

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2024.02.005

龚晓平, 何焕然, 莫春红, 等. 水稻早衰突变体 $psl4(t)$ 的表型鉴定及基因定位 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2024, 46(2): 44-51.

水稻早衰突变体 $psl4(t)$ 的 表型鉴定及基因定位

龚晓平, 何焕然, 莫春红, 李加胜, 陈锐,
张致力, 孙小红, 勾治琴, 罗挺

重庆市渝东南农业科学院, 重庆 涪陵 408000

摘要: 水稻叶片早衰严重影响水稻的产量与品质, 挖掘水稻叶片早衰相关基因并解析其分子机制, 对提高水稻产量具有重要意义. 从涪恢 9802 和 LR 杂交后代中筛选到叶早衰突变体 $psl4(t)$, 该突变体 6 叶期前叶片呈正常绿色, 从 7 叶期至剑叶(倒 1 叶)期每张叶片均是从叶尖至叶中部逐渐衰老, 叶片的叶绿体发育受阻其体积变小、光合色素质量分数减少, 叶片提前衰老. 农艺性状分析结果表明: 与野生型相比, 突变体 $psl4(t)$ 的穗长、有效分蘖数和籽粒宽变化无统计学意义, 而株高、每穗粒数、结实率及千粒质量显著降低. 遗传分析结果发现: 突变体 $psl4(t)$ 的早衰性状受单隐性核基因控制, 利用分子标记将目标基因定位于第 4 染色体长臂端两个 SSR 标记(RM17004 和 RM17006)之间 38.5 kb 的范围内. 研究为 $psl4(t)$ 基因的克隆及功能解析、早衰分子机制研究奠定基础.

关键词: 水稻; 早衰突变体 $psl4(t)$; 遗传分析; 基因定位

中图分类号: S511 **文献标志码:** A

文章编号: 1673-9868(2024)02-0044-08

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Phenotypic Characterization and Gene Mapping of a Presenescing Leaf Mutant $psl4(t)$ in Rice (*Oryza sativa* L.)

GONG Xiaoping, HE Huanran, MO Chunhong, LI Jiasheng,
CHEN Rui, ZHANG Zhili, SUN Xiaohong, GOU Zhiqin, LUO Ting

Southeast Chongqing Academy of Agricultural Sciences, Fuling Chongqing 408000, China

Abstract: Early leaf senescence greatly affects grain yield and quality in rice. It is of great significance to mine genes related to rice leaf premature senescence and analyze their molecular mechanisms to improve

收稿日期: 2023-06-30

基金项目: 重庆市技术创新与应用发展专项(CSTB2022TIAD-KPX0018, CSTB2022TIAD-KPX0009); “重庆英才计划”创新创业示范团队项目(cqyc201903226); 重庆市农业产业技术体系“水稻创新团队”项目(COMAIT5202301); 浙江省科技厅对口帮扶项目(2021C04025).

作者简介: 龚晓平, 博士, 副研究员, 主要从事水稻遗传育种、分子生物学研究.

通信作者: 罗挺, 研究员.

rice yield. A presenesing leaf mutant *psl4(t)* was obtained from the hybrid offspring of Fuhui9802 and LR in this study. The *psl4(t)* mutant exhibited a normal phenotype up to the L6 stage. Nevertheless, from seventh leaf to flag leaf, each leaf gradually senesced from leaf tip to middle of leaf. The chloroplast development of leaves was inhibited, the size of chloroplasts became smaller, the content of photosynthetic pigments decreased, which leads to the advanced leaf senescence. The results of agronomic trait analysis showed that compared with the wild type, the *psl4(t)* mutant had no significant changes in panicle length, effective tiller number and seed width, while plant height, grain number per panicle, seed setting rate and thousand kernel weight significantly reduced. Genetic analysis revealed that the premature senescence trait of *psl4(t)* mutant was controlled by a single recessive gene. The target gene was mapped in a 38.5 kb region on chromosome 4 between marker RM17004 and RM17006 through gene mapping. This study provides a basis for *psl4(t)* gene cloning and functional analysis, and molecular mechanism of premature leaf senescence.

Key words: rice(*Oryza sativa* L.); *psl4(t)*; genetic analysis; gene mapping

叶片是植物的重要器官,可通过光合作用为植株提供大量的能量和有机物,以保证其正常生长发育。叶片衰老作为叶片自然发育的必经阶段,由外部信号和内部信号引起,是一个高度程序化的过程^[1]。该过程中细胞结构、基因表达和细胞代谢有序变化,最初为叶绿体的破裂,接着叶绿素、蛋白质、膜脂、RNA等有机大分子开始分解并向种子或者生长点转移。该过程还受植物激素、一些代谢物的内源性因素以及光合作用状态等调控^[2-4]。叶片衰老作为植物发育过程中的重要环节,研究叶片衰老在发育生物学中具有积极的意义^[5]。

水稻是单子叶重要的模式植物,更是人类最重要的粮食作物之一,其增产对世界的粮食安全具有重要意义^[6-7]。籼型品种在中后期叶片易早衰,导致光合能力降低,限制了更多有机物的形成和积累,不利于结实率和千粒质量等产量相关性状的提高^[8]。叶片早衰是指水稻抽穗期至成熟期,叶片内部生理功能失调,生理活动受到限制,导致“未老先衰”的表型,出现茎叶枯萎、失绿及根系活性减弱等症状,致使源器官有机物合成不充足,籽粒不充实,空秕率迅速上升,千粒质量下降,对水稻产量及米质造成极大的损失和影响^[9]。在粮食生产中,水稻叶片早衰现象广泛存在。有些水稻品种由于叶片和根系早衰而造成结实率偏低、空秕率较高,影响其产量潜力的发挥。理论上推算,水稻叶片如果推迟1d衰老,可使水稻增产2%左右,而实验结果表明可增产约1%^[10]。有目的地对叶片早衰进行调控,可以提高农作物的产量或延长农产品的贮藏期,因此,开展水稻叶片早衰相关突变体的表型鉴定,以及叶片衰老的生理生化指标检测和基因克隆研究对其在水稻的遗传改良和衰老机制解析等方面具有重要意义。

叶片衰老过程中表达水平发生变化的基因称为叶片衰老相关基因(senesence-associated genes, SAGs)。目前,关于叶片早衰的机理研究较为深入,大多集中在分子和遗传水平上,已有 *ESL9*, *OsDOS*, *OsPLS1*, *SPL28* 等20多个调控水稻 SAGs 完成了基因定位和部分功能解析^[11]。根据早衰突变体表型可分为两种类型:第一个类型是叶片黄化,早衰突变体 *esl9* 分蘖期叶尖开始黄化,逐渐延伸至叶片中段,一直持续到成熟期,其调控基因位于第11染色体,引起叶片淀粉积累,使光合系统受阻^[12]。*OsDOS* RNAi 植株在孕穗期时叶片开始发黄,灌浆期时叶片明显发黄,*OsDOS* 可能通过或部分通过将发育信号与茉莉酸甲酯信号传导通路进行整合来延缓叶片的衰老^[13]。*OsAkaGal* 的过表达植株表现为生长发育延迟且叶片变得灰绿,*OsAkaGal* 是一个类囊体膜降解酶,在水稻叶衰老过程中通过参与双半乳糖甘油二酯的降解从而调控水稻叶片衰老^[14-15]。第二个类型是叶片斑点,早衰突变体 *ospls1* 分蘖期下部叶片出现类病斑症状,由叶尖和叶缘扩展至叶片内侧,其调控基因 *OsPLS1* 通过参与 SA 代谢途径引起叶片衰老^[9]。*SPL28* 编码1个网格相关受体蛋白复合体亚基(AP1M1),参与调控高尔基体的物质运输途径和囊泡运输,功能缺陷造成水稻过敏反应,叶片表现出类病斑,导致植株早衰^[16]。突变体 *rls1* 早衰的叶片在整个表面形成一些散布的、类似感病的黄棕色小斑点,*RLS1* 编码1个具有 NB-ARM 结构域的蛋白,参与叶绿体的降解,引发叶片快速衰老^[17]。叶片衰老是一个复杂的过程,尽管部分水稻叶片衰老基因被定位和克隆,但在蛋白合成

降解、细胞程序性死亡、激素信号转导等阶段还缺乏系统的认知,需挖掘更多叶片早衰的调控基因,不断丰富叶片早衰的调控网络,为水稻抗旱品种选育提供坚实的理论基础。

本研究从涪恢 9802 和 LR 杂交后代中鉴定了早衰突变体 *psl4(t)*,并对该叶片早衰基因进行表型分析和基因定位。该突变体在 6 叶期前叶片呈正常绿色,从 7 叶至剑叶每张叶片从叶尖至叶中部逐渐衰老,其早衰调控候选基因定位于第 4 染色体上,与已报道的早衰基因位点均为非等位,是一个新的早衰基因。本研究对该水稻早衰基因的克隆、功能分析及分子调控机理的研究奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

水稻早衰突变体 *psl4(t)* 是从重庆市渝东南农业科学院以涪恢 9802 和 LR 杂交后代中获得的,经连续多代自交选择,早衰特性能够稳定遗传。之后配制 *psl4(t)/0739NB*, *psl4(t)/431B* 和 *psl4(t)/中九 B* 等 3 个杂交组合,利用 F_1 及其自交 F_2 群体进行遗传分析和基因定位。突变体 *psl4(t)* 和野生型(WT)种植于重庆市渝东南农业科学院(重庆涪陵)试验基地,常规肥水管理。

1.2 农艺性状及光合色素质量分数的测定

水稻成熟后,分别取 *psl4(t)* 及 WT 各 20 株,对其株高、穗长、有效穗数、每穗粒数、结实率和千粒质量等主要农艺性状进行考种分析。每株随机抽取 20 籽粒,利用游标卡尺测定籽粒的长、宽、厚及长宽比。

参考 Wellburn^[18] 的方法,抽穗期测定 WT 和 *psl4(t)* 倒 1 叶至倒 3 叶的光合色素质量分数。准确称样品叶片各 0.05 g,并剪成均匀块状,将其放入装满 95%乙醇溶液的 4 mL 离心管中,在 4℃ 条件下避光处理 24 h,轻轻摇晃多次,使色素完全溶解。吸取 200 μ L 上清液,采用酶标仪分别测量 665, 649 和 470 nm 波长处的吸光值。光合色素质量分数计算公式参照文献[19]。

1.3 透射电子显微镜观察

参照 He^[20] 的方法用电子显微镜观察 *psl4(t)* 抽穗期剑叶叶尖黄色部分和 WT 叶尖部的细胞结构。戊二醛双重固定后,利用不同梯度的乙醇逐级脱水,然后进行置换和包埋,超薄切片后,以醋酸双氧铀和柠檬酸铅液双重染色,荷兰飞利浦 TECNAI10 电子显微镜观察并照相。

1.4 遗传分析及基因定位

大田栽培条件下,调查 *psl4(t)/0739NB*, *psl4(t)/431B* 和 *psl4(t)/中九 B* 的 F_1 杂种叶色,确定控制突变体叶尖早衰症状的显隐性;根据其 F_2 群体中具有正常叶色的水稻单株数与具有突变体性状的单株数的比例,确定控制叶尖早衰性状的基因数量;随后分单株选取亲本材料 *psl4(t)*, 中九 B, 同时在 *psl4(t)/中九 B* 的 F_2 群体中选取 15 株具有突变体性状的单株以及 15 株具有野生型表型的植株叶片,采用 CTAB 法提取亲本和基因池 DNA, 碱煮法提取 F_2 代单株总 DNA; 构建正常基因池和突变基因池,进行连锁标记筛选,引物与 PCR 反应体系参考王晓雯等^[21] 的方法。SSR(<http://www.gramene.org/>)分子标记引物由上海生工生物公司合成(表 1),利用 BSA 法进行基因连锁分析^[22] 及基因定位,用 Mapmaker 3.0 软件分析数据并作图,根据 Gramene 网站(<http://www.gramene.org/>)的水稻基因组信息构建物理图谱。

表 1 *psl4(t)* 基因连锁标记

标记	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')
RM1155	AGGGAGTGTGGCAACTATGC	GGGAGGAGTGAGAAGGGATC
RM3524	CGGAGCTGGTCTAGCCATC	GTCTCCGCTTCTCACTCG
RM3708	GCGTAAGACGACGAGACCTTACC	TGATGACGTGGCTTTCATTTGG
RM16999	GCTGATGCGGAACAAGGAGACC	GATCAGATCACCACCCGAATGAGC
RM17004	GTTATGCCTGGTCCCCTGACC	TCTTGACGTACACGCTGATGATGC
RM17006	AGTCGACGAAGAGGTAGTCGATGG	CTCCTCCTGCTGCTCTCCTTCC
RM5742	GATCCTCAAACGGCCTCTGC	CCTTCAAAGTTTACTCACGCTCTGC
RM6130	AAGCGGCTTCAGCACAAAGATGAGC	GTAGAGCTTCATCAGCTCGTCGATGG
RM142	CTCGCTATCGCCATCGCCATCG	TCGAGCCATCGCTGGATGGAGG

2 结果与分析

2.1 突变体 *psl4(t)* 的表型及主要农艺性状

突变体 *psl4(t)* 1~6 叶期的叶片呈正常绿色, 从 7 叶至剑叶每张叶片从叶尖至叶中部逐渐衰老. 叶片叶绿体发育受阻其体积变小、光合色素质量分数减少, 叶片提前衰老. 抽穗期时, 突变体 *psl4(t)* 的抽穗期极显著长于野生型(图 1a), 突变体 *psl4(t)* 的倒 4 叶出现叶尖早衰黄化(图 1b); 成熟期时, 突变体 *psl4(t)* 主茎长度显著短于野生型(图 1c), 所有叶片全部表现严重黄化衰老症状(图 1d). 透射电镜分析表明, 分蘖后期至抽穗期突变体 *psl4(t)* 剑叶部分叶绿体中的类囊体已开始降解, 而且其叶绿体中的淀粉颗粒数量明显少于对照, 但淀粉颗粒大小明显增大(图 2). 此外, 我们对野生型和突变体 *psl4(t)* 的主要农艺性状进行了统计, 结果显示突变体 *psl4(t)* 的株高、每穗粒数和结实率极显著低于野生型, 分别下降 8.49%, 12.91% 和 7.73%(表 2), 表明突变体 *psl4(t)* 叶绿体结构的破坏可导致叶片黄化早衰, 影响植株的株高及产量.

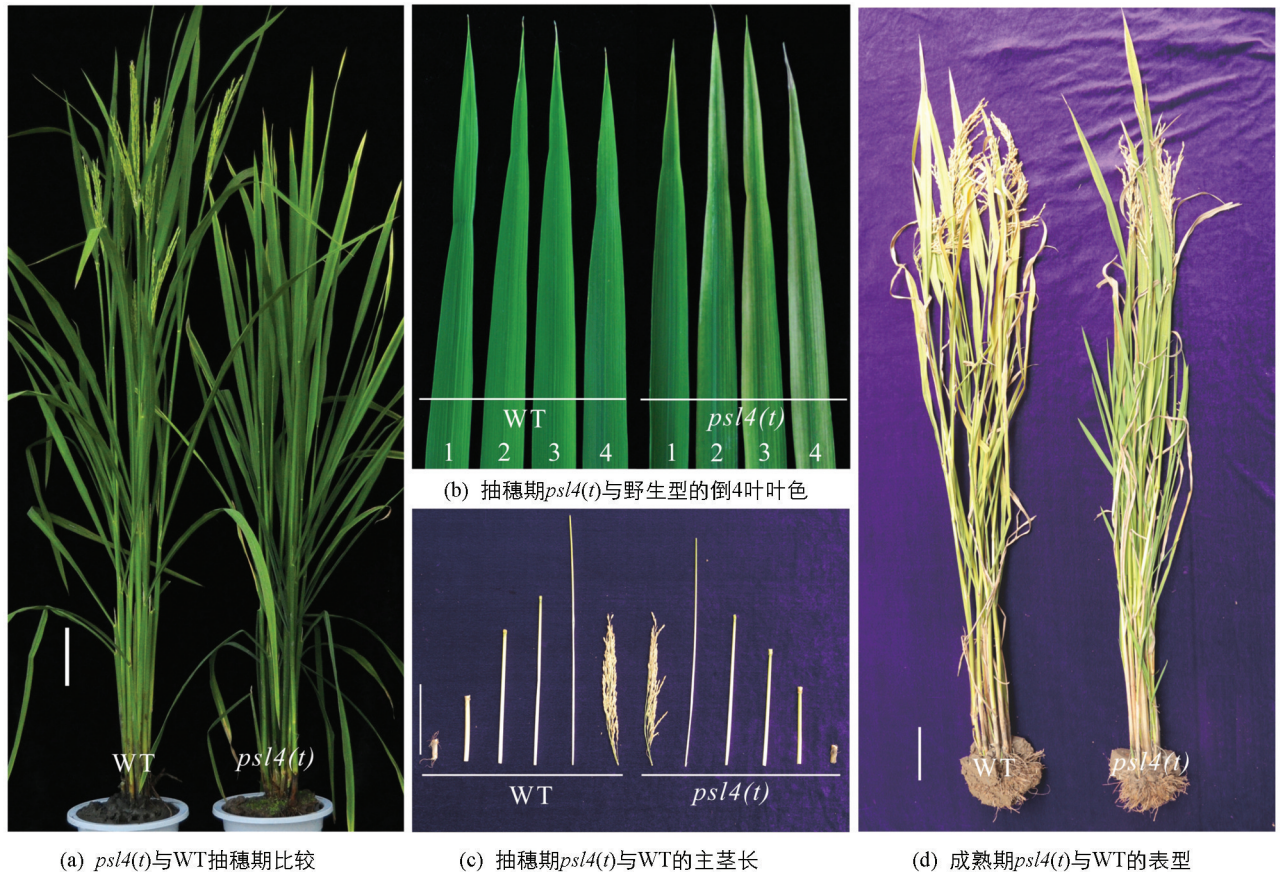


图 1 突变体 *psl4(t)* 与野生型(WT)的表型

表 2 野生型(WT)与突变体 *psl4(t)* 的主要农艺性状分析

材料	株高/ cm	有效穗	穗长	每穗粒数	每穗 实粒数	结实率/ %	千粒质量/ g	籽粒长/ mm	籽粒宽/ mm
WT	118.64±4.12	12.43±1.61	23.28±1.21	176.56±6.49	143.92±4.42	81.51±1.46	25.65±0.50	9.37±0.28	2.89±0.08
<i>psl4(t)</i>	108.57±4.36**	11.58±1.52	23.24±0.98	153.76±9.78**	115.64±6.95**	72.21±1.72**	22.85±0.42**	9.12±0.25*	2.79±0.12

注: * 表示 $p < 0.05$, ** 表示 $p < 0.01$, 差异有统计学意义.

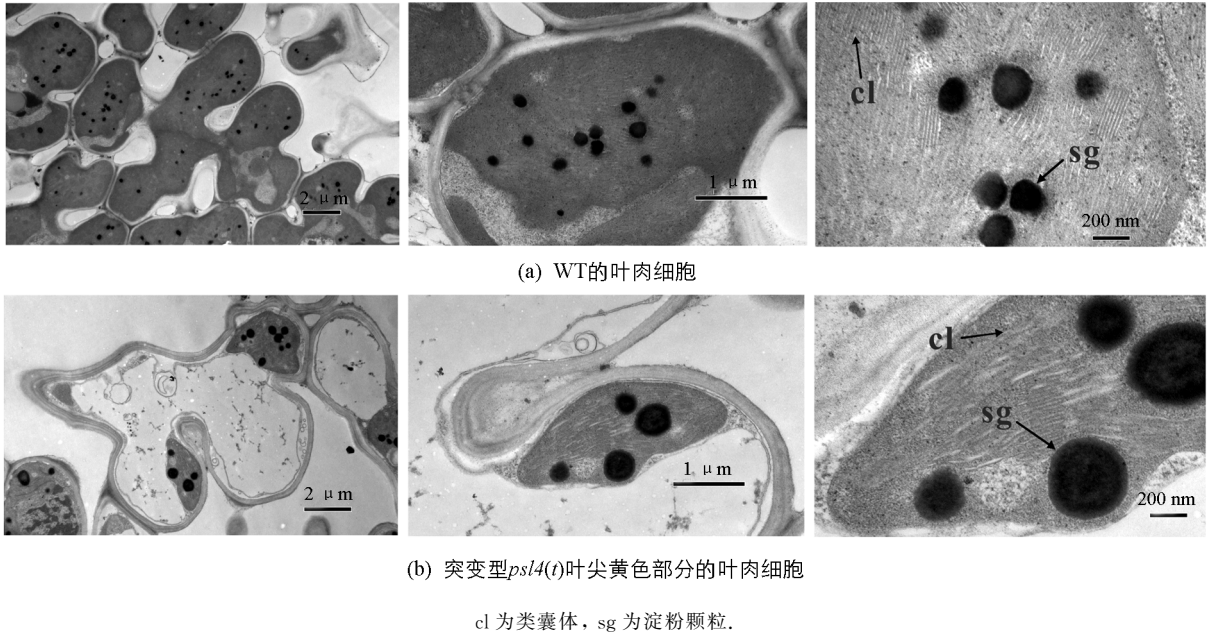
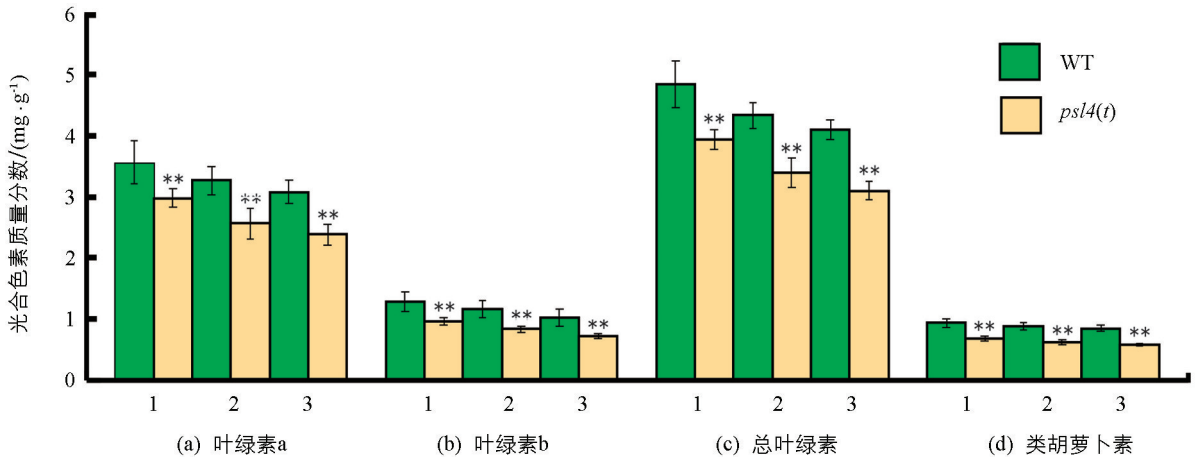


图 2 突变体 $psl4(t)$ 与野生型 (WT) 的剑叶叶尖叶肉细胞

2.2 光合色素质量分数测定

对抽穗期野生型和突变体 $psl4(t)$ 倒 1 叶至倒 3 叶的光合色素质量分数进行测定, 结果表明突变体 $psl4(t)$ 倒 1 叶(剑叶)、倒 2 叶和倒 3 叶的叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素及类胡萝卜素的质量分数(图 3)均极显著低于野生型(WT)。与野生型相比, 突变体 $psl4(t)$ 的倒 1 叶、倒 2 叶和倒 3 叶的总叶绿素质量分数分别下降 15.37%, 14.80% 和 4.49%。因此, 突变体 $psl4(t)$ 叶片黄化早衰很可能是光合色素质量分数显著降低所致。



1~3 分别代表倒 1 叶至倒 3 叶; ** 表示 $p < 0.01$, 差异有统计学意义。

图 3 抽穗期野生型 (WT) 与突变体 $psl4(t)$ 的倒 1 叶、倒 2 叶、倒 3 叶光合色素质量分数对比

2.3 突变体 $psl4(t)$ 的遗传分析

突变体 $psl4(t)$ 1~6 叶期的叶片呈正常绿色, 从 7 叶期至剑叶期每张叶片从叶尖至叶中部逐渐衰老。F₁ 代表现为正常的叶色和寿命, 说明该突变性状表现为隐性遗传。 $psl4(t)/0739NB$, $psl4(t)/431B$ 和 $psl4(t)/中九B$ 的 3 个 F₂ 代群体出现正常叶和衰老叶两种情况, 正常叶与早衰叶的单株数都符合经典遗传学分离比例 3 : 1(表 3), 表明突变体 $psl4(t)$ 是由单隐性核基因控制。

表 3 水稻早衰突变体 *psl4(t)* 与 0739NB, 431B 和中九 B 杂交 F₂ 代的表型分离比

杂交组合	世代	正常株	早衰突变株	总数	X ² (3 : 1)
<i>psl4(t)</i> /0739NB	F ₂	310	102	412	0.001(3 : 1)
<i>psl4(t)</i> /431B	F ₂	135	43	178	0.060(3 : 1)
<i>psl4(t)</i> /中九 B	F ₂	5 194	1 656	6 850	2.490(3 : 1)

2.4 突变体 *psl4(t)* 的基因定位

基因定位中连锁标记的筛选采用近等基因池分析法. 利用 *psl4(t)*/0739NB 的 F₂ 群体中具有突变性状的 102 个单株作为基因初步定位群体, 选择该群体中 15 株野生型叶片等量混合构建野生型基因池、15 株早衰型叶片等量混合构建早衰型基因池, 用均匀分布于 12 条染色体的 500 对 SSR 标记逐条分析其在 *psl4(t)* 和 0739NB 间的多态性, 其中 106 对标记在亲本间表现多态性. 用在亲本间表现多态性的标记对野生型基因池和早衰型基因池进行多态性分析. 结果位于第 4 染色体长臂的 SSR 标记 RM1155, RM142 和 RM3524 在突变体基因池和正常基因池之间存在明显偏分离, 说明 *psl4(t)* 位于第 4 染色体. 利用 102 个早衰型单株验证以上标记, 并根据重组单株数和重组单株分布情况, 初步把 *psl4(t)* 定位在 RM142 和 RM3524 标记之间, 遗传距离分别为 8.0 cM 和 10.3 cM(图 4a).

为了将 *psl4(t)* 限定在更小的范围内, 我们利用 RM1155 和 RM3524 标记之间的 16 对标记, 对亲本及基因池进行 PCR 扩增, 找到其中的差异引物 RM3708, RM16999, RM17004, RM17006, RM5742 和 RM6130(表 1). 利用分离群体的 1 656 个隐性单株将 *psl4(t)* 精细定位在 BAC 克隆 OSJNBa0084A10 的标记 RM17004 和 RM17006 之间 38.5 kb 的范围内(图 4b 和 4c). 根据日本晴基因组序列预测在这 38.5 kb 范围内有 7 个候选基因(图 4d 和表 4), 分别是 *LOC_Os04g35260*, *LOC_Os04g35270*, *LOC_Os04g35280*, *LOC_Os04g35290*, *LOC_Os04g35300*, *LOC_Os04g35305*, *LOC_Os04g35310*.

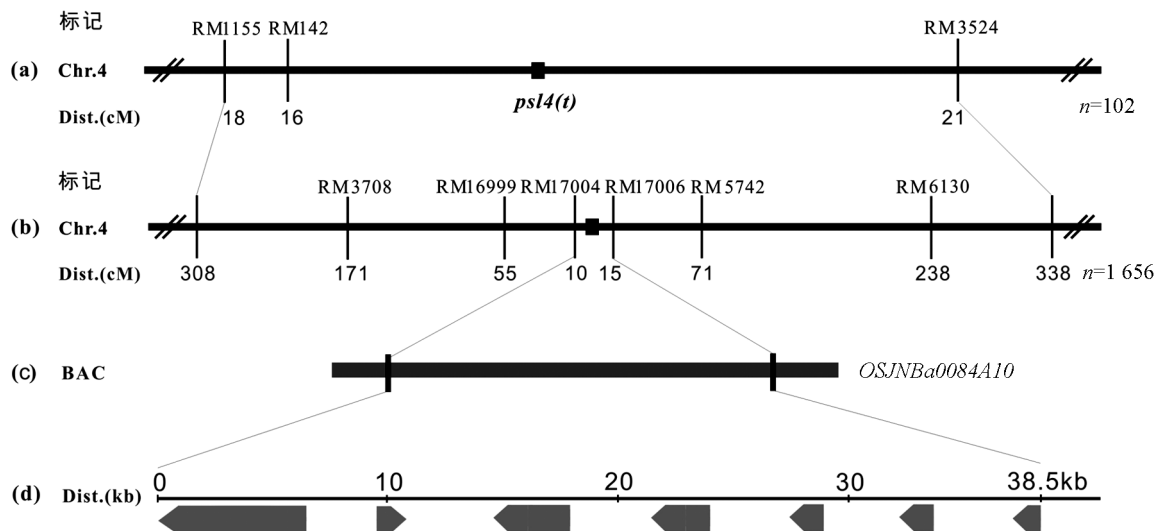
图 4 水稻叶尖早衰基因 *psl4(t)* 在第 4 染色体上的分子定位

表 4 定位区间内的候选基因及功能注释

基因	功能注释	基因	功能注释
<i>LOC_Os04g35260</i>	DEAD/DEAH 盒解旋酶结构域	<i>LOC_Os04g35300</i>	SLL1 假定蛋白
<i>LOC_Os04g35270</i>	α -1, 4-聚焦转移酶假定蛋白	<i>LOC_Os04g35305</i>	四肽状螺旋状结构域
<i>LOC_Os04g35280</i>	中性/碱性转化酶	<i>LOC_Os04g35310</i>	Meprin 和 TRAF 同源 MATH 结构域
<i>LOC_Os04g35290</i>	蛋白质二硫键异构酶前体		

3 讨论与结论

水稻叶片是光合作用、呼吸作用、蒸腾作用等重要的场所,同时也是影响水稻产量的源器官,因此克隆相关水稻叶片早衰基因对于解析叶片早衰分子机制具有重要意义.本研究中的突变体 *psl4(t)* 属于叶片黄化类型突变体,6 叶期前叶片呈正常绿色,从 7 叶期起至剑叶,叶尖开始黄化沿叶中部逐渐延伸;进一步通过农艺性状统计发现,其穗长、有效穗和籽粒宽变化无统计学意义,而株高、每穗粒数、结实率及千粒质量则显著降低.早衰突变体 *psl1* 自苗期的心叶抽出开始,前 1 叶就开始变黄衰老^[23]; *psl3* 则是从第 6 叶开始表现衰老,叶片从上部到基部衰老程度逐渐减轻,叶下部和叶鞘基本保持绿色^[24]; *pse(t)* 叶片从抽穗期开始表现衰老,先在老叶上出现褐色斑点,接着整张叶片黄化衰老,灌浆期叶鞘与上层叶片也迅速黄化衰老^[25].与早衰突变体 *psl1*, *psl3* 和 *pse(t)* 的早衰表现不同, *psl4(t)* 突变体从 7 叶开始出现叶尖黄化,逐渐向叶中部延伸且不会超过叶中部,叶中部到基部及叶鞘仍然保持绿色,对植株产量影响相对较轻.

水稻衰老过程中涉及的相关基因数量较多,调控路径复杂,具有较为庞大的调控网络^[18].根据基因的作用途径可分为以下几类:叶绿体的发育及叶绿素降解途径,蛋白质合成、降解及转运途径,激素调控途径,细胞程序化死亡途径等.各途径既独立又协同,共同调控叶片衰老过程的有序进行.水稻的 *NYC1* 和 *NOL* 与叶绿素的降解相关, *NYC1*, *NOL* 基因编码叶短链脱氢酶/还原酶,均定位在类囊体膜上,在促进叶片衰老过程的叶绿素 b 降解中发挥重要作用^[26].弱势早衰突变体 *wls5* 的叶绿体发育异常,由于积累了过量的活性氧,导致叶片中的叶绿素严重降解,内源植物激素紊乱^[27]. *psl4(t)* 突变体叶片中的叶绿素发生大量降解,但与 *nycl*, *nol* 和 *wls5* 不同的是其叶绿体的类囊体结构也发生降解,且其叶绿体中的淀粉积累量减少.目前报道的与叶片早衰相关的淀粉积累突变体较少, *OsSRT1* RNAi 植株在两叶期表现早衰,成熟种子中的淀粉粒变小而松散,且 *OsSRT1* 编码水稻中的组蛋白去乙酰化酶,参与调控淀粉在植株中的积累^[28].叶片早衰淀粉积累异常突变体 *esl9* 在叶片中淀粉合成增加,但是淀粉分解速率不及合成速率,导致叶片中合成的淀粉仍不能完全降解,故引起叶绿体中淀粉颗粒积累压迫甚至损伤类囊体^[14].与 *esl9* 不同, *psl4(t)* 叶片中淀粉积累数量明显减少,但淀粉颗粒明显增大,推测可能是淀粉颗粒的积累导致叶绿体中类囊体结构的损伤降解.遗传分析发现, *psl4(t)* 突变体的早衰性状受单隐性核基因控制;利用分子标记将目标基因定位于第 4 染色体长臂端两个 SSR 标记(RM17004 和 RM17006)之间 38.5 kb 的范围内,该区间有 7 个注释基因.本研究发现叶早衰基因的时空表达与其余衰老基因有一定的差异,说明引起植物叶衰老的遗传基础复杂.通过对该早衰突变体 *psl4(t)* 的遗传分析和基因定位,可以作为叶早衰分子机理研究的互补验证和补充,在水稻的遗传改良和衰老机制解析等方面具有重要意义.

参考文献:

- [1] GUO Y F, GAN S S. Convergence and Divergence in Gene Expression Profiles Induced by Leaf Senescence and 27 Senescence-Promoting Hormonal, Pathological and Environmental Stress Treatments [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2012, 35(3): 644-655.
- [2] MOORE B, ZHOU L, ROLLAND F, et al. Role of the *Arabidopsis* Glucose Sensor HXK1 in Nutrient, Light, and Hormonal Signaling [J]. *Science*, 2003, 300(5617): 332-336.
- [3] SAKURABA Y, BALAZADEH S, TANAKA R, et al. Overproduction of Chl b Retards Senescence through Transcriptional Reprogramming in *Arabidopsis* [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2012, 53(3): 505-517.
- [4] KUSABA M, TANAKA A, TANAKA R. Stay-Green Plants: What do they Tell us about the Molecular Mechanism of Leaf Senescence [J]. *Photosynthesis Research*, 2013, 117(1): 221-234.
- [5] 李晴, 朱玉贤. 植物衰老的研究进展及其在分子育种中的应用 [J]. *分子植物育种*, 2003, 1(3): 289-296.
- [6] 杨正林, 赵芳明, 钟秉强, 等. 不同遗传背景下杂交水稻产量性状的遗传分析 [J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2008, 30(12): 5.
- [7] 朱洪慧, 李映姿, 王成洋, 等. 水稻小粒突变体 *smg2* 的表型鉴定和候选基因分析 [J]. *西南大学学报(自然科学版)*,

- 2023, 45(1): 2-11.
- [8] 李付振. 一个水稻早衰突变体 *pse(t)* 的遗传分析、定位及生理学研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2005.
- [9] ZHOU Y, HUANG W F, LIU L, et al. Identification and Functional Characterization of a Rice NAC Gene Involved in the Regulation of Leaf Senescence [J]. BMC Plant Biology, 2013, 13: 132-132.
- [10] 段俊, 梁承邨, 黄毓文. 杂交水稻开花结实期间叶片衰老 [J]. 植物生理学报, 1997(2): 139-144.
- [11] 李可, 禹晴, 徐云姬, 等. 水稻叶片早衰突变体的农艺与生理性状研究进展 [J]. 中国水稻科学, 2020, 34(2): 104-114.
- [12] 肖艳华. 水稻叶片淀粉积累及早衰突变体 *esl9* 的鉴定与基因定位 [D]. 重庆: 西南大学, 2023.
- [13] KONG Z S, LI M N, YANG W Q, et al. A Novel Nuclear-Localized CCCH-Type Zinc Finger Protein, OsDOS, is Involved in Delaying Leaf Senescence in Rice [J]. Plant Physiology, 2006, 141(4): 1376-1388.
- [14] LEE R H, LIN M C, CHEN S C. A Novel Alkaline α -galactosidase Gene is Involved in Rice Leaf Senescence [J]. Plant Molecular Biology, 2004, 55(2): 281-295.
- [15] LEE R H, HSU J H, HUANG H J, et al. Alkaline α -galactosidase Degrades Thylakoid Membranes in the Chloroplast during Leaf Senescence in Rice [J]. New Phytologist, 2009, 184(3): 596-606.
- [16] QIAO Y L, JIANG W Z, LEE J, et al. SPL28 Encodes a Clathrin-Associated Adaptor Protein Complex 1, Medium Subunit M1 (AP1M1) and is Responsible for Spotted Leaf and Early Senescence in Rice (*Oryza sativa*) [J]. New Phytologist, 2010, 185(1): 258-274.
- [17] JIAO B B, WANG J J, ZHU X D, et al. A Novel Protein RLS1 with NB-ARM Domains is Involved in Chloroplast Degradation during Leaf Senescence in Rice [J]. Molecular Plant, 2012, 5(1): 205-217.
- [18] WELLBURN A R. The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as Well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution [J]. Journal of Plant Physiology, 1994, 144(3): 307-313.
- [19] 王致远, 刘子文, 谷晗, 等. 水稻白条纹叶突变体 *wsl7* 的表型鉴定及候选基因分析 [J]. 南京农业大学学报, 2019, 42(1): 21-29.
- [20] HE R F. Study on Leaf Ultrastructure of the Thermo-Sensitive Chlorophyll Deficient Mutant in Rice [J]. J Wuhan Bot Res, 2001, 19: (1) 1-5.
- [21] 王晓雯, 苗润隆, 蒋钰东, 等. 水稻穗颈极度缩短突变体 *sui(t)* 的遗传分析与基因定位 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2013, 35(5): 1-6.
- [22] MICHELMORE R W, PARAN I, KESSELI R V. Identification of Markers Linked to Disease-resistance Genes by Bulk Segregant Analysis: a Rapid Method to Detect Markers in Specific Genomic Regions by Using Segregating Populations [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1991, 88(21): 9828-9832.
- [23] 王军, 吴书俊, 周勇, 等. 水稻早衰叶突变体基因 *psl1* 的遗传分析和精细定位 [J]. 科学通报, 2006, 51(20): 2387-2392.
- [24] 方立魁, 李云峰, 龚小平, 等. 水稻叶片显性早衰突变体 *psl3* 的遗传分析与基因精细定位 [J]. 科学通报, 2010, 55(17): 1676-1681.
- [25] LI F Z, HU G C, FU Y P, et al. Genetic Analysis and High-resolution Mapping of a Premature Senescence gene *Pse(t)* in Rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Genome, 2005, 48(4): 738-746.
- [26] KUSABA M, ITO H, MORITA R, et al. Rice NON-YELLOW COLORING1 is Involved in Light-Harvesting Complex II and Grana Degradation during Leaf Senescence [J]. The Plant Cell, 2007, 19(4): 1362-1375.
- [27] ZHAO C Y, LIU C L, ZHANG Y, et al. A 3-Bp Deletion of WLS5 Gene Leads to Weak Growth and Early Leaf Senescence in Rice [J]. Rice, 2019, 12(1): 26.
- [28] FANG C Y, ZHANG H, WAN J, et al. Control of Leaf Senescence by an MeOH-jasmonates Cascade that is Epigenetically Regulated by *OsSRT1* in Rice [J]. Molecular Plant, 2016, 9(10): 1366-1378.