

· 特邀综述 ·

# CBF: 平衡植物低温应答与生长发育的关键

刘静妍, 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** 低温是影响植物生长发育以及植被分布的重要环境因子。目前, 低温信号研究中比较清楚的是CBF依赖的低温信号途径。该文总结了近年来有关CBF的研究成果, 详细介绍了CBF家族成员在植物耐寒性中的重要作用, 着重分析与讨论CBF介导的低温调控网络及一系列复杂调控机制。理解CBF的复杂作用机制有助于了解植物中CBF介导的冷信号如何平衡耐寒性与生长发育, 进而有助于耐寒作物的培育。

**关键词** CBF转录因子, 低温胁迫, 抗冻性, 生长发育

刘静妍, 施怡婷, 杨淑华 (2017). CBF: 平衡植物低温应答与生长发育的关键. 植物学报 52, 689–698.

低温作为主要的非生物胁迫之一, 是影响植物生长发育、限制作物产量和分布的关键环境因素。因此, 研究植物响应低温信号的分子机制, 对提高农作物的耐寒性, 进而提高产量及品质具有重要的科学意义。近20年来, 随着研究的不断深入, 人们对以CBF (C-repeat-binding factors)转录因子为核心的低温信号通路有了更为清晰的认识。本文总结了近年来有关CBF的研究成果, 着重介绍与讨论CBF介导的低温调控网络及调控机制。

## 1 CBF家族成员

在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)基因组中存在3个CBF基因, 属于一类转录因子家族CBF/DREB1 (dehydration-responsive element-binding factors 1)基因。CBF家族成员串联排列在拟南芥第4条染色体上, 分别命名为CBF1 (*DREB1B*)、CBF2 (*DREB1C*)和CBF3 (*DREB1A*) (Gilmour et al., 1998; Liu et al., 1998)。1997–1998年, Thomashow等利用酵母单杂交等技术相继鉴定到了CBF1–CBF3 (Stockinger et al., 1997; Gilmour et al., 1998; Liu et al., 1998), 它们可以与一段保守的CRT/DRE (C-repeat/dehydration response element)调控元件CCGAC结合(Baker et al., 1994), 该元件多出现在冷诱导COR (*Cold-regulated*)基因的启动子区域(Medina et al., 2011)。

氨基酸序列比对结果显示, CBF1–CBF3三者之间具有很高的相似性(>85%), 暗示它们可能起源于同一个基因(Gilmour et al., 1998; Medina et al., 1999)。过量表达CBF1、CBF2及CBF3均能大幅提高植株的抗冻性, 并显著诱导植株体内COR基因的表达(Liu et al., 1998)。

CBF属于AP2/ERF (APETALA 2/ethylene-responsive)转录因子家族成员的一个亚家族。该家族在拟南芥中有145个成员, 均含有1个或多个保守的AP2/ERF结构域(Ohme-Takagi and Shinshi, 1995)。研究表明该结构域是转录因子中的DNA结合区域(Okamoto et al., 1997; Riechmann and Meyerowitz, 1998)。不同于AP2家族的其他亚家族, CBF家族成员只有1个AP2结构域, 并且在AP2的上下游各有一段保守的氨基酸序列PKKP/PKKPAGR (RAGRxxKFx ETRHP)和DSAWR (Jaglo et al., 2001; Canella et al., 2010)。将PKKPAGR突变可以抑制CBF1与其下游基因COR15a启动子CRT/DRE的结合能力, 从而削弱CBF1对COR15a基因的冷诱导水平调控, 说明该基序对CBF行使其转录因子功能是必需的(Canella et al., 2010)。

## 2 CBF在低温信号途径中的作用

遗传分析表明CBF在低温信号途径中起关键作用。例如, 过表达CBF1–3均使拟南芥植株的抗冻性明显增

收稿日期: 2017-07-13; 接受日期: 2017-09-12

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金(No.31700214)和中国博士后科学基金(No.2016M601174)

\* 通讯作者。E-mail: yangshuhua@cau.edu.cn

强。进一步检测植物体内的下游冷响应基因,发现约100个COR基因被组成型诱导,从而使未经冷驯化的植株也能获得抗冻性(Gilmour et al., 1998; Jaglo-Ottosen et al., 1998; Liu et al., 1998; Kasuga et al., 1999; Gilmour et al., 2004)。与野生型相比,CBF1及CBF3敲减拟南芥植株的抗冻性降低约60% (Novillo et al., 2007)。在拟南芥中过表达CBF2的DNA结合域形成的dominant negative转基因植株中,CBF2可以结合在CRT/DRE作用位点却不能激活下游基因,从而使植株呈现冻敏感表型(Park et al., 2015)。为了进一步探究CBF1-CBF3的功能,本实验室和上海植物逆境中心朱健康实验室分别利用CRISPR/Cas9技术获得了*cbf1/cbf2/cbf3*三突变体(Jia et al., 2016; Zhao et al., 2016)。与野生型相比,三突变体在非冷驯化时没有或具有轻微冻敏感表型,而在冷驯化后表现出强烈的冻敏感表型。对突变体进行RNA-seq分析,显示CBF突变影响了全转录组10%–20%的COR基因表达(Jia et al., 2016; Zhao et al., 2016)。这些结果表明,CBF1-CBF3在低温信号途径中发挥重要的调控作用。

截至目前,在油菜(*Brassica campestris*)、小麦(*Triticum aestivum*)、黑麦(*Secale cereale*)、番茄(*Lycopersicon esculentum*)、水稻(*Oryza sativa*)及玉米(*Zea mays*)等植物中均鉴定到了CBF转录因子(Jaglo et al., 2001; Kasuga et al., 2004; Qin et al., 2004),并且都具有冷诱导特性;同时,在其它物种中过表达拟南芥CBF也可以增强植物的抗冻性(Jaglo et al., 2001; Kasuga et al., 2004)。在拟南芥中过表达玉米DREB1A也会产生类似的抗冻效果(Qin et al., 2004),说明植物中CBF在低温信号途径中的作用十分保守。虽然一些研究结果暗示,CBF1-CBF3在调节冷响应基因的功能上具有冗余性(Park et al., 2015),但它们之间实则存在差异。首先,三者的表达模式有所差异:CBF1及CBF3主要在根、下胚轴及子叶中表达;而CBF2则在下胚轴、子叶及第1、2对真叶中表达,并不在根中表达(Novillo et al., 2007)。当植株遭受低温胁迫时,CBF1及CBF3基因在叶片、萼片及角果中表达,而CBF2还在茎中表达(Novillo et al., 2007)。其次,基因表达分析显示,CBF1及CBF3表达水平在低温诱导1个小时左右即达到峰值,而CBF2则需要2小时才会达到峰值。低温条件下,CBF2还可以负反馈调节CBF1和CBF3的表达(Novillo et al.,

2004),如启动子区域插入T-DNA的*cbf2*突变体表现出抗冻的表型,这可能是由于突变体中CBF1及CBF3基因过量表达造成的(Novillo et al., 2004, 2007)。然而,Zhao等(2016)利用CRISPR/Cas9产生的*cbf2*突变体表现出冻敏感表型。目前,猜测*cbf*突变体的以上表型差异可能是由于突变形式不同或植株生长状态不同等原因所致。由于CBF基因的启动子上没有CRT/DRE作用元件,因此CBF2对CBF1及CBF3的转录调控可能不是直接的,这其中的分子机制有待进一步研究。CBF1及CBF3的RNAi植株以及CBF1、CBF3的antisense植株中,CBF2的表达量并没有变化(Novillo et al., 2007)。最近,Jia等(2016)研究表明,利用CRISPR/Cas9产生的*cbf1/cbf3*双突变体在冷驯化后也具有敏感表型。这些结果暗示,CBF1和CBF3并不能调控CBF2基因的表达。有趣的是,朱健康实验室利用CRISPR/Cas9技术获得的*cbf1/cbf3*双突变体中,CBF2的表达有2倍左右的上调,并且在冷驯化后具有显著的抗冻表型(Zhao et al., 2016)。因此,CBF1-CBF3相互的调控关系仍有待进一步研究。虽然以上2项研究中,*cbf*单突变体和双突变体的抗冻表型及基因表达水平有所不同,但是*cbf1/cbf2/cbf3*三突变体的表型非常一致,均是在冷驯化后产生极度冻敏感的表型(Jia et al., 2016; Zhao et al., 2016)。与*cbf1/cbf3*双突变体的冷驯化表型相比可以得出结论,在冷驯化后的植物抗冻性中,相较于CBF1及CBF3,CBF2发挥更重要的作用(Zhao et al., 2016)。

尽管CBF在冷诱导基因调控中发挥重要作用,但植物中还存在其它转录因子调控COR基因。Thomshow实验室通过对CBF过表达株系的RNA-seq数据分析,发现CBF2与转录因子HSFC1、ZAT12、ZF、ZAT10及CZF1共同调控下游COR基因(当然也有像GOL3这样完全依赖CBF的冷响应基因)(Park et al., 2015),同时多项研究表明植物中也存在不依赖于CBF的冷响应基因(Achard et al., 2008; Park et al., 2015; Jia et al., 2016; Zhao et al., 2016),表明植物中的冷响应基因调控网络非常复杂且具有内在联系,这其中的更多调控机制还有待进一步研究。

### 3 CBF的调控机制

CBF参与多种逆境响应和植株生长发育等过程,因此

植物进化出一系列对*CBF*基因表达模式的精密调控机制。例如,*CBF*基因的表达水平在15分钟内受低温的迅速诱导,而达到最高值后又迅速下调,说明有一系列冷响应调节因子参与其转录调控。同时,*CBF*的表达还受光周期、生物钟以及光信号等环境因子的调控。随着对低温信号研究的不断深入,科学家陆续鉴定出一些关键的*CBF*转录调节因子,包括ICE1/2、MYB15、CAMTA1/3、EIN3、SOC1、PIF3/4/7、CCA1、LHY、BZR1和CESTA等。这些转录调控因子形成协同或拮抗的关系,围绕*CBF*转录水平的调控形成了精密的信号网络。

### 3.1 CBF的正调控因子

第1个被鉴定的同时也是研究得最深入的*CBF*冷响应正调节因子是bHLH类转录因子ICE1 (inducer of *CBF* expression 1) (Chinnusamy et al., 2003)。2003年,朱健康实验室利用EMS诱变含有*ProCBF3:LUC*的拟南芥转基因植株,获得了*ice1*突变体,并成功克隆到ICE1基因(Chinnusamy et al., 2003)。ICE1编码1个MYC类bHLH家族转录因子,与野生型相比,*ice1*突变体植株矮小,生长发育缓慢,体内*CBF3*基因的冷诱导情况被严重抑制,且抗冻性大幅降低。这些结果表明,ICE1是低温信号途径中的正调控因子(Chinnusamy et al., 2003; Lee et al., 2005)。有趣的是,ICE1特异性调节*CBF3*基因表达,*ice1*突变体中*CBF1*及*CBF2*基因的冷诱导表达下调十分微弱且后期没有影响,说明ICE1的调节具有特异性。这可能与*CBF*基因启动子上的MYC结合位点的数目有关(*CBF3*启动子有5个结合位点,*CBF1*及*CBF2*启动子各有1个结合位点)。ICE1特异性结合在*CBF3*启动子的MYC结合位点CANNTG (Meshi and Iwabuchi, 1995),正调控*CBF3*基因表达。过表达ICE1可以明显增强植株的抗冻能力(Chinnusamy et al., 2003)。最近在水稻、玉米及番茄的研究中发现,ICE1均可以正调控植物的耐寒性,将这些物种中的ICE1蛋白在拟南芥中过表达均可增强植株的抗冻性,说明ICE1在低温信号途径中的功能非常保守(Nosenko et al., 2016; Deng et al., 2017; Lu et al., 2017)。ICE2作为ICE1的同源基因,也参与调控植物的抗冻性。过表达ICE2可以显著提高植物的抗冻性,并且植物体内的*CBF1*基因也被诱导表达,暗示ICE2作用在*CBF1*的

上游(Fursova et al., 2009)。

ICE1作为重要的*CBF*调节因子,自身也被很多组分精细调控。目前已知的对ICE1的翻译后修饰包括HOS1 (high osmotic expression 1)介导的泛素化、SIZ1 (SAP and Miz 1)介导的SUMO化以及OST1 (open stomata 1)介导的磷酸化等,这些修饰通过调节ICE1的蛋白水平或转录水平参与调控冷信号途径。同时一些转录抑制子(MYB15和JAZ)还可以与ICE1相互作用,从而调节它的转录活性。HOS1与ICE1相互作用,泛素化ICE1蛋白,使其通过26S蛋白酶体途径进行降解(Dong et al., 2006)。HOS1过表达植株中*CBF3*基因表达水平下调,植株表现出冻敏感表型(Dong et al., 2006)。ICE1还受到另一种E3蛋白SIZ1的SUMO化调控(Miura et al., 2007)。SIZ1使ICE1蛋白SUMO化,并减弱ICE1的泛素化,从而维持ICE1蛋白的稳定性。*siz1*突变体中*CBF3*基因表达水平下调,植株呈冻敏感表型(Miura et al., 2007)。JA信号途径的负调节因子JAZ1 (jasmonate ZIM-domain)与JAZ4通过与ICE1蛋白具有bHLH结构域的C端相互作用,抑制ICE1的转录活性,从而参与对低温信号途径的调控(Hu et al., 2013)。与之相对应,过表达JAZ1及JAZ4的转基因植株,以及JA合成途径及信号途径中一些组分的突变体均表现出低温敏感的表型(Hu et al., 2013)。本实验室研究表明,低温可以激活ABA信号途径中的重要激酶OST1,使其磷酸化ICE1第278位Ser,正调控ICE1蛋白的稳定性及转录活性,从而促进下游*CBF*基因的表达(Ding et al., 2015)。OST1对ICE1的磷酸化作用还可以抑制其与HOS1的互作,从而抑制HOS1对ICE1的降解。以上结果说明OST1作为蛋白激酶,在低温信号途径中起关键正调控作用(Ding et al., 2015)。除此之外,本实验室及朱健康研究组同时发现,低温可以激活丝裂原活化蛋白激酶MPK3及MPK6,它们通过磷酸化ICE1 (磷酸化位点与OST1对ICE1的磷酸化位点不同),抑制ICE1蛋白的稳定性和转录活性,从而负调控*CBF*基因表达及植物的抗冻性(Li et al., 2017a; Zhao et al., 2017)。这些结果说明,ICE1作为重要的低温信号途径的转录因子,被多种调节子不同程度地调控,从而使植物更好地应对低温胁迫,做出精细的应答反应。

除了ICE家族转录因子,钙信号通路的重要组分

CAMTA3 (calmodulin-binding transcription activator 3) 也被发现参与 *CBF* 基因表达调控。Thomashow 实验室通过鉴定冷诱导相关的顺式作用元件, 发现 *CBF2* 基因的启动子含有 7 个保守的 CM (conserved motif) 基序参与 *CBF2* 转录活性调控。进一步研究发现钙信号途径的转录因子 CAMTA3 可以通过与 CM2 位点结合, 正调控 *CBF1* 与 *CBF2* 的表达 (Doherty et al., 2009)。CAMTA1–3 的不同组合双突变体在冷驯化前后均表现出冻敏感表型, 且驯化后的表型更明显。同时突变体中 *CBF1*、*CBF2*、*CBF3* 及下游冷相关基因的表达均有不同程度的下调, 说明这类转录因子共同参与 *CBF* 介导的植物抗冻性调控 (Doherty et al., 2009; Kim et al., 2013)。最近, Yamaguchi-Shinozaki 研究组利用不同的 *camta* 突变体, 系统研究了 CAMTA 蛋白对 *CBF* 的转录调控, 发现在迅速降温 (10 分钟之内从 22°C 降到 4°C) 和缓慢降温 (60 分钟内从 22°C 降到 4°C) 这 2 种过程中可能存在不同的调控机制 (Kidokoro et al., 2017)。CAMTA3 和 CAMTA5 在迅速降温过程中调控 *CBF* 的表达, 但在缓慢降温过程中则不起作用, 暗示这 2 种不同的降温过程可能存在不同的低温调控机制 (Kidokoro et al., 2017)。

一系列激素信号途径中的调节组分被证明也会直接或间接参与 *CBF* 的转录调控。本实验室最新研究表明, BR 信号途径的关键调节因子 BZR1 (brassinazole-resistant 1) 及其同源蛋白 BES1 (BRI1-EMS-suppressor 1) 通过结合 *CBF1* 与 *CBF2* 启动子上的 E-box 及 BRRE 结合位点, 正调控二者的表达 (Li et al., 2017b)。BZR1 和 BES1 都是 bHLH 类转录因子, 在 BR 信号途径中起正调控作用 (He et al., 2005; Yin et al., 2005), 它们的功能获得型突变体表现出强烈的抗冻表型 (Li et al., 2017b)。另一个 BR 信号途径的转录因子 CESTA 直接结合所有 *CBF* 启动子, 并组成性激活 *CBF* 及下游 *COR* 基因表达, 正调控植物的抗冻性 (Eremina et al., 2016)。进一步研究发现, 低温可以诱导非磷酸化形式的 BZR1 蛋白积累, 进而调控其磷酸化的蛋白激酶 BIN2 (brassinosteroid insensitive 2) 也作为负调节子参与植物的抗冻性调控。转录组分析数据表明, BZR1 除了直接调节 *CBF* 基因表达, 还参与正向及负向调控一系列不依赖 *CBF* 的冷诱导基因的表达, 说明 BZR1 作为重要的调节因子, 在低温信号途径的精细调控中可能起到不同的关键作用, 而这其中

的分子机制还有待进一步研究 (Li et al., 2017b)。

植物的开花过程也受到低温调控, 低温可抑制开花而高温则促进开花 (Blázquez et al., 2003)。开花途径重要的调节因子 *SOC1* (*suppressor of overexpression of constans 1*) 编码 1 个 MADS 类转录因子, 研究表明 *SOC1* 可以直接结合 *CBF* 启动子的 CArG 元件, 负调节 *CBF* 基因的表达 (Seo et al., 2009)。与此对应, *soc1* 突变体也表现出明显的抗冻性, 说明 *SOC1* 是开花途径与低温信号途径相互作用的节点 (Seo et al., 2009)。自 2000 年以来, 不断有研究表明, *CBF* 及其下游冷响应基因的表达存在节律现象 (Harmer et al., 2000; Bieniawska et al., 2008; Espinoza et al., 2008; Mikkelsen and Thomashow, 2009), 其基因表达在黎明后 8 小时达到峰值, 并在黎明后 20 小时达到低谷。多项研究表明, 节律可以同时正向及负向调控 *CBF* 基因的转录水平。节律中心调控因子包括 MYB 类转录因子 *CCA1* (circadian clock associated 1) 与 *LHY* (late elongated hypocotyl) 以及 PRR (pseudoresponse regulator) 蛋白 *TOC1*, 它们相互调控彼此的基因表达, 从而形成反馈环机制。三突变体 *prr5/prr7/prr9* 中 *CBF* 基因组成型高水平表达, 并表现出明显的抗冻表型, 暗示 PRRs 参与抑制 *CBF* 基因表达 (Nakamichi et al., 2009, 2012)。2011 年, Thomashow 实验室发现拟南芥中央振荡器因子 *CCA1* 及 *LHY* 可以正调控 *CBF* 的表达。*CCA1* 及 *LHY* 均编码 MYB 类转录因子, 它们通过结合 *CBF1*–*CBF3* 基因启动子上的 EE 及 CBS 结合位点, 直接调控 *CBF* 基因表达。*cca1/lhy* 双突变体中 *CBF* 基因表达水平大幅下调, 并且 *CBF* 基因表达的节律性也有所减弱 (Dong et al., 2011)。*CBF* 下游调控基因 *COR15A*、*COR47* 及 *COR78* 表达水平也显著下调。双突变体在冷驯化前后均表现出敏感表型, 说明节律调控因子 *CCA1* 及 *LHY* 通过直接调控 *CBF* 的表达, 参与低温信号途径 (Dong et al., 2011)。进一步研究发现, *CCA1* 的 2 个转录本 *CCA1 $\alpha$*  及 *CCA1 $\beta$*  均参与低温信号途径。低温抑制 *CCA1 $\beta$*  的表达, 而 *CCA1 $\beta$*  通过与 *CCA1 $\alpha$*  相互作用, 抑制 *CCA1 $\alpha$*  的表达 (Seo et al., 2012)。

### 3.2 *CBF* 的负调控因子

除了各种正调控因子调控 *CBF* 基因的转录水平, 许多负调节因子也参与对 *CBF* 基因的精细调控。MYB15

是第1个被发现的*CBF*基因负调节因子。它编码1个R2R3类MYB转录因子, 结合在*CBF3*的MYB结合位点。进一步研究发现, MYB15与ICE1相互作用, 共同调控*CBF3*的表达。突变体中*CBF3*表达量升高, 植株表现出抗冻表型, 同时低温可以诱导MYB15的表达水平, 说明对*CBF3*的表达调控可能存在负反馈调节机制(Agarwal et al., 2006)。近期的研究表明, MYB15的第168位Ser可以被MPK6磷酸化, 从而降低MYB15与*CBF3*启动子的结合能力, 将该Ser突变成Ala可以增强MYB15对*CBF3*的抑制。同时过量表达磷酸化位点失活形式的MYB15可使植株体内的*CBF3*表达水平显著降低, 其抗冻性强于MYB15过表达植株。以上结果表明, MYB15对*CBF3*的转录调节受到MPK6的磷酸化调控(Kim et al., 2017)。目前发现MYB15可以与ICE1相互作用并调控其转录活性(Agarwal et al., 2006), 暗示转录调节子之间存在复杂的调控机制。

另一个比较重要的*CBF*负调节因子是乙烯信号途径的重要组分EIN3。EIN3/EIL1作为功能冗余的中心转录因子, 在乙烯信号通路中起正调控作用。EIN3可以直接结合到*CBF*启动子区的EBS作用元件, 负向调控*CBF*基因表达。缺失突变体*ein3*表现出强烈的抗冻表型, 说明EIN3作为乙烯与低温信号途径的交叉节点, 参与激素与低温的交叉调控(Shi et al., 2012)。同时EIN3还可以结合在A型*ARR*基因的启动子区, 负调控*ARR5*、*ARR7*和*ARR15*基因的表达水平, 参与植物抗冻性的调控(Shi et al., 2012)。

除了节律可调控植物对低温的响应, 光信号与光周期也被发现参与植物的抗冻性调节(Franklin and Whitelam, 2007; Lee and Thomashow, 2012)。当植物生长在较低温度(16°C)且红光与远红光比(R/FR)降低时, 植物体内的*CBF*基因节律性表达增强, *COR*基因表达上调, 使植株产生更强的抗冻性, 这与红光及远红光受体光敏色素有关, 暗示环境温度可通过光敏色素调控*CBF*基因的节律性及其下游基因的表达(Franklin and Whitelam, 2007)。与长日照相比, 生长在短日照下的野生型植株表现出更强的抗冻性, 这可能与短日照下植株中的*CBF*表达倍数更高有关。进一步研究发现, 长日照下, 2个光受体结合蛋白PIF4和PIF7蛋白水平增加, 它们通过直接结合在*CBF3*的G-box及E-box区, 负调控*CBF*的表达。*CBF*下游靶基

因*COR15a*和*Gols3*的表达水平同样受到抑制, 因此造成植物抗冻性减弱(Lee and Thomashow, 2012)。PIF3蛋白在黑暗时活性增强, 抑制植物的光形态建成(Ni et al., 1998; Leivar et al., 2008; Leivar and Monte, 2014)。光照射下, 光敏色素与PIF蛋白相互作用, 促进PIF蛋白降解(Ni et al., 2014)。PIF3可以被PRR蛋白磷酸化并通过LRB Cullin 3 E3泛素连接酶降解(Ni et al., 2014, 2017)。本实验室的最新研究表明, 乙烯信号途径的E3泛素连接酶EBF1和EBF2可以通过与PIF3相互作用, 使其经由26S蛋白酶体途径降解(Jiang et al., 2017)。PIF3直接结合在*CBF*基因的启动子区, 负调控其表达, 是植物抗冻性的负调控因子。低温及黑暗条件下, EBF蛋白降解(Shi et al., 2012), 导致PIF3蛋白积累, 从而调控*CBF*基因的表达(Jiang et al., 2017)。以上研究结果暗示, 光和温度对植物冷驯化过程的影响密不可分, PIF作为*CBF*重要的负调控因子, 平衡植物的抗冻性和生长发育过程。

除了转录水平的调控, *CBF*蛋白还存在翻译后修饰。本实验室利用反向筛选鉴定到1个*CBF*的上游负调节子CRPK1 (cold-responsive protein kinase 1)。CRPK1是定位在细胞膜的一类受体激酶, 低温直接激活其激酶活性, 激活的CRPK1通过磷酸化细胞质中的14-3-3蛋白, 使其从细胞质进入细胞核, 进一步与*CBF1*及*CBF3*相互作用, 参与*CBF*蛋白的泛素化降解, 从而负调控植物的抗冻性(Liu et al., 2017)。这一研究阐明了低温通过调控蛋白激酶将信号从细胞膜传递到细胞核的分子机制, 首次揭示了*CBF*的翻译后水平修饰调控机制, 为*CBF*的调控机制研究开辟了新的方向。

综上所述, *CBF*基因表达受到多种转录调节因子的直接调控(图1), 那么这些调控因子之间存在何种协同或拮抗关系? 它们上游的信号组分如何响应低温信号? 哪些新组分参与对这些转录因子活性的调控? 这些问题均有待进一步探究。

#### 4 CBF在植物生长发育中的作用

一系列研究表明*CBF*参与植物的生长发育过程。过表达*CBF*导致植株矮小, 且与野生型相比, 开花时间明显延迟(Gilmour et al., 2004; Park et al., 2015)。对突

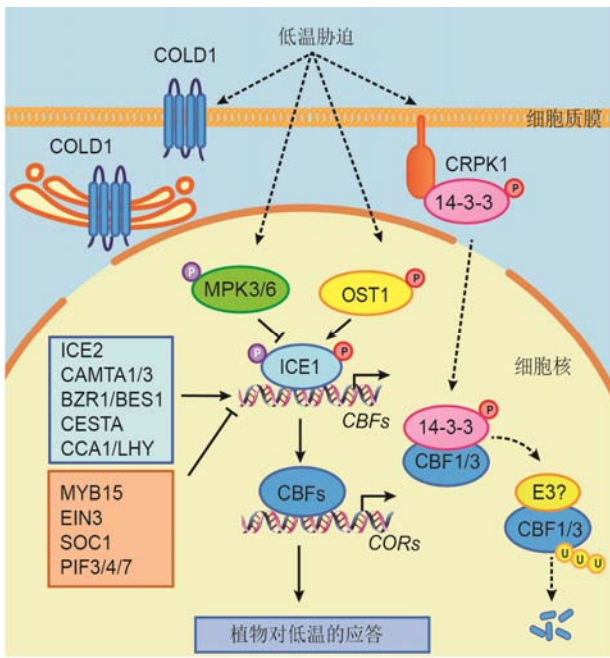


图1 CBF依赖的低温信号途径

实线代表直接调控，虚线代表间接调控。箭头代表正调控，T型箭头代表负调控。

Figure 1 CBF-dependent cold signaling pathway

The solid lines indicate direct regulation, and dotted lines indicate indirect regulation. Positive regulation is indicated by arrow heads and negative regulation is indicated by T-shaped lines.

变体的研究表明, *cbf1/cbf2/cbf3*三突变体种子萌发率与野生型相比降低一半, 根生长速率略慢于野生型, 植株的莲座叶数目减少, 形态偏小, 生物量也低于野生型 (Zhao et al., 2016)。这些结果说明, CBF是植物生长发育过程中的关键因素。Jia等(2016)研究表明, 低温下无论是土中还是培养皿上生长的*cbf1/cbf2/cbf3*三突变体植株均明显大于野生型, 说明CBF影响了低温胁迫下植物的生长发育 (Jia et al., 2016)。有趣的是, 外源施加影响植物细胞伸长的植物激素赤霉素 (gibberellin acid, GA)可以回复*CBF1*过表达植株的生长发育矮小表型 (Achard et al., 2008)。过表达*CBF1*可以激活植物体内*GA2ox*基因的表达, 使植物体内活性形式的GA含量下降, 造成GA信号途径的负调节因子DELLA蛋白在植物体内高水平积累, 从而导致植株生长受到抑制。*DELLA*基因突变可以部分回复*CBF1*过表达植株的矮小表型, 这些结果暗示,

CBF在生长发育中的作用需要GA及DELLA蛋白的参与 (Achard et al., 2008)。不仅CBF影响植物的生长发育, CBF的上游调控因子如ICE1、ICE2、EIN3、BZR1、PIF3/4/7和SOC1等也全部参与调控植物的生长发育, 突变体均表现出各种生长发育表型, 这暗示着植物产生对低温胁迫的抗性很可能需要以牺牲生长发育作为代价。最新研究表明, 植物面对低温胁迫时, 会自主启动细胞死亡机制, 优先杀死未成熟的小柱干细胞, 使根部静止中心维持高浓度生长素, 有利于干细胞巢 (stem cell niche) 抵抗低温胁迫 (Hong et al., 2017)。但这一机制具有特异性, CBF是否参与这一过程目前仍有待研究。植物面对低温或者其它胁迫可能要做出选择: 是继续正常生长发育从而造成对胁迫的敏感, 还是牺牲生长发育, 利用更多能量产生抵抗物质来对抗逆境? CBF可能参与低温胁迫及生长发育调控, 寻找到一种平衡植物抗冻及生长发育受损的调控机制可能是后续需要认真研究的科学问题。

另一个非常值得关注的问题是作用于CBF最上游的植物低温感受器究竟是什么? 2015年, 种康课题组通过QTL发现水稻中的*COLD1*基因介导粳稻耐冷性 (Ma et al., 2015)。*COLD1*定位在细胞质膜和内质网膜上, 与拟南芥中G蛋白 $\alpha$ 亚基互作蛋白GTG1/2高度同源, 被认为是一个低温感受器。它通过与G蛋白 $\alpha$ 亚基互作, 影响G蛋白活性, 调控低温激活的 $Ca^{2+}$ 内流, 从而影响籼稻的耐冷性。基因表达分析显示*COLD1*的互补株系中*CBF*基因表达上调, 说明*COLD1*可能参与*CBF*的调控。该基因上的1个SNP是影响水稻耐冷的关键位点, 暗示*COLD1*基因在自然选择过程中的重要性 (Ma et al., 2015)。那么除此之外是否还有其它的低温感受器存在? 蓝藻中的温度感受器Hik33是一类组蛋白激酶 (Zabulon et al., 2007; Shimura et al., 2012)。植物中的组蛋白激酶作为激素受体发挥重要作用, 它们是否也是低温的感受器? 还有研究表明光受体phyB作为温度感受器调控植物对室温环境温度的感受 (Jung et al., 2016; Legris et al., 2016), 但其是否参与低温的感受仍不清楚, 这些问题都有待进一步验证。

参考文献

Achard P, Gong F, Cheminant S, Alioua M, Hedden P, Genschik P (2008). The cold-inducible CBF1 factor: de-

- pendent signaling pathway modulates the accumulation of the growth-repressing DELLA proteins via its effect on gibberellin metabolism. *Plant Cell* **20**, 2117–2129.
- Agarwal M, Hao YJ, Kapoor A, Dong CH, Fujii H, Zheng XW, Zhu JK** (2006). A R2R3 type MYB transcription factor is involved in the cold regulation of *CBF* genes and in acquired freezing tolerance. *J Biol Chem* **281**, 37636–37645.
- Baker SS, Wilhelm KS, Thomashow MF** (1994). The 5'-region of *Arabidopsis thaliana cor15a* has cis-acting elements that confer cold-, drought- and ABA-regulated gene expression. *Plant Mol Biol* **24**, 701–713.
- Bieniawska Z, Espinoza C, Schlereth A, Sulpice R, Hinch DK, Hannah MA** (2008). Disruption of the Arabidopsis circadian clock is responsible for extensive variation in the cold-responsive transcriptome. *Plant Physiol* **147**, 263–279.
- Blázquez MA, Ahn JH, Weigel D** (2003). A thermosensory pathway controlling flowering time in *Arabidopsis thaliana*. *Nat Genet* **33**, 168–171.
- Canella D, Gilmour SJ, Kuhn LA, Thomashow MF** (2010). DNA binding by the Arabidopsis CBF1 transcription factor requires the PKKP/RAGRxKFXETRHP signature sequence. *Biochim Biophys Acta* **1799**, 454–462.
- Chinnusamy V, Ohta M, Kanrar S, Lee BH, Hong XH, Agarwal M, Zhu JK** (2003). ICE1: a regulator of cold-induced transcriptome and freezing tolerance in Arabidopsis. *Genes Dev* **17**, 1043–1054.
- Deng CY, Ye HY, Fan M, Pu TL, Yan JB** (2017). The rice transcription factors OsICE confer enhanced cold tolerance in transgenic Arabidopsis. *Plant Signal Behav* **12**, e1316442.
- Ding YL, Li H, Zhang XY, Xie Q, Gong ZZ, Yang SH** (2015). OST1 kinase modulates freezing tolerance by enhancing ICE1 stability in Arabidopsis. *Dev Cell* **32**, 278–289.
- Doherty CJ, Van Buskirk HA, Myers SJ, Thomashow MF** (2009). Roles for Arabidopsis CAMTA transcription factors in cold-regulated gene expression and freezing tolerance. *Plant Cell* **21**, 972–984.
- Dong CH, Agarwal M, Zhang Y, Xie Q, Zhu JK** (2006). 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* **103**, 8281–8286.
- Dong MA, Farré EM, Thomashow MF** (2011). Circadian clock-associated 1 and late elongated hypocotyl regulate expression of the C-repeat binding factor (CBF) pathway in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci USA* **108**, 7241–7246.
- Eremina M, Unterholzner SJ, Rathnayake AI, Castellanos M, Khan M, Kugler KG, May ST, Mayer KFX, Rozhon W, Poppenberger B** (2016). Brassinosteroids participate in the control of basal and acquired freezing tolerance of plants. *Proc Natl Acad Sci USA* **113**, E5982–E5991.
- Espinoza C, Bieniawska Z, Hinch DK, Hannah MA** (2008). Interactions between the circadian clock and cold-response in Arabidopsis. *Plant Signal Behav* **3**, 593–594.
- Franklin KA, Whitelam GC** (2007). Light-quality regulation of freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Nat Genet* **39**, 1410–1413.
- Fursova OV, Pogorelko GV, Tarasov VA** (2009). Identification of *ICE2*, a gene involved in cold acclimation which determines freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Gene* **429**, 98–103.
- Gilmour SJ, Fowler SG, Thomashow MF** (2004). Arabidopsis transcriptional activators CBF1, CBF2, and CBF3 have matching functional activities. *Plant Mol Biol* **54**, 767–781.
- Gilmour SJ, Zarka DG, Stockinger EJ, Salazar MP, Houghton JM, Thomashow MF** (1998). Low temperature regulation of the Arabidopsis CBF family of AP2 transcriptional activators as an early step in cold-induced *COR* gene expression. *Plant J* **16**, 433–442.
- Harmer SL, Hogenesch JB, Straume M, Chang HS, Han B, Zhu T, Wang X, Kreps JA, Kay SA** (2000). Orchestrated transcription of key pathways in Arabidopsis by the circadian clock. *Science* **290**, 2110–2113.
- He JX, Gendron JM, Sun Y, Gampala SSL, Gendron N, Sun CQ, Wang ZY** (2005). BZR1 is a transcriptional repressor with dual roles in brassinosteroid homeostasis and growth responses. *Science* **307**, 1634–1638.
- Hong JH, Savina M, Du J, Devendran A, Ramakanth KK, Tian X, Sim WS, Mironova VV, Xu J** (2017). A sacrifice-for-survival mechanism protects root stem cell niche from chilling stress. *Cell* **170**, 102–113.
- Hu Y, Jiang LQ, Wang F, Yu DQ** (2013). Jasmonate regulates the INDUCER OF CBF EXPRESSION-C-REPEAT BINDING FACTOR/DRE BINDING FACTOR1 cascade and freezing tolerance in Arabidopsis. *Plant Cell* **25**, 2907–2924.
- Jaglo KR, Kleff S, Amundsen KL, Zhang X, Haake V, Zhang JZ, Deits T, Thomashow MF** (2001). Components of the Arabidopsis C-repeat/dehydration-responsive element binding factor cold-response pathway are conserved in *Brassica napus* and other plant species. *Plant Physiol* **127**, 910–917.

- Jaglo-Ottosen KR, Gilmour SJ, Zarka DG, Schabenberger O, Thomashow MF** (1998). Arabidopsis CBF1 overexpression induces *COR* genes and enhances freezing tolerance. *Science* **280**, 104–106.
- Jia YX, Ding YL, Shi YT, Zhang XY, Gong ZZ, Yang SH** (2016). The *cbfs* triple mutants reveal the essential functions of *CBFs* in cold acclimation and allow the definition of *CBF* regulons in Arabidopsis. *New Phytol* **212**, 345–353.
- Jiang BC, Shi YT, Zhang XY, Xin XY, Qi LJ, Guo HW, Li JG, Yang SH** (2017). PIF3 is a negative regulator of the *CBF* pathway and freezing tolerance in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci USA* **114**, E6695–E6702.
- Jung JH, Domijan M, Klose C, Biswas S, Ezer D, Gao MJ, Khattak AK, Box MS, Charoensawan V, Cortijo S, Kumar M, Grant A, Locke JCW, Schäfer E, Jaeger KE, Wigge PA** (2016). Phytochromes function as thermosensors in Arabidopsis. *Science* **354**, 886–889.
- Kasuga M, Liu Q, Miura S, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K** (1999). Improving plant drought, salt, and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor. *Nat Biotechnol* **17**, 287–291.
- Kasuga M, Miura S, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K** (2004). A combination of the Arabidopsis DREB1A gene and stress-inducible *rd29A* promoter improved drought- and low-temperature stress tolerance in tobacco by gene transfer. *Plant Cell Physiol* **45**, 346–350.
- Kidokoro S, Yoneda K, Takasaki H, Takahashi F, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K** (2017). Different cold-signaling pathways function in the responses to rapid and gradual decreases in temperature. *Plant Cell* **29**, 760–774.
- Kim SH, Kim HS, Bahk S, An J, Yoo Y, Kim JY, Chung WS** (2017). Phosphorylation of the transcriptional repressor MYB15 by mitogen-activated protein kinase 6 is required for freezing tolerance in Arabidopsis. *Nucleic Acids Res* **45**, 6613–6627.
- Kim Y, Park S, Gilmour SJ, Thomashow MF** (2013). Roles of CAMTA transcription factors and salicylic acid in configuring the low-temperature transcriptome and freezing tolerance of Arabidopsis. *Plant J* **75**, 364–376.
- Lee BH, Henderson DA, Zhu JK** (2005). The Arabidopsis cold-responsive transcriptome and its regulation by ICE1. *Plant Cell* **17**, 3155–3175.
- Lee CM, Thomashow MF** (2012). Photoperiodic regulation of the C-repeat binding factor (*CBF*) cold acclimation pathway and freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA* **109**, 15054–15059.
- Legris M, Klose C, Burgie ES, Rojas CCR, Neme M, Hiltbrunner A, Wigge PA, Schäfer E, Vierstra RD, Casal JJ** (2016). Phytochrome B integrates light and temperature signals in Arabidopsis. *Science* **354**, 897–900.
- Leivar P, Monte E** (2014). PIFs: systems integrators in plant development. *Plant Cell* **26**, 56–78.
- Leivar P, Monte E, Oka Y, Liu T, Carle C, Castillon A, Huq E, Quail PH** (2008). Multiple phytochrome-interacting bHLH transcription factors repress premature seedling photomorphogenesis in darkness. *Curr Biol* **18**, 1815–1823.
- Li H, Ding YL, Shi YT, Zhang XY, Zhang SQ, Gong ZZ, Yang SH** (2017a). MPK3- and MPK6-mediated ICE1 phosphorylation negatively regulates ICE1 stability and freezing tolerance in Arabidopsis. *Dev Cell*. doi:10.1016/j.devcel.2017.09.025.
- Li H, Ye KY, Shi YT, Cheng JK, Zhang XY, Yang SH** (2017b). BZR1 positively regulates freezing tolerance via *CBF*-dependent and *CBF*-independent pathways in Arabidopsis. *Mol Plant* **10**, 545–559.
- Liu Q, Kasuga M, Sakuma Y, Abe H, Miura S, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K** (1998). 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* **10**, 1391–1406.
- Liu ZY, Jia YX, Ding YL, Shi YT, Li Z, Guo Y, Gong ZZ, Yang SH** (2017). Plasma membrane CRPK1-mediated phosphorylation of 14-3-3 proteins induces their nuclear import to fine-tune *CBF* signaling during cold response. *Mol Cell* **66**, 117–128.
- Lu X, Yang L, Yu MY, Lai JB, Wang C, McNeil D, Zhou MX, Yang CW** (2017). A novel *Zea mays* ssp. *mexicana* L. MYC-type *ICE*-like transcription factor gene *ZmmICE1*, enhances freezing tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol Biochem* **113**, 78–88.
- Ma Y, Dai XY, Xu YY, Luo W, Zheng XM, Zeng DL, Pan YJ, Lin XL, Liu HH, Zhang DJ, Xiao J, Guo XY, Xu SJ, Niu YD, Jin JB, Zhang H, Xu X, Li LG, Wang W, Qian Q, Ge S, Chong K** (2015). *COLD1* confers chilling tolerance in rice. *Cell* **160**, 1209–1221.
- Medina J, Bagues M, Terol J, Perez-Alonso M, Salinas J** (1999). 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 Physiol* **119**, 463–470.
- Medina J, Catalá R, Salinas J** (2011). The *CBFs*: three



- Arabidopsis transcription factors to cold acclimate. *Plant Sci* **180**, 3–11.
- Meshi T, Iwabuchi M** (1995). Plant transcription factors. *Plant Cell Physiol* **36**, 1405–1420.
- Mikkelsen MD, Thomashow MF** (2009). A role for circadian evening elements in cold-regulated gene expression in Arabidopsis. *Plant J* **60**, 328–339.
- Miura K, Jin JB, Lee J, Yoo CY, Stirm V, Miura T, Ashworth EN, Bressan RA, Yun DJ, Hasegawa PM** (2007). SIZ1-mediated sumoylation of ICE1 controls *CBF3/DREB1A* expression and freezing tolerance in Arabidopsis. *Plant Cell* **19**, 1403–1414.
- Nakamichi N, Kiba T, Kamioka M, Suzuki T, Yamashino T, Higashiyama T, Sakakibara H, Mizuno T** (2012). Transcriptional repressor PRR5 directly regulates clock-output pathways. *Proc Natl Acad Sci USA* **109**, 17123–17128.
- Nakamichi N, Kusano M, Fukushima A, Kita M, Ito S, Yamashino T, Saito K, Sakakibara H, Mizuno T** (2009). Transcript profiling of an Arabidopsis *PSEUDO RESPONSE REGULATOR* arrhythmic triple mutant reveals a role for the circadian clock in cold stress response. *Plant Cell Physiol* **50**, 447–462.
- Ni M, Tepperman JM, Quail PH** (1998). PIF3, a phytochrome-interacting factor necessary for normal photoinduced signal transduction, is a novel basic helix-loop-helix protein. *Cell* **95**, 657–667.
- Ni WM, Xu SL, González-Grandío E, Chalkley RJ, Huhmer AFR, Burlingame AL, Wang ZY, Quail PH** (2017). PPKs mediate direct signal transfer from phytochrome photoreceptors to transcription factor PIF3. *Nat Commun* **8**, 15236.
- Ni WM, Xu SL, Tepperman JM, Stanley DJ, Maltby DA, Gross JD, Burlingame AL, Wang ZY, Quail PH** (2014). A mutually assured destruction mechanism attenuates light signaling in Arabidopsis. *Science* **344**, 1160–1164.
- Nosenko T, Böndel KB, Kumpfmüller G, Stephan W** (2016). Adaptation to low temperatures in the wild tomato species *Solanum chilense*. *Mol Ecol* **25**, 2853–2869.
- Novillo F, Alonso JM, Ecker JR, Salinas J** (2004). 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* **101**, 3985–3990.
- Novillo F, Medina J, Salinas J** (2007). 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* **104**, 21002–21007.
- Ohme-Takagi M, Shinshi H** (1995). Ethylene-inducible DNA binding proteins that interact with an ethylene-responsive element. *Plant Cell* **7**, 173–182.
- Okamoto JK, Caster B, Villarreal R, Van Montagu M, Jo-fuku KD** (1997). The AP2 domain of APETALA2 defines a large new family of DNA binding proteins in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci USA* **94**, 7076–7081.
- Park S, Lee CM, Doherty CJ, Gilmour SJ, Kim Y, Thomashow MF** (2015). Regulation of the Arabidopsis CBF regulon by a complex low-temperature regulatory network. *Plant J* **82**, 193–207.
- Qin F, Sakuma Y, Li J, Liu Q, Li YQ, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K** (2004). Cloning and functional analysis of a novel DREB1/CBF transcription factor involved in cold-responsive gene expression in *Zea mays* L. *Plant Cell Physiol* **45**, 1042–1052.
- Riechmann JL, Meyerowitz EM** (1998). The AP2/EREBP family of plant transcription factors. *Biol Chem* **379**, 633–646.
- Seo E, Lee H, Jeon J, Park H, Kim J, Noh YS, Lee I** (2009). Crosstalk between cold response and flowering in Arabidopsis is mediated through the flowering-time gene *SOC1* and its upstream negative regulator *FLC*. *Plant Cell* **21**, 3185–3197.
- Seo PJ, Park MJ, Lim MH, Kim SG, Lee M, Baldwin IT, Park CM** (2012). A self-regulatory circuit of CIRCADIAN CLOCK-ASSOCIATED1 underlies the circadian clock regulation of temperature responses in Arabidopsis. *Plant Cell* **24**, 2427–2442.
- Shi YT, Tian SW, Hou LY, Huang XZ, Zhang XY, Guo HW, Yang SH** (2012). Ethylene signaling negatively regulates freezing tolerance by repressing expression of *CBF* and type-A *ARR* genes in Arabidopsis. *Plant Cell* **24**, 2578–2595.
- Shimura Y, Shiraiwa Y, Suzuki I** (2012). Characterization of the subdomains in the N-terminal region of histidine kinase Hik33 in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Cell Physiol* **53**, 1255–1266.
- Stockinger EJ, Gilmour SJ, Thomashow MF** (1997). *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* **94**, 1035–1040.
- Yin YH, Vafeados D, Tao Y, Yoshida S, Asami T, Chory J** (2005). A new class of transcription factors mediates brassinosteroid-regulated gene expression in Arabidopsis.

*Cell* **120**, 249–259.

**Zabulon G, Richaud C, Guidi-Rontani C, Thomas JC** (2007). *NblA* gene expression in *Synechocystis* PCC 6803 strains lacking DspA (Hik33) and a NblR-like protein. *Curr Microbiol* **54**, 36–41.

**Zhao CZ, Wang PC, Si T, Hsu CC, Wang L, Zayed O, Yu ZP, Zhu YF, Dong J, Tao WA, Zhu JK** (2017). MAP

kinase cascades regulate the cold response by modulating ICE1 protein stability. *Dev Cell*. doi: 10.1016/j.devcel.2017.09.024

**Zhao CZ, Zhang ZJ, Xie SJ, Si T, Li YY, Zhu JK** (2016). Mutational evidence for the critical role of CBF transcription factors in cold acclimation in Arabidopsis. *Plant Physiol* **171**, 2744–2759.

## CBF: A Key Factor Balancing Plant Cold Stress Responses and Growth

Jingyan Liu, Yiting Shi, Shuhua Yang\*

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

**Abstract** Cold stress is an important environmental factor that affects plant growth and development as well as plant distribution. The CBF-dependent cold signaling pathway has been extensively studied. In this review, we summarize the latest advances in research of *CBF* genes, revealing the important role of CBFs in freezing tolerance and in chilling resistance of plants. The understanding of the CBF regulatory mechanism network at multiple levels will provide new insights into how CBF-mediated cold signaling balances tolerance and growth in plants, which may help to improve cold-stress tolerance in crops.

**Key words** CBF transcription factors, cold stress, freezing tolerance, growth and development

**Liu JY, Shi YT, Yang SH** (2017). CBF: a key factor balancing plant cold stress responses and growth. *Chin Bull Bot* **52**, 689–698.

---

\* Author for correspondence. E-mail: yangshuhua@cau.edu.cn

(责任编辑: 朱亚娜)