

Research Progress on Circadian Rhythms in Plants

Yi Chen, Yu Xiang, Guanghui Yu*

Hubei Provincial Key Laboratory for Protection and Application of Special Plants in Wuling Area of China, South-Central University for Nationalities, Wuhan Hubei
Email: *yusheen@163.com

Received: May 4th, 2018; accepted: May 23rd, 2018; published: May 30th, 2018

Abstract

Biological clock is the innate rhythmic molecular mechanism in plants by which respond to complex environmental change. Via the transcriptional and translational feedback among the core components of clock, plants can integrate the environmental cues such as light and temperature to coordinate and involve the photoperiodic flowering, hormone signaling, growth, metabolism, and biotic/abiotic stress. Clock entrainment allows plants to achieve the best synchronization to the outside changing environment; and furthermore, the modulatory relationship between plant biological clock and photosynthesis metabolites indicates the potential advantage of biological rhythm theory in agricultural applications.

Keywords

Biological Clock, Circadian Rhythm, Core Oscillator, *Arabidopsis thaliana*

植物昼夜节律研究进展

陈 意, 向 宇, 余光辉*

中南民族大学, 武陵山区特色资源植物种质保护与利用湖北省重点实验室, 湖北 武汉
Email: *yusheen@163.com

收稿日期: 2018年5月4日; 录用日期: 2018年5月23日; 发布日期: 2018年5月30日

摘 要

生物钟是植物适应外界环境的一种内在分子机制。通过生物钟核心元件基因组成的转录-翻译反馈调节环路,

*通讯作者。

植物能够对环境中的信号如温度和光照进行整合,对光周期开花、激素信号传导、生长、代谢以及生物和非生物胁迫的响应等多种生理过程进行协调。此外,通过驯化过程使得植物能够达到与外界环境最佳的匹配和同步化;植物生物钟和光合作用代谢产物之间的调控关系,预示着生物节律理论在农业生产上的潜在优势。

关键词

生物钟, 昼夜节律, 核心振荡器, 拟南芥

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

地球自转引起的昼夜循环导致了环境每日的重复波动。生物随着环境的明暗交替和温度变化进化出内源性的近日性的节律变化[1],这种机制称为昼夜节律(Circadian rhythm)或生物钟(Biological clock)。没有外部信号的情况下近日性表现为24 h的周期性振荡。研究表明,在连续光照(或黑暗)和恒定温度条件下近日性节律的维持是由内源性生物过程驱动的[2]。例如,人体生理和机理的变化受到内源性节律振荡的广泛调控。在时差影响下,昼夜节律振荡器变化强烈,具体表现在内部振荡器时间的预测与外部环境的冲突和相互协调[3]。几乎所有的有机体,从单细胞的蓝藻到复杂的哺乳动物,都具有一套预知环境变化的生物节律系统。生物的内源生物节律控制着机体的行为、生理活动,使之更好的适应环境[4]。时间生物学(Chronobiology)研究内源生物钟的分子机制、外界环境对生物钟的驯化或牵引(Entrainment)、生物钟对机体行为、生理活动的调节等时间依赖的生物学过程。近年来,植物昼夜节律调控的分子机制成为研究的热点和难点。环境中的信号如温度和光照被核心振荡器所整合,对多种生理过程进行协调。光照和温度这些外界信号通过影响生物钟的速度,并作用于振荡器中不同的核心分子来导引时钟。之后时钟会以相应的节律进行节律性输出,从而协调多种生理途径,包括光周期开花、激素信号传导、生长、代谢以及生物和非生物胁迫的响应(图1)[5]。

2. 植物生物钟

2.1. 植物生物钟核心元件间的交互调节

传统观点认为昼夜节律系统是一种线性路径,但越来越多的证据表明它是一个高度复杂的调控网络。植物、动物、昆虫和真菌等生物的生物钟调控系统通常是基于转录和翻译的反馈环路(Transcriptional/Translational Feedback Loops, TTFLs)。植物生物钟系统的研究主要是在模式生物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中进行的。植物的昼夜节律主要包含了三个特征:1)植物的昼夜节律是在没有外界环境刺激下由生物钟基因和蛋白协同控制下完成近日24 h的节律性振荡;2)植物生物钟系统必须与环境保持同步,植物的生长发育阶段需要与环境相匹配,这种过程称为生物钟驯化(entrainment);3)植物细胞的生物钟与植物的昼夜节律相偶联,植物细胞的时钟基因能够调控植物的昼夜节律的输出。

植物昼夜节律调控网络主要由输入途径(input pathway)、核心振荡器(core oscillator)和输出途径(output pathways)三部分组成。模式生物拟南芥的生物钟的核心振荡器由CCA1(CIRCADIAN CLOCK-ASSOCIATED 1)、LHY(LATE ELONGATED HYPOCOTYL)、TOC1(TIMING OF CAB EXPRESSION 1)以及其它元件构成了复杂的交互反馈的调控网络(图2)[6][7][8][9][10]。振荡器的核心由两个MYB转录因子,CCA1/LHY和TOC1组

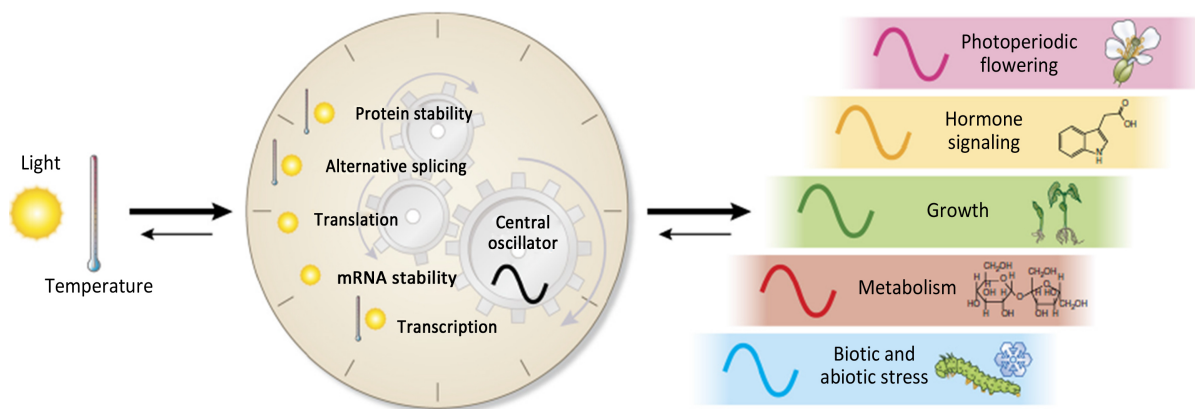


Figure 1. The integration of the biological clock to the internal and external environment in plants

图 1. 植物生物钟对内外环境的整合[5]

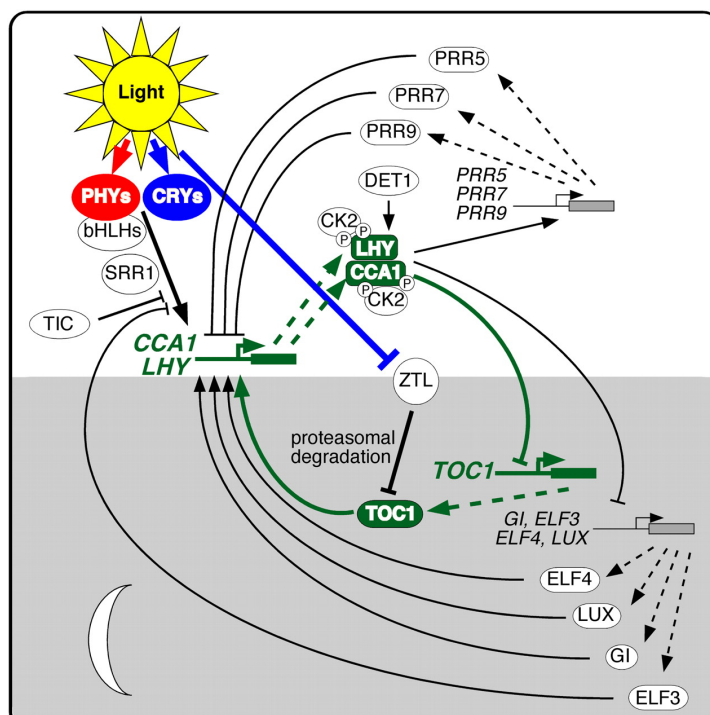


Figure 2. The molecular model of the circadian oscillator in *Arabidopsis*

图 2. 拟南芥昼夜节律振荡器的分子模型[1]

成。通过对拟南芥昼夜节律的研究表明，振荡器核心基因在每个节律周期中不同的时刻表达，表现出时空的差异。如 *CCA1* 的表达峰值出现在黎明时刻，而 *LUX ARRHYTHMO* (*LUX*) 的表达峰值在黎明后的 12 h。植物昼夜节律振荡器除转录-翻译反馈环路之外，还存在一些转录后调控机制来确保振荡器的精确运行，如乙酰化、磷酸化等[11]。

2.2. 生物节律的驯化(Entrainment)

众所周知，植物生物钟并不是完全精确的 24 h。因此，植物需要通过驯化途径来与外界环境保持同步。例如，外界环境中的红光和蓝光能够给植物光感受器提供强烈的信号重设生物钟，这就对植物生物钟起到了同步的作用。光敏色素 A (PhyA) 能在低强度的红光下调节生物钟，光敏色素 B (PhyB) 则能在高

强度的红光下起作用。隐花色素 1 (Cry1)能够在低强度和高强度的蓝光下调节生物钟。已有的研究表明,温度的改变也能够影响植物的昼夜节律振荡器[12],然而,温度对植物生物钟的调控我们知之甚少。

2.3. 生物钟在植物生物学中的重要性

高等植物的生物钟能够调控多种代谢通路[13]。研究表明,植物生物钟控制光合作用活性、叶片的气体交换、细胞生长、激素应答、营养吸收和基因表达的日长变化[14][15][16][17],生物钟几乎影响植物新陈代谢的方方面面。植物内源性的生物振荡周期必须与外界生长环境达到最合适的匹配程度,生物钟的准确预测功能对植物细胞的生长和发育有着非常重要的影响。植物昼夜节律经历多种不同的生活环境而独立的演变出来,这为植物适应环境提供了优势。

2.4. 植物昼夜节律的研究

如上所述,植物昼夜节律的特征之一就是在没有外界环境信号的情况下,处于自我维持的节律状态。因此,研究昼夜节律的方法是在恒定的条件(恒温、恒定光照或黑暗)下来监测植物节律调节的生理或生化情况。在恒定的条件下,生物钟能够“自由运行”,实验条件被称为“自由运行条件(free running)”。例如,为研究植物光合作用的昼夜节律,实验中将植物放置于正常光暗循环中培养一段时间,然后测量 CO₂含量的变化情况。

植物昼夜节律能够被量化的特征,可以作为昼夜节律的指标加以研究。常见昼夜节律的研究方法就是测量植物组织样品中节律基因 mRNA 的表达变化。一般用定量 RT-PCR 技术来测量节律基因的转录产物的合成量,以此来研究植物的昼夜节律。类似地,收集组织样品也能够检测昼夜节律的变化,比如蛋白质数量、酶的活性或者代谢物的浓度。植物昼夜节律的实验通常需要在相当长的时间内在固定时刻进行重复测量。

植物叶片节律性运动是生物钟调控下的外在表现形式,在一定程度上可以反映植物的昼夜节律。因此,叶片运动分析(The plant leaf movement analyzer, PALMA)也是研究拟南芥昼夜节律的常用方法。自动化相机的使用能够直接且无害的监测拟南芥幼苗的节律性生长。通过连续不断的拍照,相机能够捕捉到拟南芥幼苗叶片相对位置的改变,然后用专业软件分析能够得出拟南芥幼苗叶片的节律性运动。

昼夜节律的研究也可以借助于生物发光成像。这种成像既能够测量整个植物荧光素酶的发光情况,又能够测量单一组织类型的昼夜节律。甚至有可能在含荧光素基因的叶片的单细胞中通过制作显微图来测量昼夜节律。在模式生物拟南芥中,荧光素报告基因已经成为了一种革命性的手段来研究植物生物钟基因。将荧光素基因与昼夜节律关键基因的启动子连接起来,构建荧光报告基因,实验中可以用灵敏的摄像系统检测植物发出微弱的荧光,从而将复杂的植物昼夜节律的分子生物学实验转变成简单的光学实验。

2.5. 生物钟与植物代谢

植物昼夜节律振荡器控制各种生理过程,包括叶绿素的生物合成、光合作用电子的传递、淀粉的合成与降解、氮硫同化作用等过程[18]。例如叶绿素生物合成的峰值出现在黑夜的尽头,预示着其参与光合作用过程的启动。昼夜节律突变体的研究揭示了昼夜节律振荡器与新陈代谢之间的联系。在 *prr9/7/5* 三突变体中柠檬酸循环的中间产物如苹果酸、富马酸等的浓度明显高于野生型,可能预示了振荡器和植物光能利用率之间的相关性。由于白天的光合作用为植物夜间的生长提供呼吸和能量,可以推测淀粉的降解速率受到振荡器的调控。在生物钟基因 CCA1 和 LHY 的突变体(*cca1/lhy*)中淀粉的降解速率要比野生型的要快 35% [2]。因此,生物钟对于代谢的调控意义重大。

2.6. 昼夜节律提供时间信息控制光周期开花

植物的昼夜节律系统能够预测外界环境(如温度和光照)的变化从而给植物提供时间信息来控制植物的光周期依赖的开花途径[19][20]。研究表明,许多植物利用光周期的变化来控制开花的时节。例如小麦(*Triticum aestivum*)的开花是在白昼变长的晚春时节,而水稻(*Oryza sativa*)则是在白天变短的夏末开花。光周期敏感植物可以分为长日照植物和短日照植物。长日照植物通过短时间的曝光也能开花,短日照开花植物则不受夜间中断的影响。植物开花是一个受到严格调控的分子机制,许多不同途径包括光周期途径诱导的植物开花最终会影响开花基因 *FLOWERING LOCUS T (FT)* 的表达从而决定了开花的时间。其中, *FT* 的表达受到 *CONSTANS(CO)* 蛋白的激活。研究表明, *CO* 的表达具有节律性,黎明后的 12 h 表达达到峰值。然而,在黑暗的条件下 *CO* 蛋白是不稳定的,很容易被 E3 泛素连接酶标记后被降解。因此,在短日照条件下, *CO* 的 mRNA 表达水平峰值出现在夜间造成蛋白的不累积从而不会引起 *FT* 的诱导表达;而在长日照条件下, *CO* 的表达水平峰值出现后 *CO* 蛋白得到累积,随后稳定的 *CO* 蛋白能够诱导 *FT* 的表达从而影响开花。

2.7. 昼夜门控

昼夜节律门控通道是时间生物学研究中的一个重要特征。昼夜门控调控是生物钟信号通路中的外在反应过程。从本质上讲门控通道在时钟信号通路中起着阀门的作用。生物钟自身控制着植物对外界环境信号的反应,例如驯化信号(如光照)的出现使昼夜节律生物钟的相位改变到黎明。植物昼夜节律门控通道使植物对光信号更加敏感,白天植物对光线水平识别的灵敏度给植物带来更强的优势。

3. 总结和展望

植物昼夜节律生物学近年来取得了非凡的进展。昼夜节律调控的分子机制有助于植物对环境做出适应。植物生物节律是一个复杂的调控网络,通过各种时控基因相互作用来控制着植物的各种新陈代谢活动,因此从任何一个单独的时控元件去研究整体的植物生物钟系统是非常困难的。目前流行的做法是利用数学建模的方法来研究植物的昼夜节律调控网络,这样有助于对昼夜节律网络变化的特征进行解析。此外,昼夜节律生物学研究中尚存在着许多未解难题,其中一些需要技术创新来解决。这些开放性的问题包括以下几点:昼夜节律振荡器在每种类型的植物细胞和器官中是否存在着专一性,这些振荡器是否通过信息进行交流?植物昼夜节律门控的分子基础是什么?昼夜节律调控对作物生长的贡献是体现在哪里,如何利用生物钟节律规律来增加作物产量?如何在植物中通过昼夜节律调控来稳定生态系统?植物昼夜节律振荡器是如何进化的?

随着植物生物钟在代谢、生理、进化等方面的进一步研究,以及昼夜节律对生物过程的协调作用深入了解,将昼夜节律的规律运用于农业性状的优化,具有重要的科学意义和应用价值。

基金项目

国家自然科学基金项目(No.31270361)。

参考文献

- [1] McClung, R.C. (2006) Plant Circadian Rhythms. *Plant Cell*, **18**, 792-803. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.040980>
- [2] Vitaterna, M.H., Takahashi, J.S. and Turek, F.W. (2001) Overview of Circadian Rhythms. *Alcohol and Heart Health*, **25**, 85-93.
- [3] Hubbard, K. and Dodd, A. (2016) Rhythms of Life: The Plant Circadian Clock. *Plant Cell*, **28**, 1-10.

- [4] Bass, J. (2012) Circadian Topology of Metabolism. *Nature*, **491**, 348-356. <https://doi.org/10.1038/nature11704>
- [5] Nohales, M.A. and Kay, S.A. (2016) Molecular Mechanisms at the Core of the Plant Circadian Oscillator. *Nature Structural & Molecular Biology*, **23**, 1061-1069. <https://doi.org/10.1038/nsmb.3327>
- [6] Hurley, J.M., Loros, J.J. and Dunlap, J.C. (2016) Circadian Oscillators: Around the Transcription-Translation Feedback Loop and on to Output. *Trends in Biochemical Sciences*, **41**, 834-846. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2016.07.009>
- [7] Sanchez, S.E. and Kay, S.A. (2016) The Plant Circadian Clock: From a Simple Timekeeper to a Complex Developmental Manager. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, **8**, 1-16. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a027748>
- [8] Udoh, U.S., Valcin, J.A., Bailey, S.M., et al. (2015) The Molecular Circadian Clock and Alcohol-Induced Liver Injury. *Biomolecules*, **5**, 2504-2537. <https://doi.org/10.3390/biom5042504>
- [9] Nirvani, M., Khuu, C., Sehic, A., et al. (2018) Circadian Clock and Oral Cancer. *Molecular and Clinical Oncology*, **8**, 219-226.
- [10] McClung, C.R. (2008) Comes a Time. *Current Opinion in Plant Biology*, **11**, 514-520. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.06.010>
- [11] Robertson, F.C., Skeffington, A.W., Gardner, M.J., et al. (2009) Interactions between Circadian and Hormonal Signaling in Plants. *Plant Molecular Biology*, **69**, 419-427. <https://doi.org/10.1007/s11103-008-9407-4>
- [12] Salomé, P.A., Weigel, D. and McClung, R.C. (2010) The Role of the Arabidopsis Morning Loop Components CCA1, LHY, PRR7, and PRR9 in Temperature Compensation. *Plant Cell*, **22**, 3650-3661. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.079087>
- [13] Nagel, D.H. and Kay, S.A. (2012) Complexity in the Wiring and Regulation of Plant Circadian Networks. *Current Biology*, **22**, R648-R657. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.07.025>
- [14] Bellpedersen, D., Cassone, V.M., Earnest, D.J., et al. (2005) Circadian Rhythms from Multiple Oscillators: Lessons from Diverse Organisms. *Nature Reviews Genetics*, **6**, 544-556. <https://doi.org/10.1038/nrg1633>
- [15] Fukushima, A., Kusano, M., Nakamichi, N., et al. (2009) Impact of Clock-Associated Arabidopsis Pseudo-Response Regulators in Metabolic Coordination. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **106**, 7251-7256. <https://doi.org/10.1073/pnas.0900952106>
- [16] Nozue, K., Covington, M.F., Duek, P.D., et al. (2007) Rhythmic Growth Explained by Coincidence between Internal and External Cues. *Nature*, **448**, 358-361. <https://doi.org/10.1038/nature05946>
- [17] Mizuno, T. and Yamashino, T. (2008) Comparative Transcriptome of Diurnally Oscillating Genes and Hormone-Responsive Genes in *Arabidopsis thaliana*: Insight into Circadian Clock-Controlled Daily Responses to Common Ambient Stresses in Plants. *Plant and Cell Physiology*, **49**, 481-487. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcn008>
- [18] Sanchez, S.E. and Kay, S.A. (2016) The Plant Circadian Clock: From a Simple Timekeeper to a Complex Developmental Manager. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, **8**, 1-16. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a027748>
- [19] Blumel, M., Dally, N. and Jung, C. (2015) Flowering Time Regulation in Crops-What Did We Learn from *Arabidopsis*? *Current Opinion in Biotechnology*, **32**, 121-129. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.11.023>
- [20] Bouche, F., Lobet, G., Tocquin, P., et al. (2016) FLOR-ID: An Interactive Database of Flowering-Time Gene Networks in *Arabidopsis thaliana*. *Nucleic Acids Research*, **44**, D1167-D1171. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1054>

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2168-5665, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>
期刊邮箱: br@hanspub.org