

小麦返白系相关基因的克隆与表达

侯典云¹, 胥华伟¹, 杜光源², 郭蔼光², 徐 虹²

(1. 河南科技大学 农学院, 河南 洛阳 471003; 2. 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要: 为研究小麦返白系阶段性“白化-复绿”的分子机制, 以中国春小麦叶绿体基因组序列的 LSC 区为参考序列, 分段设计引物, PCR 扩增中国春、矮变 1 号、返白系的相应基因片段, 在返白系中获得特异基因片段 *WFCOI*。提取中国春、矮变 1 号幼嫩叶片和返白系白化及复绿叶片总 RNA, 毛细管法转膜, *WFCOI* 为探针进行 Northern 杂交。结果表明, 与对照矮变 1 号和中国春相比, 返白系随着叶片的白化, *WFCOI* 基因片段的表达受到明显抑制, 几乎无表达。随着叶片的复绿, *WFCOI* 基因片段的表达恢复正常, 与对照表达量一致, 表明该基因的表达与返白系的阶段性白化、复绿有关。

关键词: 小麦; 返白系; 白化; 基因表达; Northern 杂交

中图分类号: Q78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7091(2013)01-0062-05

Cloning and Expression Analysis of Related Gene in Wheat(*Triticum aestivum* L.) Albinism Line

HOU Dian-yun¹, XU Hua-wei¹, DU Guang-yuan², GUO Ai-guang², XU Hong²

(1. College of Agriculture, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China;

2. College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

Abstract: In order to study the molecular mechanism of the “albino-after green” in wheat(*Triticum aestivum* L.) albinism line, we have designed the PCR primer with the LSC of Chloroplasts genome sequence in Chinese spring wheat. We have amplified the related gene segment in chinese spring wheat albinism line and Aibian 1 and get the specific gene fragment *WFCOI* in albinism line. The total RNA has been extracted from leaves in Chinese spring wheat, Aibian 1 and albinism line. *WFCOI* was the probe for northern blot. The results show that the expression of gene *WFCOI* has been inhibition along with the leaves albinism in albinism line compared with albinism line and Chinese spring wheat. The gene *WFCOI* expression was back to normal with the leaves get green.

Key words: Wheat; Albinism line; Albinism; Clone; Northern blot

植物叶色突变体最早发现于上世纪 30 年代, 目前已成为发育生物学和分子生物学研究的前沿和热点之一, 国内外在大麦^[1]、水稻^[2-3]、小麦^[4]、油菜^[5-6]、烟草^[7]等多种作物上都有报道, 并从遗传、生理生化、叶绿体超微结构等方面进行了大量研究, 为深入研究叶色突变体的分子机制及其应用奠定了基础。

小麦返白系是在研究小麦矮变 1 号时发现的自然突变体, 后经多次选育形成的一个特异性材料^[8]。研究表明, 其返白特性为胞质遗传, 受低温诱导, 是一个对低温敏感的色素突变体, 温度升高可

使白化逆转, 呈现“返白-复绿”特性, 故称之为“返白系”^[9]。自 1985 年发现以来, 由于其胞质遗传特性、特殊的代谢特点及潜在的应用价值, 引起了国内外不少学者的关注^[10-11]。近年来, 已对小麦返白系的表现性状、遗传特性、叶绿体发育、及返白期间的色素、蛋白与核酸代谢等进行了较为深入的研究^[11-14]。

尽管有关叶色突变体的报道很多, 但绝大部分都属于核遗传, 类似返白系的胞质遗传材料国内外报道很少, 因此, 研究小麦返白系的返白机理, 对探索质体发育的分子机理、植物基因的表达调控以及

收稿日期: 2012-11-16

基金项目: 国家自然科学基金(30971769); 河南省教育厅科学技术研究重点项目(12B180007); 河南科技大学人才科学研究基金(09001428); 河南科技大学青年科学基金(2010QN0004); 河南科技大学实验开发基金(SY1011043)

作者简介: 侯典云(1975-), 男, 河南濮阳人, 副教授, 博士, 主要从事植物分子生物学研究。

通讯作者: 徐 虹(1973-), 女, 陕西杨凌人, 副教授, 博士, 主要从事植物生化与分子生物学研究。

核质互作等都具有重要的理论价值。

中国春小麦叶绿体全基因组测序结果表明 (GenBank: AB042240.3)^[15], 小麦叶绿体基因组序列全 134 545 bp, 其中反向重复序列 (IR) 长 20 703 bp, 大的单拷贝区 (LSC) 全长 80 348 bp, 小的单拷贝区 (SSC) 序列为 12 791 bp。LSC 区域主要分布与光系统 I、光系统 II、编码 Rubisco 大亚基和小亚基 ATP 酶等基因, 在叶绿体基因组进化过程中, 大单拷贝区是容易发生变异的热点突变区, 许多叶绿体基因的突变都发生在大单拷贝区^[16-17]。对特异基因的克隆与分析是研究基因功能的一种常用方法。凌瑶等^[18]研究了多年生果麦草 MYB 转录因子基因的功能, 邹礼平等^[19]对小麦生育酚环化酶基因全长 cDNA 进行了克隆与分析。

小麦返白系的阶段性“白化-复绿”现象是细胞质遗传, 可能与叶绿体基因组序列变异有关, 为了探讨“白化-复绿”的分子机制, 本研究以中国春叶绿体基因组的 LSC 区段为基础, 分段设计引物, 试图通过 PCR 扩增获得返白系与其亲本矮变 1 号 LSC 区段的变异基因序列, 为进一步克隆差异基因和功能验证并最终揭示返白系“白化-复绿”的分子机制奠定基础。

1 材料和方法

1.1 植物材料

中国春小麦、返白系 FA85、矮变 1 号种子为陕西省农业分子生物学重点实验室保存, 材料均种植

与西北农林科技大学试验田。采集的不同发育时期叶片置于液氮速冻后存放于 -70 °C 冰箱备用。

1.2 引物设计及序列扩增

利用 Primer 5.0 引物设计软件, 以中国春小麦的叶绿体全基因组序列的 LSC 区段分段设计引物, 每个区段约 5 kb, 引物由上海英俊生物技术有限公司合成, 序列见表 1。

在 25 μ L 反应体系中加入 2.5 μ L 10 \times LA Buffer, 0.2 μ L LA Taq 酶 (TaKaRa 公司, 5 U/ μ L), 0.8 μ L dNTP (TaKaRa 公司, 4 种 dNTP 各 2.5 mmol/L), 引物各 1.0 μ L (10 pmol/L), 模板 2.0 μ L, 再加 17.5 μ L 无菌水。反应参数为 95 °C 5 min; 94 °C 40 s, 60 °C 1 min, 72 °C 7 min, 32 个循环; 72 °C 10 min。1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 扩增结果。凝胶回收试剂盒 (TIANGEN 公司) 回收特异片段。

1.3 特异片段扩增及克隆

为便于克隆, 在扩出特异片段的第 17 区段引物 F17/R17 的 5' 端引入 *EcoR* V 酶切位点, 重新设计引物 (PF 正向引物 5'-CTTTGATATCGATCTCAATTTCGCCTACTAG-3', PR 反向引物 5'-GGAAGTATAGCTCAGAGCATAGGAGGGAAAGTCG-3')。PCR 扩增体系和反应参数同上, 回收特异片段, *EcoR* V 酶切并回收, 连接到 pGEM-T easy 载体 (Invitrogen 公司), 连接产物转化感受态细胞 JM109, 涂到含有 X-gal、IPTG、Amp 的 LB 固体培养基上 37 °C 过夜培养, 经蓝白斑筛选和酶切鉴定, 挑取单克隆送北京三博远志公司测序。

表 1 分段设计的引物序列

Tab. 1 Primer sequence of segmented design

区段 Fragment	正向引物 Forward primer	反向引物 Reverse primer
1	F1 5'-ACAGAAATACCCAATATCTTGTTC-3'	R1 5'-CCATCCATATTGGATCAATTCC-3'
2	F2 5'-CTTATTCTGATCCAACCTCTGTG-3'	R2 5'-TAAAGAGCGTTTCCACGTGCTAG-3'
3	F3 5'-ATAGCCCTTGGTAGAATTCTCTAAAG-3'	R3 5'-TGGGAGGAACCTTTTGGTAATGGCC-3'
4	F4 5'-AGGTTTCATGACACTGAGCCGTGG-3'	R4 5'-GCAGCCTGTGAATAGAAATCC-3'
5	F5 5'-AACAGCAAGTATTCATCCACG-3'	R5 5'-TCTCAATCTGGATTGCGGTG-3'
6	F6 5'-TTCCTTTGGTGAATGGAAGG-3'	R6 5'-GTTAGTGTCTAAGTTCAAAAAGTC-3'
7	F7 5'-ATTTGCGCCACTACAGGAGCAACTG-3'	R7 5'-GAAAGTAGAAGTTCAAGGCC-3'
8	F8 5'-CGTGAGAGCCAAATGAATCG-3'	R8 5'-ACGCTGTCTTAATAGCGGGTTGG-3'
9	F9 5'-GTATACGGTTCTAATCCTAGATG-3'	R9 5'-GGCTCTATATCTATCTATGC-3'
10	F10 5'-GGATCAACAACCAAAACCACC-3'	R10 5'-GGTAGTCTATGCATTGTGCATGG-3'
11	F11 5'-CTCAAGAAGAGGGAAATGGGG-3'	R11 5'-CTATAACCTTAGAAGAGGAG-3'
12	F12 5'-CTAGATAGCATTGGACTTAC-3'	R12 5'-CGAAGGAAGACGCGACGTTTTATT-3'
13	F13 5'-TAACAGGCGTAATCGTGAGTCAAC-3'	R13 5'-CGTAGAATGCCAGGAATCCC-3'
14	F14 5'-GGGATTCTGTCATTCTACG-3'	R14 5'-GGTCTCATGGTATATCTGAGTATAG-3'
15	F15 5'-GTAGCTGACCCTGTTAGTCCGTTG-3'	R15 5'-CAATGAAATACCACAACCTACCCG-3'
16	F16 5'-GGACTCGGGTTAGTTACCTATCT-3'	R16 5'-GCAGCTATCTCCATAGCTGCCAG-3'
17	F17 5'-GATCTCAATTTGCGCTACTAG-3'	R17 5'-CTCAGAGCATAGGAGGAAAGTCG-3'
18	F18 5'-GTGATCGATTTCTAGGTTTCGTCG-3'	R18 5'-CCATTACACTATTTTCGAAACC-3'

1.4 序列同源性分析及探针制备

克隆获得的序列利用 MEGA 5.0 去除引物、拼接,进行 Blast 比对和分析。按随机引物标记试剂盒(MBI 公司)操作说明,用³²P-dCTP 标记克隆的特异 DNA 片段作为探针。

1.5 RNA 提取及转膜

分别取矮变 1 号、FA85 白化叶片、复绿中的叶片和完全复绿叶片各 0.1 g,迅速加入液氮研磨,按照 Trizol(Invitrogen 公司)操作说明提取总 RNA。取 20 μg 总 RNA,用 1.2% 甲醛变性琼脂糖凝胶电泳检测并保存凝胶备用。

取一个培养皿倒放在磁盘中,培养皿上放一块玻璃板,磁盘中倒入 20 × SSC 缓冲溶液,液面略低于玻璃板,玻璃板上放一张经 20 × SSC 缓冲液浸润的滤纸,把含有 RNA 片断的甲醛变性凝胶转至磁盘中滤纸中央,赶出滤纸和凝胶之间的气泡,切取与凝胶大小一致的 Hybond-N⁺ 尼龙膜平放在凝胶上,赶出气泡,做好记号。Hybond-N⁺ 尼龙膜上覆盖一层提前用 20 × SSC 缓冲溶液预先浸湿的滤纸,赶出气泡,上面加上纸巾、玻璃板和重物,根据纸巾浸湿情况及时更换纸巾,使 RNA 发生毛细管转移,约需 15 h 转膜结束。取下 Hybond-N⁺ 尼龙膜浸入 6 × SSC 缓冲溶液中,5 min 后取出晾干,用微波炉烘干,塑料袋密封 4 °C 保存备用。

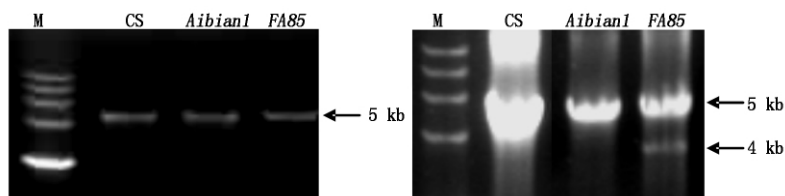
1.6 Northern 杂交

20 μg 总 RNA 经 1.2% 甲醛变性琼脂糖凝胶分离后,按照毛细管法转移到 Hybond-N⁺ 尼龙膜上,按随机引物标记试剂盒(MBI 公司)操作说明,用³²P-dCTP 标记克隆的特异 DNA 片段,按照分子克隆的方法进行杂交。具体操作为:预杂交,将膜的反面紧贴杂交瓶,加入 5 mL 杂交液,42 °C 预杂交 3 h。杂交,将变性的探针(95 ~ 100 °C 变性 5 min,冰浴 5 min)加入到杂交液中,42 °C 杂交 16 h。洗膜,倒去杂交液,用 2 × SSC/0.1% SDS,室温洗 15 min,0.2 × SSC/0.1% SDS,55 °C 洗 15 min 洗 2 次。压片,将膜用双蒸水漂洗片刻,用滤纸吸去膜上水分。压磷屏,用保鲜膜将膜包好(液体要吸干),置于暗盒中压磷屏 20 h 左右,扫描观察。

2 结果与分析

2.1 PCR 扩增结果分析

利用设计的 18 对特异引物分别扩增小麦中国春、矮变 1 号(对照)和返白系 FA85 的序列,都能扩出大小 5 kb 的序列(图 1-A),而且大小一致,初步证明这些区段无差异,第 17 对引物(F17/R17)在中国春、矮变 1 号和 FA85 中扩增出 5 kb 序列,同时,仅在 FA85 中扩增出一条大小 4 kb 左右的特异条带(图 1-B)。试验重复 3 次,能够重现上述结果。



A. 第 13 对引物 PCR 扩增结果; B. 第 17 对引物 PCR 扩增结果。
A. PCR results of 13th primer in wheat; B. PCR results of 17th primer in wheat.

图 1 PCR 扩增结果

Fig. 1 PCR results in wheat

2.2 特异片段的 PCR 克隆及序列分析

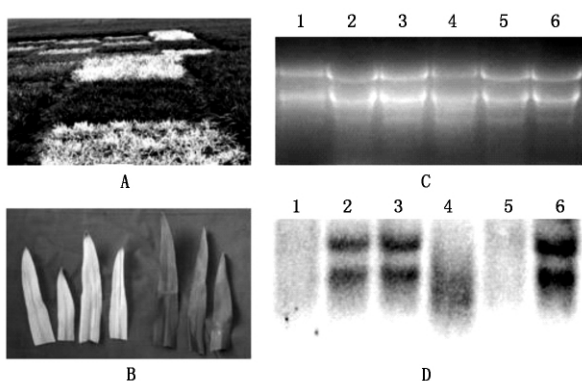
利用设计的特异引物 PF/PR 重新扩增第 17 区段,回收 FA85 中扩增出的 4 kb 的特异片段,利用 *EcoR* V 酶切得到约 1.9 kb 和 2.2 kb 的 2 个片段,把 1.9 kb 片段克隆到经 *EcoR* V 酶切和碱性磷酸酶处理的 pGEM-T easy 载体上,转化 JM109,经蓝白斑筛选和酶切鉴定,挑取单克隆送北京三博远志公司测序(2.2 kb 片段克隆正在进行,另文发表)。序列经去除引物序列、拼接分析,得到长度为 1 979 bp 的 DNA 特异序列,命名为 *WFC01*(图 2)。Blast 比对表明,*WFC01* 区段包括基因 *psbA* 的部分序列和 *rpl2*

的全长序列。

2.3 Northern 杂交结果

按照随机引物标记试剂盒操作说明,将 *WFC01* 作为探针进行 Northern 杂交(图 3)。结果表明,随着返白系叶片的白化和复绿,*psbA* 和 *rpl2* 基因的表达呈现减弱和回复正常表达的规律。在返白系完全白化阶段未杂交出或仅有微弱的条带,而在复绿和对照均有较强的杂交条带出现,说明返白系在返白阶段 *psbA* 和 *rpl2* 基因的正常表达受阻,随着叶片的逐渐复绿,基因表达才趋于正常,表达水平和对照一致。

GTGATATCATCAACCGTGCTAACCTCGGTATGGAAGTAATGCACGAACGTAATGCTCACAAC TTCCTCTAGACTTAGCTGCTGTTGAAGTT
CCATCTATTAATGGATAAGGTTTTCTGCTAACATATAAGAATTTTTGAAGAAAGAAAAGAC AGAAAT ACCCAATATCTTGCTAGAACAAGA
TATTGGGTATTCTGTCTTTATTTTGAATCTTTTTTTCTTCTTAATCTTTCTATTTCAGAAATTCAGTT AACGACGAGATTTAGTATCCTTTT
TTGCATTTTCATACTCGTGAATGCCGAGTAGGCACGAATCCCCCAATTTGCGACCTACC ATAGGATTTGTTATGTAATAGGTATATGT
TCCTTTCCATTATGAATCGCATTGTATGGCCAACCATTTGTGGGTAGAATGCTAGATGCCCGGACCACGTTACTATTGTTCTTTCTCCTC
CTTCATATGACCTTTCTATCTTTGCCAATAAATGATGAGCTACAAAAGGATTCGTTTTTTTTCGTGTCACAGCTGATTACTCCTTTTCTC
CTTTTTAAAGAGTGCCATCTATGTCCAATATCTCGATCAAGTACGGAGGTC AGAATAAATAGAATAATGATCAATGGAAAAAGAAAAAA
TCCTTTAGCTGGAT AAGGGCGGATGTAGCCAAGTGGATCAAGGCAGTGGATGTGAATCCACCATGCGGGTTCAATCCCCGTCGTTCCG
CCATCGCAATTATTGCAAAATCCAAAAATGCAATTTTCCATATTCCTAGTTACGTATTTACTTACGGGACGAAGAATAAACTATCGCTATA
TTTTTTCTTTTCTAGTTCTTCTTCCAAGCGCAGGATAACCCCAAGGGGTTGTGGGTTTTTTCTACCAATGGGAGCTTTCCCTTACCAGC
CCCCATGGGGTGGTCCACAGGGTTCATAACTACCCCTCTTACTACGGGGGCTTACCTAGCCAACAC TTAGATCCGGCTCTACCCAACTT
TTTTGGTTCAACCC AACATTACCCACTGTCCGACTGTTGCTAAGCAGTTTTGGGATACTAAACGGACCTCCCCAGATGGAATCTTAAAGT
GGCCGATTACCCCTCTTTGCAATGAGTTTCGCTACAGCACCTGCTGCTCTAGCTAATTGCCACCCCTTCCACGTTGATTTCTATGTTAT
GCATGGCCGTGCTAAGGCCATATCGGTTGAAGTAGATTCTTCTTTCTCTCAAAAACCCCTTCCAACTGTACAAGCTTCTTCCAAAGC
ATACGGCTTCTAGATGTATATGACGATCTCTAGACAGATGGATCTTATATGAATCATATGATGAGGTACCACATGAGTGGATATATAGGAA
AGGAATCCAAATCTGCGAATCGCTCATGTTATGATCTTCTACATCCTAGGCTCTGCGTTCCATCATCTGGCTTATGTTCTTCTCATGTAGCA
TTCAGATCGAATGACTCTATGAAATTACGTCGATACTTCCACATATTATGGGTAACGTAGGAGACATCCCTATTTCCCCCGGGGCTTAA
TTACCACTGCTTAGCTTTCAATTTGCCTCTGACCATCAAATTAATGTGAAT AACCCGTCTTCTCTTTGAAACAAGGGCGCTTCCGGT
TCTGTGCGTCTTCAAC AATTTTGTCTTCTCCATATTACCATATCTCTAGAGCCAATAATT TCTATGAGGAAGTACTGAAGTCAATCACT
TGCTGCCGTTACTCAACAGTTTTCTGTTGAGGTCTATCCCGTAGAGGTAGTCAAAATGGATCAGTGATCGATTTCTAGGTTTCGTCGTAAC
CTAATTGGTTACTTCCAATTACGTAATCAATAGTTCAAACCGCACTCAAAGGTAGGGCATTTCCTATGATATAGGAACTTTTGTACCAGA
AACAAATAGTATCTCAATATAGCCCTCTGGGATGTAAAATAATCT

图2 *WFC01* 的核苷酸序列(1 979 bp)Fig. 2 Nucleotide sequences of *WFC01* in FA85(1 979 bp)

A. 返白和矮变 1 号田间图片; B. 返白系 FA85 和矮变 1 号叶片; C. RNA 电泳图; D. Northern 杂交结果: 1. FA85 白化叶片; 2. 中国春叶片; 3. 矮变 1 号叶片; 4. 5. FA85 逐渐复绿的叶片; 6. FA85 复绿叶片。
A. Aibian 1 and FA85 in field; B. Mature leaves of Aibian 1 and FA85; C. RNA electrophoresis figure; D. Result of Northern blot: 1. FA85 in the stage of albinism; 2. Chinese Spring leaves; 3. Aibian 1 leaves; 4. 5. FA85 in the gradually-greening leaves; 6. FA85 in the stage of greening.

图3 FA85 和矮变 1 号差异图

Fig. 3 Difference map in the FA85 and Aibian 1

3 结论与讨论

叶色突变体的来源广泛,主要包括自发突变^[20]

和人工诱变^[21]等。尽管自发突变的频率低,可供直接利用的突变材料并不多。但小麦返白系作为一个自发突变的材料,自发现至今,一直稳定遗传,是研究基因功能和光合作用机理的理想材料。随着各种研究手段的不断深入,为叶色突变体的研究和应用奠定了良好的基础,在基础研究中,叶色突变体不仅是开展光合作用机理和光形态建成研究的理想材料^[22]。还可以作为标记性状,应用于良种繁育和杂交种的生产^[23-24]。叶色突变体的分子机制较为复杂,一种观点认为,植物长期进化过程中,由于受到各种因素的影响,使叶绿体基因的碱基序列发生改变,叶绿体数目、形态、结构发生异常,叶绿体发育停滞于幼龄阶段,叶绿体缺失或无叶绿体膜,而叶绿体膜的层状与叶绿素合成呈正相关,从而使叶绿素合成量减少,导致叶色变异^[25]。透射电镜结果表明,返白系在白化-复绿过程中,叶绿体结构经历被破坏和重建的动态过程(另文发表),证明返白系的阶段性白化与叶绿体结构和发育密切相关。

本研究 Northern 杂交的探针序列主要是 *psbA*

的部分序列和 *rpl2* 的全长序列, *psbA* 编码光系统 II 中心色素蛋白 D1, *rpl2* 编码蛋白参与核糖体大亚基组装的蛋白。Northern 杂交结果表明, 在返白系叶片白化期间, 光合色素蛋白复合体及叶绿体核都受到了很大影响, 基因表达受到明显抑制。这与 Liu 等^[26]对绿竹长期继代培养获得的白化突变体和许凤华等^[27]对水稻白条纹叶突变体的研究结果一致, 与对照相比, *psbA* 基因的表达均受到明显抑制。而袁丽钗等^[28]研究则表明, 在白化突变体中, *psbA* 基因的表达明显上调。究竟 *psbA*、*rpl2* 等叶绿体编码基因的异常表达是否与返白系的阶段性白化-复绿有关, 需要进一步对返白系中相关基因的表达进行深入研究, 为真正揭示返白系的分子机理奠定基础。

参考文献:

- [1] Yaronkaya E, Ziemann V, Walter G, et al. Metabolic control of the tetrapyrrole biosynthetic pathway for porphyrin distribution in the barley mutant albostrians [J]. Plant Journal 2003, 35(4): 512-516.
- [2] 陶 华, 薛庆中, 田振涛. 淡绿叶标记光-温敏核不育水稻叶色及育性的遗传分析 [J]. 作物学报, 2005, 31(4): 438-443.
- [3] Zhang H, Li J, Yoo J H, et al. Rice Chlorina-1 and Chlorina-9 encode ChlD and ChlI subunits of Mg-chelatase, a key enzyme for chlorophyll synthesis and chloroplast development [J]. Plant Molecular Biology, 2006, 62(3): 325-337.
- [4] Luo P G, Pen Z L. Wheat leaf chlorosis controlled by a single recessive gene [J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology 2006, 32(3): 330-338.
- [5] 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, 2007, 35(9): 79-82.
- [6] Zhao Y, Wang M L, Zhang Y Z, et al. A chlorophyll-reduced seedling mutant in oilseed rape (*Brassica napus*) for utilization in F1 hybrid production [J]. Plant Breeding, 2000, 119(2): 131-135.
- [7] Alawady A E, Grimm B. Tobacco Mg protoporphyrin IX methyltransferase is involved in inverse activation of Mg porphyrin and protoheme synthesis [J]. Plant Journal, 2005, 41(2): 282-290.
- [8] 李丕皋, 封如敏. 小麦特异材料-返白系的初步研究 [C]. 陕西省遗传学会论文汇编. 西安: 陕西省遗传学会, 1985: 53-56.
- [9] 郭蔼光, 王振镒. 小麦返白系的白化特征及其与环境因素的关系 [J]. 西北植物学报, 1991, 11(5): 112-117.
- [10] Nott A, Jung H S, Koussevitzky S, et al. Plastid-to-nucleus retrograde signaling [J]. Annual Reviews, 2006, 57: 739-759.
- [11] 马闻师, 郭蔼光. 小麦返白系返白期间的蛋白质组分变化及其返白机制研究 [J]. 作物学报, 1998, 24(1): 123-124.
- [12] 杨 莉, 郭蔼光. 小麦返白系叶片核酸含量及核酸酶活性研究 [J]. 西北农业学报, 2001, 10(2): 32-35.
- [13] 杨 莉, 郭蔼光, 关 旭. 小麦突变体返白系返白阶段叶绿体超微结构变化研究 [J]. 西北农业学报, 2003, 12(4): 64-67.
- [14] 魏天儒, 李秧秧, 黄 华. 小麦返白系返青后根系生长及养分吸收利用特性的研究 [J]. 干旱地区农业研究, 2004, 22(4): 118-122.
- [15] Ogihara Y, Isono K, Kojima T, et al. Chinese spring wheat (*Triticum aestivum* L.) chloroplast genome: complete sequence and contig clones [J]. Plant Molecular Biology Reporter 2000, 18(3): 243-253.
- [16] 郭长虹, 寺地微. 普通小麦与山羊草叶绿体基因组长度热点突变区的核苷酸序列分析 [J]. 中国农业科学, 2005, 38(7): 1300-1305.
- [17] 刘 畅, 杨足君, 李光蓉, 等. 叶绿体基因 *infA-rpl36* 区域在小麦族物种中的序列变异分析 [J]. 遗传, 2006, 28(10): 1265-1272.
- [18] 凌 瑶, 李成磊, 吴 琦. 多年生黑麦草 MYB 转录因子基因的克隆及序列分析 [J]. 河南农业科学, 2012, 41(6): 171-176.
- [19] 邹礼平, 高和平. 小麦生育酚环化酶基因全长 cDNA 的克隆与分析 [J]. 河南农业科学, 2009(7): 31-34.
- [20] 国艳梅, 顾兴芳, 张春震, 等. 黄瓜叶色突变体遗传机制的研究 [J]. 园艺学报, 2003, 30(4): 409-412.
- [21] Guo J W, Guo J K, Zhao Y, et al. Changes of Photosystem II electron transport in the chlorophyll-deficient oilseed rape mutant studied by chlorophyll fluorescence and thermoluminescence [J]. Journal of Integrative Plant Biology 2007, 49(5): 698-705.
- [22] Fambrini M, Castagna A, Vecchia F D. Characterization of a pigment-deficient mutant of sunflower (*Helianthus annuus* L.) with abnormal chloroplast biogenesis, reduced PS II activity and low endogenous level of abscisic acid [J]. Plant Sci 2004, 167: 79-89.
- [23] 马志虎, 颜素芳, 罗秀龙, 等. 辣椒黄绿苗突变体对良种繁育及纯度鉴定作用 [J]. 北方园艺, 2001, 138: 13-14.
- [24] Zhao Y, Wang M L, Zhang Y Z, et al. A chlorophyll-reduced seedling mutant in oilseed rape (*Brassica napus*) for utilization in F1 hybrid production [J]. Plant Breed 2000, 119(2): 131-135.
- [25] 何 冰, 刘玲珑, 张文伟, 等. 植物叶色突变体 [J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(1): 1-9.
- [26] Liu N T, Jane W N, Tsay H S. Chloroplast genome aberration in micropropagation-derived albino *Bambusa edulis* mutants *abl* and *ab2* [J]. Plant Cell Tissue Organ Cult 2007, 88, 147-156.
- [27] 许凤华. 水稻白条纹叶突变体 *gws* 的遗传分析与 *gws* 基因精细定位 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2010.
- [28] 袁丽钗, 李雪平, 彭镇华, 等. 菲白竹组培苗白化、绿化突变体的超微结构及 15 个叶绿体编码基因的表达 [J]. 植物学报, 2010, 45(4): 451-459.