

细胞分裂素延缓叶片衰老的机制研究进展

彭凯轩, 章薇, 朱晓仙, 张可伟*

浙江师范大学化学与生命科学学院, 浙江金华321004

*通信作者(kwzhang@zjnu.edu.cn)

摘要: 细胞分裂素(CK)是一类由 N^6 -腺嘌呤衍生物组成的小分子植物激素, 在植物生长发育、衰老、抗病、抗逆等生命活动中发挥重要作用。叶片衰老是叶片生命周期的最后一个阶段, 在这一时期叶绿素含量下降, 叶片开始黄化, 活性氧积累, 细胞中各种水解酶激活, 最后细胞大量死亡。大量研究表明CK能够延缓叶片衰老, 但其分子机制有待深入研究。本文概括了内外源CK调节叶片衰老的特点, 对糖信号和激素互作在CK延缓叶片衰老过程中的作用机理分别进行了综述, 并对CK调控叶片衰老的研究方向进行了讨论。

关键词: 植物激素; 细胞分裂素; 叶片衰老; 糖信号; 激素互作

Research progress on the mechanisms of cytokinin-inhibited leaf senescence

PENG Kaixuan, ZHANG Wei, ZHU Xiaoxian, ZHANG Kewei*

College of Chemistry and Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua, Zhejiang 321004, China

*Corresponding author (kwzhang@zjnu.edu.cn)

Abstract: Cytokinins (CKs) are a kind of plant hormone composed of N^6 -adenine derivatives, which play important roles in plant growth and development, leaf senescence, disease resistance and stress responses. Leaf senescence is the final stage of its life cycle. During this process, chlorophyll contents decrease, reactive oxygen species increase, and various intracellular hydrolytic enzymes are activated, thereby resulting in cell death. Although plenty of studies have shown that CKs inhibit leaf senescence, the related molecular mechanisms remain to be further investigated. The inhibition of leaf senescence by endogenous and exogenous CKs, and the roles of sugar signals and hormone crosstalks in cytokinin-inhibited leaf senescence are summarized in this review. The future work of leaf senescence regulated by CKs was discussed.

Key words: plant hormone; cytokinin; leaf senescence; sugar signal; hormone crosstalk

细胞分裂素(cytokinin, CK)是一类 N^6 -腺嘌呤类物质, 最早被发现能够促进细胞分裂。根据CK腺嘌呤环第6位氮原子连接基团的不同, 可分为异戊二烯类CK和芳香类CK。 N^6 侧链的结构和构象可以显著影响CK的生物活性。高等植物中常见的CK包括 N^6 -(Δ^2 -异戊烯基)腺嘌呤(isopentenyladenine, iP)、反式玉米素(*trans*-zeatin, tZ)、二氢玉米素(dihydro-zeatin, DHZ)和顺式玉米素(*cis*-zeatin,

cZ), 其种类和相对含量因植物种类的不同而有所差异(Sak-akibara 2006)。

60多年来, CK已被证明与植物的一系列生命活动密切相关, 包括根和茎顶端优势的调节、叶片

收稿 2020-04-16 修定 2020-11-03

资助 国家重点研发项目(2016YFD0100901)和国家自然科学基金(31670277和31901484)。

衰老、叶绿体发育、根瘤的形成、植物免疫、源库关系和胁迫响应等(Sakakibara 2006; Choi等2010)。叶片衰老作为叶片生长发育的最后一个阶段,伴随着叶片的黄化及营养物质转移,有助于植物高效利用能量和增强对环境的适应能力,但是叶片过早衰老显著影响农作物产量和品质。因此,研究CK在叶片衰老中的调控机制对于植物抗逆和农业生产等方面具有十分重要的意义。本文从内外源CK调节叶片衰老、CK延缓叶片衰老机制等方面进行综述,旨在说明CK调控叶片衰老的研究现状。

1 内源CK水平与叶片衰老

当叶片进入衰老阶段时,其CK含量将显著降低。最早在香石竹(*Dianthus caryophyllus*)花瓣衰老过程中观察到内源CK水平的降低(Van Staden和Dimalla 1980)。对油菜(*Brassica napus*)自然衰老各阶段的叶片中CK含量进行测定,发现在叶片伸展期,CK含量随叶片伸展而上升;叶片定型时CK含量达到最大值;叶片定型后,随着叶片自然衰老,CK含量逐渐下降(张治礼和郑学勤2004)。

近年来,主要通过基因工程手段上调或下调2类基因的表达来控制内源CK水平进而调控叶片衰老:一类是与CK合成有关的异戊烯基转移酶(isopentenyl transferase, IPT),其为CK合成的限速酶;另一类是与CK降解有关的CK氧化酶/脱氢酶(CK oxidase/dehydrogenase, CKX),能够氧化CK侧链基团,使CK发生不可逆失活(Sakakibara 2006)。

Gan和Amasino (1995)首次利用衰老特异表达基因*SAG12*启动子驱动CK合成基因*IPT*表达,解决了过高的CK浓度干扰植物早期生长发育的问题,同时证明了内源CK水平可以延缓叶片衰老。目前,叶片衰老特异启动子诱导*IPT*表达的载体*P_{SAG12}::IPT*已被转入油菜、小麦(*Triticum aestivum*)、玉米(*Zea mays*)、番茄(*Solanum lycopersicum*)、花椰菜(*B. oleracea* var. *botrytis*)、棉花(*Gossypium hirsutum*)、烟草(*Nicotiana Tabacum*)等多种粮食和经济作物,能显著延缓叶片或其他器官衰老,影响植株生长发育(Kant等2015)。Guo和Gan (2011)发现在拟南芥突变体*myb2*中腋芽部位*IPT*基因表达增加,CK

含量增加,整株植物衰老显著延缓。

应用基因工程导入CK氧化酶基因影响植株衰老的报道较少。目前,从拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、玉米、石斛(*Dendrobium nobile*)中克隆出多种编码CK氧化酶的基因,转入模式植物中显著降低了CK水平(Werner等2003)。然而,转化CK氧化酶基因的拟南芥CK含量降低,但未表现明显的叶片衰老加快的现象(Werner等2003),说明CK水平降低可能不是叶片衰老的起始信号。最近,我们实验室从水稻中鉴定出一个CK氧化酶OsCKX11,突变体叶片的CK含量增加,叶片衰老显著延缓(Zhang等2020),直接揭示了叶片衰老过程中CK下降的分子机理,证明了植物能通过调节内源CK的含量来调节叶片衰老进程。

2 外源CK与叶片衰老

外源CK对叶片衰老具有延缓作用,但其效果因CK种类、浓度、处理方法不同而存在差异。6-苄氨基腺嘌呤(6-benzyl adenine, 6-BA)是处理中最常用的人工合成CK,不同浓度6-BA处理蚕豆(*Vicia faba*)离体叶片均能延缓叶绿素降解,但是以5 mg·L⁻¹ 6-BA处理效果最佳(徐皓2008)。

外源CK延缓叶片衰老被认为与叶绿素降解及维持光合机构结构稳定有关。在大麦(*Hordeum vulgare*)中,6-BA处理能一定程度恢复叶绿素b缺陷导致的光系统II的损伤(Janečková等2019)。在小麦和水稻中,6-BA处理减少了叶绿素a、b大小亚基的降解,维持了叶绿素水平,同时降低了活性氧(reactive oxygen species, ROS)含量,提高了过氧化氢酶(catalase, CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)的活性,保护了膜结构,防止了光合系统在黑暗诱导衰老过程中的氧化损伤(Zavaleta-Mancera等2007)。

3 CK延缓叶片衰老机制

3.1 光与CK

近年来,有报道证明光和CK能协同调节叶片衰老。光和CK都是调节叶片衰老的关键因子,在不同光照条件下,CK含量的变化与叶绿素含量的变化、光系统II光化学效率以及脂质过氧化有关;

在黑暗条件下,绝大部分游离CK含量降低,但cZ含量增加(Janečková等2018)。在蓝光处理离体小麦叶片的研究中,tZ和cZ含量较绿光处理时下降更慢。当蓝光存在时,与衰老进程密切相关的CK的糖基化降解均减慢,但蓝光调节衰老以及CK稳态相关信号成分有待深入研究(Marchetti等2018)。此外,光还可以促进大麦叶片衰老过程中CK氧化酶活性增加,加速CK降解(Schlüter等2011)。有意思的是,对西葫芦(*Cucurbita pepo*)幼苗子叶暗处理时发现,两个子叶同时暗处理时,衰老速度明显加快,CK含量显著下降;单独暗处理其中一片子叶时,未处理的子叶对暗处理诱导的子叶衰老具有抑制作用,CK含量受暗处理影响也较小(Ananieva等2008),说明CK的代谢受光调控。推测CK含量下降在黑暗诱导叶片衰老中起到重要作用。

3.2 硅、氮素利用与CK

最近,硅被报道可能是一种应急缓释剂,通过促进CK的合成发挥作用。植株对硅酸的摄取增加导致CK合成增加。在高粱(*Sorghum bicolor*)和拟南芥中,硅含量高的离体叶片老化慢,CK合成基因表达量显著上升,CK含量增加(Markovich等2017)。CK和氮素吸收利用共同在叶片衰老过程中起重要作用,根部CK能被氮素诱导合成并被运输到地上组织抑制叶片衰老(Takei等2001)。小麦持绿突变体*tasgl*在衰老后期*IPT*基因表达量升高,*CKX*基因表达量显著降低,叶片衰老延缓。用硝酸铵和6-BA处理野生型和*tasgl*突变体,结果表明氮素通过对CK稳态的正反馈调节增加*tasgl*突变体的CK含量,延缓叶片衰老的表型(Wang等2019)。以上研究表明植物可能通过初生代谢来调节CK含量进而调控叶片衰老和生物量。

3.3 内外源CK与叶片衰老

细胞和组织中活性氧的含量以及活性氧清除剂的含量是叶片衰老的重要指标。外源CK处理花椰菜和小麦时叶片丙二醛(malonic dialdehyde, MDA)含量下降,叶绿素降解被抑制,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、APX和CAT活性增强(Xu等2011)。但Pilarska等(2017)测定了烟草叶片脂质过氧化的最终产物丙二醛,野生型植株叶片丙二醛含量在衰老过程中并没有变化;在

*P_{SAG12}::IPT*转基因植株中,CK合成增加,叶片持绿,丙二醛水平相比野生型显著增高,说明在烟草中脂质过氧化与叶片衰老可能没有直接关系,CK可以在一定程度上消除脂质过氧化对叶片衰老的诱导作用。

通过诱导*IPT*基因表达产生内源CK来延缓叶片衰老,其机理可能与促进应激反应相关蛋白和抗氧化酶的活性积累有关。人们在含*IPT*基因的转基因花椰菜中发现一种具有四肽重复序列特征的多肽,可能诱导了蛋白质折叠、SOD和应激反应;转基因花椰菜的蛋白质折叠和碳固定相关蛋白水平较非转基因植株升高,并且含铁SOD和APX活性也显著升高(Liu等2011)。综上说明内源CK增加和外源处理延缓叶片衰老的机制可能不同:外源6-BA处理的植物降低了能量代谢、碳水化合物代谢和氨基酸代谢相关蛋白的数量,而*IPT*转基因植物增加了应激相关蛋白和分子伴侣的数量,诱导应激相关基因表达并在衰老过程中起到保护细胞的作用。

3.4 CK与糖及库/源调节

目前,普遍认为CK延缓叶片衰老与库/源调节有关,其中部分是通过细胞壁转化酶(cell wall invertase, CWINV)实现的(Roitsch和Ehneß 2000)。CWINV可在细胞壁附近将蔗糖催化裂解为己糖,从韧皮部卸载并被含有己糖转运蛋白的邻近库细胞吸收。蔗糖在卸载部位的代谢和通过韧皮部的被动运输速率直接决定了库的强度(Jin等2009)。CWINV和己糖转运蛋白可以被CK共诱导表达(Ehneß和Roitsch 1997)。科学家首次在*P_{SAG12}::IPT*转基因烟草中发现叶片衰老延迟同时CWINV表达水平升高的现象,说明CWINV和衰老密切相关。将CWINV抑制剂蛋白在CK诱导启动子下诱导表达,CK处理后叶片衰老不再延迟(Lara等2004),说明CWINV是CK延缓衰老的必要条件,至少部分解释了CK延缓叶片衰老的分子机制。

鉴于CWINV反应产物的葡萄糖和果糖积累与叶片衰老的起始一致,因此有一种观点认为叶片中单糖积累是叶片衰老的潜在诱因,甚至认为这是衰老的潜在起始信号(Ono和Watanabe 1997)。与这种观点一致的是,在植物胞质中超表达酵母

蔗糖酶引起己糖积累将导致叶片早衰, 并且对整株植物的糖处理实验也会加速叶片衰老(Zwack和Rashotte 2013)。而拟南芥己糖激酶*hxl1*突变体呈现对葡萄糖敏感下降以及延缓衰老的表型, 暗示糖信号缺失能引起衰老延迟(Moore等2003)。与此相反, 另一种观点认为叶片饥饿(糖缺乏)会导致叶片衰老开始(van Doorn 2008)。例如离体叶片的衰老是由于光合作用缺乏导致的糖饥饿引起的, 而与CK类似, 糖处理能够有效延缓离体叶片衰老并抑制*SAG*基因表达(van Doorn 2008)。因此, 糖积累或饥饿在一定条件下似乎都能诱导叶片衰老, 推测对衰老的诱导可能是由于碳的初级代谢变化引起的, 而不是由于稳定状态的糖含量所致。

CK通过调节叶片糖输出来延缓叶片衰老过程中, *CWINV*起关键作用。正常叶片可以认为是“强

源”, 在“强源”叶片中糖的输出从叶肉组织到韧皮组织, 经由韧皮组织卸载后被库细胞吸收。衰老叶片可以认为是“弱源”, 在“弱源”叶片中, 经由叶肉组织、韧皮组织的糖输出速率减小。CK诱导后, *CWINV*和己糖转运蛋白共诱导表达, 造成蔗糖在韧皮组织胞内外的输出、水解、吸收和再合成的“无用循环”, 可以维持较高的糖输出速率, 形成人工“强源”的源叶从而延缓叶片衰老途径(Geigenberger和Stitt 1991)。因此Ono等(2001)推测叶片衰老和糖两者之间实质性关系可能是叶片“强源”身份丢失而引发叶片衰老。进而有模型认为CK信号通过诱导*CWINV*和己糖转运蛋白的共表达从而引发蔗糖分解成己糖, 从韧皮部卸载后输出到库, 从而形成一个“强源”, 是CK抑制叶片衰老的一种可能机制(Zwack和Rashotte 2013; 图1)。

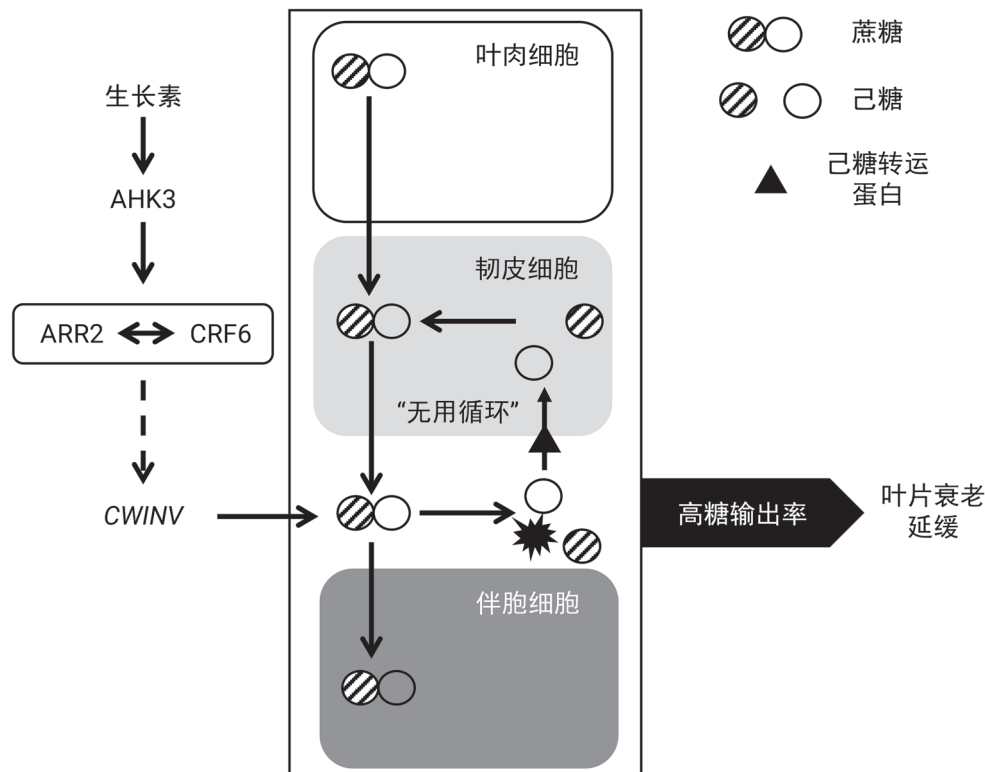


图1 CK延缓叶片衰老的一种可能机制

Fig. 1 A putative mechanism of cytokinin-inhibited leaf senescence

位于细胞膜上的组氨酸受体激酶AHK3接受外源CK信号, 通过磷酸化激活下游的CK响应调节因子ARR2 (B型反应调节因子)和CRF6 (CK应答因子)。细胞壁转化酶基因(*CWINV*)可被CK诱导表达, 并在胞外将从韧皮部卸载的蔗糖催化裂解为果糖和葡萄糖等己糖, 再由己糖转运蛋白重新运回韧皮薄壁组织中合成蔗糖, 从而形成一个蔗糖输出的“无用循环”, 维持较高的碳输出速率; 源叶获得一个“强源”身份, 从而抑制叶片衰老。

3.5 CK与其他激素在叶片衰老过程中的互作

在植物的九大类激素中, 通常认为CK对叶片衰老有抑制作用, 而脱落酸(abscisic acid, ABA)、乙烯和水杨酸对叶片衰老有促进作用(张艳军等2014)。外源乙烯处理可以加速叶片衰老: 叶片衰老过程中, 绝大多数的乙烯合成和信号转导相关基因表达量上升, 说明乙烯在叶片衰老过程中起到重要的促进作用。在切花保鲜期的研究中, 比如在玫瑰(*Rosa rugosa*)切花衰老中发现CK与乙烯具有拮抗作用(Wu等2017)。

除了乙烯途径外, CK还与脱落酸密切相关。脱落酸是一种倍半萜类激素, 在种子萌发、气孔关闭、果实成熟和叶片衰老过程中起到重要作用。CK和脱落酸在叶片衰老过程中起拮抗作用。在水稻叶片衰老引起的碳储量再活化过程中, 两者起到相反调控作用: 喷施脱落酸降低了剑叶的叶绿素含量, 提高了碳储量的再利用; 而喷施CK效果相反。水稻CK氧化酶基因*CKX11*受脱落酸诱导表达, 通过降解CK诱导叶片衰老; 而CK诱导脱落酸降解基因*OsABA8ox*表达, 抑制脱落酸合成基因*OsNCED*表达, 从而通过降低脱落酸含量抑制叶片衰老, 说明*OsCKX11*是参与水稻叶片衰老过程中CK和脱落酸相互拮抗的关键基因(Zhang等2020)。在拟南芥抗逆过程中, CK信号途径的ARR蛋白和脱落酸信号途径的SnRK激酶互作, 参与调控植物抗逆过程(Huang等2018)。此外, CK也通过ARR2与TAG3互作调控水杨酸信号, 在抗病中发挥作用(Choi等2010); ARR2被证明位于乙烯受体ETR1的下游, 与乙烯三重反应关系密切(Hass等2004)。目前尚不知道类似作用机制是否在叶片衰老进程中也起作用。深入研究这些激素互作将有助于阐明叶片衰老过程的生化和分子机理。

3.6 CK与双组分信号转导在叶片衰老中的作用机理

尽管CK延缓叶片衰老的生理功能已经明确, 但是其调控叶片衰老的下游分子机制研究仍然不够深入。目前普遍认为CK双组分信号(two-component system, TCS)途径参与了CK对叶片衰老的调控。TCS是一个包含组氨酸激酶受体(histidine protein kinase, HKS)、下游A和B型响应调节因子(response regulator, RR)的多步骤磷酸传递系统,

CK响应因子(cytokinin response regulator, CRF)位于信号的下游, 参与调节CK的生理功能(Sakakibara 2006)。

AHK2/AHK3可作为一个受体激酶组合, 参与质体编码基因的转录产物积累调控, 该双突变体表现出叶片细胞变少、叶绿素含量低、发育过程受到显著影响等表型(Riefler等2006)。Kim等(2006)揭示了拟南芥AHK3在CK延缓叶片衰老中起到重要作用; AHK3的功能缺失突变使CK依赖的叶片衰老延迟并对CK的敏感性降低, 去除了B型CK下游响应因子ARR2的CK依赖的磷酸化, 进而调控了叶片衰老。这是首个被解析的CK调控叶片衰老的下游分子机制。Ren等(2009)通过超表达A型CK响应因子发现ARR16能够显著诱导叶片衰老, 而且衰老进程不能被6-BA抑制, 说明ARR16参与CK对叶片衰老的调控。

CK响应因子CRF6受CK诱导表达, 过表达CRF6基因的叶片比野生型叶片保留更多的叶绿素(Zwack等2016)。CRF6基因在AHK3被激活的条件下表达增加, 对叶片衰老具有负调控作用, 通过直接或间接调控下游的转录靶点(包括响应因子ARR6、ARR9和ARR11)、CK生物合成相关基因LOG7和CK转运相关蛋白ABCG14, 进而影响叶片衰老(Zwack等2016)。因此, AHK位于该信号转导途径上游, 响应CK信号, 激活ARR2和CRF6表达; 而CWINV很有可能位于ARR2或CRF6下游, 两者共同作用调控叶片衰老进程(图1)。ARR2和CRF6在衰老过程中是否在转录或蛋白水平上发生相互作用还不清楚, 相关机制有待深入研究。

4 总结与展望

CK在抑制叶片衰老过程中起着重要作用, 外源施加一定浓度的CK, 通过基因工程手段上调CK合成基因或下调CK降解基因均能起到延缓叶片衰老的效果。目前认为CK抑制叶片衰老的机制可能通过受体蛋白传递信号至下游调节因子, 进而调节糖输出来影响叶片衰老进程(图1), 同时CK也通过与其他激素互作来协同调节叶片衰老。有关CK延缓叶片衰老的深入机制尚待进一步研究。我们认为阐明CK调控叶片衰老机制中有以下5个问题

待解决: (1) CK影响库/源平衡和糖分配的分子机制是什么? (2)叶片衰老的起始和CK含量降低之间的信号通路是什么? (3) CK与其他衰老相关激素如何互作以及互作的分子机理是什么? (4)除*ARR2*、*ARR16*和*CRF6*外, 还有哪些CK相关基因参与调控叶片衰老? (5)在叶片衰老过程中, 转录因子*ARR2*和*ARR16*下游的靶基因有哪些? 其中阐明转录因子*ARR2*和*ARR16*的直接下游靶基因将有助于揭示CK调控叶片衰老中的分子机制。相信随着更多CK相关的叶片衰老突变体的鉴定和研究手段的提高, CK调控叶片衰老的机制将会逐渐被揭示。

参考文献(References)

- Ananieva K, Ananiev ED, Doncheva S, et al (2008). Senescence progression in a single darkened cotyledon depends on the light status of the other cotyledon in *Cucurbita pepo* (zucchini) seedlings: potential involvement of cytokinins and cytokinin oxidase/dehydrogenase activity. *Physiol Plantarum*, 134 (4): 609–623
- Choi J, Huh SU, Kojima M, et al (2010). The cytokinin-activated transcription factor *ARR2* promotes plant immunity via TGA3/NPR1-dependent salicylic acid signaling in *Arabidopsis*. *Dev Cell*, 19 (2): 284–295
- Ehneß R, Roitsch T (1997). Co-ordinated induction of mRNAs for extracellular invertase and a glucose transporter in *Chenopodium rubrum* by cytokinins. *Plant J*, 11 (3): 539–548
- Gan SS, Amasino RM (1995). Inhibition of leaf senescence by autoregulated production of cytokinin. *Science*, 270 (5244): 1986–1988
- Geigenberger P, Stitt M (1991). A “futile” cycle of sucrose synthesis and degradation is involved in regulating partitioning between sucrose, starch and respiration in cotyledons of germinating *Ricinus communis* L. seedlings when phloem transport is inhibited. *Planta*, 185 (1): 81–90
- Guo YF, Gan SS (2011). *AtMYB2* regulates whole plant senescence by inhibiting cytokinin-mediated branching at late stages of development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 156: 1612–1619
- Hass C, Lohrmann J, Albrecht V, et al (2004). The response regulator 2 mediates ethylene signalling and hormone signal integration in *Arabidopsis*. *EMBO J*, 23: 3290–3302
- Huang X, Hou L, Meng J, et al (2018). The antagonistic action of abscisic acid and cytokinin signaling mediates drought stress response in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 11: 970–982
- Janečková H, Husíčková A, Ferretti U, et al (2018). The interplay between cytokinins and light during senescence in detached *Arabidopsis* leaves. *Plant Cell Environ*, 41 (8): 1870–1885
- Janečková H, Husíčková A, Lazár D, et al (2019). Exogenous application of cytokinin during dark senescence eliminates the acceleration of photosystem II impairment caused by chlorophyll *b* deficiency in barley. *Plant Physiol Biochem*, 136: 43–51
- Jin Y, Ni DA, Ruan YL (2009). Posttranslational elevation of cell wall invertase activity by silencing its inhibitor in tomato delays leaf senescence and increases seed weight and fruit hexose level. *Plant Cell*, 21: 2072–2089
- Kant S, Burch D, Badenhurst P, et al (2015). Regulated expression of a cytokinin biosynthesis gene *IPT* delays leaf senescence and improves yield under rainfed and irrigated conditions in canola (*Brassica napus* L.). *PLOS One*, 10: e0116349
- Kim HJ, Rue H, Hong SH, et al (2006). Cytokinin-mediated control of leaf longevity by *AHK3* through phosphorylation of *ARR2* in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103 (3): 814–819
- Lara MEB, Garcia MCG, Fatima T, et al (2004). Extracellular invertase is an essential component of cytokinin-mediated delay of senescence. *Plant Cell*, 16 (5): 1276–1287
- Liu MS, Li HC, Chang YM, et al (2011). Proteomic analysis of stress-related proteins in transgenic broccoli harboring a gene for cytokinin production during postharvest senescence. *Plant Sci*, 181 (3): 288–299
- Marchetti CF, Škrabišová M, Galuszka P (2018). Blue light suppression alters cytokinin homeostasis in wheat leaves senescing under shading stress. *Plant Physiol Biochem*, 130: 647–657
- Markovich O, Steiner E, Kouřil S, et al (2017). Silicon promotes cytokinin biosynthesis and delays senescence in *Arabidopsis* and *Sorghum*. *Plant Cell Environ*, 40: 1189–1196
- Moore B, Zhou L, Rolland F, et al (2003). Role of the *Arabidopsis* glucose sensor *HXK1* in nutrient, light, and hormonal signaling. *Science*, 300 (5617): 332–336
- Ono K, Nishi Y, Watanabe A, et al (2001). Possible mechanisms of adaptive leaf senescence. *Plant Biol*, 3: 234–243
- Ono K, Watanabe A (1997). Levels of endogenous sugars, transcripts of *rbcS* and *rbcL*, and of RuBisCO protein in senescing sunflower leaves. *Plant Cell Physiol*, 38 (9): 1032–1038
- Pilarska M, Skowron E, Pietraś R, et al (2017). Changes in lipid peroxidation in stay-green leaves of tobacco with senescence-induced synthesis of cytokinins. *Plant Physiol Biochem*, 118: 161–167
- Ren B, Liang Y, Deng Y, et al (2009). Genome-wide comparative analysis of type-A *Arabidopsis* response regulator

- genes by overexpression studies reveals their diverse roles and regulatory mechanisms in cytokinin signaling. *Cell Res*, 19: 1178–1190
- Riefler M, Novak O, Strnad M, et al (2006). *Arabidopsis* cytokinin receptor mutants reveal functions in shoot growth, leaf senescence, seed size, germination, root development, and cytokinin metabolism. *Plant Cell*, 18: 40–54
- Roitsch T, Ehneß R (2000). Regulation of source/sink relations by cytokinins. *Plant Growth Regul*, 32 (2–3): 359–367
- Sakakibara H (2006). Cytokinins: activity, biosynthesis, and translocation. *Annu Rev Plant Biol*, 57: 431–449
- Schlüter T, Leide J, Conrad K (2011). Light promotes an increase of cytokinin oxidase/dehydrogenase activity during senescence of barley leaf segments. *J Plant Physiol*, 168 (7): 694–698
- Takei K, Sakakibara H, Taniguchi M, et al (2001). Nitrogen-dependent accumulation of cytokinins in root and the translocation to leaf: implication of cytokinin species that induces gene expression of *Maize* response regulator. *Plant Cell Physiol*, 42 (1): 85–93
- Van Staden J, Dimalla GG (1980). The effect of silver thiosulfate preservative on the physiology of cut carnations. II. Influence of endogenous cytokinins. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 99 (1): 19–26
- Wang W, Hao Q, Wang W, et al (2019). The involvement of cytokinin and nitrogen metabolism in delayed flag leaf senescence in a wheat stay-green mutant, *tasg1*. *Plant Sci*, 278: 70–79
- Werner T, Motyka V, Laucou V, et al (2003). Cytokinin-deficient transgenic *Arabidopsis* plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoot and root meristem activity. *Plant Cell*, 15: 2532–2550
- Wu L, Ma N, Jia Y, et al (2017). An ethylene-induced regulatory module delays flower senescence by regulating cytokinin content. *Plant Physiol*, 173: 853–862
- Xu F, Yang Z, Chen X, et al (2011). 6-Benzylaminopurine delays senescence and enhances health-promoting compounds of harvested broccoli. *J Agr Food Chem*, 60: 234–240
- Xu H (2008). Delaying effect of 6-BA on the senescence of *Vicia faba* leaves *in vitro*. *Jiangsu Agr Sci*, (4): 49–51 (in Chinese) [徐皓(2008). 6-BA对蚕豆离体叶片衰老的延缓作用. *江苏农业科学*, (4): 49–51]
- Zavaleta-Mancera HA, López-Delgado H, Loza-Tavera H, et al (2007). Cytokinin promotes catalase and ascorbate peroxidase activities and preserves the chloroplast integrity during dark-senescence. *J Plant Physiol*, 164 (12): 1572–1582
- Zhang W, Peng K, Cui F, et al (2020). Cytokinin oxidase/dehydrogenase OsCKX11 coordinates source and sink relationship in rice by simultaneous regulation of leaf senescence and grain number. *Plant Biotechnol J*, doi: 10.1111/pbi.13467
- Zhang YJ, Zhao JZ, Zhang KW (2014). Research progress on mechanisms of phytohormones regulating leaf senescence. *Plant Physiol J*, 50 (9): 1305–1309 (in Chinese with English abstract) [张艳军, 赵江哲, 张可伟(2014). 植物激素在叶片衰老中的作用机制研究进展. *植物生理学报*, 50 (9): 1305–1309]
- Zhang ZL, Zheng XQ (2004). Changes of several physiological indexes in process of rape leaf senescence. *Chin J Crop Sci*, 26 (2): 47–50 (in Chinese with English abstract) [张治礼, 郑学勤(2004). 油菜叶片自然衰老过程中部分生理指标的变化规律. *中国油料作物学报*, 26 (2): 47–50]
- Zwack PJ, De Clercq I, Howton TC, et al (2016). Cytokinin response factor 6 represses cytokinin-associated genes during oxidative stress. *Plant Physiol*, 172 (2): 1249–1258
- Zwack PJ, Rashotte AM (2013). Cytokinin inhibition of leaf senescence. *Plant Signal Behav*, 8 (7): e24737
- van Doorn WG (2008). Is the onset of senescence in leaf cells of intact plants due to low or high sugar levels? *J Exp Bot*, 59 (8): 1963–1972