



Lehtien seneskenssin hormonaalinen toiminta ja signaalinvälitysreitit

Oulun yliopisto, Biologian laitos

Luonnontieteen kandidaatin tutkielma

Roosa Haajanen

Toukokuu 2020

Avainsanat: *Lehtien seneskenssi, SA-geenit, kasvihormonit, etyleeni, jasmonaatti, abskissihappo, sytokiniini, auksiini, signaalinvälitysreitit, transkriptiotekijät, ORE1, AtNAP, WRKY*

Sisällysluettelo

1.	Johdanto	4
2.	Kasvihormonit.....	5
2.1	Etyleeni.....	7
2.2	Jasmonaatti.....	9
2.2	Abskissihappo	9
2.4	Sytokiniini.....	10
2.5	Auksiini	11
3.	Signaalinvälitysreitit.....	12
3.1	<i>SA</i> -geenit	12
3.2	Transkriptiotekijät	14
3.2.1	ORE1	15
3.2.2	AtNAP.....	16
3.2.3	WRKY-transkriptiotekijät	17
4.	Johtopäätökset	18
5.	Viitteet.....	19

Lyhenteet

SA-geeni	Seneskenssiin vaikuttava geeni eng. senescence associated gene
RNA	Ribonukleiinihappo
mRNA	Lähetti-RNA
ARC	Iän aiheuttama muutos eng. age-related-change
ACC-syntaasi	1-aminosyklopropani-1-karboksylaattisyntaasi
ACC-oksidaasi	1-aminosyklopropani-1-karboksylaattioksidaasi
Ein2	Eng. ethylene insensitive 2
Coi1	Eng. coronative insensitive 1
NAC	NAM, ATAF1/2, CUC2
ABA	Abkissihappo
RPK1	Eng. receptor protein kinase 1
AHK2/3/4	Eng. authentic his-kinase
ARR	<i>Arabidopsis</i> -kasvin reaktion säätely eng. <i>Arabidopsis</i> response regulator
IAA	Indoli-3-etikkahappo
SDG	Vaimennussäätelyn geenien ekspressio eng. Senescence down regulated genes
ORE1	Eng. oresara 1-like protein
BFN1	Eng. biofunctional nuclease 1
GLK 1/2	Eng. glukokinase 1/2

1. Johdanto

Syksyn saapuessa voidaan havaita koivujen lehdissä värimuutoksia, samoin kuin kellastumista huonekasvien lehdissä vähenevän valon tai lämpötilan laskun takia. Molemmissa tapauksissa kyseessä on seneskenssi, jota voidaan sanoa lehden viimeiseksi kehitysvaiheeksi, joka useimmiten johtaa sen kuolemaan (Gan & Amasino, 1997). Seneskenssi tosin mielletään usein passiiviseksi reaktioksi, joka tapahtuu automaattisesti kaikille lehdille tietyssä elämäkaaren vaiheessa. Se on kuitenkin hyvin kontrolloitu geneettinen prosessi, jossa tapahtuu muutoksia muun muassa kasvin metaboliassa sekä rakenteessa (Gan & Amasino, 1997; Ok Lim, Jung Kim, & Gil Nam, 2007).

Lehtien seneskenssiä voi aiheuttaa iän eli kehityksen mukaisen seneskenssin lisäksi myös ympäristön aiheuttama stressi kuten kuivuus, ravinteiden määrä ja lämpötila (Gan & Amasino, 1997; Khan, Rozhon, & Poppenberger, 2014). Lehtien seneskenssiin vaikuttaa usein myös valon määrä. Joissain tapauksissa ylemmät lehdet voivat varjostuksellaan aiheuttaa seneskenssin alkua alemmissa lehdissä, sillä ne eivät enää pysty kuroutumaan aurinkoa kohti. Valo, joka menee ylempien lehtien läpi, saa aikaan punaisten fotonien imeytymisen. Kun ne saavuttavat alemmat lehdet, on punaisen ja pitkän punaisen valon suhde jo merkittävästi pienentynyt. Tämä saa aikaan signaalireittejä, jotka voivat aktivoitua valon muutoksen lisäksi myös patogeenien hyökkäyksen tai kasvihormonien vaikutuksesta (Gan & Amasino, 1997).

Seneskenssin voidaan parhaiten havaita alkaneen lehtien keltaisesta väristä, joka johtuu kloroplastien hajotuksesta (Ok Lim ym. 2007). Tätä seuraa sokerien, proteiinien ja ribonukleiinihapon (RNA) hajotus. Tuma ja mitokondriot säilyvät koskemattomina seneskenssin loppuvaiheeseen saakka. Hajotetut ravinteet, aminohapot sekä muut makromolekyylit kuljetetaan muihin kasvin lehtien osiin, kuten kehittyviin lehden alkuihin ja siemeniin nilan kautta. Käytettävissä oleva energia siirretään siis muualle kasvin osiin. Seneskenssi voidaan näin ollen nähdä toimintona ja tärkeänä osana kasvin elämänkaarta, joka ylläpitää kasvin yleistä hyvinvointia (Ok Lim ym. 2007; Taiz & Zeiger, 2003).

Lehtien seneskenssin saavat aikaan erilaiset sisäiset ja ulkoiset tekijät. Ulkoiset tekijät voivat olla joko abioottisia (valo, kosteus, maaperän suolat, lämpötila ym.) tai bioottisia (tuholaiset, sienet, virukset ym.) (Ok Lim ym. 2007). Nämä aiheuttavat seneskenssiin liittyvää

geeniekspressiota, joka näyttäisi olevan hyvin samanlaista kuin kasvien normaaleissa stressireaktioissa. Jopa yli puolet transkriptiotekijöistä ovat samoja molempien reaktioiden aikana. Seneskenssiin vaikuttavia ulkoisia tekijöitä on tutkittu enimmäkseen kasvihormonien kautta, sillä ne toimivat isossa osassa kasvien normaaleja stressireaktioita (Ok Lim ym. 2007; Taiz & Zeiger, 2003). Seneskenssiä kontrolloivat sisäisesti niin sanotut *SA*-geenit (*senescence associated genes*), jotka koodaavat lehden eri komponentteja hajottavia entsyymejä (Taiz & Zeiger, 2003).

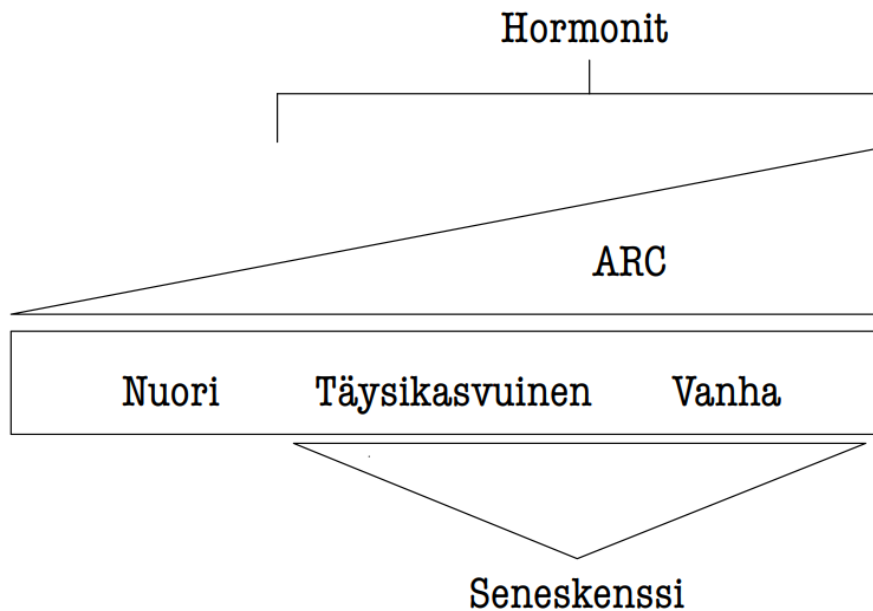
Yksi ehkä tärkeimmistä lehtien seneskenssin sovellutuksista on maatalouden tutkimus (Yadava, Singh, Kumar, Sapna, & Singh, 2018). Seneskenssin manipuloiminen on tietävästi vaikuttanut satoisuuteen ja ympäristön aiheuttaman stressin sietokykyyn, mutta se kertoo myös maanviljelijöille sadonkorjuun aloitusajankohdasta (Yadava ym. 2018). Tästä heräävätkin kysymykset, voidaanko kasvihormoneja ja geenimuuntelua hyödyntää esimerkiksi viljelyskasvien seneskenssin ajoittamisessa sekä mitkä näistä hidastavat ja mitkä edistävät seneskenssiä. Tämän takia painotus Luk-tutkielmassani on signaalinvälitysketjuissa ja hormonitoiminnassa.

2. Kasvihormonit

Kasvihormonit ovat kemiallisia viestinkuljettajia, jotka välittävät informaatiota eri puolille kasvia (Khan ym. 2014) ja ovat tietävästi suuressa roolissa lehtien seneskenssissä (Ok Lim ym. 2007). Ympäristön ja kehityksen vaikutuksesta nämä hormonit välittävät signaalinvälitysketjuja, jotka vaikuttavat seneskenssin alkamiseen ja etenemiseen geeniekspression kautta. Eri hormonit saavat kuitenkin aikaan erilaisia reaktioita ja vaikuttavat kasvien eri osissa, mikä vaikeuttaa lopputuloksen paikantamista. Geenimuunneltujen kasvien, mutaatioiden ja geeniekspressioanalyysien avulla on saatu selville, että hormonaaliset reitit ovat yhteydessä kasvin iän aiheuttamaan luonnolliseen seneskenssiin (Ok Lim ym. 2007).

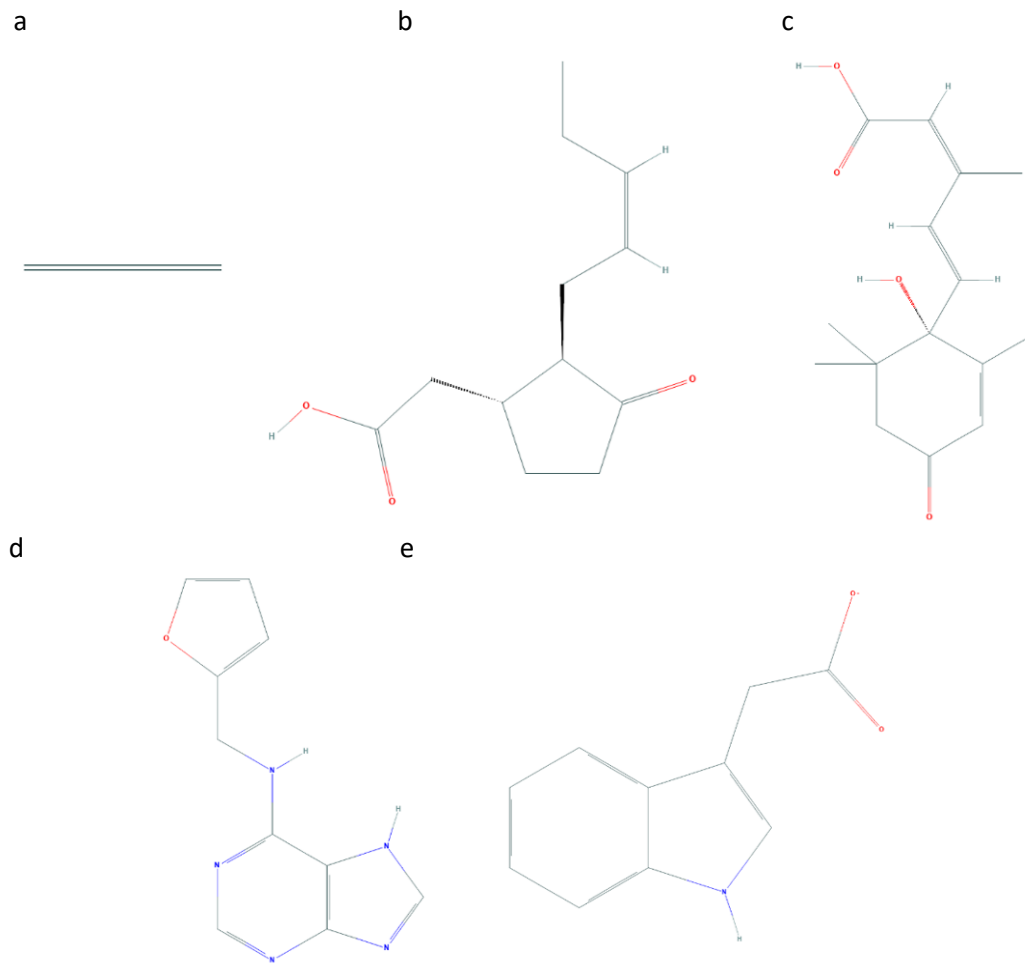
Jibrán ym. (2013) esitteli artikkelissaan konseptin (kuva 1), joka tukee hormonien ja kasvin iän yhteyttä. Se perustuu niin sanottuihin ARC:in (age-related-changes) eli iän aiheuttamiin muutoksiin. Näitä muutoksia voivat olla esimerkiksi solusyklistä poistuminen tai lehtien kasvun pysähtyminen. Jibrán ym. (2013) mukaan seneskenssiä ei voi indusoida hormoneilla ennen kuin

tietty määrä ARC:ja on kertynyt. ARC:t eivät myöskään katoa iän myötä, vaan ne kerääntyvät kasviin eli ne ovat peruuttamattomia. He painottavat myös, että ARC:en määrä ja ajoitus voivat vaihdella ympäristön muutosten ja niiden aiheuttamien hormonaalisten signaalien toimesta (Jibran ym. 2013).



Kuva 1: Hormonien ja ARC:n (age-related-changes) eli iän aiheuttamien muutosten yhteys lehtien seneskenssissä. Kuva on tehty Jibran ym. (2013) pohjalta.

Lehtien seneskenssiä nopeuttavat etyleeni, jasmonaatti, abskissihappo ja salisyylihappo, kun taas sitä hidastavat mahdollisesti auksiini ja sytokiniinit (Jibran ym. 2013). Alla käsitellään eri hormonien (kuva 2) vaikutuksia lehtien seneskenssiin tieteellisten tutkimusten perusteella.



Kuva 2: Kasvihormonien rakenteet: etyleeni (a), jasmonaatti (b), abskissihappo (c), sytokiniini (d) ja auksiini (e). Kuva on tehty vapaan National Center for Biotechnological information PubChem tietokannan perusteella.

2.1 Etyleeni

Etyleeni on kaasumuotoinen kasvihormoni, joka tunnetusti vaikuttaa muun muassa hedelmien kypsymiseen, kukkien lakastumiseen, abskissioon ja lehtien seneskenssiin (Jibrán ym. 2013). Etyleenin vaikutuksista on tiedetty jo pitkään, mutta vasta hiljattain on saatu enemmän tietoa sen roolista ja mekanismista lehtien seneskenssissä. Etyleenin vaikutuksia seneskenssin aikana tukee

sen biosynteesistä vastuussa olevien ACC-syntaasin (1-aminosyklopropani-1-karboksyalaattisyntaasi), ACC-oksidaasin (1-aminosyklopropani-1-karboksyalaattioksidaasi) ja nitrilaasin määrän, sekä signaloinnin geenien ekspression määrän nousu (Jibrán ym. 2013; Ok Lim ym. 2007).

Buchanan-Wollaston ym. (2005) löysivät tutkimuksessaan 21 *SA*-geeniä, joiden aktiivisuus laski *ein2* (*ethylene insensitive protein 2*) -mutantissa. Myös sama määrä *SA*-geenejä löytyi *coi1* (*coronatine insensitive 1*) -jasmonaattimutantista mikä viittaa siihen, että etyleenillä ja jasmonaatilla on samankaltaisia signalointireittejä (Buchanan-Wollaston ym. 2005). Geenit, joiden aktiivisuus väheni *coi1* ja *ein2*:n vaikutuksesta, koodaavat enimmäkseen proteiineja kuten polygalakturonaasi ja pektiinesteraasi. Näiden proteiinien päätehtävänä on soluseinän hajottaminen. Myös NAC (NAM, ATAF1/2, CUC2) transkriptioperheen geenien *BFN1* (*biofunctional nuclease 1*) ja *RNase1*:n aktiivisuus laski merkittävästi. Niillä on tunnetusti rooli aminohappojen ja hiilihydraattien hajotuksessa (Buchanan-Wollaston ym. 2005). Näin ollen vaikuttaa siltä, että etyleenin suurin vaikutus on seneszenssin loppupuolella eikä niinkään sen aloituksessa (Jibrán ym. 2013).

Etyleenin vaikutusta *SA*-geeneihin tukee myös Grbid & Bleeckerin (1995) koe, jossa he altistivat *Arabidopsis*-kasvin ulkoisesti etyleenille. He huomasivat, että geenien *SAG12* ja *SAG2* aktiivisuus nousi merkittävästi altistuksen jälkeen (Grbid & Bleecker, 1995). Uudemman tiedon mukaan etyleeni ei kuitenkaan pysty yksin aloittamaan seneskenssiä, vaan se vaatii myös iän aiheuttamia tekijöitä eli ARC:ja (Ghanem ym. 2008).

Etyleenin rooli on kasvin stressinsietokyvyn kannalta tärkeä (Jibrán ym. 2013). Tutkimuksessa, jossa etyleenin signalointi saatiin pidettyä tasaisena *ctr1-1*-mutantissa, huomattiin parempi suolansietokyky verrattuna villityypin yksilöön. Kuitenkin etyleenin yliekspressio voi aiheuttaa herkkyyttä muihin ympäristön aiheuttamiin rasitteisiin. Tämä huomattiin *Arabidopsis*-kasvissa, jonka kylmyyden sietokyky oli heikompaa etyleenin yliekspression seurauksena (Jibrán ym. 2013).

2.2 Jasmonaatti

Jasmonaatit ovat lipideistä johdettuja kasvihormoneja, jotka ohjaavat kasvin stressireaktioita sekä sen eri kehitysvaiheita, kuten siemenen itämistä, juurten kasvamista ja lehtien seneskenssiä (He ym. 2002; Wasternack, 2007). Vaikka jasmonaatin rooli lehtien seneskenssissä on tunnettu jo kauan, vasta hiljattain on huomattu sen vaikutuksen laajuus. Jopa 14 seneskenssin promoottorialuetta 125:stä aktivoituivat jasmonaatin toimesta (Jibrán ym. 2013).

He ym. (2002) saivat selville tutkimuksessaan, että *Arabidopsis*-kasvin lehdelle ulkoisesti levitetty jasmonaatti sai aikaan ennenaikaisen seneskenssin sekä kiinni olevissa, että irrotetuissa lehdissä. Tämä näkyi klorofyllien määrän vähenemisenä, fotosysteemi II:n aktiivisuuden vähenemisenä sekä *SA*-geenien (*SEN4*, *SEN5* ja *rVPE*) aktiivisuuden lisääntymisenä. Seneskenssiä ei kuitenkaan tapahtunut *coi1*-mutantissa, joka viittaa siihen, että jasmonaatilla on rooli seneskenssin aikana tapahtuvissa signaalireiteissä. Tätä tukee myös jasmonaatin tason nelinkertainen nousu seneskeettisissä lehdissä verrattuna ei-seneskeettisessä tilassa oleviin lehtiin (He ym. 2002).

Jasmonaatin rooli luonnollisessa eli niin sanotussa pimeän aiheuttamassa seneskenssissä, on kuitenkin aiheuttanut kysymyksiä eri tutkimustulosten takia. Mutantti *coi1-2*, jonka ansiosta jasmonaatin määrä vähenee, sai aikaan lehtien seneskenssin hidastumisen pimeässä ympäristössä. Kuitenkin samankaltainen mutantti *alleenioksidisyntaasi (aos)* ei hidastanut vastaavassa ympäristössä lehtien seneskenssiä (Jibrán ym. 2013).

2.2 Abskissihappo

Abskissihappo (ABA) on kasvihormoni, jonka tehtävänä on kontrolloida kasvin kehitystä ja kasvua muun muassa siemenen itämisen, embryogeneesin, lehtien seneskenssin sekä bioottisen ja abioottisen stressin aikana (Jibrán ym. 2013). Review-artikkelissaan Ok Lim ym. (2007) painottavat ABA:n roolia ympäristön aiheuttaman stressin signaalinvälittäjänä (Ok Lim ym. 2007). ABA:n signaalinvälitysreitti on kuitenkin monimutkainen ja sen uskotaan altistavan kasvia enemmän patogeenihyökkäyksille, kun taas joissain tutkimuksissa ABA näyttäisi suojelevan kasvia patogeenihyökkäyksiltä (Jibrán ym. 2013).

ABA tiettävästi edesauttaa lehtien seneskenssiä, mutta sen vaikutuksen voimakkuus on vielä epäselvä (Ok Lim ym. 2007). Tutkimuksessaan Weaver ym. (1998) suihkuttivat *Arabidopsis*-kasvin vanhoille sekä nuorille lehdille ABA-liuosta. Vanhat lehdet alkoivat kellastumaan, mutta nuorissa lehdissä ei havaittu muutoksia ABA-käsittelyn jälkeen. Näyttäisi siis siltä, että ABA vaikuttaa lehtiin vain, jos seneskenssi on jo luonnostaan käynnissä. Vanhoista lehdistä tehtiin myös analyysi, jossa selvisi, että ABA indusoi lisäksi monen *SA*-geenin positiivista ekspressiota (Weaver ym. 1998). Samanlaisia tuloksia sai myös Lee ym. (2011) kokeessa, jossa he värimuutoksen lisäksi mittasivat klorofyllien määrää neljä ja 12 päivää vanhoissa lehdissä. Odotetusti 12 päivää vanhoissa lehdissä klorofyllien määrä laski merkittävästi verrattuna neljä päivää vanhoihin lehtiin (Lee ym. 2011).

ABA:n vaikutuksia on tutkittu *Arabidopsis*-kasvin *RPK1*-geenin avulla, jota säädellään tunnetusti voimakkaammin lehtien seneskenssin aikana (Ok Lim ym. 2007). *RPK1* koodaa RPK1 (receptor protein kinase 1) -proteiinia, joka on kiinnittyneenä solukalvoon (Lee ym. 2011). Lee ym. (2011) halusi tutkimuksessaan selvittää *RPK1*:n avulla kasvin iän vaikutuksia ABA:n toimintaan. He huomasivat, että ”*loss-of-function*”-mutaatiossa lehtien seneskenssi oli merkittävästi hidastunut, kun taas *RPK1*-geeniä yliekspressoivassa mutantissa seneskenssin eteneminen oli nopeutunut. Tämä kuitenkin koski vain täysikasvuisia lehtiä. Nuoremmista lehdissä yliekspressio aiheutti viivästynyttä kasvua ilman seneskenssin merkkejä. ABA ja *RPK1* todennäköisesti vaikuttavat kasvin eri kehitysvaiheissa. Jotta ne vaikuttaisivat lehtien seneskenssiin, on kasvin oltava täysikasvuinen (Lee ym. 2011). Uskotaan, että aikaisessa vaiheessa ABA:n vaikutuksia ovat enimmäkseen ulkoisen stressin sietokyvyn ylläpito ja myöhemmin vanhemmissa lehdissä geenien, kuten *SAG113* ekspressio (Jibran ym. 2013).

2.4 Sytokiniini

Yksi tutkituimmista kasvihormoniryhmistä on sytokiniinit. Tunnetuimmat muodot ovat joko isopentenyyliadeniini tai tseatiini, jotka muodostuvat adeniini- tai fenyylireapohjaisista yhdisteistä. Sytokiniineilla on tärkeä rooli muun muassa kasvien versojen ja varsien sivuhaarojen muodostumisessa, fotomorfoogeneesissä sekä juurien erilaistumisessa ja lehtien seneskenssin hidastamisessa (Jibran ym. 2013; Khan, Rozhon, & Poppenberger, 2014).

On esitetty, että lehtien seneskenssin aikana sytokiniinisynteesin geenien aktiivisuus on heikentynyt, jotka koodaavat sytokiniinisyntaasia ja adenosiinifosfaatti-isopentenyyli transferaasia. Myös sytokiniiniä hajottavan sytokiniinioksidaasin määrän nousu on havaittavissa (Ok Lim ym. 2007). Sytokiniinin roolia seneskenssin hidastajana tukevat tutkimukset, joissa kasvin lehdet olivat ulkoisesti käsitelty sytokiniinillä. Tämä sai aikaan näkyvän seneskenssin hidastumisen. Sama pystyttiin toistamaan myös sisäisesti SAG12-promoottorin avulla (Jibran ym. 2013).

Khan ym. (2014) mukaan sytokiniinin signaalointi *Arabidopsis*-kasvissa tapahtuu kolmen histidiinikinaasi-reseptorin kautta, jotka ovat AHK2 (authentic his-kinase 2), AHK3 (authentic his-kinase 3) ja AHK4 (authentic his-kinase 4). Sytokiniinin sitouduttua reseptoreihin histidiinifototransferaasiproteiinit kuljettavat signaalin ARR:lle (*Arabidopsis* response regulator), joka vastaavasti säätelee sytokiniiniin reagoivia geenejä (Khan ym. 2014).

AHK3-reseptorin toimintaa on erityisesti tutkittu, koska sillä on taipumus pidentää lehden elinikää (Kim ym. 2006; Ok Lim ym. 2007). Kim ym. (2006) tutkimuksessa *ore12-1* ”gain-of-function”-mutaation avulla AHK3:n aktiivisuus voimistui, jonka seurauksena lehtien seneskensi oli hidastunut. *Ore12-1*-mutaatio todennäköisesti tapahtui solunulkoisessa sytokiniinin kiinnittymiskohdassa. Kuitenkin *ahk3* ”loss-of function”-mutaatioissa seneskensiä ehkäisevät toiminnot olivat alentuneet. Tämä perusteella voidaan sanoa, että AHK3:lla on tärkeä rooli lehtien elinkyvyn ylläpitämisessä, ja että se toimii sytokiniinin signaalinvälitysreitien alkupäässä (Kim ym. 2006).

2.5 Auksiini

Auksiinit tunnetaan laajasta vaikutusten kirjosta, kuten apikaalidormanssista, solujen kasvusta, tropismista sekä versojen ja juurten kehityksestä (Jibran ym. 2013; Khan ym. 2014; Ok Lim ym. 2007). Tämä kirjo onkin syy sille miksi juuri auksiinin vaikutuksia on ollut vaikea havaita lehtien seneskenssin aikana (Ok Lim ym. 2007).

Indoli-3-etikkahappo (IAA) on auksiinin biologisesti aktiivinen muoto, joka on syntetisoitu tryptofaanista (Khan ym. 2014). Tutkimuksista on saatu selville, että vapaan IAA:n määrä

nousee lehdissä merkittävästi lehtien seneskenssin aikana, vaikka auksiinin määrä kokonaisuudessaan vähenee (Hou, Wu, & Gan, 2013; Jibrán ym. 2013). Tämän perusteella voidaan päätellä, että ainakin vapaalla IAA:lla on rooli lehtien seneskenssissä (Jibrán ym. 2013). Tätä tukevat myös tutkimukset, joissa kasvit ovat ulkoisesti altistettu auksiinille. Tämän seurauksena havaittiin hidastunutta klorofyllin ja proteiinien hajoamista, sekä useiden *SA*-geenien ekspression määrän laskua (Hou ym. 2013). Samankaltaisia tuloksia on saatu myös *YUCCA*-geenien tutkimusten avulla. *YUCCA* on geeniperhe, joka koodaa mono-oksigenaasientsyymiä. Mono-oksigenaasi toimii yhtenä katalyyttinä auksiinin biosynteesissä. Toiminnan voimistumismutaatioiden *yuc-ID* ja *35S:YUC6* seurauksena huomattiin lehtien seneskenssin hidastuneen ja *SA*-geenien aktiivisuuden laskua (Jibrán ym. 2013).

Auksiinin roolista ei olla vielä kukaan varmoja, onko se seneskenssiä edistävää vai hidastavaa erilaisten tutkimustulosten takia (Khan ym. 2014). Hou ym. (2013) tutki *Arabidopsis*-kasvin *SAUR36*-geeniä, joka kuulu auksiinien aktivoimaan *SAUR*-geeniperheeseen. He saivat selville, että *saur36* ”*loss-of-function*”-mutaatiossa *SAUR36* näyttäisi hidastavan lehtien seneskenssiä. Tätä tukisi myös heidän tutkimansa ”*gain-of-function*”-mutaatio, jossa seneskenssin eteneminen ja klorofyllien hajoaminen oli nopeutunut nuorissa lehdissä. Näiden tulosten perusteella vaikuttaisi siltä, että auksiini onkin positiivinen säätelijä lehden seneskenssissä (Hou ym. 2013).

Tutkimusten perusteella vaikuttaisi siltä, että auksiinin vaikutukset lehtien seneskenssissä ovat monimutkaisia. On myös epäilty, ettei auksiinin määrä itsessään aiheuta reaktioita seneskenssissä, vaan sen muodostamat auksiinigradientit (Ok Lim ym. 2007). Jotta auksiinin rooli seneskenssissä voidaan täysin ymmärtää, tarvitaan lisää tutkimustuloksia (Khan ym. 2014).

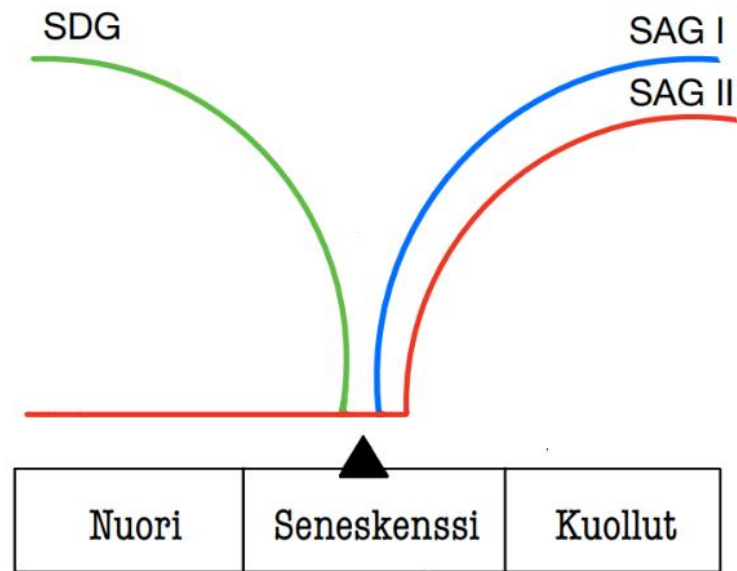
3. Signaalinvälitysreitit

3.1 *SA*-geenit

SA-geenit (*senescence associated genes*) ovat suuressa roolissa seneskenssin alkamisessa ja etenemisessä (Taiz & Zeiger, 2003). *SA*-geenit koodaavat entsyymejä, jotka pystyvät hajottamaan kasvin eri komponentteja. Näitä entsyymejä ovat muun muassa ribonukleasit,

proteasit sekä lipaasit. Näiden geenien ekspresion määrä nousee seneskenssin aikana, kun taas seneskenssin *SDG*:n (*senescence down regulated gene*) eli vaimennussäätelyn geenien ekspresio vähenee. *SDG*:t ovat pääasiallisesti vastuussa proteiineista, joilla on rooli fotosynteesissä eli ne saavat aikaan fotosynteettisen aktiivisuuden laskemisen (Taiz & Zeiger, 2003). *SA*-geenejä on löydetty useilta kasveilta, kuten *Arabidopsis*, riisi ja tupakka. Uskotaan, että jopa 20 % kaikista *Arabidopsis*-kasvin tutkituista geneista aktivoituvat tai muuttavat ekspressiotaan seneskenssin aikana. Guo ym.:n (2014) cDNA eli komplimentaarisen deoksiribonukleinihapon sekvensointitutkimuksessa löydettiin jopa 2500 geeniä, jotka ilmenivät kasvin lehdessä, joka oli selkeästi seneskeettisessä tilassa. Jos *SA*-geenien tuotteet saadaan selville, voidaan niiden perusteella myös selvittää mahdollisia biokemiallisia reittejä, ja näin selvittää, miten seneskenssi etenee. Yksi suurimmista ongelmista on kuitenkin, että seneskenssin signaalireitit ovat lajikohtaisia eli eri tutkimusten johtopäätöksiä on vaikea yleistää muihin lajeihin. Näin ollen on tärkeää, että intensiivistä tutkimusta tehtäisiin toistaiseksi yhdelle lajille. Tällä hetkellä seneskenssin tutkimuksessa suosituin organismi on *Arabidopsis thaliana* sen lyhyen elämänkaaren sekä pienen ja tutkitun genomin takia (Gepstein ym. 2003; Guo & Gan, 2005).

Seneskenssin tutkimuksen perusteella *SA*-geenit voidaan jakaa kahteen luokkaan, tyyppin I ja tyyppin II *SA*-geeneihin (kuva 3). Luokat erottavat niiden esiintymispaikka ja ajoitus. Tyyppin I *SA*-geenejä ekspresoidaan vain seneskenssin aikana ja niitä arvellaan olevan vain muutama, kuten *SAG12* ja *SAG13*. Tyyppin II *SA*-geenit taas näyttäisivät ekspresoituvan koko lehden eliniän ajan, mutta ne lisääntyvät merkittävästi seneskenssin aikana (Gan & Amasino, 1997).



Kuva 3: *SDG*:n (*senescence down regulated gene*) eli vaimennussäätelyn geenien ja *SAG I/II* (*senescence associated gene*) eli seneskenssiin vaikuttavien geenien ekspressiotaso kasvissa seneskenssin aikana. Kuva on tehty Gan ja Amasino (1997) pohjalta.

Gan ja Amasino (1997) käsittelevät review-artikkelissaan Oh ym.:n (1996) tutkimusta, jossa *Arabidopsis* reagoi eri tavalla luonnolliseen ja keinotekoiseen pimeään ympäristöön. *SIN1*-geenin ekspressiotasot erosivat merkittävästi eri ympäristöjen välillä. Tämän perusteella voidaan sanoa, että luokkien välillä on suuriakin eroja signaalireittien suhteen (Gan & Amasino, 1997). Gan & Amasino (1997) tutkimuksen tuloksena huomattiin myös, että *SA*-geenien (*SAG12*, *SAG13* ja *SAG15*) promoottorialueilla ei ole konservatiivista *cis*-elementtiä. Näin ollen *SA*-geenien promoottorialuetta kontrolloi todennäköisesti monta eri transkriptiotekijää (Gan & Amasino, 1997).

3.2 Transkriptiotekijät

SA-geenien ekspression alkamisesta aina lehden putoamiseen saakka vaikuttavat transkriptiotekijät, jotka säätelevät transkription aloitusta ja määrää. Tähän eniten vaikuttavat

transkriptiotekijät ovat NAC (NAM, ATAF1/2, CUC2) sekä WRKY-transkriptiotekijäperhe (Ryun Woo, Jung Kim, Gil Nam, & Ok Lim, 2013).

3.2.1 ORE1

ORE1 (oreasara1-like protein) on yksi tärkeimmistä NAC-transkriptiotekijöistä, joiden tiedetään positiivisesti vaikuttavan seneskenssiin etyleenin signaalinvälityksen kautta, jolloin sen määrä näyttäisi lisääntyvän (Balazadeh ym. 2010). ORE1:n toiminta perustuu lehden ikään. Nuorissa lehdissä seneskenssiä torjuu mikro-RNA miR164, jonka uskotaan toimivan niin sanotusti jarruna liian aikaista solukuolemaa vastaan. Sen määrä kuitenkin vähenee vanhenneissa lehdissä EIN2:n (ethylene insensitive 2) vaikutuksesta. *EIN2* koodaa proteiinia, joka toimii etyleenin signaloinnissa endoplastisessa kalvostossa. Se saa aikaan *ORE1*:n ekspression tason nousun (Alonso ym. 1999).

ORE1 vaikuttaa moniin eri geeneihin, joita on tiedettävästi jopa 17 (Matallana-Ramirez ym. 2013), kuten *BFNI*, joka koodaa tyypin 1 nukleaasia. Nukleaasi 1:stä voidaan löytää seneskenssin lopussa yhdessä hajoanneiden aminohappojen kanssa, mikä viittaa siihen, että *BFNI* vaikuttaa DNA:n hajoamiseen. Kuitenkin kasveilla, joilla on toimimaton *BFNI*-geeni, ei havaittu eroa seneskenssin etenemisessä. Tämä johtuu todennäköisesti ORE1:n vaikutuksesta moneen eri geeniin ja näiden yhteisvaikutuksesta seneskenssin suhteen (Farage-Barhom ym. 2011).

ORE1 vaikuttaa myös muihin transkriptiotekijöihin. Rauf ym. (2013) esittää, että *ORE1*:n ekspressiotason ollessa matala, on *GLK1*:n (*glucokinase1*) ja *GLK2*:n (*glucokinase2*) ekspressio korkea, ja ne aktivoivat vastaavasti fotosynteesiin liittyviä geenejä. GLK1 ja GLK2 toimivat siten kloroplastien kehityksessä ja ylläpidossa. Vanhemmissa lehdissä *ORE1*:n ekspression kasvaessa *GLK*-geenien tuotanto vähenee, jolloin kloroplastien ylläpito hidastuu, joka johtaa niiden hajoamiseen (Rauf ym. 2013). Näyttäisi siis siltä, että *ORE1*:n ekspressio käynnistää monia eri signaalinvälitysreittejä, jotka vaikuttavat lehden ylläpitoon. Tiedetään myös, että transkriptiotekijä ORE1 vaikuttaa suoraan *SINAI*-geeniin, jonka koodaamalla proteiinilla on vaikutusta proteiinien ubiquitinaatioon eli hajoamiseen (Matallana-Ramirez ym. 2013).

3.2.2 AtNAP

AtNAP on toinen NAC-transkriptiotekijä, joka on tiettävästi osana lehtien seneskenssiä. Guo & Gan (2006) halusivat tutkimuksessaan selvittää *AtNAP*:n toimintaa *Arabidopsis thaliana*-kasvissa (Guo & Gan, 2006). Tuloksissa he mainitsevat, että DNA-siruanalyysin perusteella *AtNAP*-ekspressiota tapahtuu seneskenssin aikana muun muassa lehtien, lehtiruusukkeiden ja terälehtien soluissa. Tutkimuksessa selvisi myös, että *AtNAP*-nollamutanttiyksilöissä seneskenssi viivästyi jopa kymmenellä päivällä verrattuna villityypin yksilöihin. Sen sijaan kasvulla, joka yliekspresso *AtNAP*-geeniä seneskenssi eteni paljon nopeammin ja lehden olivat kokonaan seneskeettisessä tilassa jo neljän päivän jälkeen. Tutkimuksessaan Guo & Gan (2006) halusivat myös selvittää, mitä vaikutuksia eri seneskenssiä edistäväillä tekijöillä olisi *AtNAP*:n ekspression. He saivat selville, että muun muassa ABA, etyleeni ja osmoottinen stressi vaikuttivat lievästi *AtNAP*:n ekspressiomääriin, kun taas jasmonaatilla, pimeällä ympäristöllä tai kuivuudella ei ollut juurikaan vaikutusta. Tästä he päättelivät, että *AtNAP*:n aktivoituminen riippuu enimmäkseen kasvin iästä ja kehityksestä, eikä esimerkiksi ulkoisista tekijöistä. *AtNAP*:n arvellaan siis olevan osana *SA*-geenien aktivoimista (Guo & Gan, 2006).

Zhang & Gan (2012) ovat myös tehneet tutkimusta *AtNAP*-transkriptiotekijällä, mutta he ovat saaneet hieman erilaisia tuloksia verrattuna Guo & Gan (2006) tutkimukseen (Zhang & Gan, 2012). He viittaavat raportissaan tutkimukseen Zhang ym. (2011), jonka mukaan *SAG113*-geeni vaikuttaa negatiivisesti ABA:n signalointiin. Tämä taas saa aikaan ilmarakojen aukiolon, jolloin veden menetyksen myötä seneskenssi etenee nopeammin. Zhang ym. (2011) tutkimuksen mukaan näyttäisi siltä, että *AtNAP* aktivoituu ABA:n toimesta, joka saa aikaan *SAG113*:a ekspression ja näin seneskenssin etenemisen (Zhang & Gan, 2012).

Zhang & Gan (2012) tutkivat myös *SAG113*-ekspressiota ”*knock-out*” ja villityypin kasveista. Villityypin kasveissa *SAG113*-ekspressio oli korkeampaa lehdissä, jotka olivat seneskeettisessä tilassa verrattuna nuorempiin lehtiin. ”*Knock-out*” näytteissä *SAG113*-ekspressiota oli paljon vähemmän. Näin ollen näyttäisi, että *SAG113*-geeni on riippuvainen *AtNAP*-transkriptiotekijän aktiivisuudesta. He saivat selville myös, että ABA:lla indusoitu *SAG113* ”*knock-out*”-kasvien

ekspressio oli hyvin alhaista, eli kyseessä olisi todennäköisesti toisistaan riippuvainen ABA-AtNAP-SAG113-säätelyketju (Zhang & Gan, 2012).

Zhang & Gan (2012) keskustelevat ongelmasta, jonka mukaan ABA:n tehtävänä on tunnetusti sulkea ilmaroot kuivassa ympäristössä. Miksi siis ABA aiheuttaisi reaktion, joka saisi aikaan ilmarakojen aukiolon? Uskotaan, että kyseinen säätelyketju on kehittynyt vastustamaan ABA:n normaalia reaktiota seneskenssin aikana, jotta se voisi edetä mahdollisimman nopeasti ja estämään esimerkiksi mahdolliset patogeenien hyökkäykset (Zhang & Gan, 2012).

3.2.3 WRKY-transkriptiotekijät

Yksi tutkituimmista transkriptiotekijöistä liittyen seneskenssiin on suuri WRKY-transkriptiotekijäperhe (Eulgem, Rushton, Robatzek, & Somssich, 2000). WRKY-transkriptiotekijöillä on kyky liittyä DNA:n niin sanottuun W-box sekvenssialueeseen ((T)(T)TGAC(C/T)). Uskotaan, että moni WRKY-transkriptiotekijä on osallisena lehtien seneskenssissä, abioottisessa ja bioottisessa stressireaktiossa, sekä eri kehityksen vaiheissa (Eulgem ym. 2000; Ryun Woo ym. 2013). Näin ollen ne vaikuttavat myös *SA*-geenien ekspressioon (Eulgem ym. 2000).

Miao ym. (2004) tekemässä tutkimuksessa selvitettiin WRKY53-transkriptiotekijän toimintaa ja vaikutuksia *Arabidopsis*-kasvin lehtien seneskenssissä. He huomasivat, että kun *WRKY52*:a yliekspressoitiin kontrolloimalla geenialuetta CaMV35S-promoottorin avulla, lehtien seneskenssi näytti olevan nopeampaa. *WRKY53*:n ”*knock-out*”-näytteissä taas lehtien kehitys ja seneskenssiin eteneminen oli hitaampaa. Miao ym. (2004) saivat myös selville, että WRKY53 vaikuttaa suoraan *SA*-geeneihin sekä muihin transkriptiotekijöihin, kuten WRKY6 ja WRKY13 (Miao, Laun, Zimmermann, & Zentgraf, 2004). Se toimii siis todennäköisesti signaalinvälitysketjun alkupäässä ja näin ollen sillä on suuri merkitys seneskenssiin. Tutkimuksessa halutaan kuitenkin painottaa, että WRKY-transkriptiotekijöiden yhteisvaikutus ei ole vain suora välitysketju, vaan ennemminkin verkosto, sillä WRKY:t pystyvät liittymään samoihin W-box promoottorialueisiin (Miao ym. 2004).

WRKY6 on toinen WRKY-transkriptiotekijäperheen jäsen, jonka ekspressiotasot ovat suurimmillaan lehtien seneskenssin, mutta myös puolustusreaktioiden aikana (Robatzek & Somssich, 2002). Robatzek ja Somssich (2002) tutkivat *WRKY6*:n ekspressiota seneskenssin aikana eri mutaatioiden avulla ja koittivat saada selville *WRKY6*:n kohdegeenejä. Geeninpoistomutantit *wrky6-2*:n teossa hyödynnettiin *frame-shift*-mutaatiota, jonka takia *WRKY6*:n avoimesta lukukehyksestä puuttuu 56 emäsparia STOP-kodonin takia. Yliekspressoituneissa mutanteissa he käyttivät taas aiemmin luotuja siirtogeenisiä linjoja. Robatzek ja Somssich (2002) saivat selville, että *WRKY 6* vaikuttaa *PRI*-geenin promoottoriin, joka on osallisena seneskenssin ja patogeenien aiheuttamissa stressireaktioissa. *WRKY6* vaikuttaa myös *SA*-geeniin *SIRK*, joka on tiedettävästi ainoa kasvien reseptoriproteiini, jota ekspressoidaan vain lehtien seneskenssin aikana. *SIRK*:n määrä nousi yliekspressoituneissa näytteissä ja laski geeninpoistomutantissa radikaalisti (Robatzek & Somssich, 2002).

4. Johtopäätökset

Lehtien seneskenssiin vaikuttavia vuorovaikutuksia huomataan muun muassa ympäristön ja hormonien välillä. Hormonien signalointireitit yhtyvät ja päättyvät odotettavasti *SA*-geeneihin, mikä tekee yksittäisten vaikuttajien, kuten transkriptiotekijöiden roolin määrittämisestä hankalaa (Gan & Amasino, 1997; Taiz & Zeiger, 2003; Zhang & Gan, 2012). Vaikka seneskenssi on hyvin tutkittu aihe, on kasvien iän ja ympäristön yhteisvaikutuksissa vielä paljon harmaata aluetta. Tätä hankaloittaa ympäristön vaikutusten, kuten kuivuuden, valon, patogeenien, hormonien ja ynnä muiden osatekijöiden kontrolloiminen tutkimusten aikana (Gan & Amasino, 1997; Khan ym. 2014; Ok Lim ym. 2007). Tulosten ymmärtämistä ja soveltamista muihin tilanteisiin estää myös vain yksittäisten kasvilajien, kuten *Arabidopsis thaliana*:n hyödyntäminen (Gepstein ym. 2003; Guo & Gan, 2005).

Kyky kontrolloida seneskenssin aloitusajankohtaa maataloudessa on tärkeää. Sen avulla maanviljelijät pystyisivät muun muassa ajoittamaan viljelyskasvien sadonkorjuun ja näin maksimoida satoisuuden ja sen laadun (Yadava ym. 2018). Tutkimusten perusteella näyttäisi siltä, että tulevaisuudessa kasvihormonien ja geenimutaatioiden avulla tämä olisi mahdollista. Kasvihormonien vaikutukset lehtien seneskenssiin vaihtelevat kuitenkin suuresti. Muun muassa

etyleeni ja abskissihappo näyttäisivät nopeuttavat lehtien seneskenssiä, mutta ne eivät itsessään pysty sitä aiheuttamaan, vaan ne tarvitsevat ARC:ja eli iän aiheuttamia muutoksia (Ghanem ym. 2008; Weaver ym. 1998). Tämä rajoittaa niiden hyödyntämistä vain vanhempiin viljelyskasveihin. Sytokiniinit ja auksiini taas näyttäisivät hidastavan lehtien seneskenssiä, mutta monimutkaisten signaalinvälitysketjujen takia siitä ei ole vielä varmuutta ainakaan auksiinin kohdalla (Jibrán ym. 2013; Ok Lim ym. 2007). Kasvihormonien vaikutukset eivät kuitenkaan ole yksiselitteisiä, vaan ne ovat osana suurta signaaliverkosta, jotka vaikuttavat transkriptiotekijöihin ja geeneihin (Ok Lim ym. 2007) Esimerkiksi ORE1-transkriptiotekijä toimii yhteisvaikutuksessa etyleenin kanssa, joka saa aikaan seneskenssiä vanhemmissa lehdissä, kun taas ABA on osana ABA-AtNAP-SAG113-säätelyketjua (Alonso ym. 1999; Zhang & Gan, 2012). Näin ollen altistamalla kasveja eri hormoneille tai manipuloimalla geeniekspressiota pystytään vaikuttamaan lehtien seneskenssin ajoitukseen, mutta tutkimusta hankaloittaa monimutkainen signaalinvälitysketjujen verkosto.

Lehtien seneskenssi on tärkeä osa kasvien elinkaarta. Vaikka sen mekanismeja ja vaikuttajia ei vielä ymmärretä, saavuttaa se kiinnostusta uusien tutkimusten myötä. Uutta tietoa voidaan tulevaisuudessa mahdollisesti hyödyntää viljelyskasvien tuotannon parantamisessa.

5. Viitteet

- Alonso, J. M., Hirayama, T., Roman, G., Nourizadeh, S., Ecker, J. R., Choi, S. H., ... Nam, H. G. (1999). EIN2, a bifunctional transducer of ethylene and stress responses in Arabidopsis. *Science (New York, N.Y.)*, 284(5423), 2148–2152. <https://doi.org/10.1126/science.284.5423.2148>
- Balazadeh, S., Siddiqui, H., Allu, A. D., Matallana-Ramirez, L. P., Caldana, C., Mehrnia, M., ... Mueller-Roeber, B. (2010). A gene regulatory network controlled by the NAC transcription factor ANAC092/AtNAC2/ORE1 during salt-promoted senescence. *The Plant Journal*, 62(2), 250–264. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04151.x>
- Buchanan-Wollaston, V., Page, T., Harrison, E., Breeze, E., Pyung, O. L., Hong, G. N., ... Leaver, C. J. (2005). Comparative transcriptome analysis reveals significant differences in gene expression and signalling pathways between developmental and dark/starvation-induced senescence in Arabidopsis. *Plant Journal*, 42(4), 567–585.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02399.x>

- Eulgem, T., Rushton, P. J., Robatzek, S., & Somssich, I. E. (2000). The WRKY superfamily of plant transcription factors. *Trends in Plant Science*, 5(5), 199–206. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10785665>
- Farage-Barhom, S., Burd, S., Sonego, L., Mett, A., Belausov, E., Gidoni, D., & Lers, A. (2011). Localization of the Arabidopsis Senescence- and Cell Death-Associated BFN1 Nuclease: From the ER to Fragmented Nuclei. *Molecular Plant* •, 4, 1062–1073. <https://doi.org/10.1093/mp/ssr045>
- Gan, S., & Amasino, R. M. (1997). *Making Sense of Senescence' Molecular Genetic Regulation and Manipulation of Leaf Senescence GENETIC REGULATION OF LEAF SENESCENCE: LEAF SENESCENCE AS A FORM OF PCD. Plant Physiol* (Vol. 113). Retrieved from www.plantphysiol.org
- Gepstein, S., Sabehi, G., Carp, M.-J., Hajouj, T., Neshet, M. F. O., Yariv, I., ... Bassani, M. (2003). Large-scale identification of leaf senescence-associated genes. *The Plant Journal*, 36(5), 629–642. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01908.x>
- Ghanem, M. E., Albacete, A., Martínez-Andújar, C., Acosta, M., Romero-Aranda, R., Dodd, I. C., ... Pérez-Alfocea, F. (2008). Hormonal changes during salinity-induced leaf senescence in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Journal of Experimental Botany*, 59(11), 3039–3050. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern153>
- Grbid, V., & Bleeker, A. B. (1995). *Ethylene regulates the timing of leaf senescence in Arabidopsis. The Plant Journal* (Vol. 8).
- Guo, Y., & Gan, S. (2005). Leaf senescence: signals, execution, and regulation. *Current Topics in Developmental Biology*, 71, 83–112. [https://doi.org/10.1016/S0070-2153\(05\)71003-6](https://doi.org/10.1016/S0070-2153(05)71003-6)
- Guo, Y., & Gan, S. (2006). AtNAP, a NAC family transcription factor, has an important role in leaf senescence. *The Plant Journal*, 46, 601–612. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02723.x>
- He, Y., Fukushige, H., Hildebrand, D. F., & Gan, S. (2002). Evidence supporting a role of jasmonic acid in Arabidopsis leaf senescence. *Plant Physiology*, 128(3), 876–884.

<https://doi.org/10.1104/pp.010843>

- Hou, K., Wu, W., & Gan, S. S. (2013). SAUR36, a SMALL AUXIN UP RNA gene, is involved in the promotion of leaf senescence in arabidopsis. *Plant Physiology*, *161*(2), 1002–1009. <https://doi.org/10.1104/pp.112.212787>
- Jibrán, R., Hunter, D. A., & Dijkwel, P. P. (2013). Hormonal regulation of leaf senescence through integration of developmental and stress signals. *Plant Molecular Biology*, *82*(6), 547–561. <https://doi.org/10.1007/s11103-013-0043-2>
- Khan, M., Rozhon, W., & Poppenberger, B. (2014). The role of hormones in the aging of plants - a mini-review. *Gerontology*, *60*(1), 49–55. <https://doi.org/10.1159/000354334>
- Kim, H. J., Ryu, H., Hong, S. H., Woo, H. R., Lim, P. O., Lee, I. C., ... Hwang, I. (2006). Cytokinin-mediated control of leaf longevity by AHK3 through phosphorylation of ARR2 in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *103*(3), 814–819. <https://doi.org/10.1073/pnas.0505150103>
- Lee, I. C., Hong, S. W., Whang, S. S., Lim, P. O., Nam, H. G., & Koo, J. C. (2011). Age-dependent action of an ABA-inducible receptor kinase, RPK1, as a positive regulator of senescence in Arabidopsis leaves. *Plant & Cell Physiology*, *52*(4), 651–662. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcr026>
- Matallana-Ramirez, L. P., Rauf, M., Farage-Barhom, S., Dortay, H., Xue, G.-P., Dröge-Laser, W., ... Mueller-Roeber, B. (2013). NAC Transcription Factor ORE1 and Senescence-Induced BIFUNCTIONAL NUCLEASE1 (BFN1) Constitute a Regulatory Cascade in Arabidopsis. *Molecular Plant*, *6*, 1438–1452. <https://doi.org/10.1093/mp/sst012>
- Miao, Y., Laun, T., Zimmermann, P., & Zentgraf, U. (2004). Targets of the WRKY53 transcription factor and its role during leaf senescence in Arabidopsis. *Plant Molecular Biology*, *55*(6), 853–867. <https://doi.org/10.1007/s11103-005-2142-1>
- Ok Lim, P., Jung Kim, H., & Gil Nam, H. (2007). Leaf Senescence. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105316>
- Rauf, M., Arif, M., Dortay, H., Matallana-Ramírez, L. P., Waters, M. T., Gil Nam, H., ... Balazadeh, S. (2013). ORE1 balances leaf senescence against maintenance by antagonizing

- G2-like-mediated transcription. *EMBO Reports*, 14(4), 382–388.
<https://doi.org/10.1038/embor.2013.24>
- Robatzek, S., & Somssich, I. E. (2002). Targets of AtWRKY6 regulation during plant senescence and pathogen defense. *Genes and Development*, 16(9), 1139–1149.
<https://doi.org/10.1101/gad.222702>
- Ryun Woo, H., Jung Kim, H., Gil Nam, H., & Ok Lim, P. (2013). Plant leaf senescence and death-regulation by multiple layers of control and implications for aging in general. *Journal of Cell Science*, 126, 4823–4833. <https://doi.org/10.1242/jcs.109116>
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2003). *Plant Physiology*, 3rd ed. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg079>
- Wasternack, C. (2007). Jasmonates: an update on biosynthesis, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. *Annals of Botany*, 100(4), 681–697.
<https://doi.org/10.1093/aob/mcm079>
- Weaver, L. M., Gan, S., Quirino, B., & Amasino, R. M. (1998). A comparison of the expression patterns of several senescence-associated genes in response to stress and hormone treatment. *Plant Molecular Biology*, 37(3), 455–469. <https://doi.org/10.1023/A:1005934428906>
- Yadava, P., Singh, A., Kumar, K., Sapna, & Singh, I. (2018). Plant senescence and agriculture. In *Senescence Signalling and Control in Plants* (pp. 283–302). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813187-9.00018-4>
- Zhang, K., & Gan, S.-S. (2012). An Abscisic Acid-AtNAP Transcription Factor-SAG113 Protein Phosphatase 2C Regulatory Chain for Controlling Dehydration in Senescing Arabidopsis Leaves. *Plant Physiology*, 158(2), 961. <https://doi.org/10.1104/PP.111.190876>