

植物昼夜节律及其对非生物逆境的响应

高晓敏, 王琚钢*, 刘亚男, 马海洋, 陈菁, 石伟琦

中国热带农业科学院南亚热带作物研究所, 农业部热带果树生物学重点实验室, 海南省热带作物营养重点实验室, 广东湛江524091

摘要: 昼夜节律属于具有周期性的生物节律, 受到包括非生物胁迫在内许多外界环境的影响。植物昼夜节律与外界环境越相适应, 对非生物胁迫的耐受力越高。本文综述了植物昼夜节律的特点, 生物钟结构及调控, 植物昼夜节律对干旱、盐、寒冷三种非生物胁迫的响应, 并对未来植物昼夜节律与非生物胁迫相互关系的研究前景进行了展望。

关键词: 昼夜节律; 非生物胁迫; 拟南芥; 生物钟

为适应行星自转, 地球上大多数生物产生了一种时间维持机制——昼夜节律(circadian rhythm), 它是指生命活动以一定时间为周期的变动(McClung 2006)。昼夜节律控制着植物的许多重要生理过程, 如: 胚轴伸长、叶片运动、气孔开关及开花等(Greenham和McClung 2015; 韩晓芳等2016), 它可以使生物预计外界环境波动, 协调重要生理活动和发育过程在一天中合适时间发生, 提高对环境的适应性(Yerushalmi和Green 2009)。

植物在生长发育过程中经常要面对各种非生物逆境, 常见的非生物胁迫因素有干旱、盐胁迫及冻害等(Kaneshiro和Strome 2017; 孙聪聪等2017; 赵超等2017), 这些逆境严重影响作物产量和生态系统生产力, 全球农业每年仅因干旱导致经济损失就达上百亿美元(Asner等2016)。在遭受非生物胁迫时, 植物的昼夜节律也会发生变化, 使其能更好应对环境变化(Seo和Mas 2015)。

植物昼夜节律及其对各种非生物逆境的响应机制一直是植物生理和生态学研究热点, 但这些过程的详细机制并未明了(Seo和Mas 2015)。此外, 从现有发表文献上来看, 我国科研工作者对植物昼夜节律研究相对较少。基于这两个原因, 我们首先对植物昼夜节律进行了概述, 介绍了植物昼夜节律的特点及生物钟组分; 在此基础上, 综述了植物昼夜节律和干旱、寒冷、盐胁迫三种非生物逆境的相互作用; 最后对未来研究进行了展望。

1 植物昼夜节律研究概况

1.1 植物昼夜节律的特点

1.1.1 内源性

人类最早对植物昼夜节律的描述是叶片运动, 不过一直认为它是由光照引起的。1729年, de Mairan发现含羞草(*Mimosa pudica*)叶片能在持续

黑暗条件下运动, 因而指出叶片运动不是简单由光照引起, 可能是一种内源现象(McClung 2006)。不过当时大多数人仍认为叶片运动是由地球自转引发的光照变化引起的, 而de Mairan的实验结果可能是光漏进暗室所致。随后Pfeffer发现大量植物的叶片运动周期不是精确的24 h, 并不符合地球1个太阳日为严格的24 h这一事实(McClung 2006); 而直到粗糙脉孢菌(*Neurospora crassa*)在太空中相关实验的进行, 才彻底证明昼夜节律是内源引起, 因为它在太空中的节律并不受地球自转相关物理现象影响(Moore-Ede和Wassmer 1984)。

生物体大多数现象, 包括昼夜节律都与基因表达有关。昼夜节律是某一行为在某一时间开始, 另一时间结束, 就像时钟一样, 所以昼夜节律的分子基础被称为生物钟(circadian clock)。早期植物生物钟研究进展缓慢, 随着拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)基因组的破译(*Arabidopsis* Genome Initiative 2000), RNA干扰和基因敲除等技术的成熟, 我们对植物生物钟的了解逐渐加深(Serikawa等2008)。

1.1.2 授时因子

植物昼夜节律并非一成不变, 而是可被一些环境因子重置, 这些因子被称为“授时因子”(zeitgeber), 光照和温度是植物昼夜节律的两个授时因子(McClung 2006)。

de Candolle在测定含羞草叶片运动周期时发现, 如果将昼夜颠倒, 叶片运动规律随之发生变化。光照作为植物昼夜节律的授时因子很少有人

收稿 2017-04-17 修定 2017-10-20

资助 中央级非盈利性科研院所基本科研业务费专项(1630062016005)和内蒙古自然科学基金(2016MS0343)。

* 通讯作者(E-mail: wangjugang123456@126.com)。

质疑,因为在同一地点,光照强度会在时间维度上发生有规律的变化(McClung 2006)。在植物中,光敏色素和隐花色素负责光线感知(McClung和Davis 2010), ZEITLUPE (ZTL)、GIGANTEA (GI) (Kim等 2007)和LNK (light-inducible and clock-regulated) 1/2 (Rugnone等2013)联系着植物生物钟和光敏色素。

在验证植物昼夜节律是内源性时,研究者意识到温度变化可能是驱动叶片运动节律变化的另一因子(McClung 2006)。植物是如何感知温度信号并和生物钟相互作用的详细机制并未明了,一般认为温度诱导的可变剪切是这一机制的基础。低温诱导生物钟组分late elongated hypocotyl (LHY)、pseudo response regulator 5/7/9 (PRR5/7/9)和timing of CAB expression 1 (TOC1)的可变剪切,而高温诱导circadian clock associated 1 (CCA1)、early flowering 3 (ELF3)和time for coffee (TIC)的可变剪切(Filichkin和Mockler 2012)。CCA1的可变剪切通过保留4个内含子来完成,高温诱导下形成一个CCA1 β 剪切变体,该剪切变体缺乏MYB转录因子的DNA结合结构域,但保留了和LHY互作的二聚结构域,形成无功能二聚体干扰正常二聚体(CCA1 α 二聚体)的形成(Seo等2012)。LHY的可变剪切同样依赖温度,但常温下LHY剪切变体的RNA前体很快被不敏感介导降解途径(nonsense mediated decay, NMD; 一个降解含有终止密码子RNA的质控过程)降解,所以LHY只在低温下存在可变剪切(James等 2012)。另外, Nagel等(2014)在拟南芥中发现一个转录因子FBH1 (flowering basic helix-loop-helix 1),它和生物钟组分CCA1存在着负调控作用,也调控拟南芥对温度的响应。

1.1.3 温度补偿效应

对大多生化反应来说,如果温度上升10°C (在不影响酶活性的前提下),反应速率至少是原来的2倍。但Bünning发现,温度上升10°C后,菜豆(*Phaseolus coccineus*)的叶片运动周期仅变化1.2倍(McClung 2006)。自然环境中温度波动较大,但昼夜节律在一定温度范围内保持相对恒定,这就是昼夜节律的温度补偿(temperature compensation)效应(Kidd等2015)。Gould等(2006)分析了拟南芥昼夜节律温度补偿的分子机理:温度上升时,TOC1和GI的RNA表达曲线的振幅和相位都随着温度上升而上升,而温度下降时,则是CCA1和LHY表达曲线的振

幅和相位上升;高温下GI和LHY的表达处于动态平衡状态,低温下CCA1比LHY的补偿效应更好,而正常温度下GI似乎对拟南芥的昼夜节律周期没有影响;CCA1/LHY和GI等其他基因间的动态平衡是温度补偿的基础。

1.1.4 多样性

植物昼夜节律的多样性包括3个层面:不同物种、同一物种的不同种群或个体以及同一个体的不同器官。

(1)物种。植物昼夜节律周期大多在22~26 h上变动(Pan等2015),通常将昼夜节律定义为生命活动以约24 h为周期的变动(McClung 2006; Nagel等2014; Pan等2015)。但这并不正确, Gyllenstrand等(2014)发现云杉(*Picea abies*)的昼夜节律周期小于6 h,远低于24 h; Muranaka等(2015)检测了5种浮萍植物*Landoltia punctata*、*Lemna aequinoctialis*、*Lemna gibba*、*Spirodela polyrhiza*、*Wolffia columbiana*在固定光照周期及开放条件下的昼夜节律,不同种的浮萍植物在固定周期条件下昼夜节律输出保守,但在开放条件下,昼夜节律周期长度和可持续性呈现了多样性。不同物种植物的昼夜节律呈现多样性在其生物钟上也有验证: Gyllenstrand等(2014)发现不同植物生物钟基因的DNA序列存在较大差异; Kusakina等(2015)从大麦(*Hordeum vulgare*)中克隆出一个光周期相关基因*HvPpd-H1*,拟南芥中不存在类似基因,但将该基因转化到拟南芥中,拟南芥昼夜节律发生明显改变。

(2)种群或个体。Salmela等(2016)研究了十字花科(Brassicaceae)植物*Boechera stricta*不同种群的昼夜节律,发现种群间样品昼夜节律周期差别不到1 h,但同一种群内不同家系样本差别能够达到3.5 h。Shor和Green (2016)发现番茄(*Lycopersicon esculentum*)从南美赤道地区向外传播和驯化的过程中,昼夜节律发生了明显改变,这种改变导致了番茄植株逐步适应了高纬地区夏季日照逐渐增长的特征。Dattolo等(2015)发现海洋被子植物*Posidonia oceanica*的昼夜节律周期长度随着海水深度发生变化,在5~20 m范围内周期长度变化达6 h。在生物钟水平上,业已证实欧洲赤松(*Pinus sylvestris*) (Kujala和Savolainen 2012)和拟南芥(de Montaigu等 2015)相同条件下不同个体间昼夜节律差异与生物钟基因序列差异和表达变化有关。

(3)同一个体的不同器官。植物的地上部分和根系、叶脉和叶肉、叶片正反面、叶片的底部和顶部、保卫细胞与叶肉细胞和表皮细胞相比昼夜节律都存在差异(Endo 2016)。此外, 尽管生物钟组分相同, 但矮牵牛(*Petunia hybrida*) (Fenske和Imaizumi 2016)和烟草(*Nicotiana attenuata*) (Yon等2016)的花朵也存在自己独特的昼夜节律, 控制着花朵开放时间和特殊气味释放, 以此来吸引传粉昆虫。昼夜节律呈现出器官特异性的详细机制尚不清楚, Bordage等(2016)发现, 拟南芥根系和地上部分昼夜节律差异与光线的输入有关, 并且受不同器官中蔗糖含量的影响; 而保卫细胞与叶肉细胞和表皮细胞之间昼夜节律差异的信使可能是 Ca^{2+} (Endo 2016)。

1.2 植物生物钟组分

植物中克隆的第一个生物钟基因是*CCA1* (Wang和Tobin 1998), 随着荧光素酶(luciferase, LUC)的发现以及植物转基因技术体系的成熟(Welsh等2005), 科研工作者在模式植物拟南芥中发现了大量生物钟组分(表1)。

尽管不同植物的生物钟基因各有差异, 但其功能相对保守(de Caluwé等2016)。这些生物钟组分互相作用, 在转录水平形成了复杂的连锁反馈回路。生物钟模型多种多样, 一个简单植物生物钟模型包含3个回路: *CCA1*、*LHY*和*TOC1*构成的核心回路; *PRR5/7/9*组成的白昼回路; *ELF3*、*ELF4*、*GI*和*LUX*形成夜晚回路(Romanowski和Yanovsky 2015)。我们根据已验证功能的拟南芥中生物钟组分, 重新绘制了一个简单植物生物钟模型(图1)。

生物钟基因的精确表达, 除了转录水平上调控, 还有转录后调控。而转录后调控又包含 RNA 和蛋白两个层面(Hsu和Harmer 2014)。Romanowski和Yanovsky (2015)曾详细综述了高等植物生物钟基因的RNA转录后调控, 包括mRNA前体处理(可变剪切)、RNA错配及修复、翻译调控、lncRNA (long non-coding RNA)和miRNA (microRNA)与目标RNA的相互作用, 我们不再赘述。

植物生物钟蛋白水平上转录后调控主要指蛋白之间相互作用来调控蛋白稳定性, 目前发现的植物生物钟蛋白水平上相互作用包括: *DET1* (Lau等2011)、*PRR5/7/9* (Wang等2013)对*CCA1/LHY*表

达有抑制作用; *GI*通过与*ELF4*的物理结合来调控*GI*在细胞质和细胞核中不同功效(Kim等2013c); *ZTL*和*TOC1*、*PRR5*相互作用调控蛋白酶体水解(Más等2003); *ZTL*和*GI*相互之间的物理作用调控各自稳定性(Kim等2013a); *ELF3*、*COP1*的E3泛素连接酶和*GI*之间的相互物理作用促进*GI*蛋白的降解(Yu等2008)。除了蛋白质之间直接相互作用外, *PRR*家族[主要是*TOC1* (*PRR1*)和*PRR5*]蛋白磷酸化可以抑制*ZTL*介导的蛋白酶体水解(Wang等2010)。

2 植物昼夜节律对非生物逆境的响应

一般而言, 植物对非生物胁迫的耐受力提高与增加营养吸收、改变体内激素平衡、增强活性氧清除系统活性和渗透调节物的合成有关(Loudet和Hasegawa 2017), 生物钟则控制着植物的养分稳态(Haydon等2015)、激素合成与信号传导(Atamian和Harmer 2016)、氧化还原反应(Zhou等2015)和一些主要渗透调节物质的浓度变化(Greenham和McClung 2015), 这表明植物在面对非生物逆境时生物钟和外界环境因子肯定发生了复杂的相互作用。大多数植物从环境中获得的能量是一定的, 生物钟和环境因子相互作用同样遵循能量守恒定律, Seo和Mas (2015)通过总结相关文献后认为, 植物在一天中不同时间遭受非生物胁迫的程度并不相同, 而生物钟通过控制各种代谢和生理活动, 将宝贵的能量从应对各种胁迫转移到生长中, 这是昼夜节律与外界环境精确同步来提高植物对非生物逆境耐受力的核心。

能够引起非生物胁迫的因子有很多, 然而植物昼夜节律对不同的非生物胁迫有着不同的响应机制。在这里我们选择干旱、寒冷与盐胁迫3种常见的非生物逆境进行具体阐述。

2.1 昼夜节律与植物干旱胁迫应答

干旱与植物昼夜节律存在直接关系在许多物种中已有验证(Kielbowicz-Matuk等2014; Marcolino-Gomes等2014; Wilkins等2010)。大部分干旱胁迫应答基因和干旱触发的生理活动都表现出昼夜表达模式(Marcolino-Gomes等2014)。干旱胁迫会触发了一些信号传导途径, 激活植物保护反应。比如, 在植物各种胁迫应答中都有非常重要作用的丝裂源活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,

表1 拟南芥中已知的生物钟相关基因
Table 1 Known *Arabidopsis* genes with circadian clock function

基因	全称	功能	生物钟中表型	
			缺表达	过表达
<i>CCA1</i>	<i>circadian clock associated 1</i>	MYB转录因子	周期缩短	无节律
<i>CKB3</i>	<i>casein kinase II β-subunits 3</i>	II型酪蛋白激酶β亚基	周期变长	周期缩短
<i>CKB4</i>	<i>casein kinase II β-subunits 4</i>	II型酪蛋白激酶β亚基	周期变长	周期缩短
<i>CRY1</i>	<i>cryptochrome 1</i>	蓝光感受器	蓝光下周期变长	蓝光下周期缩短
<i>CRY2</i>	<i>cryptochrome 2</i>	蓝光感受器	蓝光下周期变长	蓝光下周期缩短
<i>CRY3</i>	<i>cryptochrome 3</i>	蓝光感受器/维持 <i>cry1</i> 和 <i>CRY2-OX</i> 突变体正常周期	—	—
<i>DET1</i>	<i>de-etiolated 1</i>	光形态形成的抑制因子	周期缩短	—
<i>ELF3</i>	<i>early flowering 3</i>	PHYB复合物的一部分	持续光照条件下无节律	周期变长
<i>ELF4</i>	<i>early flowering 4</i>	调控核心回路基因	无节律	周期变长
<i>ELF5</i>	<i>early flowering 5</i>	WW结构域蛋白	周期缩短	无影响
<i>ELF6</i>	<i>early flowering 6</i>	锌指蛋白类转录因子	—	—
<i>FBH1</i>	<i>flowering basic helix-loop-helix 1</i>	与 <i>CCA1</i> 启动子结合的 转录因子	—	周期缩短
<i>GI</i>	<i>GIGANTEA</i>	跨膜结构域蛋白	周期缩短	周期缩短
<i>LHY</i>	<i>late elongated hypocotyl</i>	MYB转录因子	周期缩短	无节律
<i>LNK1/2</i>	<i>light-inducible and clock-regulated 1/2</i>	辅活化因子	周期变长	—
<i>LUX</i>	<i>LUX arrythmo</i>	MYB转录因子	无节律	无节律
<i>PHYA</i>	<i>phytochrome a</i>	红光感受器	远红光下周期变长	远红光下周期缩短
<i>PHYB</i>	<i>phytochrome b</i>	红光感受器	红光下周期变长	红光下周期缩短
<i>PHYC</i>	<i>phytochrome c</i>	红光感受器/其他光敏 色素的辅活化因子	—	—
<i>PHYD</i>	<i>phytochrome d</i>	与PHYB功能类似, 在 许多环境中非必需	—	—
<i>PHYE</i>	<i>phytochrome e</i>	红光感受器	无影响	—
<i>PIF3</i>	<i>phytochrome-interacting factor 3</i>	螺旋-环-螺旋转录因子	无影响	无影响
<i>PIF4</i>	<i>phytochrome-interacting factor 4</i>	螺旋-环-螺旋转录因子	—	周期缩短
<i>PIF1/5/6</i>	<i>phytochrome-interacting factor 1/5/6</i>	螺旋-环-螺旋转录因子	—	—
<i>PIF7</i>	<i>phytochrome-interacting factor 7</i>	与 <i>DREB1</i> 启动子结合 的转录因子	光照条件下无影响/ 黑暗条件下周期缩短	—
<i>PRR3</i>	<i>pseudo-response regulator 3</i>	伪反应调节因子	周期缩短	无影响
<i>PRR5</i>	<i>pseudo-response regulator 5</i>	伪反应调节因子	周期缩短	周期变长
<i>PRR7</i>	<i>pseudo-response regulator 7</i>	伪反应调节因子	周期变长	周期易变(无规律)
<i>PRR9</i>	<i>pseudo-response regulator 9</i>	伪反应调节因子	周期变长	周期缩短
<i>REV4/6/8</i>	<i>reveille 4/6/8</i>	辅活化因子	周期变长	周期变短
<i>TOC1</i>	<i>timing of CAB expression 1</i>	伪反应调节因子	周期缩短	无节律
<i>ZTL</i>	<i>ZEITLUPE</i>	F-box蛋白	周期变长	无节律

WW结构域由38~40个氨基酸残基严密组织形成的一个连贯、紧凑的结构域, 以包含两个色氨酸(W)残基为主要特征, 能专一地与含有保守序列(XPPXY; P为脯氨酸, X为任意氨基酸, Y为酪氨酸)的蛋白质相互作用; DEB1: dehydration-responsive element (DRE)-binding 1。

MAPK)信号传导路径(de Zelicourt等2016), 其基因表达受生物钟调控(Bhardwaj等2011)。另外, 干旱胁迫中一个主要调节因子Ca²⁺的浓度受到生物钟调控; 反过来, Ca²⁺影响着生物钟振荡周期(Correia等1995), 而植物生物钟周期直接控制着根系上水孔通道蛋白表达, 在蒸腾不旺盛的时段增加水分

吸收, 以此来适应干旱胁迫(Lopez等2003)。脱落酸(abscisic acid, ABA)在干旱胁迫下积累, 关闭气孔来降低水分消耗, 气孔的开关也是受到昼夜信号的影响, 而且植物在下午似乎对ABA更加敏感, 这与此时Ca²⁺浓度处于最高峰是一致的(Dodd等2005)。

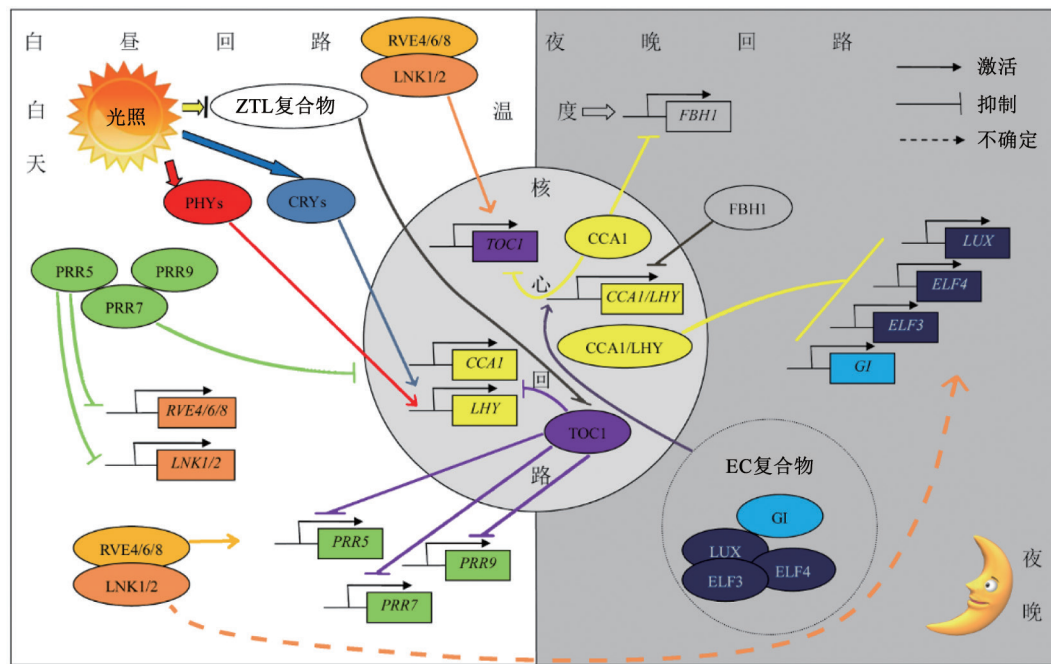


图1 植物生物钟模型

Fig.1 The plant circadian clock model

该植物生物钟模型包含转录水平上核心回路、白昼回路、夜晚回路、新近发现的RVE (reveille)和LNK家族以及光照和温度两个授时因子与生物钟相互作用的网络。白色表示白昼回路,灰色表示夜晚回路,浅灰色表示核心回路;蛋白用椭圆形表示,基因用方框表示;箭头表示激活,带截止符表示抑制,虚线箭头表示目前尚不确定;部分蛋白和基因出现两次的原因是方便绘图。

与干旱胁迫应答有关植物生物钟组分主要是PRRs蛋白。TOC1 (PRR1)已被证实是联系拟南芥生物钟和干旱胁迫应答的一个分子开关(Legnaioli等2009), TOC1与ABA相关基因*ABA-Related/H Subunit of the Magnesium-Proto-Porphyrin IX Chelatase/ Genomes Uncoupled 5 (ABAR/CHLH/GUN5)*启动子结合,控制它们的表达; TOC1表达反过来受ABA诱导,且这种诱导改变了TOC1表达相位;在*ABAR*的RNAi植株中, TOC1受ABA诱导的效应就不存在; TOC1和ABAR过表达或RNAi植株对于干旱胁迫敏感(Pokhilko等2013)。PRR7是另一个可能涉及干旱应答的生物钟组分,大量的ABA/干旱应答基因受PRR7正调控, *PRR5/7/9*的三重突变体(*d579*)在干旱及正常水分条件下都表现出气孔导度下降,这可能与ABA信号传导有关,而PRR7过表达植物表现出对干旱胁迫的高度敏感(Liu等2013)。

疑似生物钟组分TIC也被认为调控植物代谢和干旱胁迫信号传导路径, *tic*突变体淀粉和碳代谢显著改变,体内可溶性糖含量显著升高,并对氧化胁迫和ABA高度敏感,这些表型的改变与干旱耐

受力提高相关(Sanchez-Villarreal等2013)。

2.2 生物钟在调控盐胁迫应答中的作用

盐胁迫严重影响着细胞氧化还原反应和能量供给,重置细胞代谢反应和细胞结构,同属渗透胁迫,所以植物生物钟对盐胁迫的响应很大程度上和干旱胁迫的响应相同(Golldack等2014),在这里我们不再重复叙述,只探讨盐胁迫下生物钟在维持植物细胞内离子平衡中的作用。

生物钟和植物对盐胁迫响应的联系目前看起来集中在GI上,它通过控制SOS(salt overly sensitive)途径来影响植物盐耐受力:正常条件下SOS2会阻止SOS1系统中膜逆向转运蛋白 Na^+/H^+ 的激活,GI和SOS2激酶相互作用,阻止这一过程发生;在盐胁迫条件下,GI和SOS2激酶的复合物可以被26S蛋白酶体酶解,GI从SOS2系统中释放,促进了和SOS3上 Na^+ 感受器间的相互作用,以此来激活SOS1; Na^+ 从细胞中转运出去,植物盐耐受力形成(Kim等2013b)。与这一调控机制一致的是, *gi*突变体增强了盐胁迫耐受性(Kim等2013b)。另外,一些联系着生物钟和ABA的相关基因同样影响植物体内离子

平衡,如*abar/chlh/gun5*突变体影响着 H^+ -ATPase的磷酸化和依赖蓝光的气孔调节,这样就直接建立了渗透胁迫下保卫细胞中ABA、离子平衡和蓝光响应三者之间的相互联系(Tsuzuki等2013)。

值得注意的是,盐胁迫同样反馈调节着植物生物钟的振幅、周期和相位。这种反馈调控的分子机制仍不清楚,其中的关联可能与直接调控生物钟基因表达有关,因为许多生物钟基因的启动子中有大量盐胁迫诱导转录因子结合位点(Habte等2014)。

2.3 昼夜节律和植物对寒冷胁迫响应

植物对低温的适应是通过低温驯化过程来完成,这一过程主要冰点温度以上发生,提高植物对冰点以下温度的耐受力,该过程涉及昼夜节律调节、光强及寒冷胁迫响应(Zhao等2015)。低温响应途径的核心是CBF蛋白[CRT (C-repeat)/DRE (dehydration-responsive element) binding factor],这类蛋白是COR (cold regulated)靶基因的转录激活因子,该响应途径激活初级和次级代谢产物积累,重新建立激素平衡,增加抗冻蛋白的合成来提高植物的低温耐受力(Zhao等2015)。

CBF受低温诱导和生物钟控制,它在白天被诱导表达,夜晚则几乎没有表达,这种时间控制在无节律植物中消失,这说明生物钟控制合适的时间对植物寒冷胁迫应答至关重要(Kurepin等2013)。一些生物钟主要组分涉及CBF表达已被证实:CCA1/LHY直接和CBF启动子结合,正调控该基因的表达,*cca1-11/lhy-21*双重突变体改变了CBFs和COFs正常表达节律,降低植物的低温耐受力(Dong等2011);PRR5/7/9是CBF的负调控因子(Nakamichi等2012),*d579*三重突变体既定表达CBF和其下游基因,提高植物的低温耐受力(Tsuzuki等2013);TOC1和EC复合物同样通过和启动子结合来抑制CBF3表达,这一调控也影响CBF1和CBF2的表达,但相关机制目前还不明了(Keily等2013);PIF7和TOC1一起结合CBF1和CBF2的启动子中G-box元件,抑制它们在夜晚时表达(Seo和Mas 2015)。

昼夜节律不仅控制CBF表达,还影响着低温响应基因,许多植物低温响应基因表现出昼夜节律的表达模式,在白天达到顶峰而夜晚最少(Artlip等2013)。这些低温响应基因启动子中除了ABA顺

式作用元件,还有生物钟组分结合位点,这表明调节昼夜节律和寒冷响应的基因启动子存在着模块集成(Keily等2013)。

在不依赖CBF的低温响应途径中,生物钟组分GI赋予植物寒冷胁迫耐受力,GI缺陷突变体*gi-3*对寒冷敏感,GI不改变CBFs和COFs的表达(Cao等2005),但可以通过增加可溶性糖含量来维持合适的渗透调节(Cao等2007)。

温度是生物钟的授时因子(McClung 2006),所以植物生物钟和寒冷胁迫应答路径的联系是双向的。除了前面所介绍的温度诱导的可变剪切外(Filichkin和Mockler 2012),低温诱导的CBF1通过直接结合LUX的启动子来抑制其转录,对应的是,*lux*突变体幼苗对寒冷胁迫十分敏感(Chow等2014)。另外,植物寒冷胁迫响应途径中一个重要的负调控因子——*HOS1* (high expression of osmotically responsive genes 1)基因E3环形连接酶,也被认为涉及昼夜节律调控(MacGregor等2013)。

概括起来,植物生物钟和低温响应途径紧密相连,形成一个低温胁迫下反馈调节回路,根据温度变化提高植物抗冻耐受力。

3 研究展望

生物钟精确的和外界环境同步,是植物适应性的基础(Caldeira等2014)。植物生物钟的连锁反馈回路不断清晰,但现在仍不能说生物钟组分都已确定。鉴于目前已发现的生物钟组分主要是转录因子,可利用酵母单杂交和双杂交系统筛选新的生物钟组分并验证其功能(Nagel等2014)。此外,生物钟控制着植物的重要农艺性状,加之又存在着器官特异性,这意味着生物钟可以作为一种有效的育种策略,通过高通量测序分析作物生物钟基因的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP),与植物昼夜节律和农艺性状进行关联,构建高密度连锁遗传图谱,实现分子标记辅助育种,加速整个育种进程,目前在大麦育种上已有类似尝试(Kusakina等2015)。

菌根作为一种在陆生系统中普遍存在的共生体,它的存在可以显著改善植物生长和非生物胁迫耐受力(Jayne和Quigley 2014),植物在应对非生物逆境时自身的昼夜节律也发生了明显的改变(Seo和Mas 2015),但植物生物钟研究的模式植物

拟南芥是十字花科植物, 不能形成菌根(Smith和Read 2010), 所以目前还不能确定菌根提高植物生长与非生物胁迫耐受力是否与植物昼夜节律改变有关。深入探讨这一问题, 不仅有助于完善植物昼夜节律与非生物胁迫响应之间联系网络, 还能从另一个角度揭示菌根共生体如何提高植物的生长和对各种逆境的耐受力。

参考文献

- Arabidopsis Genome Initiative (2000). Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature*, 408 (6814): 796–815
- Artlip TS, Wisniewski ME, Bassett CL, Norelli JL (2013). *CBF* gene expression in peach leaf and bark tissues is gated by a circadian clock. *Tree Physiol*, 33 (8): 866–877
- Asner GP, Brodrick PG, Anderson CB, Vaughn N, Knapp DE, Martin RE (2016). Progressive forest canopy water loss during the 2012–2015 California drought. *Proc Natl Acad Sci USA*, 113 (2): E249–E255
- Atamian HS, Harmer SL (2016). Circadian regulation of hormone signaling and plant physiology. *Plant Mol Biol*, 91 (6): 691–702
- Bhardwaj V, Meier S, Petersen LN, Ingle RA, Roden LC (2011). Defence responses of *Arabidopsis thaliana* to infection by *Pseudomonas syringae* are regulated by the circadian clock. *PLoS ONE*, 6 (10): e26968
- Bordage S, Sullivan S, Laird J, Millar AJ, Nimmo HG (2016). Organ specificity in the plant circadian system is explained by different light inputs to the shoot and root clocks. *New Phytol*, 212 (1): 136–149
- Caldeira CF, Jeanguenin L, Chaumont F, Tardieu F (2014). Circadian rhythms of hydraulic conductance and growth are enhanced by drought and improve plant performance. *Nat Commun*, 5: 5365
- Cao SQ, Song YQ, Su L (2007). Freezing sensitivity in the *gigantea* mutant of *Arabidopsis* is associated with sugar deficiency. *Biol Plant*, 51 (2): 359–362
- Cao SQ, Ye M, Jiang S (2005). Involvement of *GIGANTEA* gene in the regulation of the cold stress response in *Arabidopsis*. *Plant Cell Rep*, 24 (11): 683–690
- Chow BY, Sanchez SE, Breton G, Pruneda-Paz JL, Krogan NT, Kay SA (2014). Transcriptional regulation of *LUX* by CBF1 mediates cold input to the circadian clock in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 24 (13): 1518–1524
- Correia MJ, Pereira JS, Chaves MM, Rodrigues ML, Pacheco CA (1995). ABA xylem concentrations determine maximum daily leaf conductance of field-grown *Vitis vinifera* L. plants. *Plant Cell Environ*, 18 (5): 511–521
- Dattolo E, D'Esposito D, Lauritano C, Ruocco M, Procaccini G (2015). Circadian fluctuation of gene expression along the bathymetric cline in the marine angiosperm *Posidonia oceanica*. *Ecol Lett*, 18 (12): 970
- de Caluwé J, Xiao Q, Hermans C, Verbruggen N, Leloup JC, Gonze D (2016). A compact model for the complex plant circadian clock. *Front Plant Sci*, 7: 74
- de Montaigu A, Giakountis A, Rubin M, Tóth R, Cremer F, Sokolova V, Porri A, Reymonda M, Weinig C, Coupland G (2015). Natural diversity in daily rhythms of gene expression contributes to phenotypic variation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112 (3): 905–910
- de Zelicourt A, Colcombet J, Hirt H (2016). The role of MAPK modules and ABA during abiotic stress signaling. *Trends Plant Sci*, 21 (8): 677–685
- Dodd AN, Love J, Webb AAR (2005). The plant clock shows its metal: circadian regulation of cytosolic free Ca^{2+} . *Trends Plant Sci*, 10 (1): 15–21
- Dong MA, Farré EM, Thomashow MF (2011). CIRCADIANT 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 (17): 7241–7246
- Endo M (2016). Tissue-specific circadian clocks in plants. *Curr Opin Plant Biol*, 29: 44–49
- Fenske MP, Imaizumi T (2016). Circadian rhythms in floral scent emission. *Front Plant Sci*, 7: 462
- Filichkin SA, Mockler TC (2012). Unproductive alternative splicing and nonsense mRNAs: a widespread phenomenon among plant circadian clock genes. *Biol Direct*, 7: 20
- Golldack D, Li C, Mohan H, Probst N (2014). Tolerance to drought and salt stress in plants: unraveling the signaling networks. *Front Plant Sci*, 5: 151
- Gould PD, Locke JCW, Larue C, Southern MM, Davis SJ, Hanano S, Moyle R, Millich R, Putterill J, Millar AJ, et al (2006). The molecular basis of temperature compensation in the *Arabidopsis* circadian clock. *Plant Cell*, 18 (5): 1177–1187
- Greenham K, McClung CR (2015). Integrating circadian dynamics with physiological processes in plants. *Nat Rev Genet*, 16 (10): 598–610
- Gyllenstrand N, Karlgren A, Clapham D, Holm K, Hall A, Gould PD, Källman T, Lagercrantz U (2014). No time for spruce: rapid dampening of circadian rhythms in *Picea abies* (L. Karst). *Plant Cell Physiol*, 55 (3): 535–550
- Habte E, Müller LM, Shtaya M, Davis SJ, Korff M (2014). Osmotic stress at the barley root affects expression of circadian clock genes in the shoot. *Plant Cell Environ*, 37 (6): 1321–1337
- Han XF, Peng KL, Wu HX, Song SS, Li YH, Zhu YR, Bai YN, Wang Y (2016). A preliminary study on the mechanism of the effect of serine on the rhythm of photorespiration genes. *Plant Physiol J*, 52 (9): 1397–1405 (in Chinese with English abstract) [韩晓芳, 彭柯力, 吴海霞, 宋珊珊, 李亚辉, 朱晔荣, 白艳玲, 王勇(2016). 丝氨酸对光呼吸基因节律的影响机制初探. *植物生理学报*, 52 (9): 1397–1405]
- Haydon MJ, Román Á, Arshad W (2015). Nutrient homeostasis within the plant circadian network. *Front Plant Sci*, 6: 299
- Hsu PY, Harmer SL (2014). Wheels within wheels: the plant circadian system. *Trends Plant Sci*, 19 (4): 240–249
- James AB, Syed NH, Bordage S, Marshall J, Nimmo GA, Jenkins GI, Herzyk P, Brown JWS, Nimmo HG (2012). Alternative splicing mediates responses of the *Arabidopsis* circadian clock to temperature changes. *Plant Cell*, 24 (3): 961–981

- Jayne B, Quigley M (2014). Influence of arbuscular mycorrhiza on growth and reproductive response of plants under water deficit: a meta-analysis. *Mycorrhiza*, 24 (2): 109–119
- Kaneshiro KR, Strome S (2017). Inheritance of protection from osmotic stress. *Nat Cell Biol*, 19 (3): 151–152
- Keily J, MacGregor DR, Smith RW, Millar AJ, Halliday KJ, Penfield S (2013). Model selection reveals control of cold signalling by evening-phased components of the plant circadian clock. *Plant J*, 76 (2): 247–257
- Kidd PB, Young MW, Siggia ED (2015). Temperature compensation and temperature sensation in the circadian clock. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112 (46): 16284–16292
- Kielbowicz-Matuk A, Rey P, Rorat T (2014). Interplay between circadian rhythm, time of the day and osmotic stress constraints in the regulation of the expression of a *Solanum* double B-box gene. *Ann Bot*, 113 (5): 831–842
- Kim J, Geng R, Gallenstein RA, Somers DE (2013a). The F-box protein ZEITLUPE controls stability and nucleocytoplasmic partitioning of GIGANTEA. *Development*, 140 (19): 4060–4069
- Kim WY, Ali Z, Park HJ, Park SJ, Cha JY, Perez-Hormaeche J, Quintero FJ, Shin G, Kim WR, Zhang Q, et al (2013b). Release of SOS2 kinase from sequestration with GIGANTEA determines salt tolerance in *Arabidopsis*. *Nat Commun*, 4: 1352
- Kim WY, Fujiwara S, Suh SS, Kim J, Kim Y, Han LQ, David K, Putterill J, Nam HG, Somers DE (2007). ZEITLUPE is a circadian photoreceptor stabilized by GIGANTEA in blue light. *Nature*, 449 (7160): 356–360
- Kim Y, Lim J, Yeom M, Kim H, Kim J, Wang L, Kim WY, Somers DE, Nam HG (2013c). ELF4 regulates GIGANTEA chromatin access through subnuclear sequestration. *Cell Rep*, 3 (3): 671–677
- Kujala ST, Savolainen O (2012). Sequence variation patterns along a latitudinal cline in Scots pine (*Pinus sylvestris*): signs of clinal adaptation? *Tree Genet Genomes*, 8 (6): 1451–1467
- Kurepin LV, Dahal KP, Savitch LV, Singh J, Bode R, Ivanov AG, Hurry V, Hüner NPA (2013). Role of CBFs as integrators of chloroplast redox, phytochrome and plant hormone signaling during cold acclimation. *Int J Mol Sci*, 14 (6): 12729–12763
- Kusakina J, Rutterford Z, Cotter S, Marti MC, Laurie DA, Greenland AJ, Hall A, Webb AAR (2015). Barley *Hv CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1* and *Hv PHOTOPERIOD H1* are circadian regulators that can affect circadian rhythms in *Arabidopsis*. *PLoS ONE*, 10 (6): e0127449
- Lau OS, Huang X, Charron JB, Lee JH, Li G, Deng XW (2011). Interaction of *Arabidopsis* DET1 with CCA1 and LHY in mediating transcriptional repression in the plant circadian clock. *Mol Cell*, 43 (5): 703–712
- Legnaioli T, Cuevas J, Mas P (2009). TOC1 functions as a molecular switch connecting the circadian clock with plant responses to drought. *EMBO J*, 28 (23): 3745–3757
- Liu T, Carlsson J, Takeuchi T, Newton L, Farré EM (2013). Direct regulation of abiotic responses by the *Arabidopsis* circadian clock component PRR7. *Plant J*, 76 (1): 101–114
- Lopez F, Bousser A, Sissoëff I, Gaspar M, Lachaise B, Hoarau J, Mahé A (2003). Diurnal regulation of water transport and aquaporin gene expression in maize roots: contribution of PIP2 proteins. *Plant Cell Physiol*, 44 (12): 1384–1395
- Loudet O, Hasegawa PM (2017). Abiotic stress, stress combinations and crop improvement potential. *Plant J*, 90 (5): 837–838
- MacGregor DR, Gould P, Foreman J, Griffiths J, Bird S, Page R, Stewart K, Steel G, Young J, Paszkiewicz K (2013). *HIGH EXPRESSION OF OSMOTICALLY RESPONSIVE GENES1* is required for circadian periodicity through the promotion of nucleo-cytoplasmic mRNA export in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 25 (11): 4391–4404
- Marcolino-Gomes J, Rodrigues FA, Fuganti-Pagliarini R, Bendix C, Nakayama TJ, Celaya B, Molinari HBC, de Oliveira MCN, Harmon FG, Nepomuceno A (2014). Diurnal oscillations of soybean circadian clock and drought responsive genes. *PLoS ONE*, 9 (1): e86402
- Más P, Kim WY, Somers DE, Kay SA (2003). Targeted degradation of TOC1 by ZTL modulates circadian function in *Arabidopsis thaliana*. *Nature*, 426 (6966): 567–570
- McClung CR (2006). Plant circadian rhythms. *Plant Cell*, 18 (4): 792–803
- McClung CR, Davis SJ (2010). Ambient thermometers in plants: from physiological outputs towards mechanisms of thermal sensing. *Curr Biol*, 20 (24): R1086–R1092
- Moore-Ede MC, Wassmer G (1984). *Neurospora* circadian rhythms in space: a reexamination of the endogenous-exogenous question. *Science*, 225 (1313): 232–234
- Muranaka T, Okada M, Yomo J, Kubota S, Oyama T (2015). Characterizations of circadian rhythms of various duckweeds. *Plant Biol*, 17 (s1): 66–74
- Nagel DH, Pruneda-Paz JL, Kay SA (2014). FBH1 affects warm temperature responses in the *Arabidopsis* circadian clock. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111 (40): 14595–14600
- Nakamichi N, Kiba T, Kamioka M, Suzuki T, Yamashino T, Higashiyama T, Sakakibar H, Mizunob T (2012). Transcriptional repressor PRR5 directly regulates clock-output pathways. *Proc Natl Acad Sci USA*, 109 (42): 17123–17128
- Pan WJ, Wang X, Deng YR, Li JH, Chen W, Chiang JY, Yang JB, Lei Z (2015). Nondestructive and intuitive determination of circadian chlorophyll rhythms in soybean leaves using multispectral imaging. *Sci Rep*, 5: 11108
- Pokhilko A, Mas P, Millar AJ (2013). Modelling the widespread effects of TOC1 signalling on the plant circadian clock and its outputs. *BMC Syst Biol*, 7 (1): 23
- Romanowski A, Yanovsky MJ (2015). Circadian rhythms and post-transcriptional regulation in higher plants. *Front Plant Sci*, 6: 437
- Rugnone ML, Soverna AF, Sanchez SE, Schlaen RG, Hernando CE, Seymour DK, Mancini E, Chernomoretz A, Weigel D, Mas P, et al (2013). *LNK* genes integrate light and clock signaling networks at the core of the *Arabidopsis* oscillator. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110 (29): 12120–12125
- Salmela MJ, Greenham K, Lou P, McClung CR, Ewers BE, Weining C (2016). Variation in circadian rhythms is maintained among and within populations in *Boechera stricta*. *Plant Cell Environ*, 39: 1293–1303

- Sanchez-Villarreal A, Shin J, Bujdoso N (2013). *TIME FOR COFFEE* is an essential component in the maintenance of metabolic homeostasis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 76 (2): 188–200
- Seo PJ, Mas P (2015). STRESSing the role of the plant circadian clock. *Trends Plant Sci*, 20 (4): 230–237
- Seo PJ, Park MJ, Lim MH, Kim SG, Lee M, Baladwin 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 (6): 2427–2442
- Serikawa M, Miwa K, Kondo T, Oyama T (2008). Functional conservation of clock-related genes in flowering plants: overexpression and RNA interference analyses of the circadian rhythm in the monocotyledon *Lemna gibba*. *Plant Physiol*, 146 (4): 1952–1963
- Shor E, Green RM (2016). The impact of domestication on the circadian clock. *Trends Plant Sci*, 21 (4): 281–283
- Smith SE, Read D (2010). *Mycorrhizal Symbiosis*. 3rd ed. New York: Academic Press, 42–91
- Sun CC, Zhao HY, Zheng CX (2017). Effects of NaCl stress on osmolyte and proline metabolism in *Ginkgo biloba* seedling. *Plant Physiol J*, 53 (3): 470–476 (in Chinese with English abstract) [孙聪聪, 赵海燕, 郑彩霞(2017). NaCl胁迫对银杏幼树渗透调节物质及脯氨酸代谢的影响. *植物生理学报*, 53 (3): 470–476]
- Tsuzuki T, Takahashi K, Tomiyama M, Inoue SI, Kinoshita T (2013). Overexpression of the Mg-chelatase H subunit in guard cells confers drought tolerance via promotion of stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*. *Front Plant Sci*, 4: 440
- Wang L, Fujiwara S, Somers DE (2010). PRR5 regulates phosphorylation, nuclear import and subnuclear localization of TOC1 in the *Arabidopsis* circadian clock. *EMBO J*, 29 (11): 1903–1915
- Wang L, Kim J, Somers DE (2013). Transcriptional corepressor TOPLESS complexes with pseudoresponse regulator proteins and histone deacetylases to regulate circadian transcription. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110 (2): 761–766
- Wang ZY, Tobin EM (1998). Constitutive expression of the *CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1 (CCA1)* gene disrupts circadian rhythms and suppresses its own expression. *Cell*, 93 (7): 1207–1217
- Welsh DK, Imaizumi T, Kay SA (2005). Real-time reporting of circadian-regulated gene expression by luciferase imaging in plants and mammalian cells. *Method Enzymol*, 393: 269–288
- Wilkins O, Bräutigam K, Campbell MM (2010). Time of day shapes *Arabidopsis* drought transcriptomes. *Plant J*, 63 (5): 715–727
- Yerushalmi S, Green RM (2009). Evidence for the adaptive significance of circadian rhythms. *Eco Lett*, 12 (9): 970–981
- Yon F, Joo Y, Cortés Llorca L, Rothe E, Baldwin IT, Kim SG (2016). Silencing *Nicotiana attenuata LHY* and *ZTL* alters circadian rhythms in flowers. *New Phytol*, 209 (3): 1058–1066
- Yu JW, Rubio V, Lee NY, Bai SL, Lee SY, Kim SS, Liu LJ, Zhang YY, Irigoyen ML, Sullivan JA, et al (2008). COP1 and ELF3 control circadian function and photoperiodic flowering by regulating GI stability. *Mol Cell*, 32 (5): 617–630
- Zhao C, Lang Z, Zhu JK (2015). Cold responsive gene transcription becomes more complex. *Trends Plant Sci*, 20 (8): 466–468
- Zhao C, Wang HY, Liu MZ, Wang WQ (2017). Effect of drought on the contents of soluble sugars, starch and enzyme activities in cassava stem. *Plant Physiol J*, 53 (5): 796–806 (in Chinese with English abstract) [赵超, 王海燕, 刘美珍, 王文泉(2017). 干旱胁迫下木薯茎秆可溶性糖、淀粉及相关酶的代谢规律. *植物生理学报*, 53 (5): 795–806]
- Zhou M, Wang W, Karapetyan S, Mwimba M, Marqués J, Buchler NE, Dong XN (2015). Redox rhythm reinforces the circadian clock to gate immune response. *Nature*, 523 (7561): 472–476

The plant circadian rhythm and its response to abiotic stresses

GAO Xiao-Min, WANG Ju-Gang*, LIU Ya-Nan, MA Hai-Yang, CHEN Jing, SHI Wei-Qi

Key Laboratory of Tropical Crops Nutrition, Hainan Province, Key Laboratory of Tropical Fruit Biology, Ministry of Agriculture, South Subtropical Crops Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Zhanjiang, Guangdong 524091, China

Abstract: Circadian rhythms are the subset of biological rhythms with period, affected by numerous stimuli of exogenous environment, especially abiotic stresses. The more suitable adaptation between plant circadian rhythms and environment, the more capable of resistance to abiotic stresses. In this review, the research advances on the characteristics of plant circadian rhythm, the feedback loops of circadian clock, the response of plant circadian rhythm to drought, salt and cold stresses were presented, meanwhile, the prospective of the future research direction for the plant circadian rhythm and its response to abiotic stresses were addressed.

Key words: circadian rhythm; abiotic stresses; *Arabidopsis thaliana*; circadian clock

Received 2017-04-17 Accepted 2017-10-20

This work was supported by the Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund (Grant No. 1630062016005) and Natural Science Foundation of Inner Mongolia (Grant No. 2016MS0343).

*Corresponding author (E-mail: wangjugang123456@126.com).