

细胞分裂素对植物衰老的延缓作用

杨晓红¹, 陈晓阳², 刘克锋¹

(1. 北京农学院园林系, 北京 102206; 2. 北京林业大学生物技术学院, 北京 100083)

摘要: 细胞分裂素是一类重要的植物激素, 它可在一定程度上延缓植物的衰老。主要从 3 个方面综述了细胞分裂素与植物衰老之间的关系, 即: (1) 植物衰老过程中内源细胞分裂素含量变化; (2) 外源细胞分裂素的影响; (3) 转入与细胞分裂素的合成、降解相关的基因对植物衰老产生的影响。此外, 还从细胞分裂素与糖、与脂质氧化反应以及与其它植物激素的关系方面探讨了细胞分裂素在延缓植物衰老中的作用机理。

关键词: 细胞分裂素; 植物衰老; 基因工程; 糖类; 脂质; 植物激素; 综述

中图分类号: Q945.48

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2006)03-0256-07

The Role of Cytokinins in Retarding of Senescence in Plants

YANG Xiao-hong¹, CHEN Xiao-yang², LIU Ke-feng¹

(1. Department of Landscape, Beijing Agricultural College, Beijing 102206, China;

2. College of Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: Cytokinins are important plant hormones and can delay plant senescence. In this review three approaches in study of the effects of cytokinins on plant senescence are presented: the analysis of endogenous cytokinins during senescence; the application of exogenous cytokinins; and the research on transgenic plants with cytokinin biosynthesis or biodegradation genes. The mechanisms of cytokinins in retarding of senescence was discussed in relation to saccharides, lipid oxidation, as well as to other hormones.

Key words: Cytokinins; Plant senescence; Gene engineering; Saccharide; Lipid; Plant hormones; Review

近些年来,关于植物衰老方面的研究受到了人们的重视。大量的研究表明,植物衰老不仅与光、温度、湿度、细菌等因素有关,还与植物体内部多种因素的变化有关,例如,水分代谢、呼吸代谢、糖分、蛋白质、核酸、生物膜、酶活性、丙二醛、植物内源乙烯、脱落酸、细胞分裂素等等^[1]。

目前在植物衰老方面,除了关注乙烯对衰老的影响外,细胞分裂素对植物衰老的调控作用也引起了人们的关注^[2-3]。植物细胞分裂素是一类重要的植物生长调节剂,它有许多种类,如玉米素、玉米素核苷、双氢玉米素、O-配糖物及其核苷、异戊烯基腺

嘌呤(IPA)、6-氨基腺嘌呤(6-BA)和激动素(KT)等^[4]。关于细胞分裂素的功能,最早发现可促进细胞分裂^[5],后来许多研究表明细胞分裂素也在植物发育过程中起作用,它可控制顶端优势、根的形成、植物气孔行为、叶绿体发育,花、叶衰老及采后衰老等^[2,6],甚至还影响植物对病原体的反应和营养的动力学特性^[7]。

目前主要从以下 3 个方面来研究细胞分裂素对植物衰老的调控作用: (1) 植物衰老过程中内源细胞分裂素含量的变化; (2) 植物在衰老过程中,外源细胞分裂素的影响; (3) 与细胞分裂素相关的

收稿日期: 2005-08-23 接受日期: 2005-12-01

基金项目: 国家“863”项目(2002AA241111)资助

基因工程^[8-9]。

1 植物衰老过程中内源细胞分裂素的变化

很多研究表明,当植物组织处于衰老状态时,其内源细胞分裂素含量下降^[10]。Van Staden 等在1980年就发现,切花香石竹(*Dianthus caryophyllus*)花瓣的内源细胞分裂素水平随花瓣衰老而降低^[11]。张微等对寿命不同的花的研究表明,长寿花盛开时有较高水平的玉米素,约为衰老时的1-3倍,而短寿花中含量较低;切花体内高水平细胞分裂素有利于水分吸收和花瓣细胞的增大,从而调节着花的发育^[12]。内源细胞分裂素匮乏可导致切花玫瑰(*Rosa damascena*)^[13]、梅花(*Prunus mume*)^[14]的衰老。处于不同贮藏温度下的牡丹(*Paeonia suffruticosa*)切花,其花中细胞分裂素含量在采后前4d逐渐增加,随后下降,低温可抑制其内源细胞分裂素的下降速率^[15]。对不同发育期油菜(*Brassica campestris*)叶片的内源细胞分裂素含量进行测定,结果表明:随着叶片伸展,叶片内的细胞分裂素含量呈上升趋势;到叶片基本定型时,内源细胞分裂素含量达最高值;而随着叶片衰老程度的增加,内源细胞分裂素含量越来越低^[16]。

2 外源细胞分裂素对植物寿命及其它性状的影响

用外源细胞分裂素处理,对植物衰老有抑制作用,但其效果因细胞分裂素的浓度、类型、应用方法或处理时植物发育状态而存在差异^[7,17]。对香石竹切花研究发现,瓶插液中加入双氢玉米素能延缓切花衰老,而玉米素则不能。用不同浓度的双氢玉米素、异戊烯基腺嘌呤、激动素、6-BA以不同方式处理香石竹切花,在延长切花寿命上也存在差异^[18]。

外源细胞分裂素除影响植物寿命外,还能影响植物的多种性状。外源细胞分裂素不仅可延缓香石竹切花的衰老,还能促进花蕾开放,降低香石竹切花对乙烯的敏感性^[19]。用6-BA处理郁金香(*Tulipa gesneriana*)切花,在延缓切花衰老的同时,还增加了花瓣中内源细胞分裂素的含量^[4]。郭维明等在梅

花采后衰老的内源激素调节研究中认为,6-BA可有效抑制瓶插梅花的脱落和乙烯释放,延长瓶插寿命^[4]。何生根的研究表明,应用6-BA,能明显改善切花体内水分平衡,防止茎叶黄化,抑制乙烯作用和膜透性增加,延缓切花衰老过程^[20]。此外,外源细胞分裂素还能促进可溶性蛋白质合成及控制其在瓶插后期的降解速度等等^[21]。6-BA除延缓叶片衰老外,还可影响叶片的气孔开度、叶饱和亏缺下降速率、叶绿素含量^[21]、以及与膜衰老相关的磷脂酶活性^[22],使小麦(*Triticum aestivum*)叶内过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)等保护性酶类及还原型谷胱甘肽维持在较高水平^[23]。6-BA也影响拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的叶片对乙烯的反应^[24]。用KT处理玉米(*Zea mays* L.),叶片中的叶绿素总量和可溶性蛋白质含量受到影响^[25]。在黑暗条件下,细胞分裂素还可增强玉米硝酸还原酶活性,从而延缓玉米衰老症状的出现^[25]。

3 细胞分裂素对衰老影响的基因工程

目前从基因工程角度研究细胞分裂素对衰老的影响,主要侧重于两类基因的遗传转化,一类为转入促进细胞分裂素合成的基因,另一类为转入降解细胞分裂素的基因,主要是转入编码细胞分裂素氧化酶基因。

3.1 转入编码细胞分裂素合成的基因

许多研究表明,*ipt*基因调控内源细胞分裂素含量^[26]。*ipt*基因来自根癌农杆菌,位于T-DNA的右界,编码异戊烯基转移酶,该酶是催化细胞分裂素合成反应中的限速酶。异戊烯基转移酶可促使5'-AMP和异戊烯基焦磷酸合成异戊烯基5'-腺苷磷酸,该物质是所有类型的细胞分裂素的前体。植物中有生理活性的细胞分裂素有3种,即异戊烯基腺嘌呤(IPA),玉米素(Z)和双氢玉米素(DHZ)^[27]。早期研究发现,转入*ipt*基因植物的叶中细胞分裂素含量提高了,从而延缓了叶片的衰老。但是,高浓度的细胞分裂素对植物生长和丰产有极大害处^[28-29]。为解决这一问题,Gan和Amasino^[6]用在拟南芥衰老过程中特异表达的SAG₁₂启动子(P_{SAG12})与

*ipt*基因结合, 构建成一个具有特异抑制植物衰老功能的 P_{SAG12} -*IPT* 融合基因, 目前该基因已经被转入烟草 (*Nicotiana tabacum*)、矮牵牛 (*Petunia hybrida*)、水稻 (*Oryza sativa*)、花椰菜 (*Brassica oleracea* var. *botrytis*)、生菜 (*Lactuca sativa*) 等植物中。对烟草的研究表明, 该基因只在成熟度低的叶片刚开始衰老时才能被激活。当叶片开始衰老时, 植株体内细胞分裂素含量下降, P_{SAG12} 驱动 *ipt* 基因表达, 细胞分裂素含量增加, 叶片衰老得以延缓, 叶中细胞分裂素的增加又可以反馈抑制启动子活性, 使 *ipt* 基因关闭, 从而防止产生过量细胞分裂素。这种自动调控系统避免了高浓度细胞分裂素对植物的毒害作用^[6]。转 P_{SAG12} -*IPT* 基因的烟草植株中 IPAR (异戊烯基腺嘌呤糖苷)、ZR (玉米素糖苷)、双氢玉米素糖苷的含量明显增加, 且主要为 IPAR 和 ZR^[30]。

3.2 转入细胞分裂素氧化酶编码基因

随着研究的深入, 人们已经认识到植物体内细胞分裂素的分解, 在很大程度上依赖细胞分裂素氧化酶的作用来实现。该酶以分子氧为氧化剂, 催化细胞分裂素的 N⁶ 上不饱和侧链裂解而使其彻底丧失活性, 此反应不可逆^[31]。目前人们已经从玉米^[32]、拟南芥^[33]、石斛兰 (*Dendrobium orchid*)^[34] 中克隆出多种编码细胞分裂素氧化酶基因, 将这些基因转入烟草、拟南芥、玉米等植物中后, 明显增强了植物体内细胞分裂素氧化酶活性, 降低了植物体内的细胞分裂素含量。然而, 令人感到意外的是, 转入细胞分裂素氧化酶基因的拟南芥叶片并未因体内细胞分裂素含量下降就表现出加快衰老的特征, 其叶片仍然能保持绿色, 即使是叶片采摘后也没出现加快衰老现象。因此, 认为细胞分裂素含量的下降可能是衰老的必要条件, 但不是衰老的起因^[35]。已有研究认为, 外源不同种类的细胞分裂素可影响细胞分裂素氧化酶基因在 mRNA 及蛋白质水平上的表达^[34]。此外, 细胞分裂素氧化酶基因的表达也受非生物胁迫及 ABA 诱导的影响, 但不受 2, 4-D 诱导^[36]。

4 细胞分裂素对植物衰老影响的机理

早在 2000 年, 王三根^[37]就对细胞分裂素在植物抗逆衰老中的作用机制进行了一些探讨。本文根据

近几年国内外的研究成果, 从细胞分裂素与糖代谢、脂质过氧化反应、其它植物激素之间的关系方面, 介绍细胞分裂素对衰老影响的机制。

4.1 细胞分裂素与糖

细胞分裂素在子叶展开过程中能提高内源还原糖含量 (主要是己糖和果糖)。在切花衰老中, 花对组织内蔗糖浓度的降低具有敏感性, 用外源 6-BA 处理可降低这种敏感性^[38]。将 P_{SAG12} -*IPT* 基因转入生菜, 细胞分裂素除明显延缓离体叶的衰老外, 还改变了植物碳水化合物的分配^[9]。在生菜的转基因纯合体中, 葡萄糖含量在上部叶提高了 5 倍, 在花中提高了 4 倍, 果糖含量在上部叶中也提高了 3 倍。这些均表明细胞分裂素与糖之间存在联系^[9]。

己糖激酶 (HXKs) 和其它糖激酶是最古老的、在进化上被保存下来的糖感受器。拟南芥基因组含有可编码两个 HXK 和 4 个类似 HXK (HKL) 的基因。其中 HXK1 的功能在于增强光利用率以促进根、茎、叶、花的细胞分裂。HXK1 葡萄糖信号途径与受生长素和细胞分裂素调节的信号途径之间有着密切关系。*gin2* 突变体是从拟南芥中发现的一种对葡萄糖不敏感的突变体, 但它对细胞分裂素非常敏感, 转入细胞分裂素组氨酸激酶 *CK II* 基因和转入反应调节因子 *ARR2* 基因的植物能克服葡萄糖抑制反应, 表明葡萄糖信号与细胞分裂素之间存在拮抗作用^[39]。

采用外源细胞分裂素处理植物或增加内源细胞分裂素含量的方法可延缓衰老, 并且影响营养代谢。细胞外转化酶和己糖运输装置, 具有将植物中的糖经韧皮部运输的重要功能。通过糖运输装置, 使糖从韧皮部过滤元件中释放出来, 进入非原生质体, 此时, 糖被不可逆性地水解, 经过细胞外转化酶与离子结合来到细胞壁, 接着通过单糖运输装置被库细胞所吸收^[30]。已发现细胞外转化酶与己糖运输装置之间存在正调控关系^[40]。通过对菊苣 (*Cichorium intybus*)^[41]、红叶藜 (*Chenopodium rubrum*)^[42] 和番茄 (*Lycopersicon esculentum*)^[43] 的研究, 证明细胞分裂素与细胞外转化酶功能之间存在直接联系。一些研究表明细胞外转化酶活性在细胞分裂素含量高的组织中通常比较高^[40]。Lara 等对转基因烟草的研究

认为,细胞外转化酶的表达受诱导衰老基因 *SAG12* 启动子的控制,延缓衰老的结果表明除与自动调控细胞分裂素含量有关外,还与提高细胞外转化酶活性有关。在延缓衰老方面,增强细胞外转化酶活性可替代细胞分裂素的刺激。当细胞外转化酶活性被抑制后,细胞分裂素没能延缓衰老。因此,他们认为,细胞分裂素在延缓衰老时需要细胞外转化酶的参与,而且该酶是细胞分裂素潜在分子机制的关键因素^[40]。

4.2 细胞分裂素与脂质氧化反应

不少研究表明细胞和组织中活性氧的产生和清除速率是造成植物衰老的主要原因之一。而清除活性氧能力的大小体现在抗活性氧毒害的内源保护性酶活性(如 SOD、CAT、POD)的高低上。一旦 SOD 和 CAT 等保护酶活性被削弱,组织中的负氧离子和 H_2O_2 的浓度就会升高,从而加剧脂质氧化程度,使膜结构遭到破坏,膜透性增大,进而表现出衰老现象。早在 1978 年, Grossman 和 Leshem^[44] 就发现用外源细胞分裂素处理降低了豌豆 (*Pisum sativum* L.) 叶中的脂质氧化酶活性,在一定程度上抑制了叶片的衰老。以后的研究表明 6-BA 能增加缺水条件下玉米中保护性酶类 SOD、CAT 的活性^[45],使小麦的 CAT、SOD、POD 活性维持在较高水平,使 GSH(还原型谷胱甘肽)、维生素 C 含量也处于较高水平,从而提高组织清除活性氧的能力^[23]。近年来,用 4PU-30(一种苯脲类细胞分裂素)处理月季切花,明显降低了花瓣内 SOD、CAT 活性下降的速度,也使负氧离子产生速率和 MDA(丙二醛)积累量减小^[46]。此外,还发现应用 ZR 能抑制高温下匍茎翦股颖 (*Agrostis palustris* L.) 体内的 MDA 积累,阻止细胞膜脂质氧化反应,从而可延缓叶片衰老^[47]。

4.3 细胞分裂素与乙烯和 ABA 的关系

许多植物在衰老过程中,会出现乙烯量的剧增,用外源乙烯处理,可加快植物衰老和果实、叶、花的采后衰老。抑制乙烯合成的化学、遗传因素可延缓植物采后衰老现象。对于非乙烯跃变型植物(即衰老中对乙烯不敏感),ABA 被认为是调控衰老的主要物质,用外源 ABA 处理可加快植物衰老

和促进与衰老有关的基因的转录^[7]。用细胞分裂素处理香石竹切花,可降低花瓣内乙烯的生物合成及对乙烯的敏感性^[48-49],同时还具有延缓外源 1-氨基环丙烷-1-羧酸(ACC)转化为乙烯及清除自由基的能力^[48,50]。近来一些研究表明矮牵牛衰老过程中生成的乙烯是通过 O-glucosylation 促使细胞分裂素发生降解和失活^[17]。

用乙烯利处理番茄,可使果实中 Z+ZR 含量显著下降,而 ABA 含量显著上升^[51]。对转入 *P_{SAG12}-IPT* 基因的矮牵牛的研究表明,通过内源细胞分裂素的积累,可降低对乙烯的敏感性,使花中合成乙烯量减少或延迟乙烯的生物合成。已经有许多研究表明这种对乙烯敏感性的改变恰与内源细胞分裂素含量的降低相一致,可见细胞分裂素与乙烯之间存在着联系^[7]。

细胞分裂素对乙烯产量的影响存在剂量依赖性。对转入 *P_{SAG12}-IPT* 基因的矮牵牛的研究及以前的相关研究表明,提高细胞分裂素的处理浓度或提高细胞分裂素的积累量可减少乙烯的合成量^[7],而有些研究表明只有低于微摩尔级的细胞分裂素浓度才诱导乙烯生物合成^[52]。

为研究细胞分裂素、脱落酸和乙烯之间究竟存在什么样的联系, Schmulling 等^[53] 利用一些激素反应突变体来研究对激素的敏感性变化。已发现一种抑制细胞分裂素的拟南芥的突变体基因 *ckr1*, 与乙烯不敏感突变体基因 *ein2* 是等位基因,从而表明细胞分裂素涉及乙烯信号途径^[52,54]。突变体基因 *era3* 可提高植物对 ABA 反应的敏感性,这一特性表明这种突变体基因也是 *ein2* 的等位基因,进一步表明 *ein2* 影响植物对激素的敏感性^[55]。近来, Greenboim-Wainberg 等^[56] 又发现细胞分裂素信号途径与赤霉素信号途径之间也存在交叉。但细胞分裂素与其它激素之间究竟是怎样的作用机制仍然不很清楚。

5 结束语

目前已有研究表明细胞分裂素在控制植物衰老方面主要体现在以下几点:(1)影响营养运输;(2)干扰脂质过氧化反应和对其它激素的反应;(3)在衰老后期抑制与衰老相关的光系统 II 叶绿素 a/b 蛋白复合物(LHCII)的亚复合物(subcom-

plex) 组织的重排^[2]; (4) 抑制内源 L- 丝氨酸积累, 降低高水平丝氨酸对植物衰老的启动作用^[9]。但是, 细胞分裂素在调控植物衰老方面的机制仍然不很清楚, 例如: (1) 既然细胞分裂素只是调控植物衰老的必要条件, 那么衰老启动的充分条件是什么? 分子机制如何? 分子之间是怎样的信号途径? (2) 不同植物激素的信号途径存在怎样的交叉关系? (3) 细胞分裂素通过怎样的分子途径来影响植物的脂质氧化反应? (4) 植物糖代谢与激素代谢之间存在怎样的信号关系? 其相关的基因都有哪些? 因此, 还需要进行大量深入研究, 以探明细胞分裂素在调控植物衰老方面的分子机制。

参考文献

- [1] Sun S J(孙守家), Chang Z D(常宗东), Qu H Y(曲红云), et al. A review of senescence mechanism and its preservative technology of postharvest cut flower [J]. Shandong For Sci Techn(山东林业科技), 2003, 6:50-52.(in Chinese)
- [2] Gan S S, Amasino R M. Cytokinins in plant senescence: from spray and pray to clone and play [J]. Biol Essays, 1996, 18(7):557-565.
- [3] Gan S S, Amasino R M. Making sense of senescence; molecular genetic regulation and manipulation of leaf senescence [J]. Plant Physiol, 1997, 113:313-319.
- [4] Belynskaya E V, Kondrat'eva V V. 6-Benzylaminopurine as a factor of regulation of the endogenous level of cytokinins and abscisic acid in petals of just cut tulip [J]. Biol Bull Russ Acad Sci, 1996, 23(3):275-278.
- [5] Miller C O, Shoog F, Von Saltza M H, et al. Isolation, structure and synthesis of kinetin, a substance promoting cell division [J]. Amer Chem Soc, 1955, 78:1375-1380.
- [6] Gan S S, Amasino R M. Inhibition of leaf senescence by autoregulated production of cytokinin [J]. Science, 1995, 270:1986-1988.
- [7] Hsiang C, Michelle L J, Gary M B, et al. Overproduction of cytokinins in petunia flowers transformed with *P_{sub}SAG12-IPT* delays corolla senescence and decreases sensitivity to ethylene [J]. Plant Physiol, 2003, 132:2177-2183.
- [8] McCabe M S, Garratt L C, Schepers F, et al. Effect of *P_{sub}SAG12-IPT* gene expression on development and senescence in transgenic lettuce [J]. Plant Physiol, 2001, 127:505-516.
- [9] Zhu Y R, Tao H L, Lv X Y, et al. High level of endogenous L-serine initiates senescence in *Spirodela polyrrhiza* [J]. Plant Sci, 2004, 166(5):1159-1166.
- [10] Van Staden J, Cook E L, Nooden L D. Cytokinins and senescence [A]. In: Nooden L D, Leopold A C. Senescence and Aging in Plants [M]. London: Academic Press Inc., 1988. 282-328.
- [11] Van Staden J, Dimalla G G. The effect of silver thiosulfate preservative on the physiology of cut carnations: II. Influence of endogenous cytokinins [J]. Z P Pflanzenphysiol, 1980, 99:19-26.
- [12] Zhang W(张微), Zhang H(张惠), Gu Z P(谷祝平). Cause of senescence of nine sorts of flowers [J]. Acta Bot sin(植物学报), 1991, 33(6):429-436.(in Chinese)
- [13] Mayak S, Halevy A H. Cytokinin activity in rose petals and its relation to senescence [J]. Plant Physiol, 1970, 46:497-499.
- [14] Guo W M(郭维明), Sheng A W(盛爱武). Regulation of endogenous hormones on abscission senescence of mei flower (*Prunus mune* Sieb. et Zucc.) [J]. J Beijing For Univ(北京林业大学学报), 1999, 21(2):42-47.(in Chinese)
- [15] Yang Q S(杨秋生), Song H Y(宋鸿雁), He S L(何松林), et al. Changes of endogenous hormones of cut peony during the storage [J]. Henan Sci(河南科学), 1997, 15(3):303-305.(in Chinese)
- [16] Zhang Z L(张治礼), Zheng X Q(郑学勤). Changes of several physiological indexes in process of rape leaf senescence [J]. Chin J Oil Crop Sci(中国油料作物学报), 2004, 26(2):47-50.(in Chinese)
- [17] Taverner E, Letham D S, Wang J, et al. Influence of ethylene on cytokinin metabolism in relation to *Petunia corolla* senescence [J]. Phytochemistry, 1999, 51(3):341-347.
- [18] Staden J van, Bosse C A. Cytokinins in cut carnation flowers. VI. The transport and metabolism of zeatin and dihydrozeatin [J]. Plant Physiol, 1989, 135(2):160-163.
- [20] He S G(何生根), Zhang W F(张伟锋), Zhang L J(张丽娟). Studies on fresh-keeping effects of 6-BA on cut rose flowers [J]. J Zhongkai Agrotechn Coll(仲恺农业技术学院学报), 1997, 10(1):56-61.(in Chinese)
- [21] Zhang H(张华), Xiong Y H(熊运海). A research summary of cut flower senescence and its preservation technology [J]. Acta Agri Univ Jiangxi(江西农业大学学报), 2000, 22(3):455-460.(in Chinese)
- [22] Ryu S B, Wang X M. Expression of phospholipase D during castor bean leaf senescence [J]. Plant Physiol, 1995, 108(2):713-719.
- [23] 殷奎德, 胡文玉. 离体小麦叶片衰老过程中细胞分裂素对活性氧的作用 [J]. 八一农垦大学学报, 1994, 7(4):16-22.
- [24] Kudryakova N V, Burkhanova E A, Rakitin V Y, et al. Ethylene and cytokinin in the control of senescence in detached leaves of *Arabidopsis thaliana eti-5* mutant and wild-type plants [J]. Russ J Plant Physiol, 2001, 48(5):624-627.
- [25] Amancio S B Q, Santos M do C G, Teixeira A R, et al. Maize (*Zea mays* L.) leaf protoplasts as experimental systems for the analysis of cytokinin effects on nitrate reductase activity [J]. Agron Lusitana, 1999, 47:19-34.
- [26] Hobbie L, Estelle M. Genetic approaches to auxin action [J]. Plant

- Cell Environ, 1994, 17(5):525-540.
- [27] McGaw B A, Burch L R. Cytokinin biosynthesis and metabolism [A]. In: Davies P J. Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology [M]. 2nd ed. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1995. 98-117.
- [28] Wang J, Letham D S, Cornish E, et al. Studies of cytokinin action and metabolism using tobacco plants expressing either the *ipt* or the *GUS* gene controlled by a chalcone synthase promoter. I. Developmental features of the transgenic plants [J]. Aust Plant Physiol, 1997, 24(5):661-672.
- [29] Wang J, Letham D S, Cornish E, et al. Studies of cytokinin action and metabolism using tobacco plants expressing either the *ipt* or the *GUS* gene controlled by a chalcone synthase promoter. II. *ipt* and *GUS* gene expression, cytokinin levels and metabolism [J]. Aust Plant Physiol, 1997, 24(5):673-683.
- [30] Roitsch T, Tanner W. Cell wall invertase: Bridging the gap [J]. Bot Acta, 1996, 109:90-93.
- [31] Deng J M(邓江名), Pan RC(潘瑞焱). Cytokinin oxidase [J]. Plant Physiol Commun(植物生理学通讯), 1997, 33(5):370-375.(in Chinese)
- [32] Houba-Herin N, Pethe C, d'Alayer J, et al. Cytokinin oxidase from *Zea mays*: purification, cDNA cloning and expression in moss protoplasts [J]. Plant J, 1999, 17:615-626.
- [33] Werner T, Motyka V, Laucou V, et al. Cytokinin-deficient transgenic *Arabidopsis* plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoots and root meristem activity [J]. Plant Cell, 2003, 15:2532-2550.
- [34] Yang S H, Yu H, Goh C J. Functional characterisation of a cytokinin oxidase gene *DSCCK1* in *Dendrobium* orchid [J]. Plant Mol Biol, 2003, 51:237-248.
- [35] Eckardt N A. A new classic of cytokinin research: cytokinin-deficient *Arabidopsis* plants provide new insights into cytokinin biology [J]. Plant Cell, 2003, 15:2489-2492.
- [36] Brugiére N, Jiao S, Hantke S, et al. Cytokinin oxidase gene expression in maize is localized to the vasculature, and is induced by cytokinin in abscisic acid, and abiotic stress [J]. Plant Physiol, 2003, 132:1228-1240.
- [37] Wang S G(王三根). Roles of cytokinin on stress-resistance and delaying senescence in plants [J]. Chin Bull Bot(植物学通报), 2000, 17(2):121-126.
- [38] Irving D E, Joyce D C. Sucrose supply can increase longevity of broccoli (*Brassica oleracea*) branchlets kept at 22 degrees C [J]. Plant Growth Regul, 1995, 17(3):251-256.
- [39] Moore B, Zhou L, Rolland P, et al. Role of the *Arabidopsis* glucose sensor HXK1 in nutrient, light, and hormonal signaling [J]. Science, 2003, 300:332-336.
- [40] Lara M E B, Garcia M C G, Fatima T, et al. Extracellular invertase is an essential component of cytokinin-mediated delay of senescence [J]. Plant Cell, 2004, 16:1276-1287.
- [41] Lefebvre R, Vasseur J, Backoula E, et al. Participation of carbohydrate metabolism in the organogenic orientation of *Cichorium intybus* tissues cultivated *in vitro* [J]. Can J Bot, 1992, 70:1897-1902.
- [42] Ehness R, Roitsch T. Co-ordinated induction of mRNAs for extracellular invertase and a glucose transporter in *Chenopodium rubrum* by cytokinins [J]. Plant J, 1997, 11:539-548.
- [43] Godt D E, Roitsch T. Regulation and tissue-specific distribution of mRNAs for three extracellular invertase isozymes of tomato suggests an important function in establishing and maintaining sink metabolism [J]. Plant Physiol, 1997, 115:273-282.
- [44] Grossman S, Leshem Y Y. Lowering of endogenous lipoxygenase activity in *Pisum sativum* foliage by cytokinin as related to senescence [J]. Physiol Plant, 1978, 43:359-364.
- [45] Liu X Z(刘晓忠), Li J K(李建坤), Wang Z X(王志霞). Application of cytokinin to improve the waterlogging resistance of summer corn (*Zea mays* L.) [J]. Acta Agron Sin(作物学报), 1996, 22(4):403-407.(in Chinese)
- [46] 陈杭芳, 朱诚. 4PU-30对月季切花衰老及活性氧代谢的影响 [J]. 浙江农业科学, 2004, (1):13-16.
- [47] Liu X, Huang B. Cytokinin effects on creeping bentgrass response to heat stress. II. Leaf senescence and antioxidant metabolism [J]. Crop Sci, 2002, 42:466-472.
- [48] Cook D, Rasche M, Eisnger W. Regulation of ethylene biosynthesis and action in cut carnation flower senescence by cytokinins [J]. J Amer Soc Hort Sci, 1985, 110:24-27.
- [49] Mac T, Makino A, Ohira K. Changes in the amounts of ribulose biophosphate carboxylase synthesized and degraded during the life span of rice leaf [J]. Plant Cell Physiol, 1983, 24:1079-1086.
- [50] Goszczynska D M, Rudnicki R M, Reid M S. The role of plant hormones in the postharvest life of cut flower [J]. Acta Hort, 1985, 167:79-93.
- [51] Sheng J P(生吉萍), Luo Y B(罗云波), Shen L(申琳). The content of hormones in antisense ACS tomato as compared with tomato cv. Lichum [J]. Sci Agri Sin(中国农业科学), 2000, 33(3):43-48.(in Chinese)
- [52] Cary A J, Liu W, Howell S H. Cytokinin action is coupled to ethylene in its effects on the inhibition of root and hypocotyls elongation in *Arabidopsis thaliana* seedlings [J]. Plant Physiol, 1995, 107:1075-1082.
- [53] Schmulling T, Rupp H-M, Frank M, et al. Recent advances in cytokinin research: receptor candidates, primary response genes, mutants and transgenic plants [A]. In: Strnad M, Pec P, Beck E. Advances in Regulation of Plant Growth and Development [M].

- Prague: Peres Publishers, 1999. 85–96.
- [54] Su W, Howell S H. A single genetic locus, *ckr1*, defines *Arabidopsis* mutants in which root growth is resistant to low concentrations of cytokinins [J]. *Plant Physiol*, 1992, 99:1569–1574.
- [55] Ghassemian M, Nambara E, Cutler S, et al. Regulation of abscisic acid signaling by the ethylene response pathway in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2000, 12:1117–1126.
- [56] Greenboim-Wainberg Y, Maymon I, Borochoy R, et al. Cross talk between gibberellin and cytokinin: The *Arabidopsis* GA response inhibitor SPINDLY plays a positive role in cytokinin signaling [J]. *Plant Cell*, 2005, 17(1): 92–103.