

小麦转录因子基因 *TaNF-YB2 ; 1* 表达特征及遗传转化对植株抵御干旱和盐分逆境能力的影响

陈 芳,智一鸣,肖 凯

(河北农业大学 农学院,河北 保定 071001)

摘要: NF-YB 型转录因子在介导植物抵御非生物逆境中发挥着重要作用。为揭示小麦该家族成员 *TaNF-YB2 ; 1* 在干旱和盐分逆境下的表达特征及超表达 *TaNF-YB2 ; 1* 对植株抵御上述逆境能力的影响。利用半定量 RT-PCR 技术,研究 *TaNF-YB2 ; 1* 的表达特征,采用农杆菌介导的遗传转化技术,建立了超表达 *TaNF-YB2 ; 1* 的转基因烟草植株。结果表明,*TaNF-YB2 ; 1* cDNA 全长序列为 958 bp,编码 163 个氨基酸残基。在 24 h PEG 模拟干旱和盐分处理条件下,*TaNF-YB2 ; 1* 的转录本数量明显上调。正常培养下,与野生型植株相比,转基因植株的生长和干物质积累量未发生改变;但在干旱和盐分处理下,转基因株系植株的生长较野生型植株明显改善,表现为植株个体体积增大,单株干物质积累量增多。因此,*TaNF-YB2 ; 1* 的表达受到干旱和盐分逆境的明显诱导,通过对干旱和盐分逆境应答,该基因在介导植株抵御上述环境逆境中发挥着重要功能。

关键词: 小麦;转录因子基因 *TaNF-YB2 ; 1*;表达;旱盐胁迫;抵御

中图分类号: S512.03;Q78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7091(2015)02-0001-05

doi: 10.7668/hbnxb.2015.02.001

Expression Patterns of Wheat Transcription Factor Gene *TaNF-YB2 ; 1* and Its Genetic Effects on Plant Tolerance to Stresses of Drought and Salt

CHEN Fang,ZHI Yi-ming,XIAO Kai

(College of Agronomy,Agricultural University of Hebei,Baoding 071001,China)

Abstract: NF-YB type transcription factor family plays critical roles in mediating plant tolerance to diverse abiotic stresses. The purpose of this study was to understand the expression patterns of *TaNF-YB2 ; 1*, a NF-YB transcription factor gene in wheat, and determine the function of this gene in regulating plant tolerance to aforementioned stresses. The expression patterns of *TaNF-YB2 ; 1* were determined based on semiquantitative RT-PCR and transgenic tobacco plants overexpressing *TaNF-YB2 ; 1* were generated by adopting the *Agrobacterium*-mediated genetic transformation approach. The results indicated that *TaNF-YB2 ; 1* had a cDNA full length of 958 bp, encoded a 163 amino acid-polypeptide. Under the conditions of drought and salt stress, the transcripts of *TaNF-YB2 ; 1* were drastically upregulated in comparison those under the condition of normal growth, suggested that it responds to above stressors. Under normal growth, the growth features and dry mass of the plants overexpressing *TaNF-YB2 ; 1* were similar to wild type. However, the plants overexpressing *TaNF-YB2 ; 1* exhibited significantly improved growth features and dry mass compared with the wild type plants under treatments of drought and salt. Therefore, the expression of *TaNF-YB2 ; 1* was dramatically induced by stresses of drought and high salinity. *TaNF-YB2 ; 1* acts as a critical regulator in mediating plant tolerance to drought and salt through its response to above stressors.

Key words: Wheat; Transcription factor gene *TaNF-YB2 ; 1*; Expression; Drought and Salt stress; Tolerance

核因子 Y (Nuclear factor Y, NF-Y) 转录因子也被称为血红素结合蛋白 (Heme-associated proteins, HAPs) 或 CCAAT 盒结合因子 (CCAAT box binding factors, CBFs)^[1]。该家族成员转录因子与组蛋白类

收稿日期:2014-12-10

基金项目:国家自然科学基金项目(31371618);河北省作物生长调控实验室项目

作者简介:陈 芳(1989-),女,河北石家庄人,在读硕士,主要从事作物高产优质分子生物学研究。

通讯作者:肖 凯(1963-),男,河北抚宁人,教授,博士,主要从事作物生理与抗逆分子生物学研究。

似亚基相似,呈典型的序列特异性特征,以 NF-YA、NF-YB 和 NF-YC 各一条多肽链组成异源三聚体的形式存在。研究表明,在植物种属中,上述多肽链编码基因以家族形式存在,各家族均具有约 10 个成员。因此,较多的 NF-YA、NF-YB 和 NF-YC 数目组合成众多三聚体形式的 NF-Y 转录因子,在调控植物生长、发育和抵御环境逆境中发挥着重要生物学功能^[1-6]。

研究表明,NF-Y 及其部分组成亚基在应答干旱等环境逆境中发挥着重要功能。其中,NF-YB 亚基通过对干旱逆境产生应答,参与了植株对该逆境的抵御过程。超表达拟南芥 *NF-YB1* 的转基因植株,干旱胁迫条件下的植株长势增强,复水后植株的存活率较野生型植株显著增加^[7]。与此类似,在玉米中超表达与拟南芥 *NF-YB1* 序列同源的 *ZmNF-YB2* 基因,与野生型对照植株相比,大田生长条件下的玉米抗旱能力得到明显改善,干旱处理下的玉米产量也显著增加^[7]。表明部分植物种属 NF-Y 亚基通过对 NF-Y 转录因子数量和功能的调控,对植株抵御干旱逆境的能力产生明显调控效应。对植物种属 NF-YA 亚基编码基因的研究也表明,该类别基因家族成员在植株抵御环境逆境的调控中也发挥着较大作用。如拟南芥 *NF-YA5* 的表达受到干旱、盐分等渗透胁迫逆境的明显诱导,通过调控气孔开度,增强植株对干旱等逆境及诱发氧化逆境的抵御能力^[2]。水稻 NF-YA 家族成员 *OsHAP2E* 的表达受到高盐逆境诱导,通过脱落酸 (ABA) 依赖途径参与植株对盐分逆境的响应^[8]。

迄今,有关小麦 (*Triticum aestivum* L.) NF-Y 家族转录因子及其亚基编码基因的表达、分子特征分析和生物学功能研究尚少见报道。笔者在前期构建的富集干旱诱导基因的根系 cDNA 差减文库中,通过对部分克隆测序,获得了 1 个与短柄草 *NF-YB2-like* 具有较高同源性的表达序列标签 (EST)。由于有关该小麦 EST 对应基因尚未开展研究,本研究对该 EST 的应答干旱和盐分逆境特征、cDNA 序列、编码蛋白特征以及遗传转化对植株抵御干旱和盐分胁迫逆境的能力进行了较系统研究,旨在进一步阐明小麦抵御干旱和盐分逆境的分子机制提供依据。

1 材料和方法

以小麦品种石新 828 根系为材料,构建富集干旱诱导基因的 cDNA 差减抑制杂交文库。对文库中部分克隆的测序及序列比对后,发现 1 个克隆与已报道的短柄草 *NF-YB2-like* (*Brachypodium distachyon*, 登录号 XM_003564502) 高度同源。文献检索发现,有关该小麦

基因的分子特征和生物学功能尚未报道,本研究将其命名为 *TaNF-YB2;1*。用该 EST 进行 GenBank 同源查找,获得与该 EST 序列对应的 cDNA 序列。

参照 Sun 等^[9]的方法,采用溶液 (MS 营养液) 培养法在生长室内培养小麦幼苗。三叶期时,将部分幼苗分别转移至含有 10% 聚乙二醇 (PEG) 6000 和 150 mmol/L NaCl 的 MS 营养液中进行干旱和盐分处理。在处理 6, 24 h, 收获根系样本,以处理前 (0 h) 根系作对照。采用 TRIzol 试剂盒提取样本总 RNA,然后用 M-MLV 反转录酶进行反转录,获得反转录产物 cDNA。采用半定量 RT-PCR 鉴定 *TaNF-YB2;1* 在干旱和盐分处理下的表达特征,用于表达分析的特异引物为 5'-GGGATGCCCGACGACGACAGC-3' (正向) 和 5'-ATACCCATTGCCGAAAATTGCC-3' (反向)。采用组成型表达基因 *tubulin* 对目标基因的表达进行均一化,引物为 5'-GTTTGAGACCTTCAACACCCC-3' (正向) 和 5'-GTGGCC ATCTCTTGCTCGAAGTC-3' (反向)。半定量 RT-PCR 中采用的程序参照 Guo 等^[10]的方法进行。

以 *TaNFYB2;1* 的 cDNA 克隆质粒为模板,扩增该基因的编码阅读框,采用的引物为 5'-TTTCCATGCCGACGACGACAGC-3' (正向) 和 5'-TTTGTTACCCATTGCCGAAAATTG-3' (反向),扩增产物用 *Nco* I 和 *Bst* E II 双酶切后,融合至双元表达载体 pCambia3301,构建正义表达 *TaNF-YB2;1* 的表达质粒。采用农杆菌介导叶盘遗传转化法转化烟草 (cv. Wisconsin 38), 获得超表达 *TaNF-YB2;1* 的转基因烟草植株。具体遗传转化及转基因植株再生过程均参照 Sun 等^[9]的方法进行。

将遗传转化 *TaNF-YB2;1* 获得的 T₁ 株系植株繁殖至 T₃, 选用典型转基因烟草系和野生型烟草种子为材料,进行种子萌发,将发芽一致种子摆放至用 MS 营养液湿润的滤纸上正常培养 10 d。然后,除对部分材料进行继续正常培养外,另将长势均匀一致的转基因系幼苗和野生型幼苗分别转入干旱和盐分胁迫条件下处理 10 d。其中,在含有 10% 聚乙二醇 6000 的 MS 营养液湿润的滤纸上进行干旱处理,在含有 150 mmol/L NaCl 的 MS 营养液湿润的滤纸上进行盐分处理。处理后,对正常培养和上述处理植株进行表型观察,进一步通过烘干法测定植株干质量。

采用统计学分析软件 SAS,对源于 3 次重复取得的不同处理野生型和转基因植株单株干质量进行标准差和显著性等统计学分析。

2 结果与分析

在富集干旱胁迫 (24 h 10% PEG 处理) 的小麦

根系 cDNA 差减文库中,经过对部分克隆测序,获得了 1 个经序列比对与短柄草 *NF-YB2-like* 高度同源的 EST,该 EST 的序列见图 1,与短柄草 *NF-YB2-like* 的序列相似性为 80.7%,两者比对结果见图 2。进一步用该 EST 进行 GenBank 同源查找,获得了与该 EST 对应的全长 cDNA 序列。表明该小麦 EST 对应基因可能执行特定的 NF-YB2 家族成员的保守功能。

文献检索发现,有关该小麦基因的分子特征和功能研究尚未报道,本试验将其命名为 *TaNF-YB2;1*。

TaNF-YB2;1 的全长 cDNA 序列及其编码氨基酸序列如图 3 所示。分析发现,该基因的 cDNA 全长为 958 bp,编码长度为 163 个氨基酸的多肽链。预测分析表明,该基因编码蛋白的分子量为 17.74 kDa,等电点 (pI) 为 6.13。此外,该基因编码蛋白含

GTACCATAATGGGGACACCTGAACTGAAGATCAGGCAATT
TTCGGCAATGGGTATTGCTCCATGAGTGGTTATCTATCTGT
TAAGGAAGCCGCCCAACATTAGGTTTCATGATGATCATTGG
CTGGAACTAAAGCACCTGGAAGGGTGCTTAACAGTTGGTT
GTGATGGCTGCCTCCAAGATGTAAATTGCTTCCGAGAGAAAT
AGATTACCTATTATGGTTTAGTGCTTGTGTTTTATCTGTAC

图 1 *TaNF-YB2;1* 的表达序列标签序列

Fig. 1 Sequence of the expressed sequence tag (EST) of *TaNF-YB2;1*

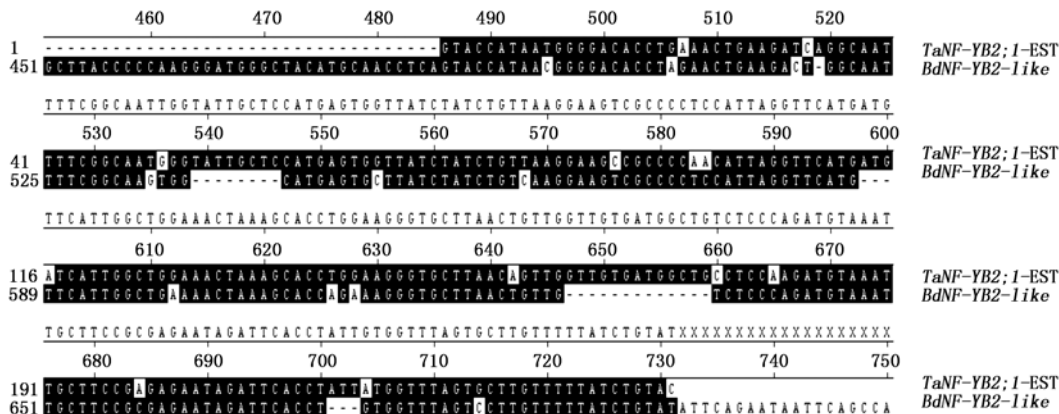


图 2 *TaNF-YB2;1* 的 EST 与短柄草 *NF-YB2-like* 的序列比对结果

Fig. 2 Alignment analysis of the EST sequence of *TaNF-YB2;1* with *Brachypodium distachyon NF-YB2-like*

1 GCACGAGGCATTCCCAACCCCTCCTCGAGCGCCAAACACCGTCTCCTCCTCCCGCT
59 CCCTTCTCTCCCTCCGCTCCTCCCGCCGCGCGCGCTTTTTTATAAGGGTTTCGGGG
119 CGCGGGATGGCGACGACGACGCGGGAGCCCGGGGCGCGGGGTCAGGGAGCAG
M A D D D S G S P R G G G G U R E Q
179 GACCGCTTCTCCCATCGCAACATCAGCGCATCATGAAGAAGCCGTCGCCGCCAAC
D R F L P I A N I S R I M K K A U P A N
239 GGCAAGATCGCCAGGACGCCAAGGAGCCCTCCAGGAGTGCCTCAGATTCTCTCC
G K I A K D A K E T L Q E C U S E F I S
299 TTCGTACCGAGGCGGCGGACGACGAGTCCGAGGAGGAGCGGAGGACCATCAAGGG
F U T S E A S D K C Q K E K R K T I N G
359 GACGATCTGCTCTGGGCCATGGCCACGCTCGGATTCGAGGAGTACGTAGACCCCTCAAG
D D L L W A M A T L G F E E Y U D P L K
419 ATCTACCTGCAAAAGTACAGATATGAGGGTGATAGTAATGACCTCAAAATCTGCT
I Y L Q K Y R D M E G D S K L T S K S G
479 GAAGGATCCGTGAAGAAAGATATAATTGGTGCTCATAGTGGTGGACTAGCTCAAGCGC
E G S U K K D I I G A H S G A T S S N A
539 CAAGCGATGGTTTCAGCATGGAGCTTACGCCAAGGGATGGGTTATGCAACCCAGTAC
Q A M U Q H G A Y A Q G M G Y M Q P Q Y
599 CATATGGGACACCTGAAGATGAAGATCAGGCAATTTTCGGCAATGGGTATTGCTCCAT
H N G D T
659 GAGTGGTTATCTATCTGTTAAGGAAGCCGCCCAACATTAGGTTTCATGATGATTCGGC
TGGAAGCTAAGCACCTGGAAGGGTGCTTAACAGTTGGTTGTGATGGCTGCCCTCAAGAT
719 GTAAATGCTTCCGAGAGATAGATTACCTATTATGCTTTAGTGCTTGTGTTTTATCTGT
779 ACATTGAGAAATATTCAGCCGTTGGTAGTTTGGCAATCTTTGTTTCAGATATTTGATT
839 AGGAAGCATAAATATATTACAACTGGGTATTAACTTATAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
899

下划线表示 *TaNF-YB2;1* 中的保守 α 基序所在位置。

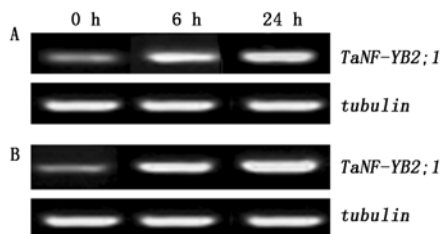
Positions of underlined amino acids stand for the conserved α motifs.

图 3 *TaNF-YB2;1* 的 cDNA 序列和编码氨基酸序列

Fig. 3 cDNA sequence and the translated polypeptide sequence of *TaNF-YB2;1*

有植物种属 NF-YB2 家族成员具有的 4 个保守 α 螺旋基序,分别为 $\alpha 1$ (DRFLPIANISR)、 $\alpha 2$ (KETLQECVSEFIS)、 $\alpha 3$ (DDLWAMATLG) 和 αC (PLKIYL)。表明该小麦基因编码蛋白在植株体内可能执行着该家族其他成员类似的生物学功能。

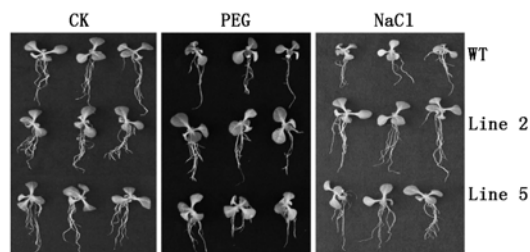
采用半定量 RT-PCR 技术,研究了 *TaNF-YB2 ; 1* 在正常生长及干旱和盐分处理下的表达特征。结果表明,在正常生长条件下,该基因呈低水平表达;当转入干旱和盐分处理后,该基因在根系中的表达明显上调,在 24 h 处理期间,均表现为随着处理进程表达水平呈现不断增高趋势(图 4)。上述结果表明,*TaNF-YB2 ; 1* 对于干旱和盐分逆境呈明显应答特征,在介导植株抵御上述逆境的过程中可能发挥着重要生物学功能。



A. PEG 处理;B. NaCl 处理。
A. PEG treatment;B. NaCl treatment.

图 4 根系中 *TaNF-YB2 ; 1* 在干旱和盐分处理下的表达特征
Fig. 4 The expression patterns of *TaNF-YB2 ; 1* in roots under treatments of drought and salt

采用农杆菌介导遗传转化技术,建立了超表达 *TaNF-YB2 ; 1* 的转基因植株。以 T_3 的 2 个转基因系 Line 2 和 Line 5 及野生型(WT)植株为材料,研究了上述株系和 WT 植株在正常生长及干旱、盐分胁迫条件下的植株生长特征和干物质积累量。结果表明,在正常生长条件下,与野生型(WT)植株相比,转基因系 Line 2 和 Line 5 的植株形态没有改变(图 5,

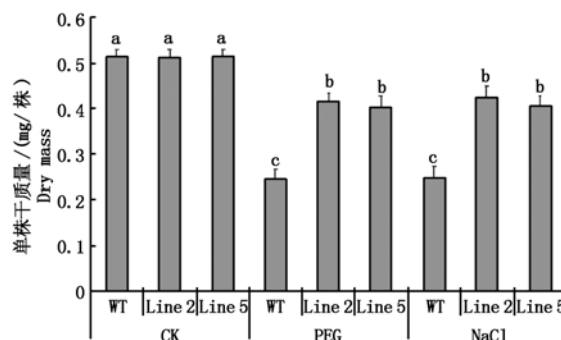


CK. 正常生长对照;PEG. 干旱处理;NaCl. 盐分处理;
WT. 野生型;Line 2 和 Line 5. 转基因系。图 6 同。
CK. Normal growth control;PEG. Drought treatment;
NaCl. Salt treatment;WT. Wild type;Line 2 and Line 5.
Transgenic lines overexpressing *TaNF-YB2 ; 1*. The same as Fig. 6.

图 5 野生型和遗传转化 *TaNF-YB2 ; 1* 植株在正常生长和干旱及盐分处理后的植株表型

Fig. 5 The plant phenotypes of wild type and transgenic plants overexpressing *TaNF-YB2 ; 1* under normal growth and treatments of drought and salt

6),表明遗传转化 *TaNF-YB2 ; 1* 对植株的生长没有影响。但在干旱和盐分处理条件下,与 WT 相比,遗传转化 *TaNF-YB2 ; 1* 株系的植株长势得到明显改善,表现为处理后植株形态明显增大(图 5),植株干物质积累量显著增加(图 6)。上述结果表明,遗传转化 *TaNF-YB2 ; 1* 具有明显改善植株抵御干旱和盐分胁迫逆境的能力。



不同小写字母表示达到 0.05 显著性差异水平。

The lowercases letters mean significant difference at the 0.05 level.

图 6 野生型和遗传转化 *TaNF-YB2 ; 1* 植株在正常生长和干旱及盐分处理后的植株干物质积累量
Fig. 6 Dry mass of wild type and transgenic plants overexpressing *TaNF-YB2 ; 1* under normal growth and treatments of drought and salt

3 讨论

NF-Y 型转录因子是由 NF-YA、NF-YB 和 NF-YC 亚基组成的异源三聚体,各亚基编码基因在植物种属中均以多个成员组成的家族形式存在^[1]。研究表明,各亚基编码基因在表达上呈多种特征,如表现为器官和组织特异性以及对环境逆境特定响应等^[1-2]。本研究对小麦编码 NF-YB 亚基 1 个家族成员 *TaNF-YB2 ; 1* 的分子特征研究表明,与植物种属 NF-YA 家族部分成员如拟南芥 *NF-YA5* 和 *Os-HAP2E* 相似^[2,8],该基因的表达对干旱和盐分等渗透胁迫逆境产生明显应答,表现为当植株遭遇上述非生物逆境时,根系中该基因的表达水平明显上调。对 *TaNF-YB2 ; 1* 编码蛋白分析发现,与植物种属 NF-YB 蛋白类似,该小麦蛋白含有保守 α 螺旋基序 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 和 αC 。上述表达及蛋白保守域特征表明,该小麦基因在介导植株应答或抵御干旱和盐分等渗透胁迫逆境中可能发挥着重要生物学功能。

基因遗传转化的研究结果证实,部分植物种属 NF-Y 亚基基因在调控植株的生长、发育和抵御环境逆境中发挥重要作用^[2-8]。例如,超表达拟南芥 *AtNF-YB6* 和 *AtNF-YB9* 的转基因植株,种子胚的发育与野生型植株相比发生明显改变,种子内部的蛋白质、脂肪、淀粉的组成和数量也产生较大变化^[11-14];

部分亚基编码基因如拟南芥 *AtNF-YB2* 和 *AtNF-YB3* 与长日照诱导的植物开花有关^[15-16]。此外,研究证实,组成 NF-Y 转录因子部分亚基编码基因在介导植株抵御环境逆境中也具有重要调控效应,如增强拟南芥 *NF-YB1* 和玉米 *ZmNF-YB2* 的表达后,植株抵御干旱逆境胁迫的能力得到明显改善^[7]。本研究发现,与野生型植株相比,超表达 *TaNF-YB2*; 1 的转基因烟草植株,经过 PEG 模拟干旱和盐分处理后,植株的长势显著增强,单株干物质积累量也明显提高。这表明, *TaNF-YB2*; 1 参与了植株对干旱和盐分等渗透胁迫逆境的抵御过程,且该基因在单、双子叶植物中介导植株抵御上述逆境的信号通路、代谢途径及功能可能呈高度保守特征。

异源超表达特定靶基因,在正向调控某一性状的同时,有时会引发某些不利的负向效应。如在拟南芥中超表达番茄的热诱导转录因子基因 *SlHsfA3*,在增强植株耐高温能力的同时,会引发植株开花推迟及盐分逆境下籽粒萌发能力下降等对植株生育不利的负向影响^[17-18]。本研究发现,正常生长条件下,与野生型植株相比,转基因植株的植株形态和生长特征均未发生明显变化。因此,异源表达 *TaNF-YB2*; 1 不仅能显著增强植株抵御干旱和盐分等渗透胁迫的功能,且在正常生长条件下不表现植株生育性状改变等不良负效应。因此,该基因在小麦基因型和种质抗旱耐盐评价及新型抗逆小麦等作物种质创制中可能具有重要价值。有关该小麦 NF-Y 转录因子亚基调控的下游基因及增强植株抵御渗透胁迫逆境的生理生化和分子机理有待进一步探讨。

参考文献:

- [1] Petroni K, Kumimoto R W, Gnesutta N, et al. The promiscuous life of plant NUCLEAR FACTOR Y transcription factors[J]. The Plant Cell, 2012, 24(12): 4777-4792.
- [2] Li W X, Oono Y, Zhu J, et al. The arabidopsis NFYA5 transcription factor is regulated transcriptionally and post-transcriptionally to promote drought resistance[J]. The Plant Cell, 2008, 20(8): 2238-2251.
- [3] Ballif J, Endo S, Kotani M, et al. Over-expression of HAP3b enhances primary root elongation in Arabidopsis[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2011, 49: 579-583.
- [4] Braybrook S A, Harada J J. LECs go crazy in embryo development[J]. Trends in Plant Science, 2008, 13: 624-630.
- [5] Kumimoto R W, Adam L, Hymus G J, et al. The nuclear factor Y subunits NF-YB2 and NF-YB3 play additive roles in the promotion of flowering by inductive long-day photoperiods in Arabidopsis[J]. Planta, 2008, 228(5): 709-723.
- [6] Leyva-González M A, Ibarra-Laclette E, Cruz-Ramírez A, et al. Functional and transcriptome analysis reveals an acclimatization strategy for abiotic stress tolerance mediated by Arabidopsis NF-YA family members[J]. PLoS One, 2012, 7(10): e48138.
- [7] Nelson D E, Repetti P P, Adams T R, et al. Plant nuclear factor Y (NF-Y) B subunits confer drought tolerance and lead to improved corn yields on water-limited acres[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(42): 16450-16455.
- [8] Zhao B, Ge L, Liang R, et al. Members of miR-169 family are induced by high salinity and transiently inhibit the NF-YA transcription factor[J]. BMC Molecular Biology, 2009, 10: 29.
- [9] Sun Z H, Ding C H, Li X J, et al. Molecular characterization and expression analysis of TaZFP15, a C2H2-Type Zinc finger transcription factor gene in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Journal of Integrative Agriculture, 2012, 11(1): 31-42.
- [10] Guo C J, Zhao X L, Liu X M, et al. Function of wheat phosphate transporter gene *TaPHT2*; 1 in Pi translocation and plant growth regulation under replete and limited Pi supply conditions[J]. Planta, 2013, 237(4): 1163-1178.
- [11] Junker A, Mönke G, Rutten T, et al. Elongation-related functions of LEAFY COTYLEDON 1 during the development of *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Journal, 2012, 71: 427-442.
- [12] Mu J Y, Tan H L, Zheng Q, et al. LEAFY COTYLEDON 1 is a key regulator of fatty acid biosynthesis in Arabidopsis [J]. Plant Physiology, 2008, 148(2): 1042-1054.
- [13] Shen B, Allen W B, Zheng P, et al. Expression of ZmLEC1 and ZmWRI1 increases seed oil production in maize[J]. Plant Physiology, 2010, 15(3): 980-987.
- [14] Tan H, Yang X, Zhang F, et al. Enhanced seed oil production in canola by conditional expression of *Brassica napus* LEAFY COTYLEDON 1 and LEC1-LIKE in developing seeds[J]. Plant Physiology, 2011, 156: 1577-1588.
- [15] Cao S, Kumimoto R W, Siriwardana C L, et al. Identification and characterization of NF-Y transcription factor families in the monocot model plant *Brachypodium distachyon* [J]. PLoS One, 2011, 6: e21805.
- [16] Wenkel S, Turck F, Singer K, et al. CONSTANS and the CCAAT box binding complex share a functionally important domain and interact to regulate flowering of Arabidopsis [J]. Plant Cell, 2006, 18(11): 2971-2984.
- [17] Tamaki S, Matsuo S, Wong H L, et al. Hd3a protein is a mobile flowering signal in rice [J]. Science, 2007, 316: 1033-1036.
- [18] Li Z, Zhang L, Wang A, et al. Ectopic overexpression of *SlHsfA3*, a heat stress transcription factor from tomato, confers increased thermotolerance and salt hypersensitivity in germination in transgenic Arabidopsis [J]. PLoS One, 2013, 8(1): e54880.