

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201608006

引文格式: 刘艺冉, 杨笑, 门淑珍. 拟南芥 *At1g10300* 基因调节叶形和开花时间 [J]. 广西植物, 2017, 37(8):1000–1007LIU YR, YANG X, MEN SZ. *Arabidopsis At1g10300* gene regulates leaf morphology and flowering time [J]. Guihaia, 2017, 37(8):1000–1007

拟南芥 *At1g10300* 基因调节叶形和开花时间

刘艺冉, 杨笑, 门淑珍*

(南开大学 生命科学学院植物生物学和生态学系, 天津 300071)

摘要: 核仁 G 蛋白 1 (Nucleolar G protein 1, NOG1) 是一种高度保守的核仁 GTP 酶, 在真核生物中广泛存在, 参与 60 S 核糖体亚基前体的组装。在线虫中敲减 *NOG1* 的表达造成生长缓慢、虫体变小和寿命延长的表型, 而过量表达 *NOG1* 则使线虫的寿命缩短。拟南芥的 *At1g10300* 基因注释为 *NOG1-2*, 但是其生物学功能还有待研究。该研究对其功能进行了初步研究, 首先检测了该基因在拟南芥各个器官的表达情况。结果表明: 该基因在 7 d 龄幼苗、茎生叶和花中均有表达, 其中在花中表达量最高。获得了 *At1g10300* 基因的 T-DNA 插入突变体, 发现在长日照条件下, *At1g10300* 突变体植株的莲座紧凑, 莲座叶片长宽比降低, 但叶面积和植株高度与野生型相比无显著差异, 表明其叶形发生改变; 突变体植株的抽薹时间晚于野生型。荧光定量 RT-PCR 结果表明, 突变体植株中开花促进因子 *FT*、*CO* 和 *GI* 的表达水平下调, 而开花抑制因子 *FLC* 的表达水平上调。以上结果揭示 *At1g10300* 基因的突变影响了 *FT*、*CO*、*GI* 及 *FLC* 基因的表达, 使植株出现晚花表型。

关键词: 拟南芥, 核仁 G 蛋白 1, *At1g10300* 基因, 开花时间, 叶形

中图分类号: Q945.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2017)08-1000-08

Arabidopsis At1g10300 gene regulates leaf morphology and flowering time

LIU Yi-Ran, YANG Xiao, MEN Shu-Zhen*

(Department of Plant Biology and Ecology, College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: Nucleolar G protein 1 (NOG1) is a highly conserved eukaryotic GTPase. NOG1 plays a significant role in the assembly of pre-60S ribosomal subunits. In yeast and animals, depletion of NOG1 results in reduced levels of 60S ribosomal subunits, aberrant pre-rRNA processing, and blockage of 60S ribosomal subunit export. A recent study in *Caenorhabditis elegans* found that knock-down *NOG1* expression causes slower growth, smaller body size and increased life span, whereas over-expression of *NOG1* results in decreased lifespan. However, the plant NOG1 has not been characterized. The *Arabidopsis At1g10300* gene was annotated as *NOG1-2*. However, its role in *Arabidopsis* growth and development is still unknown. In this study, we used physiological, genetics and molecular tools to analyze the biological roles of

收稿日期: 2016-10-22 修回日期: 2016-12-21

基金项目: 国家自然科学基金(31570247, 91417308, 91017009, 31460453); 天津市自然科学基金(14JCYBJC41200) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31570247, 91417308, 91017009, 31460453); the Natural Science Foundation of Tianjin (14JCYBJC41200)]。

作者简介: 刘艺冉(1992-), 女, 河北邯郸人, 硕士研究生, 主要从事植物分子生物学研究, (E-mail) nkliuyiran@163.com。

*通信作者: 门淑珍, 博士, 教授, 主要从事植物固醇的研究, (E-mail) shuzhenmen@nankai.edu.cn。

the *Arabidopsis At1g10300* gene. We firstly used semi-quantitative RT-PCR to investigate the transcriptional levels of *At1g10300* gene in various tissues of *Arabidopsis*, including 7-day-old seedling, rosette leaf, cauline leaf, stem, bud and flower. The transcription of the *At1g10300* gene was detected in seedlings, cauline leaves and blooming flowers. Among them, the highest transcriptional level was detected in blooming flowers. We then isolated a T-DNA insertion mutant allele of the *At1g10300* gene. Phenotypic analysis found that the *At1g10300* mutant had compact rosette and reduced ratio of leaf length/width compared to wild type. However, there was no significant difference in leaf area or plant height between the *At1g10300* mutant and wild type. These data indicated that leaf morphology of *At1g10300* mutant was altered. The *At1g10300* mutant also displayed a late bolting phenotype under the condition of long-day photoperiod. To determine the molecular mechanism of this late flowering phenotype, we used quantitative RT-PCR to analyze the transcriptional levels of key genes of the flowering time pathway, including *FLOWERING LOCUS T (FT)*, *CONSTANS (CO)*, *GIGANTEA (GI)* and *FLOWERING LOCUS C (FLC)*. The results showed that the transcriptional levels of the flowering promoting factors *FT*, *CO* and *GI* were down-regulated in the mutant plants compared with the wild type, whereas the transcription levels of the flowering inhibiting factor *FLC* was up-regulated. Taken together, these results suggest that mutation of *At1g10300* gene delays flowering time by regulating the expressions of *FT*, *CO*, *GI* and *FLC* genes in *Arabidopsis*. Our data indicate that like its ortholog in worms, loss-of-function of *At1g10300* gene also affects *Arabidopsis* rosette size and lifespan.

Key words: *Arabidopsis*, nucleolar G protein 1 (NOG1), *At1g10300* gene, flowering time, leaf morphology

小 G 蛋白是一类通过结合并水解鸟嘌呤-5'-三磷酸(GTP)成为鸟嘌呤-5'-二磷酸(GDP)从而将细胞信号传递到下游因子的蛋白(Bourne et al,1991)。小 G 蛋白参与调控细胞生命活动的各个方面,包括细胞增殖、囊泡运输、微管骨架的组装和核糖体的生成。核仁 G 蛋白 1(Nucleolar G protein1, NOG1)是一种高度保守的核仁 GTP 酶,在真核生物中广泛存在,参与 60S 核糖体亚基前体的组装(Park et al, 2001;Jensen et al,2003;Kallstrom et al,2003)。在线虫中敲减 *NOG1* 的表达造成生长缓慢、虫体变小和寿命延长的表型,而过量表达 *NOG1* 则使线虫的寿命缩短(Kim et al,2014)。Wu et al(2016)对 60S 核糖体亚基前体的结构解析发现,NOG1 与多个组装蛋白和核糖体 RNA 相互作用,是 60S 核糖体亚基组装和运输到核外的重要元件。目前关于植物 NOG1 同源基因的研究报道相对较少。拟南芥中存在 *At1g50920* 和 *At1g10300* 两个 *NOG1* 的同源基因,分别注释为 *NOG1-1* 和 *NOG1-2*,二者编码的蛋白均定位于细胞核中(Suwastika et al,2014)。但其是否具有与酵母和线虫 NOG1 蛋白类似的功能以及在植物生长发育中的作用还有待研究。拟南芥基因表达数据库的资料显示 *At1g10300* 基因在花中表达水平较其他组织高,故推测其可能与植物的开花相关。

Heo et al (2012) 研究表明,钙离子依赖的 G 蛋白 XLG2 (Extra-large G Protein 2, XLG2)可以促进开花整合因子 FT (FLOWERING LOCUS T) 和 SOC1/AGL20 (SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1)的表达,促使拟南芥提早开花。

拟南芥的开花时间受许多内部和外部因素的调控,可归为 4 个基本途径,即光周期途径(photoperiod pathway)、自主途径(autonomous pathway)、春化途径(vernalization pathway)和赤霉素途径(GA pathway)(Mouradov et al,2002; Simpson & Dean,2002)。一般认为有两个基因在这些促进开花途径的下游起作用,其中一个 *CONSTANS (CO)* 基因,另一个是 *FLOWERING LOCUS C (FLC)* 基因(李昱等,2007)。*CO* 为光周期途径下游的主要调控因子,也是生物钟调节途径的关键基因,该基因编码具有两个 B-box 类型锌指结构的 GATA 转录因子,其 C 端有 CTT 域(Putterill et al,1995; Suárez-López et al,2001; 张素芝和左建儒,2006)。*GI* 基因也属于光周期途径中,是独立于 *CO* 通过 miR172 来调节开花的(Jung et al,2007)。*FLC* 编码一个含 MADS 结构域的转录因子,是开花抑制因子。自主途径和春化作用都是通过抑制 *FLC* 的表达促进开花的。因此,*FLC* 是自主途径和春化途径的调节节点(Michaels & Amasino,2001)。而成花素基因

FT 在调控开花时间途径的下游起整合因子的作用 (Samach et al, 2000)。

为了研究 *At1g10300* 基因的功能, 我们通过半定量 RT-PCR 测定了该基因在拟南芥各个组织器官的表达情况, 并获得了该基因的纯合突变体, 对其表型进行观察及定量分析, 并运用荧光定量 RT-PCR 测定了突变体中调控开花时间的关键基因 *CO*、*FLC*、*FT* 等的表达情况, 为进一步研究 *At1g10300* 基因在植物开花方面的调控机制奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 材料

选用拟南芥哥伦比亚 (Columbia, Col-0) 生态型作为研究材料。*At1g10300* 基因的 T-DNA 插入突变体 SALK_043706 订购自 ABRC (*Arabidopsis* Biological Resource Center) 拟南芥种子库。

1.2 方法

1.2.1 拟南芥的培养 消毒: 将拟南芥种子倒入 1.5 mL 离心管中, 加入 1 mL 70% 乙醇消毒, 颠倒混匀 5 min 后吸出液体; 再用 1 mL 1% 的次氯酸钠消毒, 颠倒混匀 10 min; 吸出次氯酸钠, 用无菌蒸馏水冲洗种子 4~5 次, 最后加入 1 mL 无菌蒸馏水。为使种子萌发整齐, 放入 4 °C 冰箱中, 低温处理 3 d。然后均匀铺在 MS 固体培养基表面, 在植物光照培养箱中竖直放置。待培养至 7 d, 将幼苗移到土中, 在光周期为 16 h 光/8 h 暗的培养室中培养。

1.2.2 拟南芥 DNA 的提取 在 1.5 mL 的离心管中加入 400 μ L DNA 提取缓冲液 ($0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl, $0.25 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl, 0.5% SDS, $0.025 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA), 取约 1 cm^2 的拟南芥叶片 (3~4 周龄植株) 放入上述 DNA 提取缓冲液中, 用研磨棒将叶片研碎成匀浆。之后 $14\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 用移液枪吸取 200 μ L 上清转移到新管中, 加入 400 μ L 无水乙醇, 颠倒混匀。 $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 1 min, 倒掉上清, 沉淀于室温下晾干。最后加入 50~100 μ L 无菌水溶解 DNA。提取到的拟南芥基因组 DNA 可在 4 °C 条件下保存至少 1 个月。

1.2.3 总 RNA 的提取和 cDNA 的合成 分别采集野生型拟南芥的 7 d 龄幼苗、莲座叶、茎生叶、茎的第

二节间、花苞和盛开的花用于 *At1g10300* 基因表达模式的分析。采集 24 d 苗龄的野生型和突变体植株的莲座叶用于突变体植株的转录水平分析。分别取约 100 mg 植物材料, 用“酸性酚-硫氰酸胍-酚氯仿提取法”提取总 RNA, 对得到的总 RNA 进行琼脂糖凝胶电泳检测其质量; 对粗提后的 RNA 进行 DNAase I 消化并除去多糖、蛋白质等成分, 用琼脂糖凝胶电泳检测纯化后的 RNA 的质量。用反转录试剂盒对 2 μ g 总 RNA 进行反转录, 在 PCR 仪中 42 °C 反应 30 min, 85 °C 保温 5 min 使酶失活, 即合成 cDNA。

1.2.4 半定量 RT-PCR 分析 采用反转录后合成的 cDNA, 通过 PCR 检测 *At1g10300* 基因的转录水平, 并选用 *ACTIN2* 基因作为内参。反应程序: 预变性 94 °C 5 min; 变性 94 °C 30 s, 退火 57 °C 30 s, 延伸 72 °C 30 s, 35 个循环。共进行 3 次实验重复。

1.2.5 荧光定量 RT-PCR 分析 以 24 d 苗龄的野生型和突变体植株的莲座叶的总 RNA 反转录得到的 cDNA 作模板, 以 *ACTIN2* 基因为内参, 进行定量 PCR 反应。采用 Primer Premier 5.0 软件设计 *At1g10300* 基因的特异引物作为扩增引物。扩增程序如下: 预变性 94 °C 2 min; 变性 94 °C 10 s, 退火 60 °C 10 s, 延伸 72 °C 30 s, 40 个循环。3 次实验重复。

2 结果与分析

2.1 *At1g10300* 基因的表达模式

为了探究 *At1g10300* 基因在拟南芥中的时空表达模式, 我们取野生型拟南芥的 7 d 龄幼苗、莲座叶、茎生叶、第二节间茎、花苞和盛开的花作为材料, 提取其总 RNA 并反转录获得 cDNA, 通过 RT-PCR 来检测拟南芥不同组织中 *At1g10300* 基因的表达水平。结果显示 *At1g10300* 基因在成熟的花中表达量最高, 在 7 d 幼苗和茎生叶中也有一定的表达 (图 1)。这暗示着 *At1g10300* 基因对拟南芥的开花有一定作用。

2.2 *At1g10300* 突变体植株的获得及分子鉴定

为研究 *At1g10300* 基因在拟南芥中的功能, 我们获得可稳定遗传的 *At1g10300* 突变体, 为 T-DNA 插入突变体, 插入位点位于该基因的第二个外显子

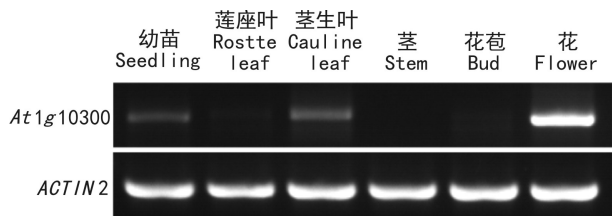


图 1 *At1g10300* 基因在拟南芥不同组织中的表达情况
Fig. 1 Expression levels of *At1g10300* gene in various *Arabidopsis* tissues

(图 2:A)。进一步通过 RT-PCR 分析该基因在野生型和突变体中的表达情况。结果表明野生型 Col-0 中 *At1g10300* 基因可以正常表达,且扩增产物大小符合预期,而突变体植株中检测不到 *At1g10300* 基因的表达(图 2:B)。综合以上结果,可以确定获得的 *At1g10300* 基因的突变体为敲除突变体。

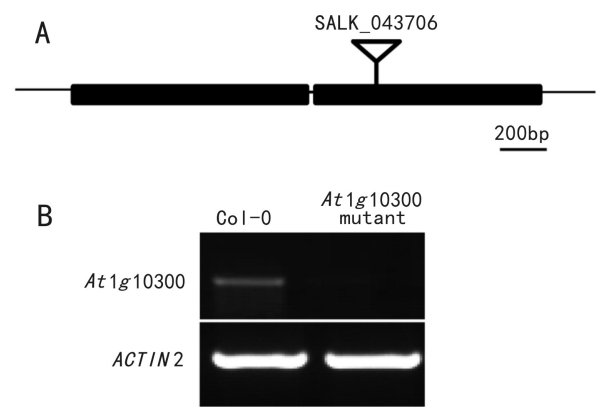


图 2 *At1g10300* 突变体的分子鉴定 A. *At1g10300* 基因结构以及 *At1g10300* 突变体 T-DNA 插入位点示意图;
B. RT-PCR 电泳结果,显示 SALK_043706 突变体是 *At1g10300* 基因表达缺失突变体。

Fig. 2 Molecular identification of *At1g10300* mutant
A. Structure and T-DNA insertion site of *At1g10300* gene;
B. RT-PCR analysis of expression levels of the *At1g10300* gene in wild-type and mutant.

2.3 *At1g10300* 突变体叶形改变

对 *At1g10300* 基因突变体植株的生长发育情况进行观察,发现与野生型相比,*At1g10300* 突变体植株莲座形态较紧凑(图 3:A),测量结果也表明其莲座直径显著小于野生型(图 3:B)。为探究产生这一表型的原因,首先测量了植株的叶柄长度,发现

At1g10300 突变体植株与野生型的叶柄长度无显著差异(图 3:C)。接下来测量了叶片长度和叶片宽度,结果显示 *At1g10300* 突变体植株的叶片长度比野生型小 0.4~0.7 cm(图 3:D),且差异极显著($P < 0.01$),叶片宽度比野生型多 0.3~0.5 cm(图 3:E),且差异极显著($P < 0.01$),计算得出 *At1g10300* 突变体植株与野生型相比叶片长宽比显著降低($P < 0.01$)(图 3:F)。而经测量发现,虽然突变体植株叶片长度和宽度发生变化,但其叶面积与野生型相比并无显著差异(图 3:G),植株高度(图 3:H)也无显著变化。以上结果表明,*At1g10300* 突变体特异地影响了叶片的形态,使叶片长度缩短,宽度变宽,造成莲座紧凑的表型。

2.4 *At1g10300* 突变体开花延迟

观察发现 *At1g10300* 突变体植株开花明显晚于野生型(图 4:A)。拟南芥植株在营养生长过程中莲座叶持续成对出现直至其转变为生殖生长,而植株的抽薹正是其由营养生长转变为生殖生长的重要节点,因此为了准确衡量野生型与 *At1g10300* 突变体植株的开花时间,选取植株抽薹时间以及植株抽薹时的叶片数来进行统计。结果显示 *At1g10300* 突变体植株比野生型植株抽薹时间晚 3~5 d(图 4:B),开花时突变体莲座叶片数比野生型多 7~10 片(图 4:C)。以上结果表明,*At1g10300* 突变体植株出现明显的开花延迟的表型。

2.5 *At1g10300* 突变体植株中开花时间相关基因的表达量改变

基于上述表型观察及统计结果,对于 *At1g10300* 突变体植株开花推迟的分子机制开展进一步探究。首先选择控制植物由营养生长转变为生殖生长的关键基因 *FT*,测定其在野生型及突变体中的相对表达水平,发现在 *At1g10300* 突变体植株中 *FT* 基因的相对表达量比野生型降低了一倍多(图 5:A)。接下来测定了控制开花时间的正调节基因 *CO*、*GI* 以及负调节基因 *FLC* 的转录情况,结果表明在 *At1g10300* 突变体植株中 *CO* 及 *GI* 基因的相对表达量比野生型降低 50%左右(图 5:B-C);而突变体中开花时间负调节因子 *FLC* 的相对表达量则比野生型提高 20 多倍(图 5:D)。因此,*At1g10300* 基因突变使开花时间正调节基因 *FT* *CO* 和 *GI* 的转录水平降低,使开花抑制基因 *FLC* 的表达上调,造成突变

体植株晚花的表型。

3 讨论

本研究通过植物生理学、遗传学和分子生物学手段初步分析了拟南芥注释为编码 *NOG1* 的 *At1g10300* 基因的功能。对 *At1g10300* 突变体植株的表型观察表明,突变体开花延迟,并检测了 *At1g10300* 突变体植株中 *CO*、*GI*、*FLC* 和 *FT* 基因的相对表达情况。本研究结果表明,由于 *At1g10300* 基因功能的缺失,导致 *CO* 和 *GI* 基因表达量降低, *FLC* 基因表达量升高,进而影响 *FT* 基因表达量降低,最终导致突变体植株的晚花表型。但是, *At1g10300* 基因是如何调节这些开花时间相关基因的表达还有待进一步研究。线虫中的研究发现, *NOG1* 基因可通过胰岛素信号通路调节线虫的脂肪积累、生长速率和寿命长短 (Kim et al, 2014)。拟南芥 *At1g10300* 基因是否通过某种信号通路调节开花基因的表达还有待后续的研究。

At1g10300 突变体莲座叶形态发生改变,与野生型相比突变体莲座叶片变短、变宽,但叶面积无显著差异。叶在空间三维轴向上的极性包括第一维轴向是基—顶轴 (proximal-distal axis),基部靠近茎顶端分生组织分化出叶柄,远离茎顶端分生组织分化出叶片。第二个轴向是中—侧轴 (medial-lateral axis),沿着叶的中脉向叶的边缘水平扩展的方向。第三个轴向是近—远轴 (adaxial-abaxial axis),也称背—腹轴 (dorsal-ventral axis),叶原基靠近茎顶端分生组织的一侧称为近轴面(背面),远离茎顶端分生组织的一侧称为远轴面(腹面)。本研究中, *At1g10300* 突变体植株的基—顶轴分化显著缩短,中—侧轴分化显著增加,长宽比显著缩短。拟南芥的叶沿基—顶轴分化会产生基部的叶柄和顶部的叶片, *ROTUNDIFOLIA3/4* (*ROT3/4*) 是调控拟南芥叶基—顶轴极性的两个基因。*ROT3* 编码细胞色素 P450 家族的 *CYP90C1*,参与油菜素内脂 (BR) 的合成,可能通过 BR 影响细胞的极性扩展来调节叶的长度 (Kim et al, 2005)。*ROT4* 编码一种小肽,可能通过抑制细胞在基—顶轴方向的分裂来调节叶的长度 (Narita et al, 2004)。拟南芥 *ANGUSTIFOLIA* (Folkers et al, 2002; Kim et al, 2002) 和

SPIKE1 主要通过影响细胞在中—侧轴方向的生长来调节叶的宽度 (Tsuge et al, 1996), 而 *ANGUSTIFOLIA3* 则主要通过调控中—侧轴方向上的细胞数量来调控叶的宽度 (Horiguchi et al, 2005)。叶在基—顶轴和中—侧轴两个轴向上的协调生长,决定了叶具有一定的长/宽比 (Tsukaya, 2006)。*At1g10300* 基因的缺失,可能影响到上述调节叶片形态的相关基因的表达,进而产生叶片长宽比显著减小的表型。

综上所述,本研究获得了 *At1g10300* 基因功能缺失的突变体,其与野生型相比出现了明显的开花延迟,莲座叶片形态改变的表型。突变体中开花时间的正调节因子 *CO*、*GI*、*FT* 基因的相对表达量显著降低,而负调节因子 *FLC* 基因的相对表达量显著升高。以上结果表明 *At1g10300* 基因在调控植物的生长发育中起到重要作用,也为今后深入研究 *At1g10300* 基因在植物开花过程和叶形态建成中的作用打下了基础。

参考文献:

- BOURNE HR, SANDERS DA, MCCORMICK F, 1991. The GTPase superfamily: conserved structure and molecular mechanism [J]. *Nature*, 349(6305): 117-127.
- DUGAS DV, BARTEL B, 2004. MicroRNA regulation of gene expression in plants [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 7(5): 512-520.
- EMERY JF, FLOYD SK, ALVAREZ J, 2003. Radial patterning of *Arabidopsis* shoots by class III HD-ZIP and KANADI genes [J]. *Curr Biol*, 13(20): 1768-1774.
- FOLKERS U, KIRIK V, SCHOBINGER U, et al, 2002. The cell morphogenesis gene *ANGUSTIFOLIA* encodes a CtBP/BARS-like protein and is involved in the control of the microtubule cytoskeleton [J]. *EMBO J*, 21(6): 1280-1288.
- HEO JB, SUNG S, ASSMANN SM, 2012. Ca^{2+} -dependent GTPase, extra-large G protein 2 (XLG2), promotes activation of DNA-binding protein related to vernalization 1 (RTV1), leading to activation of floral integrator genes and early flowering in *Arabidopsis* [J]. *J Biol Chem*, 287(11): 8242-8253.
- HORIGUCHI G, KIM GT, TSUKAYA H, 2005. The transcription factor *AtGRF5* and the transcription coactivator *AN3* regulate cell proliferation in leaf primordia of *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant J*, 43(1): 68-78.
- JENSEN BC, WANG Q, KIFER CT, 2003. The *NOG1* GTP-binding protein is required for biogenesis of the 60s ribosomal subunit [J]. *J Biol Chem*, 278: 32204-32211.

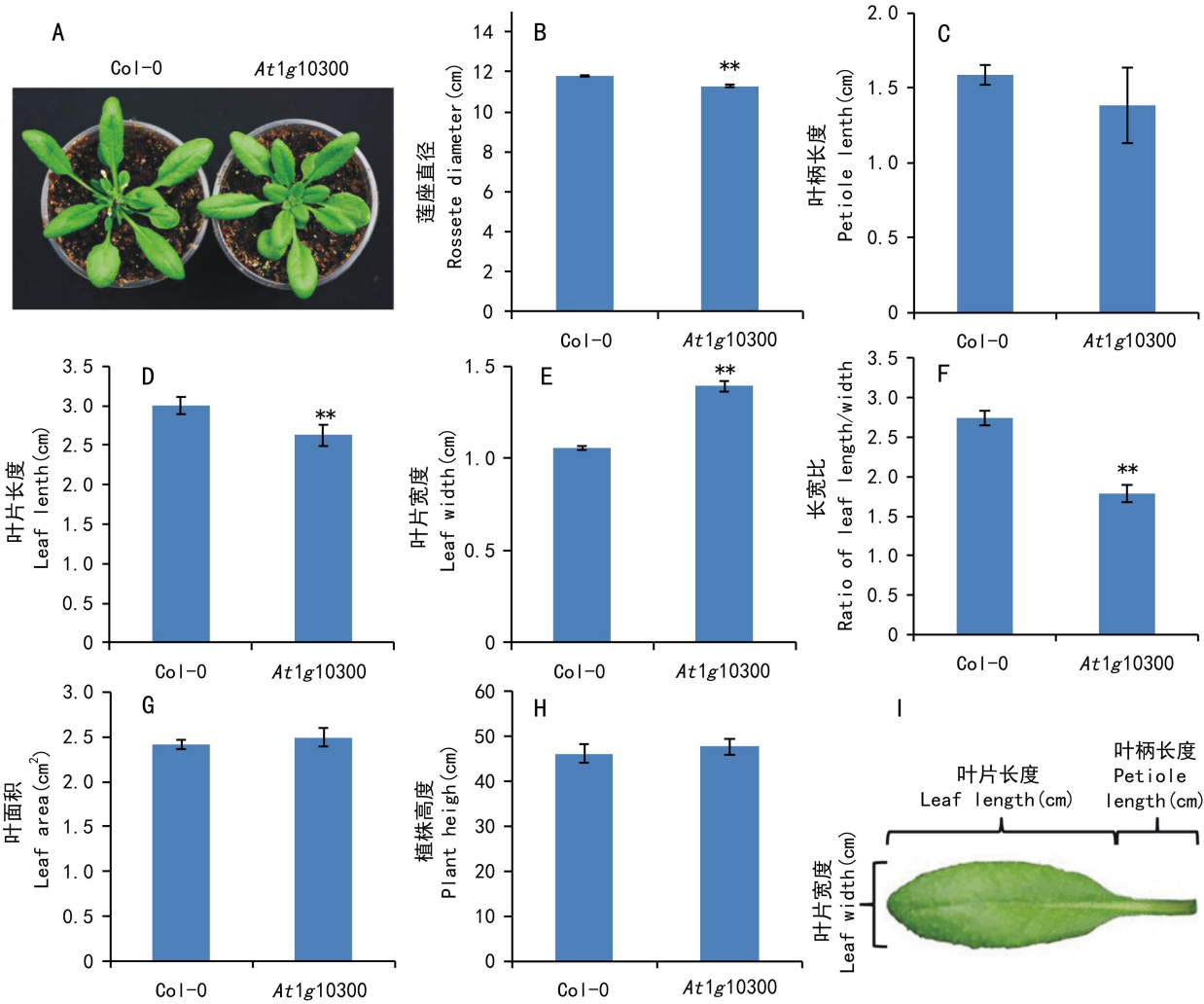


图3 *At1g10300* 突变体叶片形态改变 A. 四周苗龄的野生型和 *At1g10300* 突变体植株; B-G. 24 d 苗龄的野生型和 *At1g10300* 突变体植株的莲座直径, 叶片长度, 叶片宽度, 叶柄长度, 叶片长宽比和叶面积; H. 野生型和 *At1g10300* 突变体植株最终植株高度; I. 展示叶片长度、宽度和叶柄长度的测量方法。n = 20, 3 次实验重复, * * 表示极显著差异, 经 t 检验, P < 0.01。下同。

Fig. 3 *At1g10300* mutation effects on leaf morphology A. Phenotypes of four-week-old wild-type and *At1g10300* mutant; B-G. Rosette diameter, length and width of leaf, length of petiole, ratio of leaf length/width, and leaf area of 24-day-old wild-type and *At1g10300* mutant; H. Height of mature wild-type and *At1g10300* mutant plants; I. Schematic measuring of length and width of leaf, and length of petiole. The data were derived from three experiments and are presented as the $\bar{x} \pm s$ (n = 20 for three experiments, * * means extreme differences, P < 0.01, Student's t-test). The same below.

JUNG J, SEO Y, SEO PJ, 2007. The GIGANTEA-regulated microRNA172 mediates photoperiodic flowering independent of CONSTANS in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 19(9): 2736-2748.

JUAREZ MT, KUI JS, THOMAS J, 2000. MicroRNA-mediated repression of rolled leaf1 specifies maize leaf polarity [J]. *Nature*, 428(6978): 84-88.

KALLSTROM G, HEDGES J, JOHNSON A, 2003. The putative GTPases Noglp and Lsglp are required for 60S ribosomal subunit biogenesis and are localized to the nucleus and cytoplasm, respectively [J]. *Mol Cell Biol*, 23 (12): 4344-4355.

KIDNER C.A, MARTIENSSEN RA, 2004. Spatially restricted microRNA directs leaf polarity through ARGONAUTE1 [J]. *Nature*, 428(6978): 81-84.

KIM YI, BANDYOPADHYAY J, CHO I, et al, 2014. Nucleolar GTPase NOG-1 regulates development, fat storage, and longevity through insulin/IGF signaling in *C. elegans* [J]. *Mol Cells*, 37 (1): 51-57.

KIM GT, FUJIOKA S, KOZUKA T, et al, 2005. CYP90C1 and CYP90D1 are involved in different steps in the brassinosteroid biosynthesis pathway in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant J*, 41

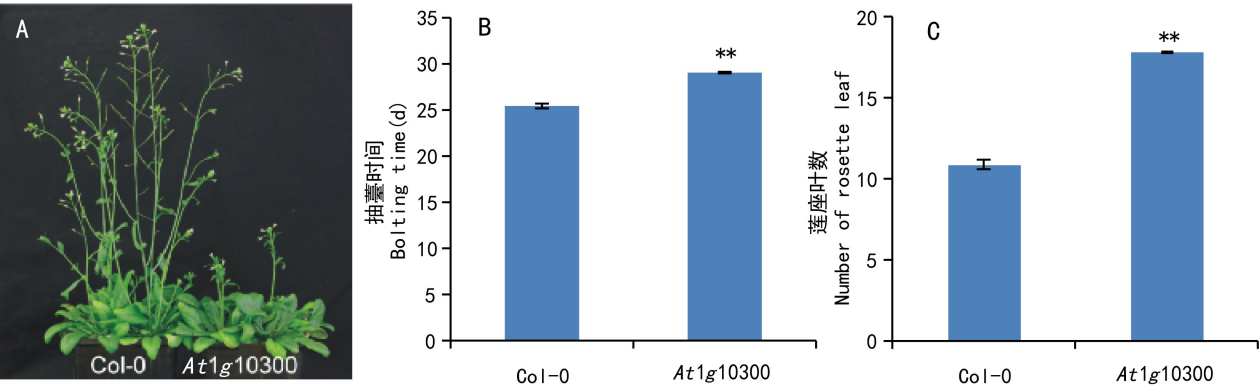


图 4 *At1g10300* 突变体开花延迟 A. 五周龄的野生型和 *At1g10300* 突变体植株; B. 野生型和 *At1g10300* 突变体植株的抽薹时间; C. 野生型和 *At1g10300* 突变体植株抽薹时的莲座叶片数。
Fig. 4 Late-flowering phenotype of *At1g10300* mutant A. Phenotypes of five-week-old wild-type and *At1g10300* mutant; B. Bolting time of wild-type and *At1g10300* mutant; C. Rosette leaf number of wild-type and *At1g10300* mutant at bolting.

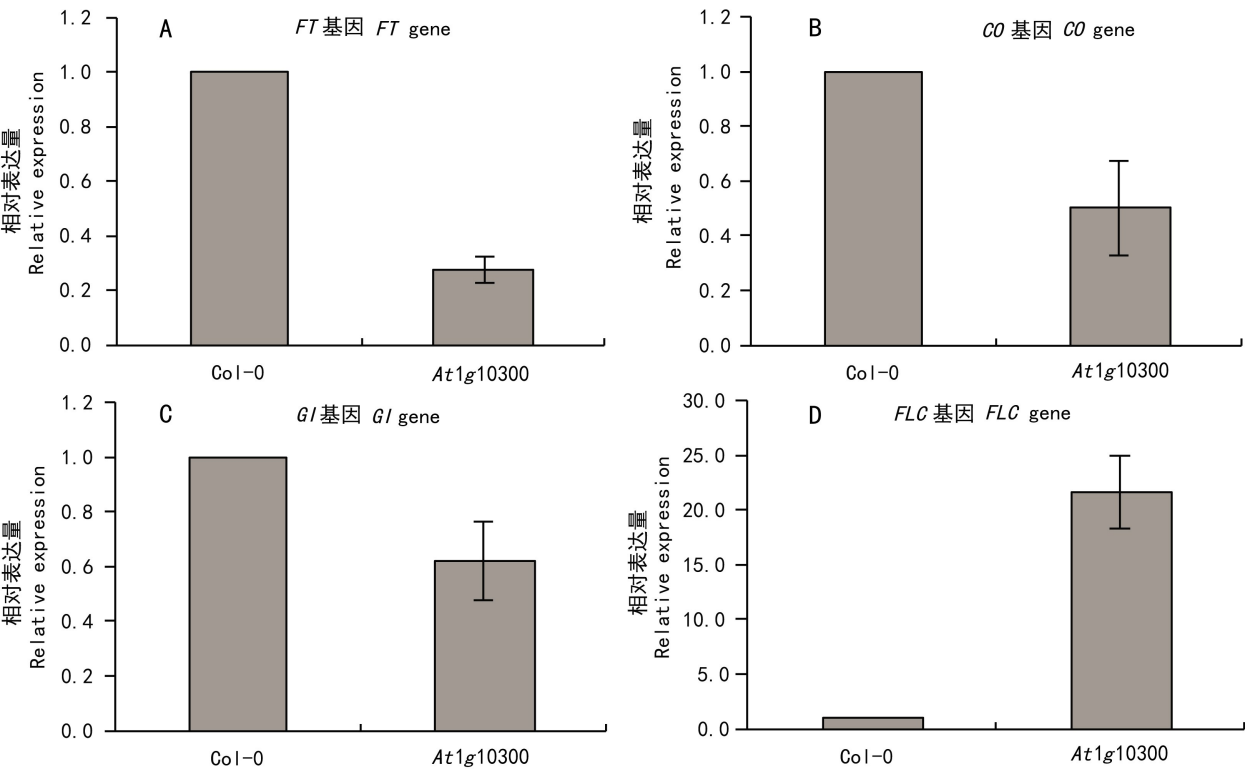


图 5 *At1g10300* 突变体中开花时间相关基因的相对表达量
Fig. 5 Relative expression levels of flowering-time genes in *At1g10300* mutant

(5): 710–721.
LI Y, LUO ZP, ZHAO SQ, 2007. Integration pathway of flowering time control in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol Comm*, 43(5): 799–804. [李昱, 罗志鹏, 赵淑清, 2007. 拟南芥开花时间调控的整合途径 [J]. *植物生理学通讯*, 43(5): 799–804.]
MALLORY AC, REINHART BJ, JONES-RHOADES MW, 2004. MicroRNA control of PHABULOSA in leaf development;

- importance of pairing to the microRNA 5' region [J]. *Embo J*, 23(16): 3356–3364.
- MICHAELS SD, AMASINO RM, 2001. Loss of flowering locus C activity eliminates the late-flowering phenotype of *frigida* and autonomous pathway mutations but not responsiveness to vernalization [J]. *Plant Cell*, 13(4): 935–941.
- MOURADOV A, CREMER F, COUPLAND G, 2002. Control of flowering time: interacting pathways as a basis for diversity [J]. *Plant Cell*, 14: 111–130.
- NARITA NN, MOORE S, HHOIGUCHI G, et al, 2004. Overexpression of a novel small peptide ROTUNDIFOLIA4 decreases cell proliferation and alters leaf shape in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant J*, 38: 699–713.
- PARK JH, JENSEN BC, KIFER CT, et al, 2001. A novel nucleolar G-protein conserved in eukaryotes [J]. *Cell Sci*, 114 (Pt1): 173–185.
- PUTTERILL J, ROBSON F, LEE K, et al, 1995. The COSTANS gene of *Arabidopsis* promotes flowering and encodes a protein showing similarities to zinc-finger transcription factors [J]. *Cell*, 80: 847–857.
- SAMACH A, ONOUCH H, GOLD SE, 2000. Distinct roles of CONSTANS target genes in reproductive development of *Arabidopsis* [J]. *Science*, 288(5471): 1613–1616.
- SIMPSON GG, DEAN C, 2002. *Arabidopsis*, the Rosetta stone of flowering time [J]. *Science*, 296(5566): 285–289.
- SUAREZ-LOPEZ P, WHEATLEY K, ROBSON F, 2001. CONSTANS mediates between the circadian clock and the control of flowering in *Arabidopsis* [J]. *Nature*, 410(6832): 1116–1120.
- SUWASTIKA IN, DENAWA M, YOMOGIJARA, 2014. Evidence for lateral gene transfer (LGT) in the evolution of eubacteria-derived small GTPases in plant organelles [J]. *Front Plant Sci*, 5: 678.
- TSUGE T, TSUKAYA H, UCHIMIYA H, 1996. Two independent and polarized processes of cell elongation regulate leaf blade expansion in *Arabidopsis thaliana* (L.) [J]. *Heynh Dev*, 122(5): 1589–1600.
- TSUKAYA H, 2006. Mechanism of leaf-shape determination [J]. *Ann Rev Plant Biol*, 57: 477–496.
- WU S, TUTUNCUOGLU B, YAN K, et al, 2016. Diverse roles of assembly factors revealed by structures of late nuclear pre-60S ribosomes [J]. *Nature*, 534 (7605): 133–137.
- YAO Y, WANG XP, 2015. Molecular mechanisms of flowering in *Arabidopsis thaliana* [J]. *J Anhui Agric Sci*, 43(9): 7–10. [姚远, 王晓萍, 2015. 拟南芥开花相关的分子调控机制的研究 [J]. *安徽农业科学*, 43(9): 7–10.]
- ZHANG SZ, ZUO JR, 2006. Advance in the flowering time control of *Arabidopsis* [J]. *Prog Biochem Biophys*, 33(4): 301–309. [张素芝, 左建儒, 2006. 拟南芥开花时间调控的研究进展 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 33(4): 301–309.]