

# 葡萄microRNA156 及其靶基因vv-SPL9 在冬芽二次成花过程中的表达特性分析

王 晨<sup>1</sup>, 张演义<sup>2</sup>, 房经贵<sup>1,\*</sup>, 宋长年<sup>1</sup>, 刘 洪<sup>1,3</sup>, 王西成<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>南京农业大学园艺学院, 南京 210095; <sup>2</sup>聊城大学园艺学院, 山东聊城 252000; <sup>3</sup>上海农业科学院生物技术研究  
所, 上海 201106)

利用‘藤稔’葡萄为试材, 对葡萄 microRNA156 (vv-miR156) 及其靶基因 vv-SPL9 在冬芽二次成花过程中的表达特性及其作用机制进行了研究, 对于深入了解葡萄花发育的分子机理以及对其表达的合理调控等具有重要的理论指导意义。

所用材料是南京农业大学江浦实验基地种植的树龄为 7 年生的‘藤稔’葡萄植株; 促进冬芽成花的措施是采取第 9 或 10 节位摘心和抹去 1 ~ 6 节位夏芽处理; 通过 RLM-5'-RACE 技术验证 vv-miR156 对其靶基因 vv-SPL9 的作用方式; 利用荧光定量 RT-PCR 技术检测它们在 3 次摘心处理后的冬芽以及对照冬芽的各生长时期表达水平的变化情况。

比较 3 次摘心处理后的冬芽与对照冬芽生长发育情况发现, 第 1、第 2 次处理及对照组中未有花芽分化, 第 3 次处理能够进行花芽分化并形成花序。RLM-5'-RACE 技术检测结果表明, vv-miR156 介导其靶基因 vv-SPL9 裂解, 并且该靶基因被 vv-miR156 剪切的位点在第 10 和 11 位之间。荧光定量 RT-PCR 结果表明, vv-miR156 在第 3 次处理中表达水平下降的趋势均最明显, 花序中有最低表达, 并且该 miRNA 表现为依次缓慢降低; 靶基因 vv-SPL9 在冬芽成花过程中的表达水平呈现出与其 miRNAs 基本上相反的变化趋势, 表明 vv-miR156 在冬芽成花过程中负调控其靶基因。上述结果表明第 3 次摘心处理对葡萄冬芽二次成花过程中的促花效果最明显; 葡萄 miR156 通过介导其靶基因 vv-SPL9 的裂解调控其靶基因的表达, 从而影响葡萄冬芽的二次成花。

**关键词:** 葡萄; microRNAs; 靶基因; 冬芽; 荧光定量 RT-PCR; RNA 连接酶介导的 5'-RACE

**中图分类号:** S 663.1

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2011) S-2486-01

**收稿日期:** 2011-08-01

**基金项目:** 江苏省农业科技支撑项目 (BE2010326)

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