

# ‘藤稔’葡萄冬季休眠后期花芽发育相关基因表达的分析

慕茜<sup>1</sup>, 刘更森<sup>2</sup>, 孙欣<sup>1</sup>, 李玉<sup>1</sup>, 陶然<sup>1</sup>, 王晨<sup>1</sup>, 房经贵<sup>1,\*</sup>

(<sup>1</sup>南京农业大学园艺学院, 南京 210095; <sup>2</sup>青岛农业大学园艺学院, 山东青岛 266109)

**摘要:** 以6年生‘藤稔’葡萄 (*Vitis vinifera* L. ‘Fujiminori’) 为试材, 在枝条不同节位进行短截处理, 对9个花发育相关基因的时空表达进行研究。结果表明, 在冬季休眠后期虽然 *VvAPI*、*VvAP2*、*VvAP3*、*VvAG*、*VvFUL*、*VvSOC1*、*VvLFY* 和 *VvFLC* 基因的相对表达水平较低, 但冬芽仍可进行花芽分化; 短截处理可以促进花发育, 增加各节位芽中基因的相对表达量; 同一枝蔓上的中部芽比上部芽和下部芽发育好, 基因相对表达量高, 花芽生长发育时间长。

**关键词:** 葡萄; 花芽; 节位; 基因表达

**中图分类号:** S 663.1

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2013) 05-0828-11

## Analysis of Expression Levels of Floral Genes During the Late Dormancy Stage of ‘Fujiminori’ Grapevine

MU Qian<sup>1</sup>, LIU Geng-sen<sup>2</sup>, SUN Xin<sup>1</sup>, LI Yu<sup>1</sup>, TAO Ran<sup>1</sup>, WANG Chen<sup>1</sup>, and FANG Jing-gui<sup>1,\*</sup>

(<sup>1</sup>College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; <sup>2</sup>College of Landscape and Horticulture, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China)

**Abstract:** The differentiation process of winter buds at different nodes of grapevine branch during late dormancy stage was investigated in this study, for which some branches of 6-year-old grapevine (*Vitis vinifera* L. ‘Fujiminori’) were cut back and only the two upmost buds were kept and used as material for expression analysis of nine floral genes. The result showed that the levels of 8 genes, such as *VvAPI*, *VvAP2*, *VvAP3*, *VvAG*, *VvFUL*, *VvSOC1*, *VvLFY* and *VvFLC* were low in winter. However, the buds could keep flower-bud-differentiation state; the branch-cut-back treatment could not only promote the floral development, but also increase the gene expression levels in the buds at different nodes; The quality of the central buds on a branch and the relative gene expression levels in them were all higher than those buds at upper and lower nodes of the same branches. Other, the central buds seemed to have a longer development period.

**Key words:** grapevine; floral; nodes; gene expression

目前, 利用拟南芥和金鱼草等模式植物已进行了大量与花发育相关基因的研究, 在植物花发育

收稿日期: 2012-12-04; 修回日期: 2013-04-10

基金项目: 江苏省农业自主创新项目[CX11 (1010)]; 江苏省高校优势学科项目(PAPD)

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

分子生物学研究上也取得了重大进展, 有很多与模式植物同源的葡萄花发育相关基因得到了鉴定、分离和克隆以及功能分析 (Calonje et al., 2004; Sreekantan & Thomas, 2006; 王晨 等, 2010, 2011; 杨光 等, 2010)。FT、FLC、AG 和 AP3 是调控成花时间及花器官原基分化与发育的关键基因。FT 是光周期途径植物开花时间决定关键基因, FT 在开花整合因子 *SOC1* 的上游, 对 *SOC1* 有正调控作用 (Abe et al., 2005)。FLC 是调控春化作用需求和响应的关键基因之一, 抑制植物开花。AP2 可使花分生组织早期建立, AP2 和 AP1 共同使萼片花瓣特异化。AP2 抑制 AG 在花萼和花瓣中的表达 (Flamagan & Ma, 1994; Huang et al., 2005)。LFY 是花分生组织的属性基因, 是控制营养生长向生殖生长转变的重要基因 (杨光 等, 2011)。

葡萄在长期的进化过程中形成了通过落叶与代谢水平降低等方式抵御严冬恶劣气候的冬季休眠习性。从休眠的机理与性质来看, 葡萄的芽休眠包括抑制性休眠 (相关抑制, 夏季休眠)、内休眠 (静止期, 营养成熟) 和生态休眠 (静止期, 强制休眠, 或冬季休眠)。如同许多木本植物的休眠一样, 葡萄的芽休眠同样不是生长发育过程中一个静止的状态, 而是一个动态的阶段 (Sreekantan et al., 2010)。冬季休眠同样是葡萄花芽形成与发育过程中的一段重要时期。姜卫兵等 (2007) 根据对 ‘藤稔’ 葡萄的研究结果, 将葡萄的冬季休眠期分为初休眠期 (12 月上旬)、深休眠期 (1 月上旬) 和休眠后期 (2 月上旬)。

葡萄同一枝蔓不同节位的冬芽开始形成的时间有先后, 在饱满程度、分化进度、生长势等方面存在着一定的差别。高节位易成花的欧亚种葡萄的不同节位冬芽间差异更为明显 (曹雪 等, 2011)。葡萄的成花周期很长, 基部节位花芽的发育往往超过一年 (陶磅和贾克功, 2001; Carmona et al., 2008)。前人报道, 随着当年新梢的生长, 在开花期前后 (5 月中旬) 新梢基部 4 ~ 6 节位的芽首先开始分化; 10 ~ 15 d 之后, 基部第 1 ~ 3 节的芽开始分化, 与第 7、8 节上的花芽分化时间大致相同 (房玉林 等, 2005)。不同节位上的冬芽在进入休眠前的生长时间与发育状态都差异很大。但引人关注的是, 这些在同一年生长发育状态不一致的冬芽在来年花发育成熟与花序长出的时间却基本一致。因此, 冬季休眠对于不同节位花芽分化状态可能具有重要影响。

为探讨葡萄冬季花芽的发育情况, 本研究中对自然生长状态下的 ‘藤稔’ 葡萄花芽在冬季休眠后期花发育过程中 *VvFT*、*VvLFY*、*VvSOC1*、*VvFLC*、*VvFUL*、*VvAG*、*VvAPI*、*VvAP2* 和 *VvAP3*, 共 9 个有关基因的表达进行了分析, 以期对认识葡萄冬芽发育的生理过程以及葡萄花发育调控提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试材与处理

试验于 2009—2010 年在南京农业大学江浦试验基地葡萄园进行。

在 2009 年 10 月 21 日 ‘藤稔’ 葡萄 (高节位易成花品种) 休眠期前, 从 200 株生长健壮一致的植株中选取长势基本均匀、粗度基本一致且节数约 35 ~ 36 节的 1 年生枝条共计 630 条, 其中每 10 条为 1 组进行处理。为降低养分竞争对冬芽花发育的影响, 保证不同节位花芽的形成, 对材料进行短截与下部抹芽处理, 分别对枝条的第 2、5、8、11、15、22、28 和 33 节位进行短截, 只保留短截枝蔓顶部的两个芽, 其余的芽都抹掉。以不进行修剪的为对照。为兼顾所采取的芽处于不同休眠状态以及保证短截的处理效果, 在短截处理 100 d 后, 即 1 月 27 日开始第 1 次取样, 之后取样时间分别为 2 月 14 日、3 月 8 日、3 月 26 日、4 月 9 日、4 月 28 日和 5 月 11 日, 共计 7 次。冬芽萌发之前的取样对象为冬芽, 冬芽萌发之后的取样对象为抽生的花序和茎尖, 并将采集好的样品置于

- 70 °C 保存备用。

大肠杆菌(*Escherichia coli*)菌株 DH5 $\alpha$  由本实验室保存。PowerScript II<sup>TM</sup> 反转录酶购自 Clontech 公司, DNase 酶 I、pMD19-T 载体、Ex-Taq 酶、dNTPs、DNA Marker, 荧光定量染料 SYBRGreen I 购自上海东洋纺生物科技有限公司, DNA 回收试剂盒、DL 2000 Plus DNA Marker 为北京全式金生物技术有限公司生产。

## 1.2 RNA 的提取与 cDNA 的合成

RNA 的提取采用 CTAB 法 (Chang et al., 1993; 张彦莘 等, 2010), 用 DNase I 酶 (RNase free) 消化和氯仿抽提。

以 mRNA 为模板, 引物 P01 反转录合成 cDNA 第 1 条链, 引物 P02 延伸加帽子, 空气加热条件下 42 °C 保温 1 h, 75 °C 保温 10 min, 冰上冷却 2 min 后, - 70 °C 保存备用。

## 1.3 基因序列与引物设计

选择多个葡萄花发育相关基因包括上调基因 *VvFT*、*VvSOCI*、*VvLFY*, 下调基因 *VvAP2*、*VvFLC*、*VvAG*, 花器官特异性基因 *VvAPI*、*VvAP2*、*VvAP3*、*VvAG*, 以及 *VvAPI* 的旁系同源基因 *VvFUL*。根据 GenBank 上发表的不同品种的葡萄基因序列, 选择保守区域设计引物, 为确保定量 PCR 的特异性以及避免定量 RT-PCR 结果的假阳性, 除 *VvLFY* 基因启动子外其他 8 个基因引物设计在每个基因的 3'非翻译区 (3'UTR), 并且对 RT-PCR 的扩增产物通过回收、克隆与测序加以验证 (杨光 等, 2010)。所用引物由上海捷瑞生物技术有限公司 (Invitrogen) 合成, 其编号及序列见表 1。

表 1 引物用途及序列  
Table 1 Sequence of use and primers

| 用途<br>Use                                 | 基因<br>Gene    | GenBank 序列号<br>GenBank No. | 基因编号<br>Code No. | 序列 (5' - 3')<br>Sequence       |
|---|---------------|----------------------------|------------------|--------------------------------|
| cDNA 合成<br>cDNA synthesis                 |               |                            | P01              | GCAGGACTGCAGCTGACTGACTACT30VN  |
| 扩增 <i>UBI</i><br><i>UBI</i> amplification |               |                            | P02              | GACCAGTGGTATCAACGCAGAGTACGCGGG |
| 定量 RT-PCR                                 |               |                            | UBI-1            | CAGCCTTCTGGTAAACATAGGTGAG      |
| Quantitative RT-PCR                       |               |                            | UBI-2            | AGGAGTGTCCGAATGCTGAGTG         |
|   | <i>VvLFY</i>  | AF378126                   | LFY-1            | TCACGGTGAGTACGCTTCTG           |
|   |               |                            | LFY-2            | GGCGTGACTCTTCTTCATCC           |
|   | <i>VvAPI</i>  | AY538746                   | AP1-1            | CACATGGAGCAAGGAGGAAT           |
|   |               | GU133634                   | AP1-2            | TCACCCAAGTAGATATCAAATCAG       |
|   | <i>VvAP2</i>  | FJ809943                   | AP2-1            | AGCCCCACCATACCATGTAA           |
|   |               | FJ809943                   | AP2-2            | CCTCTTCATATCCCCAACA            |
|   | <i>VvFLC</i>  | EF520739                   | FLC-1            | AGTGAAGGCCAAGTGTGTTG           |
|   |               | GU133630                   | FLC-2            | TACAGCTCCTGCTTGATTCTG          |
|   | <i>VvSOCI</i> | DQ504309                   | SOC1-1           | GTCCATGCTCAGCAACACTG           |
|   |               | GU133633                   | SOC1-2           | GCAGGGCAATTTACATCAT            |
|   | <i>VvFUL</i>  | AY538747                   | FUL-1            | AGTCCAATACCCTCATGCCACC         |
|   |               | GU133635                   | FUL-2            | GGGGCATTAAGACTTGGCTGAC         |
|   | <i>VvAP3</i>  | EF211123                   | AP3-1            | CAGGCAAACAATCATCCAGA           |
|   |               | GU133632                   | AP3-2            | AACCTCCCGCTGTCAAGTTA           |
|   | <i>VvFT</i>   | EF203918                   | FT-1             | GTGTTAGCCTAAACCAAGCT           |
|   |               | GU133629                   | FT-2             | ACGATTCATTAAGACCGAAAG          |
|   | <i>VvAG</i>   | EF209334                   | AG-1             | TGTGGGGATGATCTAGTGCC           |
|   |               | GU133631                   | AG-2             | GACCTATGCCATCAACAAAGA          |

## 1.4 基因特异引物的 PCR 验证

以 cDNA 为模板, 分别以表 1 中各对引物进行 PCR 扩增, 反应程序为: 94 °C 预变性 3 min;

94 °C 变性 30 s, 复性 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 共 33 个循环; 最后 72 °C 延伸 5 min, 结束后 4 °C 保存。

扩增产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 割取目的条带, 利用 Axygen 公司生产的 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒回收特异片段, 具体方法参照其说明。回收后进行克隆, 按照 TaKaRa 公司载体连接试剂盒说明书提供的方法, 将回收纯化的 DNA 片段与载体 pMD19-T Vector 连接, 16 °C 反应 1 h, 转化入大肠杆菌 DH5 $\alpha$  感受态细胞中, 接种在含 Amp 的平板培养基上培养 12 ~ 15 h。挑取单克隆在含 Amp 的液体 LB 培养基中筛选活化后, 然后进行菌液 PCR (同原引物的扩增程序)。检测后将菌液送往南京金思特生物技术公司测序 (王玉娟 等, 2010)。

### 1.5 荧光定量 PCR

参照已有研究报道 (帅小蓉 等, 2002; 王晨 等, 2010), 分别取 2  $\mu$ g RNA, 以 P01 和 P02 引物反转录合成 cDNA。为确保定量 PCR 的特异性, 根据 GenBank 上已登录的这些基因在葡萄上的序列, 考虑其同源性和保守性在每个基因的 3' 非翻译区 (3'UTR) 设计引物; 以葡萄看家基因 *UBI* 为内参进行定量 PCR, 目的基因的引物及片段大小参照已有研究报道 (杨光 等, 2010)。应用 Bio-Rad iCycler iQ 实时定量 PCR 仪, 使用 SYBRGreen I (Toyobo) 试剂以葡萄冬芽花芽不同发育时期的茎尖或花序 cDNA 为模板, 应用设计的引物进行 PCR 扩增。扩增体系含 1  $\mu$ L cDNA, 上、下游引物各 0.8  $\mu$ L, 10  $\mu$ L 反应 MIX, 7.4  $\mu$ L ddH<sub>2</sub>O, 总体积 20  $\mu$ L。反应程序为 95 °C 变性 1 min, 95 °C 变性 10 s, 50 °C 退火 20 s, 72 °C 延伸 30 s, 40 个循环; 反应结束后分析荧光值变化曲线以及融解曲线。

试验设 3 次重复, 试验数据用 LinRegPCR (Ramakers et al., 2003) 和 Excel 软件分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 ‘藤稔’葡萄不同节位冬芽花发育情况

在冬季对 ‘藤稔’ 葡萄枝蔓采取不同节位短截修剪并抹掉下部芽后, 保留的 2 个芽以及未短截对照组的所有节位冬芽都能成花并且从不同节位花序抽生情况 (图 1) 可看出, 其开花时间先后顺序差异不大, 且不同节位芽都具有成花结实能力的特点。相同节位处理枝蔓上冬芽的萌发与开花比对照提早约 3 ~ 5 d, 说明枝蔓短截与下部抹芽可以促进所保留芽的花发育。中部节位 (第 5 ~ 22 节位) 芽同时期抽生花序较大。

### 2.2 ‘藤稔’葡萄不同节位花芽生长发育时间表

‘藤稔’葡萄是高节位易成花葡萄品种, 新梢高节位上的花芽从下部往上部逐渐进行分化, 上部花发育时间明显短于先发育芽。

入冬以后, 不同节位的花芽渐趋休眠状态, 造成不同节位芽当年发育和分化状态差异大。但是, 不同节位芽第 2 年春季萌发、开花时间却基本一致。

综合南京地区 ‘藤稔’ 葡萄不同节位花芽生长发育时间的情况, 对其成花周期进行了归纳 (图 2)。从花发育时间长短看, 先分化节位 (4 ~ 6 节位) 花芽发育的时间长达 1 年或 1 年以上, 而随着节位的升高, 芽形成的时间推迟, 花芽生长发育的时间不足 1 年甚至仅为 7 ~ 8 个月。

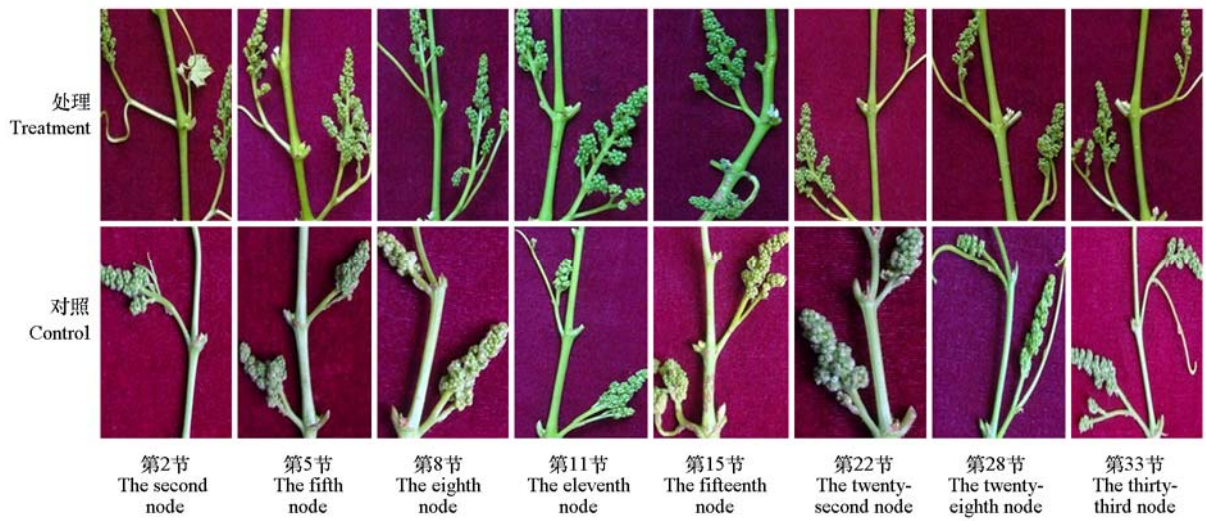


图 1 ‘藤稔’葡萄不同短截节位间处理与对照花序情况比较

Fig. 1 Comparison of ‘Fujiminori’ grapevine inflorescence sprouting from the buds growing at different nodes of treated and control vines

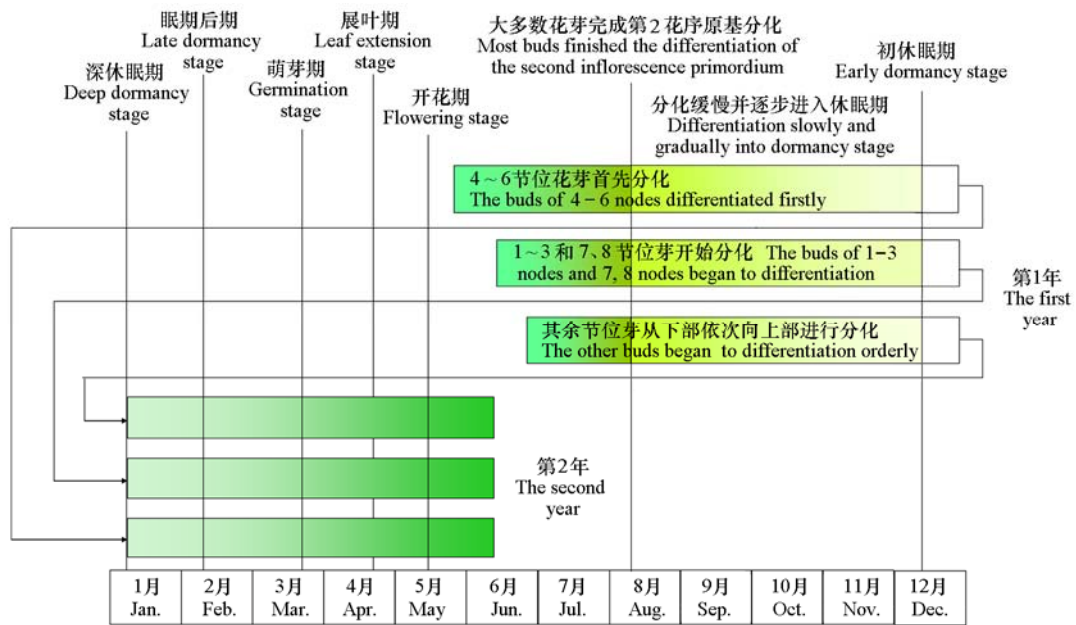


图 2 ‘藤稔’葡萄不同节位花芽生长发育时间

Fig. 2 The growth and development periods of ‘Fujiminori’ grapevine bud at different branch nodes

### 2.3 不同基因在‘藤稔’葡萄冬芽中的表达

对葡萄 9 个重要花发育相关基因 (*VvFT*、*VvLFY*、*VvSOC1*、*VvFLC*、*VvFUL*、*VvAG*、*VvAPI*、*VvAP2* 和 *VvAP3*) 在葡萄冬芽、茎尖和花序中的表达水平研究结果 (表 2) 表明, 短截处理组与对照组的基因相对表达水平变化趋势基本一致, 但处理组较对照组高, 且表达高峰期早, 其中 *VvFT*、*VvSOC1*、*VvLFY*、*VvAPI*、*VvAP2* 比对照总体提早 20 d 左右, 可能是因为短截处理诱导了这些基因的表达。1 月 27 日以及随后一段时间, ‘藤稔’葡萄依然为内休眠和生态休眠, 而从基因的表达情况看, 不同节位间冬芽都能表达, 这说明即使是在休眠期各冬芽仍在进行分化, 说明了冬季对花芽

分化的重要性,也验证了葡萄冬芽在休眠期处于动态状态。不过这段时间内,除了 *VvFT* 之外,多数基因相对表达水平较低,这说明尽管在这段时间内各基因都能表达,但不是分化最活跃阶段。

随着春季到来,短截处理组中的促进开花基因 *VvFT* 在休眠后期(2月14日)的冬芽中表达水平首先达到高峰期,且在萌芽期之前一直保持较高的水平。*VvSOC1* 的表达高峰期与 *VvLFY* 相近(表2),且表达量的变化趋势也基本一致。到萌芽期后开花抑制基因 *VvFLC* 的表达量也达到高峰期(表2)。直到茎尖的生长,花序的形成,几个花器官建成基因 *VvAPI*、*VvAP2* 和 *VvAP3* 逐渐开始进入表达高峰期,并在之后生长的花序中基因相对表达量达到最高(表2)。这说明它们在葡萄花器官发育中扮演了重要作用。*VvFUL* 是 *VvAPI* 的同源旁系基因,这二者的表达趋势也基本一致(表2)。上述结果也说明了这些器官特异性基因参与了葡萄花发育,而且也表明从萌芽期到开花期是葡萄花器官建成的快速阶段。

表2 9个基因在短截处理及对照冬芽的不同节位的各时期相对表达量

Table 2 Expression levels of nine floral genes at different buds and growth stages on the cutting back and control

| 基因<br>Gene    | 节位<br>Node   | 处理<br>Treatment | 取样时间与部位 Sampling time and parts |           |           |           |           |                 |                     |                 |                     |         |
|---------------|--------------|-----------------|---------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------------|---------------------|-----------------|---------------------|---------|
|               |              |                 | 01 - 27                         | 02 - 14   | 03 - 08   | 03 - 26   | 04 - 09   | 04 - 28         | 04 - 28             | 05 - 11         | 05 - 11             |         |
|               |              |                 | 芽<br>Buds                       | 芽<br>Buds | 芽<br>Buds | 芽<br>Buds | 芽<br>Buds | 茎尖<br>Shoot tip | 花序<br>Inflorescence | 茎尖<br>Shoot tip | 花序<br>Inflorescence |         |
| <i>VvFT</i>   | 2            | 对照 Control      | 1.0000                          | 0.4921    | 0.4296    | 0.3076    | 0.2954    | 0.2418          | 0.1953              | 0.0509          | 0.0596              |         |
|               |              | 短截 Cutting back | 1.2341                          | 1.4332    | 1.4566    | 2.1365    | 1.4426    | 0.4625          | 0.6447              | 0.3272          | 0.0380              |         |
|               | 5            | 对照 Control      | 0.7831                          | 0.8843    | 0.4393    | 0.2505    | 0.3143    | 0.0850          | 0.0944              | 0.1293          | 0.0388              |         |
|               |              | 短截 Cutting back | 1.8126                          | 2.5239    | 1.3004    | 1.5938    | 1.5732    | 0.7511          | 0.6409              | 0.1279          | 0.4328              |         |
|               | 8            | 对照 Control      | 1.0951                          | 1.3249    | 1.9389    | 1.3880    | 1.0284    | 0.0395          | 0.0596              | 0.0269          | 0.0302              |         |
|               |              | 短截 Cutting back | 1.8435                          | 2.7862    | 1.4470    | 1.9481    | 1.7695    | 0.7828          | 1.0968              | 0.3414          | 0.3584              |         |
|               | 11           | 对照 Control      | 1.0186                          | 2.7593    | 3.0549    | 2.5439    | 1.3529    | 0.0323          | 0.1437              | 0.0447          | 0.0295              |         |
|               |              | 短截 Cutting back | 2.6472                          | 4.5842    | 1.3774    | 1.1723    | 1.0986    | 0.4779          | 0.2719              | 0.5128          | 0.1184              |         |
|               | 15           | 对照 Control      | 1.1200                          | 2.0993    | 3.4141    | 1.1261    | 0.9358    | 0.5034          | 0.0914              | 0.0578          | 0.0359              |         |
|               |              | 短截 Cutting back | 2.0455                          | 2.3058    | 1.5284    | 1.3969    | 1.3089    | 0.4875          | 0.1248              | 0.4314          | 0.3581              |         |
|               | 22           | 对照 Control      | 0.7955                          | 1.5596    | 3.5754    | 0.7947    | 0.6326    | 0.0633          | 0.0948              | 0.2204          | 0.0016              |         |
|               |              | 短截 Cutting back | 1.6303                          | 1.7213    | 1.9148    | 1.2390    | 0.9874    | 0.5265          | 0.0760              | 0.4808          | 0.1914              |         |
|               | 28           | 对照 Control      | 0.3014                          | 0.9673    | 3.1582    | 0.6510    | 0.3259    | 0.1188          | 0.0392              | 0.0327          | 0.0090              |         |
|               |              | 短截 Cutting back | 1.0481                          | 1.2044    | 0.9848    | 0.4430    | 0.4068    | 0.2954          | 0.1393              | 0.2374          | 0.1126              |         |
|               | 33           | 对照 Control      | 0.4021                          | 1.8548    | 1.9493    | 1.2051    | 0.4033    | 0.0031          | 0.0260              | 0.1216          | 0.0499              |         |
|               |              | 短截 Cutting back | 0.6504                          | 1.0225    | 0.7542    | 0.6527    | 0.4739    | 0.2541          | 0.1994              | 0.2123          | 0.1644              |         |
|               | <i>VvLFY</i> | 2               | 对照 Control                      | 1.0000    | 2.8060    | 2.1411    | 3.3532    | 4.7857          | 5.3747              | 4.3255          | 6.9859              | 5.4317  |
|               |              |                 | 短截 Cutting back                 | 1.3687    | 2.3668    | 4.5645    | 9.3590    | 7.2359          | 13.7516             | 13.8552         | 12.5130             | 11.3477 |
| 5             |              | 对照 Control      | 0.1137                          | 5.3127    | 6.4357    | 8.9220    | 8.9745    | 9.2653          | 6.7855              | 7.4063          | 5.9586              |         |
|               |              | 短截 Cutting back | 0.7533                          | 7.2850    | 10.9219   | 15.6069   | 14.3258   | 16.9795         | 15.2338             | 8.8174          | 11.1935             |         |
| 8             |              | 对照 Control      | 0.3398                          | 3.1691    | 6.5459    | 17.4845   | 16.7866   | 11.7497         | 7.7072              | 9.5953          | 8.4822              |         |
|               |              | 短截 Cutting back | 0.9220                          | 9.0166    | 12.8910   | 22.1121   | 17.2585   | 17.0768         | 14.6032             | 16.2088         | 16.8054             |         |
| 11            |              | 对照 Control      | 0.7897                          | 3.5367    | 12.9397   | 18.6877   | 22.4326   | 7.5685          | 4.8097              | 5.8686          | 4.3543              |         |
|               |              | 短截 Cutting back | 1.8133                          | 9.8067    | 13.5933   | 22.9542   | 19.7568   | 16.3584         | 13.4495             | 17.2173         | 14.1243             |         |
| 15            |              | 对照 Control      | 0.1498                          | 1.3363    | 10.0167   | 13.3708   | 14.3286   | 8.3203          | 8.7467              | 5.4366          | 5.7704              |         |
|               |              | 短截 Cutting back | 1.5687                          | 6.1362    | 8.5458    | 17.4416   | 22.2541   | 11.7642         | 9.7134              | 9.6519          | 13.7021             |         |
| 22            |              | 对照 Control      | 2.5304                          | 4.1605    | 9.0133    | 12.8766   | 13.2586   | 7.7971          | 11.6379             | 9.5586          | 7.4271              |         |
|               |              | 短截 Cutting back | 1.5632                          | 8.0975    | 13.7740   | 20.5178   | 15.5749   | 15.5030         | 7.3653              | 12.6059         | 15.2107             |         |
| 28            |              | 对照 Control      | 0.9855                          | 2.0687    | 5.8047    | 3.5482    | 7.0352    | 10.1441         | 3.2346              | 3.6386          | 5.8811              |         |
|               |              | 短截 Cutting back | 1.1550                          | 2.8925    | 9.6535    | 11.0951   | 13.2595   | 4.6548          | 2.7206              | 9.2951          | 5.8279              |         |
| 33            |              | 对照 Control      | 1.8134                          | 1.4556    | 2.3849    | 1.7876    | 1.9857    | 2.6346          | 3.0567              | 3.3542          | 2.7298              |         |
|               |              | 短截 Cutting back | 0.9875                          | 3.5322    | 7.5676    | 7.8569    | 9.4536    | 13.6812         | 4.7467              | 4.0087          | 8.7264              |         |
| <i>VvSOC1</i> |              | 2               | 对照 Control                      | 1.0000    | 0.9693    | 0.4524    | 0.9288    | 1.5833          | 0.9793              | 1.0236          | 1.0254              | 1.1574  |
|               |              |                 | 短截 Cutting back                 | 0.1119    | 0.2469    | 0.9644    | 4.1591    | 8.9587          | 7.2668              | 5.4677          | 4.7989              | 3.1347  |
|               | 5            | 对照 Control      | 0.5199                          | 0.6191    | 0.4162    | 0.5463    | 3.2359    | 1.1148          | 1.3257              | 2.4225          | 0.2203              |         |
|               |              | 短截 Cutting back | 0.2148                          | 0.3361    | 3.0731    | 8.6929    | 11.3257   | 9.3411          | 11.0162             | 3.2645          | 3.5074              |         |

续表 2

| 基因<br>Gene   | 节位<br>Node      | 处理<br>Treatment | 取样时间与部位<br>Sampling time and parts |           |           |           |           |                 |                     |                 |                     |        |
|--------------|-----------------|-----------------|------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------------|---------------------|-----------------|---------------------|--------|
|              |                 |                 | 01 - 27                            | 02 - 14   | 03 - 08   | 03 - 26   | 04 - 09   | 04 - 28         | 04 - 28             | 05 - 11         | 05 - 11             |        |
|              |                 |                 | 芽<br>Buds                          | 芽<br>Buds | 芽<br>Buds | 芽<br>Buds | 芽<br>Buds | 茎尖<br>Shoot tip | 花序<br>Inflorescence | 茎尖<br>Shoot tip | 花序<br>Inflorescence |        |
| <i>VvFLC</i> | 8               | 对照 Control      | 0.1329                             | 0.6621    | 0.5968    | 1.4372    | 4.7239    | 1.2281          | 2.3051              | 1.1390          | 0.7465              |        |
|              |                 | 短截 Cutting back | 0.2637                             | 0.5467    | 0.1844    | 19.1539   | 19.3259   | 16.3341         | 15.4611             | 9.1324          | 7.5131              |        |
|              | 11              | 对照 Control      | 0.6283                             | 1.0700    | 0.7607    | 2.6456    | 2.2366    | 1.6521          | 2.6670              | 1.2269          | 0.1369              |        |
|              |                 | 短截 Cutting back | 0.2672                             | 0.5585    | 0.9554    | 14.3336   | 13.2587   | 9.0086          | 7.8183              | 10.8126         | 6.7719              |        |
|              | 15              | 对照 Control      | 0.7686                             | 0.1320    | 0.9755    | 1.3225    | 3.9486    | 2.7357          | 0.9459              | 1.3519          | 0.1239              |        |
|              |                 | 短截 Cutting back | 0.1014                             | 0.1526    | 0.2335    | 10.4894   | 7.6353    | 2.0703          | 5.0864              | 4.4778          | 3.8365              |        |
|              | 22              | 对照 Control      | 0.2369                             | 0.2922    | 0.2163    | 2.2387    | 4.3716    | 3.9466          | 3.4689              | 1.7248          | 0.3925              |        |
|              |                 | 短截 Cutting back | 0.4209                             | 1.0307    | 3.5276    | 21.8661   | 11.8587   | 7.2120          | 6.6666              | 8.5504          | 3.3817              |        |
|              | 28              | 对照 Control      | 0.1114                             | 0.5265    | 0.6344    | 0.1090    | 1.0515    | 1.6461          | 1.3532              | 2.0880          | 0.4563              |        |
|              |                 | 短截 Cutting back | 0.0084                             | 0.6010    | 0.4487    | 1.0812    | 1.7685    | 1.0662          | 2.0225              | 7.4671          | 0.7790              |        |
|              | 33              | 对照 Control      | 0.3698                             | 0.5529    | 0.5432    | 1.2458    | 0.9626    | 1.2373          | 1.2839              | 1.6483          | 0.4952              |        |
|              |                 | 短截 Cutting back | 0.4548                             | 0.1818    | 0.3421    | 5.1265    | 2.0326    | 1.8272          | 2.5459              | 0.5410          | 0.0637              |        |
|              | 2               | 对照 Control      | 1.0000                             | 1.0331    | 0.9124    | 1.0434    | 1.1534    | 0.2093          | 0.3586              | 0.2322          | 0.0886              |        |
|              |                 | 短截 Cutting back | 0.8544                             | 1.2759    | 1.2153    | 1.9535    | 2.3588    | 0.4465          | 0.6168              | 0.1507          | 0.3804              |        |
|              | 5               | 对照 Control      | 0.6579                             | 1.5770    | 2.4986    | 1.1125    | 0.8453    | 0.3974          | 0.4326              | 0.0270          | 0.0307              |        |
|              |                 | 短截 Cutting back | 0.6080                             | 1.4370    | 1.8465    | 1.9393    | 2.2259    | 0.0636          | 0.0949              | 0.1150          | 0.1064              |        |
|              | 8               | 对照 Control      | 0.4368                             | 1.2474    | 2.1755    | 2.3540    | 3.4716    | 0.4275          | 0.2950              | 0.4849          | 0.0426              |        |
|              |                 | 短截 Cutting back | 0.9436                             | 1.3171    | 4.4344    | 7.7597    | 8.3466    | 0.3461          | 0.1320              | 0.0428          | 0.0069              |        |
|              | 11              | 对照 Control      | 0.5825                             | 1.2079    | 3.2731    | 3.4563    | 5.6533    | 0.2422          | 0.1055              | 0.3319          | 0.0524              |        |
|              |                 | 短截 Cutting back | 1.0035                             | 0.9787    | 5.4629    | 11.2644   | 9.4360    | 0.0955          | 0.0700              | 1.9619          | 0.0459              |        |
|              | 15              | 对照 Control      | 0.1959                             | 1.2278    | 1.4526    | 1.0326    | 4.3569    | 0.1034          | 0.1078              | 0.1127          | 0.0496              |        |
|              |                 | 短截 Cutting back | 0.7357                             | 1.0357    | 2.3370    | 6.1003    | 5.1539    | 0.0128          | 0.0237              | 0.2382          | 0.1642              |        |
|              | 22              | 对照 Control      | 0.0370                             | 0.9740    | 0.4899    | 0.8545    | 1.8966    | 0.4698          | 0.0771              | 0.3910          | 0.0222              |        |
|              |                 | 短截 Cutting back | 0.8993                             | 0.8548    | 1.2033    | 2.7232    | 3.1459    | 0.0235          | 0.0680              | 0.0022          | 0.1112              |        |
| 28           | 对照 Control      | 0.4469          | 0.7636                             | 0.7591    | 1.1060    | 1.4580    | 0.1054    | 0.0378          | 0.0469              | 0.0901          |                     |        |
|              | 短截 Cutting back | 0.8266          | 1.3088                             | 1.8159    | 2.0035    | 1.9587    | 0.0152    | 0.0541          | 0.0868              | 0.0566          |                     |        |
| 33           | 对照 Control      | 0.2273          | 0.2102                             | 0.3798    | 0.5143    | 0.7896    | 0.0245    | 0.0518          | 0.0537              | 0.0142          |                     |        |
|              | 短截 Cutting back | 0.0566          | 0.5264                             | 0.9155    | 1.1512    | 1.7525    | 0.0515    | 0.0326          | 0.0793              | 0.0206          |                     |        |
| <i>VvFUL</i> | 2               | 对照 Control      | 1.0000                             | 0.9875    | 1.0892    | 1.1072    | 1.1459    | 1.3143          | 1.6790              | 6.2486          | 1.8116              |        |
|              |                 | 短截 Cutting back | 1.5242                             | 1.3011    | 1.6946    | 2.3500    | 2.9783    | 3.0142          | 6.3683              | 5.8954          | 7.7391              |        |
|              | 5               | 对照 Control      | 0.9130                             | 0.6092    | 1.8513    | 1.0416    | 2.7959    | 3.0839          | 3.1059              | 2.7376          | 3.4852              |        |
|              |                 | 短截 Cutting back | 1.1091                             | 2.4311    | 1.8389    | 9.1565    | 8.9268    | 6.6023          | 7.1745              | 8.8503          | 9.4499              |        |
|              | 8               | 对照 Control      | 1.2530                             | 1.6227    | 1.5051    | 1.6201    | 2.8964    | 2.9087          | 5.2150              | 3.2906          | 6.0076              |        |
|              |                 | 短截 Cutting back | 1.0084                             | 3.0912    | 2.6960    | 10.8377   | 13.9277   | 12.6420         | 15.6213             | 13.8252         | 19.3369             |        |
|              | 11              | 对照 Control      | 1.2529                             | 0.5919    | 1.2804    | 1.0702    | 2.2739    | 2.3270          | 8.8524              | 2.4344          | 12.7152             |        |
|              |                 | 短截 Cutting back | 2.2501                             | 3.8972    | 3.1035    | 9.7736    | 11.3205   | 12.5236         | 14.4278             | 13.2854         | 17.3139             |        |
|              | 15              | 对照 Control      | 0.8005                             | 3.1333    | 0.4245    | 1.1751    | 1.9685    | 2.8009          | 6.9206              | 2.8027          | 7.8592              |        |
|              |                 | 短截 Cutting back | 1.9871                             | 1.3987    | 0.9815    | 2.6632    | 3.7590    | 4.7979          | 11.9071             | 7.8705          | 13.0430             |        |
|              | 22              | 对照 Control      | 0.5732                             | 0.8484    | 1.0338    | 0.7800    | 0.9643    | 1.0415          | 1.1070              | 2.3233          | 4.8712              |        |
|              |                 | 短截 Cutting back | 1.6069                             | 2.1359    | 2.3300    | 3.1722    | 4.0328    | 4.3771          | 3.6676              | 15.2923         | 10.5735             |        |
|              | 28              | 对照 Control      | 0.7253                             | 0.4468    | 1.2890    | 1.5343    | 1.7239    | 3.0697          | 0.6307              | 3.2203          | 5.0417              |        |
|              |                 | 短截 Cutting back | 0.9485                             | 1.7425    | 2.2290    | 1.9503    | 3.4590    | 9.8383          | 3.2280              | 15.4763         | 8.8315              |        |
|              | 33              | 对照 Control      | 0.5184                             | 0.9858    | 0.7691    | 1.0391    | 1.1375    | 1.6724          | 1.5798              | 1.7992          | 1.7387              |        |
|              |                 | 短截 Cutting back | 1.0401                             | 1.4510    | 1.1907    | 1.2312    | 1.7460    | 2.2985          | 7.0471              | 2.8042          | 9.0672              |        |
|              | <i>VvAG</i>     | 2               | 对照 Control                         | 1.0000    | 1.3002    | 0.3248    | 0.1423    | 0.5241          | 1.1241              | 0.3286          | 0.7821              | 0.2126 |
|              |                 |                 | 短截 Cutting back                    | 1.3670    | 0.2567    | 0.4372    | 1.9238    | 4.4437          | 2.7158              | 2.4285          | 5.9341              | 0.2963 |
|              |                 | 5               | 对照 Control                         | 0.2506    | 0.6596    | 0.3957    | 0.0115    | 1.0303          | 2.1254              | 0.6376          | 1.6375              | 0.8794 |
|              |                 |                 | 短截 Cutting back                    | 0.4318    | 0.7827    | 0.8674    | 0.2691    | 13.3992         | 15.9253             | 6.5745          | 12.5759             | 3.3421 |
|              |                 | 8               | 对照 Control                         | 0.9336    | 1.0063    | 0.5492    | 2.8483    | 5.5339          | 5.3559              | 4.3853          | 3.2209              | 0.9292 |
|              |                 |                 | 短截 Cutting back                    | 0.2711    | 0.6694    | 0.7540    | 0.4321    | 12.6243         | 13.7473             | 7.4107          | 14.7102             | 1.2752 |
|              |                 | 11              | 对照 Control                         | 0.2006    | 0.6690    | 0.2687    | 1.2249    | 2.2798          | 6.1579              | 2.9991          | 2.1550              | 0.1822 |
|              |                 |                 | 短截 Cutting back                    | 0.2470    | 1.2990    | 0.2324    | 3.0527    | 17.1604         | 15.0481             | 2.6190          | 13.2214             | 2.2494 |
| 15           |                 | 对照 Control      | 0.1190                             | 0.6800    | 1.3342    | 1.4757    | 9.8829    | 5.7636          | 0.3178              | 1.3347          | 0.4037              |        |
|              |                 | 短截 Cutting back | 0.3297                             | 1.0109    | 1.3814    | 0.3844    | 9.8942    | 12.3703         | 2.6420              | 6.2321          | 2.6545              |        |

续表 2

| 基因<br>Gene | 节位<br>Node      | 处理<br>Treatment | 取样时间与部位<br>Sampling time and parts |              |              |              |              |               |               |               |               |
|------------|-----------------|-----------------|------------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|            |                 |                 | 01 - 27<br>芽                       | 02 - 14<br>芽 | 03 - 08<br>芽 | 03 - 26<br>芽 | 04 - 09<br>芽 | 04 - 28<br>茎尖 | 04 - 28<br>花序 | 05 - 11<br>茎尖 | 05 - 11<br>花序 |
|            |                 |                 | Buds                               | Buds         | Buds         | Buds         | Buds         | Shoot tip     | Inflorescence | Shoot tip     | Inflorescence |
| VAP1       | 22              | 对照 Control      | 0.2219                             | 0.7324       | 0.3345       | 4.4373       | 2.0950       | 0.9094        | 0.7524        | 1.3589        | 0.0055        |
|            |                 | 短截 Cutting back | 0.8539                             | 2.5053       | 0.2622       | 2.9781       | 11.8144      | 9.7591        | 1.7393        | 8.3573        | 2.4693        |
|            | 28              | 对照 Control      | 0.1683                             | 2.6209       | 1.1115       | 1.7444       | 2.2199       | 0.5730        | 0.0899        | 1.2309        | 0.1807        |
|            |                 | 短截 Cutting back | 1.1941                             | 1.1378       | 0.4258       | 1.3762       | 8.9710       | 6.4189        | 1.1231        | 6.1284        | 0.4110        |
|            | 33              | 对照 Control      | 0.1145                             | 0.0597       | 0.2690       | 3.1778       | 2.2677       | 2.9893        | 0.7585        | 0.4410        | 0.2773        |
|            |                 | 短截 Cutting back | 0.1580                             | 0.1062       | 0.0063       | 0.6850       | 0.8386       | 3.1985        | 1.3759        | 0.4500        | 0.2263        |
|            | 2               | 对照 Control      | 1.0000                             | 1.0147       | 0.6636       | 0.7029       | 0.3388       | 0.7960        | 1.3206        | 2.5499        | 3.0900        |
|            |                 | 短截 Cutting back | 0.5826                             | 0.9876       | 0.8497       | 1.1407       | 1.5393       | 1.5043        | 2.9103        | 2.2336        | 3.0613        |
|            | 5               | 对照 Control      | 0.5008                             | 0.3453       | 0.7786       | 0.8762       | 1.9231       | 1.8610        | 1.9590        | 2.3238        | 2.8510        |
|            |                 | 短截 Cutting back | 0.6099                             | 0.8654       | 0.9487       | 4.1311       | 7.5413       | 7.4792        | 13.8532       | 12.1007       | 13.7719       |
|            | 8               | 对照 Control      | 0.4257                             | 1.0039       | 0.4709       | 1.1060       | 2.7075       | 3.3853        | 2.9479        | 1.7422        | 5.8310        |
|            |                 | 短截 Cutting back | 0.7570                             | 0.9336       | 0.4259       | 6.2115       | 11.3164      | 10.6097       | 17.9392       | 16.5705       | 17.3141       |
| 11         | 对照 Control      | 0.5699          | 0.6769                             | 0.6445       | 1.5599       | 2.8373       | 2.3953       | 4.1737        | 4.7984        | 8.9692        |               |
|            | 短截 Cutting back | 0.3102          | 1.2333                             | 1.3658       | 3.1549       | 4.4621       | 3.5823       | 9.6386        | 9.9431        | 16.2852       |               |
| 15         | 对照 Control      | 0.4479          | 0.1277                             | 0.5856       | 0.7585       | 2.8879       | 2.7488       | 3.2951        | 4.8013        | 9.7183        |               |
|            | 短截 Cutting back | 0.6875          | 0.2978                             | 0.3830       | 0.1067       | 2.2457       | 4.8390       | 16.1465       | 7.3382        | 19.7548       |               |
| 22         | 对照 Control      | 0.7842          | 0.9876                             | 0.5667       | 0.5143       | 0.4505       | 0.6837       | 1.6816        | 6.1057        | 4.5318        |               |
|            | 短截 Cutting back | 0.9749          | 1.0894                             | 0.4328       | 1.1135       | 1.3682       | 3.5455       | 7.4038        | 7.7593        | 9.5694        |               |
| 28         | 对照 Control      | 0.5699          | 0.9718                             | 0.1726       | 0.3660       | 1.3435       | 1.3747       | 1.9409        | 3.2184        | 2.0109        |               |
|            | 短截 Cutting back | 0.7586          | 0.7569                             | 0.2090       | 0.6240       | 1.4667       | 1.7986       | 2.3384        | 2.6266        | 4.0286        |               |
| 33         | 对照 Control      | 0.6361          | 0.7018                             | 0.3687       | 1.1829       | 0.6654       | 0.1016       | 1.3499        | 3.4716        | 2.1710        |               |
|            | 短截 Cutting back | 0.3963          | 0.2037                             | 0.4860       | 0.7813       | 1.2365       | 1.6686       | 1.9625        | 3.7663        | 2.7585        |               |
| VvAP2      | 2               | 对照 Control      | 1.0000                             | 0.4173       | 0.1885       | 0.1406       | 0.6986       | 2.7664        | 1.9857        | 7.3247        | 3.5275        |
|            |                 | 短截 Cutting back | 1.3246                             | 7.7554       | 4.2494       | 8.4420       | 9.3257       | 11.2248       | 13.9038       | 13.9257       | 17.4205       |
| 5          | 对照 Control      | 1.4516          | 1.1175                             | 0.7535       | 1.7186       | 5.6586       | 7.4532       | 6.5855        | 10.4379       | 16.7648       |               |
|            | 短截 Cutting back | 1.2306          | 9.5889                             | 1.5256       | 17.3259      | 20.6779      | 21.4976      | 23.9187       | 22.4629       | 27.5047       |               |
| 8          | 对照 Control      | 0.7543          | 0.0329                             | 0.8408       | 0.9221       | 4.5897       | 5.2582       | 8.9042        | 7.1891        | 20.7597       |               |
|            | 短截 Cutting back | 0.4426          | 6.3539                             | 5.1481       | 16.8112      | 17.3256      | 16.8055      | 24.0579       | 27.1641       | 33.6060       |               |
| 11         | 对照 Control      | 0.4543          | 0.9957                             | 0.3504       | 1.4752       | 5.8597       | 3.5182       | 5.4947        | 13.3949       | 15.6713       |               |
|            | 短截 Cutting back | 0.8685          | 2.9794                             | 7.6842       | 11.2522      | 12.8570      | 23.6925      | 29.1818       | 24.0844       | 31.9248       |               |
| 15         | 对照 Control      | 0.8532          | 1.1524                             | 1.1705       | 1.3211       | 3.0124       | 3.8308       | 6.1650        | 12.5575       | 19.9696       |               |
|            | 短截 Cutting back | 0.0376          | 2.0422                             | 3.2568       | 7.4994       | 10.4524      | 14.9967      | 21.3561       | 18.0530       | 16.6900       |               |
| 22         | 对照 Control      | 0.5506          | 0.1609                             | 0.6372       | 1.8682       | 1.9824       | 4.5255       | 7.7936        | 6.6877        | 18.6232       |               |
|            | 短截 Cutting back | 2.0210          | 1.6704                             | 5.0376       | 5.1998       | 9.7240       | 11.2136      | 9.1579        | 16.7695       | 16.7862       |               |
| 28         | 对照 Control      | 0.1700          | 0.4931                             | 0.6246       | 2.8881       | 1.2759       | 0.8410       | 2.6795        | 14.3097       | 13.0404       |               |
|            | 短截 Cutting back | 1.2937          | 1.0470                             | 1.4073       | 2.1637       | 3.4326       | 7.8328       | 12.7334       | 10.9667       | 3.8046        |               |
| 33         | 对照 Control      | 0.2706          | 0.8668                             | 0.9500       | 1.0613       | 1.3359       | 1.2413       | 2.1972        | 5.6410        | 4.9586        |               |
|            | 短截 Cutting back | 0.3008          | 0.7127                             | 0.7126       | 1.2409       | 1.9758       | 2.0762       | 4.8919        | 8.8802        | 7.2690        |               |
| VvAP3      | 2               | 对照 Control      | 1.0000                             | 0.2274       | 0.4455       | 0.9552       | 0.9686       | 1.0510        | 1.2358        | 2.6535        | 3.3673        |
|            |                 | 短截 Cutting back | 0.2494                             | 0.3832       | 0.2116       | 0.8314       | 3.7857       | 5.5265        | 9.3063        | 10.3974       | 11.5457       |
| 5          | 对照 Control      | 0.2478          | 0.3181                             | 0.5136       | 1.0205       | 1.7366       | 2.3685       | 2.0385        | 2.2283        | 4.9926        |               |
|            | 短截 Cutting back | 0.7854          | 0.4195                             | 0.6044       | 0.4865       | 13.2036      | 14.9327      | 12.9112       | 15.5472       | 18.8278       |               |
| 8          | 对照 Control      | 0.1034          | 0.3441                             | 0.6821       | 0.9015       | 3.4527       | 3.4355       | 4.3545        | 4.7001        | 5.4159        |               |
|            | 短截 Cutting back | 0.4563          | 0.8900                             | 0.9919       | 1.6821       | 16.3857      | 19.4626      | 21.7770       | 21.7422       | 23.8013       |               |
| 11         | 对照 Control      | 0.6885          | 0.2097                             | 0.9176       | 1.2569       | 2.7585       | 3.4984       | 5.3042        | 2.1896        | 4.8826        |               |
|            | 短截 Cutting back | 0.9038          | 0.5157                             | 0.8673       | 1.0086       | 11.3897      | 22.0811      | 23.0130       | 21.7424       | 26.6605       |               |
| 15         | 对照 Control      | 0.7847          | 0.7956                             | 1.0206       | 1.4123       | 1.6328       | 1.7156       | 2.0272        | 2.4540        | 5.9413        |               |
|            | 短截 Cutting back | 0.8002          | 0.7887                             | 0.7165       | 2.6938       | 9.6857       | 16.6468      | 17.9601       | 14.6465       | 22.6387       |               |
| 22         | 对照 Control      | 0.3240          | 0.3319                             | 1.1024       | 1.0622       | 1.7896       | 2.7511       | 3.2594        | 4.0532        | 4.3362        |               |
|            | 短截 Cutting back | 0.7457          | 0.6509                             | 1.4277       | 1.7793       | 2.3586       | 7.5687       | 14.9091       | 14.7614       | 21.4325       |               |
| 28         | 对照 Control      | 0.3148          | 1.3613                             | 0.6853       | 0.9544       | 1.2379       | 3.2586       | 2.0296        | 2.8060        | 1.5910        |               |
|            | 短截 Cutting back | 0.7557          | 0.6961                             | 0.7724       | 1.2986       | 2.0388       | 11.8799      | 13.8988       | 16.6830       | 13.7385       |               |
| 33         | 对照 Control      | 0.3655          | 0.7863                             | 0.9074       | 1.0168       | 1.6239       | 1.1717       | 2.6284        | 1.8127        | 1.5169        |               |
|            | 短截 Cutting back | 0.4951          | 0.7784                             | 0.7379       | 0.6239       | 1.3204       | 6.1491       | 4.8187        | 7.7387        | 9.8925        |               |



## 2.4 ‘藤稔’葡萄不同节位花芽基因表达水平的变化趋势

不同节位冬芽的基因表达水平存在一定的差异, 处理与对照的同一枝蔓上中部芽(5~22节)的基因表达水平要高于其上部(22节以上)和下部(5节以下)节位的芽。可能正是由于不同节位间花芽生长发育时间的不同与基因表达水平的不同, 促进了葡萄芽的异质性。不同节位上花芽的基因高水平表达持续时间也有所不同。如, 本试验中第8、11、15节位上的冬芽 *VvFLC* 基因相对高水平表达仅持续了 51 d (从3月8日到4月28日), 说明中部的芽进入休眠前发育时间较长, 但处于活跃分化状态时间短。又如, 第28节位上的冬芽 *VvFLC* 基因相对高水平表达持续了 92 d (从1月27日到4月28日), 说明上部的芽进入休眠前发育时间短, 但处于活跃分化状态时间长。值得注意的是, ‘藤稔’葡萄中低节位的芽, 在冬季休眠期也有相对中部芽较高或相近的基因表达水平, 这说明低节位芽是否比中部芽分化开始时间晚, 尚有待进一步研究。

此外, 不同节位基因表达高峰期也存在先后差异。以对照为例, 在 *VvAPI*、*VvAP2*、*VvAP3* 以及 *VvAPI* 的旁系同源基因 *VvFUL* 中, 第5、8节位上花芽基因相对表达量开始进入高峰期早于其上部及下部的花芽, 由于这些器官特异性基因与花发育密切相关, 在开花期后, 各节位上的基因都能持续较高水平表达。在其他基因中, 上、中、下部各芽高峰期间的差异也大致如此。基本上, 除个别节位上基因信号强, 能够维持较长时间的表达高峰外, 大多数基因表达高峰期早的花芽, 其基因相对表达量降低的速率也快, 这说明虽然下部和上部节位花芽的高峰期较晚, 但在高峰期之后还能继续分化, 分化效率高, 最终与中部节位的芽一起成花。此外, 在这段时期内, 上、中、下各部分芽在发育速度、分化快慢上可能存在差异。而春季的成花也说明了冬季为这些先后发育的花芽提供了最终的分化平台, 使不同节位芽发育分化状态达到一致, 以适应来年生长的季节。因此, 冬季可能是一个使不同节位间芽的生长发育状态趋于一致的关键时期。

## 3 讨论

开花是一个复杂的形态建成过程, 是外界环境和内部因子共同协调作用的结果 (Blázquez, 2000)。花芽分化同样是葡萄产量形成的生理基础。葡萄的成花过程复杂而又缓慢, 受基因型、环境和栽培管理等的相互影响, 并发生各种形态学、细胞学和生理生化的变化 (王晨等, 2011)。葡萄不同节位冬芽的发育都需要充足的营养物质以及良好的外界环境条件。尽管不同节位冬芽发育时间的长短有明显不同, 但这并不影响很多欧亚葡萄品种不同节位冬芽的花发育, 并且在来年出现基本一致的花期。这说明它们经历了快慢不同或强度不同的分化与发育过程。

休眠期是葡萄花芽分化的一个重要阶段, 为认识葡萄深休眠期和休眠后期的花芽发育情况, 本试验针对处于内休眠和生态休眠的冬芽进行研究。经过短截处理后的葡萄各组织的基因相对表达水平要高于对照组, 但二者之间的表达量变化趋势基本一致。由于这些基因的表达与花发育直接相关 (Coen et al., 1990; Irish & Sussex, 1990; Bowman et al., 1992; Weigel et al., 1992; Kardailsky et al., 1999), 因此可以看作是花发育的标记基因。例如, 短截处理从休眠后期开始到开花期, *VvFUL*、*VvAPI*、*VvAP2* 和 *VvAP3* 基因各节位变化趋势呈逐渐上升状态, *VvSOC1* 和 *VvFLC* 基因各节位变化趋势呈逐渐升高再降低的趋势。从花发育调控网络中 (Kaufmann et al., 2005) 也可以看出这几个重要基因的相对表达量的变化趋势与已有的研究报道 (杨光等, 2010) 符合。*FT* 是开花促进基因, 但本试验中发现 *VvFT* 在茎尖和花序形成后其表达明显下降。此外, *VvAG* 作为参与花器官形成的重要基因之一在花序形成后期表达含量有所下降, 这说明 *VvAG* 在花序中的低水平表达可能是受下调基因 *VvAP2* 影响的结果 (Drews et al., 1991; 杨光等, 2010)。在萌芽期之后, 冬芽萌发形成新

梢,故以茎尖和花序为取样对象,结果发现不同基因在茎尖与花序的相对表达量不同。如 *VvFLC* 和 *VvFT* 在花序和茎尖中的相对表达量都较低,且差异不大;几个花器官相关基因 *VvAPI*、*VvAP2* 和 *VvAP3* 等在花序和茎尖中的相对表达量都很高,而且花序中要略高于茎尖;*VvAG* 在茎尖与花序间的相对表达量差异较大,茎尖中比花序中高得多,这说明 *VvAG* 具有明显的时空性。

就葡萄同一枝蔓不同节位芽分化情况来看,中部花芽比下部和上部发育好,分化时间最长,发育的时间最早,芽发育质量好,但上部和下部的芽也都能完成花芽分化。而从各节位基因的表达情况来看,第 5 节、第 8 节位上花芽各个基因表达高峰期相对较早,而其高峰持续的时间也较短,降低的比率相对较大,而第 2 节位及上部节位花芽各个基因表达高峰期相对较晚,但持续时间较长,且相对表达量变化较小。这说明中部节位的芽基因的表达水平高,但高水平表达持续时间短,分化时间长,分化速度慢;下部和上部节位的芽虽然基因表达水平低,但能维持相对较长时间的高水平表达,分化时间短,分化速度快。因此,各节位上的芽能够同时成花,开花时间差异不大。此外,通过短截处理与对照的比较,也说明了中部的芽成花能力更强,同时期抽生花序更大,但处理更有利于葡萄花芽的成花。冬季短截能够减少营养竞争,对于葡萄成花十分有帮助,在促成栽培中可以适当采用短截抹去下部芽的方式得到更高质量的花。

## References

- Abe M, Kobayashi Y, Yamamoto S, Daimon Y, Yamaguchi A, Ikeda Y, Ichinoki H, Notaguchi M, Goto K, Araki T. 2005. FD, a bZIP protein mediating signals from the floral pathway integrator *FT* at the shoot apex. *Science*, 309: 1052 - 1056.
- Blázquez M A. 2000. Flower development pathways. *Cell Science at a Glance*, 113: 3547 - 3548.
- Bowman J L, Sakai H, Jack T, Weigel D, Mayer U, Meyerowitz E M. 1992. Superman, a regulator of floral homeotic genes in *Arabidopsis*. *Development*, 114 (3): 599 - 615.
- Calonje M, Cubas P, Martínez-Zapater J M, Carmona M J. 2004. Floral meristem identity genes are expressed during tendrils development in grapevine. *Plant Physiol*, 135: 1491 - 1501.
- Cao Xue, Yang Guang, Wang Chen, Fang Jing-gui. 2011. Study on floral differentiation and fruiting of buds at different branch nodes of grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Fujiminori). *Sino-overseas Grapevine & Wine*, (1): 24 - 26. (in Chinese)
- 曹雪, 杨光, 王晨, 房经贵. 2011. 藤稔葡萄不同节位芽的发育及结果能力分析. *中外葡萄与葡萄酒*, (1): 24 - 26.
- Carmona M J, Chaib J, Martínez-Zapater J M, Thomas R. 2008. A molecular genetic perspective of reproductive development in grapevine. *Journal of Experimental Botany*, 59 (10): 2579 - 2596.
- Chang S, Puryear J, Cairney J. 1993. A simple and efficient method for isolating RNA from pine trees. *Plant Molecular Biology Reporter*, 11: 113 - 116.
- Coen E S, Romero J M, Doyle S, Elliott R, Murphy G, Carpenter R. 1990. *Floricaula*: A homeotic gene required for flower development in *Antirrhinum majus*. *Cell*, 63 (6): 1311 - 1322.
- Drews G N, Bowman J L, Meyerowitz E M. 1991. Negative regulation of the *Arabidopsis* homeotic genes *AGAMOUS* by the *APETALA2* product. *Cell*, 65 (6): 991 - 1002.
- Fang Yu-lin, Li Hua, Song Jian-wei, Tao Yong-sheng. 2005. Advance in regulating methods of grape fruit maturity. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 14 (3): 98 - 101. (in Chinese)
- 房玉林, 李华, 宋建伟, 陶永胜. 2005. 葡萄产期调节的研究进展. *西北农业学报*, 14 (3): 98 - 101.
- Flanagan C A, Ma H. 1994. Spatially and temporally regulated expression of the MADS-box gene *AGL2* in wild-type and mutant *Arabidopsis* flowers. *Plant Molecular Biology*, 26: 581 - 595.
- Huang T, Bohnelius H, Eriksson S, Parcy F, Nilsson O. 2005. The mRNA of the *Arabidopsis* gene *FT* moves from leaf to shoot apex and induces flowering. *Science*, 309: 1694 - 1696.
- Irish V F, Sussex I M. 1990. Function of the *Apetala-1* gene during *Arabidopsis* floral development. *Plant Cell*, 2 (8): 741 - 753.
- Jiang Wei-bing, Han Hao-zhang, Fei Xian-jin, Cao Jing, Li Gang. 2007. Effects of calcium cyanamide and salicylic acid on dormancy-release of

- grape bud. *Acta Horticulturae Sinica*, 34 (2): 317 - 324. (in Chinese)
- 姜卫兵, 韩浩章, 费宪进, 曹 晶, 李 刚. 2007. 石灰氮和水杨酸对破除葡萄芽休眠的影响. *园艺学报*, 34 (2): 317 - 324.
- Kardailsky I, Shukla V K, Ahn J H, Daquenais N, Christensen S K, Nquyen J T, Chory J, Harrison M J, Weigel D. 1999. Activation tagging of the floral inducer FT. *Science*, 286: 1962 - 1965.
- Kaufmann K, Melzer R, Theigen G. 2005. MIKC-type MADS-domain proteins: structural modularity, protein interactions and network evolution in land plants. *Gene*, 347 (2): 183 - 198.
- Ramakers C, Ruijter J M, Lekane Deprez R H, Moorman A F M. 2003. Assumption-free analysis of quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) data. *Neuroscience Letters*, 339: 62 - 66.
- Shuai Xiao-rong, Xia Qing-you, Zhu Yong. 2002. The research status and application survey on quantitative PCR technique. *Newsletter of Sericultural Science*, 22 (4): 20 - 28. (in Chinese)
- 帅小蓉, 夏庆友, 朱 勇. 2002. 定量 PCR 技术的研究现状及应用概述. *蚕学通报*, 22 (4): 20 - 28.
- Sreekantan L, Mathiason K, Grimplet J, Schlauch K, Dickerson J A, Fennell A Y. 2010. Differential floral development and gene expression in grapevines during long and short photoperiods suggests a role for floral genes in dormancy transitioning. *Plant Molecular Biology*, 73: 191 - 205.
- Sreekantan L, Thomas M R. 2006. *VvFT* and *VvMADS8*, the grapevine homologues of the floral integrators *FT* and *SOC1*, have unique expression patterns in grapevine and hasten flowering in *Arabidopsis*. *Functional Plant Biology*, 33: 1129 - 1139.
- Tao Bang, Jia Ke-gong. 2001. Effect of summer pinching on grape flower bud differentiation. *Yunnan Agricultural Science and Technology*, (2): 17 - 19. (in Chinese)
- 陶 磅, 贾克功. 2001. 夏季摘心对葡萄花芽分化的影响. *云南农业科技*, (2): 17 - 19.
- Wang Chen, Liu Hong, Fang Jing-gui, Song Chang-nian, Cao Xue, Yang Guang, Zhang Zhen. 2010. Cloning and expression analysis of *APETALA2* gene from grapevine (*Vitis vinifera*) based on EST database. *Journal of Fruit Science*, 27 (2): 207 - 212. (in Chinese)
- 王 晨, 刘 洪, 房经贵, 宋长年, 曹 雪, 杨 光, 章 镇. 2010. 基于 EST 数据库的葡萄 *APETALA2* 基因 cDNA 克隆及其表达分析. *果树学报*, 27 (2): 207 - 212.
- Wang Chen, Sun Xin, Fang Jing-gui, Leng Xiang-peng, Li Xiao-ying, Mu Qian. 2011. Spatiotemporal expression of five microRNAs and their target genes during flower development of treated winter buds of grapevine in growing season. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 31 (12): 2429 - 2436. (in Chinese)
- 王 晨, 孙 欣, 房经贵, 冷祥鹏, 李晓颖, 慕 茜. 2011. 5 个葡萄 microRNA 及其靶基因在冬芽二次成花过程中的表达. *西北植物学报*, 31 (12): 2429 - 2436.
- Wang Yu-juan, Tan Hong-hua, Wang Hai-bo, Yang Guang, Cao Xue, Fang Jing-gui. 2010. Characterization of RAPD fingerprints of grapevine generated by two different electrophoreses and their utilization in identification of grapevine varieties. *Sino-Overseas Grapevine & Wine*, (9): 4 - 12. (in Chinese)
- 王玉娟, 谭洪花, 王海波, 杨 光, 曹 雪, 房经贵. 2010. 葡萄 RAPD 不同电泳指纹特点及其用于葡萄品种鉴定的评价. *中外葡萄与葡萄酒*, (9): 4 - 12.
- Weigel D, Alvarez J, Smyth D R, Yanofsky M F, Meyerowitz E M. 1992. *LEAFY* controls floral meristem identity in *Arabidopsis*. *Cell*, 69 (5): 843 - 859.
- Yang Guang, Yue Lin-xu, Wang Chen, Tan Hong-hua, Cao Xue, Fang Jing-gui. 2010. Expression of nine important floral genes during flower differentiation and development of the summer buds of grapevine cv. Fujiminori. *Journal of Fruit Science*, 27 (6): 898 - 903. (in Chinese)
- 杨 光, 岳林旭, 王 晨, 谭红花, 曹 雪, 房经贵. 2010. 葡萄 9 个重要花发育相关基因在‘藤稔’夏芽成花过程中的表达分析. *果树学报*, 27 (6): 898 - 903.
- Yang Guang, Cao Xue, Fang Jing-gui, Huang Zhen-xi, Tao Jian-min, Wang Chen. 2011. Sub-cellular localization and expression analysis of genes involved in grapevine floral development. *Scientia Agricultura Sinica*, 44 (3): 641 - 650. (in Chinese)
- 杨 光, 曹 雪, 房经贵, 黄振喜, 陶建敏, 王 晨. 2011. 葡萄花发育基因的亚细胞定位和表达分析. *中国农业科学*, 44 (3): 641 - 650.
- Zhang Yan-ping, Wang Chen, Yu Hua-ping, Cai Bin-hua, Fang Jing-gui. 2010. Screening of RNA extraction methods for various grapevine organs and tissues. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 19 (11): 135 - 140. (in Chinese)
- 张彦苹, 王 晨, 于华平, 蔡斌华, 房经贵. 2010. 适于葡萄不同组织 RNA 提取方法的筛选. *西北农业学报*, 19 (11): 135 - 140.