

## ‘Micro-Tom’番茄*SISARK-like*基因克隆及初步功能分析

王凤凤, 赵曦娟, 王丹, 苏杨起, 梅圆圆, 王宁宁\*

南开大学生命科学学院, 天津300071

**摘要:** 从‘Micro-Tom’番茄(*Solanum lycopersicum*)中分离克隆了一个与叶片衰老相关、编码LRR型类受体蛋白激酶(receptor-like protein kinase, RLK)的基因。序列分析显示, 该基因的编码产物与大豆和拟南芥中的SARK (SENESCENCE-ASSOCIATED RECEPTOR-LIKE KINASE)类似, 都具有典型的LRR-RLK结构, 且可能具有丝/苏氨酸和酪氨酸双底物特异性激酶活性, 因此命名为*SISARK-like*。半定量RT-PCR分析表明, 无论是自然衰老还是*AtSARK*过表达诱导衰老的‘Micro-Tom’叶片中, *SISARK-like*基因的表达水平都明显提高。进一步利用农杆菌介导的番茄转化技术获得了6个*GVG:SISARK-like*转基因‘Micro-Tom’株系, 发现DEX诱导*SISARK-like*基因过表达导致转基因植株早衰, 说明*SISARK-like*基因对‘Micro-Tom’叶片衰老起正向调控作用。上述研究结果进一步支持了编码LRR-RLK的*SARK*基因参与叶片衰老调控的机制普遍存在于高等植物中。

**关键词:** ‘Micro-Tom’番茄(*Solanum lycopersicum*); LRR型类受体蛋白激酶; *SISARK-like*; 叶片衰老

## Cloning and Preliminary Functional Analysis of *SISARK-like* Gene in ‘Micro-Tom’ Tomato

WANG Feng-Feng, ZHAO Xi-Juan, WANG Dan, SU Yang-Qi, MEI Yuan-Yuan, WANG Ning-Ning\*

College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China

**Abstract:** In this research, we reported the cloning and functional analysis of *SISARK-like* gene in ‘Micro-Tom’ tomato (*Solanum lycopersicum*) that shares high similarity to *SARK* (SENESCENCE-ASSOCIATED RECEPTOR-LIKE KINASE) genes in soybean (*Glycine max*) and *Arabidopsis thaliana*. The encoded protein contains typical domains of LRR receptor-like kinase and may also auto-phosphorylate on both serine/threonine and tyrosine residues. Semi-quantitative RT-PCR analysis showed that the expression of *SISARK-like* was significantly increased during both natural senescence and *AtSARK*-induced precocious senescence in ‘Micro-Tom’. Furthermore, we obtained six *GVG:SISARK-like* transgenic ‘Micro-Tom’ lines by *Agrobacterium*-mediated transformation method, and we found that DEX-induced overexpression of *SISARK-like* caused precocious senescence in the transgenic ‘Micro-Tom’ tomato. Taken together, these results imply that *SARK*-induced leaf senescence may be a common mechanism in higher plants.

**Key words:** ‘Micro-Tom’ tomato (*Solanum lycopersicum*); LRR receptor-like protein kinase; *SISARK-like*; leaf senescence

衰老是叶片生长发育的最后阶段, 是一个细胞程序性死亡的过程, 这一过程实现了衰老的叶片中营养物质向幼嫩的器官和种子中转移。叶片衰老对营养物质的充分利用、提高植物的抗逆性等具有重要的意义(Lohman等1994)。但另一方面, 对于大多数农作物来说, 早衰会降低作物的产量和品质(Gan和Amasino 1995; Rivero等2007; Breeze等2011)。叶片衰老是由外界多种环境因子和内部发育信号协同控制的(Yoshida 2003; Guo和Gan 2005)。近年有关叶片衰老调控机制的研究已经取得了很大进展, 但关于叶片衰老信号转导的途径、

植物体内部信号和外界环境因子之间如何“对话”(cross-talk)等仍不清晰。

植物类受体蛋白激酶(receptor-like protein kinases, RLKs)是一类包含胞外域、单次跨膜域和胞内激酶域的蛋白分子, 可以通过独特的胞外受体域特异识别并结合胞外信号分子, 通过单次跨膜

收稿 2015-10-27 修定 2015-12-02

资助 国家自然科学基金(31170261)和教育部博士点基金优先发展领域课题(20130031130003)。

\* 通讯作者(E-mail: wangnn@nankai.edu.cn; Tel: 022-23504096)。

域的传递来激活胞内激酶域的自磷酸化和催化磷酸化活性(Walker 1994)。目前,在植物中已鉴定的类受体激酶绝大多数属于LRR型,该类型的激酶的N-末端有信号肽和亮氨酸拉链基序,胞外域包含多个LRR基序,激酶域位于C末端(Zhang 1998; 马媛媛等2005)。近年来研究发现,类受体蛋白激酶广泛参与植物的叶片衰老调控过程(肖冬等2014)。例如,早期有人在拟南芥中发现一个编码LRR-RLK的基因*RPKI* (Hong等1997),近期研究证明该基因不仅仅正向调控叶片自然衰老还参与到ABA诱导的衰老信号路径中(Lee等2011)。

在前期研究工作中,本课题组从衰老的大豆叶片中克隆了一个编码LRR-RLK的基因*GmSARK*,利用RNAi技术沉默该基因的表达可以明显延缓转基因大豆的叶片衰老(Li等2005),过表达该基因则导致转基因植株早衰致死(Li等2006);进一步在拟南芥中分离鉴定了*GmSARK*的同功能基因*AtSARK*,利用诱导型启动子GVG系统驱动该基因的过表达会加速转基因拟南芥衰老;无论是*GmSARK*还是*AtSARK*都具有丝/苏氨酸和酪氨酸双底物特异性(Xu等2011)。我们分别在大豆和拟南芥中的研究结果暗示,可能在高等植物中普遍存在编码LRR-RLK的*SARK*基因参与叶片衰老调控,但在其他植物包括番茄中还没有研究报告进行验证。本文通过对*AtSARK*过表达所诱导的GVG:*AtSARK*转基因微型番茄'Micro-Tom'衰老叶片的基因芯片数据进行分析,筛选了一个编码LRR-RLK的基因,其表达随番茄叶片衰老上调,命名为*SISARK-like*。利用农杆菌介导的番茄子叶转化法,获得了6个GVG:*SlSARK-like*转基因'Micro-Tom'番茄株系,并观察DEX诱导*SISARK-like*基因过表达对转基因番茄幼苗的影响,发现同*GmSARK*和*AtSARK*一样,*SlSARK-like*基因也对番茄叶片衰老过程发挥正向调控作用。

## 材料与方法

### 1 材料和处理

供试植物材料为'Micro-Tom'番茄(*Solanum lycopersicum* L.),野生型'Micro-Tom'番茄种子先后分别经过75%乙醇和1% NaClO消毒1 min和7 min,灭菌水清洗10次,铺种于1/2MS固体培养基

上,置于光照培养箱(光/暗周期16 h/8 h,温度22 °C)中萌发生长,苗龄为7 d时,可用于'Micro-Tom'遗传转化。本文中GVG:*GUS*和GVG:*AtSARK*转基因'Micro-Tom'材料以及含GVG:*SISARK-like*质粒的LBA4404农杆菌菌株均由本课题组前期实验获得并保存。

### 2 GVG:*SISARK-like*的'Micro-Tom'遗传转化

以'Micro-Tom'番茄的子叶作为转化材料,用农杆菌介导的遗传转化法进行转化,侵染转化后的愈伤组织用潮霉素来筛选,筛选出的新生愈伤组织进行分化、生根、炼苗,最后移栽到土里继续培养(Ellul等2003)。

### 3 转基因'Micro-Tom'番茄的基因组PCR检测

待转基因'Micro-Tom'长出3~4片真叶时,取80~100 mg的植物叶片,采用SDS法提取基因组DNA,分别用*SISARK-F* (5'-TGGTAGGGTTT-GTTTCAGGC-3')和7002B-R (5'-AACTTAGTAG-GATTCTGGTGTGTGG-3')以及HygP-F (5'-ATGAAAAGCCTGAACTCAC-3')和HygP-R (5'-GCCTCCAGAAGAAGATGTTG-3')扩增目的基因*SISARK-like*基因片段和潮霉素基因(*Hygiene*)片段。PCR反应体系:3 μL PCR Buffer, 0.6 μL dNTPs Mix, 引物各0.6 μL, 0.3 μL *Taq*聚合酶, 1 μL基因组作为模板,加ddH<sub>2</sub>O补齐到30 μL。PCR反应条件如下:94 °C预变性5 min; 94 °C变性30 s, 60 °C退火30 s, 72 °C延伸45 s, 32个循环;最后72 °C延伸10 min。PCR产物用1%琼脂糖凝胶电泳检测。

### 4 RNA提取及半定量RT-PCR

植物材料的RNA提取采用Trizol法。具体的RNA提取方法、反转录合成cDNA以及半定量RT-PCR,参考Liu等(2010)文献。在半定量RT-PCR分析中,分别使用引物*AtSARK-F* (5'-GAGCAATGT-GATCCCAAGATCATTC-3')和7002B-R2 (5'-GGC-AATGAACTGATGCATTGAACT-3')来扩增*AtSARK*目的片段,RLK162S-F (5'-GCAGACTCT-GGAGGTGGTTC-3')和RLK162S-R (5'-TCGCCT-GTGTACGGATAAGC-3')来扩增*SISARK-like*目的片段;用于实验的内标引物为Le18SrRNA-1 (5'-TGCAGTTAAAAGCTCGTAGTTGGAC-3')和Le18SrRNA-2 (5'-CTTTCGCAGTTGTTCGTC-TTTCATAA-3')。

## 5 转基因‘Micro-Tom’植株的GVG水培诱导体系

将消毒后的野生型和转基因‘Micro-Tom’番茄种子分别铺于无抗生素和含 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 潮霉素的1/2 MS固体培养基上, 筛选出的阳性转基因幼苗转移到无抗生素的1/2MS固体培养基恢复培养, 待植株长出3~4片真叶时, 挑取长势一致的野生型和转基因‘Micro-Tom’番茄幼苗分别置于含有 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 地塞米松(dexamethasone, DEX)诱导液体培养基和对照组液体培养基(MOCK液体培养基中仅含地塞米松的溶剂无水乙醇)中处理10 d左右, 观察表型。

## 实验结果

### 1 SISARK-like蛋白序列分析和结构预测

本文以GVG:AtSARK转基因‘Micro-Tom’番茄为材料, 利用基因芯片技术分析过表达AtSARK对转基因番茄转录组的影响, 从芯片数据中发现一个编码LRR-RLK、随衰老表达上调的基因。Smart软件分析结果显示, 同GmSARK和AtSARK一样, 该基

因编码的LRR-RLK也具有丝/苏氨酸和酪氨酸双底物特异性。初步预测该基因与衰老相关, 克隆该基因并命名为SISARK-like。经<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>网站分析, 该基因开放阅读框长2 853 bp, 编码951个氨基酸残基。蛋白结构预测(图1-A)表明SISARK-like主要由N-端信号肽、胞外域、跨膜域和保守的激酶域构成, 其中胞外域含有12个完整的和1个不完整的LRR重复基序, 激酶域位于C末端, 由7个亚结构域构成(Hanks等1988; Clark等1997)。<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>网站protein BLAST结果显示SISARK-like氨基酸序列与大多数LRR型蛋白激酶序列具有一定的相似性。如图1-B所示, ‘Micro-Tom’番茄中的SISARK-like与马铃薯(*Solanum tuberosum*)中的LRR-RLK (XP\_006358481.1, 功能未知)和烟草(*Nicotiana tomentosiformis*)中的LRR-RLK (XP\_009605193.1, 功能未知)序列同源性分别为95%和84%, 它们在激酶域都含有相应的保守氨基酸位点。

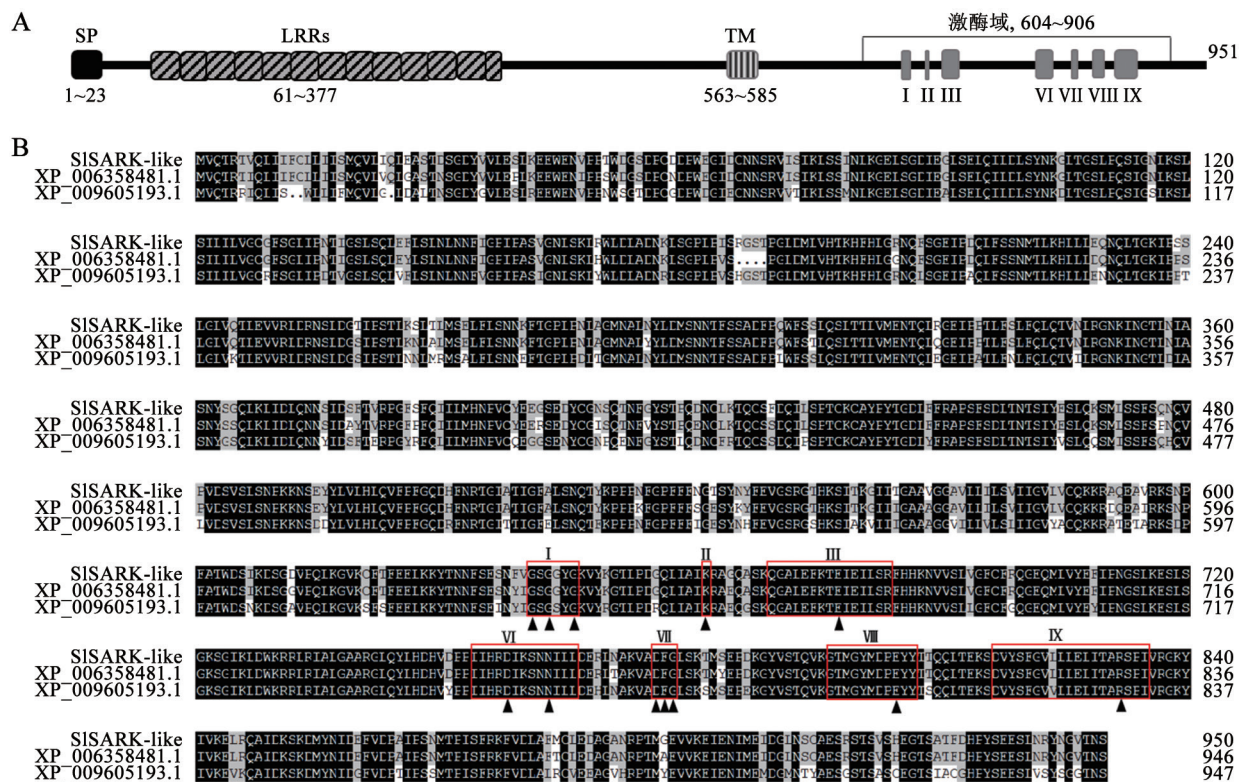


图1 SISARK-like序列结构分析

Fig. 1 The sequence and structure analysis of SISARK-like protein

A: SISARK-like结构预测; B: SISARK-like序列同源性分析, 红色方框代表保守激酶结构域, ▲代表保守氨基酸位点。



## 2 *SISARK-like*在番茄叶片自然衰老和*AtSARK*诱导衰老过程中的表达特点

为了探究*SISARK-like*基因与'Micro-Tom'番茄叶片衰老的关系,首先选取成熟绿叶、衰老起始、衰老中期和衰老晚期4种不同衰老程度的野生型'Micro-Tom'叶片(图2-A),检测各叶片中*SISARK-like*基因表达情况。半定量RT-PCR结果显示(图2-B):*SISARK-like*基因在成熟绿叶中表达水平较低,伴随着叶片衰老的起始*SISARK-like*基因表达明显增加,并随着叶片衰老程度的加深,在衰老中期达到高峰,至衰老晚期该基因表达水平出现下降,这暗示*SISARK-like*基因可能参与'Micro-Tom'叶片自然衰老调控。同时本文又以转*GVG:AtSARK*基因'Micro-Tom'番茄幼苗为材料,检测在*AtSARK*诱导衰老的番茄叶片中*SISARK-like*基因的表达情况。此实验采用了糖皮质激素介导的转录诱导系统(即GVG体系; Aoyama和Chua 1997)来驱动目的基因的表达。我们挑取20 d苗龄的生长发育状态一致的野生型、*GVG:GUS*转基因对照和*GVG:AtSARK*转基因'Micro-Tom'番茄幼苗,转入含有10

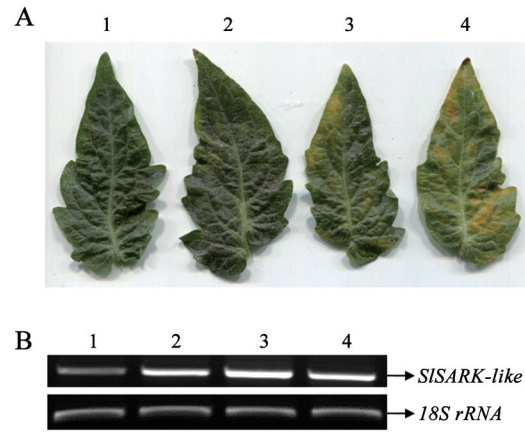


图2 'Micro-Tom'番茄叶片自然衰老过程中*SISARK-like*表达模式

Fig.2 The expression pattern of *SISARK-like* during natural senescence of wild type 'Micro-Tom' tomato

A: 叶片材料的选取; B: *SISARK-like*基因的半定量RT-PCR鉴定。编号1~4分别表示成熟绿叶、衰老起始、衰老中期和衰老晚期4种不同衰老程度的叶片。

$\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 诱导剂地塞米松(dexamethasone, DEX)的1/2MS液体培养基培养。由图3-A可以看出:与

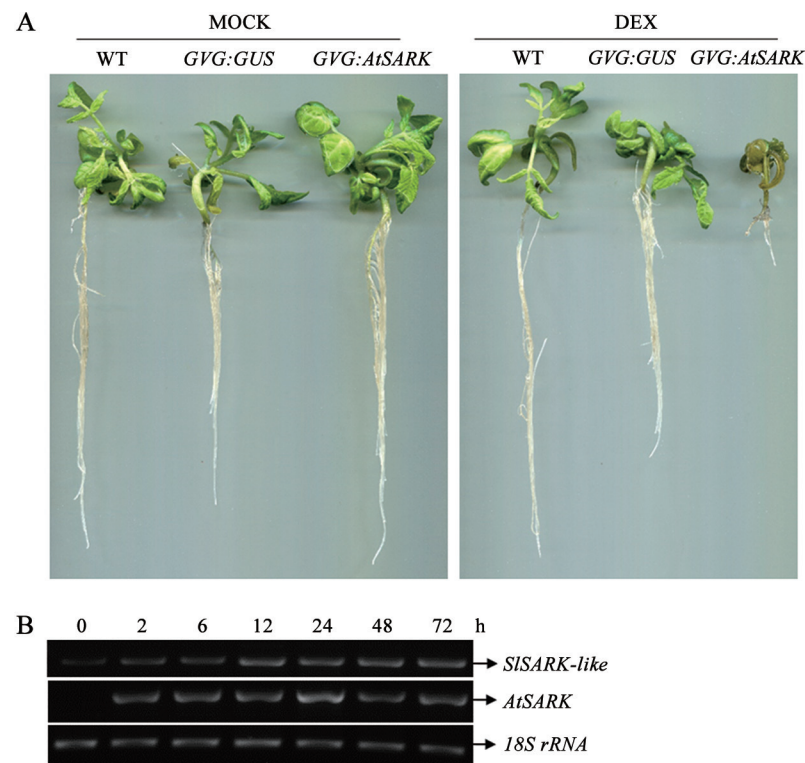


图3 *AtSARK*诱导的'Micro-Tom'番茄早衰过程中*SISARK-like*的表达模式

Fig.3 The expression pattern of *SISARK-like* gene during *AtSARK*-induced leaf senescence in 'Micro-Tom' tomato

A: 外源DEX诱导*AtSARK*过表达的衰老表型; B: 诱导过程中*AtSARK*和*SISARK-like*表达水平检测, 0~72 h表示DEX诱导处理的时间。

MOCK对照组相比,诱导处理10 d后的*GVG:AtSARK*转基因‘Micro-Tom’出现明显的生长抑制和早衰表型。分别在处理0、2、6、12、24、48和72 h的时间点取样,利用半定量RT-PCR检测不同处理时间的*GVG:AtSARK*转基因‘Micro-Tom’中*AtSARK*基因和*SISARK-like*基因表达情况,结果(图3-B)显示:*AtSARK*和*SISARK-like*基因的表达水平在DEX处理2 h时开始明显增加且分别在诱导24 h和12 h时达到最高。上述2个衰老体系中的检测结果暗示*SISARK-like*基因可能参与对番茄叶片衰老过程的调控。

### 3 *GVG:SISARK-like*转基因‘Micro-Tom’番茄的获得和分子鉴定

为了进一步分析*SISARK-like*在番茄叶片衰老调控中的功能,我们构建了利用GVG可诱导启动

子系统来驱动*SISARK-like*基因过表达的表达载体,利用农杆菌介导的番茄遗传转化方法获得了6个独立的*GVG:SISARK-like*转基因‘Micro-Tom’番茄株系。基因组PCR结果(图4-A)显示6个独立株系都能扩增出与阳性对照一样大小的片段,而野生型‘Micro-Tom’则不能扩增出任何条带。选取其中2个典型转基因株系*GVG:SISARK-like-3*和*GVG:SISARK-like-10*,挑取生长发育状态一致的幼苗,转入含 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  DEX的液体培养基中,分别诱导处理0、2、6、12、24、48和72 h,半定量RT-PCR结果(图4-B)显示:*SISARK-like-3*和*SISARK-like-10*两个转基因株系分别在DEX处理6 h和2 h后明显诱导出*SISARK-like*基因表达,且DEX处理12 h后两株系中*SISARK-like*基因表达水平达到最高峰。

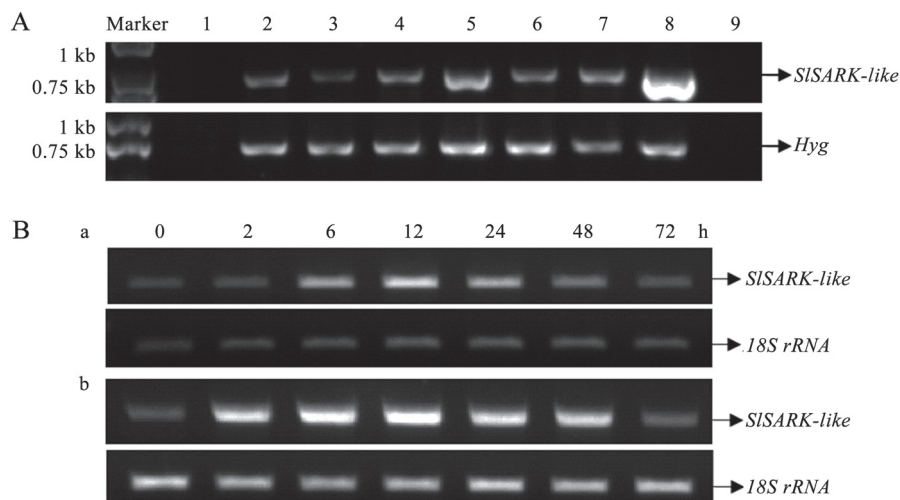


图4 *GVG:SISARK-like*转基因‘Micro-Tom’番茄的获得

Fig. 4 The acquisition of *GVG:SISARK-like* transgenic ‘Micro-Tom’ tomato lines

A: 各转基因株系基因组PCR检测, 1为野生型, 2~7分别为*GVG:SISARK-like-3*、-4、-5、-6、-7、-10转基因株系, 8为正对照(以*GVG:SISARK-like*质粒为模板), 9为负对照(以ddH<sub>2</sub>O为模板); B: 转基因株系*GVG:SISARK-like-3* (a)和*GVG:SISARK-like-10* (b) DEX诱导表达检测, 0~72 h表示DEX诱导处理的时间。

### 4 *SISARK-like*过表达导致转基因番茄幼苗早衰

为了进一步确定*SISARK-like*基因的功能, 选取生长发育状态一致的*GVG:SISARK-like-3*和*GVG:SISARK-like-10*转基因‘Micro-Tom’番茄幼苗进行DEX诱导处理, 并以相同处理的*GVG:GUS*转基因植株为转化对照, 观察*SISARK-like*过表达对转基因番茄幼苗生长发育的影响。由图5可见, 与过表达*AtSARK*转基因‘Micro-Tom’表型类似, DEX诱

导处理11 d后, 2个*GVG:SISARK-like*转基因株系的‘Micro-Tom’番茄幼苗都表现出明显的早衰。这说明同拟南芥和大豆中的*SARK*一样, 番茄中的*SISARK-like*也参与正向调控叶片的衰老进程。

## 讨 论

本课题组前期研究发现大豆中的*GmSARK*和拟南芥中的*AtSARK*都参与叶片衰老的正向调控过

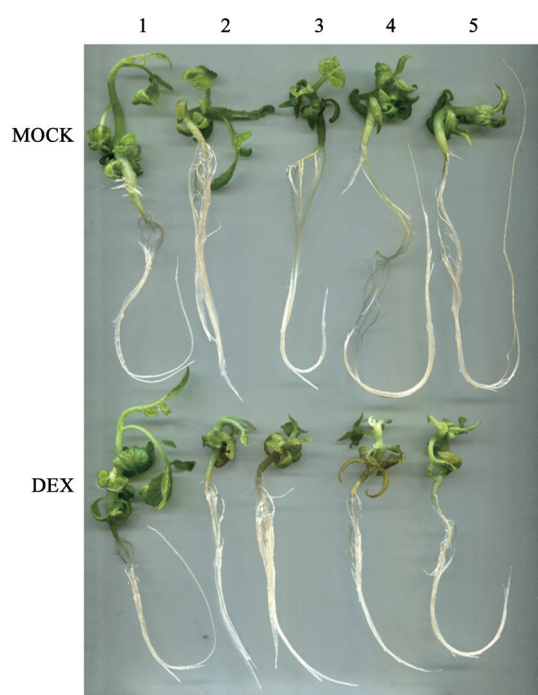


图5 DEX诱导*SISARK-like*基因过表达导致转基因'Micro-Tom'番茄早衰

Fig.5 DEX-induced overexpression of *SISARK-like* caused precocious senescence in transgenic 'Micro-Tom' tomato lines  
从左到右5个植株, 第1株为*GVG:GUS*, 第2、3株为*SISARK-like-3*, 第4、5株为*SISARK-like-10*。

程。这2个*SARK*基因的共同特点是都编码具有双底物特异性的LRR型类受体蛋白激酶(Li等2006; Xu等2011)。本文从'Micro-Tom'番茄中克隆了编码LRR-RLK的基因*SISARK-like*, 序列分析结果表明, *SISARK-like*也具有双底物特异性。自然衰老和*SARK*过表达诱导衰老的'Micro-Tom'番茄叶片中*SISARK-like*的表达显著上调, DEX诱导*SISARK-like*过表达加速转基因'Micro-Tom'番茄株系的衰老。这些结果暗示*SISARK-like*很可能是番茄中*GmSARK*和*AtSARK*的同功能基因, 在番茄叶片衰老调控中发挥重要功能, 这一结果也进一步支持了*SARK*类具有丝/苏氨酸和酪氨酸双重底物特异性的LRR-RLK对叶片衰老的调控机制可能在高等植物中普遍存在。

到目前为止, 番茄叶片衰老过程中一些调控基因逐渐被报道。如, 在转反义*ACO*基因的番茄中发现乙烯合成受阻, 果实成熟和叶片衰老明显延缓(Picton等1993); 利用衰老特异性启动子*P<sub>SAG12</sub>*

和*P<sub>SAG13</sub>*驱动*IPT*基因在番茄中表达, 可以延缓番茄叶片衰老(Swartzberg等2006); 利用RNAi技术抑制番茄中蔗糖转化酶抑制蛋白基因(*INVINH1*)的表达, 明显延缓了叶片的衰老(Ruan等2010); 超表达*SIFYFL*基因的番茄叶片和花萼衰老延迟, 果实成熟延缓(Xie等2014)等。但人们对番茄叶片衰老启动的早期事件了解较少, 有关番茄叶片衰老信号传递路径的研究工作也不多见。我们前期工作发现无论*GmSARK*还是*AtSARK*, 都分别在大豆和拟南芥叶片衰老启动和衰老信号传递的早期发挥作用, 对番茄中*SISARK-like*基因功能和作用机制的深入研究, 将进一步解析番茄叶片衰老调控的分子机制奠定基础。

### 参考文献

- 马媛媛, 甘睿, 王宁宁(2005). 植物富含亮氨酸重复序列型类受体蛋白激酶的生物学功能. 植物生理与分子生物学学报, 31 (4): 331~339
- 肖冬, 崔燕娇, 王宁宁(2014). 叶片衰老过程中的蛋白激酶和蛋白磷酸酶. 植物生理学报, 50 (9): 1267~1273
- Aoyama T, Chua NH (1997). A glucocorticoid-mediated transcriptional induction system in transgenic plants. *Plant J*, 11 (3): 605~612
- Breeze E, Harrison E, McHattie S, Hughes L, Hickman R, Hill C, Kiddle S, Kim YS, Penfold CA, Jenkins D et al (2011). High-resolution temporal profiling of transcripts during *Arabidopsis* leaf senescence reveals a distinct chronology of processes and regulation. *Plant Cell*, 23 (3): 873~894
- Clark SE, Williams RW, Meyerowitz EM (1997). The *CLAVATA1* gene encodes a putative receptor kinase that controls shoot and floral meristem size in *Arabidopsis*. *Cell*, 89 (4): 575~585
- Ellul P, Garcia-Sogo B, Pineda B, Ríos G, Roig L, Moreno V (2003). The ploidy level of transgenic plants in *Agrobacterium*-mediated transformation of tomato cotyledons (*Lycopersicon esculentum* L. Mill.) is genotype and procedure dependent. *Theor Appl Genet*, 106 (2): 231~238
- Gan S, Amasino RM (1995). Inhibition of leaf senescence by autoregulated production of cytokinin. *Science*, 270 (5244): 1986~1988
- Guo Y, Gan S (2005). Leaf senescence: signals, execution, and regulation. *Curr Top Dev Biol*, 71: 83~112
- Hanks SK, Quinn AM, Hunter T (1988). The protein kinase family: conserved features and deduced phylogeny of the catalytic domains. *Science*, 241 (4861): 42~52
- Hong SW, Jon JH, Kwak JM, Nam HG (1997). Identification of a receptor-like protein kinase gene rapidly induced by abscisic acid, dehydration, high salt, and cold treatments in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol*, 113 (4): 1203~1212
- Lee IC, Hong SW, Whang SS, Lim PO, Nam HG, Koo JC (2011). Age-dependent action of an ABA-inducible receptor kinase, RPK1, as a positive regulator of senescence in *Arabidopsis* leaves. *Plant Cell Physiol*, 52 (4): 651~662



- Li XP, Gan R, Li PL, Ma YY, Zhang LW, Zhang R, Wang Y, Wang NN (2006). Identification and functional characterization of a leucine-rich repeat receptor-like kinase gene that is involved in regulation of soybean leaf senescence. *Plant Mol Biol*, 61 (6): 829~844
- Li X, Ma Y, Li P, Zhang L, Wang Y, Zhang R, Wang N (2005). RNAi-mediated knocking-down of *rlpk2* gene retarded soybean leaf senescence. *Chin Sci Bull*, 50 (12): 1218~1224
- Liu D, Gong Q, Ma Y, Li P, Li J, Yang S, Yuan L, Yu Y, Pan D, Xu F, Wang NN (2010). cpSecA, a thylakoid protein translocase subunit, is essential for photosynthetic development in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 61 (6): 1655~1669
- Lohman KN, Gan S, John MC, Amasino RM (1994). Molecular analysis of natural leaf senescence in *Arabidopsis thaliana*. *Physiol Plant*, 92 (2): 322~328
- Picton S, Barton SL, Bouzayen M, Hamilton AJ, Grierson D (1993). Altered fruit ripening and leaf senescence in tomatoes expressing an antisense ethylene-forming enzyme transgene. *Plant J*, 3 (3): 469~481
- Rivero RM, Kojima M, Gepstein A, Sakakibara H, Mittler R, Gepstein S, Blumwald E (2007). Delayed leaf senescence induces extreme drought tolerance in a flowering plant. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104 (49): 19631~19636
- Ruan YL, Jin Y, Yang YJ, Li GJ, Boyer JS (2010). Sugar input, metabolism, and signaling mediated by invertase: roles in development, yield potential, and response to drought and heat. *Mol Plant*, 3 (6): 942~955
- Swartzberg D, Dai N, Gan S, Amasino R, Granot D (2006). Effects of cytokinin production under two *SAG* promoters on senescence and development of tomato plants. *Plant Biol*, 8 (5): 579~586
- Walker JC (1994). Structure and function of the receptor-like protein kinases of higher plants. *Plant Mol Biol*, 26 (5): 1599~1609
- Xie Q, Hu Z, Zhu Z, Dong T, Zhao Z, Cui B, Chen G (2014). Overexpression of a novel MADS-box gene *SIFYFL* delays senescence, fruit ripening and abscission in tomato. *Sci Rep*, 4: 4367
- Xu F, Meng T, Li P, Yu Y, Cui Y, Wang Y, Gong Q, Wang NN (2011). A soybean dual-specificity kinase, GmSARK, and its *Arabidopsis* homolog, AtSARK, regulate leaf senescence through synergistic actions of auxin and ethylene. *Plant Physiol*, 157 (4): 2131~2153
- Yoshida S (2003). Molecular regulation of leaf senescence. *Curr Opin Plant Biol*, 6 (1): 79~84
- Zhang X (1998). Leucine-rich repeat receptor-like kinases in plants. *Plant Mol Biol Rep*, 16 (4): 301~311