

芸薹种作物抽薹相关基因 *B rFLC1* 的 CAPS 标记

原玉香^{1,2}, 孙日飞¹, 张晓伟^{2,3}, 武 剑¹, 徐东辉¹, 张 慧¹, 和江明⁴,
张延国¹, 王晓武^{1*}

(¹ 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081; ² 河南省农业科学院园艺研究所, 郑州 450002; ³ 华中农业大学园艺学学院, 武汉 430070; ⁴ 云南省农业科学院园艺作物研究所, 昆明 650205)

摘 要: 以 16 份芸薹种作物 DH 系为试材, 通过人工春化处理对其抽薹性状进行了鉴定, 明确了材料间抽薹早晚存在显著差异; 根据 *B rFLC1* 基因序列设计引物进行 PCR 扩增发现, 所有 16 份材料均获得 980 bp 的片段。多序列比对与抽薹性的关联分析发现, 材料的抽薹早晚与扩增片段的碱基变异相关联, 并发现关联位点的碱基变异为限制性内切酶 *Mva* 的识别位点; 利用该酶对 PCR 产物酶切可以将材料明显区分开来, 从而建立了 *B rFLC1* 基因的 CAPS 标记 (命名为 *G Mva*)。利用此标记对 96 份芸薹种作物 DH 材料的验证表明, 该基因的分子标记结果与抽薹时间表型显著相关, 用该标记可以进行分子标记辅助选择。

关键词: 芸薹种作物; 抽薹; *B rFLC1* 基因; CAPS 标记

中图分类号: S 634 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2008) 11-1635-06

A CAPS Marker Linked to Bolting Related Gene *B rFLC1* in *B rassicarapa*

YUAN Yu-xiang^{1,2}, SUN Ri-fei¹, ZHANG Xiao-wei^{2,3}, WU Jian¹, XU Dong-hui¹, ZHANG Hui¹,
HE Jiang-ming⁴, ZHANG Yan-guo¹, and WANG Xiao-wu^{1*}

(¹ Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; ² Institute of Horticulture, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China; ³ College of Horticulture and Forestry, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; ⁴ Institute of Horticulture, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, China)

Abstract: Bolting time of 16 *B rassicarapa* accessions was investigated under artificial vernalization treatment. The results showed that there was a wide range variation of bolting time among these accessions. Polymerase chain reaction (PCR) with a primer pair based on the *B rFLC1* gene sequence generated a 980 bp fragment from all accessions. A base variation located at P3 was significantly associated with bolting time, and the base variation at this position is the recognition site of restriction enzyme *Mva*. Therefore, a cleaved amplified polymorphic sequences (CAPS) marker designated as *G Mva* was developed for this locus by digesting the amplified fragment with *Mva*. The marker was verified in 96 *B. rapa* DH lines, displaying a significant association between the bolting phenotypes and the genotypes of *G Mva*. These results indicated that *G Mva* can be easily used for marker-assisted selection (MAS) in late bolting or bolting-resistance breeding.

Key words: *B rassicarapa* L. syn. *campestris* L.; bolting; *B rFLC1* gene; CAPS marker

“先期抽薹”问题一直困扰着北方春季和高寒冷凉地区的大白菜生产。因此, 开发与抽薹相关的特异分子标记对于培育耐抽薹的大白菜新品种具有重要意义。

收稿日期: 2008 - 05 - 16; 修回日期: 2008 - 10 - 23

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2006BAD01A7-1-06); 国家 ‘863’ 计划项目 (2006AA100108); 国家自然科学基金项目 (30671415); 河南省重大科技攻关项目 (072101110400)。

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: wangxw@mail.caas.net.cn)

FLOWERING LOCUS C (FLC) 是拟南芥的开花抑制因子, 编码一种新的 MADS-盒蛋白, 以一种类似变阻器的剂量方式抑制开花 (Michael & Amasino, 1999; Sheldon et al, 1999)。FLC是春化途径中的关键基因, 同时也被自主途径中的有关基因调控, 是开花相关基因中的枢纽基因 (Sheldon et al, 1999, 2000)。目前在芸薹属作物不同种中分别克隆到 FLC的同源基因 (Tadege et al, 2001; Schranz et al, 2002; Li et al, 2005; Lin et al, 2005), 一些同源基因对开花的延迟功能也已报道 (Kim et al, 2007; Tadege et al, 2001)。抽薹时间在芸薹种作物 (*Brassica rapa* L. syn *campestris* L.) 中存在广泛的自然变异, 研究表明白菜中有 4 个 *B rFLC*同源基因, 多个同源基因的重复所产生的多倍性是造成抽薹时间表型变异的原因 (Schranz et al, 2002)。然而, 这些变异是否与 *B rFLC*基因的序列变异相关, 尚不清楚, 与这些基因紧密连锁或共分离的分子标记也未见报道。

本研究中以抽薹时间不同的 16份芸薹种作物为试材, 根据 *B rFLC1*基因序列设计特异扩增引物, 寻找与抽薹相关的序列变异, 并开发与抽薹连锁的 CAPS标记, 同时对标记的通用性在 96份大白菜和白菜 DH系中进行验证, 以期芸薹种作物晚抽薹育种的分子标记辅助选择提供依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料及其低温处理

选 16份有代表性的芸薹种作物 DH系用于测序, 包括大白菜、白菜、乌塌菜、菜薹、紫菜薹和 Rapid-cycling (表 1)。其中 Rapid-cycling由威斯康星大学 Osborn博士提供, 为 Schranz等 (2002) 克隆 *B rFLCs*基因所用的 DH系 MB。标记的验证利用 96份来源于不同杂交种或组合的白菜 DH材料, 包括 74份大白菜和 22份白菜 (表 2)。

将吸涨的种子平铺于底部垫有双层滤纸的培养皿中, 放入 25℃ 的培养箱中催芽, 待 2/3的种子露白后将培养皿转至 4℃ 暗培养箱进行人工春化处理。

1.2 植株生长条件及抽薹时间调查

2006年 8月—2007年 2月在中国农业科学院 (北京) 进行 16份芸薹种作物材料的抽薹性鉴定。种子春化处理 20 d后播种于温室的营养钵中, 每份材料 5个单株, 按常规进行栽培管理。2007年 2—5月在河南省农业科学院 (郑州) 进行 96份 DH材料的抽薹性鉴定。将春化处理 25 d后的种子点播于营养钵中, 置于生长室中 (昼 25℃ 夜 20℃, 光 16 h/暗 8 h) 培养, 每份材料 5个单株, 按常规进行栽培管理。以春白菜品种 ‘春秋 54’ 和 ‘健春’ 的 DH系 (Y177-12) 为晚抽薹材料的对照。对照材料与 DH系材料的播前处理及管理同步进行。从播种到肉眼可见花蕾所需的天数可以反映芸薹种作物抽薹时间的早晚, 所以调查从第一份材料花蕾初现时开始, 逐日观察统计其现薹日期, 每份 DH材料调查 5株, 取平均值。2006年北京试验和 2007年春郑州试验分别调查至播种后 120 d和 60 d, 在调查结束时尚未出现花蕾的植株分别记为 125 d和 65 d (Osborn et al, 1997)。

1.3 特异扩增引物设计、PCR扩增及 Mva I 酶切反应

根据已发表的 *B rFLC1*基因的 DNA序列 (GenBank accession number: AY115678), 利用 Primer premier 5.0软件设计特异扩增的 PCR引物。上游引物为 FLC1F4: 5'-CTT GAG GAA TCA AAT GTC GATAA -3' 和 FLC1F-T: 5'-AGG TCG CAA GCC TAT CTC-3', 下游引物为 FLC1R1: 5'-CCA TAT TAT CAG CTT CGG CTC G -3'。对扩增得到的 PCR产物纯化后进行测序, 测序在 ABI3730XL DNA Analyzer (Perkin-Elmer, USA) 上进行。序列比对与分析采用 DNAMAN软件 (Ver. 5.2.2)。

DNA提取采用 CTAB微量法 (Wang et al, 2005)。PCR反应体系: 50 ng DNA, 10 ×PCR反应缓冲液 2 μL, 2.5 mmol·L⁻¹ dNTP 1.2 μL, 上、下游引物 (10 μmol·L⁻¹) 各 0.5 μL, 1.0 U *Taq* DNA聚合酶, 无菌的双蒸水补足 20 μL。热循环程序为: 94℃ 预变性 4 min; 94℃ 变性 1 min, 58℃ 复性 1 min, 72℃ 延伸 1 min 30 s, 35个循环; 72℃ 延伸 10 min。

Mva 酶切反应体系 15 μ L, 包含 5 μ L PCR扩增产物, 1 \times 缓冲液 R (含 BSA) 和 2.5 U限制性内切酶 *Mva* (MB I Fermentas), 无菌双蒸水补足。37 $^{\circ}$ C 保温 2.0 h 完全酶切, 然后加入上样缓冲液终止反应, 用 2.0% 琼脂糖电泳检测。

2 结果与分析

2.1 测序材料的抽薹性表现

16份材料的抽薹时间有很大的差异, 最早的在播种后 25 d 现薹, 最晚的在播种后 120 d 仍未出现花薹。抽薹时间 <40 d 的材料有 3 份, 分别为 L144 (Rapid-cycling)、BDC5186-3 (白菜) 和 L58-1 (菜薹); 在调查结束时尚未出现花薹 (抽薹时间 >120 d) 的材料有 4 份, 分别为大白菜 2 份 (Y411-3 和 Y538-3) 和白菜 2 份 (N14-17 和 N1-1)。其余 9 份材料的抽薹时间在 46~120 d 之间 (表 1)。

表 1 16 份测序材料在 *B rFLC1* 基因的扩增区域的碱基变异与抽薹的相关分析

Table 1 Association of bolting time with base variations in amplified region of *B rFLC1* gene among 16 sequenced accessions

亚种或变种 Subspecies or varieties	编号 Code	材料名称 Accession name	来源 Origin	<i>G-Mva</i>	抽薹时间 /d Bolting time	碱基变异位置 Position of base variation						
						内含子 5 Intron 5		内含子 6 Intron 6				
						P2	P1	P3	P4	P5	P6	P7
大白菜 Chinese cabbage	1	Y411-3	晚白 2号 Wanbai 2	b	125 \pm 0.0	C	A	G	A	A	C	A
	2	Y152-9	津绿 78 Jinl ũ78	b	62 \pm 1.8	C	T	G	A	A	C	G
	3	R16-11	日本卷翠 Japanese Juancui	a	46 \pm 1.7	T	T	A	A	A	-	A
	4	Y177-12	健春 Jianchun	b	120 \pm 0.2	C	A	G	A	A	-	A
	5	Y195-93	热抗白 45 Re kangbai 45	a	84 \pm 0.2	T	T	A	A	A	-	A
	6	Y392-16	黄芽 14 Huangya 14	b	115 \pm 1.0	C	A	G	T	-	-	A
	7	Y538-3	中白 78 Zhongbai 78	b	125 \pm 0.0	C	T	G	A	A	-	A
白菜 Pak Choi	8	BDC5186-3	高脚匙羹白 Gaojiao Chigengbai	a	37 \pm 0.1	T	T	A	A	A	C	A
	9	N26-2	黑白菜 Heibaicai	b	115 \pm 0.0	C	A	G	A	A	C	G
	10	N14-17	五月慢 Wuyueman	b	125 \pm 0.0	C	T	G	A	A	-	A
	11	N1-1	日本青梗 308 Japanese Qingeng 308	b	125 \pm 0.0	C	T	G	A	A	-	A
	12	N29-168	台湾大头清江 Taiwan Datou Qingjiang	a	87 \pm 1.3	T	T	A	A	A	-	A
乌塌菜 Wuta-tsai 菜薹 Flowering Chinese cabbage	13	Glu002-2	乌塌菜 Wuta-tsai	a	80 \pm 0.0	T	T	A	A	A	-	A
	14	L58-1	四九菜心 Sijiu Caixin	a	33 \pm 0.5	T	T	A	A	A	-	A
紫菜薹 Zicaitai Rapid-cycling	15	F041397-3	二早子 Erzaozi	a	48 \pm 0.0	T	A	A	A	A	C	A
	16	L144	MB	a	25 \pm 0.0	T	T	A	A	A	-	A

注: 'b' 和 'a' 分别代表 *G-Mva* 标记产生的 2 条带型和 1 条带型; 数据为平均数 \pm 标准差。

Note: 'b' and 'a' represent two bands and one band type produced by *G-Mva*, respectively; Data are presented as mean \pm SD.

2.2 *B rFLC1* 特异片段的获得及序列比对

以 16 份试材总基因组 DNA 为模板, 用本研究中设计的位于外显子 4 的 *FLC1F4* 和位于外显子 7 的 *FLC1R1* 引物组合进行 PCR 扩增, 所有材料中均扩增得到 1 条约 980 bp 的条带 (图 1)。

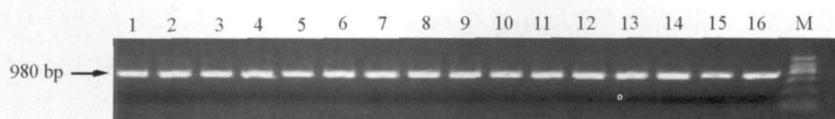


图 1 引物 *FLC1F4/FLC1R1* 对 *B rFLC1* 基因片段的特异扩增

1~16 分别表示表 1 中的 1~16; M 代表 DNA marker。

Fig. 1 *B rFLC1* gene-specific fragment got among 16 sequencing B. rapa accessions based on *FLC1F4/FLC1R1*

Lane 1-6 represent 1-16 listed in Table 1; M represents DNA marker.

对扩增得到的 PCR 产物纯化后进行测序, 确认了扩增出来的片段为 *B rFLC1* 基因特有。16 份材料的多序列比对发现共有 7 个位置存在碱基变异, 其中内含子 5 中有 2 个, 分别命名为 P1 和 P2, 内含子 6 中有 5 个, 分别命名为 P3、P4、P5、P6 和 P7 (表 1)。在外显子区域未发现变异。

2.3 序列变异与抽薹性的关联分析

碱基变异与抽薹时间的关联分析表明: 在 7 处变异位点中, 只有 2 处完全连锁的碱基变异 (P1 和 P3) 与抽薹时间显著相关 ($r=0.8$, $P < 0.01$)。以 P3 位点为例, 8 份在该位点为 G 的材料中有 7 份表现为相对晚抽薹 (抽薹时间在 110 d 以上), 只有 1 份大白菜 (Y152-9) 表现为相对早抽薹 (抽薹时间 62 d); 8 份在该位点为 A 的材料中抽薹时间均在 87 d 以内 (表 1)。

2.4 CAPS 标记的开发

进一步的酶切位点分析发现: 位于 P3 的单碱基的突变位点恰好为限制性内切酶 *Mva* 的识别位点, 此外, 在扩增区域还有该酶的另一个识别位点。为了排除另一个位点的干扰, 在内含子 5 内又设计合成了一条正向引物: FLC1F-T, 利用该引物与位于外显子 7 的 FLC1R1 进行 PCR 扩增, 得到了一条大小为 750 bp 左右的片段。此特异 PCR 产物经 *Mva* 限制性酶切电泳后, 呈现 2 种类型 (图 2): 750 bp 的一条带型 (A 基因型), 259 bp 和 491 bp 的两条带型 (G 基因型)。这是因为当 P3 位点为 G 时, 正好为限制性内切酶 *Mva* 的识别位点 (CCWGG), *Mva* 识别该位点并将其酶切, 电泳后可以见到两条带; 而当该位点有 G-A 突变 (CCWGA) 时, *Mva* 限制性酶切位点失去, *Mva* 不能识别, 电泳后只能见到一条带。据此可判断 *B rFLC1* 基因在该位点的 G-A 突变, 该标记命名为 *G Mva*。

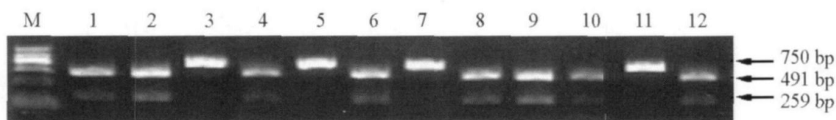


图 2 引物组合 FLC1F-T/FLC1R1 的 PCR 产物的 *Mva* 酶切电泳

M: DNA Marker ; 3、5、7 和 11: 碱基位点为 A;

1、2、4、6、8、9、10 和 12: 碱基位点为 G

Fig. 2 Electrophoresis of digested PCR products amplified by the primers of FLC1F-T and FLC1R1 by *Mva* enzyme

M: DNA Marker ; Base A in lane 3, 5, 7 and 11;

Base G in lane 1, 2, 4, 6, 8, 9, 10 and 12

CAPS 标记 *G Mva* 对 16 份测序材料的酶切结果表明, 酶切的结果与测序结果完全一致 (表 1): 所有在 P3 位点为 G 的材料, 酶切后全部为 2 条带 (表 1 中记为 b), 位点为 A 的材料则全部为 1 条带 (表 1 中记为 a)。因此, 可以用该标记判断 *B rFLC1* 基因的 G-A 变异位点。

2.5 *B rFLC1* 基因的 CAPS 标记在 96 份 DH 材料中的验证

为了验证标记的可靠性, 对 96 份 DH 材料和晚抽薹对照的抽薹时间进行鉴定, 同时利用 CAPS 标记 *G Mva* 对 G-A 位点进行检测。结果表明: 96 份不同来源的白菜 DH 材料的抽薹时间在 19 ~ 65 d 之间 (表 2), 标记检测结果为 G 基因型和 A 基因型材料分别为 45 份和 51 份。标记基因型和抽薹表型的 Pearson 相关分析表明, 材料的抽薹时间早晚与 G-A 位点的基因型显著相关 ($r=0.626$, $P < 0.01$)。晚抽薹的对照品种 '春秋 54' 和 DH 系 (y177-12) 的平均抽薹时间分别为 41 d 和 40 d, *G Mva* 标记检测基因型为 G, 据此认为在本试验条件下, 抽薹时间 40 d 的材料为相对晚抽薹的材料。这表明研究中开发的这个 CAPS 标记可以广泛应用。

本研究中发现, 经 *G Mva* 标记检测基因型为 G 的材料晚抽薹, 为 A 的材料早抽薹, 但是还有个别材料不符合此规律 (表 2 中星号表示), 包括 3 份大白菜标记检测为 G 但早抽薹和 6 份大白菜标记检测为 A 但晚抽薹, 占参试材料的 9.4%。

表 2 基于 *G-M va* 标记的基因型与抽薹时间的关联分析Table 2 Association analysis of *G-M va* marker genotype and bolting time across 96 *B. rapa* accessions

<i>G-M va</i>	材料 Accession	抽薹时间 /d Bolting time	<i>G-M va</i>	材料 Accession	抽薹时间 /d Bolting time	<i>G-M va</i>	材料 Accession	抽薹时间 /d Bolting time
b	Y408-33	60 ±3.1	b	Y177-12	40 ±0.0	a	Y498-5	32 ±3.7
b	Y497-1	57 ±6.2	b	Y445-2	40 ±1.7	a	Y510-1	32 ±0.0
b	Y412-3	53 ±9.4	b	Y152-9*	37 ±1.1	a	Y470-11	32 ±0.0
b	Y246-5	52 ±2.2	b	Y81-37A*	32 ±0.0	a	Y134-19	32 ±0.0
b	Y411-3	51 ±1.1	b	Y231-330*	32 ±0.0	a	Y350-164	32 ±0.0
b	YM188	50 ±0.9	a	Y348-95*	52 ±0.9	a	Y168-17	32 ±0.0
b	Y302-11	50 ±0.9	a	Y471-1*	49 ±3.9	a	Y322-23	32 ±0.0
b	Y96-1	50 ±0.0	a	Y420-73*	49 ±2.7	a	Y521-4	32 ±0.0
b	Y497-26	49 ±2.3	a	Y208-3*	49 ±1.8	a	YR16-11	31 ±2.2
b	Y410-1	48 ±3.3	a	Y27-29*	43 ±1.8	a	Y153-7	29 ±1.6
b	Y476-44	48 ±0.0	a	Y506-19*	42 ±0.9	b	N30-3	65 ±0.0
b	Y469-4	48 ±0.0	a	Y407-150	38 ±3.8	b	N1-1	65 ±0.0
b	Y248-3	46 ±1.4	a	Y399-1	38 ±1.4	b	N14-17	65 ±0.0
b	Y103-72	46 ±1.1	a	Y352-6	37 ±3.6	b	N16-6	65 ±0.0
b	Y207-9	43 ±3.6	a	Y530-25	37 ±1.1	b	N26-2	65 ±0.0
b	Y297-24	43 ±2.7	a	Y453-3	36 ±3.2	b	N26-15	42 ±2.6
b	YF05-761	43 ±1.8	a	Y509-2	36 ±0.0	b	N82-6	42 ±0.1
b	Y502-10	42 ±3.3	a	Y149-8	36 ±0.0	b	N49-8	42 ±0.0
b	Y541-4	42 ±3.3	a	Y544-2	35 ±2.7	a	N17-3	37 ±3.9
b	Y443-5	42 ±3.0	a	Y148-72	34 ±3.6	a	N20-3	36 ±5.3
b	Y499-3	42 ±2.2	a	Y141-33	34 ±3.3	a	N10-36	36 ±3.3
b	Y513-18	42 ±0.0	a	Y540-9	34 ±0.9	a	NW1-1	35 ±1.1
b	Y531-23	41 ±2.7	a	Y195-93	34 ±0.9	a	N30-13	34 ±0.0
b	Y249-7	41 ±1.8	a	Y500-1	34 ±0.0	a	N13-4	34 ±0.0
b	Y536-16	41 ±1.1	a	Y508-1	34 ±0.0	a	NW2-3	33 ±1.1
b	YQ54-1	41 ±1.1	a	Y159-6	33 ±1.8	a	N19P2-7	32 ±0.0
b	Y358-10	40 ±3.5	a	Y66-83	33 ±1.8	a	N29-168	32 ±0.0
b	Y538-3	40 ±2.8	a	Y507-3	33 ±1.1	a	N50-16	32 ±0.0
b	Y389-23	40 ±2.3	a	Y504-30	33 ±1.1	a	N4-1	27 ±0.0
b	Y392-16	40 ±0.9	a	Y463-3	33 ±1.1	a	N15-36	22 ±0.0
b	YG55B1-1	40 ±0.9	a	Y259-16	33 ±1.0	a	N42-8	22 ±0.0
b	Y467-7	40 ±0.0	a	Y54-2	33 ±0.9	a	N92-1	19 ±0.0

注: 'b' 和 'a' 分别代表 *G-M va* 标记产生的 2 条带型和 1 条带型; 材料中首字母为 Y 和 N 的材料分别为大白菜和白菜; 数据为平均数 ± 标准差; 例外材料用星号标出。

Note: 'b' and 'a' represent two bands and one band type, respectively; The initials of accessions denote Chinese cabbage and Pak Choi, respectively; Data are presented as mean ±SD; Exceptional accessions are indicated with asterisk

3 讨论

本研究选取芸薹种 16 份抽薹时间变异大的材料, 通过对 *B rFLC1* 基因的序列比对与分析, 开发了 *B rFLC1* 基因的 CAPS 标记 *G-M va*, 并在 96 份大白菜和白菜 DH 系中进行了可靠性验证。这是国内外首次报道的与 *B rFLC1* 基因共分离且与晚抽薹性紧密连锁的分子标记。可据此标记区分材料的抽薹早晚, 预测抽薹性。

现薹和抽薹是植物开花过程中前后衔接的 2 个阶段, 本研究中以现薹时间代表抽薹时间, 虽存在一定的缺陷, 但大白菜的抽薹和现薹表现一定的相关性 (惠麦侠等, 2004), 因此现薹的时间差异基本能够反映抽薹早晚的差异。需要指出的是, 虽然本研究获得的 *G-M va* 标记与晚抽薹性显著相关, 仍有一些材料不符合此规律, 即基因型为 G 的材料相对晚抽薹, 为 A 的材料相对早抽薹, 推测原因: 第一, *B rFLC* 基因的其它拷贝或不同拷贝之间的互作对抽薹开花也有影响。Schranz 等 (2002) 研究认为多拷贝的 *B rFLC*s 基因是芸薹种作物开花时间表型变异的基础, *B rFLC* 以加性效应的互作方式调节开花时间。有研究表明 98% 的 *B. rapa* 开花时间变异是由于 *B rFLC1* (72.2%) 和 *B rFLC2*

(25.4%)的加性效应造成的 (Schranz et al, 2002)。第二, 与开花时间相关的其他基因也会影响抽薹开花。开花是一个复杂的网络系统, 受多个基因所调控, 拟南芥中已鉴定了 80多个与开花相关的位点 (Levy & Dean, 1998), 一些基因如 *FRI*, *FRL1*, *FRL2*, *VIP3*, *VIP4*, *ELF7*, *ELF8*, *EF5* 或 *PIE1*等促进 *FLC*的表达 (Johanson et al, 2000; Rouse et al, 2002; Caicedo et al, 2004), 而春化过程的一些基因如 *VRN3*, *VRN1*和 *VRN2* (Sung & Amasino, 2005) 和自主性途径的一些基因如 *LFY*, *FCA*, *FLD*, *FVE*, *FPA*, *LD*和 *FLK* (He & Amasino, 2005) 则抑制其表达。此外, 环境因素也会对抽薹开花产生影响。

本研究中开发的 CAPS标记还具有共显性的特点, 可以早期鉴定育种材料的纯合度及杂交种的纯度, 也可以应用于基因的定位, 将为耐抽薹育种中的标记辅助选择提供新的工具。

References

- Caicedo A L, Stinchcombe J R, Olsen K M, Schmitt J, Purugganan M D. 2004. Epistatic interaction between *Arabidopsis FRI* and *FLC* flowering time genes generates a latitudinal cline in a life history trait. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101: 15670 - 15675.
- He Y, Amasino R M. 2005. Role of chromatin modification in flowering-time control. *Trends Plant Sci*, 10: 30 - 35.
- Hui Mai-xia, Zhang Lu-gang, Gong Zhen-hui, Zhang Ming-ke, Hou Pei. 2004. Effects of vernalization temperature on flower bud differentiation and bolting of Chinese cabbage (*B. nassica campestris* L. ssp. *pekinensis*). *Acta Bot Boreal Occident Sin*, 24 (12): 2359 - 2361. (in Chinese)
- 惠麦侠, 张鲁刚, 巩振辉, 张明科, 侯沛. 2004. 春化温度对大白菜花芽分化和抽薹的影响. *西北植物学报*, 24 (12): 2359 - 2361.
- Johanson U, West J, Lister C, Michaels S, Amasino R, Dean C. 2000. Molecular analysis of *FRIGIDA*, a major determinant of natural variation in *Arabidopsis* flowering time. *Science*, 290: 344 - 347.
- Kim S Y, Park B S, Kwon S J, Kim J, Lim M H, Park Y D, Kim D Y, Suh S C, Jin Y M, Ahn J H, Lee Y H. 2007. Delayed flowering time in *Arabidopsis* and *B. nassica napa* by the overexpression of *FLOWERING LOCUS C (FLC)* homologs isolated from Chinese cabbage (*B. nassica napa* L. ssp. *pekinensis*). *Plant Cell Rep*, 26: 327 - 336.
- Levy Y Y, Dean C. 1998. The transition to flowering. *Plant Cell*, 10: 1973 - 1989.
- Li Z, Zhao L, Cui C, Kai G, Zhang L, Sun X, Tang K. 2005. Molecular cloning and characterization of anti-bolting related gene (*BpFLC*) from *B. nassica napa* ssp. *pekinensis*. *Plant Sci*, 168: 407 - 413.
- Lin S I, Wang J G, Poon S Y, Su C I, Wang S S, Chiou T J. 2005. Differential regulation of *FLOWERING LOCUS C* expression by vernalization in cabbage and *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 137: 1037 - 1048.
- Michaels S D, Amasino R M. 1999. *FLOWERING LOCUS C* encodes a novel MADS domain protein that acts as a repressor of flowering. *Plant Cell*, 11 (5): 949 - 956.
- Osborn T C, Kole C, Parkin I A P, Shupe A G, Kuiper M, Lydiat D J, Trick M. 1997. Comparison of flowering time genes in *B. nassica napa*, *B. napus* and *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*, 146: 1123 - 1129.
- Rouse D T, Sheldon C C, Bagnall D J, Peacock W J, Dennis E S. 2002. *FLC*, a repressor of flowering, is regulated by genes in different inductive pathways. *Plant J*, 29 (2): 183 - 191.
- Schranz M E, Quijada P, Sung S B, Lukens L, Amasino R, Osborn T C. 2002. Characterization and effects of the replicated flowering time gene *FLC* in *B. nassica napa*. *Genetics*, 162 (3): 1457 - 1468.
- Sheldon C C, Bum J E, Perez P P, Metzger J, Edwards J A, Peacock W J, Dennis E S. 1999. The *FLMADS* box gene: A repressor of flowering in *Arabidopsis* regulated by vernalization and methylation. *Plant Cell*, 11: 445 - 458.
- Sheldon C C, Rouse D T, Finnegan E J, Peacock W J, Dennis E S. 2000. The molecular basis of vernalization: The central role of *FLOWERING LOCUS C (FLC)*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97 (7): 3753 - 3758.
- Sung S, Amasino R M. 2005. Remembering winter: Toward a molecular understanding of vernalization. *Annu Rev Plant Biol*, 56: 491 - 508.
- Tadege M, Sheldon C C, Hellwell C A, Stoutjesdijk P, Dennis E S, Peacock W J. 2001. Control of flowering time by *FLC* orthologues in *B. nassica napa*. *Plant J*, 28 (5): 545 - 553.
- Wang X W, Lou P, Bonnema G, Yang B J, He H J, Zhang Y G, Fang Z Y. 2005. Linkage mapping of a dominant male sterility gene *Mscd1* in *B. nassica oleracea*. *Genome*, 48: 848 - 854.