文章编号: 1003-8701(2015)06-0038-04

玉米叶片衰老相关基因的研究进展

姜志磊, 李毅丹, 姜 昱, 金峰学*

(吉林省农业科学院农业生物技术研究所, 长春 130033)

摘 要:玉米叶片衰老对子粒形成和产量有着重要的影响。大量研究表明,叶片衰老受众多因素影响,造成形态及生理生化的巨大变化,而这些变化均离不开基因的调控作用。本文综述了近年来国内外有关玉米叶片衰老的研究结果,主要包括玉米叶片衰老的生理生化和栽培技术研究及有关玉米叶片衰老的分子生物学研究,以期能为玉米叶片衰老的进一步研究提供参考。

关键词:玉米;叶片衰老;基因

中图分类号:S513

文献标识码:A

Advances in Maize Leaf Senescence Related Genes

JIANG Zhi-lei, LI Yi-dan, JIANG Yu, JIN Feng-xue*

(Agro-Biotechnology Research Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

Abstract: Leaf senescence can profoundly influence grain filling and the yield of maize. Lots of studies indicated that leaf senescence is influenced by multiple factors, resulting in remarkable changes in morphology and physiology of maize, which are also associated tightly with the regulation of the relevant genes. In this article, recent advances in maize leaf senescence were reviewed, including physiology, biochemistry and cultivation techniques of maize leaf senescence, and molecular biology of maize leaf senescence research. It is expected to provide information for further research in maize leaf senescence.

Key words: Maize; Leaf senescence; Genes

植物衰老是一种程序性的细胞死亡,衰老过程中同化能力逐渐丧失,植物将衰老器官中的营养物质转移至繁殖器官或其他发育旺盛的部位,使营养物质得以充分利用。延缓叶片的衰老和加快衰老阶段叶片营养物质转移是两个重要的作物增产途径。衰老阶段有复杂的生理生化变化,有大量的与衰老相关的基因表达。研究作物衰老,探明衰老机制以及衰老相关基因表达调控模式,对于作物抗逆育种具有重要的理论与实践意义。

玉米是我国最重要的粮饲两用作物之一,其产量和品质对保障粮食安全和人民生活至关重要。而衰老与产量、品质及抗性密切相关,目前

已成为玉米高产研究的热点问题之一。本文总结了与玉米叶片衰老相关的影响因子,并对玉米基因组中可能的衰老相关基因进行分析,期望能够为下一步的研究工作提供参考。

1 影响玉米叶片衰老相关因子研究

玉米衰老研究主要集中在叶片衰老方面,大多还处于生理和生化研究阶段。作物叶片持绿性与抗低氮条件,及产量有一定正相关^[1],衰老阶段主要是叶片营养物质的转移,将老叶氮素再利用^[2]。氮肥用量不足或过量均加速生长后期叶面积系数及穗叶叶绿素含量的下降进程,使叶片提早衰老。氮钾配比合理可延缓衰老,氮钾比例失调导致内源激素平衡受到破坏,氧自由基清除能力降低,而引起早衰,子粒产量降低^[3-4]。低温是影响叶片衰老的一个重要因素,低温使玉米灌浆期推迟,衰老提前,严重影响了玉米产量的提高^[5]。

玉米叶片自然衰老过程是内源激素含量变化,继而影响到Ca²⁺跨膜运输,进而导致膜脂过氧

收稿日期:2015-07-11

基金项目:吉林省科技厅应用基础研究项目(20130102042JC);吉林省财政厅科研育种项目(C42320501);吉林省农业科技创新工程(C52110506)

作者简介:姜志磊(1981-),男,助理研究员,主要从事植物基因工程研究。

通讯作者:金峰学,男,博士,研究员,E-mail: fxjin@cjaas.com

化,由此引起叶绿素和蛋白质降解^[6]。梁烜赫^[7]等研究超高产玉米品种先玉335和郑单958的保护酶,超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶在叶片中的活性显著高于普通玉米品种长城799和通100,而叶绿素和丙二醛含量,超高产品种显著低于普通玉米。超高产品种具有较高的清除活性氧的能力,有利于延缓衰老,促进干物质的积累。

外源因素的诱导也可以改变玉米的衰老进程。梁引库^[8]通过吐丝后切除玉米雌穗,减少营养物质的消耗,致使叶片淀粉含量增高,叶片衰老的重要指标丙二醛含量增高。进而引发玉米叶片细胞膜脂过氧化程度加剧,使玉米叶片代谢失衡,加快叶片衰老。肖长新等^[9]在玉米吐丝后40 d用6-BA灌根处理,发现玉米收获时侧根长与绿叶面积显著高于对照,延缓了玉米根和叶片衰老。邵瑞鑫^[10]用激动素和丁二酸给玉米拌种,使膜脂过氧化得到缓解,能有效防止根叶早衰,延长叶片光合功能期。顾大路^[11]等研究表明玉米健壮素、乙烯利使玉米早衰,而烯世宝、氯化胆碱延长玉米衰老。Ahmad等^[12]研究表明臭氧可以显著提高蛋白水解酶基因mRNA的表达及其酶活性,从而加快玉米叶片的衰老。

适时播种,合理密植,实行轮作,隔年深松,打破犁底层等栽培技术可以有效地防止玉米叶片的早衰,姜晓莉、罗瑶年、杜桂娟等^[13-15]详细介绍了玉米生理特性与抗衰老相应的栽培技术。

2 玉米衰老相关基因研究

2.1 基于分子生物学挖掘的玉米叶片衰老基因研究

拟南芥、水稻中有大量叶片衰老的分子生物学研究^[16-17]。玉米从分子水平上对调控衰老的机制及相关基因研究较少,但也取得了一定进展。

Wei等^[18]利用双向凝胶电泳检测到32个与玉米叶片衰老相关的蛋白,它们分别属于多种生化过程,其中29种蛋白与氮代谢相关。Zhang等^[19]通过分析不同衰老阶段的玉米RNA表达,得到4552个基因的表达上调或下调,它们分别属于18个不同的代谢途径。Urano等^[20]研究表明在盐胁迫下,G-蛋白可以延迟玉米叶片衰老。

玉米基因*See2α*和*See2β*是Donnison等^[21]从玉米衰老的叶片克隆出来的两个半胱氨酸蛋白酶基因,它们是叶片衰老后期氮代谢的调控基因。玉米基因*ccp2*也是一个半胱氨酸蛋白酶,Griffiths等^[22]从玉米衰老的叶片中克隆出来,这个基因在自然衰老的叶

片中表达升高,但在黑暗诱导的叶片衰老中表达降低。

2.2 基于生物信息学挖掘的玉米衰老基因研究

自2009年玉米基因组序列^[23]公布以来,同步进行的玉米基因组序列注释工程也发布出来结果^[24-25],从玉米基因组中可以找到32个可能与玉米衰老相关的基因。其在NCBI的基因编号,在玉米基因组的位置,与其基因蛋白结构域相似的同源群信息列于表1。其中,在玉米第2、7及8号染色体各有5个与玉米衰老相关的基因,第5号染色体有4个与玉米衰老相关的基因,第3、9和10号染色体各有3个与玉米衰老相关的基因,第6号染色体有2个与玉米衰老相关的基因,其余第1、4号染色体各有1个与玉米衰老相关的基因。

除了上述3个直接从玉米中发现的衰老基因(*See2α*、*See2β*和*ccp2*基因),其余29个玉米基因是通过基因同源性被注释为玉米衰老基因。有15个玉米基因的结构域相似,被归到pfam04520同源群(表1)。pfam04520家族基因被注释为衰老调控基因,其代表基因为拟南芥的*AtS40-3*基因^[26],*AtS40-3*在自然衰老、黑暗条件、ABA、水杨酸处理和病原体入侵中都有所表达。*AtS40-3*基因突变型表现为持绿性,*AtS40-3*基因调控下游衰老相关基因*WRKY53*和*SAG12*的表达。

有6个玉米基因(gene ID: 100191693, 100282601, 100192995, 542202, 100282127, 100285287)具有四跨膜蛋白结构,属于pfam00335家族。这6个基因原被注释或命名为衰老相关基因,此类基因被注释与衰老相关是由于这种基因与动物寿命密切相关^[27]。拟南芥中有17条这种四跨膜蛋白基因,这些基因与拟南芥叶片初期生长发育相关,未有报道其与拟南芥叶片后期衰老的联系^[28]。

3个玉米基因(606425, 100284099, 606426)属于pfam12638: Staygreen家族,拟南芥基因*AtNYE1*^[29],水稻基因*Sgr1*^[30]都与其同源,*AtNYE1*和*Sgr*基因突变型造成叶绿体在植物衰老过程中不被分解,表现为叶片的持绿性。

3个玉米基因(gene ID: 541647, 100285164, 100191434)属于pfam06911家族,Huang等^[31]对基因541647进行过研究,基因541647在玉米根被土壤颗粒阻挡生长时,在根的表皮细胞中被诱导表达,但并没有基因541647衰老相关的研究。pfam06911基因家族被注释为衰老相关的原因主要是黄花菜的*DSA*基因,*DAS*基因在黄花菜开花后的花瓣中大量表达,黄花菜开花后的花瓣在随后的24 h逐渐衰老,最后脱落死亡^[32]。

表1 玉米叶片衰老有关的基因

基因编号(NCBI)	基因组位置(B73 RefGen_v3)	同源群	参考文献
100217159	1(241610918..241612178)	pfam04520: Senescence_reg	26
100276169	2(22250716..22252145)	pfam04520: Senescence_reg	26
100276955	2(28579827..28580939)	pfam04520: Senescence_reg	26
100275055	2(57151335..57152695)	pfam04520: Senescence_reg	26
606425	2(196316338..196318071)	pfam12638: Staygreen	29,30
100284099	2(219091893..219093605)	pfam12638: Staygreen	29,30
100276582	3(176496342..176497318)	pfam04520: Senescence_reg	26
103651203	3(197489952..197490935)	pfam04520: Senescence_reg	26
AJ251454	3(225910755..225916465)	无	24
100281897	4(241391443..241395378)	cd00158: RHOD	33
100277341	5(27787708..27788696)	pfam04520: Senescence_reg	26
541647	5 (61702715..61706109)	pfam06911: Senescence	31,32
100191693	5(155566228..155568550)	pfam00335: Tetraspanin	27, 28
103627537	5(195180633..195181809)	pfam04520: Senescence_reg	26
100282601	6(28129101..28173463)	pfam00335: Tetraspanin	27, 28
100192995	6 (104150715..104154780)	pfam00335: Tetraspanin	27, 28
542202	7 (118343804..118345797)	pfam00335: Tetraspanin	27, 28
542451	7(122016626..122021539)	无	25
606426	7(143057032..143058433)	pfam12638: Staygreen	29,30
100382342	7(152843404..152844283)	pfam04520: Senescence_reg	26
100382369	7(153212055..153213029)	pfam04520: Senescence_reg	26
100284155	8(124755880..124756601)	pfam04520: Senescence_reg	26
100282127	8(131332264..131336620)	pfam00335: Tetraspanin	27, 28
AJ251453	8(137286214..137293588)	无	24
100285164	8(155182706..155184373)	pfam06911: Senescence	31,32
103636246	8(155513704..155514673)	pfam04520: Senescence_reg	26
100285287	9(106258900..106262081)	pfam00335: Tetraspanin	27, 28
100191434	9(143586090..143589974)	pfam06911: Senescence	31,32
100275828	9(154636622..154637396)	pfam04520: Senescence_reg	26
100286331	10(102335136..102336742)	cd00158: RHOD	33
100278004	10(130982296..130983004)	pfam04520: Senescence_reg	26
103641894	10(133767802..133769469)	pfam04520: Senescence_reg	26

2个玉米基因(gene ID: 100281897和100286331)属于cd00158家族,此类群代表性的基因为拟南芥的*sen1*,*sen1*在拟南芥开花后,以及黑暗条件、ABA、乙烯等处理后的叶片中均大量表达^[33]。

3 存在的问题及展望

玉米在我国粮食生产上占有重要地位,而延缓叶片衰老,增加功能叶寿命对玉米增产及品质改良意义重大。但玉米衰老相关的研究并不丰富,有多个方面需要深入研究。例如,玉米叶片衰老的特征及其发生发展规律、光合指标;玉米叶片衰老阶段营养物质的转移,叶片与果穗的库源关系;除叶片外玉米其他器官衰老对玉米产量的影响等问题。而对于玉米叶片衰老的基因研

究,尽管前人在衰老过程中的生化物质、酶类及部分基因表达的变化做了大量工作,但总体上对植物衰老的机制还处于探索阶段,还有一些重要的而且是基本的问题至今还未清楚。光合同化和降解过程在叶片衰老过程中扮演着重要角色,然而,光合同化持续的时间,衰减的过程,降解作用开始的时间点,启动降解的关键基因、关键酶,关键生理生化反应,多种激素和因素的效应,以及衰老过程中的分子机制及其信号调控网络尚待进一步研究。随着现代分子生物学和基因组学的发展将有助于揭开衰老机制中这些未知的谜团。

植物衰老是受内外因素共同调控的复杂生物学过程,这方面的研究除了克隆衰老相关基因外,还可以从拟南芥和水稻中挖掘相关同源基

因,研究其在玉米衰老阶段中的具体功能,并获得这些基因在玉米中的表达调控模式。同时,利用正向遗传学相关技术,如连锁及关联分析,挖掘更多玉米衰老相关基因,将分子标记辅助育种和转基因育种相结合,加快培育玉米抗衰老新种质。

参考文献:

- [1] Gregersen P L, Culetic A, Boschian L, et al. Plant senescence and crop productivity[J]. *Plant Molecular Biology*, 2013, 82(6): 603-622 .
- [2] Hortensteiner S, Feller U. Nitrogen metabolism and remobilization during senescence[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2002(53): 927-937 .
- [3] 何 萍,金继运,林 葆. 氮肥用量对春玉米叶片衰老的影响及其机理研究[J]. *中国农业科学*, 1998, 31(3): 66-71 .
- [4] 何 萍,金继运. 氮钾营养对春玉米叶片衰老过程中激素变化与活性氧代谢的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 1999, 5(4): 289-296 .
- [5] 徐田军. 低温对东北春玉米衰老和子粒灌浆的影响及其化学调控[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012 .
- [6] 何 萍,金继运. 春玉米叶片衰老中激素变化 Ca^{2+} 跨膜运输和膜脂过氧化三者之间的关系[J]. *植物学报*, 1999, 41(11): 1221-1225 .
- [7] 梁烜赫,黄智鸿,包 岩,等. 超高产玉米衰老过程中保护酶的变化规律研究[J]. *云南农业大学学报*, 2006, 21(增刊): 237-243 .
- [8] 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 .
- [9] 肖长新,陈延玲,米国华. 灌浆后期 6-BA 灌根对玉米衰老和产量形成的影响[J]. *玉米科学*, 2014, 22(1): 103-107 .
- [10] 邵瑞鑫,李 健,赵 宇,等. 激动素和丁二酸拌种对玉米衰老过程中抗氧化系统和植物激素的影响[J]. *植物生理学报*, 2012, 48(4): 343-349 .
- [11] 顾大路,王伟中,徐建明,等. 植物生长调节剂在玉米上的应用效果研究[J]. *安徽农业科学*, 2003, 31(6): 1086-1088 .
- [12] Ahmad R, Zuily-Fodil Y, Passaquet C, et al. Identification and characterization of MOR-CP, a cysteine protease induced by ozone and developmental senescence in maize(*Zea mays* L.) leaves[J]. *Chemosphere*, 2014(108): 245-250 .
- [13] 姜晓莉,杨粉团,梁 尧,等. 玉米叶片衰老与栽培技术调控[J]. *吉林农业科学*, 2014, 39(2): 21-24 .
- [14] 罗瑶年,张建华. 种植密度对玉米叶片衰老的影响[J]. *玉米科学*, 1994, 2(4): 23-25 .
- [15] 杜桂娟,张 哲,杨 姝,等. 浅谈玉米早衰及其调控[J]. *辽宁农业科学*, 2012(2): 58-61 .
- [16] Wu X Y, Kuai B K, Jia J Z, et al. Regulation of leaf senescence and crop genetic improvement[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2012, 54(12): 936-952 .
- [17] 翟荣荣,冯 跃,曹立勇,等. 水稻叶片衰老研究进展[J]. *中国稻米*, 2011, 17(1): 7-12 .
- [18] Wei S S, Wang X Y, Zhang J W, et al. The role of nitrogen in leaf senescence of summer maize and analysis of underlying mechanisms using comparative proteomics[J]. *Plant Science*, 2015(233): 72-81 .
- [19] Zhang W Y, Xu Y C, Li W L, et al. Transcriptional analyses of natural leaf senescence in maize[J]. *PLoS One*, 2014, 9(12): e0115617 .
- [20] Urano D, Colaneri A, Jones A M. Gα modulates salt-induced cellular senescence and cell division in rice and maize[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(22): 6553-6561 .
- [21] Donnison I S, Gay A P, Thomas H, et al. Modification of nitrogen remobilization, grain fill and leaf senescence in maize(*Zea mays*) by transposon insertional mutagenesis in a protease gene [J]. *New Phytologist*, 2007(173): 481-494 .
- [22] Griffiths C M, Hosken S E, Oliver D, et al. Sequencing, expression pattern and RFLP mapping of a senescence-enhanced cDNA from *Zea mays* with high homology to oryzain gamma and aleurain[J]. *Plant Molecular Biology*, 1997, 34(5): 815-821 .
- [23] Schnable P S, Ware D, Fulton R S, et al. The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics[J]. *Science*, 2009(126): 1112-1115 .
- [24] Alexandrov N N, Brover V V, Freidin S, et al. Insights into corn genes derived from large-scale cDNA sequencing[J]. *Plant Molecular Biology*, 2009, 69(1-2): 179-194 .
- [25] Soderlund C, Descour A, Kudrna D, et al. Sequencing, mapping, and analysis of 27,455 maize full-length cDNAs[J]. *PLoS Genetics*, 2009, 5(11): e1000740 .
- [26] Fischer K I, Miao Y, Roitsch T, et al. Nuclear targeted AtS40 modulates senescence associated gene expression in *Arabidopsis thaliana* during natural development and in darkness[J]. *Plant Molecular Biology*, 2010, 73(4-5): 379-390 .
- [27] Paik D, Jang Y G, Lee Y E, et al. Misexpression screen delineates novel genes controlling *Drosophila* lifespan[J]. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2012, 133(5): 234-245 .
- [28] Cnops G I, Neyt P, Raes J, et al. The TORNADO1 and TORNADO2 genes function in several patterning processes during early leaf development in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Cell*, 2006, 18(4): 852-866 .
- [29] Ren G D, An K, Liao Y, et al. Identification of a novel chloroplast protein AtNYE1 regulating chlorophyll degradation during leaf senescence in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2007, 144(3): 1429-1441 .
- [30] Park S Y, Yu J W, Park J S, et al. The senescence-induced staygreen protein regulates chlorophyll degradation[J]. *Plant Cell*, 2007, 19(5): 1649-1664 .
- [31] Huang Y F, Jordan W R, Wing R A, et al. Gene expression induced by physical impedance in maize roots[J]. *Plant Molecular Biology*, 1998, 37(6): 921-930 .
- [32] Panavas T, Pikula A, Reid P D, et al. Identification of senescence-associated genes from daylily petals[J]. *Plant Molecular Biology*, 1999, 40(2): 237-248 .
- [33] Oh S A, Lee S Y, Chung I K, et al. A senescence-associated gene of *Arabidopsis thaliana* is distinctively regulated during natural and artificially induced leaf senescence[J]. *Plant Molecular Biology*, 1996, 30(4): 739-754 .

(责任编辑:范杰英)