

油桃芽高温处理后酚和活性氧与休眠解除的关系

王海波^{1,2,3} 王孝娣² 高东升^{1*} 李 疆³

(¹山东农业大学园艺科学与工程学院, 山东泰安 271018; ²中国农业科学院果树研究所, 辽宁兴城 125100; ³新疆农业大学园艺学院, 新疆乌鲁木齐 830052)

摘 要: 以 6 年生曙光油桃/青州冬雪蜜桃为试材, 研究 40、45、50 高温短时间处理对油桃芽总酚含量、活性氧含量及相关酶活性和自然休眠解除的影响。结果表明: 40 高温处理对油桃芽自然休眠的解除具有负调控效应 (11 月 30 日) 或效应不明显 (12 月 10 日), 其萌芽级数、 $\cdot\text{OH}$ (羟基自由基) 和 O_2^- (超氧阴离子自由基) 产生速率、 H_2O_2 (过氧化氢) 含量及 POD (过氧化物酶)、CAT (过氧化氢酶)、PPO (多酚氧化酶) 活性均低于对照 (11 月 30 日) 或与对照无显著差异 (12 月 10 日), 而总酚含量和 PAL (苯丙氨酸解氨酶)、SOD (超氧化物歧化酶) 活性高于对照 (11 月 30 日) 或与对照差异不明显 (12 月 10 日); 45 和 50 高温处理对油桃芽自然休眠的解除呈正调控效应, 其萌芽级数、 $\cdot\text{OH}$ 和 O_2^- 产生速率、 H_2O_2 含量及 POD、CAT、PPO 活性与对照相比明显升高, 而总酚含量和 PAL、SOD 活性显著降低, 虽然部分花芽和叶芽因高温处理而死亡, 但是在存活芽中短时间高温对油桃芽自然休眠解除的促进作用明显增强。总酚含量的降低和活性氧的迅速增加可能是高温解除自然休眠的原因。

关键词: 油桃; 芽; 高温; 自然休眠; 酚类物质; 活性氧代谢

中图分类号: S 662.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2006) 05-0963-06

Relationships of Total Phenolics, Reactive Oxygen Species and Dormancy Release in Nectarine Bud Treated by Heating

Wang Haibo^{1,2,3}, Wang Xiaodi², Gao Dongsheng^{1*}, and Li Jiang³

(¹College of Horticultural Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Taian, Shandong 271018, China;

²Fruit Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Science, Xingcheng, Liaoning 125100, China; ³College of Horticulture, Xinjiang Agricultural University, Umuqi, Xinjiang 830052, China)

Abstract: Effects of short-term heating at 40, 45 and 50 on bud livability, bud burst, the content of reactive oxygen and total phenolics, and the activity of related enzyme in 'Shuguang' nectarine bud were studied in order to investigate the mechanism of short-term heating releasing the endodormancy. The results indicated that effects of short-term heating on the endodormancy were different with date, temperature and continuous time of treatment. On November 30, compared with no-heating treatment (control), the date of endodormancy release was postponed, the bud burst series and the rate of production in O_2^- and $\cdot\text{OH}$, the content of H_2O_2 and the activity of CAT, POD, PPO enzyme were lower, and the content of total phenolics and the activity of PAL, SOD enzyme were higher on 40 °C-heating treatment. Whereas, 45 and 50 °C-heating treatment had the contrary effects. On December 10, 40 °C-heating treatment nearly had the same results as control on the above factors, and the effects of 45 and 50 °C-heating treatment on endodormancy release were the same as the treatment on 30 November, and the effect of the former was superior to the latter. The decrease of the total phenolics content and the significant increase of reactive oxygen content and production rate were probably the cause of endodormancy release.

Key words: Nectarine; Bud; Heating; Endodormancy; Total phenolics; Reactive oxygen species

落叶果树进入自然休眠后, 需要一定低温量才能解除自然休眠, 而后才能正常萌芽开花, 否则即使给予适宜的环境条件, 也不萌芽开花, 或萌芽不整齐, 生长结果不良^[1]。因此落叶果树芽自然休

收稿日期: 2006-01-18; 修回日期: 2006-09-19

基金项目: 国家 '863 计划' 项目 (2001AA247041)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: dsqao@sdau.edu.cn)

眠的解除成为保护地促成栽培限制扣棚升温时间的关键因素。在过去 30 多年里, 对休眠解除措施的研究主要集中在化学破眠剂方面, 但化学破眠剂如硫脲等不符合无公害生产的要求, 生产中急需无公害破眠技术, 而物理破眠措施正适应了这一要求。本试验旨在通过分析短时间高温处理后油桃休眠芽中酚类物质和活性氧含量及其相关酶活性的变化规律, 明确酚类物质和活性氧代谢与高温破眠的关系, 探讨高温破眠的相关机制, 为人工物理破眠技术的应用提供理论依据。

1 材料与方法

以 6 年生曙光油桃 (*Prunus persica* var *nectarina*) 青州冬雪蜜桃 [*P. persica* (L.) Batsch] 为试材, 于 2004 年 11 月 30 日 (此时低温累积量约是曙光油桃需冷量的 2/3) 和 12 月 10 日 (此时低温累积量约是曙光油桃需冷量的 3/4) 随机采集树冠外围生长健壮的 1 年生枝条。枝条采回用清水冲洗干净后立即插在清水中用人工光照培养箱分别进行 40、45 和 50 °C 高温处理, 每一高温设置 0.5、1.5、2.5、3.5 h 的时间梯度, 3 次重复, 以未经高温处理的为对照。高温处理后的枝条放在光照培养箱中进行清水培养, 每处理 3 个重复, 每一重复 10 条枝条。培养条件为: 温度 25 °C; 光照强度 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 12 h $\cdot \text{d}^{-1}$; 空气湿度 80% 左右。在光照培养箱中培养 72 h 后测定存活芽中酚类物质^[2,3]和活性氧含量^[4-6]及其相关酶活性, 25 d 后调查芽存活率 (存活芽数/总芽数)。存活芽标准: 萌发芽和生长点未变褐芽。同时调查萌芽状况, 计算存活芽的萌芽级数^[7]。

苯丙氨酸解氨酶 (PAL)、多酚氧化酶 (PPO)、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性分别参照文献 [8~10] 的方法测定。过氧化物酶 (POD) 的测定: 每处理 3 次重复, 每重复称取新鲜花芽和叶芽各 0.5 g 分别放入预冷的研钵中, 加 4 mL 0.05 mol $\cdot \text{L}^{-1}$ pH 7.8 磷酸缓冲液冰浴研磨成匀浆, 倒入离心管中, 低温 (0~4 °C, 10 000 r $\cdot \text{min}^{-1}$) 离心 10 min, 吸取 50 μL 上清液加入比色杯中, 加 2.95 mL 反应液 (0.1 mol $\cdot \text{L}^{-1}$ pH 6.0 的磷酸缓冲液 50 mL, 加入 28 μL 愈创木酚, 和 19 μL 30% H_2O_2), 立即于 470 nm 下比色测定, 以每 g 鲜样光密度每 min 增加 0.01 为一个酶活单位; 过氧化氢酶 (CAT) 的测定: 取样和提取同 POD 的测定, 取 100 μL 上清液加入比色杯中, 然后加 2.9 mL 反应液 (0.1 mol $\cdot \text{L}^{-1}$ pH 7.0 的磷酸缓冲液 20 mL, 加入 5 mL 0.1 mol $\cdot \text{L}^{-1}$ H_2O_2), 立即于 240 nm 下比色测定, 酶活力以每 g 鲜样光密度每 min 增加 0.01 为一个酶活单位。

2 结果与分析

2.1 不同高温处理对芽存活率和萌芽级数的影响

从表 1 萌芽级数变化规律可以看出, 短时间高温处理对油桃芽自然休眠解除的效应因处理时期、

表 1 不同短时间高温处理对曙光油桃芽萌芽级数和存活率的影响

Table 1 Effects of short-term heating at 40, 45, 50 °C on bud-burst index and livability in 'Shuguang' nectarine bud

温度 Temperature (°C)	时间 Time (h)	萌芽级数 Bud burst series				存活率 Livability (%)			
		叶芽 Vegetative bud		花芽 Flower bud		叶芽 Vegetative bud		花芽 Flower bud	
		11 - 30	12 - 10	11 - 30	12 - 10	11 - 30	12 - 10	11 - 30	12 - 10
对照	Control	1.52AaCa	1.77AaBa	1.31Aac	1.59Aa	100.00	100.00	100.00	100.00
40	0.5	1.30Ab	1.90Aa	1.15Aab	1.70Aa	100.00	100.00	100.00	98.50
	1.5	1.12Ab	1.89Aa	0.91Ab	1.66Aa	98.70	100.00	100.00	100.00
	2.5	0.94B	1.89Aa	1.07Aab	1.63Aa	100.00	100.00	100.00	100.00
	3.5	1.13Ab	1.89Aa	1.00Aab	1.63Aa	100.00	100.00	98.90	100.00
45	0.5	1.74Cab	2.31BbCa	1.14Aab	2.07Ab	100.00	100.00	100.00	100.00
	1.5	1.85Cb	2.34BbCa	1.59Acd	2.16AbBa	100.00	97.60	100.00	100.00
	2.5	1.76Cab	2.60Cb	1.60Acd	2.40Bb	94.80	100.00	91.30	100.00
	3.5	2.15Cc	2.78CbDa	1.75Ad	2.51Bbc	93.10	94.82	83.60	91.30
50	0.5	2.00CdDa	2.65Cb	1.67Acd	2.47Bbc	100.00	100.00	100.00	100.00
	1.5	2.37DbEa	3.21DbEa	1.83Ad	2.70BcCa	100.00	96.90	97.30	100.00
	2.5	2.63Eb	3.51EbFa	2.27Ba	3.01CbDa	91.30	94.30	89.30	93.40
	3.5	3.16F	3.86Fb	2.50Bb	3.51Db	82.50	86.70	79.60	86.70

高温程度及处理持续时间的不同而异：40℃ 高温对休眠的解除呈负调控效应，并随处理持续时间的延长对休眠解除的抑制作用增强；而 45℃ 和 50℃ 高温对休眠的解除呈正调控效应，并随处理时期的推迟、处理温度的升高和处理持续时间的延长对休眠解除的促进作用增强。从芽存活率可以看出随着处理持续时间的延长和处理温度的升高，部分油桃芽因高温处理而死亡，但是存活芽的萌芽级数明显增大。

2.2 不同高温处理对总酚含量的影响

从表 2 可以看出，与萌芽级数变化趋势相反，与对照相比，40℃ 处理油桃芽中总酚含量升高，并随处理时间的延长，升高幅度进一步加大（11 月 30 日）；或差异不明显（12 月 10 日）。而 45℃ 和 50℃ 处理油桃芽中总酚含量降低，并且随处理温度的升高和处理时间的延长，降低幅度迅速加大。从油桃芽总酚含量和萌芽级数的相关性分析可以看出，酚类物质与高温破眠紧密相关。两者相关方程和相关系数如下，均达 1% 显著相关水平：（1）11 月 30 日高温处理：叶芽 $y = 0.6449x^2 - 3.3203x + 5.2198$, $r = 0.9517$, $n = 13$ ；花芽 $y = 0.8889x^2 - 5.2417x + 8.5924$, $r = 0.9727$, $n = 13$ 。（2）12 月 10 日高温处理：叶芽 $y = 0.9103x^2 - 3.642x + 5.4036$, $r = 0.9785$, $n = 13$ ；花芽 $y = 0.3318x^2 - 2.9318x + 6.6466$, $r = 0.985$, $n = 13$ 。

表 2 短时间高温处理对‘曙光’油桃芽总酚和 H_2O_2 含量的影响

Table 2 Effects of short-term heating at 40 , 45 , 50 on total phenolics and H_2O_2 content in ‘Shuguang’ nectarine bud

温度 Temperature (℃)	时间 Time (h)	总酚 Total phenolics($OD_{760} \cdot g^{-1} FM$)				H_2O_2 ($OD_{410} \cdot g^{-1} FM$)			
		叶芽 Vegetative bud		花芽 Flower bud		叶芽 Vegetative bud		花芽 Flower bud	
		11 - 30	12 - 10	11 - 30	12 - 10	11 - 30	12 - 10	11 - 30	12 - 10
对照 Control		1.77AaBa	1.60Aa	2.40Aa	2.24AaBa	1.73AaBa	1.86Aa	1.12AaBa	1.21Aa
40	0.5	1.80AaBa	1.58Aa	2.36Aabc	2.29AaBa	1.66Aab	1.86Aa	1.00AaBa	1.16Aa
	1.5	2.05Ab	1.70Aa	2.48Aab	2.30Aa	1.70Aab	1.94Aa	1.05AaBa	1.27Aa
	2.5	1.96Ab	1.62Aa	2.5Aab	2.33Aa	1.57Ab	1.96Aa	0.87Ab	1.10Aa
	3.5	2.10Ab	1.66Aa	2.60Ab	2.30Aa	1.56Ab	1.90Aa	0.85Ab	1.20Aa
45	0.5	1.64Bc	1.34AbBa	2.22Ac	2.12AbBa	2.11BbCa	2.49Ba	1.37BbCa	1.66Ba
	1.5	1.40BdCa	1.20Ba	2.07Bab	1.90BbCa	2.37CbDa	2.78BbCa	1.55CabDa	1.88Bb
	2.5	1.27Ca	1.01BbCa	2.00BabCa	1.81CbDa	2.48CdDa	2.78BbCa	1.63CbDa	1.92BbCa
	3.5	1.01CbDa	0.78CbDa	1.90BaCa	1.70CbDa	2.62DbEa	2.97Cb	1.73CbDa	2.11BcCa
50	0.5	1.41BdCa	1.00BbCa	2.10Bb	1.92BbCa	2.24Cab	2.40Ba	1.43BbCa	1.73Bab
	1.5	1.10CbDa	0.86CbDa	1.96BabCa	1.66CbDa	2.57CdDbEa	2.67BbCa	1.72Cb	1.97BcdCa
	2.5	0.97CbDb	0.63CbDb	1.66Cb	1.47DbEa	2.64DbEa	3.33Da	1.84Db	2.30Cb
	3.5	0.84Dc	0.50Db	1.62Cb	1.27Eb	2.95Eb	3.35Da	1.84Db	2.39Cb

2.3 不同高温处理对芽 H_2O_2 含量及 O_2^- 和 $\cdot OH$ 产生速率的影响

从表 2 和表 3 可以看出，高温处理对油桃芽内 H_2O_2 含量及 O_2^- 和 $\cdot OH$ 产生速率的影响趋势与高

表 3 不同短时间高温处理对 O_2^- 和 $\cdot OH$ 产生速率的影响

Table 3 Effects of short-term heating at 40 , 45 , 50 on the O_2^- and $\cdot OH$ production rate in ‘Shuguang’ nectarine bud

温度 Temperature (℃)	时间 Time (h)	O_2^- ($OD_{530} \cdot \text{min}^{-1} \cdot g^{-1} FM$)				$\cdot OH$ ($OD_{420} \cdot \text{min}^{-1} \cdot g^{-1} FM$)			
		叶芽 Vegetative bud		花芽 Flower bud		叶芽 Vegetative bud		花芽 Flower bud	
		11 - 30	12 - 10	11 - 30	12 - 10	11 - 30	12 - 10	11 - 30	12 - 10
对照 Control		0.069AaBa	0.074AaBa	0.046Aa	0.051Aa	0.145AaBa	0.062Aa	0.126AaBa	0.042Aa
40	0.5	0.065AaBa	0.070Aa	0.050Aa	0.051Aa	0.140AaBa	0.065Aa	0.116Aa	0.046Aa
	1.5	0.066AaBa	0.075Aa	0.046Aa	0.054Aab	0.138AaBa	0.058Aa	0.126AaBa	0.039Aa
	2.5	0.064Aa	0.072Aa	0.044Aa	0.052Aa	0.128Ab	0.050Aa	0.111Aa	0.042Aa
	3.5	0.061Aa	0.072Aa	0.042Aa	0.049Aa	0.110Ab	0.062Aa	0.092Ab	0.040Aa
45	0.5	0.076Ab	0.092BbCa	0.062AbBa	0.064Abc	0.177BbCa	0.111Ba	0.148AbBa	0.092Ba
	1.5	0.082BbCa	0.098Ca	0.064AbBa	0.070AcBa	0.182BbCa	0.133Bb	0.160BcCa	0.104BaCa
	2.5	0.096CbDa	0.110CbDa	0.067Bab	0.084Bbc	0.206Cb	0.137Bb	0.164BcCa	0.128Bcb
	3.5	0.099CdDa	0.114CbDa	0.077Bbc	0.087Bbc	0.218CbDa	0.162Ca	0.192Cb	0.134Cb
50	0.5	0.086Cab	0.093BbCa	0.066Bab	0.068Abc	0.180BbCa	0.115Ba	0.151AbBa	0.090Ba
	1.5	0.101CdDa	0.112CbDa	0.080Bc	0.090BcCa	0.203Cb	0.175Ca	0.164BcCa	0.143Cb
	2.5	0.103Db	0.121Db	0.085Bc	0.093BcCa	0.210CbDa	0.194CbDa	0.196CbDa	0.150CbDa
	3.5	0.111Db	0.127Db	0.087Bc	0.103Cb	0.244Db	0.226Db	0.215Db	0.184Db

温处理对萌芽级数的影响趋势相同：与对照相比，40℃处理油桃芽中 H_2O_2 含量及 $O_2^{\cdot-}$ 和 $\cdot OH$ 产生速率下降（11月30日）或变化不大（12月10日）；而45℃和50℃处理油桃芽中 H_2O_2 含量及 $O_2^{\cdot-}$ 和 $\cdot OH$ 产生速率急剧上升，与对照相比达显著水平，并且50℃处理油桃芽中 H_2O_2 含量及 $O_2^{\cdot-}$ 和 $\cdot OH$ 产生速率的上升速率大于45℃高温处理的上升速率。

2.4 不同高温处理对 PAL、PPO、POD、SOD、CAT活性的影响

不同时期不同高温处理对5种酶活性的影响不同（表4~表6）。结果表明：11月30日处理中，40℃处理与对照相比，PAL和SOD活性升高，而PPO、POD和CAT活性降低，并且随着处理时间的延长，5种酶活性变幅加大；而45℃和50℃处理则相反，PAL和SOD活性降低，显著低于对照，PPO、POD和CAT活性升高，显著高于对照。

12月10日处理中，40℃处理与11月30日处理不同，5种酶活性与对照差异不大；而45℃和50℃各处理与11月30日处理相同，PAL和SOD活性显著低于对照，PPO、POD和CAT活性高于对照，并且45℃和50℃处理随处理温度的升高和处理时间的延长，PPO、POD和CAT活性进一步升高，与对照差距进一步拉大。

表4 不同短时间高温处理对 PAL 和 PPO 活性的影响

Table 4 Effects of short-term heating at 40℃, 45℃, 50℃ on PAL and PPO activity in 'Shuguang' nectarine bud

温度 Temperature (℃)	时间 Time (h)	PAL ($U \cdot g^{-1} FM$)				PPO ($U \cdot g^{-1} FM$)			
		叶芽 Vegetative bud		花芽 Flower bud		叶芽 Vegetative bud		花芽 Flower bud	
		11 - 30	12 - 10	11 - 30	12 - 10	11 - 30	12 - 10	11 - 30	12 - 10
对照 Control		4.85aA	4.47Aa	5.39AaBaCa	5.16Aa	15.20AaBa	16.28AaBa	11.00Aa	12.60AaBa
40	0.5	4.81Aa	4.53Aa	5.44AaBa	5.22Aa	14.68AaBa	15.90Aa	10.29Aa	12.43AaBa
	1.5	4.98Aa	4.43Aa	5.41AaBaCa	5.18Aa	14.26Aa	16.60AaBa	9.89Aa	12.60AaBa
	2.5	5.03Aa	4.48Aa	5.53Aa	5.26Aa	13.96Ab	16.00Aa	10.20Aa	11.70Aa
	3.5	5.13Ab	4.50Aa	5.67Aa	5.30Aa	13.40Ab	16.80AaBa	9.50Aa	12.50AaBa
45	0.5	4.38Ba	4.23AbBa	5.12BcCbDa	4.95AbBa	16.73BbCa	18.6BbCa	12.37Ba	14.56Bb
	1.5	4.19BabCa	4.07BaCa	5.03CbDa	4.78BbCa	18.24CbDa	20.25Cb	14.10BbCa	17.31Ca
	2.5	4.04BbCa	3.89Cb	4.92CbDab	4.53CbDa	19.50Db	22.84Da	17.61DaEa	20.67DaEa
	3.5	3.86Cb	3.63CdDa	4.76DbEa	4.37CbDaEa	22.16Ea	26.13Ea	19.50Eb	24.08Fa
50	0.5	4.23Bab	4.01BaCa	4.97CbDab	4.72BbCa	17.80Cab	21.20CbDb	16.37CbDb	18.50CaDb
	1.5	4.05BbCb	3.93Cb	4.84CbDabEa	4.58CbDb	20.43Db	23.41Da	18.54DcEb	21.32Ea
	2.5	3.83Cb	3.72CdDa	4.71DbEa	4.29DcEa	23.38Ea	27.2EaFa	20.10Eb	24.19Fa
	3.5	3.61Cc	3.43Db	4.49Eb	4.08Eb	26.14F	29.60Fb	24.37F	27.90G

表5 不同短时间高温处理对 POD 和 SOD 活性的影响

Table 5 Effects of short-term heating at 40℃, 45℃, 50℃ on POD and SOD activity in 'Shuguang' nectarine bud

温度 Temperature (℃)	时间 Time (h)	POD ($U \cdot g^{-1} FM$)				SOD ($U \cdot g^{-1} FM$)			
		叶芽 Vegetative bud		花芽 Flower bud		叶芽 Vegetative bud		花芽 Flower bud	
		11 - 30	12 - 10	11 - 30	12 - 10	11 - 30	12 - 10	11 - 30	12 - 10
对照 Control		8.42Aa	9.00Aa	7.34AabBa	8.08Aa	22.20AaBa	21.40Aa	18.00Aa	17.00Aa
40	0.5	8.25Aa	8.97Aa	7.24AabBa	8.04Aa	22.50AaBa	21.70Aa	18.80Aa	17.40Aa
	1.5	8.07Aa	8.75Aa	7.01AabBa	8.16Aab	23.40Ab	21.90Aa	18.90Aa	16.80Aa
	2.5	8.12Aa	9.20Aa	6.84Aa	8.27Aab	23.10Aab	21.40Aa	18.20Aa	17.80Aa
	3.5	7.79Aa	9.33Aa	6.82Aa	8.20Aab	23.60Ab	21.70Aa	19.00Ab	17.10Aa
45	0.5	9.35AbBa	10.50AbBa	7.85AbBa	9.10Abc	21.30Ac	19.90Ba	15.90Ba	14.60Ba
	1.5	10.41Bb	11.12BbCa	8.87BbCa	9.73Ac	20.70BbCa	19.30Ba	15.20Ba	14.40Bab
	2.5	11.32Bc	12.60CbDa	10.68CbDa	11.02Ba	19.20Cb	17.00CaDa	15.40Ba	12.00Ca
	3.5	13.00Ca	13.37DbEa	11.73Db	12.32BbCa	18.70CdDa	16.00DbEa	13.90BbCa	11.20Ca
50	0.5	10.25Bb	11.26BbCa	8.23Bab	9.17Abc	20.20BbCa	18.40BbCb	14.90BbCb	13.60Bb
	1.5	11.52Bc	12.38CbDa	9.45Ca	10.80AdBa	19.30Cb	16.60CaDa	14.20BbCb	12.00Ca
	2.5	12.26Ca	13.00Db	11.09Cb	12.14BbCa	17.90Da	15.80DbEa	13.20Cc	11.70Ca
	3.5	14.00Cb	15.06Eb	12.20Db	13.31Cb	17.60Da	14.80Eb	12.70Cc	10.50Cb

3 讨论

3.1 温度与自然休眠解除

一般认为低温能有效解除休眠，其最佳打破休眠的温度接近果树基点温度。但是关于高温处理对芽休眠的效果报道很少：Ortter等^{〔11〕}报道把葡萄枝条置入 50℃ 热水浴中 0.5 h 可解除根和芽的休眠；Wisniewski等^{〔12〕}报道接近致死的热胁迫可解除杨树芽休眠。但是他们都是采用热水浴的方法进行高温处理，不能区分高温破眠和缺氧胁迫破眠的效果。本试验采用人工光照培养箱进行高温处理，有效地反映了短时间高温（45℃ 和 50℃）对曙光油桃芽的破眠效果。试验中发现：高温处理的时间短并且破眠反应迅速，这说明高温破眠存在一个快速反应机制。在自然条件下，冬季露地大于 45℃ 的昼温根本不可能，而在温室条件下是比较容易达到这一温度范围的，并且升温成本低廉，符合无公害破眠的要求，因此短时间高温处理对果树温室生产具有重要的现实意义。本试验研究发现结合保护地促成栽培生产的要求并综合考虑经济成本在实际生产中以 12 月 10 日即需冷量大约满足 3/4 时进行 45℃ 3.5 h 高温处理比较适宜，2003 年预备试验也表明此高温处理比较适宜应用于保护地促成栽培生产。

3.2 酚类物质与自然休眠解除

一些研究表明，酚类物质能抑制某些植物种子的萌发，但也有一些研究表明酚类物质可促进某些植物发芽，还有一些研究表明酚类物质对某些植物的发芽没有影响，而关于酚类物质与落叶果树休眠芽自然休眠解除的关系，研究极少。本试验结果表明油桃芽中总酚含量与高温破眠紧密相关，酚类物质是休眠解除的抑制物，其抑制途径可能是通过耗氧使油桃芽萌发缺乏足够氧气，进而影响正常呼吸代谢过程。酚类物质容易氧化，但在冬季正常情况下氧化较慢，而在高温条件下氧化速度加快，因此高温处理起到了较为迅速的破眠效果。酚类物质与其他落叶果树芽休眠解除的关系，以及对自然休眠解除起促进作用的酚类物质的详细种类尚待进一步研究。

PAL 是酚类物质合成的关键酶，而 PPO 是酚类物质氧化的关键酶，POD 对其氧化也有促进作用。本试验中看到与总酚含量迅速下降相对应，PAL 活性也迅速降低，而 PPO 和 POD 活性则急剧升高。由此分析可知高温可能是通过改变与酚类物质合成和氧化相关的酶的活性使总酚含量下降，消除对油桃芽休眠解除的抑制作用。

3.3 活性氧代谢与自然休眠解除

长期以来对活性氧的认识均倾向于其有毒害，而其对植物生命活动的必要性研究很少。植物体内 O_2^- 产生的主要来源是线粒体呼吸链的电子漏，而清除 O_2^- 的主要酶类是 SOD。从试验结果推断，短时间高温处理可能是通过改变油桃芽的呼吸代谢途径促进线粒体呼吸链电子漏的产生，同时短时间高温处理使清除 O_2^- 的主要酶类活性降低，两方面共同作用使油桃芽内 O_2^- 产生速率上升。

通常认为 SOD 催化超氧化物分解生成 H_2O_2 ，而 POD 和 CAT 则是植物体内清除 H_2O_2 的主要酶类。但从试验结果看，短时间高温处理油桃芽 H_2O_2 含量变化趋势与 SOD、POD、CAT 活性变化趋势相矛盾，可能的解释是短时间高温处理使油桃芽代谢途径发生变化，使 H_2O_2 产生的主要来源发生变化，而 H_2O_2 的大量产生诱导 POD 和 CAT 活性上升，但是 POD 和 CAT 对 H_2O_2 的清除能力有限，从而使其积累。植物体内 $\cdot OH$ 主要通过 Fenton 反应产生， O_2^- 对 Fenton 反应具有促进作用，结合试验结

表 6 不同短时间高温处理对 CAT 活性的影响

温度 Temperature ($^{\circ}C$)	时间 Time (h)	叶芽 Vegetative bud		花芽 Flower bud	
		11 - 30	12 - 10	11 - 30	12 - 10
对照 Control		0.73Aa	0.88Aa	0.54Aa	0.63Aa
40	0.5	0.66Aa	0.82Aa	0.51Aa	0.56Aa
	1.5	0.52Aab	0.83Aa	0.47Aa	0.62Aa
	2.5	0.45Aab	0.90Aa	0.48Aa	0.59Aa
	3.5	0.39Ab	0.88Aa	0.42Aa	0.58Aa
45	0.5	1.28Ba	1.48Ba	0.98Ba	1.26Ba
	1.5	1.65BbCa	1.70BaCa	1.33BbCa	1.56BbCa
	2.5	1.71BbCa	2.09CbDa	1.50Cab	1.77Cb
	3.5	2.03CbDa	2.21Da	1.76CbDa	1.95CbDa
50	0.5	1.67BbCa	1.81BbCa	1.26BbCa	1.48BabCa
	1.5	1.94CabDa	1.97Ca	1.60Cab	1.79Cb
	2.5	2.06CbDab	2.30Da	1.76CbDa	1.93CbDa
	3.5	2.28Db	2.43Da	2.06Db	2.17Db

果分析,短时间高温处理首先使 O_2^- 产生速率上升,然后 O_2^- 促进 Fenton 反应加速 $\cdot\text{OH}$ 的产生。

关于活性氧代谢与自然休眠解除的关系,高东升等^[13]指出 H_2O_2 含量的提高对于植物休眠的解除具有促进作用, H_2O_2 可能是作为一种信号物质改变了花芽的代谢途径从而起到促进休眠解除的作用。邵浩等^[14]的研究也表明在低温休眠解除过程中花芽细胞内的活性氧代谢对于植物休眠的解除产生了影响。本试验研究发现,短时间高温处理油桃芽萌芽级数的变化趋势和活性氧的变化趋势相一致,因此,和长时间低温解除自然休眠一样,在短时间高温处理中,活性氧代谢与自然休眠解除密切相关,高温热激引起的“活性氧迅速增加”可能是高温破眠的机制之一。

参考文献:

- 高东升,束怀瑞,李宪利. 几种适宜设施栽培果树需冷量的研究. 园艺学报, 2001, 28 (4): 283~289
Gao D S, Shu H R, Li X L. A study on bud chilling requirements of fruit trees in greenhouse. Acta Horticulturae Sinica, 2001, 28 (4): 283~289 (in Chinese)
- 肖 纯,张凯农. Folin 试剂测定茶中酚类化合物. 茶叶通讯, 1995, 3: 29~31
Xiao C, Zhang K N. Measuring phenolics in tea with Folin. Chinese Bulletin of Tea, 1995, 3: 29~31 (in Chinese)
- 魏海蓉,高东升,李宪利. 甜樱桃芽酚类物质含量及相关酶活性变化与自然休眠的关系. 园艺学报, 2005, 32 (2): 197~201
Wei H R, Gao D S, Li X L. The changes of phenolics and related enzymes activity in sweet cherry buds during endo-dormancy period. Acta Horticulturae Sinica, 2005, 32 (2): 197~201 (in Chinese)
- 王爱国,罗广华. 植物的超氧化物自由基与羟氨反应的定量关系. 植物生理学通讯, 1990 (6): 55~57
Wang A G, Luo G H. The quantitative relationships of hydroxylamine reaction and O_2^- in plants. Plant Physiol Commun, 1990 (6): 55~57 (in Chinese)
- 林植芳,李双顺,林桂株. 衰老叶片和叶绿体中 H_2O_2 的累积与膜脂过氧化化的关系. 植物生理学报, 1988, 14 (1): 16~22
Lin Z F, Li S S, Lin G Z. Relationships of H_2O_2 accumulation and membrane peroxidation in chloroplast of decrepit leaves. Journal of Plant Physiology, 1988, 14 (1): 16~22 (in Chinese)
- 徐向荣,王文华,李华斌. 比色法测定 Fenton 反应产生的羟自由基及其应用. 生物化学与生物物理进展, 1999, 26 (1): 67~69
Xu X R, Wang W H, Li H B. Determination of hydroxyl radicals in Fenton reaction by colorimetric assay and application. Prog Biochem Biophys, 1999, 26 (1): 67~69 (in Chinese)
- 王力荣,朱更瑞,左覃元. 中国桃品种需冷量的研究. 园艺学报, 1997, 24 (2): 194~196
Wang L R, Zhu G R, Zuo Q Y. Studies on the chilling requirement of peach varieties. Acta Horticulturae Sinica, 1997, 24 (2): 194~196 (in Chinese)
- 李合生,孙 群,赵士杰,章文华. 植物生理生化实验原理和技术. 高等教育出版社, 2000. 213~214
Li H S, Sun Q, Zhao S J, Zhang W H. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment. Higher Education Press, 2000. 213~214 (in Chinese)
- 罗晓芳,田砚亭,姚洪军. 组织培养过程中 PPO 活性和总酚含量的研究. 北京林业大学学报, 1999, 21 (1): 92~95
Luo X F, Tian Y T, Yao H J. Polyphenol oxidase activities and phenol contents in tissue culture. Journal of Beijing Forestry University, 1999, 21 (1): 92~95 (in Chinese)
- 赵世杰. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业科技出版社, 1998. 152~154
Zhao S J. The experimental principles and techniques of plant physiology. Beijing: China Agricultural Science and Technique Press, 1998. 152~154 (in Chinese)
- Ortner C J, Goussard P G. Effects of hot water treatments on bud burst and rooting of grapevine cuttings. Vitis, 1980, 10: 1~3
- Wsinieski M E, Sauter S J, Fuchigami L H, Stepien V. Effects of near-lethal heat stress on budbreak, heat shock proteins and ubiquitin in dormant poplar. Tree Physiology, 1997, 17: 453~460
- 高东升,束怀瑞,李宪利. 几种落叶果树 H_2O_2 含量变化与自然休眠关系的研究. 园艺学报, 2002, 29 (3): 209~213
Gao D S, Shu H R, Li X L. The relationship of H_2O_2 content changes in buds with the endodormancy of fruit trees. Acta Horticulturae Sinica, 2002, 29 (3): 209~213 (in Chinese)
- 邵 浩,马锋旺. 梨树花芽休眠解除与活性氧代谢的关系. 植物生理与分子生物学学报, 2004, 30 (6): 660~664
Shao H, Ma F W. Relationship between breaking of dormancy and reactive oxygen species metabolism in flower buds of pear. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 2004, 30 (6): 660~664 (in Chinese)