

毛竹笋竹快速生长期可溶性糖质量分数与 *PeTPS1/PeSnRK1* 基因表达分析

李丹丹¹, 许馨露¹, 翟建云¹, 孙建飞¹, 曹友志², 高岩¹, 张汝民¹

(1. 浙江农林大学 林业与生物技术学院, 浙江 杭州 311300; 2. 浙江农林大学 省部共建亚热带森林培育国家重点实验室培育基地, 浙江 杭州 311300)

摘要: 为探讨毛竹 *Phyllostachys edulis* 笋竹快速生长期可溶性糖质量分数变化与 *PeTPS1* 和 *PeSnRK1* 基因的表达情况, 明确它们与毛竹快速生长的关系, 采用实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)分析技术对笋竹快速生长期不同时间(黄昏后 0, 4 和 8 h)和不同部位(笋竹上部、中部、下部和竹筴)*PeTPS1* 和 *PeSnRK1* 基因表达量进行分析, 并采用试剂盒法测定糖质量分数。结果表明: 笋竹茎秆上部可溶性糖质量分数变化不显著; 黄昏后 8 h 中部葡萄糖、果糖、蔗糖质量分数与黄昏时相比分别下降了 2.2 倍、1.4 倍和 1.6 倍; 营养储存器官竹筴中黄昏后 8 h 葡萄糖、果糖、蔗糖、海藻糖质量分数与黄昏时相比分别下降了 1.6 倍、1.3 倍、1.4 倍和 1.3 倍。笋竹中部黄昏后 8 h *PeTPS1* 基因的表达量为下部的 4.8 倍; 黄昏后 8 h 竹筴中 *PeSnRK1* 基因表达量均显著高于其他部位, 为黄昏时的 1.7 倍。随黄昏时间变化毛竹快速生长过程中不同部位碳水化合物质量分数及其相关调控基因不断变化, 可溶性糖不断消耗以供应笋竹快速生长部位的生长, 同时 *PeTPS1* 基因被上调合成海藻糖以保证充足的碳源, 而 *PeSnRK1* 基因则呈现出与 *PeTPS1* 基因表达相反的变化趋势。推测 T6P/*SnRK1* 信号共同调节黑暗中笋竹快速生长, 在毛竹快速生长这一关键生理过程中具有重要作用。研究成果为进一步明确毛竹速生生长机制以及指导其他树木的速生和育种具有重要意义。图 4 表 1 参 35

关键词: 植物学; 毛竹; 糖; *PeTPS1*; *PeSnRK1*; 快速生长

中图分类号: S718.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2017)06-1016-08

Soluble sugar content and *PeTPS1/PeSnRK1* gene expression in *Phyllostachys edulis* during rapid growth

LI Dandan¹, XU Xinlu¹, ZHAI Jianyun¹, SUN Jianfei¹, CAO Youzhi², GAO Yan¹, ZHANG Rumin¹

(1. School of Forestry and Biotechnology, Zhejiang A & F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China; 2. State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A & F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China)

Abstract: To discuss expression of the *PeTPS1/PeSnRK1* gene and soluble sugar mass fraction in different parts of *Phyllostachys edulis* bamboo during the process of rapid growth and to clarify their relationship with this rapid growth, the relative expression of *PeTPS1* and *PeSnRK1* in the bamboo stump and the lower, middle, and upper parts of the *Ph. edulis* bamboo shoot were analyzed at sunset (0 h), 4 h, and 8 h after sunset using the quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction (qRT-PCR) analysis technique. Also, the mass fraction of soluble sugars was analyzed by the kit method. Results showed that the soluble sugar mass fraction in the upper part of the bamboo shoot did not change. The mid-section of the bamboo shoot mass fraction at 8 h after dusk compared to sunset was lower 2.2 times for glucose, 1.4 times for fructose, and 1.6 times for sucrose. Nutrient storage mass fractions in the bamboo stump at 8 h after sunset compared to 8 h after sunset was lower

收稿日期: 2016-11-23; 修回日期: 2017-01-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31570686, 30972397)

作者简介: 李丹丹, 从事植物生理生态学研究。E-mail: hutaoqiu1112@126.com。通信作者: 曹友志, 讲师, 博士, 从事林木分子生物学等研究。E-mail: yzcao@zafu.edu.cn

for glucose (1.6 times), fructose (1.3 times), sucrose (1.4 times), and trehalose (1.3 times). Expression of the *PeTPS1* gene in the middle of the bamboo shoot was 4.8 times lower than in the lower part of the bamboo shoot. Expression of the *PeSnRK1* gene in the bamboo stump compared to the other parts was higher at 8 h after sunset and was 1.7 times higher compared to dusk. These results could provide new insights into the mechanism of rapid growth of *Ph. edulis* as well as direct fast-growth and breeding of other trees. [Ch, 4 fig. 1 tab. 35 ref.]

Key words: botany; *Phyllostachys edulis*; trehalose; *PeTPS1*; *PeSnRK1*; rapid growth

碳水化合物是光合作用的最终产物, 不仅为植物体的生长发育和生理代谢提供能量, 同时也作为信号分子在物质运输、渗透调节、抵抗胁迫、基因表达等方面起重要作用^[1]。樱桃番茄 *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme* 果实在发育成熟过程中, 蔗糖被不断分解, 而葡萄糖和果糖逐渐积累^[2]。对温州蜜柑 *Citrus unshiu* 研究发现^[3], 蜜柑果实成熟过程中可食组织中糖不断增加, 而果糖激酶活性不断下降。拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 中编码淀粉降解相关基因的表达受光照时间和生物钟调控, 持续黑暗条件下, 碳水化合物水平、转录水平和蛋白质水平相互协调, 糖促进拟南芥下胚轴伸长^[4-5]。海藻糖可以诱导光合器官中调控碳水化合物合成酶的激活^[6], 高浓度海藻糖抑制拟南芥根中碳水化合物分配, 抑制根的伸长^[7]; 逆境条件下植物体内海藻糖含量增加以抵抗胁迫^[8]。WINGLER 等^[9]发现海藻糖通过调节糖调控基因的表达影响拟南芥幼苗的生长代谢。海藻糖磷酸合成酶(trehalose-6-phosphate synthase, TPS1)作为一种信号来调控海藻糖-6-磷酸(T6P)的合成, T6P 通过磷酸海藻糖磷酸酶(TPP)转化为海藻糖, 从而促进植物的生长发育^[10]。对水稻 *Oryza sativa*^[11], 烟草 *Nicotiana tabacum*^[12]和小麦 *Triticum aestivum*^[13]等植物幼苗研究发现: 植物体通过调控 *TPS1* 基因的表达来增加体内海藻糖质量分数, 从而提高其抗逆性。植物蔗糖非发酵-1-型相关蛋白激酶1(sucrose non-fermenting-1(SNF1)-related kinase 1, SnRK1)是植物中糖信号调控的一种关键激酶, 广泛参与植物的细胞周期调控、生长发育、病虫害防御、激素信号传导和非生物胁迫等各种信号的应答反应^[14]。能量匮乏条件下, 拟南芥 SNF1 相关蛋白激酶催化亚基 *KIN10* 和 *KIN11* 促进合成代谢基因的表达, 抑制分解代谢基因的表达以响应胁迫^[15]。反义表达 *SnRK1* 马铃薯 *Solanum tuberosum* 叶片丧失蔗糖合成酶的转录功能^[16]; 对水稻和拟南芥研究发现: *SnRK1* 活性的高低严重影响着胁迫诱导型基因的表达, 从而增强植物抗逆性^[17]。植物中可溶性糖和 *SnRK1* 一同作为生物发育的糖信号调控物质, 与糖信号途径相互作用。能量缺乏时, *SnRK1* 抑制植物体生长, T6P 通过抑制 *SnRK1* 的表达来调控基因的表达, 保证植物在营养缺乏逆境条件下能够存活生长^[18]。ZHANG 等^[19]研究发现, 微摩尔浓度的 T6P 就可以抑制拟南芥幼苗及其他植物幼嫩组织 *SnRK1* 活性。葡萄糖和蔗糖可以缓解高浓度海藻糖对植物生长的抑制作用, 蔗糖和海藻糖在糖感受调控基因的表达中有相似的作用, 海藻糖能代替蔗糖, 调控碳水化合物的代谢^[20]。蔗糖调控基因 *SnRK1* 与海藻糖相互作用, 调控植物碳代谢、基因表达, 为植物的生长发育及其代谢提供保证^[21]。毛竹 *Phyllostachys edulis* 是重要的经济资源、造园材料, 关于毛竹的研究目前主要集中在茎秆解剖结构^[22]、不同生长期茎秆色素含量^[23]、快速生长期水势变化^[24]、基因组学及快速生长期节间伸长相关蛋白的表达^[25-26]等方面, 尚未有关于毛竹快速生长期过程中糖代谢的研究。本研究以快速生长期毛竹笋竹为实验材料, 分析毛竹中可溶性糖质量分数及 *PeSnRK1*, *PeTPS1* 基因的表达情况, 研究其表达差异性, 以期探索毛竹生长过程中糖调控基因如何调控碳水化合物来指导幼笋的快速生长, 为毛竹及其他树种的快速生长机制的阐述提供新的理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验地概况

供试材料毛竹采自浙江农林大学毛竹示范基地, 地理位置为 29°56'~30°23' N, 118°51'~119°52' E, 属中亚热带季风气候区, 四季分明, 温暖湿润, 年平均气温为 16.4 °C, 气候特点为春多雨, 夏湿热, 秋气爽, 冬干冷, 年平均降水量为 1 628.6 mm, 年平均日照时数 1 847.3 h。森林覆盖率为 76.5%。

1.2 材 料

2015 年 4 月, 在浙江农林大学毛竹试验基地挑选生长健壮的 2 m 高毛竹笋竹, 以 18:00 为黄昏

时, 分别于黄昏后 0, 4, 8 h 取材。选取 3 株生长健壮的笋竹 3 株·次⁻¹, 从基部将其伐倒, 挖出竹笋, 将地上部分平均分成 3 段, 各段取中间 1 节记为上部、中部、下部, 并对竹笋中间位置进行取样, 将样品迅速放进液氮中冷冻, 存于-80 °C 备用。

1.3 可溶性糖测定

葡萄糖、果糖和蔗糖质量分数测定: 称取 0.5 g 笋竹于研钵中研磨, 加蒸馏水 8.0 mL, 80 °C 恒温水浴 30 min, 冷却, 定容 10.0 mL。离心(3 000 g, 5 min), 上清液为可溶性糖提取液。葡萄糖、果糖和蔗糖质量分数采用可溶性糖试剂盒(南京建成科技有限公司)测定。重复 5 次·样品⁻¹。

海藻糖质量分数测定: 参考苏州科铭生物技术有限公司海藻糖试剂盒, 加入 5.0 mL 提取液, 称取 0.5 g 笋竹于研钵中冰浴研磨, 室温静置 45 min, 常温下 8 000 g 离心 10 min, 取上清。取 60 μL 样本和 240.0 μL 工作液至 EP 管中, 95 °C 水浴 10 min, 自然冷却至室温后, 取 200.0 μL 至 96 孔板中, 620 nm 波长下测定吸光度 $D(\lambda)$ 值。重复 5 次·样品⁻¹。

1.4 毛竹笋竹总 RNA 的分离纯化以及 cDNA 合成

称取 0.5 g 笋竹, 使用改进 Trizol 法进行总核糖核酸(RNA)提取。使用分光光度计检测样品 RNA 的纯度, 并用琼脂糖电泳检测 RNA 的完整性。以上述 RNA 为模板, 冰上配置 10.0 μL 实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)体系: 包括 5×Prime Script RT Master Mix 2.0 μL, 总 RNA 500 ng, 加去 RNA 酶的水(RNase Free H₂O)至总体积 10.0 μL。置于 PCR 仪中, 37 °C 孵育 15 min, 85 °C 加热 5 s。反转录得到的 cDNA 存于-20 °C 用于实时荧光定量分析。

1.5 笋竹 *PeTPS1* 及 *PeSnRK1* 基因全长 cDNA 克隆

根据毛竹基因组数据库中 *PeTPS1* 和 *PeSnRK1* 基因序列设计基因全长及定量引物, 选择毛竹 *PeNTB* 基因作为荧光定量的内参基因, 引物设计使用 Primer 5.0 软件, 并由上海生工合成以此设计特异性引物(表 1), 扩增这 2 个基因的系列片段。扩增程序为: 94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 60 °C 30 s, 72 °C 30 s, 共 35 个循环; 72 °C 10 min。质量分数为 1.0% 的琼脂糖凝胶电泳分离 PCR 扩增产物。回收纯化目的条带, 连接到 pMD19-T 载体上并转化至大肠埃希菌 *Escherichia coli*(DH5α), 菌落 PCR 鉴定阳性克隆后提取质粒, 送往上海生工生物工程服务有限公司测序。

表 1 本研究所用的引物名称

Table 1 PCR primers used in this study

基因名称	序列	用途
<i>PeSnRK1-F</i>	ATGGAGGGAGCCGGCAGAGATGCCA	基因开放阅读框(ORF)扩增
<i>PeSnRK1-R</i>	TCAAAGGACTCTCAGCTGAGTTAGA	
<i>PeSnRK1-F</i>	AGCTCGACGATGAAACCCTT	荧光定量 PCR
<i>PeSnRK1-R</i>	TTCCATAGAACCCTACTGCCTA	
<i>PeTPS1-F</i>	ATGGACACCTACGCCGGGAGCCCGCCTC	基因开放阅读框(ORF)扩增
<i>PeTPS1-R</i>	TTAATCAGCAGTGCTAGACTGGAAGCCAGT	
<i>PeTPS1-F</i>	ACTCCCTAGTCGGACGGCAA	荧光定量 PCR
<i>PeTPS1-R</i>	CATGCTCTGCCCAACCAC	
<i>PeNTB-F</i>	TCTTGTGTTGACACCGAAGAGGAG	荧光定量 PCR
<i>PeNTB-R</i>	AATAGCTGTCCCTGGAGGAGTTT	

1.6 *PeTPS1* 及 *PeSnRK1* 反转录产物的基因表达分析

采用 TaKaRa 公司 SYBR Premix Ex TaqTM(perfect real time)试剂盒, 20.0 μL 反应体系中包含 10.0 μL SYBR Premix Ex TaqTM, 0.8 μL 正向引物, 0.8 μL 反向引物, 2.0 μL 反转录 cDNA 模版, 6.4 μL 灭菌蒸馏水。反应于 Bio-Rad CFX manager 3.1 PCR 仪上进行, 以内参为对照, 平行反应做 5 次·样品⁻¹。采用两步法扩增标准程序: 95 °C 预变性 3 min, 95 °C 10 s, 60 °C 30 s, 39 次循环。反应完成后, 得到含所有样品的记录点曲线, 得出循环阈值(C_t 值)。

1.7 数据处理

所得初始数据均经软件进行整理, 荧光定量数据按照公式计算: 相对表达量 = $2^{-\Delta\Delta C_t}$ ^[27], 使用内参基

因校正拷贝数, 利用 Origin 9.0 软件进行统计分析和作图。

2 结果与分析

2.1 毛竹笋竹快速生长过程中可溶性糖质量分数变化

笋竹可溶性糖质量分数变化分析表明, 黄昏后 0 h 到 8 h, 笋竹中部、下部和竹兜蔗糖质量分数随黄昏时间的增加均呈现逐渐下降的趋势, 其中黄昏后 4 h, 中部、下部和竹兜蔗糖质量分数极显著下降 ($P < 0.01$); 黄昏后 8 h 蔗糖消耗量极显著高于黄昏时 ($P < 0.01$); 上部各时间蔗糖质量分数变化无显著差异(图 1A)。黄昏后笋竹果糖与蔗糖质量分数变化相似, 黄昏时, 笋竹中部、下部和竹兜果糖质量分数最高, 夜间整体呈现逐渐下降的趋势; 黄昏时竹兜中果糖质量分数最高, 为上部的 1.6 倍, 上部随黄昏时间增加果糖质量分数变化不显著(图 1B)。葡萄糖质量分数变化如图 1C 所示, 笋竹上部葡萄糖质量分数呈逐渐上升的趋势, 黄昏后 8 h 达到最大值, 此时葡萄糖质量分数为黄昏时 1.2 倍, 中部、下部、竹兜葡萄糖质量分数随时间变化均呈现极显著下降的趋势 ($P < 0.01$), 黄昏时葡萄糖质量分数分别为黄昏后 8 h 的 2.2 倍、1.4 倍和 1.6 倍。毛竹笋竹快速生长期海藻糖质量分数变化见图 1D。黄昏时, 竹兜海藻糖质量分数为 $1.45 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 分别为下部、中部、上部的 1.3 倍、1.2 倍和 2.0 倍; 黄昏后 4 h, 笋竹下部、中部海藻糖质量分数极显著升高 ($P < 0.01$), 均高于上部; 笋竹下部海藻糖质量分数呈现先上升再下降的趋势, 在黄昏后 4 h 达到最大值。

上述结果表明: 毛竹笋竹各部位中蔗糖、果糖、葡萄糖、海藻糖质量分数变化在不同时间内具有相似的表达模式。夜间笋竹中部和下部处于快速生长期, 需要消耗大量碳水化合物, 上部基本不生长, 可溶性糖质量分数变化不显著; 竹兜是笋竹快速生长期能量的暂存和周转的重要部位, 可溶性糖质量分数一直较高。

2.2 笋竹 *PeTPS1* 及 *PeSnRK1* 基因 cDNA 全长克隆及验证

以确定纯度和完整度较好的毛竹总 RNA 的反转录产物 cDNA 为模板, 用普通 PCR 扩增笋竹 *PeTPS1* 及 *PeSnRK1* 基因全长, 对扩增产物进行质量分数为 1% 琼脂糖凝胶电泳检测(图 2), 条带清晰且单一, 获得与预期片段大小一致、长度分别为 1 440 bp 和 1 476 bp 扩增产物。

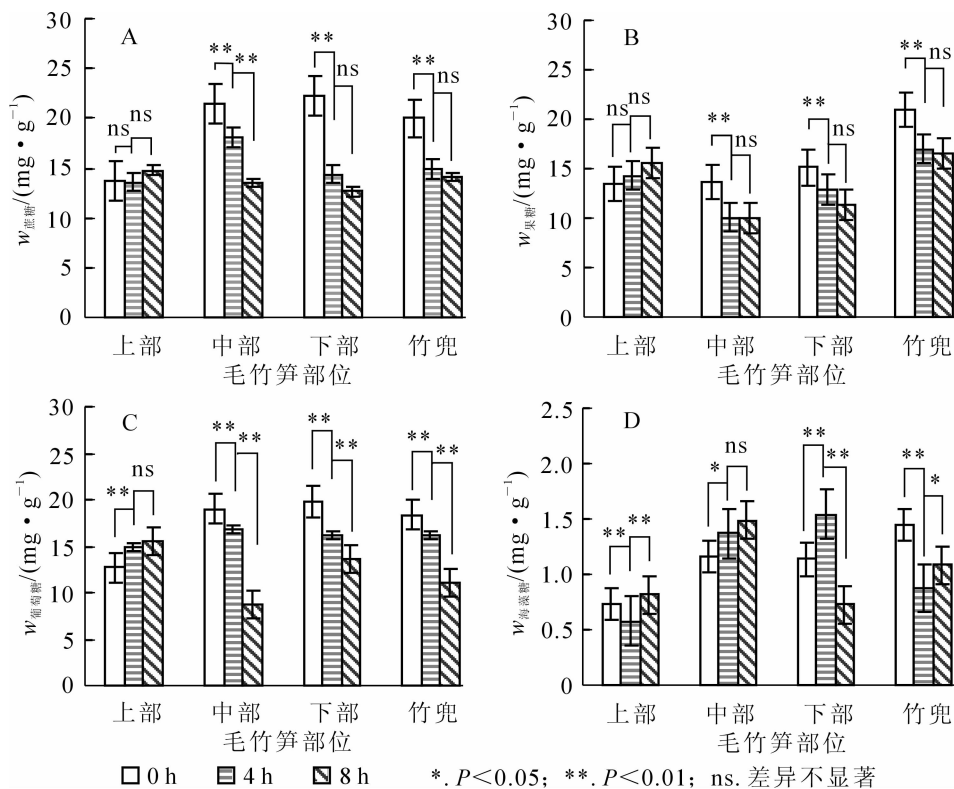


图 1 毛竹不同部位可溶性糖变化

Figure 1 Changes of bamboo shoots soluble sugar mass fraction in different parts of *Phyllostachys edulis*

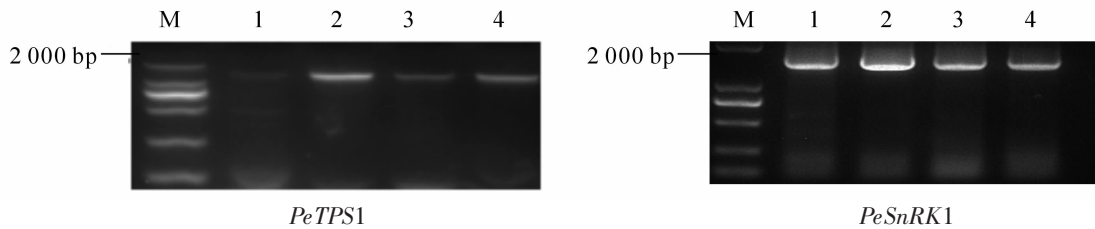


图2 毛竹 *PeTPS1* 及 *PeSnRK1* 基因 cDNA 扩增电泳图

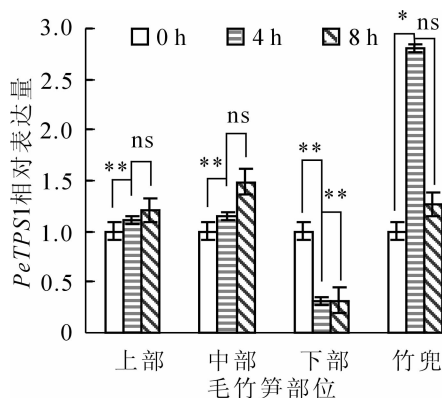
Figure 2 Electrophoresis map of *Phyllostachys edulis* *PeTPS1* and *PeSnRK1* amplification on 1% agarose gel

2.3 毛竹笋竹快速生长过程中 *PeTPS1* 基因表达模式

黄昏后笋竹 *PeTPS1* 表达量变化如图3所示。笋竹竹筍与其他部位相比 *PeTPS1* 表达丰度较高，中部和上部 *PeTPS1* 表达丰度次之，下部表达量最低。黄昏后4 h 笋竹竹筍 *PeTPS1* 表达量达到极显著水平 ($P < 0.05$)，分别是下部、中部和上部的9.0倍、2.4倍和2.5倍。下部 *PeTPS1* 表达量在整个夜间随时间变化被不同程度下调，黄昏时 *PeTPS1* 表达量较高，分别为4 h和8 h的3.2倍；中部和上部 *PeTPS1* 基因具有相同的表达模式，黄昏时表达丰度较低，黄昏后8 h转录水平达到高峰。上述结果表明：竹筍在毛竹快速生长阶段为其他部位提供碳源，笋竹下部已完成初生生长，海藻糖需求量小，*PeTPS1* 基因表达量低。

2.4 毛竹笋竹快速生长过程中 *PeSnRK1* 基因表达模式

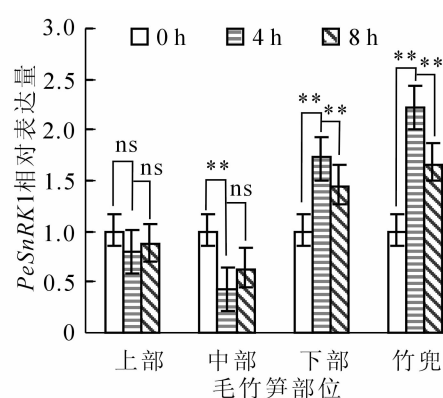
快速生长的毛竹笋竹 *PeSnRK1* 基因表达情况如图4所示。从基部到顶部不同节间 *PeSnRK1* 表达量呈先下降再上升的趋势，竹筍表达丰度最高。中部和上部具有相同的表达模式，黄昏后4 h *PeSnRK1* 表达量下降，黄昏后8 h又呈现上升的趋势。下部和竹筍 *PeSnRK1* 基因转录水平变化相同，黄昏后4 h *PeSnRK1* 基因表达量显著上升，转录水平达到高峰；黄昏后8 h *PeSnRK1* 基因表达量又迅速下降，黄昏后4 h竹筍种 *PeSnRK1* 基因表达量分别是下部、中部和上部的1.3倍、5.2倍和2.8倍。上述结果表明：黑暗条件下，快速生长期的毛竹笋竹中竹筍和下部已停止生长或生长缓慢，*PeSnRK1* 表达量较高，中部处于快速生长期，*PeSnRK1* 表达丰度相对较低，上部生长速度不明显。



*. $P < 0.05$; **. $P < 0.01$; ns. 差异不显著

图3 笋竹 *PeTPS1* 基因在不同部位的定量分析

Figure 3 Change of bamboo shoots *PeTPS1* relative expression in different parts of *Phyllostachys edulis*



** $P < 0.01$; ns. 差异不显著

图4 笋竹 *PeSnRK1* 基因在不同部位的定量分析

Figure 4 Change of bamboo shoots *PeSnRK1* relative expression in different parts of *Phyllostachys edulis*

3 讨论

3.1 毛竹快速生长与可溶性糖质量分数变化关系

糖是植物光合作用的产物，呼吸作用的底物，糖类的合成与分解影响植物体内糖分的运输，作为一种信号分子调节植物的生长发育过程^[28]。例如，葡萄糖和蔗糖可以缓解高浓度海藻糖对植物生长的抑制作用，蔗糖和海藻糖在糖感受调控基因的表达中有相似的作用，海藻糖能代替蔗糖，调控碳水化合物的代谢^[29]。笋竹茎秆处于快速生长阶段，本研究中，笋竹上部生长发育、老化较晚，主要进行初生生长，

耗能较低, 可溶性糖质量分数几乎没有变化; 中部和下部作为同化产物的利用组织代谢活力大幅度上调, 随时间的变化蔗糖、果糖、葡萄糖质量分数均显著下降, 而海藻糖质量分数处于上升的趋势, 可能是因为中部处于显著伸长期, 需要消耗更多的碳水化合物, 合成海藻糖以补充能量; 黄昏后 8 h 与 4 h 相比, 可溶性糖及海藻糖质量分数下降均不显著, 其原因可能是下部生长逐渐缓慢, 所需能量减少; 竹笋作为输出同化产物的“源”输出被上调, 黄昏后 4 h 可溶性糖质量分数显著下降, 合成大量 T6P 以维持竹笋的生命活动, 供应地上部分的快速生长。这与董丽娜^[22]结论相似, 笋竹各节的伸长活动自下而上, 按慢—快—慢的规律, 以节间为生长单位进行生长。

3.2 毛竹快速生长与相关基因表达量关系

能量缺乏时, T6P 通过抑制 *SnRK1* 的表达来调控基因的表达, 保证植物在逆境条件下能够存活生长^[18]。丁菲等^[30]对茶树不同器官中 TPS 表达量的研究发现不同组织中 TPS 表达量不同, 而这种差异可能是由于组织和器官的生存环境、空间位置、发育状况及代谢活动的不同造成的。在我们的研究中, 笋竹各部位 *PeTPS1* 基因的表达随时间的变化呈现升高—降低—再升高的趋势。T6P 作为一种信号整合由 *SnRK1* 调控的碳代谢、酶反应以及相关基因表达重排, 从而调控植物的生长发育^[31]。例如, 拟南芥中 *Akin10* 过量表达会诱导 *TPS1* 基因表达^[32], 通常蔗糖通过促进 T6P 的积累来抑制 *SnRK1* 活性, 植物生长发育过程中细胞内蔗糖不断被水解为果糖和葡萄糖, 而 *SnRK1* 被高水平蔗糖或低水平葡萄糖激活^[14]。本研究中, 笋竹上部几乎不生长, 随时间变化 *PeTPS1* 及 *PeSnRK1* 基因表达量几乎没有变化。正常条件下植物体内 *SnRK1* 水平较低, 高水平 *SnRK1* 抑制植物生长^[33], ZHANG 等^[19]研究发现, 微摩尔浓度的 T6P 就可以抑制拟南芥幼苗及其他植物幼嫩组织提取物中 *SnRK1* 活性。我们的结果显示, 笋竹中部随时间的变化 *PeTPS1* 表达量呈逐渐上升的趋势, 此时 *PeSnRK1* 表达量最低; 下部已基本完成节间生长, *PeSnRK1* 表达量与上部、中部相比较高, 而 *PeTPS1* 相对表达量较低, 可能是因为下部已完成基本生长, T6P 失去对 *PeSnRK1* 活性的抑制作用^[19]; 竹笋是毛竹供应维持生长的碳水化合物的核心部位, 需要分解白天储存的淀粉以供应其夜间生长, 因此, 黄昏后竹笋中 *PeSnRK1* 表达量处于最高。*PeTPS1* 基因表达量呈现出与海藻糖变化相同的趋势, 说明毛竹快速生长过程中 *PeTPS1* 调控海藻糖的合成。黄昏后 4 h 竹笋中 *PeSnRK1* 基因被激活, 表达量达到峰值, 可能是因为夜间毛竹不能进行光合作用, 而 *PeSnRK1* 的表达则通过 T6P 含量进行调控。*PeTPS1/PeSnRK1* 基因均存在组织特异性表达, 基因的调控表达受不同发育时期的影响。

TPS1 不仅参与植物体海藻糖的合成, 而且调控糖酵解途径。蔗糖调控基因 *SnRK1* 与海藻糖相互作用, 调控植物碳代谢及相关基因表达, 为植物的生长发育及其代谢提供保证^[21]。高蔗糖/低葡萄糖情况下 *SnRK1* 被激活, 诱导分解代谢基因的表达, 激活淀粉合成途径关键酶^[34]。本研究中, *SnRK1* 的标记基因 *TPS1* 被 *SnRK1* 抑制, 通过海藻糖上调, 这与 TSAI 等^[35]研究结果相似, T6P/*SnRK1* 信号同时参与植物的代谢调控及基因表达调控。笋竹上部伸长生长较慢, 对可溶性糖需求量小, 糖质量分数及其调控基因变化不显著, *PeSnRK1* 表达量水平较高; 黄昏后笋竹中部葡萄糖、蔗糖和海藻糖质量分数较多, *PeTPS1* 表达水平较高, T6P 的浓度可能会比较高, 进而抑制 *PeSnRK1* 的表达量及活性。植物通过调节 T6P 水平来调控体内蔗糖质量分数, 从而促进幼苗在低蔗糖水平下的生长发育^[11], 中部伸长生长快, 可溶性糖消耗较多, *PeSnRK1* 表达量水平较低; 竹笋作为储藏分配碳水化合物的重要部位, 黄昏后 4 h 可溶性糖质量分数显著下降, *PeTPS1* 基因表达量被上调, 合成 T6P 以维持竹笋的生命活动, 供应地上部分的快速生长。综上所述, 毛竹快速生长过程中糖调控相关基因之间交错调控共同控制糖分的分配与运输, 以保证笋竹的快速生长, T6P/*SnRK1* 信号通路作为必要的生长机制调, 在毛竹笋竹快速生长发育过程的起到重要的调控作用。

通过对快速生长期毛竹笋竹夜间各部分可溶性糖质量分数及 *PeTPS1* 和 *PeSnRK1* 基因在多个部位中表达的分析可知, 笋竹养料储存部位竹笋可溶性糖质量分数及相关基因表达量始终处于较高的水平; 笋竹中部和下部处于快速生长期, 可溶性糖质量分数随时间变化不断下降, 快速伸长期部位中 *PeSnRK1* 基因的表达呈现与 *PeTPS1* 相反的模式; 上部生长发育缓慢, 可溶性糖质量分数及 *PeTPS1* 和 *PeSnRK1* 基因表达无显著变化。结合上述研究, 本实验认为 T6P/*SnRK1* 信号通路通过调节毛竹各部位糖质量分数的分配进而调控笋竹的快速生长。T6P/*SnRK1* 信号通路在植物生长发育中的生物学功能还需要进一

步研究。

4 参考文献

- [1] DIETZE M C, SALA A, CARBONE M S, *et al.* Nonstructural carbon in woody plants [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2014, **65**(1): 667 – 687.
- [2] ROUNIS V, SKARMOUTSOS K, TSANIKLIDIS G, *et al.* Seeded and parthenocarpic cherry tomato fruits exhibit similar sucrose, glucose, and fructose levels, despite dissimilarities in UGPase and SPS gene expression and enzyme activity [J]. *J Plant Growth Regul*, 2015, **34**(1): 47 – 56.
- [3] 秦巧平, 张上隆, 陈俊伟, 等. 温州蜜柑果实发育期间果糖激酶与糖积累的关系[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2004, **30**(4): 435 – 440.
QIN Qiaoping, ZHANG Shanglong, CHEN Junwei, *et al.* The relationship of fructokinase and sugar accumulation during fruit development in satsuma mandarin [J]. *J Plant Physiol Mol Biol*, 2004, **30**(4): 435 – 440.
- [4] LU C A, LIN C C, LEE K W, *et al.* The SnRK1A protein kinase plays a key role in sugar signaling during germination and seedling growth of rice [J]. *Plant Cell*, 2007, **19**(8): 2484 – 2499.
- [5] ZHANG Yongqiang, HE Junxian. Sugar-induced plant growth is dependent on brassinosteroids [J]. *Plant Sign Behav*, 2015, **10**(12): 1 – 3.
- [6] MÜLLER J, AESCHBACHER R A, SPRENGER N, *et al.* Disaccharide-mediated regulation of sucrose: fructan-6-fructosyltransferase, a key enzyme of fructan synthesis in barley leaves [J]. *Plant Physiol*, 2000, **123**(1): 265 – 274.
- [7] WINGLER A, FRITZIUS T, WIEMKEN A, *et al.* Trehalose induces the ADP-glucose pyrophosphorylase gene, *ApL3* and starch synthesis in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2000, **124**(1): 105 – 114.
- [8] IORDACHESCU M, IMAI R. Trehalose biosynthesis in response to abiotic stresses [J]. *J Integr Plant Biol*, 2008, **50**(10): 1223 – 1229.
- [9] WINGLER A, DELATTE T L, O'HARA L E, *et al.* Trehalose 6-phosphate is required for the onset of leaf senescence associated with high carbon availability [J]. *Plant Physiol*, 2012, **158**(3): 1241 – 1251.
- [10] SCHLUEPMANN H, PELLNY T, van DIJKEN A, *et al.* Trehalose 6-phosphate is indispensable for carbohydrate utilization and growth in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Proc Nat Acad Sci*, 2003, **100**(11): 6849 – 6854.
- [11] HENRY C, BLEDSOE S W, GRIFFITHS C A, *et al.* Differential role for trehalose metabolism in salt-stressed maize [J]. *Plant Physiol*, 2015, **169**(2): 1072 – 1089.
- [12] KARIM S, ARONSSON H, ERICSON H, *et al.* Improved drought tolerance without undesired side effects in transgenic plants producing trehalose [J]. *Plant Mol Biol*, 2007, **64**(4): 371 – 386.
- [13] 丁顺华, 李艳艳, 王宝山. 外源海藻糖对小麦幼苗耐盐性的影响[J]. 西北植物学报, 2005, **25**(3): 513 – 518.
DING Shunhua, LI Yanyan, WANG Baoshan. Effect of exogenous trehalose on salt tolerance of wheat seedlings [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 2005, **25**(3): 513 – 518.
- [14] HALFORD N G, HEY S, JHURREEA D, *et al.* Metabolic signalling and carbon partitioning: role of Snf1-related (*SnRK1*) protein kinase [J]. *J Exp Bot*, 2003, **54**(382): 467 – 475.
- [15] BAENA-GONZÁLEZ E, ROLLAND F, THEVELEIN J M, *et al.* A central integrator of transcription networks in plant stress and energy signaling [J]. *Nature*, 2007, **448**(7156): 938 – 942.
- [16] PURCELL P C, SMITH A M, HALFORD N G. Antisense expression of a sucrose non-fermenting-1-related protein kinase sequence in potato results in decreased expression of sucrose synthase in tubers and loss of sucrose-inducibility of sucrose synthase transcripts in leaves [J]. *Plant J*, 1998, **14**(2): 195 – 202.
- [17] CHO Y H, HONG J W, KIM E C, *et al.* Regulatory functions of *SnRK1* in stress-responsive gene expression and in plant growth and development [J]. *Plant Physiol*, 2012, **158**(4): 1955 – 1964.
- [18] NUNES C, O'HARA L E, PRIMAVESI L F, *et al.* The trehalose 6-phosphate/*SnRK1* signaling pathway primes growth recovery following relief of sink limitation [J]. *Plant Physiol*, 2013, **162**(3): 1720 – 1732.
- [19] ZHANG Yuhua, PRIMAVESI L F, JHURREEA D, *et al.* Inhibition of SNF1-related protein kinase1 activity and regulation of metabolic pathways by trehalose-6-phosphate [J]. *Plant Physiol*, 2009, **149**(4): 1860 – 1871.
- [20] PAUL M J, PRIMAVESI L F, JHURREEA D, *et al.* Trehalose metabolism and signaling [J]. *Annu Rev Plant Biol*,

- 2008, **59**(1): 417 – 41.
- [21] PAUL M J, JHURREEA D, ZHANG Y H, *et al.* Up regulation of biosynthetic processes associated with growth by trehalose 6-phosphate [J]. *Plant Sign Behav*, 2010, **5**(4): 386 – 392.
- [22] 董丽娜. 毛竹秆茎高生长的发育解剖研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2007.
DONG Lina. *Studies on Developmental Anatomy of Elongated Growth about Bamboo Culms* [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2007.
- [23] 刘琳, 王玉魁, 王星星, 等. 毛竹出笋后快速生长期茎秆色素含量与反射光谱的相关性[J]. 生态学报, 2013, **33**(9): 2703 – 2711.
LIU Lin, WANG Yukui, WANG Xingxing, *et al.* Correlation between pigment content and reflectance spectrum of *Phyllostachys pubescens* stems during its rapid growth stage [J]. *Acta Ecol Sin*, 2013, **33**(9): 2703 – 2711.
- [24] 袁佳丽, 温国胜, 张明如, 等. 毛竹快速生长期的水势变化特征[J]. 浙江农林大学学报, 2015, **32**(5): 722 – 728.
YUAN Jiali, WEN Guosheng, ZHANG Mingru, *et al.* Water potential with *Phyllostachys edulis* in its fast-growth periods [J]. *J Zhejiang A & F Univ*, 2015, **32**(5): 722 – 728.
- [25] PENG Zhenhua, LU Ying, LI Lubin, *et al.* The draft genome of the fast-growing non-timber forest species moso bamboo (*Phyllostachys heterocyclus*) [J]. *Nat Genet*, 2013, **45**(4): 456 – 461.
- [26] CUI Kai, HE Caiyun, ZHANG Jianguo, *et al.* Temporal and spatial profiling of internode elongation-associated protein expression in rapidly growing culms of bamboo [J]. *J Proteome Res*, 2012, **11**(4): 2492 – 2507.
- [27] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method [J]. *Methods*, 2001, **25**(4): 402 – 408.
- [28] SHEEN J, ZHOU L, JANG J C. Sugars as signaling molecules [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 1999, **2**(5): 410 – 418.
- [29] PAUL M J, PRIMAVESI L F, JHURREEA D, *et al.* Trehalose metabolism and signaling [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2008, **59**(1): 417 – 41.
- [30] 丁菲, 庞磊, 李叶云, 等. 茶树海藻糖-6-磷酸合成酶基 N(CsTPS) 的克隆及表达分析[J]. 农业生物技术学报, 2012, **20**(11): 1253 – 1261.
DING Fei, PANG Lei, LI Yeyun, *et al.* Cloning and expression analysis of trehalose-6-phosphate synthase gene (CsTPS) from tea plant (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz) [J]. *J Agric Biotechnol*, 2012, **20**(11): 1253 – 1261.
- [31] LAWLOR D W, PAUL M J. Source/sink interactions underpin crop yield: the case for trehalose-6-phosphate/SnRK1 in improvement of wheat [J]. *Front Plant Sci*, 2014, **5**(418): 1 – 14. doi: 10.3389/fpls.2014.00418.
- [32] GLINSKI M, WECKWERTH W. Differential multisite phosphorylation of the trehalose-6-phosphate synthase gene family in *Arabidopsis thaliana*: a mass spectrometry-based process for multiparallel peptide library phosphorylation analysis [J]. *Mol Cellul Prot*, 2005, **4**(10): 1614 – 1625.
- [33] POKHILKO A, EBENHÖH O. Mathematical modelling of diurnal regulation of carbohydrate allocation by osmo-related processes in plants [J]. *J Royal Soc Interface*, 2015, **12**(104): 1 – 11. doi: 10.1098/rsif.2014.1357.
- [34] GEIGENBERGER P. Regulation of starch biosynthesis in response to a fluctuating environment [J]. *Plant Physiology*, 2011, **155**(4): 1566 – 1577.
- [35] TSAI A Y, GAZZARRINI S. Trehalose-6-phosphate and SnRK1 kinases in plant development and signaling: the emerging picture [J]. *Front Plant Sci*, 2014, **5**(119): 1 – 11. doi: 10.3389/fpls.2014.00119.