

· 专题论坛 ·

# 植物生物钟在农业生产中应对全球变暖的应用

谢启光\*, 徐小冬\*

河南大学生命科学学院, 作物胁迫适应与改良国家重点实验室, 开封 475004

**摘要** 当前全球变暖趋势不可逆转, 异常气候导致的温度胁迫频繁发生, 给农业高产及稳产带来了巨大挑战。生物钟作为内源性且可遗传的计时机制, 赋予了植物预测和快速响应环境因子周期性变化的能力, 以确保诸多生理生化途径与环境同步, 极大增强了植物的生存和繁衍能力。温度响应和补偿现象不仅涉及生物钟与环境信号“同步化”, 而且涉及农业生产中作物适应温度胁迫的实际应用。生物钟温度补偿是指在较宽范围的生理温度内, 通过转录和转录后机制, 生物钟可基本维持近日节律周期的长度不变, 确保计时机制准确运行。自然环境中, 光照、温度和湿度紧密耦联, 作为授时因子将环境信号经过输入途径传递给生物钟核心振荡器, 影响植物生长发育的全过程。该文回顾了植物生物钟温度响应和补偿机制的研究历史, 详述了最新研究进展, 展望了其在作物遗传育种和田间管理等方面的应用前景, 为解决农作物温度胁迫适应性问题提供了全新的思路 and 方案。

**关键词** 生物钟, 近日节律, 温度补偿, 温度胁迫, 遗传育种

谢启光, 徐小冬 (2024). 植物生物钟在农业生产中应对全球变暖的应用. *植物学报* 59, 635–650.

生物钟(circadian clock)是植物经历极其漫长的演化过程, 进化而来的内源性且可遗传的计时(time-keeping)机制, 使生长、发育、运动、基因和蛋白表达及代谢等生命活动与周期性变化的环境因子保持同步(Greenham and McClung, 2015; Xu et al., 2022b)。生物钟赋予个体生命预测“授时因子”(由德国学者Jürgen Aschoff创造“Zeitgeber”一词, 德语意指“time giver/时间给予者”, 即外界或环境信号, 如光照、温度、湿度和营养)的周期性变化以及响应环境胁迫和内源、外源信号的能力, 同时门控(gating)诸多生理生化途径, 极大增强了植物的环境适应能力(Sanchez and Kay, 2016; 魏华等, 2018; Xu et al., 2022a)。2023年, 植物学期刊*Plant Cell*针对全球气候变暖提出了15个亟待解决的科学问题, 其中包括: 生物钟如何“门控”植物对非生物胁迫的响应(Verslues et al., 2023)。植物在组织器官、细胞、亚细胞和分子等多个层面具有近日节律以及与之密切相关的季节/年节律现象, 如下胚轴/茎/叶/果实等组织器官的节律性生长、花瓣/叶片开闭、依赖光周期的开

花时间、叶片衰老以及植物对胁迫的响应和抗性; 气孔保卫细胞的昼夜开合、叶绿体的避光运动、自噬小体的数目和胞质环流等; 基因的节律性表达、蛋白的节律性周转和修饰、激素的昼夜节律性合成和代谢、胞质和细胞器中Ca<sup>2+</sup>与Mg<sup>2+</sup>等的振荡强度、N/Fe/Mg等营养元素的节律性吸收与转运以及新陈代谢的稳态(homeostasis)等。近年来, 在作物中的研究成果揭示出生物钟调控诸多关键农艺性状, 如光合效率、纬度适应性、共生固氮、杂种优势、胁迫抗性、次生代谢产物和农产品贮藏的时效性等与产量(生物量)及品质密切相关的性状。特别是在小麦(*Triticum aestivum*)、大麦(*Hordeum vulgare*)、玉米(*Zea mays*)和大豆(*Glycine max*)等多种重要作物中, 鉴定并揭示出生物钟核心基因在引种驯化中发挥极其重要的作用, 并展现出良好的应用前景(Steed et al., 2021)。

## 1 植物生物钟系统及生物钟基本特性

随着植物时间生物学领域的持续拓展和研究内容的不断深入, 学术界对生物钟系统(circadian system)的

收稿日期: 2023-10-07; 接受日期: 2024-03-05

基金项目: 国家自然科学基金(No.32170259, No.32170275, No.U1904202)

\* 通讯作者。E-mail: qiguang.xie@henu.edu.cn; xiaodong.xu@henu.edu.cn

3个组成部分——输入途径(input pathways)、核心振荡器(core oscillators)和输出途径(output pathways), 调控机理的认识逐步加深并完善。迄今为止, 依托于模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)为主要材料的研究成果, 建立了较为完善的植物生物钟工作模型。当前植物生物钟领域基础研究总体呈现3种趋势: (1) 涉及的物种不断增加, 逐步由模式植物拟南芥转向更有价值的粮食与经济作物; (2) 涉及领域逐步扩大, 吸引了更多其它领域的研究人员参与生物钟交叉研究, 涌现出更多的研究成果; (3) 与高等哺乳动物相比, 植物生物钟系统鉴定出更多的组分及与农艺性状密切相关的输出途径, 工作模型在分子水平上不断完善、更正和细化。

### 1.1 核心振荡器

近十几年来, 通过世界范围内诸多相关研究团队的不懈努力, 植物生物钟核心振荡器的分子机制日臻完善。尽管目前生物钟分子模型由转录和转录后调控构成复杂的网络, 但是转录水平上的多重转录-翻译反馈环路(transcriptional-translational feedback loops, TTFLs)依然是生物钟工作模型的核心和基石。根据生物钟基因转录本峰值出现的相位(phase), 生物钟组分可大致划分为早晨/日间表达基因(morning-phased genes)以及傍晚/夜间表达基因(evening-phased genes)两类。日间表达基因主要包括 *CCA1* (*CIRCADIAN CLOCK-ASSOCIATED 1*)与其同源基因 *LHY* (*LATE ELONGATED HYPOCOTYL*) (Wang and Tobin, 1998; Schaffer et al., 1998)及同一MYB亚家族成员 *RVE4/RVE6/RVE8* (*REVEILLE4/6/8*) (Hsu et al., 2013)。此外, 还包括与上述组分动态互作形成的清晨转录复合体基因 *LNK1/2* (*NIGHT LIGHT-INDUCIBLE AND CLOCK-REGULATED1/2*) (Xie et al., 2014)。夜间表达基因包括行使抑制功能的3个傍晚表达蛋白构成的夜间复合体 *LUX-ELF3-ELF4* 相关基因 *LUX* (*ARRHYTHMO/PHYTOCLOCK1*)、*ELF3* (*EARLY FLOWERING3*)和 *ELF4* (*EARLY FLOWERING4*) (Nusinow et al., 2011), 以及发挥促进作用的TCP-LWD夜间转录复合体相关基因 *LWD1/2* (*LIGHT-REGULATED WD1*)和 *TCP20/22* (*TEOSINTE BRANCHED 1-CYCLOIDEA-PCF20/22*) (Wu et al., 2016)。除上述组分外, 生物钟核心组分还包括发挥抑制作用

的PRRs相关转录复合体, PRRs (*PSEUDO-RESPONSE REGULATORS*)家族的5个成员分别为 *PRR9*、*PRR7*、*PRR5*、*PRR3*和 *TOC1/PRR1* (*TIMING OF CAB EXPRESSION1*), 其表达峰横跨清晨和傍晚, 间隔2个小时左右, 时序性PRR五重奏(PRR quintet)出现(Mizuno and Nakamichi, 2005)。综上所述, 不同时相表达的生物钟组分构成了多重TTFLs, 在维持生物钟驱动的近24小时节律中发挥核心作用。

根据多重TTFLs调控的时序性, 可将生物钟分子模型分为6个模块。第1个是 *CCA1/LHY-TOC1*, 该模块是研究最早且发表文章最多的反馈环路, 构成核心抑制-抑制环路; 第2是 *CCA1/LHY-PRR9/7* 模块, 构成抑制(也有报道为激活)-抑制反馈环路; 第3是 *RVE4/6/8 & LNKs-PRR5/TOC1*, 构成激活-抑制反馈环路; 第4是 *LWDs/TCPs-CCA1* 和 *LWD/TCPs-PRR9/5/TOC1* 模块, 构成激活-?反馈环路(?表示有待进一步研究或为间接调控); 第5是 *LUX/ELF3/ELF4-CCA1/LHY*和 *LUX/ELF3/ELF4-RVE4/6/8* 模块, 分别构成抑制-抑制及抑制-激活反馈环路; 第6是 *PRRs/BBXs-CCA1* 和 *PRRs/TPL (TOPLESS)-CCA1* 模块, 构成抑制-抑制环路。上述生物钟转录复合体在维持近日节律周期、相位和振幅的同时, 也时序性调控下游输出途径中大量靶基因的周期节律性表达, 以确保生理、生化和分子水平的生命活动在适当时间启动或关闭, 进而更好地平衡生长发育和抗逆等生命活动对能量与资源的需求。将生物钟调控网络模块化不仅方便理解, 而且可将模块作为改良植物/作物生物钟及近日节律表型的基本单位进行研究, 从而使重要农艺性状在未来农业生产中展现出更好的应用前景。

### 1.2 输入途径与授时因子

研究生物钟输入途径, 揭示出快速响应内外环境因子周期性变化的内源计时机制(兼顾了稳定性以及可塑性), 对增强植物的环境适应性极其重要。外部环境的光(如光强和光质)和温度是研究最多的两类授时因子(Gil and Park, 2019; Sanchez et al., 2020), 被认为是植物生物钟进化的主要选择压力。外部环境中的光/暗和冷/热周期可调控近日节律周期、相位和振幅, 这也是“Zeitgebers——授时因子”一词的含义。此外, 近年来专家们还陆续阐明了碳/氮营养以及湿度等信号可作为授时因子发挥作用(Gutiérrez et al., 2008;

Haydon et al., 2013; Mwimba et al., 2018)。

固着生长的植物面临多种胁迫信号, 包括非生物胁迫(如干旱、水淹、缺氧、冷害、冻害和盐碱胁迫)和生物胁迫(细菌、真菌、病毒等引起的病害, 线虫等寄生虫害, 及以植物地上、地下器官为食的虫害等), 均与生物钟网络调控相关(Xu et al., 2022a)。此外, 植物内环境中的脱落酸(abscisic acid, ABA)和油菜素甾醇(brassinosteroids, BRs)等内源激素, 糖和活性氧(reactive oxygen species, ROS)等代谢产物也对近日节律周期、相位或振幅产生显著影响(Zhou et al., 2015; Frank et al., 2018)。总之, 生物钟通过核心振荡器响应内外环境因子, 预测环境的昼夜周期性变化, 在生长发育和抗性过程中合理分配能量和资

源, 极大提高了植物的生存和繁殖能力(图1A, B)。

### 1.3 输出途径与关键农艺性状调控

生物钟转录复合体通过精准调节其靶基因的昼夜节律性表达, 进而“门控”下游输出途径中的诸多生理过程。目前对生物钟输出途径以及输出途径对生物钟反馈调控的研究如雨后春笋不断涌现, 交叉领域产生了许多优秀研究成果。生物钟输出途径的研究呈现两种趋势: 一是研究材料从模式植物拟南芥迅速拓展至各种重要农作物和经济作物; 二是研究内容多关注生物钟如何参与重要农艺性状的调控, 展现出良好的应用前景。输出途径的主要研究方向包括: 依赖光周期的开花时间、杂种优势、生物和非生物胁迫等; 此外,

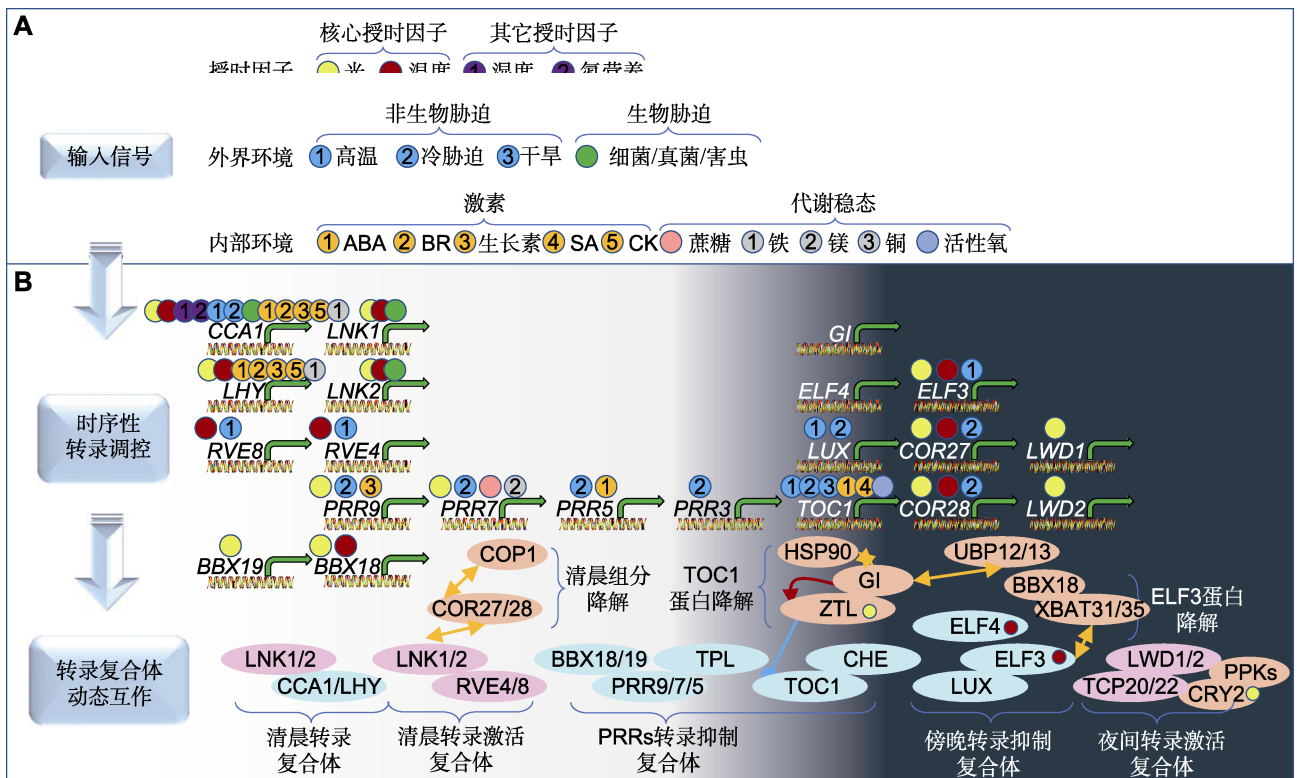


图1 植物生物钟核心振荡器响应内外环境信号并时序性形成转录蛋白复合体

植物生物钟系统输入途径的内外环境信号, 包括已经公认的授时因子、外部环境胁迫因子和内环境中的激素和代谢组分。生物钟核心组分展示出基因时序表达和蛋白动态周转机制。转录本和蛋白复合体按照1天24小时的时相次序排布。ABA: 脱落酸; BR: 油菜素甾醇; SA: 水杨酸; CK: 细胞分裂素

Figure 1 Circadian core oscillators respond to internal and external environmental cues and temporally form transcriptional protein complexes in plants

Internal and external environmental signals in the input pathways of plant clock system include well-recognized timing factors, external environmental stressors, and internal hormonal and metabolic components. The core oscillators of the circadian clock exhibit temporal gene expression and dynamic protein turnover mechanisms. The transcripts and protein complexes are sequentially shown according to the circadian phases of a 24 h day. ABA: Abscisic acid; BR: Brassinosteroid; SA: Salicylic acid; CK: Cytokinin

还涉及模式植物拟南芥所不具备的性状, 如水稻(*Oryza sativa*)分蘖(Wang et al., 2020a)、豆科植物结瘤(Kong et al., 2020)、马铃薯(*Solanum tuberosum*)块茎的节律性生长(Yanovsky et al., 2000)、果/叶及根农产品收获后的贮藏品质(Goodspeed et al., 2013)。在输出途径研究中还发现, 一些输出途径产生的信号反过来作用于生物钟, 即存在显著的负反馈调控(Sanchez and Kay, 2016)。门控机制(生物钟调控下游输出途径相关研究中涉及的一个重要概念)保证了植物体合理利用有限的资源和能量, 极大程度上减少了不同途径之间可能存在的竞争甚至拮抗现象, 提高了植物适应环境和生存繁衍的能力。以农作物为例, 由于作物生物钟精细调控水分吸收利用、营养吸收、转运和同化有关的依赖时间的生理途径, 因此在一天中恰当时间施肥和浇水, 可提高水肥利用率, 实现节约水肥的目标; 此外, 由于植物抗药性相关的生化途径也受生物钟调控, 因此在一天中恰当时间喷洒农药, 也有助于充分发挥药效和减少药害, 进而节约农药成本。

## 2 生物钟对环境温度的感知、响应和节律补偿机制

地球在自转的同时也以一定的倾角围绕太阳公转。地日系统的周期性运行, 导致地球环境因子(如光照、温度、湿度和降水、营养和磁场)在1天或1年中表现出周期性。就本文关注的温度因子而言, 在生理范围内, 温度具有明显的日节律和年节律现象; 超出生理温度范围, 温度便成为一种胁迫因子, 表现为热激、高温胁迫、冷害/冻害等。因此, 对生物钟系统来说, 温度既作为授时因子经输入途径牵引生物钟系统, 也可作为瞬时或长时间胁迫信号重置生物钟。

### 2.1 生物钟调控植物对温度感知及信号转导

在分子细胞水平上, 植物温度感知机制与生物钟系统存在千丝万缕的联系, 包括两方面含义: 一是感知温度的关键组分同时也属于生物钟调控网络的重要组成部分, 有的位于上游的生物钟输入途径(如phyB、CRY1/CRY2和UVR8), 有的本身就是生物钟的核心组分(如ELF3和ZTL/FKF1/LKP2); 大部分组分极可能位于生物钟下游的输出途径, 在转录、转录后及代

谢层面表现出节律性(如CNGC6、ANN1以及AHK2/AHK3)。组学分析发现, 感知温度关键组分的表达具有明显的昼夜节律性, 但目前相关研究较少。二是温度的变化直接或间接负反馈作用于生物钟, 通过调控生物钟核心基因的转录和mRNA前体的选择性拼接, 或通过其它转录后途径精细调控生物钟对环境温度的响应。目前已报道的生物钟核心基因在转录水平和剪接上受到温度调控, 包括早晨/日间表达的CCA1/LHY、LNKs、RVE4/RVE8、BBX18和PRR9/PRR7, 以及傍晚/夜间表达的GI、ELF3和COR27/COR28等(Wang et al., 2012; Kidokoro et al., 2023)。

细胞质膜(plasma membrane, PM)是细胞感知温度变化的第1级结构, 其机制既涉及膜的理化性质——温度依赖的质膜流动性(membrane fluidity), 也涉及质膜结合的信号转导相关蛋白(通道蛋白、受体和转录因子等)对温度变化的响应情况。细胞质膜的流动性与其脂肪酸组成及饱和度有关, 温度升高使质膜的流动性增强, 进而导致Ca<sup>2+</sup>流入细胞, 使细胞骨架组织发生相应变化; 低温则导致质膜的流动性下降。由于转录组学数据已经证明生物钟几乎调控所有新陈代谢关键基因, 其中也包含与脂代谢稳态调控相关的关键基因; 而且脂代谢生成的磷脂信号分子被证明可以直接与CCA1和LHY结合, 进而影响后者的DNA结合能力(Kim et al., 2019)(图2)。目前, 有关植物生物钟在温度胁迫条件下调控脂质代谢的研究较少。有研究发现, 在棉花(*Gossypium hirsutum*)幼苗中, 有些脂质的合成与生物钟密切相关。例如, 亚油酸和亚麻酸的含量具有昼夜节律和近日节律性, 夜晚/主观夜间(subjective night)的含量高于白天或主观日间(subjective day), 且低温诱导的脂肪酸组成变化可能与低温抗性相关(Rikin et al., 1993)。质膜上结合的通道蛋白、受体和转录因子等也可对温度胁迫产生响应, 进而将环境温度变化的信号传递至细胞内部。有研究表明, 植物质膜水通道蛋白基因的转录、拟南芥根部水分动态以及雨树(*Samanea saman*)叶片的叶枕部运动细胞(motor cell)的体积变化均受生物钟调控(Moshelion et al., 2002; Takase et al., 2011; Prado et al., 2019)。生物钟不仅调控胞质钙振荡, 而且细胞内游离钙离子作为胞内第二信使, 其信号转导通路也可以负反馈调节生物钟(Xu et al., 2007)。另外, 质膜上的钙通道蛋白(如CNGC6和ANN1)及相关

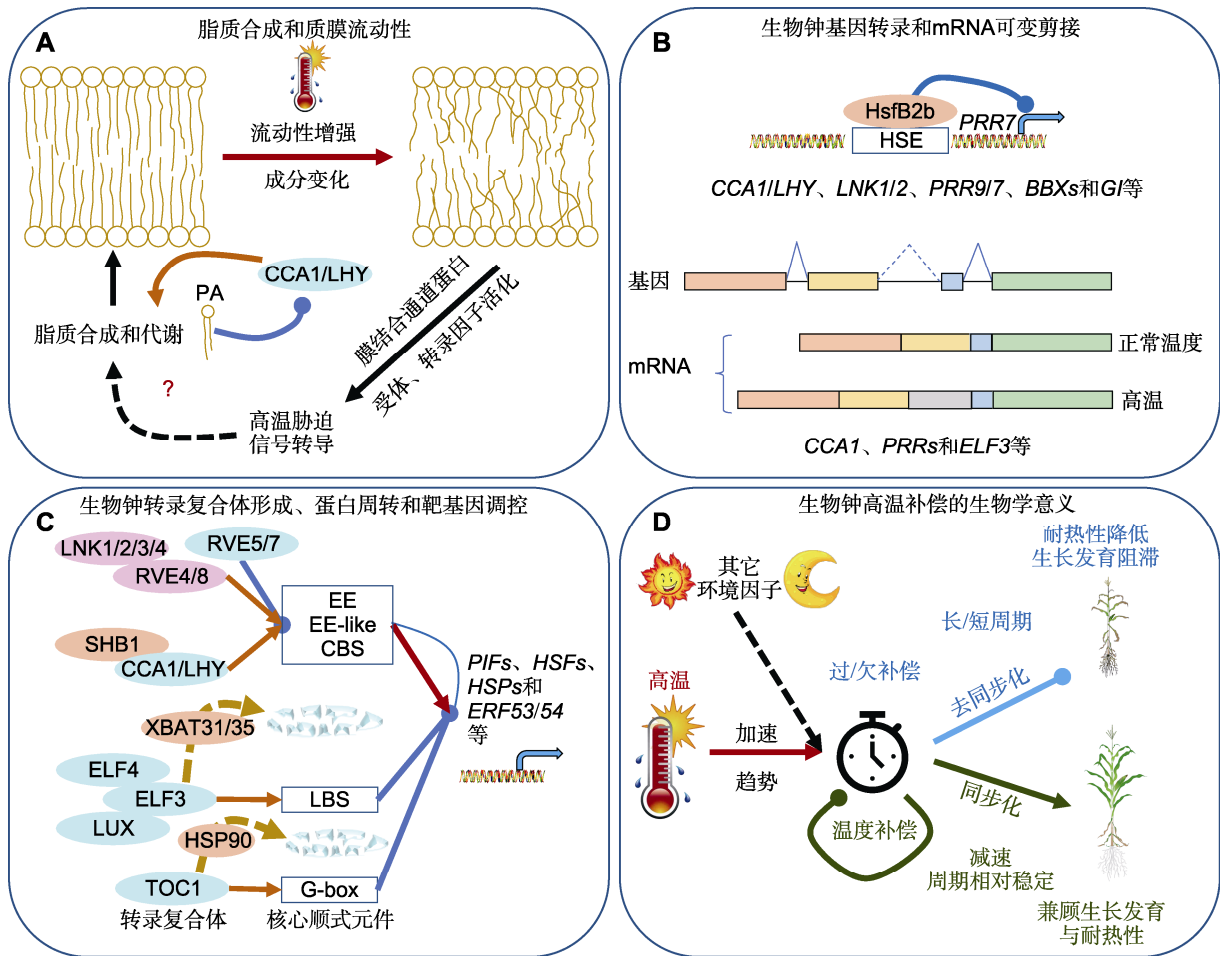


图2 生物钟感知昼夜温度变化、调控高温胁迫及周期长度温度补偿示意图

信号途径中带箭头实线表示直接或间接激活作用, 不带箭头实线表示直接或间接抑制作用, 黑色带箭头虚线表示可能存在的信号途径, C图中棕色带箭头虚线表示蛋白降解途径。PA: 磷脂酸; EE: 夜间元件; CBS: CCA1结合位点; LBS: LUX结合位点

Figure 2 Schematic diagram of the circadian clock that anticipates diel temperature fluctuations, regulates the responses to high-temperature stress and temperature compensation of the circadian period length

Solid lines with arrows in signaling pathways indicate direct or indirect activation, solid lines without arrows indicate direct or indirect inhibition, black dotted lines with arrows indicate possible signaling pathways, and brown dotted lines with arrows in Figure 2C indicate protein degradation pathways. PA: Phosphatidic acid; EE: Evening element; CBS: CCA1-binding site; LBS: LUX-binding site

组分(如COLD1和OST1)也使温度感受和传导功能(Ma et al., 2015; Ding et al., 2015)。目前, 关于钙信号相关温度感受途径与生物钟之间的直接联系报道较少, 但两者可能存在一定程度的反馈调控机制。

研究表明, 光敏色素phyB既是光受体, 也是热感受器。黑暗条件下, 温度升高促进phyB从活性Pfr形式转换为无活性的Pr构象形式, 导致由phyB形成的有活性细胞核小体(nuclear bodies)体积减小、数量减少。其对转录的抑制作用消除, 有助于促进热形态

建成基因的表达(Legris et al., 2016; Jung et al., 2016)。ELF3是生物钟夜间复合体LUX-ELF3-ELF4的组分之一, 定位于细胞核, 可与多种蛋白互作后行使多种功能(Huang et al., 2016)。ELF3通过其序列中包含的1个类朊病毒结构域, 在温度介导下发生相分离, 相变使ELF3在活性与非活性状态之间快速切换, 进而导致ELF3作为热感受器发挥作用(Jung et al., 2020)。Ford等(2016)对大麦elf3突变体的研究表明, ELF3缺失导致生物钟相关基因严重丧失对温度变化

的响应能力。需要说明的是,光照下phyB可与ELF3蛋白结合,从而保持ELF3蛋白的稳定性(Liu et al., 2001)。综上所述,光敏色素phyB具有光受体和热感受器双重作用,通过与ELF3互作直接将光温响应与生物钟夜间复合体LUX-ELF3-ELF4联系起来(Ezer et al., 2017);随着研究的深入,我们对温度感知途径的理解会更加明了。此外,蓝光受体隐花色素CRY1/CRY2的活性、稳定性以及紫外光受体UVR8二聚体均受到温度调控,也可能是潜在的温度感受器。上述温度感受器基因突变体也呈现近日节律缺陷表型,但在不同温度下,这些温度感受器与近日节律调控机制及生物学意义仍有待进一步探索。

## 2.2 生物钟调控植物热形态建成和高温胁迫抗性

近年来,生物钟关键组分调控植物热形态建成(thermomorphogenesis)和高温胁迫抗性的分子机制也取得较大进展(图2)。与常温下的生长形态相比,植物在较高环境温度下会出现叶柄和下胚轴伸长等一系列表型,即高温形态建成。PIF4为热形态建成下游的核心转录因子,促进热形态建成相关基因的表达,主导生长素等植物激素介导的热形态建成过程。生物钟夜间复合体LUX-ELF3-ELF4在转录水平上直接抑制PIF4的表达,是生物钟参与热形态建成的核心组分(Zhang et al., 2021b)。在红光下,CCA1可通过招募SHB1 (SHORT HYPOCOTYL UNDER BLUE 1)直接结合PIF4的启动子,调节红光对PIF4的特异性诱导;在较高温度下,其也可上调PIF4的转录,进而促进热形态建成(Sun et al., 2019)。MYB112在下午时段通过直接结合LUX的启动子抑制其表达,进一步解除LUX对PIF4表达的抑制。此外,值得关注的是生物钟组分RVE5、RVE7与CCA1/LHY属同一MYB亚家族,它们的同源基因RVE4/RVE6/RVE8在近日节律维持中具有转录激活作用,但在热形态建成中RVE5和RVE7被证实作为转录抑制因子发挥作用,RVE5的转录抑制活性弱于CCA1。尽管RVE5和CCA1蛋白在高温下均会积累,但两者对ELF4启动子的结合存在竞争性,最终通过形成夜间复合体间接调控PIF4的表达,从而影响热形态建成(Li et al., 2023)。

生物钟对PIF4也具有转录后调控作用。长日照以及较温暖的条件有利于GI蛋白的积累,进而使GI与RGA (REPRESSOR OF ga1-3)互作,增强RGA蛋白

的稳定性,最终抑制PIF4蛋白对YUC8等靶基因启动子的结合,抑制热形态建成(Park et al., 2020)。而短日照情况下,GI相对不稳定,RGA则通过赤霉素介导的泛素化途径降解,激活热形态建成的下游途径。另有研究表明,BBX18通过招募E3泛素连接酶XBAT-31/XBAT35,促进ELF3发生泛素化修饰,然后经26S蛋白酶体途径降解,进而削弱夜间复合体对PIF4的转录抑制作用,加速下胚轴的生长(Zhang et al., 2021a)。

适宜的温度是植物正常生长发育的必要条件,而长时间过高的温度会对固着生长的植物产生胁迫效应,相应抗性称为抗热性。植物可通过调整生命周期、改变形态或生理特征等方式,提高对高温逆境的抵抗能力。植物对抗温度胁迫的形式大致包括3种,即避逆性(通过改变生长发育时期或生理过程发生时间避开逆境)、御逆性(通过组织器官特定的结构和形态等抵御逆境)和耐逆性(通过生理生化和代谢活动阻止、降低或修复逆境造成的损伤)。

热胁迫对植物生长发育、生理过程和新陈代谢均有负面影响。在农业生产中,高温和干旱胁迫、高温和高光胁迫常同时发生,造成作物减产。目前,植物热胁迫抗性途径中最重要和研究最多的是热激转录因子(heat shock transcription factors, HSFs)与热激蛋白(heat shock proteins, HSPs)。植物可通过抗氧化剂(antioxidants) (抗氧化系统产生)、激素信号途径、渗透调节物质(新陈代谢产生)、蒸腾作用和细胞膜稳定性调控等增强耐热性。生物钟信号网络与上述多种耐热相关信号途径有广泛的应答关系,在植物热胁迫抗性中发挥重要作用。首先,多数HSFs的转录具有显著的昼夜节律性,受生物钟调控,虽然具体的生物学意义有待揭示,但是已暗示出生物钟对热胁迫抗性有很强的门控作用(Mody et al., 2020);其次,大部分生物钟核心组分及节律性表达的基因在转录水平上可对热胁迫信号做出快速响应(Bonnot and Nagel, 2021)。热激信号途径中的关键组分HsfB2b和HSP90也参与昼夜节律的表型调控(Kim et al., 2011; Kolmos et al., 2014)。热激转录因子HsfB2b通过结合PRR7启动子区的HSE (heat shock element, HSE)元件抑制PRR7表达。常温下,hsfB2b-1的周期长度与野生型相似,高温诱导HsfB2b过量表达,参与野生型近日节律的维持,hsfB2b突变体在高温下则部分丧

失温度补偿能力,表现出短周期表型(Kolmos et al., 2014)。HSP90则属于热激蛋白中的一类分子伴侣,在各种热适应性反应中得到广泛研究。结果表明,HSP90对ZTL的成熟和稳定至关重要,ZTL-HSP共同构成一个蛋白质质量控制系统,负责清除变性蛋白质。ZTL为生物钟转录后调控的核心组分,属于一种E3泛素连接酶,参与TOC1和PRR5的降解;在热激响应过程中,ZTL介导多泛素化降解不溶性聚集蛋白质,增强植物的耐热性(Gil et al., 2017)。此外,RVE4/RVE8调控早期热激响应基因的表达,通过结合*ERF53/ERF54* (*ETHYLENE RESPONSIVE FACTOR*)启动子区的EE元件上调其表达,该分子模块解释了RVE4/RVE8对热激抗性的负调控作用(Li et al., 2019)。LNK1/2/3/4作为生物钟TTFL中的转录激活辅助因子,分别与两类生物钟MYB类因子形成蛋白复合物,调节近日节律的周期长度。近期研究发现,LNKs与其互作蛋白还可正调控植物对冻害和高温胁迫的耐受性(Xie et al., 2014; Kidokoro et al., 2023)。低温胁迫下,LNK3/4磷酸化修饰水平显著升高,通过与RVE4/8互作激活冷胁迫下游基因*CBF3*、*COR15A*和*COR47*的表达;高温胁迫下,LNK1/2与RVE4/8共同激活*ERF53*和*ERF54*的表达。

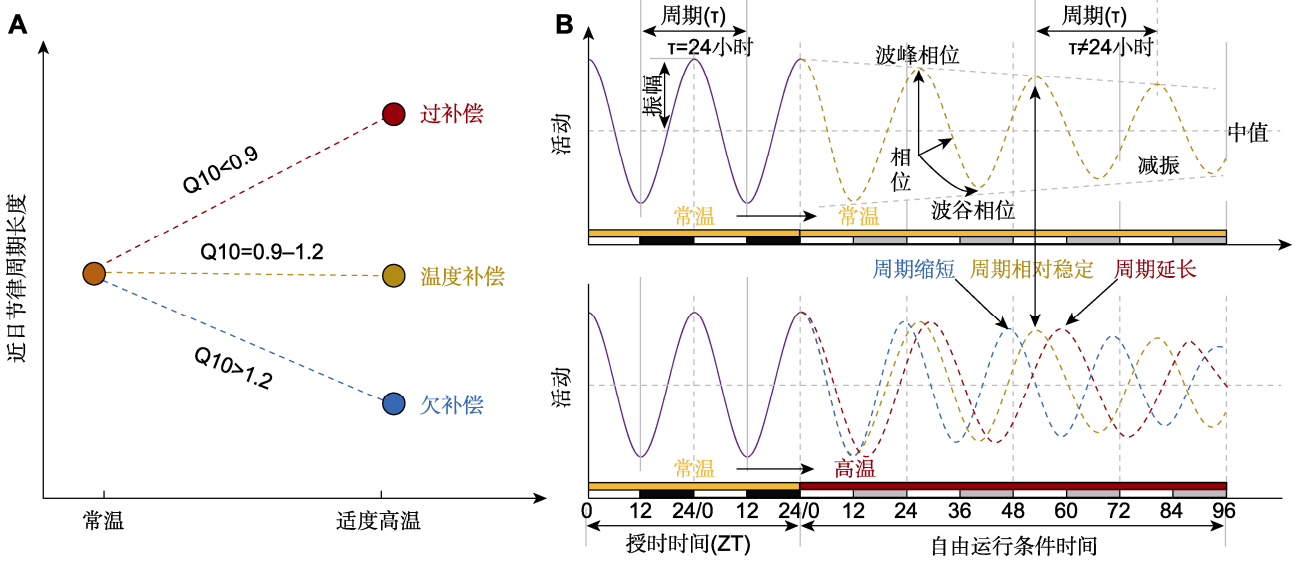
生物钟基因转录后mRNA前体的可变剪接(alternative splicing, AS)也是植物应对温度胁迫的方式之一,其中*CCA1/LHY*、*PRRs*和*ELF3*等在温度胁迫下mRNA呈现不同的剪接方式,温度胁迫通过AS机制影响有功能全长蛋白对应的mRNA丰度,从而整合生物钟与温度胁迫信号途径(图2)。以*CCA1* mRNA前体为例,其经过选择性剪接后编码2种主要的异构体,即具有DNA结合功能的全长蛋白CCA1 $\alpha$ 和缺失N端MYB结构域的CCA1 $\beta$ ;其中CCA1 $\beta$ 依然能与CCA1 $\alpha$ 或LHY蛋白互作,作为竞争性拮抗因子形成不具有转录因子功能的异源二聚体。因此,CCA1通过AS机制参与生物钟对温度变化的响应(Seo et al., 2012)。

### 2.3 植物生物钟的温度补偿机制

生物钟的温度补偿(temperature compensation)机制由时间生物学奠基人之一Colin Pittendrigh于20世纪50年代初提出。生物钟温度补偿与酶反应速度对温度高度敏感的现象明显不同:在较为宽泛的生理温度范围内,近日节律的周期长度(period length)能稳定维

持在约24小时(图2)。生命是一场盛大的化学事件,生命体内极其复杂的酶反应网络奠定了生命活动的核心基础。一般而言,酶反应速度具有强烈的温度依赖性,因此可用温度补偿性概念描述酶催化的化学反应与温度的关系,通常用温度系数(temperature coefficient)  $Q_{10}$ 来表征(温度每升高10°C,化学反应速度增加的倍数)。通常情况下,酶反应 $Q_{10}$ 的值约为2,即温度每升高10°C就会使反应速率增加约1倍;而生物钟驱动的近日常律具有极佳的温度补偿特征。温度补偿效应也从侧面反映出生物钟维持近24小时节律对于生命体的意义重大。自然环境中,超出正常生理范围的温度胁迫时有发生,为确保生物钟计时功能稳定,温度补偿机制尤为重要,甚至有时会损失一些温度胁迫抗性来换取近日常律步速/周期长度的相对稳定。一般而言,温度升高会使生物钟运行加速,因此高温下生物钟需要一定的减速机制;与之相反,温度降低会导致生物钟运行减慢,因此低温下生物钟需要一定的加速机制。高温下,与野生型相比,如果生物钟突变体表现为长周期,称为生物钟“过补偿(overcompensation)”;如果表现为短周期,则称为“欠补偿”或部分丧失补偿能力;低温下正好相反,与野生型相比,如果生物钟突变体表现为长周期,称为欠补偿;如果表现为短周期,则称为过补偿(图3)。生物钟温度补偿机制在不同物种中存在共性,一般而言,生物钟的温度补偿 $Q_{10}$ 的范围介于0.9–1.2之间。高等植物生物钟温度补偿现象研究需要遵循一定的方法(图3)。已发表的研究结果表明,高等植物的生物钟同样具备温度补偿机制。在12–32°C范围内,拟南芥生态型C24材料的近日节律周期长度的差异维持在2.5小时以内,温度系数 $Q_{10}$ 介于1.0–1.1之间(Somers et al., 1998)。对双子叶植物的叶片运动进行分析可高通量检测近日节律,以精确并高效地分析遗传群体中的温度补偿表型。Edwards等(2005)和Lou等(2011)对拟南芥生态型和白菜(*Brassica rapa* var. *glabra*)重组自交系(recombinant inbred lines, RILs)群体的研究表明,遗传群体材料的近日节律依然有很强的温度补偿现象。

植物的温度补偿分子机制涉及从转录到转录后多个层面的调控,其中AS是重要的一环。一些核心生物钟基因在响应外界温度信号和光信号过程中,发生了选择性剪接。目前已证明多个剪接体(spliceosome)组分或相关因子,如GEMIN2 (Gem Nuclear Orga-



**图3** 温度补偿的计算及近日节律表型  
**(A)** 从常温转入高温后,自由振荡条件下检测的近日节律可能出现3种温度补偿现象;**(B)** 昼夜条件下,生物钟每天被重置,周期固定为24小时;自由振荡条件下(如恒温 and 持续光照),内源性节律周期并不等于24小时。近日节律的关键参数包括周期长度、相位、振幅和中值。ZT: 授时时间

**Figure 3** Temperature compensation calculations and circadian rhythm phenotypes

**(A)** Three types of temperature compensation may occur when the circadian rhythm is detected under free-running conditions after a transition from normal to higher temperature; **(B)** In light/dark cycles, the circadian clock is reset each day with a fixed 24 h period length; under free-running conditions (e.g., constant temperature and continuous light), the period length of endogenous circadian rhythm is not equal to 24 h. Key parameters of the circadian rhythmicity include period length, phase, amplitude, and mesor. ZT: Zeitgeber time

nelle Associated Protein 2)、SKIP1 (SKI-INTERACTING PROTEIN)、SIC (SICKLE)、PRMT5 (PROTEIN ARGININE METHYL TRANSFERASE5)以及XCT (XAP5 CIRCADIAN TIMEKEEPER)参与光/温信号响应,其突变引起昼夜节律缺陷表型。值得关注的是,其中部分组分对生物钟基因AS的影响表现出较强的特异性。例如,GEMIN2在进化中高度保守,参与调节U1-U5 snRNP的组装,突变体为短周期表型,究其原因,可能是由于特异性影响到TOC1等生物钟基因的AS (Schlaen et al., 2015)。低温条件下,GEMIN2通过调控生物钟基因和其它靶基因的AS,在近日节律维持和冷胁迫抗性等生理过程中发挥重要作用。此外,SKIP1作为剪接复合体的组分之一,调控PRR7和PRR9等生物钟基因的选择性剪接,其缺失突变体引起长周期节律表型,在较低温度下(17°C),温度补偿能力显著丧失,在较高温度下(27°C)温度补偿能力很大程度上得到恢复(Wang et al., 2012)。SIC是一种富含脯氨酸和丝氨酸残基的核定位蛋白,具体分子和

生化功能未知。Marshall等(2016)研究表明,SIC调控CCA1、LHY、PRR7和ELF3的选择性剪接,在其突变体中LHY的mRNA内含子保留情况显著增加,遗传学分析表明,SIC位于CCA1和LHY的下游,参与生物钟温度补偿调控。此外,PRMT5被认为通过影响生物钟基因AS参与近日节律的维持,但其温度补偿机制尚无进一步报道。Hong等(2010)和Zhang等(2023)研究发现,xct突变体虽然有近日节律缺陷表型,也全局性影响基因的AS,但遗传学分析表明,其调控近日节律的机制可能独立于AS机制。

FLC是春化调控开花途径中一种决定性的MADS box类转录因子,通过抑制下游AGL20 (AGAMOUS LIKE 20)和FT等的表达抑制成花转变,且抑制作用随着春化时间的延长被逐渐解除。FLC同时也是第1个通过QTL图位克隆鉴定到参与温度补偿机制的基因,数学建模表明,夜间复合体关键组分LUX可能介导FLC与生物钟之间的联系(Edwards et al., 2006)。另一个夜间复合体重要组分ELF4也被证明参与温度

补偿调控, 22°C下, 其弱突变体*elf4-211*近日节律表型为长周期(完全敲除突变体近日节律丧失), 而15°C下*elf4-211*突变体与野生型表型相似, 随着温度的升高, 在22°C和28°C下, 与野生型表型变化趋势相比, *elf4-211*长周期表型则显著加剧, 表现为高温过补偿(Choudhary et al., 2015)。Chen等(2020)研究表明, 低温可促进ELF4从地上部转移至根部。因此, 地上部的ELF4作为一种长距离信号, 以依赖温度的方式参与根部生物钟的维持。

在清晨时段表达的*PRR9/PRR7-CCA1/LHY*转录模块在温度补偿调控中发挥关键作用。*prp7/prp9*双突变体材料具有高温过补偿表型, 可能是由于*CCA1/LHY*在突变体中过度表达所致; 利用*prp7/prp9*双突变体背景下敲减*CCA1/LHY*表达量的遗传学材料, 进一步证实*PRR7/9*位于*CCA1/LHY*的上游, 参与温度补偿调控(Salomé et al., 2010)。CRY1和CRY2可能通过促进LHY蛋白高温下的积累参与温度补偿调控, 具体机制有待进一步研究(Gould et al., 2013)。PRR7和PRR9在茎、叶及根部的生物钟温度补偿调控中具有器官特异性。在较高的环境温度下, 根部的PRR7和PRR9抑制夜间复合体相关基因的节律性表达(Li et al., 2020; Yuan et al., 2021)。在近日节律调控中, 与*CCA1/LHY*同源且相互拮抗的RVE8也是清晨表达的转录因子, 低温(12°C)下其突变体和超表达材料的近日节律周期与野生型相近; 随着温度升高至27°C, 与野生型相比, 突变体近日节律周期逐步延长, 超表达植株的近日节律周期显著缩短。上述结果表明, RVE8正调控高温补偿, 对高温促进近日节律加速的趋势起“刹车”作用(Rawat et al., 2011)。FBH1 (FLOWERING BASIC HELIX-LOOP-HELIX 1)为bHLH类转录因子, 其转录受到*CCA1*抑制; 同时, FBH1可结合*CCA1*启动子区的E-box-like顺式作用元件, 抑制其表达, 因此FBH1-*CCA1*构成一个反馈抑制环路。常温(22°C)下, *FBH1*过表达材料近日节律周期与野生型类似, 但是在较高温度(28°C)时, 过表达*FBH1*导致短周期表型(Nagel et al., 2014)。并不是所有生物钟基因突变体均具有温度补偿效应。例如, 短周期表型的*toc1*突变体随着温度的升高, 近日节律周期缩短, 但变化趋势与野生型非常类似, 并未表现出温度补偿表型(Somers et al., 1998)。此外, 长周期表型的*LNK1/LNK2*基因突变体随着温度的升高, 变化

趋势与野生型基本相同, 也未表现出温度补偿表型(Xie et al., 2014)。

生物钟组分转录后层面的调控也会影响生物钟的温度补偿机制, 其中研究最为深入的是GI-HSP90-ZTL-TOC1途径。GI不仅通过转录后机制参与调控植物生物钟及依赖光周期的开花, 而且参与生物钟的温度补偿机制。在12°C、17°C、22°C和27°C下, 其敲除突变体*gi-11*表现出独特的温度补偿现象: 与野生型相比, 其近日节律周期在约17°C时存在1个拐点(温度为17°C时, 突变体周期表型与野生型相似), 在低温(12°C)下周期显著变短, 为过补偿表型, 在较高温度(22°C和27°C)下周期也显著变短, 部分丧失了补偿能力(Gould et al., 2006)。GI和ZTL协同参与温度补偿调控, 新生的ZTL可能首先被早期复合体中的HSP70捕获, 中间经过形成GI-HSP90-ZTL三元复合物促进ZTL成熟; 成熟的ZTL从复合物中解离, 形成SCF<sup>ZTL</sup> (Skip1/Cullin/F-box), 直接调控PRR5以及TOC1的泛素化降解(Cha et al., 2017)。此外, 在转录后层面, *CCA1/LHY*蛋白的可逆磷酸化和SUMO化修饰(SUMOylation)也参与温度补偿调控, 酪氨酸激酶2 (CK2)及其调控的亚基CKBs均介导或者参与*CCA1/LHY*磷酸化, 从而影响*CCA1/LHY*二聚体的形成及其对DNA的结合活性; 其中, CKB4作为CK2的调节亚基, 通过促进*CCA1*磷酸化, 在高温下抑制其对靶基因*PRR9*、*PRR7*、*TOC1*和*LUX*启动子的结合, *CKB4*超表达材料在高温下周期显著缩短, 部分丧失对近日节律周期的补偿能力; 且CKB4的磷酸化和随后的泛素化降解也受到生物钟调控。总之, *CCA1-CK2*的反馈调控机制是保证生物钟温度补偿机制的重要一环(Portolés and Más, 2010)。除磷酸化修饰外, *CCA1*蛋白还存在SUMO化修饰。在SUMO蛋白酶OTS1 (OVERLY TOLERANT TO SALT 1)和OTS2的双缺失突变体中(整体蛋白的SUMO化水平增加), *CCA1*的亚细胞定位和蛋白的稳定性均未受到明显影响, 但经SUMO化修饰的*CCA1*对靶基因*PRR9*启动子的结合能力显著下降(Hansen et al., 2017a), 表明SUMO化也影响拟南芥的温度补偿能力。与野生型相比, *ots1/ots2*双突变体在高温下近日节律周期变化不大, 随着温度的降低近日节律周期显著延长, 因此SUMO化增加导致补偿不足; 与之相反, *siz1*突变体(SUMO E3连接酶SIZ1突变体, 引起蛋白整体SUMO化水平

降低)在高温下的近日节律周期显著缩短,且随着温度的降低,近日节律周期长度越接近野生型,因此SUMO化修饰减少导致了近日节律周期过补偿现象(Hansen et al., 2017b)。

生物钟温度补偿是一个涉及诸多信号途径的复杂调控过程。除上述途径外,还包括一些机制未知的其它途径。钠钙交换体( $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger, NCX)调控细胞中游离 $\text{Ca}^{2+}$ 对低温信号的响应,该机制在不同物种中保守性较强。研究表明,哺乳动物中NCX介导的冷响应相关的 $\text{Ca}^{2+}$ -CaMKII信号在温度补偿和自主振荡中发挥重要作用(Kon et al., 2021)。模式植物拟南芥由于存在13个NCX拷贝,不便于获得突变体进行直接研究,专家利用钙耗竭培养基研究了低温和正常温度下, $\text{Ca}^{2+}$ 对近日节律周期的影响。结果表明,在低温(17°C)下,缺Ga与否对拟南芥近日节律周期的影响不大;但在正常温度(22°C)下,钙耗竭导致近日节律周期显著缩短,说明钙信号也参与植物温度补偿调控。迄今为止,已证明植物所需金属微量元素(Fe和Mg)以及糖、氮、磷等新陈代谢产物和辅助因子均参与近日节律的维持,但是对其参与温度响应的研究尚未见报道(Buckley et al., 2023)。JMJD5/JMJ30 (JUMONJI DOMAIN CONTAINING 5)和JMJ29的突变引起短周期的近日节律表型。之后, Jones等(2019)研究表明, JMJD5可能以独立于LUX的途径,通过抑制PRR7等生物钟核心基因的转录参与温度补偿调控。

核心振荡器组分对温度的灵敏感知和快速响应,表明生物钟调控网络不是一个简单的刚性结构,而是具有良好的灵活性和韧性。温度补偿机制作为生物钟三大基本特征之一,其存在确保了近日节律周期长度的稳定性,甚至可通过损失部分抗逆性来维持周期的稳定。生物钟通过设置周期节律参数平衡系统稳定性与灵活性之间的关系,在保证测量时间推移准确性的同时,保持对温度变化的敏感性。已有研究表明,当植物内源近日节律周期与环境周期相近时,其生长发育才能够获得最佳的生存竞争优势,这可能是植物生物钟进化出温度补偿机制的根本原因(Patnaik et al., 2022)。

### 3 讨论与展望

全球变暖导致极端天气事件增加,作物栽培地域的气

候和生态系统改变给农业生产带来极大的不良影响。例如,持续高温、长期干旱、阴雨寡照、涝灾、风灾和病虫害频发等均会引起农作物大幅减产。因此,如何应对全球变暖对粮食安全的影响,是实现农业乃至国民经济可持续发展面临的重要挑战,受到科学界和各国政府的高度关注。研究者通过全球网格化作物模型评估了小麦、水稻、玉米和大豆4种主要粮食作物对气温上升的响应,结果表明,未来气候变暖将导致各主要产粮国的粮食产量普遍降低,仅升温1°C也将导致减产3%–10% (Wang et al., 2020b)。另有研究者利用数学方法评估了温度升高和灌溉等对全球18种主要粮食及经济作物产量的影响,结果表明随着温度的升高,灌溉的重要性越发凸显,因此可以通过提升灌溉效率和管理水平,提高作物的最适温度,从而有利于作物适应全球变暖的趋势(Agnolucci et al., 2020)。农业生产中,夜间温度过高会直接影响作物的产量(导致水稻减产约12.5%)。Desai等(2021)对水稻圆锥花序转录组的研究表明,在生殖生长阶段,即使夜间环境温度仅升高2–3°C,昼夜节律性表达的基因也会受到较大扰动,这可能是造成水稻减产的关键因素。综上所述,全球变暖引起的气候异常,特别是温度胁迫已成为作物高产和稳产的重要限制性因素之一。近年来,随着植物/作物生物钟核心机制及其对诸多农艺性状的关键调控机理的解析,利用生物钟指导农业生产未来可期(Steed et al., 2021)。

农业生产中,利用生物钟对温度的响应机理和温度补偿机制创制新种质,提高田间管理水平,降低经济成本并获得最大收益,是绿色可持续发展农业切实可行的路径之一。光照、温度和湿度是田间环境最重要的3个因素,本身就是生物钟关键授时因子,具有日节律和季节节律性。受全球变暖的影响,这3种环境因子一旦突破作物所能承受的阈值就会导致胁迫发生。因此,在田间环境中作物面临高光、高温和干旱的组合胁迫,这3种胁迫如果在1天中不同时段或在作物不同发育时期发生,均会对作物从发育、器官、细胞乃至分子层面产生巨大的负面作用,最终对农业生产造成严重的不利影响(图4)。

针对上述热相关组合胁迫,未来可利用时间生物学相关策略、基因编辑结合传统育种,对生物钟和高温胁迫抗性相关基因模块进行改造,以提升植物逃避、抵御或忍耐逆境的能力。首先,提高作物的避逆

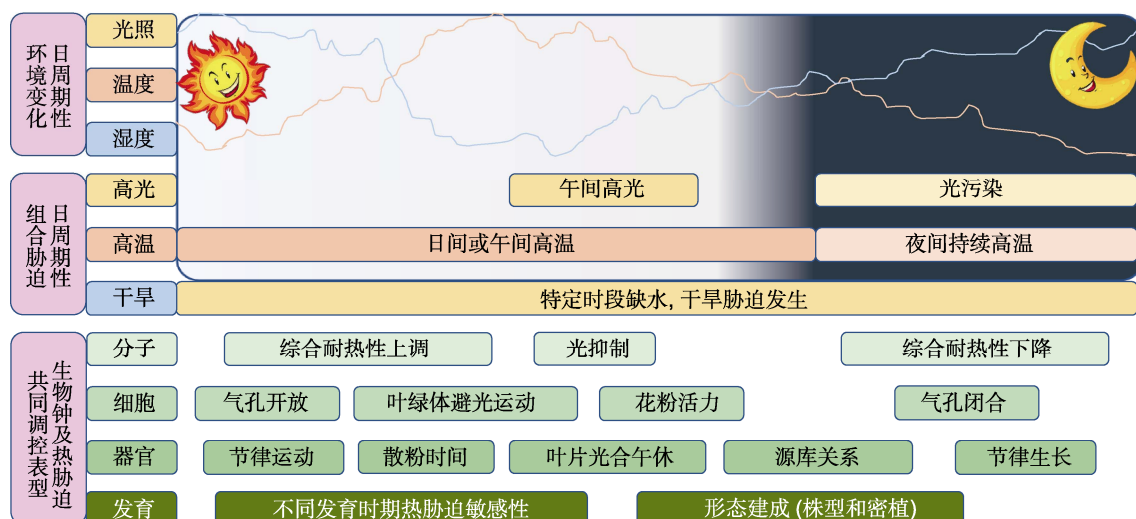


图4 生物钟调控的高温胁迫相关环境因子及生理表型

环境中光照、温度和湿度存在昼夜节律性变化, 其中光照和温度具有较强的正相关性, 温度和湿度具有较强的负相关性。在特定时段突破植物生理阈值的光照、温度和湿度会导致发生时间特异性胁迫。热激如果在1天中不同时段或作物不同生长时期发生, 最终均会对产量和品质产生一定程度的影响。

Figure 4 The circadian clock respond to environmental factors related to high temperature stress and regulate physiological processes

Light, temperature and humidity in the environment show daily oscillations, with a strong positive correlation between light and temperature and a strong negative correlation between temperature and humidity. When physiological thresholds are exceeded at specific times of a day, light, temperature and humidity can lead to time-specific stresses in plants. Heat shock, if it occurs at different times of the day or at different growth periods, will eventually affect yield and quality to some extent in crops.

性: (1) 作物的苗期/授粉期或灌浆期等阶段对温度极为敏感, 通过适当提前或推迟上述发育阶段, 确保关键发育时期避开环境极端温度; (2) 在昼夜24小时周期内, 调整开花、散粉和授粉等对温度敏感的特定生理过程的起始和结束时间, 避开昼夜特定时段出现温度胁迫; (3) 利用生物钟温度补偿性状改变作物品种的栽培地域性。其次, 提高作物的耐逆性: 通过调整1天中气孔开闭模式和叶片运动角度, 保持光合效率的同时提高水分利用率, 减少高温导致的失水和死亡等。再次, 提高作物的耐逆性: (1) 改良作物组织(花粉和叶片等)特异性表达的生物钟分子模块, 在不影响光周期开花时间的前提下, 提升作物的温度胁迫抗性; (2) 使作物对温度胁迫响应更加迅速、程度更高、胁迫消除后相关信号解除更快; (3) 在增强温度胁迫抗性途径的同时维持生物钟与近日节律的稳定, 兼顾温度胁迫抗性与生长发育过程; (4) 通过改变生物钟组分的时空模式提高作物的最适温度; (5) 改良高温下近日节律补偿特性, 选育适应温度范围更广的优良品种。此外, 灌溉、施肥、除草和病虫害控制等是田

间管理的重要内容, 其效果和成本控制均与作物内源生物钟息息相关: 内源生物钟决定了在1天中不同时段, 植物对水肥的吸收量和利用效率(Takase et al., 2011; Haydon et al., 2015; Simon et al., 2020)。植物对药剂的抗性也存在昼夜差异, 即受生物钟门控机制调节(Belbin et al., 2019), 因此田间管理在1天内需要强调时间性。综上所述, 植物/作物生物钟感受、响应温度以及温度补偿机制兼具有理论价值和农业应用潜力, 从不同角度为分子农业领域应对全球变暖提供了思路。

#### 作者贡献声明

谢启光和徐小冬: 共同确立论文选题, 完成论文写作、绘图及后续修改。

#### 参考文献

Agnolucci P, Rapti C, Alexander P, De Lipsis V, Holland RA, Eigenbrod F, Ekins P (2020). Impacts of rising temperatures and farm management practices on global

- yields of 18 crops. *Nat Food* **1**, 562–571.
- Belbin FE, Hall GJ, Jackson AB, Schanschieff FE, Archibald G, Formstone C, Dodd AN** (2019). Plant circadian rhythms regulate the effectiveness of a glyphosate-based herbicide. *Nat Commun* **10**, 3704.
- Bonnot T, Nagel DH** (2021). Time of the day prioritizes the pool of translating mRNAs in response to heat stress. *Plant Cell* **33**, 2164–2182.
- Buckley CR, Li X, Martí MC, Haydon MJ** (2023). A bitter-sweet symphony: metabolic signals in the circadian system. *Curr Opin Plant Biol* **73**, 102333.
- Cha JY, Kim J, Kim TS, Zeng QN, Wang L, Lee SY, Kim WY, Somers DE** (2017). GIGANTEA is a co-chaperone which facilitates maturation of ZEITLUPE in the *Arabidopsis* circadian clock. *Nat Commun* **8**, 3.
- Chen WW, Takahashi N, Hirata Y, Ronald J, Porco S, Davis SJ, Nusinow DA, Kay SA, Mas P** (2020). A mobile ELF4 delivers circadian temperature information from shoots to roots. *Nat Plants* **6**, 416–426.
- Choudhary MK, Nomura Y, Wang L, Nakagami H, Somers DE** (2015). Quantitative circadian phosphoproteomic analysis of *Arabidopsis* reveals extensive clock control of key components in physiological, metabolic, and signaling pathways. *Mol Cell Proteomics* **14**, 2243–2260.
- Desai JS, Lawas LMF, Valente AM, Leman AR, Grinevich DO, Jagadish SVK, Doherty CJ** (2021). Warm nights disrupt transcriptome rhythms in field-grown rice panicles. *Proc Natl Acad Sci USA* **118**, e2025899118.
- 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.
- Edwards KD, Anderson PE, Hall A, Salathia NS, Locke JCW, Lynn JR, Straume M, Smith JQ, Millar AJ** (2006). *FLOWERING LOCUS C* mediates natural variation in the high-temperature response of the *Arabidopsis* circadian clock. *Plant Cell* **18**, 639–650.
- Edwards KD, Lynn JR, Gyula P, Nagy F, Millar AJ** (2005). Natural allelic variation in the temperature-compensation mechanisms of the *Arabidopsis thaliana* circadian clock. *Genetics* **170**, 387–400.
- Ezer D, Jung JH, Lan H, Biswas S, Gregoire L, Box MS, Charoensawan V, Cortijo S, Lai XL, Stöckle D, Zubieta C, Jaeger KE, Wigge PA** (2017). The evening complex coordinates environmental and endogenous signals in *Arabidopsis*. *Nat Plants* **3**, 17087.
- Ford B, Deng WW, Clausen J, Oliver S, Boden S, Hemming M, Trevaskis B** (2016). Barley (*Hordeum vulgare*) circadian clock genes can respond rapidly to temperature in an *EARLY FLOWERING 3*-dependent manner. *J Exp Bot* **67**, 5517–5528.
- Frank A, Mantioli CC, Viana AJC, Hearn TJ, Kusakina J, Belbin FE, Wells Newman D, Yochikawa A, Cano-Ramirez DL, Chembath A, Cragg-Barber K, Haydon MJ, Hotta CT, Vincentz M, Webb AAR, Dodd AN** (2018). Circadian entrainment in *Arabidopsis* by the sugar-responsive transcription factor bZIP63. *Curr Biol* **28**, 2597–2606.
- Gil KE, Kim WY, Lee HJ, Faisal M, Saquib Q, Alatar AA, Park CM** (2017). ZEITLUPE contributes to a thermoresponsive protein quality control system in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **29**, 2882–2894.
- Gil KE, Park CM** (2019). Thermal adaptation and plasticity of the plant circadian clock. *New Phytol* **221**, 1215–1229.
- Goodspeed D, Liu JD, Chehab EW, Sheng ZJ, Francisco M, Kliebenstein DJ, Braam J** (2013). Postharvest circadian entrainment enhances crop pest resistance and phytochemical cycling. *Curr Biol* **23**, 1235–1241.
- Gould PD, Locke JCW, Larue C, Southern MM, Davis SJ, Hanano S, Moyle R, Milich R, Putterill J, Millar AJ, Hall A** (2006). The molecular basis of temperature compensation in the *Arabidopsis* circadian clock. *Plant Cell* **18**, 1177–1187.
- Gould PD, Ugarte N, Domijan M, Costa M, Foreman J, Macgregor D, Rose K, Griffiths J, Millar AJ, Finkens-tädt B, Penfield S, Rand DA, Halliday KJ, Hall AJW** (2013). Network balance *via* CRY signaling controls the *Arabidopsis* circadian clock over ambient temperatures. *Mol Syst Biol* **9**, 650.
- Greenham K, McClung CR** (2015). Integrating circadian dynamics with physiological processes in plants. *Nat Rev Genet* **16**, 598–610.
- Gutiérrez RA, Stokes TL, Thum K, Xu XD, Obertello M, Katari MS, Tanurdzic M, Dean A, Nero DC, McClung CR, Coruzzi GM** (2008). Systems approach identifies an organic nitrogen-responsive gene network that is regulated by the master clock control gene *CCA1*. *Proc Natl Acad Sci USA* **105**, 4939–4944.
- Hansen LL, Imrie L, Le Bihan T, van den Burg HA, van Ooijen G** (2017a). Sumoylation of the plant clock transcription factor *CCA1* suppresses DNA binding. *J Biol Rhythms* **32**, 570–582.
- Hansen LL, van den Burg HA, van Ooijen G** (2017b). Sumoylation contributes to timekeeping and temperature

- compensation of the plant circadian clock. *J Biol Rhythms* **32**, 560–569.
- Haydon MJ, Mielczarek O, Robertson FC, Hubbard KE, Webb AAR** (2013). Photosynthetic entrainment of the *Arabidopsis thaliana* circadian clock. *Nature* **502**, 689–692.
- Haydon MJ, Román Á, Arshad W** (2015). Nutrient homeostasis within the plant circadian network. *Front Plant Sci* **6**, 299.
- Hong S, Song HR, Lutz K, Kerstetter RA, Michael TP, McClung CR** (2010). Type II protein arginine methyltransferase 5 (PRMT5) is required for circadian period determination in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA* **107**, 21211–21216.
- Hsu PY, Devisetty UK, Harmer SL** (2013). Accurate time-keeping is controlled by a cycling activator in *Arabidopsis*. *eLife* **2**, e00473.
- Huang H, Alvarez S, Bindbeutel R, Shen ZX, Naldrett MJ, Evans BS, Briggs SP, Hicks LM, Kay SA, Nusinow DA** (2016). Identification of evening complex associated proteins in *Arabidopsis* by affinity purification and mass spectrometry. *Mol Cell Proteomics* **15**, 201–217.
- Jones MA, Morohashi K, Grotewold E, Harmer SL** (2019). *Arabidopsis* JMJD5/JMJ30 acts independently of LUX ARRHYTHMO within the plant circadian clock to enable temperature compensation. *Front Plant Sci* **10**, 57.
- Jung JH, Barbosa AD, Hutin S, Kumita JR, Gao MJ, Derwort D, Silva CS, Lai XL, Pierre E, Geng F, Kim SB, Baek S, Zubieta C, Jaeger KE, Wigge PA** (2020). A prion-like domain in ELF3 functions as a thermosensor in *Arabidopsis*. *Nature* **585**, 256–260.
- 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.
- Kidokoro S, Konoura I, Soma F, Suzuki T, Miyakawa T, Tanokura M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K** (2023). Clock-regulated coactivators selectively control gene expression in response to different temperature stress conditions in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* **120**, e2216183120.
- Kim SC, Nusinow DA, Sorkin ML, Pruneda-Paz J, Wang XM** (2019). Interaction and regulation between lipid mediator phosphatidic acid and circadian clock regulators. *Plant Cell* **31**, 399–416.
- Kim TS, Kim WY, Fujiwara S, Kim J, Cha JY, Park JH, Lee SY, Somers DE** (2011). HSP90 functions in the circadian clock through stabilization of the client F-box protein ZEITLUPE. *Proc Natl Acad Sci USA* **108**, 16843–16848.
- Kolmos E, Chow BY, Pruneda-Paz JL, Kay SA** (2014). HsfB2b-mediated repression of *PRR7* directs abiotic stress responses of the circadian clock. *Proc Natl Acad Sci USA* **111**, 16172–16177.
- Kon N, Wang HT, Kato YS, Uemoto K, Kawamoto N, Kawasaki K, Enoki R, Kurosawa G, Nakane T, Sugiyama Y, Tagashira H, Endo M, Iwasaki H, Iwamoto T, Kume K, Fukada Y** (2021). Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger mediates cold Ca<sup>2+</sup> signaling conserved for temperature-compensated circadian rhythms. *Sci Adv* **7**, eabe8132.
- Kong YM, Han L, Liu X, Wang HF, Wen LZ, Yu XL, Xu XD, Kong FJ, Fu CX, Mysore KS, Wen JQ, Zhou C** (2020). The nodulation and nyctinastic leaf movement is orchestrated by clock gene *LHY* in *Medicago truncatula*. *J Integr Plant Biol* **62**, 1880–1895.
- 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.
- Li BJ, Gao ZH, Liu XY, Sun DY, Tang WQ** (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 W, Tian YY, Li JY, Yuan L, Zhang LL, Wang ZY, Xu XD, Davis SJ, Liu JX** (2023). A competition-attenuation mechanism modulates thermoresponsive growth at warm temperatures in plants. *New Phytol* **237**, 177–191.
- Li Y, Wang LB, Yuan L, Song Y, Sun JQ, Jia Q, Xie QG, Xu XD** (2020). Molecular investigation of organ-autonomous expression of *Arabidopsis* circadian oscillators. *Plant Cell Environ* **43**, 1501–1512.
- Liu XL, Covington MF, Fankhauser C, Chory J, Wagner DR** (2001). *ELF3* encodes a circadian clock-regulated nuclear protein that functions in an *Arabidopsis* *PHYB* signal transduction pathway. *Plant Cell* **13**, 1293–1304.
- Lou P, Xie Q, Xu X, Edwards CE, Brock MT, Weinig C, McClung CR** (2011). Genetic architecture of the circadian clock and flowering time in *Brassica rapa*. *Theor Appl Genet* **123**, 397–409.
- 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.

- Marshall CM, Tartaglio V, Duarte M, Harmon FG** (2016). The *Arabidopsis sickle* mutant exhibits altered circadian clock responses to cool temperatures and temperature-dependent alternative splicing. *Plant Cell* **28**, 2560–2575.
- Mizuno T, Nakamichi N** (2005). Pseudo-response regulators (PRRs) or True oscillator components (TOCs). *Plant Cell Physiol* **46**, 677–685.
- Mody T, Bonnot T, Nagel DH** (2020). Interaction between the circadian clock and regulators of heat stress responses in plants. *Genes (Basel)* **11**, 156.
- Moshelion M, Becker D, Biela A, Uehlein N, Hedrich R, Otto B, Levi H, Moran N, Kaldenhoff R** (2002). Plasma membrane aquaporins in the motor cells of *Samanea saman*: diurnal and circadian regulation. *Plant Cell* **14**, 727–739.
- Mwimba M, Karapetyan S, Liu LJ, Marqués J, McGinnis EM, Buchler NE, Dong XN** (2018). Daily humidity oscillation regulates the circadian clock to influence plant physiology. *Nat Commun* **9**, 4290.
- Nagel DH, Pruneda-Paz JL, Kay SA** (2014). FBH1 affects warm temperature responses in the *Arabidopsis* circadian clock. *Proc Natl Acad Sci USA* **111**, 14595–14600.
- Nusinow DA, Helfer A, Hamilton EE, King JJ, Imaizumi T, Schultz TF, Farré EM, Kay SA** (2011). The ELF4-ELF3-LUX complex links the circadian clock to diurnal control of hypocotyl growth. *Nature* **475**, 398–402.
- Park YJ, Kim JY, Lee JH, Lee BD, Paek NC, Park CM** (2020). GIGANTEA shapes the photoperiodic rhythms of thermomorphogenic growth in *Arabidopsis*. *Mol Plant* **13**, 459–470.
- Patnaik A, Alavilli H, Rath J, Panigrahi KCS, Panigrahy M** (2022). Variations in circadian clock organization & function: a journey from ancient to recent. *Planta* **256**, 91.
- Portolés S, Más P** (2010). The functional interplay between protein kinase CK2 and CCA1 transcriptional activity is essential for clock temperature compensation in *Arabidopsis*. *PLoS Genet* **6**, e1001201.
- Prado K, Cotellet V, Li GW, Bellati J, Tang N, Tournaire-Roux C, Martinière A, Santoni V, Maurel C** (2019). Oscillating aquaporin phosphorylation and 14-3-3 proteins mediate the circadian regulation of leaf hydraulics. *Plant Cell* **31**, 417–429.
- Rawat R, Takahashi N, Hsu PY, Jones MA, Schwartz J, Salemi MR, Phinney BS, Harmer SL** (2011). REVEILLE8 and PSEUDO-RESPONSE REGULATOR5 form a negative feedback loop within the *Arabidopsis* circadian clock. *PLoS Genet* **7**, e1001350.
- Rikin A, Dillwith JW, Bergman DK** (1993). Correlation between the circadian rhythm of resistance to extreme temperatures and changes in fatty acid composition in cotton seedlings. *Plant Physiol* **101**, 31–36.
- Salomé PA, Weigel D, McClung CR** (2010). The role of the *Arabidopsis* morning loop components CCA1, LHY, PRR7, and PRR9 in temperature compensation. *Plant Cell* **22**, 3650–3661.
- Sanchez SE, Kay SA** (2016). The plant circadian clock: from a simple timekeeper to a complex developmental manager. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **8**, a027748.
- Sanchez SE, Rugnone ML, Kay SA** (2020). Light perception: a matter of time. *Mol Plant* **13**, 363–385.
- Schaffer R, Ramsay N, Samach A, Corden S, Putterill J, Carré IA, Coupland G** (1998). The *late elongated hypocotyl* mutation of *Arabidopsis* disrupts circadian rhythms and the photoperiodic control of flowering. *Cell* **93**, 1219–1229.
- Schlaen RG, Mancini E, Sanchez SE, Perez-Santángelo S, Rugnone ML, Simpson CG, Brown JWS, Zhang X, Chernomoretz A, Yanovsky MJ** (2015). The spliceosome assembly factor GEMIN2 attenuates the effects of temperature on alternative splicing and circadian rhythms. *Proc Natl Acad Sci USA* **112**, 9382–9387.
- 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.
- Simon NML, Graham CA, Comben NE, Hetherington AM, Dodd AN** (2020). The circadian clock influences the long-term water use efficiency of *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **183**, 317–330.
- Somers DE, Webb AAR, Pearson M, Kay SA** (1998). The short-period mutant, *toc1-1*, alters circadian clock regulation of multiple outputs throughout development in *Arabidopsis thaliana*. *Development* **125**, 485–494.
- Steed G, Ramirez DC, Hannah MA, Webb AAR** (2021). Chronoculture, harnessing the circadian clock to improve crop yield and sustainability. *Science* **372**, eabc9141.
- Sun QB, Wang SL, Xu G, Kang XJ, Zhang M, Ni M** (2019). SHB1 and CCA1 interaction desensitizes light responses and enhances thermomorphogenesis. *Nat Commun* **10**, 3110.
- Takase T, Ishikawa H, Murakami H, Kikuchi J, Sato-Nara K, Suzuki H** (2011). The circadian clock modulates water dynamics and aquaporin expression in *Arabidopsis* roots.

- Plant Cell Physiol* **52**, 373–383.
- Verslues PE, Bailey-Serres J, Brodersen C, Buckley TN, Conti L, Christmann A, Dinneny JR, Grill E, Hayes S, Heckman RW, Hsu PK, Juenger TE, Mas P, Munnik T, Nelissen H, Sack L, Schroeder JI, Testerink C, Tyerman SD, Umezawa T, Wigge PA** (2023). Burning questions for a warming and changing world: 15 unknowns in plant abiotic stress. *Plant Cell* **35**, 67–108.
- Wang F, Han TW, Song QX, Ye WX, Song XG, Chu JF, Li JY, Chen ZJ** (2020a). The rice circadian clock regulates tiller growth and panicle development through strigolactone signaling and sugar sensing. *Plant Cell* **32**, 3124–3138.
- Wang XH, Zhao C, Müller C, Wang CZ, Ciais P, Janssens I, Peñuelas J, Asseng S, Li T, Elliott J, Huang Y, Li L, Piao S** (2020b). Emergent constraint on crop yield response to warmer temperature from field experiments. *Nat Sustain* **3**, 908–916.
- Wang XX, Wu FM, Xie QG, Wang HM, Wang Y, Yue YL, Gahura O, Ma SS, Liu L, Cao Y, Jiao YL, Puta F, McClung CR, Xu XD, Ma LG** (2012). SKIP is a component of the spliceosome linking alternative splicing and the circadian clock in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **24**, 3278–3295.
- 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**, 1207–1217.
- Wei H, Wang Y, Liu BH, Wang L** (2018). Deciphering the underlying mechanism of the plant circadian system and its regulation on plant growth and development. *Chin Bull Bot* **53**, 456–467. (in Chinese)
- 魏华, 王岩, 刘宝辉, 王雷 (2018). 植物生物钟及其调控生长发育的研究进展. *植物学报* **53**, 456–467.
- Wu JF, Tsai HL, Joanito I, Wu YC, Chang CW, Li YH, Wang Y, Hong JC, Chu JW, Hsu CP, Wu SH** (2016). LWD-TCP complex activates the morning gene *CCA1* in *Arabidopsis*. *Nat Commun* **7**, 13181.
- Xie QG, Wang P, Liu X, Yuan L, Wang LB, Zhang CG, Li Y, Xing HY, Zhi LY, Yue ZL, Zhao CS, McClung CR, Xu XD** (2014). LNK1 and LNK2 are transcriptional coactivators in the *Arabidopsis* circadian oscillator. *Plant Cell* **26**, 2843–2857.
- Xu XD, Hotta CT, Dodd AN, Love J, Sharrock R, Lee YW, Xie QG, Johnson CH, Webb AAR** (2007). Distinct light and clock modulation of cytosolic free  $Ca^{2+}$  oscillations and rhythmic *CHLOROPHYLL A/B BINDING PROTEIN2* promoter activity in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **19**, 3474–3490.
- Xu XD, Yuan L, Xie QG** (2022a). The circadian clock ticks in plant stress responses. *Stress Biol* **2**, 15.
- Xu XD, Yuan L, Yang X, Zhang X, Wang L, Xie QG** (2022b). Circadian clock in plants: linking timing to fitness. *J Integr Plant Biol* **64**, 792–811.
- Yanovsky MJ, Izaguirre M, Wagmaister JA, Gatz C, Jackson SD, Thomas B, Casal JJ** (2000). Phytochrome A resets the circadian clock and delays tuber formation under long days in potato. *Plant J* **23**, 223–232.
- Yuan L, Hu Y, Li SL, Xie QG, Xu XD** (2021). *PRR9* and *PRR7* negatively regulate the expression of EC components under warm temperature in roots. *Plant Signal Behav* **16**, 1855384.
- Zhang HT, Kumimoto RW, Anver S, Harmer SL** (2023). *XAP5 CIRCADIAN TIMEKEEPER* regulates RNA splicing and the circadian clock by genetically separable pathways. *Plant Physiol* **192**, 2492–2506.
- Zhang LL, Li W, Tian YY, Davis SJ, Liu JX** (2021a). The E3 ligase XBAT35 mediates thermoresponsive hypocotyl growth by targeting ELF3 for degradation in *Arabidopsis*. *J Integr Plant Biol* **63**, 1097–1103.
- Zhang LL, Luo AN, Davis SJ, Liu JX** (2021b). Timing to grow: roles of clock in thermomorphogenesis. *Trends Plant Sci* **26**, 1248–1257.
- 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**, 472–476.

# Plant Circadian Clock in Agricultural Production in Response to Global Warming

Qiguang Xie<sup>\*</sup>, Xiaodong Xu<sup>\*</sup>

State Key Laboratory of Crop Stress Adaptation and Improvement, School of Life Sciences, Henan University, Kaifeng 475004, China

**Abstract** Global warming is now a major trend, in which temperature stress due to abnormal climate occurs frequently, posing a great challenge to the high-yield and stable agricultural production. The circadian clock, an endogenous, heritable timekeeping mechanism, endows plants with the ability to anticipate and respond rapidly to cyclic changes in external factors, which ensures that physiological and biochemical pathways are synchronized with the environment and greatly enhances plant's ability to survive and reproduce. The temperature responses and temperature compensation are not only related to the key scientific issue of “synchronization” of the circadian clock with environmental signals, but also to the application of crop adaptation to temperature stress in agriculture. Temperature compensation refers to the fact that within a broad range of physiological temperatures, through transcriptional and post-transcriptional architecture, the clock can essentially maintain the circadian period length unchanged, ensuring that the timekeeping mechanism operates accurately. Light, temperature and humidity are closely coupled in the natural environment, and they act as timing factors, transmitting external cues to the core oscillators via the input pathway, which affects almost all processes of plant growth and development. In this review, we summarize the historical research of temperature response and compensation mechanism of plant circadian clocks, and describe the latest research progress, and also look forward to its application in crop genetic breeding and field management. We seek to provide new idea and solution to the problem of temperature stress adaptation in crops.

**Key words** circadian clocks, circadian rhythms, temperature compensation, temperature stress, genetic breeding

**Xie QG, Xu XD** (2024). Plant circadian clock in agricultural production in response to global warming. *Chin Bull Bot* **59**, 635–650.

---

\* Authors for correspondence. E-mail: qiguang.xie@henu.edu.cn; xiaodong.xu@henu.edu.cn

(责任编辑: 孙冬花)

## 通讯作者/团队简介

**谢启光/徐小冬**, 河南大学生命科学学院教授、博士生导师、省部共建作物逆境适应与改良国家重点实验室/生物节律团队课题组长; 2002–2015年分别于美国Vanderbilt U和美国Dartmouth College从事时间生物学研究。团队研究方向为生物钟调控农艺性状的遗传学机理。研究成果在*Science*、*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*、*Plant Cell*、*Plant, Cell & Environment*、*Theoretical and Applied Genetics*、*Journal of Integrative Plant Biology*和*Genetics*等期刊发表, 共计50余篇; 先后发现植物生物钟TTFL的激活环路及揭示生物钟蛋白时序表达的动态调控机理, 2次更新植物生物钟分子机制模型, 入选*Plant Cell* (2020–2021年度) 15篇高影响力论文; 授权国家发明专利7项、授权国家农业农村部植物新品种1项。两位课题组长历任中国细胞生物学学会生物节律分会副会长、常务委员和学术委员。