

AP2/ERF 转录因子参与植物次生代谢和逆境胁迫响应的研究进展

兰孟焦^{1,2}, 后猛¹, 肖满秋², 李臣¹, 潘皓², 张允刚¹, 卢凌志²,
侯隆英², 葛瑞华², 吴问胜², 李强¹

¹江苏徐淮地区徐州农业科学研究所/农业农村部甘薯生物学与遗传育种重点实验室, 徐州 221131;

²江西省农业科学院作物研究所, 南昌 330200)

摘要: AP2/ERF (APETALA2/ethylene-responsive factor) 是植物中最大的转录因子家族之一, 至少含有 1 个由 60~70 个高度保守的氨基酸组成的特有的 AP2 结构域, 根据 AP2 结构域数量和相似性可划分为 5 个亚家族: AP2 (APETALA2)、DREB (Dehydration-responsive element binding proteins)、ERF (Ethylene-responsive factor)、RAV (Related to AB13/VP) 和 Soloist。AP2/ERF 转录因子通过 AP2 结构域中的 YRG 和 RAYD 保守元件与靶基因结合, 实现对相关基因的转录调控功能。目前, AP2/ERF 已成为研究植物抗逆机制和活性成分生物合成的热点候选基因, 越来越多植物 AP2/ERF 家族及其成员被报道。本研究对近年来有关 AP2/ERF 家族的最新研究成果进行了总结, 综述了 AP2/ERF 家族转录因子的结构特征与分类, 重点介绍了该类转录因子调控植物次生代谢产物的合成以及参与生物、非生物胁迫应答等方面的研究进展, 并展望了 AP2/ERF 转录因子可能的研究热点和领域, 以期今后进一步挖掘和利用该类转录因子基因进行植物遗传改良以及种质创新提供参考。

关键词: AP2/ERF; 转录调控; 次生代谢; 生物及非生物胁迫

Research Progress of AP2/ERF Transcription Factors Participating in Plant Secondary Metabolism and Stress Response

LAN Mengjiao^{1,2}, KOU Meng¹, XIAO Manqiu², LI Chen¹, PAN Hao², ZHANG Yungang¹, LU Lingzhi²,
HOU Longying², GE Ruihua², WU Wensheng², LI Qiang¹

¹Xuzhou Institute of Agricultural Sciences in Xuhuai District of Jiangsu Province/Key Laboratory of Sweetpotato Biology and Genetic Breeding, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Xuzhou 221131; ²Crop Institute of

Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200)

Abstract: AP2/ERF (APETALA2/ethylene responsive factor) is one of the largest transcription factor (TF) families in plants, which contains at least one specific AP2 domains composed of 60-70 highly conserved amino acids. Depending on the number and sequence similarity of AP2 domains, this family can be classified into five subfamilies: AP2 (APETALA2), DREB (dehydration-responsive element binding proteins), ERF (ethylene-responsive factor), RAV (related to AB13/VP), and Soloist. AP2/ERF TFs regulate their expression by binding to target genes through YRG and RAYD conserved elements in the AP2 domain. At present, AP2/ERF TFs have become a hot candidate gene for studying plant stress resistance mechanisms and biosynthesis of active

收稿日期: 2023-03-22 修回日期: 2023-04-05 网络出版日期: 2023-04-28

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20230322001>

第一作者研究方向为甘薯遗传育种, E-mail: lanmj100@163.com; 后猛为共同第一作者

通信作者: 李强, 研究方向为甘薯遗传育种, E-mail: instrong@163.com

吴问胜, 研究方向为甘薯遗传育种, E-mail: 13755613524@163.com

基金项目: 国家甘薯产业技术体系(CARS-10); 江西薯芋类作物良种联合攻关(9021109126)

Foundation projects: China Sweetpotato Industry Technology Research System (CARS-10); Jiangxi Province Tuber and Yam Grop Joint Research on Cultivar Breeding (9021109126)

ingredients. More and more AP2/ERF families and their members have been reported. In this review, we summarized the latest research achievements on plant AP2/ERF family, including the structural characteristics and classification, and the research progress of AP2/ERF TFs involved in regulation of plant secondary metabolites synthesis, participation in biological and abiotic stress response was mainly introduced. Meanwhile, possible hot research topics and fields of AP2/ERF were proposed, which may provide a reference for further mining and utilization of such transcription factor genes for plant genetic improvement and germplasm innovation.

Key words: AP2/ERF; transcriptional regulation; secondary metabolites synthesis; biological and abiotic stress

转录因子(TFs, transcription factors)作为介导基因表达的最重要的调控元件,能识别和结合靶基因启动子区的特异性序列,通过激活或抑制靶基因转录活性,决定不同基因的时间和空间特异性表达。AP2/ERF 转录因子超家族被认为是最大的转录因子家族之一,主要存在于植物中,广泛参与植物的生长发育、次生代谢调控以及生物和非生物胁迫响应等重要生物学过程^[1-2],因含有至少1个特有的 AP2 结构域而得名。自 1994 年在拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) 中鉴定到第一个 AP2/ERF 转录因子以来^[3],已在玉米 (*Zea mays* L.)、小麦 (*Triticum aestivum* L.)、水稻 (*Oryza sativa* L.)、高粱 (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)、大白菜 (*Brassica rapa* L. spp. *pekinensis*) 和毛竹 (*Phyllostachys edulis* (Carr.) H.de Lehaie) 等物种中成功鉴定出 AP2/ERF 转录因子^[4]。近年来,AP2/ERF 已成为植物抗逆机制和活性成分生物合成研究的热点,有较多关于植物 AP2/ERF 家族及其成员的报道。本研究从 AP2/ERF 家族的结构、分类及在植物次生代谢调控、各种逆境胁迫响应等方面的生物学功能进行综述,旨在为今后 AP2/ERF 家族基因的研究与利用提供思路和参考。

1 AP2/ERF 转录因子的结构与分类

AP2/ERF 转录因子超家族被认为是植物中最大的转录因子家族之一,其共同特征是至少存在1个特有的 AP2 结构域。AP2 结构域由1个 β -折叠和1个近似平行 β -折叠的 α -螺旋组成,含有60~70个高度保守的氨基酸残基^[5]。AP2/ERF 转录因子通过 AP2 结构域中的 YRG 和 RAYD 保守元件与靶 DNA 结合,实现对靶基因的调控;位于结构域 N 端的 YRG 元件含 19~22 个亲水性的氨基酸残基,可通过亲水性基团与 DNA 相结合^[6],而位于 C 端的 RAYD 元件由 42~43 个残基组成,可通过 α -螺旋介

导蛋白质与蛋白质互作,或通过 α -螺旋的疏水面与 DNA 沟槽相互作用而结合靶 DNA^[7]。

根据 AP2/ERF 转录因子所包含的 AP2 结构域数量和相似性,可将其划分为 5 大类,即 AP2 (APETALA2)、DREB (Dehydration-responsive element binding proteins)、ERF (Ethylene-responsive factor)、RAV (Related to AB13/VP) 以及 Soloist 亚家族(图 1)^[8-9]。AP2 亚族成员含有 2 个 AP2 结构域,主要在调控植物生长发育过程中发挥作用^[10]。DREB 和 ERF 亚家族成员仅含有 1 个 AP2 结构域,其主要区别在于该结构域保守序列第 14 和 19 位氨基酸残基的变化。DREB 和 ERF 亚家族是目前研究报道最多的亚家族,其成员数量也最多。DREB 和 ERF 亚家族分别又可细分为 6 个亚组(A1~A6; B1~B6)。DREB 可特异识别脱落酸(ABA, abscisic acid)、干旱和冷诱导响应元件 DRE(A/GCCGAC)和 CRT(TGGCCGAC),在植物抵御逆境胁迫过程中起着重要的作用^[11]。RAV 亚家族成员包含 1 个 AP2 和 1 个 B3 结构域,广泛参与乙烯(ET, ethylene)、油菜素内酯(BR, brassinosteroide)等激素信号途径响应以及生物和非生物胁迫响应过程^[12]。Soloist 亚家族成员与其他亚族的进化关系最远,被单独列为一类,其含有 1 个类似于 AP2 的结构域,但保守性很

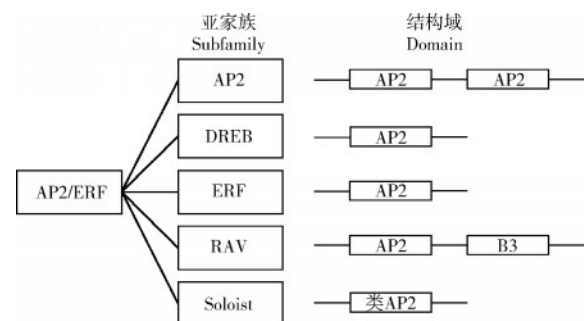


图 1 AP2/ERF 转录因子家族分类及结构特征
Fig. 1 AP2/ERF transcription factors family classification and structural characteristics

低。目前,在植物中发现 Soloist 亚家族成员数目稀少,其功能研究也相对较少,如在拟南芥中仅报道了1个 Soloist 成员^[13]。

2 AP2/ERF 参与植物次生代谢

2.1 黄酮类化合物

黄酮类化合物又称为类黄酮物质,是所有植物次生代谢物中最主要的一类低分子量的多酚物质,它主要包括花青素、黄酮、黄酮醇、原花青素等,在植物中发挥多种功能,包括抵御生物和非生物胁迫、帮助授粉和种子传播等。AP2/ERF 转录因子广泛参与黄酮类化合物的次生代谢调控,如梨 (*Pyrus spp.*) *Pp4ERF24* 和 *Pp12ERF96* 通过与 *PpMYB114* 相互作用,促进 *PpMYB114* 与 *PpbHLH3* 的结合,增强 *PpMYB114* 对花青素合成关键基因 *PpUFGT* 的激活,显著诱导花青素积累^[14]。AP2/ERF 转录因子在其他植物中参与调控花青素合成也得到证实,如桑树 (*Morus alba* L.) *MIERF5*^[15]、苹果 (*Malus × domestica* (Suckow) Borkh.) *MdERF38*^[16]、茄子 (*Solanum melongena* L.) *SmAP2/ERF* (*Smechr0902114.1* 和 *Smechr1102075.1*)^[17]等。此外,AP2/ERF 转录因子也可以抑制花青素的合成,拟南芥 *AtERF4* 和 *AtERF8* 作为转录抑制因子,降低了花青素的生成速率和积累量^[18]。梨 *PpERF105* 可诱导抑制型 R2R3-MYB 基因 *PpMYB140* 的表达,*PpMYB140* 直接抑制花青素相关结构基因启动子的活性,它还与促进花青素生物合成的 *PpMYB10*、*PpMYB114* 转录因子竞争结合 bHLH3,形成 MYB140-bHLH-WDR 复合物进一步抑制花青素的生物合成^[19]。麻疯树 (*Jatropha curcas* L.) *JcERF035* 可能负向调控花青素的合成,在低磷条件下,其下调表达有助于调节植物根系结构和花青素在地上部组织中的生物合成和积累^[20]。除参与花青素的生物合成外,AP2/ERF 转录因子在其他黄酮类化合物的合成中也发挥了重要的作用。如柑橘 (*Citrus reticulata* Blanco.) *CitERF32*、*CitERF33* 和 *CitRAV1* 通过激活查尔酮异构酶基因 *CitCHIL1* 来调控柑橘黄酮醇和黄酮的积累^[21]。苹果 *MdERF1B* 可与 *MdMYB9*、*MdMYB11* 相互作用正向调节原花青素的积累^[22]。

2.2 类胡萝卜素

类胡萝卜素是植物着色的主要色素之一,对植物的光合作用和人类健康具有重要的意义^[23-24],AP2/ERF 转录因子可通过激活代谢途径的多个基因参与类胡萝卜素的生物合成。在拟南芥中,

AP2/ERF 转录因子通过与八氢番茄红素合成酶基因 (*PSY*, phytoene synthase) 的启动子结合来增加类胡萝卜素的含量^[25]。苹果 *MdAP2-34* 可直接结合并激活类胡萝卜素代谢功能基因 *MdPSY2-1*^[26]。柚 (*Citrus maxima* (Burm) Merr.) *CmERF23* 可影响 *LYCE*、*LYCB2*、*NCED2* 等类胡萝卜素合成酶基因的表达,进而调节类胡萝卜素的积累^[27]。类似的还有柑橘 *CsERF061*^[28]、番茄 (*Solanum lycopersicum* L.) *SlPti4*^[29]、桃 (*Prunus persica* (L.) Batsch) *PpeERF2* 和 *PpeERF3*^[30] 等转录因子均正调控类胡萝卜素的合成。除正调控外,番茄 *SlERF6* 通过负调控 *HSP21* 和 1-脱氧-d-木酮糖 5-磷酸合酶 (*DXS*, 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase) 的表达来抑制类胡萝卜素的生物合成^[31]。另外,番茄 AP2/ERF 基因 *SLAP2a* 被证实是一个水果成熟的负调节因子,主要通过负调控乙烯信号通路和类胡萝卜素生物合成的关键基因,对肉质果实成熟发挥广泛的调控作用^[32]。在番茄果实成熟过程鉴定到的 MADS-box 基因 *SICMB1* 能够抑制类胡萝卜素的积累和乙烯的合成,进一步研究发现它与 *SLAP2a* 存在互作关系^[33]。

2.3 木质素

木质素又称木素,是植物细胞次生壁的重要组成部分,其含量是影响植株形态、茎秆硬度以及抗病抗逆性能的重要因素。与 MYB 等转录因子相比,AP2/ERF 在植物中参与木质化的研究相对滞后。有证据表明,AP2/ERF 可能与菘蓝 (*Isatis indigotica* Fort.) 木质素的生物合成密切相关,即通过激活水杨酸 (SA, salicylic acid) 信号通路和调节木质素代谢途径中的主要结构基因两条途径来控制木质素的合成^[34]。水稻 *OsERF34* 能调控纤维素和木质素的积累,进而促进水稻穗下节次生细胞壁的增厚和强度^[35]。甘薯 (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) AP2/ERF 转录因子 *IbRAP2.4* 通过上调木质素生物合成途径的结构基因的表达,促进转基因甘薯柴根的形成,抑制块根膨大^[36]。枇杷 (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) *EjERF39* 可与木质素合成激活子 *EjMYB8* 互作形成蛋白复合物,对激活木质素生物代谢功能基因 *Ej4CL1* 启动子具有协同增效作用,加剧枇杷果实在低温下的木质化进程^[37]。与此相反,枇杷转录抑制因子 *EjAP2-1* 与 *EjMYB1*、*EjMYB2* 互作结合,对木质素合成相关基因 *Ej4CL1* 具有抑制作用,通过降低木质素的合成以减弱枇杷果实在低温贮藏过程中的木质化程度^[38]。

2.4 其他次生代谢产物

除参与黄酮类化合物、类胡萝卜素、木质素外, AP2/ERF 转录因子还广泛参与其他次生代谢产物的合成。柿 (*Diospyros kaki* Thunb.) *DkERF19* 和 *DkERF22* 可激活脱涩关键基因 *DkADH*、*DkPDC* 转录表达, 促进乙醛合成并与可溶性单宁结合生成不溶性单宁, 进而实现果实脱涩^[39]。丹参 (*Salvia miltiorrhiza* Bge.) *SmERF6*^[40]、*SmERF115*^[41] 和 *SmERFIL1*^[42] 可能参与调控丹参酮和丹参酸的积

累。在缺铁条件下, 拟南芥 *AtERF72* 直接结合到叶绿素酶基因 *CLHI* 启动子区域调控其表达, 导致叶片叶绿素含量降低和植株黄化^[43]。苹果 *MaERF17* 促进青苹果果皮中叶绿素的降解及果皮的红色着色^[44]。此外, AP2/ERF 转录因子还参与调控烟碱^[45]、皂苷^[46]、青蒿素^[47] 等次生代谢产物的合成。表 1 总结了植物 AP2/ERF 转录因子在不同次生代谢产物合成过程中的主要调控作用。

表 1 AP2/ERF 转录因子在植物次生代谢调控中的作用

Table 1 Roles of AP2/ERF transcription factors (TFs) in the regulation of secondary metabolism in plants

植物名称 Plant species	转录因子 Transcription factor	对次生代谢产物的调控作用 Regulation of the secondary metabolites	参考文献 Reference
梨 <i>Pyrus</i> spp.	<i>Pp4ERF24/12ERF96</i>	正调控花青素的积累	[14]
桑树 <i>Morus alba</i> L.	<i>M1ERF5</i>	正调控花青素的合成	[15]
苹果 <i>Malus × domestica</i> (Suckow) Borkh.	<i>MdERF38</i>	促进花青素的合成	[16]
茄子 <i>Solanum melongena</i> L.	<i>Smechr0902114.1/1102075.1</i>	正调控花青素的合成	[17]
拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh.	<i>AtERF4/8</i>	负调控花青素的合成	[18]
梨 <i>Pyrus</i> spp.	<i>PpERF105</i>	抑制花青素的合成	[19]
麻疯树 <i>Jatropha curcas</i> L.	<i>JcERF035</i>	负调控花青素的合成	[20]
柑橘 <i>Citrus reticulata</i> Blanco.	<i>CitERF32/33/RAV1</i>	调控柑橘黄酮酮和黄酮的积累	[21]
苹果 <i>Malus × domestica</i> (Suckow) Borkh.	<i>MdERF1B</i>	正调控原花青素的积累	[22]
拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh.	<i>AtRAP2.2</i>	正调控类胡萝卜素的合成	[25]
苹果 <i>Malus × domestica</i> (Suckow) Borkh.	<i>MdAP2-34</i>	正调控类胡萝卜素的合成	[26]
柚 <i>Citrus maxima</i> (Burm) Merr.	<i>CmERF23</i>	调节类胡萝卜素的积累	[27]
柑橘 <i>Citrus reticulata</i> Blanco.	<i>CsERF061</i>	调控类胡萝卜素的积累	[28]
番茄 <i>Solanum lycopersicum</i> L.	<i>SIPti4</i>	调控β-胡萝卜素的合成	[29]
桃 <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch	<i>PpeERF2/3</i>	调控类胡萝卜素的合成	[30]
番茄 <i>Solanum lycopersicum</i> L.	<i>SlERF6</i>	抑制类胡萝卜素的合成	[31]
番茄 <i>Solanum lycopersicum</i> L.	<i>SlAP2a</i>	负调控类胡萝卜素的合成	[32]
菘蓝 <i>Isatis indigotica</i> Fort.	<i>Ii049</i>	正调控菘蓝中木质素的合成	[34]
水稻 <i>Oryza sativa</i> L.	<i>OsERF34</i>	促进纤维素和木质素的积累	[35]
甘薯 <i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam.	<i>IbRAP2.4</i>	调控木质素的合成	[36]
枇杷 <i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl.	<i>EjERF39</i>	促进枇杷果实低温木质化	[37]
枇杷 <i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl.	<i>EjAP2-1</i>	减弱枇杷果实在低温下的木质化	[38]
柿 <i>Diospyros kaki</i> Thunb.	<i>DkERF19/22</i>	促进乙醛的合成	[39]
丹参 <i>Salvia miltiorrhiza</i> Bge.	<i>SmERF6</i>	参与丹参酮的合成	[40]
丹参 <i>Salvia miltiorrhiza</i> Bge.	<i>SmERF115</i>	正调控丹参酸的合成	[41]
丹参 <i>Salvia miltiorrhiza</i> Bge.	<i>SmERFIL1</i>	调控丹参中丹参酮和丹酚酸的合成	[42]
拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh.	<i>AtERF72</i>	负调控叶绿素的合成	[43]
苹果 <i>Malus × domestica</i> (Suckow) Borkh.	<i>MaERF17</i>	促进叶绿素的降解	[44]
烟草 <i>Nicotiana tabacum</i> L.	<i>NtERF189/199</i>	正调控烟碱的合成	[45]
三七 <i>Panax notoginseng</i> (Burk.) F.H.Chen	<i>PnERF1</i>	促进皂苷的合成	[46]
青蒿 <i>Artemisia annua</i> L.	<i>TAR1</i>	调控青蒿素的合成	[47]

3 AP2/ERF 参与植物逆境胁迫响应

高盐、高温、干旱、冷害、病虫害等是影响植物生长发育、作物产量及品质的主要逆境胁迫因素。在漫长的进化过程中,植物逐渐形成了适应生物及非生物胁迫的复杂且相对完善的内在防御机制,这些机制包括乙烯、脱落酸、茉莉酸(JA, jasmonic acid)、水杨酸(SA, salicylic acid)等在内的多种信号转导通路,转录因子一方面在信号通路中激活或抑制防御相关基因的表达,另一方面,还参与调控不同信号通路间的交互作用,提高植物适应逆境的能力。AP2/ERF 转录因子广泛参与了调控植物对各种逆境胁迫的应答反应。

3.1 高盐、干旱和热胁迫响应

AP2/ERF 转录因子在高盐、干旱和热等多种非生物胁迫响应过程中具有重要功能,尤其是DREB和ERF亚族对高盐、高温、干旱诱导较为敏感。研究表明,大豆*DREB3b*基因的自然变异与大豆耐盐性差异有关,携带野大豆(*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) *DREB3b*等位基因*DREB3b39Del*的大豆植株比含有等位基因(*DREB3bRef*)的大豆植株更耐盐,通过栽培大豆的驯化,*DREB3b39Del*等位基因的丧失可能导致大豆耐盐性的降低^[48]。绿豆(*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) DREB 转录因子*VrDREB2A*基因的表达受高盐、干旱和脱落酸处理的诱导,与野生型拟南芥相比,过表达该基因能激活转基因拟南芥中下游基因的表达,提高了转基因拟南芥对高盐和干旱胁迫的耐受性^[49]。小麦转录因子*TaERF3*通过激活胁迫相关基因正调控对盐和干旱胁迫的适应性反应^[50]。齿肋赤藓(*Syntrichia caninervis* Mitt.)的*DREBA-5*转录因子*ScDREB5*可以通过增强活性氧(ROS, reactive oxygen species)清除能力、上调离子稳态相关基因的表达以及茉莉酸生物合成来提高转基因拟南芥的耐盐性^[51]。小立碗藓(*Physcomitrium patens* (Hedw.) Mitt.) AP2/ERF 转录激活因子*PpWIN1*在盐和渗透胁迫下高表达,在拟南芥中过表达*PpWIN1*基因能够上调角质或蜡质生物合成相关基因*CYP86A4*、*HTH-like*、*GPAT4*、*KCS2*和*CER1*等的表达,角质层的形成有利于减少蒸腾作用,从而提高转基因拟南芥的耐盐性^[52]。其他物种的AP2/ERF 转录因子参与盐胁迫响应也有报道,如月季(*Rosa chinensis* Jacq.) *Rctiny2*^[53]、茄子*SmERF1*^[54]、陆地棉(*Gossypium hirsutum* L.)*GhERF13.12*^[55]等。

干旱胁迫方面,拟南芥 AP2 / ERF 转录因子 *TINY*和油菜素内酯对植物生长和逆境响应基因的作用相反,在正常生长条件下,油菜素内酯信号通过糖原合成酶激酶 3-like 蛋白激酶 BR-INSENSITIVE2 (BIN2)磷酸化负调控 *TINY*,为油菜素内酯介导 *TINY*下调提供了机制,以阻止最适生长条件下胁迫反应的激活;但在干旱条件下,*TINY-BES1*拮抗作用抑制油菜素内酯介导的植株生长,正向调控响应干旱胁迫^[56]。在拟南芥中过表达番茄 *SIERF84*基因,使转基因植株具有脱落酸超敏反应、清除活性氧的能力和增强对干旱和盐胁迫的耐受性,但该基因负调控植株对丁香假单胞菌番茄致病变种 *DC3000*的防御反应^[57]。在干旱和盐胁迫下,甘薯 AP2 / ERF 转录因子 *IbRAP2-12*在过表达株系中参与脯氨酸生物合成、脱落酸和茉莉酸信号途径以及上调活性氧清除过程的基因,与对照相比,转基因株系的脱落酸、茉莉酸和脯氨酸含量显著增加,过氧化氢和失水率显著降低,表明 *IbRAP2-12*提高了转基因拟南芥的耐盐和耐旱性^[58]。玉米 *ZmEREBP60*是一个干旱响应的积极调节因子,过表达该基因能提高转基因植株对干旱胁迫的耐受性,同时缓解干旱诱导的过氧化氢积累和丙二醛含量的增加^[59]。大豆(*Glycine max* (Linn.) Merr.) *GmDREB1*则通过与 *GmERF008*和 *GmERF106*相互作用,上调胁迫相关基因的表达量,进而增强转基因大豆的耐旱性^[60]。干旱使土壤无机磷酸盐(Pi)供应减少,导致植物磷饥饿,从白杨(*Populus tomentosa* Carr.)中鉴定的1个 AP2 / ERF 转录因子基因 *PalERF2*,它可被甘露醇处理和磷饥饿诱导表达,与野生型相比,*PalERF2*过表达和敲除分别增强和减弱了对干旱胁迫和缺磷的耐受性;过表达 *PalERF2*可上调磷饥饿诱导(PSI, Pi starvation-induced)基因的表达水平,增加干旱条件下对磷的吸收,但其RNAi杨树表现出相反的表型^[61]。除正调控外,AP2 / ERF 转录因子还可能参与负调控干旱响应。马尾松(*Pinus massoniana* Lamb.) 9个 *PmAP2/ERF*基因在干旱处理下组成型表达,其中 *PmAP2/ERF96*基因负调控干旱胁迫,*PmAP2/ERF46*和 *PmAP2/ERF49*基因在不同组织中对干旱表现出正或负响应,而其余6个基因均为正调控^[62]。月季 *RcDREB2B*被报道是1个干旱胁迫响应负调控因子,在拟南芥中过表达 *RcDREB2B*会抑制多个渗透调节和脱落酸相关基因的表达,并增强转基因植株在种子萌发和萌发后阶段对较高盐浓度、脱落酸以

及聚乙二醇的敏感性^[63]。类似的,过表达番茄 *SIERF.B1*^[64]、水稻 *OsDERF1*^[65]、辣椒 (*Capsicum annuum* L.) *CaDRAT1*^[66]也降低了植株对于旱胁迫的耐受性。

AP2/ERF 转录因子对热胁迫也有明显的响应,拟南芥 *AtDREB2A*^[67]、毛茛菊 (*Dendranthema vestitum* (Hemsl.) Ling) *DvDREB2A*^[68]、大豆 *GmDREB2A*^[69]受热、干旱和盐胁迫诱导,过表达可明显增强转基因植株对热、干旱以及盐胁迫的耐受性。在烟草 (*Nicotiana tabacum* L.) 中转入穆子 (*Eleusine coracana* (L.) Gaertn.) *EcDREB2A* 基因后,转基因烟草可耐受 42℃ 高温,但不耐盐胁迫和渗透胁迫,进一步研究发现植株主要是通过提高体内超氧化物歧化酶 (SOD, superoxide dismutase)、过氧化物酶 (POD, peroxidase)、过氧化氢酶 (CAT, catalase) 等抗氧化酶的活性来增强耐受性^[70]。除 DREBA2 型转录因子外,番茄 *DREBA4* 组成员 *SIDREBA4*^[71]、菊花 (*Dendranthema morifolium* (Ramat.) Tzvel.) *DREBA6* 组成员 *CmDREB6*^[72]也有类似的表达模式,受热胁迫强烈诱导。而麝香百合 (*Lilium longiflorum* Thunb.) *LIERF110* 是一个热诱导负调控因子,它能够与 GCC 和 CGG 元件结合,但不能与 DRE 元件结合,过表达 *LIERF110* 的转基因植株表现出延迟抽薹和丛生的表型,其耐热性显著降低并伴随体内活性氧稳态的破坏^[73]。

3.2 低温、冷害和冻害胁迫响应

低温、冷害和冻害胁迫会破坏植物的细胞结构,抑制植株代谢功能和光合作用,导致生长紊乱、生殖能力下降及早衰等现象。AP2/ERF 转录因子可能是耐受温度胁迫的关键,尤其是 DREB 亚族 A1 组 CBF 转录因子被认为是调控大量冷胁迫基因表达的“中枢”,其通过与顺式作用元件 DRE/CRT 的特异结合,激活下游基因的表达来提高植株抗性^[74]。研究发现,拟南芥 *CBF1*、*CBF2*、*CBF3* 在第 4 号染色体的底部串联组成一个基因簇,它们通过低温处理可以非常迅速地被诱导表达^[75]。然而,目前对拟南芥 CBFs 的协同功能的研究存在不同的观点,有研究认为串联的 CBFs 在响应冷胁迫信号过程中具有功能冗余性,且在通过冷驯化提高耐冷冻方面 *CBF2* 基因要比 *CBF1*、*CBF3* 基因发挥更大的作用^[76];拟南芥 *cbf2* 突变体对冷胁迫响应稍有敏感,而双突变体 *cb1cf3* 对冷胁迫不敏感^[77];也有学者发现,将拟南芥 *CBF2* 基因敲除后,植株对冷胁迫的耐受力增强,而将拟南芥 *CBF1*、*CBF3* 同时敲除后,双

突变体植株对冷胁迫的耐受力显著降低^[78]。本研究分析认为,拟南芥 CBFs 基因在染色体上串联成簇,任意单个或多个 CBFs 基因突变都会影响其他基因或顺式作用元件的变化,进而影响拟南芥突变体的表型。因此, CBFs 基因间复杂的协同调控关系还需要进一步的探索。

除 DREBA1 组外,其他 AP2/ERF 转录因子也参与调控植物低温、冷害和冻害胁迫响应。枳 (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.) *PtrERF108* 通过转录调控棉子糖合成酶基因 *PtrRafS* 来调控棉籽糖合成,从而发挥耐寒作用。过表达 *PtrERF108* 可以增强转基因柠檬的耐冷性,而在枳中通过病毒诱导的基因沉默 (VIGS, virus induced gene silencing) 技术敲低 *PtrERF108* 可以显著提高冷敏感性^[79]。白桦 (*Betula platyphylla* Suk.) *BpERF13* 通过上调 CBF 基因和减少活性氧来增强植株耐寒性^[80]。水稻 *OsBIERF3* 的表达受水稻白叶枯病菌、激素和非生物胁迫的诱导,过表达 *OsBIERF3* 增强植株对稻瘟病菌和水稻白叶枯病菌的抗性,减弱了植株的抗寒性,表明 *OsBIERF3* 对稻瘟病菌和水稻白叶枯病菌的免疫起积极作用,但对水稻的抗冷胁迫起负调控作用^[81]。在三叶崖爬藤 (*Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg)^[82]、人参 (*Panax ginseng* C.A.Mey.)^[83]、胡桃楸 (*Juglans mandshurica* Maxim.)^[84] 等耐寒植物中也鉴定到多个冷胁迫响应的 AP2/ERF 候选基因。

3.3 其他非生物胁迫响应

除响应上述非生物胁迫外, AP2/ERF 转录因子还参与植物对其他逆境胁迫的响应。拟南芥 DREBA1 组成员 *DEAR4* 的表达与叶片衰老相关,可被黑暗胁迫诱导,在正常和黑暗条件下,过表达 *DEAR4* 的转基因植株表现出明显的叶片衰老表型,而敲低 *DEAR4* 明显延缓植株衰老^[85]。在低氧条件下,组成型表达的 *ERF-VII* 转录因子 (*ERF71/HRE2*、*ERF72/RAP2.3*、*ERF73/HRE1*、*ERF74/RAP2.12* 及 *ERF75/RAP2.2*) 冗余性地激活拟南芥的缺氧适应能力,进一步研究发现 *ERF72/RAP2.3*、*ERF74/RAP2.12* 和 *ERF75/RAP2.2* 在响应低氧胁迫发挥了更大的作用^[86]。分析拟南芥 *ERF71/HRE2* 基因的启动子活性区域发现,在 *ERF71/HRE2* 基因转录起始位点 5' 侧翼区的 -116~-2 bp 区域含有正、负调控元件,可能参与低氧和盐胁迫应答^[87]。将辣椒 *CaPF1* 基因转入弗吉尼亚松 (*Pinus virginiana*) 后,显著增强了转基因松树对重金属镉、铜、锌及高温的耐受

性,与对照相比,转基因植株中抗坏血酸过氧化物酶(APOX, ascorbate peroxidase)、谷胱甘肽还原酶(GR, glutathione reductase)和超氧化物歧化酶活性也增强,综合结果表明,在胁迫条件下 *CaPFI* 基因能够通过调节抗氧化酶活性来提高植物对逆境的耐受性^[88]。

3.4 生物胁迫响应

生物胁迫主要包括细菌、真菌、病毒以及植食性昆虫的侵害等,AP2/ERF 转录因子通常激活下游防御基因的表达,进而在植物抵御各种生物胁迫中发挥作用,提高植株的抗性。玉米转录激活因子 *ZmERF105* 能与 GCC - box 元件结合,增强过表达株系的超氧化物歧化酶和过氧化物酶活性,提高对玉米大斑病菌 (*Exserohilum turcicum*) 的抗性^[89]。青蒿 (*Artemisia annua* L.) 转录因子 *AaORA* 属于 ERF 亚家族蛋白,该基因可以通过正向调控青蒿素生物合成增强转基因拟南芥对灰霉病的抗性^[90]。桃流胶病是一种侵袭性病害,机械损伤和乙烯可诱导田间桃树新梢发生流胶,研究发现, *PpERF21* 和 *PpERF27* 受硅 (Si) 诱导表达, *PpERF21* 和 *PpERF27* 直接与多聚半乳糖醛酸酶 *PpPG1* 的启动子相互结合,抑制 *PpPG1* 的转录激活,从而抑制桃流胶^[91]。尼古丁是一种有助于植物免受食草动物侵害的防御化合物, *NtERF189* 和 *ORC1* 可以促进烟草中尼古丁生物合成基因的上调表达,进而增强对食草性动物的抗性^[92]。AP2/ERF 转录因子也参与乙烯、茉莉酸、水杨酸等信号传导途径,激活特定防御基因的表达。例如,拟南芥 *At4g13040* 是 Soloist 亚家族的“孤儿”基因,其在水杨酸信号通路中的 *PAD4* 基因的下游发挥功能,正向促进水杨酸的积累,从而增强拟南芥对细菌病原体的抗性^[93]。水稻 *OsERF96* 在稻瘟病病原菌侵染以及外源水杨酸处理下,其启

动子活性升高,推测该基因可能参与水稻对稻瘟病的抗性^[94]。番茄 *ERF2* 在多条水杨酸、茉莉酸和活性氧信号通路中发挥重要作用,同时直接或间接调控 *Pto*、*PR1b1* 和 *PR-P2* 的表达,从而增强对条斑病菌的抗性^[95]。中国野生毛葡萄 (*Vitis quinquangularis* Rehd.) *VqERF112*、*VqERF114* 和 *VqERF072* 可以被乙烯、水杨酸、茉莉酸甲酯等激素处理诱导,在拟南芥中的异源表达增强了对丁香假单胞菌和灰霉病菌的抗性^[96]。

研究表明,AP2/ERF 转录因子在响应生物胁迫过程中还存在负调控模式,例如水稻 *OsERF922* 是一个稻瘟病抗性负调控因子,受脱落酸、盐及稻瘟病菌诱导,利用 RNAi 技术沉默 *OsERF922* 基因能够增加 *PR*、*PAL* 和其他编码植物抗毒素生物合成酶基因的表达量,增强了对稻瘟病菌的抗性;而过表达该基因植株表现出明显的易感性^[97]。马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) *StERF3* 负调控对致病疫霉的抗性和耐盐性,沉默 *StERF3* 能够激活 *PR1*、*NPR1* 和 *WRKY1* 等防御相关基因,增强马铃薯叶子对晚疫病病菌致病疫霉的抗性;反之,过表达 *StERF3* 会降低这些防御基因的表达量,增强植株对致病疫霉的敏感性^[98]。当植物遭受到病原体侵入时,TFs 通过复杂的信号网络协调模式触发免疫 (PTI, pattern-triggered immunity) 以提高对病原微生物的抗性。拟南芥 *AtERF19* 转录因子被发现在模式触发免疫反应中,对丁香假单胞菌 (*Pseudomonas syringae* pv.) 和番茄灰霉菌 (*B. cinerea*) 的抗性发挥负调节作用^[99] (表 2)。综上所述,沉默或过表达一些 AP2/ERF 转录因子能提高植物应对生物胁迫的适应能力,同时也为系统研究 AP2/ERF 基因在作物抗病、抗逆育种的重要作用提供了重要依据。

表 2 AP2/ERF 转录因子在植物胁迫响应中的作用

Table 2 Roles of AP2/ERF transcription factors (TFs) in plant stress responses

胁迫类型 Stress type	植物名称 Plant species	转录因子 Transcription factor	作用 Function	参考文献 Reference
非生物胁迫 Abiotic stress	野大豆	<i>DREB3b39Del</i>	丧失可能导致植株耐盐性的降低	[48]
	绿豆	<i>VrDREB2A</i>	过表达提高拟南芥对高盐和干旱的耐受性	[49]
	小麦	<i>TaERF3</i>	正向调控小麦对盐胁迫和干旱胁迫的适应响应	[50]
	齿肋墙藓	<i>ScDREB5</i>	过表达提高转基因拟南芥的耐盐性	[51]
	小立碗藓	<i>PpWIN1</i>	过表达提高转基因拟南芥的耐盐性	[52]
	月季	<i>Rctiny2</i>	沉默降低转基因月季对干旱和盐胁迫的耐受性	[53]

表 2 (续)

胁迫类型 Stress type	植物名称 Plant species	转录因子 Transcription factor	作用 Function	参考文献 Reference	
非生物胁迫 Abiotic stress	茄子	<i>SmERF1</i>	正向调控盐胁迫	[54]	
	陆地棉	<i>GhERF13.12</i>	提高陆地棉耐盐性	[55]	
	拟南芥	<i>TINY</i>	正调控响应干旱胁迫	[56]	
	番茄	<i>SlERF84</i>	增强转基因拟南芥对干旱和盐胁迫的耐受性	[57]	
	甘薯	<i>IbRAP2-12</i>	过表达提高转基因拟南芥耐旱和耐盐性	[58]	
	玉米	<i>ZmEREBP60</i>	过表达增强了玉米的抗旱性	[59]	
	大豆	<i>GmDREB1</i>	过表达增强转基因大豆耐旱性	[60]	
	杨树	<i>PaERF2</i>	正向调节杨树对磷的吸收和耐旱性	[61]	
	马尾松	<i>PmAP2/ERFs</i>	正向或负向调控干旱胁迫响应	[62]	
	月季	<i>RcDREB2B</i>	负调控干旱胁迫响应	[63]	
	番茄	<i>SlERF.B1</i>	降低了对盐和干旱的耐受性	[64]	
	水稻	<i>OsDERF1</i>	负调控水稻的乙烯合成和耐旱性	[65]	
	辣椒	<i>CaDRAT1</i>	负调控干旱胁迫响应	[66]	
	拟南芥	<i>AtDREB2A</i>	增强拟南芥盐、干旱以及热胁迫的耐受性	[67]	
	毛茛菊	<i>DvDREB2A</i>	提高对盐、干旱以及热胁迫的耐受性	[68]	
	大豆	<i>GmDREB2A</i>	提高对盐、干旱以及热胁迫的耐受性	[69]	
	穆子	<i>DREB2A</i>	过表达提高了转基因烟草耐热性	[70]	
	番茄	<i>SlDREBA4</i>	过表达提高了番茄耐热性	[71]	
	菊花	<i>CmDREB6</i>	过表达增强菊花耐热性	[72]	
	麝香百合	<i>LlERF110</i>	过表达降低了百合耐热性	[73]	
	拟南芥	<i>CBF1/2/3</i>	提高拟南芥冷冻耐受性	[75]	
	枳	<i>PtrERF108</i>	过量表达增强转基因柠檬的耐冷性	[79]	
	白桦	<i>BpERF13</i>	过表达提高桦树的耐寒性	[80]	
	水稻	<i>OsBIERF3</i>	负调控水稻抗冷胁迫	[81]	
	拟南芥	<i>DEAR4</i>	过表达延缓拟南芥衰老	[85]	
	拟南芥	<i>AtERF-VII</i>	组成型表达提高拟南芥耐低氧胁迫	[86]	
	拟南芥	<i>AtERF71/HRE2</i>	参与低氧和盐胁迫应答	[87]	
	辣椒	<i>CaPF1</i>	过表达显著增强转基因弗吉尼亚松树对重金属镉、铜、锌及高温的耐受性	[88]	
	生物胁迫 Biotic stress	玉米	<i>ZmERF105</i>	正向调控对玉米大斑病菌的抗性	[89]
		青蒿	<i>AaORA</i>	正向调控青蒿素生物合成增强转基因拟南芥对灰霉病抗性	[90]
桃		<i>PpERF21/27</i>	受硅诱导抑制桃流胶	[91]	
烟草		<i>NtERF189</i>	促进尼古丁生物合成增强植物对食草性动物的抗性	[92]	
拟南芥		<i>AtAg13040</i>	正调控水杨酸的积累以提高拟南芥对细菌病原体的抗性	[93]	
水稻		<i>OsERF96</i>	参与水稻对稻瘟病的抗性	[94]	
番茄		<i>ERF2</i>	增强番茄对条斑病菌的抗性	[95]	
毛葡萄		<i>VqERF112/114/072</i>	增强转基因拟南芥对丁香假单胞菌和灰霉病菌的抗性	[96]	
水稻		<i>OsERF922</i>	负调控稻瘟病抗性	[97]	
马铃薯		<i>StERF3</i>	负调控马铃薯对致病疫霉的抗性	[98]	
拟南芥		<i>AtERF19</i>	负调控对番茄灰霉菌和丁香假单胞菌抗性	[99]	

4 展望

AP2/ERF 转录因子广泛存在于植物中,并积极参与植物次生代谢产物合成调控以及逆境胁迫响应^[100]。自在拟南芥克隆首个 AP2/ERF 转录因子以来,该家族基因的研究已经取得了重要进展,但仍有许多问题亟待解决。一方面,目前对 AP2/ERF 转录因子的功能研究大部分集中在拟南芥、番茄及水稻等模式植物或作物上,在其他植物诸如具有高产潜能的薯芋根茎类作物上的研究较少,今后应加强对这类作物的研究。另一方面,对 AP2/ERF 的研究多集中于单个转录因子的孤立作用,对参与不同信号通路间的交互作用以及与其他转录因子协同作用的机制有待进一步探索,且有些串联排列的 AP2/ERF 转录因子存在功能冗余现象,传统的分子生物技术方法难以清晰揭示其作用机制。随着 CRISPR/Cas9、多组学以及计算生物学技术的发展,多层次多维度解析 AP2/ERF 转录因子的调控网络和作用机制并应用于生产实践将成为可能。

培育高产、稳产、品质优良兼具多抗性的农作物品种是当今育种工作的重要方向。植物抗性受多基因控制,通过调控抗性基因或相关转录因子的表达来提高植物的抗性已成为目前研究的热点。AP2/ERF 家族转录因子,尤其是 DREB 和 ERF 亚族广泛参与了植物对非生物及生物胁迫的防御反应。大量研究发现,沉默或过表达 DREB 和 ERF 基因,可同时提高转基因植株对逆境胁迫的耐受性,说明这类转录因子在转基因育种中的巨大潜力,也为通过基因工程进行植物遗传改良与种质创新提供了新思路。

参考文献

- [1] Feng K, Hou X L, Xing G M, Liu J X, Duan A Q, Xu Z S, Li M Y, Zhuang J, Xiong A S. Advances in AP2/ERF super-family transcription factors in plant. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2020, 40(6):750-776
- [2] Shoji T, Yuan L. ERF gene clusters: Working together to regulate metabolism. *Trends in Plant Science*, 2021, 26(1): 23-32
- [3] Jofuku K D, den Boer B G, Van Montagu M, Okamoto J K. Control of *Arabidopsis* flower and seed development by the homeotic gene *APETALA2*. *Plant Cell*, 1994, 6(9): 1211-1225
- [4] Chandler J W. Class VIIIb APETALA2 ethylene response factors in plant development. *Trends in Plant Science*, 2018, 23(2):151-162
- [5] Owji H, Hajiebrahimi A, Seradj H, Hemmati S. Identification and functional prediction of stress responsive AP2/ERF transcription factors in *Brassica napus* by genome-wide analysis. *Computational Biology and Chemistry*, 2017, 71: 32-56
- [6] Okamoto J K, Caster B, Villarreal R, Van Montagu M, Jofuku K D. The AP2 domain of *APETALA2* defines a large new family of DNA binding proteins in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1997, 94(13): 7076-7081
- [7] Lakhwani D, Pandey A, Dhar Y V, Bag S K, Trivedi P K, Asif M H. Genome-wide analysis of the AP2/ERF family in *Musa* species reveals divergence and neo-functionalisation during evolution. *Scientific Reports*, 2016, 6:18878
- [8] Sakuma Y, Liu Q, Dubouzet J G, Abe H, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. DNA-binding specificity of the ERF/AP2 domain of *Arabidopsis* DREBs, transcription factors involved in dehydration- and cold-inducible gene expression. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2002, 290(3): 998-1009
- [9] Zhuang J, Peng R H, Cheng Z M, Zhang J, Cai B, Zhang Z, Gao F, Zhu B, Fu X Y, Jin X F, Chen J M, Qiao Y S, Xiong A S, Yao Q H. Genome-wide analysis of the putative AP2/ERF family genes in *Vitis Vinifera*. *Scientia Horticulturae*, 2009, 123(1): 73-81
- [10] Jofuku K D, Omidyar P K, Gee Z, Okamoto J K. Control of seed mass and seed yield by the floral homeotic gene *APETALA2*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(8):3117-3122
- [11] Stockinger E J, Gilmour S J, Thomashow M F. *Arabidopsis thaliana* *CBF1* encodes an AP2 domain-containing transcriptional activator that binds to the C-repeat/DRE, a cis-acting DNA regulatory element that stimulates transcription in response to low temperature and water deficit. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1997, 94(3):1035-1040
- [12] Sohn K H, Lee S C, Jung H W, Hong J K, Hwang B K. Expression and functional roles of the pepper pathogen-induced transcription factor *RAVI* in bacterial disease resistance, and drought and salt stress tolerance. *Plant Molecular Biology*, 2006, 61(6): 897-915
- [13] Licausi F, Ohme-Takagi M, Perata P. APETALA2/ethylene responsive factor (AP2/ERF) transcription factors: Mediators of stress responses and developmental programs. *The New Phytologist*, 2013, 199(3):639-649
- [14] Ni J, Bai S, Zhao Y, Qian M, Tao R, Yin L, Gao L, Teng Y. Ethylene response factors *Pp4ERF24* and *Pp12ERF96* regulate blue light-induced anthocyanin biosynthesis in 'Red Zaosu' pear fruits by interacting with *MYB114*. *Plant Molecular Biology*, 2019, 99(1-2):67-78
- [15] Mo R, Han G, Zhu Z, Essemine J, Dong Z, Li Y, Deng W, Qu M, Zhang C, Yu C. The ethylene response factor ERF5 regulates anthocyanin biosynthesis in 'Zijin' mulberry fruits by

- interacting with *MYBA* and *F3H* genes. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23:7615
- [16] An J P, Zhang X W, Bi S Q, You C X, Wang X F, Hao Y J. The ERF transcription factor *MdERF38* promotes drought stress-induced anthocyanin biosynthesis in apple. Plant Journal, 2020, 101(3):573-589
- [17] Li D, He Y, Li S, Shi S, Li L, Liu Y, Chen H. Genome-wide characterization and expression analysis of AP2/ERF genes in eggplant (*Solanum melongena* L.). Plant Physiology and Biochemistry, 2021, 167:492-503
- [18] Koyama T, Sato F. The function of *ETHYLENE RESPONSE FACTOR* genes in the light-induced anthocyanin production of *Arabidopsis thaliana* leaves. Plant Biotechnology (Tokyo), 2018, 35(1):87-91
- [19] Ni J, Premathilake A T, Gao Y, Yu W, Tao R, Teng Y, Bai S. Ethylene-activated *PpERF105* induces the expression of the repressor-type R2R3-MYB gene *PpMYB140* to inhibit anthocyanin biosynthesis in red pear fruit. Plant Journal, 2021, 105(1):167-181
- [20] Chen Y, Wu P, Zhao Q, Tang Y, Chen Y, Li M, Jiang H, Wu G. Overexpression of a phosphate starvation response AP2/ERF gene from physic nut in *Arabidopsis* alters root morphological traits and phosphate starvation-induced anthocyanin accumulation. Frontiers in Plant Science, 2018, 9:1186
- [21] Zhao C, Liu X, Gong Q, Cao J, Shen W, Yin X, Grierson D, Zhang B, Xu C, Li X, Chen K, Sun C. Three AP2/ERF family members modulate flavonoid synthesis by regulating type IV chalcone isomerase in *citrus*. Plant Biotechnology Journal, 2021, 19(4):671-688
- [22] Zhang J, Xu H, Wang N, Jiang S, Fang H, Zhang Z, Yang G, Wang Y, Su M, Xu L, Chen X. The ethylene response factor *MdERF1B* regulates anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis in apple. Plant Molecular Biology, 2018, 98(3):205-218
- [23] Domonkos I, Kis M, Gombos Z, Ughy B. Carotenoids, versatile components of oxygenic photosynthesis. Progress in Lipid Research, 2013, 52(4):539-561
- [24] Fiedor J, Burda K. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. Nutrients, 2014, 6:466-488
- [25] Welsch R, Maass D, Voegel T, Dellapenna D, Beyer P. Transcription factor *RAP2.2* and its interacting partner *SINAT2*: Stable elements in the carotenogenesis of *Arabidopsis* leaves. Plant Physiology, 2007, 145(3):1073
- [26] Dang Q, Sha H, Nie J, Wang Y, Yuan Y, Jia D. An apple (*Malus domestica*) AP2/ERF transcription factor modulates carotenoid accumulation. Horticulture Research, 2021, 8(1):223
- [27] Jiang C C, Zhang Y F, Lin Y J, Chen Y, Lu X K. Illumina (R) sequencing reveals candidate genes of carotenoid metabolism in three pummelo Cultivars (*Citrus Maxima*) with different pulp color. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(9):2246
- [28] Zhu K, Sun Q, Chen H, Mei X, Lu S, Ye J, Chai L, Xu Q, Deng X. Ethylene activation of carotenoid biosynthesis by a novel transcription factor *CsERF061*. Journal of Experimental Botany, 2021, 72(8):3137-3154
- [29] Sun Y, Liang B, Wang J, Kai W, Chen P, Jiang L, Du Y, Leng P. *SlPTi4* affects regulation of fruit ripening, seed germination, and stress responses by modulating ABA signaling in tomato. Plant & Cell Physiology, 2018, 59(10):1956-1965
- [30] Wang X, Zeng W, Ding Y, Wang Y, Niu L, Yao J L, Pan L, Lu Z, Cui G, Li G, Wang Z. *PpERF3* positively regulates ABA biosynthesis by activating *PpNCED2/3* transcription during fruit ripening in peach. Horticulture Research, 2019, 6:19
- [31] Lee J M, Joung J G, McQuinn R, Chung M Y, Fei Z, Tieman D, Klee H, Giovannoni J. Combined transcriptome, genetic diversity and metabolite profiling in tomato fruit reveals that the ethylene response factor *SlERF6* plays an important role in ripening and carotenoid accumulation. Plant Journal, 2012, 70(2):191-204
- [32] Chung M Y, Vrebalov J, Alba R, Lee J, McQuinn R, Chung J D, Klein P, Giovannoni J. A tomato (*Solanum lycopersicum*) APETALA2/ERF gene, *SlAP2a*, is a negative regulator of fruit ripening. Plant Journal, 2010, 64(6):936-947
- [33] Zhang J, Hu Z, Yao Q, Guo X, Nguyen V, Li F, Chen G. A tomato MADS-box protein, *SICMB1*, regulates ethylene biosynthesis and carotenoid accumulation during fruit ripening. Scientific Reports, 2018, 8:3413
- [34] Ma R, Xiao Y, Lv Z, Tan H, Chen R, Li Q, Chen J, Wang Y, Yin J, Zhang L, Chen W. AP2/ERF transcription factor, *Iti049*, positively regulates lignan biosynthesis in *Isatis indigotica* through activating salicylic acid signaling and lignan/lignin pathway genes. Frontiers in Plant Science, 2017, 8:1361
- [35] Zhang J, Liu Z, Sakamoto S, Mitsuda N, Ren A, Persson S, Zhang D. ETHYLENE RESPONSE FACTOR 34 promotes secondary cell wall thickening and strength of rice peduncles. Plant Physiology, 2022, 190:1806-1820
- [36] Bian X, Kim H S, Kwak S S, Zhang Q, Liu S, Ma P, Jia Z, Xie Y, Zhang P, Yu Y. Different functions of *IbRAP2.4*, a drought-responsive AP2/ERF transcription factor, in regulating root development between *Arabidopsis* and sweetpotato. Frontiers in Plant Science, 2022, 13:820450
- [37] Zhang J, Yin X R, Li H, Xu M, Zhang M X, Li S J, Liu X F, Shi Y N, Grierson D, Chen K S. ETHYLENE RESPONSE FACTOR39-MYB8 complex regulates low-temperature-induced lignification of loquat fruit. Journal of Experimental Botany, 2020, 71(10):3172-3184
- [38] Zeng J K, Li X, Xu Q, Chen J Y, Yin X R, Ferguson I B, Chen K S. *EjAP2-1*, an AP2/ERF gene, is a novel regulator of fruit lignification induced by chilling injury, via interaction

- with E2MYB transcription factors. *Plant Biotechnology Journal*, 2015, 13(9): 1325-1334
- [39] Min T, Fang F, Ge H, Shi Y N, Luo Z R, Yao Y C, Grierson D, Yin X R, Chen K S. Two novel anoxia-induced ethylene response factors that interact with promoters of deastringency-related genes from persimmon. *PLoS ONE*, 2014, 9 (5) : e97043
- [40] Bai Z, Li W, Jia Y, Yue Z, Jiao J, Huang W, Xia P, Liang Z. The ethylene response factor *SmERF6* co-regulates the transcription of *SmCPSI* and *SmKSL1* and is involved in tanshinone biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots. *Planta*, 2018, 248(1) : 243
- [41] Sun M, Shi M, Wang Y, Huang Q, Yuan T, Wang Q, Wang C, Zhou W, Kai G. The biosynthesis of phenolic acids is positively regulated by the JA-responsive transcription factor *ERF115* in *Salvia miltiorrhiza*. *Journal of Experimental Botany*, 2019, 70(1):243-254
- [42] Huang Q, Sun M, Yuan T, Wang Y, Shi M, Lu S, Tang B, Pan J, Wang Y, Kai G. The AP2/ERF transcription factor *SmERF11* regulates the biosynthesis of tanshinones and phenolic acids in *Salvia miltiorrhiza*. *Food Chemistry*, 2019, 274:368-375
- [43] Liu W, Li Q, Wang Y, Wu T, Yang Y, Zhang X, Han Z, Xu X. Ethylene response factor *AtERF72* negatively regulates *Arabidopsis thaliana* response to iron deficiency. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2017, 491 (3) : 862-868
- [44] Han Z, Hu Y, Lv Y, Rose J K C, Sun Y, Shen F, Wang Y, Zhang X, Xu X, Wu T, Han Z. Natural variation underlies differences in ethylene response factor activity in fruit peel degreening. *Plant Physiology*, 2018, 176(3) : 2292-2304
- [45] Hayashi S, Watanabe M, Kobayashi M, Tohge T, Hashimoto T, Shoji T. Genetic manipulation of transcriptional regulators alters nicotine biosynthesis in tobacco. *Plant & Cell Physiology*, 2020, 61(6) : 1041-1053
- [46] Deng B, Huang Z, Ge F, Liu D, Lu R, Chen C. An AP2/ERF family transcription factor *PnERF1* raised the biosynthesis of saponins in *Panax notoginseng*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2017, 36(3) : 691
- [47] Tan H, Xiao L, Gao S, Li Q, Chen J, Xiao Y, Ji Q, Chen R, Chen W, Zhang L. Trichome and artemisinin regulator 1 is required for trichome development and artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua*. *Molecular Plant*, 2015, 8(9) : 1396-1411
- [48] Hou Z, Li Y, Cheng Y, Li W, Li T, Du H, Kong F, Dong L, Zheng D, Feng N, Liu B, Cheng Q. Genome-wide analysis of *DREB* genes identifies a novel salt tolerance gene in wild soybean (*Glycine soja*). *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13:821647
- [49] Chen H, Liu L, Wang L, Wang S, Cheng X. *VrDREB2A*, a DREB-binding transcription factor from *Vigna radiata*, increased drought and high-salt tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Plant Research*, 2016, 129 (2):263-273
- [50] Rong W, Qi L, Wang A, Ye X, Du L, Liang H, Xin Z, Zhang Z. The ERF transcription factor *TaERF3* promotes tolerance to salt and drought stresses in wheat. *Plant Biotechnology Journal*, 2014, 12(4) : 468-479
- [51] Liu J, Yang R, Liang Y, Wang Y, Li X. The DREB A-5 transcription factor *ScDREB5* from *Syntrichia caninervis* enhanced salt tolerance by regulating jasmonic acid biosynthesis in transgenic *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13:857396
- [52] Kim R J, Lee S B, Pandey G, Suh M C. Functional conservation of an AP2/ERF transcription factor in cuticle formation suggests an important role in the terrestrialization of early land plants. *Journal of Experimental Botany*, 2022, 73 (22) : 7450-7466
- [53] Geng L, Su L, Wang L, Geng Z, Lin S, Zhang Y, Yu S, Fu L, Liu Q, Cheng C, Jiang X. Role of *RcTINY2* in the regulation of drought and salt stress response in *Arabidopsis* and rose. *Horticulturae*, 2022, 8(8) : 747
- [54] Shen L, Zhao E, Liu R, Yang X. Transcriptome analysis of eggplant under salt stress: AP2/ERF transcription factor *SmERF1* acts as a positive regulator of salt stress. *Plants (Basel)*, 2022, 11(17) : 2205
- [55] Lu L, Qanmber G, Li J, Pu M, Chen G, Li S, Liu L, Qin W, Ma S, Wang Y, Chen Q, Liu Z. Identification and characterization of the ERF subfamily B3 group revealed *GhERF13.12* improves salt tolerance in Upland Cotton. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12:705883
- [56] Xie Z, Nolan T, Jiang H, Tang B, Zhang M, Li Z, Yin Y. The AP2/ERF transcription factor *TINY* modulates brassinosteroid-regulated plant growth and drought responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2019, 31(8) : 1788-1806
- [57] Li Z, Tian Y, Xu J, Fu X, Gao J, Wang B, Han H, Wang L, Peng R, Yao Q. A tomato ERF transcription factor, *SlERF84*, confers enhanced tolerance to drought and salt stress but negatively regulates immunity against *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000. *Plant physiology and Biochemistry*, 2018, 132:683-695
- [58] Li Y, Zhang H, Zhang Q, Liu Q, Zhai H, Zhao N, He S. An AP2/ERF gene, *IbRAP2-12*, from sweetpotato is involved in salt and drought tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *Plant Science*, 2019, 281:19-30
- [59] Zhu Y, Liu Y, Zhou K, Tian C, Aslam M, Zhang B, Liu W, Zou H. Overexpression of *ZmEREBP60* enhances drought tolerance in maize. *Journal of Plant Physiology*, 2022, 275: 153763
- [60] Chen K, Tang W, Zhou Y, Chen J, Xu Z, Ma R, Dong Y, Ma Y, Chen M. AP2/ERF transcription factor *GmDREB1* confers drought tolerance in transgenic soybean by interacting with *GmERFs*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2022, 170:287-295

- [61] Chen N, Qin J, Tong S, Wang W, Jiang Y. One AP2/ERF transcription factor positively regulates Pi uptake and drought tolerance in *Poplar*. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(9):5241
- [62] Sun S, Liang X, Chen H, Hu L, Yang Z. Identification of AP2/ERF transcription factor family genes and expression patterns in response to drought stress in *Pinus massoniana*. Forests, 2022, 13(9):1430
- [63] Li W, Geng Z, Zhang C, Wang K, Jiang X. Whole-genome characterization of *Rosa chinensis* AP2/ERF transcription factors and analysis of negative regulator *RcDREB2B* in *Arabidopsis*. BMC Genomics, 2021, 22(1):90
- [64] Wang Y, Xia D, Li W, Cao X, Ma F, Wang Q, Zhan X, Hu T. Overexpression of a tomato AP2/ERF transcription factor *SlERF.B1* increases sensitivity to salt and drought stresses. Scientia Horticulturae, 2022, 304:111332
- [65] Wan L, Zhang J, Zhang H, Zhang Z, Quan R, Zhou S, Huang R. Transcriptional activation of OsDERF1 in *OsERF3* and *OsAP2-39* negatively modulates ethylene synthesis and drought tolerance in rice. PLoS ONE, 2018, 6(9):e25216
- [66] Lim C W, Lim J, Lee S C. The pepper AP2 domain-containing transcription factor CaDRAT1 plays a negative role in response to dehydration stress. Environmental and Experimental Botany, 2019, 164:170-180
- [67] Sakuma Y, Maruyama K, Osakabe Y, Qin F, Seki M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Functional analysis of an *Arabidopsis* transcription factor, *DREB2A*, involved in drought-responsive gene expression. Plant Cell, 2006, 18(5):1292-1309
- [68] Liu L, Zhu K, Yang Y, Wu J, Chen F, Yu D. Molecular cloning, expression profiling and trans-activation property studies of a *DREB2-like* gene from chrysanthemum (*Dendranthema vestitum*). Journal of Plant Research, 2008, 121(2):215-226
- [69] Mizoi J, Ohori T, Moriwaki T, Kidokoro S, Todaka D, Maruyama K, Kusakabe K, Osakabe Y, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. *GmDREB2A*;2, a canonical DEHYDRATION-RESPONSIVE ELEMENT-BINDING PROTEIN2-type transcription factor in soybean, is posttranslationally regulated and mediates dehydration-responsive element-dependent gene expression. Plant Physiology, 2013, 161(1):346-361
- [70] Singh S, Chopperla R, Shingote P, Chhapekar S S, Deshmukh R, Khan S, Padaria J C, Sharma T R, Solanke A U. Overexpression of *EcDREB2A* transcription factor from finger millet in tobacco enhances tolerance to heat stress through ROS scavenging. Journal of Biotechnology, 2021, 336:10-24
- [71] Mao L, Deng M, Jiang S, Zhu H, Yang Z, Yue Y, Zhao K. Characterization of the DREBA4-type transcription factor (*SIDREBA4*), which contributes to heat tolerance in tomatoes. Frontiers in Plant Science, 2020, 11:554520
- [72] Du X, Li W, Sheng L, Deng Y, Wang Y, Zhang W, Yu K, Jiang J, Fang W, Guan Z, Chen F, Chen S. Over-expression of chrysanthemum *CmDREB6* enhanced tolerance of chrysanthemum to heat stress. BMC Plant Biology, 2018, 18(1):178
- [73] Li T, Wu Z, Xiang J, Zhang D, Teng N. Overexpression of a novel heat-inducible ethylene-responsive factor gene *LIERF110* from *Lilium longiflorum* decreases thermotolerance. Plant Science, 2022, 319:111246
- [74] Thomashow M F. Molecular basis of plant cold acclimation: Insights gained from studying the CBF cold response pathway. Plant Physiology, 2010, 154(2):571-577
- [75] Medina J, Bagues M, Terol J, Pérez-Alonso M, Salinas J. The *Arabidopsis* CBF gene family is composed of three genes encoding AP2 domain-containing proteins whose expression is regulated by low temperature but not by abscisic acid or dehydration. Plant Physiology, 1999, 119(2):463-470
- [76] Jia Y, Ding Y, Shi Y, Zhang X, Gong Z, Yang S. The *cbfs* triple mutants reveal the essential functions of *CBFs* in cold acclimation and allow the definition of CBF regulons in *Arabidopsis*. New Phytologist, 2016, 212(2):345-353
- [77] Zhao C, Zhang Z, Xie S, Si T, Li Y, Zhu J K. Mutational evidence for the critical role of CBF transcription factors in cold acclimation in *Arabidopsis*. Plant Physiology, 2016, 171(4):2744-2759
- [78] Novillo F, Medina J, Salinas J. *Arabidopsis CBF1* and *CBF3* have a different function than *CBF2* in cold acclimation and define different gene classes in the CBF regulon. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(52):21002-21007
- [79] Khan M, Hu J, Dahro B, Ming R, Zhang Y, Wang Y, Alhag A, Li C, Liu J H. ERF108 from *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. functions in cold tolerance by modulating raffinose synthesis through transcriptional regulation of *PtrRafS*. Plant Journal, 2021, 108(3):705-724
- [80] Lv K, Li J, Zhao K, Chen S, Nie J, Zhang W, Liu G, Wei H. Overexpression of an AP2/ERF family gene, *BpERF13*, in birch enhances cold tolerance through upregulating CBF genes and mitigating reactive oxygen species. Plant Science, 2020, 292:110375
- [81] Hong Y, Wang H, Gao Y, Bi Y, Xiong X, Yan Y, Wang J, Li D, Song F. ERF transcription factor *OsBIERF3* positively contributes to immunity against fungal and bacterial diseases but negatively regulates cold tolerance in rice. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(2):606
- [82] Xie Z, Yang C, Liu S, Li M, Gu L, Peng X, Zhang Z. Identification of AP2/ERF transcription factors in *Tetrastigma hemsleyanum* revealed the specific roles of *ERF46* under cold stress. Frontiers in Plant Science, 2022, 13:936602
- [83] Chen J, Zhou Y, Zhang Q, Liu Q, Li L, Sun C, Wang K, Wang Y, Zhao M, Li H, Han Y, Chen P, Li R, Lei J, Zhang M, Wang Y. Structural variation, functional differentiation and expression characteristics of the AP2/ERF gene family and its

- response to cold stress and methyl jasmonate in *Panax ginseng* C.A. Meyer. PLoS ONE, 2020, 15(3): e0226055
- [84] Zhao M, Li Y, Zhang X, You X, Yu H, Guo R, Zhao X. Genome-wide identification of AP2/ERF superfamily genes in *Juglans mandshurica* and expression analysis under cold stress. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23 (23) : 15225
- [85] Zhang Z, Li W, Gao X, Xu M, Guo Y. *DEAR4*, a member of DREB/CBF family, positively regulates leaf senescence and response to multiple stressors in *Arabidopsis thaliana*. Frontiers in Plant Science, 2020, 11:367
- [86] Bui L T, Giuntoli B, Kosmacz M, Parlanti S, Licausi F. Constitutively expressed ERF-VII transcription factors redundantly activate the core anaerobic response in *Arabidopsis thaliana*. Plant Science, 2015, 236:37-43
- [87] Seok H Y, Tran H T, Lee S Y, Moon Y H. *AtERF71/HRE2*, an *Arabidopsis* AP2/ERF transcription factor gene, contains both positive and negative cis-regulatory elements in its promoter region involved in hypoxia and salt stress responses. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23 (10) : 5310
- [88] Tang W, Charles T M, Newton R J. Overexpression of the pepper transcription factor *CaPFI* in transgenic Virginia pine (*Pinus Virginiana* Mill.) confers multiple stress tolerance and enhances organ growth. Plant Molecular Biology, 2005, 59 (4):603-617
- [89] Zang Z, Lv Y, Liu S, Yang W, Ci J, Ren X, Wang Z, Wu H, Ma W, Jiang L, Yang W. A novel ERF transcription factor, *ZmERF105*, positively regulates maize resistance to *exserohilum turcicum*. Frontiers in Plant Science, 2020, 11:850
- [90] Lu X, Zhang L, Zhang F, Jiang W, Shen Q, Zhang L, Lv Z, Wang G, Tang K. *AaORA*, a trichome-specific AP2/ERF transcription factor of *Artemisia annua*, is a positive regulator in the artemisinin biosynthetic pathway and in disease resistance to *Botrytis cinerea*. New Phytologist, 2013, 198(4): 1191-1202
- [91] Gao H, Wu X, Yang X, Sun M, Xiao Y, Peng F. Silicon inhibits gummosis in peach via ethylene and *PpERF-PpPGI* pathway. Plant Science, 2022, 322:111362
- [92] Shoji T, Hashimoto T. Tobacco MYC2 regulates jasmonate inducible nicotine biosynthesis genes directly and by way of the *NIC2*-locus *ERF* genes. Plant & Cell Physiology, 2011, 52:1117-1130
- [93] Giri M K, Swain S, Gautam J K, Singh S, Singh N, Bhattacharjee L, Nandi A K. The *Arabidopsis thaliana At4g13040* gene, a unique member of the AP2/EREBP family, is a positive regulator for salicylic acid accumulation and basal defense against bacterial pathogens. Journal of Plant Physiology, 2014, 171(10):860-867
- [94] 牟少亮, 申磊, 石星辰, 官德义, 何水林. 水稻 *OsERF96* 应答病原菌的表达及启动子的功能分析. 植物遗传资源学报, 2017, 18(1):133-138
- Mou S L, Shen L, Shi X C, Guan D Y, He S L. Expression of *OsERF96* response to pathogen and functional analysis of its promoter. Journal of Plant Genetic Resources, 2017, 18(1) : 133-138
- [95] Yang H, Sun Y, Wang H, Zhao T, Xu X, Jiang J, Li J. Genome-wide identification and functional analysis of the *ERF2* gene family in response to disease resistance against *Stemphylium lycopersici* in tomato. BMC Plant Biology, 2021, 21(1):72
- [96] Wang L, Liu W, Wang Y. Heterologous expression of Chinese wild grapevine *VqERFs* in *Arabidopsis thaliana* enhance resistance to *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000 and to *Botrytis cinerea*. Plant Science, 2020, 293:110421
- [97] Liu D, Chen X, Liu J, Ye J, Guo Z. The rice ERF transcription factor *OsERF922* negatively regulates resistance to magnaporthe oryzae and salt tolerance. Journal of Experimental Botany, 2012, 63(10):3899-3911
- [98] Tian Z, He Q, Wang H, Liu Y, Zhang Y, Shao F, Xie C. The potato ERF transcription factor *StERF3* negatively regulates resistance to phytophthora infestans and salt tolerance in potato. Plant & Cell Physiology, 2015, 56(5):992-1005
- [99] Huang P Y, Zhang J, Jiang B, Chan C, Yu J H, Lu Y P, Chung K, Zimmerli L. NINJA-associated *ERF19* negatively regulates *Arabidopsis* pattern-triggered immunity. Journal of Experimental Botany, 2019, 70:1033-1047
- [100] 刘菊, 张会灵, 张中华, 赵亚男, 张菊平. 乙烯响应因子 (ERFs) 在植物花青素合成中的调控作用. 植物遗传资源学报, 2023, 24(3):615-623
- Liu J, Zhang H L, Zhang Z H, Zhao Y N, Zhang J P. The regulation of ethylene responsive factors (ERFs) in plant anthocyanin synthesis. Journal of Plant Genetic Resources, 2023, 24(3):615-623