



植物应答高温胁迫的机制研究进展

王坤, 杨淑华, 丁杨林*

中国农业大学生物学院, 植物抗逆高效全国重点实验室, 北京100193

*通信作者(ding_yanglin@cau.edu.cn)

摘要: 随着全球气候的变化, 高温胁迫(heat stress)对植物物种多样性及农业生产的威胁日益严重。暴露在高温下的植物迅速感知、传递热信号, 诱导热响应基因表达, 从而调节细胞及代谢稳态。本文总结了植物对高温胁迫的生理响应及物候学规律, 综述了植物热信号转导及热响应基因表达调控的主要进展, 对热信号的早期感知过程进行讨论并提出一些植物高温胁迫领域的开放性问题, 以期为该领域的科学研究提供线索并为耐热作物的培育提供理论依据。

关键词: 高温胁迫; 高温感知; 热信号转导; 热激响应

Advances in uncovering mechanisms of plant responses to heat stress

WANG Kun, YANG Shuhua, DING Yanglin*

State Key Laboratory of Plant Environmental Resilience, College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193, China

*Corresponding author (ding_yanglin@cau.edu.cn)

Abstract: Heat stress is increasingly causing adverse effects on plant species diversity and agricultural production due to global climate change. Plants have developed complex strategies for rapidly sensing and transmitting heat signal to activate heat-responsive gene expression and thus maintain cellular and metabolic homeostasis. In this review, we summarize recent major advances in elucidating heat stress responses and put forward open questions of heat signal perception. Answering these questions should help understand the molecular mechanisms underlying plant heat stress sensing and responses.

Key words: heat stress; heat sensing; heat signal transduction; heat stress response

在与环境相互适应的长期过程中, 植物不断演化以获得应对各种生物与非生物胁迫的能力。当环境温度在一定时间内上升并超过一个阈值水平, 将对植物的生长发育产生不可逆的损害, 这种环境因素对于植物来说被称为高温(热)胁迫。植物通过逃避或适应的方式应对高温胁迫、从而保证高温下生长和繁殖的能力被称为耐热性(heat stress tolerance)。不仅是不同物种间, 植物物种内的耐热性也存在着极大的差异。就植物个体而言, 在不同的物候期对环境高温也表现出不同的敏感性或耐热性(Wahid等2007)。工业革命以来, 人类

活动引起的全球性气候变暖增加了植物遭受高温胁迫的风险, 气温升高不仅限制了现有植物物种的地理分布, 同时扰乱的物候规律可能导致大量耐热性较差的物种消失, 从而减少了物种多样性。高温胁迫还严重威胁着作物的产量, 全球平均气温每升高1°C, 将使全球主要作物的平均产量降低3.1%~7.4% (Zhao等2017)。然而, 随着世界人口的不断增加和物质需求水平的提升, 一方面将对作

收稿 2022-03-01 修定 2022-06-30
资助 国家自然科学基金(31970295)。

物的产量及品质产生更高的需求,另一方面加剧了温室气体的排放和对自然资源的开发。预计到21世纪末,全球的平均地表温度将增加(3.7±1.1)°C (Church等2013)。因此,如何解决上述两方面的矛盾成为人类社会亟待解决的科学问题。

植物能够对高温胁迫做出快速响应。有趣的是,不同程度的高温环境和遭受方式使植物表现出明显的生长和代谢差异,这种温度依赖的现象暗示着植物的高温应答受到了精细而复杂的调控。近年来的研究表明,该过程涉及到转录、转录后及蛋白的翻译后修饰(post-translational modifications, PTMs)调控。此外,由于高温可以直接影响染色质景观(landscape),相关的表观遗传学机制也逐渐被人们关注。解析植物响应高温胁迫的生理、遗传及分子机制将为解决高温胁迫引起的危害提供理论依据,对提升作物产量及保护物种多样性具有重要的指导意义与实践价值。

1 高温胁迫与植物的生理响应

一般来说,当植物生长环境温度高于最适温度5~6°C (如拟南芥在28°C)时,植物通过调节生长发育引起热形态建成(thermomorphogenesis) (如早花、下胚轴及叶柄伸长等)以适应温和高温环境。当温度在短时间内上升10~15°C (如拟南芥在30~37°C),会使植物遭受热应激(heat shock, HS),植物随之发生一系列的生理水平变化以调节有限的资源来应对高温引起的中度热胁迫。而快速来临的极端高温(如拟南芥在40°C以上)将使植物遭受重度热胁迫,HS迅速地引起严重的细胞膜系统损伤,导致细胞骨架网络崩溃、细胞器丧失正常定位及蛋白质变性,进而使整个细胞代谢和信号功能紊乱,最终导致细胞在短时间内破裂、死亡(Richter等2010)。由此可见,植物因遭受高温胁迫的强度、时长及升温速度的不同,相应产生的生理反应差异很大。因此,研究高温胁迫的阈值温度显得十分重要,它是指一个可检测到的、植物生长开始减少的日平均温度。不同物种间以及同一物种内不同的基因型均具有差异明显的阈值温度。例如,处于热带地区的植物通常具有较高的阈值温度,而高纬度的植物生长阈值温度普遍较低;同样在生殖

生长期,小麦的HS阈值温度为26°C,而水稻则为34°C左右(Wahid等2007)。限制植物生长的阈值温度决定了植物的空间分布、物候规律并影响着植物耐热性,充分研究不同植物的阈值温度并利用种间或种内基因型差异,将为通过遗传手段进行品种耐热性改良提供重要的理论依据。

生理水平上,高温胁迫对植物不同物候阶段的生长发育都有明显的损害。高温胁迫抑制种子活力并延迟出苗,加速叶片衰老并抑制茎和根的生长(Bahuguna和Jagadish 2015)。值得注意的是,处于生殖生长期的植物对热胁迫更为敏感。热胁迫诱导花蕾数量增加、抑制配子体发育、花药开放、花粉萌发和花粉管生长并干扰花粉管引导和受精过程,这些最终导致植物不育(Hedhly 2011)。在灌浆阶段遭受热胁迫将严重损害作物的产量和品质,造成巨大的经济损失。耐热性小麦品种通过提前抽穗使开花期保留更多的绿叶,减少了产量损失(Tewolde等2006)。高温下,植物不但光合作用能力减弱,而且不得不分配有限的同化物来应对热胁迫引起的损伤,最终引起了上述一系列的生理现象。解剖及形态学研究发现,高温导致植物细胞变小、水分散失而气孔关闭、气孔和表皮毛的密度增加、根茎木质部的导管增粗等生理变化,这些有利于缓解植物在高温胁迫下的水分流失和能量缺乏(Bañon等2004)。亚细胞水平上,HS显著地改变了磷脂双分子层的理化性质而增加了质膜流动性,植物通过增加饱和脂肪酸含量等方式使质膜流动性恢复至正常水平,HS还导致膜蛋白变性,这些最终导致质膜的通透性增强而稳定性减弱。另外,高温破坏了线粒体、叶绿体等有膜细胞器功能。HS显著地改变了叶绿体的内部结构,使二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶(Rubisco)失活,减少了光合色素的丰度并破坏光系统II (PSII),最终导致光合作用减弱(Sharkey和Zhang 2010)。

在中度非致死高温下,植物在长期接触后才会发生明显的细胞伤害或死亡。分子水平上,高温引起最显著的效应是胞质Ca²⁺浓度增加、磷脂酸积累、错误折叠蛋白产生与非特异性聚集以及活性氧(reactive oxygen species, ROS)爆发。上述的HS分子可能作为信号分子向植物细胞传递热信号

以激活热激响应(heat shock response, HSR)。HSR被定义为HS引起转录重编程,以调整细胞的蛋白质、代谢物和脂质组成,从而建立高温下及恢复期间新的稳态平衡,这是真核生物对HS的一种保守的生物反应(Ohama等2017)。环境温度高于植物适宜生长温度5°C即可激发HSR,当高出10~15°C时会迅速引起HS并在短时间内合成大量的热休克蛋白(heat shock protein, HSP)、ROS清除酶及脯氨酸等渗透保护物质以应对持续的或再次来临的热胁迫(Wahid等2007)。植物在遭受非致死高温一段时间后,机体通过HSR会增强自身的耐热性,这一过程被称为热锻炼(或热驯化)(heat acclimation)或被称为热启动(heat priming)。植物本身(未经过热锻炼)就具有的对高温胁迫的耐受能力,被称为基础耐热性(basal thermotolerance),而经历热锻炼的植物对再次来临的高温胁迫具有更强的耐受能力,增强的这部分能力被称为获得耐热性(acquired thermotolerance)。由于植物的获得耐热性能够维持相当一段时间,甚至可以发生隔代传递,因此又被称为热记忆(HS memory)(Mittler等2012)。植物的HSR受到精细的转录、转录后、PTMs及表观遗传调控。

2 植物高温胁迫信号转导及调控

2.1 植物响应高温胁迫的转录调控网络

HSR会迅速诱导一系列HSP基因的表达,被认为是HSR的标志性事件。新合成的HSPs增强了细胞的分子伴侣蛋白库,从而协助变性蛋白复性或降解以维持各项生命活动的稳态。然而,伴侣蛋白编码基因只占HSR基因中相当少的比例(拟南芥为88/1 780,小麦为117/1 509),更多的HSR基因编码的蛋白参与了信号转导、转录调节、RNA调控、初级和次级代谢等过程(Qin等2008a; Rizhsky等2004)。事实上,强烈的HS导致了大多数基因的转录抑制,而不同程度的高温也会触发植物差别的转录调控模式(Larkindale和Vierling 2008)。HSR基因中不同子集的表达受到了复杂的转录调控,相关研究已经建立了相对完整的调控网络(图1)。

2.1.1 依赖HsfA1的转录调控

真核生物中广泛地存在一类保守的热激转录

因子(heat shock transcription factors, HSFs)调控HSR基因的表达。相比于人类(6个)和酵母(1个),植物HSFs成员数量众多(拟南芥中21个,大豆中至少38个),功能也更加复杂(Jacob等2017; Kmieciak和Mayer 2022)。以拟南芥为例,根据氨基酸序列中的寡聚化结构域(HR-A/B region)特征,HSFs被分为3个亚家族(Nover等2001)。其中,植物Class B和C类HSFs因缺少转录激活必需的AHA基序,被认为可能充当转录共激活/抑制子来调控HSR基因(Scharf等2012)。例如,AtHsfB1和AtHsfB2b被报道在HS后的恢复过程中抑制HSPs的激活,从而正向调控获得耐热性(Ikeda等2011)。Class A的HsfA1作为主效调控因子,HS诱导它们进入细胞核并形成同/异源三/多聚体,随后通过结合HSR基因启动子的HSE (heat shock response element, 5'-AGAA-nTTCT-3'),在HSR转录调控中扮演着核心角色(Scharf等2012)。拟南芥*hsfa1a/b/d/e*四突变体表现出强烈的基础耐热性缺陷和低水平的获得耐热性,大约65%被HS诱导上调的基因受HsfA1s调控(Liu等2011)。HsfA1s直接调控多种编码重要HSR转录因子基因的转录,包括HsfA2、HsfA7a、HsfBs、DRE-B2A (dehydration-responsive element binding protein 2A)、MBF1C (multiprotein binding factor 1C)及bZIP28 (basic leucine zipper 28),HsfA1s因此通过直接或间接的方式激活下游HSR基因表达。

高温胁迫下,HsfA2受HsfA1s直接地诱导,迅速合成的HsfA2放大了部分HSR基因的诱导水平,但不是后者初始激活所必需的。大量受HsfA2激活的基因能保持长期的转录活性,其中一些基因在遭受再次的HS时被更强烈地诱导表达,如HSA32、sHSPs (small HSPs)及APX2,这些基因被认为是热记忆基因。*hsfa2*突变体表现出获得耐热性缺陷,因此HsfA2特异地在植物获得耐热性中发挥功能(Charnag等2007)。有趣的是,HsfA2仅与这些热记忆基因短暂地结合,而HsfA2依赖的转录变化主要是在结合减弱后观察到的(Stief等2014)。染色质分析表明,HsfA2在热记忆基因位点招募H3K4 (histone H3 lysine 4)甲基转移酶实现组蛋白高甲基化修饰以维持整个热记忆阶段的转录激活,而非热记忆基因(如HSP70和HSP101)则不存在类似的修

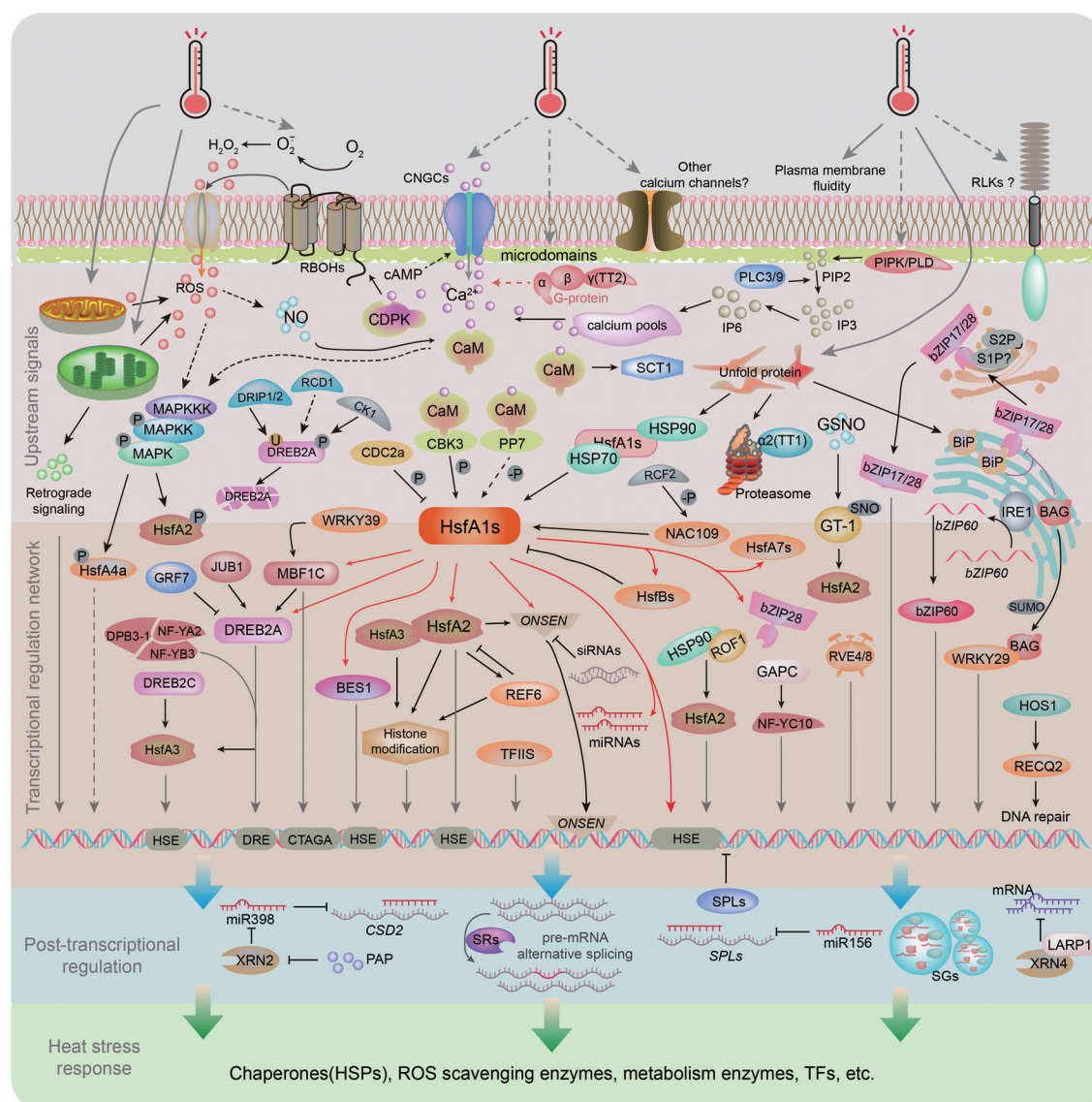


图1 植物响应高温信号的机制

Fig. 1 Mechanisms of plant responses to heat stress

高温胁迫引起植物细胞膜流动性增强、胞质钙离子浓度增加及未折叠蛋白积累,并快速诱导磷脂合成与ROS爆发,这些分子作为第二信使与钙调素(CaMs)等组分结合,随后通过多种翻译后修饰(PTMs)途径传递热信号。HsfA1s作为核心的转录调控因子受到精细的调控,它将热信号传递至下游转录因子并直接激活HSE基因表达。表观遗传调控和pre-mRNA可变剪切也在HSR中扮演着重要角色。多层次的调控网络允许植物对不同程度的高温环境做出快速、高效的响应,从而维持植物生命活动。

饰(Lämke等2016)。此外, HsfA2直接激活H3K27-me3去甲基酶REF6 (*relative early flowering 6*)的表达并被REF6反馈抑制,二者共同协调实现植物的跨代热记忆(Liu等2019)。HsfA3最近被定义为新的热记忆调控因子,它与HsfA2在体内形成异源复合物,

对于放大热记忆基因的诱导水平是必需的(Friedrich等2021)。另一项报道表明, HsfA2与HSP90.1互作,从而协助一种肽基脯氨酰顺反异构酶ROF1与HSP90.1在HS诱导下形成核定位复合物,该复合物维持了HsfA2诱导的sHSPs水平,从而提升植物

耐热性(Meiri和Breiman 2009)。

在非胁迫下, ERF/AP2转录因子家族成员DREB2A维持在很低的水平。一方面其基因表达被GRF7 (growth regulating factor 7)抑制(Kim等2012), 另一方面其蛋白与E3泛素连接酶DRIP1 (DREB2A-interacting protein 1)和DRIP2结合并通过26S蛋白酶体途径降解(Qin等2008b)。CK1 (casein kinase 1)磷酸化DREB2A并诱导其在非应激条件下的降解(Mizoi等2019)。此外, RCD1 (radical-induced cell death 1)受高温的降解, 它与DREB2A互作并负调控其稳定性(Vainonen等2012)。DREB2A基因缺失导致植物对热处理更加敏感, 而过表达植株表现出更强的耐热性(Sakuma等2006)。DREB2A与NF-YA2 (nuclear factor Y, subunit A2)、NF-YB3和NF-YC10/DPB3-1 (DNA polymerase II subunit B3-1)形成转录复合物激活HsfA3等HSR基因的表达(Sato等2014)。此外, DREB2A的同源蛋白DREB2C也直接诱导HsfA3的基因表达, 可能参与到HSR中(Chen等2010)。DREB2A的转录还受到转录共激活因子MBF1C的直接调控。HS诱导MBF1c的迅速积累并转移到细胞核中, 随后它与CTAGA基序结合并调控HSR基因的表达(Suzuki等2011)。

HsfA1和HsfA2能够诱导逆转座子ONSEN在HS下的高度激活, ONSEN的活性受到siRNAs (small interfering RNAs)严格控制, 在siRNA生物发生缺陷突变体中, HS处理使ONSEN插入事件高频发生, 而ONSEN的插入增强了附近基因的HS诱导水平, 因此, ONSEN可能调节着植物跨代热记忆的进化过程(Cavrak等2014)。高温胁迫还引起DNA损伤, 拟南芥HOS1 (high expression of osmotically reponsive genes 1)蛋白以HsfA1/HSP90依赖的方式稳定, 它通过激活DNA修复成分(如DNA解旋酶RECQ2)增强HS下的DNA损伤修复能力从而提高植物的耐热性(Han等2020)。

2.1.2 不依赖于HsfA1的转录调控

许多不依赖HsfA1的转录途径已经被报道。转录因子NAC019在高温下被磷酸酶RCF2去磷酸化并激活, 从而促进与HsfA1b和HsfA7a等基因启动子的结合以正向调控HSR (Guan等2014)。另一种NAC类转录因子JUB1 (jungbrunnen 1)也参与高

温下DREB2A的激活以正调控耐热性(Wu等2012)。通过对拟南芥进行系统的HS RNA-seq分析, Li等(2019)发现昼夜节律蛋白RVE4 (REVEILLE 4)和RVE8是独立于HsfA1s的HSR早期转录调节因子, RVE4/8通过调节下游ERF53 (ethylene responsive factor 53)和ERF54等基因的表达, 特别是在中午前后, 正向调节植物耐热性, 建立了生物钟与HSR的联系。此外, 糖代谢相关的3-磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPC)受HS诱导向核内积累, 随后它与转录因子NF-YC10互作并增强后者对下游靶基因启动子的结合能力, 从而正向调控植物耐热性(Kim等2020)。近期的研究表明, 拟南芥TFIIS (transcription factor IIS)可能作为RNA聚合酶II的延伸辅助因子发挥功能, TFIIS的功能缺失导致HS下的转录重编程迟缓并影响了HSR基因的转录和可变剪切, 有趣的是, TFIIS及其远缘物种间的同源基因都受到HS诱导, 表明了TFIIS在植物HSR中的功能保守性(Szádeczky-Kardoss等2022)。

高温导致大量未折叠蛋白或变性蛋白聚集在细胞质及内质网中, 引起UPR (unfolded protein response)。植物一方面合成伴侣蛋白帮助蛋白恢复正常活性, 另一方面通过多种蛋白降解途径清除毒性蛋白, 严重的蛋白变性将诱导植物启动程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)过程(Li等2018)。例如, 从非洲稻(*Oryza glaberrima*)中克隆到一个耐热性的主效QTL (quantitative trait locus) TT1 (thermo-tolerance 1), 它编码参与蛋白泛素化降解的26S蛋白酶体的一个 α 2亚基, OgTT1有比OsTT1更强的毒性蛋白清除能力而表现出耐热性增强(Li等2015)。胞质UPR由HSFs (如HsfA2)介导并激活如HSP70等HSR基因的表达(Sugio等2009)。在内质网UPR中, 膜相关转录因子(如bZIP、NAC转录因子)扮演着主要的角色(Liu等2020)。HS积累的错误折叠蛋白与内质网腔中的伴侣蛋白BiP3 (binding protein 3)结合, 从而释放锚定在内质网的bZIP17和bZIP28转录因子并转移到高尔基体, 在那里bZIP17/28被S2P (site-2 proteasome)剪切加工, 随后N端的截断产物转移到细胞核并直接诱导HSP70/90等靶基因的表达(Che等2010; Liu等2007b, c)。此外, 内质网定位的IRE1 (inositol-requiring en-

zyme 1)被未折叠蛋白激活并对*bZIP60*的mRNA进行剪切,从而翻译产生一种不含跨膜域的*bZIP60*蛋白,新合成的*bZIP60*入核以激活下游基因表达(Deng等2011)。拟南芥共伴侣家族成员BAG [B-cell lymphoma2 (Bcl-2)-associated athanogene]在非HS下定位于内质网,它与BiP2共同结合*bZIP28*以抑制其活性,HS诱导BAG的SUMO (small ubiquitin-related modifier)化并经过蛋白水解将其从内质网转移到细胞核,随后它与转录因子WRKY29互作以调节HS诱导的内质网UPR (Li等2017)。

热胁迫下,叶绿体内不仅积累大量的ROS,也发生UPR并通过快速组装应激颗粒(stress granules, SGs)或释放逆行信号到细胞核的方式以维持光合作用(Zhang等2022b)。叶绿体PSII对高温极度敏感,小分子伴侣蛋白编码基因*HSP21*在HS下受到HsfA2的诱导,研究发现HSP21还能够被GUN5依赖的质体逆行信号激活,前者通过直接结合PSII核心亚基以稳定光合作用(Chen等2017)。此外,生育酚(vitamin E)是叶绿体中的酪氨酸合成的脂溶性抗氧化剂,HS诱导生育酚的产生从而导致PAP (3'-phosphoadenosine 5'-phosphate)的积累,PAP能够抑制核酸外切酶XRN介导的前体microRNA (miRNA)降解,最终导致miR398积累从而正向调控获得耐热性(Fang等2019)。可见,质体等执行的逆行信号在植物耐热中扮演着重要的调控角色。

HS下的翻译调控也积极地配合转录调控最终调节蛋白质组的稳态。面对HS引起的蛋白变性,细胞一方面通过合成大量的分子伴侣以帮助正确折叠或清除这些蛋白,一方面快速解聚正常情况下的翻译复合物以阻断更多的变性蛋白产生,解聚的部分组分将进入P小体(processing bodies)或形成SGs被降解或便于HS结束后的翻译恢复。动物中,HS引起的翻译抑制受到复杂的调控。例如,翻译起始过程的关键组分真核起始因子-4F (eukaryotic initiation factor-4F, eIF4F)及其在HS下的可逆磷酸化修饰已有大量的研究报道(Holcik和Sonenberg 2005)。有趣的是,这种翻译抑制是选择性的,HS诱导产生的转录本能够避免HS下的翻译抑制,如*HSP70* mRNA的5'-UTR含有内部核糖体进入位点(internal ribosome entry site, IRES),该结构使其

不依赖于5'帽子结构而进行快速翻译(Rubtsova等2003)。植物中,XRN4与LARP1互作以介导早期HS下的mRNA降解,从而调控翻译过程以帮助植物耐热(Merret等2013)。对HS翻译调控及蛋白稳定性的研究将为植物耐热机制解析提供新视角。

2.2 植物高温胁迫信号转导途径

2.2.1 HSPs对HsfA1的调控

考虑到HSF在HSR中的重要地位,研究如何通过调控HSF使植物迅速做出HSR是十分关键的。动物中有关HSF的研究表明,HSF1/2受到了非编码RNA、RNA可变剪切、寡聚化状态、亚细胞定位及蛋白PTMs等多层次的精细调节。例如,GSK3 β (glycogen synthase kinase 3 beta)、CK2 和 MAPKs (mitogen-activated protein kinases)能够对HSF1相同的位点磷酸化并分别促进HSF1的降解和抑制其活性(Gomez-Pastor等2018)。HSF1在正常条件下不活跃,HSP70/90等伴侣蛋白与其形成复合物并抑制其功能。HS引起未折叠蛋白积累,后者竞争性地与HSP70/90结合,导致HSF1单体被释放并发生磷酸化等PTMs,从而寡聚化为具有转录活性的三聚体并进入到细胞核中,在那里它招募转录共调节因子结合到HSE上以调节*HSR*基因的表达。HSF在行使功能后发生泛素化等PTMs被降解或者被新合成的HSP70/90结合而反馈抑制其功能(Kmiecik和Mayer 2021)。

越来越多的证据表明,类似的机制可能存在于植物中。植物的HsfA1s与HSF1在结构上十分相似,但具有更多的亚型,不同亚型可调控不同的*HSR*基因子集。位于C端的核定位和核输出信号序列预示着其可能通过灵活的定位转移来调节自身功能(Scharf等2012)。事实上,拟南芥HsfA1a、HsfA1b和HsfA1d之间可以相互作用,而且高温部分地改变了HsfA1s的亚细胞定位(Yoshida等2011)。最新的研究发现,HsfA2和HsfA3可能与HsfA1s及HsfA7a等互作并形成多聚复合体调控热记忆过程(Friedrich等2021)。动物中,HSF1与HSF2可以形成不同类型的异源三聚体来应对不同环境因素行使可变的调控功能,HS抑制HSF2的水平从而调节了HSF三聚体的类型及比例(Akerfelt等2010)。植物中HSFs是否也会应对不同程度的HS而形成可变的

体,从而调控下游不同的基因子集?此外,番茄中HSP70和HSP90分别通过抑制HsfA1的DNA结合以及调节HsfA2和HsfB1的蛋白丰度等复杂的方式,在热胁迫及恢复过程中调控不同的*HSR*基因(Hahn等2011)。拟南芥中,Ohama等(2016)发现HSP70/90通过结合HsfA1d的TDR (temperature-dependent repression)结构域抑制HsfA1d的活性,然而在突变体中过表达缺乏TDR结构域的HsfA1d仍不能完全激活HSR,因此蛋白磷酸化等PTMs也可能是激活HsfA1s所必需的。虽然上述主要的研究证据是在原生质体或悬浮细胞中得到,但可以推测结构上进化保守的HSFs在不同物种中的调控机制应该具有很大的相似性。

2.2.2 HS诱导的Ca²⁺信号转导途径

HS最初引起了质膜流动性增强,从而使胞质Ca²⁺浓度迅速升高,这个过程可能是由钙通道CNGCs (cyclic nucleotide gated calcium channels)控制的,CNGC2/4/6/16已经被报道参与到HSR中,质膜流动可能通过促进核苷酸环化酶激活的方式打开这类钙通道(Finka等2012; Gao等2012; Tunc-Ozdemir等2013)。HS还可以动员胞内钙库来提升胞质Ca²⁺浓度。HS处理3 min内,胞质IP₃ (inositol 1,4,5-trisphosphate)的浓度就迅速上升至峰值,IP₃进一步磷酸化为IP₆,进而调动细胞钙库的Ca²⁺。PLC3 (phosphoinositide-specific phospholipase C3)和PLC9参与IP₃的生物合成,*plc3*和*plc9*单突变体及双突变体均表现出明显的耐热性缺陷(Gao等2014),然而,目前尚未在植物中发现与IP₆结合的Ca²⁺通道蛋白。

CaM3 (calmodulin 3)通过直接结合Ca²⁺作为信号转换器,随后可能通过与CBK3 (CaM-binding protein kinase 3)和PP7互作向下游传递HS信号。CBK3磷酸化HsfA1a从而增强后者的启动子结合能力,正向调控基础耐热性(Liu等2008)。PP7是一种丝/苏氨酸磷酸酶,*pp7*突变体耐热性降低,PP7同时与CaM3及HsfA1a互作,可能作为中间枢纽传递HS信号(Liu等2007a)。此外,周期蛋白依赖激酶CDC2a磷酸化HsfA1a并抑制其DNA结合活性(Reindl等1997)。最新克隆到的一个高温相关QTL, *TT2* (*THEROMOTOLERANCE 2*),其编码一个G蛋白γ亚基, *TT2*的等位基因突变赋予了高温下更多的蜡质保留能力,

从而增强了水稻的耐热性;进一步的研究发现,转录因子SCT1 (sensing Ca²⁺ transcription factor 1)与Ca²⁺/CaM结合从而抑制高温下蜡质的合成,而热诱导的Ca²⁺积累被TT2抑制,这最终改变了植株蜡质的含量(Kan等2022)。值得注意的是, Ca²⁺螯合剂可以显著抑制HSR,而高温仍然能够诱导*cam3*突变体的*HSR*基因,暗示着植物细胞中存在着另外的HS介导的Ca²⁺信号转导途径(Zhang等2009)。

2.2.3 HS诱导的ROS信号转导途径

细胞中大多数反应是耦合的,HS会迅速地破坏细胞各级生化反应过程,尤其是在叶绿体及线粒体中,由此导致的氧化应激产生了大量的ROS。H₂O₂作为最为稳定的ROS分子,充当信号分子传递HS信号到核内并诱导抗氧化剂的合成以清除过量的ROS。热胁迫可以快速诱导质膜定位的NADPH氧化酶同系物RBOHB和RBOHD产生ROS。ROS促进了一氧化氮(nitric oxide, NO)的积累,而NO作为下游信号分子激活CaM3后将ROS信号传递到核内(Wang等2014)。HS能够诱导茎尖NO的快速爆发,并以一种稳定的分子形式GSNO (*S*-nitrosoglutathione)通过维管束向整个植株传递热信号,GSNO介导转录因子GT-1的*S*-亚硝基化(*S*-nitrosylation)从而激活*HsfA2*等基因以响应HS(He等2022)。然而,关于ROS信号具体是如何被感知并转化为转录调控的仍然未知。

突变体及药理学研究表明,HS诱导MAPK6激酶活性增强从而介导植物的PCD,而且ROS产生、胞质Ca²⁺浓度增加及*CaM3*的转录诱导均为MAPK6激活的上游事件(Li等2012)。此外,高温诱导激活的MAPK3/6磷酸化HsfA2和HsfA4a并分别调控其核定位和转录活性(Evrard等2013; Pérez-Salamó等2014)。随后的报道表明不仅是MAPK3/6, MAPK4也能够磷酸化HsfA4a并调控其分子内相互作用, *HsfA4a*的过表达通过减少氧化损伤增强植物耐热性(Andrási等2019)。然而,无论是拟南芥中*mpk6*突变体还是其在番茄中同源基因*SIMPK1*的RNAi植株表现为耐热性增强(Li等2012; Ding等2018),因此MAPK级联信号在HS中发挥的功能还有待进一步研究。值得注意的是,虽然高水平的ROS对细胞有害,但低水平的ROS在调节植物获得耐热性中起

着关键作用。在*rboh*b、*rboh*d单突变体和*rboh*b/d双突变体中的质外体H₂O₂产生被抑制,此时受HS诱导的*HSP17.7*和*HSP21*的表达受损,外源施用H₂O₂则增加了植物的耐热性(Wang等2014)。研究HS下植物不同组织的微环境ROS水平及相应的调节机制将为植物如何协调机体发育以对抗高温胁迫提供线索。

2.3 植物响应高温胁迫的表观遗传调控

表观遗传调节因子和miRNA在植物热适应特别是在热记忆中具有重要作用。HS诱导组蛋白乙酰化和甲基化修饰,由HSF介导的染色质重塑改变了HS后的表观遗传景观,这种调控机制在生物中是保守的。HsfA2/A3介导的组蛋白甲基化调控前文已有叙述。近期研究发现组蛋白H3K4甲基转移酶SDG25和ATX1介导H3K4me₃,从而对维持热恢复过程中*HSR*基因的表达起到重要作用(Song等2021)。此外,HS导致组蛋白伴侣ASF1 (anti-silencing function 1)被招募到*HSR*基因染色质处,介导核小体的去除并促进H3K56乙酰化,从而激活*HsfA2*和*HSA32*并正向调控植物耐热性(Weng等2014)。miRNA也被广泛地报道参与到植物HSR中。拟南芥miR398在HS期间抑制ROS清除酶的产生而使ROS积累,因此激活HsfA1而增强了植物耐热性,而miR398的表达受HsfA1s的诱导,从而形成了一个HS正反馈环(Guan等2013)。miR156靶向SPL (squamosa-promoter binding protein-like),而SPL下调*HSR*基因的表达,miR156因此维持了HS恢复阶段*HsfA2*及*HSPs*较高的表达水平,并在热记忆中发挥正向调控功能(Stief等2014)。此外,受HS高度诱导的*HTT1* (*TAS1 target 1*)和*HTT2*被*TAS1* (trans-acting siRNA precursor 1)衍生的小干扰RNA靶向,*HTT1*被HsfA1a激活,并作为Hsp70-14复合物的辅助因子正向调节植物耐热性(Li等2014)。

2.4 高温胁迫引起的可变剪切调控

高温胁迫诱导了pre-mRNA的可变剪切(alternative splicing, AS), AS作为一种转录后修饰机制帮助植物快速地响应HS。逆境胁迫下pre-mRNA的AS在不同生物中是保守的,值得注意的是,动物中大多数的AS类型为外显子跳跃(exon skipping, ES),而植物中则为内含子保留(intron retention, IR)

(Ling等2021)。动物中,高温强烈地干扰pre-mRNA的剪切过程并导致IR,这不是一种单纯的由HS造成的转录损伤事件,而是一种积极响应的转录后调控机制(Shin等2004)。高温胁迫下,植物发生AS的概率显著提高,这种情况不仅发生在核编码基因,也发生在叶绿体编码基因(Jiang等2017)。相关研究表明,包括*HSFs*、*DREB2B*及*HSPs*等重要*HSR*基因的转录本均在HS下发生AS (Chang等2014; Ling等2018)。拟南芥中,HS诱导HsfA2的AS并翻译为三种亚型,不同亚型的比例随遭受高温的强烈程度而变化,强烈的高温诱导HsfA2-III积累并翻译为一种截断的亚型(S-HsfA2),该亚型可以直接与*HsfA2*的启动子结合,进而放大*HsfA2*的激活(Liu等2013)。值得注意的是,HS诱导的AS似乎与高温的强烈程度有关。例如,当幼苗遭受突然的HS或渐变的温度升高时,*HsfA7*、*HsfB2A*及*HSP21*等基因分别产生了不同的AS类型(Ling等2018)。虽然HS可诱导大量基因的AS,但其大多数产物导致了翻译提前终止,因此需要更多的证据来确定该类AS是否具有生物学意义。

SR (serine/arginine-rich)蛋白是一类进化保守的AS因子。拟南芥中,SR家族的15个基因产生了大约95个转录本,植物激素及胁迫均能够诱导SR的转录变化,其中,高/低温胁迫的诱导效应最为显著(Palusa等2007)。此外,HS还导致SR的蛋白积累,SR蛋白通过介导pre-mRNA的AS改变了翻译产物,从而影响了蛋白的功能、定位以及稳定性,最终调控植物的HSR (Ling等2021)。值得注意的是,SR蛋白在植物细胞中是高度动态的。例如,SR45在正常情况下呈小颗粒状均匀地分布在细胞核内,HS诱导其聚集产生更大的斑点,而磷酸酶和激酶抑制剂分别抑制和促进该斑点的产生(Ali等2003)。这些SR蛋白凝聚斑点的形成似乎是可逆的。此外,体外研究表明,SR蛋白的磷酸化状态改变了其蛋白间的相互作用,从而影响剪接体组装和pre-mRNA剪接位点的选择(Cao等1997)。因此,是否有某种蛋白激酶能够响应HS并通过液-液相分离(liquid-liquid phase separation, LLPS)等方式与SR蛋白聚集成无膜结构,并通过可逆磷酸化来积极地调节AS? 最近的研究发现,拟南芥亲环蛋白CYP18-1

协同磷酸酶PP2A B η 介导剪接体复合物组分PR-P18a的去磷酸化, 从而完成HS下对保留内含子的有效剪切以积极响应热胁迫(Jo等2022)。总的来说, 植物在高温下的AS研究相对较少, 需要更多的关注和研究。

2.5 植物激素参与高温胁迫调控

多种植物激素积极地响应HS并参与到调节过程中。拟南芥中, ABA生物合成或信号转导基因的缺陷突变体表现出耐热性受损, 光合效率显著降低(Hsieh等2013)。ABA可以诱导*HsfA6b*的转录激活, *HsfA6b*直接与*DREB2A*的启动子结合并增强其表达, 最终增强了植物耐热性(Huang等2016)。拟南芥中, 一对功能冗余的转录因子SPL1和SPL12参与PYR/PYL介导的ABA信号通路并正向调节花序耐热性, 在ABA合成突变体*aba2-1*中过表达SPL1部分恢复了其耐热性缺陷, 而在*pyls*突变体中则不能恢复(Chao等2017)。类似的, 植物体内水杨酸(salicylic acid, SA)、茉莉酸(jasmonic acid, JA)和乙烯(ethylene, ET)含量均受到高温诱导并在HSR中扮演着重要角色。例如, 外源MeJA预处理拟南芥植物可上调抗氧化酶活性并增强耐热性(Clarke等2009)。JA的生物合成或信号突变体, 如*jar1*和*coi1*的基础耐热性显著降低, 表明JA信号在植物HSR响应中的重要作用(Monte等2020)。转录因子WRK-Y39正向调节SA和JA信号通路之间的合作, 调控下游*PRI*和*MB-FLC*的表达, 从而正向调节植物耐热性(Li等2010)。

热胁迫对植物的另一个重要影响是抑制植株生长, 油菜素内酯(brassinosteroids, BRs)可能在该过程中发挥重要作用。最近的研究发现, BES1被HS快速地去磷酸化并激活, 该过程不依赖于BR, 而是部分地由ABA信号通路介导。BES1直接与*HSP70/90*启动子上的HSE结合并激活后者的转录, 而HsfA1s促进了这种激活活性(Albertos等2022)。由此可见, HsfA1s整合了HS诱导的Ca²⁺、ROS以及植物激素信号, 积极地响应了多种上游信号并调控着下游的HSR基因表达。

3 植物如何感知高温胁迫

高温作为一种物理信号广泛地改变细胞的多级组分, 这些组分似乎都可以成为潜在的热感受

器(heat sensors)。因此, 为了研究植物如何感知高温, 我们首先需要对热感受器进行规范性定义。Vu等(2019)提出了植物热感受器应具备的条件: (1)高温可以直接地改变其特性(如结构或者活性); (2)这种/些特性的改变对其将高温信号有效地向下传递是必要的; (3)其高温感知能力能够引起植物对高温做出生理或形态学变化。近年来, 温和高温的相关研究已经发现了几类有趣的环境高温感受器, 环境高温直接地改变光敏色素phyB活性及夜晚复合体组分ELF3的LLPS, 植物从而感知并传递高温信号(Jung等2016, 2020; Legris等2016)。然而, 当温度升高到胁迫水平时, 植物如何感知最初的HS信号并传递至下游组分仍不清楚。

高温下, 质膜为了维持流动性, 可以响应不同的温度条件以调节其脂肪酸组成等膜蛋白性质。苯甲醇处理导致植物质膜流动性增强, 即使在适宜温度下也能够诱导Ca²⁺内流及HSR, 而钙通道阻滞剂或螯合剂则抑制了Ca²⁺内流和HSR基因表达(Saidi等2009)。因此, 质膜定位的钙通道蛋白可能通过感知膜流动性变化而接收最初的热信号。另一方面, 高温诱导PIPK (phosphatidylinositolphosphate kinase)等的快速激活, 从而导致磷脂酸与PIP₂ (phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate)的积累, 后者是IP₃的前体, 进而可以调动胞内钙库诱导HSR (Tang等2007)。由于这种响应机制非常迅速, 在其上游可能存在着某种热感受器。然而, 目前特异的钙通道感受器或将热信号传递到PIPK的蛋白仍是未知的。枯草芽胞杆菌(*Bacillus subtilis*)中, DesK-DesR双组分调节系统被认为是直接的温度感受器, 温度引起的膜流动性变化直接改变了DesK跨膜域的构象, 使其在激酶/磷酸酶的角色中切换, 并通过下游DesR的激活/抑制来调节核内脂肪酸去饱和酶(*des*)的转录, 最终调节质膜的脂肪酸饱和度来适应温度变化(Cybulski等2015; Inda等2014)。植物中, 高温可能影响膜蛋白复合物的组装或者分离, 或是改变膜蛋白活性使热信号向下传递。此外, 质膜内的微域(microdomains)作为一种液相结构连接了脂质分子、受体蛋白及细胞骨架等组分, 被认为具有信号感知、传递等功能, 温度等环境信号可以快速改变微域特征(Jaillais和Ott 2020)。可以推测, 质膜

定位的蛋白,包括钙通道、类受体激酶及小G蛋白等,可能作为热感受器发挥功能。

热胁迫能够快速诱导SGs的组装,包括在胞质、叶绿体及细胞核内(Hayes等2021)。SGs包含有RNA结合/编辑蛋白、HSPs以及小分子代谢物等组分,最新的研究发现,其中的RNA结合蛋白具有朊病毒样结构域(prion-like domain, PrLD), PrLD对于发生LLPS是十分重要的(Chodasiewicz等2020)。此外,热SGs组分RBGD2/4通过酪氨酸阵列(Tyr residue array)响应热胁迫而发生LLPS,并正向调控植物HSR (Zhu等2022)。最近动物中的研究发现,一些特定位点的PTMs促进HSF1招募转录组分发生共相分离,从而高效地激活靶基因,被诱导的HSP70负调控HSF1的LLPS,反馈调节HSR (Zhang等2022a)。植物中可能也存在相似的激活机制。此外,不同蛋白的热稳定性差异很大,高温也可以直接影响蛋白结构,基于蛋白结构的质谱分析技术(如LiP-MS)可能为植物热感受器的发现提供重要线索(Leuenberger等2017)。

4 总结与展望

全球性的气候变暖对植物产生了深远的影响,更严重地威胁着作物产量。有关植物对高温信号如何感知、转导并做出响应等科学问题得到了越来越多的关注。近年来,科学家们运用生理学、遗传学、分子与生物化学及生物信息学等手段为这个复杂的领域描绘了多彩的本底蓝图。鉴于高温研究的复杂性,我们在本综述中阐明了被广泛接受的高温胁迫、阈值温度及耐热性等定义,提供了植物应对高温胁迫普遍的物候学、生理学及解剖学线索,并对以HsfA1为代表的主要转录调控通路以及相关的调控因子进行了总结。然而,高温胁迫作为一个高度开放的研究领域,有关转录后、翻译后修饰、表观遗传等调控方式也渐渐地露出了冰山一角。

我们提出了目前植物高温胁迫领域中急需解决的科学问题:(1)面对高温,植物如何迅速地响应,其特异的高温胁迫感受器是什么?(2)植物如何分辨并决定细胞命运以调节高温下的生长维持或细胞死亡?(3)核心转录因子HsfA1s完整的激活机制

是什么,信号又如何被终止?(4)高温胁迫显著地影响pre-mRNA的可变剪切及mRNA的翻译过程,其具体的调控机制是什么?(5)自然界中,高温与光信号、生物钟及干旱胁迫等高度偶联,植物如何响应复杂环境的交叉会话?(6)植物在生殖生长期对高温更敏感而相关研究较少,针对该阶段的热胁迫应答机制研究可直接为作物抗逆增产做出突破。(7)结合传统和新兴的遗传学手段寻找植物响应高温胁迫的主效QTL将为作物育种提供重要资源。相信随着传统研究技术的革新、新概念的产生与定义及新型组学技术的开发与应用,将有更多有趣的线索为我们清晰该领域的轮廓,同时也为保护物种多样性及作物抗逆提供重要的理论指导。

参考文献(References)

- Akerfelt M, Morimoto RI, Sistonen L (2010). Heat shock factors: integrators of cell stress, development and lifespan. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 11: 545–555
- Albertos P, Dündar G, Schenk P, et al (2022). Transcription factor BES1 interacts with HSFA1 to promote heat stress resistance of plants. *EMBO J*, 41: e108664
- Ali GS, Golovkin M, Reddy AS (2003). Nuclear localization and *in vivo* dynamics of a plant-specific serine/arginine-rich protein. *Plant J*, 36: 883–893
- Andrási N, Rigó G, Zsigmond L, et al (2019). The mitogen-activated protein kinase 4-phosphorylated heat shock factor A4A regulates responses to combined salt and heat stresses. *J Exp Bot*, 70: 4903–4917
- Bahuguna RN, Jagadish KSV (2015). Temperature regulation of plant phenological development. *Environ Exp Bot*, 111: 83–90
- Bañón S, Fernandez JA, Franco JA, et al (2004). Effects of water stress and night temperature preconditioning on water relations and morphological and anatomical changes of *Lotus creticus* plants. *Sci Hort*, 101: 333–342
- Cao W, Jamison SF, Garcia-Blanco MA (1997). Both phosphorylation and dephosphorylation of ASF/SF2 are required for pre-mRNA splicing *in vitro*. *RNA*, 3: 1456–1467
- Cavrak VV, Lettner N, Jamge S, et al (2014). How a retrotransposon exploits the plant's heat stress response for its activation. *PLOS Genet*, 10: e1004115
- Chang CY, Lin WD, Tu SL (2014). Genome-wide analysis of heat-sensitive alternative splicing in *Physcomitrella patens*. *Plant Physiol*, 165: 826–840
- Chao LM, Liu YQ, Chen DY, et al (2017). *Arabidopsis* tran-

- scription factors SPL1 and SPL12 confer plant thermotolerance at reproductive stage. *Mol Plant*, 10: 735–748
- Chang YY, Liu HC, Liu NY, et al (2007). A heat-inducible transcription factor, HsfA2, is required for extension of acquired thermotolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 143: 251–262
- Che P, Bussell JD, Zhou W, et al (2010). Signaling from the endoplasmic reticulum activates brassinosteroid signaling and promotes acclimation to stress in *Arabidopsis*. *Sci Signal*, 3: ra69
- Chen H, Hwang JE, Lim CJ, et al (2010). *Arabidopsis* DRE-B2C functions as a transcriptional activator of *HsfA3* during the heat stress response. *Biochem Biophys Res Commun*, 401: 238–244
- Chen ST, He NY, Chen JH, et al (2017). Identification of core subunits of photosystem II as action sites of HSP21, which is activated by the GUN5-mediated retrograde pathway in *Arabidopsis*. *Plant J*, 89: 1106–1118
- Chodasiewicz M, Sokolowska EM, Nelson-Dittrich AC, et al (2020). Identification and characterization of the heat-induced plastidial stress granules reveal new insight into *Arabidopsis* stress response. *Front Plant Sci*, 11: 595792
- Church J, Clark P, Cazenave A, et al (2013). Sea level change. In: Stocker TF, Qin D, Plattner GK, et al (eds). *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge, UK and New York, USA: Cambridge University Press, 1138–1191
- Clarke SM, Cristescu SM, Miersch O, et al (2009). Jasmonates act with salicylic acid to confer basal thermotolerance in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol*, 182: 175–187
- Cybulski LE, Ballering J, Moussatova A, et al (2015). Activation of the bacterial thermosensor DesK involves a serine zipper dimerization motif that is modulated by bilayer thickness. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112: 6353–6358
- Deng Y, Humbert S, Liu JX, et al (2011). Heat induces the splicing by IRE1 of a mRNA encoding a transcription factor involved in the unfolded protein response in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108: 7247–7252
- Ding H, He J, Wu Y, et al (2018). The tomato mitogen-activated protein kinase SIMPK1 is as a negative regulator of the high-temperature stress response. *Plant Physiol*, 177: 633–651
- Evrard A, Kumar M, Lecourieux D, et al (2013). Regulation of the heat stress response in *Arabidopsis* by MPK6-targeted phosphorylation of the heat stress factor HsfA2. *PeerJ*, 1: e59
- Fang X, Zhao G, Zhang S, et al (2019). Chloroplast-to-nucleus signaling regulates microRNA biogenesis in *Arabidopsis*. *Dev Cell*, 48: 371–382
- Finka A, Cuendet AF, Maathuis FJ, et al (2012). Plasma membrane cyclic nucleotide gated calcium channels control land plant thermal sensing and acquired thermotolerance. *Plant Cell*, 24: 3333–3348
- Friedrich T, Oberkofler V, Trindade I, et al (2021). Heteromeric HSFA2/HSFA3 complexes drive transcriptional memory after heat stress in *Arabidopsis*. *Nat Commun*, 12: 3426
- Gao F, Han X, Wu J, et al (2012). A heat-activated calcium-permeable channel-*Arabidopsis* cyclic nucleotide-gated ion channel 6 is involved in heat shock responses. *Plant J*, 70: 1056–1069
- Gao K, Liu YL, Li B, et al (2014). *Arabidopsis thaliana* phosphoinositide-specific phospholipase C isoform 3 (AtPLC3) and AtPLC9 have an additive effect on thermotolerance. *Plant Cell Physiol*, 55: 1873–1883
- Gomez-Pastor R, Burchfiel ET, Thiele DJ (2018). Regulation of heat shock transcription factors and their roles in physiology and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 19: 4–19
- Guan Q, Lu X, Zeng H, et al (2013). Heat stress induction of miR398 triggers a regulatory loop that is critical for thermotolerance in *Arabidopsis*. *Plant J*, 74: 840–851
- Guan Q, Yue X, Zeng H, et al (2014). The protein phosphatase RCF2 and its interacting partner NAC019 are critical for heat stress-responsive gene regulation and thermotolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 26: 438–453
- Hahn A, Bublak D, Schleiff E, et al (2011). Crosstalk between Hsp90 and Hsp70 chaperones and heat stress transcription factors in tomato. *Plant Cell*, 23: 741–755
- Han SH, Park YJ, Park CM (2020). HOS1 activates DNA repair systems to enhance plant thermotolerance. *Nat Plants*, 6: 1439–1446
- Hayes S, Schachtschabel J, Mishkind M, et al (2021). Hot topic: thermosensing in plants. *Plant Cell Environ*, 44: 2018–2033
- He NY, Chen LS, Sun AZ, et al (2022). A nitric oxide burst at the shoot apex triggers a heat-responsive pathway in *Arabidopsis*. *Nat Plants*, 8: 434–450
- Hedhly A (2011). Sensitivity of flowering plant gametophytes to temperature fluctuations. *Environ Exp Bot*, 74: 9–16
- Holcik M, Sonenberg N (2005). Translational control in stress and apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 6: 318–327
- Hsieh EJ, Cheng MC, Lin TP (2013). Functional characterization of an abiotic stress-inducible transcription factor AtERF53 in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol*, 82: 223–237
- Huang YC, Niu CY, Yang CR, et al (2016). The heat stress factor HSFA6b connects ABA signaling and ABA-mediated heat responses. *Plant Physiol*, 172: 1182–1199

- Ikeda M, Mitsuda N, Ohme-Takagi M (2011). *Arabidopsis* HsfB1 and HsfB2b act as repressors of the expression of heat-inducible *Hsfs* but positively regulate the acquired thermotolerance. *Plant Physiol*, 157: 1243–1254
- Inda ME, Vandenbranden M, Fernández A, et al (2014). A lipid-mediated conformational switch modulates the thermosensing activity of DesK. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111: 3579–3584
- Jacob P, Hirt H, Bendahmane A (2017). The heat-shock protein/chaperone network and multiple stress resistance. *Plant Biotechnol J*, 15: 405–414
- Jaillais Y, Ott T (2020). The nanoscale organization of the plasma membrane and its Importance in signaling: a proteolipid perspective. *Plant Physiol*, 182: 1682–1696
- Jiang J, Liu X, Liu C, et al (2017). Integrating omics and alternative splicing reveals insights into grape response to high temperature. *Plant Physiol*, 173: 1502–1518
- Jo SH, Park HJ, Lee A, et al (2022). The *Arabidopsis* cyclophilin CYP18-1 facilitates PRP18 dephosphorylation and the splicing of introns retained under heat stress. *Plant Cell*, 34: 2383–2403
- Jung JH, Barbosa AD, Hutin S, et al (2020). A prion-like domain in ELF3 functions as a thermosensor in *Arabidopsis*. *Nature*, 585: 256–260
- Jung JH, Domijan M, Klose C, et al (2016). Phytochromes function as thermosensors in *Arabidopsis*. *Science*, 354: 886–889
- Kan Y, Mu XR, Zhang H, et al (2022). *TT2* controls rice thermotolerance through SCT1-dependent alteration of wax biosynthesis. *Nat Plants*, 8: 53–67
- Kim JS, Mizoi J, Kidokoro S, et al (2012). *Arabidopsis* GROWTH-REGULATING FACTOR7 functions as a transcriptional repressor of abscisic acid- and osmotic stress-responsive genes, including *DREB2A*. *Plant Cell*, 24: 3393–3405
- Kim SC, Guo L, Wang X (2020). Nuclear moonlighting of cytosolic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase regulates *Arabidopsis* response to heat stress. *Nat Commun*, 11: 3439
- Kmiecik SW, Mayer MP (2022). Molecular mechanisms of heat shock factor 1 regulation. *Trends Biochem Sci*, 47: 218–234
- Lämke J, Brzezinka K, Altmann S, et al (2016). A hit-and-run heat shock factor governs sustained histone methylation and transcriptional stress memory. *EMBO J*, 35: 162–175
- Larkindale J, Vierling E (2008). Core genome responses involved in acclimation to high temperature. *Plant Physiol*, 146: 748–761
- Legris M, Klose C, Burgie ES, et al (2016). Phytochrome B integrates light and temperature signals in *Arabidopsis*. *Science*, 354: 897–900
- Leuenberger P, Gansch S, Kahraman A, et al (2017). Cell-wide analysis of protein thermal unfolding reveals determinants of thermostability. *Science*, 355: eaai7825
- Li B, Gao K, Ren H, et al (2018). Molecular mechanisms governing plant responses to high temperatures. *J Integr Plant Biol*, 60: 757–779
- Li B, Gao Z, Liu X, et al (2019). Transcriptional profiling reveals a time-of-day-specific role of REVEILLE 4/8 in regulating the first wave of heat shock-induced gene expression in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 31: 2353–2369
- Li S, Liu J, Liu Z, et al (2014). *HEAT-INDUCED TAS1 TARGET1* mediates thermotolerance via HEAT STRESS TRANSCRIPTION FACTOR A1a-directed pathways in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 26: 1764–1780
- Li S, Zhou X, Chen L, et al (2010). Functional characterization of *Arabidopsis thaliana* WRKY39 in heat stress. *Mol Cells*, 29: 475–483
- Li XM, Chao DY, Wu Y, et al (2015). Natural alleles of a proteasome $\alpha 2$ subunit gene contribute to thermotolerance and adaptation of African rice. *Nat Genet*, 47: 827–833
- Li Y, Williams B, Dickman M (2017). *Arabidopsis* B-cell lymphoma2 (Bcl-2)-associated athanogene 7 (BAG7)-mediated heat tolerance requires translocation, sumoylation and binding to WRKY29. *New Phytol*, 214: 695–705
- Li Z, Yue H, Xing D (2012). MAP Kinase 6-mediated activation of vacuolar processing enzyme modulates heat shock-induced programmed cell death in *Arabidopsis*. *New Phytol*, 195: 85–96
- Ling Y, Mahfouz MM, Zhou S (2021). Pre-mRNA alternative splicing as a modulator for heat stress response in plants. *Trends Plant Sci*, 26: 1153–1170
- Ling Y, Serrano N, Gao G, et al (2018). Thermopriming triggers splicing memory in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 69: 2659–2675
- Liu HC, Liao HT, Charng YY (2011). The role of class A1 heat shock factors (HSFA1s) in response to heat and other stresses in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ*, 34: 738–751
- Liu HT, Gao F, Li GL, et al (2008). The calmodulin-binding protein kinase 3 is part of heat-shock signal transduction in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 55: 760–773
- Liu HT, Li GL, Chang H, et al (2007a). Calmodulin-binding protein phosphatase PP7 is involved in thermotolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ*, 30: 156–164
- Liu J, Feng L, Gu X, et al (2019). An H3K27me3 demethylase-HSFA2 regulatory loop orchestrates transgenerational thermomemory in *Arabidopsis*. *Cell Res*, 29: 379–390
- Liu J, Sun N, Liu M, et al (2013). An autoregulatory loop controlling *Arabidopsis* *HsfA2* expression: role of heat shock-induced alternative splicing. *Plant Physiol*, 162:

- 512–521
- Liu JX, Srivastava R, Che P, et al (2007b). An endoplasmic reticulum stress response in *Arabidopsis* is mediated by proteolytic processing and nuclear relocation of a membrane-associated transcription factor, bZIP28. *Plant Cell*, 19: 4111–4119
- Liu JX, Srivastava R, Che P, et al (2007c). Salt stress responses in *Arabidopsis* utilize a signal transduction pathway related to endoplasmic reticulum stress signaling. *Plant J*, 51: 897–909
- Liu XH, Lyu YS, Yang W, et al (2020). A membrane-associated NAC transcription factor OsNTL3 is involved in thermotolerance in rice. *Plant Biotechnol J*, 18: 1317–1329
- Meiri D, Breiman A (2009). *Arabidopsis* ROF1 (FKBP62) modulates thermotolerance by interacting with HSP90.1 and affecting the accumulation of HsfA2-regulated sHSPs. *Plant J*, 59: 387–399
- Merret R, Descombin J, Juan YT, et al (2013). XRN4 and LARP1 are required for a heat-triggered mRNA decay pathway involved in plant acclimation and survival during thermal stress. *Cell Rep*, 5: 1279–1293
- Mittler R, Finka A, Goloubinoff P (2012). How do plants feel the heat? *Trends Biochem Sci*, 37: 118–125
- Mizoi J, Kanazawa N, Kidokoro S, et al (2019). Heat-induced inhibition of phosphorylation of the stress-protective transcription factor DREB2A promotes thermotolerance of *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem*, 294: 902–917
- Monte I, Kneeshaw S, Franco-Zorrilla JM, et al (2020). An ancient COI1-independent function for reactive electrophilic oxylipins in thermotolerance. *Curr Biol*, 30: 962–971
- Nover L, Bharti K, Döring P, et al (2001). *Arabidopsis* and the heat stress transcription factor world: how many heat stress transcription factors do we need? *Cell Stress Chaperones*, 6: 177–189
- Ohama N, Kusakabe K, Mizoi J, et al (2016). The transcriptional cascade in the heat stress response of *Arabidopsis* is strictly regulated at the level of transcription factor expression. *Plant Cell*, 28: 181–201
- Ohama N, Sato H, Shinozaki K, et al (2017). Transcriptional regulatory network of plant heat stress response. *Trends Plant Sci*, 22: 53–65
- Palusa SG, Ali GS, Reddy AS (2007). Alternative splicing of pre-mRNAs of *Arabidopsis* serine/arginine-rich proteins: regulation by hormones and stresses. *Plant J*, 49: 1091–1107
- Pérez-Salamó I, Papdi C, Rigó G, et al (2014). The heat shock factor A4A confers salt tolerance and is regulated by oxidative stress and the mitogen-activated protein kinases MPK3 and MPK6. *Plant Physiol*, 165: 319–334
- Qin D, Wu H, Peng H, et al (2008a). Heat stress-responsive transcriptome analysis in heat susceptible and tolerant wheat (*Triticum aestivum* L.) by using wheat genome array. *BMC Genomics*, 9: 432
- Qin F, Sakuma Y, Tran LS, et al (2008b). *Arabidopsis* DREB2A-interacting proteins function as RING E3 ligases and negatively regulate plant drought stress-responsive gene expression. *Plant Cell*, 20: 1693–1707
- Reindl A, Schöffl F, Schell J, et al (1997). Phosphorylation by a cyclin-dependent kinase modulates DNA binding of the *Arabidopsis* heat-shock transcription factor HSF1 *in vitro*. *Plant Physiol*, 115: 93–100
- Richter K, Haslbeck M, Buchner J (2010). The heat shock response: life on the verge of death. *Mol Cell*, 40: 253–266
- Rizhsky L, Liang H, Shuman J, et al (2004). When defense pathways collide. The response of *Arabidopsis* to a combination of drought and heat stress. *Plant Physiol*, 134: 1683–1696
- Rubtsova MP, Sizova DV, Dmitriev SE, et al (2003). Distinctive properties of the 5'-untranslated region of human Hsp70 mRNA. *J Biol Chem*, 278: 22350–22356
- Saidi Y, Finka A, Muriset M, et al (2009). The heat shock response in moss plants is regulated by specific calcium-permeable channels in the plasma membrane. *Plant Cell*, 21: 2829–2843
- Sakuma Y, Maruyama K, Qin F, et al (2006). Dual function of an *Arabidopsis* transcription factor DREB2A in water-stress-responsive and heat-stress-responsive gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103: 18822–18827
- Sato H, Mizoi J, Tanaka H, et al (2014). *Arabidopsis* DPB3-1, a DREB2A interactor, specifically enhances heat stress-induced gene expression by forming a heat stress-specific transcriptional complex with NF-Y subunits. *Plant Cell*, 26: 4954–4973
- Scharf KD, Berberich T, Ebersberger I, et al (2012). The plant heat stress transcription factor (Hsf) family: structure, function and evolution. *Biochim Biophys Acta*, 1819: 104–119
- Sharkey TD, Zhang R (2010). High temperature effects on electron and proton circuits of photosynthesis. *J Integr Plant Biol*, 52: 712–722
- Shin C, Feng Y, Manley JL (2004). Dephosphorylated SRp38 acts as a splicing repressor in response to heat shock. *Nature*, 427: 553–558
- Song ZT, Zhang LL, Han JJ, et al (2021). Histone H3K4 methyltransferases SDG25 and ATX1 maintain heat-stress gene expression during recovery in *Arabidopsis*. *Plant J*, 105: 1326–1338
- Stief A, Altmann S, Hoffmann K, et al (2014). *Arabidopsis*

- miR156 regulates tolerance to recurring environmental stress through *SPL* transcription factors. *Plant Cell*, 26: 1792–1807
- Sugio A, Dreos R, Aparicio F, et al (2009). The cytosolic protein response as a subcomponent of the wider heat shock response in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 21: 642–654
- Suzuki N, Sejima H, Tam R, et al (2011). Identification of the MBF1 heat-response regulon of *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 66: 844–851
- Szádeczky-Kardoss I, Szaker HM, Verma R, et al (2022). Elongation factor TFIIS is essential for heat stress adaptation in plants. *Nucleic Acids Res*, 50: 1927–1950
- Tang RH, Han S, Zheng H, et al (2007). Coupling diurnal cytosolic Ca^{2+} oscillations to the CAS-IP3 pathway in *Arabidopsis*. *Science*, 315: 1423–1426
- Tewolde H, Fernandez CJ, Erickson CA (2006). Wheat cultivars adapted to post-heading high temperature stress. *J Agron Crop Sci*, 192: 111–120
- Tunc-Ozdemir M, Tang C, Ishka MR, et al (2013). A cyclic nucleotide-gated channel (CNGC16) in pollen is critical for stress tolerance in pollen reproductive development. *Plant Physiol*, 161: 1010–1020
- Vainonen JP, Jaspers P, Wrzaczek M, et al (2012). RCD1-DREB2A interaction in leaf senescence and stress responses in *Arabidopsis thaliana*. *Biochem J*, 442: 573–581
- Vu LD, Gevaert K, De Smet I (2019). Feeling the heat: searching for plant thermosensors. *Trends Plant Sci*, 24: 210–219
- Wahid A, Gelani S, Ashraf M, et al (2007). Heat tolerance in plants: an overview. *Environ Exp Bot*, 61: 199–223
- Wang L, Guo Y, Jia L, et al (2014). Hydrogen peroxide acts upstream of nitric oxide in the heat shock pathway in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Physiol*, 164: 2184–2196
- Weng M, Yang Y, Feng H, et al (2014). Histone chaperone ASF1 is involved in gene transcription activation in response to heat stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ*, 37: 2128–2138
- Wu A, Allu AD, Garapati P, et al (2012). *JUNGBRUNNEN1*, a reactive oxygen species-responsive NAC transcription factor, regulates longevity in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 24: 482–506
- Yoshida T, Ohama N, Nakajima J, et al (2011). *Arabidopsis* HsfA1 transcription factors function as the main positive regulators in heat shock-responsive gene expression. *Mol Genet Genomics*, 286: 321–332
- Zhang H, Shao S, Zeng Y, et al (2022a). Reversible phase separation of HSF1 is required for an acute transcriptional response during heat shock. *Nat Cell Biol*, 24: 340–352
- Zhang J, Li H, Huang X, et al (2022b). STAYGREEN-mediated chlorophyll a catabolism is critical for photosystem stability during heat-induced leaf senescence in perennial ryegrass. *Plant Cell Environ*, 45: 1412–1427
- Zhang W, Zhou RG, Gao YJ, et al (2009). Molecular and genetic evidence for the key role of AtCaM3 in heat-shock signal transduction in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 149: 1773–1784
- Zhao C, Liu B, Piao S, et al (2017). Temperature increase reduces global yields of major crops in four independent estimates. *Proc Natl Acad Sci USA*, 114: 9326–9331
- Zhu S, Gu J, Yao J, et al (2022). Liquid-liquid phase separation of RBGD2/4 is required for heat stress resistance in *Arabidopsis*. *Dev Cell*, 57: 583–597