

表观遗传调控植物叶片衰老的研究进展

陈 烨, 刘平丽*

(北京林业大学 生物科学与技术学院, 北京 100083)

摘 要: 植物叶片衰老是一个非常重要的发育过程, 涉及大分子的有序分解从而将营养物质从叶片转移到其他器官, 对植物的生存和适应至关重要。叶片衰老主要受植物的发育调控, 但同时也受内部和外部环境因素的影响, 涉及高度复杂的基因调控网络和多层级的调控。近年来的研究表明表观遗传是调控植物叶片衰老的一种重要调控方式。该研究综述了植物叶片衰老过程中的表观遗传调控机制, 包括组蛋白修饰、DNA 甲基化、ATP 依赖的染色质重塑和非编码 RNA 介导的调控, 并对该领域今后的发展方向进行了展望。

关键词: 叶片衰老; 表观遗传; 调控; 基因表达

中图分类号: Q943

文献标志码: A

Research Progress of Epigenetic Regulation of Leaf Senescence

CHEN Ye, LIU Pingli*

(College of Biological Science and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: Leaf senescence is an important developmental process involving orderly disassembly of macromolecules for relocating nutrients from leaves to other developing organs and is critical for plant survival and adaptation. Leaf senescence is primarily regulated by plant development, but is also influenced by internal and external environmental factors. Leaf senescence involves highly intricate regulatory networks and multilayered regulatory mechanisms. Recent studies had shown that epigenetics was an important mode of regulation of leaf senescence in plants. This review provided an overview of the known epigenetic regulation of plant leaf senescence, including histone modifications, DNA methylation modification, ATP-dependent chromatin remodeling and non-coding RNA mediated regulation. The future research trends in this area were also prospected.

Key words: leaf senescence; epigenetic; regulation; gene expression

叶片是植物进行光合作用的主要器官, 是植物生长发育过程中能量和营养物质的主要来源, 叶片衰老是整个植物体衰老的重要部分。叶片衰老过程中, 叶色由绿色变成黄色或红色, 细胞内细胞器发生解体、生理代谢和基因表达发生明显变化^[1-4]。叶片衰老涉及叶绿素和蛋白质等大分子物质的分解, 营养物质从叶片供应给正在生长发育中的种子或者果

实或者木本植物的根和茎。过早衰老会降低作物的产量和质量, 限制花卉瓜果的观赏和保存, 也会影响多年生植物如树木次年春天叶芽和花芽的生长发育^[3-4]。因此, 有序的叶片衰老是确保植物产生优良后代和更好生存的关键过程。

叶片衰老具有年龄依赖性, 主要受发育调控, 但同时也受内部和外部环境因素如激素、光照、温度及

收稿日期: 2023-01-11; 修改稿收到日期: 2023-04-19

基金项目: 中央高校基本科研业务费(BLX2019ZY28)

作者简介: 陈 烨(1998—), 女, 硕士研究生, 主要从事进化发育研究。E-mail: chenye@bjfu.edu.cn

* 通信作者: 刘平丽, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事进化发育研究。E-mail: liupl@bjfu.edu.cn

胁迫因子的影响。它们相互作用形成一个复杂且环境敏感的调控网络在时空上精确调节叶片的衰老过程^[4-6],引起衰老相关基因表达模式的变化^[7]。植物衰老过程中,表达上调的基因,被称为衰老相关基因(senescence associated genes, SAGs)。目前在拟南芥、玉米、小麦、番茄和木本植物杨树等多种植物中已经分离出数千种 SAGs,并且对数百个 SAGs 进行了功能鉴定^[8-10]。这些 SAGs 基因表达的水平主要由转录因子调控,目前 NAC、WRKY、AP2/EREBP、MYB、bHLH、bZIP 等转录因子家族中的成员已被证实植物叶片衰老过程中对 SAGs 基因的表达有重要的调控作用^[10-13]。其中,NAC 转录因子和 WRKY 转录因子被认为在叶片衰老中起到了核心调控作用^[14-15]。

叶片衰老涉及到多层次复杂的调控,可以在转录、转录后、翻译和翻译后等多个水平整合内外信号进行精细的调控^[3]。最近的研究表明表观遗传调控也在植物叶片衰老过程中发挥着重要作用^[5,16-17]。表观遗传是不改变 DNA 序列的情况下,使基因表达发生可遗传和可逆改变的一种调控方式,主要包括组蛋白修饰、DNA 甲基化、ATP 依赖的染色质重塑和非编码 RNA 介导的调控^[18]。目前研究主要关注于组蛋白甲基化、乙酰化和 DNA 胞嘧啶的甲基化如何调控基因的表达从而影响植物生长发育的进程。此外,随着测序技术的发展,越来越多的非编码 RNA 被发现,其在叶片衰老过程中的调控作用逐渐引起人们的重视。非编码 RNA(ncRNAs)是一类不翻译成蛋白质的 RNA,主要包括非编码小 RNAs (small non-coding RNAs, sncRNAs)、微小 RNAs (miRNAs, microRNAs) 和反式小干扰 RNAs (trans-acting small interfering RNAs, ta-siRNAs)、长链非编码 RNAs (long non-coding RNAs, lncRNAs)、环状 RNAs (circular RNAs, circRNAs) 和 piRNAs (Piwi-interacting RNAs) 等。它们在植物生长发育、抵御胁迫以及衰老调控方面有重要作用。本文综述了表观遗传在植物叶片衰老过程中调控的研究进展,以期进一步促进植物叶片衰老的表观遗传调控研究。

1 组蛋白修饰调控植物叶片衰老

组蛋白(Histone)是一种可以和 DNA 结合的碱性蛋白,在真核生物细胞核中,组蛋白和 DNA 共同组成染色质的基本单位核小体,H2A、H2B、H3 和 H4 4 种组蛋白组成了核小体的蛋白质八聚体。组蛋白尾部的蛋白结构域延伸在核小体表面,具有

多个修饰位点,可以在不同酶的作用下进行甲基化、磷酸化、乙酰化和泛素化等组蛋白修饰,改变核小体构象,调控基因转录活性^[19-20]。

1.1 组蛋白甲基化

在拟南芥中,组蛋白甲基化可发生在组蛋白 H3 的赖氨酸残基 4 (K4)、9 (K9)、27 (K27) 和 36 (K36) 位点。通常情况下,组蛋白 H3K4 和 H3K36 甲基化与基因的转录活化相关,而组蛋白 H3K9 及 H3K27 甲基化则与基因的沉默相关^[21]。多项研究表明,H3K4me3 可以激活 SAGs 表达从而在叶片的自然衰老过程中起重要的调控作用,H3K27me3 则以相反的方式来调控 SAGs 的表达。WRKY53 是调控叶片衰老的关键转录因子。Ay 等^[22]的研究表明了组蛋白甲基化修饰与植物叶片衰老相关,他们发现随着拟南芥叶片衰老,转录因子 WRKY53 基因编码区 5' 端,组蛋白甲基化 H3K4me2 和 H3K4me3 信号有明显增加,WRKY53 基因转录被活化。Brusslan 等^[23]也对成熟和衰老的拟南芥叶片中组蛋白修饰 H3K4me3 和 H3K27me3 与基因表达水平的关系进行了探究,发现衰老叶片中衰老上调基因的 H3K4me3 标记增加,下调基因的 H3K4me3 标记减少。而失去 H3K27me3 标记的基因在衰老时出现了上调,少数 H3K27me3 标记增加的基因在衰老叶片中表达水平下调。Yan 等^[24]利用了 ChIP-Seq 及 RNA-Seq 研究了黑暗胁迫下拟南芥叶片中基因组范围内 H3K4me3 的分布,以及 H3K4me3 与基因表达的关系。他们发现经黑暗处理后叶片中 H3K4me3 标记数量整体上增加,H3K4me3 标记增加的基因主要参与叶片衰老。这些基因包括衰老相关基因 WRKY6、SAG113 和 SAG101,以及与黑暗诱导衰老相关的基因 ABI5、EIN3 和 ORE1。研究结果说明 H3K4me3 在 SAGs 的转录调控中起到了重要的作用,并且黑暗诱导和年龄引起的叶片衰老之间存在着相互应答(cross-talk)。

组蛋白甲基化状态主要由组蛋白甲基转移酶(histone methyltransferases, HMTs)和组蛋白去甲基化酶(histone demethylases, HDMs)共同维持,多个研究表明 HMTs 和 HDMs 参与了叶片衰老的调控。SUVH2 属于 HMTs,其过表达导致 H3K9、H3K27 异染色质甲基化标记增加^[25]。Ay 等^[22]发现 SUVH2 过表达植株中 WRKY53 基因的 H3K27me2 和 H3K27me3 标记水平升高,导致 WRKY53 及其下游的衰老相关基因 SIRT、SAG101、ANAC083、SAG12

和 *SAG24* 的转录受到抑制,叶片出现衰老延迟。Ay 等^[26]通过 qRT-PCR 分析发现过表达 *SUVH2* 影响 50%衰老相关调控基因的表达,其中,衰老相关转录因子家族 AP2-EREBP、C2H2、NAC 和 WRKY 受到的影响尤为显著。组蛋白去甲基化酶 HDMs 可以分成 2 种类型:JMJs (JmjC domain-containing proteins)和 LSD1 (lysine-specific demethylase 1)。Wang 等^[21]在拟南芥中发现组蛋白 H3K27me3 去甲基化酶 REF6/JMJ12,可以通过去甲基化激活衰老调控基因和结构基因如 *EIN2*、*ORE1*、*NAP*、*PPDK*、*LOX1* 和 *NTL9* 等的表达,正向调控叶片衰老。Liu 等^[27]发现组蛋白去甲基化酶 MJM16 在拟南芥中通过移除 WRKY53 和 *SAG201* 位点的 H3K4me3 水平,抑制这些基因的提前表达,对叶片衰老有负调控作用。Ding 等^[28]证明了番茄组蛋白去甲基化酶 SIJM4 的过表达促进黑暗和 ABA 诱导的番茄叶片衰老。在黑暗中,SIJM4 通过去除 H3K27me3 促进转录因子 *SlORE1*、*SlNAP2* 和衰老相关基因 *SlSAG113*、*SlSAG12* 的表达促进衰老。响应 ABA 时,SIJM4 可以降低上述基因和 *SlABI5*、*SlNCED3* 等衰老相关基因的 H3K27me3 水平,激活它们表达,介导 ABA 诱导的叶片衰老。

这些研究结果都表明植物叶片衰老受组蛋白甲基化和去甲基化的调控,此外 Yan 等^[24]和 Ding 等^[28]的结果表明除年龄诱导的叶片衰老外,组蛋白甲基化在黑暗和 ABA 诱导的叶片衰老过程中也有参与,对于组蛋白甲基化修饰在其他因素诱导的叶片衰老调控过程中的作用值得更加深入研究。

1.2 组蛋白乙酰化

除了组蛋白甲基化修饰,乙酰化也是一种重要的组蛋白修饰方式。组蛋白乙酰化与基因转录激活有关,去乙酰化与基因沉默有关。同样受酶的作用,由组蛋白乙酰转移酶 (histone acetyltransferase, HATs)和组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylases, HDACs)共同作用参与调控植物叶片衰老^[29]。

Brusslan 等^[30]利用 ChIP-Seq 及 RNA-Seq 研究了拟南芥发育衰老过程中不同时间点叶片中 H3K9ac 和 H3K4me3 的丰度,他们发现大部分衰老上调相关基因都有 H3K9ac 和 H3K4me3 标记。他们还发现 *SAGs* 周围的 H3K9ac 水平在衰老早期较高,随着衰老的进行逐渐降低。这与 H3K4me3 水平的情况相反,H3K4me3 水平通常在衰老的早期阶段很低,在衰老阶段结束时急剧增加。组蛋白标记在整个衰老过程中高度收敛。然而,*SAGs* 周

围 H3K4me3 标记覆盖的基因区域的平均数量几乎是 H3K9ac 标记覆盖的 2 倍。植物中的去乙酰化酶可分成 3 个家族:RPD3/HDA1、HD2 和 SIR2^[31]。AtHD1 是一种组蛋白去乙酰化酶。Tian 等^[32]研究发现,AtHD1 的组蛋白反义抑制转基因植株 CASH 中的 H4 组蛋白高度乙酰化,植株表现出早衰现象。AtHD1 的 T-DNA 插入突变体也出现乙酰化水平的增加和相似的早衰表型^[33]。HDA6 是组蛋白去乙酰化酶的一种,根据 Wu 等^[34]的研究,拟南芥 HDA6 缺失突变体组蛋白 H3 乙酰化水平高于野生型,衰老相关基因 *SAG12* 和 *SEN4* 的表达下调,叶片衰老延迟,表明 HDA6 参与了拟南芥叶片衰老的调控。HDA9 是组蛋白去乙酰化酶,拟南芥 *hda9* 和 *pwr* 突变体自然条件和黑暗诱导下衰老延迟,Chen 等^[35]的研究表明 HDA9、蛋白质 PWR 和转录因子 WRKY53 一起通过去除多条衰老调控途径负调控基因的 H3K27ac 标记,从而抑制它们的表达,这反过来又诱导它们下游靶基因解除抑制来促进叶片衰老。Huang 等^[36]研究发现 HDA15 与单链 DNA 结合蛋白 WHIRLY1 互作,去除营养循环基因和衰老相关基因 WRKY53 启动子区的 H3K9ac,从而抑制它的表达,进而抑制叶片衰老。

拟南芥 CBP/p300 HAT 家族具有组蛋白乙酰转移酶活性,基因家族成员包括 HAC1、HAC2、HAC4、HAC5 和 HAC12。Li 等^[37]研究发现,乙酰转移酶 AtHAC1 的 T-DNA 插入突变体叶片具有黑暗迟绿的表型;所有 AtHAC 突变体对乙烯高度敏感,影响叶片衰老的乙烯响应因子 (ethylene response factors, ERFs) 的表达水平上调,说明 AtHAC1 与植物叶片衰老相关。Hinckley 等^[38]利用 ChIP-seq 鉴定出 43 个组蛋白乙酰转移酶 HAC1 的可能靶标,其中靶标 *ERF022* 是叶片衰老的正调控因子。以上结果均表明了组蛋白乙酰化这一表观遗传机制在叶片衰老调控中有重要作用。

除了对拟南芥中组蛋白乙酰化在叶片衰老中作用的研究,其他常见植物叶片衰老时组蛋白乙酰化作用也值得关注。Zhang 等^[39]利用 ChIP 分析了水稻旗叶衰老不同阶段 H3K9ac 的全基因组富集情况。随着水稻旗叶的衰老,全基因组 H3K9ac 出现明显增加。通过对与 H3K9ac 相关的差异表达基因分析发现,衰老相关基因的表达情况和 H3K9ac 水平有明显的正相关关系,并且 H3K9ac 相关的基因主要参与了衰老相关激素信号通路。因此对于更多植物叶片衰老时组蛋白乙酰化的调控作用地研究,

可以作为未来研究方向,更全面地了解叶片衰老调控中表观遗传机制的作用。

1.3 其他组蛋白修饰

除了组蛋白甲基化、乙酰化,组蛋白的其他共价修饰方式如磷酸化和泛素化也可能参与了植物叶片衰老的调控。组蛋白的磷酸化位点有丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸,它们在蛋白激酶的作用下磷酸化,并被磷酸酶去磷酸化^[40-41]。虽然目前还没有证据表明组蛋白磷酸化参与了植物叶片衰老的调控,但多种蛋白激酶和磷酸化酶被证实具有在叶片衰老过程中具有重要作用调控的研究^[42-43],说明组蛋白磷酸化可能参与了植物叶片衰老的表观遗传调控。

H2A 是第一个被发现的可以被泛素化修饰的组蛋白。组蛋白泛素化修饰涉及 E1 泛素激活酶、E2 泛素结合酶和 E3 泛素连接酶。拟南芥中只有 2 个基因编码 E1 酶,而编码 E2 和 E3 酶的基因分别有 41 和 1 300 多个^[44]。Polycomb 蛋白复合体(Polycomb group proteins)通过组蛋白修饰,在表观遗传方面调控靶基因^[45],该蛋白复合体亚型 PRC1 复合物具有 H2A 泛素化 E3 连接酶活性,可以催化 H2A 泛素化^[46],BMI1A 是该复合体的成员之一。研究表明组蛋白 H2A 的泛素化修饰参与了植物叶片衰老调控。Chen 等^[47]在高粱中研究发现,乙烯信号途径的关键转录因子 *EIN3* 的下游靶基因 *SbWRKY50* 通过与 *SbBMI1A* 互作,进而招募 PRC1 引起叶绿素降解途径关键基因上的组蛋白 H2Aub 富集,抑制了叶绿素的降解,延缓了高粱叶片的衰老。虽然目前关于组蛋白泛素化参与植物叶片衰老调控的直接证据较少,但拟南芥叶片衰老过程中 E3 泛素连接酶与去泛素化酶(deubiquitination enzymes, DUB)都起到了一定的调控作用^[48-51],说明泛素化参与了植物叶片衰老调控,但组蛋白泛素化修饰的机制和在调控叶片衰老过程中的具体作用还值得进一步研究。另外组蛋白泛素化与其他组蛋白修饰间具有相互作用^[48],通过组蛋白其他共价修饰,也可能是组蛋白泛素化调控植物叶片衰老的一种间接方式。

2 DNA 甲基化调控植物叶片衰老

DNA 甲基化(DNA methylation)在植物体中广泛存在,由 DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferase, DMT)催化。DNA 序列上 CG、CHG、CHH (H 是 A、T 或 C)3 类位点上的胞嘧啶可以发生甲基化。参与调控的甲基化转移酶主要包括:MET1、

CMT3 和 DMRs^[52]。DNA 甲基化可以发生在转座子(TFs)等重复序列上,使重复序列沉默来维持异染色质结构稳定。DNA 甲基化可以改变基因启动子或编码区的甲基化水平,进而影响基因与转录因子的结合能力^[53]。目前研究表明,DNA 甲基化影响着植物叶片衰老过程。

Ogneva 等^[54]研究了拟南芥与年龄相关的 DNA 甲基转移酶基因(*AtMET1*、*AtDRM1* 和 *AtDRM2*)和去甲基化酶基因(*AtROS1*、*AtDME*、*AtDML2* 和 *AtDML3*)的表达情况,随着叶片衰老,DNA 去甲基化酶基因的表达量明显高于幼叶时期,而 DNA 甲基转移酶基因呈现出相反的表达模式,说明在拟南芥叶片衰老过程中有 DNA 去甲基化的参与。Dou 等^[55]对棉花幼叶和衰老叶全基因组 DNA 甲基化水平进行了比对分析,衰老叶 DNA 甲基化水平低于幼叶,并且研究的 9 个 DNA 甲基转移酶相关基因和 2 个 DNA 去甲基转移酶相关基因的表达均在衰老过程中被下调。表明 DNA 甲基化活性降低调控了叶片的衰老。在超砷积累的风尾蕨中发现,砷的积累导致叶片中 DNA 甲基化水平的降低,同时叶绿素的积累和 F_v/F_m 也有所减少。说明在砷积累的情况下,DNA 甲基化影响了叶片光合过程和色素积累^[56]。越来越多的研究表明 DNA 甲基化与衰老相关基因之间存在一定的联系。He 等^[57]鉴定出拟南芥中的一个转座子 NMR19,根据其在基因组中的位置不同分为 NMR19-4 和 NMR19-16,其中 NMR19-4 的甲基化抑制了调控叶片衰老的 *PPH* 的表达,影响了叶片中叶绿素的含量,叶片出现延迟衰老。Yuan 等^[58]的研究显示 DNA 去甲基化酶基因 *DML3* 调控拟南芥叶片衰老,因为他们发现 *dml3* 敲除突变体植株很多 SAGs 启动子的高度甲基化导致其转录水平降低,叶片出现衰老延迟现象。Li 等^[59]研究了油菜叶片衰老时 DNA 甲基化的变化,发现 DNA 甲基化转移酶基因 *BcMET1*、*BcSUVH4*、*BcDRM2*、*BcRDR2* 和 *BcCMT3* 的表达随储藏时间延长而逐渐下降,而 DNA 去甲基化相关基因(*BcROS1*)的表达保持不变。经甲基化抑制剂 5-Aza 处理后的叶片中与叶绿素降解相关的酶活性逐渐升高,叶片变黄。衰老相关基因 *BcSAG12*、*BcNYC1*、*BcSGR1*、*BcSGR2* 等的表达也出现上调。同时衰老叶片 *BcSGR2* 和 *BcSAG12* 启动子区域出现了明显的 DNA 去甲基化,表明了油菜叶采后的叶片衰老相关基因的表达与 DNA 去甲基化有关。以上实验结果都证明了 DNA 甲基化

影响着植物叶片衰老,但除了甲基化酶和去甲基化酶的作用,发生在 TEs 的 DNA 甲基化对叶片衰老表型变化的作用值得进一步研究。

值得注意的是,DNA 甲基化与组蛋白修饰并不是完全相互独立的表观遗传调控方式。例如拟南芥 *met1-1* 突变体中组蛋白 H3K9me 信号明显减弱,这一结果同样出现在 *met1-3* 突变体中,证明 DNA 甲基化影响了组蛋白 H3K9me 的水平^[60-61]。另外拟南芥组蛋白去乙酰化酶 HDA6 有维持 CHG 位点 DNA 甲基化的作用,在拟南芥 *Athda6* 突变体中,CHG 甲基化水平明显降低^[62],说明 DNA 甲基化的维持依赖于 HDA6,与组蛋白乙酰化水平降低共同使基因沉默。植物 DNA 甲基化与组蛋白修饰间关系密切,因此深入研究植物叶片衰老中 DNA 甲基化和组蛋白修饰的共同调控机制,是全面了解植物叶片衰老表观遗传调控的重要研究方向之一。

3 ATP 依赖的染色质重塑调控植物叶片衰老

染色质结构的高度重叠成为转录因子与 DNA 结合的障碍,因此真核生物在进化过程中进化出改变染色质 DNA 局部可接近性的机制,除了上述提到的组蛋白共价修饰、DNA 甲基化以外,还可以通过 ATP 依赖的染色质重塑(chromatin remodeling)实现^[5]。ATP 依赖的染色质重塑由 ATP 水解提供能量,在染色质重塑复合物的参与下,以核小体在 DNA 上滑动、与 DNA 解离、去除染色质上的组蛋白八聚体以及组蛋白变异体与经典组蛋白置换的非共价方式,调控染色质结构,从而增加或减弱转录因子在其染色质 DNA 局部的可接近性,进而激活或抑制相关基因的转录^[63]。染色质重塑复合物最早在酵母中被发现,由 ATP 酶核心亚基和其他亚基组成,根据主要起催化作用的 ATP 酶核心亚基将染色质重塑复合物分为 SWI/SNF、ISWI、Ino80 和 CHD 4 个家族^[64-65]。SWI/SNF 家族由 SWI2/SNF2 蛋白与 SNF5、SWP73 和 SWI3 亚基组成,其起催化作用的 ATP 酶核心亚基为 SWI2/SNF2 亚基^[66]。目前在拟南芥中鉴定出了 41 个含有 ATP 酶结构域的基因,分为 Snf2-like、Swr1-like、Rad54-like 等不同家族,其中 Snf2-like 家族又被分为 SWI2/SNF2、Lsh、Iswi、Chd1 和 Mi-2 亚家族^[67]。对 SWI2 /SNF2 亚家族成员有一定研究,包括 SYD、BRM、CHR12、CHR2、DDM1、DRM1 等染色质重塑因子^[68]。转录因子 *CIN-TCP* 促进植物叶

片衰老,Efroni 等^[69]研究指出,拟南芥 SWI2/SNF2 家族成员 BRM 影响了转录因子 *CIN-TCP* 对细胞分裂素的响应,在 BRM 功能缺失的拟南芥突变体中,观察到了叶片衰老加速的现象。Li 等^[70]的研究中,发现 BRM 直接靶向作用于衰老相关基因 *SAG21*、*SAG101*、*SAUL1* 等,另外 H3K27 去甲基酶 REF6 促进 BRM 的募集,降低 H3K27me3 水平激活转录,且 BRM 与 REF6 共定位衰老依赖基因,因此 REF6 可能与含 BRM 的 SWI/SNF 复合体一起通过控制 *SAGs* 基因的染色质结构,进而在表观遗传上调控叶片衰老。另外该家族成员 DRD1 和 DDM1 经研究表明参与叶片衰老调控。Choi 等^[71]研究发现拟南芥 *drd1-6*、*ddm1-2* 突变体叶片均出现衰老延迟现象,并且 *SAGs* 表达受到明显抑制,因此他们认为 SWI2/SNF2 染色质重塑复合物通过表观遗传调控参与叶片衰老过程。AT-hook motif 也是组成 SWI/SNF 的一个非催化活性亚基^[67],Lim 等^[72]发现拟南芥 *ORE7/ESC* 过表达使植株出现衰老延迟,*ORE7/ESC* 基因可编码具有 AT-hook motif 的蛋白质,改变了染色质构象,同样也影响了衰老相关基因的表达水平,因此他们认为 *ORE7/ESC* 通过编码具有 AT-hook motif 的蛋白质,使染色质重塑,进而调控了植物叶片衰老。ATP 依赖的染色质重塑在植物叶片衰老调控中有重要作用,根据已有研究可以看出,染色质重塑复合物与组蛋白共价修饰在调控植物叶片衰老方面密不可分,一方面组蛋白共价修饰影响染色质重塑复合物活性,另一方面参与染色质重塑复合物的招募和稳定^[64]。虽然实验表明了 BRM、DRD1 和 DDM1 等染色质重塑因子在叶片衰老表观遗传的调控作用,但具体的作用方式以及更多亚家族成员的作用仍需要进一步研究。

4 非编码 RNA 介导调控植物叶片衰老

4.1 非编码小 RNAs 与叶片衰老调控

非编码小 RNAs (small non-coding RNAs, sncRNAs)在植物基因表达调控中有重要作用,通过使 mRNA 失活或翻译抑制在转录或转录后水平调控基因表达,进而从不同的生物过程参与对植物生长发育起到了调控作用,目前在叶片衰老调控方面研究较多的 sncRNAs 是 miRNAs 和 ta-siRNAs。

4.1.1 miRNAs 参与调控植物叶片衰老 MicroRNAs(miRNAs)是在动物、植物中广泛存在的内源

性小 RNA,长度为 18~24 个核苷酸^[73]。最早于 1993 年由 Wightman 等^[74]和 Lee 等^[75]在秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)中发现。随后 2002 年 Reinhart 等^[76]在拟南芥中证明了 miRNAs 同样存在于植物中。miRNAs 序列在动物和植物中均高度保守,通过切割靶基因 mRNA 在转录后水平调控基因表达。随着小 RNA 克隆和高通量测序等生物学技术发展,陆续在更多植物中筛选出大量 miRNAs^[77-78]。不仅在拟南芥中筛选鉴定出大量 miRNAs,Xu 等^[79]在水稻衰老叶片中新鉴定出 162 个候选 miRNAs,并鉴定分析出其靶基因功能与叶片衰老相关;Wu 等^[80]在玉米叶片中鉴定出 81 个 miRNAs,其中 16 个 miRNAs 差异表达与叶片衰老相关。

通过组学分析,人们推测很多的 miRNAs 可能都参与叶片衰老的调控,但是进行深入的功能分析的 miRNAs 并不多。miR164、miR319、miR840 和 miR396 是植物中研究得较为深入的被证实参与植物叶片衰老调控的 miRNAs。miR164 已在拟南芥中被证实靶向调控 NAC 转录因子家族。Kim 等^[81]研究了由 *ORE1*、miR164 和 *EIN2* 组成的网络调控叶片衰老的机制,他们发现衰老早期 miR164 结合到 *ORE1/AtNAC2* 的 mRNA 上,抑制衰老正向调控因子 *NAC2* 的表达。随着叶片衰老,*EIN2* 表达上调,*EIN2* 负调控 miR164 使其表达量降低,同时 *NAC2* 的表达增加从而促进了拟南芥叶片的衰老。Li 等^[82]研究发现,叶片衰老时,*EIN2* 下游关键转录因子 *EIN3* 的转录水平增高,*EIN3* 蛋白能够与 miR164 启动子结合抑制其转录,同时上调 miR164 靶基因 *NAC2* 的表达而促进衰老,*EIN2-EIN3-miR164-NAC2* 共同构成了调节叶片衰老的信号通路。Wen 等^[83]利用微阵列技术对幼叶和衰老叶保守 miRNAs 表达情况进行分析,结果显示衰老相关 miR164 在幼叶中出现高表达。通过瞬时过表达实验,发现 *LfNAC1* 和 *LfNAC100* 是 *lfomiR164b* 的靶基因,并且 *LfNAC1* 可以促进叶片衰老相关基因 *LfSGR* 的表达。实验结果说明,miR164 在幼叶时期抑制 *LfNAC1* 的表达,随着季节的变化 miR164 逐渐下降,*LfNAC1* 激活叶片衰老相关基因导致叶片衰老,证实了“miR164-NAC”对枫香秋叶衰老的调控作用。这些实验结果证明 miR164 对叶片衰老的正向调控作用。

miR319 也是研究较为深入的参与植物叶片衰老调控的 miRNAs 之一。研究表明拟南芥 miR319

靶向作用于与植物生长发育相关的 TCPs 转录因子家族^[84-85]。Schommer 等^[86]通过微阵列技术鉴定出了 5 个受 miR319 靶向调控的 TCPs 家族成员,其中 *TCP4* 正调控茉莉素(jasmonates,JA)生物合成关键基因 *LOX2*,促进 JA 的生物合成,进而调控植物叶片衰老。Koyama 等^[87]同样研究了 miR319 和 TCPs 转录因子在叶片衰老过程中的作用。研究发现拟南芥 *TCP3*、*TCP4* 基因过表达以及 *mir319a/b* 突变体植株的叶片表现出早熟现象,而 *tcp3/4/10* 和 *tcp3/4/5/10/13/17* 突变体表现出延迟的叶片黄化,说明 miR319 和 TCP 基因突变引起的 TCPs 表达差异调控了叶片衰老。除了在拟南芥这种模式植物中证实了 miR319 调控叶片衰老的作用,Zhu 等^[88]发现,鸡爪槭黄叶突变体叶片中 miR319 转录水平高,而野生型植株中则 *ApTCP2* 转录水平更高;*ApmTCP2* 和 *ApTCP2* 与 miR319 序列互补性低,将鸡爪槭 *ApTCP2* 和 *ApmTCP2* 分别在拟南芥野生型和 *jaw-d* 突变体植株中过表达后,*jaw-d* 突变体中由 miR319 过表达引起的衰老抑制被解除,JA 生物合成的相关基因表达增加,叶片出现了衰老现象。以上实验结果充分证实了 miR319 调控 TCPs 的机制在叶片衰老中发挥作用。

miR840 最早由 Rajagopalan 等^[89]在拟南芥中通过高通量焦磷酸测序研究发现。miR840 的靶基因之一是与植物叶片衰老调节因子 *WHY1* 同一基因家族的 *WHIRLY3* (*WHY3*)。拟南芥中 *MIR840* (*AT2G02741*)位于蛋白质编码基因 *PPR* (*AT2G02750*)和 *WHY3* (*AT2G02740*)的部分重叠的 3' UTR,因此推测 *PPR* 和 *WHY3* 两者都是 miR840 预测靶点^[90]。*Ath-MIR840* 的成熟产物主要有 miR840* 和 miR840。Ren 等^[91]研究了 miR840 介导 *PPR* 和 *WHY3* 在植物叶片衰老中的调控作用。拟南芥 miR840 表达量较低的启动子突变体 *SALK_038777* 体系植株叶片的绿色表型保持时间更长;而 miR840 过表达植株 *SAIL_232_F08* 突变体叶片则出现明显的早衰现象,且 *SAG12* 和 *SAG101* 等衰老相关基因表达量明显增加。研究表明,在叶片衰老调控过程中 *PPR* 表达与 miR840 转录水平(实际上是 miR840*)之间存在很强的负相关;miR840 过表达导致了 *WHY3* 蛋白的积累量下降且植株出现早衰现象。总之,他们的研究表明 miR-NA840 靶向 *PPR* 和 *WHY3* 基因的重叠 3' UTR 区,以 miR840*-*PPR* 和 miR840-*WHY3* 方式协同调控叶片衰老。

生长调节因子(growth-regulating factors, GRFs)是植物中特异性转录因子,与相互作用因子(GRF-interacting factors, GIFs)形成复合物,GRFs表达模式受 miR396 调控。拟南芥 *GRF3* 对 *miR396* 不敏感,*GIF1* 表达水平增加叶片衰老延迟,*miR396* 过表达可明显诱导衰老相关基因 *SEN1* 和 *SEN4* 的表达,*miR396-GRF-GIF* 网络影响了叶片衰老进程^[92]。植物中的 miRNAs 数量庞大,更多 miRNAs 在叶片衰老中的调控作用值得更深入的研究。

4.1.2 ta-siRNA 参与调控植物叶片衰老 反式小干扰 RNAs(trans-acting small interfering RNAs, ta-siRNAs),是长度为 21 个核苷酸的内源性 siRNA。ta-siRNAs 的形成与 miRNAs 有关,ta-siRNAs 由 *TAS* 基因产生,ta-siRNA 基因座(*TAS*)从核基因转录,被含有 RNA 诱导沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)的 Argonaute (AGO)识别并切割后与特定的 miRNA 结合,在 RNA 依赖型 RNA 聚合酶(RDR6)的作用下产生双链 RNAs(dsRNAs),在被 DCL 蛋白裂解后生成 ta-siRNAs^[93]。ta-siRNAs 和 miRNAs 一样通过靶向结合含有互补位点的 mRNA 调控基因的表达。目前已经在植物中鉴定出了 4 个编码 ta-siRNAs 的基因家族:*TAS1*、*TAS2*、*TAS3* 和 *TAS4*。其中 *TAS3* 可以被 *miRNA390* 靶向作用产生 *TAS3-ta-siRNA*,而 *TAS3-ta-siRNA* 的靶基因包括生长素反应因子 *ARF2*、*ARF3* 和 *ARF4*,可以引起相应基因的 mRNA 降解抑制其表达^[94-95]。ta-siRNAs 可以和 miRNAs 同时靶向调控同一基因家族的多个基因表达,在调控植物叶片衰老过程中与 miRNAs 有相互协调的作用^[96]。

4.2 长链非编码 RNA 与叶片衰老调控

长链非编码 RNAs(long non-coding RNAs, lncRNAs)是一类转录本长度大于 200 核苷酸的 ncRNA,位于细胞核或细胞质中充当“核蛋白调节剂”^[97-98],根据其在基因组中相对位置可分为正义 lncRNAs(sense lncRNAs)、反义 lncRNAs(anti-sense lncRNAs)、双向 lncRNAs(bidirectional lncRNAs)、基因间 lncRNAs(intergenic lncRNAs)和内含子 lncRNAs(introic lncRNAs)5 类^[99]。此前对 lncRNAs 的研究主要集中在哺乳动物的生长发育、器官生长发育以及癌症相关研究等方面^[100-102],发现 lncRNAs 能够通过顺式或反式作用模式调节蛋白质编码基因的表达^[103]。近年来随着高通量测

序技术快速发展,植物中 lncRNAs 的功能和作用机制也逐渐被探知,发现了 lncRNAs 在植物叶片衰老过程中的调控作用。Huang 等^[104]通过全基因组高通量测序,对水稻旗叶衰老过程中的 lncRNAs 进行了鉴定。在水稻从正常到衰老的 5 个发育阶段的旗叶中共鉴定出 3 953 个 lncRNAs,其中与叶片衰老正负相关的差异表达 lncRNAs 分别为 22 个和 48 个。这些差异表达的 lncRNAs 靶向 mRNA 中,一部分编码了调控叶片衰老的转录因子,另一部分则编码衰老相关基因(SAGs)。表明了衰老相关的 lncRNAs 通过调控大量衰老相关 mRNA 转录在叶片衰老过程中发挥重要作用。Li 等^[105]在番茄叶片中鉴定出 160 个衰老过程中差异表达的 lncRNAs,这些 lncRNAs 靶向调控的 mRNAs 大多富集在光合作用、转运蛋白等参与叶片衰老调控的通路。此外研究发现了 2 个正向调控叶片衰老的 lncRNA: *MSTRG.16920* 和 *MSTRG.7613*。通过病毒诱导使这 2 个 lncRNA 沉默,再经黑暗处理后,沉默番茄植株叶片较野生型植株叶片衰老延迟,衰老相关基因 *SlSAG12* 的表达也明显下调;他们还发现 *MSTRG.16920* 沉默植株中 NAC 转录因子 *Solyc02g069960*、*MSTRG.7613* 沉默的植株中过氧化物酶基因 *Solyc06g050440* 的表达水平都明显下降,表明了 lncRNAs 可能通过靶向调控转录因子和过氧化物酶基因的表达,调控植物叶片衰老。

lncRNAs 还参与了 RNA 间相互作用的调控机制,Leonardo 等^[106]提出了竞争性内源 RNAs(competing endogenous RNAs, ceRNAs)假说,mRNAs、lncRNAs 和 circRNAs 作为 ceRNAs 竞争性的与 miRNAs 结合,降低 miRNAs 的抑制作用,上调靶基因的表达水平,构成了一个基因表达调控互作网络,lncRNA-miRNA-mRNA 就是互作网络形式之一。lncRNA-miRNA-mRNA 网络参与了植物叶片衰老的调控,Huang 等^[104]分析了调控水稻旗叶衰老的 lncRNA-miRNA-mRNA 网络,筛选出的差异表达的 lncRNAs 中,6 个低表达的 lncRNAs 可能通过 15 个 miRNAs 调控 51 个共表达的 mRNAs,14 个高表达的 lncRNAs 可能通过 21 个 miRNAs 调控 117 个共表达的 mRNAs;发现鉴定出的 lncRNA *MSTRG.62092.1* 能与 *miR164a* 和 *miR164e* 结合,提高编码转录因子 NAC 家族和 MYB 家族的 mRNA 的表达水平,证明了 lncRNA-miRNA-mRNA 网络调控水稻旗叶衰老。Sun 等^[107]通过对水稻早衰突变体的研究验证了 lncRNA-miRNA-mR-

NA 对叶片早衰的调控作用。利用转录组分析水稻 ZJ 正常表型植株和 *zj-es* 早衰突变体表型植株叶片基因表达情况,最终在差异表达的 lncRNAs、miRNAs、mRNAs 中共获得共表达的 190 对 mRNA-lncRNA 和 3 391 对 mRNA-miRNA。通过对这些 mRNAs 进行功能分析,lncRNA-miRNA-mRNA 网络与叶片早衰相关的多个分子代谢途径相关,也证实了 lncRNAs 作为 ceRNAs 调控网络的一部分,参与水稻 *zj-es* 突变体的衰老调控。

4.3 环状 RNAs 与叶片衰老调控

环状 RNAs(circular RNAs, circRNAs)也是非编码 RNA 中的一类,是由前体 mRNA 经反向剪切得到呈封闭环状结构的 RNA 分子^[108]。circRNAs 最早在 20 世纪 70 年代就已经被发现,但当时只被认为是病毒的遗传物质^[109]。circRNAs 在动植物中广泛存在,具有较高的稳定性、进化保守性和组织特异性表达的特点,在高通量测序技术发展的支持下,越来越多的 circRNAs 及其功能被人们发现和研究, circRNAs 具有 miRNAs 海绵、与 RNA 结合蛋白互作、翻译成蛋白质、调控转录和衍生出假基因等功能^[110-112]。

circRNAs 也是一种 ceRNAs,通过 circRNA-miRNA-mRNA 网络调控植物叶片衰老^[113]。Liu^[114]研究了拟南芥生长和衰老过程中 circRNA 的功能。他们共鉴定出了 168 个 circRNAs,分别有 6 个和 35 个 circRNAs 在 G-M(生长—成熟)和 M-S(成熟—衰老)阶段差异表达。通过对 circRNA-miRNA-mRNA 网络中的 mRNAs 功能分析,这些 circRNAs 靶向的 mRNAs 与激素响应、胁迫相应等各种生物过程相关,说明 circRNA-miRNA-mRNA 网络通过参与不同的生物过程调控叶片衰老。基于拟南芥叶片转录组数据,Meng 等^[115]从中鉴定出了 11 490 个 circRNAs,在对转录本的 miRNA 结合位点进行鉴定时,总共获得 1 045 个 miRNA-circRNA 结合位点,以及 75 个 circRNAs 相关共表达网络;在对鉴定出的拟南芥所有 ceRNAs 进行表达模式分析后,发现了 1 个包括 25 个 circRNAs 的 ceRNAs 聚类,随叶片衰老表达水平不断提高,也证明了 circRNAs 以 ceRNAs 的形式参与了叶片衰老的调控过程。另外,Huang 等^[116]验证了 circRNAs 调控水稻旗叶的衰老。他们在水稻旗叶 5 个发育时期的转录组数据中筛选出 6 612 个 circRNAs,得到 113 个差异表达 circRNAs。在这 113 个差异表达 circRNAs 亲本基因进行基因功能注释后发现,其中部

分亲本基因集中在“蛋白质水解”“叶绿体组织”“淀粉生物合成”等与叶片衰老相关的 GO terms。通过 WGCNA 方法研究了差异表达 circRNAs 和差异表达 mRNA 的共表达网络,并进一步推断了 circRNAs 的潜在生物学功能。他们的研究发现 *circRNA:34、220472|34220、857mRNA* 的丰度与 TALE 转录因子 BGIOGA13510(*Os03g0732100*)的表达水平呈现出正相关关系,这表明该 circRNA 可能通过调节转录因子在叶片衰老中发挥重要作用。除此之外,差异表达的 circRNAs 的亲本基因还在蛋白质翻译后修饰、氧化还原过程以及活性氧信号通路等与叶片衰老相关的生物过程中起作用,这表明 circRNAs 在多个方面参与了水稻叶片衰老调控。

5 展 望

植物衰老是植物生长发育的一个重要过程。植物叶片有多方面的利用价值,因此对调控叶片衰老的机制的研究,不仅能更加深入地了解植物衰老的调控机制,对于经济和生态方面也有重要意义。植物叶片衰老过程涉及了多个方面的动态调节,表观遗传调控对植物生长发育过程中基因表达水平的改变有重要的调控作用。近年来,组蛋白修饰、DNA 甲基化、ATP 依赖的染色质重塑以及 ncRNAs 介导的表观遗传修饰对叶片衰老的调控作用受到了广泛关注。本研究综述了表观遗传在植物叶片衰老过程中的调控作用,包括组蛋白修饰、DNA 甲基化、ATP 依赖的染色质重塑和 ncRNAs 参与叶片衰老调控的研究进展及作用机制。

越来越多的研究发现了衰老过程中 DNA 甲基化和组蛋白修饰程度调控 SAGs 的表达水平。目前组蛋白甲基化和乙酰化对植物叶片衰老的调控作用研究较为深入,但组蛋白泛素化和磷酸化参与植物叶片衰老调控的直接证据还有待进一步发掘。组蛋白修饰与 DNA 甲基化的调控因子相互作用,它们对组蛋白修饰和 DNA 甲基化的调控是否直接作用于调控植物叶片衰老还有待验证。染色质重塑通过共价和非共价方式实现,ATP 依赖的染色质重塑复合物通过其他表观遗传方式间接调控植物叶片衰老的作用机制有待研究。此外,除了年龄依赖性衰老,黑暗等胁迫以及植物内源性激素也影响叶片的衰老,DNA 甲基化和组蛋白修饰对不同方式诱导的叶片衰老的调控机制是否相同也是未来研究值得关注的问题。叶片衰老时叶片内营养物质的分解对农作

物的经济价值有重要影响,因此经济作物叶片的早衰对农业有重要影响,目前组蛋白修饰和 DNA 甲基化调控叶片衰老的研究对象多是模式植物拟南芥,因此对植物中 DNA 甲基化和组蛋白修饰调控叶片衰老机制的保守性值得进一步探究。

另外,得益于组学技术的发展,人们发现了更多可能参与了植物叶片衰老的调控的 ncRNAs 种类,但只有 miRNAs 是目前研究得比较多也比较深入的一类与叶片衰老有关的 ncRNAs,如 miRNA164 对叶片衰老的调控机理研究已相当深入,其他 ncRNAs 具体如何调控叶片衰老则知之甚少。其他 ncRNAs,如 lncRNAs 和 circRNAs,与叶片衰老的

相关性大多是通过叶片衰老过程中 ncRNAs 的组学分析得到,有关它们具体的调控机理还需要进一步深入研究。ceRNAs 竞争性机制作为一种 RNA 间相互作用机制调节着基因表达,对 miRNA-lncRNA-circRNA-mRNA 这一更复杂网络在叶片衰老中的调控作用也是值得研究的一方面。因此,多组学数据的联合分析仍然是未来解析 ncRNAs 有关叶片衰老调控网络的重要研究手段。总之,对不同的表观遗传修饰方式之间相关性、表观遗传修饰和衰老转录因子之间整体的网络研究的深入,有助于更加全面地了解植物叶片衰老的调控机制。

参考文献:

[1] LIM P O, KIM H J, NAM H G. Leaf senescence[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2007, **58**: 115-136.

[2] GUO Y F, GAN S S. Leaf senescence: Signals, execution, and regulation[J]. *Current Topics in Developmental Biology*, 2005, **71**: 83-112.

[3] 王厚领, 张 易, 夏新莉, 等. 木本植物叶片衰老研究进展[J]. 中国科学: 生命科学, 2020, **50**(2): 196-206.

WANG H L, ZHANG Y, XIA X L, *et al.* Research advances in leaf senescence of woody plants[J]. *Scientia Sinica (Vita)*, 2020, **50**(2): 196-206.

[4] WOO H R, KIM H J, LIM P O, *et al.* Leaf senescence: Systems and dynamics aspects[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2019, **70**: 347-376.

[5] 杨同文, 李成伟. 植物叶片衰老的表观遗传调控[J]. 植物学报, 2014, **49**(6): 729-737.

YANG T W, LI C W. Epigenetic regulation of leaf senescence in plants[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2014, **49**(6): 729-737.

[6] 薛光宇, 魏茂胜, 陈新艳, 等. 年龄效应对香樟古树程序性衰老的影响[J]. 西北植物学报, 2021, **41**(3): 461-472.

XUE G Y, WEI M S, CHEN X Y, *et al.* Effect of age on programmed senescence of *Cinnamomum camphora* tree[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2021, **41**(3): 461-472.

[7] BREEZE E, HARRISON E, MCHATTIE S, *et al.* High-resolution temporal profiling of transcripts during *Arabidopsis* leaf senescence reveals a distinct chronology of processes and regulation[J]. *The Plant Cell*, 2011, **23**(3): 873-894.

[8] ZENTGRAF U, JOBST J, KOLB D, *et al.* Senescence-related gene expression profiles of rosette leaves of *Arabidopsis thaliana*: Leaf age versus plant age[J]. *Plant Biology*, 2004, **6**(2): 178-183.

[9] GEPSTEIN S, SABEHI G, CARP M J, *et al.* Large-scale identification of leaf senescence-associated genes[J]. *The Plant Journal*, 2003, **36**(5): 629-642.

[10] BUCHANAN-WOLLASTON V, EARL S, HARRISON E, *et al.* The molecular analysis of leaf senescence: A genomics approach[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2003, **1**(1): 3-22.

[11] GUO Y, CAI Z, GAN S. Transcriptome of *Arabidopsis* leaf senescence[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2004, **27**(5): 521-549.

[12] GU L, LI L, WEI H, *et al.* Identification of the group IIa WRKY subfamily and the functional analysis of *GhWRKY17* in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.)[J]. *PLoS One*, 2018, **13**(1): e0191681.

[13] SOUER E, VAN HOUWELINGEN A, KLOOS D, *et al.* The no apical meristem gene of *Petunia* is required for pattern formation in embryos and flowers and is expressed at meristem and primordia boundaries[J]. *Cell*, 1996, **85**(2): 159-170.

[14] GUO Y F, GAN S. AtNAP, a NAC family transcription factor, has an important role in leaf senescence[J]. *The Plant Journal*, 2006, **46**(4): 601-612.

[15] HINDERHOFER K, ZENTGRAF U. Identification of a transcription factor specifically expressed at the onset of leaf senescence[J]. *Planta*, 2001, **213**(3): 469-473.

[16] 黄冬梅, 任育军, 缪 颖. 植物衰老过程中的表观遗传学调控[J]. 植物生理学报, 2014, **50**(9): 1 293-1 304.

HUANG D M, REN Y J, MIAO Y. Epigenetic regulation in plant senescence[J]. *Plant Physiology Journal*, 2014, **50**(9): 1 293-1 304.

[17] YOLCU S, LI X J, LI S B, *et al.* Beyond the genetic code in leaf senescence[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2018,

- 69**(4): 801-810.
- [18] YEN C Y, HUANG H W, SHU C W, *et al.* DNA methylation, histone acetylation and methylation of epigenetic modifications as a therapeutic approach for cancers[J]. *Cancer Letters*, 2016, **373**(2): 185-192.
- [19] STRAHL B D, ALLIS C D. The language of covalent histone modifications[J]. *Nature*, 2000, **403**(6 765): 41-45.
- [20] BANNISTER A J, KOUZARIDES T. Regulation of chromatin by histone modifications[J]. *Cell Research*, 2011, **21**(3): 381-395.
- [21] WANG X L, GAO J, GAO S, *et al.* The H3K27me3 demethylase REF6 promotes leaf senescence through directly activating major senescence regulatory and functional genes in *Arabidopsis*[J]. *PLoS Genetics*, 2019, **15**(4): e1008068.
- [22] AY N, IRMLER K, FISCHER A, *et al.* Epigenetic programming via histone methylation at WRKY53 controls leaf senescence in *Arabidopsis thaliana*[J]. *The Plant Journal*, 2009, **58**(2): 333-346.
- [23] BRUSSLAN J A, RUS ALVAREZ-CANTERBURY A M, NAIR N U, *et al.* Genome-wide evaluation of histone methylation changes associated with leaf senescence in *Arabidopsis* [J]. *PLoS One*, 2012, **7**(3): e33151.
- [24] YAN H Y, LIU Y, ZHANG K, *et al.* Chromatin state-based analysis of epigenetic H3K4me3 marks of *Arabidopsis* in response to dark stress[J]. *Frontiers in Genetics*, 2019, **10**: 306.
- [25] NAUMANN K, FISCHER A, HOFMANN I, *et al.* Pivotal role of AtSUVH2 in heterochromatic histone methylation and gene silencing in *Arabidopsis* [J]. *The EMBO Journal*, 2005, **24**(7): 1 418-1 429.
- [26] AY N, RAUM U, BALAZADEH S, *et al.* Regulatory factors of leaf senescence are affected in *Arabidopsis* plants overexpressing the histone methyltransferase SUVH2 [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2014, **33** (1): 119-136.
- [27] LIU P, ZHANG S B, ZHOU B, *et al.* The histone H3K4 demethylase JM16 represses leaf senescence in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2019, **31**(2): 430-443.
- [28] DING X C, ZHANG D D, GU D C, *et al.* The histone H3K27 demethylase SIJM4 promotes dark- and ABA-induced leaf senescence in tomato[J]. *Horticulture Research*, 2022. doi:10.1093/hr/uhab077.
- [29] TURNER B M. Histone acetylation and control of gene expression[J]. *Journal of Cell Science*, 1991, **99** (Pt 1): 13-20.
- [30] BRUSSLAN J A, BONORA G, RUS-CANTERBURY A M, *et al.* A genome-wide chronological study of gene expression and two histone modifications, H3K4me3 and H3K9ac, during developmental leaf senescence[J]. *Plant Physiology*, 2015, **168**(4): 1 246-1 261.
- [31] PANDEY R, MÜLLER A, NAPOLI C A, *et al.* Analysis of histone acetyltransferase and histone deacetylase families of *Arabidopsis thaliana* suggests functional diversification of chromatin modification among multicellular eukaryotes[J]. *Nucleic Acids Research*, 2002, **30**(23): 5 036-5 055.
- [32] TIAN L, CHEN Z. Blocking histone deacetylation in *Arabidopsis* induces pleiotropic effects on plant gene regulation and development[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001, **98**(1): 200-205.
- [33] TIAN L, WANG J L, FONG M P, *et al.* Genetic control of developmental changes induced by disruption of *Arabidopsis* histone deacetylase 1 (AtHD1) expression [J]. *Genetics*, 2003, **165**(1): 399-409.
- [34] WU K Q, ZHANG L, ZHOU C H, *et al.* HDA6 is required for jasmonate response, senescence and flowering in *Arabidopsis*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, **59**(2): 225-234.
- [35] CHEN X S, LU L, MAYER K S, *et al.* POWERDRESS interacts with HISTONE DEACETYLASE 9 to promote aging in *Arabidopsis*[J]. *eLife*, 2016, **5**: e17214.
- [36] HUANG D M, LAN W, MA W B, *et al.* WHIRLY1 recruits the histone deacetylase HDA15 repressing leaf senescence and flowering in *Arabidopsis*[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2022, **64**(7): 1 411-1 429.
- [37] LI C, XU J, LI J, *et al.* Involvement of *Arabidopsis* histone acetyltransferase HAC family genes in the ethylene signaling pathway[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2014, **55**(2): 426-435.
- [38] HINCKLEY W E, KEYMANESH K, CORDOVA J A, *et al.* The HAC1 histone acetyltransferase promotes leaf senescence and regulates the expression of *ERF022*[J]. *Plant Direct*, 2019, **3**(8): e00159.
- [39] ZHANG Y, LI Y Y, ZHANG Y Y, *et al.* Genome-wide H3K9 acetylation level increases with age-dependent senescence of flag leaf in rice[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2022, **73**(14): 4 696-4 715.
- [40] ROSSETTO D, AVVAKUMOV N, COTE J. Histone phosphorylation: A chromatin modification involved in diverse nuclear events[J]. *Epigenetics*, 2012, **7**(10): 1 098-1 108.
- [41] MAHAJAN K, FANG B, KOOMEN J M, *et al.* H2B Tyr37 phosphorylation suppresses expression of replication-dependent core histone genes[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2012, **19**(9): 930-937.
- [42] MIAO Y, SMYKOWSKI A, ZENTGRAF U. A novel upstream regulator of WRKY53 transcription during leaf senescence in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Biology*, 2008, **10**: 110-120.
- [43] ZHAO Y, CHAN Z L, GAO J H, *et al.* ABA receptor

PYL9 promotes drought resistance and leaf senescence[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, **113**(7): 1 949-1 954.

[44] WOOD A, KROGAN N J, DOVER J, *et al.* Bre1, an E3 ubiquitin ligase required for recruitment and substrate selection of Rad6 at a promoter[J]. *Molecular Cell*, 2003, **11**(1): 267-274.

[45] SIMON J A, KINGSTON R E. Occupying chromatin: Polycomb mechanisms for getting to genomic targets, stopping transcriptional traffic, and staying put[J]. *Molecular Cell*, 2013, **49**(5): 808-824.

[46] DERKACHEVA M, HENNIG L. Variations on a theme: Polycomb group proteins in plants[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, **65**(10): 2 769-2 784.

[47] CHEN W, ZHENG Y, WANG J, *et al.* Ethylene-responsive SbWRKY50 suppresses leaf senescence by inhibition of chlorophyll degradation in sorghum[J]. *The New Phytologist*, 1-17[2023-1-22]. <https://doi.org/10.1111/nph.18757>.

[48] FLEURY D, HIMANEN K, CNOPS G, *et al.* The *Arabidopsis thaliana* homolog of yeast *BRE1* has a function in cell cycle regulation during early leaf and root growth[J]. *The Plant Cell*, 2007, **19**(2): 417-432.

[49] RAAB S, DRECHSEL G, ZAREPOUR M, *et al.* Identification of a novel E3 ubiquitin ligase that is required for suppression of premature senescence in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Journal*, 2009, **59**(1): 39-51.

[50] WOLOSZYNSKA M, LE GALL S, NEYT P, *et al.* Histone 2B monoubiquitination complex integrates transcript elongation with RNA processing at circadian clock and flowering regulators[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, **116**(16): 8 060-8 069.

[51] WEI Y Q, YUAN J J, XIAO C C, *et al.* RING-box proteins regulate leaf senescence and stomatal closure via repression of ABA transporter gene ABCG40[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2022, **64**(5): 979-994.

[52] VANYUSHIN B F, ASHAPKIN V V. DNA methylation in higher plants: Past, present and future[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -Gene Regulatory Mechanisms*, 2011, **1809**(8): 360-368.

[53] INAMDAR N M, EHRLICH K C, EHRLICH M. CpG methylation inhibits binding of several sequence-specific DNA-binding proteins from pea, wheat, soybean and cauliflower [J]. *Plant Molecular Biology*, 1991, **17**(1): 111-123.

[54] OGNEVA Z V, DUBROVINA A S, KISELEV K V. Age-associated alterations in DNA methylation and expression of methyltransferase and demethylase genes in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Biologia Plantarum*, 2016, **60**(4): 628-634.

[55] DOU L L, JIA X Y, WEI H L, *et al.* Global analysis of DNA methylation in young (J1) and senescent (J2) *Gossypium hirsutum* L. cotyledons by MeDIP-Seq[J]. *PLoS One*, 2017, **12**(7): e0179141.

[56] ZEMANOVA V, POPOV M, PAVLIKOVA D, *et al.* Effect of arsenic stress on 5-methylcytosine, photosynthetic parameters and nutrient content in arsenic hyperaccumulator *Pteris cretica* (L.) var. *Albo-lineata*[J]. *BMC Plant Biology*, 2020, **20**(1): 130.

[57] HE L, WU W W, ZINTA G, *et al.* A naturally occurring epiallele associates with leaf senescence and local climate adaptation in *Arabidopsis* accessions[J]. *Nature Communications*, 2018, **9**: 460.

[58] YUAN L, WANG D, CAO L W, *et al.* Regulation of leaf longevity by DML3-mediated DNA demethylation[J]. *Molecular Plant*, 2020, **13**(8): 1 149-1 161.

[59] LI Y T, ZHU J Z, XU X Y, *et al.* DNA methylation inhibitor 5-azacytidine promotes leaf senescence in pak choi (*Brassica rapa* subsp. *chinensis*) by regulating senescence-related genes[J]. *Agronomy*, 2022, **12**(10): 2 568.

[60] TARIQ M, SAZE H, PROBST A V, *et al.* Erasure of CpG methylation in *Arabidopsis* alters patterns of histone H3 methylation in heterochromatin[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, **100**(15): 8 823-8 827.

[61] SOPPE W J J, JASENCAKOVA Z, HOUBEN A, *et al.* DNA methylation controls histone H3 lysine 9 methylation and heterochromatin assembly in *Arabidopsis*[J]. *The EMBO Journal*, 2002, **21**(23): 6 549-6 559.

[62] AUFSATZ W, METTE M F, VAN DER WINDEN J, *et al.* HDA6, a putative histone deacetylase needed to enhance DNA methylation induced by double-stranded RNA[J]. *The EMBO Journal*, 2002, **21**(24): 6 832-6 841.

[63] 丁 健, 王 飞, 金景姬, 等. 表观遗传之染色质重塑[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2015, **42**(11): 994-1 002.

DING J, WANG F, JIN J J, *et al.* Chromatin remodeling in epigenetics[J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2015, **42**(11): 994-1 002.

[64] 冀顺霞, 王晓迪, 申晓娜, 等. 染色质重塑调控生物温度适应性的研究进展[J]. *生物安全学报*, 2021, **30**(2): 79-88.

Ji S X, WANG X D, SHEN X N, *et al.* Research advance of chromatin remodeling in regulating biological temperature adaptability[J]. *Journal of Biosafety*, 2021, **30**(2): 79-88.

[65] SMITH C L, HOROWITZ-SCHERER R, FLANAGAN J F, *et al.* Structural analysis of the yeast SWI/SNF chromatin remodeling complex[J]. *Nature Structural Biology*, 2003, **10**(2): 141-145.

[66] KWON C S, WAGNER D. Unwinding chromatin for development and growth: A few genes at a time[J]. *Trends in*

- Genetics*, 2007, **23**(8): 403-412.
- [67] KNIZEWSKI L, GINALSKI K, JERZMANOWSKI A. Snf2 proteins in plants: Gene silencing and beyond[J]. *Trends in Plant Science*, 2008, **13**(10): 557-565.
- [68] GENTRY M, HENNIG L. Remodelling chromatin to shape development of plants [J]. *Experimental Cell Research*, 2014, **321**(1): 40-46.
- [69] EFRONI I, HAN S K, KIM H J, *et al.* Regulation of leaf maturation by chromatin-mediated modulation of cytokinin responses[J]. *Developmental Cell*, 2013, **24**(4): 438-445.
- [70] LI C L, GU L F, GAO L, *et al.* Concerted genomic targeting of H3K27 demethylase REF₆ and chromatin-remodeling ATPase BRM in *Arabidopsis* [J]. *Nature Genetics*, 2016, **48**(6): 687-693.
- [71] CHO E J, CHOIS H, KIM J H, *et al.* A mutation in plant-specific SWI2/SNF2-like chromatin-remodeling proteins, DRD1 and DDM1, delays leaf senescence in *Arabidopsis thaliana* [J]. *PLoS One*, 2016, **11**(1): e0146826.
- [72] LIM P O, KIM Y, BREEZE E, *et al.* Overexpression of a chromatin architecture-controlling AT-hook protein extends leaf longevity and increases the post-harvest storage life of plants[J]. *The Plant Journal*, 2007, **52**(6): 1 140-1 153.
- [73] MATHUR M, NAIR A, KADOO N. Plant-pathogen interactions: MicroRNA-mediated trans-Kingdom gene regulation in fungi and their host plants[J]. *Genomics*, 2020, **112**(5): 3 021-3 035.
- [74] WIGHTMAN B, HA I, RUVKUN G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans* [J]. *Cell*, 1993, **75**(5): 855-862.
- [75] LEE R C, FEINBAUM R L, AMBROS V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14* [J]. *Cell*, 1993, **75**(5): 843-854.
- [76] REINHART B J, WEINSTEIN E G, RHOADES M W, *et al.* MicroRNAs in plants [J]. *Genes & Development*, 2002, **16**(13): 1 616-1 626.
- [77] THATCHER S R, BURD S, WRIGHT C, *et al.* Differential expression of miRNAs and their target genes in senescing leaves and siliques: Insights from deep sequencing of small RNAs and cleaved target RNAs [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2015, **38**(1): 188-200.
- [78] QIN J, MA X, YI Z, *et al.* A transcriptome-wide study on the microRNA- and the Argonaute 1-enriched small RNA-mediated regulatory networks involved in plant leaf senescence [J]. *Plant Biology*, 2016, **18**(2): 197-205.
- [79] XU X B, BAI H Q, LIU C P, *et al.* Genome-wide analysis of microRNAs and their target genes related to leaf senescence of rice [J]. *PLoS One*, 2014, **9**(12): e114313.
- [80] WU X Y, DING D, SHI C N, *et al.* MicroRNA-dependent gene regulatory networks in maize leaf senescence [J]. *BMC Plant Biology*, 2016, **16**(1): 1-15.
- [81] KIM J H, WOO H R, KIM J, *et al.* Trifurcate feed-forward regulation of age-dependent cell death involving *miR164* in *Arabidopsis* [J]. *Science*, 2009, **323**(5 917): 1 053-1 057.
- [82] LI Z H, PENG J Y, WEN X, *et al.* *ETHYLENE-INSENSITIVE3* is a senescence-associated gene that accelerates age-dependent leaf senescence by directly repressing *miR164* transcription in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2013, **25**(9): 3 311-3 328.
- [83] WEN C H, HONG S F, HU S F, *et al.* *Lfo-miR164b* and *LfNAC1* as autumn leaf senescence regulators in Formosan sweet gum (*Liquidambar formosana* Hance) [J]. *Plant Science*, 2020, **291**: 110 325.
- [84] LUO D, CARPENTER R, COPSEY L, *et al.* Control of organ asymmetry in flowers of *Antirrhinum* [J]. *Cell*, 1999, **99**(4): 367-376.
- [85] PALATNIK J F, ALLEN E, WU X L, *et al.* Control of leaf morphogenesis by microRNAs [J]. *Nature*, 2003, **425** (6 955): 257-263.
- [86] SCHOMMER C, PALATNIK J F, AGGARWAL P, *et al.* Control of jasmonate biosynthesis and senescence by miR319 targets [J]. *PLoS Biology*, 2008, **6**(9): e230.
- [87] KOYAMA T, SATO F, OHME-TAKAGI M. Roles of miR319 and TCP transcription factors in leaf development [J]. *Plant Physiology*, 2017, **175**(2): 874-885.
- [88] ZHU L, LI S S, MA Q Y, *et al.* The *Acer palmatum* TCP transcription factor ApTCP2 controls leaf morphogenesis, accelerates senescence, and affects flowering via miR319 in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2022, **41**(1): 244-256.
- [89] RAJAGOPALAN R, VAUCHERET H, TREJO J, *et al.* A diverse and evolutionarily fluid set of microRNAs in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Genes & Development*, 2006, **20**(24): 3 407-3 425.
- [90] CAPPADOCIA L, PARENT J S, SYGUSCH J, *et al.* A family portrait: Structural comparison of the Whirly proteins from *Arabidopsis thaliana* and *Solanum tuberosum* [J]. *Acta Crystallographica Section F-Structural Biology Communications*, 2013, **69**(Pt 11): 1 207-1 211.
- [91] REN Y J, LI M S, WANG W Z, *et al.* MicroRNA840 (MIR840) accelerates leaf senescence by targeting the overlapping 3' UTRs of PPR and WHIRLY3 in *Arabidopsis thaliana* [J]. *The Plant Journal*, 2022, **109**(1): 126-143.
- [92] DEBERNARDI J, MECCHIA M, VERCRUYSEN L, *et al.* Post-transcriptional control of GRF transcription factors by microRNA miR396 and GIF co-activator affects leaf size and longevity [J]. *The Plant Journal*, 2014, **79** (3): 413-426.

- [93] ZHANG C Q, NG D W K, LU J, *et al.* Roles of target site location and sequence complementarity in trans-acting siRNA formation in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Journal*, 2012, **69** (2): 217-226.
- [94] FAHLGREN N, MONTGOMERY T A, HOWELL M D, *et al.* Regulation of auxin response factor3 by tas3 ta-siRNA affects developmental timing and patterning in *Arabidopsis*[J]. *Current Biology*, 2006, **16**(9): 939-944.
- [95] QUINTERO A, PEREZ-QUINTERO A L, LOPEZ C. Identification of ta-siRNAs and Cis-nat-siRNAs in cassava and their roles in response to cassava bacterial blight[J]. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 2013, **11**(3): 172-181.
- [96] PULIDO A, LAUFS P. Co-ordination of developmental processes by small RNAs during leaf development[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2010, **61**(5): 1 277-1 291.
- [97] JHA U C, NAYYAR H, JHA R, *et al.* Long non-coding RNAs: Emerging players regulating plant abiotic stress response and adaptation[J]. *BMC Plant Biology*, 2020, **20** (1): 1-20.
- [98] ZHANG P J, WU W Y, CHEN Q, *et al.* Non-coding RNAs and their integrated networks[J]. *Journal of Integrative Bioinformatics*, 2019, **16**(3): 20 190 027.
- [99] DHANOA J K, SETHI R S, VERMA R, *et al.* Long non-coding RNA: Its evolutionary relics and biological implications in mammals; A review[J]. *Journal of Animal Science and Technology*, 2018, **60**: 25.
- [100] LOEWER S, CABILI M N, GUTTMAN M, *et al.* Large intergenic non-coding RNA-RoR modulates reprogramming of human induced pluripotent stem cells[J]. *Nature Genetics*, 2010, **42**(12): 1 113-1 117.
- [101] RINN J L, KERTESZ M, WANG J K, *et al.* Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human *HOX* loci by noncoding RNAs[J]. *Cell*, 2007, **129** (7): 1 311-1 323.
- [102] QUINN J J, CHANG H Y. Unique features of long non-coding RNA biogenesis and function[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2016, **17**(1): 47-62.
- [103] ZHU B Z, YANG Y F, LI R, *et al.* RNA sequencing and functional analysis implicate the regulatory role of long non-coding RNAs in tomato fruit ripening[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, **66**(15): 4 483-4 495.
- [104] HUANG X P, ZHANG H Y, WANG Q, *et al.* Genome-wide identification and characterization of long non-coding RNAs involved in flag leaf senescence of rice[J]. *Plant Molecular Biology*, 2021, **105**(6): 655-684.
- [105] LI M Z, SI X Y, LIU Y, *et al.* Transcriptomic analysis of ncRNA and mRNA interactions during leaf senescence in tomato[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, **222**: 2 556-2 570.
- [106] LEONARDO S, LAURA P, YVONNE T, *et al.* A ceRNA hypothesis: The rosetta stone of a hidden RNA language? [J]. *Cell*, 2011, **146**(3): 353-358.
- [107] SUN J, LIANG W F, YE S H, *et al.* Whole-transcriptome analysis reveals autophagy is involved in early senescence of *zj-es* mutant rice[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, **13**: 899 054.
- [108] SALZMAN J, GAWAD C, WANG P L, *et al.* Circular RNAs are the predominant transcript isoform from hundreds of human genes in diverse cell types[J]. *PLoS One*, 2012, **7**(2): e30733.
- [109] SANGER H L, KLOTZ G, RIESNER D, *et al.* Viroids are single-stranded covalently closed circular RNA molecules existing as highly base-paired rod-like structures[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1976, **73**(11): 3 852-3 856.
- [110] HANSEN T B, JENSEN T I, CLAUSEN B H, *et al.* Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges [J]. *Nature*, 2013, **495**(7 441): 384-388.
- [111] MEMCZAK S, JENS M, ELEFSINIOTI A, *et al.* Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency[J]. *Nature*, 2013, **495**(7 441): 333-338.
- [112] LI S S, LIU Y Z, QIU G Z, *et al.* Emerging roles of circular RNAs in non-small cell lung cancer (Review)[J]. *Oncology Reports*, 2021, **45**(4): 17.
- [113] ZHAO W, CHENG Y H, ZHANG C, *et al.* Genome-wide identification and characterization of circular RNAs by high throughput sequencing in soybean[J]. *Scientific Reports*, 2017, **7**(1): 5 636.
- [114] LIU T F, ZHANG L, CHEN G, *et al.* Identifying and characterizing the circular RNAs during the lifespan of *Arabidopsis* leaves[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, **8**: 1 278.
- [115] MENG X W, ZHANG P J, CHEN Q, *et al.* Identification and characterization of ncRNA-associated ceRNA networks in *Arabidopsis* leaf development [J]. *BMC Genomics*, 2018, **19**(1): 1-10.
- [116] HUANG X P, ZHANG H Y, GUO R, *et al.* Systematic identification and characterization of circular RNAs involved in flag leaf senescence of rice [J]. *Planta*, 2021, **253** (2): 26.

(编辑:韦青侠)