

CRF转录因子调控植物生长发育的研究进展

杨蕾, 洪林*, 王武, 杨海健

重庆市农业科学院果树研究所, 重庆401329

摘要: 细胞分裂素应答因子(cytokinin response factors, CRFs)是植物特有的转录因子, 属于AP2/ERF家族的亚组成员。CRFs在细胞分裂素二元组分信号通路分支中发挥作用。最近研究表明CRFs参与植物胚胎形成、种子发育、根系生长以及叶片衰老等过程, 在低温、氧化、盐等胁迫响应中起重要的调控作用。本文简要介绍了CRFs转录因子特征及其在细胞分裂素信号途径的作用, 重点阐述CRFs调控植物生长发育、胁迫响应等方面的研究进展。

关键词: 细胞分裂素应答因子; 生长发育; 胁迫; 调控

细胞分裂素(cytokinin, CK)是植物生长发育激素之一, 至今已陆续发现30多种具有活性的天然细胞分裂素。CK具有广泛的生物学功能, 在参与芽分化、种子发育、根系生长、叶片衰老和非生物胁迫响应等许多方面发挥关键调控作用。目前, 对CK信号响应和转导机制已有较为系统的认识(Kang等2017)。细胞分裂素应答因子(cytokinin response factors, CRFs)是一类重要的细胞分裂素响应因子(Rashotte和Goertzen 2010), 参与调节CK信号通路, 在植物生殖生长、根系构型、叶片发育以及盐、低温、氧化、营养等非生物胁迫响应等生物学过程中起重要作用(Qin等2017; Keshishian 2018; Brooks等2019)。近年来, CRFs的生物学功能研究受到较多的关注。本文就其相关研究进展进行综述, 旨在为后续工作提供一些参考。

1 CRFs转录因子特征

CRFs于2006年首次被报道, 是植物中普遍存在的一类小基因家族, 属于AP2/ERF转录因子超家族(Rashotte等2006; Rashotte和Goertzen 2010)。CRFs位于AP2/ERF蛋白B-5 (VI)和B-6 (VI-L)系统发育分支中, 保守的CRF蛋白结构中包含1个参与蛋白质互作的N端CRF结构域、1个参与DNA结合的AP2结构域和1个功能未知的特异性C端区域, 部分CRF包含THE (Thr-Glu-His)区和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activating protein kinase, MAPK)磷酸化位点(图1) (Cutcliffe等2011; Kim 2016; Striberly等2017)。根据蛋白结构特征对不同物种CRFs

的分类略有不同。目前在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中已发现大约10~12个CRF基因, 根据特异性C端结构域可进一步分为I~V 5个不同亚组(Zwack等2012)。而在番茄(*Solanum lycopersicum*)中, 11个CRFs被分为三类: SICRF1、2、4~6和9~11具有典型的CRF蛋白保守结构域, SICRF7和SICRF8缺少3'端结构和磷酸化位点[SP(T/V)SVL], SICRF3则包含有2个CRF结构域和2个AP2结合域, 暗示其发生过基因复制事件(Shi等2012)。Liu等(2013)在甘蓝型油菜(*Brassica napus*)中发现21个具有保守CRF结构域的BrCRFs, 并将其分为A、B、C三类: A型含有11个CRF蛋白(BrCRF1~8和BrCRF13~15), 含有1个特异的CRF结构域、1个AP2结构域、1个假定的MAPK磷酸化位点和N端TEH区, 与拟南芥CRF1~6相似; B型包括BrCRF9~12, 含有1个CRF结构域和AP2结合域, 但缺少TEH区和磷酸化序列, 与拟南芥CRF7~8类似; C型由BrCRF16~21组成, 类似于拟南芥CRF9~12。

CRFs主要定位于细胞核内, 少数位于线粒体(BrCRF9~12)和叶绿体(BrCRF21)中(Liu等2013)。序列分析显示部分CRF基因的启动子中含有多个B型ARR (Arabidopsis response regulator)的结合位点, 表明CRFs可能是B型ARR的直接靶标(Rashotte

收稿 2020-04-28 修定 2020-06-05

资助 重庆市基础研究与前沿探索项目(cstc2018jcyjAX0494)和重庆市科研院所绩效激励引导专项(cstc2018jxjl80019)和重庆市民生科技创新专项重点项目(cstc2016shms-ztxx80002)。

* 通讯作者(350971781@qq.com)。



图1 CRF转录因子结构域简图

Fig.1 The diagram domain of CRF transcription factor

等2006)。CRFs能与下游靶基因GCC (AGCCGCC) 或者DRE (A/GCCGAC)序列结合, 进而调节基因的表达(Weirauch等2014)。最近, Powell等(2019)对59个物种的346个CRF基因的启动子序列进行了MEME分析, 结果显示所有序列第30~31位均为高度保守的GC, 所有亚组均包含(CT)ⁿ或(GA)ⁿ的二核苷酸重复基序(motif)。对其结合位点进行深度分析发现, CRF启动子序列中存在大量的激素和胁迫应答元件。其中, 亚组I包含乙烯(ethylene, ET)、脱落酸(abscisic acid, ABA)和油菜素内酯(brassinosteroid, BR)应答元件; 亚组II主要与胁迫响应有关; 亚组III与CK、ET、ABA响应有关; 而亚组IV存在大量ET和生长素应答元件基序; 亚组V特异性结合赤霉素(gibberellic acid, GA), 包含大量叶片和花发育相关基因结合基序(Powell等2019)。

2 CRFs在CK信号途径中的作用

拟南芥中, CK依赖于双元组分系统(two component system, TCS)实现信号转导, CK与感应器组氨酸激酶受体(Arabidopsis histidine kinase, AHK2~4)结合发生磷酸化, 进而将磷酸化基团传递给组氨酸磷酸转移蛋白(Arabidopsis histidine phosphotransfer proteins, AHP1~5), 再由后者传递给B型ARRs (Hwang等2012)。B型ARRs (ARR1、2、10~14、18~21)正向调节CK信号途径, 而A型ARRs (ARR3~9、15~17)负调节CK信号途径(Rashotte等2006)。最早研究发现拟南芥CRF2和CRF5的转录受CK调控。CRFs既为ARRs的靶标, 又可直接与AHPs互作。而CK通过AHK及AHP而不依赖ARRs诱导CRF进入细胞核与B型ARRs协同调控部分CK信号响应基因的表达, 推测在CK信号途径中CRFs可能处于与ARRs平行的位置(Rashotte等2006)。酵母双杂交系统和双分子荧光互补实验发现CRFs可形成同型和异型二聚体, CRF1~8与多数AHP1~5蛋白之间存在特异性互作, 进一步证明了CRFs与CK信号通

路的联系(Cutcliffe等2011)。可见, CRFs在双组分信号系统支路中起复杂的调控作用。另有研究表明, 多数CRFs的表达受环境胁迫和激素调控, 然而部分CRFs对CK不敏感(Zwack等2016a; Varala等2018; Powell等2019)。

3 CRFs与植物生长发育

3.1 生殖生长

CRFs具有广泛的生物学功能(表1)。关于CRFs参与植物胚发育的研究表明, 与其他crf突变体组合相比, CRF5和CRF6所有独立等位基因组合均导致胚致死表型(Rashotte等2006), 但目前关于胚致死的详细机制尚不明确。crf5crf6双突变体杂交F₂代中, 大约25%的种子发生胚败育, 胚无法从球形晚期发育到心形早期阶段, 而crf5和crf6单突变体的胚可正常发育。此外, 转CRF5基因可恢复crf5和crf6纯合突变体的正常表型。可见, CRF5和CRF6是植物胚发育的关键调控因子, 两者可能存在功能冗余(Rashotte等2006)。研究表明, 拟南芥CRF2、CRF3、CRF6在胚中特异性表达, 功能缺失突变体呈现非典型细胞分裂或多胚形成的表型。在crf2和crf3单突变体以及crf3crf6双突变体中, 异常胚发生频率大约是野生型的10倍(Šimášková等2015)。生长素转运突变体pin1和pin7显示相似的胚发育表型, 说明胚发育异常也与生长素运输受损有关(Šimášková等2015)。此外, 科学家利用转录组从头组装技术从软木橡树(*Quercus suber*)中鉴定了1 159个差异表达的转录因子, 包含AIL (AINTEGUMENTA-like)、PLETHORA、CRF、GATA以及ARF (auxin response factor)等在内约76%的转录因子在胚发育过程中发挥重要作用, 进一步分析表明QsCRF3参与了CK介导的软木橡树体细胞胚胎发育(Capote等2019)。

CRFs在种子发育中发挥重要作用。与野生型相比, 拟南芥crf2crf5crf6、crf1crf3crf5crf6多重突变体和crf1/CRF1crf2crf5crf6株系的果荚更小, 种

表1 不同物种来源主要CRFs基因及其功能

Table 1 The functions of main CRFs from different species

物种	基因名称	主要功能	参考文献
拟南芥	<i>CRF1</i>	盐胁迫响应; 胚发育	Raines等2016; Keshishian 2018
	<i>CRF2</i>	盐、冷、生物胁迫响应; 生长素运输调控; 向重力性; 胚发育	Rashotte等2006; Šimášková等2015; Cucinotta等2016; Jeon等2016; Kwon 2016; Keshishian 2018; Waidmann等2019
	<i>CRF3</i>	冷胁迫响应; 向重力性; 生长素运输调控; 胚发育	Šimášková等2015; Cucinotta等2016; Jeon等2016; Waidmann等2019
	<i>CRF4</i>	冷、氮素胁迫响应	Zwack等2016a; Varala等2018; Brooks等2019
	<i>CRF5</i>	氧化和生物胁迫响应; 生殖发育	Rashotte等2006; Liang等2010; Ng等2013; Zwack等2016b
	<i>CRF6</i>	氧化胁迫响应; 生长素运输调控; 生殖发育; 延缓叶片衰老	Rashotte等2006; Zwack等2016b; Cucinotta等2016; Šimášková等2015
番茄	<i>SlCRF1</i>	高温、冷、盐 and 干旱胁迫响应; 果实发育	Shi等2012; Shi等2014; Bianchetti等2018
	<i>SlCRF2</i>	氧化和冷胁迫响应; 果实发育	Shi等2012; Shi等2014; Bianchetti等2018
	<i>SlCRF3</i>	氧化和干旱胁迫响应	Shi等2012; Gupta等2014
	<i>SlCRF5</i>	涝害、干旱、冷和氧化胁迫响应; 根、叶、花和果实发育	Shi等2012; Gupta等2014; Bianchetti等2018
花椰菜	<i>BoCRF2</i>	干旱和盐胁迫响应	Li等2017
	<i>BoCRF6</i>	干旱胁迫响应	Li等2017
甘蓝	<i>BrCRF5</i>	盐胁迫响应	Liu等2013
刚毛柃柳	<i>ThCRF1</i>	盐胁迫响应	Qin等2017
软木橡树	<i>QsCRF3</i>	体细胞胚发育	Capote等2019
白菜	<i>BrCRF11</i>	根系发育	Kong等2018

子数更少, 这可能是配子体败育与胚胎致死共同作用的结果(Raines等2016)。*crf3*和*crf6*单突变体以及*crf3crf6*双突变体中胚珠数量未发生明显变化, *crf2*单突变体和*crf2crf3*双突变体胚珠数显著减少, 而*crf2crf6*双突变体的胚珠数与野生型相当, 说明*CRF2*和*CRF6*之间可能存在功能补偿(Cucinotta等2016)。同样, *crf2crf3crf6*三突变体中每雌蕊发育形成的胚珠数量、胎盘平均长度和胚珠密度显著小于野生型, 6-苄基氨基嘌呤(6-benzylaminopurine, 6-BA)可增加*crf2crf3crf6*三突变体胎盘的的平均长度和胚珠密度, 但增幅明显低于野生型, 这一结果表明*CRF2*、*CRF3*和*CRF6*功能缺失大大降低了植物对CK的响应能力(Cucinotta等2016)。此外, *crf1*和*crf2*单突变体种子大小和体积显著大于野生型, 且两突变体之间存在明显差异, 过表达*CRF2*对种子表型影响极小(Keshishian 2018)。

3.2 根系生长

CRFs在植物主根和侧根发育中起重要作用。

研究发现许多CRFs在拟南芥根中高表达(Raines等2016; Zwack等2016b)。*CRF1*、*CRF3*、*CRF5*过表达株系的主根伸长生长无明显差异; 而与野生型相比, 发芽后第10天时*crf1*突变体的主根显著变长, *crf2crf5crf6*三突变体略小, *crf1crf3crf5crf6*四突变体在萌发后5、7、10 d内显著抑制根系生长。说明CRFs在根伸长生长过程中起重要作用(Raines等2016)。*CRF3*和*CRF5*过表达的幼苗侧根较多, 而*crf2crf5crf6*和*crf1crf3crf5crf6*多重突变体的侧根数量显著少于野生型, 表明CRFs正调控植物侧根的生长发育(Raines等2016)。Kong等(2018)研究发现*CRF11*在白菜(*Brassica rapa*)根中优先表达。*BrCRF11a*为*AtCRF11*的直系同源基因, 与野生型相比, 发芽5 d后*Atcrf11*突变体的根长度变短, 而过表达*BrCRF11a*的拟南芥主根长度显著增加。同样, *BolCRF11*、*BniCRF11a*和*BniCRF11b*在根中的相对表达水平较高, 表明*CRF11s*与根的生长有关。然而, *BnaCRF11a*和*BnaCRF11b*在根中的相对表达水

平较低。因此, *CRF11s*在白菜、甘蓝(*Brassica oleracea*)和甘蓝型油菜中是否存在功能分化有待进一步研究。

CK促进根尖细胞的分化, 根尖分生组织(root apical meristem, RAM)的大小受CK负调控。在缺乏CK的条件下, 野生型植株的RAM更小, *crf1crf3-crf5crf6*和*crf2crf5crf6*多重突变体的主根明显缩短, 且两者对RAM大小的影响与根表型一致, *CRF5*过表达系具有较大的RAM (Raines等2016)。此外, CRFs调节细胞分裂和周期关键基因*STIP* (*STIMPY*)的表达, 反之*STIP*可影响A型ARRs和CRFs介导的下游CK信号响应, 并在*STIP*和*CRF*之间形成反馈回路, 调节根分生组织的细胞增殖。CK也可能通过CRF/*STIP*独立机制促进细胞分化(Raines等2016)。

最近研究发现CRFs介导生长素和CK信号交叉互作调节根系的重力响应。全基因组关联分析显示CK影响侧根与主根在发育过程中相对角度(Waidmann等2019)。*CRF2*和*CRF3*在侧根发育早期高水平表达, 且*CRF3*优先在皮层和表皮细胞中表达。与新发侧根相比, 主根中*CRF2*和*CRF3*的表达水平较低(Waidmann等2019)。*CRF2*和*CRF3*功能缺失导致侧根弯曲度增大, 而过表达*CRF2*和*CRF3*植株侧根与主根的相对角度变大, 呈水平生长状态。这表明*CRF2*和*CRF3*调控侧根发育过程中的重力响应。而*crf2*和*crf3*单突变体根系生长角度变化对CK不敏感, 这说明CK信号可通过整合*CRF2*和*CRF3*转录因子调节侧根的生长角度。*crf1crf3-crf5crf6*四突变体中细胞周期相关基因*CDKBI*下调表达, 暗示CRF依赖的细胞周期控制可能促进CK介导的向重力性定点角(gravitropic set point angle, GSA)的建立(Waidmann等2019)。

3.3 叶片衰老

科学家发现AHKs、B型ARRs和CRFs等CK信号元件在植物衰老调控方面起关键作用。研究表明CK可延缓野生型拟南芥叶片衰老, 暗培养条件下AHK3是介导此反应过程的关键因子。*CRF6*在AHK3介导的CK信号途径下游发挥作用, 与*ahk3*突变体相似, *crf6*突变体叶片对CK效应的敏感性降低。相比野生型, *ahk3*突变体中*CRF6*对CK的敏感性也明显减弱(Zwack等2013)。在无外源CK

条件下, 相比野生型植株, 过表达*CRF6*加快叶片发育速度, 显著提高叶片叶绿素含量, 且*crf6*突变体比野生型植株的单果衰老更早, 说明*CRF6*在延迟叶片衰老方面起重要作用(Zwack等2013)。另有研究发现AHK3可磷酸化激活ARR2活性, 同时诱导*CRF6*的转录, ARR2和*CRF6*两者互作调控细胞壁转化酶(cell wall invertase, CWINV)相关基因的表达以抑制衰老进程, CWINV在植物蔗糖卸载、抗衰老和信号转导过程中发挥重要作用, 由此推测AHK3及其下游ARR2和*CRF6*共同参与调节CWINV介导的衰老信号网络, 此调控过程中ARR2是否直接调节*CRF6*的表达仍不清楚(Zwack和Rashotte 2013)。除CK-AHK3-*CRF6*途径, 非生物胁迫也可通过不依赖于AHK3的ARR2-*CRF6*途径调控叶片衰老进程, 说明*CRF6*与CK、非生物胁迫之间存在独特联系(Zwack等2013)。

Raines等(2016)研究发现*crf1crf3crf5crf6*四突变体和*crf1/CRF1crf2crf5crf6*株系表现为延缓衰老, *CRF1*、*CRF3*和*CRF5*过表达植株表现叶片早期衰老。衰老标记基因*SAG12*在衰老叶片中高表达, 而叶绿素A/B结合蛋白2基因*CAB2* (*Chlorophyll A/B binding protein 2*)伴随叶绿体功能下降而下调表达水平(Woo等2010)。对两者分析显示, 在5周龄*CRF1*、*CRF3*和*CRF5*过表达株系中, *SAG12*基因表达水平明显增加, *CAB2*表达水平下降, 这与叶片衰老的早期表型一致。而不同*crf*功能缺失系中*SAG12*和*CAB2*转录水平与野生型叶片相当, 这可能是此时期突变体的叶片衰老进程尚未启动所致(Raines等2016)。

3.4 果实发育

植物可利用光敏色素(phytochrome, phy)感受红光/远红光, 参与调节植物从种子萌发到果实成熟的多个发育过程。Bianchetti等(2018)对番茄(*Solanum lycopersicum*) *phy*突变体的研究表明, SIPHYA (phytochrome A)和SIPHYB2影响果实的发育和成熟, 两者在调控番茄质体的生物发生和成熟过程中起着相反的作用。SIPHYA通过调节光和CK信号相关基因的表达, 正调控番茄质体的分化和分裂, 而SIPHYB1不具备此功能。在番茄*PHYA* RNAi系的果实中, *SICRF3*和*SICRF9*表达水平未发生明显

变化, 而*SICRF1*、*SICRF2*、*SICRF5*的表达水平显著下调(Bianchetti等2018)。PDV2 (plastid division 2)是叶绿体外膜上调控叶绿体分裂的关键蛋白之一, 其决定叶绿体分裂的速率, 受CK调控, 过表达*CRF2*拟南芥植株*PDV2*的转录水平显著上调, 表明*CRF2*正向调节*PDV2*基因的表达(Cortleven和Schmülling 2015)。番茄*PHYA* RNAi系中*SIPDV2*表达同样受到显著抑制, 表现出类似的调控机制(Bianchetti等2018)。此外, 番茄*PHYA* RNAi系的果实*TRR* (tomato response regulator)转录水平也受明显影响, 表明红光受体光敏色素PHY和CK信号级联之间存在交叉互作, CRF和A型ARRs参与CK信号响应介导番茄果实发育早期阶段质体分裂的调控。

3.5 CRFs与生长素协同调控植物生长

CK和生长素之间存在显著的拮抗作用(Schaller等2015)。生长素转运蛋白PIN (pin-formed)负责生长素在细胞间的极性运输, PIN1和PIN7受CK的调节(Šimášková等2015)。最近研究发现PIN可作为CRFs的靶点, 在CRFs调节植物体内生长素分布方面起关键作用(Cucinotta等2016)。染色质免疫沉淀和荧光素酶报告基因分析证明*CRF2*和*CRF6*通过与PIN启动子区PCRE (pin cytokinin response element)元件结合调控PIN的转录。敲除PCRE元件导致PIN表达对CK不敏感, 同时减弱了根有丝分裂和侧根起始生长对CK的敏感性(Šimášková等2015)。CRF2或CRF6过表达上调PIN1和PIN7的表达水平, 而在*crf2*、*crf3*和*crf6*单突变体中PIN1和PIN7的表达水平下调, 外施CK后显著降低*crf2*、*crf3*和*crf6*单突变体花序中的PIN1表达水平, 说明CRF通过依赖CK调节PIN1表达(Cucinotta等2016)。此外, *crf2*和*crf3*单突变体以及*crf3crf6*双突变体除根长度减少、根有丝分裂减弱和侧根起始生长延迟外, 与生长素转运缺陷突变体的表型相似(Šimášková等2015)。说明CRFs作为CK信号途径的下游组分, 调节PIN表达影响生长素的转运能力。Tian等(2014)对腋芽分生组织和器官边界组织细胞全基因组表达图谱进行分析, 发现边界组织中与核糖体结合的转录体可被CK相关基因富集。酵母单杂交筛选发现CRF5可与CUC2 (cup-shaped cotyledon 2)转录

因子结合, CUC2又可与腋生分生组织发育相关转录因子LAS (lateral suppressor)互作。CUC2转录因子在植物器官边界分离、叶发育方面发挥着重要作用, 在拟南芥的研究中发现Auxin-PIN1-CUC2分子模块通过调控叶缘生长和叶片局部生长从而影响叶形(Kierzkowski等2019)。因此, CRFs是否参与Auxin-PIN1-CUC2分子网络调控植物边界和器官形成值得进一步研究。

此外, 研究发现CRF2是生长素应答因子MP/ARF5 (monopteros/auxin response factor 5)的靶基因, 被命名为TMO3 (target of monopteros 3), CRF2位于MP/ARF5下游, MP/ARF5介导生长素响应基因的表达, 在胚根原特异性和胚根形成中发挥关键作用(Schlereth等2010)。研究表明PLETHORA和ARF5参与拟南芥根中柱起始发育, CRF2和CRF3与SHY2、BRX、AHP6共同参与CK和生长素交叉互作介导的根内维管系统形成, 说明CK响应相关转录因子与PLETHORA途径之间存在联系(Chávez Montes等2014)。CRF2在ARR12-IAA3/SHY2调控网络中也处于重要节点位置, 平衡生长素和CK输入与输出, 控制生长素极性运输(Ioio等2008)。MP和CRF2对拟南芥愈伤组织新生芽生长至关重要, *crf2*突变体中WUS (wuschel)和STM (shoot meristemless)转录水平下降, 茎尖分生组织(shoot apical meristems, SAMs)形成受阻。而MPΔ突变体通过调节下游STM和CRF2功能促进新生芽的形成(Ckurshumova等2014)。染色质免疫共沉淀(ChIP)分析发现生长素敏感Aux/IAA蛋白BDL (bodenlos)和AXR3 (auxin resistance 3)可与MP的C末端结构域结合形成复合物, 阻遏SWI/SNF ATP酶亚基BRM (brahma)、SYD (splayed)与MP形成转录复合体, 从而抑制TMO3/CRF2、ANT (aintegumenta)基因的表达(Wu等2015)。bdl和axr3单突变体中MP与BRM间的相互作用显著增强。表明生长素增强了MP与BRM和SYD之间的互作(Wu等2015)。另有研究发现CRF3对PIN基因的表达无影响, 但*crf2*突变体CRF3对侧根起始发育具有正调控作用(Jeon等2016; Šimášková等2015), 暗示CRF3可能通过其他途径调控侧根的生长和发育。

4 CRFs与非生物胁迫

4.1 低温胁迫

CRFs在植物低温或冷胁迫响应过程中起关键作用。研究发现4°C低温胁迫可诱导拟南芥根和嫩芽中*CRF4*表达水平增加,胁迫6h后达到峰值,其后维持中等表达水平,说明低温诱导*CRF4*表达可在短时间内增强植物的冷耐受性。进一步分析发现,与野生型相比,4°C条件下*CRF4*过表达植株的发芽率明显降低,幼苗存活率提高,表现出更强的耐受性,而*crf4*敲除突变体对低温更敏感,幼苗的存活率显著降低(Zwack等2016a)。CBF1 (C-repeat binding factor 1)、CBF2、CBF3、ICE1 (inducer of cbf expression 1)和抗冻基因*COR15a*是植物冷信号通路的重要组分,*crf4*突变体中*CBF1*、*CBF2*、*CBF3*、*COR15a*表达下调,而ICE1无变化,过表达*CRF4*增强*COR15a*基因的转录水平(Zwack等2016a)。*crf4*突变体和过表达系中*CBF*和*COR15a*基因表达水平发生明显变化,暗示CRF4与冷信号通路有关。*CBFs*和*COR15a*含有GCC box元件,CRF4蛋白可与GCC box元件结合调控其表达,而*CRF4*启动子区包含CRT/DRE元件,也可作为CBF转录因子的靶标(Weirauch等2014)。说明CRF4在ICE1-CBF信号途径的下游参与冷胁迫的调控。

除CRF4外,CRF2和CRF3参与调节低温胁迫下植物的生长发育。*CRF2*、*CRF4*、*CRF6*、*CRF7*和*CRF11*启动子区含有DRE/CRT元件,而*CRF2*、*CRF3*、*CRF5*、*CRF6*中含有ABRE元件,鉴于结合位点的差异推测CRF2和CRF3可能通过不同的作用机制参与胁迫响应(Compton等2012)。研究发现4°C低温处理6 h后,*CRF3*和*CRF4*在拟南芥芽和根中被持续诱导,而*CRF9*仅在根中上调表达,其诱导表达模式与*CRF3*和*CRF4*不一致(Compton等2012)。与野生型相比,*crf2*和*crf3*单突变体在低温胁迫下表现出侧根起始生长延迟,而*crf2crf3*双突变体与*crf2*和*crf3*单突变体相比,侧根密度更低。相反,*CRF2*或*CRF3*过表达导致侧根密度增加(Jeon等2016)。TCS关键元件功能缺失突变体*ahk2ahk3*、*ahp2ahp3ahp5*以及*arr1arr10arr12*中,CRF2对低温胁迫敏感性大大降低,进一步分析发

现ARR1、ARR10和ARR12与其启动子区的特异位点结合直接调控*CRF2*的表达。而低温胁迫下*CRF3*的表达不受TCS信号元件突变的影响,说明*CRF3*响应低温胁迫与TCS无关(Jeon等2016)。因此,CRF2和CRF3分别通过依赖于TCS和不依赖于TCS的途径响应低温胁迫。

4.2 氧化胁迫

许多非生物胁迫会诱导产生活性氧,从而导致细胞损伤,因此植物维持最低水平的活性氧对其生存至关重要。胁迫条件下,植物可通过线粒体逆行调节(mitochondrial retrograde regulation, MRR)向细胞核发出信号,诱导应答基因的表达。拟南芥中,线粒体功能障碍(mitochondrial dysfunction, MD)诱导*CRF6*表达,CRF6与MDM (mitochondrial dysfunction motif)顺式作用元件发生直接相互作用,增强植物对氧化胁迫的耐受性(De Clercq等2013)。此外,线粒体呼吸链抑制剂抗霉素A (antimycin A)促使膜结合转录因子NAC017 (NAC domain-containing protein17)重新定位于细胞核内,并与*CRF5*和*CRF6*的启动子结合,激活其转录(Ng等2013)。表明CRF5和CRF6及其下游靶基因可能在胁迫诱导的线粒体功能障碍响应中起作用。Zwack等(2016b)研究发现,与野生型相比,氧化胁迫下*crf6*突变体叶片光系统II效率减弱,叶绿素含量降低,而过表达*CRF6*则表现相反。对外施H₂O₂的野生型和*crf6*突变株进行转录组分析,发现CRF6抑制下游*ARR6*、*ARR9*、*ARR11*、*LOG7* (*lonely guy 7*)和*ABCG14*的表达,上述基因功能缺失突变体的表型与过表达*CRF6*植物类似。CRF6可能直接或间接调节其作用靶点,酵母单杂交实验证明CRF6直接与*ARR6*启动子区GCC盒(AGCCGCC)结合,而与其他基因无直接作用关系(Zwack等2016b)。说明CRF6负调控CK响应基因的表达,介导CK与氧化胁迫响应之间的联系。

不同CRFs对胁迫响应的机制存在一定差异。Shi等(2014)研究发现*SICRF1*和*SICRF2*在番茄子叶、根、茎及未成熟果实维管组织中特异性表达,此外,后者在叶原基、根尖和柱头等组织中也呈高表达。低浓度H₂O₂ (10 mmol·L⁻¹)显著上调根中*SICRF2*的表达,但不影响根和叶片*SICRF1*的表达

(Shi等2014)。同样的, *SICRF3*和*SICRF5*在番茄营养和生殖器官中的表达特性存在明显差异。外施BA促进根、茎、叶中*SICRF5*的表达, 而*SICRF3*仅在叶片中上调表达(Gupta等2014)。外施H₂O₂同时促进根中*SICRF3*和*SICRF5*上调表达, 而在叶片中无变化。*Sicrf5*突变体植株叶片形态、主根生长和侧根形成发生变化。可见, *SICRF3*和*SICRF5*是参与调节番茄发育过程中CK或非生物胁迫相关的潜在调控因子(Gupta等2014)。最近, Melton等(2019)在菊科植物*Marshallia caespitosa*中发现*McCRF1*在根和芽组织中受氧化胁迫和CK强烈诱导, 且芽中表达水平显著高于根, 暗示CRFs在多种植物氧化胁迫响应中的功能保守性。

4.3 盐胁迫

CRF1和CRF2在植物盐胁迫响应中发挥关键作用。在拟南芥中, CRF1和CRF2形成一个分支, 受CK诱导上调表达。正常条件下, *crf1*和*crf2*单突变体的CK表达水平相似, 而NaCl处理后野生型和*crf1*突变体的CK水平升高, 而*crf2*突变体中降低。*crf1*和*crf2*单突变体相比野生型具有更高的光系统II效率(Keshishian 2018)。表明CRF1和CRF2可能负调控植物盐胁迫响应, *CRF1*或*CRF2*功能缺失增强植物耐盐性。另有研究发现刚毛柞柳(*Tamarix hispida*) ERF转录因子亚组成员ThCRF1参与盐胁迫响应调控, 染色质免疫共沉淀分析表明ThCRF1可与TTG、DRE和GCC-box等元件结合。对*ThCRF1*过表达和RNAi沉默植株进行电解质渗漏量测定和Evans蓝染色分析发现, 过表达*ThCRF1*可显著提高耐盐性, 相反*ThCRF1* RNAi沉默植株耐盐性显著降低(Qin等2017)。进一步实验表明, ThCRF1诱导P5CS (pyrroline-5-carboxylate synthetase)、TPS (trehalose-6-phosphate synthase)、TPP (trehalose-6-phosphate phosphatase)、SOD和POD编码基因的表达, 提高细胞中脯氨酸和海藻糖含量, 增加SOD和POD活性(Qin等2017)。这表明ThCRF1通过增强海藻糖和脯氨酸的生物合成来调节渗透势, 通过提高SOD和POD活性来激活活性氧清除能力, 增强植株对盐胁迫的耐受性。

Li等(2017)在花椰菜(*Brassica oleracea* var. botrytis)中发现*CRF2a*、*CRF4a*和*CRF6a*参与调控

非生物胁迫, 200 mmol·L⁻¹ NaCl处理4 h后*CRF2a*表达量快速增加, 并在8~24 h内持续增加, 而*CRF4a*和*CRF6a*表达水平也呈升高趋势。此外, *CRF2a*和*CRF6a*表达也受干旱胁迫诱导。正常生长条件下, 相比野生型, 过表达*CRF2a*拟南芥植株表型无差异, 200 mmol·L⁻¹ NaCl处理5~11 d后, 过表达*CRF2a*植株表现出较强的耐盐性, 而野生型表现叶色暗淡、落叶枯萎(Li等2017), 说明*CRF2a*在盐胁迫响应中起重要作用。此外, 番茄*SICRF1*、*SICRF4*和*SICRF6*在盐胁迫1和3 h后表达水平显著上调, 而*SICRF2*、*SICRF5*和*SICRF7*仅被少量诱导(Shi等2012)。Liu等(2013)从甘蓝型油菜基因组中鉴定了21个BrCRFs, *BrCRF5*相比其他CRFs对盐胁迫更加敏感, 200 mmol·L⁻¹ NaCl处理8 h后表达水平增加70倍, 而*BrCRF10*和*BrCRF12~18*表达受抑制, 表明CRFs可能通过复杂的信号网络参与调控植物盐胁迫响应。

4.4 氮和磷

氮和磷是植物生长发育所必需的物质, 为此植物进化出多种营养平衡策略。CK代谢和信号传导与氮的利用率密切相关, 氮信号网络与CK协同调控芽和根的发育(Gua等2018)。研究发现不同CRF对氮响应表现出组织特异性, 拟南芥根和芽中CRF3、CRF4、CRF11均对氮响应敏感, 而CRF1、CRF2、CRF5、CRF6、CRF10和CRF11仅在芽中表现敏感(Zwack等2016a)。低氮胁迫下, *CRF6*和*CRF7*上调表达, *CRF2*、*CRF8*、*CRF10*和*CRF12*下调表达, *CRF1*、*CRF3*和*CRF11*则与氮素形态和浓度有关(Ramireddy等2014)。可见, CRFs在氮响应和CK信号互作方面具有潜在的调节作用。

Varala等(2018)基于时间的氮调控网络分析显示CRF4是氮信号响应的早期调控因子, 在高氮培养基中被快速诱导。SNZ (schnarchzapfen)和CDF1 (cycling dof factor 1)转录因子是CRF4的下游靶点, SNZ起激活作用, 而CDF1同时行使激活或抑制作用。动态氮响应中, CRF4与SNZ和CDF1协同调控大约54%的氮吸收和同化途径基因。氮同化途径中, CRF4显著抑制硝酸盐转运蛋白NRT2.1 (nitrate transporter 2.1)编码基因的转录(Varala等2018)。在芽中, CRF4可与核糖体蛋白结合发挥作用, 而根中

CRF4调控硝酸盐的吸收和根的发育过程, 过量表达*CRF4*植株对硝酸盐的吸收能力减弱, 地上部的生物量减少(Varala等2018)。对CRF4和氮信号网络进行TARGTE (transient assay reporting genome-wide effects of transcription factors)分析, 进一步证实了CRF4在早期氮响应中起关键作用, CRF4与GATA17、NAP、HYH、MYB34、bHLH112等5种氮素响应相关转录因子互作, 反馈调节87%的CRF4间接靶基因(Brooks等2019)。

无机磷酸盐的可用性是决定农作物生产力的主要因素, 转录因子在植物磷吸收和利用的适应性机制中扮演关键角色。Ramaiah等(2014)发现低磷能够诱导拟南芥*CRF8*同源基因*AtERF070*表达, *AtERF070*基因功能缺失促进侧根发育, 增强根系对磷的吸收和积累。而过表达*AtERF070*幼苗的主根长度和侧根数均减少, 植株发育延迟, 矮小丛生, 外施GA可恢复其正常表型。进一步分析发现*AtERF070*参与调节*ACP5* (*acid phosphatase 5*)、*PHT1;1* (*phosphate transporter 1;1*)、*IPS1* (*induced by phosphate starvation 1*)、*RNS1* (*ribonuclease1*)等许多磷饥饿响应(Pi starvation-responsive, PSR)基因的表达, 以维持磷动态平衡。

5 CRFs与生物胁迫

CRFs在生物胁迫响应中同样发挥重要的作用。研究表明水杨酸(salicylic acid, SA)响应因子TGA3与*PR1* (*pathogenesis related 1*)启动子as-1 (activation sequence 1)顺式元件结合, 进而招募CK响应调节因子ARR2形成转录复合物, 诱导下游抗病基因的表达, 提高植株对紫丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000, *Pst* DC3000)的抗性, 说明CK可与SA协同调节植物的免疫功能。高水平细胞分裂素可进一步增强SA介导的抗病性(Choi等2010)。

拟南芥中, CK可通过依赖B型ARRs (type-B ARR)的方式诱导*CRF2*瞬时上调表达(Rashotte等2006)。与野生型相比, 过表达*CRF2*促进衰老相关基因*SAG12*和*SAG113*的表达, 加速拟南芥莲座丛叶衰老, 同时上调SA应答基因*PR1*、*PR2*和*PR5*的表达水平, 提高植株对*Pst* DC3000的抗性(Kwon

2016)。然而, 细菌水杨酸羟化酶基因*NahG*抑制*ARR2*的表达而不影响*ARR5*, 进而减弱过表达*CRF2*植株的抗病表型。说明SA可激活*ARR2*, 上调*CRF2*的表达水平, 进一步提高SA水平, 从而形成一个正反馈回路(Kwon 2016)。暗示*CRF2*可能增强水杨酸(SA)的生物合成, 引发自身免疫反应和叶片衰老。此外, 有研究报道SA负调节CK响应, 激发*CRF2*瞬时表达, 阻止SA的过量合成和自发免疫反应。低水平条件下, CK可依赖A型ARRs介导的宿主磷传递系统负调控SA依赖基因的表达, 增加卵菌病原体的易感性(Argueso等2012)。同样, *CRF5*在拟南芥根、茎、叶、花和果实中均有表达, *CRF5*可能作为转录激活因子参与抗病反应, 过表达*CRF5*拟南芥中*PR1*、*PR2*、*PR3*、*PR4*和*PR5*等病程相关基因上调表达, 增强植株对病原体*Pst* DC3000的抗性(Liang等2010)。

6 展望

CRFs在植物中广泛存在, *crf*系列突变体的研究不断揭示其在植物胚、叶片、根等器官发育过程中的重要调控作用, 然而目前相关研究多局限于拟南芥、番茄等模式植物上, 对于水稻、油菜、玉米等许多主要农作物上的研究尚处于空白状态, 随着大量农作物基因组数据资源的不断公布, 重要农作物CRFs同源基因的克隆和鉴定工作亟需加强, 为进一步明晰CRFs在农作物中的生物学功能奠定基础。植物长期进化过程中CRFs通过多倍体事件形成多份拷贝, 因此获得*crf*功能缺失的纯合突变体难度较大, 纯系突变体构建技术研究也需进一步加强。此外, 不同物种中同亚组CRF同源基因功能也存在明显差异, 相关分化机制值得研究。越来越多的研究显示CRFs作为重要的信号分子在植物环境胁迫响应中起关键作用, 但其在不同组织中究竟如何进行信号传递仍不得而知, CRFs启动子序列中存在生长素、ABA、ET、GA、SA等许多植物激素响应元件, 这暗示CRFs与激素之间可能存在极其广泛的分子联系, 激素与CRFs之间如何协同参与调控植物生长发育或应对逆境的研究仍然较少, CRFs通过哪些中间分子或靶标在CK二元信号系统中发挥作用值得深入探讨。有关

CRFs的许多研究结果值得我们深入思考和借鉴,譬如CRFs在ICE1-CBF冷信号途径中如何精准发挥作用,CK信号途径下游ARRs与CRFs如何发生互作。拟南芥中CRFs调控PIN的表达,控制生长素的运输,这一作用机制是否广泛存在于其他植物中仍需大量的实验验证,CRFs与PIN是否协同参与水稻等作物的株型发育调控将是一项有趣的研究工作。此外,CRFs加速拟南芥植株从营养生长转化为生殖生长,缩短了生育周期,此研究结果对于水稻、小麦、油菜等其他农作物育种和生产应用具有较强的启示。相信随着研究工作的不断深入,CRFs转录因子的生物学功能必将得到很好的解析,从而为植物生长发育调控提供更多的理论基础。

参考文献(References)

- Argueso CT, Ferreira FJ, Epple P, et al (2012). Two-component elements mediate interactions between cytokinin and salicylic acid in plant immunity. *PLOS Genet*, 8 (1): e1002448
- Brooks MD, Cirrone J, Pasquino AV, et al (2019). Network walking charts transcriptional dynamics of nitrogen signaling by integrating validated and predicted genome-wide interactions. *Nat Commun*, 10: 1596
- Capote T, Usié A, Barbosa P, et al (2019). Transcriptome dynamics of cork oak (*Quercus suber*) somatic embryogenesis reveals active gene players in transcription regulation and phytohormone homeostasis of embryo development. *Tree Genet Genomes*, 15 (4): 52
- Montes RAC, Coello G, González-Aguilera KL, et al (2014). ARACNe-based inference, using curated microarray data, of *Arabidopsis thaliana* root transcriptional regulatory networks. *BMC Plant Biol*, 14 (1): 97
- Choi J, Huh SU, Kojima M, et al (2010). The cytokinin-activated transcription factor ARR2 promotes plant immunity via TGA3/NPR1-dependent salicylic acid signaling in *Arabidopsis*. *Dev Cell*, 19 (2): 284–295
- Ckurshumova W, Smirnova T, Marcos D, et al (2014). Irrepressible MONOPTEROS/ARF5 promotes *de novo* shoot formation. *New Phytol*, 204 (3): 556–566
- Compton MA (2012). Cytokinin response factor 4: a role in development during cold stress in *Arabidopsis thaliana* (dissertation). Auburn, US: Auburn University
- Cortleven A, Schmölling T (2015). Regulation of chloroplast development and function by cytokinin. *J Exp Bot*, 66 (16): 4999–5013
- Cucinotta M, Manrique S, Guazzotti A, et al (2016). Cytokinin response factors integrate auxin and cytokinin pathways for female reproductive organ development. *Development*, 143 (23): 4419–4424
- Cutcliffe JW, Hellmann E, Heyl A, et al (2011). CRFs form protein-protein interactions with each other and with members of the cytokinin signalling pathway in *Arabidopsis* via the CRF domain. *J Exp Bot*, 62 (14): 4995–5002
- De Clercq I, Vermeirssen V, Van Aken O, et al (2013). The membrane-bound NAC transcription factor ANAC013 functions in mitochondrial retrograde regulation of the oxidative stress response in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 25 (9): 3472–3490
- Bianchetti RE, Lira BS, Monteiro SS, et al (2018). Fruit-localized phytochromes regulate plastid biogenesis, starch synthesis, and carotenoid metabolism in tomato. *J Exp Bot*, 69 (15): 3573–3586
- Gua JF, Li ZK, Mao YQ, et al (2018). Roles of nitrogen and cytokinin signals in root and shoot communications in maximizing of plant productivity and their agronomic applications. *Plant Sci*, 274: 320–331
- Gupta S, Rashotte AM (2014). Expression patterns and regulation of *SICRF3* and *SICRF5* in response to cytokinin and abiotic stresses in tomato (*Solanum lycopersicum*). *J Plant Physiol*, 171 (3–4): 349–358
- Hwang I, Sheen J, Müller B (2012). Cytokinin signaling networks. *Annu Rev Plant Biol*, 63 (1): 353–380
- Ioio RD, Nakamura K, Moubayidin L, et al (2008). A genetic framework for the control of cell division and differentiation in the root meristem. *Science*, 322 (5906): 1380–1384
- Jeon J, Cho C, Lee MR, et al (2016). Cytokinin response factor 2 (CRF2) and CRF3 regulate lateral root development in response to cold stress in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 28 (8): 1828–1843
- Kang J, Lee Y, Sakakibara H, et al (2017). Cytokinin transporters: GO and STOP in signaling. *Trends Plant Sci*, 6 (22): 455–461
- Keshishian EA (2018). CRF2 and its role in cytokinin response and abiotic stress (dissertation). Auburn, US: Auburn University
- Kierzkowski D, Runions A, Vuolo F, et al (2019). A growth-based framework for leaf shape development and diversity. *Cell*, 177 (6): 1405–1418
- Kim JM (2016). Cytokinin response factors gating environmental signals and hormones. *Trends Plant Sci*, 21 (12): 993–996
- Kong LJ, Zhao K, Gao YY, et al (2018). Comparative analysis of cytokinin response factors in *Brassica* diploids and amphidiploids and insights into the evolution of *Brassica* species. *BMC Genomics*, 19 (1): 728
- Kwon T (2016). Cytokinin response factor 2 positively regulates salicylic acid-mediated plant immunity in *Arabidop-*

- sis thaliana*. Plant Biotechnol, 33 (3): 207–210
- Li H, Wang Y, Wu M, et al (2017). Genome-wide identification of AP2/ERF transcription factors in cauliflower and expression profiling of the ERF family under salt and drought stresses. Front Plant Sci, 8: 946
- Liang YS, Ermawati N, Cha J, et al (2010). Overexpression of an AP2/ERF-type transcription factor CRF5 confers pathogen resistance to *Arabidopsis* plants. J Korean Soc App Bi, 53 (2): 142–148
- Liu ZN, Kong LJ, Zhang M, et al (2013). Genome-wide identification, phylogeny, evolution and expression patterns of AP2/ERF genes and cytokinin response factors in *Brassica rapa* ssp. *pekinensis*. PLOS One, 8 (12): e83444
- Melton AE, Zwack PJ, Rashotte AM, et al (2019). Identification and functional characterization of the *Marshallia* (*Asteraceae*) clade III cytokinin response factor (CRF). Plant Signal Behav, 14 (9): 1–6
- Ng S, Ivanova A, Duncan O, et al (2013). A membrane-bound NAC transcription factor, ANAC017, mediates mitochondrial retrograde signaling in *Arabidopsis*. Plant Cell, 25 (9): 3450–3471
- Powell RV, Willett CR, Goertzen LR, et al (2019). Lineage specific conservation of *cis*-regulatory elements in cytokinin response factors. Sci Rep, 9 (1): 13387
- Qin LP, Wang LQ, Guo Y, et al (2017). An ERF transcription factor from *Tamarix hispida*, ThCRF1, can adjust osmotic potential and reactive oxygen species scavenging capability to improve salt tolerance. Plant Sci, 265: 154–166
- Raines T, Shanks C, Cheng CY, et al (2016). The cytokinin response factors modulate root and shoot growth and promote leaf senescence in *Arabidopsis*. Plant J, 85 (1): 134–147
- Ramaiah M, Jain A, Raghotham KG (2014). *ETHYLENE RESPONSE FACTOR070* regulates root development and phosphate starvation-mediated responses. Plant Physiol, 164 (3): 1484–1498
- Ramireddy E, Chang L, Schmülling T (2014). Cytokinin as a mediator for regulating root system architecture in response to environmental cues. Plant Signal Behav, 9 (1): e27771
- Rashotte AM, Goertzen LR (2010). The CRF domain defines cytokinin response factor proteins in plants. BMC Plant Biol, 10: 74
- Rashotte AM, Mason MG, Hutchison CE, et al (2006). A subset of *Arabidopsis* AP2 transcription factors mediates cytokinin responses in concert with a two-component pathway. Proc Natl Acad Sci USA, 103 (29): 11081–11085
- Schaller GE, Bishopp A, Kieber JJ, et al (2015). The yin-yang of hormones: cytokinin and auxin interactions in plant development. Plant Cell, 27 (1): 44–63
- Schlereth A, Möller B, Liu WL, et al (2010). MONOPTEROS controls embryonic root initiation by regulating a mobile transcription factor. Nature, 464 (7290): 913–916
- Shi X, Gupta S, Rashotte AM (2012). *Solanum lycopersicum* cytokinin response factor (SICRF) genes: characterization of CRF domain-containing ERF genes in tomato. J Exp Bot, 63 (2): 973–982
- Shi X, Gupta S, Rashotte AM (2014). Characterization of two tomato AP2/ERF genes, *SICRF1* in hormone and stress responses. Plant Cell Rep, 33 (1): 35–45
- Šimášková M, O'Brien JA, Khan M, et al (2015). Cytokinin response factors regulate PIN-FORMED auxin transporters. Nat Commun, 6: 8717
- Striberny B, Melton AE, Schwacke R, et al (2017). Cytokinin response factor 5 has transcriptional activity governed by its C-terminal domain. Plant Signal Behav, 12 (2): e1276684
- Tian C, Zhang XN, He J, et al (2014). An organ boundary-enriched gene regulatory network uncovers regulatory hierarchies underlying axillary meristem initiation. Mol Syst Biol, 10 (10): 755
- Varala K, Marshall-Colón A, Cirrone J, et al (2018). Temporal transcriptional logic of dynamic regulatory networks underlying nitrogen signaling and use in plants. Proc Natl Acad Sci USA, 115 (25): 6494–6499
- Waidmann S, Ruiz Rosquete M, Schöller M, et al (2019). Cytokinin functions as an asymmetric and anti-gravitropic signal in lateral roots. Nat Commun, 10: 3540
- Weirauch MT, Yang A, Albu M, et al (2014). Determination and inference of eukaryotic transcription factor sequence specificity. Cell, 158 (6): 1431–1443
- Woo HR, Kim JH, Kim J, et al (2010). The RAV1 transcription factor positively regulates leaf senescence in *Arabidopsis*. J Exp Bot, 61 (14): 3947–3957
- Wu MF, Yamaguchi N, Xiao J, et al (2015). Auxin-regulated chromatin switch directs acquisition of flower primordium founder fate. eLife, 4: e09269
- Zwack PJ, Compton MA, Adams CI, et al (2016a). Cytokinin response factor 4 (CRF4) is induced by cold and involved in freezing tolerance. Plant Cell Rep, 35 (3): 573–584
- Zwack PJ, De Clercq I, Howton TC, et al (2016b). Cytokinin response factor 6 represses cytokinin-associated genes during oxidative stress. Plant Physiol, 172 (2): 1249–1258
- Zwack PJ, Rashotte AM (2013). Cytokinin inhibition of leaf senescence. Plant Signal Behav, 8 (7): e24737
- Zwack PJ, Robinson BR, Risley MG, et al (2013). Cytokinin response factor 6 negatively regulates leaf senescence and is induced in response to cytokinin and numerous abiotic stresses. Plant Cell Physiol, 54 (6): 971–981

Zwack PJ, Shi XL, Robinson BR, et al (2012). Vascular expression and C-Terminal sequence divergence of cytoki-

nin response factors in flower plants. *Plant Cell Physiol*, 53 (10): 1683–1695

Advances in the regulation of plant growth and development by cytokinin response factor

YANG Lei, HONG Lin*, WANG Wu, YANG Haijian

Fruit Research Institute, Chongqing Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 401329, China

Abstract: Cytokinin response factors (CRFs) are plant specific transcription factors, belonging to the AP2/ERF family of subgroup members. CRFs plays a role in the branch of cytokinin binomial signaling pathway. Recent studies have shown that CRFs is involved in plant embryo formation, seed development, root growth and leaf senescence, and plays an important regulatory role in response to stress such as low temperature, oxidation and salt. This paper briefly introduces the characteristics of CRFs transcription factors and their role in cytokinin signaling pathway, and focuses on the research progress in the regulation of plant growth and development and stress response by CRFs.

Key words: cytokinin response factor; plant growth and development; abiotic stress; regulation

Received 2020-04-28 Accepted 2020-06-05

This work was supported by Basic Research and Frontier Exploration Project of Chongqing (cstc2018jcyjAX0494), Scientific Research Institutes Performance Incentive and Guidance Special of Chongqing (cstc2018jxjl80019), Chongqing People's Livelihood Science and Technology Innovation Key Projects (cstc2016shms-ztx80002).

*Corresponding author (350971781@qq.com).