

利用基因表达检测葡萄叶面喷施尿素效应的初步研究

初建青¹, 王文艳¹, 房经贵^{1,*}, 张彦平¹, 张春华²

(¹南京农业大学园艺学院, 南京 210095; ²江苏省农业科学院园艺研究所, 南京 210014)

分离和克隆‘藤稔’葡萄 (*Vitis vinifera* L.) 氮代谢循环途径中 6 个关键酶 (GS、GOGAT、GDH、AS、NR 和 NiR) 的编码基因, 并利用基因时空表达信息对葡萄叶面施肥效应进行初步研究, 为进一步研究葡萄氮素代谢途径机制以及利用基因信息科学指导施肥提供理论基础。

试材取自南京农业大学江浦试验基地种植树龄为 6 年生‘藤稔’葡萄, 在开花前期 (5 月 14 日) 上午 9 时以尿素作为叶面肥, 设置对照 (喷清水)、0.3%、0.5%、0.7% 浓度处理, 3 次重复。分别于处理后 6、24 和 48 h 采集叶片。利用 VitisEST 数据库中 EST 序列片段, 结合 RT-PCR 方法克隆基因, 运用半定量 PCR 和荧光定量 PCR 法研究上述各基因在葡萄不同组织的表达情况, 并进行了亚细胞定位分析。

对上述基因在葡萄不同组织器官中的表达水平进行分析发现, 它们的表达存在强弱差异, 6 个基因在幼叶中的表达明显高于老叶, 其中以 0.3% 和 0.5% 浓度尿素处理的效果显著, 说明了以 0.3% 和 0.5% 浓度的尿素喷布到幼叶的效果更佳。6 个基因的表达水平在喷施尿素后 6~48 h 均高于对照, 表明叶面适量喷施尿素可以诱导氮素代谢循环中的关键基因发挥作用。NR 在各个阶段的表达水平都高于 NiR, GS 在各个阶段的表达水平高于 AS, 基本上 NiR、AS 表达量的变化趋势分别与 NR、GS 表达量相一致, 可以证实在氮代谢循环途径中 NR、GS 分别位于 NiR、AS 催化反应的上游, 可能对信号有更早的响应。在葡萄叶片喷施尿素后 6 h 时 GS 基因的表达量比其它基因上升明显, 而相比其它基因 NR 基因在叶片喷施尿素后直至 48 h 一直保持着比较高的表达水平, 因此两者可分别作为葡萄叶片喷施尿素前期和中后期的氮代谢信号途径的标记基因。

关键词: 葡萄; 尿素; 克隆; 基因表达; 亚细胞定位

中图分类号: S 663.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) S-2485-01

收稿日期: 2011-08-01

基金项目: 江苏省农业综合开发科技推广项目 (2011KJ-53)

*通信作者 (E-mail: fanggg@njau.edu.cn; Tel: 025-84399069)