

引用本文格式 田一粟, 姜明, 张启宇. 植物抗寒基因及 ICE-CBF-COR 信号转导研究进展[J]. 农业工程, 2023, 13(5): 131-137. DOI: 10.19998/j.cnki.2095-1795.2023.05.024. TIAN Yisu, JIANG Ming, ZHANG Qiyu. Progress on cold resistance genes and ICE-CBF-COR signaling in plants[J]. Agricultural Engineering, 2023, 13(5): 131-137.

植物抗寒基因及 ICE-CBF-COR 信号转导研究进展

田一粟, 姜明, 张启宇

(中国农业大学烟台研究院, 山东 烟台 264670)

摘要: 包括冷胁迫和冻胁迫在内的低温逆境胁迫是造成农作物减产的主要因素之一。研究转录因子 CBF 调节的植物低温应答途径对于揭示植物面对低温胁迫时的分子反应有重要意义。针对植物抗寒基因及 ICE-CBF-COR 信号通路的研究, 从植物抗寒基因、信号通路和激素与组蛋白调控等多个方面对当下植物抗寒基因的研究进展进行了综述, 表明 ICE-CBF-COR 是不同转录因子、调控因子、蛋白质、生理因子和其他操纵因子相互作用以增强冷胁迫的中心途径; 同时也发现 ICE-CBF-COR 信号通路在针对植物生长发育、花期调节、保鲜贮藏和遗传育种等相关研究中同样起着至关重要的作用, 并对未来研究与发展的前景进行了展望, 以期能为植物抗寒基因的研究提供参考与理论支持, 同时也为植物的生长发育、花期调节、保鲜贮藏和遗传育种提供理论指导。

关键词: ICE 基因; CBF 基因; COR 基因; 低温胁迫; ICE-CBF-COR 信号通路; 激素调控; 组蛋白修饰

中图分类号: S184 **文献标识码:** A **文章编号:** 2095-1795(2023)05-0131-07

DOI: 10.19998/j.cnki.2095-1795.2023.05.024

Progress on Cold Resistance Genes and ICE-CBF-COR Signaling in Plants

TIAN Yisu, JIANG Ming, ZHANG Qiyu

(Yantai Institute of China Agricultural University, Yantai Shandong 264670, China)

Abstract: Low temperature stress, including cold stress and freezing stress, which is one of the main factors causing crop yield reduction. It is of great significance to study low temperature response pathway regulated by transcription factor CBF for revealing molecular response of plants to low temperature stress. Research progress of plant cold resistance gene and ICE-CBF-COR signal pathway was reviewed from plant cold resistance gene, signal pathway, hormone and histone regulation and other aspects. Results showed that ICE-CBF-COR was central pathway for interaction of different transcription factors, regulatory factors, proteins, physiological factors and other manipulation factors to enhance cold stress. At the same time, it was also found that ICE-CBF-COR signal transduction pathway also played a crucial role in plant growth and development, flowering period regulation, fresh storage, genetic breeding and other related research, and prospect of future research and development was prospected. It is expected to provide reference and theoretical support for research of plant cold resistance genes, and also provide theoretical guidance for plant growth and development, flowering period regulation, fresh storage, genetic breeding.

Keywords: ICE, CBF, COR, cold-acclimation, ICE-CBF-COR signaling pathway, hormone regulation, histone modification

0 引言

由于自然环境的恶化, 天气变化无常, 如出现异常低温或者高温情况, 给农作物的生产带来巨大的伤害。受低温连阴雨极端天气的影响, 2015 年安徽省近万亩水稻减产绝收, 造成巨大损失, 暴露出农业靠天吃饭的弱质性^[1]。为了应对低温造成的减产影响, 一

般是采取保温措施^[2]。但这种解决办法比较被动, 不能从根本上应对低温。因此研究包括农作物在内的植物抗寒基因有重要的意义, 可以提高农作物的抗寒性, 从而降低低温减产的影响。国内外研究人员对此开展了研究工作, 取得了很多的成果。为了更全面地了解植物抗寒基因, 以及相关的研究进展, 本研究对近几年国内外植物抗寒基因、相关的信号通路及其调控因

收稿日期: 2022-10-16 修回日期: 2023-01-19

作者简介: 田一粟, 本科生, 主要从事植物逆境生理、水产养殖研究 E-mail: 2785299713@qq.com
张启宇, 通信作者, 硕士, 讲师, 主要从事数字渔业、休闲渔业、农业信息技术研究
E-mail: rcraingo@163.com

在线投稿
www.d1ae.com

子等研究成果进行综述, 以期为植物抗寒基因的研究提供参考与理论支持, 同时也为植物的生长发育、花期调节、保鲜贮藏和遗传育种提供理论指导。

1 植物抗寒性研究背景

1.1 植物低温胁迫信号转导

低温作为主要逆境因子之一, 影响植物的生长及地理分布, 严重时会造成植物的死亡。冷胁迫和冻胁迫也是造成农作物减产的主要因素之一。而当植物面临非生物环境胁迫时, 植物体会产生一系列相应变化来应对外界的不良环境。如在遇到低温和冷害时, 植物体内的低温信号响应通路会使植物发生一系列生理生化变化, 让植物体的生长减缓, 从而有利于面对低温胁迫时进行抵抗。

植物冷诱导基因 (COR) 是由冷胁迫调节的一类基因, 能在某些特定的条件 (低温、短日照等) 被激活以产生冷调节蛋白, 进而提高植物的抗寒性。研究发现, COR 基因启动子区域中有与低温胁迫有关的脱水响应性元件 (DRE) 的顺式作用元件 (CRT), 部分 COR 基因依赖 C-环肽结合转录因子 (CBF) 激活, 即通过 ICE-CBF-COR 信号通路, 使 CBF (C-repeat binding transcription factor / dehydrate responsive element binding factor, DREB) 与启动子区上的 CRT/DRE 顺式作用元件特异性结合激活抗寒反应^[3]。

C-环肽结合转录因子表达诱导剂 ICE (inducer of CBF expression) 位于 CBF 冷响应通道上游, 是冷诱导基因之一, 在冷胁迫或冻胁迫下, 能够作为转录因子与 CBF3 的启动子特异结合, 诱导 CBF 的表达, 从而提高植物的耐寒性, 而 CBF 基因是植物 CBF 抗冷途径的枢纽, 主要通过调控下游相关抗冷基因的表达, 增强抵御寒冷的能力。

由于依赖转录因子 CBF 调节的信号途径是当下调控机理最为大家熟知的植物低温应答途径, 因此也将其作为重点关注的内容之一。

虽然目前对 ICE-CBF-COR 的作用效果与部分机制的相关研究与解释已比较充分, 但对于影响信号通路的具有包括正向激活作用与反向抑制作用在内的不同调节因子的作用, 仍然还在很漫长的不断探索的过程之中, 而基于此的探索可以促进对转录水平和翻译后水平上对 CBF 介导的冷信号通路的理解。

1.2 ICE-CBF-COR 信号通路

CBF 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。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。低温信号的转导也至少可通过依赖和不依赖 CBF 两种途径实现。已经证实了使植物产生低温

抗性的主效途径是依赖 CBF 的冷信号转导通路, 使得 ICE-CBF-COR 信号通路成为研究的热点之一^[4]。

1.3 组蛋白修饰为提高植物抗寒性提供可能

在染色质上的组蛋白尾有多种位点上的修饰, 组蛋白的 N 端尾部突出在 DNA 环流之外并表现为各种共价修饰的底物, 包括磷酸化、乙酰化、泛素化、ADP 核糖基化、生物素化和甲基化等^[5]。组蛋白的修饰一般不能单独地起作用, 需要组蛋白尾部的不同修饰组合共同调节, 形成修饰的级联^[6]。可作为一种重要的表观遗传学标志。

组蛋白的磷酸化在 DNA 损伤、DNA 修复、DNA 复制和重组等基因的复制与修复上发挥着重要作用^[7-8]。而组蛋白的乙酰化与去乙酰化在真核生物调控转录的起始和基因的延伸中起着重要的作用^[7,9]。

组蛋白的甲基化是在赖氨酸和精氨酸上的共价修饰作用, 复合物中, 往往通过组蛋白和相关 DNA 的共价修饰来修饰染色质。不同位点甲基化及甲基化的不同程度会引发不同的效应。在基因表达的激活、抑制或者是延伸中都能够起到一定的作用。而对于相关基因, 任何修饰都不能单独地作为表达状态的指标^[5,10-12]。针对组蛋白修饰的研究已有许多显著的成果, 作为重要的表观遗传学标志, 对其的深入研究有着重要意义。

2 植物低温胁迫分子研究基础

2.1 冷响应基因控制植物抵御低温胁迫

越来越多的证据表明, 大多数的冷胁迫耐受性是在 CBF 的靶点, 即 COR 基因影响下表达产生的。目前, 植物已经获得高度复杂的系统来应对寒冷的胁迫。为了稳定植物细胞膜免受冻伤, 部分植物会产生一系列生理生化变化, 如钙离子流入、细胞骨架重排、控制冷反应基因转录、调节激素水平和反应、产生超氧化物歧化酶 (ROS) 及重塑表观遗传修饰等方式^[13-14]。

2.2 植物低温胁迫下转录因子

2.2.1 ICE 基因

ICE 基因属于螺旋-环-螺旋 (bHLH) 转录因子家族, 用以调控冷调控基因的表达, 主要的分子功能是与 CBF 基因的下流结合。

ICE 基因的同源物在小麦中已被鉴定为两种不同的 CBF 表达诱导剂 TaICE41 和 TaICE87。在拟南芥中过表达 TaICE41 或 TaICE87, 能够增强其在冷适应下耐低温的能力, 与冷调节基因的表达较高有关。这也表明了 ICE 同源物在冷胁迫响应中具有重要意义^[15]。

2.2.2 CBF 基因

CBF 基因是一类含激活增强子结合蛋白 2/乙烯反应因子 (AP2/ERF) 结构域的转录因子, 是由 3 个转录激活子 (CBF1-3) 组成的, CBF 基因本身是由寒冷诱

导的，存在于冷响应基因的启动子中，并诱导其转录。其转录网络在拟南芥等植物的冷适应中起着关键作用^[16]。

在 CBF 家族中，关于不同转录激活子发挥的作用，不同人有着不同的看法。研究表明，每个 CBF 转录因子在冷适应中起重要且等效的作用^[17-19]。CBF2 对 CBF1 和 CBF3 表达有负调节作用，CBF1 和 CBF3 的调控方式与 CBF2 不同，CBF1 和 CBF3 并不参与调节其他 CBF 基因，而是通过激活相同的 CBF 靶基因子集来调节冷适应^[20]。通过 TaCBF14 和 TaCBF15 在大麦、小麦中表达的试验发现，CBF 基因能够显著提高转基因植物的耐寒性，是提高植物耐寒性的关键成分，一定程度上也具有平衡耐寒性和植物生长的作用^[21]。而因为 CBF 基因家族在染色体上的分布位置相近，具有较高的同源性，所以诱导 CBF 基因过表达，虽然会提高转基因植株的抗冻能力，但在一定程度上也会抑制其生长。

2.2.3 COR 基因

COR 基因一般是指由冷调控基因编码的保护性物质。COR 基因蛋白和蔗糖、甘氨酸、甜菜碱及脯氨酸渗透液的积累，有助于在冷应激期间维持植物细胞中膜和细胞器的完整性。包括渗透蛋白和低温保护蛋白在内的这些保护物质的积累能够促进冷适应和耐冻性的提高。

VOGEL J T 等^[22]在 2005 年首次发现了非 CBF 基因蛋白调节的 COR 基因，并且发现拟南芥锌指蛋白（ZAT12）转录因子能够调节 24 个 COR 基因，包括 9 个冷诱导基因和 15 个冷抑制基因。证明有部分 COR 基因的诱导与表达是不通过 CBF 作为媒介的途径实现的。但不足之处是至今对非 CBF 介导的信号转导途径的研究一直不够深入，仍有较大的研究空间。

2.2.4 MYB 转录因子大家族

MYB（V-myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog）转录因子大家族在植物的低温胁迫响应中也发挥着相对重要的作用。研究人员将 MYB 转录因子从耐低温的甘蔗中分离并转入到烟草，能够显著增强烟草对低温胁迫的耐受性，跨膜螺旋结构蛋白 HHP 蛋白的合成也可通过 MYB96 诱导，并与 CBF 基因上游调控因子相结合，激活 CBF 途径，促使相关基因表达^[23-24]。

2.2.5 其他

参与植物低温应答调控的转录因子还有钙调蛋白结合的转录激活子（CAMTA）、NAC（矮牵牛无顶端分生组织 NAM、拟南芥结构域转录调节超家族蛋白 ATAF1、ATAF2 和杯状子叶基因（CUC2）、维管植物锌指蛋白（VOZ）、WRKY 转录因子、锌指蛋白（ZFP）及乙烯不敏感 3（EIN3）等。其中，WRKY 转录因子是极为重要的调控蛋白家族，也是 ABA 响应

信号网络中的关键节点^[25]。

3 基于 ICE-CBF-COR 信号转导途径的分子水平调控

3.1 ICE-CBF-COR 信号通路

大量的试验发现，植物低温响应信号通路重要的转录激活因子主要有 ICE1、ICE2、CBF1-3 和 MYB15，而下游的 COR 基因家族、脱水素家族蛋白 ERD10、脱水素家族蛋白 ERD14 及干燥反应蛋白 29A（RD29A）等是该信号通路中重要的功能应答基因^[26]。

3.1.1 ICE 元件：CBF 分子信号监督者

ICE 基因在上游起作用，诱导和调节 c-重复序列结合因子（CBF）的表达^[27]。

ICE 基因编码冷信号通路上游的转录因子。ICE 的 bHLH 结合域可以与下游的冷调控基因发生特异性的相互作用。ICE 携带保守的 bHLH 结合域，其在碱性区域的氨基酸序列与其他 bHLH 蛋白高度相似。用于与下游冷调控基因的特异性相互作用。其蛋白能够通过脱水响应性元件结合蛋白（CBF3/DREB1A）启动子中的顺式元件结合，诱导 CBF/DREB1 调控因子发挥作用^[7,28]。

3.1.2 CBF 元件：信号转导关键指挥官

CBF（CBF1、CBF2 和 CBF3）属于 AP2/ERF 多基因家族，可在植物的冷信号通路中被 ICE 激活。CBF 依赖型通路是目前研究的比较透彻的冷信号通路，主要是依靠 ICE1-CBF-COR 途径实现^[27,29]。CBF 依赖型通路中，当植物在低温环境下时，CBF 上游的 ICE1 转录因子会增加表达量，从而促进下游的 CBF 基因的转录，随着 CBF 的增加又会促进下游的 COR 基因的表达。而在大麦中通过过表达 TaCBF14/TaCBF15 能够增强大麦中冷调控基因 HvCOR14b 的表达，增加耐寒性^[21]。这也说明 CBF 既能被 ICE 激活，同时又能够激活 COR 基因的表达，在信号通路中有着不可替代的关键作用。

3.1.3 COR 元件：冷适应环节的重要执行者

CBF2 和 CBF3 通过调节不同的下游 COR 基因集，在指导冷反应方面起着更重要的作用。超过 2/3 的 COR 基因由 2 个或 3 个 CBF 共同调节，主要参与细胞信号转导和代谢过程；不到 1/3 的基因受 1 个 CBF 调控，上调基因在冷相关非生物胁迫反应中得到富集^[30]。

CBF 与 COR 基因启动子中的 CRT/DRE 序列结合，可以在应对低温胁迫时直接进行转录激活^[16]。COR 相关基因只在受低温诱导后才能表达，抗寒能力也随之出现和提高。在模式植物拟南芥低温胁迫试验中发现了多个 COR 基因如 COR15a、COR78、COR47 等^[31]。

3.2 植物激素通过信号转导途径参与冷适应调节

一些研究也表明，ICE1-CBF-COR 转录级联可能在

冷胁迫过程中整合如碳水化合物的积累、ROS 的清除和整合的植物激素信号通路等应激反应通路,以促进叶片耐冻性的改善。

3.2.1 脱落酸: COR 正向诱导剂

脱落酸 (ABA) 是重要的植物激素,在植物适应生物和非生物胁迫中起着重要的作用^[32]。拟南芥中 ABA 缺陷突变体在诱导 COR 基因表达的过程中也出现了部分问题,缺乏 ABA 时,植物在抗冻性方面也存在有一些缺陷,表明了 ABA 作为一种植物激素参与了冷信号传导过程并在其中发挥着一定的作用^[33-34]。

3.2.2 乙烯: CBF 转录激活因子

试验表明,过表达小麦乙烯响应因子同样也可以激活 COR 基因,提高转基因拟南芥的耐冻性^[35]。小麦病原体诱导的乙烯反应因子 1 (ERF1) 能够通过激活乙烯信号通路下游的冷调控基因和调节相关生理性状,正向调控冷冻胁迫^[36]。

乙烯不敏感 (EIN3/EIL1) 是乙烯信号通路中的关键转录因子,而遗传研究表明, EIN3 直接与 CBF 启动子中的 EIN3 结合位点 (EBS) 结合,并通过抑制拟南芥中 CBF 基因的冷诱导表达,调节冷冻耐受性^[37-38]。

3.2.3 油菜素内酯: CBF 的正向调节剂

油菜素内酯受体通过 ICE1-CBF-COR 信号通路可以正向调控番茄的耐寒性。油菜素内酯 (BR) 控制的基本螺旋-环-螺旋转录因子 CESTA (CES) 可有助于控制 CBF 转录调节并调控 COR 基因表达^[39]。

而油菜素内酯受体的过表达正向影响 ROS 清除系统、光系统的光抑制及植物激素的生物合成和信号传导。能够增加对低温胁迫的耐受性。影响转录因子、冷调控蛋白和 ICE1-CBF-COR 信号通路基因的转录水平,是 CBF 基因的正向调节剂^[29]。

3.3 DNA 甲基化修饰低温胁迫信号的源头

目前, DNA 甲基化是研究的最清楚、最重要的一种修饰方式。在植物克服低温胁迫过程中, DNA 甲基化程度发挥了非常重要的作用^[40]。

RAKEI A 等^[41]的试验表明,在冷应激期间,对鹰嘴豆来说耐受基因型、易感基因型甲基化水平比去甲基化相比更高。确定了在耐寒性中起重要作用的特定 DNA 序列,其可能的响应成分与植物中的冷胁迫相关。这些都说明了 DNA 甲基化具有调节冷胁迫信号的能力。但对于 DNA 的甲基化是如何被其他因子影响还存在着一些疑问。

GARG R 等^[42]的研究也一定程度上填补了这一区域的空白。证明在低温处理后不同类型的植物甲基化结果也有所区别。DNA 甲基化控制 miRNA 参与植物抗逆调节。这也说明了 miRNA 等表观遗传信息也能反过来影响 DNA 甲基化。因此,针对包括转录后调节和

翻译后修饰在内的部分表观遗传信息的进一步研究也或多或少地影响着 DNA 甲基化研究的进程。

3.4 组蛋白修饰在信号转导中的重要作用

组蛋白修饰是一种重要的表观遗传学标志,在研究和揭示植物深层次的抗寒机理有着不可忽视的重要作用。

3.4.1 转录后修饰

在 ICE-CBF-COR 信号通路中, ICE1 可以受到泛素化介导的蛋白水解的负调控,激活转录后调控机制,如前 mRNA 剪接、mRNA 输出和 miRNA 定向 mRNA 降解,这些也在冷应激反应中发挥重要作用^[43]。通过染色质重塑能够改变 COR 基因的转录活性,使其更容易被转录。

3.4.2 翻译后修饰

ICE1 的活性主要在蛋白水平上通过转录后和翻译后修饰进行调控。在冷应激中调节 ICE-CBF 级联通路中具有重要意义。翻译后修饰包括蛋白水解裂解,添加磷酸基、乙酰基、甲基等官能团,在调节蛋白质活性中构成重要作用^[44]。

研究表明, CBF (CBF1、CBF2 和 CBF3) 虽然具有相似的序列结构和结合特性,但由于它们在不同蛋白序列上的几种修饰,具有不同的作用^[7]。

目前针对植物翻译后修饰对 ICE-CBF-COR 信号通路的影响主要从以下几个方面展开了相关研究。

3.4.2.1 磷酸化修饰

磷酸化在植物的冷驯化过程中起着重要作用,是一种可逆的蛋白质修饰,高度依赖于激酶和磷酸酶。

从理论上来说,磷酸化是 ICE 基因最重要的翻译后修饰之一,并能够通过蛋白激酶超家族蛋白 (OST1) 等转录因子多种方式的作用能够介导 ICE 和 CBF,调节低温胁迫耐受性。实际上,近几年的研究表明, OST1 可以磷酸化拟南芥和水稻中的 ICE1 以防止泛素蛋白连接酶 (HOS1) 对 ICE1 的降解; OST1 也可以通过磷酸化与 CBF 基因结合的底物碱性转录因子 3 (BTF3) 来调控 CBF 基因的表达^[44]。这些也为将来深入探索翻译后修饰提供了研究基础。

3.4.2.2 泛素化修饰

泛素化修饰作为翻译后修饰的重要环节,对植物低温胁迫信号转导通路中 ICE 元件的协调有着不可忽视的作用。

相关研究证明, E3 泛素连接酶能够通过与其靶分子相互作用,为泛素化反应提供支架,发挥最重要的作用^[45]。而冷调节基因受到 E3-泛素连接酶 (多泛素化) 的影响,该连接酶调节它们的表达和冷胁迫耐受性。HOS1 是一种环指 E3 泛素连接酶,在冷应激反应开始时,通过介导 ICE1 的降解,参与冷胁迫的负反馈调控^[46]。

而 ICE-CBF 蛋白泛素化调控的周转率也可以提高植物的低温胁迫耐受性^[47]。由此表明部分泛素化修饰能够通过调节编码冷信号通路上游的转录因子和一些冷响应基因的诱导因子，从而使植物实现对低温胁迫的特异性表达。

3.5 环境因子影响信号元件表达

3.5.1 生物钟调控作用

有学者指出，生物钟也在一定程度上影响 CBF 和 COR 基因的表达，如 COR27 和 COR28 作为夜间抑制因子的作用，整合生物钟和植物冷胁迫反应^[48]。FOWLER S G 等^[49]的试验说明冷诱导的 CBF1-3 的表达同样也受到生物钟的调控。而针对生物钟的相关研究作为当下研究的热点之一，不仅在植物成花诱导生理中有作用，而且与光周期反应的外源节律耦合模式一同在植物的逆境生理中发挥着不可或缺的调控作用。

3.5.2 光质量调节能力

光照是植物生长发育的重要环境因子，而光质量对于植物冷胁迫基因的表达有重要作用。如研究人员发现光能够刺激 COR 15a 及其同源转录因子基因 CBF 的表达^[50]。但对于不同波长的光，如红光和远红光的相关研究仍不充分。在之后的研究中，有关试验表明，红光（R）和远红光（FR）是通过冷处理诱导 CBF 表达所必需的，低 R/FR 比显著促进了 CBF 的表达和振荡，增强了植物的抗寒性^[51]。这为今后进行相关抗寒驯化，即通过改变植物生长环境的光质量来实现对植物的定向改造提供了一种新的思路与新的可能。

3.5.3 光周期影响因素

除了光质量以外，光周期也是影响植物抗寒性的重要环境因子之一。研究表明，在短日照条件下植物抗寒性增强，CBF 表达量也相对较高。而在长日照条件下，植物色素相互作用因子 PIF4 和 PIF7 直接与 CBF 启动子结合并抑制其表达，从而降低了植物的冷冻耐受性^[52]。对包括光敏色素和内源节律信号调节下的光周期的深入研究也将为继续探索植物抗寒机理留下新的线索。

4 结束语

近年来，针对冷信号的研究在植物的生长发育、花期调节、保鲜贮藏和遗传育种中都起着至关重要的作用。而推动当下相关基因功能探索，对今后诸如不同植物冷胁迫条件下的育种工作、提高植物抗寒性、部分园艺作物的低温保鲜和采后贮藏、延长观赏植物的花期进行花期调控等方面的进一步发展，有着不可或缺的影响。

随着基因测序技术、生物信息分析技术的发展与蛋白互作网络技术、基因共表达分析技术的成熟，进

行相关基因功能探索、分析序列与作用位置的研究会更轻松更快捷。如果能从大数据中快速提取出关键的抗寒作用因子，再结合包括超表达、基因沉默、基因编辑技术在内的基因功能核验技术与现代分子成像技术，人们对植物抗寒机理的认识也将更加全面深入。有了新的生理生化和分子生物学相关理论基础，相关领域的研究也会有更明朗的前景。

尽管如此，冷胁迫的潜在分子机制，特别是在部分常绿草本植物中，是不完整的，流程中的关键组件也尚未完全确定。仍需要进一步分析详细的机制和其他调控因子，以充分了解激素变化、温度变化、基因转录翻译对 ICE、CBF 和 COR 表达的影响。

进一步识别其他分子的功能和信号通路、互作关系等也具有一定的重要性和紧迫性。想要了解 ICE-CBF-COR 途径，还需要进一步了解植物激素反应是在何种植物中在怎样的条件下能够如何影响包括 ICE-CBF-COR 在内及其他冷胁迫相关机制，以及充分了解选择性剪接、染色质修饰和甲基化对 ICE、CBF 和 COR 基因转录和翻译的影响。

植物在遭遇非生物胁迫时产生的变化仍是一个复杂而多变的过程，需要深入研究，对基因表达的检测也大多仅仅集中在叶肉细胞相关的研究，对植物其他细胞及组织冷胁迫基因表达情况的研究也相对较少。单从一个角度去探讨植物的抗寒机理远远不够，需要对逆境中植物不同细胞、不同组织发出的不同响应，在植物细胞、生理特性和分子机理等研究基础上进行研究，以分析寒冷胁迫下更深层次的机制。

进一步的研究可以尝试探索不同基因在面对低温胁迫时的不同表达情况，以期建立起冷胁迫中不同反应途径之间的相互作用网络，分析不同胁迫下分子变化的异同点，进而实现对植物逆境生理研究更大程度的飞跃。

参考文献

- [1] 乔金亮. 安徽水稻减产绝收为低温连阴雨所致，如何保障农民利益引发思考：大面积作物减产绝收，谁来赔[N]. 经济日报, 2015-04-14(005).
- [2] 熊冰俏. 春耕备耕劳作忙 复工复产正当时 长沙县农业农村局指导农户科学应对低温阴雨天气，保障春季蔬菜生产[N]. 星沙时报, 2022-02-21(A04).
- [3] JIA Yuxin, DING Yanglin, SHI Yiting, et al. The CBFs triple mutants reveal the essential functions of CBFs in cold acclimation and allow the definition of CBF regulons in Arabidopsis[J]. *New Phytologist*, 2016, 212(2): 345-353.
- [4] 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 Junyan, ZHAO Jia, ZHAO Shiqi, et al. Activation and regula-

- tion on the cold response pathway of ICE1-CBF in plants[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2015, 31(6): 8-12.
- [5] EISSENBERG J C, SHILATIFARD A. Histone H3 lysine 4 (H3K4) methylation in development and differentiation[J]. *Developmental Biology*, 2010, 339(2): 240-249.
- [6] SMOLLE M, VENKATESH S, GOGOL M M, et al. Chromatin remodelers Isw1 and Chd1 maintain chromatin structure during transcription by preventing histone exchange[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2012, 19(9): 884-892.
- [7] LEGUBE G, TROUCHE D. Regulating histone acetyltransferases and deacetylases[J]. *EMBO Reports*, 2003, 4(10): 944-947.
- [8] OKI M, AIHARA H, ITO T. Role of histone phosphorylation in chromatin dynamics and its implications in diseases[M]//KUNDU T K, BITTMAN R, DASGUPTA D, et al. *Chromatin and disease*. Dordrecht, Springer Netherlands, 2007: 323-340.
- [9] STRAHL B D, ALLIS C D. The language of covalent histone modifications[J]. *Nature*, 2000, 403(6765): 41-45.
- [10] MARTIN C, ZHANG Y. The diverse functions of histone lysine methylation[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2005, 6(11): 838-849.
- [11] RUTHENBURG A J, ALLIS C D, WYSOCKA J. Methylation of Lysine 4 on Histone H3: intricacy of writing and reading a single epigenetic mark[J]. *Molecular Cell*, 2007, 25(1): 15-30.
- [12] SALEH A, ALVAREZ-VEGAS R, AVRAMOVA Z. Dynamic and stable histone H3 methylation patterns at the Arabidopsis FLC and AP1 loci[J]. *Gene*, 2008, 423(1): 43-47.
- [13] THOMASHOW M F. Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms[J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1999, 50(1): 571-599.
- [14] BROWSE J, XIN Z. Temperature sensing and cold acclimation [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2001, 4(3): 241-246.
- [15] BADAWI M, REDDY Y V, AGHARBAOUI Z, et al. Structure and functional analysis of wheat ICE (inducer of CBF expression) genes[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2008, 49(8): 1237-1249.
- [16] MEDINA J, CATALÁ R, SALINAS J. The CBFs: Three arabidopsis transcription factors to cold acclimate[J]. *Plant Science*, 2011, 180(1): 3-11.
- [17] JAGLO-OTTOSEN K R, GILMOUR S J, ZARKA D G, et al. Arabidopsis CBF1 Overexpression Induces COR Genes and Enhances Freezing Tolerance[J]. *Science*, 1998, 280(5360): 104-106.
- [18] GILMOUR S J, SEBOLT A M, SALAZAR M P, et al. Overexpression of the arabidopsis CBF3 transcriptional activator mimics multiple biochemical changes associated with cold acclimation[J]. *Plant Physiology*, 2000, 124(4): 1854-1865.
- [19] GILMOUR S J, FOWLER S G, THOMASHOW M F. Arabidopsis transcriptional activators CBF1, CBF2, and CBF3 have matching functional activities[J]. *Plant Molecular Biology*, 2004, 54(5): 767-781.
- [20] 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[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2007, 104(52): 21002-21007.
- [21] SOLTÉSZ A, SMEDLEY M, VASHEGYI I, et al. Transgenic barley lines prove the involvement of TaCBF14 and TaCBF15 in the cold acclimation process and in frost tolerance[J]. *Journal of experimental botany*, 2013, 64(7): 1849-1862.
- [22] VOGEL J T, ZARKA D G, VAN BUSKIRK H A, et al. Roles of the CBF2 and ZAT12 transcription factors in configuring the low temperature transcriptome of Arabidopsis[J]. *The Plant Journal*, 2005, 41(2): 195-211.
- [23] SHINGOTE P R, KAWAR P G, PAGARIYA M C, et al. Ectopic Expression of SsMYB18, a novel MYB transcription factor from *Saccharum spontaneum* augments salt and cold tolerance in tobacco [J]. *Sugar Tech*, 2017, 19(3): 270-282.
- [24] LEE H G, SEO P J. The MYB96-HHP module integrates cold and abscisic acid signaling to activate the CBF-COR pathway in Arabidopsis [J]. *The Plant Journal*, 2015, 82(6): 962-977.
- [25] RUSHTON D L, TRIPATHI P, RABARA R C, et al. WRKY transcription factors: key components in abscisic acid signalling[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2012, 10(1): 2-11.
- [26] 唐潇. 巴西橡胶树冷胁迫诱导 DNA 甲基化修饰研究[D]. 海口: 海南大学, 2018.
- TANG Xiao, Cold induced modification of DNA methylation in *Hevea brasiliensis* [D]. Haikou: Hainan University, 2018.
- [27] CHINNUSAMY V, OHTA M, KANRAR S, et al. ICE1: a regulator of cold-induced transcriptome and freezing tolerance in Arabidopsis [J]. *Genes & Development*, 2003, 17(8): 1043-1054.
- [28] WANG D Z, JIN Y N, DING X H, et al. Gene regulation and signal transduction in the ICE-CBF-COR signaling pathway during cold stress in plants[J]. *Biochemistry (Moscow)*, 2017, 82(10): 1103-1117.
- [29] SHI Y, DING Y, YANG S. Molecular regulation of CBF signaling in cold acclimation[J]. *Trends in Plant Science*, 2018, 23(7): 623-637.
- [30] SHI Y, HUANG J, SUN T, et al. The precise regulation of different COR genes by individual CBF transcription factors in Arabidopsis thaliana[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2017, 59(2): 118-133.
- [31] BAKER S S, WILHELM K S, THOMASHOW M F. The 5'-region of Arabidopsis thaliana cor15a has cis-acting elements that confer cold-, drought- and ABA-regulated gene expression[J]. *Plant Molecular Biology*, 1994, 24(5): 701-713.
- [32] WANI S H, KUMAR V, SHRIRAM V, et al. Phytohormones and their metabolic engineering for abiotic stress tolerance in crop plants[J]. *The Crop Journal*, 2016, 4(3): 162-176.
- [33] GUSTA L V, TRISCHUK R, WEISER C J. Plant cold acclimation: the role of abscisic acid[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2005, 24(4): 308-318.
- [34] XIONG L, ISHITANI M, LEE H, et al. The Arabidopsis LOS5/ABA3 locus encodes a molybdenum cofactor sulfuryase and modulates cold stress- and osmotic stress-responsive gene expression [J]. *Plant Cell*, 2001, 13(9): 2063-2083.
- [35] XU Z S, XIA L Q, CHEN M, et al. Isolation and molecular characterization of the *Triticum aestivum* L. ethylene-responsive factor 1 (TaERF1) that increases multiple stress tolerance[J]. *Plant Molecular Biology*, 2007, 65(6): 719-732.
- [36] ZHU X, QI L, LIU X, et al. The wheat ethylene response factor transcription factor pathogen-induced ERF1 mediates host responses to both

- the necrotrophic pathogen *Rhizoctonia cerealis* and freezing stresses [J]. *Plant Physiol*, 2014, 164(3): 1 499-1 514.
- [37] CHAO Q, ROTHENBERG M, SOLANO R, et al. Activation of the ethylene gas response pathway in arabidopsis by the nuclear protein ETHYLENE-INSENSITIVE3 and related proteins[J]. *Cell*, 1997, 89(7): 1 133-1 144.
- [38] 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[J]. *The Plant Cell*, 2012, 24(6): 2 578-2 595.
- [39] EREMINA M, UNTERHOLZNER S J, RATHNAYAKE A I, et al. Brassinosteroids participate in the control of basal and acquired freezing tolerance of plants[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2016, 113(40): E5 982-E5 991.
- [40] CI D, SONG Y, TIAN M, et al. Methylation of miRNA genes in the response to temperature stress in *Populus simonii*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6: 921.
- [41] RAKEI A, MAALI-AMIRI R, ZEINALI H, et al. DNA methylation and physio-biochemical analysis of chickpea in response to cold stress[J]. *Protoplasma*, 2016, 253(1): 61-76.
- [42] GARG R, NARAYANA CHEVALA V V S, SHANKAR R, et al. Divergent DNA methylation patterns associated with gene expression in rice cultivars with contrasting drought and salinity stress response[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5(1): 14 922.
- [43] CHINNUSAMY V, ZHU J, ZHU J K. Cold stress regulation of gene expression in plants[J]. *Trends in Plant Science*, 2007, 12(10): 444-451.
- [44] MITTAL S, SALUJA D. Protein post-translational modifications: role in protein structure, function and stability[M]//SINGH L R, DAR T A, AHMAD P. Proteostasis and chaperone surveillance. New Delhi: Springer India, 2015: 25-37.
- [45] MAZZUCOTELLI E, BELLONI S, MARONE D, et al. The E3 ubiquitin ligase gene family in plants: regulation by degradation[J]. *Current Genomics*, 2006, 7(8): 509-522.
- [46] DONG C H, AGARWAL M, ZHANG Y Y, et al. The negative regulator of plant cold responses, HOS1, is a RING E3 ligase that mediates the ubiquitination and degradation of ICE1[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(21): 8 281-8 286.
- [47] SHARMA S, PRASAD A, SHARMA N, et al. Role of ubiquitination enzymes in abiotic environmental interactions with plants[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 181: 494-507.
- [48] WANG P, CUI X, ZHAO C, et al. COR27 and COR28 encode nighttime repressors integrating Arabidopsis circadian clock and cold response[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2017, 59(2): 78-85.
- [49] FOWLER S G, COOK D, THOMASHOW M F. Low temperature induction of Arabidopsis CBF1, 2, and 3 is gated by the circadian clock[J]. *Plant Physiology*, 2005, 137(3): 961-968.
- [50] KIM H J, KIM Y K, PARK J Y, et al. Light signalling mediated by phytochrome plays an important role in cold-induced gene expression through the C-repeat/dehydration responsive element (C/DRE) in Arabidopsis thaliana[J]. *The Plant Journal*, 2002, 29(6): 693-704.
- [51] FRANKLIN K A, WHITELAM G C. Light-quality regulation of freezing tolerance in Arabidopsis thaliana[J]. *Nature Genetics*, 2007, 39(11): 1 410-1 413.
- [52] 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*, 2012, 109(37): 15 054-15 059.