

DOI: 10.13376/j.cbls/2015052

文章编号: 1004-0374(2015)03-0398-08



杨淑华, 中国农业大学教授, 教育部长江学者奖励计划特聘教授, 国家杰出青年科学基金获得者。兼任 *Plant & Cell Physiology* 顾问编委、《植物学报》副主编。主要研究方向是植物响应低温胁迫的分子机制, 包括植物低温信号转导通路及其基因的表达与调控、低温信号与植物激素信号之间的交互作用以及温度信号与生物胁迫信号之间的交互作用。先后在 *Developmental Cell*、*Plant Cell*、*Plant Journal*、*Plant Physiology* 等国际重要期刊上发表 SCI 研究论文 20 余篇。

植物响应低温胁迫的分子机制研究

丁杨林, 施怡婷, 杨淑华*

(中国农业大学植物生理学与生物化学国家重点实验室, 北京 100193)

摘要: 低温是限制植物生长发育以及植被分布的重要环境因子。目前, 低温信号途径研究的比较清楚的是 CBF (C-repeat (CRT)-binding factors) 依赖的信号途径。研究表明, 植物激素也参与了植物的低温响应。现将根据当前的研究进展总结植物响应低温的分子机制以及植物激素信号与低温信号的交互作用。

关键词: 低温胁迫; 冷驯化; CBF 信号途径; 植物激素

中图分类号: Q915.78; Q948.112.3

文献标志码: A

Molecular mechanisms of plant responses to cold stress

DING Yang-Lin, SHI Yi-Ting, YANG Shu-Hua*

(State Key Laboratory of Plant Physiology and Biochemistry, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: Cold stress is one of the major factors that affect plant growth, development and distribution. To date, CBF-dependent pathway has been extensively studied during cold acclimation. Recent studies suggest that plant hormones are also involved in plant responses to cold stress. Here, we will summarize the latest progresses in cold signaling and the crosstalk with plant hormone signaling.

Key words: cold stress; cold acclimation; CBF signaling pathway; plant hormones

低温作为一个重要的环境逆境已经成为世界最为严重的灾害之一。低温影响了植物的生长发育以及地理分布, 严重时会造成植物的死亡。因此, 研究植物如何抵抗低温环境具有重要的理论和实际应用价值。生长在低温环境下的植物体内的冷响应基因 (cold responsive, *COR*) 会诱导表达, 这类基因主要编码一些保护性的蛋白质, 以免植物在低温环境

下受到伤害^[1]。CBFs/DREBs (C-repeat (CRT)-binding factors/dehydration-responsive element (DRE) binding factors) 是作用于 *COR* 基因上游的一类重要的转录

收稿日期: 2014-12-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(31330006, 3122-5003)

*通信作者: E-mail: yangshuhua@cau.edu.cn

因子^[1-2]。依赖于 CBF 的低温信号途径是目前研究的比较清楚的低温信号。CBF 依赖的信号途径包括很多方面的调控, 如基因转录水平的调控、转录后修饰调控以及蛋白质翻译后修饰的调控。CBF 基因不仅仅受低温调控, 还受到诸如光照、周期节律的严格控制^[1,3-4]。所以, CBF 信号途径是低温信号与其他信号相互作用的重要桥梁。植物激素是植物生长发育过程中必不可少的生长物质^[5]。近年来的研究发现, 植物激素也参与植物的低温响应^[1,6-7]。在这篇综述中, 将总结最新的低温信号途径进展以及激素信号与低温信号在植物响应低温中的交叉反应。

1 植物对低温信号的感知

近年来, 低温信号转导途径的研究取得了很大的进展。但是, 关于植物如何感受低温一直没有定论。植物感受低温的最初靶标的一种可能是细胞膜上的 Ca^{2+} 通道。当植物受到低温刺激后的很短时间内, 细胞内的 Ca^{2+} 浓度迅速增加。 Ca^{2+} 作为第二信使能够被感受器感受, 从而激发植物对低温的响应。人的细胞膜上的瞬时受体电位阳离子通道 TRPM8 是一个温度的感受器^[8-9]。最近的研究表明, 拟南芥中的 Ca^{2+} 通道蛋白 CNGC 对植物感受温度以及植物对温度的响应起着很重要的作用^[10]。目前, 人们较为接受的一种观点认为细胞膜流动性的改变可以启动低温信号的开始。该理论认为, 低温能够减缓细胞膜的流动性, 从而激发植物对低温的响应, 如拟南芥中编码脂酰脱氢酶基因 *ADS2* 的缺失会导致细胞膜上脂类成分的改变, 从而降低植物抵抗低温的能力^[11]。在拟南芥的油酸脱氢酶缺陷突变体 *fad2* 中, 细胞膜组分以及细胞膜流动性发生异常导致其抗冻能力降低而死亡^[12]。*DAGK* 基因编码一种二酰甘油激酶, 该酶的活性能够直接反映细胞膜的流动性。有意思的是, 在 *fad2* 突变体中, *DAGK* 的激活较野生型需要更高的激活温度^[13]。另外, 叶绿体细胞外膜定位的 *SFR2* 蛋白(一个糖脂重构酶)在低温条件下, 对植物叶绿体膜脂的重构以及细胞膜的稳定性起到很重要的作用^[14]。以上的研究都表明, 细胞膜流动性的改变对植物感受和适应低温具有重要意义。低温引起的细胞膜的流动性减慢可能影响低温信号途径, 使得植物能够适应低温环境, 但内在的调控机制仍需进一步研究。

在原核生物中, 低温可以激活膜定位组氨酸激酶(HKs)的自磷酸化活性^[15-18]。当组氨酸激酶自激活后会将磷酸基团传递给下游的应答因子, 从而激

活低温感受信号途径。例如, 蓝藻中组氨酸激酶 *Hik33* 被认为是一个低温感受器。*Hik33* 的自激活能够激活下游相关冷响应基因的表达, 调节蓝藻对低温的响应^[19-20]。另外, 枯草芽孢杆菌中组氨酸激酶 *Desk* 活性受温度调控^[21]。*Desk* 蛋白具有激酶和磷酸酶双重活性。2014年, Inda 等^[22]研究表明, 低温引起的膜质变构会引发 *Desk* 催化结构域由磷酸酶向激酶活性的转变。*Desk* 自激活后能够迅速将磷酸基团转移到下游的应答因子 *DesR* 上, 激活形式的 *DesR* 能够激活脂酰脱氢酶基因 *des* 的表达, 最终改变细胞膜的流动性^[21-24]。有意思的是, 植物中也普遍存在跨膜的组氨酸激酶, 如乙烯和细胞分裂素受体蛋白。Shi 等^[7]研究表明, 乙烯受体突变体 *etr1* (ethylene response 1) 和 *ein4* (ethylene insensitive 4) 均具有抗冻的表型。细胞分裂素受体突变体 *ahk2-2ahk3-2* 和 *ahk3-2cre1-12* 也表现抗冻的表型^[6]。这些结果表明, 乙烯和细胞分裂素受体在植物响应低温时起到重要的作用。既然在原核生物中, 组氨酸蛋白激酶可以感受低温, 并且植物中的组氨酸蛋白激酶也参与了植物的低温响应, 那么, 植物中的组氨酸蛋白激酶会不会也是一类低温感受器。这个问题还有待进一步研究。

2 低温信号转导途径

2.1 CBF依赖的低温信号转导途径

目前, 低温信号途径研究得比较清楚的是 CBF 信号途径。拟南芥基因组中有 3 个低温相关的 CBF 基因, 分别是 *CBF1* (*DREB1b*)、*CBF2* (*DREB1c*) 和 *CBF3* (*DREB1a*)。CBF 蛋白能够结合到其下游 *COR* 基因的启动子区, 调节其表达^[1,25-27], 从而调控植物的低温应答。CBF 基因能够被低温迅速诱导表达^[1]。在拟南芥野生型植株中, 过表达 CBF 基因能够显著增强植株的抗冻性^[28]。同样, *CBF1* 和 *CBF3* 基因敲减的植株对冻敏感。然而, *cbf2* 突变体植株则表现抗冻的表型^[29-30], 基因表达分析发现, *CBF2* 负反馈调控 *CBF1* 和 *CBF3* 的表达^[29]。将拟南芥中 CBF 基因过表达到其他植物中同样能够增强其抗冻能力^[31], 暗示着 CBF 在植物响应低温过程中是非常重要而且保守的。虽然 CBF 基因能够被低温迅速诱导表达, 一般在 1~3 h 之内, 但是, *COR* 基因的表达则到 24 h 才能达到最高。那么为何两者之间的表达会存在时间差。目前推测, CBF 蛋白有可能要经过某种修饰或和其他蛋白质互作才能发挥作用。因此, 研究 CBF 蛋白的调控和修饰

将会有利于人们真正了解 CBF 蛋白的功能。

2.2 CBF信号途径中的转录调控

CBF 的基因表达同时受转录激活子和抑制子的调控。已报道的正调控因子有 ICE1 (inducer of CBF expression 1)、ICE2 和 CAMATA (calmodulin-binding transcription activator) 蛋白^[32-34]。ICE1 编码一个类 MYC 型的 bHLH 型的转录因子。ICE1 蛋白能够结合到 CBF3 的启动子区调节 CBF3 基因的表达。ice1-1 突变体对低温敏感, 而过表达 ICE1 基因则导致植物抗冻^[32]。ICE2 是 ICE1 的同源基因, 能够通过调节 CBF1 的表达正调控植物对低温的响应^[34]。CAMTA3 通过结合到 CBF2 的启动子区 CM1/2 序列调节 CBF2 的表达。在 camta3 的突变体中, CBF2 以及下游的一些 COR 基因的表达受到抑制, camta3-camtal 双突变体具有冻敏感的表型^[33]。除了以上的正调控因子, CBFs 的表达还受到 MYB15、ZAT12 和 EIN3 的负调控^[7,35-36]。MYB15 是一类 R2R3 型的 MYB 转录因子。MYB15 能够结合到 CBF 的启动子区, 负调控 CBF 基因的表达。在 myb15 突变体中, CBF 基因表达要高于野生型, 从而使得突变体表现抗冻的表型^[35]。ZAT12 是一个 C2H2 型的锌指蛋白, 负调控 CBF 基因的表达^[36]。本实验室最近的研究发现, 乙烯信号中重要转录因子 EIN3 能结合到 CBF 的启动子区, 负调控 CBF 基因的表达。ein3 和 eil3 eil1 突变体能够明显增强植物的抗冻性^[7]。

除了以上转录因子的直接调控, 也还有一些蛋白质间接调节 CBF 基因的表达, 如 Ca²⁺ 结合类钙调素类受体激酶 CRLK1 通过正调控 CBF 基因的表达增强植物的抗冻性。CRLK1 与 MEKK1 相互作用调节 MAPK 的活性^[37-38]。因为 CAMTA3 和 CRLK1 都与 Ca²⁺ 有关, 所以这些结果暗示着低温信号与 Ca²⁺ 存在着很重要的联系。

2.3 CBF信号途径中的转录后修饰调控

转录后的修饰调控在基因的表达方面起着非常重要的作用。在拟南芥中, 很多参与 mRNA 剪切以及 mRNA 输出等转录后修饰过程的基因, 都影响了 CBF 基因的调控过程, 如 FRY2 参与 mRNA 的剪切, FRY2 的突变造成 CBF 基因表达的上调, 但是植株却表现出抗冻的表型^[39-40]。STAI 基因在 COR 基因前体 mRNA 的剪切过程中起着重要的作用, STAI 的突变造成 COR15A mRNA 的剪切不正常, 从而导致植株冻敏感^[41]。另外, RCF1 编码一个低温诱导的 DEAD-box 类的 RNA 解旋酶。RCF1 维

持低温条件下很多 COR 基因前体 mRNA 的正常剪切, 该基因的突变使植物对低温敏感^[42]。核孔复合体在 mRNA 的出核过程中起作用, 也被发现参与冷信号基因表达^[43]。拟南芥中编码核孔蛋白的 NUP60 基因的突变造成低温下 mRNA 出核减少, 从而降低了 CBF 基因的表达, 最终导致植株抗冻性降低^[44]。LOS4 编码一个 DEAD-box 类的 RNA 解旋酶。有趣的是, LOS4 不同位点的突变会造成植物对温度不同的反应。在正常生长温度和低温条件下, los4-1 突变体中 mRNA 的输出都受到阻滞, 引起 los4-1 突变体中 CBF3 的表达下调, CBF1 和 CBF2 的表达发生延迟, 从而使植物表现冷敏感的表型。然而, los4-2 则在高温条件下表现 mRNA 的输出受阻的现象, 突变体植株对高温敏感^[45-46]。

2.4 CBF信号途径中的翻译后调控

除了基因转录水平的调控外, CBF 信号途径中的蛋白质翻译后修饰同样起着至关重要的作用。目前, 研究的比较清楚得是 ICE1 蛋白的修饰。拟南芥中的 E3 泛素连接酶 HOS1 (high osmotic expression 1) 通过与 ICE1 互作, 从而将 ICE1 蛋白降解。体内和体外的实验证明, HOS1 能直接将 ICE1 泛素化, 多泛素化的 ICE1 蛋白通过 26S 蛋白酶体途径降解^[47]。Dong 等^[47] 研究结果表明, ICE1 蛋白在低温条件下发生降解, 与生化结果相一致的是 HOS1 过表达植株的 CBF3 以及下游的 COR 基因表达受到抑制, 植株对冻敏感。研究还发现, ICE1 受另外一种泛素化——SUMO 化的修饰^[48]。拟南芥中的 SUMO E3 连接酶 SIZ1 (SAP and Miz 1) 能体外 SUMO 化 ICE1 蛋白。ICE1 的 SUMO 化抑制 HOS1 介导的 ICE1 的泛素化, 从而增强 ICE1 蛋白的稳定性。在 siz1 突变体中, CBF3 基因的表达量明显低于野生型, 最终导致植物抗冻性减弱。相反, SIZ1 的过表达植株则表现更加抗冻的表型^[48]。有意思的是, 通过预测发现 ICE1 的第 393 位的 Lys 可能是其 SUMO 化的位点, 将 Lys393 突变成 Arg 导致植物抗冻性减弱^[48]。因为蛋白质的 SUMO 化往往与蛋白质的磷酸化有关^[49], Miura 等^[50] 研究发现, ICE1 的 Ser403 可能是其一个可能的磷酸化位点, 将 Ser403 突变成非活性形式的 Ala 后会增强植物的抗冻性。但是, ICE1 蛋白上游的蛋白激酶并不清楚。本实验室最新的研究发现, ABA 信号途径中的关键蛋白激酶 OST1 (open stomata 1)/SnRK2.6 在植物低温应答中发挥重要作用。低温能够激活 OST1, 激活的 OST1 通过与 ICE1 互作并将其磷酸化, 从

而增加 ICE1 在低温条件下的稳定性和转录活性, 最终导致植物体内的 *CBF* 及其下游 *COR* 基因表达增加, 使植物抗冻能力增强。ICE1 在植物体内的磷酸化修饰被低温所增强。ICE1 蛋白的 Ser278 是主要的 OST1 磷酸化位点, 模拟磷酸化形式的 ICE1^{S278D} 蛋白较野生型的 ICE1 蛋白更加稳定。研究还显示, 非活性形式的 ICE1^{S278A} 不能回复 *ice1-2* 突变体的低温敏感表型。这些结果表明, 低温下 ICE1 蛋白的磷酸化主要是由 OST1 介导的, 而且 ICE1 蛋白的磷酸化对植物的冷响应是必需的。同时, 研究还发现, OST1 能够与 HOS1 互作, 干扰 HOS1 与 ICE1 的相互作用, 增强 ICE1 蛋白的稳定性^[51]。

2.5 CBF不依赖的低温信号转导途径

除了 CBF 依赖的信号转导途径, 还有很多基因调节的低温响应是不依赖于 CBF 信号的, 这类调控方式统称为 CBF 不依赖信号途径。转录组分析发现, 只有大约 12% 的冷响应基因是依赖于 CBF 的^[52]。这个结果暗示着 CBF 不依赖的调控组分的作用也是不可小觑的, 如在拟南芥中, *esk1* 突变体具有抗冻的表型, 但并不影响 *CBF* 的表达^[53]。*HOS9* 基因编码一个 homo-box 类的转录因子, 它的缺失会导致植株的抗冻性降低, 但并没有影响 *CBF* 以及其下游冷响应基因的表达^[54]。另外, 开花途径中的重要调节子 *GI* 能够被低温诱导表达。*gil-3* 突变体在没有影响 *CBF* 基因表达的情况下表现出冻敏感的表型^[55]。因此, 对 CBF 不依赖途径的深入研究能够加深人们对低温信号的了解。

3 低温与植物激素信号的交互作用

植物激素不仅仅调节了植物正常的生长发育, 还参与了植物对逆境的响应。目前越来越多的证据显示, 植物激素参与植物对低温的应答。

3.1 低温与脱落酸(ABA)信号的交叉

ABA 作为重要的逆境激素广泛参与了植物对逆境的响应。Daiche 和 Campbell^[56] 研究表明, 外源施加 ABA 能够增强植物的抗冷/冻能力。ABA 合成突变体 *aba1* 和 *aba3* 表现冻敏感的表型^[57-58]。这些结果暗示 ABA 可能在植物的基础抗低温过程中起作用。但也有一些研究表明, ABA 的施加并不能增加有些植物的抗寒抗冻的能力^[59-60]。因此, 对 ABA 在植物响应低温中的功能仍不清楚。

转录组分析发现, 大约有 10% 的 ABA 应答因子同时参与低温的应答。一些 *COR* 基因的启动子区不仅有 CRT/DRE 基序, 还存在 ABRE 基序 (ABA

responsive elements), 说明这些下游的应答因子可能同时参与多个信号途径^[61]。ABA 信号中的 AREB (ABRE-binding protein) 转录因子 ABI3 能够增强植物的抗冻能力^[62]。还有研究表明, ABF2 能够与 CBF3 发生相互作用。这些结果暗示着低温信号和 ABA 信号并非完全独立, 而是存在一定交叉^[63]。本研究室最新的研究表明, 在拟南芥中, 短时间 (0.5 h) 的低温处理导致植物体内 ABA 含量有一定程度的降低。在这个处理条件下, OST1 的蛋白激酶活性被激活, 并且 OST1 的激酶活性在 ABA 合成突变体 *aba2-2l*^[64] 中仍能够被低温激活。进一步研究发现, 低温激活的 OST1 活性可以被 ABA 信号途径中的负调节因子 ABI1 所抑制^[51]。由此猜测低温可能通过改变 ABA 的受体 PYR/PYLs 的构象或其他蛋白质的活性, 抑制 ABI1 活性, 最终导致 OST1 在低温时被激活。关于低温激活 OST1 的分子机制还有待于进一步的研究。基于以上这些研究, ABA 在最初低温诱导的 OST1 的激活过程中不起作用, 但对长期低温逆境响应起作用, 从而使植物适应长期逆境和提高基础抗冻性。

3.2 低温与生长素(Auxin)信号的交叉

研究表明, 低温能够抑制苹果中生长素的含量^[65]。然而, 在水稻中, 低温能够增加生长素的含量以及上调生长素一些信号基因^[66]。*GH3* 基因编码一个生长素偶联酶, 通过将生长素与一些氨基酸结合, 维持体内正常的生长素水平^[67]。Park 等^[68] 研究表明, 拟南芥的一个 *GH3* 的功能获得型突变体 *wes1-D* 表现明显的抗冻表型, 植株体内的 *CBF* 以及 *RD29A* 基因的表达量要高于野生型。

另外一研究发现, 低温影响了根的向重力性^[69]。通过细胞生物学的方法, 研究者发现, 低温条件下, 生长素的输出载体 PIN2 和 PIN3 的细胞内运输发生变化, 从而影响了生长素的运输, 最终导致根的向重力性改变^[69]。这些结果表明, 生长素参与植物对低温的响应。

3.3 低温与赤霉素(GA)信号的交叉

过表达 *CBF* 的转基因植物表现植株矮小的表型^[70-72]。有趣的是, 外源施加 GA 能够恢复 *CBF1* 过表达株系矮小的表型^[70]。Achard 等^[70] 还研究发现, 过表达 *CBF1* 能够激活 *GA2* 氧化酶基因的表达引起植物体内有活性的 GA 含量下降, 造成植物体内 DELLA 蛋白的积累, 从而导致植物矮小。*DELLA* 的缺失会部分回复 *CBF1* 过表达植株矮小的表型, 这个结果暗示着 *CBF1* 增强植物的抗冻性至少部分

通过抑制 GA 信号实现的。

3.4 低温与细胞分裂素(CK)信号的交叉

细胞分裂素 CK 在植物响应低温时也起着重要的作用。蛋白质组和转录组分析发现,很多低温应答基因受到 CK 的调控,而且低温和 CK 响应的很多蛋白质都共定位于叶绿体中^[73]。这些结果暗示 CK 和低温之间存在着潜在的联系。

低温影响了内源 CK 的生物活性以及含量,如在水稻和小麦中,低温都能够降低内源 CK 的合成^[74-75]。CK 信号组分也参与了植物对低温的响应。研究发现,拟南芥细胞分裂素受体双突变体 *ahk2ahk3* 具有抗冻的表型^[6]。与此相对应的是,隶属于 A 型 ARR 的 *ARR5*、*ARR7*、*ARR15* 的过表达株系表现抗冻的表型^[7]。另一研究组发现,过表达 *ARR7* 表现冻敏感的表型,而 *arr7* 突变体则表现抗冻的表型^[6]。因此, A 型 ARR 调控植物对低温响应的机制有待进一步研究。*ARR22* 的过表达造成 ABA 应答基因表达的改变,从而导致转基因株系抗冻能力提高^[76]。这个结果暗示,细胞分裂素信号调节的低温响应可能和 ABA 信号相关。

3.5 低温与乙烯(ETH)信号的交叉

乙烯调节植物的低温响应具有物种的差异,如番茄等作物抗冷/抗冻能力的增强伴随着乙烯的含量增加^[77-78],而拟南芥和紫花苜蓿等植物则与之相反^[7,79]。本实验室研究发现,外源施加乙烯合成抑制剂能够增加拟南芥的抗冻性^[7],乙烯信号途径组分突变体 *etr1-1*、*ein4-1*、*ein2-5*、*ein3-1* 和 *ein3eill* 也都表现抗冻的表型。低温条件下,植物体内的乙烯含量呈现下降的趋势。进一步研究发现,EIN3 蛋白能够结合到 *CBF* 和 A 型 *ARR* 基因的启动子区,调控 *CBFs* 和 *ARRs* 在低温下的表达^[7]。该结果暗示乙烯和细胞分裂素信号共同调节了植物的低温响应。

3.6 低温与茉莉酸(JA)信号

关于茉莉酸在植物抵抗低温中的作用研究非常有限。外源喷施茉莉酸甲酯 (MeJA) 能够增强一些植物果实的抗寒能力^[80-82]。2013 年, Hu 等^[83] 研究发现, JA 合成和信号途径中的相关组分参与了植物的低温响应。低温处理后,植物体内的 JA 含量上升,外源施加 MeJA 能够增加拟南芥的抗冻性。JA 合成突变体 *lox2* 等表现冻敏感的表型,并且 JA 信号组分突变体 *coi1*、*JAZ1* 和 *JAZ4* 的过表达株系也表现冻敏感的表型。有意思的是, *JAZ1* 和 *JAZ4* 通过与 ICE1 互作抑制 ICE1 的转录活性。由此认为

JA 是提高植物抗冻性的植物激素,低温通过增加 JA 的含量激活 JA 信号,造成 JAZ 蛋白的降解,解除 JAZ 对 ICE1 的抑制,从而提高植物抵抗低温逆境的能力^[83]。

4 总结与展望

在以前的研究中,虽然低温信号组分研究有了很大的进展,但是植物如何感受低温一直都没有定论。因此,在以后的研究中,低温的感受将会是一个非常重要的研究领域。只有知道植物怎样感受低温,人们才能够真正地理解植物对低温的响应机理。尽管 CBF 信号途径研究的比较清楚,但是依然存在一些问题有待解决,如 CBF 依赖的低温信号途径中还有哪些组分参与; ICE1 蛋白作为一个重要的调控因子又会受到哪些蛋白质的翻译水平修饰。深入研究 ICE1 的调控机制将有助于阐明植物低温应答的分子机理。

激素与植物的低温响应密切相关。然而,还有很多的科学问题没有解决,如 ABA 在低温应答中到底起到什么样的作用;乙烯受体和细胞分裂素受体都是高等植物中的组氨酸激酶,是否作为低温感受器存在。这些重要的科学问题有待于在将来的研究中得到诠释。

【参 考 文 献】

- [1] Thomashow MF. Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. *Annu Rev Plant Biol*, 1999, 50(1): 571-99
- [2] Chinnusamy V, Zhu J, Zhu JK. Gene regulation during cold acclimation in plants. *Physiol Plant*, 2006, 126(1): 52-61
- [3] Fowler SG, Cook D, Thomashow MF. Low temperature induction of *Arabidopsis CBF1, 2, and 3* is gated by the circadian clock. *Plant Physiol*, 2005, 137(3): 961-8
- [4] Franklin KA, Lee SH, Patel D, et al. Phytochrome-interacting factor 4 (PIF4) regulates auxin biosynthesis at high temperature. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(50): 20231-5
- [5] Peleg Z, Blumwald E. Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. *Curr Opin Plant Biol*, 2011, 14(3): 290-5
- [6] Jeon J, Kim NY, Kim S, et al. A subset of cytokinin two-component signaling system plays a role in cold temperature stress response in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 2010, 285(30): 23371-86
- [7] Shi Y, Tian S, Hou L, et al. Ethylene signaling negatively regulates freezing tolerance by repressing expression of CBF and type-A ARR genes in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2012, 24(6): 2578-95
- [8] Bautista DM, Siemens J, Glazer JM, et al. The menthol

- receptor TRPM8 is the principal detector of environmental cold. *Nature*, 2007, 448(7150): 204-8
- [9] Dhaka A, Murray AN, Mathur J, et al. TRPM8 is required for cold sensation in mice. *Neuron*, 2007, 54(3): 371-8
- [10] Finka A, Cuendet AF, Maathuis FJ, et al. Plasma membrane cyclic nucleotide gated calcium channels control land plant thermal sensing and acquired thermotolerance. *Plant Cell*, 2012, 24(8): 3333-48
- [11] Chen M, Thelen JJ. ACYL-LIPID DESATURASE2 is required for chilling and freezing tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2013, 25(4): 1430-44
- [12] Miquel M, James D Jr, Dooner H, et al. *Arabidopsis* requires polyunsaturated lipids for low-temperature survival. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(13): 6208-12
- [13] Vaultier MN, Cantrel C, Vergnolle C, et al. Desaturase mutants reveal that membrane rigidification acts as a cold perception mechanism upstream of the diacylglycerol kinase pathway in *Arabidopsis* cells. *FEBS Lett*, 2006, 580(17): 4218-23
- [14] Moellering ER, Muthan B, Benning C. Freezing tolerance in plants requires lipid remodeling at the outer chloroplast membrane. *Science*, 2010, 330(6001): 226-8
- [15] Chattopadhyay MK. Mechanism of bacterial adaptation to low temperature. *J Biosci*, 2006, 31(1): 157-65
- [16] Cybulski LE, de Mendoza D. Bilayer hydrophobic thickness and integral membrane protein function. *Curr Protein Pept Sci*, 2011, 12(8): 760-6
- [17] Shivaji S, Prakash JS. How do bacteria sense and respond to low temperature? *Arch Microbiol*, 2010, 192(2): 85-95
- [18] Suzuki I, Los DA, Murata N. Perception and transduction of low-temperature signals to induce desaturation of fatty acids. *Biochem Soc Trans*, 2000, 28(6): 628-30
- [19] Murata N, Los DA. Histidine kinase Hik33 is an important participant in cold-signal transduction in cyanobacteria. *Physiol Plant*, 2006, 126(1): 17-27
- [20] Shimura Y, Shiraiwa Y, Suzuki I. Characterization of the subdomains in the N-terminal region of histidine kinase Hik33 in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Cell Physiol*, 2012, 53(7): 1255-66
- [21] Martin M, Albanesi D, Alzari PM, et al. Functional *in vitro* assembly of the integral membrane bacterial thermosensor DesK. *Protein Expr Purif*, 2009, 66(1): 39-45
- [22] Inda ME, Vandenbranden M, Fernandez A, et al. A lipid-mediated conformational switch modulates the thermosensing activity of DesK. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(9): 3579-84
- [23] Aguilar PS, Hernandez-Arriaga AM, Cybulski LE, et al. Molecular basis of thermosensing: a two-component signal transduction thermometer in *Bacillus subtilis*. *EMBO J*, 2001, 20(7): 1681-91
- [24] Cybulski LE, del Solar G, Craig PO, et al. *Bacillus subtilis* DesR functions as a phosphorylation-activated switch to control membrane lipid fluidity. *J Biol Chem*, 2004, 279(38): 39340-7
- [25] Liu Q, Kasuga M, Sakuma Y, et al. Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought- and low-temperature-responsive gene expression, respectively, in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 1998, 10(8): 1391-406
- [26] Maruyama K, Todaka D, Mizoi J, et al. Identification of cis-acting promoter elements in cold- and dehydration-induced transcriptional pathways in *Arabidopsis*, rice, and soybean. *DNA Res*, 2012, 19(1): 37-49
- [27] Stockinger EJ, Gilmour SJ, Thomashow MF. *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. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(3): 1035-40
- [28] Thomashow MF. So what's new in the field of plant cold acclimation? Lots! *Plant Physiol*, 2001, 125(1): 89-93
- [29] Novillo F, Alonso JM, Ecker JR, et al. CBF2/DREB1C is a negative regulator of *CBF1/DREB1B* and *CBF3/DREB1A* expression and plays a central role in stress tolerance in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(11): 3985-90
- [30] 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. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(52): 21002-7
- [31] Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. *Annu Rev Plant Biol*, 2006, 57: 781-803
- [32] Chinnusamy V, Ohta M, Kanrar S, et al. ICE1: a regulator of cold-induced transcriptome and freezing tolerance in *Arabidopsis*. *Genes Dev*, 2003, 17(8): 1043-54
- [33] Doherty CJ, Van Buskirk HA, Myers SJ, et al. Roles for *Arabidopsis* CAMTA transcription factors in cold-regulated gene expression and freezing tolerance. *Plant Cell*, 2009, 21(3): 972-84
- [34] Fursova OV, Pogorelko GV, Tarasov VA. Identification of *ICE2*, a gene involved in cold acclimation which determines freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Gene*, 2009, 429(1-2): 98-103
- [35] Agarwal M, Hao Y, Kapoor A, et al. A R2R3 type MYB transcription factor is involved in the cold regulation of *CBF* genes and in acquired freezing tolerance. *J Biol Chem*, 2006, 281(49): 37636-45
- [36] Vogel JT, Zarka DG, Van Buskirk HA, et al. Roles of the CBF2 and ZAT12 transcription factors in configuring the low temperature transcriptome of *Arabidopsis*. *Plant J*, 2005, 41(2): 195-211
- [37] Yang T, Chaudhuri S, Yang L, et al. A calcium/calmodulin-regulated member of the receptor-like kinase family confers cold tolerance in plants. *J Biol Chem*, 2010, 285(10): 7119-26
- [38] Yang T, Shad Ali G, Yang L, et al. Calcium/calmodulin-regulated receptor-like kinase CRLK1 interacts with MEKK1 in plants. *Plant Signal Behav*, 2010, 5, 991-4
- [39] Chen B, Yang H. 6-Benzylaminopurine alleviates chilling injury of postharvest cucumber fruit through modulating

- antioxidant system and energy status. *J Sci Food Agric*, 2013, 93(8): 1915-21
- [40] Xiong L, Lee H, Ishitani M, et al. Repression of stress-responsive genes by FIERY2, a novel transcriptional regulator in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(16): 10899-904
- [41] Lee BH, Kapoor A, Zhu J, et al. STABILIZED1, a stress-upregulated nuclear protein, is required for pre-mRNA splicing, mRNA turnover, and stress tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2006, 18(7): 1736-49
- [42] Guan Q, Wu J, Zhang Y, et al. A DEAD Box RNA helicase is critical for pre-mRNA splicing, cold-responsive gene regulation, and cold tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2013, 25(1): 342-56
- [43] Goel D, Singh AK, Yadav V, et al. Transformation of tomato with a bacterial codA gene enhances tolerance to salt and water stresses. *J Plant Physiol*, 2011, 168(11): 1286-94
- [44] Dong CH, Hu X, Tang W, et al. A putative *Arabidopsis* nucleoporin, AtNUP160, is critical for RNA export and required for plant tolerance to cold stress. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(24): 9533-43
- [45] Gong Z, Dong CH, Lee H, et al. A DEAD box RNA helicase is essential for mRNA export and important for development and stress responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2005, 17(1): 256-67
- [46] Gong Z, Lee H, Xiong L, et al. RNA helicase-like protein as an early regulator of transcription factors for plant chilling and freezing tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(17): 11507-12
- [47] Dong CH, Agarwal M, Zhang Y, et al. The negative regulator of plant cold responses, HOS1, is a RING E3 ligase that mediates the ubiquitination and degradation of ICE1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(21): 8281-6
- [48] Miura K, Jin JB, Lee J, et al. SIZ1-mediated sumoylation of ICE1 controls *CBF3/DREB1A* expression and freezing tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2007, 19(4): 1403-14
- [49] Mohideen F, Capili AD, Bilimoria PM, et al. A molecular basis for phosphorylation-dependent SUMO conjugation by the E2 UBC9. *Nat Struct Mol Biol*, 2009, 16(9): 945-52
- [50] Miura K, Ohta M, Nakazawa M, et al. ICE1 Ser403 is necessary for protein stabilization and regulation of cold signaling and tolerance. *Plant J*, 2011, 67(2): 269-79
- [51] Ding Y, Li H, Zhang X, et al. OST1 kinase modulates freezing tolerance by enhancing ICE1 stability in *Arabidopsis*. *Dev Cell*, 2015, 32(3): 278-99
- [52] Fowler S, Thomashow MF. *Arabidopsis* transcriptome profiling indicates that multiple regulatory pathways are activated during cold acclimation in addition to the CBF cold response pathway. *Plant Cell*, 2002, 14(8): 1675-90
- [53] Xin Z, Mandaokar A, Chen J, et al. *Arabidopsis ESK1* encodes a novel regulator of freezing tolerance. *Plant J*, 2007, 49(5): 786-99
- [54] Zhu J, Shi H, Lee BH, et al. An *Arabidopsis* homeodomain transcription factor gene, *HOS9*, mediates cold tolerance through a CBF-independent pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(26): 9873-8
- [55] Cao S, Ye M, Jiang S. Involvement of GIGANTEA gene in the regulation of the cold stress response in *Arabidopsis*. *Plant Cell Rep*, 2005, 24(11): 683-90
- [56] Daie J, Campbell WF. Response of tomato plants to stressful temperatures: increase in abscisic acid concentrations. *Plant Physiol*, 1981, 67(1): 26-29
- [57] Llorente F, Oliveros JC, Martinez-Zapater JM, et al. A freezing-sensitive mutant of *Arabidopsis*, *frs1*, is a new *aba3* allele. *Planta*, 2000, 211(5): 648-55
- [58] Xiong L, Ishitani M, Lee H, et al. The *Arabidopsis LOS5/ABA3* locus encodes a molybdenum cofactor sulfurase and modulates cold stress- and osmotic stress-responsive gene expression. *Plant Cell*, 2001, 13(9): 2063-83
- [59] Gusta LV, Fowlei DB, Tyler NJ. The effect of abscisic acid and cytokinins on the cold hardiness of winter wheat. *Can J Bot*, 1982, 60: 301-5
- [60] Holubowicz T, Cummins JN, Forsline PL. Responses of malus clones to programmed low-temperature stresses in late winter. *J Am Soc Hortic Sci*, 1982, 107: 492-496
- [61] Kreps JA, Wu Y, Chang HS, et al. Transcriptome changes for *Arabidopsis* in response to salt, osmotic, and cold stress. *Plant Physiol*, 2002, 130(4): 2129-41
- [62] Tamminen I, Makela P, Heino P, et al. Ectopic expression of *ABI3* gene enhances freezing tolerance in response to abscisic acid and low temperature in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 2001, 25(1): 1-8
- [63] Lee SJ, Kang JY, Park HJ, et al. DREB2C interacts with ABF2, a bZIP protein regulating abscisic acid-responsive gene expression, and its overexpression affects abscisic acid sensitivity. *Plant Physiol*, 2010, 153(2): 716-27
- [64] Mang HG, Qian W, Zhu Y, et al. Abscisic acid deficiency antagonizes high-temperature inhibition of disease resistance through enhancing nuclear accumulation of resistance proteins SNC1 and RPS4 in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2012, 24(3): 1271-84
- [65] Yuan H, Zhao K, Lei H, et al. Genome-wide analysis of the GH3 family in apple (*Malus x domestica*). *BMC Genomics*, 2013, 14: 297
- [66] Du H, Liu H, Xiong L. Endogenous auxin and jasmonic acid levels are differentially modulated by abiotic stresses in rice. *Front Plant Sci*, 2013, 4: 397
- [67] Hagen G, Martin G, Li Y, et al. Auxin-induced expression of the soybean GH3 promoter in transgenic tobacco plants. *Plant Mol Biol*, 1991, 17(3): 567-79
- [68] Park JE, Park JY, Kim YS, et al. GH3-mediated auxin homeostasis links growth regulation with stress adaptation response in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 2007, 282(13): 10036-46
- [69] Shibasaki K, Uemura M, Tsurumi S, et al. Auxin response in *Arabidopsis* under cold stress: underlying molecular mechanisms. *Plant Cell*, 2009, 21(12): 3823-38
- [70] Achard P, Gong F, Cheminant S, et al. The cold-inducible CBF1 factor-dependent signaling pathway modulates the accumulation of the growth-repressing DELLA proteins via its effect on gibberellin metabolism. *Plant Cell*, 2008, 20(8): 2117-29

- [71] Gilmour SJ, Sebolt AM, Salazar MP, et al. Overexpression of the *Arabidopsis* CBF3 transcriptional activator mimics multiple biochemical changes associated with cold acclimation. *Plant Physiol*, 2000, 124(4): 1854-65
- [72] Jaglo-Ottosen KR, Gilmour SJ, Zarka DG, et al. *Arabidopsis* CBF1 overexpression induces *COR* genes and enhances freezing tolerance. *Science*, 1998, 280(5360): 104-6
- [73] Cerny M, Jedelsky PL, Novak J, et al. Cytokinin modulates proteomic, transcriptomic and growth responses to temperature shocks in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ*, 2014, 37(7):1641-55
- [74] Maruyama K, Urano K, Yoshiwara K, et al. Integrated analysis of the effects of cold and dehydration on rice metabolites, phytohormones, and gene transcripts. *Plant Physiol*, 2014, (164): 1759-71
- [75] Veselova SV, Farhutdinov RG, Veselov SY, et al. The effect of root cooling on hormone content, leaf conductance and root hydraulic conductivity of durum wheat seedlings (*Triticum durum* L.). *J Plant Physiol*, 2005, 162(1): 21-6
- [76] Kang NY, Cho C, Kim J. Inducible expression of *Arabidopsis* response regulator 22 (ARR22), a type-C ARR, in transgenic *Arabidopsis* enhances drought and freezing tolerance. *PLoS One*, 2013, 8(11): e79248
- [77] Ciardi JA, Deikman J, Orzolek MD. Increased ethylene synthesis enhances chilling tolerance in tomato. *Physiol Plant*, 1997, 101(2): 333-40
- [78] Zhang Z and Huang R. Enhanced tolerance to freezing in tobacco and tomato overexpressing transcription factor *TERF2/LeERF2* is modulated by ethylene biosynthesis. *Plant Mol Biol*, 2010, 73(3): 241-9
- [79] Zhao M, Liu W, Xia X, et al. Cold acclimation-induced freezing tolerance of *Medicago truncatula* seedlings is negatively regulated by ethylene. *Physiol Plant*, 2014, 152(1): 115-29
- [80] Ding CK, Wang CY, Gross KC, et al. Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. *Planta*, 2002, 214(6): 895-901
- [81] Gonzalez-Aguilar GA, Fortiz J, Cruz R, et al. Methyl jasmonate reduces chilling injury and maintains postharvest quality of mango fruit. *J Agric Food Chem*, 2000, 48(2): 515-9
- [82] Wang C, Buta J. Methyl jasmonate reduces chilling injury in *Cucurbita pepo* through its regulation of abscisic acid and polyamine levels. *Environ Exp Bot*, 1994, 34(4): 427-432
- [83] Hu Y, Jiang L, Wang F, et al. Jasmonate regulates the inducer of *CBF* expression-C-repeat binding factor/DRE binding factor1 cascade and freezing tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2013, 25(8): 2907-24