

竹茎秆快速生长期淀粉分解相关酶基因表达的分析

栗青丽, 王灵杰, 高培军, 韦赛君, 吕嘉欣, 高岩, 张汝民

(浙江农林大学 省部共建亚热带森林培育国家重点实验室, 浙江 杭州 311300)

摘要: 【目的】揭示毛竹 *Phyllostachys edulis* 茎秆内 α -淀粉酶 (AMY) 和 β -淀粉酶 (BAM) 以及相关基因表达对毛竹快速生长的调控机制。【方法】以毛竹笋竹为试材, 测定茎秆不同时间 (10:00、14:00、18:00、22:00、2:00、6:00) 和不同节间 (第 7、10、13、16 节) 内非结构性碳水化合物 (NSC) 质量分数、 α -淀粉酶活性和 β -淀粉酶活性以及 *PeAMY* 和 *PeBAM* 基因表达。【结果】毛竹茎秆 NSC 质量分数白天较高, 18:00 之后逐渐降低, 第 7 节和第 10 节葡萄糖质量分数 2:00 分别比 18:00 降低了 25.4% 和 27.2% ($P < 0.01$), 果糖分别降低了 50.0% 和 34.1% ($P < 0.01$), 蔗糖分别降低了 49.8% 和 27.4% ($P < 0.01$), 淀粉 6:00 分别比 18:00 降低了 27.3% 和 23.2% ($P < 0.01$); BAM 活性和基因表达在白天较稳定, 18:00 之后极显著升高, 黎明前逐渐下降, 第 7、10 和 13 节 22:00 活性分别比 18:00 高 90.5%, 76.7% 和 50.5% ($P < 0.01$), *PeBAM* 基因表达 2:00 分别比 18:00 高 1.8、1.8 和 1.7 倍 ($P < 0.01$)。【结论】毛竹茎秆快速生长期白天生长慢, 夜间生长快, 茎秆发育和成熟是从下往上顺次推进的。毛竹茎秆快速生长与 *PeBAM* 基因的表达密切相关, BAM 在毛竹茎秆淀粉降解中可能起主要作用。图 4 表 1 参 38

关键词: 林木育科学; 毛竹; 快速生长; 非结构性碳水化合物; 淀粉酶; 基因表达

中图分类号: S722.3

文献标志码: A

文章编号: 2095-0756(2020)06-1128-08

Gene expression of starch decomposing enzymes in *Phyllostachys edulis* stems during the rapid growth period

LI Qingli, WANG Lingjie, GAO Peijun, WEI Saijun, LÜ Jiabin, GAO Yan, ZHANG Rumin

(State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China)

Abstract: [Objective] The aim of this study is to reveal the regulating mechanism alpha amylase (AMY) and beta amylase (BAM) and related gene expression of *Phyllostachys edulis* in the rapid growth period. [Method] The stems of *Ph. edulis* shoots were used as materials, and the content of non-structural carbohydrates (NSC), AMY and BAM activity, and gene expression of *PeAMY* and *PeBAM* were measured at different time (10:00, 14:00, 18:00, 22:00, 2:00, 6:00) and different internodes (7, 10, 13, 16). [Result] The NSC content of bamboo stems was higher in the daytime, and gradually decreased after 18:00. At 2:00, the glucose content in the 7th and 10th internodes decreased by 25.4% and 27.2% ($P < 0.01$), fructose by 50.0% and 34.1%, respectively ($P < 0.01$), sucrose by 49.8% and 27.4%, respectively ($P < 0.01$). Starch content at 6:00 decreased by 27.3% and 23.2%, respectively ($P < 0.01$). The activity and gene expression of BAM were stable in the daytime, increased significantly after 18:00, and gradually decreased before dawn. BAM activity of the 7th, 10th and 13th internodes was 90.5%, 76.7% and 50.5% higher at 22:00 than at 18:00 ($P < 0.01$). The *PeBAM* gene expression was 1.8, 1.8 and 1.7 times higher at 2:00 than at 18:00 ($P < 0.01$). [Conclusion] During the period of rapid growth, the stem of *Ph. edulis* grows slowly in the daytime and quickly at night. The development and

收稿日期: 2019-11-05; 修回日期: 2020-05-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31570686)

作者简介: 栗青丽, 从事植物生理生态学研究。E-mail: 1403123171@qq.com。通信作者: 高培军, 副教授, 博士, 从事竹林培育与利用研究。E-mail: 316919866@qq.com

maturation of stems are promoted from bottom to top. The rapid growth of *Ph. edulis* is closely related to the expression of *PeBAM* gene. BAM may play a key role in starch degradation. [Ch, 4 fig. 1 tab. 38 ref.]

Key words: forest tree breeding; *Phyllostachys edulis*; rapid growth; non-structural carbohydrates; amylase; gene expression

碳水化合物是自然界分布最广的物质之一，是植物生长发育过程中构成碳骨架，提供能量的主要物质，同时起到渗透调节和信号传导的作用^[1]。STITT 等^[2]研究发现：拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 白天同化的碳以淀粉形式积累，夜间淀粉转化成可溶性糖为生长提供能量，黎明前几乎完全利用。PANTIN 等^[3]研究拟南芥幼嫩叶片生长发现：夜间生长由于受到碳的限制，生长速度慢于白天。GRAF 等^[4]研究拟南芥叶片淀粉代谢发现：夜间淀粉降解模式受生物钟调控。拟南芥植株淀粉代谢研究中显示，糖代谢和淀粉降解可受光周期长度的影响^[5-8]。RIOU-KHAMLICHI 等^[9]研究拟南芥幼苗生长发现：糖作为一种信号物质诱导细胞周期蛋白 CYCD2 和 CYCD3 的表达。糖代谢和淀粉降解是由一系列酶介导的。STREB 等^[10]研究拟南芥瞬时淀粉分解发现： α -淀粉酶 [α -Amylase (AMY)]、极限糊精酶 [limit dextrinase(LDA)] 及异淀粉酶 3[isomylase 3(ISA3)] 相互独立地直接作用于淀粉颗粒。植物叶片淀粉分解过程 α -淀粉酶作用不明显，而 β -淀粉酶 [β -Amylase(BAM)] 起关键作用^[11-14]。小麦 *Triticum aestivum* 和烟草 *Nicotiana tabacum* 种子萌发过程中淀粉酶活性和 AMY 基因表达量逐渐上升，导致淀粉降解加速，可溶性总糖含量逐渐增加^[15-16]。MARUYAMA 等^[17]研究拟南芥中 mRNA 水平，发现脱水和冷胁迫分别导致 *bam 1* 和 *bam 3* 表达增加。ISA3 和 LDA、AMY3 和 BAM 等共同协调糖和淀粉的合成与分解^[2]。近年来，毛竹 *Phyllostachys edulis* 的生理生态研究取得了许多进展，主要涉及光合作用、组织构造、糖的时空变化、不同生长期茎秆色素含量等方面^[18-21]，而对毛竹快速生长期分子水平的调节机制研究较少。因此，本研究以毛竹笋竹快速生长期的茎秆为材料，分析了非结构性碳水化合物 (nonstructural carbohydrate, NSC) 质量分数的变化，AMY 和 BAM 的活性以及 *PeAMY* 和 *PeBAM* 基因表达模式，为进一步揭示毛竹快速生长期的调节机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

在 2019 年 4 月下旬毛竹快速生长阶段，选取生境条件一致、生长状况良好和高度在 (3.0±0.2) m 的毛竹笋竹 30 株，从 10:00 开始每隔 4 h 随机取 5 株，每株作为 1 个独立实验，共 5 次重复。将茎秆从基部往上每间隔 2 节依次编号为 1、4、7、10、13、16、19、22。采样后在液氮中冷冻，之后放入 -80 °C 超低温冰箱内备用。

1.2 方法

1.2.1 可溶性糖质量分数测定 称取毛竹茎秆 0.5 g，研磨至匀浆，加蒸馏水 9 mL，沸水浴提取 10 min，不断搅拌。冷却，3 000 r·min⁻¹ 离心 5 min，取上清液。葡萄糖、果糖和蔗糖分别采用葡萄糖试剂盒 (上海荣盛生物药业有限公司生产)、果糖和蔗糖试剂盒 (南京建成科技有限公司生产) 测定。具体方法参照说明书。

1.2.2 淀粉质量分数测定 将上述可溶性糖提取后的沉淀用体积分数为 80% 乙醇冲洗 1 遍，加蒸馏水 3 mL，搅拌均匀，沸水 15 min。冷却后，加入 9.2 mmol·L⁻¹ 冷高氯酸 4 mL，搅拌提取 20 min，蒸馏水定容 25 mL，混匀，3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min。取上清液，测定方法采用蒽酮硫酸法。

1.2.3 蛋白质质量分数测定 参照 BRADFORD^[22] 方法测定蛋白质质量分数。

1.2.4 α 、 β -淀粉酶活性测定 称取毛竹茎秆 0.5 g，加 10 mL 柠檬酸缓冲液 (0.1 mol·L⁻¹, pH 7.0)，冰浴研磨，放在常温下充分提取 15~20 min，10 000 r·min⁻¹ 离心 10 min (4 °C)，上清液为酶提取液。采用 3,5-二硝基水杨酸法测定酶活力。40 °C 恒温水浴保温 15 min，测定总淀粉酶活性，70 °C 加热 15 min，钝化 β -淀粉酶，测定 α -淀粉酶活性。酶活力以 1 min 分解淀粉形成 1 mol 麦芽糖所需酶量为 1 个活性单位，以 U·g⁻¹·min⁻¹ (1 U=16.67 nkat) 表示。

1.2.5 麦芽糖酶活性测定 称取毛竹茎秆 0.5 g, 用 MES 缓冲液 ($20 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 6.2) 进行提取, 冰浴研磨, 提取定容至 5 mL, $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min ($4 \text{ }^{\circ}\text{C}$), 上清液为酶提取液。酶活性测定采用麦芽糖酶试剂盒 (南京建成科技有限公司生产)。具体方法参照说明书。

1.2.6 基因表达检测 ①RNA 提取。称取样品 0.5 g, 使用宝生物工程 (大连) 有限公司 RNAiso Plus 试剂盒提取 RNA。微量分光光度计检测样品 RNA 的浓度和纯度, 1.2% 琼脂糖电泳检测 RNA 的质量。②反转录及 cDNA 质量检测。采用宝生物工程 (大连) 有限公司 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (perfect real time) 试剂盒。具体方法参照说明书。③cDNA 全长及启动子克隆。参照毛竹基因组数据库中 *PeAMY* 和 *PeBAM* 基因序列设计基因全长和定量引物 (表 1), 选择毛竹 *NTB* 基因作为内参基因。具体方法参照说明书。④基因表达检测 (qRT-PCR)。采用宝生物工程 (大连) 有限公司 SYBR Premix Ex Taq™ (perfect real time) 试剂盒。具体方法参照说明书。

表 1 引物信息

Table 1 Primer information

基因名称	序列	用途
<i>PeAMY-F</i>	CATTTCTTCGACTGGGGCCT	基因全长扩增
<i>PeAMY-R</i>	GATCACCTTGCCGTCGATCT	
<i>PeAMY-F</i>	TTTTTGCGGTGGGCGAATAC	荧光定量PCR
<i>PeAMY-R</i>	AAATGCGGCACACAACACTC	
<i>PeBAM-F</i>	CGGCAGGATTCTACAACCT	基因全长扩增
<i>PeBAM-R</i>	CCTTCAATGTTCTGGGTAGCC	
<i>PeBAM-F</i>	CAGCGAAGCCGAGGAATGAT	荧光定量PCR
<i>PeBAM-R</i>	AATGGGGGTAGCTGACGGTA	
<i>PeNTB-F</i>	TCTTGTTTGACACCGAAGAGGAG	内参基因
<i>PeNTB-R</i>	AATAGCTGTCCCTGGAGGAGTT	

1.3 数据处理

所有数据均为 5 次重复的平均值±标准误差。荧光定量数据按照下列公式计算: 相对表达量 = $2^{-\Delta\Delta C_t}$ ^[23], 使用内参基因校正拷贝数, 利用 Origin 9.0 软件 (Origin Lab 公司, 美国) 进行统计分析和作图。

2 结果与分析

2.1 NSC 质量分数变化

由图 1A 可以看出: 随时间变化, 葡萄糖质量分数白天较高, 18:00 之后逐渐降低, 第 7 节和第 10 节 2:00 分别比 18:00 降低了 25.4% 和 27.2% ($P < 0.01$)。第 13 节和第 16 节变化不显著。由图 1B 可以看出: 随时间推移, 第 7 节和第 10 节果糖质量分数白天较高, 18:00 后极显著下降, 2:00 最低, 与 18:00 相比分别降低了 50.0% 和 34.1% ($P < 0.01$), 之后极显著上升, 6:00 比 2:00 分别高出 64.7% 和 50.6% ($P < 0.01$)。第 13 节和第 16 节变化不显著。由图 1C 可以看出: 蔗糖质量分数在第 7 节和第 10 节较高, 第 13 节和第 16 节较低且变化不显著。第 7 节和第 10 节白天蔗糖质量分数较高, 18:00 后极显著下降, 2:00 最低, 分别比 18:00 低了 49.8% 和 27.4% ($P < 0.01$)。如图 1D 所示: 淀粉质量分数在第 7 节和第 10 节较低, 第 13 节较高, 第 16 节最高且变化不明显。第 7、10 和 13 节白天淀粉质量分数高, 18:00 达最高, 之后逐渐下降, 6:00 分别比 18:00 降低了 27.3%、23.2% 和 24.0% ($P < 0.01$)。

2.2 酶活性的变化

如图 2A 所示: AMY 活性差异不显著, 整体无明显变化规律。如图 2B 所示: BAM 活性第 7、10 和 13 节较高, 第 16 节活性低且变化不显著。白天 BAM 活性较稳定, 18:00 后活性较高且在 22:00 达最高, 第 7、10 和 13 节 22:00 活性分别比 18:00 高 90.5%、76.7% 和 50.5% ($P < 0.01$), 之后活性极显著下降, 6:00 与 22:00 相比分别降低了 56.2% 和 62.6% 和 51.1% ($P < 0.01$)。

如图 3 所示: 麦芽糖酶的活性在第 7、10 和 13 节较高, 第 16 节活性最低且变化不显著。白天麦芽

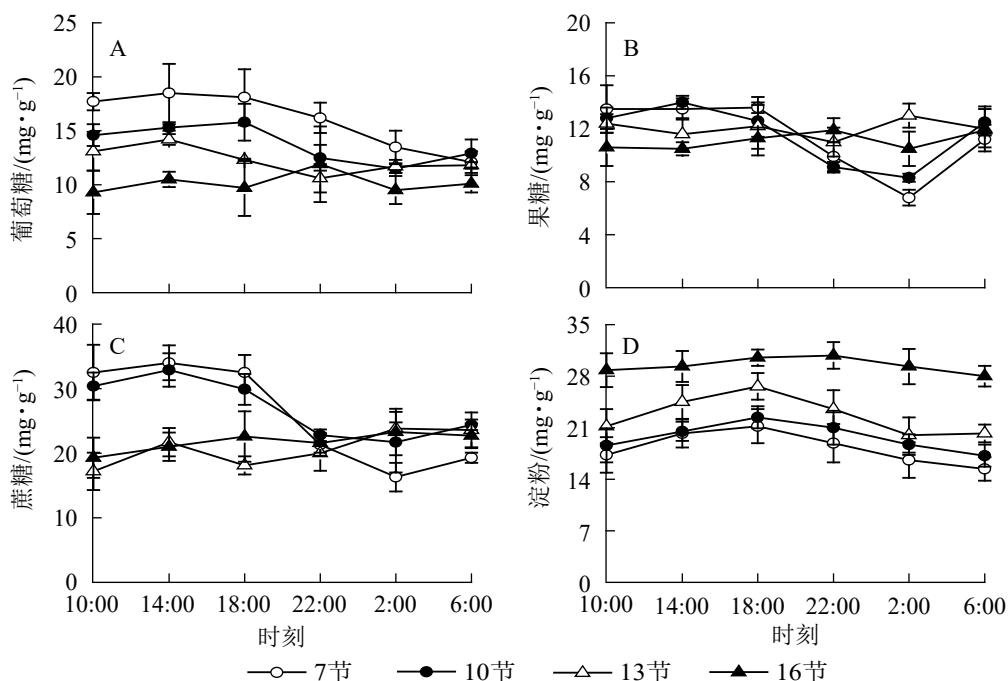


图 1 毛竹茎秆不同节间碳水化合物质量分数的日变化

Figure 1 Diurnal variation of carbohydrate contents in different internodes for stems of *Ph. edulis*

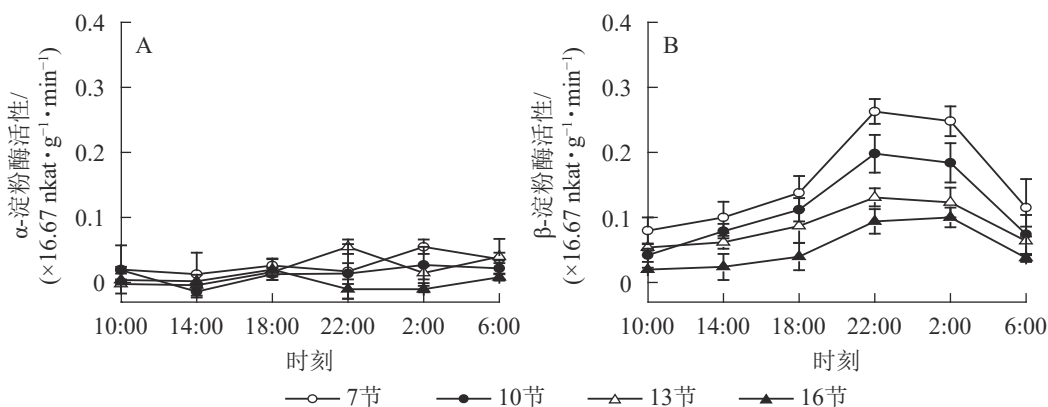


图 2 毛竹茎秆不同节间淀粉酶活性的日变化

Figure 2 Diurnal variation of amylase activity in different internodes for stems of *Ph. edulis*

糖酶的活性较稳定，18:00 后活性较高且在 22:00 达最高，第 7、10 和 13 节 22:00 分别比 18:00 高 2.5、2.2 和 1.4 倍 ($P < 0.01$)，之后第 7 节和第 10 节极显著下降，6:00 分别比 22:00 降低了 27.2% ($P < 0.01$) 和 19.4% ($P < 0.05$)。

2.3 基因表达模式

如图 4A 所示：*PeAMY* 基因表达不显著，整体无明显变化规律。如图 4B 所示：*PeBAM* 基因在第 7 节和第 10 节表达量较高，第 13 节表达量相对较低，第 16 节表达量最低且变化不显著。白天基因表达量低，18:00 后表达量极显著上升，2:00 达最高峰。第 7、10 和 13 节 2:00 分别比 18:00 高 1.8、1.8 和 1.7 倍 ($P < 0.01$)，之后表达量下降，6:00 分别比 2:00 降低了 20.1%、15.2% 和 21.7% ($P < 0.05$)。

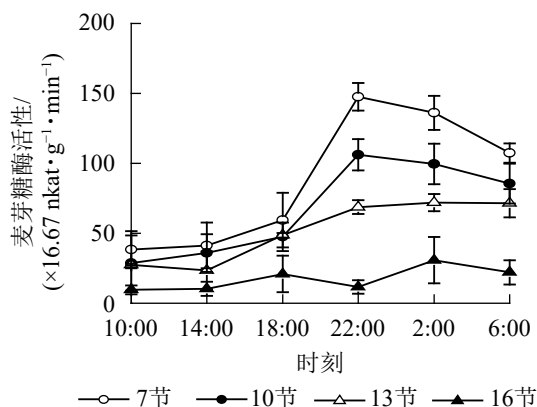


图 3 毛竹茎秆不同节间麦芽糖酶活性的日变化

Figure 3 Diurnal variation of maltase activity in different internode for stems of *Ph. edulis*

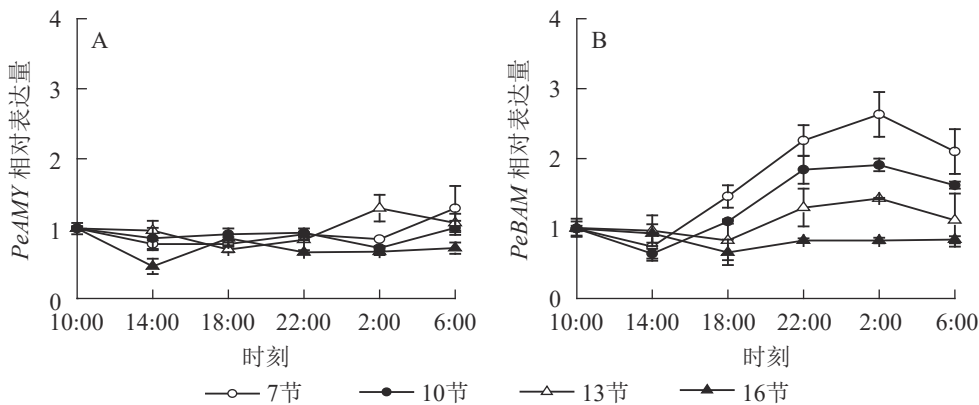


图4 毛竹茎秆不同节间淀粉酶基因表达的日变化

Figure 4 Diurnal variation of amylase gene expression in different internode for stems of *Ph. edulis*

3 讨论

碳水化合物是参与植物代谢的主要能量物质,在调节植物生长发育中起关键性作用^[24]。GRAF等^[7]研究玫瑰 *Rosa rugosa* 花中碳水化合物昼夜节律控制发现:淀粉含量在光照下增加,黑暗中逐渐下降。IZUMI等^[25]研究拟南芥叶片发现:白天积累的淀粉在夜间逐渐减少,夜间几乎完全消耗,蔗糖、葡萄糖和果糖在夜间整体水平较低。本研究表明:毛竹茎秆在白天具有较高的可溶性糖和淀粉质量分数,而在夜间则极显著下降。可能是因为白天生长慢,可溶性糖利用少,不断合成淀粉储存在茎秆中,夜间生长加快,可溶性糖消耗快,淀粉大量降解成可溶性糖为黑暗中继续生长提供能量^[26]。推测毛竹快速生长期糖和淀粉代谢可能受到光周期和生物钟调控^[27]。LINGLE等^[28]研究生长期甘蔗 *Saccharum officinarum* 茎秆发现:蔗糖和总糖质量分数由下往上逐渐降低。翟建云等^[29]研究毛竹茎秆碳水化合物代谢发现:自下而上淀粉质量分数逐节上升,葡萄糖、果糖和蔗糖逐渐下降。本研究中,茎秆中下部节间可溶性糖质量分数高,淀粉质量分数低,上部节间 NSC 质量分数水平与中下部相反。可能是因为毛竹茎秆中下部生长速度快,淀粉大量转化成可溶性糖为快速生长提供碳源,茎秆上部生长较慢,可溶性糖需求少,淀粉降解慢^[30],表明茎秆发育和成熟是从下往上顺次推进的^[29]。

淀粉酶是淀粉水解反应过程中的一种重要催化剂,酶活性的高低影响淀粉的降解速率^[31]。PONGRATZ等^[32]研究菠菜 *Spinacia oleracea* 叶绿体发现:夜间淀粉酶活性比白天高。郑德森^[33]研究甘蔗 *Saccharum officinarum* 叶片淀粉酶活性变化发现: BAM 活性通常高于 AMY。本研究中,茎秆中下部节间 BAM 活性比上部节间高。中下部生长速度快,淀粉在 BAM 催化作用下大量降解为麦芽糖,此时麦芽糖酶活性较高,加速麦芽糖分解成单糖;上部生长缓慢,淀粉利用较少,酶活性相应较低。以上研究结果表明:毛竹茎秆内 AMY 在淀粉降解中不起作用, BAM 在毛竹茎秆内淀粉转化成可溶性糖的过程中起着关键性作用^[13,34]。

在茎秆生长的不同时间、不同节间,淀粉酶基因表达量存在较大差异。HARMER等^[35]研究拟南芥叶片发现: BAM 具有昼夜生理周期变化。刘美等^[15]研究发现:小麦 *Triticum aestivum* 种子萌发时 AMY 基因相对表达量呈上升趋势,且与酶活性呈极显著相关。阳江华等^[36]研究发现:白天橡胶树 *Hevea brasiliensis* HbBAM1 基因表达量显著高于夜间。本研究中, PeAMY 基因表达变化不显著, PeBAM 夜间表达量显著高于白天,说明 PeBAM 主要在夜间发挥其生物学功能。毛竹茎秆夜间生长速度快,此时非结构性碳水化合物含量低, PeBAM 基因表达量高, PeBAM 基因可能在夜间调控淀粉的降解。茎秆中下部节间 PeBAM 基因表达量比上部节间高,可能是因为茎秆中下部节间生长速度快,淀粉快速转化成可溶性糖为快速生长提供碳源,此时, PeBAM 基因大量表达加速淀粉降解;上部生长速度慢,可溶性糖利用较少,淀粉降解较少,基因表达量低。与酶活性变化趋势相同, PeBAM 基因表达与酶活性之间可能有密切联系。LLOYD等^[16]研究小麦淀粉降解过程发现: AMY 在胚乳中过表达,导致淀粉降解率升高,可溶性糖增加。MITA等^[37]研究拟南芥莲座叶发现:随着可溶性糖含量升高,淀粉含量显著增加, BAM 基因转录水平和其活性都显著提高。本研究中, PeBAM 基因夜间表达量极显著高于白天,非结构

性碳水化合物含量也有明显的昼夜变化规律，表明 *PeBAM* 的基因表达可能被糖信号所调控，从而在毛竹茎秆的快速生长中起重要作用^[38]。

综上所述，毛竹在茎秆快速生长期将白天光合作用形成的可溶性糖转化成淀粉储藏起来，生长速度慢；夜间 *PeBAM* 基因表达增强使 BAM 活性上升，促进淀粉快速转化成可溶性糖提供碳源，生长速度快。茎秆发育和成熟是从下往上顺次推进的，NSC 质量分数和 *PeBAM* 基因表达在茎秆上部节间变化不显著；中下部 *PeBAM* 基因表达达到最高，淀粉降解最快。表明毛竹茎秆快速生长与 *PeBAM* 基因的表达密切相关，BAM 在毛竹茎秆淀粉降解中可能起主要作用。

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] STITT M, ZEEMAN S C. Starch turnover: pathways, regulation and role in growth [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2012, **15**(3): 282 – 292.
- [3] PANTIN F, SIMONNEAU T, ROLLAND G, *et al.* Control of leaf expansion: a developmental switch from metabolics to hydraulics [J]. *Plant Physiol*, 2011, **156**(2): 803 – 815.
- [4] GRAF A, SMITH A M. Starch and the clock: the dark side of plant productivity [J]. *Trends Plant Sci*, 2011, **16**(3): 169 – 175.
- [5] GIBON Y, BLÄSING O E, PALACIOS-ROJAS N, *et al.* Adjustment of diurnal starch turnover to short days: depletion of sugar during the night leads to a temporary inhibition of carbohydrate utilization, accumulation of sugars and post-translational activation of ADP-glucose pyrophosphorylase in the following light period [J]. *Plant J*, 2004, **39**(6): 847 – 862.
- [6] LU Yan, GEHAN J P, SHARKEY T D. Daylength and circadian effects on starch degradation and maltose metabolism [J]. *Plant Physiol*, 2005, **138**(4): 2280 – 2291.
- [7] GRAF A, SCHLERETH A, STITT M, *et al.* Circadian control of carbohydrate availability for growth in *Arabidopsis* plants at night [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2010, **107**(20): 9458 – 9463.
- [8] SULPICE R, FLIS A, IVAKOV A A, *et al.* *Arabidopsis* coordinates the diurnal regulation of carbon allocation and growth across a wide range of photoperiods [J]. *Mol Plant*, 2014, **7**(1): 137 – 155.
- [9] RIOU-KHAMLIHI C, MENGES M, HEALY J M S, *et al.* Sugar control of the plant cell cycle: differential regulation of *Arabidopsis* D-type cyclin gene expression [J]. *Mol Cell Biol*, 2000, **20**(13): 4513 – 4521.
- [10] STREB S, EICKE S, ZEEMAN S C. The simultaneous abolition of three starch hydrolases blocks transient starch breakdown in *Arabidopsis* [J]. *J Biol Chem*, 2012, **287**(50): 41745 – 41756.
- [11] YU T S, ZEEMAN S C, THORNEYCROFT D, *et al.* Alpha-amylase is not required for breakdown of transitory starch in *Arabidopsis* leaves [J]. *J Biol Chem*, 2005, **280**(11): 9773 – 9779.
- [12] SCHEIDIG A, FROHLICH A, SCHULZE S, *et al.* Down regulation of a chloroplast-targeted beta-amylase leads to a starch-excess phenotype in leaves [J]. *Plant J*, 2002, **30**(5): 581 – 591.
- [13] WEISE S E, KIM K S, STEWART R P, *et al.* β -maltose is the metabolically active anomer of maltose during transitory starch degradation [J]. *Plant Physiol*, 2005, **137**(2): 756 – 761.
- [14] MONROE J D, STORM A R, BADLEY E M, *et al.* β -amylase 1 and β -amylase 3 are plastidic starch hydrolases in *Arabidopsis* that seem to be adapted for different thermal, pH, and stress conditions [J]. *Plant Physiol*, 2014, **166**(4): 1748 – 1763.
- [15] 刘美, 张风, 杨翠翠, 等. 小麦种子萌发早期淀粉降解关键酶活性及基因表达量研究 [J]. *山东农业科学*, 2014, **46**(9): 39 – 45.
LIU Mei, ZHANG Feng, YANG Cuicui, *et al.* Study on key starch degrading enzyme activity and related gene expression level during early germination stage of wheat seed [J]. *Shandong Agric Sci*, 2014, **46**(9): 39 – 45.
- [16] LLOYD J R, KOSSMANN J. Transitory and storage starch metabolism: two sides of the same coin? [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2015, **32**: 143 – 148.
- [17] MARUYAMA K, TAKEDA M, KIDOKORO S, *et al.* Metabolic pathways involved in cold acclimation identified by

- integrated analysis of metabolites and transcripts regulated by DREB1A and DREB2A [J]. *Plant Physiol*, 2009, **150**(4): 1972 – 1980.
- [18] WANG Xiaoqing, REN Haiqing, ZHANG Bo, *et al.* Cell wall structure and formation of maturing fibres of moso bamboo (*Phyllostachys pubescens*) increase buckling resistance [J]. *J R Soc Interface*, 2012, **9**(70): 988 – 996.
- [19] 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.
- [20] 许丽霞, 江洪, 张敏霞, 等. 安吉毛竹林生态系统光合作用特征及其环境影响因子研究[J]. *江西农业大学学报*, 2017, **39**(5): 928 – 937.
- XU Lixia, JIANG Hong, ZHANG Minxia, *et al.* Net photosynthesis and its affecting factors of bamboo forest in Anji County [J]. *Acta Agric Univ Jiangxi*, 2017, **39**(5): 928 – 937.
- [21] 程路芸, 温星, 马丹丹, 等. 毛竹快速生长过程中碳水化合物的时空变化[J]. *浙江农林大学学报*, 2017, **34**(2): 261 – 267.
- CHENG Luyun, WEN Xing, MA Dandan, *et al.* Spatial and temporal change of carbohydrates during rapid growth processes of *Phyllostachys edulis* [J]. *J Zhejiang A&F Univ*, 2017, **34**(2): 261 – 267.
- [22] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Anal Biochem*, 1976, **72**(1/2): 248 – 254.
- [23] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. *Methods*, 2001, **25**(4): 402 – 408.
- [24] FOYER C H, NOCTOR G. Photosynthetic nitrogen assimilation: inter-pathway control and signaling[M]//FOYER C H, NOCTOR G. *Photosynthetic Nitrogen Assimilation and Associated Carbon and Respiratory Metabolism*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2002: 1 – 22.
- [25] IZUMI M, HIDEMA J, MAKINO A, *et al.* Autophagy contributes to nighttime energy availability for growth in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2013, **161**(4): 1682 – 1693.
- [26] 黄滔, 唐红, 刘玮, 等. 长沙地区 3 种优良观赏竹发笋及幼竹高生长规律[J]. *经济林研究*, 2016, **34**(2): 114 – 119.
- HUANG Tao, TANG Hong, LIU Wei, *et al.* Shoot development and growth of three varieties of young bamboos of ornamental bamboo in Changsha [J]. *Nonwood For Res*, 2016, **34**(2): 114 – 119.
- [27] POKHILKO A, FLIS A, SULPICE R, *et al.* Adjustment of carbon fluxes to light conditions regulates the daily turnover of starch in plants: a computational model [J]. *Mol Biosyst*, 2014, **10**(3): 613 – 627.
- [28] LINGLE S E, THOMSON J L. Sugarcane internode composition during crop development [J]. *Bioenerg Res*, 2012, **5**(1): 168 – 178.
- [29] 翟建云, 孙建飞, 马元丹, 等. 毛竹快速生长期茎秆不同节间碳水化合物代谢的变化[J]. *竹子学报*, 2018, **37**(1): 42 – 48.
- ZHAI Jianyun, SUN Jianfei, MA Yuandan, *et al.* Changes of carbohydrates metabolism in different internodes of *Phyllostachys edulis* during rapid growth period [J]. *J Bamboo Res*, 2018, **37**(1): 42 – 48.
- [30] 李丹丹, 许馨露, 翟建云, 等. 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[J]. *浙江农林大学学报*, 2017, **34**(6): 1016 – 1023.
- LI Dandan, XU Xinlu, ZHAI Jianyun, *et al.* Soluble sugar content and *PeTPS1/PeSnRK1* gene expression in *Phyllostachys edulis* during rapid growth [J]. *J Zhejiang A&F Univ*, 2017, **34**(6): 1016 – 1023.
- [31] 宫长荣, 袁红涛, 周义和, 等. 烟叶在烘烤过程中淀粉降解与淀粉酶活性的研究[J]. *中国烟草科学*, 2001, **22**(2): 9 – 11.
- GONG Changrong, YUAN Hongtao, ZHOU Yihe, *et al.* Studies on degradation of starch and change of activity of amylase of tobacco leaf during process of curing [J]. *Chin Tob Sci*, 2001, **22**(2): 9 – 11.
- [32] PONGRATZ P, BECK E. Diurnal oscillation of amylolytic activity in spinach chloroplasts [J]. *Plant Physiol*, 1978, **62**(5): 687 – 689.
- [33] 郑德森. 甘蔗不同品种(种)个体发育过程中叶片淀粉酶活性的变化[J]. *福建农学院学报*, 1990, **19**(3): 252 – 256.
- ZHENG Desen. Changes of leaf amylase activity in different varieties (species) of sugarcane during the plant ontogeny [J].

- J Fujian Agric Coll*, 1990, **19**(3): 252 – 256.
- [34] 杨泽峰, 徐暑晖, 王一凡, 等. 禾本科植物 β -淀粉酶基因家族分子进化及响应非生物胁迫的表达模式分析[J]. *科技导报*, 2014, **32**(31): 29 – 36.
YANG Zefeng, XU Shuhui, WANG Yifan, *et al.* Molecular evolution and expression patterns under abiotic stresses of beta-amylase gene family in grasses [J]. *Sci Tech Rev*, 2014, **32**(31): 29 – 36.
- [35] HARMER S L, HOGENESCH J B, STRAUME M, *et al.* Orchestrated transcription of key pathways in *Arabidopsis* by the circadian clock [J]. *Science*, 2000, **290**(5499): 2110 – 2113.
- [36] 阳江华, 龙翔宇, 秦云霞, 等. 橡胶树 β -淀粉酶基因 *HbBAM1* 的克隆与表达分析[J]. *热带作物学报*, 2018, **39**(4): 92 – 98.
YANG Jianghua, LONG Xiangyu, QIN Yunxia, *et al.* Molecular cloning and expression analysis of *HbBAM1* from *Hevea brasiliensis* [J]. *Chin J Trop Crops*, 2018, **39**(4): 92 – 98.
- [37] MITA S, SUZUKI-FUJII K, NAKAMURA K. Sugar-inducible expression of a gene for beta-amylase in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Physiol*, 1995, **107**(3): 895 – 904.
- [38] 齐继艳, 陈舟舟, 卢晗, 等. 植物 β -淀粉酶[J]. *植物生理学报*, 2008, **44**(2): 334 – 340.
QI Jiyan, CHEN Zhouzhou, LU Han, *et al.* β -amylase in plants [J]. *J Plant Physiol*, 2008, **44**(2): 334 – 340.