

FT 유전자 형질전환 스프레이 국화 (*Dendranthema grandiflorum* (Ramat.) Kitamura)의 조기개화성

이수영 · 한봉희 · 허은주 · 신학기 · 이일하 · 이은경 · 김성태 · 김원희 · 권오현

FT-transgenic spray-type Chrysanthemum (*Dendranthema grandiflorum* Kitamura) showing early-flowering

Su Young Lee · Bong-Hee Han · Eun-Joo Hur · Hak-Kee Shin · Il Ha Lee · Eun Kyung Lee · Seung Tae Kim · Won Hee Kim · O Hyeon Kwon

Received: 6 September 2012 / Accepted: 14 September 2012

© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract The flowering locus T (FT) gene, of which expression will be controlled at high temperature by heat shock promoter (it printed as to *HSproFT*), was introduced into spray-type chrysanthemum (*Dendranthema grandiflorum* (Ramat.) Kitamura) 2 cultivars ('Pink PangPang' and 'Pink Pride' by co-cultivation with *Agrobacterium tumefaciens* strain C58C1 harboring pCAMBIA2300 containing the *HSproFT* gene. After leaf segments of the 2 cultivars were infected with the *A. tumefaciens* with C58C1 as explants, shoots were regenerated from the explants cultured on the 1st selection medium (MS basal salts + 1.0 mg/L BA, 0.5 mg/L IAA + 10 mg/L kanamycin + 0.7% plant agar, pH 5.8). The shoots were transferred into the 2nd selection medium (MS basal salts + 1.0 mg/L BA, 0.5 mg/L IAA + 20 mg/L kanamycin + 0.7% plant agar, pH 5.8). One hundred seventeen plantlets from 'Pink PangPang' and 5 ones from 'Pink Pride' were

confirmed as transformants by PCR analysis. Twenty six of the transformants and non-transformants were acclimatized and established well in a green house. Eight of 26 transgenic lines showed flower bud 1.7~10 days earlier than non-transgenic plants, and 24 of them flowered 1~6 days earlier than non-transgenic plants. The shape and color of flower of all *HSproFT*-transgenic lines were not different with those of non-transgenic plants.

Keywords *Agrobacterium*, leaf segment, kanamycin, PCR, selection

서론

조기개화성은 년중 재배횟수를 증가시키고 온실이용의 효율성을 높여 농가소득을 증대시킬 수 있는 특성으로 주요 절화류인 국화 신품종 육성을 위한 중요한 육종 목표의 하나이다. 교잡육종 기술을 이용하는 육종가들의 부단한 노력으로 최근 스프레이 국화의 경우 단일처리 후 개화까지의 소요기간이 종전보다 짧은 품종들이 개발되기도 했지만, 형질전환 기술이 품종 개발을 위한 육종 기술로 자리잡은 1990년대 후반부터 *leafy*, *API* 등 개화관련 유전자 및 지베렐린 합성 관련 유전자 *gai*의 도입을 통하여 조기개화성 국화 형질전환체를 얻고자 하는 노력들이 있었다(Han et al. 2003; Petty et al. 2003).

1999년 개화호르몬 플로리진의 주요 구성성분 단백질인 flowering locus T(FT) 조절 유전자 FT가 장일식물인 애기장대의 개화를 촉진한다고 보고(Kardailsky et al. 1999)

S. Y. Lee (✉) · E.-J. Hur · H.-K. Shin · E. K. Lee · S. T. Kim · W. H. Kim · O. H. Kwon
국립원예특작과학원 화훼과
(Floriculture Division, National Institute of Horticultural and Herbal Science, 30, Subong-ro, Gwonseon-gu, Suwon, 441-440, Korea)
e-mail: lsy0504@rda.go.kr

B.-H. Han
농업기술실용화재단 종자사업팀
(The Foundation of Agric. Tech. Commercialization and Transfer, Suwon 211-2, Korea)

I. H. Lee
서울대학교
(Biological Sciences, Seoul National University, Seoul 151-747, Korea)

된 이후에는 *FT* 유전자를 도입하여 조기개화성 형질전환체를 획득하고자 하는 연구로 이어지고 있다. 또한, *FT* 유사 기능 유전자 *PtFT1*, *CiFT*, *Hd3a*, *SFT* 등이 포플라, 감귤류, 벼, 토마토 등의 작물로부터 분리되기도 하였다 (Nakatsuka et al. 2009). 한편, *FT* 유전자가 토마토와 같이 일장에 무관하게 개화하는 작물이나 벼와 같이 단일조건에서 개화하는 작물의 개화도 촉진한다는 연구 보고도 있다 (Xu et al. 2012). Nakatsuka et al.(2009)은 애기장대 유래 *FT* 유전자를 화훼 용담에 도입하였을 때 용담의 영양생장기(juvenile stage)를 단축시킴으로써 조기개화성이 유도되었다고 보고한 바도 있다.

이에 본 연구는 고온기에 화아가 분화하고 고온단일조건에서 화아가 발달하는 자연조건에서 재배되었을 때 고온에서 발현이 유도되도록 한 *FT* 유전자가 도입되어 조기개화성을 보인 스프레이 국화 형질전환체에 대해 보고하고자 한다.

재료 및 방법

식물체 재료

이전의 연구(Han et al. 2009b)결과, 식물체 재분화율이 높은 국립원예특작과학원 육성 스프레이 타입 국화(*Dendranthema grandiflorum*(Ramet.) Kitamura) 품종 'Pink PangPang'과 'Pink Pride'를 재료로서 사용하였다.

FT 유전자 삽입 binary vector 제작

Heat shock promoter에 의해 고온에서 발현이 유도되도록 한 *FT* 유전자(이하 *HSpro-FT*라 칭함)를 서울대학교로부터 분양받아 binary vector pCAMBIA 2300(CAMBIA, Australia, <http://www.cambia.org>)에 삽입하였다. pCAMBIA 2300 vector 내에는 선발 marker로서 neomycin phosphotransferase(*npt II*) 유전자가 포함되어 있으며, freeze-thaw 방법(Ahn et al. 1988)으로 *A. tumefaciens* strain C58C1에 삽입하였다(Fig. 1).

형질전환

2%의 활성탄이 첨가된 MS 배지(Murashige & Skoog, 1962)

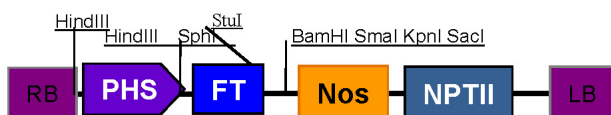


Fig. 1 A linear map of pCAMBIA 2300 containing *HSpro-FT* gene and *npt II* gene used for plant transformation

에서 8주 간격으로 계대배양하면서 기내에서 유지한 'Pink PangPang'과 'Pink Pride' 모식물체 신초의 제 2~3엽을 엽맥을 중심으로 5 mm 정도의 사각으로 잘라 아그로박테리움 매개 형질전환용 절편체로 사용하였다. *HSpro-FT* 유전자가 삽입된 *A. tumefaciens* strain C58C1(균농도 O.D₆₆₀ 0.8-1.0)에 잎 절편체를 접종 후 재분화 배지(MA + 1.0 mg/L BA + 0.5 mg/L IAA + 0.7% plant agar, pH 5.8)에서 3일간 암배양하였고, 그 후 1차 선발배지(재분화배지 + 10 mg/L kanamycin + 400 mg/L cefotaxime)에서 6주 배양, 2차 선발배지(재분화배지 + 20 mg/L kanamycin + 400 mg/L cefotaxime)에서 5주 배양하였다. 2차 선발배지에서 생존한 신초는 20 mg/L kanamycin과 400 mg/L cefotaxime 이 첨가된 MS 배지에서 발근시킨 후 2 g/L의 activated charcoal이 첨가된 MS 배지에서 유지하였다.

PCR 분석

2차 선발배지에서 선발된 putative *HSpro-FT* 형질전환체와 대조구 식물체(비형질전환체)의 잎으로부터 genomic DNA를 QIAGEN사의 DNeasy plant mini kit(Qiagen, Germany)을 이용하여 제조회사의 지침에 따라 추출하였다. *npt II* 유전자의 도입 확인을 위한 primers로서 forward primer(5' GAG GCT ATT CGG CTA TGA CTG 3')와 reverse primer(5' ATC GGG AGC GGC GAT ACC GTA 3')를 사용하였고, *HSpro-FT* 유전자의 도입 확인을 위한 primers로서 forward primer(5' GGT TGG TGA CTG ATA TCC 3')와 reverse primer(5' TGC CTG CCA AGC TGT CGA A 3')를 사용하였다. *npt II* 유전자 및 *HSpro-FT* 유전자의 PCR반응액 조성 및 *npt II* 유전자의 PCR반응조건은 이전의 연구와 동일하게 수행하였으며(Han et al. 2009), *HSpro-FT* 유전자의 PCR반응조건은 다음과 같이 수행하였다. Predenaturation 단계는 95°C에서 2분간, denaturation 단계는 95°C에서 1분간, annealing 단계는 56°C에서 2분간, polymerization 단계는 72°C에서 1분간(30 cycles), 그리고 extension 단계는 72°C에서 5분간으로 GeneAmp PCR System 9700(Perkin Elmer Applied Biosystem)을 이용하여 수행하였다.

형질전환체 포장검정

PCR 분석 결과, *HSpro-FT* 유전자의 삽입이 확인된 개체와 대조구(비형질전환체)를 기내에서 계통별로 5~6개씩 증식한 다음, 그 중 5개를 순화하였다. 순화용토는 펄라이트(삼순, 규격1호)와 바이오상토 1호(흥농)를 2:1로 혼용된 인공용토를 사용하였으며, 3주간 순화 후 격리온실 포장에 2011년 7월 19일에 정식하였다. 온실에 정식 후 단일처리하지 않은 자연조건재배로 개화시킨 후 꽃 모양 및 색깔, 초장, 발뇌일, 개화일 등을 조사하였다.

결과 및 고찰

FT 유전자는 장일 저온조건하에서 애기장대의 개화를 촉진시키는 기능을 하는 것으로 1999년에 동정되었으나, 최근에는 단일과 고온조건하에서 재배되는 작물의 개화도 촉진하는 것으로 알려지고 있다(Xu et al. 2012). 프로모터에 의해 고온에서 발현되도록 한 *HSpro-FT* 유전자가 도입된 스프레이 국화 품종('Pink PangPang'과 'Pink Pride')을 고온에서 화아분화기를 지나 단일조건에서 개화하는 조건에서 재배한 결과 조기개화성이 확인되었다. 아그로박테리움 매개로 국립원예특작과학원에서 육성 스프레이타입 품종 'Pink PangPang' 1,393개와 'Pink Pride' 1,386개 잎 절편체를 *HSpro-FT* 유전자가 삽입된 균주와 공동배양 후 1, 2차 선발을 거쳐 'Pink PangPang' 유래 143개의 재분화 신초와 'Pink Pride' 유래 6개의 재분화 신초를 획득하였다. 재분화 신초로부터 DNA를 추출하여 PCR분석을 실시한 결과, 'Pink PangPang' 유래 143개 재분화 신초 중 123개체와 'Pink Pride' 유래 재분화 신초 6개체에서 *npt II* 유전자의 도입을 확인할 수 있었고, 'Pink PangPang' 유래 117개의 신초와 'Pink Pride' 유래 재분화 5개 신초에서 목표유전자인 *FT* 유전자의 도입을 확인할 수 있었다(Table 1, Fig. 2). 'Pink PangPang'과 'Pink Pride'의 형질전환율은 각각 81.8%와 83.3%로 유사하였다. 형질전환에 적합한 품종 선발의 기본조건은 높은 재분화율이지만, 재분화율이 높다고 해서 유전자도입 개체 획득율이 높은 것은 아니라는 것이 본 연구를 통해 확인되었다. 본 연구팀의 이전 연구결과에 의하면(Han et al. 2009b), 'Pink PangPang'과 'Pink Pride'의 재분화율은 각각 92%와 90%로 유사하였다. 그런데 본 연구에서는 *HSpro-FT* 유전자 도입 후 2차 선발배지에서 재분화된 식물체의 획득율은 확연하게 달랐다. 'Pink PangPang'은 1,393개의 엽절편체로부터 143개(10.3%)의 신초가 재분화되었지만 'Pink Pride'는 1,386개 엽절편체로 6개(0.4%)의 신초만이 재분화되었다.

HSpro-FT 유전자 도입이 확인된 'Pink PangPang' 유래 117개체 중 22개체와 'Pink Pride' 유래 4개체를 기내에서 계통별로 증식 후 5~6개씩 순화 후 온실에 정식하여 자

연상태에서 개화 특성을 조사한 결과, 정식 후 꽃봉오리 맺히기까지의 소요기간은 'Pink PangPang' 유래 형질전환체의 경우 22계통 중 6계통(HS11, HS13, HS26, HS32, HS39, HS40)이 비형질전환체보다 당겨졌으나, 'Pink Pride' 유래 형질전환체들은 비형질전환체보다 당겨지지 않았다. 정식후 개화까지의 소요기간은 'Pink PangPang' 유래 형질전환체의 경우 22계통 중 8계통(HS5, HS11, HS13, HS17, HS26, HS32, HS39, HS40)이 비형질전환체보다 1.7~10일 짧았고, 'Pink Pride' 유래 형질전환체들은 비형질전환체보다 4~5일 짧았다. 꽃봉오리가 맺힌 다음부터 개화까지의 기간은 'Pink PangPang' 유래 형질전환체의 경우 22계통 중 2계통(HS13과 HS4)을 제외한 20계통이 비형질전환체보다 1~6일 짧았으며, 'Pink Pride' 유래 형질전환체들은 비형질전환체보다 3~4일 짧았다(Table 2). 두 품종

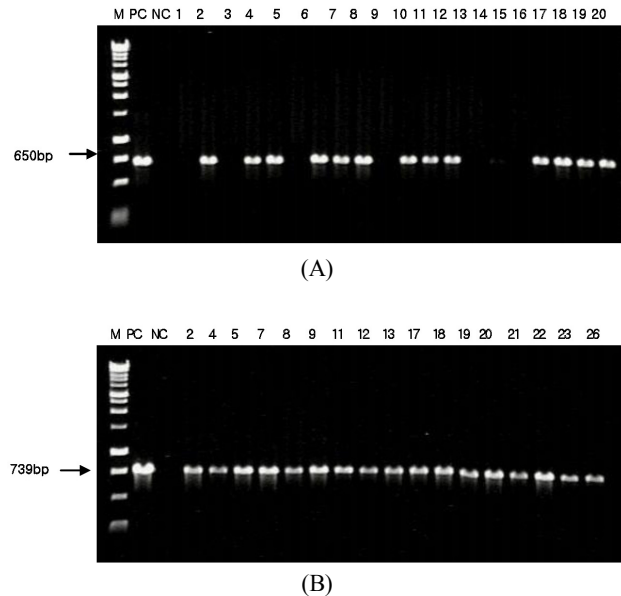


Fig. 2 Electrophoresis of amplified fragments from *nptII* (A) and *HSpro-FT* gene primer (B) by PCR. The transformed plants were infected with *Agrobacterium tumefaciens* strain C58C1 containing *HSpro-FT* gene (M: Lambda-HindIII digested marker DNA, PC: pCAMBIA 2300 vector DNA, NC: non-transformed plant, 1-20: transgenic plants)

Table 1 Spray-type transgenic chrysanthemum plants identified by PCR analysis after co-cultivation with *Agrobacterium tumefaciens* strain C58C1 harboring binary vector pCAMBIA 2300 containing flowering locus T (*FT*) gene of which expression was controlled by heat shock promoter

Genotype	No. of explants (A)	No. of shoots survived on the 2nd selection medium ^a (B)	No. of transgenic shoots with <i>npt II</i> gene by PCR analysis (C)	No. of transgenic shoots with <i>FT</i> gene by PCR analysis (D)
'Pink PangPang'	1,393	143	123	117
'Pink Pride'	1,386	6	6	5

^aMS medium was containing 400 mg/L cefortaxime and 20 mg/L kanamycin.

Table 2 Characteristics of *HSpro-FT*-transgenic lines derived from chrysanthemum) ‘Pink PangPang’ and ‘Pink Pride’

Genotype	Transgenic line	Plant height (cm)	The period to flower bud initiation from planting (days)	The period to fully-opened inflorescence from planting (days)	The period to fully-opened inflorescence from flower bud (days)
Pink PangPang	HS2	67.5±10.6	45.0±0.0	82.0±0.0	37.0±0.0
	HS4	71.3±3.2	40.0±0.0	83.0±0.0	43.0±0.0
	HS5	49.7±15.4	43.3±2.9	79.3±0.6	36.0±3.5
	HS11	50.3±8.4	35.5±3.5	72.0±0.0	37.0±0.0
	HS13	46.7±3.9	33.0±0.0	75.0±0.0	42.0±0.0
	HS17	74.7±13.0	41.0±0.0	73.5±1.0	32.5±1.0
	HS18	61.5±26.9	41.0±0.0	82.0±0.0	41.0±0.0
	HS19	82.5±21.1	41.0±0.0	81.3±0.6	40.3±0.6
	HS21	62.0±28.2	41.0±0.0	82.5±0.7	41.5±0.7
	HS22	81.0±15.5	41.0±0.0	82.0±0.0	41.0±0.0
	HS23	76.0±1.4	41.0±0.0	82.0±0.0	41.0±0.0
	HS26	56.0±1.7	39.0±0.0	75.0±0.0	36.0±0.0
	HS28	77.5±3.5	45.0±0.0	82.0±0.0	37.0±0.0
	HS29	72.3±17.8	45.0±0.0	82.0±0.0	37.0±0.0
	HS31	78.3±7.0	45.0±0.0	82.5±0.6	37.5±0.6
	HS32	55.0±8.7	39.0±0.0	75.0±0.0	36.0±0.0
	HS33	84.0±3.6	45.0±0.0	83.0±0.0	38.0±0.0
	HS34	81.0±6.0	45.0±0.0	82.0±0.0	37.0±0.0
	HS38	83.3±7.6	45.0±0.0	82.0±0.0	37.0±0.0
	HS39	55.0±23.4	39.0±0.0	78.5±4.9	39.5±4.9
HS40	53.3±13.1	39.0±0.0	75.5±1.0	36.5±1.0	
HS41	78.7±2.1	45.0±0.0	82.0±0.0	37.0±0.0	
	Non-transgenic control	73.3±14.4	40.0±0.0	82.0±0.0	42.0±0.0
Pink Pride	HS144	96.3±19.0	45.0±0.0	81.0±0.0	36.0±0.0
	HS145	105.3±5.0	45.0±0.0	82.0±0.0	37.0±0.0
	HS147	115.0±8.7	45.0±0.0	81.7±0.0	36.7±0.9
	HS148	76.8±10.4	45.0±0.0	82.0±1.4	37.0±1.4
	Non-transgenic control	97.5±15.5	45.0±0.0	86.0±2.5	40.3±2.5

유래 형질전환 24계통 모두 개화시점 이외의 꽃모양이나 꽃 색깔 등 다른 특성은 비형질전환체와 같았다(Fig. 2). 이들 조기개화성 *HSpro-FT* 국화 형질전환 24계통들은 PCR분석에 의해 유전자의 도입이 확인된 식물체들로 서던분석을 통해 *HSpro-FT* 유전자의 도입에 대한 재확인 필요하겠지만, 본 연구팀에 의해 2009년도에 개발된 *MmMADS2* 형질전환 국화의 경우 PCR분석에 의해 유전자의 도입이 확인된 후 조기개화성을 보인 6계통들을 서던분석한 결과, 6계통 모두 *MmMADS2* 유전자의 도입이 확인되었던 것을 고려해 볼 때(Han et al. 2009a), 향후 서던분석에서도 *HSpro-FT* 유전자 도입이 반드시 재확인될 것이라 생각된다.

국화는 단일식물이어서 일장처리에 의해 개화시점을 앞당길수는 있으나 비용상승에 의한 경영비 상승이 수반될 수밖에 없고 특히 한여름에 단일처리할 경우 국화 품질을 저하시킬 수도 있다. 경영비 상승이나 품질저하없이 조기개화시키기 위해서는 교잡육종이나 형질전환 기술을 이용하여 개발된 조기개화성 특성을 가진 품종을 재배하는 것이다. 최근 네델란드 화훼 육종회사인 Fides에서 개발된 조기개화성 스프레이타입의 품종 들은 교잡육종에 의해 한계일장이 단축되어 개발된 것이다(<http://www.fides.nl>). 한편, 현재까지 상업화된 품종이 개발되지는 않았지만 1990년대 후반부터 형질전환 기술을 이용하여 *leafy*나 *ap1*과 같은 flowering identity genes이나 *FT*,

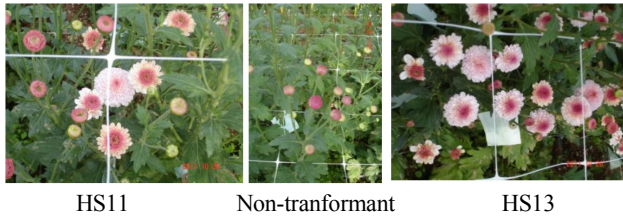


Fig. 3 Comparison of flowering in non-transgenic and transgenic lines from 'Pink PangPang' grown in the greenhouse

SOCl, *leafy* 등과 같은 flowering integrator genes 등을 도입하여 조기개화성 국화 형질전환체를 개발하고자 하는 노력들이 국내외적으로 이루어졌었고(Han et al. 2003; Han et al. 2009a; Shulga et al. 2011), 최근에는 일장이 개화의 주요 요인인 작물의 경우 *FT* 유전자를 도입하여 조기개화성 형질전환체를 개발하고자 하는 노력들이 있다(Xu et al. 2012). 본 연구에서도 프로모터에 의해 고온에서 발현이 유도되도록 한 *HSpro-FT* 유전자를 스프레이타입 2 품종에 도입하여 얻어진 형질전환체들을 고온에서 화아 분화기를 지나 단일조건에서 개화하는 조건에서 재배하였을 때 꽃봉오리 형성까지는 물론 꽃봉오리 형성부터 꽃잎 전개까지의 기간이 단축되는 것을 확인할 수 있었다. *FT* 유전자가 꽃봉오리형성까지의 기간을 단축시키는데 관여한다는 연구는 *Eucalyptus globulus*(Jones et al. 2011)와 hybrid aspen(*Populus tremula* L. x *P-tremuloides* Michx.) (Eriksson 2007)에서도 확인된 바 있다. 1996년 호주의 Florigene사에서 파란색 카네이션 형질전환 품종 'Moondust'가 상업화된 이후 카네이션 화색 변형 형질전환 품종은 시리즈로 개발되어 현재 10개국 52개도매점포를 통해 판매되고 있으며(<http://www.florigene.com>), 2009년 일본의 SUNTORY사에서 상업화시킨 파란색 장미 형질전환 품종 'APPLAUSE'가 일본의 7개현 51개점포에서 판매되고 있을 만큼(<http://www.suntory.com>), 그 동안 콩, 벼, 옥수수 등 주곡작물에서 주요 육종기술로 이용되었던 형질전환 기술은 화훼작물 품종 개발의 주요 기술로 제시되고 있다. 최근에는 *FT* 유전자를 용담에 도입하여 조기개화성 형질전환체를 개발했다는 보고(Nakatsuka et al. 2009)도 있는 바, 본 연구를 통하여 획득된 *HSproFT* 국화 형질전환 계통들은 현미경적 관찰과 도입 유전자 발현 및 주변 염기서열 분석 등과 같은 분자생물학적 실험이 보완된다면 조기개화 국화 품종을 개발하는데 유용하게 활용될 수 있을 것이라 생각한다.

적 요

고온에서 발현이 유도되도록 한 개화촉진유전자 *HSpro-FT*를 국립원예특작과학원에서 육성된 스프레이타입 국

화 2품종('Pink PangPang'과 'Pink Pride')에 도입하여 획득한 형질전환체가 고온기에 화아가 분화하고 고온단일조건에서 화아가 발달하게 되는 조건에서 재배되었을 때 개화가 촉진되었다. *HSpro-FT* 유전자는 pCAMBIA2300에 삽입되어 *Agrobacterium tumefaciens* C58C1을 통하여 국화로 도입되었다. 아그로박테리움과의 접종 후 재분화 배지(MS + 1.0 mg/L BA + 0.5 mg/L IAA + 0.7% plant agar, pH 5.8)에 10 mg/L 과 20 mg/L kanamycin이 첨가된 1, 2차 선발배지에서 재분화된 신초를 선발하였다. PCR분석에 의해 'Pink PangPang' 유래 재분화 신초 117개체와 'Pink Pride' 유래 5개체로부터 *FT* 유전자가 도입되었음을 확인하였다. *HSpro-FT* 유전자 형질전환 26계통중 8계통들이 비형질전환체에 비하여 정식 후 꽃봉오리 맺히기까지의 기간이 1.7~10일 당겨졌고, 24계통들이 비형질전환체에 비하여 꽃봉오리 맺힌 후 꽃잎전개까지의 기간이 1~6일 당겨졌다. 두 품종 유래 형질전환 24계통 모두 조기개화성 이외의 꽃모양이나 꽃 색깔 등 다른 특성은 비형질전환체와 같았다.

사 사

본 연구는 2011년도 농촌진흥청 국립원예특작과학원 기관고유사업(과제번호PJ006793)과 2012년도 농촌진흥청 차세대바이오그린21사업(과제번호PJ008332)에 의해 지원되었습니다.

인용문헌

- An G, Ebert PR, Mitta A, Ha SB (1988) Binary vectors. Plant Molecular Biology Manual Kluwer Academic Publisher Belgium pp 1-19
- Erickson M (2007) Low levels of Phytochrome A expression alters circadian rhythm and change levels of flowering locus T leading to early bud set in hybrid aspen. Comparative Biochem Physiol A-MOL Integrative Physiol 146(4) Supple: S231-S231
- Han BH, Yae BW, Yi SY, Lee SY, Shin HK (2003) Introduction of *LEAFY* gene to Chrysanthemum (*Dendranthema x grandiflorum* (Ramat.) Kitamura) 'Shuho-no-chikara' mediated by *Agrobacterium* LBA4404 J Plant Biotech 30:335-339
- Han BH, Lee SY, Choi SY (2009a) MdMADS2-transgenic chrysanthemum (*Dendranthema x grandiflorum* (Ramat.) Kitamura) showing the reduction of the days to flowering. J Plant Biotech 36:366-372
- Han BH, Lee SY, Park BM (2009b) Comparison of chrysanthemum cultivars based on direct shoot regeneration rates in tissue culture. J Plant Biotech 36:275-280
- Jones RC, Hecht VFG, Potts, BM, Vaillancourt RE, Weller JL

- (2011) Expression of a flowering locus T homologue is temporally associated with annual flower bud initiation in *Eucalyptus globulus* subsp *globulus* (Myrtaceae). *Australian J Bot* 59:756-769
- Kardailsky I, Shukla VK, Ahn JH, Dagenais N, Christensen SK, Nguyen JT, Chory J, Harrison MJ, Weigel D (1999) Activation tagging of the floral inducer *FT*. *Science* 286:1962-1965
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15:473-49
- Nakatsuka T, Abe Y, Kakizaki Y, Kubota A, Shimada N, Nishihara M (2009) Over-expression of arabidopsis *FT* gene reduces juvenile phase and induces early flowering in ornamental gentian plants. *Euphytica* 168:113-119
- Petty LM, Harbred NP, Carré IA, Thomas B, Jackson SD (2003) Expression of the *Arabidopsis gai* gene under its own promoter causes a reduction in plant height in chrysanthemum by attenuation of the gibberellin response. *Plant Sci* 164:175-182
- Shulga OA, Mitiouchkina TY, Shchennikova AV, Skryabin, KG, Dolgov SV (2011) Overexpression of AP1-like genes from Asteraceae induces early-flowering in transgenic Chrysanthemum plants. *In Vitro Cell Develop Biol-Plant* 47:553-560
- Xu F, Rong X, Huang X, Cheng S (2012) Recent Advances of flowering locus T gene in higher plants. *International J Mole Sci* 13:3773-3781