

小麥春化作用基因 *VRN1* 和 *VRN2* 之調控 及其對光週期之反應

農藝四 紀瑋婷 49231022

摘要

小麥可分成兩型：一為受長日照處理即可開花的春小麥，另一為需要一段時期的低溫處理才會開花的冬小麥。在雙倍體小麥品種 *Triticum monococcum* 的 *VRN1* 及 *VRN2* 為與春化作用相關的基因。*VRN1* 為調控小麥營養生長期轉生殖生長期的關鍵基因，與阿拉伯芥的 *API* 為同源基因，此序列可編碼出 MADS 區域蛋白，很多冬小麥品種的 *VRN1* 會因冷處理而被誘導活化；*VRN2* 為 *VRN1* 的抑制子(repressor)，其可編碼出有鋅手指(zinc-finger)區域的蛋白，經春化作用處理後 *VRN2* 的表現量會降低，而春小麥品種的 *VRN1* 並不會受到 *VRN2* 抑制，因此，冷處理對於春小麥 *VRN1* 的表現沒有影響。光週期對 *VRN1* 和 *VRN2* 的影響探討，也說明需要春化作用的基因型可經 6 週的短日照處理後，再置於長日環境下代替春化處理，而此替代方法與短日照使 *VRN2* 表現量下降有關。此外，也發現在室溫下短日照處理的 *VRN2* 不會使 *VRN1* 的表現量增加，此表示還有另一種 *VRN1* 抑制子的存在。短日照可以使光週期敏感的冬小麥加速開花，春化作用和對光週期敏感是小麥族(Triticeae)祖先的特性，表示小麥原是短長日(SD-LD)植物，因在育種馴化後而產生出雙重調控。

關鍵字(Keywords): 小麥(wheat)、*VRN1*、*VRN2*、春化基因(vernalization)、光週期(photoperiod)

一、前言

冬小麥和春小麥的差別，在於冬小麥需要一段長時間的低溫處理促進開花，也就是所謂的春化作用(vernalization)，是由春化基因*VRN1*和*VRN2*所調控，與阿拉伯芥相同名稱的基因作用不同(Yan *et al.*, 2003; Yan *et al.*, 2004)。小麥和大麥的*VRN1*基因與阿拉伯芥的*API*、*FUL*及*CAL*基因的功能相似(Yan *et al.*, 2003)，為負責由營養生長期轉變至生殖生長期的基因，故*VRN1*基因對春小麥和冬小麥的分類相當重要。雖然這些基因的功能相似，但彼此間的基因調控似乎有所差異。在小麥和大麥對偶基因的變異，與*VRN1*啟動子與第一內隱子(intron)有關(Yan *et al.*, 2003; Yan *et al.*, 2004)，而在阿拉伯芥中是與沒有功能或表現微弱的*FRI*和*FLC*對偶基因有關，非*API*、*FUL*和*CAL*基因的變異(Dubcovsky *et al.*, 2006)；為了了解小麥的春化基因之功能，進而進行據圖選殖(map-based cloning)技術，但由於小麥基因組大(*T. monococcum* 單倍體基因組為5,600 Mb)，且含有大量的重複序列，故不容易有效的進行染色體步移技術(chromosome walking)。

阿拉伯芥和溫帶禾穀類的春化作用途徑中，兩者間主要的差異在於對開花的抑制；*FLC*為在阿拉伯芥春化途徑中的重要抑制子，雖然小麥的*VRN2*基因在阿拉伯芥尚未發現同源基因，但其與阿拉伯芥的*FLC*功能相同，這個結果說明了這兩種春化途徑各自獨立演化(Yan *et al.*, 2004)。

某些對光週期敏感的六倍體冬小麥品系，可藉由將植株曝露在短日照

(short day, SD)環境數週，再移回長日照(long day, LD)環境下，來消除或減少春化作用的處理，這個現象在阿拉伯芥中尚未被發現，但在*Festucoideae* 亞科冬季禾草類十分常見(Dubcovsky *et al.*, 2006)。本文也說明小麥可以利用短日照替代春化處理，並藉由短日照使得春化基因*VRN2*的表現量下降，也找出*VRN1*啟動子(promoter)推測的調控位置，即為此基因受短日照使調控產生差異的原因。

二、*VRN1* 基因之定位及表現分析

*VRN1*的圖譜是*T. monococcum*中的春小麥(G2528, *Vrn1*)和冬小麥(G1777, *vrn1*)雜交後以F₂子代染色體定位完成。遺傳圖譜(genetic map)首先是以限制片段長度多型性(Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP)的分子標誌(marker)WG644和CDO708篩選F₂後代，接著利用較接近的PCR分子標誌*GENE1*和*MTK4*篩選6190條重組染色體。偵測到51個重組體，而這些植株再利用額外的分子標誌來檢測圖譜中所有的基因(Fig. 1)，由此得知*VRN1*基因座(locus)中含有*API*和*AGLG1*基因。在實體圖譜(physical maps)方面，選擇小麥(*T. monococcum*)中的DV92、水稻(*Oryza sativa* var. Nipponbare)及高粱(*Sorghum bicolor*)的BAC基因庫(libraries)來篩選不同的基因片段，末端部分利用*CYB5*和*GENE1*基因來篩選，在近中節端的部份，利用*PHY-C*、*CYS*、*API*及*AGLG1*篩選*T. monococcum*的BAC基因庫得到12個BACs，由此完成小麥*VRN1*區域的基因輿圖(Fig. 1)。

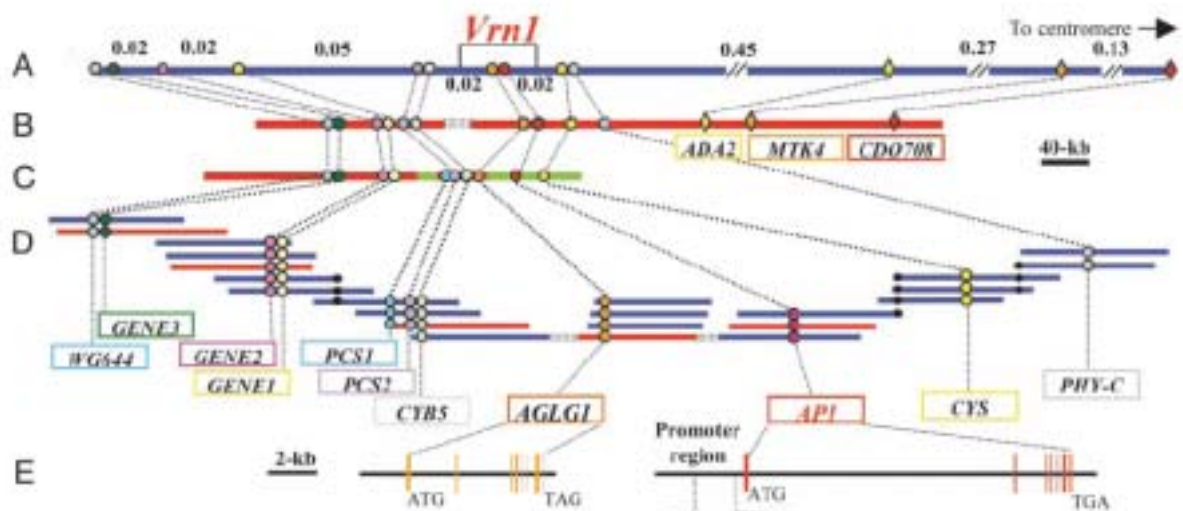


Fig. 1. (A) Genetic map of the *VRN1* region on chromosome 5A^m of *T. monococcum*. Genetic distances are in cM (6,190 gametes). (B–D) Physical maps of the colinear *VRN1* regions in rice, sorghum, and wheat. Regions indicated in red have been sequenced. Double dot lines indicate gaps in the current physical maps. (B) Sequence of the colinear region in rice chromosome 3. (C) *S. bicolor* BACs 170F8 (AF503433) and 17E12 (AY188330). (D) *T. monococcum* physical map. Black dots indicate validation of BAC connections by hybridization. (E) Gene structure of two MADS-box genes completely linked to the *VRN1* gene (AY188331, AY188333). Bars represent exons. (Yan *et al.*, 2003)

在基因表現部分，將*T. monococcum*品種的冬小麥(G3116)放置溫室中，給予長日照處理長達10個月，未經春化處理，其頂芽(apex)並沒有偵測到*API*的表現；然而，經6週的春化處理後，在頂芽的部分即偵測到*API*表現 (Fig. 2A lanes 6 and 7)。而這些頂芽根據研究學者所界定的發育時期，為營養生長期零的階段；但在*T. monococcum*中的春小麥，不需要經過春化處理即可在頂芽部分觀察到*API*的表現。

在定量PCR實驗中，證實冬小麥經春化作用2週後再持續冷處理，葉片的*API*表現量會不斷增加(Fig. 2B)，且受春化處理的植株在移至溫室後2週，在葉片中的*API*仍持續表現，連續8週維持在溫室中的對照組植株，*API*持

續極低的表現量(Fig. 2B)。而未經春化處理的春小麥，在開始轉變至開花期時，即可偵測到*API*的表現量。

*AGLG1*的表現量只在幼穗中偵測得到(Fig. 2A lane 8)，且無法在春化處理後6週的頂芽偵測到(Fig. 2A)，這個結果說明*AGLG1*比*API*晚表現，而且在葉片中並沒有偵測到*AGLG1*(Fig. 2A)。綜合以上結果及阿拉伯芥上*API*的功能，顯示*API*較*AGLG1*更可能為*VRN1*的候選基因。

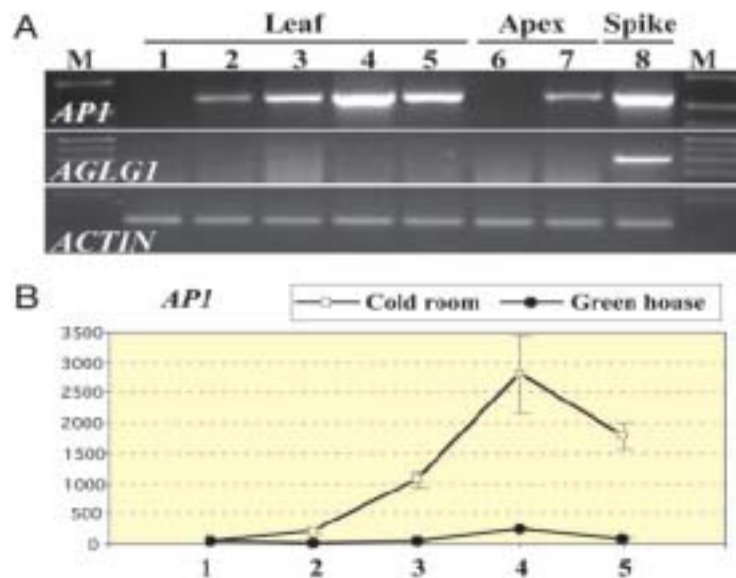


Fig. 2. (A) RT-PCR experiment using *T. monococcum* G3116 (winter growth habit) and *API*-, *AGLG1*-, and actin-specific primers. The PCRs for the three genes were performed by using the same cDNA samples. Lanes 1–5 indicate leaves. Lane 1, before vernalization; lanes 2–4, 2, 4, and 6 weeks of vernalization, respectively; lane 5, 2 weeks after vernalized plants were returned to the greenhouse; lane 6, unvernallized apices; lane 7, 6-week vernalized apices; and lane 8, young spikes. (B) *API* transcription levels in leaves relative to actin measured by quantitative PCR. Lanes 1–5, leaves from plants at the same vernalization stage as samples 1–5 in A. Units are values linearized by using the $2^{-(CT - CT_{actin})}$ method, where CT is the threshold cycle. (Yan *et al.*, 2003)

三、*VRN2* 基因定位及表現分析

VRN2 的圖譜是以 *T. monococcum* 中的春小麥(DV92)和冬小麥(G3116)

雜交後的 F₂ 族群染色體 5A 完成。利用相同的親本品系由 5698 條配子 (gametes) 所發展的高密度圖譜 (high-density map)，用 *VRN2* 側端的分子標誌 *NUCELLIN* 和 *UCW22* 篩選這個族群，結果篩選到 18 個重組體 (Fig. 3)。再利用 RFLP 分子標誌、PCR 分子標誌和其他的分子標誌進行篩選，所得到的序列約有 75% 為重複片段，而在非重複片段中只有三個基因。第一個基因為 *AY485644.3*，其編碼 254 胺基酸 (amino acid) 大小的蛋白，目前尚未了解其功能。另外兩個基因，所編碼的蛋白有 76% 的相似性，這兩個基因和阿拉伯芥及水稻中與光週期途徑有關的 *CO* 和 *CO-like* 蛋白基因相似，推測可能和 *CO* 有相似的功能；又因在第一表現子序列上推測有鋅指的結構，

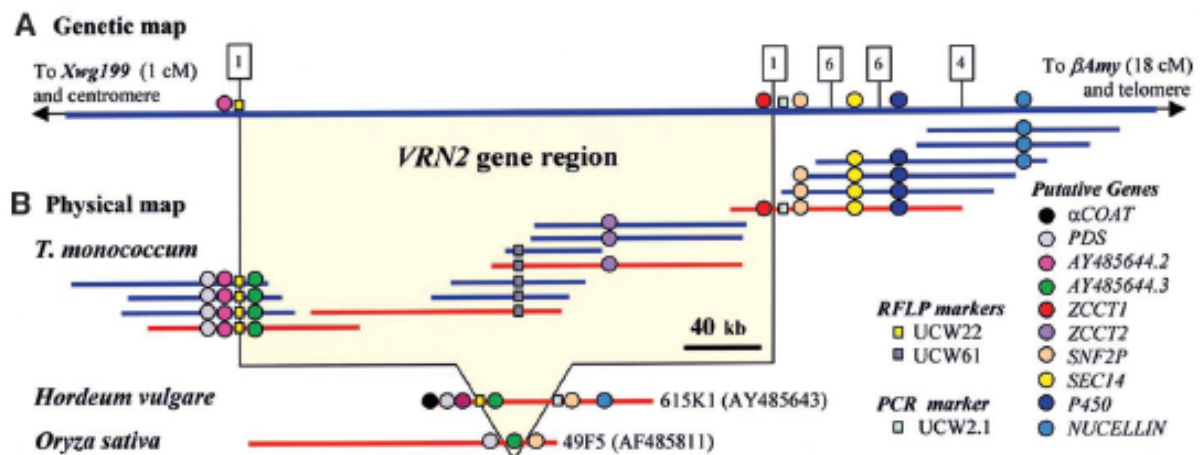


Fig. 3. (A) Genetic map of the *VRN2* region on chromosome 5Am of *T. monococcum*, based on 5698 gametes. The number of crossovers in the critical recombinant plants is indicated in the boxes. (B) Physical map of the wheat *VRN2* region in *T. monococcum* and in colinear regions from barley and rice. BAC clones indicated in red have been sequenced (438,828 bp, AY485644). Additional information for the markers used in this figure is available in the supporting online material. (Yan *et al.*, 2004)

且在第二表現子 (exon) 有 CCT 區域，所以將這兩個基因命名為 *ZCCT1* 及 *ZCCT2*。

經春化處理後,研究 *VRN2* 區域間三個基因的 RNA 表現量,AY485644.3 基因表現量未受春化作用影響(Fig. 4A)。相反的,*ZCCT1* 和 *ZCCT2* 的表現,只在未經春化處理的葉片中偵測到(Fig. 4A)。雙倍體小麥 *ZCCT1* 和 *ZCCT2* 的 mRNA 以 TaqMan systems(real time Q-PCR)定量,在經春化處理後的葉片,觀察到 *ZCCT1* 的表現量逐漸減少(Fig. 4B),置放在室溫下的冬小麥,有相對較高的 *ZCCT* RNA 表現,當解除 6 週 4 低溫春化處理的 2 週後,並不會恢復 *ZCCT* 的表現(Fig. 4B)。在春化處理期間的 *ZCCT* 表現量減少,但 *VRN1*(與 *AP1* 相同)的表現卻增加(Fig. 4B),這結果與 *VRN1*、*VRN2* 基因調控作用路徑相符。頂芽部份的表現,*ZCCT1* 的表現量可在未經春化處理的植株偵測到,但在經春化處理的植株則沒有偵測到(Fig. 4C),而 *VRN1* 在經春化處理後的頂芽和葉片都有表現(Fig. 4C),但利用相同的 RNA,卻無法偵測出 *ZCCT2* 的表現,表示 *ZCCT2* 不在頂芽表現或是轉錄量少於偵測的底限,又因為頂芽是營養生長期轉成生殖生長期的重要位置,因此 *ZCCT1* 較 *ZCCT2* 更可能是 *VRN2* 的候選基因。

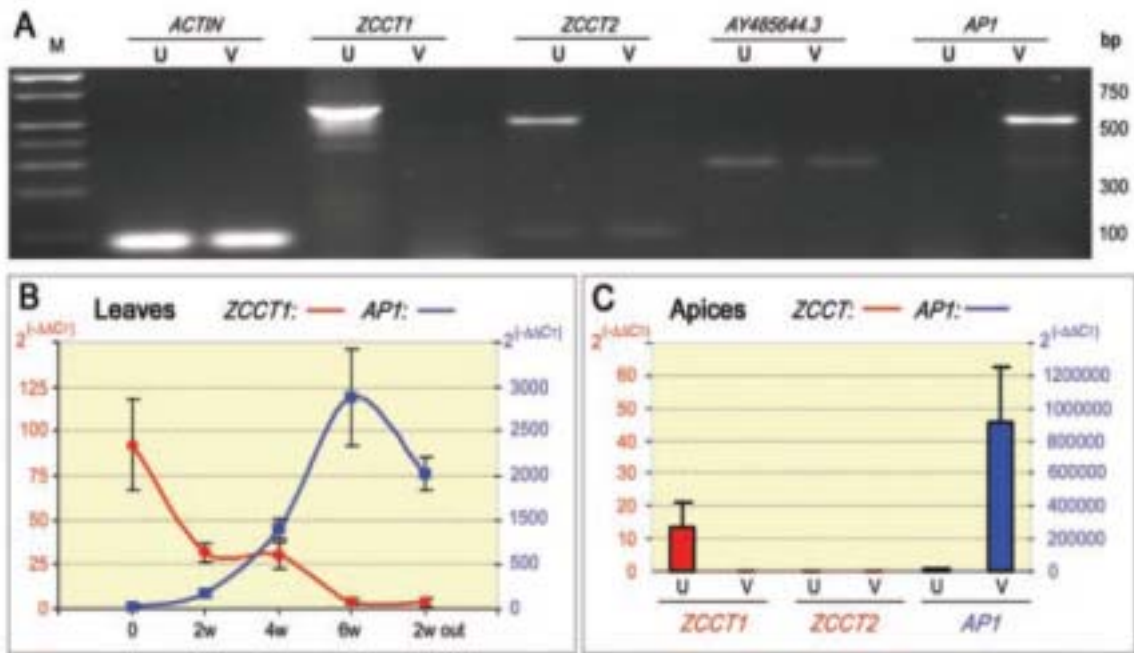


Fig. 4. (A) RT-PCR from leaves of unvernallized (U) or vernalized (V) G3116 winter wheat plants. RNA samples from the vernalized plants (6 weeks at 4°C) were collected 5 days after the plants were returned to room temperature. Among the three genes completely linked to *VRN2*, RNA levels of *ZCCT1* and *ZCCT2* were down-regulated by vernalization and those of *AY485644.3* were not affected by vernalization. In the same cDNA samples, *API* RNA levels were up-regulated by vernalization. M, molecular-weight DNA marker. (B and C) Quantitative PCR of leaves and apices. (B) Transcript levels of *ZCCT1* (red scale) and *API* (blue scale) relative to UBIQUITIN in G3116; averages of five plants \pm SE are shown. On the x axis, 0 indicates the time before exposure to 4°C; w, weeks at 4°C; 2w out, 2 weeks at room temperature after vernalization. (C) Transcript levels of *ZCCT1*, *ZCCT2*, and *API* (wheat *VRN1*) relative to ACTIN in G3116, showing the averages of three pools of apices from five plants each \pm SE. U, unvernallized; V, 3 to 5 days at room temperature after 6 weeks of vernalization. Units are values linearized with the $2^{-(\Delta\Delta CT)}$ method, where CT is the threshold cycle. (Yan *et al.*, 2004)

四、小麥 *VRN* 基因型變異與其對春化作用之反應

小麥的起源中心位於近東中心，包含巴爾幹半島，屬於溫帶地區，冬小麥為起源最早的基因型 (*vrn1*, *Vrn2*) 為野生型，在演化的過程中，人類為了將小麥擴大種植於年均溫較高的地區，選育出春小麥類型植株，其基因型 *VRN1* 及 *VRN2* 都有序列上的變異產生，包含 (*Vrn1*, *Vrn2*) (*Vrn*,

vrn2) (*vrn1*, *Vrn2*) 三種基因型的組合 , *Vrn1* 的變異在於啟動子序列的缺失 , 不論 *VRN2* 是否有抑制的功能 , 都對 *Vrn1* 沒有抑制的作用 ; 而 *vrn2* 是在序列上有變異使得精氨酸 (arginine) 改變為色氨酸 (tryptophan) , 或是 *VRN2* 整個基因的缺失 , 使得 *VRN2* 功能喪失無法對 *VRN1* 進行調控 , 因此春小麥不需受春化作用即可進入生殖生長期。

五、小麥春化基因 *VRN1* 和 *VRN2* 的開花調控模式

根據 *VRN1* 及 *VRN2* 的基因功能及彼此的交互作用 , 整合成一個開花調控模式(Fig. 5) , 觀察 *VRN1* 及 *VRN2* 之間的作用 , 顯示這兩個基因作用在同一條路徑。從這個模式可知 , *VRN2* 所編碼的顯性開花抑制子可直接或間接的抑制 *VRN1* , 在春化作用的過程中 , 會大量減少 *VRN2* 的基因產物 , 但 *VRN1* 的表現量會增加 , 使植物有開花的能力(Fig. 5 , 中間部分)。

當春小麥為*vrn2*同型(homozygous)隱性對偶基因時(Fig. 5 , 上層部分) , 對於*VRN1*基因座的變異沒有影響 , 因為*vrn2*對偶基因是一個無功能或是有缺失的抑制子 , 使其無法和*VRN1*啟動子作用 ; 可由*T. monococcum* DV92 (*vrn1*, *vrn2*)的*AP1*表現進行說明 , 在此種基因型中 , 儘管其為隱性的*vrn1*對偶基因 , 但葉片及頂芽的*AP1*不需經春化處理即有表現 , 此顯示*VRN1*在此模式中位於*VRN2*的下游 , 所以*VRN1*會受*VRN2*的調控。

相反的 , 春小麥的*VRN2*對*Vrn1*同型對偶基因沒有顯著的影響(Fig. 5 , 下層部分) , 因為*VRN2*抑制子對啟動子區域缺乏辨識位置的*Vrn1*對偶基因無

法作用；此部份可由G2528 (*Vrn1*, *Vrn2*)的*AP1*表現來進行說明，儘管存在活性的*VRN2*抑制子，但此種基因型不需要經春化處理，在葉片及頂芽部分仍發現*AP1*的表現，代表有活性的*VRN2*抑制子對G2528的*AP1*啟動子區域無法作用，其可能原因是因為序列有20-bp的缺失(deletion)。

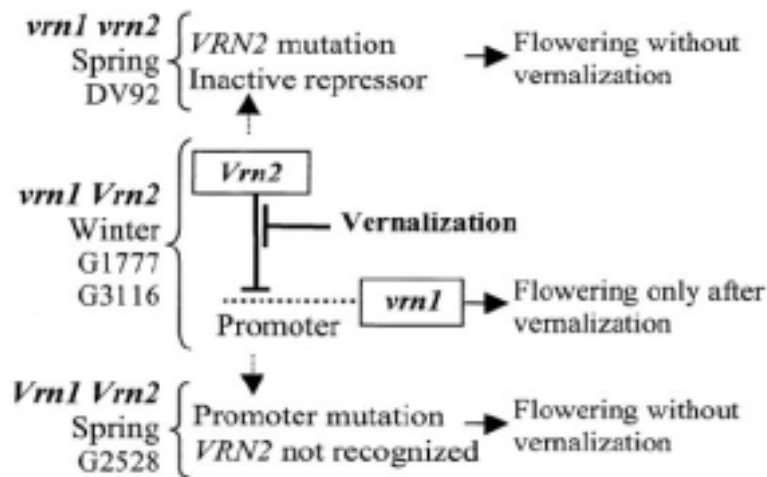


Fig. 5. A model of the regulation of flowering initiation by vernalization in wheat. (Yan *et al.*, 2003)

六、光週期對 *VRN1* 和 *VRN2* 的影響

將對光週期敏感的雙倍體冬小麥 G 3116 (*vrn1*, *Vrn2*) 放置在短日照(日照 8 小時)且沒有春化處理的環境 6 週後，轉換到長日照(日照 16 小時)的環境可使其明顯加速開花。在 SD-LD 實驗期間，雙倍體冬小麥 G3116 的 *VRN2* 因受短日照的影響，使其表現量快速減少(Fig.6)，而在長日照下也會因春化處理，使 *VRN2* 基因表現量減少(Fig. 4B)，顯示這個基因在整合短日照和春化作用訊號方面扮演著重要的角色。

雖然G3116生長在室溫，利用短日照處理可使*VRN2*表現量減少，但

*VRN1*的表現並沒有增加，直到植株轉換到長日照環境下*VRN1*的表現量才增加(Fig. 6)，與在長日照經春化處理的結果不同(Fig. 4B)，因此推測還有另外一個抑制子的存在。而維持在長日照環境的對照組，*VRN1*轉錄量沒有增加(Fig. 4B)，表示第二種抑制子的調控必需在*VRN2*表現量減少的情況才會作用。

Table 1. Haplotype variation at the *VRN1* gene in cultivated *T. monococcum* (15.7-kb).

| Acc. No. | DV92* | PI 355516 | PI 355534 | PI 503874* | PI 326317* | PI 306540* |
|--------------------------|--------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| GeneBank | AY18833 | – | – | DQ146421 | DQ146422 | DQ146423 |
| Growth habit | Spring | Winter | Winter | Spring | Spring | Spring |
| SD induc. <i>VRN1</i> | No | No | No | Yes | Yes | No |
| <i>VRN1</i> allele | <i>vrn1</i> | <i>vrn1</i> | <i>vrn1</i> | <i>Vrn1f</i> | <i>Vrn1g</i> | <i>Vrn1h</i> |
| <i>VRN2</i> allele | <i>vrn2a</i> | <i>Vrn2</i> | <i>Vrn2</i> | <i>Vrn2</i> | <i>vrn2b</i> | <i>Vrn2</i> |
| Prom. -1377 ^a | G | G | G | G | G | A |
| Prom. -978 | wild | wild | wild | wild | wild | 9-bp del. |
| CATG-box | wild | wild | wild | 1-bp del. | 34-bp del. | wild |
| Int. 1 +950 | wild | wild | wild | 502-bp ins. | wild | 493-bp ins. |
| Int. 1 +6447 | T | G | T | G | G | G |
| Int. 2 +192 | T | C | C | C | C | C |

Sequence coordinates are based on the DV92 sequence.

^a Within a foldback repetitive element located -1,026 to -1,424-bp upstream of start codon.

(Dubcovsky *et al.*, 2006)

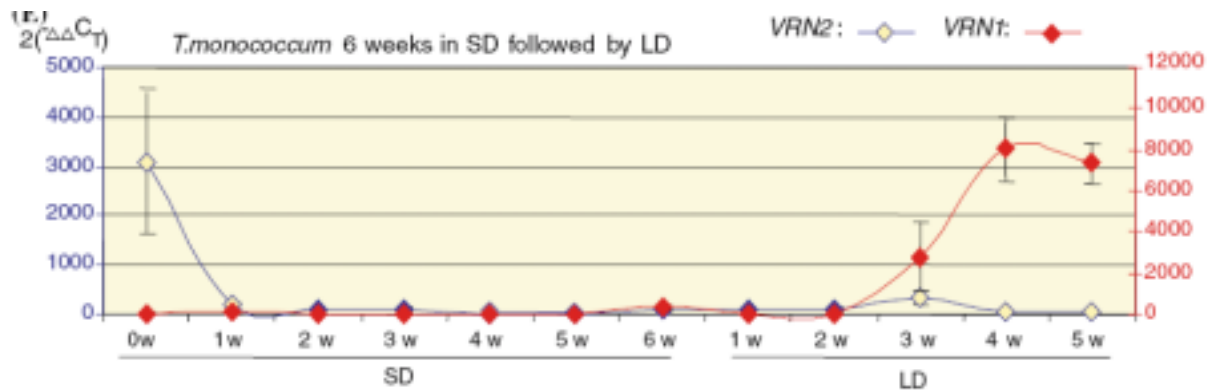


Figure 6. Time course transcription profiles of *VRN1* (red line, filled diamonds) and *VRN2* (blue line, open diamonds). Initial samples (0 week) were collected immediately before transferring unvernized G3116 plants grown under LD for 7 weeks to SD (20 °C). Plants were grown under SD for 6 weeks and samples were collected every week (1st week to 6th week). Finally, plants were transferred to LD for 5 weeks (1st week to 5th week). Note the delay in *VRN1* transcription until the transfer to LD. (C–G) Units for the Y-axis are linearized values using the $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ method, where CT is the threshold cycle (Livak and Schmittgen, 2001). (Dubcovsky *et al.*, 2006)

為了辨識*VRNI*與第二種抑制子作用的調控位置，針對*T. monococcum*中帶有不同基因型的品系(Table 1)，比較*VRNI*序列上的差異(Fig. 7)。PI 503874 (*Vrn1f*, GenBank DQ 146421)和PI 326317 (*Vrn1g*, GenBank DQ 146422)分別在CArG-box上有1-bp和34-bp的缺失，而*Vrn1h*對偶基因在第一內隱子有插入493-bp的重複序列，*Vrn1f*比*Vrn1h*多插入了9-bp的重複序列。

分析*T. monococcum*中三個不同品系的*VRNI*調控區域序列，發現其中兩個品系的*VRNI*基因受短日照誘導活化，且在*Vrn-1f*對偶基因的啟動子CArG-box區域有1-bp的缺失，*Vrn-1g*有34-bp的缺失(Table 1)，故推測CArG-box是第二種抑制子和*VRNI*作用的主要位置，所以當此區域有缺失，使得抑制子無法與*VRNI*作用時，讓*VRNI*在短日照環境下依然有表現，

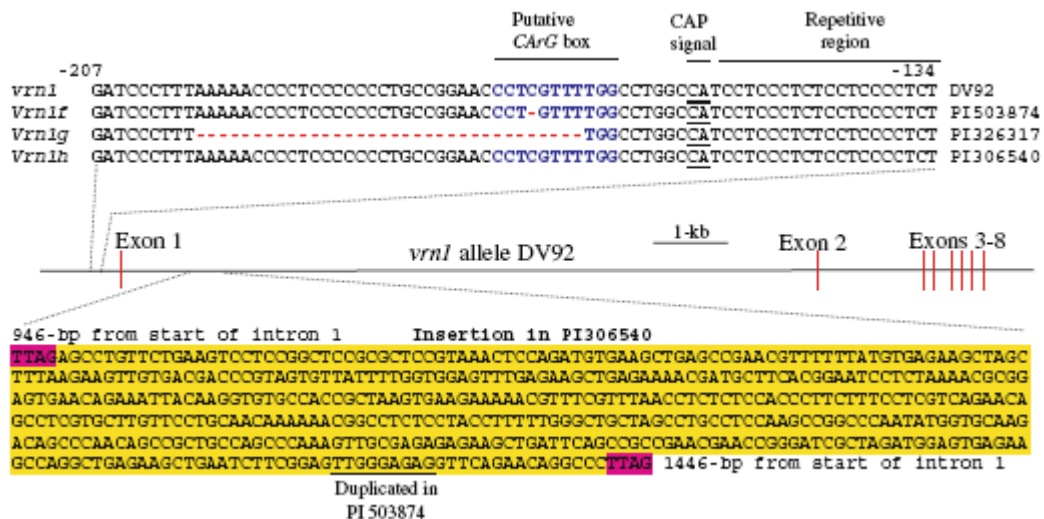
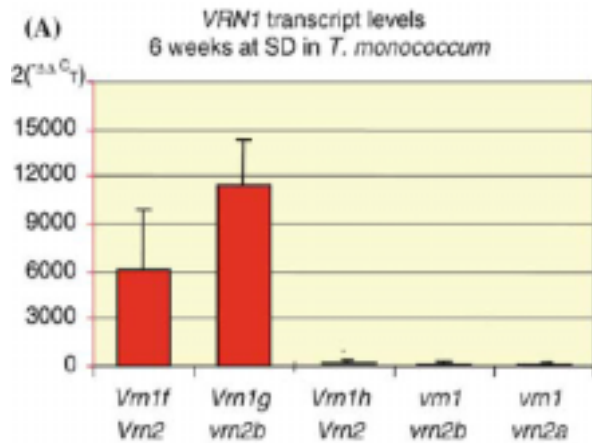


Figure 7. Sequence differences among *VRNI* alleles. Top: 74-bp segment of the *VRNI* promoter showing the location of the putative CArG box in blue and the CAP signal for transcriptional initiation underlined. Middle: schematic representation of the *VRNI* gene in *T. monococcum*. Bottom: repetitive element inserted in *VRNI* first intron in PI 306540 (*Vrn1h*) and PI 503874 (*Vrn1f*). (Dubcovsky *et al.*, 2006)



且表現量比顯性 *Vrn-1h* 或隱性 *vrn1* 的對偶基因高 (Fig. 8A), 再進一步檢測其他 *T. monococcum* 品系中也有相同的結果 (Fig. 8B)。

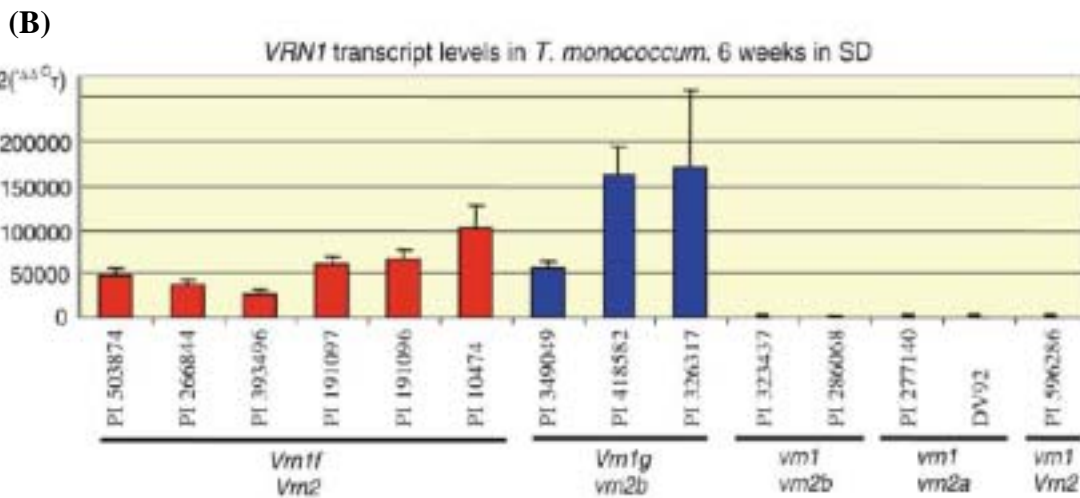
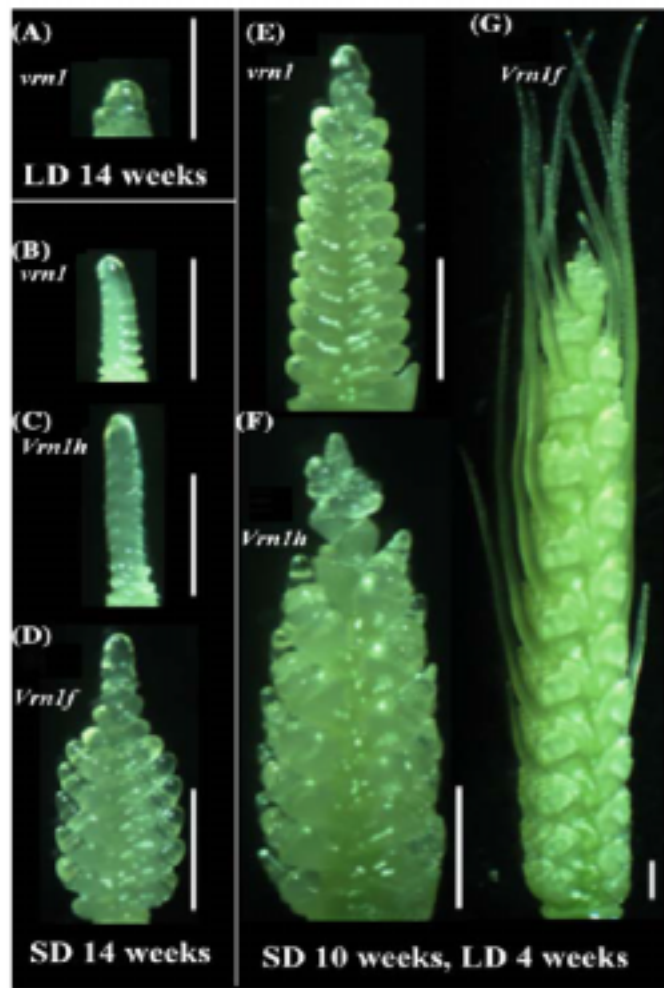


Figure 8. (A) *VRN1* transcript levels in *T. monococcum* spring lines carrying *Vrn1f* (PI 503874, 1-bp deletion), *Vrn1g* (PI 349049, 34-bp deletion), *Vrn1h* (PI 306540, intron one insertion), and recessive *vrn1* alleles combined with recessive *vrn-2b* (PI 323437) and *vrn2a* (DV92) alleles. (B) *VRN1* transcript levels in additional *T. monococcum* lines carrying different vernalization alleles. (A–B) Units for the Y-axis are linearized values using the $2^{-(\Delta\Delta C_T)}$ method, where CT is the threshold cycle (Livak and Schmittgen, 2001). (Dubcovsky *et al.*, 2006)

因CArG-box突變而使*VRN1*持續表現的小麥，也在頂芽有提早發育的現象，便針對不同對偶基因型的頂芽觀察光週期對其影響。以 *vrn1* (G3116)，*Vrn1f* (PI 503874) 及 *Vrn1h* (PI 306540) 對偶基因進行10週的短日照處理，接著分成兩組進行不同的光照處理，一組是繼續置於4週的短日照環境，而另一組則是改成4週的長日照處理；在對照組方面，冬小麥G3116 (*vrn1*) 維持14週的長日照處理，頂芽沒有分化現象的產生 (Fig. 9A)，春小麥

PI 503874 (*Vrn1f*)及PI 306540 (*Vrn1h*)在14週長日照的處理下，已經開始抽穗(heading)，而G3116 (*vrn1*)及PI 306540 (*Vrn1h*)對偶基因型的植株，在14週短日照處理下，頂芽分化的表現有所受限(Fig. 9B, C)；但在相同的短日照處理下，PI 503874 (*Vrn1f*)對偶基因型的植株卻有明顯的頂芽分化並提早進入穗軸(spike)發育。



另一組改置4週的長日環境的處理，G3116 (*vrn1*) (Fig. 9E) 和PI 306540 (*Vrn1h*) (Fig. 9F) 對偶基因型的植株穗軸有開始發育的現象，但發育狀況仍晚於PI 503874 (*Vrn1f*)對偶基因型(Fig. 9G)，此結果也說明PI 503874 (*Vrn1f*)植株在先短日後長日(SD-LD)的處理，比連續短日照處理的植株提前達到生殖發育期。

Figure 9. Comparison of apex development in *T. monococcum* plants. (A–B and E) Winter G3116 (*vrn1*); (C and F) PI 306540 (*Vrn1h*); (D & G) PI 266844 (*Vrn1f*). (A) Continuous LD, vegetative stage. Under the same conditions lines with the dominant *Vrn1h* and *Vrn1f* alleles had already headed (not shown). (B, C, D) Continuous SD. (E, F, G) 10 weeks at SD and 4 weeks at LD (SD–LD). Note the more advanced development of the inflorescence in *Vrn1f* relative to *vrn1* and *Vrn1h* in both SD and SD–LD. White bars represent 0.5 mm. (Dubcovsky *et al.*, 2006)

七、結語

在雙倍體小麥 *Triticum monococcum* 中，因為 *VRN1* 和 *VRN2* 對偶基因顯隱性的搭配及序列上的變異而可分為冬小麥和春小麥兩種。一般而言，冬小麥須經春化處理進入生殖生長期，而春小麥是經長日照處理後進入生殖生長期，但冬小麥又可因先短日照後長日照的處理來促使其進入生殖生長期，所以冬小麥對於光週期和春化作用都有所反應，表示小麥原本為短長日植物，因現今在育種上巨大的選擇壓力而有這種雙重調控的結果產生 (Dubcovsky *et al.*, 2006)。

七、引用文獻

- Dubcovsky, J., A. Loukoianov, D. Fu, M. Valarik, A. Sanchez, and L. Yan. 2006. Effect of photoperiod on the regulation of wheat vernalization genes *VRN1* and *VRN2*. *Plant Mol. Biol.* 60: 469-480.
- Yan, L., A. Loukoianov, G. Tranquilli, M. Helguera, T. Fahima, and J. Dubcovsky. 2003. Positional cloning of the wheat vernalization gene *VRN1*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100(10): 6263-6268.
- Yan, L., A. Loukoianov, A. Blechl, G. Tranquilli, W. Ramakrishna, P. SanMiguel, J. L. Bennetzen, V. Echeniqueusa, and J. Dubcovsky. 2004. The wheat *VRN2* gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization. *Sci.* 303: 1640-1644.

指導研究生：黃巧宜 學姊

指導時數：5 小時

指導研究生簽名：