

文章编号: 1674 - 7054(2015)03 - 0250 - 06

巴西橡胶树 *LEAFY* 基因的克隆及其对拟南芥的转化

应佳志^{1,2} 毕政鸿^{1,2} 陈 涛^{1,2} 华玉伟²

(1 海南大学 农学院, 海南海口 570228; 2 中国热带农业科学院 橡胶研究所, 海南 儋州 571737)

摘要: 研究巴西橡胶树开花调控机理是缩短橡胶树育种周期的重要研究内容。本研究通过同源克隆的方法, 克隆了2个橡胶树 *LEAFY* (简称为 *LFY*) 基因, 分别命名为 *HbLFY1* 和 *HbLFY2*。采用农杆菌介导法, 将其转化野生型拟南芥和拟南芥 *LFY* 突变体, 发现克隆的橡胶树 *LFY1* 和 *LFY2* 基因并不能显著促进拟南芥提早开花, 也不能恢复拟南芥 *LFY* 突变体开花时间。据此推测, *LFY* 基因可能不是调控橡胶树开花的关键基因或不能独自起作用。

关键词: *HbLFY*; 巴西橡胶树; 植物表达载体; 转基因

中图分类号: Q 785

文献标志码: A

DOI: 10. 15886/j. cnki. rds wxb. 2015. 03. 005

在植物的生长发育周期中, 开花是被子植物最重要的发育过程^[1]。目前认为存在2种主要的花发育统一原理: 一种是经典的 ABC 模型^[2-3]; 另一种是 *LEAFY* (简称为 *LFY*) 基因在花发育中的关键作用^[4-5]。自从 Weigel 实验室第1次鉴定出 *LFY* 基因在成花中起关键调节作用后^[5], 关于 *LFY* 基因在花发育调控中的作用引起了国内外学者的关注, 草莓^[6]、核桃^[7]、蝴蝶兰^[8]、杏^[9]、洋葱^[10]、玉米^[11]和锥栗^[12]等多种植物中 *LFY* 的同源基因被成功分离, 而且, 在柑橘、大岩桐等植物中过表达 *LFY* 及其同源基因, 能够显著促进植物开花^[13-14]。巴西橡胶树 (*Hevea brasiliensis*) 是天然橡胶主要来源, 属于多年生乔木, 定植5~6年才能开花, 开花时间晚是限制橡胶树杂交进程的主要因素之一。利用基因工程技术, 促进橡胶树提早开花, 将会大大加快橡胶树杂交进程, 有助于提高橡胶树育种效率。目前 *LFY* 基因在橡胶树中已被克隆, 并在拟南芥中过表达, 能够有效提早拟南芥开花时间^[15], 然而笔者以其设计 PCR 特异扩增引物, 始终未能克隆到此基因。故本研究通过同源克隆方法, 重新克隆橡胶树 *LFY* 并转化拟南芥, 探索橡胶树 *LFY* 基因的功能。

1 材料与方法

1.1 植物材料 巴西橡胶树热研7-33-97取自中国热带农业科学院橡胶研究所国家橡胶树种质资源圃。拟南芥 *LFY* 突变体(编号: CS6228)从 <http://www.arabidopsis.org/> 购买, 野生型拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*, Col-0) 由本实验室保存。

1.2 菌种与质粒 植物表达载体 pXCS-HAStrep 和农杆菌 GV3101 为本实验室保存。大肠杆菌 DH-5 α 工程菌株购自北京全式金生物技术有限公司。pMD19-T Vector 购自 Takara 公司。

1.3 橡胶树 *LFY* 克隆

1.3.1 单链 cDNA 的合成 春季采集10龄橡胶树茎尖, 提取 RNA 并反转录为 cDNA, 以备橡胶树 *LFY* 基因的克隆。RNA 提取按照 RNeasy Plant Kit 说明书(天根生物科技有限公司, 中国)进行, RNA 反转录过程详见 RNA 反转录试剂盒说明书(Fermentas 公司), 转录后 cDNA 保存于 -20 °C 下待用, 长期保存则放置于 -80 °C 冰箱中。

收稿日期: 2015-03-20

基金项目: 国家自然科学基金(31200503)

作者简介: 应佳志(1991-) 男, 海南大学农学院2012级硕士研究生. E-mail: yingjiazhi1225@163.com

通信作者: 华玉伟(1977-) 男, 副研究员, 博士, 主要从事橡胶树种质资源创新与新品种培育. E-mail: huayuwei2006@163.com

1.3.2 橡胶树 *LFY* 基因特异扩增 参考蓖麻(*gi*: XM_002511037.1) *LFY* 基因序列设计同源克隆引物(表1)以橡胶树 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。扩增后的产物克隆到 pMD19-T 并转化 DH5 α 。随后挑取单菌落进行测序分析(深圳华大基因科技股份有限公司)。并将测序所得序列与本实验室已经获得的橡胶树转录组数据进行比对,筛选橡胶树 *LFY* 基因,再以筛选到的基因序列为基础,设计特异扩增引物 HbLFY1-F(*Cla* I) /R(*Xba* I) 和 HbLFY2-F(*Cla* I) /R(*Hind* III) 进行特异扩增。特异扩增 PCR 条件为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 40 s 60 $^{\circ}$ C 退火 30 s 72 $^{\circ}$ C 延伸 40 s 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。扩增体系参照 PrimerSTAR Max(Takara 公司)。

表1 实验所用引物

Tab.1 The sequence of all primers used in this study

引物名称 Primers	用途 Function	引物序列/5'-3' Sequences
BASTA	拟南芥转基因植株鉴定	F: CCACGTCATGCCAGTTCCC R: CGGTCTGCACCATCGTCAA
pXCS	拟南芥转基因表达载体鉴定	F: ATGACGCACAATCCCCTACTC R: TGTAGAGAGAGACTGGTGTATTTTG 1F: GAGAGAGAGCATCAAGAGTGTTAGTAT 1R: GAAAAATGCCCTACTAAGGTGACAAAAT
HbLFY	橡胶树 <i>LFY</i> 基因同源克隆引物	2F: CCCTACTAAGGTGACAAAATCAGGTGTT 2R: GATGTGCATTGAAAAATAGCGTCGAT 3F: ATGAAGAAAATGAGAACGATGAAAATGG 3R: GTAGAGATGGAAGAGATAATCAAGGCCG
HbLFY1	<i>HbLFY1</i> ORF 特异扩增引物	F(<i>Cla</i> I) : CCATCGATGGATGGATCCGGAGGCCT R(<i>Xba</i> I) : GCTCTAGAGCTTAGAAAGGCAAGTC
HbLFY2	<i>HbLFY2</i> ORF 特异扩增引物	F(<i>Cla</i> I) : CCATCGATATGGATCCGGAGGCCTTCAC R(<i>Hind</i> III) : CCCAAGCTTTTAGAAAGGAAAGTGATCA

1.3.3 同源性分析及进化树构建 利用 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/vecscreen/> 网站对得到的基因序列进行初步处理,得到去除载体序列的目的基因序列;利用 DNAMAN 6.0.3.99 软件分析序列间的百分比,对序列进行比对;利用 MEGA 6.0 软件采用 ML 法构建分子进化树,系统树各分支的置信度由 1 000 次自举法(bootstrap)重复检测,并分析橡胶树 *LFY* 基因与其他物种 *LFY* 基因进化相关性。

1.4 *HbLFY* 转化拟南芥表达载体的构建 将特异扩增 PCR 产物回收且克隆到 pMD19-T,并转化 DH5 α 。PCR 检测阳性的菌株再进行测序分析。将插入序列正确的 pMD19-T 质粒与表达载体 pXCS-HAS-trep 质粒进行双酶切。酶切体系为: 10 μ L 质粒 DNA, 5 μ L 10 \times FD Green Buffer, 酶(10 U \cdot μ L $^{-1}$) 各 2 μ L, 31 μ L ddH $_2$ O。随后回收,并将 pMD19-T 质粒小片段酶切产物与 pXCS-HAS-trep 质粒酶切片段进行连接。连接体系为: 1 μ L 10 \times Buffer for T4 DNA ligase, 2 μ L pXCS-HAS-trep, 6 μ L 引物为 pXCS-F/R 和 BASTA-F/R(表1)。阳性克隆扩大培养并测序分析,序列与目的片段相符的菌株扩大培养并提取质粒。

1.5 *HbLFY* 转化拟南芥农杆菌准备 取 pXCS-HbLFY 质粒 1 μ L 分别置于 25 μ L 农杆菌 GV3101 感受态细胞中,用电击转化仪 BRL Life Technologies Cell-Porator 电击 2 次。转化条件为: 电容 330 μ F(低电阻快速充电模式),电压 330 V,电阻 2 000 Ω 。电击后立即加入预冷的 SOC 培养基 700 μ L, 28 $^{\circ}$ C, 200 r \cdot min $^{-1}$ 培养 4 h 后,取 100 μ L 涂布在含有 4 种抗生素的 LB 平板(50 mg \cdot L $^{-1}$ Amp, 40 mg \cdot L $^{-1}$ Rif, 50 mg \cdot L $^{-1}$ Kana, 20 mg \cdot L $^{-1}$ Gent) 上, 72 h 后挑取单菌落振荡培养,并对菌液进行 PCR 检测。阳性菌落扩大培养,以备后续侵染用。

1.6 *HbLFY* 转化拟南芥及开花时间观测

1.6.1 转化植株的获得 采用喷雾法分别转化野生型和突变体拟南芥,转化过程参考翟琪麟^[16]等人的侵染方法。待收获到 T $_1$ 种子后,用自来水浸泡,4 $^{\circ}$ C 春化 2 d 后,种植于装有蛭石的培养皿中,并用保鲜膜覆盖。待长出 2 片真叶时,用 10 mg \cdot L $^{-1}$ 的 BASTA 溶液进行喷雾筛选,每隔 2 d 喷 1 次,连续 3 次后,移

栽抗 BASTA 的转化植株。

1.6.2 表型观测 将 BASTA 筛选获得的抗性植株与同一时期播种的野生型拟南芥和突变体一起移栽, 同等条件下培养(温度 23 ± 1 °C, 3 800 Lx 照射 16 h, 暗处理 8 h, 湿度保持在 65% ~ 75% 之间)。待第 1 株开花后, 统计转基因、野生型植株以及突变体的开花时间, 并进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 橡胶树 *LFY* 基因克隆 参考蓖麻 *LFY* 基因的克隆方法, 共成功设计 3 对特异扩增引物, 同时, 通过 PCR 特异扩增获得了约 200 bp 基因序列。测序分析后与本实验室的橡胶树转录组和全基因组序列(未公布)进行比对分析, 获得 2 条高度同源的表达序列, 长度分别为 1 188 bp 和 1 605 bp。经序列分析, 这 2 条序列具有完整的 ORF。同时, 在 NCBI 数据库进行比对分析, 发现这 2 条序列与已报道的 *LFY* 基因同源性较好(表 2), 因此, 获得的 2 个序列为橡胶树 *LFY* 基因, 分别命名为 *HbLFY1* 和 *HbLFY2*。

表 2 橡胶树 *LFY* 基因与不同物种 *LFY* 基因相似度比对结果

Tab. 2 The identity of different species *LFY* gene

序号	物种	相似度		序号	物种	相似度	
		<i>HbLFY1</i>	<i>HbLFY2</i>			<i>HbLFY1</i>	<i>HbLFY2</i>
1	蓖麻(<i>Ricinus communis</i>)	86.43%	62.15%	7	钝齿水青冈(<i>Fagus crenata</i>)	79.03%	47.61%
2	胡桃(<i>Juglans regia</i>)	76.17%	54.86%	8	杨树(<i>Populus trichocarpa</i>)	80.03%	57.84%
3	山核桃(<i>Carya cathayensis</i>)	76.34%	54.79%	9	野茶树(<i>Camellia sinensis</i>) <i>LFL</i>	76.15%	56.19%
4	荔枝(<i>Litchi chinensis</i>)	78.83%	57.99%	10	野茶树(<i>Camellia sinensis</i>) <i>LFL2</i>	75.61%	56.32%
5	锥栗(<i>Castanea henryi</i>)	78.55%	56.23%	11	盐肤木(<i>Rhus chinensis</i>)	80.05%	58.46%
6	板栗(<i>Castanea mollissima</i>)	78.29%	56.10%	12	<i>HbLFY</i>	72.05%	52.01%

通过 MEGA6 软件对以上 *LFY* 基因构建进化树, 结果(图 1)表明 *HbLFY1*(编号 10), *HbLFY2*(编号 11) 与蓖麻(*Ricinus communis*) (编号 2) 亲缘最近, 而与已报道的橡胶树 *LFY*(编号 1) 不属于同一分支。

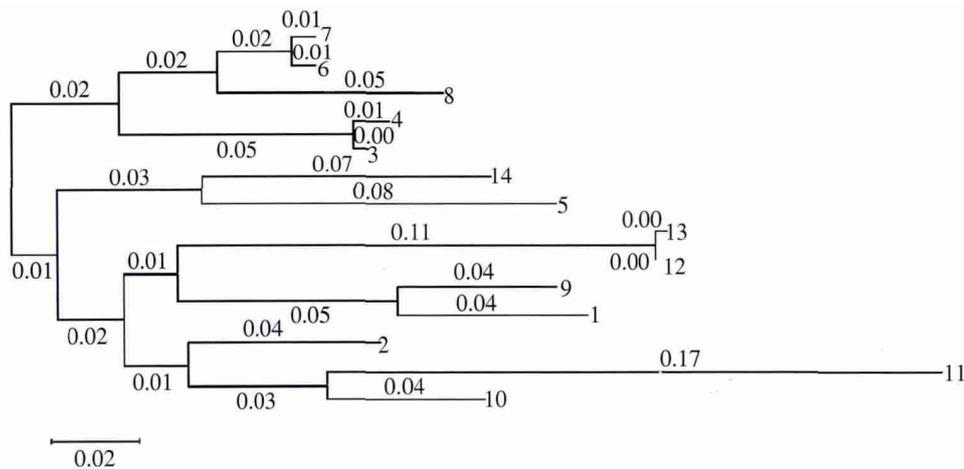


图 1 不同植物 *LFY* 全长序列的系统进化树

Fig. 1 Molecular phylogenetic tree based on *LFY* sequences

1: *HbLFY* (gi: AY639379. 1); 2: 蓖麻(*Ricinus communis*) (NCBI: XM_002511037. 1); 3: 胡桃(*Juglans regia*) (gi: GU194836. 4); 4: 山核桃(*Carya cathayensis*) (gi: DQ989225. 1); 5: 荔枝(*Litchi chinensis*) (gi: KF008435. 1); 6: 锥栗(*Castanea henryi*) (gi: JQ825167. 1); 7: 板栗(*Castanea mollissima*) (gi: DQ270548. 1); 8: 钝齿水青冈(*Fagus crenata*) (gi: AB674454. 1); 9: 杨树(*Populus trichocarpa*) (NCBI: XM_002322271. 2); 10: *HbLFY1*; 11: *HbLFY2*; 12: 野茶树(*Camellia sinensis*) *LFL1* (gi: KM518621. 1); 13: 野茶树(*Camellia sinensis*) *LFL2* (gi: KM518622. 1); 14: 盐肤木(*Rhus chinensis*) (gi: KF214681. 1)

2.2 橡胶树 *LFY* 转基因表达载体构建 将从转录组获得的 *HbLFY1* 和 *HbLFY2* 序列分别设计带有酶切位点的引物, 并进行特异扩增, 获得了预期大小片段(图2 A, B), 回收、克隆、测序发现与转录组获得的基因序列一致。然后提取测序结果正确的单克隆质粒, 并与植物表达载体 pXCS-HAStrep 分别酶切连接, 电击转化农杆菌, 最后, 用引物 pXCS 和 BASTA 进行 PCR 检测双阳性检测(图2 C, D), 发现扩增片段与预期相符, 说明 *HbLFY1* 和 *HbLFY2* 转化拟南芥表达载体构建成功。

2.3 橡胶树 *LFY* 转化拟南芥和开花时间观测 橡胶树 *HbLFY1* 和 *HbLFY2* 两个基因分别转化拟南芥野生型和 *LFY* 基因突变体, 结果分别获得 T1 代转化 *HbLFY1* 野生型拟南芥 30 株和转 *HbLFY2* 野生型拟南芥 58 株; 转 *HbLFY1* 基因突变体拟南芥 11 株和转 *HbLFY2* 基因突变体拟南芥 9 株。对 T1 代转化植株开花时间统计分析发现, 转化 *HbLFY1* 野生型拟南芥植株, 平均 (27.63 ± 3.84) d 开花, 转 *HbLFY2* 基因的植株 (27.78 ± 6.26) d 开花, 均与野生型开花时间相似 (26.67 ± 4.81) d; 转 *HbLFY2* 基因的突变体植株 (27 ± 2.62) d 开花, 与 *LFY* 拟南芥突变体开花时间相似 (27.77 ± 3.7) d, 但是转 *HbLFY1* 基因的突变体植株开花时间较突变体开花时间有大幅延迟, 播种 37 d 后开花。方差分析结果显示转 *HbLFY1* 和 *HbLFY2* 基因的拟南芥与 WT 比较差异不显著; 转 *HbLFY2* 基因的突变体拟南芥与突变体比较差异不显著, 而转 *HbLFY1* 基因的突变体拟南芥与突变体比较差异显著。推测其可能不具有提早开花的功能。

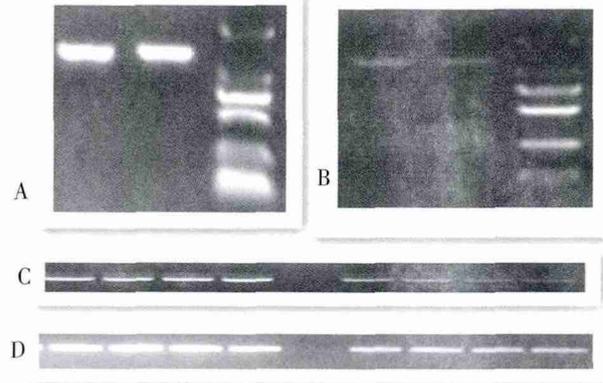


图2 巴西橡胶树 *LFY* 基因转化载体构建
A:*HbLFY1* 基因扩增结果;B:*HbLFY2* 基因扩增结果;
C:*HbLFY* 检测;D:载体上 BASTA 基因检测

Fig.2 Construction of Transformation Vectors
Amplification of *HbLFY* ORF sequences
A:*HbLFY1*;B:*HbLFY2*;C:Detection of *HbLFY* ORF sequences;D:Identification of expression vector sequences

3 讨论

3.1 基因克隆 笔者曾参考 Dornelas 等^[15] 公布的 *HbLFY* 基因序列设计特异 PCR 扩增引物, 进行 PCR 特异扩增, 但是并未成功实现 *HbLFY* 基因的克隆。后参考蓖麻(NCBI: XM_002511037.1) 序列设计 3 对引物, 扩增出 *LFY* 基因的 1 个片段, 并与橡胶树转录组比对获得 2 个 *HbLFY* 的 ORF, 命名为 *HbLFY1* 和 *HbLFY2*, 同时, 在 NCBI 数据库进行比对分析, 发现这 2 条序列与已报道其他物种 *LFY* 基因同源性较好, 其中与蓖麻的同源性最高, 分别为 86.43% 和 62.15%, 而与 Dornelas 等公布序列^[15] 的同源性分别为 72.05% 和 52.01%, 同时, 被划分到 2 个不同的进化树的分支(图1)。因此, 笔者推测本研究克隆到的 2 个橡胶树 *LFY* 基因与 Dornelas 等公布的基因不同。

3.2 功能分析 成花转变是有花植物由营养生长向生殖生长转变的必经环节。目前对于高等植物成花机理的研究主要集中在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) 和水稻(*Oryza sativa*) 等少数几个模式物种上, 对林木和花卉成花机理的研究基础还很薄弱。*LFY* 基因是控制拟南芥由营养生长向生殖生长转变的关键基因^[17]。利用 *LFY* 及其同源基因缩短木本植物的幼龄期或者改良花卉的花期不乏成功的案例。例如, 将 *LFY* 转入柑橘(*Citrus reticulata*) 中, 转基因植物当年就开花^[13]; 过表达 *CFL* (*LFY* 在黄瓜(*Cucumis sativus*) 中的同源基因) 使大岩桐^[14] (*Sinningia speciosa*) 的花期提前。因此, 从植物中分离 *LFY* 的同源基因, 对其功能进行研究, 并将其应用于林木和花卉的分子育种中已经成为可能。

鉴于 *LFY* 及其同源基因在植物成花中的重要作用, 研究该基因及其同源基因的功能对于改良林木和花卉的开花期具有实际意义, 然而, 并不是所有植物的 *LFY* 基因都能决定成花转变。例如, *LFY* 在烟草(*Nicotiana tabacum*)、玉米(*Zea mays*)、葡萄(*Vitis vinifera*)、红叶藜(*Chenopodium rubrum*)、红粉雪轮花(*Silene coeli-rosa*) 中的同源基因分别为 *NFL1*, *ZFL*, *VFL*, *CrFL*, *ScLFY*, 过表达这些基因并不能成功互补拟南芥 *LFY* 突变体^[18-22]。本实验也发现相似的现象, *HbLFY1* 和 *HbLFY2* 在拟南芥中过表达并不能促进野

生型拟南芥开花和恢复突变体拟南芥开花时间,这与已报道的 *HbLFY*^[15] 具有调控开花功能相矛盾。*Mai-ze1* 等^[23] 认为 *LFY/FLO* 基因家族在长期进化过程中,其氨基酸序列,尤其是一些重要的氨基的位点变异可能会导致其功能上发生变化。另外,笔者克隆并将橡胶树 *AP1* 基因转化拟南芥发现, *AP1* 中 2 个成员能够有效促进橡胶树提早开花和有效恢复拟南芥 *AP1* 突变体的表型,因此,笔者克隆 *HbLFY1* 和 *HbLFY2* 对橡胶树开花调控可能不起主要作用或不能单独起作用。

参考文献:

- [1] 李元元,王鲁,苏振刚,等. *MADS-box* 基因控制植物成花的分子机理[J]. 基因组学与应用生物学, 2010(6): 1122-1132.
- [2] COEN E S, MEYEROWITZ E M. The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development[J]. Nature, 1991, 353(6339): 31-37.
- [3] KECK E, MCSTEEN P, CARPENTER R, et al. Separation of genetic functions controlling organ identity in flowers[J]. EMBO J, 2003, 22(5): 1058-1066.
- [4] COEN E S, ROMERO J M, DOYLE S, et al. *floricaula*: a homeotic gene required for flower development in *Antirrhinum majus* [J]. Cell, 1990, 63(6): 1311-1322.
- [5] WEIGEL D, ALVAREZ J, SMYTH D R, et al. *LEAFY* controls floral meristem identity in *Arabidopsis* [J]. Cell, 1992, 69(5): 843-859.
- [6] 刘月学,邹冬梅,李贺,等. 草莓 *LFY* 同源基因的克隆及其表达分析[J]. 园艺学报, 2012(05): 861-868.
- [7] 何富强. 核桃 *LFY* 同源基因的克隆和表达[D]. 保定: 河北农业大学, 2011.
- [8] 崔波,牛苏燕,蒋素华,等. 蝴蝶兰 *LFY* 基因克隆及高效植物表达载体的构建[J]. 生物技术通报, 2012(2): 65-68.
- [9] 卢海敏. 杏(*Prunus armeniaca* Lam.) *LFY* 基因的克隆及转化拟南芥的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2008.
- [10] 叶阳阳. 洋葱 *LFY* 同源基因的克隆与表达分析[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2013.
- [11] 高伟,陈晓,库丽霞,等. 玉米类 *LFY* 基因的克隆及其在不同光周期条件下的表达[J]. 作物学报, 2006, 32(8): 1256-1260.
- [12] 郜祥雄. 锥栗花序 cDNA-AFLP 体系建立与 *LFY* 基因的克隆[D]. 福州: 福建农林大学, 2012.
- [13] PENA L, MARTIN-TRILLO M, JUAREZ J, et al. Constitutive expression of *Arabidopsis LEAFY* or *APETALA1* genes in *Citrus* reduces their generation time[J]. Nat Biotechnol, 2001, 19(3): 263-267.
- [14] ZHANG M Z, YE D, WANG L L, et al. Overexpression of the cucumber *LEAFY* homolog CFL and hormone treatments alter flower development in *Gloxinia (Sinningia speciosa)* [J]. Plant Mol Biol, 2008, 67(4): 419-427.
- [15] DOMELAS M C, RODRIGUEZ A P. The rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) homologue of the *LEAFY* /*FLORICAULA* gene is preferentially expressed in both male and female floral meristems [J]. J Exp Bot, 2005, 56(417): 1965-1974.
- [16] 翟琪麟,安泽伟,李雅超,等. 一种植物双基因共表达载体的构建及应用[J]. 农业生物技术学报, 2013(05): 612-620.
- [17] WEIGEL D, NILSSON O. A developmental switch sufficient for flower initiation in diverse plants [J]. Nature, 1995, 377(6549): 495-500.
- [18] AHEARN K P, JONHSON H A, WEIGEL D, et al. *NFL1*, a *Nicotiana tabacum LEAFY*-like gene, controls meristem initiation and floral structure [J]. Plant Cell Physiol, 2001, 42(10): 1130-1139.
- [19] BOMBLIES K, WANG R L, Ambrose B A, et al. Duplicate *FLORICAULA/LEAFY* homologs *zfl1* and *zfl2* control inflorescence architecture and flower patterning in maize [J]. Development, 2003, 130(11): 2385-2395.
- [20] CARMONA M J, CUBAS P, MARTINEZ-ZAPATER J M. *VFL*, the grapevine *FLORICAULA/LEAFY* ortholog, is expressed in meristematic regions independently of their fate [J]. Plant Physiol, 2002, 130(1): 68-77.
- [21] ALLNUTT G V, ROGERS H J, FRANCIS D, et al. A *LEAFY*-like gene in the long-day plant, *Silene coeli-rosa* is dramatically up-regulated in evoked shoot apical meristems but does not complement the *Arabidopsis lfy* mutant [J]. J. Exp. Bot, 2007, 58(8): 2249-2259.
- [22] VEIT J, WAGNER E, ALBRECHTOVA J T. Isolation of a *FLORICAULA/LEAFY* putative orthologue from *Chenopodium rubrum* and its expression during photoperiodic flower induction [J]. Plant Physiol Biochem, 2004, 42(7/8): 573-578.
- [23] MAIZEL A, BUSH M A, TANAHASHI T, et al. The floral regulator *LEAFY* evolves by substitutions in the DNA binding domain [J]. Science, 2005, 308(5719): 260-263.

Cloning of the *LEAFY* Homologous Genes from *Hevea brasiliensis* and its Transformation into *Arabidopsis thaliana*

YING Jiazhi^{1,2}, BI Zhenghong^{1,2}, CHEN Tao^{1,2}, HUA Yuwei²

(1. College of Agriculture, Hainan University, Haikou 570228, China;

2. Rubber Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Danzhou 571737, China)

Abstract: Study on flowering mechanism is important for shortening the breeding cycle of rubber tree. Here, two *LFY* homologous genes, *HbLFY1* and *HbLFY2*, were cloned from *Hevea brasiliensis*, and then over-expressed in the Wild-type and *LFY* mutant *Arabidopsis thaliana*. Statistical results showed that the *HbLFY* genes did not significantly promote early flowering in *Arabidopsis*, indicating that *HbLFYs* are not the key genes regulating flowering time of rubber tree.

Key words: *HbLFY*; *Hevea brasiliensis*; flowering time; genetic transformation

欢迎订阅 2016 年《植物资源与环境学报》

全国中文核心期刊 中国科技核心期刊

中国科学引文数据库核心期刊 RCCSE 中国核心学术期刊(A)

季刊, 单价 20 元, 邮发代号: 28-213, 国内统一连续出版物号: CN 32-1339/S

《植物资源与环境学报》系江苏省·中国科学院植物研究所、江苏省植物学会等单位联合主办的学术刊物, 国内外公开发行人。本刊为全国中文核心期刊(北大)、中国科技核心期刊、中国科学引文数据库核心期刊(CSCD)和 RCCSE 中国核心学术期刊(A), 并为 BA、CA、CAB、Elsevier's、中国生物学文摘、中国环境科学文摘、中国科学引文数据库、万方数据——数字化期刊群、中国学术期刊(光盘版)和中文科技期刊数据库等国内外著名刊库收录。2013 年荣获“江苏省首届新闻出版政府奖——期刊奖”; 2014 年荣获“江苏省精品科技期刊”称号; 2015 年荣获“第六届江苏省科技期刊金马奖——精品期刊奖”。

本刊围绕植物资源与环境两个中心命题, 报道我国植物资源的考察、开发利用和植物物种多样性保护, 自然保护区与植物园的建设和管理, 植物在保护和美化环境中的作用, 环境对植物的影响以及与植物资源和植物环境有关学科领域的原始研究论文、研究简报和综述等。凡从事植物学、生态学、自然地理学以及农、林、园艺、医药、食品、轻化工和环境保护等领域的科研、教学、技术人员及决策者均可以从本刊获得相关学科领域的研究进展和信息。

本刊为季刊, 大 16 开本, 每期 120 页。全国各地邮局均可订阅, 每期定价 20 元, 全年 80 元。若错过征订时间或需补齐 1992 年至 2015 年各期者, 请直接与编辑部联系邮购。1992 年至 1993 年每年 8 元; 1994 年至 2000 年每年 16 元; 2001 年至 2005 年每年 24 元; 2006 年至 2008 年每年 40 元; 2009 年至 2011 年每年 60 元; 2012 年至 2015 年每年 80 元(均含邮资, 如需挂号另付挂号费 3 元)。

编辑部地址: 南京中山门外江苏省中国科学院植物研究所内(邮编 210014); 电话: 025-84347016, 025-84347014; QQ: 2219161478; E-mail: zwzy@cnbg.net。本刊网上投稿系统已开通运行, 网址: <http://www.cnbg.net/Tg/Contribute/Login.aspx>, 欢迎使用并提出宝贵意见。

欢迎订阅! 欢迎投稿!