



大豆不育系内源激素及基因表达与衰老的关系

何德鑫¹, 李志刚¹, 赵丽梅², 迟晓雪¹, 郑根昌¹, 刘 鹏¹, 张卫国¹, 曹 帅¹

(1. 内蒙古民族大学 农学院, 内蒙古 通辽 028000; 2. 吉林农业科学院 大豆研究所/大豆国家工程研究中心, 吉林 长春 130033)

摘要:为探究大豆不育系产生持绿现象的原因,选用异交结实率不同的大豆不育系和配套保持系为材料,通过测量鼓粒期大豆叶片中生理生化指标含量以及调控衰老相关基因 *GmSARK*、*GmCYN1* 和 *GmSGRI* 的相对表达量,分析植物内源激素和基因表达与衰老之间的关系。结果表明:不育系的赤霉素、细胞分裂素含量高于其同型保持系;脱落酸含量、*GmSARK*、*GmSGRI*、*GmCYN1* 基因的相对表达量低于其同型保持系;生长素、乙烯含量与其同型保持系间无显著性差异。大豆不育系与其同型保持系脱落酸、乙烯和细胞分裂素共同调节大豆衰老基因的表达程度,进而影响大豆衰老,是引起大豆不育系持绿现象的部分原因。

关键词:大豆不育系;内源激素;基因;持绿

Relationship Between Endogenous Hormones, Gene Expression and Senescence in Soybean Male Sterile Lines

HE De-xin¹, LI Zhi-gang¹, ZHAO Li-mei², CHI Xiao-xue¹, ZHENG Gen-chang¹, LIU Peng¹, ZHANG Wei-guo¹, CAO Shuai¹

(1. College of Agriculture, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao 028000, China; 2. Soybean Research Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences/National Engineering Research Center for Soybean, Changchun 130033, China)

Abstract: In order to investigate the causes of green persistence in soybean sterile lines, this study selected soybean sterile lines and supporting maintenance lines with different outcrossing and seed setting rates as materials, measured the content of physiological and biochemical indicators in soybean leaves during the drum kernel stage and regulating aging-related genes *GmSARK*, and the relative expression of *GmCYN1* and *GmSGRI*. The relationship between endogenous hormones, gene expression and senescence were analyzed. The results showed that the contents of gibberellin and cytokinin in male sterile lines were higher than those in their homologous maintainers. The relative expressions of abscisic acid content, *GmSARK*, *GMSGRI* and *GMCYN1* genes were lower than those in their homologous maintainers. There was no significant difference in the contents of auxin and ethylene between their homologous maintainers. Abscisic acid, ethylene and cytokinin of soybean male sterile lines and their homologous maintainers may regulate the expression of senescence genes in soybean, and then affect the senescence of soybean, which is part of the reason for the green phenomenon of soybean male sterile lines.

Keywords: Soybean male sterile line; Endogenous hormone; Gene; Green retention

植株从种子萌发至成熟整个生育期里,叶片衰老是植株发育的最终阶段,同时受多种因素影响,对植株常生长发育具有重要意义。叶片衰老会致使植株光合效率降低、加速核酸和蛋白质的降解和细胞结构衰落等^[1-4]。植物激素为影响植株衰老的主要内部因子之一,其中植物内源激素发挥了重要的作用,正调控或负调控叶片衰老的进程。各内源激素协同作用可调控叶片衰老,前人研究表明,脱落酸(ABA)和乙烯(ETH)可促进植物衰老,相反赤霉素、生长素和细胞分裂素可延缓植物衰老^[5-6]。CTK作为抑制衰老激素,可延缓叶绿体和类胡萝卜素的分解,抑制核酸的降解,从而提升叶片叶绿素含量和有机与无机溶质含量,且外援细胞分裂素处理也能延缓植物衰老^[7-9]。乙烯做为促进衰老的激素,植株的叶片、根系和茎秆等器官的衰老均与植

物自身乙烯含量有关,且内源激素乙烯含量较高可导致植株叶片变黄和花瓣褪色,同时外援喷施乙烯可促进果实成熟^[10-12]。魏星等^[13]研究表明,随着烟叶衰老,烟叶叶绿素、赤霉素、细胞分裂素和生长素含量降低,脱落酸含量升高。郭绍霞等^[14-15]研究表明,适宜浓度赤霉素可增加可溶性蛋白质含量,诱导开花,打破休眠,提高SOD活性和养分积累,减少活性氧的伤害,从而延缓衰老。周伟权等^[16]研究表明,脱落酸含量伴随果实的衰老而增加,且外援喷施脱落酸可明显促进衰老。叶片衰老的原始动力是基因的表达,多种调节基因对植物衰老具有决定性作用。Nakano等^[17]研究表明,*GmSARK*、*GmCYN1*和*GmSGRI*等基因表达,严重影响叶绿素和激素的合成,从而调控植物衰老。据报道*GmSARK*介导的叶片衰老的分子机制,特别是其在衰老诱导激素途

收稿日期:2019-09-17

基金项目:内蒙古自治区科技计划(KJH1702);内蒙古自治区科技储备项目(2018MDCB02)。

第一作者简介:何德鑫(1993-),男,硕士,主要从事遗传育种研究。E-mail:670888084@qq.com。

通讯作者:李志刚(1970-),男,博士,教授,主要从事遗传育种研究。E-mail:13948651158@126.com。

径,利用糖皮质激素诱导转录系统制备转基因拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)植株诱导 *GmSARK* 过表达,导致叶片早衰,拟南芥叶绿体破坏与花形态异常^[18]。*GmSARK* 过度表达的幼苗转录分析结果在激素合成和信号传导方面有许多变化,特别是细胞分裂素的抑制和生长素、乙烯途径的诱导。而抑制生长素作用或乙烯生物合成能够减轻 *GmSARK* 诱导的衰老。生长素抗性或乙烯突变不敏感完全逆转了 *GmSARK* 诱导的衰老^[18]。梅圆圆等^[19]研究表明,过表达 *GmSARK* 可强烈诱导转基因植株早衰。Shi 等^[20]研究表明 *GmSGR1* 基因是大豆中的 *SGR1* 型保持绿色基因,它在调节叶片衰老、光系统 II (*PSII*)效率和植物生产力方面发挥了重要作用,且可通过调节光合性能间接影响叶片的衰老,同时 *GmCYN1* 也是调节叶绿素降解的关键基因。Zhang 等^[21]研究表明 4 个与衰老相关的基因 *GmSARK*、*GmSGR1*、*GmCYN1* 和 *GmNAC* 的表达水平在去势或种子损伤处理中均下降。

持绿(又叫滞绿,stay-green)现象的发生主要是由于植物体叶片在衰败过程中其内部的叶绿素不正常降解和相关代谢异常所造成的。持绿现象主要表现在植物成熟后叶片依然呈现绿色很长时间,并且没有发生黄化反应^[18]。在大豆杂交种子生产及亲本不育系繁殖过程中,不育系存在着严重的持绿现象。持绿现象不仅影响籽粒的收获,而且严重制约着大豆杂种优势育种工作的进展,且大豆激素水平的最高值大多处于快速灌浆的鼓粒期,其籽粒的发育与植物内源激素水平有关,对籽粒的重量有着直接影响^[22]。因此本研究选用不同异交率的不育系及其同型保持系为试验材料,于鼓粒期采集样品,进行激素含量以及衰老相关基因相对表达量的比较分析,揭示大豆不育系在鼓粒期后产生持绿现象的原因,为大豆杂交制种过程中源大库小问题提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试大豆材料选用吉林省农业科学院大豆研究所提供的大豆品种 JLCMS116、JLCMS213、JLCMS9 的不育系和配套保持系各 1 对,其中不育系分别以 A-1、A-2、A-3 表示,保持系分别以 B-1、B-2、B-3 表示,不育系不同异交率大小分别为:A-1 > A-2 > A-3。

1.2 试验设计

试验在内蒙古通辽市平安堡村试验田进行,于 2017 年 5 月 12 日播种,分为 3 个小区,各小区自然隔离 1 500 m,采用父母本 1:1 等行距种植,每小区 6 行,行距 60 cm,株距 10 cm,父母本相间种植。小区面积为 30 m²,试验材料均同一时期播种,生长期采用常规大田栽培管理方法。

1.3 方法

大豆鼓粒期,取大豆主茎节下三复叶为参试样品,用液氮速冻后,转入 -70 ℃ 冰箱保存备用。内源激素赤霉素、生长素、脱落酸、细胞分裂素和乙烯含量采用酶联免疫吸附法(ELISA)测量,试剂盒购于奇松生物科技有限责任公司。由上海启因生物科技有限公司,采用高通量荧光定量 qPCR 检测方法,检测衰老基因 *GmSARK*、*GmCYN1*、*GmSGR1* 和 *GmCYP2* 的相对表达量。PCR 检测试剂盒为 TB Green™ Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus) (Takara, Code No. RR820A)。PCR 反应体系:TB Green Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus)_(2 ×) 5 μL、Primer F 0.4 μL、Primer R 0.4 μL、ROX Reference Dye(50 ×) 0.2 μL、DNA 样品 1 μL、ddH₂O 3 μL、总体积 10 μL。PCR 反应条件:95 ℃ 30 s;95 ℃ 5 s,40 个循环;60 ℃ 30 s,40 个循环。CT 检测限:40 个循环。其中 *GmCYP2* 为内参基因,引物序列如表 1 所示^[23]。

表 1 衰老相关基因 PCR 检测结果
Table 1 PCR results of aging-related genes

引物名称 Primer name	引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')	退火温度 Annealing temperature/℃	片段长度 Product size/bp
GmSARK-F	TTCAACAAAGAGGAGGCCGCT	57	105
GmSARK-R	TTCTAGCATGCTGACCACCG		
GmCYN1-F	GGACAGGTAATTGGTGCCTGA	55	134
GmCYN1-R	TGTCTGAGCTAAGGGTGTCA		
GmSGR1-F	CCGCTTACGTTGAGCCCTAT	58	139
GmSGR1-R	AATTTGGCAGCATCCCCGTA		
GmCYP2-F	CGGGACCAGTGTGCTTCTTCA	58	154
GmCYP2-R	CCCCTCCACTACAAAGGCTCG		

1.4 数据分析

采用 Excel 2007 进行数据整理,并用 DPS 16.05 进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 大豆不育系及其同型保持系内源激素含量比较

A-1 赤霉素含量与 A-2 间差异显著,与 A-3 间差异极显著,具体表现为 A-1 < A-2 < A-3。说明异交率越高,不育系的叶片中的赤霉素含量越高。各不育系的赤霉素含量高于其同型保持系,其中 A-2 与 B-2 间差异显著,A-3 与 B-3 间存在极显著差异。由此可见赤霉素含量的高低直接影响大豆叶片衰老的速度。各不育系生长素含量为 A-1 > A-3 > A-2、保持系 B-1 生长素含量最高,而 B-2 和 B-3 生长素含量均为 62.68 pmol·L⁻¹,且各不育系与其同型保

持系间叶片中生长素含量无显著差异(表 2)。

A-1 脱落酸含量与 A-3 间达到显著差异水平,并且 A-1 < A-2 < A-3,表明异交率越高,不育系叶片中的脱落酸含量越低。各不育系的脱落酸含量低于其同型保持系,A-1 与 B-1、A-2 与 B-2 间的脱落酸含量达到显著差异水平,表明大豆不育系叶片中低含量的脱落酸,减缓了叶片衰老的速度(表 2)。

各不育系间、各保持系间的细胞分裂素含量未达到显著差异水平。配套的保持系中的细胞分裂素含量要低于不育系中的细胞分裂素含量,由此可知不育系通过叶片中细胞分裂素延缓叶片衰老的能力强于保持系(表 2)。

不育系的乙烯含量均高于其同型保持系,且仅 A-2 与 B-2 间乙烯含量差异显著。表明在鼓粒期,400 mg·L⁻¹乙烯不会促进叶片衰老(表 2)。

表 2 不育系和配套保持系的内源激素含量变化

Table 2 Changes of the endogenous hormones contents in male sterile lines and their homologous maintainers					
品种 Variety	赤霉素 GA/(pg·mL ⁻¹)	生长素 IAA/(pmol·L ⁻¹)	脱落酸 ABA/(μg·L ⁻¹)	细胞分裂素 CTK/(μg·L ⁻¹)	乙烯 Eth/(ng·L ⁻¹)
A-1	532.80 ± 10.56 Bb	63.01 ± 2.5 Aa	376.88 ± 23.09 Bc	66.20 ± 3.33 Aa	384.68 ± 25.4 Aab
A-2	573.59 ± 18.4 ABa	60.93 ± 2.06 Aa	400.06 ± 14.68 ABbc	66.34 ± 2.79 Aa	397.54 ± 28.21 Aa
A-3	588.33 ± 14.15 Aa	61.92 ± 2.02 Aa	423.77 ± 22.55 ABab	64.91 ± 2.06 ABa	389.75 ± 16.74 Aa
B-1	530.12 ± 9.22 Bb	64.24 ± 3.81 Aa	419.84 ± 17.12 ABab	58.85 ± 2.68 Bb	343.05 ± 25.5 Ab
B-2	529.79 ± 24.07 Bb	62.68 ± 2.61 Aa	444.68 ± 21.63 Aa	62.39 ± 0.94 ABab	342.04 ± 27.94 Ab
B-3	527.73 ± 32.91 Bb	62.68 ± 1.78 Aa	449.78 ± 13.29 Aa	59.39 ± 2.29 Bb	355.76 ± 11.78 Aab

不同的大、小写字母表示各品种之间存在 $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ 水平极显著差异或显著差异。下同。

Different capital or lowercase indicate extremly significant difference at $P < 0.01$ level or significant difference at $P < 0.05$ level between treatments of different concentrations of the same cultivar. The same below.

2.2 大豆不育系及其同型保持系衰老基因相对表达量比较

2.2.1 *GmSGR1* 基因相对表达量 A-2 的 *GmSGR1* 基因相对表达量低于 A-1 和 A-3,B-2 的 *GmSGR1* 基因相对表达量低于 B-1 和 B-3,且差异显著。同时各不育系与其同型保持系间的 *GmSGR1* 基因相对表达量差异极显著,具体表现为 B-3 > B-1 > B-2 > A-3 > A-1 > A-2。由此可知,*GmSGR1* 基因的表达对不育系叶片的衰老起到了重要的作用(图 1)。

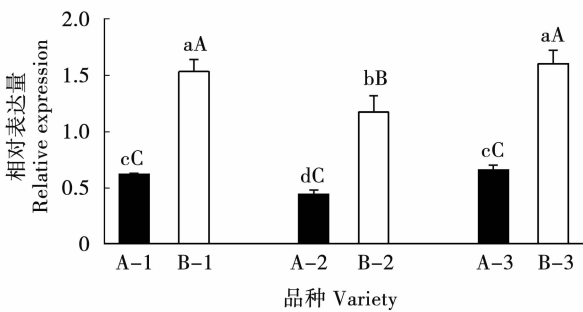
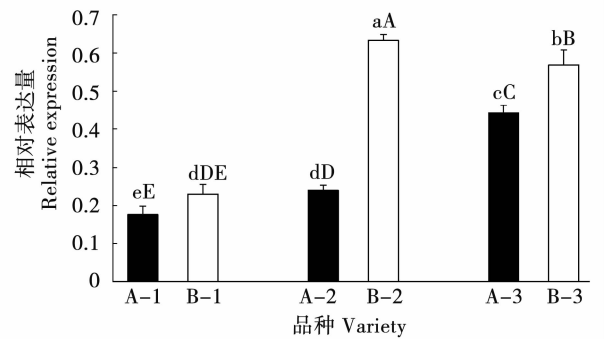


图 1 不育系及其同型保持系 *GmSGR1* 基因相对表达量

Fig. 1 Relative expression level of *GmSGR1* gene in sterile and maintainer soybean lines

2.2.2 *GmCYN1* 基因相对表达量 各不育系间、各保持系 *GmCYN1* 基因相对表达量差异极显著,即 A-1 < A-2 < A-3、B-1 < B-3 < B-2。说明异交率越高,其不育系的 *GmCYN1* 基因相对表达量越高。不育系的 *GmCYN1* 基因相对表达量均低于其同型保持系,其中 A-1 与 B-1 差异显著,A-2 与 B-2、A-3 与 B-3 间差异极显著。说明不育系通过降低 *GmCYN1* 基因的表达维持叶片的持绿现象(图2)。



不同大小写字母分别代表 0.01 和 0.05 水平,差异显著。
Different lowercase and capital indicate significant difference at 0.05 and 0.01 level, respectively.

图2 不育系及其同型保持系 *GmCYN1* 基因相对表达量
Fig. 2 Relative expression level of *GmCYN1* gene in sterile and maintainer soybean lines

2.2.3 *GmSARK* 基因相对表达量 A-3 的 *GmSARK* 基因相对表达量低于 A-1、A-2,但未达到显著差异水平。不育系 *GmSARK* 基因相对表达量均低于其同型保持系,A-2 的 *GmSARK* 基因相对表达量与 B-2 间达到了显著差异;但 *GmSARK* 基因相对表达量与 *GmCYN1* 基因、*GmSGR1* 基因相比处于较低水平,表达值低于 0.07,表明 *GmSARK* 基因调控大豆的衰老

作用不明显(图3)。

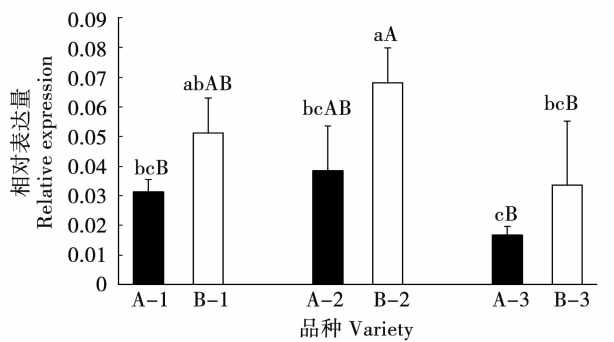


图3 不育系及其同型保持系 *GmSARK* 基因相对表达量
Fig. 3 Relative expression level of *GmSARK* gene in sterile and maintainer soybean lines

2.3 内源激素含量和衰老基因表达量相关性分析

叶片赤霉素含量、生长素含量和 *GmSARK* 表达量与各性状间均未达到显著相关水平。其中,内源激素赤霉素含量与乙烯含量相关性最高,相关系数为0.771 1。内源激素和基因相对表达之间脱落酸含量与 *GmSGR1* 表达量相关性最高,相关系数为0.705 8。*GmSARK* 表达量与赤霉素、细胞分裂素和乙烯均呈负相关,相关系数分别为 -0.602 2、-0.397 8和 -0.739 6。脱落酸含量与 *GmCYN1* 表达量达到显著相关水平,相关系数为0.893 1。细胞分裂素与乙烯呈显著相关水平,相关系数为 -0.986 2。细胞分裂素与 *GmSGR1* 表达量呈极显著负相关,相关系数为 -0.986 2。通过相关性分析可知内源激素细胞分裂素和乙烯含量的变化对 *GmSGR1* 基因表达影响更大,脱落酸含量的变化对 *GmCYN1* 基因表达具有较强的调节能力(表3)。

表3 不育系叶片激素含量与基因表达量间相关系数
Table 3 Coefficient of correlation between hormone content and gene expression in leaves of CMS lines

项目 Item	赤霉素 GA ₃	生长素 IAA	脱落酸 ABA	细胞分裂素 CTK	乙烯 ETH	<i>GmSARK</i>	<i>GmCYN1</i>	<i>GmSGR1</i>
赤霉素 GA ₃	1							
生长素 IAA	-0.7371	1						
脱落酸 ABA	-0.2067	0.1123	1					
细胞分裂素 CTK	0.6111	-0.6885	-0.6974	1				
乙烯 Eth	0.7711	-0.7384	-0.6546	0.8643 *	1			
<i>GmSARK</i>	-0.6022	0.355	0.3357	-0.3978	-0.7396	1		
<i>GmCYN1</i>	-0.1425	-0.0965	0.8931 *	-0.3751	-0.4717	0.2755	1	
<i>GmSGR1</i>	-0.7055	0.7032	0.7058	-0.9862 **	-0.895 *	0.4281	0.4373	1

* 和 ** 分别表示在 0.05 和 0.01 水平上差异显著。
* and ** denote significantly different at the 0.05 and 0.01 probability levels, respectively.

3 讨 论

3.1 不育系叶片中内源激素对叶片衰老的影响

生长素作为植物的一种重要内源激素,参与植物生长和发育的诸多过程,但关于其调控衰老的机制和作用尚不完全清楚^[24-25]。郑莎莎等^[26]认为,细胞分裂素类物质能够刺激叶片中蛋白质和核酸的合成,具有延缓衰老的作用;脱落酸可抑制细胞内蛋白质的合成,加速细胞中蛋白质和 RNA 的分解,降低光合速率,促进叶片衰老。有研究显示,细胞分裂素是延缓衰老的主要内源激素,脱落酸的作用与之相反,能够加速叶片的衰老进程^[27]。邵瑞鑫等^[24]通过复合调节剂拌种试验提高了叶片中赤霉素和细胞分裂素的含量,降低了脱落酸含量,进而延缓了早衰玉米品种的衰老。Zhang 等^[28-29]研究证明脱落酸正调控植株叶片的衰老。Yu 等^[30]和 Jibran 等^[31]认为外施赤霉素可以延缓植株叶片的衰老。以上研究说明叶片中的赤霉素含量或细胞分裂素含量高、脱落酸含量低可以延缓植株的衰老。本研究通过比较大豆不育系及其同型保持系的内源激素含量可知,不育系的赤霉素、细胞分裂素、乙烯含量高于其同型保持系,脱落酸、生长素低于其同型保持系。说明大豆不育系的持绿现象与植株叶片中的赤霉素、细胞分裂素和脱落酸关系密切。不育系乙烯和生长素含量与其同型保持系间的差异未达到极显著差异水平,所以乙烯和生长素对大豆不育系的持绿现象影响极小或无影响。研究表明叶片衰老过程并非单一激素独自调节,而是多种激素协同作用的结果。

3.2 不育系叶片中基因相对表达量对叶片衰老的影响

叶片衰老过程中,细胞内大分子的分解代谢和相关物质的运输均与基因的编码产物有关,与叶片衰老相关的基因则通过细胞信号途径影响其衰老过程,并随着叶片衰老呈现不同的模式。已有研究表明大豆的类受体蛋白激酶 *GmSARK* 可调控叶片衰老,对其采用 RNA 干扰技术减弱该基因的表达可明显延缓 *GmSARK-RNAi* 转基因大豆叶片的衰老,对其采用 *CaMV35S* 启动子驱动该基因的过表达可导致转基因大豆早衰致死^[32];Li 等^[11]研究表明 *GmSARK* 含量越低,大豆植株的衰老进程越缓慢。这些结果表明 *GmSARK* 在大豆叶片衰老调控过程中发挥重要作用。本研究显示,不育系叶片中 *Gm-*

SARK、*GmSGRI*、*GmCYN1* 基因的相对表达量均低于其同型保持系,说明上述 3 个基因对叶片衰老具有正调控作用,其中 *GmSARK* 的基因相对表达量处于较低水平,说明 *GMSARK* 基因对叶片衰老的影响较微。*GmSGRI* 基因是大豆保持绿色的重要基因,它在调节叶片衰老、光系统 II (*PSII*) 效率和植物生产力方面发挥着重要作用^[32],Shi 等^[20]研究表明 *GmSGRI* 的低水平表达可减缓衰老。本研究表明 *GmSGRI* 基因调控作用很强,表现在鼓粒期保持系叶片中该基因的相对表达量是不育系的 4 倍以上。

3.3 不育系叶片中内源激素含量与基因表达量的相互关系

细胞分裂素是一种衰老抑制激素,细胞分裂素完全流失不会造成大豆叶片衰老,但是如果其含量下降会引发衰老信号的感应^[33]。脱落酸是一种倍半萜的植物激素,能调节植物生长发育进程包括种子休眠、种子萌发、胚胎的形态建成、气孔关闭、根茎生长、果实成熟、叶片衰老以及各种生物和非生物胁迫反应^[34]。乙烯是一种气体植物激素,广泛影响植物生长发育,包括细胞分裂、细胞伸长、细胞大小、果实成熟、脱落、衰老、生物胁迫以及非生物胁迫等^[35-36]。乙烯处理可以促进叶片和切花衰老,而喷施乙烯抑制剂则延缓叶片和切花衰老,表明乙烯正向调控植物衰老进程^[37]。本研究结果表明,脱落酸含量与 *GmCYN1* 表达量达到显著相关水平,细胞分裂素与 *GmSGRI* 表达量呈极显著负相关水平,乙烯与 *GmSGRI* 表达量呈显著负相关水平,说明乙烯调节了 *GmSGRI* 基因的表达程度,进而影响叶片衰老。细胞分裂素可能通过调节细胞外转化酶活性来影响大豆衰老基因 *GmSGRI* 表达量,*GmCYN1* 基因受脱落酸诱导表达并且直接作用于脱落酸合成和衰老,进一步表明脱落酸对衰老的正调控作用。植物内源激素除脱落酸、乙烯和细胞分裂素外,还有生长素、赤霉素等多种,在大豆衰老过程中它们之间的相互关系,以及对大豆衰老的影响仍需进一步研究。

4 结 论

在大豆鼓粒期,与同型保持系相比不育系具有赤霉素、细胞分裂素、乙烯含量高,脱落酸、生长素含量低,*GmSARK*、*GmSGRI*、*GmCYN1* 基因的相对表达量低的特点。脱落酸、乙烯和细胞分裂素共同调节大豆衰老基因的表达程度,进而影响大豆衰老。

参考文献

- [1] 徐江民, 蒋玲欢, 沈晨辉, 等. 多种外援激素处理对水稻叶片衰老的影响[J]. 浙江师范大学学报(自然科学报), 2018, 41(2): 81-86. (Xu J M, Jiang L H, Shen C H, et al. The influence of various exogenous hormone treatment on rice leaf senescence[J]. Journal of Zhejiang Normal University (Natural Science Journal), 2018, 41(2): 81-86.)
- [2] 陈晓亚, 薛红卫. 植物生理与分子生物学[M]. 第四版. 北京: 高等教育出版社, 2012. (Chen X Y, Xue H W. Plant Physiology and Molecular Biology[M]. 4th ed. Beijing: Higher Education Press, 2012.)
- [3] 陈骏伯. “持绿型”小麦延缓衰老的光合作用机制[D]. 成都: 四川农业大学, 2010. (Chen J B. The photosynthetic mechanism responsible for delay senescence in stay-green wheat cultivars [D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2010.)
- [4] 梁引库. 不同源库比玉米衰老期间体内营养物质的变化及其对衰老的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2006. (Liang Y K. Changes of nutrients in maize during senescence with different source-sink ratios and their effects on senescence [D]. Yangling: Northwest University of Agriculture and Forestry Science and Technology, 2006.)
- [5] Jibrán R, Hunter D A, Dijkwel P P. Hormonal regulation of leaf senescence through integration of developmental and stress signals [J]. Plant Molecular Biology, 2013, 82: 547-561.
- [6] Zhang H S, Zhou C J. Signal transduction in leaf senescence[J]. Plant Molecular Biology, 2013, 82: 539-545.
- [7] Sakakibara H. Cytokinins: Activity, biosynthesis, and translocation[J]. Annual Review of Plant Biology, 2006, 57: 431-449.
- [8] 周玉堂, 李拥军. 植物叶片衰老的研究综述[J]. 湖北工程学院学报, 2016, 36(3): 55-59. (Zhou Y T, Li Y J. Research survey of plant leaf senescence[J]. Journal of Hubei Institute of Engineering, 2016, 36(3): 55-59.)
- [9] 龚盼, 黎坤瑜, 黄福灯, 等. 水稻叶片早衰突变体 *ospls3* 的生理特征和基因定位[J]. 作物学报, 2016, 42(5): 667-674. (Gong P, Li K Y, Huang F D, et al. Physiological characteristics and gene mapping of a precocious leaf senescence mutant *ospls3* in rice[J]. Journal of Crops, 2016, 42(5): 667-674.)
- [10] Graaff V D G, Rainer S, Anja S, et al. Transcription analysis of *Arabidopsis* membrane transporters and hormone pathways during developmental and induced leaf senescence[J]. Plant Physiology, 2006, 141(2): 776-792.
- [11] Li Z H, Peng J Y, Wen X, et al. *ETHYLENE-INSENSITIVE3* is a senescence-associated gene that accelerates age-dependent leaf senescence by directly repressing *miR164* transcription in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell, 2013, 25(9): 3311-3328.
- [12] 沈法富, 喻树迅, 范术丽, 等. 不同短季棉品种生育进程中主茎叶内源激素的变化动态[J]. 中国农业科学, 2003, 36(9): 1014-1019. (Shen F F, Yu S X, Fan S L, et al. Changes of endogenous hormone in stem leaves of different short season cotton varieties in development processes [J]. Agricultural Science of China, 2003, 36(9): 1014-1019.)
- [13] 魏星, 武云杰, 阚洪赢, 等. 不同烤烟品种烟叶衰老特性与内源激素的关系[J/OL]. 烟草科技: 1-14. [2020-03-29]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/41.1137.TS.20191104.0855.002.html>. (Wei X, Wu Y J, He H Y, et al. Leaf senescence characteristics and their relationships with endogenous hormones in different flue-cured tobacco varieties [J/OL]. Tobacco Science and Technology: 1-14. [2019-03-29]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/41.1137.TS.20191104.0855.002.html>.)
- [14] 郭绍霞, 张燕, 张玉刚, 等. 赤霉素和青霉素对芍药切花衰老的影响[J]. 中国农学通报, 2008(2): 314-319. (Guo S X, Zhang Y, Zhang Y G, et al. Effects of gibberellin and penicillin on senescence of cut peony flowers[J]. China Agronomy Bulletin, 2008(2): 314-319.)
- [15] Yu K, Wei J R, Ma Q, et al. Senescence of aerial parts is impeded by exogenous gibberellic acid in herbaceous perennial *Paris polyphylla*[J]. Journal of Plant Physiology, 2009, 166(8): 819-830.
- [16] 周伟权, 程功, 杨文莉, 等. 脱落酸处理对库尔勒香梨新梢生长及果实品质的影响[J]. 经济林研究, 2017, 35(4): 112-117. (Zhou W Q, Cheng G, Yang W L, et al. Effects of abscisic acid treatments on new shoot growth and fruit quality in Korla fragrant pear [J]. Economic Forest Research, 2017, 35(4): 112-117.)
- [17] Nakano M, Yamada T, Masuda Y, et al. A green-cotyledon/stay-green mutant exemplifies the ancient whole-genome duplications in soybean [J]. Plant and Cell Physiology, 2014, 55(10): 1763-1771.
- [18] Xu F, Meng T, Li P, et al. A soybean dual-specificity kinase, GmSARK, and its *Arabidopsis* homolog, AtSARK, regulate leaf senescence through synergistic actions of auxin and ethylene[J]. Plant Physiology, 2011, 157(4): 2131-2153.
- [19] 梅圆圆, 温译文, 王宁宁, 等. 生长素与植物叶片衰老调控[J]. 中国科学: 生命科学, 2019, 49(9): 1119-1124. (Mei Y Y, Wen Z W, Wang N N, et al. Auxin and leaf senescence regulation [J]. Chinese Science: Life Science, 2019, 49(9): 1119-1124.)
- [20] Shi S H, Miao H Y, Du X M, et al. *GmSGRI*, a stay-green gene in soybean (*Glycine max* L.), plays an important role in regulating early leaf-yellowing phenotype and plant productivity under nitrogen deprivation[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2016, 38(4): 97.
- [21] Zhang X X, Wang M, Wu T T, et al. Physiological and molecular studies of staygreen caused by pod removal and seed injury in soybean[J]. The Crop Journal, 2016, 4(6): 435-443.
- [22] 屈春媛, 张玉先, 金喜军, 等. 干旱胁迫下外源 ABA 对鼓粒期大豆产量及氮代谢关键酶活性的影响[J]. 中国农学通报, 2017, 33(34): 26-31. (Qu C Y, Zhang Y X, Jin X J, et al. Effect of exogenous ABA on yield and key enzyme activities of nitrogen metabolism of soybean under drought stress[J]. China Agricultural Bulletin, 2017, 33(34): 26-31.)

[23] Zhang X, Wang M, Wu T, et al. Physiological and molecular studies of staygreen caused by pod removal and seed injury in soybean[J]. The Crop Journal, 2016, 4(6): 435-443.

[24] 邵瑞鑫, 李建, 陈建辉, 等. 复合调节剂拌种对玉米叶片衰老过程中激素含量和膜脂过氧化的影响[J]. 核农学报, 2014, 28(6): 1142-1147. (Shao R X, Li J, Chen J H, et al. Effects of compound regulator seed dressing on endogenous hormones and lipid peroxidation of membrane system during aging process of maize[J]. Journal of Nuclear Agriculture, 2014, 28(6): 1142-1147.)

[25] 王海波, 王帅, 王孝娣, 等. 光质对设施葡萄叶片衰老与内源激素含量的影响[J]. 应用生态学报, 2017, 28(11): 3535-3543. (Wang H B, Wang S, Wang X D, et al. Effects of light quality on leaf senescence and endogenous hormones content in grapevine under protected cultivation[J]. Journal of Applied Ecology, 2017, 28(11): 3535-3543.)

[26] 郑莎莎, 孙传范, 孙红春, 等. 不同外源激素对花铃期棉花主茎叶生理特性的影响[J]. 中国农业科学, 2009, 42(12): 4383-4389. (Zheng S S, Sun C F, Sun H C, et al. Effects of different exogenous hormones on physiological characteristics of main stem leaves at flower and boll stage in cotton[J]. Agricultural Science of China, 2009, 42(12): 4383-4389.)

[27] Riefler M, Novak O, Strnad M, et al. Arabidopsis cytokinin receptor mutants reveal functions in shoot growth, leaf senescence, seed size, germination, root development, and cytokinin metabolism[J]. The Plant Cell, 2006, 18(1): 40-54.

[28] Zhang K, Gan S S. An abscisic acid-AtNAP transcription factor-SAG113 protein phosphatase 2C regulatory chain for controlling dehydration in senescing Arabidopsis leaves[J]. Plant Physiology, 2012, 158(2): 961-969.

[29] Zhang K, Halitschke R, Yin C, et al. Salicylic acid 3-hydroxylase regulates Arabidopsis leaf longevity by mediating salicylic acid catabolism[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2013, 110(36): 14807-14812.

[30] Yu K, Wei J, Ma Q, et al. Senescence of aerial parts is impeded by exogenous gibberellic acid in herbaceous perennial Paris polyphylla[J]. Journal of Plant Physiology, 2009, 166(8): 819-830.

[31] Jibrán R, Hunter D A, Dijkwel P P. Hormonal regulation of leaf senescence through integration of developmental and stress signals[J]. Plant Molecular Biology, 2013, 82(6): 547-561.

[32] Shi S, Miao H, Du X, et al. GmSGR1, a stay-green gene in soybean (Glycine max L.), plays an important role in regulating early leaf-yellowing phenotype and plant productivity under nitrogen deprivation[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2016, 38(4): 97.

[33] Li X P, Gan R, Li P L, et al. Identification and functional characterization of a leucine-rich repeat receptor-like kinase gene that is involved in regulation of soybean leaf senescence[J]. Plant Molecular Biology, 2006, 61(6): 829-844.

[34] 张艳军, 赵江哲, 张可伟. 植物激素在叶片衰老中的作用机制研究进展[J]. 植物生理学报, 2014, 50(9): 1305-1309. (Zhang Y J, Zhao J Z, Zhang K W. Research progress on mechanisms of phytohormones regulating leaf senescence[J]. Journal of Plant Physiology, 2014, 50(9): 1305-1309.)

[35] Jibrán R, Hunter D A, Dijkwel P P. Hormonal regulation of leaf senescence through integration of developmental and stress signals[J]. Plant Molecular Biology, 2013, 82(6): 547-561.

[36] Zhou C, Cai Z, Guo Y, et al. An Arabidopsis mitogen-activated protein kinase cascade, MKK9-MPK6, plays a role in leaf senescence[J]. Plant Physiology, 2009, 150(1): 167-177.

[37] Jibrán R, Hunter D A, Dijkwel P P. Hormonal regulation of leaf senescence through integration of developmental and stress signals[J]. Plant Molecular Biology, 2013, 82(6): 547-561.