 等 1999; Tsuchiya 等 1999)。但是近年来的研究表明, 叶绿素酶的作用并不像以前那样认为的只在叶绿素降解过程中起作用。证据主要有两点: 一是从定位来说, 并不是所有物种中的叶绿素酶都定位于叶绿体中, 例如荧光免疫检测表明, 柑橘的叶绿体酶几乎都定位在叶绿体中, 但是拟南芥中的 AtCLH1- 和 AtCLH2-GFP 的叶绿体荧光蛋白并不定位在叶绿体中 (Shemer 等 2008)。二是从功能来说, 例如, 拟南芥基因 AtCLH1 和 AtCLH2 的单或双功能缺失突变体, 在离体叶片的黑暗诱导过程中并没有表现出滞绿表型 (Schenk 等 2007; Fujii 等 2007)。总之这些表明, 拟南芥中除了 AtCLH1 和 AtCLH2 以外, 可能还有其他蛋白也有叶绿素酶的作用, 并且认为它们可在体外黑暗诱导衰老的过程中起作用。

1.2 叶绿素 *b* 还原酶 高等植物衰老过程中, 叶绿素 *b* 先转化成叶绿素 *a*, 然后降解 (Ito 等 1993; Scheumann 等 1998)。有人认为, NONYELLOW COLORING1 (NYC1) 和 NYC1-LIKE (NOL) 是叶绿素 *b* 还原酶, 能催化叶绿素 *b* 向 7-羟甲基叶绿素 *a* 的转化 (Kusaba 等 2007)。两者都属于短链脱氢酶/还原酶家族 (short-chain dehydrogenase/reductase, SDR)。NYC1 会有 3 个跨膜区域, 而 NOL 没有跨膜区域 (图 2)。免疫共沉淀反应表明, 在体外二者可以相互作用形成复合体, 从而起叶绿素 *b* 还原酶的作用 (Sato 等 2009)。SDR 家族的蛋白常常形成二聚体, 这间接支持这一假设 (Jörnval 等 1995)。

1.3 PPH 酶 Chl 被叶绿素酶催化脱去植醇基形成脱植基叶绿素 *a*, 然后脱镁螯合酶去除其中镁离子后形成脱镁叶绿素 *a* (Suzuki 等 2005)。以前一直认为叶绿素降解过程中是先脱植醇再脱镁, 但是近来随着脱镁叶绿素脱镁叶绿素水解酶 (pheophytin pheophorbide hydrolase, PPH) 研究的深入, 认为叶绿素降解过程中可能是先脱镁再脱植醇。

PPH 是衰老过程中的一个主要叶绿素脱植醇酶 (Schelbert 等 2009)。体内和体外的实验表明, PPH 专一的裂解脱镁叶绿素的植醇, 促使脱镁叶绿

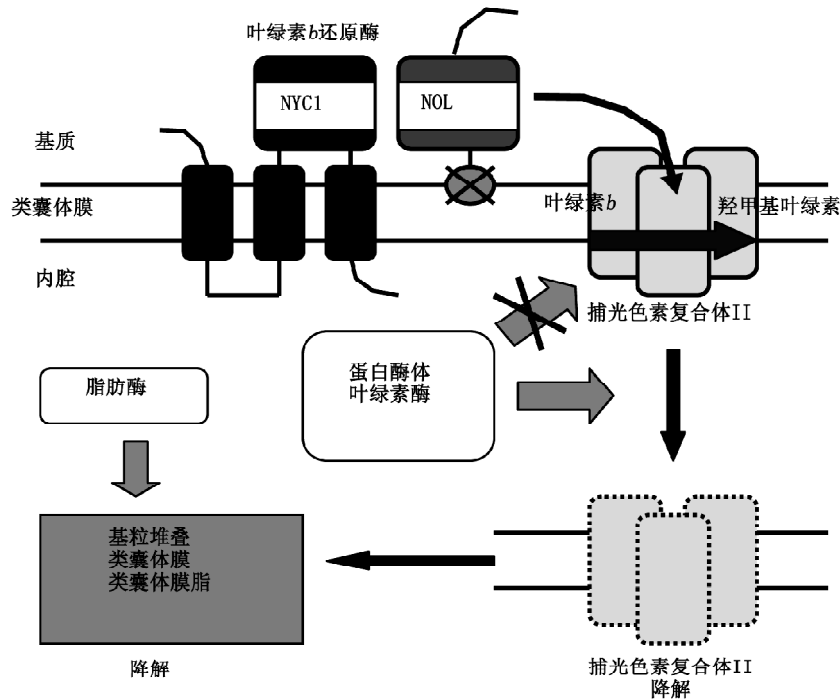


图2 水稻衰老过程中调节叶绿素和LHCII降解的模式(Sato等2009)

NYC1和NOL定位在类囊体的膜上,它们的催化区域位于基质一侧。NYC1和NOL形成复合体起叶绿素 b 还原酶的作用。只有在NYC1-NOL复合体催化叶绿素 b 还原成羟甲基叶绿素以后,蛋白酶体和叶绿素酶才开始分别降解LHC II和来自于LHC II的叶绿素。随后脂肪酶诱导基粒堆叠、类囊体膜、类囊体膜脂的降解。

素 a 脱去植醇而变成脱镁叶绿素 a 。它的作用底物是脱镁叶绿素 a ,并不是叶绿素。有研究认为,PPH在叶绿素 b 还原酶(NYC1)的下游起作用,并据此提出新的叶绿素降解顺序,即叶绿素 b →叶绿素 a →脱镁叶绿素 a →脱镁叶绿酸 a (图3)。

2 滞绿突变体

Thomas和Howarth(2000)根据突变体叶片发育过程中叶绿素含量和光合速率的变化,将滞绿变异分为5种类型(图4)。(1)A型:叶片衰老延迟,当叶片开始衰老后,其叶绿素含量和光合速率下降的速度与野生型一样。(2)B型:叶绿素含量与光合作用速率下降的起始时间与野生型相同,但比野生型的下降缓慢。(3)C型:叶绿素降解受抑制,叶绿素含量达到最大值后,直至叶片衰老晚期,其含量基本上保持不变,但其光合速率下降起始时间和速度与野生型的一样。(4)D型:还未衰老黄化的叶片,由于遭受突发性病虫害、低温冷冻、煮沸或干燥等自然和非自然因素的影响,叶片组织快速死亡,叶绿素永远地滞留于叶片中,但此时其光合作用随着组织的破坏而急剧下降,直至停止。(5)E型:

相对于野生型而言,突变体在成熟期的叶绿素含量更高,植株生殖生长的衰亡末期,叶绿素需要更长的时间才降解。

此外,根据叶片叶绿素和光合功能维持的情况,以上5种滞绿突变体可分为2种基本类型:即功能型和非功能型的滞绿突变体。两者的区别是保留绿色的同时能否能保持光合能力。功能型滞绿突变体的特点是在保持叶片滞绿表型的同时还能保持光合功能,因而认为有可能提高作物产量。上述5种类型中的A和B型属于功能型突变。功能型滞绿突变体衰老起始和进程推迟在农业生产中有利用价值。例如,玉米和水稻中的突变体中 $fs854$ 和 $snu-sg1$ 都能促进粮食产量增加(Yoo等2007)。非功能型滞绿突变体虽然其叶片表现出滞绿性状,但其叶绿体的光合作用能力丧失,生产利用价值不高,却是研究叶绿素降解途径的好材料。滞绿突变体在许多物种中已相继发现,以下是介绍近几年发现的几种新的滞绿突变体:

2.1 *nycl/nol* 突变体 *nycl*是Kusaba等(2007)报道的一种水稻单隐性突变体,这一突变体植株在衰老

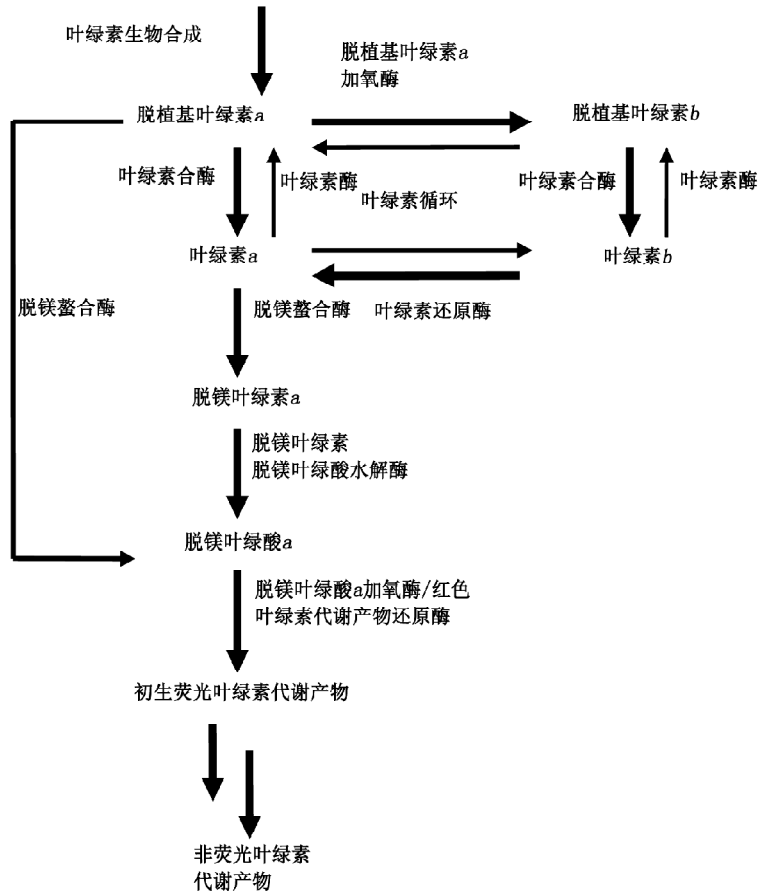


图3 叶绿素合成和降解的示意图(Schelbert 等 2009)

合成和分解代谢步骤并无重叠的行为, 由叶绿素循环联系。循环中箭头粗细表示各个酶的活性大小。叶绿素酶对叶绿素降解可能是几乎没有作用(细箭头), 大量的叶绿素由脱镁螯合酶和脱镁叶绿素脱镁叶绿酸水解酶催化分别降解成脱镁叶绿素 a 和脱镁叶绿酸 a (粗箭头)。

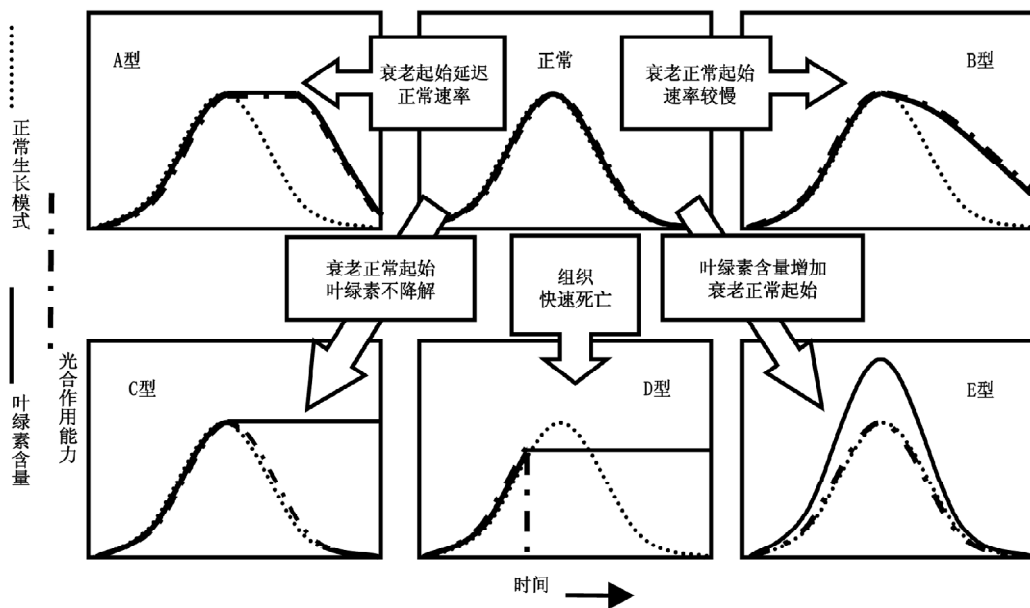


图4 曲线表示典型叶片的叶绿素含量和光合作用的能力(Thomas 和 Howarth 2000)

期间显示出滞绿表型。与野生型相比, *nyc* 叶绿体基粒在衰老期间保存完好, 大部分的 LHC II 组分也已选择性地保留下来。有研究表明, NYC1 基因编码一个叶绿体定位、三次跨膜的 SDR, 因而推测 NYC1 有叶绿素 *b* 还原酶活性, 其作用是催化叶绿素 *b* 的降解。在叶片衰老过程中 *nyc1* 的 LHC II 已选择性的保留, 所以认为这可能是叶绿素 *b* 保留的结果。由于叶绿素 *b* 是 LHC II 稳定的一种因素。叶片衰老过程中 LHC II 的稳定性会导致叶绿素 *a*、新黄质、叶黄素的保留。*nyc1* 叶片衰老的后期阶段其叶绿素 *a/b* 的比率接近于 1, 而不是 3/1, 这反映了 LHC II 中结合的叶绿素 *a* 和 *b* 分子之间的比率。

2.2 *nan* 突变体 Alós 等(2008)报道的 *navel negra* (*nan*) 来自于华盛顿脐橙(*Citrus sinensis* 'Washington Navel'), 是一种自然发生的滞绿突变体。在果实成熟过程中, 尽管类胡萝卜素的合成没有停止, 但其果皮的颜色并不降解。柑橘类水果的颜色改变主要表现在果皮上, 并且还涉及从叶绿体到成色素母细胞以及类胡萝卜素的合成过程(Iglesias 等 2001; Rodrigo 等 2004), 过去的研究多集中于柑橘果实成熟过程中的类胡萝卜素合成(Rodrigo 等 2004; Alós 等 2006), 而对于叶绿素降解的研究则相对较少, 尽管已经证明在自然果实成熟过程中 Chl 是组成型表达(Jacob-Wilk 等 1999), 在柑橘叶绿素降解过程中却是限速步骤(Harpaz-Saad 等 2007)。*nan* 突变体中的叶绿素代谢和基因表达类型不同于以前报道的滞绿突变体, 其产生突变的原因可能与叶绿素代谢中的上游调节相关, 而不是叶绿素降解过程中某些特殊步骤受到损伤造成(Alós 等 2008)。

2.3 *nyc3* 突变体 Morita 等(2009)报道, 水稻滞绿突变体 *nyc* 在黑暗诱导衰老的过程中保留的叶绿素 *a* 和 *b* 的含量比其野生型的高, 但其他的衰老参数都下降, 说明它是一个非功能型的滞绿突变体。除此之外, 在 *nyc3* 的衰老叶片中, 有少量的脱镁叶绿素 *a* 积累。*nyc3* 的性状与 *stay green* (*sgr*) 突变体相似, 但表型相对微弱。*sgr* 是水稻中另一个非功能型的滞绿突变体。有研究表明, NYC3 位于染色体 6 的着丝粒(centromere)附近, 编码一个质体定位的 α/β 折叠水解酶家族蛋白(Morita 等 2009)。

3 滞绿突变的应用

叶绿素捕捉太阳能后, 通过光合作用转化为其

他生物赖以生存的物质和能量基础。叶绿体的光合反应中心、叶绿体内各种酶的相互作用和叶绿素代谢之间有着怎样错综复杂的关系, 以及如何更加有效利用太阳能资源都是人们一直探索的问题。滞绿突变体的发现和研究为解决这些问题提供了新的研究思路 and 方向。

滞绿突变体是研究叶绿素代谢、光合作用及其光合电子传递链、激素响应、以及早衰、抗逆境等一系列生理代谢过程的理想材料。深入研究不同类型滞绿突变体, 不仅有助于发现和揭示参与叶绿素代谢的新酶或新途径和叶绿素的代谢过程中相关酶的催化特性, 而且还可以验证叶绿素代谢的各种假说, 甚至还可为新假说的建立提供依据, 此外还有助于阐明叶绿素含量与光合功能之间的关系以及植物衰老过程的特征。从其应用来说, 有 2 个方面, 具体如下。

3.1 提高农作物的产量和抗性 在生育后期 A 型滞绿突变体的叶片延缓衰老, B 型的叶绿素含量和光合能力下降缓慢, 这些功能型滞绿突变体的生物学产量要比非滞绿的同物种高很多。Gan 和 Amasino (1995) 曾用转基因技术诱发 1 个烟草滞绿突变体, 此种突变体的生物量和种子产量分别增加 40% 和 52%。从另一个角度讲, 滞绿基因与衰老基因有密切关系, 其研究可能是解决农作物早衰的一种新途径。在植物的生理成熟期间及其后期, 有滞绿性状的植株很容易辨识。这一非常直观的外在表型可以用作良种繁育和杂交育种的筛选标记。此外, 与野生型相比, 滞绿突变体的茎秆抗逆能力(抗病、抗干旱、抗倒伏等)(何萍和金继运 2000; Miller 和 Toler 1990) 有很强的优势, 在育种实践中, 作为遗传改良的育种材料这些有滞绿性状的作物一直受到育种工作者的关注和青睐。

3.2 农产品的贮藏、运输和保鲜 滞绿突变体在观赏类植物选育和栽培中也有很大的潜力。据报道, 不黄化(non-yellowing)的菊花品种 'Boaldi' 在黑暗中处理 12 d 后其叶片仍为绿色, 其观赏价值并不因长时间的黑暗储藏和运输而降低(Reyes-arribas 等 2001)。一般来说, 绿色蔬菜在贮存、运输或加工过程中叶绿素容易降解, 叶片发黄变质, 因而难以适应长途运输和较长时间的贮藏, 以致其食用和商品品质下降。因此, 绿色蔬菜叶片衰老和变质的延

缓, 保鲜期的延长, 以及其经济价值的提高, 长期以来一直是生产和供给部门需要而又较难完美解决的难题。滞绿突变体具有叶片衰老后叶绿素降解不明显和叶片依然保持绿色的先天优势, 在绿叶蔬菜的育种和栽培中有巨大的潜在性应用前景和经济价值。

4 结束语

植物滞绿突变体已广泛应用于一些基础研究和生产实践。以滞绿突变体为受体的材料进行遗传转化研究, 可以较为直接和有效的分析基因功能, 以及细胞内核-质间基因互作和信号调控。在生产实践中, Chl突变基因可发展为分子标记, 应用于良种繁育和杂交育种, 提高和加快育种效率和育种进程。相信随着RNAi、DNA芯片等新研究手段的应用以及功能基因组学和生物信息学研究的深入, Chl相关基因分子机制以及滞绿突变体的研究将更加深入和有效的应用于生产实践。

参考文献

- 何萍, 金继运(2000). 保绿型玉米的营养生理研究进展. 玉米科学, 8 (4): 41~44
- Allen JF, Forsberg J (2001). Molecular recognition in thylakoid structure and function. Trends Plant Sci, 6: 317~326
- Alós E, Cercós M, Rodrigo MJ, Zacarías L, Talón M (2006). Regulation of color break in *Citrus* fruits: changes in pigment profiling and gene expression induced by gibberellins and nitrate, two ripening retardants. J Agr Food Chem, 54: 4888~4895
- Alós E, Roca M, Iglesias DJ, Minguez-Mosquera MI, Damasceno CMB, Thannhauser TW, Rose JKC, Talon M, Cercos M (2008). An evaluation of the basis and consequences of a stay-green mutation in the *navel negra* citrus mutant using transcriptomic and proteomic profiling and metabolite analysis. Plant Physiol, 147: 1300~1315
- Fujii H, Shimada T, Sugiyama A, Nishikawa F, Endo T, Nakano M, Ikoma Y, Shimizu T, Omura M (2007). Profiling ethylene-responsive genes in mature mandarin fruit using a citrus 22K oligoarray. Plant Sci, 173: 340~348
- Gan S, Amasino RM (1995). Inhibition of leaf senescence by autoregulated production of cytokinin. Science, 270: 1986~1988
- Harpaz-Saad S, Azoulay T, Arazi T, Ben-Yaakov E, Mett A, Shibolet Y, Hörtensteiner S, Gidoni D, Gal-On A, Goldschmidt EE (2007). Chlorophyllase is a rate-limiting enzyme in chlorophyll catabolism and is posttranslationally regulated. Plant Cell, 19: 1007~1022
- Hörtensteiner S (2006). Chlorophyll degradation during senescence. Annu Rev Plant Biol, 57: 55~77
- Iglesias DJ, Tadeo FR, Legaz F, Primo-Millo E, Talon M (2001). *In vivo* sucrose stimulation of colour change in citrus fruits epicarps: interactions between nutritional and hormonal signals. Physiol Plant, 112: 244~250
- Ito H, Tanaka Y, Tsuji H, Tanaka A (1993). Conversion of chlorophyll *b* to chlorophyll *a* by isolated cucumber etioplasts. Arch Biochem Biophys, 306: 148~151
- Jacob-Wilk D, Holland D, Goldschmidt EE, Riov J, Eyal Y (1999). Chlorophyll breakdown by chlorophyllase: isolation and functional expression of the *Chlase1* gene from ethylene-treated *Citrus* fruit and its regulation during development. Plant J, 20: 653~661
- Jörnvall H, Persson B, Krook M, Atrian S, González-Duarte R, Jeffery J, Ghosh D (1995). Short-chain dehydrogenase/reductases (SDR). Biochemistry, 34: 6003~6013
- Kräutler B, Jaun B, Matile P, Bortlik K, Schellenberg M (1991). On the enigma of chlorophyll degradation: the constitution of a secoporphinoid catabolite. Angew Chem Int Edit, 30: 1315~1318
- Kusaba M, Ito H, Morita R, Lida S, Sato Y, Fujimoto M, Kawasaki S, Tanaka R, Hirochika H, Nishimura M (2007). Rice NON-YELLOW COLORING1 is involved in light-harvesting complex II and grana degradation during leaf senescence. Plant Cell, 19: 1362~1375
- Matile P (2000). Biochemistry of indian summer: physiology of autumnal leaf coloration. Exp Gerontol, 35 (2): 145~158
- Miller FR, Toler RW (1990). Registration of RTx2858 MDMV-A resistant germplasm. Crop Sci, 30 (3): 764
- Morita R, Sato Y, Masuda Y, Nishimura M, Kusaba M (2009). Defect in non-yellow coloring 3, an α/β hydrolase-fold family protein, cause a stay-green phenotype during leaf senescence in rice. Plant J, 10: 132~143
- Müller T, Moser S, Ongania KH, Pruzinska A, Hörtensteiner S, Kräutler B (2006). A divergent path of chlorophyll breakdown in the model plant *Arabidopsis thaliana*. Chem Bio Chem, 7: 40~42
- Reyes-arbas T, Barrett JE, Huber DJ (2001). Leaf senescence in a non-yellowing cultivar of chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora*). Physiol Plant, 111 (4): 540~544
- Rodrigo MJ, Marcos JF, Zacarías L (2004). Biochemical and molecular analysis of carotenoid biosynthesis in flavedo of orange (*Citrus sinensis* L.) during fruit development and maturation. J Agr Food Chem, 52: 6724~6731
- Sato Y, Morita R, Katsuma S, Nishimura M, Tanaka A, Kusaba M (2009). Two short-chain dehydrogenase/reductases, NON-YELLOW COLORING 1 and NYC1-LIKE, are required for chlorophyll *b* and light-harvesting complex II degradation during senescence in rice. Plant J, 57: 120~131

- Schelbert S, Aubry S, Burla B, Agne B, Kessler F, Krupinska K, Hörtensteine S (2009). Pheophytin pheophorbide hydrolase (pheophytinase) is involved in chlorophyll breakdown during leaf senescence in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 21: 767~785
- Schenk N, Schelbert S, Kanwischer M, Goldschmidt EE, Dormann P, Hortensteiner S (2007). The chlorophyllases AtCLH1 and AtCLH2 are not essential for senescence-related chlorophyll breakdown in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett*, 581: 5517~5525
- Scheumann V, Schoch S, Rüdiger W (1998). Chlorophyll *a* formation in the chlorophyll reductase reaction requires reduced ferredoxin. *J Biol Chem*, 273: 35102~35108
- Shemer TA, Harpaz-Saad S, Belausov E, Lovat N, Krokhnin O, Spicer V, Standing KG, Goldschmidt EE, Eyal Y (2008). Citrus chlorophyllase dynamics at ethylene-induced fruit color-break: a study of chlorophyllase expression, posttranslational processing kinetics, and *in situ* intracellular localization. *Plant Physiol*, 148: 108~118
- Suzuki T, Kunieda T, Murai F, Morioka S, Shioi Y (2005). Mg-dechelation activity in radish cotyledons with artificial and native substrates, Mg-chlorophyllin *a* and chlorophyllide *a*. *Plant Physiol Biochem*, 43: 459~464
- Tsuchiya T, Ohta H, Okawa K, Iwamatsu A, Shimada H, Masuda T, Takamiya K (1999). Cloning of chlorophyllase, the key enzyme in chlorophyll degradation: finding of a lipase motif and the induction by methyl jasmonate. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96: 15362~15367
- Thomas H, Howarth CJ (2000). Five ways to stay green. *J Exp Bot*, 51: 329~337
- Yoo SC, Cho SH, Zhang H, Paik HC, Lee CH, Li J, Yoo JH, Lee BW, Koh HJ, Seo HS et al (2007). Quantitative trait loci associated with functional stay-green *SNU-SG1* in rice. *Mol Cells*, 24: 83~94