

甜瓜属正反交杂种叶绿素生物合成与代谢研究

陈友根^{1,2}, 崔利¹, 陈劲枫^{1,*}

¹南京农业大学园艺学院, 作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京210095; ²安徽农业大学园艺学院, 合肥230036

摘要: 对甜瓜属野生黄瓜(*Cucumis hystrix* Chakr., $2n=24$, 简称HH)和栽培黄瓜‘北京截头’(*Cucumis sativus* cv. Beijingjietou, $2n=14$, 简称CC)的正反交杂种(正交: 野生黄瓜×栽培黄瓜‘北京截头’, HC; 反交: 栽培黄瓜‘北京截头’×野生黄瓜, CH)及亲本的叶绿素含量、叶绿素酶活性和叶绿素合成前体物质含量进行了测定, 以判断甜瓜属正反交杂种发生黄叶新表型变异的可能原因。结果显示, 正反交杂种叶绿素a (Chl a)、叶绿素b (Chl b)、总叶绿素含量均明显降低。正反交杂种叶绿素酶活性虽有升高, 但与双亲差异不显著。叶绿素合成中间产物分析结果显示, 正交杂种(HC)从 δ -氨基乙酐丙酸(ALA)到Mg-原卟啉 IX (Mg-Proto IX)过程的物质含量与双亲差异不显著, 但原脱植基叶绿素酸酯(Pchlide)含量明显增加, Chl a含量降低, 可知其叶绿素合成受阻于Pchlide转化为Chl a过程; 反交杂种(CH)中ALA和胆色素原(PBG)含量显著增加, 但尿卟啉原(Urogen III)含量显著降低, 随后的物质含量均有所减少, 可知其叶绿素合成受阻于PBG转化为Urogen III过程。本研究揭示了甜瓜属正反交杂种黄叶新表型产生机制不同, 进一步说明了甜瓜属种间正反交存在差异。

关键词: 甜瓜属; 正反交杂种; 叶绿素含量; 叶绿素酶活性; 叶绿素合成前体

Chlorophyll Biosynthesis and Metabolism Analyses of Reciprocal Interspecific Hybrid between *Cucumis hystrix* and *C. sativus*

CHEN You-Gen^{1,2}, CUI Li¹, CHEN Jin-Feng^{1,*}

¹State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; ²College of Horticulture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China

Abstract: The reciprocal interspecific hybrids between *Cucumis hystrix* and *C. sativus* were used to analyze chlorophyll biosynthesis and metabolism by measuring their chlorophyll (Chl) contents, chlorophyllase (Chlase) activities and chlorophyll biosynthesis precursors' contents in order to reveal the mechanisms of yellow leaves involved. The results showed that the contents of Chl a, Chl b and total chlorophyll in the leaves of HC and CH were significantly lower than those of their parents in the experiment. Nevertheless, the Chlase activities of HC and CH were the nearly comparable to their parents. The content of protochlorophyllide (Pchlide) in HC accumulated distinctly, whereas the content of Chl a decreased. The result suggested that the biosynthesis of Chl in HC was blocked at the step of converting Pchlide to Chl a. The content of δ -aminolevulinic acid (ALA) and porphobilinogen (PBG) in CH promoted rapidly, yet uroporphyrinogen (Urogen III) content reduced remarkably, and the contents of coproporphyrinogen III, protoporphyrin IX, Mg-protoporphyrin IX and protochlorophyllide were all decreased accordingly. The result displayed that the biosynthesis of Chl in CH was blocked at the step of converting PBG to Urogen III. Simultaneously, we discovered the novel phenotypes of yellow leaves in HC and CH were induced by different mechanism, which further confirmed the reciprocal differences in the interspecific hybridization between *C. hystrix* and *C. sativus*.

Key words: *Cucumis*; reciprocal hybrid; chlorophyll content; Chlase activity; chlorophyll biosynthetic precursors

叶色突变体是研究植物光能利用、光合系统结构、基因功能及其调控机制的理想材料(Mochizuki等2001; Robert等2003; Stern等2004)。突变体中叶绿素含量高低取决于叶绿素合成与降解的动态平衡。叶绿素含量降低可能是由不同原因造成, 高等植物叶绿素合成从谷氨酸到叶绿素a和叶绿素b, 涉及许多酶参与(Beale 2005), 其中任何一步出

现障碍都会影响叶绿素的合成; 同时, 叶绿素降解的初始阶段叶绿素酶活性上升也会引起叶绿素含

收稿 2013-04-02 修定 2013-04-15

资助 国家973计划(2009CB119001-01)和国家自然科学基金(30830079)。

* 通讯作者(E-mail: jfchen@njau.edu.cn; Tel: 13951722067)。

量降低(Fernandez-Lopez等1992)。

种间杂交形成的新种质往往会产生表型变异(Osborn等2003), 这些变异可为育种提供丰富的种质资源, 在稻属(Jena和Khush 1990)、棉属(Ndungu和Maxech 1998)、芸薹属(Peterka等2004)、麦属(Wu等2006)等作物上已广泛应用。本实验室成功进行了野生黄瓜与栽培黄瓜的种间杂交, 发现正反交杂种叶色、叶片和果实形状等表型发生了一系列变化。近年来, 利用该材料较为系统地进行形态学、细胞学及分子生物学等方面研究, 发现因遗传背景不同, 正反交杂种在形态、育性、酶谱、序列消除等方面存在一定差异(陈劲枫等2002; 陈龙正等2006; 罗向东等2006)。本研究则进一步分析其叶绿素含量、合成途径中间物质含量和叶绿素酶活性的变化, 旨在探明正反交杂种叶绿素生物合成缺陷产生的具体原因是否一致, 也为阐明其黄叶表型变异机制奠定基础。

材料与方 法

1 试验材料

本研究所用的材料分别为甜瓜属野生黄瓜(*Cucumis hystrix* Chakr., $2n=24$, 简称HH, 下同)、栽培黄瓜‘北京截头’(*Cucumis sativus* cv. Beijingjietou, $2n=14$, 简称CC, 下同)及以此为亲本配制的正反交种间杂种。野生黄瓜是从中国云南西双版纳收集而来(Chen等1997), 为多代自交保存的近缘野生种, 栽培黄瓜‘北京截头’是本实验室自交保存的常规品种。正交杂种(*C. hystrix*×*C. sativus*, $2n=19$, 简称HC, 下同)和反交杂种(*C. sativus*×*C. hystrix*, $2n=19$, 简称CH, 下同)是经胚胎拯救获得的植株在无菌条件下保存。2009年3月上旬对无菌苗进行生根驯化, 同时将其他参试种子在室内催芽播种, 试验于4月中旬在南京农业大学园艺学院大棚内进行。选取生长一致的植株, 取其顶部下数第5片功能叶, 测定叶绿素含量、叶绿素酶活性及合成途径中间产物含量, 试验重复3次以上。

2 测定方法

2.1 叶绿素含量测定

参照李合生(2001)的方法。

2.2 叶绿素酶(Chlase)活性测定

取2 g新鲜叶片, 剪碎, 加入10 mL丙酮, 在液

氮中研磨后, 置于 -20°C 提取40 min, 提取液 $12\ 000\times g$ 离心5 min, 去除上清液, 对底部沉淀再用同样条件重复提取2次。在沉淀中加入3 mL $5\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ pH=7的磷酸缓冲液(含 $50\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl, 0.24% TritonX-100), 30°C 下磁力搅拌30 min, $12\ 000\times g$ 离心5 min, 上清液即是酶粗提液。叶绿素酶活性的测定反应体系包括 $30\ \mu\text{L}$ $0.1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 抗坏血酸, $500\ \mu\text{L}$ 酶粗提液, $300\ \mu\text{L}$ $120\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 叶绿素, 1.7 mL丙酮, 最后加蒸馏水定容至3.3 mL。反应体系于 35°C 、黑暗条件下反应40 min。然后加入3 mL预冷的丙酮, 6 mL正己烷, 剧烈震荡来终止反应。 4°C , $12\ 000\times g$ 条件下离心5 min, 取丙酮层, 测定667 nm下的OD值。以沸水浴加热失活的酶液为比色空白对照。试验所用的叶绿素纯品购自Sigma公司。

2.3 ALA含量测定

2 g鲜样加6 mL乙酸钠缓冲液($0.5\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 4.6)冰浴充分研磨后, 沸水浴加热15 min, $10\ 000\times g$ 离心20 min, 并用4 mL提取液洗沉淀2次, 合并上清液, 取1 mL提取液, 加4滴乙酰乙酸乙酯, 沸水浴15 min后加入等体积艾氏试剂($0.795\ \text{g}$ HgCl_2 加入91 mL冰乙酸温水浴溶解, 冷却后加入70%高氯酸45.45 mL, 用冰乙酸定容至250 mL得到艾氏试剂空白液。临用前, 每55 mL艾氏空白液中加入19-对氨基苯甲醛, 即为艾氏试剂), 15 min后测定553 nm吸光值 A , 根据标准曲线计算样品中ALA含量 [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)]。

2.4 PBG含量测定

用提取缓冲液($0.1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA、 $0.6\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl, pH 8.2)提取叶片PBG, 加入Ehrlich-Hg试剂显色, 然后测定553 nm处的光吸收值。PBG含量以553 nm的摩尔消光系数 $6.1\times 10^4\ \text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ 计算。

2.5 Urogen III和Coprogen III含量测定

叶片经 $0.067\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液(pH 6.8)提取。在5 mL提取液中加入0.25 mL $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液(1%), 强光照射20 min后, 用 $1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 冰醋酸调pH至3.5。乙醚萃取3次, 合并水相并测定在405.5 nm处的光吸收值。Urogen III含量以405.5 nm的摩尔消光系数 $5.48\times 10^5\ \text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ 计算。上述乙醚萃取液再用 $0.1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸萃取3次, 合并后测定盐酸

相399.5 nm处的光吸收值。Coprogen III含量以399.5 nm的摩尔消光系数 $4.89 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 计算。

2.6 ProtoIX、Mg-ProtoIX和Pchlde含量测定

取0.5 g去叶脉叶片,加入5 mL 80%碱性丙酮研磨,在12 000×g、4 下离心10 min,取上清液,用80%碱性丙酮稀释到25 mL,测定 A_{575} (nm)、 A_{590} (nm)和 A_{628} (nm),按下面公式计算含量 $[\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW)]:

$$\text{Mg-ProtoIX} = 0.06077A_{590} - 0.01937A_{575} - 0.003423A_{628};$$

$$\text{ProtoIX} = 0.18016A_{575} - 0.04036A_{628} - 0.04515A_{590};$$

$$\text{Pchlde} = 0.03563A_{628} + 0.007225A_{590} - 0.02955A_{575}.$$

3 数据分析

试验数据用Excel和Spss 16.0软件进行分析。采用Duncan氏新复极差法进行显著性测验($P < 0.05$)。

实验结果

1 正反交杂种光合色素含量及组分变化

1.1 正反交杂种叶绿素和类胡萝卜素含量变化

从表1可知,正反交杂种叶绿素(Chl)和类胡萝卜素(Caro)严重匮乏。与双亲相比,正交杂种(HC)的Chl含量降低了约1/3,反交杂种(CH) Chl含量降低了近1/2;说明正反交杂种叶绿素含量存在一定差异。正反交杂种Caro含量也有所降低,但只与亲本之一野生黄瓜差异达到显著水平;正反交杂种

Chl/Caro与双亲间未见明显差异。初步认定正反交杂种黄叶新表型并非Chl/Caro比值变化引起,而是总叶绿素缺陷型突变。

1.2 正反交杂种叶绿素组分变化

与双亲相比,正反交杂种Chl a和Chl b含量均显著降低,但Chl a/Chl b明显提高,说明正反交杂种因Chl a含量减少影响了Chl b的合成(表1)。

2 正反交杂种叶绿素酶活性变化

一般认为,植物叶绿素酶活性上升,加速降解新合成的叶绿素。通过对正反交杂种及双亲叶绿素酶活性测定发现,正反交杂种叶绿素酶活性虽有所升高,但与双亲间差异不显著(表1)。说明叶绿素降解并不是引起正反交杂种叶绿素含量降低的主要原因。

3 正反交杂种叶绿素合成中间产物含量变化

3.1 正反交杂种 δ -氨基乙酰丙酸和胆色素原含量

叶绿素合成途径中,首先由谷氨酸经 C_5 途径合成前体物质 δ -氨基乙酰丙酸(ALA),再由ALA转变为胆色素原(PBG)。正反交杂种ALA和PBG含量测定结果显示,正反交杂种能正常合成ALA和PBG(表2)。正交杂种ALA和PBG含量与双亲无显著差异;而反交杂种ALA含量分别是双亲的1.78倍和1.64倍,PBG含量分别是双亲的1.42倍和1.38倍,显著高于双亲,说明其存在ALA和PBG的积累。

3.2 正反交杂种Urogen III和Coprogen III含量

PBG转化为羟甲基胆色素原后,异构化形成环

表1 正反交杂种及亲本光合色素含量及叶绿素酶活性

Table 1 Photosynthesis pigment content and Chlase activity in parents and their reciprocal hybrids

试材	Chl a/mg·g ⁻¹	Chl b/mg·g ⁻¹	Chl a/Chl b	Chl/mg·g ⁻¹	Caro/mg·g ⁻¹	Chl/Caro	Chlase/ $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$
HH	2.19±0.11 ^a	0.76±0.18 ^a	2.88±0.12 ^b	2.95±0.16 ^a	0.33±0.04 ^a	8.73±1.16 ^a	6.77±0.36 ^a
CC	1.75±0.09 ^b	0.66±0.12 ^a	2.65±0.17 ^b	2.41±0.04 ^b	0.26±0.06 ^{ab}	9.26±1.93 ^a	7.09±0.31 ^a
HC	1.23±0.02 ^c	0.34±0.04 ^b	3.62±0.19 ^a	1.57±0.05 ^c	0.24±0.02 ^b	6.54±1.45 ^a	7.38±0.38 ^a
CH	1.01±0.01 ^d	0.26±0.02 ^c	3.88±0.24 ^a	1.27±0.11 ^d	0.21±0.03 ^b	6.04±1.34 ^a	7.53±0.64 ^a

表2 正反交杂种及亲本ALA、PBG、Urogen III和Coprogen III含量

Table 2 The contents of ALA, PBG, Urogen III, Coprogen III in parents and their reciprocal hybrids

试材	ALA/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	PBG/nmol·g ⁻¹	Urogen III/nmol·g ⁻¹	Coprogen III/nmol·g ⁻¹
HH	1.24±0.31 ^b	6 641.3±201.8 ^b	98.8±7.4 ^a	87.5±7.7 ^a
CC	1.35±0.24 ^b	6 837.5±188.2 ^b	107.5±10.7 ^a	92.1±6.4 ^a
HC	1.43±0.37 ^b	7 023.3±234.7 ^b	104.6±5.8 ^a	95.7±7.3 ^a
CH	2.21±0.23 ^a	9 416.6±512.2 ^a	53.8±3.2 ^b	46.2±4.1 ^b

状Urogen III, 卟啉环侧链再进一步脱羧生成Coprogen III。正反交杂种Urogen III和Coprogen III测定结果表明(表2), 正反交杂种Urogen III和Coprogen III含量与双亲未见明显差异; 反交杂种Urogen III含量急剧下降, 只有双亲的1/2, Coprogen III也只有双亲的1/2, 差异达到显著水平。可以推测反交杂种PBG向Urogen III转化过程中受阻, 导致其叶绿素合成量减少; 初步判断正反交杂种黄叶新表型变异是由不同的原因引起。

3.3 正反交杂种Proto IX、Mg-Proto IX和Pchlide含量

卟啉环骨架形成后, Coprogen III氧化成Proto IX, 在Mg-螯合酶催化下, 后者变成Mg-Proto IX, 再经甲基化和环化合成Pchlide。正反交杂种Proto IX、Mg-Proto IX和Pchlide测定结果表明(表3), 反交杂种因PBG向Urogen III转化过程中受阻导致其后的Proto IX、Mg-Proto IX和Pchlide含量均低于双亲。正反交杂种Proto IX、Mg-Proto IX含量虽有上升, 但与双亲差异不显著, 但Pchlide含量显著升

高。一般认为, 叶绿素代谢途径中某一步发生障碍, 那么该步反应的前体物质将会发生积累, 其后的物质积累量迅速下降。因此, 可以初步判断正反交杂种叶绿素合成受限于Pchlide向Chl a转化过程中。

3.4 正反交杂种叶绿素代谢中间产物相对含量比较

为了直观反映出正反交杂种叶绿素合成代谢中间产物的变化情况, 笔者以亲本之一栽培黄瓜为例, 将其所有指标定为100%, 以正反交杂种中间物质和终产物含量占其百分比来表示(图1), 以显示正反交杂种叶绿素合成中间产物的变化情况。由图1可以明显看出, 反交杂种叶绿素合成中间产物含量从Urogen III开始至Pchlide均明显降低, 而ALA和PBG含量积累量增加, 可知反交杂种叶绿素合成受阻于PBG形成Urogen III过程中, 导致其叶绿素含量降低, 呈现黄叶新表型。正反交杂种Pchlide含量明显积累, 可知其受限于Pchlide向Chl a转化的过程中, 叶绿素含量显著降低使其呈现黄叶新表型。由此可见, 正反交杂种黄叶新表型是由叶绿素合成过程中不同的步骤发生变化引起, 说明正反交杂种叶绿素合成过程存在一定的差异。

表3 正反交杂种及亲本ProtoIX、Mg-Proto IX和Pchlide含量

Table 3 The contents of Proto IX, Mg-Proto IX, Pchlide in parents and their reciprocal hybrids

试材	Proto IX/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Mg-Proto IX/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Pchlide/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$
HH	0.57±0.09 ^a	0.78±0.15 ^a	0.78±0.14 ^b
CC	0.68±0.11 ^a	0.75±0.12 ^a	0.69±0.09 ^b
HC	0.73±0.16 ^a	0.91±0.09 ^a	1.46±0.28 ^a
CH	0.31±0.03 ^b	0.36±0.04 ^b	0.48±0.05 ^c

讨 论

近年来, 一些叶色变异被作为标记性状用于良种繁育(马志虎等2001)和杂交种生产(赵海军等2004)。我们可以利用甜瓜属种间杂种产生的黄叶新表型变异作为标记性状, 通过染色体加倍后形成的双二倍体与栽培黄瓜渐渗杂交, 从而更有效地进行黄瓜新品种改良。

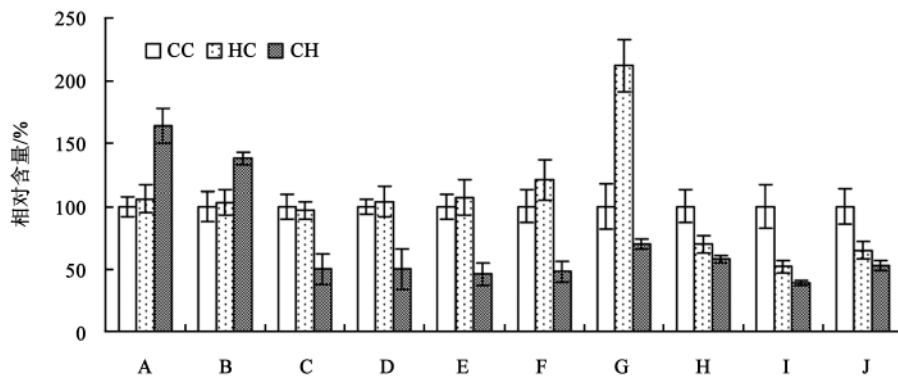


图1 正反交杂种与栽培黄瓜叶绿素生物合成中间物质含量比较

Fig.1 Comparison of amounts of chlorophyll synthesis precursors between hybrids and cucumber (one of the parents)

A: δ -氨基乙酰丙酸; B: 胆色素原; C: 尿卟啉原III; D: 粪卟啉原III; E: 原卟啉IX; F: Mg-原卟啉IX; G: 原脱植基叶绿素酸酯; H: 叶绿素a; I: 叶绿素b; J: 总叶绿素。

黄叶突变多数是因为叶绿素生物合成途径发生故障, 叶绿素合成量减少引起。本研究中, 正反交杂种Chl含量明显降低, Caro含量相应降低, 但Chl/Caro比值未发生明显变化, 说明甜瓜属正反交杂种黄叶新表型并非由Chl/Caro比值变化引起。同时, Chl a/Chl b明显升高, 说明正反交杂种均因Chl a合成量减少, Chl b降低幅度更剧烈。

叶绿素降解与叶绿素酶活性有着密切的关系, 叶绿素酶活性升高可加速植株叶绿素降解。通过对甜瓜属正反交杂种叶绿素酶活性测定, 发现与双亲之间未见明显差异, 说明叶绿素降解并不是正反交杂种发生黄叶新表型变异的主要原因, 而是其叶绿素合成量减少所致。

不同叶色突变叶绿素合成受阻的步骤存在差异, 并且植株表型性状与内部的遗传物质之间并非一一对应, 同一突变性状可能受不同基因控制。Terry和Kendrick (1999)报道番茄黄叶突变体*au*和*yg-2*的表型性状虽然相似, 但是*au*发生了血红素加氧酶基因突变, 而*yg-2*则是光敏色素生色团合酶基因发生突变。本研究中, 通过对正反交杂种叶绿素合成中间产物测定发现, 反交杂种受阻于PBG合成Urogen III过程; 正交杂种受阻于Pchlide向Chla转化过程中, 表明正反交杂种黄叶突变新表型产生的原因存在一定差异。甜瓜属正反交杂种是亲缘关系较远的两套染色体组间重新组合, 野生黄瓜24条染色体, 栽培黄瓜14条染色体, 遗传背景差异较大的两个物种杂化后, 一个核基因组势必造成对另一套核质基因组的冲击, 导致功能基因间的不协调, 引起植株代谢不正常, 表现出形态或生理代谢上的巨大差异。本研究中, 正反交杂种叶片虽然都发生了黄化突变, 但其遗传机理存在差异, 这有待于从分子水平上做进一步研究。

参考文献

陈劲枫, 庄飞云, 娄群峰, 徐玉波, 钱春桃, 任刚, 罗向东(2002). *Cucumis*属植物种间正反杂交差异的研究. 园艺学报, 29 (5): 483-485

陈龙正, 陈劲枫, 娄群峰, 杨寅桂, 庄勇(2006). 野黄瓜与栽培黄瓜正反杂交源四倍体序列消除的初步研究. 植物分类学报, 44 (5):

481-487

李合生(2001). 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社

罗向东, 戴亮芳, 刘强, 娄群峰, 钱春桃, 陈劲枫(2006). 栽培黄瓜与野黄瓜正反杂交的几种同工酶分析. 植物分类学报, 44 (5): 488-493

马志虎, 颜素芳, 罗秀龙, 郝华忠(2001). 辣椒黄绿苗突变体对良种繁育及纯度鉴定作用. 北方园艺, 138: 13-14

赵海军, 吴殿星, 舒庆尧, 沈圣泉, 马传喜(2004). 携带白化转绿型叶色标记光温敏核不育系玉兔S的选育及其特征特性. 中国水稻科学, 18 (6): 515-521

Beale SI (2005). Green genes gleaned. Trends Plant Sci, 10: 309-312

Chen JF, Staub JE, Tashiro Y, Isshiki S, Miyazaki S (1997). Successful interspecific hybridization between *Cucumis sativus* L. and *C. hystrix* Chakr. Euphytica, 96 (3): 413-419

Fernandez-Lopez JA, Almela L, Almansa MS, Lopez-Poca JM (1992). Partial purification and properties of chlorophyllase from chlorotic citrus limon leaves. Phytochemistry, 31: 447-449

Jena KK, Khush GS (1990). Introgression of genes from *Oryza officinalis* Well ex Watt to cultivated rice, *O. sativa* L. Theor Appl Genet, 80: 737-745

Mochizuki N, Brusslan JA, Larkin R, Nagatani A, Chory J (2001). *Arabidopsis genomes uncoupled 5 (GUN5)* mutant reveals the involvement of Mg-chelatase H subunit in plastid-to-nucleus signal transduction. Proc Natl Acad Sci USA, 98: 2053-2058

Ndunga VJ, Maxeck R (1998). The improvement of cotton (*Gossypium hirsutum*) using interspecific hybridization. Bull Rech Agrom Gembloux, 23 (3): 283-316

Osborn TC, Pires JC, Birchler JA, Auger DL, Chen ZJ, Lee HS, Comai L, Madlung A, Doerge W, Colot V, Martiensse RA (2003). Understanding mechanisms of novel gene expression in polyploids. Trends Genet, 19 (3): 141-147

Peterka H, Budahn H, Schrader O (2004). Transfer of resistance against the beet cyst nematode from radish (*Raphanus sativus*) to rape (*Brassica napus*) by monosomic chromosome addition. Theor Appl Genet, 109 (1): 30-41

Robert ML, Jose MA, Joseph RE (2003). GUN4, a regulator of chlorophyll synthesis and intracellular signaling. Science, 299: 902-906

Stern DB, Hanson MR, Barkan A (2004). Genetics and genomics of chloroplast biogenesis: maize as a model system. Trends Plant Sci, 9: 293-301

Terry MJ, Kendrick RE (1999). Feedback inhibition of chlorophyll synthesis in the phytochrome chromophore-deficient aurea and yellow-green-2 mutants of tomato. Plant Physiol, 119: 143-152

Wu J, Yang XM, Wang H (2006). The introgression of chromosome 6P specifying for increased numbers of florets and kernels from *Agropyron cristatum* into wheat. Theor Appl Genet, 114 (1): 13-20