



综述 Reviews

WRKY转录因子在调控叶片衰老中的作用

叶红, 王玉昆*

广东省粤北食药资源保护与利用重点实验室/韶关学院生物与农业学院, 广东韶关512005

*通信作者(wangyu_kun1@163.com)

摘要: WRKY是植物特有的转录因子。由于成员众多, WRKY转录因子形成植物中最大的家族之一。WRKY转录因子几乎参与了植物所有的生长发育调控过程。衰老是植物叶片生命周期的最后阶段, 是叶片必经的生理过程。该过程主要由包括转录因子在内的多种因子调控。大量研究表明WRKY转录因子广泛地参与各种因素引起的叶片衰老调控。本文基于近年来发表的WRKY转录因子调控叶片衰老过程的相关研究, 综述了WRKY转录因子在不同植物叶片衰老过程中所发挥的不同功能及信号转导途径, 以期为进一步深入研究WRKY介导的叶片衰老调控机制提供理论支撑。

关键词: WRKY; 转录因子; 叶片衰老; 调控机制; 信号转导

Roles of WRKY transcription factors in regulating leaf senescence

YE Hong, WANG Yukun*

Guangdong Provincial Key Laboratory of Utilization and Conservation of Food and Medicinal Resources in Northern Region/College of Biology and Agriculture, Shaoguan University, Shaoguan, Guangdong 512005, China

*Corresponding author (wangyu_kun1@163.com)

Abstract: WRKY is a kind of plant-specific transcription factor. Due to the large number of members, WRKY transcription factors belong to one of the largest family in plants. WRKY transcription factors are involved in almost all the growth and development regulation processes in plants. Senescence is the last stage of the life cycle of plant leaves and the necessary physiological process of leaves. This process is mainly regulated by a variety of factors including transcription factors. Lots of studies have shown that WRKY transcription factors are widely involved in the regulation of leaf senescence caused by various factors. Based on recent studies on the regulation of plant aging process by WRKY transcription factors, the different regulatory roles of WRKY transcription factors and the corresponding signal transduction pathways in leaf senescence were concluded in this review. It will provide theoretical support for further research on the regulatory mechanism of leaf senescence mediated by WRKY.

Key words: WRKY; transcription factor; leaf senescence; regulatory mechanism; signal transduction

收稿 2023-08-23 修定 2024-01-19

资助 广东省自然科学基金(2023A1515012102)、广东省普通高校特色创新类项目(2023KTSCX136)、广东省教育厅青年创新项目(2022KQNCX078)和韶关学院博士科研启动经费项目(2021年度)。

植物的衰老是发育的最后阶段, 最终导致细胞、组织、器官和生物个体的死亡。叶片衰老是植物中研究最多的器官衰老类型, 通过将衰老的叶片中的物质和能量再循环到新发育的器官或后代中, 对植物的适应性至关重要。在植物生长各个阶段, 叶片通过光合作用固定CO₂, 收集太阳能, 积累化学能和生物量(Kim等2016)。叶片在经历了漫长的生产光合作用期后进入衰老阶段, 叶片细胞有序地发生剧烈的生理、生化和代谢变化。叶片衰老过程中最明显的表型变化是叶绿体中叶绿素的分解引起的叶片变黄(Ougham等2005)。此外, 叶片衰老的其他代谢变化包括大分子如蛋白质、脂质和核酸的氧化和水解。上述代谢产生的分子为一年生植物种子形成或为多年生植物来年的叶片和花朵形成所利用。因此, 叶片衰老是一个受到精细遗传控制的发育过程, 是植物为了更好地适应生存环境而长期进化获得的能力(Gan和Amasino 1997; Lim等2007)。

WRKY转录因子在叶片衰老的调控中起核心

作用(Zentgraf和Doll 2019)。在模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中, 基因表达谱分析显示WRKY转录因子是与衰老相关的第二大转录因子家族(Guo等2004)。在黑暗诱导的拟南芥叶片衰老过程中, 59个WRKY转录因子中有21个表达受到诱导(Lin和Wu 2004)。在众多的WRKY转录因子中, 拟南芥WRKY53是一个被充分研究的与衰老相关的WRKY转录因子, 长期以来被认为是整合多种不同的衰老相关信号通路的关键因子, 对其深入研究表明WRKY介导的叶片衰老调控是一个复杂的网络(Zentgraf等2010)。近年来, 人们对WRKY参与不同植物的叶片衰老调控机制进行了大量研究并取得了一些成就, 因此, 本文针对这些研究成果进行综述, 以期对深入理解WRKY转录因子在叶片衰老调控中的功能及重要性提供理论见解。

1 叶片衰老原因及特征

叶片衰老受多种来自植物生长发育的内部信号和来自环境的外部信号共同调控(图1)。内部信

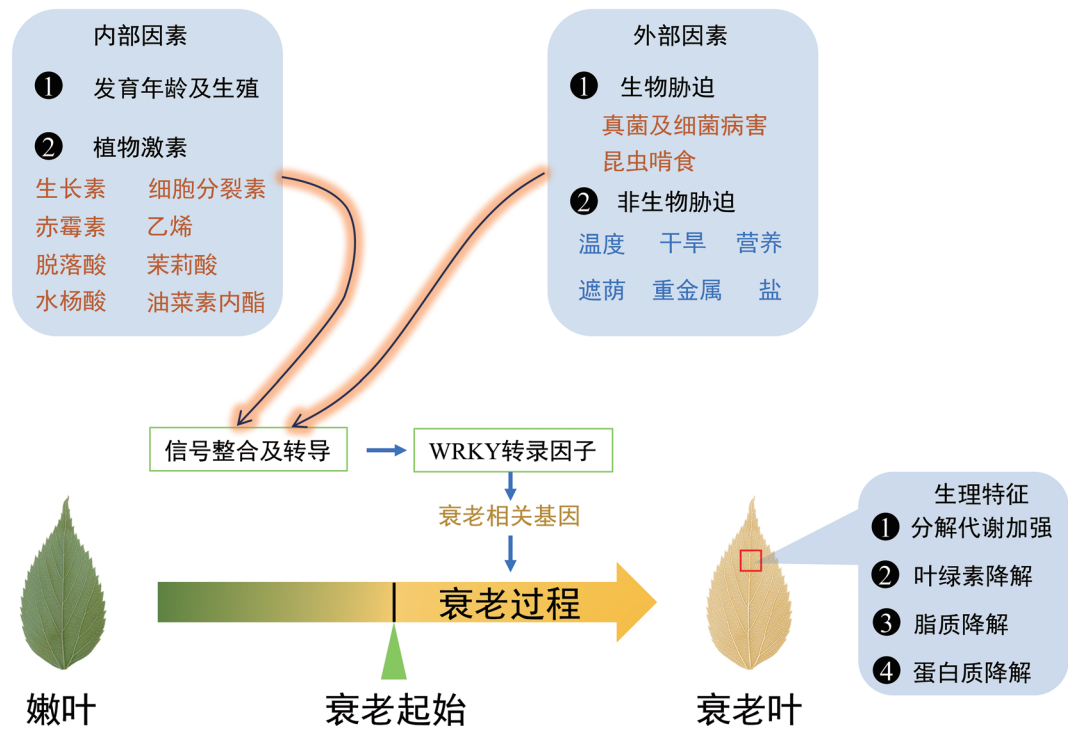


图1 引起植物叶片衰老的原因、调控过程及衰老叶片的生理变化
Fig. 1 The causes, regulation process, and physiological changes during the process of leaf senescence

号主要来源于年龄和植物激素,而外部信号主要来源于各种生物和非生物胁迫。无论信号来源于内部还是外部,叶片衰老的发生都受到多种信号通路构成的复杂机制调控。

1.1 内部因素: 年龄及激素引起的叶片衰老

通常,植物叶片发育经历膨大、成熟和衰老三个阶段(Guiboileau等2010)。叶片衰老的发生主要取决于发育变化,即叶片衰老只发生在发育的特定阶段。研究表明,即使在没有生物和非生物胁迫的情况下,叶片衰老最终也会以叶龄依赖的方式发生和发展(Jibran等2013; Hensel等1993)。对于一年生或只结一次果的植物,叶片是营养物质供应器官,其叶片衰老与生殖期重叠(Gregersen等2013)。整株植物衰老往往以叶片衰老为起始,伴随着生殖器官的发育,叶片将营养物质输送到生殖部位(Noodén 1988)。人工移除生殖器官或抑制结实能够明显延缓植株整体,尤其是叶片的衰老速度(Ali等2018)。这些结果说明,一年生或只结一次果植物的生殖是叶片衰老的一大诱因。反之,叶片衰老是植物平衡生长发育和生殖的一个步骤,并通过生殖生长、细胞分化和植物激素水平的变化来调控衰老的开始和进行(Thomas和Stoddart 1980)。

植物激素在植物发育过程和环境信号的整合中起着关键作用。作为内部信号,许多植物激素已被证明在调节叶片衰老中起重要作用。这些激素可能相互作用,并与一系列发育、环境和代谢信号相互作用,以调节叶片衰老过程(Schippers等2007; Beaudoin等2000; Ali等2018)。细胞分裂素(cytokinins, CKs)水平与衰老进程呈负相关,其含量的降低被认为是启动衰老的关键信号(Gan和Amasino 1995; Nooden等1990)。生长素(auxin, IAA)在植物生长发育的各个方面都具有重要作用,其在衰老调控中的作用较为复杂,外源施用适量生长素可以延缓叶片衰老(Noh和Amasino 1999; Ali等2018)。进一步地,过表达生长素合成基因YUCCA6或突变生长素应答抑制因子AUXIN RESPONSE FACTOR 1 (ARF1)和ARF2均可延缓叶片衰老(Kim等2011; Lim等2010; Ellis等2005),说明生长素对叶片衰老起抑制作用。赤霉素(gibberellic acid, GA)是一种五环二萜,其在细胞伸长、种子萌发、生殖生长、

衰老和对各种环境胁迫的耐受性方面具有重要作用(Rodrigues等2012)。在拟南芥中,GA信号抑制因子DELLA的突变能够促进叶片衰老,而过表达DELLA编码基因RGL1导致叶片寿命延长(Chen等2017),表明GA参与了叶片衰老的调控,并在该过程中发挥负调控作用。乙烯(ethylene, ET)是一种关键的促进衰老的激素。乙烯的施用加速了叶片和花的衰老,而乙烯感知或生物合成抑制剂的使用延缓了叶片的衰老(Iqbal等2017)。在衰老的叶片中,乙烯生物合成水平提高,且编码乙烯生物合成酶的基因表达显著上调(Hunter等1999)。此外,脱落酸(abscisic acid, ABA)也具有促进叶片衰老的作用。在许多植物中,内源ABA水平在叶片衰老过程中增加,且外源ABA的使用可诱导衰老相关基因(senescence-associated genes, SAGs)的表达并促使叶片变黄(He等2005; Gao等2016; Gepstein和Thimann 1980; Yang等2002)。油菜素内酯(brassinosteroids, BRs)是调节包括植物衰老在内的多种生理过程所必需的植物类固醇,外源BR的应用能促进许多植物的衰老(Gudesblat和Russeinova 2011; Gomes等2013; He等1996; Saglam-Cag 2007)。在BR生物合成缺陷的det2突变体中,叶片衰老表型明显延迟(Chory等1991)。茉莉酸(jasmonic acid, JA)也被认为是重要的衰老相关激素,其能诱导多种植物的叶片衰老。在拟南芥中,内源JA水平随着叶片衰老而增加,且JA生物合成途径相关基因在叶片衰老过程中上调(Hu等2017; He等2002)。虽然JA能够诱导拟南芥叶片衰老,但在JA不敏感突变体coi1中,JA并不能诱导其叶片早衰(He等2002),说明JA信号通路直接参与调控拟南芥叶片衰老。除上述植物激素外,水杨酸(salicylic acid, SA)也参与了叶片衰老的调控。有研究表明,在鼠尾草(Salvia officinalis)叶片衰老的早期阶段,SA水平增加,并在衰老后期阶段保持不变(Abreu和Munne-Bosch 2008)。在s3h (SA 3-hydroxylase)突变体中,水杨酸因分解受阻而高度积累,导致叶片出现早衰现象(Zhang等2013)。上述研究结果表明,植物激素广泛地参与了植物叶片衰老的调控且发挥重要作用,各种激素之间的协同作用使内部因素引起的叶片衰老过程受到严密且精细地调控。

1.2 外部因素: 胁迫引起的叶片衰老

在自然条件下, 植物生长发育不断地受到多种胁迫的影响。植物衰老是植物在恶劣条件下生存的一种机制, 它受到多种环境胁迫的诱导和影响, 包括营养缺乏、黑暗(庇荫)、干旱、高温、盐胁迫、重金属和病害(Guo和Gan 2005; Lim等2007)。盐胁迫是限制植物生长发育的主要非生物胁迫。植物对盐胁迫的反应包括生长减缓、生物量分配变化、叶片衰老和死亡(Allu等2014)。干旱胁迫导致叶片萎蔫、细胞膜损伤和过早衰老, 这有助于减少整个植株的水分流失, 并将衰老叶片的营养物质重新调动到幼嫩叶片或器官中加以利用(Khanna-Chopra和Selote 2007)。在高温胁迫下, 叶片表现出多种生理反应, 包括蛋白质变性、膜流动性和活性氧水平升高、叶绿体和线粒体酶失活、光系统II介导的电子传递和光合作用活性下降。这些变化导致叶片衰老加速(Bita和Gerats 2013)。黑暗诱导衰老作为研究叶片衰老过程的一种简便方法, 已在许多研究中得到应用。此外, 遮荫是作物生长的重要条件。在田间条件下, 黑暗或遮荫诱导的植物冠层下部叶片的衰老有助于植物重新调动营养物质用于冠层上部叶片的光合作用(Gregersen等2013)。营养缺乏, 特别是氮素匮乏, 严重植物生长发育, 使其早熟, 从而加速叶片衰老过程。植物的营养状况对植物衰老的调节非常重要, 这可能与植物激素对植物生长发育的控制密切相关(Rubio等2009; Gregersen等2013)。重金属胁迫是一个世界性的问题, 当水或土壤中的重金属浓度超过某一临界值时, 就会对植物产生毒害作用, 具体表现为叶片的衰老和死亡(初梦圆和于延冲2019)。植物叶片在受到病原菌或者昆虫啃食时会触发免疫防御反应, 引起超敏反应, 从而导致衰老和最终死亡(初梦圆和于延冲2019)。上述结果表明, 由各种生物和非生物胁迫引起的叶片衰老是植物对环境适应的一种表现, 其目的是损失一部分自身组织从而延长植物整体寿命, 提高在不利环境中的存活率。此外, 植物通过复杂的感应机制来感受各种胁迫刺激, 并进一步和内部信号, 例如各种激素, 进行串联整合, 从而严格调控叶片衰老

过程。

1.3 叶片衰老的生理特征

叶片衰老最显著的特征是代谢从合成代谢向分解代谢的剧烈转变。有研究表明, 衰老叶片中分解代谢基因的表达量显著高于合成代谢基因表达量(Guo等2004)。叶片衰老涉及到一系列的生理变化, 包括叶绿素的降解和蛋白质、核酸、脂质等营养物质的降解和再利用等, 且这些生理变化是一个受到调控的、有序的过程(Guo 2013)。

由叶绿素分解导致的叶片变黄是叶片衰老的第一个明显特征。叶绿素分解被看作是叶片衰老起始的生理标志。叶绿体蛋白的分解提供了氮的主要来源, 其降解涉及一个复杂的酶调控途径。该途径由几个酶促步骤组成, 这些步骤产生不同的中间体和叶绿磷脂, 最终积聚在衰老细胞的液泡中(Thomas等2001; Hörtensteiner和Feller 2002; Hörtensteiner和Kräutler 2011)。

脂质降解是叶片衰老过程中重要的生理步骤。对拟南芥叶片发育代谢谱的研究表明, 叶绿体脂质半乳糖二酰基甘油(galactosyldiacylglycerols)的含量在叶片衰老过程中明显降低(Watanabe等2013)。脂质降解产物被进一步代谢转化为韧皮部可移动的蔗糖, 并转运出衰老的叶片(Kaup等2002)。此外, 脂质降解也可能在叶片衰老中起调节作用, 例如磷脂酶D α 被证明参与调节植物激素诱导的叶片衰老(Fan等1997)。

蛋白质降解是叶片衰老过程中最重要的生理变化, 在氮素循环中起着关键作用。转录组分析表明, 在衰老叶片中参与蛋白水解的基因表达水平大幅上调(Breeze等2011; Guo等2004), 其中丝氨酸蛋白酶和胱氨酸蛋白酶是与叶片衰老相关的最丰富的酶, 而天冬氨酸、苏氨酸和金属蛋白酶也能检测到(Diaz-Mendoza等2016; Roberts等2012)。细胞内可动员蛋白的最大来源是叶绿体, 因为叶绿体蛋白质含有高达80%的叶片总氮(Liu等2008)。在叶片衰老过程中, 叶绿体蛋白可能通过叶绿体蛋白酶、衰老相关液泡(senescence-associated vacuoles, SAVs)和泛素/26S蛋白酶体(ubiquitin/26S proteasome)途径的协同作用降解(Diaz-Mendoza等2016)。

2 WRKY转录因子特征及分类

WRKY转录因子序列中含有保守的“WRKY-GQK”序列,这也是其名称的由来。WRKY蛋白序列的N端含有约60个氨基酸残基组成的DNA结合结构域(DNA binding domain),C端含有锌指类基序(zinc-finger-like motif) (Rushton等2010; Finatto等2018)。依据所含DNA结合结构域数量和锌指类基序类型(C2HC型和C2H2型),WRKY转录因子可分为I、II和III 3个组(图2)。其中,I组成员含有2个WRKY DNA结合结构域,III组成员含有1个WRKY DNA结合结构域和C2HC型或C2H2型锌指基序,而含有单个WRKY DNA结合结构域和锌指基序C2H2的WRKY转录因子被归为II组。基于WRKY DNA结合结构域外保守的附加结构基序的类型,II组成员又可划分为IIa、IIb、IIc、IId和IIe 5个亚组(Zhang和Wang 2005; Eulgem等2000; Finatto等2018)。WRKY转录因子通过结合含有W-box序列的靶基因启动子区域介导信号传导(Finatto等2018)。有些WRKY基因的启动子区域也存在W-box序列,故WRKY转录因子存在自激活或与其他成员互作的现象(Eulgem等1999)。

3 WRKY转录因子参与调控叶片衰老机制

3.1 拟南芥中参与叶片衰老调控的WRKY转录因子

拟南芥基因组中含有多个WRKY转录因子,它

们参与了各种生物过程的调控。研究表明拟南芥多个WRKY基因直接参与叶片衰老过程的相关调控(表1)。研究发现, *AtWRKY6*能够抑制自身启动子活性,其靶基因*AtSIRK* (senescence-induced receptor-like kinase)的表达在叶片衰老过程中受到强烈诱导。*AtWRKY6*基因敲除突变体的衰老叶片中*AtSIRK*转录水平显著降低,而*AtWRKY6*过表达植株叶片中*AtSIRK*转录水平明显升高,表明*AtWRKY6*通过促进*AtSIRK*的表达参与叶片衰老的调控(Robatzek和Somssich 2002)。*AtWRKY22*参与黑暗诱导的叶片衰老调控,其表达水平在光照和H₂O₂处理时受到抑制,而在暗处理后升高。经过暗处理的*AtWRKY22*过表达株系和敲除株系分别表现出加速和延迟衰老的表型,且衰老相关基因表达水平分别表现明显的增加和减少,表明*AtWRKY22*参与了黑暗诱导的叶片衰老信号转导通路(Zhou等2011)。*AtWRKY25*是*AtWRKY53*表达的上游调控因子。沉默*AtWRKY25*导致拟南芥叶片加速衰老,但过表达该基因明显延缓叶片衰老速度(Doll等2020)。此外,*AtWRKY26*也是一个衰老相关的基因,其在衰老叶片中表达水平很高,过表达该基因导致叶片衰老的表型,表明其正向调控叶片衰老(Cao等2022a)。*AtWRKY42*也参与了拟南芥叶片衰老的调控,其在衰老叶片中具有较高的表达量,过表达该基因促进了叶片的衰老。此外,*AtWRKY42*还激活了*ISOCHORISMATE SYNTHASE 1 (ICS1)*、*RESPIRATORY*

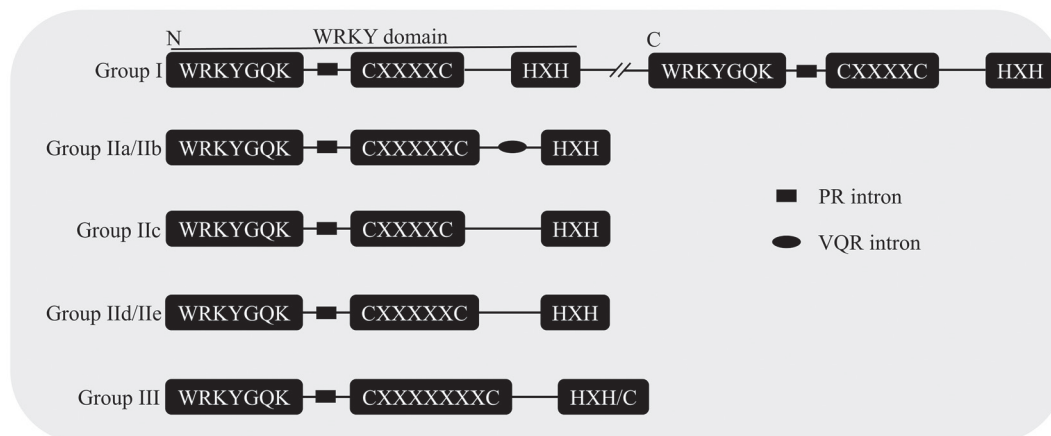


图2 WRKY转录因子结构示意图

Fig. 2 The structure diagram of WRKY transcription factors

表1 拟南芥中参与叶片衰老调控的WRKY转录因子
Table 1 WRKY transcription factors involved in regulating leaf senescence in *Arabidopsis thaliana*

基因名称	互作因子	调控信号	参考文献
<i>AtWRKY6</i>	SIRK、WRKY46	SA	Robatzek和Somssich 2002; Zhang等2021
<i>AtWRKY18</i>	WRKY53	—	Potschin等2014
<i>AtWRKY22</i>	—	ROS	Zhou等2011
<i>AtWRKY25</i>	WRKY53	—	Doll等2020
<i>AtWRKY26</i>	—	—	Cao等2022a
<i>AtWRKY30</i>	WRKY53、WRKY54、WRKY70	—	Besseau等2012
<i>AtWRKY42</i>	ICS1、RbohF、SAGs	SA、ROS	Niu等2020
<i>AtWRKY45</i>	SAGs、SEN4、RGL1	GA	Chen等2017; Barros等2022
<i>AtWRKY46</i>	NPR1、WRKY6	SA	Zhang等2021
<i>AtWRKY53</i>	SAGs、ESR/ESP、JM16、WRKY18、CRK5、SENK1、WRKY30	JA	Miao等2004; Zentgraf等2010; Miao和Zentgraf 2007; Liu等2019; Burdiak等2022; Wang等2023
<i>AtWRKY54</i>	WRKY30、WRKY53	—	Besseau等2012
<i>AtWRKY55</i>	RbohD、ICS1、PBS3、SAG13	ROS、SA	Wang等2020b
<i>AtWRKY57</i>	SEN4、SAG12、JAZ4/8、IAA29	JA、IAA	Jiang等2014
<i>AtWRKY70</i>	WRKY30	SA、JA/ET	Ulker等2007; Besseau等2012
<i>AtWRKY71</i>	EIN2、ORE1	ET	Yu等2021
<i>AtWRKY75</i>	SID2、CAT2、GAI、RGL1、SIB1/2、GLK2	GA、ABA	Guo等2017; Zhang等2020; Zhang等2022

*BURST OXIDASE HOMOLOG F (RbohF)*和一些SAG基因的转录,通过影响SA和活性氧(reactive oxygen species, ROS)的生物合成来调控叶片衰老(Niu等2020)。 *AtWRKY45*直接参与了年龄诱导的叶片衰老调控。 *AtWRKY45*功能缺失导致叶片寿命延长,而该基因的过表达则显著加速了叶片衰老进程。染色质免疫共沉淀结果显示*AtWRKY45*直接结合多个SAG的启动子,如*SAG12*、*SAG13*、*SAG113*和*SENESCENCE4 (SEN4)*。进一步分析表明*AtWRKY45*能与GA信号通路的抑制因子RGA-LIKE1 (RGL1)相互作用,表明*AtWRKY45*作为GA介导的信号通路的关键组分正向调节年龄引发的叶片衰老(Chen等2017)。除此之外, *AtWRKY45*也参与暗诱导的叶片衰老调控。代谢组分析结果显示在暗诱导的叶片衰老过程中, *AtWRKY45*过表达株系的氨基酸和有机酸积累发生了显著变化。此外, *AOX1a (alternative oxidase 1a)*、*AOX1d*和*ETFQO (electron transfer flavoprotein/ubiquinone oxidoreductase)*基因的显著上调表明*AtWRKY45*与线粒体信号传导失

调和选择性呼吸激活有关,说明*AtWRKY45*参与了暗诱导的植物代谢重编程,并在线粒体信号通路调节中发挥作用(Barros等2022)。 *AtWRKY46*和*AtWRKY6*是SA信号下游转录机制的关键组成部分。在烯丙苯噻唑(probenazole)/SA诱导的拟南芥叶片衰老中, SA信号受体NPR1、WRKY46和*AtWRKY6*组成了一个调控模块调节叶片衰老过程(Zhang等2021)。 *AtWRKY53*是衰老特异性相关的WRKY转录因子,其在叶片衰老调控的作用研究地较为深入。利用重组*AtWRKY53*蛋白对基因组DNA片段进行pull-down分析发现了多个SAGs和WRKY基因是*AtWRKY53*的直接靶基因(Miao等2004),表明*AtWRKY53*能够调控衰老相关基因的表达,并在WRKY介导的信号级联上游位置起作用(Zentgraf等2010)。酶联免疫(EMSA)和原生质体瞬时表达结果表明, *AtWRKY53*还能与自身启动子结合,并以负反馈回路调节自身表达(Miao等2004)。 *AtWRKY53*能够与JA诱导蛋白ESR/ESP (EPITHIOSPECIFYING SENESCENCE REGULATOR)互作并受到其抑制,说

明AtWRKY53和ESR共同调控叶片衰老(Miao和Zentgraf 2007)。另一方面,含有JmJC结构域的组蛋白H3K4去甲基化酶JMJ16作为一种衰老促进因子,其功能丧失突变体叶片表现出延迟衰老的表型,并且在叶片衰老相关基因*AtWRKY53*的启动子中较少富集H3K4me3,表明JMJ16通过*AtWRKY53*的去甲基化调控叶片衰老(Liu等2019)。*AtWRKY18*是*AtWRKY53*的靶基因,但也能调控*AtWRKY53*表达。在拟南芥原生质体的瞬时转化体系中,*AtWRKY18*能够直接与*AtWRKY53*启动子区中的W-box基序结合,并抑制其表达。*AtWRKY18*过表达导致叶片衰老延迟,而其突变体叶片衰老明显加快,表明*AtWRKY18*通过与*AtWRKY53*互作正向调控叶片衰老(Potschin等2014)。*AtCRK5*是叶片老化的负调控因子,其启动子区域含有多个W-box原件,是*AtWRKY53*的靶基因。随后的酵母双杂交实验证明*AtCRK5*和*WRKY53*存在互作,二者形成一个负反馈通路拮抗性地调节叶片衰老(Burdiak等2022)。最近,研究人员鉴定到了一个与叶片衰老相关的受体激酶编码基因*AtSENK1* (*SENESCENCE-RELATED RECEPTOR KINASE 1*),其在叶片衰老过程中显著下调。功能缺失的*senrk1*突变体叶片表现出早衰表型,而*AtSENK1*的过表达显著延迟了叶片衰老,表明*AtSENK1*负调控拟南芥中年龄诱导的叶片衰老。进一步研究表明*AtSENK1*是*AtWRKY53*的靶基因,*AtWRKY53*能够抑制*AtSENK1*的表达,说明*AtSENK1*在*AtWRKY53*下游发挥调节叶片衰老的作用(Wang等2023)。*AtWRKY70*在年龄诱导的叶片衰老过程中表达上调,其功能缺失促进了年龄和黑暗诱导的叶片衰老。进一步研究表明*AtWRKY70*通过抑制SA和JA/ET介导的防御标记基因表达对叶片衰老进行调控(Ulker等2007)。此外,研究人员对其他WRKY转录因子在拟南芥叶片衰老中的作用进行了探讨,结果发现*AtWRKY54*和*AtWRKY30*参与了叶片衰老调控过程。此外,*AtWRKY54*和*AtWRKY70*在叶片发育过程中表现出相似的表达模式,在叶片衰老过程中似乎具有互作和部分冗余的功能。酵母双杂交分析表明,*AtWRKY54*和*AtWRKY70*能够和*AtWRKY53*与*AtWRKY30*分别独立互作。综合上述结果表明,*AtWRKY53*、*AtWRKY54*和*At-*

*WRKY70*可能通过与*AtWRKY30*互作参与了一个整合内部和环境信号的调控网络来调节叶片衰老(Besseau等2012)。*AtWRKY55*主要在衰老叶片中表达,诱导型和组成型过表达该基因均加速叶片衰老,而其功能丧失则显著延缓叶片衰老。进一步研究表明,*AtWRKY55*通过与靶基因启动子的W-box原件结合激活*RbohD*、*ICS1*、*PBS3* (*avrPphB susceptible 3*)和*SAG13*的表达,表明其通过正向调控ROS和SA积累来调节叶片衰老(Wang等2020b)。Jiang等(2014)发现使用外源茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)处理拟南芥*wrky57*突变体能使其产生典型的叶片衰老表型。染色质免疫共沉淀结果显示,*AtWRKY57*直接结合*SEN4*和*SAG12*的启动子并抑制其转录。进一步的体内和体外实验表明*AtWRKY57*分别与JA和生长素信号通路的抑制因子JAZ4/8 (*JASMONATE ZIM-DOMAIN 4/8*)和AUX/IAA蛋白IAA29相互作用。因此,作为JA诱导的叶片衰老抑制因子,*AtWRKY57*是JA和生长素介导的信号通路的共同组成部分(Jiang等2014)。Yu等(2021)通过染色质免疫沉淀实验证明*AtWRKY71*可以直接结合*SAG13*和*SAG201*的启动子。转录组分析表明,*AtWRKY71*可能介导非生物胁迫、黑暗和乙烯等多种因素导致的叶片衰老。体外和体内实验表明,*AtWRKY71*可以直接调控乙烯信号通路基因*EIN2* (*ETHYLENE INSENSITIVE2*)和*ORE1* (*ORESAR1*)。以上结果表明*AtWRKY71*介导乙烯信号转导和合成,通过调控SAGs加速拟南芥叶片衰老(Yu等2021)。*AtWRKY75*的表达量在叶片自然衰老过程中逐渐增加,其功能丧失延缓了年龄和黑暗诱导的叶片衰老。*AtWRKY75*通过直接结合*SID2* (*SA INDUCTION DEFICIENT 2*)启动子中的W-box元件促进其转录,表明其参与了SA信号途径。进一步地研究表明*AtWRKY75*通过抑制*CAT2* (*CATALASE 2*)的转录促进ROS积累导致叶片早衰(Guo等2017)。另外,*AtWRKY75*也可通过参与GA信号途径调控叶片衰老。研究表明2个DELLA蛋白,*GAI* (*GIBBERELLIC ACID INSENSITIVE*)和*RGL1* (*RGA-LIKE 1*),可以抑制*AtWRKY75*的表达,从而降低*SAG12*和*SAG29*在叶片衰老过程中的表达水平(Zhang等2020)。近期的研究表明,*AtWRKY75*的表达还受到SIB1

(SIGMA FACTOR BINDING PROTEIN1)和SIB2的抑制。*AtWRKY75*功能缺失会减缓ABA诱导的叶片衰老,而其过表达会显著加速叶片衰老。以上结果说明SIBs通过抑制*AtWRKY75*转录的方式负调控ABA诱导的叶片衰老。此外, *AtWRKY75*直接结合*GLK1* (*GOLDEN 2-LIKE1*)和*GLK2*的启动子并抑制其表达。*AtWRKY75*功能丧失不能延缓*glk1/glk2*突变体叶片衰老,而过表达*AtWRKY75*也不能促进35S:*GLK1*植株的叶片衰老,表明*AtWRKY75*需要借助GLKs来正调控ABA介导的叶片衰老(Zhang等2022)。

从上述研究进展可知WRKY转录因子介导的叶片衰老调控在拟南芥中得到了广泛且细致的研究。由于拟南芥拥有完善的突变体库和简单高效的转基因技术,所以通过对相应突变体和过表达植株的研究使WRKY转录因子在叶片衰老中的研究变得相对容易。通过酵母杂交系统、免疫共沉淀和转录组分析等技术手段,研究人员还明确了大量与叶片衰老相关WRKY转录因子的上下游互作因子,从而部分明确了以WRKY转录因子介导的叶片衰老调控网络。

3.2 作物中参与叶片衰老调控的WRKY转录因子

虽然研究人员在一些作物中也鉴定到了大量的WRKY转录因子(表2),但相比模式植物拟南芥,WRKY转录因子介导的叶片衰老调控进展较为缓慢。在水稻中, *OsWRKY5*的表达在衰老叶片中迅速上调,特别是在叶片的老化或暗处理引发的泛黄部

分,并通过调控衰老相关NAC转录因子*OsNAP*和*OsNAC2*的表达促进水稻叶片衰老(Kim等2019)。*OsWRKY23*在衰老的水稻叶片中表达量很高,其在拟南芥中的过表达加速了暗诱导的叶片衰老(Jing等2009)。此外, *OsWRKY42*通过直接抑制*OsMT1d*的表达诱导ROS的积累,从而加速叶片衰老(Han等2014)。*OsWRKY53*在叶片中的表达受衰老、黑暗和ABA处理诱导。*OsWRKY53*过表达的植株叶片早衰,而其突变体叶片持绿。进一步研究表明*OsWRKY53*直接与*OsABA8ox1*和*OsABA8ox2*的启动子结合并抑制其转录,导致内源ABA含量升高,促进叶片衰老(Xie等2022)。在小麦中, *TaWRKY40-D*通过改变JA和ABA的生物合成和信号转导正向调节小麦叶片衰老(Zhao等2020a)。*TaWRKY42-B*通过调控*TaLOX3*基因表达促进JA生物合成,从而促进叶片衰老(Zhao等2020b)。通过转录组分析, Qiao等(2021)鉴定了小麦中与叶片衰老相关的基因*TaWRKY13-A*。进一步使用病毒诱导的基因沉默(VIGS)方法发现*TaWRKY13-A*的转录抑制导致小麦叶片衰老延迟。此外,在自然生长条件和黑暗条件下, *TaWRKY13-A*的过表达加速了转基因二穗短柄草(*Brachypodium distachyon*)和转基因拟南芥叶片衰老(Qiao等2021)。在高粱中, *SbWRKY50*的过表达延缓了年龄和黑暗诱导的叶片衰老。*SbWRKY50*是乙烯信号传导中关键组分EIN3 (ETHYLENE INSENSITIVE 3)的靶基因,通过直接抑制*SbNYC1* (*NON-YELLOW COLORING 1*)抑制叶绿素分解代谢途径,从而负

表2 作物中参与叶片衰老调控的WRKY转录因子
Table 2 WRKY transcription factors involved in regulating leaf senescence in crops

基因名称	物种	互作因子	调控信号	参考文献
<i>OsWRKY5</i>	水稻	NAP、NAC2	SA	Kim等2019
<i>OsWRKY23</i>	水稻	—	—	Jing等2009
<i>OsWRKY42</i>	水稻	MT1d	ROS	Han等2014
<i>OsWRKY53</i>	水稻	ABA8ox1、ABA8ox2	ABA	Xie等2022
<i>TaWRKY13-A</i>	小麦	—	—	Qiao等2021
<i>TaWRKY40-D</i>	小麦	—	JA、ABA	Zhao等2020a
<i>TaWRKY42-B</i>	小麦	LOX3	JA	Zhao等2020b
<i>SbWRKY50</i>	高粱	NYC1	—	Chen等2023
<i>GhWRKY27</i>	陆地棉	CYP94C1、Ripen2-2	—	Gu等2019
<i>GhWRKY33</i>	陆地棉	TIFY10A	JA	Wu等2022

调控叶片衰老(Chen等2023a)。在陆地棉中, *GhWRKY27*的表达受叶片衰老诱导, 其在早衰棉花品种叶片中的表达高于非早衰品种。*GhWRKY27*在拟南芥中的过表达使叶片叶绿素含量降低并激活*SAGs*表达, 从而促进叶片衰老。*GhWRKY27*能直接结合*GhCYP94C1* (*cytochrome P450 94C1*)和*GhRipen2-2* (*ripening-related protein 2*)并调节其表达来参与叶片衰老调控(Gu等2019)。此外, 在拟南芥中过表达*GhWRKY33*能显著延缓叶片衰老。酵母双杂交和双荧光素酶互补分析结果表明*GhWRKY33*可以与*GhTIFY10A*相互作用。*GhTIFY10A*在拟南芥中的过表达也显著延缓了叶片衰老。因此, *GhWRKY33*可能是调节年龄和JA诱导的叶片衰老的负调控因子(Wu等2022)。

3.3 园艺植物中参与叶片衰老调控的WRKY转录因子

叶片衰老严重影响园艺植物的观赏性和果实品质, 因此研究WRKY介导的叶片衰老调控对提高园艺植物品质具有重要意义(表3)。在番茄中, MeJA和暗处理都显著诱导了*SIWRKY37*和JA信号途径中*SIMYC2*的表达。*SIMYC2*直接与*SIWRKY37*的启动子结合以激活其表达。*SIWRKY37*的敲除抑制了JA和暗诱导的叶片衰老。转录组分析和生化实验表明, *SIWRKY53*和*SISGR1* (*S. lycopersicum senescence-inducible chloroplast stay-green protein 1*)是*SIWRKY37*的靶基因。此外, *SIWRKY37*还与含有VQ基序的蛋白SIVQ7相互作用进而提高*SIWRKY37*蛋白稳定性并促进其下游靶基因的转录激活(Wang等2022)。在苹果中, MdABI5在ABA引发的叶片衰老调控中起重要作用。MdWRKY40在体外

和体内均与MdABI5直接相互作用并通过相同的调控途径与MdABI5共同促进叶片衰老(An等2021)。在二倍体草莓(*Fragaria × ananassa*)中通过基因编辑沉默*FvWRKY50*促进了叶片衰老。进一步的研究表明*FvWRKY50*通过直接靶向生长素应答基因*FvSAUR36*调控草莓叶片衰老(Chen等2023)。菜薹(*Brassica rapa ssp. parachinensis*)作为食叶蔬菜, 极易发生叶片黄化和萎蔫。研究表明*BrWRKY57*随着菜薹叶片衰老表达水平升高, 且外源ABA处理显著诱导其表达。双荧光素酶瞬时表达试验显示, *BrWRKY57*可以调控叶绿素降解相关基因*BrPPH1*和ABA合成相关基因*BrNCED3*的表达从而影响叶片衰老(曾泽湘等2021)。此外, 研究人员从中国野生葡萄(*Vitis quinquangularis*)中克隆到了*VqWRKY53*基因。在拟南芥中过表达*VqWRKY53*促进了*AtSAG12*的表达和ROS在叶片中的积累, 导致转基因拟南芥叶片衰老(Wang等2020a)。

3.4 其他植物中参与叶片衰老调控的WRKY转录因子

除了模式植物、农作物和园艺植物, WRKY转录因子参与调控叶片衰老的研究也在一些林木、草和经济作物等植物种取得了一些进展(表4)。在灰毡毛忍冬(*Lonicera macranthoides*)中, *LmWRKY16*受叶片组织衰老显著诱导, 且在低温和乙烯处理的叶片中显著上调。此外, 作为*AtWRKY75*的同源基因, *LmWRKY16*的过表达促进转基因烟草叶片衰老(Cao等2022)。研究人员从中间锦鸡儿(*Caragana intermedia*)中鉴定了53个WRKY转录因子。在拟南芥中过表达*CiWRKY75-1*和*CiWRKY40-4*延缓了转基因拟南芥叶片衰老(Wan等2018), 表明这

表3 园艺植物中参与叶片衰老调控的WRKY转录因子
Table 3 WRKY transcription factors involved in regulating leaf senescence in horticultural plants

基因名称	物种	互作因子	调控信号	参考文献
<i>SIWRKY37</i>	番茄	MYC2、WRKY53、SGR1、VQ7	JA	Wang等2022
<i>SIWRKY53</i>	番茄	WRKY37	—	Wang等2022
<i>MdWRKY40</i>	苹果	ABI5	ABA	An等2021
<i>FvWRKY50</i>	二倍体草莓	SAUR36	IAA	Chen等2023b
<i>BrWRKY57</i>	菜薹	PPH1、NCED3	ABA	曾泽湘等2021
<i>VqWRKY53</i>	中国野生葡萄	—	ROS	Wang等2020a

表4 其他植物中参与叶片衰老调控的WRKY转录因子
Table 4 WRKY transcription factors involved in regulating leaf senescence in other plants

基因名称	物种	互作因子	调控信号	参考文献
<i>LmWRKY16</i>	灰毡毛忍冬	—	—	Cao等2022b
<i>CiWRKY40-4</i>	中间锦鸡儿	—	—	Wan等2018
<i>CiWRKY75-1</i>	中间锦鸡儿	—	—	Wan等2018
<i>LpWRKY69</i>	多年生黑麦草	—	CK、ET	Chen和Huang 2022
<i>LpWRKY70</i>	多年生黑麦草	—	CK、ET	Chen和Huang 2022
<i>HbWRKY82</i>	橡胶树	—	—	Kang等2021
<i>BnaWGR1</i>	油菜	RbohD、RbohF	—	Yang等2018
<i>BnaA9.WRKY47</i>	油菜	C7.SGR1、A2.NRT1.7、A9.AAP1	N (氮)	Cui等2023
<i>BnaA07.WRKY70</i>	油菜	—	—	Liu等2023

两个基因可能参与叶片衰老调控。热胁迫是植物的主要非生物胁迫,能够导致植物叶片早衰。在多年生黑麦草(*Lolium perenne*)中,6-BA或AVG (aminoethoxyvinylglycine)处理抑制了热诱导的叶片衰老并使*LpWRKY69*和*LpWRKY70*表达上调。*LpWRKY69*和*LpWRKY70*启动子含有能被CK或乙烯途径中转录因子识别的原件,故二者可能通过CK或ET信号途径对热诱导的叶片衰老进行负调控(Chen和Huang 2022)。Kang等(2021)从橡胶树(*Hevea brasiliensis*)中鉴定了一个Ilc亚组WRKY转录因子HbWRKY82,其转录水平在叶片衰老过程中显著降低。荧光定量结果表明,在过表达HbWRKY82的拟南芥中,叶片衰老标志基因*AtEIN3*和*AtWRKY53*的表达可能受到HbWRKY82的调控,说明该基因可能参与叶片衰老调控(Kang等2021)。油菜(*Brassica napus*) BnaWGR1是一个WRKY转录因子。BnaWGR1可能通过调控RbohD和RbohF基因的表达,正向调控转基因拟南芥叶片衰老(Yang等2018)。此外,油菜*BnaA9.WRKY47*基因受到氮素缺乏的诱导。在幼苗期,与野生型相比,*BnaA9.WRKY47*过表达株系在缺氮条件下表现出老叶衰老较早和幼叶优先生长的特点。进一步研究表明BnaA9.WRKY47通过上调*BnaC7.SGR1*、*BnaA2.NRT1.7*和*BnaA9.AAP1*的表达促进氮素缺乏条件下油菜中氮的再活化(Cui等2023)。Liu等(2023)进一步地从油菜中鉴定了叶片衰老调控相关的*BnaA07.WRKY70*基因。RT-qPCR和启动子GUS分析显示,*BnaA07.WRKY70*主要在油菜叶片和拟南芥莲座叶中表达。*BnaA07.WRKY70*

在拟南芥中异位表达恢复了拟南芥*wrky70*突变体叶片早衰表型(Liu等2023)。

4 总结与展望

植物叶片衰老是一个复杂的、多维度的生物过程,其起始到最终状态涉及到一系列的生理变化及转录调控过程。WRKY转录因子作为叶片衰老相关的重要调节因子,在表观调控、转录调控、转录后调控及翻译后修饰等方面直接或间接地参与植物叶片衰老的调控,并且形成复杂的信号转导网络。此外,WRKY转录因子参与植物体内多种激素引起的叶片衰老调控,并在不同激素信号间协同作用中扮演串连节点的作用。同时,作为一种能够响应多种胁迫刺激的调控因子,WRKY转录因子在胁迫诱导的叶片衰老中的作用亦十分重要,其通过与不同的衰老相关基因互作,直接参与叶片衰老的调节。因此,进一步明确叶片衰老调控信号网络中处于核心节点的WRKY转录因子功能不仅能够进一步丰富相关调控机制,更能对一些重要作物的遗传改良提供有价值的资源。

综合上述研究结果可以明确,WRKY转录因子介导的叶片衰老调控机制研究在模式植物以外的植物中相对不足。近年来,随着测序技术的不断进步,越来越多的植物基因组得到解析。WRKY作为植物中的多成员家族,其数量在每种植物中都不在少数。未来应该借助这些新发表的基因组数据,不断鉴定不同植物中的WRKY转录因子,并通过分子和遗传学手段深入研究WRKY转录因子

在叶片衰老调控中的重要作用。另外, 突变体难以获得和转基因技术不足也是限制WRKY转录因子在非模式植物中进行叶片衰老研究的重大难点。CRISPR/Cas9基因编辑技术已经在模式植物和某些重要作物中得到大力发展。未来应将该技术在园艺植物和经济植物中进行大力研究, 进行精准的与叶片衰老相关的分子改良和分子育种, 进一步提高产量和品质。

关于WRKY介导的叶片衰老, 目前依然存在大量问题没有完全阐明。例如, 植物如何将生殖信号和叶片衰老起始进行整合, 在该过程中, 哪些WRKY转录因子参与并起到了核心串联作用? 植物体内存在多种激素, 各个激素在协同调控叶片衰老的过程中, 哪些WRKY转录因子参与了不同激素信号的协同? 在各个植物中存在的叶片衰老, 都有哪些WRKY转录因子参与, 其参与的调控机制是否具有保守性? 这些问题值得进一步思考和研究。

参考文献(References)

- Abreu ME, Munné-Bosch S (2008). Salicylic acid may be involved in the regulation of drought-induced leaf senescence in perennials: a case study in field-grown *Salvia officinalis* L. plants. *Environ Exp Bot*, 64: 105–112
- Ali A, Gao X, Guo Y (2018). Initiation, progression, and genetic manipulation of leaf senescence. *Methods Mol Biol*, 1744: 9–31
- Allu AD, Soja AM, Wu A, et al (2014). Salt stress and senescence: identification of cross-talk regulatory components. *J Exp Bot*, 65: 3993–4008
- An JP, Zhang XW, Liu YJ, et al (2021). MdABI5 works with its interaction partners to regulate abscisic acid-mediated leaf senescence in apple. *Plant J*, 105 (6): 1566–1581
- Barros JAS, Cavalcanti JHF, Pimentel KG, et al (2022). The significance of WRKY45 transcription factor in metabolic adjustments during dark-induced leaf senescence. *Plant Cell Environ*, 45 (9): 2682–2695
- Beaudoin N, Serizet C, Gosti F, et al (2000). Interactions between abscisic acid and ethylene signaling cascades. *Plant Cell*, 12: 1103–1115
- Besseau S, Li J, Palva ET (2012). WRKY54 and WRKY70 co-operate as negative regulators of leaf senescence in *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot*, 63 (7): 2667–2679
- Bita CE, Gerats T (2013). Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. *Front Plant Sci*, 4: 273
- Breeze E, Harrison E, Mchattie S, et al (2011). High-resolution temporal profiling of transcripts during Arabidopsis leaf senescence reveals a distinct chronology of processes and regulation. *Plant Cell*, 23: 873–894
- Burdiak P, Mielecki J, Gawroński P, et al (2022). The CRK5 and WRKY53 are conditional regulators of senescence and stomatal conductance in *Arabidopsis*. *Cells*, 11 (22): 3558
- Cao J, Zhang Y, Tan S, et al (2022a). LSD 4.0: an improved database for comparative studies of leaf senescence. *Mol Hortic*, 2: 24
- Cao Z, Wu P, Gao H, et al (2022b). Transcriptome-wide characterization of the WRKY family genes in *Lonicera macranthoides* and the role of LmWRKY16 in plant senescence. *Genes Genom*, 44: 219–235
- Chen L, Xiang S, Chen Y, et al (2017). Arabidopsis WRKY45 interacts with the DELLA protein RGL1 to positively regulate age-triggered leaf senescence. *Mol Plant*, 10: 1174–1189
- Chen W, Huang B (2022). Cytokinin or ethylene regulation of heat-induced leaf senescence involving transcriptional modulation of WRKY in perennial ryegrass. *Physiol Plant*, 174 (5): e13766
- Chen W, Zheng Y, Wang J, et al (2023a). Ethylene-responsive SbWRKY50 suppresses leaf senescence by inhibition of chlorophyll degradation in sorghum. *New Phytol*, 238: 1129–1145
- Chen Y, Liu L, Feng Q, et al (2023b). FvWRKY50 is an important gene that regulates both vegetative growth and reproductive growth in strawberry. *Hortic Res*, 10: uhad115
- Chory J, Nagpal P, Peto CA (1991). Phenotypic and genetic analysis of *det2*, a new mutant that affects light-regulated seedling development in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 3: 445–459
- Chu MY, Yu YC (2019). The research progress of factors affecting plant leaf senescence. *Chin Bull Life Sci*, 31 (2): 178–184 (in Chinese and with English abstract) [初梦圆, 于延冲(2019). 影响植物叶片衰老因素的研究进展. *生命科学*, 31 (2): 178–184]
- Cui R, Feng Y, Yao J, et al (2023). The transcription factor BnaA9.WRKY47 coordinates leaf senescence and nitrogen remobilization in *Brassica napus*. *J Exp Bot*, 20: erad282
- Diaz-Mendoza M, Velasco-Arroyo B, Santamaria ME, et al (2016). Plant senescence and proteolysis: two processes with one destiny. *Genet Mol Biol*, 39: 329–338
- Doll J, Muth M, Riester L, et al (2020). *Arabidopsis thaliana* WRKY25 transcription factor mediates oxidative stress

- tolerance and regulates senescence in a redox-dependent manner. *Front Plant Sci*, 10: 1734
- Ellis CM, Nagpal P, Young JC, et al (2005). AUXIN RESPONSE FACTOR1 and AUXIN RESPONSE FACTOR2 regulate senescence and floral organ abscission in *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 132: 4563–4574
- Eulgem T, Rushton PJ, Robatzek S, et al (2000). The WRKY superfamily of plant transcription factors. *Trends Plant Sci*, 5: 199–206
- Eulgem T, Rushton PJ, Schmelzer E, et al (1999). Early nuclear events in plant defence signalling: rapid gene activation by WRKY transcription factors. *EMBO J*, 18: 4689–4699
- Fan L, Zheng S, Wang X (1997). Antisense suppression of phospholipase D alpha retards abscisic acid- and ethylene-promoted senescence of postharvest *Arabidopsis* leaves. *Plant Cell*, 9: 2183–2196
- Finatto T, Viana VE, Woyann LG, et al (2018). Can WRKY transcription factors help plants to overcome environmental challenges? *Genet Mol Biol*, 41: 533–544
- Gan SS, Amasino RM (1995). Inhibition of leaf senescence by autoregulated production of cytokinin. *Science*, 270: 1986–1988
- Gan SS, Amasino RM (1997). Making sense of senescence—molecular genetic regulation and manipulation of leaf senescence. *Plant Physiol*, 113: 313–319
- Gao S, Gao J, Zhu X, et al (2016). ABF2, ABF3, and ABF4 promote ABA-mediated chlorophyll degradation and leaf senescence by transcriptional activation of chlorophyll catabolic genes and senescence-associated genes in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 9: 1272–1285
- Gepstein S, Thimann KV (1980). Changes in the abscisic acid content of oat leaves during senescence. *Proc Natl Acad Sci USA*, 77: 2050–2053
- Gomes MDD, Netto AT, Campostrini E, et al (2013). Brassinosteroid analogue affects the senescence in two papaya genotypes submitted to drought stress. *Theor Exp Plant Physiol*, 25: 186–195
- Gregersen PL, Culetic A, Boschian L, et al (2013). Plant senescence and crop productivity. *Plant Mol Biol*, 82: 603–622
- Gu L, Dou L, Guo Y, et al (2019). The WRKY transcription factor GhWRKY27 coordinates the senescence regulatory pathway in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *BMC Plant Biol*, 19 (1): 116
- Gudesblat GE, Russinova E (2011). Plants grow on brassinosteroids. *Curr Opin Plant Biol*, 14: 530–537
- Guiboileau A, Sormani R, Meyer C, et al (2010). Senescence and death of plant organs: nutrient recycling and developmental regulation. *C R Biol*, 333: 382–391
- Guo P, Li Z, Huang P, et al (2017). A tripartite amplification loop involving the transcription factor WRKY75, salicylic acid, and reactive oxygen species accelerates leaf senescence. *Plant Cell*, 29 (11): 2854–2870
- Guo Y (2013). Towards systems biological understanding of leaf senescence. *Plant Mol Biol*, 82: 519–528
- Guo Y, Cai Z, Gan S (2004). Transcriptome of *Arabidopsis* leaf senescence. *Plant Cell Environ*, 27: 521–549
- Guo YF, Gan SS (2005). Leaf senescence: signals, execution, and regulation. *Curr Top Dev Biol*, 71: 83–112
- Han M, Kim CY, Lee J, et al (2014). OsWRKY42 represses OsMT1d and induces reactive oxygen species and leaf senescence in rice. *Mol Cell*, 37: 532–539
- He P, Osaki M, Takebe M, et al (2005). Endogenous hormones and expression of senescence-related genes in different senescent types of maize. *J Exp Bot*, 56: 1117–1128
- He Y, Fukushige H, Hildebrand DF, et al (2002). Evidence supporting a role of jasmonic acid in *Arabidopsis* leaf senescence. *Plant Physiol*, 128: 876–884
- He Y, Xu RJ, Zhao YJ (1996). Enhancement of senescence by epibrassinolide in leaves of mung bean seedling. *Acta Phytophysiol Sin*, 22: 58–62
- Hensel LL, Grbic V, Baumgarten DA, et al (1993). Developmental and age-related processes that influence the longevity and senescence of photosynthetic tissues in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 5: 553–564
- Hörtensteiner S, Feller U (2002). Nitrogen metabolism and remobilization during senescence. *J Exp Bot*, 53: 927–937
- Hörtensteiner S, Kräutler B (2011). Chlorophyll breakdown in higher plants. *Biochim Biophys Acta*, 1807: 977–988
- Hu Y, Jiang Y, Han X, et al (2017). Jasmonate regulates leaf senescence and tolerance to cold stress: crosstalk with other phytohormones. *J Exp Bot*, 68: 1361–1369
- Hunter DA, Yoo SD, Butcher SM, et al (1999). Expression of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase during leaf ontogeny in white clover. *Plant Physiol*, 120: 131–142
- Iqbal N, Khan NA, Ferrante A, et al (2017). Ethylene role in plant growth, development and senescence: interaction with other phytohormones. *Front Plant Sci*, 8: 475
- Jiang Y, Liang G, Yang S, et al (2014). *Arabidopsis* WRKY57 functions as a node of convergence for jasmonic acid- and auxin-mediated signaling in jasmonic acid-induced leaf senescence. *Plant Cell*, 26 (1): 230–245
- Jibrán R, Hunter D, Dijkwel P (2013). Hormonal regulation of leaf senescence through integration of developmental and stress signals. *Plant Mol Biol*, 82: 547–561
- Jing S, Zhou X, Song Y, et al (2009). Heterologous expression of OsWRKY23 gene enhances pathogen defense and dark-induced leaf senescence in *Arabidopsis*. *Plant Growth Regul*, 58: 181–190

- Kang G, Yan D, Chen X, et al (2021). HbWRKY82, a novel IIc WRKY transcription factor from *Hevea brasiliensis* associated with abiotic stress tolerance and leaf senescence in *Arabidopsis*. *Physiol Plant*, 171 (1): 151–160
- Kaup MT, Froese CD, Thompson JE (2002). A role for diacylglycerol acyltransferase during leaf senescence. *Plant Physiol*, 129: 1616–1626
- Khanna-Chopra R, Selote DS (2007). Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than -susceptible wheat cultivar under field conditions. *Environ Exp Bot*, 60: 276–283
- Kim J, Woo HR, Nam HG (2016). Toward systems understanding of leaf senescence: an integrated multi-omics perspective on leaf senescence research. *Mol Plant*, 9: 813–825
- Kim JI, Murphy AS, Baek D, et al (2011). YUCCA6 over-expression demonstrates auxin function in delaying leaf senescence in *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot*, 62: 3981–3992
- Kim T, Kang K, Kim SH, et al (2019). OsWRKY5 promotes rice leaf senescence via senescence-associated nac and abscisic acid biosynthesis pathway. *Int J Mol Sci*, 20 (18): 4437
- Lim PO, Kim HJ, Nam HG (2007). Leaf senescence. *Annu Rev Plant Biol*, 58 :115–136
- Lim PO, Lee IC, Kim J, et al (2010). Auxin response factor 2 (ARF2) plays a major role in regulating auxin-mediated leaf longevity. *J Exp Bot*, 61: 1419–1430
- Lin JF, Wu SH (2004). Molecular events in senescing *Arabidopsis* leaves. *Plant J*, 39: 612–628
- Liu J, Wu YH, Yang JJ, et al (2008). Protein degradation and nitrogen remobilization during leaf senescence. *J Plant Biol*, 51: 11–19
- Liu P, Zhang S, Zhou B, et al (2019). The histone H3K4 demethylase JMJ16 represses leaf senescence in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 31 (2): 430–443
- Liu T, Li Y, Wang C, et al (2023). *Brassica napus* transcription factor Bna.A07.WRKY70 negatively regulates leaf senescence in *Arabidopsis thaliana*. *Plants (Basel)*, 12 (2): 347
- Miao Y, Laun T, Zimmermann P, et al (2004). Targets of the WRKY53 transcription factor and its role during leaf senescence in *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol*, 55: 853–867
- Miao Y, Zentgraf U (2007). The antagonist function of *Arabidopsis* WRKY53 and ESR/ESP in leaf senescence is modulated by the jasmonic and salicylic acid equilibrium. *Plant Cell*, 19 (3): 819–830
- Niu F, Cui X, Zhao P, et al (2020). WRKY42 transcription factor positively regulates leaf senescence through modulating SA and ROS synthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 104 (1): 171–184
- Noh YS, Amasino RM (1999). Identification of a promoter region responsible for the senescence-specific expression of SAG12. *Plant Mol Biol*, 41: 181–194
- Noodén LD (1988). The phenomenon of senescence and aging. In: Noodén LD, Leopold AC (eds). *Senescence and Aging in Plants*. San Diego: Academic Press, 1–50
- Nooden LD, Singh S, Letham DS (1990). Correlation of xylem sap cytokinin levels with monocarpic senescence in soybean. *Plant Physiol*, 93: 33–39
- Ougham HJ, Morris P, Thomas H (2005). The colors of autumn leaves as symptoms of cellular recycling and defenses against environmental stresses. *Curr Top Dev Biol*, 66: 135–160
- Potschin M, Schlienger S, Bieker S, et al (2014). Senescence networking: WRKY18 is an upstream regulator, a downstream target gene, and a protein interaction partner of WRKY53. *J Plant Growth Regul*, 33: 106–118
- Qiao H, Liu Y, Cheng L, et al (2021). TaWRKY13-A serves as a mediator of jasmonic acid-related leaf senescence by modulating jasmonic acid biosynthesis. *Front Plant Sci*, 12: 717233
- Robatzek S, Somssich IE (2002). Targets of AtWRKY6 regulation during plant senescence and pathogen defense. *Genes Dev*, 16 (9): 1139–1149
- Roberts IN, Caputo C, Criado MV, et al (2012). Senescence-associated proteases in plants. *Physiol Plant*, 145: 130–139
- Rodrigues C, Vandenberghe LPD, De Oliveira J, et al (2012). New perspectives of gibberellic acid production: a review. *Crit Rev Biotechnol*, 32: 263–273
- Rubio V, Bustos R, Irigoyen ML, et al (2009). Plant hormones and nutrient signaling. *Plant Mol Biol*, 69: 361–373
- Rushton PJ, Somssich IE, Ringler P, et al (2010). WRKY transcription factors. *Trend Plant Sci*, 15: 247–258
- Saglam-Cag S (2007). The effect of epibrassinolide on senescence in wheat leaves. *Biotechnol Biotechnol Equip*, 21: 63–65
- Schippers JHM, Jing HC, Hille J, et al (2007). Developmental and hormonal control of leaf senescence. In: Gan SS (ed). *Senescence Processes in Plants*. John Wiley & Sons, 145–170
- Thomas H, Ougham H, Hortensteiner S (2001). Recent advances in the cell biology of chlorophyll catabolism. *Adv Bot Res*, 35: 1–52
- Thomas H, Stoddart JL (1980). Leaf senescence. *Annu Rev Plant Physiol*, 31: 83–111
- Ulker B, Shahid Mukhtar M, Somssich IE (2007). The WRKY70 transcription factor of *Arabidopsis* influences both the plant senescence and defense signaling path-

- ways. *Planta*, 226 (1): 125–137
- Wan Y, Mao M, Wan D, et al (2018). Identification of the WRKY gene family and functional analysis of two genes in *Caragana intermedia*. *BMC Plant Biol*, 18 (1): 31
- Wang D, Jiang C, Liu W, et al (2020a). The WRKY53 transcription factor enhances stilbene synthesis and disease resistance by interacting with MYB14 and MYB15 in Chinese wild grape. *J Exp Bot*, 71 (10): 3211–3226
- Wang Q, Li X, Guo C, et al (2023). Senescence-related receptor kinase 1 (SENK1) functions downstream of WRKY53 in regulating leaf senescence in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 23: ead240
- Wang Y, Cui X, Yang B, et al (2020b). WRKY55 transcription factor positively regulates leaf senescence and the defense response by modulating the transcription of genes implicated in the biosynthesis of reactive oxygen species and salicylic acid in *Arabidopsis*. *Development*, 147 (16): dev189647
- Wang Z, Gao M, Li Y, et al (2022). The transcription factor SIWRKY37 positively regulates jasmonic acid- and dark-induced leaf senescence in tomato. *J Exp Bot*, 73 (18): 6207–6225
- Watanabe M, Balazadeh S, Tohge T, et al (2013). Comprehensive dissection of spatiotemporal metabolic shifts in primary, secondary, and lipid metabolism during developmental senescence in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 162: 1290–1310
- Wu S, Zhang H, Wang R, et al (2022). GhWRKY33 Interacts with GhTIFY10A to synergistically modulate both ageing and ja-mediated leaf senescence in *Arabidopsis*. *Cells*, 11 (15): 2328
- Xie W, Li X, Wang S, et al (2022). OsWRKY53 promotes abscisic acid accumulation to accelerate leaf senescence and inhibit seed germination by downregulating abscisic acid catabolic genes in rice. *Front Plant Sci*, 12: 816156
- Yang JC, Zhang JH, Wang ZQ, et al (2002). Abscisic acid and cytokinins in the root exudates and leaves and their relationship to senescence and remobilization of carbon reserves in rice subjected to water stress during grain filling. *Planta*, 215: 645–652
- Yang L, Ye C, Zhao Y, et al (2018). An oilseed rape WRKY-type transcription factor regulates ROS accumulation and leaf senescence in *Nicotiana benthamiana* and *Arabidopsis* through modulating transcription of RbohD and RbohF. *Planta*, 247 (6): 1323–1338
- Yu Y, Qi Y, Xu J, et al (2021). *Arabidopsis* WRKY71 regulates ethylene-mediated leaf senescence by directly activating *EIN2*, *ORE1* and *ACS2* genes. *Plant J*, 107 (6): 1819–1836
- Zeng ZX, Xiao XM, Tan XL, et al (2021). Characteristics of the transcription factor BrWRKY57 and its regulation on BrPPH1 and BrNCED3. *Acta Horti Sin*, 48 (3): 518–530 (in Chinese with English abstract) [曾泽湘, 肖显梅, 谭小丽等(2021). 菜薹BrWRKY57的特性及其对BrPPH1和BrNCED3的调控. *园艺学报*, 48 (3): 518–530]
- Zentgraf U, Doll J (2019). *Arabidopsis* WRKY53, a node of multi-layer regulation in the network of senescence. *Plants (Basel)*, 8 (12): 578
- Zentgraf U, Laun T, Miao Y (2010). The complex regulation of WRKY53 during leaf senescence of *Arabidopsis thaliana*. *Eur J Cell Biol*, 89 (2–3): 133–137
- Zhang D, Zhu Z, Gao J, et al (2021). The NPR1-WRKY46-WRKY6 signaling cascade mediates probenazole/salicylic acid-elicited leaf senescence in *Arabidopsis thaliana*. *J Integr Plant Biol*, 63 (5): 924–936
- Zhang H, Zhang L, Ji Y, et al (2022). *Arabidopsis* SIGMA FACTOR BINDING PROTEIN1 (SIB1) and SIB2 inhibit WRKY75 function in abscisic acid-mediated leaf senescence and seed germination. *J Exp Bot*, 73 (1): 182–196
- Zhang H, Zhang L, Wu S, et al (2020). AtWRKY75 positively regulates age-triggered leaf senescence through gibberellin pathway. *Plant Divers*, 43 (4): 331–340
- Zhang K, Halitschke R, Yin C, et al (2013). Salicylic acid 3-hydroxylase regulates *Arabidopsis* leaf longevity by mediating salicylic acid catabolism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110: 14807–14812
- Zhang Y, Wang L (2005). The WRKY transcription factor superfamily: its origin in eukaryotes and expansion in plants. *BMC Evol Biol*, 5: 1–12
- Zhao L, Zhang W, Song Q, et al (2020a). A WRKY transcription factor, TaWRKY40-D, promotes leaf senescence associated with jasmonic acid and abscisic acid pathways in wheat. *Plant Biol*, 22: 1072–1085
- Zhao MM, Zhang XW, Liu YW, et al (2020b). A WRKY transcription factor, TaWRKY42-B, facilitates initiation of leaf senescence by promoting jasmonic acid biosynthesis. *BMC Plant Biol*, 20: 444
- Zhou X, Jiang Y, Yu D (2011). WRKY22 transcription factor mediates dark-induced leaf senescence in *Arabidopsis*. *Mol Cells*, 31 (4): 303–313