

## 研究报告 Original Papers

## SAUR72在拟南芥叶片衰老调控中的作用机制

周洁, 温泽文, 梅圆圆\*, 王宁宁\*

南开大学生命科学学院, 天津300071

**摘要:** 植物激素在叶片衰老过程中起着重要的调控作用。本课题组在前期利用拟南芥cDNA文库筛选叶片衰老负调节因子SSPP互作组分的过程中, 发现一个生长素响应基因家族成员SAUR72可能与SSPP发生互作。本文首先利用酵母双杂交技术对SAUR72和SSPP之间的蛋白互作进行了验证, 并进一步发现SAUR72基因的表达受到衰老诱导和SSPP过表达抑制; 过表达SAUR72基因不但造成拟南芥成苗叶片早衰, 还能促进幼苗下胚轴和主根伸长、根系等部位pH值下降, 暗示着这一生长素响应基因是拟南芥叶片衰老的正调节因子, 并可能通过抑制特殊磷酸酶活性、间接促进H<sup>+</sup>-ATPase的活性上升而发挥作用。上述研究结果的取得, 为明确生长素在叶片衰老调控中的功能奠定了基础。

**关键词:** SAUR72; 生长素; SSPP; 叶片衰老; 拟南芥

叶片是植物进行光合作用的主要器官, 衰老作为叶片发育的最终阶段, 是程序化的细胞及器官死亡的过程。叶片衰老不仅对植物调节营养分配和增强环境适应性有重大意义, 也与作物产量和品质息息相关。作为最早被发现的一类植物激素, 生长素参与调节植物细胞伸长和分裂, 主根和侧根的发育以及花的形成等(Woodward和Bartel 2005; Santner和Estelle 2009; Vanneste和Friml 2009)。目前生长素在衰老中的具体作用仍不明确, 前人有研究结果暗示生长素是叶片衰老的负调控因子(Ellis等2005); 但也有研究显示生长素可能是植物叶片衰老的正调控因子, 游离生长素含量随叶片衰老而上升(Quirino等1999)。本实验室前期研究也发现类受体蛋白激酶基因SARK (*SENESCENCE-ASSOCIATED RECEPTOR-LIKE KINASE*)所诱导的拟南芥叶片早衰, 依赖于生长素合成和响应相关基因表达的增加(Xu等2011); Gan课题组报告生长素早期响应基因SAUR36过表达也可以促进叶片早衰(Hou等2013)。

生长素早期响应基因包括3大基因家族: *Aux/IAA*、*GH3*和SAUR (*SMALL AUXIN UP RNA*) (Hagen和Guilfoyle 2002)。其中SAURs在多种植物中都被克隆鉴定, 如大豆(McClure和Guilfoyle 1987)、番茄(Zurek等1994)、苹果(Watillon等1998)、玉米(Yang和Poovaiah 2000)等。多数SAUR基因在启动子区域都含有一个或多个生长素反应元件(Newman等1993)。SAURs编码的蛋白质相对分子质量较小,

在 $9 \times 10^3 \sim 3 \times 10^4$ 之间, 绝大多数都有一个特异性SAUR保守区域(SAUR-specific domain, SSD) (Park等2007), 一些SAUR蛋白如SAUR19具有不稳定、容易降解的特点(Spartz等2012)。已有研究发现特殊SAUR基因如OsSAUR39、AtSAUR36和AtSAUR10的过表达能够促进水稻或者拟南芥早衰, 但是其中的分子调控机制仍然未知(Kant等2009; Hou等2013; Bemer等2017)。此外, 前人研究显示SAURs参与了生长素调控的细胞增大过程(Spartz等2012)。根据酸生长学说, 生长素的作用机理是通过磷酸化原生质膜上的H<sup>+</sup>-ATPase, 将H<sup>+</sup>泵到细胞壁中, 软化细胞壁, 以此促进细胞增大。研究证明SAURs可以通过抑制PP2C-D的磷酸酶活性, 从而间接导致PP2C-D底物质膜上H<sup>+</sup>-ATPase的磷酸化水平上升, H<sup>+</sup>-ATPase活性升高, 胞外pH下降, 促进细胞增大(Zhao等1995)。

本实验室前期分离鉴定出一个PP2C型蛋白磷酸酶SSPP (SENESCENCE-SUPPRESSED PROTEIN PHOSPHATASE), 发现SSPP可以与类受体蛋白激酶AtSARK直接互作, 通过对磷酸化状态的AtSARK进行脱磷酸化而负向调控拟南芥叶片衰老(Xiao等2015)。以SSPP为诱饵蛋白从拟南芥cDNA文库中筛选SSPP互作组分的过程中(肖冬

收稿 2018-03-01 修定 2018-03-16

资助 国家自然科学基金(31770319和31570293)。

\* 共同通讯作者: 梅圆圆(yuanyuan.mei@nankai.edu.cn)、王宁宁(wangnn@nankai.edu.cn)。

2014), 我们筛选到一个候选基因SAUR72。在本文中, 我们利用酵母双杂技术对SAUR72与SSPP之间的互作进行了验证, 检测了SAUR72在叶片自然衰老以及SSPP诱导的晚衰过程中的表达水平变化, 并进一步研究了过表达SAUR72对转基因拟南芥幼苗的生长发育和成苗的衰老进程的影响, 对SAUR72的基因功能及与SSPP的可能关系进行了初步分析。上述研究为深入探讨生长素在叶片衰老调控中的作用机制奠定了基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 酵母双杂交

以从野生型拟南芥莲座叶提取的总RNA反转录后的cDNA为模板, 以带有EcoRI酶切位点的SAUR72-AD-F (5'-GAATTCATGAAGCAACTAATCCGTCGTC-3')和带有XhoI酶切位点的SAUR72-AD-R (5'-CTCGAGTCAAATAGTCCCGTCACCGATTAG-3')为引物, 用DNA聚合酶(TaKaRa)扩增SAUR72的编码序列(coding sequence, CDS)。将PCR产物回收, 连接到pMD18-T克隆载体, 测序鉴定正确后再将目的片段连接到表达载体pGADT7。然后, 将鉴定结果正确的克隆用PEG/LiAc方法共转化酵母菌株AH109并涂布于SD/-Leu-Trp二缺培养基筛选共转化子。3 d后, 将共转化子摇菌后稀释, 将OD<sub>600</sub>分别为1、0.1、0.01的酵母菌液点于四缺培养基(SD/-Leu-Trp-Ade-His)进行互作筛选, 3 d后用扫描仪(Epson 1260)记录结果。

### 1.2 拟南芥种植和培养

本实验中所用实验材料均为模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L., 生态型Columbia-0)。将拟南芥成熟种子在适量消毒液(体积分数为1%的NaClO)中浸泡2~3 min, 吸掉消毒液, 用无菌水清洗种子3~5次, 播种于MS固体培养基上并放于4°C冰箱中春化。2 d后, 转入光照培养箱中培养, 培养条件为: 光照强度50  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , 长日照条件16 h光照/8 h黑暗, 相对湿度60%~70%, 温度18~22°C。待幼苗长到7 d苗龄时转移到塑料杯中在相同培养条件下进行土培, 转土后前2周用保鲜膜覆盖。

### 1.3 SAUR72基因表达分析

收集不同苗龄拟南芥的第5、6片莲座叶片, 即嫩叶(young leaf)、成熟叶片(mature leaf)、衰老早期(early senescence)叶片、衰老晚期(late senes-

cence)叶片, 用Trizol法提取RNA (Xiao等2015)并进行反转录以获得cDNA作为RT-PCR (Liu等2010)反应的模板。SAUR72基因检测引物为SAUR72-sRT-F (5'-ATGAAGCAACTAATCCGTCGTC-3')和SAUR72-sRT-R (5'-TCAAATAGTCCCGTCACCGATTAG-3'); 内参为TIP41-like, 引物为TIP41-like-sRT-F (5'-GAAATTCAGGAGCAAGCCGTCTCAG-3')和TIP41-like-sRT-R (5'-ATCAACTCTCAGCCAAAA-TCGCAAG-3')。SSPP过表达植株中内源SAUR72的转录水平鉴定所使用的RT-PCR反应模板来自26 d苗龄35S:SSPP转基因拟南芥和野生型拟南芥的第5、6片真叶, 检测引物为SAUR72-sRT-F和SAUR72-sRT-R, 内参为TIP41-like, 序列同上。

### 1.4 SAUR72过表达拟南芥的获得

以野生型拟南芥cDNA为模板, 克隆SAUR72 CDS序列, 并将克隆鉴定正确的片段插入到表达载体pCAMBIA3301-eYFP。将构建好的35S:SAUR72-YFP质粒转入农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)菌株GV3101, 然后通过花苞感染法获得SAUR72过表达拟南芥(SAUR72ox)。将转基因植株与野生型拟南芥分别提取RNA, 反转录获得cDNA作为模板进行RT-PCR。外源SAUR72基因表达量检测引物为SAUR72-sRT-F和NOS-1 (5'-ATAATCATCGCAAGACCGCAACAG-3'), 内参为TIP41-like, 引物序列同1.3。

### 1.5 下胚轴、主根测量和溴甲酚紫处理

将在1/2MS培养基上竖直培养4 d的SAUR72ox和野生型拟南芥幼苗, 使用扫描仪(Epson 1260)记录下胚轴和主根的长度, 并用ImageJ进行数据分析。配制溴甲酚紫pH指示培养基, 其中含溴甲酚紫浓度为0.003%, Tris浓度为30  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 琼脂浓度0.8%, pH调至6.0。将1/2MS培养基上竖直培养7 d的幼苗移至溴甲酚紫培养基上, 使用扫描仪(Epson 1260)记录每小时的变化情况, 共培养8 h (Spartz等2014)。

## 2 实验结果

### 2.1 SAUR72与SSPP之间的互作验证

为了进一步验证文库筛选得到的候选蛋白SAUR72是否与SSPP存在互作关系, 我们从野生型拟南芥中克隆了SAUR72的CDS, 构建了pGADT7-SAUR72载体, 将pGADT7-SAUR72与pGBKT7-SSPP共转化

AH109酵母菌株。分别在二缺培养基(SD/-Leu-Trp)和四缺培养基(SD/-Leu-Trp-Ade-His)上进行互作验证。结果显示(图1): 与阳性对照相同, pGADT7-SAUR72与pGBKT7-SSPP共转化酵母能够在四缺选择培养基上正常生长, 而阴性对照组无法生长, 说明SAUR72可以与SSPP发生互作。

## 2.2 叶片衰老诱导SAUR72表达

我们利用半定量RT-PCR技术检测了SAUR72基因在叶片自然衰老过程中的表达水平变化。根据叶片衰老进程将拟南芥莲座叶分为四个阶段, 分别为叶片面积只有成熟叶片一半的嫩叶、完全展开没有衰老的成熟叶片、衰老早期叶片、衰老晚期叶片。结果显示在嫩叶中, SAUR72表达水平很低, 而随着叶龄增加以及叶片衰老的进行, SAUR72表达上调, 在衰老后期叶片中表达量达到高峰(图2-A), 说明SAUR72的表达受叶龄依赖性的衰老诱导。此外, 我们前期发现过表达SSPP可以延缓转基因植株(SSPPox)叶片的衰老(Xiao等2015), 半定量RT-PCR检测显示, 在SSPPox转基因叶片中, SAUR72基因的表达被大幅抑制(图2-B), 进一步说明SAUR72的表达受叶片衰老信号的正调控。

## 2.3 SAUR72过表达导致叶片早衰

构建35S CaMV启动子驱动的SAUR72过表达载体并用农杆菌介导的花苞浸泡法获得相应转基因拟南芥植株(命名为SAUR72ox)。利用半定量RT-PCR对获得的4个独立株系进行表达水平鉴定

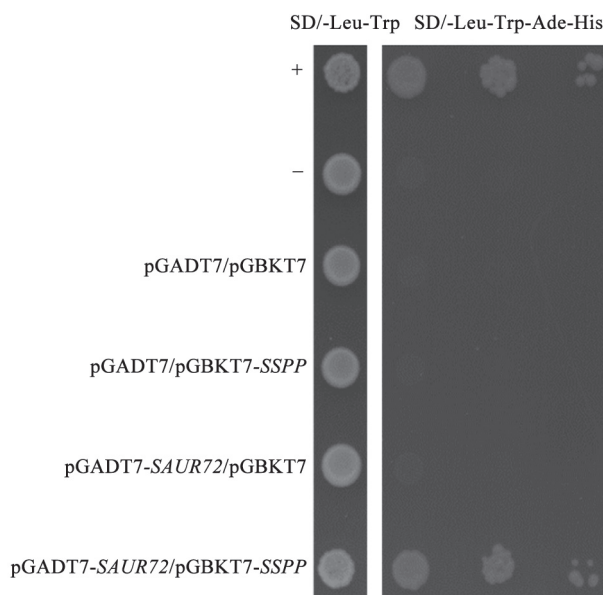


图1 SAUR72与SSPP蛋白互作的Y2H验证

Fig.1 The interaction between SAUR72 and SSPP was verified by yeast two-hybrid assay

+: 系统阳性对照; pGADT7-RecT/pGBKT7-p53; -: 系统阴性对照, pGADT7-RecT/pGBKT7-Lam; 空载体对照组为: pGADT7/pGBKT7; 实验组为pGADT7-SAUR72/pGBKT7-SSPP; 实验组阴性对照分别为pGADT7/pGBKT7-SSPP和pGADT7-SAUR72/pGBKT7。

(图3-A), 发现各个独立株系中都有SAUR72基因高表达, 其中SAUR72ox-2株系中的表达水平最高。基本表型观察显示4个SAUR72ox独立株系都有早衰表型, 本文选SAUR72ox-2作为典型株系进行了

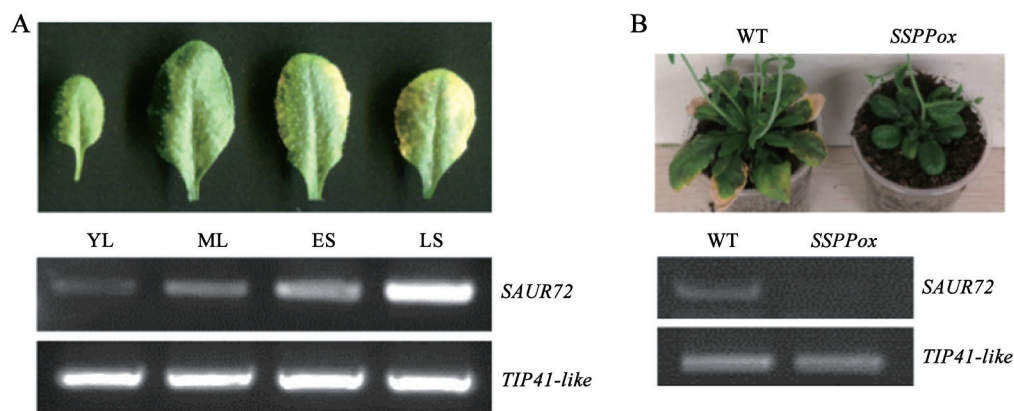


图2 拟南芥叶片自然衰老和SSPP介导的晚衰过程中SAUR72的表达水平

Fig.2 The expression levels of SAUR72 during natural leaf senescence and SSPP-mediated delayed leaf senescence in *Arabidopsis*

A: 半定量RT-PCR表明SAUR72表达水平随拟南芥叶片自然衰老过程表达上调。其中, TIP41-like 为内参基因。YL: 嫩叶; ML: 成熟叶片; ES: 衰老早期叶片; LS: 衰老晚期叶片。B: 半定量RT-PCR表明SSPP过表达介导的晚衰拟南芥(SSPPox)中SAUR72表达下调。

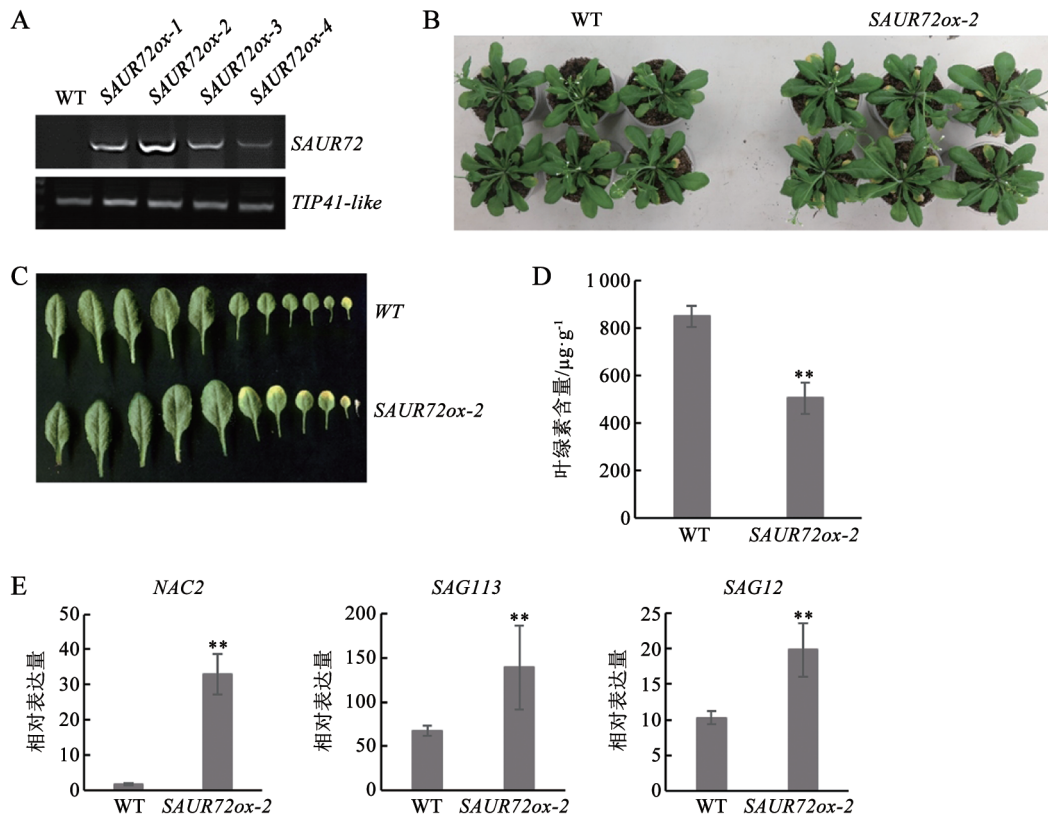


图3 *SAUR72*过表达转基因拟南芥的衰老相关表型与分子分析

Fig.3 The senescence-associated phenotypic and molecular analysis of *SAUR72* transgenic *Arabidopsis*

A: *SAUR72ox*的4个转基因株系中*SAUR72*表达水平的半定量RT-PCR检测, 其中*TIP41-like*为内参基因; B: 典型株系*SAUR72ox-2*的表型观察(31 d); C: 野生型拟南芥(WT)和*SAUR72ox-2* (31d)莲座叶衰老表型比较; D: 31 d苗龄的*SAUR72ox-2*与野生型拟南芥第5、6片莲座叶叶绿素含量测定; E: *SAUR72ox-2*转基因拟南芥中衰老相关标识基因的表达水平检测(\*\*代表差异显著, student *t*-test,  $P < 0.01$ ). 图4同此)。

系统分析与表型展示。*SAUR72ox-2*与WT植株的抽薹时间以及抽薹时真叶数等指标均无显著差异, 而在衰老过程中, 我们发现: *SAUR72ox-2*转基因植株莲座发育后期表现明显早衰, 当WT只有第1片真叶处于衰老中后期时, *SAUR72ox-2*的前6片真叶均已明显衰老(图3-B和C)。取31 d转基因植株和相应野生型的第5和6片真叶进行叶绿素含量测定发现, *SAUR72ox*转基因叶片中的叶绿素含量显著低于WT对照(图3-D)。*NAC2*、*SAG113*和*SAG12*等都是叶片衰老过程中表达上调的标识基因, 它们的过表达会加速叶片的衰老(Guo等2004)。分别提取31 d苗龄的*SAUR72ox-2*与WT植株的第5、6片真叶的总RNA, 利用qRT-PCR技术检测上述衰老标识基因的表达水平, 发现在*SAUR72ox-2*中*NAC2*、*SAG113*与*SAG12*的相对表达水平均显著升高(图

3-E), 这与表型观察结果一致, 说明过表达*SAUR72*基因促进拟南芥早衰。

#### 2.4 过表达*SAUR72*促进拟南芥幼苗下胚轴和主根伸长

进一步表型观察发现, 过表达*SAUR72*不但能促进拟南芥莲座叶早衰, 还能促进 *SAUR72ox*幼苗的主根和下胚轴的伸长(图4-A), 数据分析显示4 d苗龄的*SAUR72ox-2*主根长度比WT平均长67%左右, 下胚轴比WT平均伸长60%左右(图4-B)。

#### 2.5 *SAUR72*过表达幼苗使pH指示培养基酸化

为了检测*SAUR72ox*幼苗下胚轴和主根伸长是否与生长素介导的“酸生长”有关, 我们利用pH指示剂溴甲酚紫分析了*SAUR72ox*幼苗下胚轴和根等部位的pH变化。将7 d苗龄的*SAUR72ox-2*幼苗转移到添加了pH指示剂溴甲酚紫的培养基上, 垂直

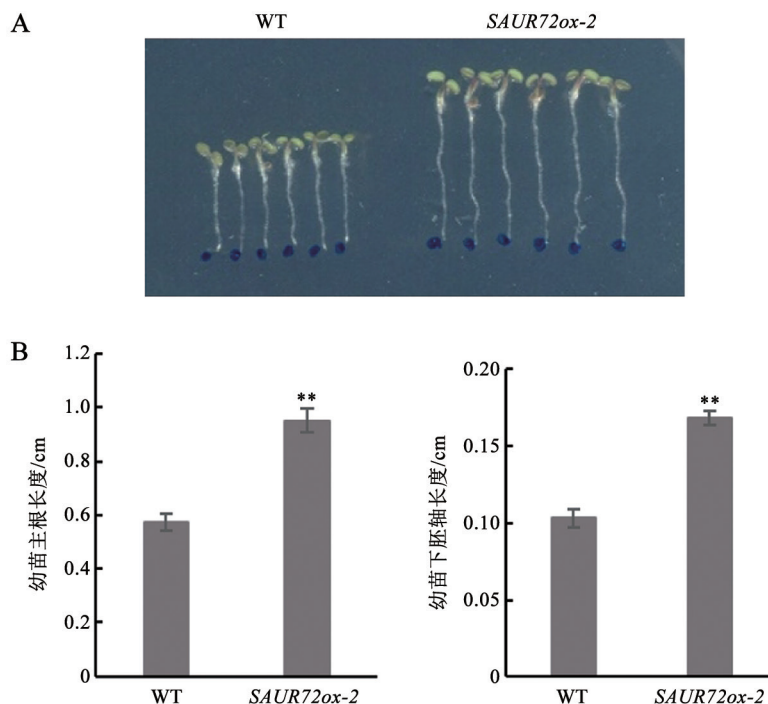


图4 过表达SAUR72促进拟南芥下胚轴和主根的伸长

Fig.4 SAUR72 overexpression promotes hypocotyl and primary root elongation in *Arabidopsis*

A: 野生型拟南芥(WT)和SAUR72ox-2幼苗在标准1/2MS培养基上竖直培养4 d后的表型比较; B: 野生型拟南芥和SAUR72ox-2的主根和下胚轴长度比较。

生长8 h后,可见SAUR72ox-2幼苗所在的培养基部位颜色发生明显变化(图5),由紫色变为黄色,说明该处的培养基pH严重下降。WT幼苗根部培养基颜色也略有变化,但变化幅度远小于SAUR72ox-2幼苗。

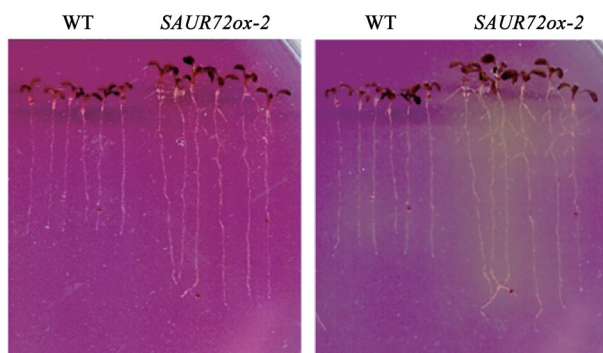


图5 SAUR72过表达使培养基酸化

Fig.5 SAUR72 overexpression increased medium acidification

溴甲酚紫指示实验: 左图为处理前,右图为处理8 h后。相比野生型拟南芥,SAUR72ox-2幼苗所在的培养基由紫色变为黄色,说明该处培养基pH显著下降。

### 3 讨论

SAUR基因家族成员众多,功能冗余,广泛分布于高、低等植物,在研究中经常被用作生长素诱导的标志基因,SAUR在促进植物生长发育方面的功能已经被公认。本实验室前期研究发现了一个类受体蛋白激酶AtSARK,其可以通过生长素和乙烯的协同作用正向调控叶片衰老。进一步研究发现PP2C型蛋白磷酸酶SSPP可以与AtSARK直接互动,通过对自磷酸化状态的AtSARK进行脱磷酸化而负向调控叶片衰老。过表达SSPP转基因拟南芥(SSPPox)植株表现出晚衰表型,其幼苗根尖的生长素信号增强。但是,SARK/SSPP所介导的衰老信号通过何种途径调控生长素的信号传递与响应或与之发生相互作用(cross-talk),还不清楚。

我们研究发现,SAUR72可以与SSPP发生互动。在叶片自然衰老过程中SAUR72表达随叶龄增加而升高,而在衰老延缓的SSPPox植株中SAUR72表达水平显著下降,说明SAUR72的表达受到SARK/SSPP所介导的衰老信号的诱导。进一步研究显示

*SAUR72*的过表达导致早衰, *SAUR72ox*植株中衰老相关的重要标识基因的表达水平都显著高于野生型, 说明与SSPP的功能相反, *SAUR72*是叶片衰老的正调控因子。这些结果使我们推测, *SAUR72*可能是通过与SSPP的互作抑制该蛋白磷酸酶的功能, 进而促进叶片衰老。

前人研究表明*SAUR*家族部分成员过表达能够促进细胞增大和下胚轴生长(Chae等2012), 其分子机制是这些SAURs能够通过抑制PP2C-D的蛋白磷酸酶活性, 间接促进PP2C-D底物——质膜H<sup>+</sup>-ATPases的磷酸化, 如ARABIDOPSIS H<sup>+</sup>-ATPASE2 (AHA2)自抑制结构域倒数第2个Thr残基的磷酸化(Cleland 1976; Spartz等2014), 从而使质膜H<sup>+</sup>-ATPases活性增加, 胞外pH下降, 进而软化了细胞壁使细胞容易伸长。我们发现*SAUR72ox*幼苗的主根和下胚轴明显伸长, 溴甲酚紫染色试验结果说明*SAUR72*过表达也可以提高转基因拟南芥细胞质膜上的H<sup>+</sup>-ATPase的活性, 这可能是造成*SAUR72ox*幼苗下胚轴和主根伸长表型的原因, 暗示着*SAUR72*也参与了生长素促进细胞增长的过程。至于*SAUR72*与SSPP互作以及对SSPP功能的抑制是否也是造成*SAUR72ox*幼苗下胚轴和主根伸长的原因、SSPP是否参与对质膜H<sup>+</sup>-ATPase活性的调控, 还需进一步的深入研究和分析。

### 参考文献(References)

- Bemer M, van Mourik H, Muiño JM, et al (2017). FRUIT-FULL controls *SAUR10* expression and regulates *Arabidopsis* growth and architecture. *J Exp Bot*, 68: 3391–3403
- Chae K, Isaacs CG, Reeves PH, et al (2012). *Arabidopsis* SMALL AUXIN UP RNA63 promotes hypocotyl and stamen filament elongation. *Plant J*, 71: 684–697
- Cleland RE (1976). Fusaric acid-induced growth and hydrogen ion excretion of *Avena* coleoptiles: Relation to auxin responses. *Planta*, 128: 201–206
- 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
- Guo Y, Cai Z, Gan S (2004). Transcriptome of *Arabidopsis* leaf senescence. *Plant Cell Environ*, 27: 521–549
- Hagen G, Guilfoyle T (2002). Auxin-responsive gene expression: genes, promoters and regulatory factors. *Plant Mol Biol*, 49: 373–385
- Hou K, Wu W, Gan SS (2013). *SAUR36*, a small auxin up RNA gene, is involved in the promotion of leaf senescence in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 161: 1002–1009
- Kant S, Bi YM, Zhu T, et al (2009). *SAUR39*, a small auxin-up RNA gene, acts as a negative regulator of auxin synthesis and transport in rice. *Plant Physiol*, 151: 691–701
- Liu D, Gong Q, Ma Y, et al (2010). cpSecA, a thylakoid protein translocase subunit, is essential for photosynthetic development in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 61: 1655–1669
- McClure BA, Guilfoyle T (1987). Characterization of a class of small auxin-inducible soybean polyadenylated RNAs. *Plant Mol Biol*, 9: 611–623
- Newman TC, Ohme-Takagi M, Taylor CB, et al (1993). DST sequences, highly conserved among plant *SAUR* genes, target reporter transcripts for rapid decay in tobacco. *Plant Cell*, 5: 701–714
- Park JE, Kim YS, Yoon HK, et al (2007). Functional characterization of a small auxin-up RNA gene in apical hook development in *Arabidopsis*. *Plant Sci*, 172: 150–157
- Quirino BF, Nomanly J, Amasino RM (1999). Diverse range of gene activity during *Arabidopsis thaliana* leaf senescence includes pathogen-independent induction of defense-related genes. *Plant Mol Biol*, 40: 267–278
- Santner A, Estelle M (2009). Recent advances and emerging trends in plant hormone signalling. *Nature*, 459: 1071–1078
- Spartz AK, Lee SH, Wenger JP, et al (2012). The *SAUR19* subfamily of SMALL AUXIN UP RNA genes promote cell expansion. *Plant J*, 70: 978–990
- Spartz AK, Ren H, Park MY, et al (2014). SAUR inhibition of PP2C-D phosphatases activates plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPases to promote cell expansion in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 5: 2129–2142
- Vanneste S, Friml J (2009). Auxin: a trigger for change in plant development. *Cell*, 136: 1005–1016
- Watillon B, Kettmann R, Arredouani A, et al (1998). Apple messenger RNAs related to bacterial lignostilbene dioxygenase and plant *SAUR* genes are preferentially expressed in flowers. *Plant Mol Biol*, 36: 909–915
- Woodward AW, Bartel B (2005). Auxin: regulation, action, and interaction. *Ann Bot*, 95: 707–735
- Xiao D (2014). Elucidation of the mechanism underlying the interaction of AtSARK and SSPP mediated regulation of leaf senescence and identification the function of *GmATG8c* (dissertation). Tianjin: Nankai University [肖冬 (2014). AtSARK与SSPP互作调控叶片衰老机制的研究及大豆*GmATG8c*的功能验证(学位论文). 天津: 南开大学]
- Xiao D, Cui Y, Xu F, et al (2015). Senescence-suppressed protein phosphatase directly interacts with the cytoplasmic domain of senescence-associated receptor-like kinase and negatively regulates leaf senescence in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 169: 1275–1291
- Xu F, Meng T, Li P, et al (2011). A soybean dual-specificity ki-

- nase, GmSARK, and its *Arabidopsis* homolog, AtSARK, regulate leaf senescence through synergistic actions of auxin and ethylene. *Plant Physiol*, 157: 2131–2153
- Yang T, Poovaiah BW (2000). Molecular and biochemical evidence for the involvement of calcium/calmodulin in auxin action. *J Biol Chem*, 275: 3137–3143
- Zhao S, Colombo SJ, Blumwald E (1995). The induction of freezing tolerance in jack pine seedlings: The role of root plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase and redox activities. *Physiol Plantarum*, 93: 55–60
- Zurek DM, Rayle DL, McMorris TC, et al (1994). Investigation of gene expression, growth kinetics, and wall extensibility during brassinosteroid-regulated stem elongation. *Plant Physiol*, 104: 505–513

## The mechanism underlying the role of SAUR72 in *Arabidopsis* leaf senescence regulation

ZHOU Jie, WEN Ze-Wen, MEI Yuan-Yuan\*, WANG Ning-Ning\*

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

**Abstract:** Plant hormones play important regulatory roles in leaf senescence process. In our previous yeast two-hybrid assay (Y2H) to screen for interactors of the negative leaf senescence regulator SSPP against a cDNA library, we found an auxin response protein SAUR72 as a putative candidate. In this paper, the interaction between SAUR72 and SSPP was verified by Y2H. It was further found that the expression of SAUR72 was induced by senescence and inhibited in *SSPPox* that displayed delayed leaf senescence phenotype. In addition, overexpression of SAUR72 not only led to precocious leaf senescence in *Arabidopsis*, but also promoted the elongation of hypocotyls and primary roots as well as the decrease of pH in the root system. All results imply that this auxin response gene is a positive regulator of leaf senescence in *Arabidopsis*. The current study established foundation to elucidate the function of auxin in leaf senescence regulation.

**Key words:** SAUR72; auxin; SSPP; leaf senescence; *Arabidopsis*

---

Received 2018-03-01 Accepted 2018-03-16

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31770319 and 31570293).

\*Co-corresponding authors: Mei YY (yuanyuan.mei@nankai.edu.cn), Wang NN (wangnn@nankai.edu.cn).