

张洁雯,刘建国,蔡墩旭,等. Dof 转录因子在植物碳氮代谢中的调控作用综述[J]. 江苏农业科学,2022,50(15):6-13.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.15.002

Dof 转录因子在植物碳氮代谢中的调控作用综述

张洁雯^{1,2}, 刘建国², 蔡墩旭¹, 陈日远¹, 朱云娜², 宋世威¹

(1. 华南农业大学园艺学院, 广东广州 510642; 2. 韶关学院英东生物与农业学院, 广东韶关 512005)

摘要:碳、氮代谢是植物体内最重要的两大代谢,对作物生物量积累与品质形成具有重要作用。在生产中,多依赖增加施肥量来提高作物产量,导致环境污染与不可持续发展,因此迫切需要选育高氮素利用效率的作物品种。植物氮素利用效率的提高,不仅依靠提高植物对氮肥的吸收能力,还需要考虑协调碳、氮代谢之间的关系。作为协调靶基因整个应答网络表达的主要调节因子,转录因子能影响整个应答网络中所涉及的代谢物变化。DNA 结合单指蛋白(DNA binding with one finger,Dof)转录因子是植物中特有的转录因子,参与调控植物组织分化、种子萌发、物质代谢等生理生化过程。重点综述 Dof 转录因子在植物碳、氮代谢中的调控作用,在植物碳代谢中,Dof 转录因子主要参与光合途径中关键基因和光合代谢产物的调控;在氮代谢中,Dof 转录因子主要通过调控氮的吸收、转运和同化途径的关键基因促进氮同化,并通过协调碳氮代谢的平衡提高植物对氮素的利用效率,改善植物的品质和产量,这给利用 Dof 转录因子协调植物碳氮代谢关系、提高氮素利用效率和农艺性状的深入研究奠定了基础。

关键词:Dof 转录因子;碳代谢;氮代谢;氮素利用效率;调控作用

中图分类号:S184 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)15-0006-08

氮是植物生长发育所必需的大量元素之一,生产中存在施用量大、利用率不高、产品器官易积累硝酸盐、环境污染等问题,提高氮素利用率是农业

生产中提高产量亟待解决的重要问题^[1]。一般来说,提高植物氮素利用效率一方面可以通过改善栽培条件而达成,另一方面可以通过调节植物体内碳氮代谢基因表达网络的调控因子来实现^[2-3]。然而,一些研究表明,仅从氮吸收、代谢途径的某个基因着手提高氮素利用效率,对作物增产效果并不显著。蔡红梅超表达水稻硝酸根转运蛋白基因 *NRT*、铵离子转运蛋白基因 *AMT*、谷氨酰胺合成酶基因 *GS* 等氮吸收、代谢相关的基因,结果表明,转基因植株氮代谢途径相关基因水平明显提高,但产量无显著变化^[4]。包爱丽进一步研究发现,超表达水稻 *GS*、*AMT* 基因导致核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶基因 *RUBISCO*、磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶基因 *PEPC*、*GS* 等碳氮代谢关键基因表达模式发生明显

收稿日期:2021-12-20

基金项目:广东省自然科学基金(编号:2019A1515011680);广东省教育厅项目(编号:2019KTSX164);韶关市科技攻关项目(编号:200810224537535);韶关学院博士科研启动项目(编号:99000613);广东省现代农业产业共性关键技术研发创新团队项目(编号:2021KJ131)。

作者简介:张洁雯(1996—),女,广东茂名人,硕士研究生,研究方向为蔬菜栽培生理与分子生物学。E-mail:hnzyzjw@stu.scau.edu.cn。

通信作者:朱云娜,博士,讲师,主要从事蔬菜栽培生理与分子生物学研究,E-mail:zhuyun326@126.com;宋世威,博士,教授,主要从事设施园艺生理生态与分子生物学研究,E-mail:swsong@scau.edu.cn。

[28]何毅. 农作物秸秆还田机械化技术应用及发展趋势分析[J]. 农业开发与装备,2013(7):56-57.

[29]董晓芳. 农作物秸秆综合利用的机械化技术探究[J]. 农业开发与装备,2018(1):138,140.

[30]戴飞,韩正晟,张克平,等. 我国机械化秸秆还田联合作业机的现状与发展[J]. 中国农机化,2011,32(6):42-45,37.

[31]董水利,王海仓. 焚烧秸秆对土壤养分及水分的影响[J]. 陕西农业科学,2011,57(3):90-92.

[32]Verma S,Jayakumar S. Impact of forest fire on physical,chemical and biological properties of soil:a review[J]. Proceedings of the

International Academy of Ecology and Environmental Sciences, 2012,2(3):168.

[33]李云燕,崔涵,朱启臻. 从碳达峰碳中和目标愿景看乡村环境治理的困境与出路[J]. 行政管理改革,2021(8):32-38.

[34]杜长征. 我国秸秆还田机械化的发展现状与思考[J]. 农机化研究,2009,31(7):234-236.

[35]贾洪雷,姜鑫铭,郭明卓,等. V-L 型秸秆粉碎还田刀片设计与试验[J]. 农业工程学报,2015,31(1):28-33.

[36]王庆杰,刘正道,何进,等. 砍切式玉米秸秆还田机的设计与试验[J]. 农业工程学报,2018,34(2):10-17.

变化,植株碳、氮代谢不平衡,从而影响了植物生长发育和产量的形成^[5]。这进一步说明植物氮素利用效率的提高,不能仅依靠提高植物对氮素的吸收能力,还需要考虑碳、氮代谢之间的平衡关系^[2]。

碳、氮代谢是植物体内最重要的两大代谢,二者相辅相成,直接影响植物生长发育、作物产量和品质^[6]。近年来,研究指出,协调碳氮代谢平衡可优化植株对氮素的吸收、同化和代谢,提高氮素利用效率^[7]。许多研究结果表明,从根本上提高作物氮素利用效率的有效方法之一是找到影响植物碳氮代谢途径的关键调控因子,在整体上协调碳氮代谢途径,提高氮素利用效率,从而增加作物产量和改善作物品质^[8-12]。

转录因子作为协调靶基因整个应答网络表达的主要调节因子,可以同时调控 1 个或者多个基因调控靶基因,从而影响整个应答网络中所涉及的代谢物变化^[13]。前人研究报道 HY5、Dof1、NLP6、GRF4 等转录因子对氮素代谢具有重要调控作用^[2,11,14-15];其中, HY5、Dof1 还参与碳同化和运输^[14-15]。Li 等报道,GRF4 和 DELLA 共同协调水稻植株碳、氮代谢,在减氮条件下仍可获得高产,这为农业育种提供了新策略^[11]。目前已有文献报道,锌指蛋白转录因子 Dof 在植物的光调控开花、非生物胁迫、种子萌发与发育调控、植物激素信号转导

和碳氮代谢等方面起着调控作用^[16-20]。Dof 可显著影响 *PEPC*、*AMT*、*GS* 等多个碳、氮代谢基因表达,从而调节碳氮代谢^[2,6,14-15,21-22]。近年来,越来越多的学者关注 Dof 转录因子在植物碳氮代谢和提高氮素利用效率方面的作用,但还没有清晰的 Dof 转录因子参与植物碳氮代谢的分子调控网络。本文主要综述参与植物碳氮代谢中的 Dof 转录因子及功能,以期给后续研究提供一定的理论基础。

1 Dof 转录因子的结构特点

DNA 结合单锌指蛋白转录因子属于单锌指蛋白超家族,是植物特有的一类转录因子,自 1993 年 Yanagisawa 等从玉米中分离出第 1 个 Dof 基因 (*ZmDof1*)^[23] 以来,越来越多的 Dof 家族成员在不同物种中得到鉴定,其结构和功能分析已有大量文献报道^[24-26]。典型的植物转录因子包含 4 个结构域,分别是 DNA 结合结构域、转录调节结构域、寡聚位点和核定位信号^[27]。Dof 转录因子一般由 200 ~ 400 个氨基酸组成,具有 2 个功能结构域:N - 末端的 DNA 结合区和位于 C - 末端的转录调控区,其中,DNA 结合区为 52 个保守的氨基酸残基构成的 C2 - C2 型单锌指结构域,由 4 个保守的半胱氨酸 (Cys) 残基和 1 个 Zn^{2+} 共价结合,形成 $CX_2CX_{21}CX_2C$ 基序,被命名为 Dof 结构域(图 1)^[28-29]。

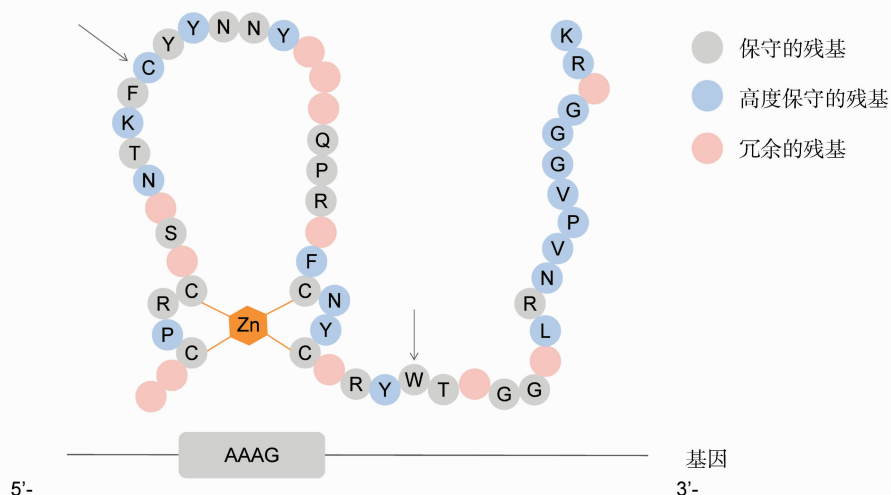


图 1 Dof 蛋白结构模式图^[16]

除文献报道的南瓜 Dof 蛋白 AOBP 特异识别序列为 AGTA 序列外,Dof 家族成员主要通过含有 AAAG(或 CTTT)序列的识别位点与下游基因启动子序列结合调控靶基因表达^[24,29-30],因此 Dof 结合结构域具有高度保守性。另外,Dof 转录因子核心

序列之外的侧翼序列、AAAG 序列的数量、蛋白互作以及转录后的修饰会影响 Dof 蛋白与 DNA 识别序列结合的亲和力与选择性^[28,31]。由于 Dof 的 C - 末端转录调节结构域的氨基酸序列较为多变,不具有保守性,因此其功能也呈现出多样性^[24,32]。

2 Dof 转录因子在植物碳代谢中的调控作用

植物生长发育离不开碳代谢。碳代谢作为植物生命活动中最基础的代谢之一,一方面,碳代谢通过光合作用把体外的二氧化碳转化为植物能吸收的碳水化合物;另一方面,碳代谢通过呼吸作用把碳水化合物异化为二氧化碳等生理生化过程,包括光合产物木质素、淀粉、蔗糖等的生物合成、降解和转化,以及呼吸过程中的三羧酸循环(TCA)、糖酵解途径(EMP)以及磷酸戊糖途径(PPP)等。碳代谢还能氮代谢等物质代谢提供能量和碳骨架 2-酮戊二酸(2-OG)等。

2.1 Dof 转录因子调控光合作用

磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC)是将磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)转化成草酰乙酸(OAA)的关键酶。超表达玉米 *ZmDof1* 基因可提高玉米原生质中 *C4pepc* 启动子的活性,提高 *cyppdk1* 和非光合 *pepcZm2A* 启动子的活性^[33];在水稻中超表达该基因,除可激活 *PEPC* 基因表达外,还可上调依赖烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADP)的苹果酸脱氢酶编码基因(*NADP-MAD*)和异柠檬酸脱氢酶编码基因(*ICDH*)表达,从而促进碳代谢^[6]。类似地,水稻 *OsDof25* 是玉米 *ZmDof1* 的同源基因,超表达该基因也表现出类似的作用^[21]。进一步研究表明, *ZmDof1* 通过结合 *PEPC* 等基因启动子区域的 AAAG 基序进而发挥作用^[6]。然而,不同 Dof 成员具有不同活性,对靶基因发挥不同的调控作用。与 *ZmDof1* 类似,玉米 *ZmDof2* 也可参与碳代谢,但具有不同的功能, *ZmDof2* 抑制靶基因 *C4pepc* 和 *cyppdk1* 启动子活性,而激活 *pepcZm2A* 启动子活性^[33-35]。

2.2 Dof 转录因子调控木质素生物合成

木质素的合成需要大量的碳骨架,因此,木质素作为一种重要的碳代谢产物,引起了学者们的关注。Rueda-López 等在拟南芥中超表达松树 *PpDof5* 显著下调了 *PEPC* 基因表达,导致 *PEPC* 调控的反应底物 PEP 大量积累^[36]。PEP 作为木质素合成前体之一,可为木质素生物合成提供大量碳骨架;同时,还发现超表达 *PpDof5* 拟南芥植株的胞质果糖-1,6-二磷酸酶(cFBPase)活性显著上调,可溶性糖含量显著增加,而增加的蔗糖除提供碳骨架,还可作为一种信号调控木质素的生物合成^[37]。Ramachandran 等的研究表明,拟南芥维管束相关的

转录因子 *VDof1* 和 *VDof2* 参与调控维管细胞分化和木质素生物合成^[38]。由此可见,Dof 转录因子通过调控碳骨架、糖信号等方式参与木质素生物合成途径。

2.3 Dof 转录因子调控淀粉的生物合成和分解

此外,Dof 转录因子还通过调控淀粉生物合成途径参与碳代谢。玉米 *ZmDof3* 可与淀粉生物合成基因 *Du1* 和 *Su2* 启动子结合,促进淀粉生物合成;也可以通过结合参与糊粉层细胞分化的 *Nkd1* 启动子,正调控玉米胚乳的发育,敲除 *ZmDof3* 则降低 *Nkd1* 表达也证明了这一观点^[39]。类似地,Wu 等报道玉米 *ZmDof36* 可与 6 种淀粉生物合成基因的启动子结合,超表达该基因的玉米籽粒淀粉含量增加,可溶性糖和还原糖含量降低,表明 *ZmDof36* 正调控玉米胚乳淀粉的合成^[40]。然而,在猕猴桃中, *AdDof3* 通过靶向调控 β -淀粉酶编码基因 *AdBAM3L* 而参与果实成熟过程中淀粉的降解,超表达 *AdDof3* 的植株表现出果实中 *AdBAM3L* 表达水平上升,而果实中淀粉含量下降^[41]。相反,在甘薯中,超表达 Dof 转录因子 *SRF1* 植株表现出液泡型转化酶基因 *lb β fruct2* 表达水平降低,甘薯贮藏根中淀粉比例增加,显著降低了葡萄糖和果糖所占比例,从而调节甘薯贮藏根中的碳水化合物代谢,表明 *SRF1* 转录因子在淀粉生物合成过程中有重要的作用^[42]。此外,研究表明大麦 Dof 转录因子 *SAD* 与 *HvGAMYB* 协同作用激活 α -淀粉酶编码基因 *Amy32b* 表达,而另一 Dof 转录因子 *BPBF* 通过与 *HvWRKY38* 结合可抑制 *SAD* 和 *HvGAMYB* 之间的协同作用,从而阻止 *Amy32b* 在糊粉层表达^[43]。

根据文献报道,本文总结了 Dof 转录因子在不同植物调控碳氮代谢的潜在靶标基因及其功能,详见表 1。

3 Dof 转录因子在植物氮代谢中的调控作用

植物氮代谢包括氮的吸收、转运和同化,把土壤中的无机氮(硝酸盐或者铵盐)同化为植物可以吸收的氨基酸等成分。无机氮的还原可以在根部或者地上部进行,在胞质时氮的还原需要硝酸还原酶(NR)和亚硝酸还原酶(NiR),生成铵盐,通过谷氨酰胺合成酶/谷氨酸合成酶(GS/GOGAT)途径,被同化为氨基酸^[55-56]。此外,天冬酰胺合成酶(AS)、氨甲酰合成酶(CPSsae)和谷氨酸脱氢酶(GDH)也参与铵盐的同化过程,将铵盐同化为不同

表 1 不同植物中 Dof 转录因子调控碳氮代谢的潜在靶标基因及其功能

序号	基因	潜在靶标基因	功能	植物种类
1	<i>ZmDof1</i>	<i>PEPC1</i> 、 <i>cyPPDK</i> ; <i>NADP-MAD</i> 、 <i>ICDH</i>	超表达 <i>ZmDof1</i> 上调 <i>PPDK</i> 表达,增加氨基酸和氮含量;在水稻中超表达该基因,可促进植株碳、氮同化	玉米 ^[33] 水稻 ^[6]
2	<i>ZmDof2</i>	<i>PEPC</i> 、 <i>cyPPDK</i>	下调 <i>cypdk1</i> 、 <i>C4pepc</i> 表达;激活 <i>pepcZm2A</i> 表达	玉米 ^[33]
3	<i>PpDof5</i>	<i>FBP</i> 、 <i>GS</i> 、 <i>AAT</i> 、 <i>PEPC</i> ; <i>GS1</i> 、 <i>3</i> 、 <i>PAL</i>	通过调控碳骨架、糖信号等方式参与木质素生物合成途径; 超表达 <i>PpDof5</i> 的杨树可以促进 <i>GS1</i> 、 <i>3</i> 和 <i>PAL</i> 的表达,茎中含有更多木质素和碳水化合物	杨树 ^[36,44]
4	<i>ZmDof3</i>	<i>Du1</i> 、 <i>Su2</i> 、 <i>Nkd1</i>	促进玉米淀粉生物合成和胚乳糊粉细胞分化	玉米 ^[39]
5	<i>ZmDof36</i>	<i>ZmAGPS1a</i> 、 <i>ZmAGPL1</i> 、 <i>ZmGBSSI</i> 、 <i>ZmSSIIa</i> 、 <i>ZmISA1</i> 、 <i>ZmISA3</i>	超表达 <i>ZmDof36</i> 后玉米淀粉含量增加,可溶性糖和还原糖的含量降低; <i>ZmDof36</i> 正调控玉米胚乳淀粉的合成	玉米 ^[40]
6	<i>AdDof3</i>	<i>AdBAM3L</i>	超表达该基因,植株果实中淀粉含量降低,负调控淀粉生物合成	猕猴桃 ^[41]
7	<i>SRF1</i>	<i>Ibβfruct2</i>	超表达转基因植株淀粉含量增加,葡萄糖和果糖含量减少	甘薯 ^[42]
8	<i>HvSAD</i>	<i>HvGAMYB</i>	<i>HvSAD</i> 协同 <i>HvGAMYB</i> 促进大麦 α -淀粉酶基因 <i>Amy32b</i> 的表达	大麦 ^[43]
9	<i>HvBPBF</i>	<i>HvWRKY38</i>	<i>BPBF</i> 协同 <i>HvWRKY38</i> 解除 <i>SAD</i> 与 <i>HvGAMYB</i> 对大麦 <i>Amy32b</i> 的促进作用	大麦 ^[43]
10	<i>AtDof1</i>	<i>PEPC</i> 、 <i>PK</i> 、 <i>GS</i>	超表达 <i>AtDof1</i> 提高拟南芥、马铃薯低氮下的氮同化能力并改善其生长; 超表达 <i>AtDof1</i> 上调烟草 <i>GS</i> 、 <i>NR</i> 等基因表达水平,促进氮同化	拟南芥 ^[45] 烟草 ^[14]
11	<i>TaDof1</i>	<i>GS</i> 、 <i>GOGAT</i> 、 <i>GDH</i>	超表达 <i>TaDof1</i> 促进小麦 <i>GS</i> 和 <i>GOGAT</i> 基因表达,提高氮素利用效率	小麦 ^[46]
12	<i>CsDof</i>	<i>CsGS2</i>	超表达 <i>CsDof</i> 或者 <i>CsGS2</i> 的拟南芥中谷氨酰胺含量和 <i>GS2</i> 转录水平增加; <i>CsDof</i> 可结合 <i>CsGS2</i> 启动子,正调控谷氨酰胺代谢	茶树 ^[47]
13	<i>TaDof1</i>	<i>CS</i> 、 <i>ICDH</i> 、 <i>PEPC</i> 、 <i>PK</i>	超表达 <i>TaDof1</i> 显著提高小麦 <i>CS</i> 、 <i>ICDH</i> 、 <i>PEPC</i> 和 <i>PK</i> 基因表达,其植株叶绿素含量,可溶性蛋白和可溶性糖含量增加,农艺性状改善	小麦 ^[48]
14	<i>PnDof30</i>		超表达该基因可提高植株 <i>PEPC</i> 和 <i>PK</i> 活性,促进碳代谢;提高 <i>NR</i> 和 <i>GS</i> 活性影响氮代谢水平	小黑杨 ^[49]
15	<i>SlCDF3</i>		在拟南芥中,超表达该基因可增加植株蔗糖和氨基酸含量;通过响应硝态氮信号提高植株对氮素的利用率	番茄 ^[50]
16	<i>SlCDF4</i>		在番茄中,超表达该基因可调控蔗糖酶活性,增加番茄果实大小和产量	番茄 ^[51]
17	<i>OsDof13</i>		在低氮胁迫处理下, <i>OsDof13</i> 呈现出先下降后上升的表达模式	水稻 ^[52]
18	<i>OsDof25</i>	<i>AMT</i> 、 <i>NRT</i> 、 <i>PK</i> 、 <i>PEPC</i>	超表达该基因可上调 <i>AtAMT1</i> 、 <i>1</i> 和 <i>AtAMT2</i> 、 <i>1</i> 表达,下调 <i>AtNRT2</i> 、 <i>1</i> 表达; 还促进 <i>PK1</i> 、 <i>PK2</i> 、 <i>PEPC1</i> 、 <i>PEPC2</i> 等关键碳代谢基因表达,增加总氨基酸含量,提高氮利用率	水稻 ^[21]
19	<i>OsDof18</i>	<i>AMT</i>	水稻 <i>OsDof18</i> 缺失突变体通过诱导根系中铵转运蛋白基因 <i>AMT</i> 来控制植株对铵的吸收、运输及氮的分布而影响氮利用率	水稻 ^[22]
20	<i>OsDof11</i>	<i>OsSUT1</i> 、 <i>OsSWEET11</i> 、 <i>OsSWEET14</i>	<i>OsDof11</i> 通过蔗糖转运蛋白基因促进氮代谢,并影响水稻叶片和籽粒中的氨基酸分布	水稻 ^[53-54]

氨基酸,氨基酸再进一步合成具有不同功能的蛋白质,为植物生长发育提供营养^[57]。

3.1 Dof 通过调节氮的吸收、转运、同化影响氮代谢

Dof 转录因子可通过调控氮吸收、转运相关基因参与氮代谢。在拟南芥中超表达水稻 *OsDof25* 可上调铵离子转运蛋白基因 *AtAMT1*、*1* 和 *AtAMT2*、*1* 表达,抑制硝酸根转运蛋白基因 *AtNRT2*、*1* 的表达,增加总氨基酸含量,提高氮素利用率^[21]。Wu 等报

道水稻 *OsDof18* 基因缺失突变体降低了 *OsAMT1*、*1*、*OsAMT1*、*3*、*OsAMT2*、*1* 和 *OsAMT4*、*1* 的表达水平,表明 *OsDof18* 通过诱导根系中 *AMT* 基因表达,从而影响植株对铵的吸收、运输及氮的分布^[22]。

Dof 转录因子通过调节氮同化关键基因参与氮代谢。拟南芥 *AtDof1* 表达受氮供应水平调控,在烟草中超表达该基因能够上调谷氨酰胺合成酶编码基因 *GS* 表达,从而促进氮同化^[14]。类似地,超表达小麦 *TaDof1* 可以提高转基因植株 *GS*、*GOGAT*、*GDH*

等氮同化相关酶的活性,进而促进氮代谢^[46]。Wang 等报道茶树 *CsDof* 可以直接与 *CsGS2* 的启动子区域 AAAG 基序结合,超表达 *CsDof* 或者 *CsGS2* 均可增加转基因植株中 *GS2* 的转录水平,增加植株体内谷氨酰胺含量,这表明茶树 *Dof* 转录因子可正调控谷氨酰胺代谢^[47]。

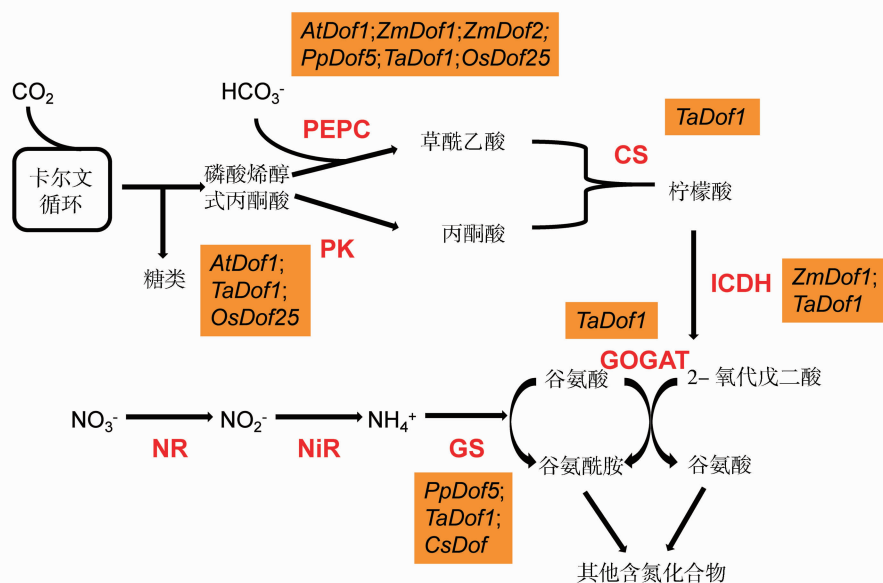
3.2 *Dof* 转录因子通过调节碳氮代谢平衡影响氮代谢

在低氮条件下,超表达玉米 *ZmDof1* 可显著提高拟南芥转基因植株 *PEPC1*、*PEPC2*、*PK1*、*PK2* 的表达水平,增加氮同化并促进植株生长^[33];在水稻中,超表达 *ZmDof1* 在低氮下可诱导 *PEPC* 表达,同时还诱导柠檬酸脱氢酶基因(*ICDH*)表达,为氮同化提供碳骨架 2-OG,促进氮同化^[6]。在小麦中,超表达 *TaDof1* 可以显著提高小麦在氮胁迫处理中 *PEPC* 和 *PK* 基因的表达水平,增强碳代谢;同时显著提高了 *CS* 和 *ICDH* 的表达,为氮代谢提供了中间产物,促进了小麦的氮同化;而且超表达 *TaDof1* 的小麦叶片叶绿素含量、可溶性蛋白含量、可溶性糖含量显著增加,植株农艺性状得到明显改善^[48]。在水稻中, *OsDof11* 通过结合蔗糖转运蛋白基因 *OsSUT1*、*OsSWEET11* 和 *OsSWEET14* 的启动子来介导蔗糖转运,进一步研究表明, *OsDof11* 影响铵/硝酸盐转运蛋白基因转录水平,促进转基因植株的氮

同化,并影响水稻叶片和籽粒中的氨基酸分布^[53-54]。此外, Rueda - López 等报道超表达 *PpDof5* 可上调杨树苯丙氨酸脱氨基的关键酶编码基因 *PAL1* 和 *GSI*;3 的表达水平,转基因杨树表现出更高的木质素含量和碳水化合物含量,明显促进了植株生长^[44]。低氮条件下,过表达小黑杨 *PnDof30* 的拟南芥也有类似的作用^[49]。然而, Lin 等将玉米 *ZmDof1* 转化杨树,低氮条件下却没有这个效果^[58]。Peña 等在小麦和高粱中超表达玉米 *ZmDof1* 却显著降低了生物量^[59]。

有趣的是, *CDF* 作为番茄逆境响应的 *SlDof* 的同源基因,主要调节植物开花时间和抗性,最近研究表明 *CDF* 也参与植物碳氮代谢^[60]。在拟南芥中超表达 *SlCDF3* 通过参与硝态氮响应来提高拟南芥氮素利用率^[60],增加转基因植株中蔗糖和氨基酸的含量^[50];超表达 *SlCDF4* 提高番茄果实大小和产量,转基因番茄通过调控蔗糖酶活性来控制果实的库源关系,提高成熟果实中碳、氮化合物的含量,从而影响果实品质^[51]。

综上, *Dof* 转录因子在碳、氮代谢过程中发挥着重要作用,两大代谢相辅相成,直接影响植物生长发育、作物产量和品质。根据文献[2,45],将 *Dof* 转录因子参与植物碳氮代谢过程的调控网络图总结如图 2 所示。



光合途径相关酶: 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (PEPC)、丙酮酸激酶 (PK)、柠檬酸合成酶 (CS)、异柠檬酸脱氢酶 (ICDH); 氮代谢相关酶: 硝酸还原酶 (NR)、亚硝酸还原酶 (NiR)、谷氨酰胺合成酶 (GS)、谷氨酸合成酶 (GOGAT)

图 2 *Dof* 转录因子参与植物碳氮代谢途径关键基因的调控网络

4 Dof 转录因子的转录调控机制

前人研究表明, Dof 转录因子能够识别靶基因 AAAG 序列或其反向互补序列 CTTT^[24,29-30]。Dof 转录因子对靶基因的转录调控具有双重功能, 可作为转录的激活子或抑制子, 同时正向和负向调控靶基因启动子的活性^[33,35,61]。玉米 *ZmDof1* 和 *ZmDof2* 共同的靶基因 *C4pepc* 和 *cypdk1*, 但前者为转录激活子, 而后者为转录抑制子, 二者行使完全相反的功能^[33-35]。拟南芥 Dof 转录因子 *DAG1*、*DAG2* 与不同 DELLA 蛋白编码基因互作, 以完全相反的作用调控种子萌发^[17]。然而, 相同的 Dof 转录因子成员对靶基因的不同基因家族成员作用。前人研究表明, 松树 *PpDof5* 是 *GS1b* 启动子的激活子, 却是 *GS1a* 启动子的抑制子^[62]。此外, Dof 转录因子具有双重功能区, 它不仅可以与 DNA 相互作用, 也可以与蛋白质相互作用^[63]。拟南芥 *AtDof4;7* - *AtZFP2* 参与调控花器官脱落^[64]。拟南芥 Dof 蛋白 OBP1 与 OBF 互作增强了 OBF 与 DNA 的结合能力^[65]。玉米胚乳特异性 Dof 蛋白 PBF (BPBF 的同源物) 与玉米 BZIP 蛋白 O2 互作激活了胚乳中玉米醇溶蛋白基因^[66]。目前为止, 虽只报道少数 Dof 存在蛋白与蛋白之间的互作, 但由于 Dof 结构域高度保守, Dof 可能存在蛋白 - 蛋白的相互作用^[63]。

5 展望

Dof 转录因子在碳、氮代谢过程和植物生长发育中发挥着重要调控作用, 但其效应却因作物及不同 Dof 家族成员而异。到目前为止, 有关 Dof 转录因子在碳氮代谢方面的研究主要集中在模式植物和主要农作物中, 如拟南芥、水稻、玉米、小麦等, 但在园艺植物中的研究较少, 对于偏好氮肥且易积累硝酸盐的叶用蔬菜则少之甚少。虽然, 许多研究结果表明, Dof 转录因子可调控作物碳氮代谢水平, 增强其农艺性状, 但其在植物碳氮代谢应答网络中的调控作用机制还不清楚, 与其他蛋白或转录因子的相互作用机制还有待进一步研究。随着基因组测序的陆续完成, 其他作物的 Dof 转录因子也逐渐被鉴定。在今后的研究中, 可加强园艺植物 Dof 转录因子的挖掘并预测其生物学功能, 研究 Dof 转录因子调控植物碳氮代谢及对生长发育的影响, 利用基因工程选育高氮素利用效率的优良品种, 且有助于阐明改善植株碳氮代谢水平而影响氮素利用效率

的分子机制。

参考文献:

- [1] Xu G H, Takahashi H. Improving nitrogen use efficiency: from cells to plant systems[J]. Journal of Experimental Botany, 2020, 71(15): 4359 - 4364.
- [2] Kashyap A, Saha A, Sanyal I N, et al. Concurrent expression and regulation of genes involved in carbon and nitrogen metabolism in relation with nitrogen use efficiency[J]. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 2018, 7(7): 2319 - 2370.
- [3] 张 森, 许自成, 李京京, 等. 烟草碳氮代谢及其调控技术研究进展[J]. 生物技术进展, 2016, 6(5): 312 - 318.
- [4] 蔡红梅. 超量表达谷氨酰胺合成酶、硝酸根转运蛋白和铵离子转运蛋白家族 1 基因对水稻氮代谢的功能研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2009: 11 - 12.
- [5] 包爱丽. 超量表达氮代谢关键基因对水稻碳氮代谢的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013: 8 - 9.
- [6] Kurai T, Wakayama M, Abiko T, et al. Introduction of the *ZmDof1* gene into rice enhances carbon and nitrogen assimilation under low - nitrogen conditions[J]. Plant Biotechnology Journal, 2011, 9(8): 826 - 837.
- [7] Zhang C C, Zhou C Z, Burnap R L, et al. Carbon/nitrogen metabolic balance: lessons from cyanobacteria[J]. Trends in Plant Science, 2018, 23(12): 1116 - 1130.
- [8] Gaudinier A, Rodriguez - Medina J, Zhang L F, et al. Transcriptional regulation of nitrogen - associated metabolism and growth[J]. Nature, 2018, 563(7730): 259 - 264.
- [9] Li H, Hu B, Chu C C. Nitrogen use efficiency in crops: lessons from arabidopsis and rice[J]. Journal of Experimental Botany, 2017, 68(10): 2477 - 2488.
- [10] Li Q, Ding G D, Yang N M, et al. Comparative genome and transcriptome analysis unravels key factors of nitrogen use efficiency in *Brassica napus* L. [J]. Plant Cell & Environment, 2020, 43(3): 712 - 731.
- [11] Li S, Tian Y H, Wu K, et al. Modulating plant growth - metabolism coordination for sustainable agriculture [J]. Nature, 2018, 560(7720): 595 - 600.
- [12] Xin W, Zhang L N, Zhang W Z, et al. An integrated analysis of the rice transcriptome and metabolome reveals differential regulation of carbon and nitrogen metabolism in response to nitrogen availability [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(9): 2349.
- [13] 李书粉, 孙富丛, 肖理慧, 等. 植物对非生物胁迫应答的转录因子及调控机制[J]. 西北植物学报, 2006, 26(6): 1295 - 1300.
- [14] Wang Y L, Fu B, Pan L F, et al. Overexpression of *Arabidopsis Dof1*, *GS1* and *GS2* enhanced nitrogen assimilation in transgenic tobacco grown under low - nitrogen conditions[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2013, 31(4): 886 - 900.
- [15] Maurya J, Bandyopadhyay T, Prasad M. Transcriptional regulators of nitrate metabolism: key players in improving nitrogen use in crops

- [J]. Journal of Biotechnology, 2020, 324: 121–133.
- [16] Waqas M, Shahid L, Shoukat K, et al. Chapter 1 – Role of DNA – binding with one finger (Dof) transcription factors for abiotic stress tolerance in plants [M]//Wani S H. Transcription factors for abiotic stress tolerance in plants. New York: Academic Press, 2020: 1–14.
- [17] Ruta V, Longo C, Lepri A, et al. The DOF transcription factors in seed and seedling development [J]. Plants, 2020, 9(2): 218.
- [18] Imaizumi T, Schultz T F, Harmon F G, et al. FKFI F – box protein mediates cyclic degradation of a repressor of CONSTANS in *Arabidopsis* [J]. Science, 2005, 309(5732): 293–297.
- [19] Baumann K, de Paolis A, Costantino P, et al. The DNA binding site of the dof protein NtBBF1 is essential for tissue – specific and auxin – regulated expression of the rolB oncogene in plants [J]. The Plant Cell, 1999, 11(3): 323–333.
- [20] 周琳, 杨柳燕, 蔡友铭, 等. 基于番红花转录组的碳氮代谢基因挖掘 [J]. 植物生理学报, 2020, 56(2): 265–274.
- [21] Santos L A, Souza S R, Fernandes M S. *OsDof25* expression alters carbon and nitrogen metabolism in *Arabidopsis* under high N – supply [J]. Plant Biotechnology Reports, 2012, 6(4): 327–337.
- [22] Wu Y F, Yang W Z, Wei J H, et al. Transcription factor *OsDOF18* controls ammonium uptake by inducing ammonium transporters in rice roots [J]. Molecules and Cells, 2017, 40(3): 178–185.
- [23] Yanagisawa S, Izui K. Molecular cloning of two DNA – binding proteins of maize that are structurally different but interact with the same sequence motif [J]. Journal of Biological Chemistry, 1993, 268(21): 16028–16036.
- [24] Yanagisawa S. Structure, function, and evolution of the dof transcription factor family [M]//Gonzalez D H. Plant transcription factors. Amsterdam: Elsevier, 2016: 183–197.
- [25] Wang S, Bai Y P, Li P H, et al. Genome – wide identification and expression analysis of the dof (DNA binding with one finger) protein family in monocot and dicot species [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2019, 108: 101431.
- [26] Ma J, Li M Y, Wang F, et al. Genome – wide analysis of Dof family transcription factors and their responses to abiotic stresses in Chinese cabbage [J]. BMC Genomics, 2015, 16(1): 33.
- [27] Diaz I, Vicente – Carbajosa J, Abraham Z, et al. The GAMYB protein from barley interacts with the DOF transcription factor BPBF and activates endosperm – specific genes during seed development [J]. The Plant Journal, 2002, 29(4): 453–464.
- [28] Gupta S, Malviya N, Kushwaha H, et al. Insights into structural and functional diversity of Dof (DNA binding with one finger) transcription factor [J]. Planta, 2015, 241(3): 549–562.
- [29] 郭彦秀, 陈静, 王艳芳, 等. Dof 转录因子在植物中的调控作用 [J]. 生物技术通报, 2019, 35(5): 146–156.
- [30] Kim H S, Kim S J, Abbasi N, et al. The DOF transcription factor Dof5.1 influences leaf axial patterning by promoting *Revoluta* transcription in *Arabidopsis* [J]. The Plant Journal, 2010, 64(3): 524–535.
- [31] 蔡晓锋, 张余洋, 张俊红, 等. 植物 Dof 基因家族功能研究进展 [J]. 植物生理学报, 2013, 49(1): 1–12.
- [32] Noguero M, Atif R M, Ochatt S, et al. The role of the DNA – binding one zinc finger (DOF) transcription factor family in plants [J]. Plant Science, 2013, 209: 32–45.
- [33] Yanagisawa S. Dof1 and Dof2 transcription factors are associated with expression of multiple genes involved in carbon metabolism in maize [J]. The Plant Journal, 2000, 21(3): 281–288.
- [34] Yanagisawa S, Sheen J. Involvement of maize dof zinc finger proteins in tissue – specific and light – regulated gene expression [J]. The Plant Cell, 1998, 10(1): 75–89.
- [35] Yanagisawa S. Dof domain proteins: plant – specific transcription factors associated with diverse phenomena unique to plants [J]. Plant and Cell Physiology, 2004, 45(4): 386–391.
- [36] Rueda – López M, Cañas R A, Canales J, et al. The overexpression of the pine transcription factor PpDof5 in *Arabidopsis* leads to increased lignin content and affects carbon and nitrogen metabolism [J]. Physiologia Plantarum, 2015, 155(4): 369–383.
- [37] Rogers L A, Dubos C, Cullis I F, et al. Light, the circadian clock, and sugar perception in the control of lignin biosynthesis [J]. Journal of Experimental Botany, 2005, 56(416): 1651–1663.
- [38] Ramachandran V, Tobimatsu Y, Masaomi Y, et al. Plant – specific Dof transcription factors VASCULAR – RELATED DOF1 and VASCULAR – RELATED DOF2 regulate vascular cell differentiation and lignin biosynthesis in *Arabidopsis* [J]. Plant Molecular Biology, 2020, 104(3): 263–281.
- [39] Qi X, Li S X, Zhu Y X, et al. ZmDof3, a maize endosperm – specific Dof protein gene, regulates starch accumulation and aleurone development in maize endosperm [J]. Plant Molecular Biology, 2017, 93(1/2): 7–20.
- [40] Wu J D, Chen L, Chen M C, et al. The DOF – domain transcription factor ZmDOF36 positively regulates starch synthesis in transgenic maize [J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: 465.
- [41] Zhang A D, Wang W Q, Tong Y, et al. Transcriptome analysis identifies a zinc finger protein regulating starch degradation in kiwifruit [J]. Plant Physiology, 2018, 178(2): 850–863.
- [42] Tanaka M, Takahata Y, Nakayama H, et al. Altered carbohydrate metabolism in the storage roots of sweet potato plants overexpressing the *SRFI* gene, which encodes a Dof zinc finger transcription factor [J]. Planta, 2009, 230(4): 737–746.
- [43] Zou X L, Neuman D, Shen Q J. Interactions of two transcriptional repressors and two transcriptional activators in modulating gibberellin signaling in aleurone cells [J]. Plant Physiology, 2008, 148(1): 176–186.
- [44] Rueda – López M, Pascual M B, Pallero M, et al. Overexpression of a pine Dof transcription factor in hybrid poplars: a comparative study in trees growing under controlled and natural conditions [J]. PLoS One, 2017, 12(4): e0174748.
- [45] Yanagisawa S, Akiyama A, Kisaka H, et al. Metabolic engineering with Dof1 transcription factor in plants: improved nitrogen assimilation and growth under low – nitrogen conditions [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(20): 7833–7838.

- [46] Kumar R, Taware R, Gaur V S, et al. Influence of nitrogen on the expression of TaDof1 transcription factor in wheat and its relationship with photo synthetic and ammonium assimilating efficiency[J]. Molecular Biology Reports, 2009, 36(8): 2209 – 2220.
- [47] Wang J H, Chen W Z, Wang H Y, et al. Transcription factor CsDOF regulates glutamine metabolism in tea plants (*Camellia sinensis*) [J]. Plant Science, 2021, 302: 110720.
- [48] Hasnain A, Irfan M, Bashir A, et al. Transcription factor TaDof1 improves nitrogen and carbon assimilation under low – nitrogen conditions in wheat[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2020, 38(3): 441 – 451.
- [49] 王若宁. 小黑杨中响应氮素的 Dof 转录因子基因的筛选和功能鉴定[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2018: 3.
- [50] Corrales A R, Nebauer S G, Carrillo L, et al. Characterization of tomato Cycling Dof Factors reveals conserved and new functions in the control of flowering time and abiotic stress responses [J]. Journal of Experimental Botany, 2014, 65(4): 995 – 1012.
- [51] Renau – Morata B, Carrillo L, Cebolla – Cornejo J, et al. The targeted overexpression of *SICDF4* in the fruit enhances tomato size and yield involving gibberellin signalling[J]. Scientific Reports, 2020, 10: 10645.
- [52] 张华珍, 吴 昊, 李香花, 等. 一个低氮诱导表达的水稻 Dof 转录因子 OsDof – 13 的分离和转化[J]. 分子植物育种, 2007, 5(4): 455 – 460.
- [53] Huang X L, Zhang Y Y, Wang L L, et al. OsDOF11 affects nitrogen metabolism by sucrose transport signaling in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 703034.
- [54] Wu Y F, Lee S K, Yoo Y, et al. Rice transcription factor OsDOF11 modulates sugar transport by promoting expression of *sucrose transporter* and *SWEET* genes[J]. Molecular Plant, 2018, 11(6): 833 – 845.
- [55] Krapp A. Plant nitrogen assimilation and its regulation: a complex puzzle with missing pieces[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2015, 25: 115 – 122.
- [56] Wang M, Shen Q R, Xu G H, et al. New insight into the strategy for nitrogen metabolism in plant cells[M]// Jeon K W. International review of cell and molecular biology. New York: Academic Press, 2014: 1 – 37.
- [57] 徐晓鹏, 傅向东, 廖 红. 植物铵态氮同化及其调控机制的研究进展[J]. 植物学报, 2016, 51(2): 152 – 166.
- [58] Lin W L, Hagen E, Fulcher A, et al. Overexpressing the *ZmDof1* gene in *Populus* does not improve growth and nitrogen assimilation under low – nitrogen conditions[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2013, 113(1): 51 – 61.
- [59] Peña P A, Quach T, Sato S, et al. Expression of the maize *Dof1* transcription factor in wheat and sorghum[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 434.
- [60] Domínguez – Figueroa J, Carrillo L, Renau – Morata B, et al. The *Arabidopsis* transcription factor CDF3 is involved in nitrogen responses and improves nitrogen use efficiency in tomato [J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 601558.
- [61] Tolosa L N, Zhang Z B. The role of major transcription factors in solanaceous food crops under different stress conditions: current and future perspectives[J]. Plants, 2020, 9(1): 56.
- [62] Rueda – López M, Crespillo R, Cánovas F M, et al. Differential regulation of two glutamine synthetase genes by a single Dof transcription factor[J]. The Plant Journal, 2008, 56(1): 73 – 85.
- [63] Zhang Y, Verhoeff N I, Chen Z, et al. Functions of OsDof25 in regulation of *OsC4PPDK* [J]. Plant Molecular Biology, 2015, 89(3): 229 – 242.
- [64] Wei P C, Tan F, Gao X Q, et al. Overexpression of *AtDOF4. 7*, an *Arabidopsis* DOF family transcription factor, induces floral organ abscission deficiency in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2010, 153(3): 1031 – 1045.
- [65] Zhang B, Chen W, Foley R C, et al. Interactions between distinct types of DNA binding proteins enhance binding to ocs element promoter sequences[J]. Plant Cell, 1995, 7(12): 2241 – 2252.
- [66] Vicente – Carbajosa J, Moose S P, Parsons R L, et al. A maize zinc – finger protein binds the prolamins box in zein gene promoters and interacts with the basic leucine zipper transcriptional activator Opaque2[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1997, 94(14): 7685 – 7690.