

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0972.2019.03.031

文章编号: 1003-0972(2019)03-0511-06

植物抗寒机理研究进展

周棋赢^{abc*}, 韩月华^d, 潘娟娟^{abc}, 袁红雨^{abc}, 李先文^{abc},
秦慕雪^{abc}, 彭波^{abc}, 祝悦^{abc}

(信阳师范学院 a.生命科学学院; b.大别山农业生物资源保护与利用研究院;
c.河南省茶树生物学重点实验室; d.商学院, 河南 信阳 464000)

摘要: 低温寒害是影响农作物分布、产量和品质的主要胁迫因子。植物抗寒机理研究是比较活跃和进展很快的领域。从植物抗寒的生理生化基础、植物对低温的信号感知、低温信号在植物中的传递及植物冷反应基因的表达调控等四个方面对目前植物抗寒机理的相关研究进行了综述,并对植物抗寒研究在农业生产中的应用进行了展望。

关键词: 植物; 低温; 抗寒机理; 冷反应基因

中图分类号: Q494 **文献标志码:** A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Research Progress in Plant Cold Resistance Mechanism

ZHOU Qiying^{abc*}, HAN Yuehua^d, PAN Juanjuan^{abc}, YUAN Hongyu^{abc},
LI Xianwen^{abc}, QIN Muxue^{abc}, PENG Bo^{abc}, ZHU Yue^{abc}

(a.College of Life Sciences; b.Institute for Conservation and Utilization of
Agro-bioresources in Dabie Mountains; c.Henan Key Laboratory of Tea Plant Biology;
d.Business College, Xinyang Normal University, Xinyang 464000, China)

Abstract: Low temperature damage is one of the main stress factors affecting crop distribution, yield and quality, and research in plant cold resistance mechanism is an active and fast developing field. Here, research on plant cold resistance mechanism was reviewed from four aspects: the physiological and biochemical basis of plant cold resistance, the perception of low temperature signal, the transmission of low temperature signal in plants, and the expression regulation of plant cold responsive genes. Additionally, the prospects of the application of research on plant cold resistance in agricultural production was discussed.

Key words: plant; low temperature; cold resistance mechanism; cold responsive gene

0 引言

低温是植物所面临的主要逆境因子,不仅危害植物的生长和发育,也会限制植物的地域分布和农作物产量,是我国农林生产中的主要自然灾害,也是园林绿化引种的一个重要障碍。因此,弄清植物抗寒基因的表达调节机制和植物抗寒的生理生化基础,揭示植物抗寒的作用机理,对农作物和园林作物的抗寒育种具有重要意义。本文从植物抗寒的生理生化基础、植物对低温的信号感知、低温信号

在植物中的传递以及植物冷反应基因的表达调控等四个方面进行了全面综述,以期在植物抗寒领域的相关研究者找准盲点,进一步揭示植物抗寒的作用机理,同时也为植物的抗寒育种提供理论指导和技术思路。

1 植物抗寒的生理生化机制

研究表明,植物虽然不能像动物那样通过运动来趋利避害,但在长期进化过程中也形成了多种在寒冻环境中生存的适应机制,包括被动适应机制和

收稿日期:2019-02-20;修订日期:2019-05-01; *通信联系人, E-mail: zhouqy@xynu.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金项目(U1404319, 31270727, U1604110);河南省科技计划项目(182102110449);南湖青年学者奖励计划项目(2016060);安徽省研究人员科研基金项目(2017B190)

作者简介:周棋赢(1984—),男,河南商城人,讲师,博士,主要从事植物逆境生理学研究。

主动适应机制.被动适应机制指植物体自身具有的结构特征,如叶片较小、栅栏组织发达、细胞壁衍化成角质层、蜡质、木质、栓质和特殊气孔等附属结构,这些附属结构以及木质部间的导管组织能阻止水分子和冰的扩散运动^[1,2].主动适应机制与植物的诱导性抗寒防卫反应有关,主要包括受 CBF 调节或 ABA 调节的下游冷反应基因(COR),它们是与提高植物抗寒性、保护细胞免受低温伤害直接相关的功能性蛋白质编码基因.

目前,已从拟南芥、大麦、油菜、苜蓿、菠菜等植物中鉴定出上百种冷反应基因(COR),例如, KIN (cold-inducible)、LTI (low-temperature induced)、RD (responsive to dehydration) 或 ERD (early responsive to dehydration) 基因^[3,4].根据这些基因编码蛋白质的氨基酸组成,COR 基因可分 4 类:COR6.6/KIN2, COR15a, RD29A/LTI78/COR78 和 COR47/RD17,其中 COR6.6 蛋白与富含丙氨酸的鱼类抗冻蛋白 I 极为相似,RD29A 和 RD17 蛋白类似于胚胎发育晚期丰富蛋白(late embryogenesis abundant protein, LEA II), COR15a 蛋白可阻止六方晶 II 相发生,提高低温胁迫下质膜的稳定性^[4-6].除此之外,还包括抗氧化酶活性的增加或/和抗氧化物质的增多以及渗透压调节物质的积累等^[4-8].低温胁迫环境下,抗寒植物中膜磷脂和不饱和脂肪酸含量增加,可防止膜相变,使膜能维持流动性和正常的液晶态.在烟草中超量表达脂肪酸去饱和酶基因提高了植株的抗寒能力^[9].研究还发现,冷敏感植物在冷胁迫条件下,细胞中活性氧的产生加速,清除活性氧的能力下降;而超表达拟南芥 Fe-SOD 酶编码基因增强了苜蓿的抗冻性^[7].抗冻蛋白(antifreeze proteins, AFPs)是一类能结合于冰晶表面抑制冰晶形成和生长的蛋白质,同时它还抑制冰晶在融化之后发生的重结晶现象,在植物的抗冻反应中具有重要作用^[10,11].植物在遭受寒害的同时还会受到水分胁迫和渗透胁迫,一些具有保水作用的渗透调节物质,如脯氨酸、甜菜碱、可溶性糖和蛋白以及醇类等物质会大量积累,以维持细胞的渗透平衡,减小低温伤害^[12-14].拟南芥冷驯化缺失突变体 *sfr4* 在响应低温过程中没有可溶性糖的积累,抗寒能力减弱.转基因拟南芥中蔗糖磷酸合酶的超表达可促进蔗糖水平的提高,同时也增强了植株的耐寒能力^[15,16].

2 植物对低温的信号感知

通常认为位于膜上的钙离子渗透通道、受体激

酶、组氨酸激酶、磷酸酯酶和光合机构等可能是植物的低温感受器,但还缺乏直接的证据.细胞膜上的钙离子通道被认为是低温信号感受器,是因为低温可以引起 Ca^{2+} 内流,而且对 ABA 不敏感型突变体的研究也证实 Ca^{2+} 参与了低温胁迫下的信号转导^[4].最近,种康课题组在水稻中的研究表明,COLD1 编码一个具有 9 个跨膜域的 G 蛋白信号调控因子,它通过与 G 蛋白亚基 RGA1 互作激活 Ca^{2+} 通道,进而调节了水稻的低温反应,表明 COLD1 可能是水稻的低温感受器^[17].作为低温感受器,蓝细菌中的组氨酸激酶 Hik33、Hik19 和枯草芽孢杆菌中的组氨酸激酶 DesK,通过调节去饱和酶基因的表达响应低温信号^[18,19].在拟南芥的研究中也发现了类似的组氨酸激酶,并且它们的表达受低温诱导^[20].类受体激酶(RLK)因为具有跨膜结构,能将胞外信号传递到胞内,也被认为是可能的低温感受器.研究发现,拟南芥类受体激酶 RPK1 的表达受低温诱导^[21].最新的研究也表明,低温响应蛋白激酶 CRPK1 可能通过接受 RPK1 传来的低温信号,磷酸化 14-3-3 蛋白并使其入核,进而调节下游关键转录因子 CBF 的稳定性^[22,23].磷酸酯酶 C 和 D 在低温处理 15 s 就在细胞内积累,因此膜磷脂的变化被认为起始了低温信号.磷酸酯酶 D 还具有将微管蛋白锚定在质膜的作用,因此磷酸酯酶 D 的活化还会引起细胞骨架的构象改变,进而可能还会激活 Ca^{2+} 通道^[21].植物光合机构的氧化还原状态可以作为低温的感受器,通过感知光能吸收和利用的不平衡,调节冷驯化过程^[24].

3 低温信号在植物中的传递

植物感受到低温后,将低温信号通过钙离子、ABA、活性氧 ROS 等第二信使继续向下游传递.细胞壁、内质网和液胞中 Ca^{2+} 浓度比细胞质中高两个数量级以上,这些细胞器称为细胞的“钙库”.低温引起细胞质内 Ca^{2+} 浓度升高,用 Ca^{2+} 螯合剂或 Ca^{2+} 通道阻断剂阻止 Ca^{2+} 内流,降低了苜蓿和拟南芥的抗寒性.作为第二信使, Ca^{2+} 可以通过调节 Ca^{2+} 感受器(如钙调蛋白,含钙调蛋白结构域的蛋白激酶 CDPK,类钙调蛋白磷酸酶 B 蛋白 CBL 以及 CBL 互作蛋白激酶 CIPK 等)和其他蛋白的磷酸化反应将低温信号向下传递,进而调节下游冷反应基因 COR 的表达^[21, 25, 26].

KIM 研究表明,拟南芥 CIPK3 可以调节 RD29A、KIN1、KIN2 基因的表达在低温信号传

递中发挥重要作用,CIPK3可能位于调节COR基因表达的转录因子上游、Ca²⁺信号的下游^[21, 25].过表达*OsCDPK7*、*OsCDPK13*基因增强了水稻的抗寒能力.细胞质的蛋白磷酸酯酶PP2A可以使MAPK、CDPK和受体蛋白激酶RPK失活.低温会诱导Ca²⁺内流,抑制PP2A的活性,促进Ca²⁺感受器引发一系列磷酸化反应,进而调节下游COR基因的表达^[18].DESWAL在芥菜中的研究表明,依赖PKC的磷酸化反应直接参与了早期低温信号的传递过程^[26].

ABA和活性氧ROS可以通过诱导调节Ca²⁺信号,参与植物对低温的信号传递.20世纪60年代,人们就发现ABA在木本植物对抗低温胁迫中有重要作用,外源施加ABA可以提高木本植物的抗冻能力.随后发现外源ABA处理,也可以增强水稻、玉米和辣椒等低温敏感型植物的抗寒能力.拟南芥*aba3*突变体中低温诱导的COR基因都下调表达,因而*aba3*突变体表现出冷敏感表型^[4, 27, 28].研究发现ABA可以促进IP₃的积累,进而与Ca²⁺共同参与低温信号转导^[28].低温胁迫会引起活性氧的积累,进而激活细胞的活性氧清除系统和一系列保护机制.拟南芥组成型积累ROS突变体*fro1*中,COR基因表达受到抑制,植株对低温胁迫表现敏感.目前人们还不清楚植物是如何感知低温胁迫造成的氧化压力,但一些学者认为活性氧可能传递了低温压力的信号.除了诱导钙信号,ROS还可以通过活化氧化还原反应下游蛋白,如转录因子、蛋白激酶,直接参与低温信号传递^[20, 28, 29].

4 植物冷反应基因的转录调控

低温信号通过激活转录因子,调节下游冷反应基因(COR)的表达,从而启动植物的抗寒反应.转录因子CBF(C-repeat binding factor)调节的信号途径是目前调控机理揭示最为清楚的植物低温应答途径.根据是否依赖CBF因子,植物的低温应答途径分为依赖CBF和不依赖CBF两条途径^[20-22, 29-32].依赖CBF的冷信号转导途径(又称ABA非依赖途径),即植物在感知低温后,启动CBF基因表达,CBF蛋白再激活下游冷反应基因(如COR、KIN、RD、LTI等)的表达,进而增强植物的抗寒性.CBF属于乙烯反应元件结合因子ERF家族成员,受CBF调节的基因多达百种以上.研究表明,CBF调节的冷反应基因启动子区都含有胞苷酸重复或脱水反应元件(C-repeat/dehydra-

tion-responsive element, CRT/DRE)^[21-23, 29-31].在拟南芥基因组中共发现4个CBF基因,其中CBF1、CBF2、CBF3都与冷信号转导途径相关,但却具有不同的作用.CBF1和CBF3的表达要先于并促进CBF2的表达,而CBF2又会抑制CBF1和CBF3的表达,从而使CBF的功能受到精密调控.进一步的研究发现,一个MYC类转录激活因子编码基因ICE1,低温时能特异地与CBF启动子中的识别序列结合,像主效开关一样控制着CBF信号转导途径各基因的表达水平^[29-33].SIZ1编码类泛素蛋白E3连接酶,可以通过SUMO化ICE1抑制ICE1被泛素化降解,从而增加ICE1的稳定性.HOS1是CBF信号转导途径的负调节子,编码一个环指型泛素E3连接酶,低温诱导胞质内的HOS1入核,促进细胞核里ICE1蛋白的泛素化降解.转录因子MYB15、ZAT12和EIN3可以识别并结合CBFs基因启动子区的MYB结合位点,抑制CBFs基因的表达^[34, 35].研究还发现,Ca²⁺信号可以在上游调控CBF基因的表达,钙调蛋白结合转录激活子CAMTA3可以识别并结合CBF2基因启动子区正调节植物的低温反应^[35, 36].另外,依赖CBF的调控途径还在转录后水平上受到进一步的调节.研究发现,FRY2突变导致COR基因mRNA的加工延迟,低温环境下,CBFs的表达量增加,但*fry*突变体植株却呈现低温敏感表型.低温环境下,*rcf1*突变体中CBFs的表达增加,但由于COR基因的出核受阻,植株呈现低温敏感表型;*los4*突变体中CBF1和CBF2的表达出现延迟,造成COR基因加工不完全,使植株对低温敏感^[27].Liu et al. (2017)研究表明,低温下蛋白激酶CRPK1磷酸化14-3-3蛋白使其入核,与CBF结合并启动CBF1和CBF3的泛素化反应,从而在转录后水平上对CBF的调控途径进行调节^[22].

不依赖CBF的冷信号调节途径还不清楚.转录组分析表明,拟南芥中仅有约14%低温应答基因受CBF调控^[35].同源域转录因子HOS9和MYB类转录因子HOS10正调控拟南芥对低温的响应,MYB1C负调控拟南芥对低温的响应,但在*hos9*突变体,*myb1c*突变体以及MYB1C超表达植株中,CBF及其下游调控基因的表达都不受影响,表明HOS9、HOS10和MYB1C可能通过不依赖CBF的冷信号转导途径发挥作用^[21, 37].拟南芥*esk1*突变体组成型积累大量脯氨酸并具有抗冻表型,但*esk1*突变体中CBF基因及其下游调控基因

的表达却不受影响,表明 *esk1* 突变体的抗冻表型可能与依赖 CBF 的信号无直接关系^[38].拟南芥 *GI* 基因编码一个参与开花调控的核内蛋白,其表达受低温诱导,*atgi-3* 突变体的耐寒能力明显降低,但 CBF 基因的表达却不受影响^[30].水稻中一种介导糖信号转导的 MYB 类转录因子—MYBS3,可以通过与 CBF 调节的下游基因共同作用,在水稻适应长期低温胁迫反应中起关键作用^[39].ABA 在植物的低温反应中具有重要作用^[40-42],约有 10% 的 ABA 反应基因受低温诱导.转录因子 bZip 可以接收 ABA 传递的低温信号,以不依赖 CBF 调节的途径调节下游冷反应基因(COR)的表达,这些冷反应基因的启动子区一般具有 ABA 反应元件(ABRE) PyACGTGGC.除此之外,转录因子 MYB、MYC 和 NAC 也可以接收 ABA 传递的低温信号,进而调节下游 COR 基因的表达.拟南芥中,AtMYB96 通过调节脂转移蛋白 LTP3 的表达增强了植物的抗冻性,而且不影响 CBF 及其调节的下游 COR 基因的表达^[27, 30, 43].

5 展望

植物的抗寒过程是一个由多个转录因子或多种信号途径相关基因相互平行或交叉协作,共同调控的复杂网络,最终产生结构和生理物质的变化,从而增强植物的抗寒能力.除了 CBF 类转录因子,许多其他类型的转录因子,如 MYB、WRKY、锌指

蛋白 ZF 等,都参与了植物的低温反应和对冷调节基因 COR 的调控,一些受 CBF 调控的下游 COR 基因同时也可以被其他转录因子调节;一些早期低温反应转录因子往往具有共同的下游 COR 基因^[35].许多植物生理节律相关的基因(如 CAA1, PPRs)也参与了依赖 CBF 的低温应答途径^[31].此外,各种激素和 ROS 信号,糖信号也在植物的低温信号转导过程中发挥着重要作用^[27, 30, 44].小分子非编码 RNA 以及表观遗传修饰通过在转录后水平对相关转录因子和 COR 基因的调控,对植物的抗寒性进行调节^[45-48].

尽管人们对植物的抗寒机理有了较为深入的认识,但植物的抗寒反应是一个十分复杂的调控过程,目前人们对植物抗寒机理的认识还很有限,还有待进一步研究.随着基因测序技术和大数据处理技术的不断进步,特别是分子互作网络和基因共表达分析技术的不断优化,为我们从整体上认知植物抗寒反应提供了充足的数据量和强大的分析手段,能快速从海量数据中提取关键的抗寒作用因子.再结合现代分子成像技术和基因功能核显技术(如超表达,基因沉默,基因编辑技术等),人们对植物抗寒机理的认识将更加全面深入,这些研究结果将为利用生理生化和分子生物学手段提高植物的抗寒性,推动植物抗寒育种,以及一些园艺作物的低温保鲜储存提供理论基础,具有较好的应用前景.

参考文献:

- [1] 王维香.植物低温胁迫适应性应答综述 [J].湖北农业科学, 2009, 48(1):227-232.
WANG W X. Adaptive responses of plant on low-temperature stress [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2009, 48(1): 227-232.
- [2] GUSTA L V, WISNIEWSKI M. Understanding plant cold hardiness: an opinion [J]. Physiologia Plantarum, 2013, 147:4-14.
- [3] CHEN X, ZHANG J, LIU Q, et al. Transcriptome sequencing and identification of cold tolerance genes in Hardy *Corylus species* (*C. heterophylla* Fisch) floral buds [J]. PloS One, 2014, 9(9): e108604.
- [4] 徐呈祥.提高植物抗寒性的机理研究进展 [J].生态学报, 2012, 32(24):7966-7980.
XU C X. Research progress on the mechanism of improving plant cold hardiness [J]. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32 (24):7966-7980.
- [5] WANG H, DATLA R, GEORGES F, et al. Promoters from *kin1* and *cor6.6*, two homologous arabidopsis thaliana genes: transcriptional regulation and gene expression induced by low temperature, ABA, osmoticum and dehydration [J]. Plant Molecular Biology, 1995, 28(4):605-617.
- [6] BREMER A, KENT B, HAUSS T, et al. Intrinsically disordered stress protein COR15A resides at the membrane surface during dehydration [J]. Biophysical Journal, 2017, 113: 572-579.
- [7] HEIDARVAND L, AMIRI R M. What happens in plant molecular responses to cold stress? [J]. Acta Physiol Plant, 2010, 32:419-431.

- [8] 陈丽文,王艳平.低温对两种油茶的生理生态效应[J].信阳师范学院学报(自然科学版),2016,29(4):534-536.
CHEN L W, WANG Y P. The physiological and ecological effect on two species *Camellia oleifera* induced by low temperature [J]. Journal of Xinyang Normal University (Natural Science Edition), 2016, 29(4):534-536.
- [9] CRAIG W, LENZI P, SCOTTI N, et al. Transplastomic tobacco plants expressing a fatty acid desaturase gene exhibit altered fatty acid profiles and improved cold tolerance [J]. Transgenic Research, 2008, 17:769-782.
- [10] 李先文,谢素霞,李勋.植物寒冻抗性分子机理研究进展[J].信阳师范学院学报(自然科学版),2011,24(2):272-277.
LI X W, XIE S X, LI S. Advances in researches on frost-resistance mechanisms of plants [J]. Journal of Xinyang Normal University (Natural Science Edition), 2011, 24(2):272-277.
- [11] DUMAN J G, WISNIEWSKI M J. The use of antifreeze proteins for frost protection in sensitive crop plants [J]. Environmental and Experimental Botany, 2014, 106:60-69.
- [12] 蒋家月,金凤玲,王芸芳,等.冬季自然低温胁迫对茶树抗寒生理指标的影响[J].安徽农业大学学报,2012,39(3):394-396.
JIANG J Y, JIN F L, WANG Y F, et al. Effects of winter low temperature stress on cold resistant physiological indices of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze [J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2012, 39(3):394-396.
- [13] 赵秀琴,张婷,王文生,等.水稻低温胁迫不同时间的代谢物谱图分析[J].作物学报,2013,39(4):720-726.
ZHAO X Q, ZHANG T, WANG W S, et al. Time-course metabolic profiling in rice under low temperature treatment [J]. Acta Agronomica Sinica, 2013, 39(4):720-726.
- [14] BAN Q, WANG X, PAN C, et al. Comparative analysis of the response and gene regulation in cold resistant and susceptible tea plants [J]. PloS One, 2017, 12(12): e0188514
- [15] MA Y, ZHANG Y, LU J, et al. Roles of plant soluble sugars and their responses to plant cold stress [J]. African Journal of Biotechnology, 2009, 8:2004-2010.
- [16] PASTORCZYK M, GIELWANOWSKA I, LATHUTA L B. Changes in soluble carbohydrates in polar Caryophyllaceae and Poaceae plants in response to chilling [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2014, 36:1771-1780.
- [17] MA Y, DAI X, XU Y, ET al. *COLD1* confers chilling tolerance in rice [J]. Cell, 2015, 160:1209-1221.
- [18] SUZUKI I, LOS D A, MURATA N. Perception and transduction of low-temperature signals to induce desaturation of fatty acids [J]. Biochemical Society Transactions, 2000, 28:628-630.
- [19] AGUILAR P S, HERNANDEZ-ARRIAGA A M, CYBULSKI L E, et al. Molecular basis of thermosensing: a two-component signal transduction thermometer in *Bacillus subtilis* [J]. EMBO J, 2001, 20:1681-1691.
- [20] URAO T, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, SHINOZAKI K. Two-component systems in plant signal transduction [J]. Trends in Plant Science, 2000, 5:67-74.
- [21] SOLANKE A U, SHARMA A K. Signal transduction during cold stress in plants [J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2008, 14:69-79.
- [22] LIU Z, JIA Y, DING Y, et al. Plasma membrane CRPK1-mediated phosphorylation of 14-3-3 proteins induces their nuclear import to fine-tune CBF signaling during cold response [J]. Molecular Cell, 2017, 66(1):117-128.
- [23] GUO X, LIU D, CHONG K. Cold signaling in plants: Insights into mechanisms and regulation [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2018, 60(9):745-756.
- [24] ENSMINGER I, BUSCH F, HUNER N P A. Photostasis and cold acclimation: sensing low temperature through photosynthesis [J]. Physiologia Plantarum, 2006, 126:28-44.
- [25] KIM K N, CHEONG Y H, GRANT J J, et al. CIPK3, a calcium sensor-associated protein kinase that regulates abscisic acid and cold signal transduction in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2003, 15:411-423.
- [26] DESWAL R, CHOWDHARY G K, SOPORY S K. Purification and characterization of a PMA-stimulated kinase and identification of PMA-induced phosphorylation of a polypeptide that is dephosphorylated by low temperature in *Brassica juncea* [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2004, 322:420-427.
- [27] SHI Y, YANG S. Abscisic acid: Metabolism, transport and signaling [M]. Netherlands: Springer, 2014:337-364.
- [28] XIONG L, SCHUMAKER K S, ZHU J K. Cell signaling during cold, drought, and salt stress [J]. Plant Cell, 2002, 14(s):165-183.
- [29] CHINNUSAMY V, ZHU J K, SUNKAR R. Gene regulation during cold stress acclimation in plants [C]//

- RAMANJULU S. Plant Stress Tolerance. Stillwater, OK, USA: Humana Press, 2010, 639:39-55.
- [30] SHI Y T, DING Y L, YANG S H. Cold signal transduction and its interplay with phytohormones during cold acclimation [J]. *Plant Cell Physiol*, 2015, 56(1):7-15.
- [31] LEE C M, THOMASHOW M F. Photoperiodic regulation of the C-repeat binding factor (CBF) cold acclimation pathway and freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109:15054-15059.
- [32] 魏俊燕, 赵佳, 赵仕琪, 等. 植物 ICE1-CBF 冷反应通路的激活与调控研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2015, 31(6):8-12.
- WEI J Y, ZHAO J, ZHAO S Q, et al. Activation and regulation on the cold response pathway of ICE1-CBF in plants [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2015, 31(6):8-12.
- [33] NOVILLO F, ALONSO J M, ECKER J R, 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* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101:3985-3990.
- [34] JEON J, KIM J. Cold Stress Signaling Networks in *Arabidopsis* [J]. *Journal of Plant Biology*, 2013, 56:69-76.
- [35] ZHAO C, LANG Z, ZHU J K. Cold responsive gene transcription becomes more complex [J]. *Trends in Plant Science*, 2015, 20:466-468.
- [36] DOHERTY C J, VAN BUSKIRK H A, MYERS S J, et al. Roles for *Arabidopsis* CAMTA transcription factors in cold-regulated gene expression and freezing tolerance [J]. *Plant Cell*, 2009, 21:972-984.
- [37] OUELLET F, CHARRON J B. Cold acclimation and freezing tolerance in plants [J]. *Encyclopedia of Life Sciences*, 2013, doi:10.1002/9780470015902.a0020093.
- [38] CHINNUSAMY V, ZHU J K, SUNKAR R. Gene regulation during cold stress acclimation in plants [J]. *Methods in Molecular Biology*, 2010, 639:39-55.
- [39] SU C F, WANG Y C, HSIEH T H, et al. A novel MYBS3-dependent pathway confers cold tolerance in rice [J]. *Plant Physiology*, 2010, 153:145-158.
- [40] 张坤, 邵强. 植物冰结构蛋白的功能机制及其应用 [J]. *河南师范大学学报(自然科学版)*, 2013, 41(1):109-114.
- ZHANG K, SHAO Q. Mechanism of action and application of plants ice structuring proteins [J]. *Journal of Henan Normal University(Natural Science Edition)*, 2013, 41(1):109-114.
- [41] 王春林, 尚菲, 段春燕, 等. H₂S 在植物抵御逆境胁迫过程中的作用 [J]. *安徽大学学报(自然科学版)*, 2019, 43(3):97-101.
- WANG C L, SHANG F, DUAN C Y, et al. Physiological functions of hydrogen sulfide in plant defense against adversity stress [J]. *Journal of Anhui University(Natural Science Edition)*, 2010, 153:145-158.
- [42] 岳彩鹏, 王宁, 李园园, 等. 外源甲基紫精对烟草活性氧和花芽分化的影响 [J]. *郑州大学学报(理学版)*, 2018, 50(4):80-86.
- YUE C P, WANG N, LI Y Y, et al. Effect of exogenous methylviologen on ROS and folwer bud differentiation in tobacco [J]. *Journal of Zhengzhou University(Natural Science Edition)*, 2018, 50(4):80-86.
- [43] GUO L, YANG H, ZHANG X, et al. Lipid transfer protein 3 as a target of MYB96 mediates freezing and drought stress in *Arabidopsis* [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2013, 64(6):1755-1767.
- [44] YUE C, CAO H L, WANG L, et al. Effects of cold acclimation on sugar metabolism and sugarrelated gene expression in tea plant during the winter season [J]. *Plant Molecular Biology*, 2015, 88:591-608.
- [45] SHEN J, WANG Y, CHEN C, et al. Metabolite profiling of tea (*Camellia sinensis* L.) leaves in winter [J]. *Scientia Horticulturae*, 2015, 192:1-9.
- [46] CHAN Z, WANG Y, CAO M, et al. RDM4 modulates cold stress resistance in *Arabidopsis partially* through the CBF-mediated pathway [J]. *New Phytologist*, 2016, 209:1527-39.
- [47] MEGHA S, BASU U, KAV N N. Regulation of low temperature stress in plants by microRNAs [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2018, 41(1):1-15.
- [48] DING Y L, SHI Y T, YANG S H. Advances and challenges in uncovering cold tolerance regulatory mechanisms in plants [J]. *New Phytologist*, 2019, doi: 10.1111/nph.15696

责任编辑:任长江