

化学
调控

棉花不同部位主茎叶对脱叶剂噻苯隆的响应及机理

廖宝鹏[#], 王崧嫚[#], 杜明伟^{*}, 李芳军, 田晓莉, 李召虎

(中国农业大学农学院作物化控研究中心 / 植物生长调节剂教育部工程研究中心, 北京 100193)

摘要:【目的】明确棉花不同部位主茎叶对脱叶剂噻苯隆响应的差异及其作用机理。【方法】在室内光照培养条件下,用 $4.54 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 噻苯隆均匀涂抹 10 叶期棉株的所有主茎叶或功能叶(倒 4 叶)和幼叶,观察不同部位叶片的离层形成及脱落时间,检测叶片中乙烯合成及信号转导相关基因的表达量。【结果】噻苯隆处理后离层形成顺序为:幼叶(倒 1 叶)>基部第 1~2 叶(倒 9~10 叶,叶龄 35~40 d)>功能叶(倒 4 叶);叶片脱落顺序为:幼叶>功能叶>基部第 1~2 叶,且基部第 1~2 叶容易出现枯而不落的现象。噻苯隆涂抹后 24 h 内,功能叶和幼叶中的乙烯合成基因 *GhACS1* 均上调表达,但幼叶中上调表达的时间早于功能叶,上调幅度也大于功能叶;此外,幼叶中的乙烯合成基因 *GhACO1*、乙烯信号转导基因 *GhEIN3* 和 *GhERF23* 在涂抹噻苯隆 24 h 后显著上调数倍或数十倍,但功能叶中这几种基因的表达量变化不大。【结论】应用脱叶剂噻苯隆处理棉花叶片后,不同叶位叶片离层形成的时间不同,且脱落的顺序与离层形成的顺序不一致。幼叶离层形成及脱落较早,与其乙烯合成及信号转导相关基因的表达上调较早且幅度较高有关。

关键词:棉花,噻苯隆,叶片,脱落,乙烯

Responses and Underlying Mechanisms of Different Mainstem Leaves on Cotton to Defoliant Thidiazuron

Liao Baopeng[#], Wang Songman[#], Du Mingwei^{*}, Li Fangjun, Tian Xiaoli, Li Zhaohu

(Center of Crop Chemical Regulation, College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University/ Engineering Research Center of Plant Growth Regulator, Ministry of Education, Beijing 100193, China)

Abstract: [Objective] This study elucidates the responses of different mainstem leaves on cotton to defoliant thidiazuron and reveal the underlying mechanisms. [Method] Cotton plants were raised hydroponically. At the ten-leaf stage, $4.54 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ thidiazuron was evenly applied to all mainstem leaves, the youngest full-expanded leaf (the fourth leaf from apex) and the youngest leaf (the first leaf from apex). Then, the progress of abscission zone formation and shedding of each leaf was observed, and the expression level of genes related to ethylene synthesis and signal transduction in the fourth and first leaf from apex was analysed. [Result] The abscission zone developed in the following sequence: the first leaf from the top, then the lowest leaves (the ninth or tenth leaf from the top, 35-40 days old), and the fourth leaf from the top. However, the leaf abscission was in a different order: the earliest was the first leaf from apex, then the fourth leaf from apex, and the latest was the lowest leaves which were prone to wither and stick to the stalk. The *GhACS1* expression was up regulated in both the first leaf and the fourth leaf from apex within 24 h after thidiazuron treatment. However, the expression of this gene changed more rapidly and sharply in the first leaf from the top than that in the fourth leaf from the top. In addition, the expression of *GhACO1* (ethylene synthesis gene), *GhEIN3* and *GhERF23* (ethylene signal transduction genes) was significantly increased up to ten times in the first leaf from the top, whereas the expression of these genes did not change in the fourth leaf from the apex. [Conclusion] After exposed to defoliant thidiazuron, the time of the abscission zone formation of different leaves on cotton main stem is different, and the order of shedding is not consistent with that of abscission zone formation. The youngest ready to expand leaf abscises earlier than the youngest fully expanded leaf after thidiazuron treatment, which is possibly associated with the rapid expression change

收稿日期:2019-08-22 第一作者简介:廖宝鹏(1996—),男,博士研究生, liaobaop@163.com [#] 同等贡献

* 通信作者: dumingwei@cau.edu.cn

基金项目:国家重点研发计划(2018YFD0100306);国家自然科学基金(31301257);新疆生产建设兵团科技攻关项目(2018AB039)

of genes related to ethylene synthesis and signal transduction in the former.

Keywords: cotton; thidiazuron; leaf; abscission; ethylene

棉花属于劳动密集型大田经济作物,特别是在收获环节需要大量的人工投入^[1]。随着社会条件的变化,农业劳动力日渐短缺,劳动用工价格提高,实现棉花机械化收获已成为必然趋势,而化学脱叶是棉花实现机械采收的核心配套技术^[2]。

植物激素是调控叶片脱落的主要信号物质。已有研究认为乙烯及生长素是影响植物叶片脱落的关键植物激素^[3],乙烯能诱导纤维素酶等细胞壁水解酶基因的表达从而正向调控植物叶片脱落^[4-5],而离区部位的生长素可以通过钝化离区细胞对乙烯的敏感性来阻止脱落的发生,但这需要生长素源源不断地沿着自上而下(自叶片向叶柄)的方向进行极性运输^[6-7]。脱落酸也可以促进器官脱落,但这种作用是通过抑制生长素的传导或刺激乙烯的产生而间接实现的^[8]。

噻苯隆具细胞分裂素活性,属于植物生长调节剂型(即激素活力类)脱叶剂,未发现其对叶片的直接伤害^[9];其作用机理主要是促进叶片产生乙烯,同时抑制叶柄中生长素的极性运输,从而使离区细胞对乙烯更为敏感,继而诱导叶片脱落^[10]。棉花叶片对噻苯隆的响应速度与叶龄有关。研究发现噻苯隆处理棉花叶片后,嫩叶和仍在伸展的叶片快速而完全脱落,而较老的叶片脱落较慢且不完全^[11]。乙烯诱导棉花叶片脱落时也存在类似现象,即幼叶对乙烯较为敏感容易脱落,老叶则对乙烯的响应比较迟钝,不易脱落^[12]。然而至今,不同叶龄叶片脱落的时序性与离层形成的时序性是否一致尚未可知。此外,虽然有证据表明噻苯隆诱导叶片脱落的关键是刺激叶片产生乙烯,但尚不明确棉花不同叶龄叶片对噻苯隆响应的差异是否与乙烯合成乃至乙烯信号转导直接相关。

因此,本研究通过研究棉花不同叶龄叶片对噻苯隆的响应特征和乙烯合成及信号转导相关基因的表达特征,深入了解噻苯隆诱导棉花叶片脱落的机理,旨在为完善棉花脱叶催熟技术提供指导。

1 材料与方法

1.1 材料及培养

试验所用棉花品种为欣试 17,由河北省棉花种子工程技术研究中心提供。所用 98.3%噻苯隆(Thidiazuron, TDZ)标准品由德国 Dr. Ehrenstorfer 公司生产。

试验于中国农业大学西校区(北京)光照培养室进行,棉花采用营养液培养。培养室光温条件为 14 h(30±2)℃/10 h(22±2)℃,室内相对湿度 70%~80%,光照强度为 600 μmol·m⁻²·s⁻¹。浸种前用 9%双氧水消毒 15 min,冲洗数遍后置于装有去离子水的烧杯中浸种 12 h 以上至露白,播种于沙床中,待子叶完全展开后选取长势一致的幼苗转移至改良 Hoagland 营养液中培养。营养液配方为 0.5 mmol·L⁻¹ NH₄H₂PO₄, 1.25 mmol·L⁻¹ K₂SO₄, 2.5 mmol·L⁻¹ Ca(NO₃)₂·4H₂O, 1.0 mmol·L⁻¹ MgSO₄·H₂O, 0.1 mmol·L⁻¹ EDTA·FeNa, 2×10⁻² mmol·L⁻¹ H₃BO₃, 1×10⁻³ mmol·L⁻¹ ZnSO₄·7H₂O, 1×10⁻³ mmol·L⁻¹ MnSO₄·H₂O, 2×10⁻⁴ mmol·L⁻¹ CuSO₄·5H₂O, 5×10⁻⁶ mmol·L⁻¹ (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O。每 3~4 d 更换 1 次营养液,通气泵每天 24 h 通气。

1.2 棉花不同叶位(叶龄)叶片对 TDZ 的响应

棉花培养至 10 叶期用 4.54 mmol·L⁻¹TDZ 均匀涂抹每一片主茎叶,以涂抹清水为对照。重复 3 次,每重复 1 株。每天进行观察拍照,并记录不同叶位叶片离层形成及叶片脱落的顺序。

1.3 乙烯生物合成及信号转导相关基因的表达量测定

棉花培养至 10 叶期用 4.54 mmol·L⁻¹TDZ 均匀涂抹棉花功能叶倒 4 叶与幼叶(倒 1 叶),以涂抹清水为对照。在处理 0、3、6、12、24 h 对功能叶及幼叶进行取样,设 3 个生物学重复,每个重复为 3 株植株的混样。用北京艾德莱公司生产的 EASYspin 植物 RNA 快速提取试剂盒提取 RNA, Takara 公司的 M-MLV 反转录试剂盒合成 cDNA。根据 NCBI 数据库中 *GhACS1*、*GhACO1*、

GhEIN3 和 *GhERF23* 基因的 CDS 序列设计 qRT-PCR (Quantitative real-time polymerase chain reaction) 特异性引物 (表 1), 以 *Ghactin9* 基因为内参。qRT-PCR 扩增程序为: 95℃ 30 s, 95℃ 5 s, 60℃ 34 s, 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法计算基因表达量^[13]。

表 1 引物序列

Table 1 The primer sequences in this study

引物名称 Primer names	引物序列 Sequence of primer
GhACS1-F	GGACTTGTGGCGAGTGATTATC
GhACS1-R	AAGCAAACCCTGAACCAACC
GhACO1-F	CTTCTCCAAGACGACCAAGTC
GhACO1-R	TCTCAGCCATTACACGATGC
GhEIN3-F	AGGCTTGAAAGTGGGTGT
GhEIN3-R	AAAGGTGGGCAGGAATCA
GhERF23-F	CACTGCTCGTGACATCCAA
GhERF23-R	ATTCCATTGACAACCGCC
GhActin9-F	GCCTTGACTATGAGCAGGA
GhActin9-R	AAGAGATGGCTGGAAGAGGA

1.4 数据处理

用 Microsoft Excel 2010 整理数据, 用 SPSS 21.0(IBM, USA)对结果进行 *t* 检验(独立样本模型)。

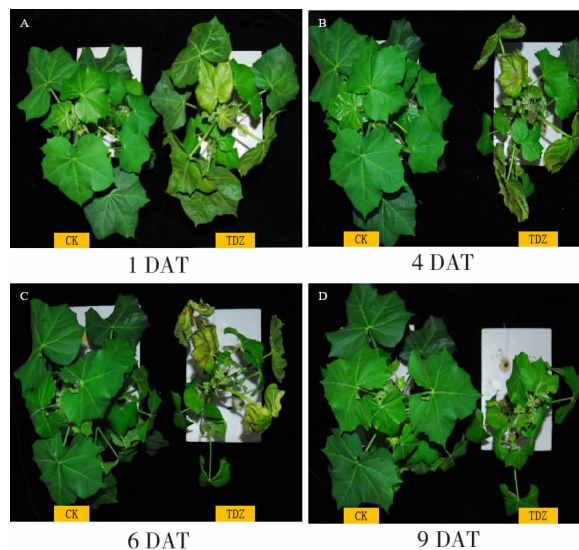
2 结果与分析

2.1 不同叶位(叶龄)叶片对 TDZ 的响应

对 10 叶期棉花所有主茎叶均匀涂抹 4.54 mmol·L⁻¹ TDZ 后 1 d, 棉株上部叶片与对照相比部分泛黄(图 1A); 4 d 后, 处理叶片进一步黄化, 叶缘卷曲, 幼叶已干枯、即将脱落, 而对照与处理前相比无明显变化(图 1B); 6 d 后, 处理叶片明显干枯泛黄, 叶缘严重卷曲, 部分叶片叶柄开始变红, 叶片脱落, 而对照组仍正常生长(图 1C); 9 d 后, 可以观察到处理的大部分主茎叶已脱落, 而果枝叶未受影响(图 1D)。

如图 2 所示, 4.54 mmol·L⁻¹ TDZ 处理棉花主茎叶后, 幼叶(倒 1 叶)最早形成离层并脱落, 其离层形成和脱落时间分别为处理后 2 d 和 4 d(图 2A, 2D); 功能叶(倒 4 叶)的离层形成时间为处理后 6 d(图 2B), 晚于幼叶和基部叶片(倒 9-10 叶), 但离层形成后很快脱落(处理后 7 d, 图

2E); 基部叶片的离层形成时间居中(处理后 4 d, 图 2F), 但其叶片和叶柄于处理后 6 d 逐渐泛黄、干枯, 出现枯而不落的现象(图 2C)。

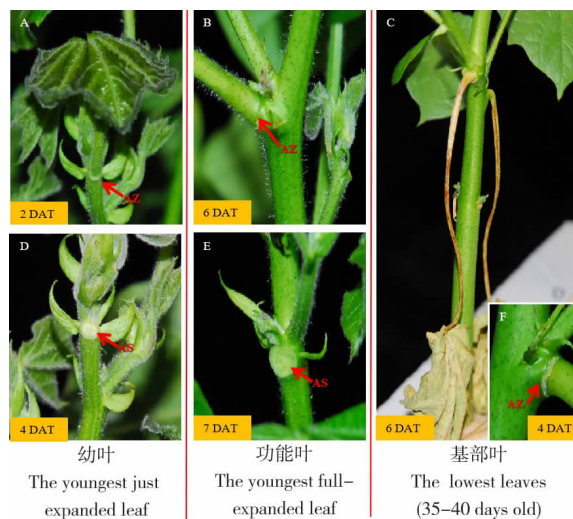


CK、TDZ 和 DAT 分别表示清水对照、噻苯隆和处理后时间。

CK: Water; TDZ: Thidiazuron treatment; DAT: Days after treatment.

图 1 棉花主茎叶涂抹噻苯隆后的脱落动态

Fig. 1 Dynamics of leaf abscission after treated with thidiazuron



AZ、AS 和 DAT 分别表示离层、脱落疤痕和处理后时间。

AZ: Abscission zone, AS: Abscission scar, DAT: Day after treatment.

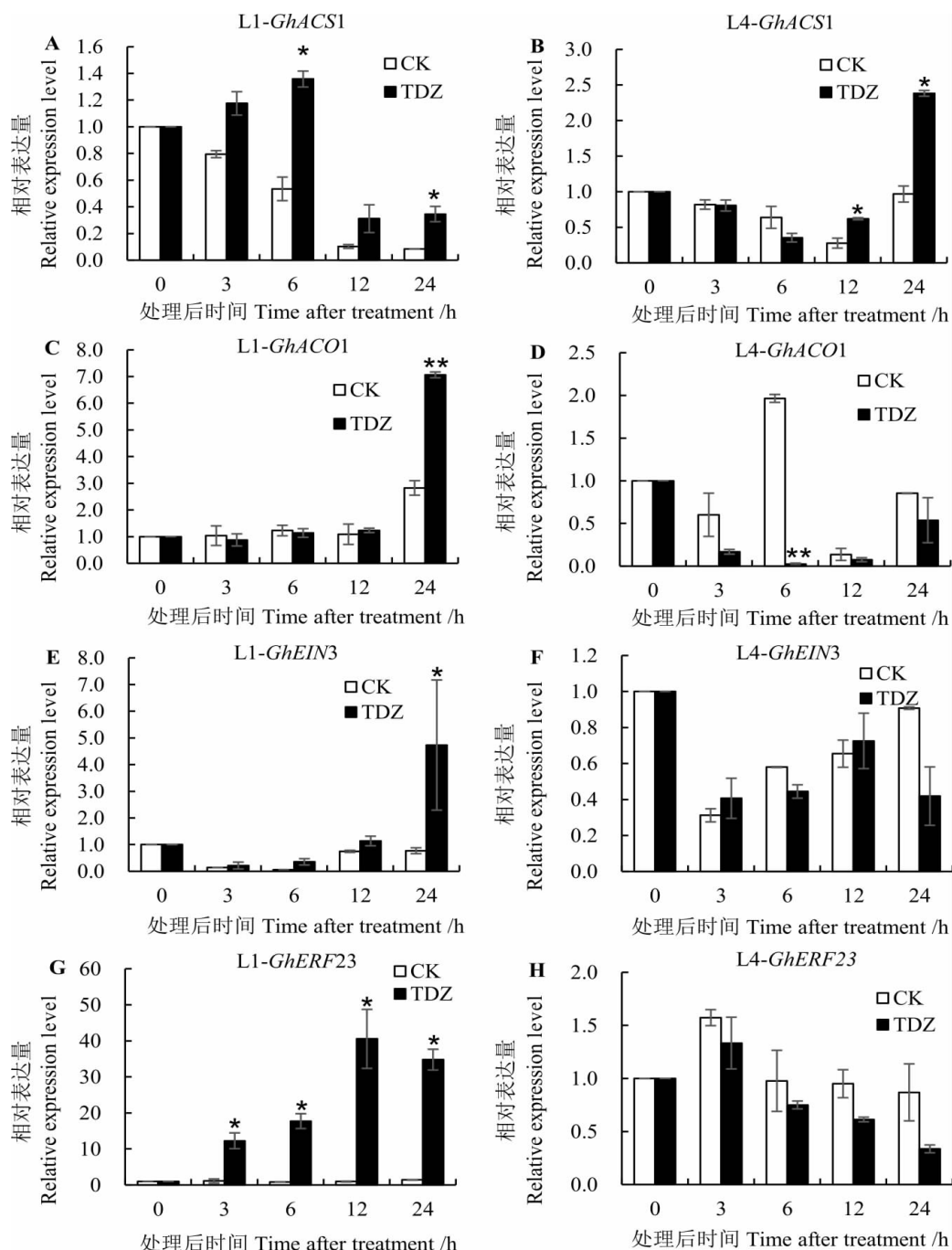
图 2 涂抹噻苯隆后棉花不同部位主茎叶的离层形成和脱落

Fig. 2 Abscission zone formation and defoliation of different main stem leaves after treated with thidiazuron

2.2 TDZ 对不同叶片中与乙烯相关基因表达量的影响

本研究检测了棉花幼叶和功能叶(倒4叶)中乙烯合成相关基因 *GhACS1* 和 *GhACO1*、乙烯

信号转导基因 *GhEIN3* 及乙烯响应元件基因 *GhERF23* 的表达量。在幼叶中,TDZ 处理后 3~24 h 期间 *GhACS1* 的表达量均高于 CK, 其中在 6 h 和 24 h 达到显著水平(图 3A); *GhACO1* 和



L4、L1、CK、TDZ 分别表示棉花功能叶、棉花幼叶、清水对照、噻苯隆处理。* 和 ** 分别表示清水对照和噻苯隆处理间差异显著和极显著。

L4: The youngest full-expanded leaf, L1: The youngest just expanded leaf, CK: water, TDZ: Thidiazuron treatment. * and ** represent significant difference between the CK and corresponding thidiazuron treatment at the 0.05 and 0.01 probability level, respectively.

图3 噻苯隆对幼叶和功能叶中 *GhACS1*、*GhACO1*、*GhEIN3* 和 *GhERF23* 表达量的影响

Fig. 3 Expression of *GhACS1*, *GhACO1*, *GhEIN3* and *GhERF23* in the youngest just expanded leaf and the youngest full-expanded leaf after thidiazuron treatment

GhEIN3 表达量在处理 12 h 之前与 CK 无显著差异,但在处理后 24 h 与 CK 相比上调数倍(图 3C,3E);*GhERF23* 基因的表达受 TDZ 的显著影响,在处理 24 h 内持续上调,而 CK 中该基因的表达量保持稳定,TDZ 处理后 3 h *GhERF23* 的表达量较 CK 上调 10 倍,在处理 12~24 h 达 40 倍(图 3G)。在功能叶中,TDZ 处理后上述几个基因未出现上调,仅 *GhACS1* 的表达量在处理 12 及 24 h 显著高于 CK,*GhACO1* 表达量在 TDZ 处理后 6 h 显著低于 CK(图 3B)。

3 讨论

研究表明,低浓度的乙烯可加速含羞草、番茄等植物较老叶片的脱落^[14]。但用乙烯熏蒸棉株后,顶端未展开或部分展开的幼叶会先于较老的叶片脱落^[12]。棉花叶片对脱落剂 TDZ 的响应与乙烯类似,通常是刚刚展开的叶片以及顶端还未完全展开的叶片先脱落^[10]。本研究结果与此相似。此外,本研究还发现,棉株不同叶位叶片的离层形成顺序与脱落顺序并不一致,主要表现为基部较老叶片的离层形成时间早于功能叶,但其脱落时间晚于功能叶,甚至发生“枯而不落”现象。细胞壁水解酶是参与植物器官脱落的关键酶^[15],它可使离区中间层的细胞壁发生水解,促使植物器官脱落^[16],其活性受到乙烯的调控^[17-18]。我们推测棉花基部较老叶片经 TDZ 处理后,在前期所产生的乙烯能够诱导细胞壁水解酶合成和分泌,并导致离层形成,但后期乙烯水平可能不足以维持细胞壁水解酶的活性,因而离层不能继续降解,导致叶片枯而不落。

已知乙烯参与了 TDZ 诱导的棉花叶片脱落^[11],乙烯合成抑制剂氨基乙基乙烯基甘氨酸能在一定程度上降低 TDZ 的脱叶效果^[19],但是尚不明确乙烯合成及信号转导相关基因是否也参与到该过程。因此本研究从基因表达水平揭示了棉花不同叶位(叶龄)叶片对 TDZ 响应的差异。1-氨基环丙烷羧酸(1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC)合酶(1-Aminocyclopropane-1-carboxylate synthase, ACS)和 ACC 氧化酶(1-Aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase, ACO)是催化乙烯生物合成的 2 个关键酶,也是

番茄和其他物种果实成熟研究的早期靶标^[20]。敲除 ACO 和 ACS 基因能抑制乙烯的产生从而强烈抑制果实成熟过程^[21]。在乙烯诱导棉花叶片脱落过程中,也伴随着 ACC 合酶和 ACC 氧化酶活性的增加^[22]。本研究发现,TDZ 处理后,幼叶中 *GhACS1* 基因上调表达的时间早于功能叶;幼叶 *GhACO1* 基因的表达在处理 24 h 显著增加,而功能叶中该基因的表达在处理 24 h 内与 CK 无显著差异。结果表明,TDZ 处理后幼叶中乙烯的合成要早于功能叶,这与其较功能叶更早形成离层并脱落相一致。

EIN3/EILs 在乙烯信号转导中发挥着至关重要的作用,可与下游的乙烯响应因子(Ethylene response factors, ERFs)基因启动子上特定的 DNA 序列结合,诱导 ERFs 的表达^[23]。ERFs 是 1 类具有 AP2 结构域的转录因子,受胁迫信号传导途径中的某些组分调节。用乙烯、脱落酸、盐、冷或干旱胁迫处理棉花,*GhERF4* 的转录水平大幅度提高^[24]。本研究发现,TDZ 处理后 24 h,幼叶中 *GhEIN3* 表达水平较 CK 显著增加 4 倍,*GhERF23* 的表达水平在处理 3~24 h 均显著高于 CK;而在功能叶中 *GhEIN3* 及 *GhERF23* 的表达量在处理 24 h 之内与 CK 相比无显著差异。显然,乙烯信号转导在 TDZ 诱导的棉花叶片脱落过程中也可能起着重要作用。推测 TDZ 首先通过诱导 *GhACS1* 和 *GhACO1* 的表达增加叶片乙烯释放量,然后通过诱导 *GhEIN3* (不排除其他因子)和 *GhERF23* 的表达向叶柄离层部位传递信号,引起离层部位与脱落相关基因的表达上调,从而促进叶柄离层形成和叶片脱落。

综上所述,棉花幼叶中与乙烯合成和信号转导基因的表达对 TDZ 响应较早,这可能是其经 TDZ 处理后脱落较快的重要原因。功能叶中乙烯合成和信号转导基因对 TDZ 的响应相对滞后或在 24 h 之内未响应,可能是由于该叶位叶片已接近成熟,在基因表达及生理生化水平上对外源刺激有一定的缓冲能力。

近年来国内外对脱叶剂的研究多集中在田间应用方面,对脱叶剂作用机理的研究相对较少,而深入揭示 TDZ 促进棉花叶片脱落的机制是完善机采棉脱叶催熟技术的基础。后续研究除叶

片外要增加叶柄、离层等部位,除乙烯相关基因外要增加生长素合成和信号转导基因,除基因表达水平外还要检测叶片的乙烯释放量和生长素含量,此外要延长检测时间。

4 结论

本研究揭示了棉花不同叶位叶片对噻苯隆(TDZ)响应的差异,基部老叶的离层形成较功能叶较早,但容易枯而不落。幼叶的离层形成时间和脱落速度快于功能叶及基部叶片,可能与其乙烯合成和信号转导相关基因对 TDZ 的响应较早有关。

参考文献:

- [1] 喻树迅. 我国棉花生产现状与发展趋势[J]. 中国工程科学, 2013, 15(4): 9-13.
Yu Shuxun. Present situation and development trend of cotton production in China[J]. Engineering Sciences, 2013(4): 9-13.
- [2] 陶湘伟, 陈兴和. 机采棉技术与发展趋势分析[J]. 农业机械, 2013(13): 97-102. <https://www.doi.org/10.16167/j.cnki.1000-9868.2013.13.013>
Tao Xiangwei, Chen Xinghe. Machine-harvested cotton technology and development trend analysis[J]. Farm Machinery, 2013 (13): 97-102.
- [3] Roberts J A, Elliott K A, Gonzalez-Carranza Z H. Abscission, dehiscence, and other cell separation processes[J]. Annual Review of Plant Biology, 2002(53): 131-158. <https://www.doi.org/10.1146/annurev.arplant.53.092701.180236>
- [4] Cin V, Danesin M, Boschetti A, et al. Ethylene biosynthesis and perception in apple fruitlet abscission (*Malus domestica* L. Bork)[J]. Journal of Experimental Botany, 2005, 56(421): 2995-3005. <https://www.doi.org/10.1093/jxb/eri296>
- [5] Addicott F T. Plant hormones in control of abscission[J]. Biological Reviews, 1970, 45(4): 485-524. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1970.tb01175.x>
- [6] Drazeta L, Lang A, Cappellini C, et al. Vessel differentiation in the pedicel of apple and the effects of auxin transport inhibition [J]. Physiologia Plantarum, 2004, 20(1): 162-170. <https://www.doi.org/10.1111/j.0031-9317.2004.0220.x>
- [7] Blanus T, Else M, Atkinson C, et al. The regulation of sweet cherry fruit abscission by polar auxin transport[J]. Plant Growth Regulation, 2005, 45(3): 189-198. <https://www.doi.org/10.1007/s10725-005-3568-9>
- [8] Mishra A, Khare S, Trivedi P K, et al. Effect of ethylene, 1-MCP, ABA and IAA on break strength, cellulase and polygalacturonase activities during cotton leaf abscission[J]. South African Journal of Botany, 2008, 74(2): 282-287. <https://www.doi.org/10.1016/j.sajb.2007.12.001>
- [9] 田晓莉, 段留生, 李召虎, 等. 棉花化学催熟与脱叶的生理基础[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40 (6): 758-762. <https://www.doi.org/10.13592/j.cnki.ppj.2004.06.037>
Tian Xiaoli, Duan Liusheng, Li ZhaoHu, et al. Physiological bases of chemical accelerated boll maturation and defoliation in cotton[J]. Plant Physiology Communications, 2004, 40(6): 758-762.
- [10] Suttle J C. Disruption of the polar auxin transport system in cotton seedlings following treatment with the defoliant thidiazuron [J]. Plant Physiology, 1988, 86(1): 241-245. <https://www.doi.org/10.1104/pp.86.1.241>
- [11] Suttle J C. Involvement of ethylene in the action of the cotton defoliant thidiazuron[J]. Plant Physiology, 1985, 78(2): 272-276. <https://www.doi.org/10.1104/pp.78.2.272>
- [12] Morgan P W, Durham J I. Leaf age and ethylene induced abscission[J]. Plant Physiology, 1973, 52(6): 667-670. <https://www.doi.org/10.1104/pp.52.6.667>
- [13] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408. <https://www.doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- [14] Doubt S L. The response of plants to illuminating gas[J]. Botanical Gazette, 1917, 63(3): 209-224. <https://doi.org/10.1086/332006>
- [15] 刘康永, 焦珏, 赵福相, 等. TDZ 处理对棉花叶片脱落率及酶活性的影响[J]. 新疆农业科学, 2019, 56(6): 981-991.
Liu Kangyong, Jiao Yang, Zhao Fuxiang, et al. Effects of spraying TDZ on leaf loss rate and leaf enzyme activity of cotton[J]. Xinjiang Agricultural Science, 2019, 56(6): 981-991.
- [16] Shi C L, Alling R M, Hammerstad M, et al. Control of organ abscission and other cell separation processes by evolutionary conserved peptide signaling[J]. Plants, 2019, 8(7): 225. <https://doi.org/10.3390/plants8070225>
- [17] Botton A, Ruperti B. The yes and no of the ethylene involvement in abscission[J]. Plants, 2019, 8(6): 187. <https://doi.org/10.3390/plants8060187>
- [18] Estornell L H, Agustí J, Merelo P, et al. Elucidating mechanisms underlying organ abscission[J]. Plant Science, 2013, 19 (9): 48-60. <https://www.doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.10.008>
- [19] Grossmann K. Induction of leaf abscission in cotton is a common effect of urea- and adenine-type cytokinins[J]. Plant physiology, 1991, 95(1): 234-237. <https://www.doi.org/10.1104/pp.95.1.234>
- [20] Giovannoni J J. Genetic regulation of fruit development and ripening[J]. The plant cell, 2004, 16(S1): S170-S180. <https://doi.org/10.1104/pp.95.1.234>

- www.doi.org/10.1105/tpc.019158
- [21] Hamilton A J, Lycett G W, Grierson D. Antisense gene that inhibits synthesis of the hormone ethylene in transgenic plants[J]. Nature, 1990, 346(6281): 284. <https://doi.org/10.1038/346284a0>
- [22] Mishra A, Khare S, Trivedi P K, et al. Ethylene induced cotton leaf abscission is associated with higher expression of cellulase (*GhCel1*) and increased activities of ethylene biosynthesis enzymes in abscission zone[J]. Plant Physiology and Bio-Chemistry, 2008, 46(1): 54-63. <https://www.doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.09.002>
- [23] Dubois M, Van den Broeck L, Inzé D. The pivotal role of ethylene in plant growth[J]. Trends in Plant Science, 2018, 23(4): 311-323. <https://www.doi.org/10.1016/j.tplants.2018.01.003>
- [24] Jin L G, Liu J Y. Molecular cloning, expression profile and promoter analysis of a novel ethylene responsive transcription factor gene *GhERF4* from cotton (*Gossypium hirsutum*)[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2008, 46(1): 46-53. <https://www.doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.10.004> ●