

拟南芥翻译起始因子 eIF5B-1 调控种子萌发的分子机制

寇小霞 张丽媛 赵月 田雪军 郭伟龙 辛明明 彭惠茹*

(中国农业大学 农学与生物技术学院/农业生物技术国家重点实验室/
杂种优势研究与利用教育部重点实验室,北京 100193)

摘要 为明确 *eIF5B-1* 基因在拟南芥种子萌发过程中的生理作用。以拟南芥翻译起始因子的 T-DNA 插入突变体 *ei5b-1* 为材料。测定突变体 *ei5b-1* 种子的萌发速率,同时利用多聚核糖体谱和 qRT-PCR 的研究方法,对拟南芥野生型(WT)和 *ei5b-1* 突变体的萌发过程进行了研究。结果表明:1) *ei5b-1* 突变体种子的萌发率下降;2) *ei5b-1* 突变体种子萌发过程中多聚核糖体的形成受到影响;3) *ei5b-1* 突变体中 *ABI1*、*ABI3*、*ABI4*、*ABI5* 及 *DOG1* 基因的转录受到影响;4) *ei5b-1* 突变体选择性地影响 *ABI4* 和 *DOG1* 基因的翻译效率。

关键词 拟南芥; 翻译起始因子; 种子; 萌发; 翻译; 脱落酸

中图分类号 S330.2+1 文章编号 1007-4333(2018)01-0012-07 文献标志码 A

Molecular regulatory mechanism of *Arabidopsis* translation initiation factor eIF5B-1 on seeds germination

KOU Xiaoxia, ZHANG Liyuan, ZHAO Yue, TIAN Xuejun, GUO Weilong, XIN Mingming, PENG Huiru*

(College of Agronomy and Biotechnology/State Key Laboratory for Agrobiotechnology/Key Laboratory of Crop Heterosis and Utilization (Ministry of Education), China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract A novel T-DNA insertion mutant of *Arabidopsis* translation initiation factor, *ei5b-1*, was identified to study the regulation of seed germination in *Arabidopsis*. Compared to WT, the germination rate of *ei5b-1* mutant seeds was investigated. Using polysome profiling and qRT-PCR, the germination process of WT and *ei5b-1* mutant were analyzed. The results showed that: 1) The germination rate of *ei5b-1* mutant was decreased; 2) The polysome profiling was abnormal in *ei5b-1* mutant; 3) The transcription levels of *ABI1*, *ABI3*, *ABI4*, *ABI5* and *DOG1* were changed in *ei5b-1* mutant; 4) The translation efficiency of *ABI4* and *DOG1* were selectively changed in *ei5b-1* mutant.

Keywords *Arabidopsis*; translation initiation factor; seeds; germination; translation; ABA

大多数开花植物依靠种子进行有性繁殖,种子萌发和幼苗形成是决定植物能否繁衍后代的关键因素。由于种子在土壤中容易受到病虫害和环境等因素的影响,萌发阶段成为植物发育中最为关键的时期之一。种子萌发是指有活力的种子直接接触水分或处于湿度较高的空气中,迅速吸水并开始进行呼吸、物质合成及其他代谢活动,经过一定的时期突破种皮、胚乳到伸出幼根^[1]。种子萌发的过程受多重分子水平的调控,其本质是开始新的遗传程序即基因转录翻译的重起始^[2]。

种子萌发主要通过植物内源激素 ABA 和 GA 的相互制衡方式调节^[3-4]。ABA 是一个倍半萜烯化合物,主要控制种子中储存物质的积累和耐脱水性^[5]。在种子成熟过程中,ABA 抑制种子的萌发,从而保证种子在母体植株中成熟。此外,在种子后熟过程中可诱导产生胚胎晚期丰富蛋白(LEA),进而提高种子的耐脱水性^[6]。它们在种子成熟的后期大量积累,并在种子萌发的起始阶段维持较高的表达水平。干旱等环境胁迫可诱导 *ABI3* 的表达,进而使种子由萌发状态转入休眠状态^[7]。GA 是一类广泛存在于生物中

收稿日期:2016-11-09

基金项目:国家自然科学基金项目(31571747);转基因重大专项(2016ZX08002-002)

第一作者:寇小霞,硕士研究生,E-mail:kou_xiao_xia@163.com

通讯作者:彭惠茹,教授,主要从事小麦耐热性机理研究,E-mail:penghuiru@cau.edu.cn

的二萜类化合物,对种子的萌发具有促进作用^[8]。GA 信号的负调控因子 RGL2^[9] 和 SPY^[10],以及正向调控因子 LEP^[11] 在调控种子萌发和幼苗的发育中起着关键作用。因此,为了保证种子吸水后萌发并抵消 ABA 的抑制效应,可以采取两种策略。一种是抑制 ABA 的合成,降低 ABA 的含量;另一种增加 GA 的合成,提高 GA 的含量,促进种子萌发。ABA/GA 的比率控制种子发芽的能力^[5,8],处于休眠状态的种子具有较高水平的 ABA,而处于萌发状态的种子具有较高水平的 GA^[12]。

翻译过程在种子萌发中起着重要的作用^[13-15]。拟南芥干种子中储存大量基因组编码的 mRNA,因而 mRNA 选择性翻译对萌发过程中的基因表达调控很重要^[16]。Dinkova 等^[17] 以玉米离体胚轴为材料,通过干燥和 24 h 浸泡处理,对翻译起始因子 eIF4E 和 eIFiso4E 的翻译活性进行体外测验,结果表明 eIFiso4E 是干种子中储存的 mRNA 翻译必须的,而 eIF4E 不能完全取代其功能。除了小亚基 eIF4E,mRNA 的 5' 帽子结合的翻译起始因子复合物 eIF4F 还包括一个大亚基 eIF4G,eIF4G 的主要作用是与其他翻译起始因子互作^[18]。Lellis 等^[19] 通过观察植物特异的真核翻译起始因子 eIF4G (eIFiso4G1 和 eIFiso4G2) 的突变体 *i4g1* 和 *i4g2* 的萌发情况,发现双突变体能够减少种子的发芽率,减缓种子的生长速度,并减弱种子的生存能力。真核生物翻译起始因子 *eIF5B-1* 是原核生物 *IF2* 的同源基因,它是依赖核糖体的 GTPase,在翻译起始过程的最后一步引导 60S 大亚基与 40S 亚基结合,最终形成 80S 核糖体,起始翻译过程^[20]。目前,关于翻译起始因子 *eIF5B-1* 对植物种子萌发的影响未见报道,本研究利用拟南芥的 T-DNA 插入突变体 *eif5b-1*,分析 *eIF5B-1* 对拟南芥种子萌发的影响,旨在初步解析 *eIF5B-1* 调控种子萌发的机理。

1 材料与方法

1.1 材料种植

拟南芥种子经次氯酸钠消毒后平铺于 MS 固体培养基,4 °C 春化 3 d,然后于 22 °C/18 °C,16 h/8 h (光/暗),湿度 60%~70% 的培养室中生长 3 d,观察种子萌发的情况。

1.2 种子萌发测定方法

拟南芥种子在 4 °C 条件下春化 3 d,将种子置于铺有 2~3 层滤纸的方形培养皿中,随后将培养皿放

置于 25 °C 恒温培养箱中暗培养,并保持滤纸湿润。每次萌发试验至少 3 次生物学重复,每次重复选取不少于 100 粒种子。种子吸胀 20 h 后,每隔 5 h 在显微镜下观察种子的萌发情况,种子露白即认定为种子突破种皮。同时,每隔 24 h 统计种子的累计萌发率,即种子累计萌发率=测定时间点萌发的种子粒数/供试的种子粒数。

1.3 多聚核糖体谱分析

多聚核糖体谱分析主要采用蔗糖梯度密度法。具体操作如下:取 2 g 样品在液氮中充分研磨成粉末状,加入 2 倍体积的 PEB 缓冲液(200 mmol/L Tris-HCl,pH 9.0;200 mmol/L KCl;35 mmol/L MgCl₂;2 mmol/L EGTA;1% TritonX-100;1% Tween-20;2% polyoxyethylene;0.2 mol/L Sucrose),涡旋震荡混匀;冰上 10 min,4 °C 13 200 r/min,离心 15 min;吸取上清液,加入 1/20 体积 10% 的 DOS (Sodium deoxycholate);冰上 10 min,4 °C 13 200 r/min,离心 20 min;将上清液加入含有 0.5 mL 蔗糖垫(60% Sucrose)的超速离心管中;4 °C 45 000 r/min 离心 3 h;加入 300 μL 悬浊液(200 mmol/L Tris-HCl,pH 9.0;200 mmol/L KCl;35 mmol/L MgCl₂;2 mmol/L EGTA)溶解沉淀;将悬浊液轻轻的平铺于 15%~60% 蔗糖梯度溶液上层,4 °C 41 000 r/min,离心 2 h;用密度梯度分离仪收集不同沉降系数的核糖体复合物,同时用 UV monitor 检测 254 nm 处的吸光度。

1.4 RNA 的提取和荧光实时定量 PCR

总 RNA 提取采用 Trizol 的方法,核糖体结合的 mRNA 的提取采用 LiCl 沉淀法。cDNA 的合成主要用 Takara 公司的反转录酶 MLV 和引物 T15。实时定量 PCR 采用 Bio-Rad 公司的 CFX96TM 荧光定量 PCR 系统,所用试剂为 Takara 公司的 SYBR® Premix Ex Taq™ 试剂盒。基因表达分析选取 *Actin*(AT3g18710)作为内参,采用比较阈值法对 qRT-PCR 结果进行定量分析,设置荧光域值,确定在该荧光域值下的循环数 C_t 值。根据 C_t 值,计算 C 值。 $C = 2^{-\Delta C_t}$, $\Delta C_t = C_t(\text{目的基因}) - C_t(\text{内参基因})$,计算 3 个重复的 C 值的平均值作为目的基因的相对表达量或富集倍数。基因在总 RNA 中的表达量以 WT 为 1 进行标准化,翻译效率 TE 的计算以核糖体结合的 mRNA 的值除以总的 RNA 进行计算,即 $TE = \text{核糖体结合的 mRNA} / \text{总 RNA}$,实时定量所用的引物见表 1。

表1 实时定量PCR引物序列

Table 1 Sequence of primers for qRT-PCR

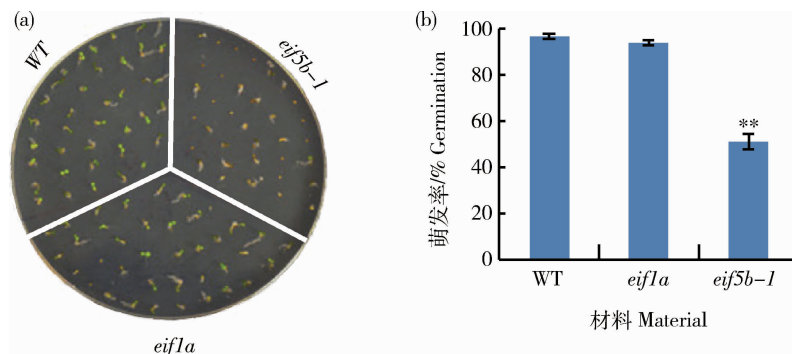
基因 ID Gene ID	引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence
AT4g26080	<i>ABI1-F</i>	CGGAGATTGAGTCAGTTGCC
	<i>ABI1-R</i>	TCCGGTTTATGGTCAACGGA
AT5g57050	<i>ABI2-F</i>	TGCAACGGTGAATCTAGGGT
	<i>ABI2-R</i>	GTTGATTTTCATCTCCGGCGG
AT3g24650	<i>ABI3-F</i>	CAATCGTCTCCTCAGCCTCT
	<i>ABI3-R</i>	ATGCACCAGAAGAGTCGTCA
AT2g40220	<i>ABI4-F</i>	TTCCACCACCGACTCATCAA
	<i>ABI4-R</i>	TTGCGAAAGTACCAAGCCAC
AT2g36270	<i>ABI5-F</i>	AAAATTCTCCGGCGGCTTTT
	<i>ABI5-R</i>	TCTCGCTCTGACGTCAACTT
AT5g45830	<i>DOG1-F</i>	GCTGATCTTGCTCACCGATG
	<i>DOG1-R</i>	GCGGAGAACTGAGTCACAC

2 结果与分析

2.1 *ei5b-1* 突变体种子的萌发率下降

前期研究中,以高温处理种子的萌发率作为耐热性筛选指标^[21]对拟南芥突变体进行鉴定,筛选得到一个在正常温度下种子萌发率低的突变体 *ei5b-1* (SALK_124251)。在 MS 培养基上对正常温度(25 °C)生长 3 d 的拟南芥野生型和突变体进行表型观察,发现 *ei5b-1* (SALK_124251) 的发芽率较野生型(WT)降低 50%,而另一突变体 *ei1a* (SALK_050455) 与野生型无明显差异(图 1(a)和(b))。为了进一步确定 *ei5B-1* 突变影响种子的萌发过程,对拟南芥野生型和 *ei5b-1* 突变体的动

态萌发情况进行了研究。首先将种子置于 25 °C 黑暗培养 20 h,随后每隔 5 h 观察胚根突破种皮的情况以及种子的累计萌发率。由图 2(a)可以看出,在种子萌发过程中,野生型吸胀 20 h 开始露白,而 *ei5b-1* 突变体则需要 40 h 才开始露白,说明 *ei5b-1* 突变体的萌发速率明显变慢。同时,测定不同培养时间种子的萌发率,结果表明,黑暗培养 2 d(48 h),野生型种子几乎全部萌发,而 *ei5b-1* 突变体仅有 30% 的种子萌发(图 2(b))。此外,还发现即使培养 5 d, *ei5b-1* 突变体中仍有 50% 的种子没有活力,不能萌发。这些结果表明, *ei5b-1* 突变体既影响种子的萌发速率也影响最终的萌发率。



** 表示 $P < 0.01$, 差异极显著

** Indicates significant at 0.01 level

图1 WT, *ei1a* 和 *ei5b-1* 突变体的萌发表型(a)和萌发率(b)分析

Fig. 1 The germination phenotype (a) and germination rate (b) of WT, *ei1a* and *ei5b-1*

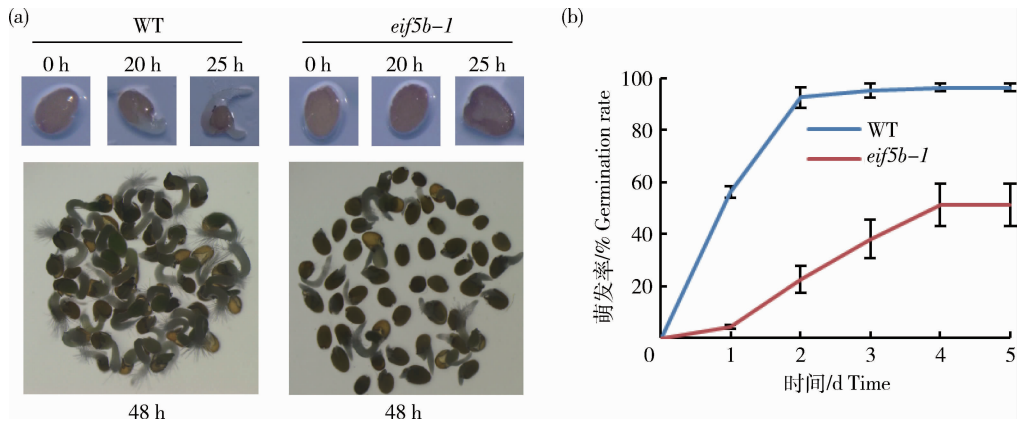


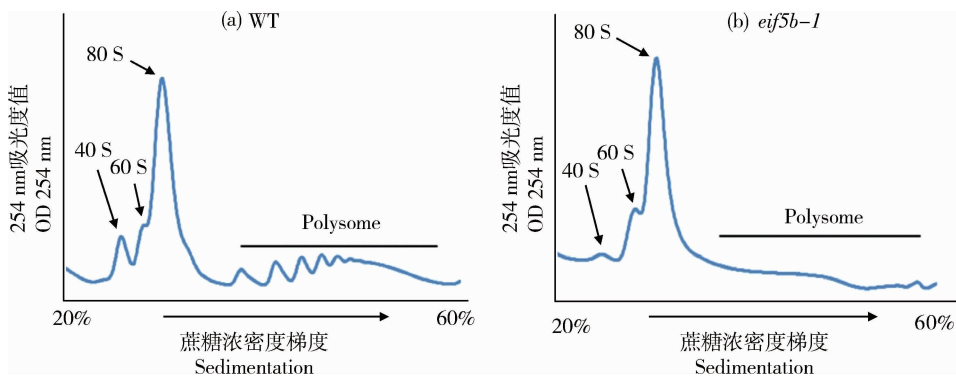
图 2 拟南芥 WT 和 *eif5b-1* 突变体的种子吸胀不同时间的形态观察(a)和萌发率(b)

Fig. 2 The germination state (a) and germination rate (b) of WT and *eif5b-1* mutant after imbibition

2.2 *eif5b-1* 突变体种子萌发过程中多聚核糖体的形成受到影响

由于 *eIF5B-1* (SALK_124251) 对应的基因是翻译起始因子,它可能通过影响 40S 小亚基和 60S 大亚基的结合而在翻译中发挥作用^[20]。为了分析种子萌发过程中 *eif5b-1* 突变体是否影响 mRNA 的翻译,利用多聚核糖体图谱实验分析不同沉降系数的核糖体与 mRNA 的结合情况。首先将干种子置于湿润的滤纸上浸泡 20 h,通过放线菌酮固定核糖体结合 mRNA 的复合物,采用蔗糖密度梯度法分离不同沉降系数的核糖体,包括 40S 核糖体小亚

基,60S 核糖体大亚基,80S 单体核糖体和多聚核糖体。由图 3 可以看出,无论在野生型还是 *eif5b-1* 突变体中,均能分离到 40S 核糖体小亚基,60S 核糖体大亚基,80S 单体核糖体,而这些核糖体结合未开始/刚开始翻译的 mRNA。进一步分析结果表明野生型中能观察到多聚核糖体的形成,而 *eif5b-1* 突变体中几乎没有多聚核糖体的形成。由于多聚核糖体结合正在翻译的 mRNA,这些结果说明野生型种子吸胀 20 h 后,存储的 mRNA 已开始翻译,而 *eif5b-1* 突变体的种子中存储的 mRNA 还未开始或刚刚开始翻译。



40S,核糖体小亚基;60S,核糖体大亚基;80S 单体核糖体;Polysome,多聚核糖体。

40S:Ribosomal small subunit; 60S:Ribosomal large subunit;80S:mono-ribosome;Polysome:poly-ribosome.

图 3 拟南芥 WT(a)和 *eif5b-1* 突变体(b)的种子萌发 12 h 的多聚核糖体谱分析

Fig. 3 The polysome profiling for the seeds of WT(a) and *eif5b-1* mutant(b) after germination for 12 h

2.3 *eif5b-1* 突变体中 ABA 信号相关基因的转录发生改变

ABA 是调控种子胚发育和萌发的重要激素。在种子胚发育期间,内源 ABA 作为正向调节因子

促进胚正常发育成熟并抑制种子过早萌发;在种子萌发过程中,贮存的 ABA 抑制种子萌发和幼苗生长^[22]。因此,种子的萌发与 ABA 含量的变化有密切的关系。为了探讨 *eif5b-1* 突变体中 ABA 信号

相关基因转录水平的变化,比较野生型和 *eif5b-1* 突变体中 ABA 敏感基因,如 *ABI1*、*ABI2*、*ABI3*、*ABI4* 和 *ABI5* 的 mRNA 丰度。由图 4 可以看出, *eif5b-1* 突变体中 ABA 敏感基因 *ABI1*、*ABI3*、*ABI4* 和 *ABI5* 基因的表达量明显高于野生型,其中 *ABI3* 和 *ABI4* 的表达量分别是野生型的 7.5 和

263 倍,而 *ABI2* 的表达在野生型和 *eif5b-1* 突变体中没有明显的差异。此外, *DOG1* (Delay of germination 1) 基因是种子休眠的关键基因,决定着幼苗的形态建成,该基因的突变体 *dog1* 抑制种子发芽^[23-24]。研究结果表明, *DOG1* 基因在 *eif5b-1* 突变体中的表达量显著下调。

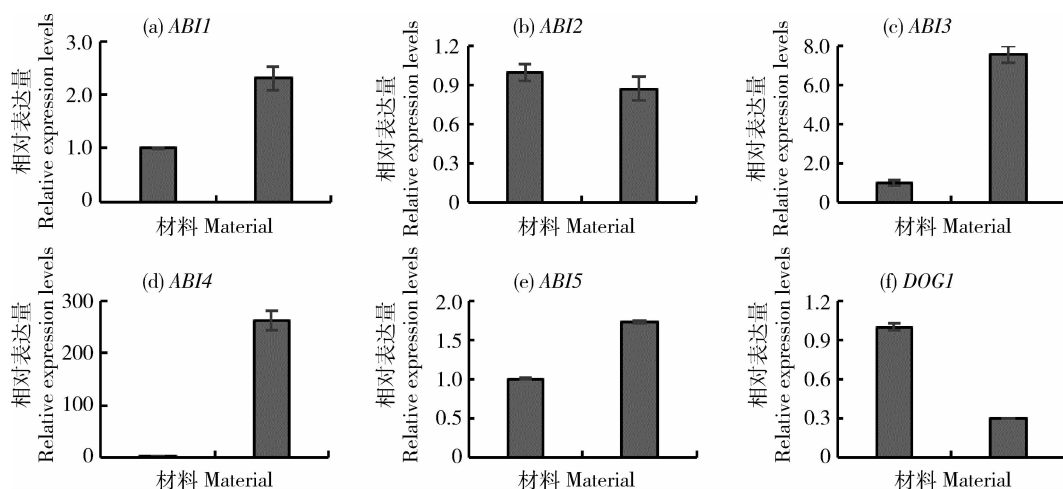


图 4 ABI 相关基因 *ABI1* (a), *ABI2* (b), *ABI3* (c), *ABI4* (d), *ABI5* (e) 及 *DOG1* (f) 在拟南芥 WT 和 *eif5b-1* 突变体中的转录分析

Fig. 4 The transcriptional levels of ABI-related genes *ABI1* (a), *ABI2* (b), *ABI3* (c), *ABI4* (d), *ABI5* (e) and *DOG1* (f) in WT and *eif5b-1* mutant

2.4 *eif5b-1* 突变体中 ABA 信号相关基因的翻译发生改变

由于 *eIF5B-1* 基因是翻译起始因子,为了探究

eIF5B-1 基因是否影响了 ABA 相关基因的翻译,从图 3 中蔗糖密度梯度法分离的野生型和 *eif5b-1* 突变体多聚核糖体中提取 mRNA,这些多聚核糖体结

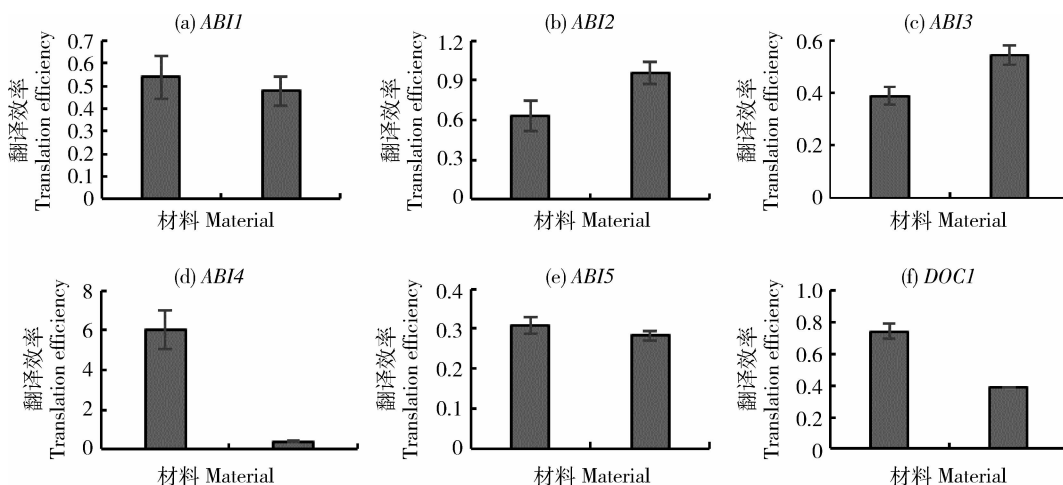


图 5 ABI 相关基因 *ABI1* (a), *ABI2* (b), *ABI3* (c), *ABI4* (d), *ABI5* (e) 及 *DOG1* (f) 在 WT 和 *eif5b-1* 突变体中的翻译效率分析

Fig. 5 The translation efficiency of ABI-related genes *ABI1* (a), *ABI2* (b), *ABI3* (c), *ABI4* (d), *ABI5* (e) and *DOG1* (f) in WT and *eif5b-1* mutant

合的 mRNA 即为正在翻译的 mRNA, 利用这些多聚核糖体结合的 mRNA 样本分析 ABA 信号转导相关基因的表达丰度, 并通过分析核糖体结合的 mRNA 占总 mRNA 的比值, 定量分析翻译效率 (TE), 即 $TE = \text{核糖体结合的 mRNA} / \text{总 mRNA}$ 。由图 5 可以看出 *eif5b-1* 突变体中 ABA 敏感基因 *ABI1*、*ABI2*、*ABI3* 和 *ABI5* 基因的翻译效率与野生型相比没有显著的变化, 但 *ABI4* 和 *DOG1* 基因的翻译效率明显降低, 这些结果表明 *eIF5B-1* 突变抑制种子萌发过程中 mRNA 的翻译并不是普遍的, 而是选择性地针对特定的基因。

3 讨论

高等植物基因表达的调控不仅可以发生在转录水平, 也可以发生在转录后水平, 包括 mRNA 的翻译、剪接和降解等多个层次。种子萌发是植物发育的关键阶段。转录和翻译调控在种子萌发的过程中均发挥着重要的作用。2014 年, Layat 等^[25] 利用多聚核糖体谱试验研究向日葵种子萌发过程中翻译水平的调控, 发现种子萌发过程是一个动态调节过程, 选择性地招募 mRNA 与核糖体结合; 随后 Basbouss-Serhal 等^[26] 研究了拟南芥种子萌发过程中翻译的调控, 进一步发现 5'UTR 区域的 GC 含量以及 AUG 上游的 ORF(uORF) 的数目影响种子萌发的选择性翻译。翻译起始是整个翻译过程关键步骤之一, 该过程是在多个翻译起始因子的作用下, 促进 Met-tRNA_i 结合到 40S 小亚基与 mRNA 相互作用, 形成 48S 前起始复合物以及 48S 复合物与 60S 大亚基的结合, 从而完成真核生物的翻译起始^[27]。真核生物中翻译起始因子通过参与 mRNA 的翻译影响一系列生长发育过程。研究表明 *eif4e* 和 *eif4g* 的突变体减缓种子的萌发速度^[17-19]。在前期工作中筛选得到一个拟南芥翻译起始因子 T-DNA 插入突变体, 该突变体种子的萌发速率明显变慢, 萌发率降低。利用多聚核糖体图谱实验研究了种子萌发过程中 *eIF5B-1* 基因突变对翻译的影响, 发现种子吸胀 20 h 后, 野生型拟南芥种子中开始形成多聚核糖体, 而 *eif5b-1* 突变体中几乎没有多聚核糖体的形成, 说明野生型拟南芥种子中 mRNA 已经开始翻译, 促使种子开始萌动, 而突变体中的 mRNA 还未开始翻译或开始得较晚。其中野生型中种子萌动过程中的多聚核糖体图谱与其他植物, 如蓖麻子^[28]、小麦^[29] 和向日葵^[25] 等的研究一致, 而 *eif5b-1*

突变体种子萌动过程 mRNA 的翻译受到抑制。

在拟南芥种子发育过程中, ABA 参与休眠和萌发的过程。拟南芥 ABA 缺失型突变体 *aba* 的种子失去休眠能力; 而 ABA 不敏感型突变体 *abi* 的种子具有正常含量的内源 ABA, 但种子不休眠, 从而表现出与突变体 *aba* 相似的表型^[30]。研究表明 *ABI3*、*ABI4* 和 *ABI5* 基因位点上的突变体在种子的发育和 ABA 的敏感性上有相似的效应^[31-33], 并且它们在表达上存在着广泛的横向调节, 任意一个基因的异常表达都会导致植物组织对 ABA 的超敏感^[33-34]。此外, *ABI1* 和 *ABI2* 也能相互调节^[35]。本研究结果表明 *eif5b-1* 突变体中 *ABI1*、*ABI3*、*ABI4* 和 *ABI5* 基因的 mRNA 丰度明显提高, 可能导致突变体对 ABA 超敏感, 进而影响种子的发育。本研究还发现与野生型相比, *ABI4* 和 *DOG1* 基因的翻译效率明显降低, 而 *ABI1*、*ABI2*、*ABI3* 和 *ABI5* 基因的翻译效率几乎不变, 这些结果表明 *eIF5B-1* 基因在种子萌发过程中选择性地影响特定基因的翻译。种子萌发受到抑制可能是多个原因导致的, 之后的研究中, 将采用 RNA-seq 和蛋白谱的方法分析 *eIF5B-1* 基因在种子萌发过程中调控的基因。

参考文献 References

- [1] Weitbrecht K, Müller K, Leubnermetzger G. First off the mark: Early seed germination[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(10): 3289-3309
- [2] 乌凤章, 刘桂丰, 姜静, 陆天聪, 王柏臣. 种子萌发调控的分子机理研究进展[J]. 北方园艺, 2008(2): 54-58
Wu F Z, Liu G F, Jiang J, Lu T C, Wang B C. Progress of studies on molecular mechanisms of regulation in seed germination[J]. *Northern Horticulture*, 2008(2): 54-58 (in Chinese)
- [3] Kucera B, Cohn M A, Leubner M G. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination[J]. *Seed Science Research*, 2005, 15(4): 281-307
- [4] Lee S C, Luan S. ABA signal transduction at the crossroad of biotic and abiotic stress responses[J]. *Plant Cell Environ*, 2012, 35(1): 53-60
- [5] Nambara E, Okamoto M, Tatematsu K, Yano R, Seo M, Kamiya Y. Abscisic acid and the control of seed dormancy and germination[J]. *Seed Science Research*, 2010, 20(2): 55-67
- [6] Tunnacliffe A, Wise M J. The continuing conundrum of the LEA proteins[J]. *Naturwissenschaften*, 2007, 94(10): 791-812
- [7] 钟理, 张莉, 杨春燕, 李辰京, 吴佳海. 种子(拟南芥)休眠与萌发的调控机制[J]. 种子, 2014, 33(9): 51-55
Zhong L, Zhang L, Yang C Y, Li C Q, Wu J H. Seed (*Arabidopsis thaliana*) germination and dormancy[J]. *Seed*, 2014, 33(9): 51-55 (in Chinese)
- [8] Yamaguchi S. Gibberellin metabolism and its regulation[J].

- The Annual Review of Plant Biology*, 2008, 59: 225-251
- [9] Lee S, Cheng H, King K E, Wang W, He Y, Hussain A, Lo J, Harberd N P, Peng J. Gibberellin regulates *Arabidopsis* seed germination via RGL2, a GAI/RGA-like gene whose expression is up-regulated following imbibition [J]. *Genes & Development*, 2002, 16(5): 646-658
- [10] Qin F, Kodaira KS, Maruyama K, Mizoi J, Tran LS, Fujita Y, Morimoto K, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Spindly, a negative regulator of gibberellin signaling, is involved in the plant abiotic stress response [J]. *Plant Physiology*, 2011, 157(4): 1900-1913
- [11] Ward J M, Smith A M, Shah P K. A new role for the *Arabidopsis* AP2 transcription factor, LEAFY PETIOLE, in gibberellin-induced germination is revealed by the misexpression of a homologous gene, SOB2/DRN-LIKE [J]. *The Plant cell*, 2006, 18(1): 29-39
- [12] Dasgupta J, Bewley J D. Desiccation of axes of *Phaseolus vulgaris* during development of a switch from a development pattern of protein-synthesis to a germination pattern [J]. *Plant Physiology*, 1982, 70(4): 1224-1227
- [13] 张宇, 徐晓峰, 莫蓓莘. 种子萌发的抑制调控机制 [J]. 生命科学, 2012, 24(2): 118-122
Zhang Y, Xu X F, Mo B X. Repression regulations of seed germination [J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2012, 24(2): 118-122 (in Chinese)
- [14] Holdsworth M J, Finch-Savage W E, Grappin P, Job D. Post-genomics dissection of seed dormancy and germination [J]. *Trends in Plant Science*, 2008, 13(1): 7-13
- [15] Debeaujon I, Vandekerckhove J, Job D. The Effect of α -amanitin on the *Arabidopsis* seed proteome highlights the distinct roles of stored and neosynthesized mRNAs during germination [J]. *Plant Physiology*, 2004, 134(4): 1598-1613
- [16] Nakabayashi K, Okamoto M, Koshiha T, Nambara, E. Genome-wide profiling of stored mRNA in *Arabidopsis thaliana* seed germination; Epigenetic and genetic regulation of transcription in seed [J]. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology*, 2005, 41(5): 697-709
- [17] Dinkova T D, Márquez-Velázquez N A, Aguilar R, Lázaro-Mixteco P E, Jiménez E S D. Tight translational control by the initiation factors eIF4E and eIF(iso)4E is required for maize seed germination [J]. *Seed Science Research*, 2011, 21(2): 85-93
- [18] Spriggs K A, Bushell M, Willis A E. Translational regulation of gene expression during conditions of cell stress [J]. *Molecular Cell*, 2010, 40(2): 228-237
- [19] Lellis A D, Leah A M, Aertker A W, Tran J K, Hillis D M, Harbin C R, Caldwell C, Gallie D R, Browning K S. Deletion of the eIF iso4G subunit of the *Arabidopsis* eIF iso4F translation initiation complex impairs health and viability [J]. *Plant Molecular Biology*, 2010, 74(3): 249-63
- [20] Lebaron S, Schneider C, van Nues R W. Proof reading of pre-40S ribosome maturation by a translation initiation factor and 60S subunits [J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2012, 19(8): 744-753
- [21] Silva-Correira J, Freitas S, Tavares R M, Lino-Neto T, Azevedo H. Phenotypic analysis of the *Arabidopsis* heat stress response during germination and early seedling development [J]. *Plant Methods*, 2014, 10(1): 7
- [22] Rajjou L, Duval M, Gallardo K, Catusse J, Bally J, Job C, Job D. Seed germination and vigor [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2012, 63(3): 507-533
- [23] Bentsink L, Jowett J, Hanhart C J, Koornneef M. Cloning of DOG1, a quantitative trait locus controlling seed dormancy in *Arabidopsis* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(45): 17042-17047
- [24] Kazumi N, Melanie B, Jia D, Soppe W J J. Seed dormancy in *Arabidopsis* requires self-binding ability of DOG1 protein and the presence of multiple isoforms generated by alternative splicing [J]. *PLoS Genetics*, (2015-12-18). DOI: 10.1371/journal.pgen.1005737
- [25] Layat E, Leymarie J, El-Maarouf-Bouteau H, Caius J, Langlade N, Bailly C. Translatome profiling in dormant and nondormant sunflower (*Helianthus annuus*) seeds highlights post-transcriptional regulation of germination [J]. *New Phytologist*, 2014, 204(4): 864-872
- [26] Basbous-Serhal I, Soubigou-Taconnat L, Bailly C, Leymarie J. Germination potential of dormant and nondormant *Arabidopsis* seeds is driven by distinct recruitment of messenger RNAs to polysomes [J]. *Plant Physiology*, 2015, 168(3): 1049-1065
- [27] Sonenberg N, Hinnebusch A G. Regulation of translation initiation in eukaryotes: Mechanisms and biological targets [J]. *Cell*, 2009, 136(4): 731-745
- [28] Marre E, Cocucci S, Sturani E. On development of ribosomal system in endosperm of germinating castor bean seeds [J]. *Plant Physiology*, 1965, 40(6): 1162-1170
- [29] Spiegel S, Obendorf R L, Marcus A. Transcription of ribosomal and messenger-rnas in early wheat embryo germination [J]. *Plant Physiology*, 1975, 56(4): 502-507
- [30] 洪克前, 张妙彬. 种子中脱落酸的研究进展 [J]. 徐州师范大学学报: 自然科学版, 2004, 22(2): 75-78
Hong K Q, Zhang M B. Advances in study on abscisic acid in seeds [J]. *Journal of Xuzhou Normal University: Natural Science Edition*, 2004, 22(2): 75-78 (in Chinese)
- [31] Finkelstein R R, Wang M L, Lynch T J, Rao S, Goodman H M. The *Arabidopsis* abscisic acid response locus ABI4 encodes an APETALA2 domain protein [J]. *Plant Cell*, 1998, 10(6): 1043-1054
- [32] Finkelstein R R, Lynch T J. The *Arabidopsis* abscisic acid response gene ABI5 encodes a basic leucine zipper transcription factor [J]. *Plant Cell*, 2000, 12(4): 599-609
- [33] Parcy F, Valon C, Raynal M, Gaubier-Comella P, Delseny M, Giraudat J. Regulation of gene expression programs during *Arabidopsis* seed development; roles of the ABI3 locus and of endogenous abscisic acid [J]. *Plant Cell*, 1994, 6(11): 1567-1582
- [34] Soderman E M, Brocard I M, Lynch T J, Finkelstein R R. Regulation and function of the *Arabidopsis* ABA-insensitive 4 gene in seed and abscisic acid response signaling networks [J]. *Plant Physiology*, 2000, 124(4): 1752-1765
- [35] Leung J, Merlot S, Giraudat J. The *Arabidopsis* abscisic acid-insensitive2 (ABI2) and ABI1 genes encode homologous protein phosphatases 2C involved in abscisic acid signal transduction [J]. *Plant Cell*, 1997, 9(5): 759-771