

拟南芥 *SGR2* 基因参与叶绿素降解和衰老过程

李倩昀, 许守明*, 马俊雅 (河南大学生命科学学院, 植物逆境生物学重点实验室, 河南开封 475004)

摘要 [目的]研究拟南芥 *SGR2* 基因参与叶绿素降解和衰老过程。[方法]购得 *SGR2*(*stay green rice*, 水稻滞绿基因)基因的 T-DNA 插入突变体, 并进行叶绿素荧光分析、叶绿素含量和可溶性总糖测定、qRT-PCR 等试验以及生物信息学分析。[结果]突变体叶绿素 a 含量较 WT(*colo-0* 野生型)降低; 可溶性糖含量高于 WT; *RBCS*(Rubisco, 核酮糖 1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶的小亚基)和 *CAB*(Chl a binding protein, 叶绿素 a 结合蛋白)基因表达下调。而突变体开花明显比野生型延迟。[结论]证明了 *SGR2* 基因参与了拟南芥叶绿素降解和衰老过程。

关键词 滞绿; 衰老; 叶绿素降解; 拟南芥

中图分类号 S188 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)08-0100-05

Arabidopsis thaliana *SGR2* Genes Involved in Degradation and Senescence of Chlorophyll

LI Qian-yun, XU Shou-ming, MA Jun-ya (Key Laboratory of Plant Stress Biology, College of Life Sciences, Henan University, Kaifeng, Henan 475004)

Abstract [Objective] To study *Arabidopsis thaliana* *SGR2* genes involved in degradation and senescence of chlorophyll. [Method] T-DNA insertion mutants for *SGR2* gene were got. The experiments of chlorophyll fluorescence analysis, determination of the content of chlorophyll and soluble sugar, qRT-PCR test and some other bioinformatics analysis were conducted. [Result] The chlorophyll content of the mutant leaves was less than the case in the wild-type. The soluble sugar content of the mutant leaves was more than the case in the wild-type. Expression of *RBCS* and *CAB* were down regulated. While, a transparently prolonged flowering period was observed in mutant, as compared with *colo-0*. [Conclusion] The results demonstrate that *SGR2* gene is involved degradation and senescence of chlorophyll in *A. thaliana*.

Key words Stay-green; Senescence; Chlorophyll degradation; *Arabidopsis thaliana*

植物衰老一般指植物的一个器官或整个植株生命力衰退并最终自然死亡的一系列变化过程。植物衰老在细胞层面上通常分为两种:一种是细胞分裂能力的丧失,称为有丝分裂性衰老;一种是成熟细胞退化性变化直到死亡的过程,称为有丝分裂后细胞衰老。目前有关植物衰老的研究,都集中于叶片衰老和果实成熟上。这2种都是属于有丝分裂后细胞衰老^[1]。

植物叶片衰老基本上是由叶龄来控制的,同时也受叶片内部以及环境信号等综合影响,也就是说,叶片衰老是响应了叶肉细胞的年龄信息以及内外环境信号之后的综合应答。诱发植物衰老的因素有很多,暗处理是最简单也是最有效的诱导衰老方法,它可以使叶片衰老趋向于同步化,且局部暗处理衰老也是局部的,可以推断暗处理诱导衰老是细胞自发性的^[2],目前认为可能与黑暗处理中的糖饥饿有关,且蛋白磷酸激酶和钙信号通路可能参与了这一过程^[3]。众多植物激素也或多或少地参与了植物衰老过程^[4]。蔗糖信号也参与了植物的衰老调控,有研究表明过高的糖含量可以有效地抑制光合作用相关基因的表达,过表达的己糖激酶可以使内源蔗糖含量增高,从而导致光合能力下降,使叶片提前衰老^[5]。氧化胁迫是温度、水分、盐碱、重金属、紫外等多种环境因子诱导植物衰老的共同机制^[6-7],但具体的作用方式还不清楚。

在植物中,叶绿素分解和光合能力不断下降常伴随衰老

发生。衰老是一种内在程序化的退化过程,最终导致植物成熟、死亡,早衰则导致作物品质下降,产量降低^[8-10]。相对于叶绿素合成途径,对叶绿素分解代谢途径的研究还不是很深入。Jiang等^[11]通过 γ 射线诱变,在水稻中筛选出一株滞绿突变体,在衰老过程中该突变体的突变基因是水稻 *SGR*(*stay green rice*)的一个等位基因,他认为 *SGR* 可能参与 PaO 活性的调控,从而影响叶绿素和色素蛋白复合体的降解。Sato等^[12]研究表明, *SGR* 在叶片衰老期间可能通过转录或转录后水平调控叶绿素降解酶而参与叶绿素的降解途径。最近,在水稻中克隆1个具有叶绿素 b 还原酶活性的 *NYC1*(*Non-yellow coloring 1*)基因,推测 *NYC1* 具有叶绿素 b 还原酶活性^[13]。夙本科实验室筛选得到了 *AtNYE1* 缺失突变体 *nyel-1*,在黑暗诱导的衰老过程中叶绿素降解明显延缓。*AtNYE1* 基因的克隆为叶绿素降解代谢的分子调控机制研究提供了一个有效切入点^[13]。该实验室还通过对滞绿突变体 *nyel-1* 的筛选、鉴定和遗传分析得出 *AtNYE1* 是叶绿素降解的正调控因子,而过量表达 *AtNYE1* 会引起叶片黄化。

笔者所在实验室通过生物信息学手段对拟南芥中的 *SGR2*(*At4g11910*)基因进行分析,发现它可能是 *AtNYE1*(*At4g22920*)的一个同源基因,和 *AtNYE1* 的相似性达 75%,可能属于 *SGR* 类叶绿素降解相关基因。笔者从美国索尔克研究所(Salk Institute)拟南芥种子资源库购买了 *SGR2*(*At4g11910*)基因的 T-DNA 插入突变体,通过叶绿素荧光成像系统分析发现该基因的 T-DNA 插入突变体的叶绿素荧光与野生型有明显变化。结合前期研究^[14-15],又对该基因进行进一步研究,发现它可能参与了植物衰老与叶绿素降解过程。

1 材料与方法

1.1 材料 选取野生型拟南芥(*Arabidopsis thaliana*,

基金项目 国家自然科学基金项目(U1304303);河南省高等学校青年骨干教师资助计划(2014CGJS-029)。

作者简介 李倩昀(1992—),女,河南新乡人,硕士研究生,研究方向:植物遗传学与分子生物学。*通讯作者,副教授,博士,硕士生导师,从事植物分子生物学研究。

收稿日期 2017-12-04

colo-0) 和 T-DNA 插入突变体作为试验材料。

种子用 0.1% 升汞浸泡 5 min 消毒,再用无菌双蒸水冲洗 5 遍后,播种于 0.443% MS(murashige and skoog) 固体培养基上,置于 4℃ 纯化 36~48 h,置于光周期为 16 h 光照/8 h 黑暗的温室条件下培养 14 d,然后将无菌培养的拟南芥幼苗移栽到装有腐殖土和蛭石(体积比为 1:1) 的小花盆中进行盆栽培养,每盆植入大小一致的小苗 6 株,培养 28 d 后,测

定鲜质量、生长相关生理指标和衰老相关指标,并进行 RT-PCR 分析^[15]。

1.2 方法

1.2.1 T-DNA 插入突变体鉴定。T-DNA 插入突变体购自美国索尔克研究所(Salk Institute)拟南芥种子资源库,取 20 d 左右的叶片,提取 DNA 鉴定纯合体,原理如图 1,引物见表 1。

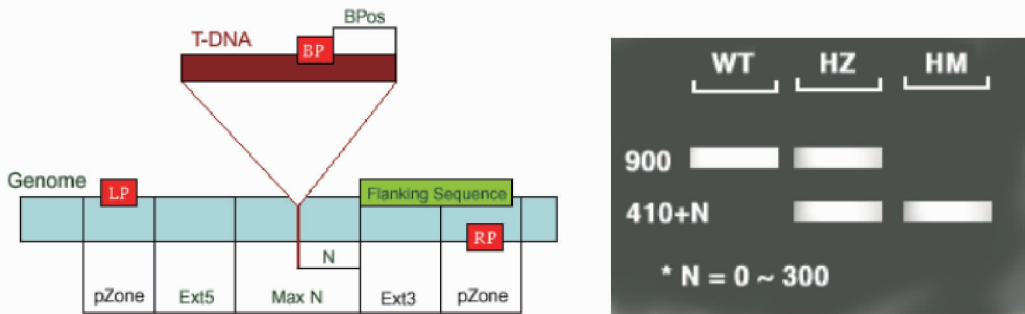


图 1 突变体鉴定原理

Fig.1 The principle of identification for T-DNA mutant plants

表 1 T-DNA 插入突变体鉴定引物

Table 1 Identification primers of T-DNA insertion mutants		
编号 Code	名称 Primer name	序列 Primer sequence
1	N561388-LP	5'-GCAACTGGTGAAGCAAGAAC-3'
2	N561388-RP	5'-GCAGTGAAGAAGCTGAACACC-3'
3	N502718-LP	5'-AATTGTCTCCACGGTGTATCG-3'
4	N502718-RP	5'-AACTGGTTTCATCTTCGATGG-3'
5	LBal	5'-TGGTTCACGTAGTGGCCATCG-3'

1.2.2 叶绿素荧光分析。将材料进行 20 min 以上的暗适应,置于叶绿荧光快速成像系统下进行叶绿素荧光参数的测定。通过测量 F_v/F_m (PSII原初光能转化效率)数值确定光系统 PSII的光化学参数。

1.2.3 叶绿素含量测定。取生长 30 d 长势良好的拟南芥叶片(0.03 g),分别添加到含 3 mL 95% 乙醇的试管中,试管用锡纸避光处理,防止叶绿素降解。水浴锅中放入上述样品保持 3 h,温度设置为 43℃,最后用紫外分光光度计依次测 663、645 nm 处的吸光度,按照公式 $C_a = 12.70A_{663} - 2.59A_{645}$, $C_b = 22.90A_{645} - 4.67A_{663}$,计算叶绿素 a、b 含量。

1.2.4 可溶性总糖含量测定。拟南芥叶片经液氮充分研磨后用 Tris-HCl 缓冲液(1 mol/L, pH 7.15) 抽提可溶性总糖,根据 Yemm 等^[16] 方法测定可溶性总糖含量。

1.2.5 可溶性蛋白含量测定。取生长状态良好的拟南芥叶片 0.2 g,用考马斯亮蓝 G250(coomassie brilliant blue, G250) 方法^[17] 测定可溶性蛋白含量。

1.2.6 生长发育过程观察。对生长过程进行观察统计,重点考察野生型和突变体之间抽薹开花时间的差异。

1.2.7 荧光定量 PCR 分析。在液氮中将植物材料研磨成粉状,总 RNA 用 Trizol 试剂(Invitrogen, USA) 提取,操作按产品说明书进行,将抽提到的 RNA 溶解于 RNase-free 水,然后

用 DNaseI(Promaga, USA) 处理彻底去除基因组 DNA,用苯酚/氯仿抽提去除蛋白质,最后用乙醇沉淀后重新溶于 RNase-free 水,用酶标仪检测 RNA 质量和浓度,每个样品取等量总 RNA,用 M-MLV 逆转录酶(Promega, USA) 进行第 1 链 cDNA 合成,以拟南芥 18S rRNA(At3g41768) 作为内参进行 PCR 分析,PCR 反应选用的基因引物序列见表 2。

表 2 荧光定量 PCR 特异性引物

Table 2 Fluorescence quatitative PCR specificity primer		
编号 Code	名称 Primer name	序列 Primer sequence
1	Actin2-L	5'-ACGTATCGATGTCTATTTCAACGA-3'
2	Actin2-R	5'-ATATCGTAGAGAGCCTCATTTGTCC-3'
3	SGR2-L	5'-GCAAGGATGGGCAATAGG-3'
4	SGR2-R	5'-CACCGCTTATGTGACAATGAAC-3'
5	SAG12-L	5'-TGGATACGGCGAATCTACTAACG-3'
6	SAG12-R	5'-GCTTTCATGGCAAGA-CCACATAG-3'
7	CAB-L	5'-CCAGA-GGCATTGCTGAGTTG-3'
8	CAB-R	5'-CCTTACCAGTGACGATGGCTTG-3'
9	RBCS-L	5'-CCACCCGCAAGGCTAACAAC-3'
10	RBCS-R	5'-TTCGAATCGGTAAGCTCAGC-3'

2 结果与分析

2.1 纯合突变体鉴定 运用 NCBI Blast 通过搜索选取与拟南芥 NYE1(SGR1, At4g22920) 同源性最高(达 75%) 的基因 At4g11910 进行研究,文中称为 SGR2。从拟南芥突变体库中得到 2 个该基因的 T-DNA 插入突变体株系(N502718 和 N561388),筛选鉴定得到纯合突变体株系(图 2)。进行基因表达鉴定,发现在突变体中该基因表达明显下调(图 3)。

2.2 叶绿素含量 Cs1336 为已知的晚衰突变体,在该试验中作为晚衰的对照。由图 4 可知,与野生型相比,突变体 N561388 和 N502718 中叶绿素 a 含量分别提高了 37.91% 和

34.48% ,叶绿素 b 含量分别提高了 32.10% 和 33.70%。

2.3 叶绿素荧光参数 N561388 和 N502718 均为 *SGR2* 基因的 T-DNA 插入突变体,在表型上均表现为滞绿。对 2 种

突变体及对照组野生型植株进行暗适应 20 min 后,测定其 PSII 的光化学效率,结果表明突变体叶绿素荧光参数 (F_v/F_m) 比野生型低 0.15 左右(图 5)。

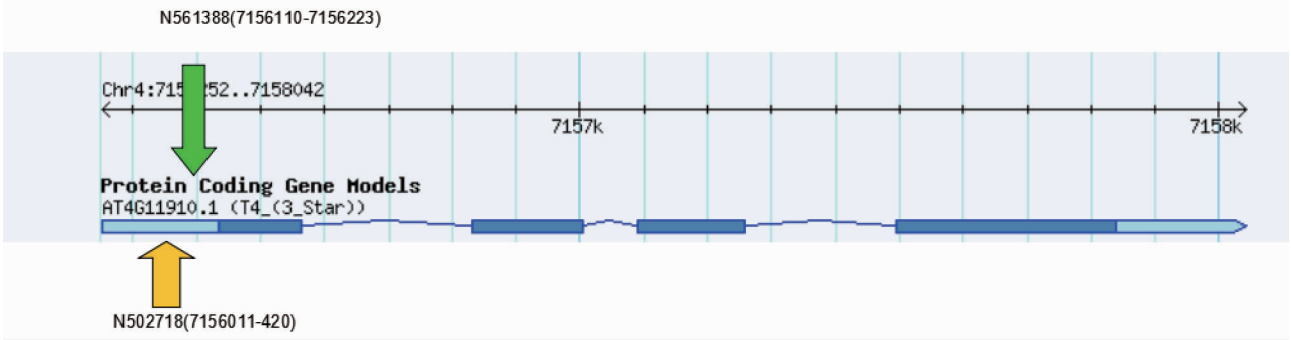


图 2 N502718 和 N561388 的插入位点模式
Fig.2 T-DNA insertion site of N502718 和 N561388

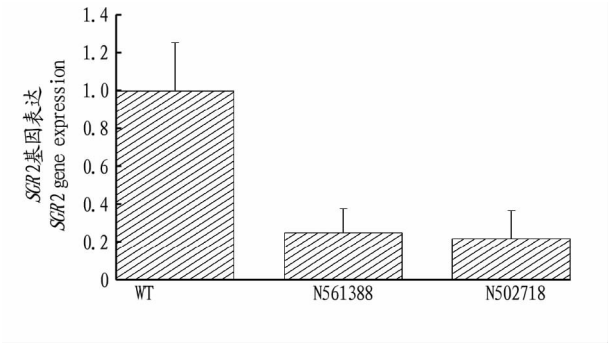


图 3 *SGR2* 基因的表达情况
Fig.3 The expression of *SGR2*

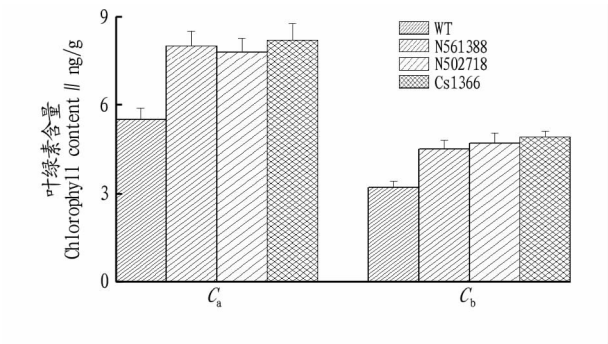


图 4 叶绿素含量测定结果
Fig.4 The determination result of chlorophyll content

2.4 可溶性总糖 比较发现突变体总糖含量高于野生型,暗示其衰老时间延迟(图 6)。

2.5 可溶性蛋白 提取并测定了 2 种 T-DNA 插入突变体植株生长 28 d 时的可溶性蛋白含量,并以同时期的野生型作为对比。野生型可溶性蛋白含量为 16.8 mg/g,而突变体分别为 23.38、21.12 mg/g(图 7)。

2.6 生长状态(花期) 对移植入培养土后生长 28 d 的植株进行观察,如图 8 所示,从左到右依次为 WT、N561388 和 N502718,可以发现野生型已开始抽薹,而突变体仍然处于营养生长期。可见突变体与野生型相比,花期有明显推迟;而当野生型植株叶片已大面积衰老时,突变体仍处于滞绿状态。这个现象说明相较于野生型植株,N561388 和 N502718

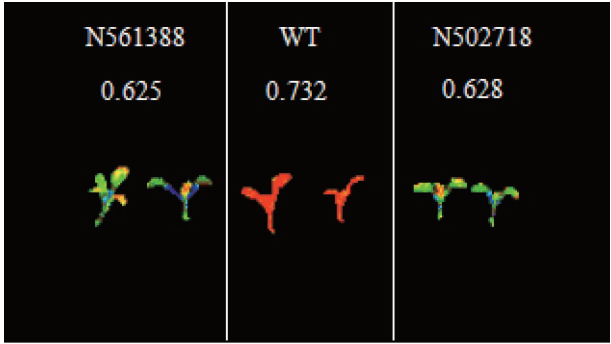


图 5 叶绿素荧光参数 F_v/F_m
Fig.5 The determination result of chlorophyll fluorescence parameters F_v/F_m

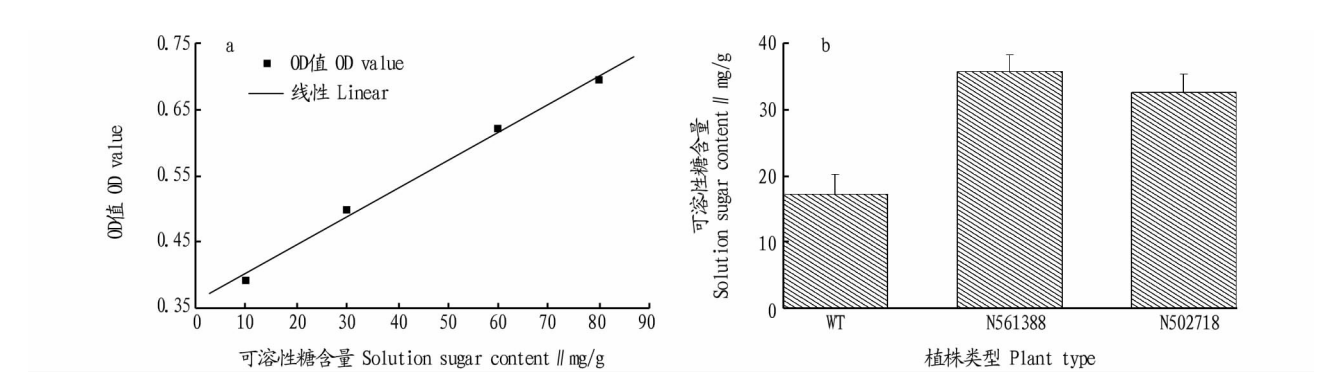
突变体均有明显的衰老延迟。

2.7 基因表达情况 *RBCS* 和 *CAB* 是光合作用相关基因,也是衰老的重要指标。用 RT-PCR 试验检测 *RBCS* 和 *CAB* 基因的表达情况。将 N561388 和 N502718 黑暗诱导后,提取其 RNA 和正常 WT 植株的 RNA 进行定量分析,在 N561388 和 N502718 中,*RBCS* 和 *CAB* 在叶片中的表达量都有明显下调(图 9),这与其晚衰的表型一致。衰老相关基因 *SEN1* 在暗处理突变体中的表达量有明显上调(图 9),说明突变体的衰老过程,该基因同样受到 *SGR2* 基因缺失的影响。

3 结论与讨论

植物衰老是一个多种因素参与的复杂过程,其中叶绿素降解是重要变化之一。近来研究表明,*SGR*(stay green rice)及其类似基因在水稻和拟南芥中均不止 1 个成员,它们参与了叶绿素降解过程,并且发挥重要作用^[10,17]。*SGR/SGRL* 可能通过与 CCEs (Chl catabolic enzymes) 和 LHCII(light-harvesting complex II) 互作而发挥作用^[18-20]。

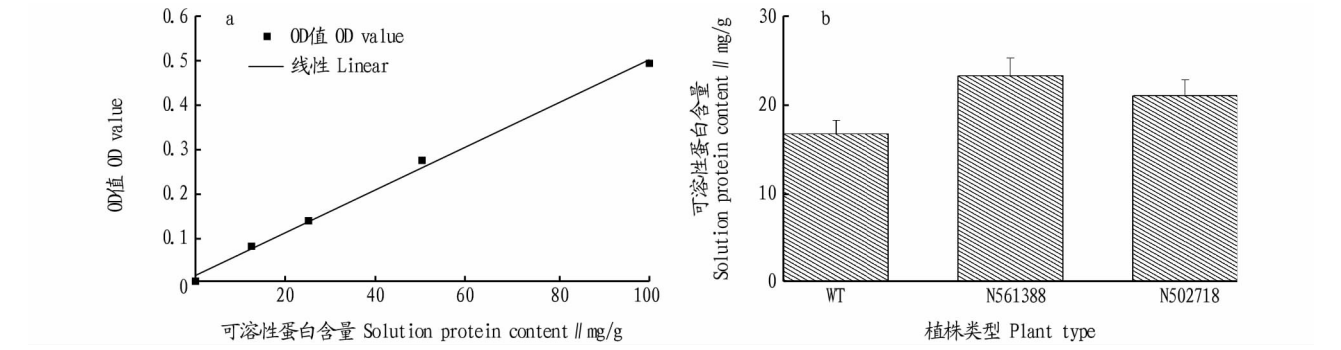
笔者选取拟南芥 *SGR2* 基因的 2 个 T-DNA 插入突变体 N561388 和 N502718 进行研究,并与以前报道的 *nye1-1* 和 *sgr2-1* (Salk_003830C) 有关研究结果进行比较。首先 N561388 和 N502718 植株的生长状况明显优于野生型植株,与 *nye1-1* 的情况有所不同;不过从开花时间上,N561388 和 N502718 同样表现出花期延迟,与 *nye1-1*(*SGR1* 缺失突变体)



注:a 为可溶性糖标准曲线;b 为可溶性糖含量
Note:a is the standard curve of sugar;b is the content of soluble sugar

图 6 可溶性糖测定结果

Fig.6 The determination result of soluble sugar



注:a 为可溶性蛋白标准曲线;b 为可溶性蛋白含量
Note:a is the standard curve of protein;b is the content of soluble protein

图 7 可溶性蛋白测定结果

Fig.7 The determination result of soluble protein



图 8 WT 和突变体生长状态比较

Fig.8 The phenotype analysis between WT and mutants

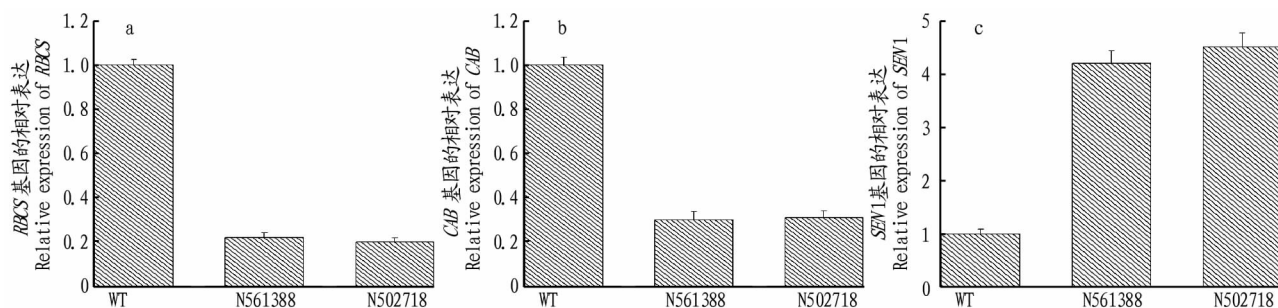
的表型是一致的^[17]。生理检测表明,其叶片中叶绿素 a 含量较野生型植株高,与 *nye1-1* 的表现类似^[17,21],但是与 *Sakuraba* 等^[22] 的结果不完全符合;叶绿素 a/b 比野生型植株大。这一系列差异很可能改善了其光合能力,从而促进植株

生长。

叶绿素荧光动力学参数是植物体内叶绿素荧光变化的度量标准,可以直观反映植物体光系统对光能的吸收、耗散、转化等。通过叶绿素荧光测定可以计算测定出光合过程对内外环境变化的响应。叶绿素荧光有一系列参数,其中比较重要的是 F_v/F_m 。 F_v/F_m 是 PSII 反应中心暗适应下的最大光化学效率,反映光合系统潜在的光化学效率,通常其数值为 0.80 ~ 0.85,且基本不受物种影响。在植物受到光抑制、环境胁迫或发生某些基因突变时, F_v/F_m 会出现显著变化^[14,23]。笔者观察比较了野生型和突变体中主要叶绿素荧光参数 F_v/F_m 的变化,相较于他人研究^[24],笔者认为叶绿素荧光参数与植物衰老及逆境有很大相关性。

可溶性蛋白含量是衡量叶片衰老特性的重要生理指标之一,植物叶片的衰老程度往往与其可溶性蛋白含量呈负相关^[25]。突变体拟南芥叶片中可溶性总蛋白含量,相比同时期野生型植株蛋白含量高,这可能延缓了叶片衰老,延长了光合作用总时间,与植株抗衰老表型相辅相成;可溶性糖的分析也有类似的结果。

衰老也会引起各种有关基因的表达变化^[20],特别是一些光合生理有关基因和衰老 Marker 基因均会发生相应的表达谱变化。*RBCS* 和 *CAB* 基因是重要的光合相关基因,它们的表达量一般可以广泛用作植物光合能力的判断标准,而



注:a 为光合相关基因 *RBCS* 的表达情况;b 为光合相关基因 *CAB* 的表达情况;c 为衰老相关基因 *SEN1* 的表达情况

Note:a is the relative expression of photosynthesis gene *RBCS*;b is the relative expression of photosynthesis gene *CAB*;c is the relative expression of senescent gene *SEN1*

图9 光合和衰老相关基因的表达情况

Fig.9 The relative expression of photosynthesis and senescent

SEN1 则是典型的衰老相关表达基因^[20]。该试验主要分析了 *RBCS* 和 *CAB* 基因以及 *SEN1* 基因的表达量变化情况。试验表明,在暗处理诱导衰老之后,相比野生型植株,前 2 种基因在 N561388 和 N502718 叶片中的表达量均下调,而衰老相关基因 *SEN1* 则有明显上调,说明不同基因在衰老过程都会受到 *SGR2* 基因缺失的不同影响。不过,在超表达植株中,几种基因的表达仍待检测和分析。

衰老不是一个简单的被动物质降解过程。植物体内究竟是如何来控制相关基因表达,以完成生长周期最后一个阶段,并使得各种成分协同作用,组成物质代谢和能量转化的繁复调控网络,依然值得进一步深入研究。而这些研究已经并将继续对培育高产高效农作物以及推进农业科学技术创新,保障粮食安全起到不可替代的作用。

参考文献

- [1] BLEECKER A B, PATTERSON S E. Last exit: Senescence, abscission, and meristem arrest in *Arabidopsis* [J]. *Plant cell*, 1997, 9(7): 1169–1179.
- [2] WEAVER L M, AMASINO R M. Senescence is induced in individually darkened *Arabidopsis* leaves, but inhibited in whole darkened plants [J]. *Plant physiology*, 2001, 127(3): 876–886.
- [3] MA W, SMIGEL A, WALKER R K, et al. Leaf senescence signaling: The Ca^{2+} -conducting *Arabidopsis* cyclic nucleotide gated channel2 acts through nitric oxide to repress senescence programming [J]. *Plant physiology*, 2010, 154(2): 733–743.
- [4] BEAUDOIN N, SERIZET C, GOSTI F, et al. Interactions between abscisic acid and ethylene signaling cascades [J]. *Plant cell*, 2000, 12(7): 1103–1115.
- [5] DAI N, SCHAFFER A, PETREIKOV M, et al. Overexpression of *Arabidopsis* hexokinase in tomato plants inhibits growth, reduces photosynthesis, and induces rapid senescence [J]. *Plant cell*, 1999, 11(7): 1253–1266.
- [6] ZIMMERMANN P, ZENTGRAF U. The correlation between oxidative stress and leaf senescence during plant development [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2005, 10(3): 515–534.
- [7] HÖRTENSTEINER S. Chlorophyll degradation during senescence [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2006, 57: 55–77.
- [8] PRU ZINSKÁ A, TANNER G, AUBRY S, et al. Chlorophyll breakdown in senescent *Arabidopsis* leaves. Characterization of chlorophyll catabolites and of chlorophyll catabolic enzymes involved in the degreening reaction [J]. *Plant physiology*, 2005, 139(1): 52–63.

- [9] MATILE P, HÖRTENSTEINER S, THOMAS H. Chlorophyll degradation [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1999, 50(1): 67–95.
- [10] PARK S Y, YU W J, PARK J S, et al. The senescence-induced staygreen protein regulates chlorophyll degradation [J]. *Plant cell*, 2007, 19(5): 1649–1664.
- [11] JIANG H W, LI M R, LIANG N T, et al. Molecular cloning and function analysis of the *stay green* gene in rice [J]. *Plant J*, 2007, 52(2): 197–209.
- [12] SATO Y, MORITA R, NISHIMURA M, et al. Mendel's green cotyledon gene encodes a positive regulator of the chlorophyll-degrading pathway [J]. *PNAS*, 2007, 104(35): 14169–14174.
- [13] 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.
- [14] ROHÁČEK K K, BARTÁK M. Technique of the modulated chlorophyll fluorescence: Basic concepts, useful parameters, and some applications [J]. *Photosynthetica*, 1999, 37(3): 339–363.
- [15] 刘浩, 苏凡, 王棚涛, 等. 利用 TAIL-PCR 方法克隆拟南芥干旱主效基因 *NCED3* [J]. *河南大学学报(自然科学版)*, 2009, 39(6): 621–625.
- [16] YEMM E W, WILLIS A J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone [J]. *Biochem J*, 1954, 57(3): 508–514.
- [17] 王孝平, 邢树礼. 考马斯亮蓝法测定蛋白含量的研究 [J]. *天津化工*, 2009, 23(3): 40–42.
- [18] SAKURABA Y, SCHELBERT S, PARK S Y, et al. STAY-GREEN and chlorophyll catabolic enzymes interact at light-harvesting complex II for chlorophyll detoxification during leaf senescence in *Arabidopsis* [J]. *Plant cell*, 2012, 24(2): 507–518.
- [19] RONG H, TANG Y Y, ZHANG H, et al. The *Stay-Green Rice like* (*SGRL*) gene regulates chlorophyll degradation in rice [J]. *J Plant Physiol*, 2013, 170(15): 1367–1373.
- [20] SAKURABA Y, PARK S Y, PAK N C. The divergent roles of STAY-GREEN (*SGR*) homologs in chlorophyll degradation [J]. *Mol Cells*, 2015, 38(5): 390–395.
- [21] WU S X, LI Z P, YANG L F, et al. NON-YELLOWING2 (*NYE2*), a close paralog of *NYE1*, plays a positive role in chlorophyll degradation in *Arabidopsis* [J]. *Molecular plant*, 2016, 9(4): 624–627.
- [22] SAKURABA Y, PARK S Y, KIM Y S, et al. *Arabidopsis* STAY-GREEN2 Is a negative regulator of chlorophyll degradation during leaf senescence [J]. *Molecular plant*, 2014, 7(8): 1288–1302.
- [23] 肖华贵, 杨煥文, 饶勇, 等. 甘蓝型油菜黄化突变体的光合特性及叶绿素荧光参数分析 [J]. *作物学报*, 2013, 39(3): 520–529.
- [24] 孙园园, 徐玲玲, 冯旭东, 等. 藜香蓟的镉积累、生物量及叶绿素荧光参数对不同梯度镉胁迫的响应 [J]. *广西植物*, 2015, 35(5): 679–684.
- [25] 王莎莎, 孙利利, 肖素勤, 等. 叶片喷施 C1 化合物对拟南芥生理特性和 C1 代谢、光合作用及胁迫相关基因表达的影响 [J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2011, 37(6): 631–641.

本刊提示 文稿题名下写清作者及其工作单位名称、邮政编码;第一页地脚注明第一作者简介,格式如下:“作者简介:姓名(出生年—),性别,籍贯,学历,职称或职务,研究方向”。