

不结球白菜 (*Brassica campestris* ssp. *chinensis*) 主要性状及育种技术的分子生物学研究新进展

侯喜林*, 李 英, 黄菲艺

(南京农业大学/作物遗传与种质创新国家重点实验室/农业农村部华东地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室/
园艺作物种质创新与利用教育部工程研究中心, 南京 210095)

摘 要: 从不结球白菜 (*Brassica campestris* ssp. *chinensis*) 外观性状、品质性状、抗性性状和育种相关性状及技术等方面对近 10 年来国内的研究工作进行了回顾, 并提出了不结球白菜的分子生物学研究存在的问题, 以期为中国不结球白菜分子生物学研究、创新与利用提供科学依据。

关键词: 不结球白菜; 分子生物学; 性状

中图分类号: S 643.3

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2020) 09-1663-15

New Advances in Molecular Biology of Main Characters and Breeding Technology in Non Heading Chinese Cabbage (*Brassica campestris* ssp. *chinensis*)

HOU Xilin*, LI Ying, and HUANG Feiyi

(State Key Laboratory of Crop Genetics & Germplasm Enhancement, Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Horticultural Crops (East China), Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the P. R. China, Engineering Research Center of Germplasm Enhancement and Utilization of Horticultural Crops, Ministry of Education of the P. R. China, Nanjing 210095, China)

Abstract: In order to provide scientific support for the further evaluation, innovation and utilization of molecular biology of non heading Chinese cabbage in China, researches on breeding technology and traits related to shape, quality, resistance and breeding of non heading Chinese cabbage in China in recent ten years were reviewed, the problems in the research of molecular biology of non heading Chinese Cabbage were proposed.

Keywords: *Brassica campestris* ssp. *chinensis*; molecular biology; trait

不结球白菜 (*Brassica campestris* ssp. *chinensis* Makino) 起源于中国, 栽培历史悠久, 为一、二年生草本植物, 以叶片为产品, 染色体数 $2n = 2x = 20$, 染色体组 AA, 属于十字花科芸薹属不结球白菜亚种, 包含普通白菜 (var. *communis* Tsen et Lee)、塌棵菜 (var. *rosularis* Tsen et Lee)、菜薹 (var. *tsaitai* Hort.)、分蘖菜 (var. *multiceps* Hort.) 和薹菜 (var. *taitsai* Hort.) 等变种, 而其中普通白菜最为重要, 栽培面积占该亚种的 80% 以上。不结球白菜在全国的栽培面积由 2005 年的 53.33 万 hm^2

收稿日期: 2020-07-13; 修回日期: 2020-09-25

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-23-A-06)

* E-mail: hxl@njau.edu.cn

上升到现在的 133.33 万 hm^2 左右, 提高了 2.5 倍, 在蔬菜周年生产供应中发挥了重要作用(丁海凤等, 2020)。现将近年来关于不结球白菜主要性状和育种技术的分子生物学研究进展综述如下。

1 外观性状

1.1 叶色性状

不结球白菜的叶片颜色主要分为绿色、黄色和紫色, 其中绿叶最为常见。叶片呈绿色或黄色主要取决于叶绿素和类胡萝卜素含量的高低(Sun et al., 2018)。马萌萌等(2020)报道南京农业大学育成的新品种‘黄玫瑰’, 叶片嫩黄, 其叶片转色受低温的影响, 温度越低, 叶片越黄。叶片紫色取决于花青素含量的高低, 朱红芳等(2014)发现, 不结球白菜叶片的紫色对绿色为显性, 紫色性状是母性遗传, 受主基因 + 多基因控制, 环境条件, 尤其是光照和温度会影响紫色性状。许玉超等(2016)利用同源克隆的方法获得了 1 个紫色不结球白菜花色苷合成的关键基因 *BrcANS*, 该基因正调控叶片总花色苷含量。沈露露(2015)发现, 渗透胁迫和 ABA 都会促进紫色不结球白菜叶片花色苷的积累, 抑制类胡萝卜素和总叶绿素的积累, 但是这两种调控机制并不相同, 还需要进一步研究。卢晓彬(2012)发现, 喷施 KH_2PO_4 溶液(0.9% KH_2PO_4 溶液效果最好)可以促进紫色不结球白菜叶片中类胡萝卜素和叶绿素合成, 增加花青苷/叶绿素比值, 使紫色加深。董慧杰(2015)利用不结球白菜深紫色叶自交系 NJZX1-3 及其绿色突变体 NJZX1-0 和浅紫色自交系 NJZX1-1 为材料, 克隆得到了与花青苷代谢相关的关键基因 *BrcF3H*、*BrcLBD39* 和 *BrcLBD38*; 定量 PCR 结果表明, *BrcF3H* 酶是一种非光依赖型酶; 花青苷负调控基因 *BrcLBD39*, 既响应外源 6-BA 又与叶片中花青苷的积累密切相关, 在花青苷的生物合成过程中起着重要的调控作用。

1.2 株型性状

在不结球白菜多个变种中有多种不同的株型性状, 如直立、半塌地和塌地。直立株型中, 又包含直立不束腰和直立束腰株型。黄志楠(2016)利用简化基因组测序技术对直立束腰和半塌地品种杂交构建的 F_2 分离群体进行测序, 同时利用转录组和 MeDIP 测序技术对束腰品种束腰前后的株型差异基因进行挖掘, 发现束腰性状为数量性状; 低温积温与束腰性状的形成有关, 且在不结球白菜束腰过程中基因组甲基化水平明显提高; 联合分析后选出 14 条候选基因, 其中 *BcSnRK2* 的表达模式说明其协同参与 ABA 和低温诱导的表达, 极有可能参与多种信号途径, 进而参与不结球白菜的株型形成。刘坤宇(2017)通过对不结球白菜‘马耳头’和‘苏州青’构建的 RILs 群体进行变异分析、相关性分析以及主成分分析, 发现株高、叶柄宽、叶片长、叶片宽、叶片数、分蘖数、开展度长和宽都是数量性状, 株高和其他几个性状存在极显著正相关, 叶柄宽与叶片数和开展度宽相关性不显著, 分蘖数与叶片宽和叶柄宽相关性不显著。

2 营养品质性状

不结球白菜的营养品质性状主要包括干物质、维生素 C、可溶性糖、可溶性蛋白质、粗纤维、有机酸、花青素含量等。张增翠等(1999)利用主基因—多基因混合遗传模型分析发现, 不结球白菜中维生素 C 含量的遗传符合主基因和多基因的混合遗传模型。已经有多个维生素 C 合成途径相关酶基因 *BcMDHAR*、*BcPMI2*、*BcGLDH* 的功能被研究, 并利用转基因技术获得了维生素 C 含量增加

的植株(马成英, 2009; 张硕, 2011; Wang et al., 2014)。李妍等(2016)以‘苏州青’不结球白菜为材料, 同源克隆了 *BcGME* 基因, 结合系统进化分析和定量分析推测 *BcGME* 可能是不结球白菜抗坏血酸合成途径中的关键调控基因。段伟科(2016)通过比较基因组及进化分析, 鉴定了白菜中所有已知的维生素 C 相关基因, 发现维生素 C 相关基因在白菜基因组三倍化过程中的进化保守性和适应性。林婷婷(2014)对高维生素 C 含量和低维生素 C 含量不结球白菜品种及其 F₂ 群体进行了 cDNA-AFLP 技术分析, 找到了维生素 C 相关基因 *BcERF070*。Yuan 等(2020)在拟南芥中过表达 *BcERF070*, 维生素 C 含量显著增加, 而不结球白菜 *BcERF070* 沉默植株维生素 C 含量下降。

紫叶是蔬菜的一个重要性状, 由花青素积累导致。紫色蔬菜色彩鲜艳, 因富含花青苷而极具营养价值, 引起了越来越多育种工作者的关注。芸薹属蔬菜中也有富含花青苷的品种, 如紫色不结球白菜和紫甘蓝等。花青苷是一种水溶性的黄酮类物质, 具有抗氧化、降血脂和血糖以及抗癌等功效。本课题组发现, 紫色不结球白菜可以减少脂肪堆积、增进健康, 具有一定的营养价值和保健作用。不结球白菜对金黄地鼠具有抗肥胖和抗高脂血症的保护作用, 饲喂花青素含量高的品种对预防金黄地鼠肥胖和高脂血症具有显著作用。推测在饮食中添加不同量的白菜可极大地改善血脂水平, 增强肝酶活性, 抗氧化活性和相关基因的表达, 而富含花青素的品种则对减少脂肪和保持健康的效果更加明显(Naseri et al., 2020)。

目前对果实风味的研究报道(刘春香 等, 2002; 张序 等, 2007; 张运涛 等, 2008)较多, 对十字花科的蔬菜风味物质也有研究(夏广清 等, 2005; 吴春燕 等, 2009; 宋廷宇 等, 2010), 但是对不结球白菜风味物质的研究还很少。十字花科蔬菜中挥发性物质差异很大, 但是大多含有腈类、硫氰酸酯类和异硫氰酸酯类物质。这是因为十字花科蔬菜的主要生物活性物质硫代葡萄糖苷在水解后会产生硫氰酸酯、腈类、异硫氰酸酯等(Daxenbichler et al., 1979; Zhao et al., 2007)。硫代葡萄糖苷简称硫苷, 又称黑芥子苷、芥子油苷, 是一种含硫的次生代谢产物, 可以提高不结球白菜的品质和风味, 有助于其抵御胁迫和病虫害(Halkier & Gershenzon, 2006; 王军伟 等, 2019)。吴春燕等(2012)利用气相色谱—质谱测定了不结球白菜‘苏州青’、‘京冠’和‘五月慢’3个品种的香气成分, 发现2-己烯醛、乙醇、苯乙基异硫氰酸酯等含量最高。

3 抗性性状

3.1 病害抗性

申姗姗(2007)利用不结球白菜两个组合的6个世代(F₁、F₂、P₁、P₂、BC₁、BC₂)材料, 对子叶期和苗期霜霉病抗性进行了联合遗传分析, 结果表明子叶期和苗期抗性均为单基因显性遗传, 没有母性遗传效应, 因此在杂种优势育种工作中, 抗性亲本既可作父本, 也可作母本。以不结球白菜抗霜霉病自交系‘雪克青’为试材, 通过RT-PCR和RACE技术, 获得了抗霜霉病相关基因 *BcPR1* 及 *WRKY* 转录因子(王彦华 等, 2007; Chen et al., 2008)。Sun 等(2014)以不结球白菜抗病品种‘苏州青’为材料, 利用双向电泳技术获得了91个不结球白菜抗霜霉病的蛋白, 初步构建了不结球白菜与霜霉病菌的互作模式图, 分析发现其中8个蛋白在乙烯合成通路中起作用, 且蛋白丰度均有显著上升, 结合荧光定量分析与乙烯含量测定发现, 乙烯合成在受到霜霉病菌胁迫后显著上升, 说明乙烯在不结球白菜抗霜霉病菌胁迫中起正调控作用。肖栋等(2018)和刘东让等(2019)分别通过RACE技术从不结球白菜抗病品种‘苏州青’叶片克隆到 *BcPR5* 和 *BcSGT1* 基因。qPCR结果

发现不结球白菜抗病品种中 *BcPR5* 和 *BcSGT1* 的表达量均高于感病品种, 说明其在不结球白菜抗霜霉病防御反应中可能发挥着重要作用。

芜菁花叶病毒(turnip mosaic virus, TuMV)是不结球白菜病毒病的主要毒源(Walsh et al., 1999), 严重影响不结球白菜的产量和品质。到目前为止, 不结球白菜抗 TuMV 的机理研究还不深入。彭海涛等(2012)通过 102 份不结球白菜材料基因组测序和重测序数据, 共发现 441 个与抗病相关的基因, 构建了不结球白菜材料和抗感病 F₂ 群体, 采用群体分离分析法(BSA)和 SSR 技术筛选了抗病基因连锁标记, 通过对亲本、F₁、BC₁ 和 F₂ 群体进行病毒接种研究了试验材料对 TuMV 的抗性遗传模型, 发现不结球白菜对 TuMV 的抗性由显性单基因控制。刘琳(2008)对不结球白菜进行苗期人工接种, 发现不结球白菜的抗病性与超氧化物歧化酶、苯丙氨酸解氨酶、过氧化氢酶、多酚氧化酶的活性变化关系密切; 6 世代联合分析表明, 不结球白菜对芜菁花叶病毒的抗性遗传符合一对加性—显性主基因 + 加性—显性多基因模型(D-1)。冯岩等(2010)以‘矮脚黄’和‘短白梗’不结球白菜为材料, 探讨了芜菁花叶病毒侵染对其光合及荧光特性的影响, 结果表明感染芜菁花叶病毒后, ‘矮脚黄’的叶绿素含量、净光合速率、气孔导度、胞间 CO₂ 浓度、蒸腾速率、PS II 实际光化学量子产量、表观光合电子传递速率和光化学猝灭系数均显著降低, 非光化学猝灭系数显著升高, 而‘短白梗’变化不显著。王淑敏等(2011)利用 ELISA 和 qPCR 技术, 发现芜菁花叶病毒侵染后, 不结球白菜‘矮脚黄’中 IAA/ABA 和 GA₃/ABA 的比值明显降低, 光敏色素相关蛋白基因 *PAP1*、原表皮因子基因 *PDF1* 和营养贮藏蛋白基因 *VSP1* 表达量显著变化, 植物的正常生长发育被干扰。Peng 等(2012)利用 cDNA-AFLP 技术从 TuMV 侵染的不结球白菜抗病品种‘泰三抗’中分离到 176 个差异表达基因, 定量表达分析表明这些基因参与了不结球白菜响应 TuMV 的侵染; 克隆得到 *BcLRK01* 基因, 定量 PCR 结果显示 TuMV 侵染能诱导 *BcLRK01* 表达, 该基因可能是不结球白菜病毒病的病程相关基因。李彦肖等(2012)利用 cDNA-AFLP 技术从芜菁花叶病毒侵染的不结球白菜幼叶中分离并克隆得到 *Nhc-cGRI*, 生物信息分析和定量 PCR 结果表明该基因作为病原相关基因参与了对 TuMV 病害的响应, 并通过增加自身表达量来激活细胞内的信号转导途径, 诱导各种防卫反应相关基因的表达。刘畅(2018)对 83 份不结球白菜的 TuMV 的抗病性进行了全基因组关联分析, 结合实时定量验证, 筛选出 17 个与抗病相关的基因, 大部分候选基因的表达量在抗病材料 NHCC001 中上升, 在感病材料 NHCC003 中下降, 初步确定这些基因参与抗病过程; 对接种 TuMV 后 7、14 和 21 d 的‘49 菜心’进行 iTRAQ 分析, 筛选出 27 个与病毒长距离运输和抗病性有关的基因。

除了芜菁花叶病毒, 软腐病和根肿病也是影响不结球白菜产量和品质的两个重要病害。细菌性软腐病在不结球白菜的生产、运输、贮藏和销售环节都会发生。种子自带病菌及土壤中残留病菌是发病的主要原因(刘志华 等, 2017)。郑学立等(2018)从田间患软腐病的‘福冠’不结球白菜植株中分离纯化得到 10 个菌落, 克隆得到了引起软腐病的关键基因——果胶盐酸裂解酶基因。根肿病是不结球白菜最严重的土传病害之一。侵染后植株根部肿大, 养分和水分吸收受阻, 严重时全株枯死, 造成严重的经济损失。感病后的不结球白菜叶片的可溶性蛋白和抗氧化酶活性显著降低, 丙二醛含量显著升高, 所以抗氧化酶活性、可溶性蛋白和丙二醛含量可以作为其早期筛选抗根肿病的生理指标(朱红芳 等, 2015)。发现不结球白菜受到根肿病侵染后, 水杨酸可以提高植株的防御酶和抗氧化酶活性, 增强细胞活性氧清除和渗透调节能力, 从而降低伤害, 促进生长(朱红芳 等, 2017)。张慧(2013)研究发现不结球白菜根肿病抗性鉴定宜选用菌土接种法, 并推测不结球白菜根肿病抗性受一对显性基因控制。

3.2 温度胁迫抗性

不结球白菜性喜冷凉, 在高温天气下生长缓慢、存活率低、病毒病严重, 因此高温成为制约不结球白菜生长发育的关键因素。徐海等 (2017) 利用 RACE 技术克隆得到了不结球白菜耐热相关基因 *BcPLD γ* , 发现其在高温胁迫下表达量显著上调。陈以博 (2009) 发现在高温胁迫下, 不结球白菜耐热品种具有更高的清除体内自由基的能力, 能通过反馈调节积累较少的丙二醛, 所以耐热品种的细胞膜稳定性更高, 抵御高温伤害的能力更强。同时利用同源克隆技术, 克隆得到了两个不结球白菜耐热基因 *BcHSP1* 和 *BcHSP2*, 定量 PCR 分析表明在高温胁迫下, 相对于热敏感品种, 耐热品种中 *BcHSP1* 和 *BcHSP2* 具有明显稳定的热诱导表达特性。刘高峰 (2017) 研究了 DNA 甲基化在不结球白菜响应高温胁迫中的作用, 发现在胁迫早期和晚期其甲基化的差异基因不同; 利用不结球白菜耐热品种‘苏州青’和热敏品种‘矮脚黄’构建了 F₂ 分离群体, 对两个亲本材料进行高深度的重测序, 筛选到 57 个候选基因, 根据基因的表达水平进行进一步筛选找到两个高温胁迫响应候选关键基因 *BrNAC046* 和 *BrNAC047*; 对耐热品种‘苏州青’和热敏品种‘矮脚黄’43 °C 处理 4 h 和 14 h (22 °C 作为对照), 进行转录组测序, 得到 8 265 个差异基因; 根据 QTL 定位结果, 得到一类在热敏感材料中上调表达明显, 在耐性材料中受热胁迫表达稳定且表达量较低的 NAC 转录基因, 进一步总结了不结球白菜中 EIN-NAC 调控耐热性的模型。

王枫 (2011) 利用 4 °C 低温处理不结球白菜耐寒自交系 045, 结合 cDNA-AFLP 和 RACE 技术获得了耐寒基因 *BcWRKY46* 和 *BcMCSU*; 烟草过表达 *BcWRKY46* 和拟南芥过表达 *BcMCSU* 的抗寒、盐、干旱胁迫的能力显著增强。朱波 (2008) 利用 RACE 技术从不结球白菜中克隆得到 1 个耐寒基因 *BrNAC*, 发现其表达受低温诱导。胡荣 (2015) 通过同源比较, 找到不结球白菜 CAMTA 转录因子家族基因, 分析发现 *BcCAMTAs* 在受到冷胁迫处理时表达量显著增加, 其中 *BcCAMTA3.1* 和 *BcCAMTA5* 的表达变化最显著。王镇 (2015) 从不结球白菜中分离克隆了 *CBF* 基因, 研究了 *BcCBF3* 与其上游调控蛋白 *BcWRKY33* 的关系; 基于不结球白菜 miRNA 测序数据, 发现一些响应 TuMV 的 miRNA 也受低温诱导, 推测 miRNA 可以作为响应低温胁迫和 TuMV 胁迫的联结。拟南芥过表达 *BcFLC1* 植株中, *CBF1,2,3* 和 *COR15a* 等抗寒基因的表达量上调, 植株抗寒性增强, 表明 *BcFLC1* 诱导了 *CBF1,2,3* 和 *COR15a* 的表达, 从而提高植物的抗寒性 (Liu et al., 2013)。通过对低温胁迫下的不结球白菜进行基因组 DNA 甲基化测序分析, 发现低温处理后 *BramMDH1* 等基因的启动子序列发生了去甲基化, 基因表达量增加, 导致不结球白菜的生长势提高 (Liu et al., 2017)。

4 分蘖性状

优化株型、提高产量是当前不结球白菜产业发展的关键。与产量相关的性状中目前研究最多的是分蘖性状。分蘖是高等植物在生长发育过程中形成的一种特殊的分枝。不结球白菜大多数品种不分蘖, 在营养生长期无侧枝长出, 但其变种分蘖菜却表现为特殊的多头分枝特性, 在营养生长期即有大量侧枝形成。该特点对于提高以叶片为主要产品器官的叶菜类蔬菜的产量非常重要。模式植物水稻和番茄的分枝机理研究的较多 (Schumacher et al., 1999; Li et al., 2003), 不结球白菜分蘖机制的研究还很少。最近 Li 等 (2020) 以‘京水菜’为分蘖材料采用 BSA-seq 和 QTL 作图, 鉴定到 1 个位于 *qSB.A09* 的分蘖相关基因 *Bra007056*, 该基因为水稻 *MOC1* 在不结球白菜中的直系同源基因。遗传、激素和环境条件共同调控分蘖, 这些因素之间存在相互作用, 不同信号最终交织形成复杂的调控网络。尽管已经在不结球白菜分蘖的遗传特性、形成与发育特征以及激素调控等方面

取得了很大成绩,但有关其调控网络的解析却较少。通过对不结球白菜分蘖菜品种‘马耳头’和‘如皋毛菜’及普通白菜‘苏州青’的联合分析,发现分蘖是1个数量遗传性状,由两个主效基因和多个基因的显性、加性和上位效应所控制(Cao et al., 2016)。另外,对‘如皋毛菜’进行了独脚金内酯类似物 GR24 的处理,确定其能抑制腋芽的萌发和伸长,并检测到细胞分裂素含量在叶腋处显著降低,独脚金内酯响应基因的表达升高(崔红米 等, 2016)。通过对‘马耳头’和‘苏州青’幼苗和成株两个时期不同组织的转录组测序,获得了大量差异表达基因,特别是生长素等激素信号基因的表达存在明显差异(曹学伟, 2016)。李菊(2012)通过同源克隆,从不结球白菜 cDNA 文库中克隆得到 TCP 家族转录因子基因 *BcBRC1*, 半定量结果显示 *BcBRC1* 可能在不结球白菜分蘖芽的形成中起作用。

5 育种相关性状

5.1 雄性不育

杂交制种是提高不结球白菜抗性和产量的重要方式。石蜡切片观察发现,不结球白菜不育系不育的原因是花药不能正常发育,形成空腔花药(朱红芳 等, 2011)。通过检测不同时期不结球白菜不育系和保持系花蕾的生理指标,发现相对于保持系,不育系可溶性蛋白质、可溶性糖和脯氨酸含量较低,而过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性较高,推测这些指标可能与不结球白菜 *Pol* 胞质雄性不育有关(邓晓辉 等, 2007)。迄今为止,研究者已经克隆分析了很多不结球白菜胞质雄性不育相关基因,如 *BcTUBA2*、*BcATPA*、*BcRISP1*、*BcFLC1*、*BcAP3*(齐莉 等, 2010; Liu et al., 2013; 钱榆, 2014; 蒋大华 等, 2019; Huang et al., 2020)。张昌伟等(2010)利用 cDNA-AFLP 技术分析了不结球白菜 *Pol* 胞质雄性不育系及其保持系蕾期的差异基因,共获得 5 个相关基因 *BcA19T15*、*BcA7T9*、*BcA6T9*、*BcA19T8* 和 *BcA12T19*。钱榆(2014)利用酵母双杂筛库,获得了 *BcRISP1* 的互作蛋白 *BcCYP81G* 和 *BcPIP2*,为阐明不结球白菜 *Pol* 胞质雄性不育机制提供了基础。拟南芥过表达 *BcFLC1*,表现出育性受损,主要是由于 *RGA* 和 *RGL* 等花丝抑制基因的表达上调及 *SEP3* 等花发育基因表达下调所导致(Liu et al., 2013)。拟南芥过表达 *BcAP3* 表现出雄性不育,主要是由于花药壁加厚导致花粉无法正常散出(Huang et al., 2020)。

5.2 自交不亲和性

自交不亲和是显花植物在长期的进化过程中形成的一种避免自交、促进异交的遗传机制。利用自交不亲和系进行杂种生产是不结球白菜等十字花科蔬菜作物杂种优势利用的主要方式。同时,自交不亲和系统还是研究植物细胞间信号转导的理想模型。目前自交不亲和机理在很大程度上仍然未知。王成(2017)选取不结球白菜‘矮脚黄’自交亲和系及自交不亲和系植株,对亲和授粉和不亲和授粉 10 min 后的柱头进行转录组测序,筛选得到 511 个差异表达基因,其功能注释和代谢途径分析表明亲和反应与不亲和反应涉及不同的通路。葛婷婷(2013)利用构建的不结球白菜自交不亲和材料与自交亲和材料的 F_2 分离群体,进行自交不亲和性状的遗传分析以及 SSR 分子标记的筛选,发现自交亲和性对自交不亲和性是由 1 对等位基因控制的显性遗传性状,获得了 1 个与自交不亲和基因紧密连锁的分子标记 BrSS15。张爱芬(2009)发现 *SRK* 基因是自交不亲和反应的雌性专一决定因子,可以利用 *SRK* 基因的多态性鉴定不结球白菜纯合自交系的自交不亲和性。高璐等(2019)

从不结球白菜自交不亲和品种‘矮脚黄’中克隆得到了自交不亲和相关基因 *BcMLPK*, 发现 *BcMLPK* 沉默不结球白菜植株可以正常结荚, 而对照植株表现出受精异常。

5.3 抽薹开花性状

模式植物拟南芥开花抽薹调控已经有很多研究。但是在不结球白菜中相关研究并不多。不结球白菜以营养器官为产品, 先期抽薹不仅降低生物产量, 还影响商品性和食用价值, 给生产带来巨大损失(黄细松, 2006)。本实验室利用已经构建的包括 164 个株系的 DH 群体和两年重复试验结果, 采用复合区间作图法对不结球白菜和抽薹开花天数等相关 QTL 进行定位及遗传效应分析, 一共检测到 19 个 QTL, 其中控制抽薹天数的 QTL 有 6 个, 控制开花天数的 QTL 有 6 个, 控制抽薹指数的 QTL 有 2 个, 目前已经克隆并功能验证了晚抽薹开花基因 *BcFLC1*、*BcFLC2* (Liu et al., 2013; Huang et al., 2018a)、*BcMAF1* (Huang et al., 2018b)、*BcMAF2* (Huang et al., 2019), 在拟南芥中过表达 *BcFLC1*、*BcFLC2*、*BcMAF1*、*BcMAF2*, 表现出抽薹开花推迟, 在不结球白菜中沉默 *BcFLC2*、*BcMAF1*、*BcMAF2*, 植株表现出抽薹开花提前。为了研究春化和光周期路径在开花转换中的联系, Duan 等 (2017) 利用甲基化 DNA 免疫沉淀测序 (MeDIP-seq) 技术, 对不结球白菜春化处理及对对照植株叶片进行全基因组甲基化的比较基因组分析, 发现光周期路径与春化路径之间通过 DNA 甲基化机制存在直接的相互作用。

6 育种技术

6.1 小孢子培养技术

小孢子培养技术是指在无菌的环境条件下, 利用细胞的全能性, 通过胁迫处理, 使其原有的配子体途径转向孢子体发育途径, 诱导和培养使其发育为完整植株的技术。传统不结球白菜育种方法需要 6~8 年才能得到纯合植株, 而小孢子培养技术只需要 1~2 年即可得到大量的双单倍体植株, 大大减少了育种所需时间及成本。崔群香等 (2009) 利用不结球白菜花蕾, 建立了不结球白菜游离小孢子培养的技术体系。成妍等 (2009) 发现基因型是决定小孢子胚诱导率的最重要因素。琼脂质量浓度在 $8 \sim 12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 内时, 浓度越高, 小孢子胚再生率越高。高素燕等 (2009) 发现 4°C 冷处理小孢子胚 5 d 后能提高其胚芽诱导率和胚芽数。在培养基中加 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的活性炭能减少胚芽的玻璃化, 加 5.0 或 $7.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 AgNO_3 可以增强小孢子胚芽诱导。刘环环 (2011) 以不结球白菜 20 个基因型为研究材料发现: 一般宜选择 $2 \sim 3 \text{ mm}$ 长的花蕾进行游离小孢子培养; 当小孢子培养密度为 $1 \sim 2$ 个蕾 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 胚胎发生率较高; 添加 $0.50 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的活性碳最有利于小孢子培养胚胎发生; 热激处理是诱导游离小孢子培养胚胎发生的必要条件; 花蕾低温预处理和小孢子热激处理相结合效果更好, 胚胎发生率显著提高。梁超凡 (2016) 探究了 6-BA 激素、微量硼元素、花期、活性炭对小孢子出胚率的影响: 6-BA 浓度为 $0 \sim 0.06 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时促进小孢子的出胚率, 高于 $0.06 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时则起抑制作用; 初花期或盛花期的出胚率较高, 硼元素能够增加小孢子的出胚率, 但对不同基因型的作用有差异; 活性炭主要在前 4 d 发挥作用。黄天虹等 (2019) 发现, 当不结球白菜花瓣/花药长度比值为 $0.85 \sim 1.10$ 时, 小孢子主要处于单核晚期; 低温处理 (4°C) 不结球白菜 1 d 时出胚率最高; 头孢噻肟对出胚率的影响与不结球白菜基因型密切相关。张娅等 (2019) 采用同源克隆的方法从不结球白菜‘二桩白’中克隆到 *BcSERK1*, 定量 PCR 结果表明该基因对胚胎发生具有重要作用。

6.2 突变体和转基因技术

不结球白菜突变体往往具有与野生型不同的表型, 突变体不仅丰富了十字花科作物的种质资源, 还为研究植物的遗传发育和生理功能提供了理想材料。目前, 不结球白菜的突变体不是很多, 研究的较多的是叶形和花发育突变体, 而裂叶是一种新颖的突变体类型。富春元(2014)利用不结球白菜叶缘裂刻突变体, 获得了叶缘裂刻基因 *BrcLL*。雄蕊花瓣化可以彻底消除不育系自身花粉的影响, 具有良好的科研利用价值。张彦锋等(2005)发现不结球白菜同源异型突变细胞核雄性不育系 HGMS 的心皮在雄蕊位置异位表达、雄蕊消失、花瓣退化、雌蕊变短粗, 是一种全新的雄性不育, 推测该突变很可能是 B 类基因缺失导致的。王岩(2015)和黄和喜(2014)通过比较不结球白菜重瓣花突变体 W051 和对照植株, 研究了不结球白菜花发育与乙烯代谢的关系, 找到了 1 个关键基因 *BcERF-B3*, 推测其可能在花发育中期响应内源乙烯, 导致雄蕊瓣化。

高红亮等(2008)通过不定芽继代培养、生根培养和驯化移栽建立了再生频率较高的不结球白菜离体再生体系; 研究发现外植体为 4~7 d 苗龄的带柄子叶时, 诱导不定芽效果较好; MN 培养基中 6-BA 浓度为 $4\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、NAA 浓度为 $0.5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时有利于不定芽形成; $9\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂不定芽分化效果最好; 添加 $5.0 \sim 7.5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 AgNO_3 、 $0.1 \sim 0.5\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 AsA 可显著提高不定芽的发生频率和质量。陈敏敏和侯喜林(2008)发现‘暑绿’、‘苏州青’、‘亮白叶’和‘矮抗 5 号’不结球白菜中, 暑绿的再生频率最高, 子叶—子叶柄为外植体时再生频率最高。Hu 等(2019)建立了白菜 Fast Plants[®] (美国威斯康星大学麦迪逊分校荣誉教授 Paul Williams 选育) 遗传转化体系, 试验发现, 未闭合的心皮是成功转化的关键, 具有未闭合心皮的花蕾(直径小于 1 mm)的转化效果最好; 农杆菌介导的真空渗透和蘸花法都可以获得转基因植株, 转化效率约为 0.1%。利用该遗传转化系统, 将提高不结球白菜转基因株系的获得效率。

7 展望

不结球白菜分子生物学研究虽已取得了一定进展, 但是和模式植物与大田作物相比, 研究的还不够深入。主要存在试验体系不健全, 研究手段单一等问题。主要表现在: (1) 不结球白菜转基因体系尚未建立; (2) 多组学研究的应用还不深入; (3) 创新技术应用滞后, 应对市场新需求的“全能型”优异种质材料还比较少。目前, 白菜上已建立了再生体系, 转化体系也正在摸索, 这为不结球白菜基因功能的研究奠定了基础。随着不结球白菜基因组的组装和基因组信息的释放, 生物信息学手段和高通量测序技术的不断进步, 也有望阐明更多调控机理, 找到更多性状关键基因。通过分子生物、生物信息和高通量测序技术的联合应用, 将有助于深入解析不结球白菜基因在特定生物学过程中的功能, 阐明其调控机制。

References

- Cao X, Cui H, Li J, Xiong A, Hou X, Li Y. 2016. Heritability and gene effects for tiller number and leaf number in non-heading Chinese cabbage using joint segregation analysis. *Scientia Horticulturae*, 203: 199 - 206.
- Cao Xue-wei. 2016. The formation mechanism and candidate genes identification of tillering in non-heading Chinese cabbage [Ph. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 曹学伟. 2016. 不结球白菜分蘖性状的发生机理及其候选基因挖掘[博士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Chen Min-min, Hou Xi-lin. 2008. Optimization of regeneration *in vitro* of non-heading Chinese cabbage. *Journal of Nanjing Agricultural University*, (1): 31 - 34. (in Chinese)

- 陈敏敏, 侯喜林. 2008. 不结球白菜离体培养再生体系的优化. 南京农业大学学报, (1): 31 – 34.
- Chen Xiao-feng, Hou Xi-lin, Zhang Jing-yi, Zheng Jia-qiu. 2008. Molecular characterization of two important antifungal proteins isolated by downy mildew infection in non-heading Chinese cabbage. Molecular Biology Reports, 35: 621 – 629.
- Chen Yi-bo. 2009. Molecular markers of heat tolerance and cloning of heat tolerant gene fragment in non-heading Chinese cabbage [M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 陈以博. 2009. 不结球白菜耐热性分子标记及耐热基因片段的克隆 [硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Cheng Yan, Ban Qing-yu, Wang Qian, Hou Xi-lin. 2009. Isolated microspore culture and ploidy identification of microspore-derived plants in *Brassica campestris* ssp. *chinensis*. Journal of Nanjing Agricultural University, 32 (2): 25 – 29. (in Chinese)
- 成 妍, 班青宇, 王 倩, 侯喜林. 2009. 不结球白菜游离小孢子培养及再生植株的倍性鉴定. 南京农业大学学报, 32 (2): 25 – 29.
- Cui Hong-mi, Cao Xue-wei, Wang Jian-jun, Xiong Ai-sheng, Hou Xi-lin, Li Ying. 2016. Effects of exogenous GR24 on the growth of axillary bud of non-heading Chinese cabbage. Journal of Nanjing Agricultural University, 39 (3): 366 – 372. (in Chinese)
- 崔红米, 曹学伟, 王建军, 熊爱生, 侯喜林, 李 英. 2016. 外源 GR24 对不结球白菜腋芽生长的影响. 南京农业大学学报, 39 (3): 366 – 372.
- Cui Qun-xiang, Zhu Ling-li, Liu Wei-dong, Zhu Shi-nong. 2009. Preliminary study on the culture technology of free microspore in Chinese cabbage. Jiangsu Agricultural Sciences, (6): 83 – 85. (in Chinese)
- 崔群香, 朱凌丽, 刘卫东, 朱士农. 2009. 不结球白菜游离小孢子培养技术初步研究. 江苏农业科学, (6): 83 – 85.
- Daxenbichler M E, VanEtten C H, Williams P H. 1979. Glucosinolates and derived products in Cruciferous vegetables. Analysis of 14 varieties of Chinese cabbage. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 27 (1): 34 – 37.
- Deng Xiao-hui, Zhang Shu-ning, Hou Xi-lin, Yang Yin-gui. 2007. Studies on biochemical characteristics of Pol CMS line and its maintainer line of *Brassica rapa* ssp. *chinesis*. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, (4): 522 – 525. (in Chinese)
- 邓晓辉, 张蜀宁, 侯喜林, 杨寅桂. 2007. 不结球白菜 Pol 胞质雄性不育系及其保持系的部分生理生化指标分析. 江西农业大学学报, (4): 522 – 525.
- Ding Hai-feng, Fan Jian-guang, Jia Chang-cai, Qin Cheng-meng, Yang Ye-sheng, Zhang Hai-long, Zhang Feng-lan, Wen Chang-long, Yu Shuan-cang, Xu Yong. 2020. Development status and trend of vegetable seed industry in China. Chinese Vegetables, (9): 1 – 8. (in Chinese)
- 丁海凤, 范建光, 贾长才, 秦成萌, 杨业圣, 张海龙, 张凤兰, 温常龙, 于拴仓, 许 勇. 2020. 我国蔬菜种业发展现状与趋势. 中国蔬菜, (9): 1 – 8.
- Dong Hui-jie. 2015. Cloning and bioinformatics analysis of anthocyanins biosynthesis key genes in Bok Choy [M. D. dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 董慧杰. 2015. 不结球白菜花青苷合成关键基因克隆及生物信息学分析 [硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Duan Wei-ke. 2016. Evolutionary patterns of ascorbic acid and flowering related genes and QTL mapping analysis in *Brassica rapa* [Ph. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 段伟科. 2016. 白菜类作物抗坏血酸和开花相关基因的系统进化及 QTL 定位分析 [博士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Duan W, Zhang H, Zhang B, Wu X, Shao S, Li Y, Hou X, Liu T. 2017. Role of vernalization-mediated demethylation in the floral transition of *Brassica rapa*. Planta, 245 (1): 227 – 233.
- Feng Yan, Hou Xi-lin, Ma Jing-fan, Yang Xue-dong. 2010. Effects of turnip mosaic virus (TuMV) infection on photosynthetic and fluorescent characteristics of non-heading Chinese cabbage. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 26 (3): 508 – 511. (in Chinese)
- 冯 岩, 侯喜林, 马景蕃, 杨学东. 2010. 芜菁花叶病毒侵染对不结球白菜光合及荧光特性的影响. 江苏农业学报, 26 (3): 508 – 511.
- Fu Chun-yuan. 2014. Physiological characteristics and fine mapping of a lobed-leaf mutant in non-heading Chinese cabbage (*Brassica campestris* ssp. *chinensis*) [M. D. dissertation]. Yangling: Northwest A & F University. (in Chinese)
- 富春元. 2014. 不结球白菜叶缘裂刻突变体的生理特性分析和基因精细定位 [硕士论文]. 杨凌: 西北农林科技大学.
- Gao Hong-liang, Li Ying, Song Yu-ping, Gao Su-yan, Wang Jian-jun. 2008. *In vitro* culture and regeneration system of non-heading Chinese cabbage (*Brassica campestris* ssp. *chinensis* Makino). Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, (5): 963 – 968. (in Chinese)
- 高红亮, 李 英, 宋玉萍, 高素燕, 王建军. 2008. 不结球白菜离体培养与植株再生体系研究. 西北植物学报, (5): 963 – 968.

- Gao Lu, Zhang Chang-wei, Wang Jin, Hou Xi-lin. 2019. Function of *BcMLPK* gene in non-heading Chinese cabbage in self-incompatibility. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 39 (6): 974 – 981. (in Chinese)
- 高 璐, 张昌伟, 汪 进, 侯喜林. 2019. 不结球白菜 *BcMLPK* 基因在自交不亲和中的功能研究. *西北植物学报*, 39 (6): 974 – 981.
- Gao Su-yan, Hou Xi-lin, Li Ying, Shan Xiao-zheng, Ma Cheng-ying. 2009. Plant development and ploidy of microspore-derived embryos in non-heading Chinese cabbage. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 29 (6): 1091 – 1096. (in Chinese)
- 高素燕, 侯喜林, 李 英, 单晓政, 马成英. 2009. 不结球白菜小孢子胚植株再生及倍性研究. *西北植物学报*, 29 (6): 1091 – 1096.
- Ge Ting-ting. 2013. SSR molecular marker of self-incompatibility gene in ‘Aijiaohuang’, a cultivar of non-heading Chinese cabbage [M. D. dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 葛婷婷. 2013. 不结球白菜 ‘矮脚黄’ 自交不亲和性的 SSR 分子标记 [硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Halkier B, Gershenzon J. 2006. Biology and biochemistry of glucosinolates. *Annual Review of Plant Biology*, 57 (1): 303 – 333.
- Hu D, Bent A, Hou X, Li Y. 2019. *Agrobacterium*-mediated vacuum infiltration and floral dip transformation of rapid-cycling *Brassica rapa*. *BMC Plant Biology*, 19 (1): 246.
- Hu Rong. 2015. Characterization and functional analysis of BcCAMTA transcription factor family in non-heading Chinese cabbage [M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 胡 荣. 2015. 不结球白菜 BcCAMTA 转录因子家族鉴定和功能分析 [硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Huang F, Liu T, Hou X. 2018b. Isolation and functional characterization of a floral repressor, *BcMAF1*, from pak-choi (*Brassica rapa* ssp. *chinensis*). *Frontiers in Plant Science*, 9: 290.
- Huang F, Liu T, Tang J, Duan W, Hou X. 2019. BcMAF2 activates *BcTEM1* and represses flowering in pak-choi (*Brassica rapa* ssp. *chinensis*). *Plant Molecular Biology*, 100 (1 – 2): 19 – 32.
- Huang F, Liu T, Wang J, Hou Xilin. 2018a. Isolation and functional characterization of a floral repressor, *BcFLC2*, from pak-choi (*Brassica rapa* ssp. *chinensis*). *Planta*, 248 (2): 423 – 435.
- Huang F, Zhang Y, Hou X. 2020. *BcAP3*, a MADS Box gene, controls stamen development and male sterility in pak-choi (*Brassica rapa* ssp. *chinensis*). *Gene*, 747: 144698.
- Huang He-xi. 2014. Pleiopetalous flower physiological characteristics and responses mechanism of ethylene response factor in non-heading Chinese cabbage [M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 黄和喜. 2014. 不结球白菜重瓣系生理特性及乙烯响应因子的作用机理 [硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Huang Tian-hong, Zhang Ya, Liang Chao-fan, Hou Xi-lin, Li Ying. 2019. Isolated microspore culture and microspore-derived plant regeneration in non-heading Chinese cabbage. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 33 (2): 240 – 247. (in Chinese)
- 黄天虹, 张 娅, 梁超凡, 侯喜林, 李 英. 2019. 不结球白菜游离小孢子培养及植株再生研究. *核农学报*, 33 (2): 240 – 247.
- Huang Xi-song. 2006. Molecular tagging of flowering time-related genes as well as cloning and expression analysis of vernalization-related genes in *Brassica rapa* [Ph. D. Dissertation]. Hangzhou: Zhejiang University. (in Chinese)
- 黄细松. 2006. 白菜开花时间相关基因的分子标记及春化相关基因的克隆和表达分析 [硕士论文]. 杭州: 浙江大学.
- Huang Zhi-nan. 2016. Detection and analyses of plant type related genes in non-heading Chinese cabbage [Ph. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 黄志楠. 2016. 不结球白菜株型性状相关基因挖掘及分析 [博士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Jiang Da-hua, Zhang Ru-jia, Zhang Chang-wei, Hou Xi-lin. 2019. Cloning and expression analysis of cytoplasmic male sterility-related gene *BcATPA* in *Brassica campestris* ssp. *chinensis* Makino. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 42 (3): 406 – 412. (in Chinese)
- 蒋大华, 张茹佳, 张昌伟, 侯喜林. 2019. 不结球白菜细胞质雄性不育相关基因 *BcATPA* 的克隆和表达分析. *南京农业大学学报*, 42 (3): 406 – 412.
- Li Ju. 2012. Expressional analysis of TCP family transcriptional factor *BcBRC1* gene and tillering trait genetic analysis in non-heading Chinese cabbage [M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 李 菊. 2012. 不结球白菜 TCP 家族转录因子基因 *BcBRC1* 的表达分析及分蘖性状遗传分析 [硕士论文]. 南京: 南京农业大学.

- Li P, Su T, Zhang B, Li P, Xin X, Yue X, Cao Y, Wang W, Zhao X, Yu Y, Zhang D, Yu S, Zhang F. 2020. Identification and fine mapping of qSB.A09, a major QTL that controls shoot branching in *Brassica rapa* ssp. *chinensis* Makino. *Theoretical and Applied Genetics*, 133 (3): 1055 – 1068.
- Li X, Qian Q, Fu Z, Wang Y, Xiong G, Zeng D, Wang X, Liu X, Teng S, Hiroshi F, Yuan M, Luo D, Han B, Li J. 2003. Control of tillering in rice. *Nature*, 422 (6932): 618 – 621.
- Li Yan, Wang Xue-hua, Chen Zhong-wen, Duan Wei-ke, Hou Xi-lin, Li Ying. 2016. Homologous cloning and expression analysis of ascorbic acid biosynthesis gene *BcGME* under stress from non-heading Chinese cabbage. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 39 (2): 205 – 212. (in Chinese)
- 李 妍, 王雪花, 陈忠文, 段伟科, 侯喜林, 李 英. 2016. 不结球白菜抗坏血酸合成基因 *BcGME* 的同源克隆及胁迫下的表达分析. *南京农业大学学报*, 39 (2): 205 – 212.
- Li Yan-xiao, Peng Hai-tao, Guan Wei, Xu Xiao-hai, Li Ying, Hou Xi-lin. 2012. Cloning and expression analysis of glutathione reductase gene *NhccGRI* in non-heading Chinese cabbage. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 35 (3): 7 – 12. (in Chinese)
- 李彦肖, 彭海涛, 管 苇, 许小海, 李 英, 侯喜林. 2012. 不结球白菜谷胱甘肽还原酶基因 *NhccGRI* 的克隆与表达分析. *南京农业大学学报*, 35 (3): 7 – 12.
- Liang Chao-fan. 2016. Optimization of high-efficiency isolated microspore culture system in non-heading Chinese cabbage [M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 梁超凡. 2016. 不结球白菜高效游离小孢子培养技术体系的优化[硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Lin Ting-ting. 2014. Analysis of genetic model and cDNA-AFLP-derived differential expression of ascorbic acid in non-heading Chinese cabbage [M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 林婷婷. 2014. 不结球白菜抗坏血酸遗传模型及 cDNA-AFLP 差异表达分析[硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Liu Chang. 2018. Genome-wide association study and iTRAQ analysis of TuMV resistance on non-heading Chinese cabbage [M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 刘 畅. 2018. 不结球白菜抗 TuMV 的全基因组关联分析和 iTRAQ 分析[硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Liu Chun-xiang, He Qi-wei, Liu Yang-min. 2002. Head-space solid phase micriextraction and GC – MS analysis of fragrance of cucumber. *Acta Horticulturae Sinica*, 29 (6): 581 – 583. (in Chinese)
- 刘春香, 何启伟, 刘扬岷. 2002. 黄瓜香气成分的顶空固相微萃取气质联用分析. *园艺学报*, 29 (6): 581 – 583.
- Liu Dong-rang, Hou Xi-lin, Xiao Dong. 2019. Cloning and expression analysis of disease-related gene *BcSGT1* in non-heading Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *chinensis*). *Journal of Agricultural Biotechnology*, 27 (3): 402 – 410. (in Chinese)
- 刘东让, 侯喜林, 肖 栋. 2019. 不结球白菜抗病相关基因 *BcSGT1* 的克隆及表达分析. *农业生物技术学报*, 27 (3): 402 – 410.
- Liu Gao-feng. 2017. QTL analysis for non-heading Chinese cabbage heat tolerance and DNA methylome analysis under high temperature stress [Ph. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 刘高峰. 2017. 不结球白菜耐热性 QTL 定位及高温胁迫下 DNA 甲基化组的分析[博士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Liu Huan-huan. 2011. Studies on isolated microspore culture in non-heading Chinese cabbage and broccoli [M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 刘环环. 2011. 不结球白菜和青花菜游离小孢子培养技术的研究[硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Liu Kun-yu. 2017. Construction of genetic linkage map of non-heading Chinese cabbage and indentification of plant type phenotypic traits [M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 刘坤宇. 2017. 不结球白菜遗传连锁图谱构建及其株型表型性状的鉴定[硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Liu Lin. 2008. Mechanism and inheritance of resistance to turnip mosaic virus in non-heading Chinese cabbage [M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 刘 琳. 2008. 不结球白菜芜菁花叶病毒病抗性机制及其遗传规律研究[硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Liu T K, Li Y, Ren J, Zhang C, Kong M, Song X M, Zhou J, Hou X L. 2013. Over-expression of *BcFLC1* from non-heading Chinese cabbage enhances cold tolerance in *Arabidopsis*. *Biologia Plantarum*, 57 (2): 262 – 266.

- Liu T K, Li Y, Duan W K, Huang F Y, Hou X L. 2017. Cold acclimation alters DNA methylation patterns and confers tolerance to heat and increases growth rate in *Brassica rapa*. Journal of Experimental Botany, 68 (5): 1213 – 1224.
- Liu Zhi-hua, Wen Ming-ying, Liu Jian-mei, Li Jian-sheng. 2007. Occurrence and comprehensive control of soft rot of Chinese cabbage. Shanghai Vegetables, (6): 73 – 74. (in Chinese)
- 刘志华, 文明英, 刘剑眉, 李健生. 2007. 白菜类软腐病的发生与综合防治. 上海蔬菜, (6): 73 – 74.
- Lu Xiao-bin. 2012. Effect of shading and KH_2PO_4 leaf spray on anthocyanin accumulation in purple non-heading Chinese cabbage [M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 卢晓彬. 2012. 遮荫和叶面喷施 KH_2PO_4 对紫色不结球白菜花青苷积累的影响 [硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Ma Cheng-ying. 2009. Functional analysis of *GLDH* and *APX* genes, associated with ascorbate acid biosynthesis and metabolism, in non-heading Chinese cabbage [M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 马成英. 2009. 不结球白菜维生素 C 合成代谢相关基因 *GLDH* 和 *APX* 功能鉴定 [硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Ma Meng-meng, Gu Min-feng, Yan Jun. 2020. Analysis on factors influencing yield and quality of Chinese cabbage “Yellow Rose” based on orthogonal experiment. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 642 (5): 48 – 50.
- 马萌萌, 顾闽峰, 晏 军. 2020. 基于正交试验的小白菜 “黄玫瑰” 产量和品质影响因素分析. 安徽农业科学, 642 (5): 48 – 50.
- Naseri E, Kong X, Hu C, Ayaz A, Rahmani M, Nasim M, Hamdard E, Zahir A, Zhou Q, Wang J, Hou X. 2020. Bok-choy promotes growth performance, lipid metabolism and related gene expression in Syrian golden hamsters fed with a high-fat diet. Food Function, 11 (3): 2693 – 2703.
- Peng Hai-tao, Song Xiao-ming, Hou Xi-lin, Li Ying. 2012. Inheritance and SSR marker of resistance to turnip mosaic virus in non-heading Chinese cabbage. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 28 (2): 396 – 401. (in Chinese)
- 彭海涛, 宋小明, 侯喜林, 李 英. 2012. 不结球白菜抗芜菁花叶病毒基因的遗传分析及 SSR 标记. 江苏农业学报, 28 (2): 396 – 401.
- Peng H T, Wang L, Li Y, Li Y X, Guan W, Yang Y, Xu X H, Hou X L. 2012. Differential gene expression in incompatible interaction between turnip mosaic virus and non-heading Chinese cabbage. European Journal of Plant Pathology, 132 (3): 393 – 406.
- Qi Li, Shi Gong-jun, Hou Xi-lin, Zhang Chang-wei, Ma Jing-fan. 2010. Cloning and expression of a male sterility-related gene from *Brassica campestris* ssp. *chinensis* Makino. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 30 (2): 243 – 249. (in Chinese)
- 齐 莉, 史公军, 侯喜林, 张昌伟, 肖 栋, 马景蕃. 2010. 不结球白菜细胞质雄性不育相关基因的克隆及表达. 西北植物学报, 30 (2): 243 – 249.
- Qian Yu. 2014. Functional analysis of *BcRISPI* gene in non-heading Chinese cabbage [M. D. dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 钱 榆. 2014. 不结球白菜 *BcRISPI* 的功能分析 [硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Schumacher K, Schmitt T, Rossberg M, Schmitz G, Theres K. 1999. The *Lateral suppressor* (*Ls*) gene of tomato encodes a new member of the VHIID protein family. PANS, 96 (1): 290 – 295.
- Shen Lu-lu. 2015. The Effect of osmotic stress and ABA on anthocyanins synthesis and physiological traits in purple non-heading Chinese cabbage [M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 沈露露. 2015. 渗透胁迫和 ABA 对紫色不结球白菜花色苷合成及生理特性的调控 [硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Shen Shan-na. 2007. Study on artificial inoculation and mechanism of resistance to downy mildew in non-heading Chinese cabbage [M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 申姗姗. 2007. 不结球白菜霜霉病人工接种鉴定方法及抗性机制的研究 [硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Song Ting-yu, Wu Chun-yan, Hou Xi-lin, He Qi-wei, Xu Yuan-fang. 2010. SPME and GC – MS analysis of volatile components in three tai-tsai cultivars. Food Science, 31 (8): 185 – 188. (in Chinese)
- 宋廷宇, 吴春燕, 侯喜林, 何启伟, 徐苑芳. 2010. 薹菜风味物质的顶空固相微萃取—气质联用分析. 食品科学, 31 (8): 185 – 188.
- Sun B, Zhang F, Xue S L, Chang J Q, Zheng A H, Jiang M, Miao H Y, Wang Q M, Tang H R. 2018. Molecular cloning and expression analysis of the ζ -carotene desaturase gene in Chinese kale (*Brassica oleracea* var. *alboglabra* Bailey). Horticultural Plant Journal, 46 (3): 94 – 102.
- Sun C Z, Wang L, Hu D, Liu TK, Hou X L, Li Y. 2014. Proteomic analysis of non-heading Chinese cabbage infected with *Hyaloperonospora*

侯喜林, 李 英, 黄菲艺.

不结球白菜 (*Brassica campestris* ssp. *chinensis*) 主要性状及育种技术的分子生物学研究新进展.

园艺学报, 2020, 47 (9): 1663 - 1677.

1675

parasitica. Journal of Proteomics, 98: 15 - 30.

Wang Cheng. 2017. Analysis of the genes and transcriptome related to self-incompatibility in non-heading Chinese cabbage [Ph. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)

王 成. 2017. 不结球白菜自交不亲和及相关基因及转录组分析 [博士论文]. 南京: 南京农业大学.

Wang Feng. 2011. Differential expression screening and functional analysis of candidate genes involved in cold response in non-heading Chinese cabbage [Ph. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)

王 枫. 2011. 不结球白菜冷诱导差异表达基因的筛选及功能分析 [博士论文]. 南京: 南京农业大学.

Walsh J, Sharpe A, Jenner C, Lydiate D. 1999. Characterization of resistance to turnip mosaic virus in oilseed rape (*Brassica napus*) and genetic mapping of *TURBO 1*. Theoretical and Applied Genetics, 99 (7): 1149 - 1154.

Wang Junwei, Huang Ke, Huang Yingjuan, Mao Shuxiang, Bai Aimei, Liu Mingyue, Wu Qiuyun. 2019. The research progress of transcription factors regulating glucosinolates biosynthesis in cruciferous vegetables. Acta Horticulturae Sinica, 46 (9): 1752 - 1764. (in Chinese)

王军伟, 黄 科, 黄英娟, 毛舒香, 柏艾梅, 刘明月, 吴秋云. 2019. 十字花科蔬菜硫代葡萄糖苷合成相关转录因子调控研究进展. 园艺学报, 46 (9): 1752 - 1764.

Wang Shu-min, Hou Xi-lin, Li Ying, Cao Xue-wei, Zhang Shuo, Wang Feng. 2011. Effects of *Turnip mosaic virus* (TuMV) on endogenous hormones and transcriptional level of related genes in infected non-heading Chinese cabbage. Journal of Nanjing Agricultural University, 34 (5): 13 - 19. (in Chinese)

王淑敏, 侯喜林, 李 英, 曹学伟, 张 硕, 王 枫. 2011. 芜菁花叶病毒对不结球白菜内源激素含量及代谢相关基因转录水平的影响. 南京农业大学学报, 34 (5): 13 - 19.

Wang X, Zhang S, Hu D, Zhao X, Li Y, Liu T, Wang J, Hou X, Li Y. 2014. *BcPMI2*, isolated from non-heading Chinese cabbage encoding phosphomannose isomerase, improves stress tolerance in transgenic tobacco. Molecular Biology Reports, 41 (4): 2207 - 2216.

Wang Yan. 2015. Analysis of *BcCERF-B3* gene in stamen mutation and its maintainer line of non-heading Chinese cabbage [M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)

王 岩. 2015. 不结球白菜雄蕊突变系及其保持系中 *BcERF-B3* 基因功能的研究 [硕士论文]. 南京: 南京农业大学.

Wang Yan-hua, Hou Xi-lin, Shen Shu-xing. 2007. Cloning and characterization of a full-length cDNA of WRKY transcription factor gene in *Brassica campestris* ssp. *chinensis*. Chinese Journal of Agricultural Biotechnology, (5): 810 - 815. (in Chinese)

王彦华, 侯喜林, 申书兴. 2007. 白菜 WRKY 转录因子 cDNA 全长的克隆及分析. 农业生物技术学报, (5): 810 - 815.

Wang Zhen. 2015. Identification and transcriptional pathway of cold related *CBF* genes in non-heading Chinese cabbage [Ph. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)

王 镇. 2015. 不结球白菜冷相关 *CBF* 基因的鉴定及调控路径 [博士论文]. 南京: 南京农业大学.

Wu Chun-yan, He Qi-wei, Song Ting-yu. 2012. GC - MS analysis of volatile components in non-heading Chinese cabbage. Food Science, 33 (20): 252 - 256. (in Chinese)

吴春燕, 何启伟, 宋廷宇. 2012. 白菜挥发性组分的气相色谱-质谱分析. 食品科学, 33 (20): 252 - 256.

Wu Chun-yan, He Qi-wei, Song Yan-yu, Deng Yong-lin, Wang Cui-hua, Xu Wen-ling, Mu Jin-hua. 2009. GC - MS analysis of volatile components in Chinese cabbages. Food Science, 30 (4): 145 - 148. (in Chinese)

吴春燕, 何启伟, 宋廷宇, 邓永林, 王翠花, 徐文玲, 牟晋华. 2009. 大白菜风味物质的气相色谱-质谱分析. 食品科学, 30 (4): 145 - 148.

Xia Guang-qing, He Qi-wei, Yu Zhan-dong, Wang Cui-hua. 2005. Analysis of volatile chemical constituents in different ecotypes of Chinese cabbage. China Vegetables, (5): 20 - 21. (in Chinese)

夏广清, 何启伟, 于占东, 王翠花. 2005. 不同生态型大白菜品种中挥发性化学成分分析. 中国蔬菜, (5): 20 - 21.

Xiao Dong, Wei Yan-ping, Li Ying, Hou Xilin. 2018. Cloning and expression analysis of pathogenesis-related protein gene *BcPR5* in non-heading Chinese cabbage. Journal of Nanjing Agricultural University, 41 (4): 640 - 646. (in Chinese)

肖 栋, 韦艳萍, 李 英, 侯喜林. 2018. 不结球白菜病程相关蛋白基因 *BcPR5* 的克隆及表达分析. 南京农业大学学报, 41 (4): 640 - 646.

- Xu Hai, Song Bo, Fan Xiao-xue, Yuan Xi-han, Chen Zheng-long. 2017. Clone and expression analysis of heat resistance related gene *BcPLDγ* from non-heading Chinese cabbage. Journal of Hubei University for Nationalities (Natural Sciences Edition), 35 (3): 241 – 246. (in Chinese)
- 徐海, 宋波, 樊小雪, 袁希汉, 陈龙正. 2017. 不结球白菜耐热相关基因 *BcPLDγ* 的克隆和表达分析. 湖北民族学院学报 (自然科学版), 35 (3): 241 – 246.
- Xu Yu-chao, Hou Xi-lin, Xu Wei-wei, Shen Lu-lu, Zhang Shi-lin, Liu Shi-tuo, Hu Chun-mei. 2016. Cloning and expression analysis of anthocyanidin synthase gene *BrcANS* from purple non-heading Chinese cabbage. Acta Agronomica Sinica, 42 (6): 850 – 859. (in Chinese)
- 许玉超, 侯喜林, 徐玮玮, 沈露露, 张仕林, 刘世拓, 胡春梅. 2016. 紫色不结球白菜花色苷合酶基因 *BrcANS* 的克隆与表达分析. 作物学报, 42 (6): 850 – 859.
- Yuan J, Yu Z, Lin T, Wang L, Chen X, Liu T, Wang J, Hou X, Li Y. 2020. BcERF070, a novel ERF (ethylene-response factor) transcription factor from non-heading Chinese cabbage, affects the accumulation of ascorbic acid by regulating ascorbic acid-related genes. Molecular Breeding, 40 (1): 1 – 18.
- Zhang Ai-fen. 2019. Identification of self-incompatibility-related genes and S-unit type in non-heading Chinese cabbage[M. D. dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 张爱芬. 2009. 不结球白菜自交不亲和和相关基因克隆和 S 单元型的鉴定[硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Zhang Chang-wei, Zhang Shu-ning, Hou Xi-lin, Qi Li, Sun Fei-fei. 2010. Differential expression analysis of bud of Pol CMS and its maintainer line of non-heading Chinese cabbage. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 30 (8): 1545 – 1550. (in Chinese)
- 张昌伟, 张蜀宁, 侯喜林, 齐莉, 孙菲菲. 2010. 不结球白菜 Pol 胞质雄性不育系和保持系蕾期基因的差异表达. 西北植物学报, 30 (8): 1545 – 1550.
- Zhang Hui. 2013. Study on inheritance of clubroot resistance and creating of clubroot resistant material in *Brassica campestris* ssp. *chinensis* [M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 张慧. 2013. 不结球白菜抗根肿病材料创制、抗性遗传及分子标记研究[硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Zhang Shuo. 2011. Gene cloning and expression profiling of ascorbic acid biosynthesis in non-heading Chinese cabbage and functional analysis of *BcPMI2*[M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 张硕. 2011. 不结球白菜抗坏血酸合成相关基因的克隆与表达及 *BcPMI2* 的功能分析[硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Zhang Xu, Jiang Yuan-mao, Peng Fu-tian, He Nai-bo, Li Yan-ju, Zhao Deng-chao. 2007. Changes of aroma components in ‘Hongdeng’ sweet cherry during fruit development. Scientia Agricultura Sinica, 40 (6): 1222 – 1228. (in Chinese)
- 张序, 姜远茂, 彭福田, 何乃波, 李延菊, 赵登超. 2007. ‘红灯’甜樱桃果实发育进程中香气成分的组成及其变化. 中国农业科学, 40 (6): 1222 – 1228.
- Zhang Ya, Huang Tian-hong, Zhang Xi-lin, Liu Tong-kun, Hou Xi-lin, Li Ying. 2019. Cloning and expression analysis of *BcSERK1* from non-heading Chinese cabbage. Journal of Nanjing Agricultural University, 42 (6): 1014 – 1021. (in Chinese)
- 张娅, 黄天虹, 张西林, 刘同坤, 侯喜林, 李英. 2019. 不结球白菜 *BcSERK1* 基因的克隆及表达分析. 南京农业大学学报, 42 (6): 1014 – 1021.
- Zhang Yan-feng, Wang Xue-fan, Zang Xin, Li Dian-rong, Liang Zong-suo. 2015. The discovery and study on homeotic mutant male sterile line HGMS of non-heading Chinese cabbage. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, (6): 164 – 168. (in Chinese)
- 张彦锋, 王学芳, 张新, 李殿荣, 梁宗锁. 2005. 不结球白菜同源异型突变雄性不育系 HGMS 的发现和初步研究. 西北农业学报, (6): 164 – 168.
- Zhang Yun-tao, Wang Gui-xia, Dong Jing, Cui Feng-zhi, Xu Xue-feng, Han Zhen-hai. 2008. Analysis of aroma components in five strawberry cultivars. Acta Horticulturae Sinica, 35 (3): 433 – 437. (in Chinese)
- 张运涛, 王桂霞, 董静, 崔凤芝, 许雪峰, 韩振海. 2008. 草莓 5 个品种的果实香味成分分析. 园艺学报, 35 (3): 433 – 437.
- Zhang Zeng-cui, Hou Xi-lin, Cao Shou-chun. 1999. Genetic analysis of vitamin C and soluble sugar contents in non-heading Chinese cabbage. Acta Horticulturae Sinica, 26 (3): 32 – 36. (in Chinese)
- 张增翠, 侯喜林, 曹寿椿. 1999. 不结球白菜维生素 C 和可溶性糖含量的遗传分析. 园艺学报, 26 (3): 32 – 36.
- Zhao D Y, Tang J, Ding X L. 2007. Analysis of volatile components during potherb mustard (*Brassica juncea* Coss) pickle fermentation using

侯喜林, 李 英, 黄菲艺.

不结球白菜 (*Brassica campestris* ssp. *chinensis*) 主要性状及育种技术的分子生物学研究新进展.

园艺学报, 2020, 47 (9): 1663 - 1677.

1677

SPME-GC-MS. Food Science and Technology, 40 (3): 439 - 447.

Zheng Xue-li, Xie Xin-xin, Shao Gui-rong, Huang Jian-du, Chen Yu-jing. Identification of pathogens causing soft rot disease in non-heading Chinese cabbage 'Fuguan'. Subtropical Agriculture Research, 14 (1): 48 - 54. (in Chinese)

郑学立, 谢鑫鑫, 邵贵荣, 黄建都, 陈雨静. 2018. 不结球白菜 '福冠' 软腐病病原菌鉴定. 亚热带农业研究, 14 (1): 48 - 54.

Zhu Bo. 2008. Cloning and characterization of transcription factors in *Brassica campestris* ssp. *chinensis* and functional analysis of heat and cold regulated proteins involved in abiotic stress [Ph. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agriculture University. (in Chinese)

朱 波. 2008. 不结球白菜抗逆相关转录因子的克隆及耐热耐寒相关蛋白的功能鉴定[博士论文]. 南京: 南京农业大学.

Zhu Hong-fang, Gao Qian-qian, Li Xiao-feng, Liu Jin-ping, Zhai Wen, Xing Shi-yi, Zhu Yu-ying. 2017. Effect of exogenous salicylic acid on seedling growth and clubroot disease (*Plasmodiophora brassicae*) in pak-choi (*Brassica campestris* ssp. *chinensis* Makino). Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 37 (2): 297 - 306. (in Chinese)

朱红芳, 高倩倩, 李晓锋, 刘金平, 翟 文, 邢诗怡, 朱玉英. 2017. 根肿病胁迫下外源 SA 对不结球白菜抗性诱导和生理生化的影响. 西北植物学报, 37 (2): 297 - 306.

Zhu Hong-fang, Hou Rui-xian, Li Xiao-feng, Zhu Yu-ying, Hou Xi-lin. 2011. Cytological observation of anther development between the male sterile line and its maintainer line in non-heading Chinese cabbage. Plant Science Journal, 29 (2): 183 - 187. (in Chinese)

朱红芳, 侯瑞贤, 李晓锋, 朱玉英, 侯喜林. 2011. 不结球白菜雄性不育系及其保持系花药发育的细胞学观察. 植物科学学报, 29 (2): 183 - 187.

Zhu Hong-fang, Li Xiao-feng, Zhu Yu-ying, Hou Rui-xian, Guo Xin-xin. 2014. Inheritance of anthocyanin contents in purple leaves of non-heading Chinese cabbage. Chinese Agricultural Science Bulletin, 30 (31): 141 - 146. (in Chinese)

朱红芳, 李晓锋, 朱玉英, 侯瑞贤, 郭欣欣. 2014. 不结球白菜紫色叶片花青素相对含量的遗传分析. 中国农学通报, 30 (31): 141 - 146.

Zhu Hong-fang, Li Xiao-feng, Zhu Yu-ying, Guo Xin-xin, Liu Jin-ping, Gao Qian-qian, Zhai Wen. 2015. Effects of clubroot disease on growth, physiochemical substance and reactive oxygen metabolism in pak-choi. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 35 (12): 2469 - 2476. (in Chinese)

朱红芳, 李晓锋, 朱玉英, 郭欣欣, 刘金平, 高倩倩, 翟 文. 2015. 根肿病对不结球白菜的生长及生理物质和活性氧代谢的影响. 西北植物学报, 35 (12): 2469 - 2476.