园　艺　学　报　2013，40（10）：1983－1989　　http: // www. ahs. ac. cn
Acta Horticulturae Sinica　　E-mail: yuanyixuebao@126.com

带叶休眠对休眠解除期间葡萄芽呼吸代谢的影响

丛　深，王海波*，王孝娣，王宝亮，郑晓翠，史祥宾，刘万春，刘凤之**
（中国农业科学院果树研究所，农业部园艺作物种质资源利用重点实验室，辽宁兴城 125100）

摘　要：以中高需冷量葡萄品种‘夏黑’为试材，研究人工脱叶休眠处理和带叶休眠处理对休眠解除期间芽体呼吸代谢的影响。结果表明：与人工脱叶休眠处理相比，带叶休眠处理明显促进芽的休眠解除。带叶休眠处理与人工脱叶休眠处理芽在休眠解除期间的呼吸速率和途径变化趋势相似，但带叶休眠处理芽呼吸速率和途径发生显著变化的时间明显早于人工脱叶休眠处理，并且总呼吸速率和糖酵解—三羧酸循环途径、交替途径的运行活性和容量及剩余呼吸比例都高于人工脱叶处理。

关键词：葡萄；自然休眠；呼吸代谢；叶片

中图分类号：S 663.1　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：0513-353X（2013）10-1983-07

Effect of Dormancy with Leaves on Respiration of Grape Buds During Dormancy Release

CONG Shen，WANG Hai-bo*，WANG Xiao-di，WANG Bao-liang，ZHENG Xiao-cui，SHI Xiang-bin，LIU Wan-chun，and LIU Feng-zhi**
（*Fruit Research Institute*，*Chinese Academy of Agricultural Sciences*，*Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Horticultural Crops*（*Germplasm Resources Utilization*），*Ministry of Agriculture*，*Xingcheng*，*Liaoning* 125100，*China*）

Abstract：Effect of dormancy with leaves and defoliation on respiration of grape buds during dormancy release was studied in high chilling requirement grape‘Summer Black’. Results indicated that dormancy with leaves was more effective on breaking dormancy than defoliation by manual work. Dormancy with leaves and defoliation had a similar change tendency of respiration rate and pathway. However，respiration of dormancy with leaves changed obviously earlier than defoliation. Respiration rate，EMP-TCA，alternative pathway and residual pathway of dormancy were more activate than defoliation during dormancy release.

Key words：grape；endodormancy；respiration；leaf

休眠是落叶果树经过长期演化而获得的一种对环境及季节性变化的生物学适应特性（Faust et al.，1997）。落叶果树一旦进入深度自然休眠，必须满足其低温需求量，顺利完成自然休眠才能恢复

收稿日期：2013－05－17；**修回日期**：2013－08－05
基金项目：国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目（nycytx-30-zp）；中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资助项目（1610032012006）

* 共同第一作者
** 通信作者 Author for correspondence（E-mail：liufengzhi6699@126.com）

正常生长发育，否则会引起生长发育障碍（高东升 等，2001）。叶片脱落时间与落叶果树休眠关系密切，在温带地区桃树人工提前脱叶会推迟开花时间（Couvillon & Erez，1978）；秋冬提高温度能推迟自然落叶并推迟桃花芽开放（Walser et al.，1981）。在热带和亚热带，利用人工脱叶打破自然休眠的措施已在生产中广泛应用（Lloyd & Firth，1990）。目前，中国温带地区葡萄设施栽培中广泛使用人工脱叶措施打破自然休眠，但是人工脱叶在温带地区设施栽培中是否适用，值得研究。本试验中通过研究人工脱叶休眠处理与带叶休眠处理对葡萄芽休眠解除及呼吸代谢的影响，为生产和科研提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为 3 年生的‘夏黑’葡萄（中高需冷量），砧木为‘贝达’，定植于中国农业科学院果树研究所葡萄核心技术试验示范园（辽宁兴城）高效节能型日光温室，株行距 1 m × 3 m，树形采取单层水平龙干形配合 V 形叶幕，肥水一体化，其余常规管理。选取长势相近的 4 行树，于 2011 年 10 月 24 日（第 1 次轻霜过后）隔株人工摘除叶片，摘除叶片的一组为人工脱叶休眠处理，未摘除叶片的一组为带叶休眠处理，10 月 25 日扣棚采取三段式温度管理人工集中预冷技术措施（王海波 等，2009）促进自然休眠解除。

1.2 休眠进程界定

2011 年 11 月 1 日至 2012 年 1 月 20 日，每隔 2 d 采样 1 次，每次每处理重复 3 次，每重复采集 4 条枝条，将其中第 3 ~ 7 节切割成单芽枝段在高效节能型日光温室中进行单芽扦插沙基培养。沙基湿度为用手握紧刚开始滴水为宜；气温昼间保持在 20 ~ 25 ℃，夜间控制在 5 ℃以上；空气湿度保持在 80%以上，光照为自然光照。培养 30 d 左右，热量累积［热量累积 = ∑（每小时平均气温 − 生物学零度），其中生物学零度为 10 ℃］达 3 600 h · ℃后（此为葡萄芽从休眠解除到展叶期之间所需的最低热量），统计萌芽率，萌芽率超过 50%表明采样培养之日生理休眠已经完全解除。

1.3 呼吸速率测定

于 2011 年 11 月 1 日至 2012 年 1 月 17 日，每 7 d 采样 1 次，每次每处理重复 3 次，每重复采集 16 条枝条，将基部放入盛有清水的盆中保存备用，从第 3 节至第 7 节进行混合取芽，参照李瑾等（2009）和谭钺（2012）的方法利用 Oxy-Lab 氧电极通过测定溶液中氧气浓度变化来计算芽的呼吸速率及呼吸途径变化，略有改动。改动如下：将芽置于密闭小瓶中，使用真空抽气机抽气，将芽内空气充分抽净，然后将芽包裹于纱布中挂在反应杯中间位置，避免芽与转子接触影响测定；先测定样本的总呼吸量，再加入呼吸抑制剂测定同一样本的呼吸途径量，然后求得呼吸途径所占比例，以降低个体差异造成的误差。

在没有其他呼吸途径抑制剂时，植物组织中呼吸途径实际运行的常常只是其最大潜力的一部分运行活性，呼吸途径运行的最大潜力则称为呼吸容量，通常用加入除该途径外所有抑制剂的呼吸减去剩余呼吸求得（Mclntosh，1994）。各呼吸参数计算如下：运行活性所占比例（%）=（总呼吸 − 加入该途径抑制剂后的呼吸）/总呼吸 × 100；容量所占比例（%）=（加入除该途径外所有途径的抑制剂的呼吸 − 剩余呼吸）/总呼吸 × 100；蛋白质脂肪三羧酸途径 = 总三羧酸途径 − 糖酵解三羧酸途径。

数据采取 DPS 统计软件进行方差分析。

2　结果与分析

2.1　带叶休眠对休眠进程的影响

12 月 13 日之前采样的带叶休眠处理的芽萌芽率在 15%以下，表明其处于休眠维持阶段，之后采集的样本萌芽率迅速升高，表明其已进入休眠解除期。12 月 19 日之前采集的人工脱叶处理的芽萌芽率低于 15%，其处于休眠维持阶段，12 月 19 日后进入休眠解除期。带叶休眠处理于 12 月 25 日采集的样本萌芽率达到 55%，表明自然休眠完全解除，比人工脱叶处理提前 3 d。可见，带叶休眠能显著降低葡萄芽的需冷量，促进休眠提前解除，与人工脱叶处理相比，带叶休眠处理需冷量降低 43 h。

表 1　自然休眠期间带叶休眠处理和人工脱叶休眠处理的萌芽率

Table 1　Germination rate of dormancy with leaves and defoliation during dormancy

日期/（M – D）Date	有效低温累积/h Chilling hour	萌芽率/% Germination rate	
		人工脱叶 Defoliation	带叶休眠 Dormancy with leaves
11 – 22	207	0 a	0 a
11 – 25	227	0 a	5 a
11 – 28	338	0 a	0 a
12 – 01	401	5 a	0 a
12 – 04	483	0 a	0 a
12 – 07	555	5 a	5 a
12 – 10	615	5 a	5 a
12 – 13	663	0 b	15 a
12 – 16	732	5 b	20 a
12 – 19	776	15 b	25 a
12 – 22	823	25 b	35 a
12 – 25	872	30 b	55 a
12 – 28	915	50 b	70 a
12 – 31	1023	65 b	90 a

注：*t* 检验，$P = 0.05$。

Note：*t*-test，$P = 0.05$.

2.2　带叶休眠对总呼吸的影响

从图 1 可以看出，带叶休眠处理和人工脱叶休眠处理在休眠解除期间芽的总呼吸速率的变化趋势基本一致，但带叶休眠处理葡萄芽总呼吸速率达到高峰的时间比人工脱叶休眠处理提前 7 d，且峰值为 154.56 nmol · g^{-1} · min^{-1}，极显著高于人工脱叶处理的 147.43 nmol · g^{-1} · min^{-1}（$P = 0.01$）。带叶休眠 12 月 27 日的总呼吸速率比休眠维持期（11 月 29 日之前）增加 35.89%，显著高于人工脱叶处理的 30.04%（$P = 0.01$）。

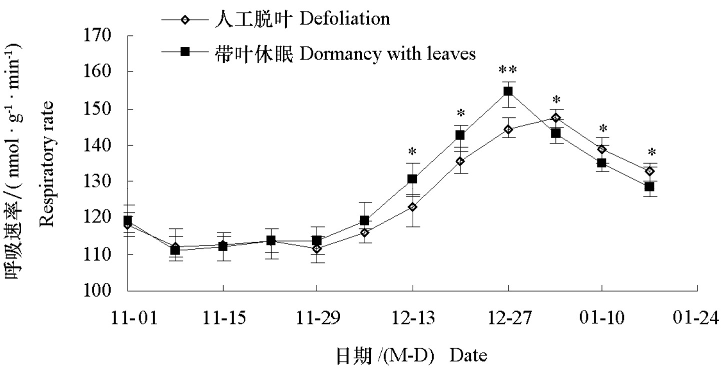

图 1　带叶休眠和人工脱叶处理芽的总呼吸速率

利用 *t* 检验法进行显著性检验，*，$P = 0.1$，**，$P = 0.05$。

Fig. 1　Respiration rate of bud（dormancy with leaves and defoliation）during dormancy

The data were statistically analysed and the means were compared by *t*-test. *，$P = 0.1$，**，$P = 0.05$.

2.3　带叶休眠对底物水平呼吸途径运行活性和容量的影响

带叶休眠处理和人工脱叶休眠处理葡萄芽的呼吸代谢途径运行活性比例变化趋势相似，在休眠

维持期间两者各呼吸途径运行活性无明显变化，所占比例也基本相同；进入休眠解除阶段，糖酵解—三羧酸循环（EMP-TCA）运行活性迅速增加，带叶休眠处理于 12 月 27 日时达到顶峰，比脱叶处理提前 7 d。带叶休眠糖酵解—三羧酸循环运行活性所占比例峰值为 38.67%，与 11 月 29 日相比增加为 51%，明显高于人工脱叶处理（36.02%，增幅 44.54%）（P = 0.05）。与糖酵解三羧酸途径相反，带叶休眠处理蛋白质脂肪三羧酸循环在 12 月 27 日降至谷底，随后略微回升，带叶休眠处理比人工脱叶处理达到峰谷时间提前 7 d。整个休眠维持和解除期间三羧酸循环（TCA）所占比例最大，始终维持在 40%以上，在休眠解除期略微下降后恢复，磷酸戊糖途径（PPP）和剩余途径（Res）比例则在休眠解除期相对平稳。

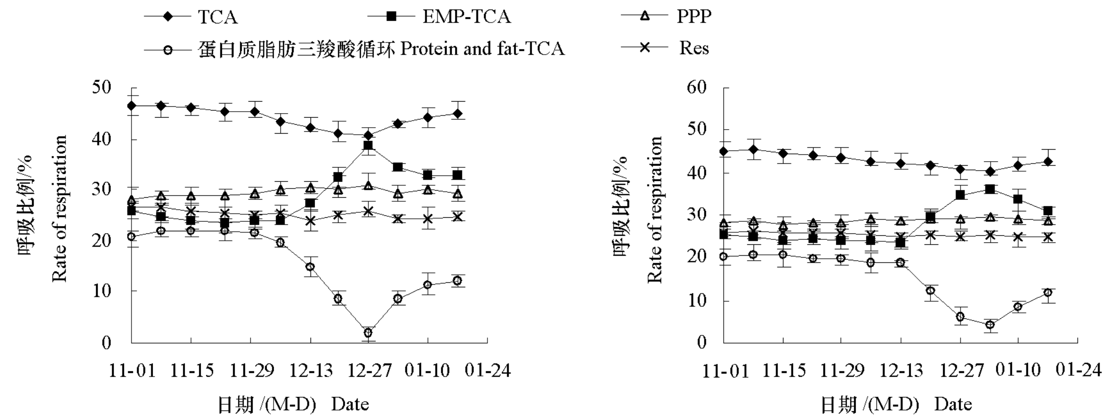

图 2 带叶休眠（左）和人工脱叶处理（右）芽在休眠期间呼吸途径（底物）运行活性的变化

Fig. 2 Rate of buds respiratory pathways（substrate）in dormancy with leaves（left）and defoliation（right）

带叶休眠和人工脱叶处理的三羧酸循环、糖酵解三羧酸循环和磷酸戊糖途径容量所占比例都在进入休眠解除期上升，到 12 月 27 日达到顶峰，随后略有下降并保持平稳，其中糖酵解三羧酸循环增加幅度最大，磷酸戊糖途径最小。带叶休眠三羧酸循环、糖酵解三羧酸循环和磷酸戊糖途径容量所占比例于 12 月 27 日达到峰值 68.23%、49.47%和 41.08%，显著高于人工脱叶处理 1 月 3 日的 65.75%、46.27%和 38.87%（P = 0.05），且提前 7 d 到达顶峰。从图 2 和图 3 可以看出，三羧酸循环容量在休眠解除期容量大幅增加，而运行活性却又略微降低，并不同步；蛋白质脂肪三羧酸循环容量在休眠解除期运行活性和容量虽然都降低，但容量变化幅度小于运行活性；糖酵解三羧酸循环和磷酸戊糖途径容量和运行活性在休眠维持期相差较小，进入休眠解除期后容量和运行活性差值变大。

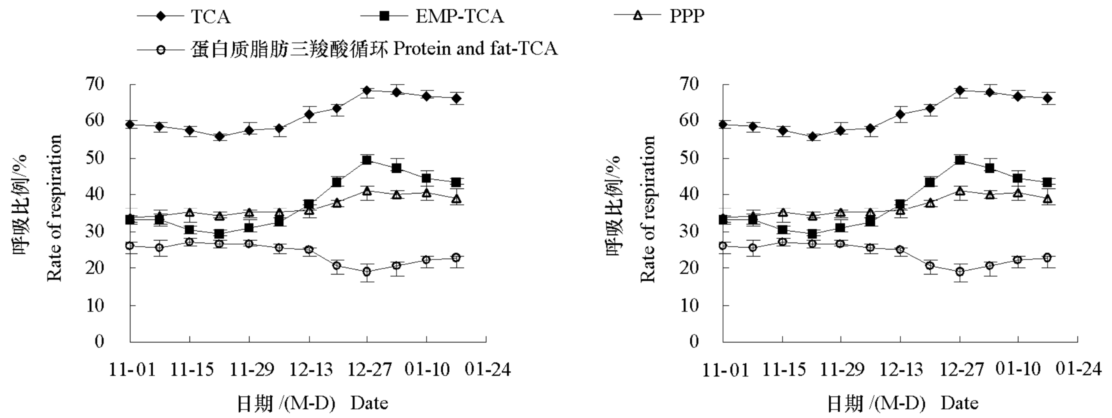

图 3 带叶休眠（左）和人工脱叶处理（右）芽在休眠期间呼吸途径（底物）容量的变化

Fig. 3 Respiration capacity of buds respiratory pathways（substrate）in dormancy with leaves（left）and defoliation（right）

2.4　带叶休眠对电子传递链水平呼吸途径运行活性和容量的影响

带叶休眠处理和人工脱叶休眠处理在休眠解除期间电子传递链水平上的各呼吸代谢途径运行活性变化趋势相似（图 4）。带叶休眠处理交替途径（Alt）和剩余呼吸途径（Res）进入休眠解除期后所占比例逐渐升高，12 月 27 日达到顶峰，随后下降至稳定水平。带叶处理交替途径（Alt）和剩余呼吸途径（Res）所占比例与人工脱叶处理相比，差异不显著（P = 0.05）。细胞色素途径（Cyt）所占比例与交替呼吸途径和剩余呼吸途径相反，呈倒单峰曲线。

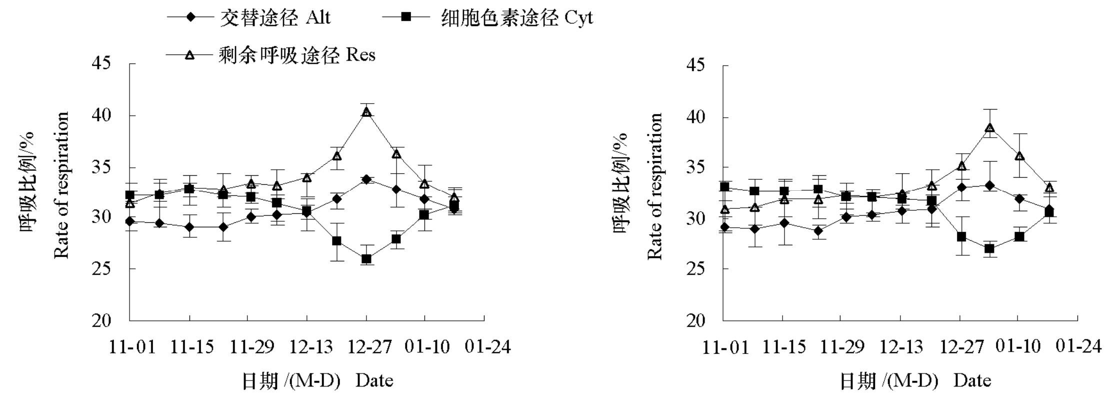

图 4　带叶休眠（左）和人工脱叶处理（右）芽在休眠期间呼吸途径（电子）运行活性的变化

Fig. 4　Rate of buds respiratory pathways（electronic transmission chain）in dormancy with leaves（left）and defoliation（right）

如图 5 所示，带叶休眠处理和人工脱叶处理电子传递链水平的呼吸代谢途径容量变化趋势基本一致，带叶休眠处理交替途径容量所占比例在整个休眠过程中变化不大，而细胞色素途径容量所占比例在休眠进入休眠解除期后开始下降，至 12 月 27 日降到最低点（27.92%），随后回升至初始水平，人工脱叶处理于 1 月 3 日降到最低点（28.62%）。交替途径容量保持稳定，而运行活性所占比例在休眠完全解除后达到顶峰（图 4），此时运行活性与容量相差最小。细胞色素途径容量与运行活性同时下降，但容量下降幅度大于运行活性，在休眠完全解除后容量与活性几乎相同。

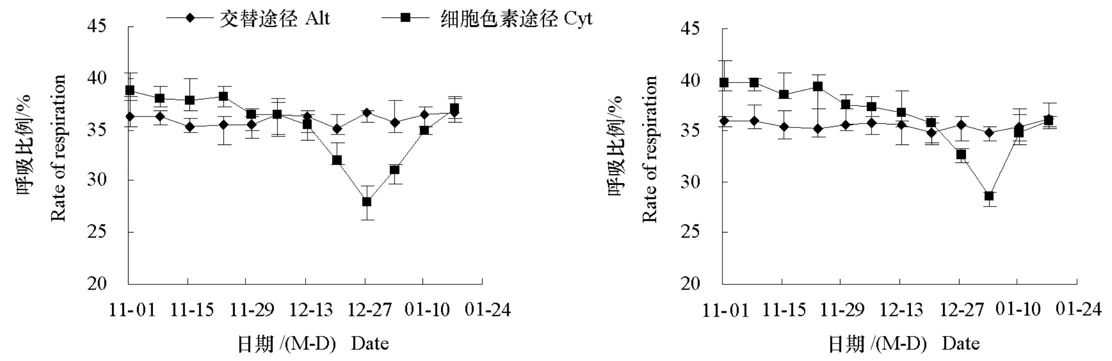

图 5　带叶休眠（左）和人工脱叶处理（右）芽在休眠期间呼吸途径（电子）容量的变化

Fig. 5　Respiration capacity of buds respiratory pathways（electronic transmission chain）in dormancy with leaves（left）and defoliation（right）

3 讨论

休眠解除伴随着呼吸速率的增长（Young et al.，1995；McPherson et al.，1997），糖酵解—三羧酸循环对葡萄休眠解除有重要作用（高东升，2001），苹果芽在休眠后期呼吸底物会逐渐转变为糖类（Young et al.，1995）。葡萄芽在有效低温达到需冷量的 2/3 之后，会从周边组织吸收大量蔗糖，分解成已糖（Mohamed et al.，2010），桃上也有类似结果（Marquat et al.，1999；Maurel et al.，2004）。在温带地区人工脱叶会大幅度降低休眠期间葡萄枝条和根内的淀粉含量（Bennett et al.，2005）。高东升等（2002）的试验证明化学脱叶处理会降低桃芽内淀粉和可溶性糖含量。本试验中带叶休眠葡萄芽的总呼吸速率提前达到顶峰，并且峰值也明显高于人工脱叶处理，带叶休眠糖酵解—三羧酸循环运行活性和容量所占比例提前达到顶峰，峰值也更高。本课题组前期带叶休眠对葡萄枝芽贮藏营养影响的试验中也发现休眠解除期间带叶休眠处理芽内的可溶性糖和还原性糖含量显著高于人工脱叶处理，还原性糖是呼吸代谢的主要底物，所以带叶休眠可能是通过增加葡萄芽内的可溶性糖和还原性糖的含量，使总呼吸速率和 EMP-TCA 途径运行活性显著增强进而使休眠提前解除。

呼吸容量代表着组织中呼吸途径运行的最大潜力，但存在并不意味着它将全部运行，在没有其他呼吸途径抑制剂时，呼吸途径实际运行的常常只是其最大潜力的一部分运行活性（Mclntosh，1994）。本试验中，休眠解除时三羧酸循环和磷酸戊糖途径的容量和运行活性的变化并不同步，三羧酸循环和磷酸戊糖途径的呼吸容量在休眠解除前迅速增加，在休眠解除后保持稳定，这可能是由于休眠解除时芽内代谢底物已糖含量急剧上升（Mohamed et al.，2010）导致的。

线粒体是休眠解除刺激的潜在感应中心（Keilin et al.，2007； Pérez et al.，2007；Halalyet al.，2008），叠氮化钠和氰胺两者都可以抑制线粒体中的细胞色素途径，并有效刺激果树芽休眠的解除（Ophir et al.，2009；Pérez et al.，2009）。本试验中葡萄休眠芽的细胞色素途径的容量和运行活性都在休眠解除期大幅下降，必然有大量多余电子转移到交替途径和其它一些未知的末端氧化途径，激活了交替途径和剩余途径，诱导休眠解除；但哪些末端氧化途径参加了诱导休眠解除，还需深入研究。本试验中休眠解除时带叶休眠处理的芽交替途径容量和运行活性及剩余呼吸途径均显著高于人工脱叶处理，表明带叶休眠处理对诱导休眠解除的效果更好。

综上，带叶休眠可能是通过枝条内的营养物质来影响呼吸代谢从而促进休眠提前解除，并能提高萌芽率。与人工脱叶休眠处理相比，带叶休眠不仅可以促进休眠解除，还能缩短花期，提高坐果率，增加平均单果质量，提早果实成熟期（高东升 等，2002；王海波 等，2004）。作者在葡萄带叶休眠预备试验中也得出了类似结果。所以，在温带地区落叶果树设施栽培时，应提倡采取带叶休眠措施。有文献表明不同脱叶时间对果实品质和休眠深度都有影响（Faust et al.，1997），对此还需要进一步研究，以完善温带落叶果树设施栽培的理论和技术。

References

Bennett J，Jarvis P，Creasy G L，Michael C T. 2005. Trought influence of defoliation on overwintering carbohydrate reserves，return bloom，and yield of mature chardonnay grapevines. American Journal of Enology and Viticulture，56：386 – 393.

Couvillon G A，Erez A. 1978. Effect of level and duration of high temperatures on rest in the peach. Journal of the American Society for Horticultural Science，110：579 – 581.

Faust M，Erez A，Rowland L J，Wang S Y，Norman H A. 1997. Bud dormancy in perennial fruit trees：Physiological basis for dormancy induction，maintenance，and release. HortScience，32：623 – 629.

Gao Dong-sheng. 2001. Studies on endodormancy biology of deciduous fruit tree in protected cultivation［Ph. D. Dissertation］. Tai’an：Shandong Agricultural University. (in Chinese)

高东升. 2001. 设施果树自然休眠生物学研究[博士论文]. 泰安：山东农业大学.

Gao Dong-sheng，Li Xian-li，Shu Huai-rui. 2002. Effects of chemical defoliation on the endodormancy of peach trees. Journal of Fruit Science，19 (4)：283－271. (in Chinese)

高东升，李宪利，束怀瑞. 2002. 化学脱叶对桃自然休眠的调控效应. 果树学报，19 (4)：269－271.

Gao Dong-sheng，Shu Huai-rui，Li Xian-li. 2001. A study on bud chilling requirements of fruit trees in greenhouse. Acta Horticulturae Sinica，28 (4)：283－289. (in Chinese)

高东升，束怀瑞，李宪利. 2001. 几种适宜设施栽培果树需冷量的研究. 园艺学报，28 (4)：283－289.

Halaly T，Pang X Q，Batikoff T，Crane O，Keren A，Venkateswari J，Ogrodovitch A，Sadka A，Lavee S，Or E. 2008. Similar mechanisms might be triggered by alternative external stimuli that induce dormancy release in grape buds. Planta，228 (1)：79－88.

Keilin T，Pang X，Venkateswari J，Halaly T. 2007. Digital expression profiling of grape EST collection leads to new insight into molecular events during grape-bud dormancy release. Plant Science，173：446－457.

Li Jin，Gao Dong-sheng，Yu Qin，Xu Chen-shan，Zhao Kai. 2009. Effect of photoperiod treatments on dormancy induction and changes of correlated respiratory rate of nectarine peach bud. Scientia Agricultura Sinica，42 (1)：210－215. (in Chinese)

李　瑾，高东升，于　芹，徐臣善，赵　锴. 2009. 光周期处理对油桃芽休眠诱导效应及呼吸速率的影响. 中国农业科学，42 (1)：210－215.

Lloyd J，Firth D. 1990. Effect of defoliationtime on depth ofdormancy and bloom time forlowchillpeaches. HortScience，25 (12)：1575－1578.

Marquat C，Vandamme M，Gendraud M，Pétal G. 1999. Dormancy in vegetative bud of peach：Relation between carbohydrate absorption potentials and carbohydrate concentration in the bud during dormancy and its release. Scientia Horticulturae，79：151－162.

Maurel K，Leite G B，Bonhomme M，Guilliot A，Rageau R，Petel G，Sakr S. 2004. Trophic control of bud break in peach（*Prunus persica*）trees：A possible role of hexoses. Tree Physiol，24：579－588.

Mclntosh L. 1994.　Molecular biology of the alternative oxidase. Plant Physiology，105：781－786.

McPherson H G，Snelgar W P，Manson P J，Snowball A M. 1997. Bud resiration and dormancy of kiwifruit（*Actinidia deliciosa*）. Annals of Botany，80：411－418.

Mohamed H B，Vadel A M，Geuns J，Khemira H. 2010. Biochemical changes in dormant grapevine shoot tissues in response to chilling：Possible role in dormancy release. Scientia Horticulturae，124：440－447.

Ophir R，Pang X，Halaly T，Venkateswari J，Lavee S，Galbraith D，Or E. 2009. Gene-expression profiling of grape bud response to two alternative dormancy-release stimuli expose possible links between impaired mitochondrial activity，hypoxia，ethylene-ABA interplay and cell enlargement. Plant Molecular Biology，71：403－423.

Pérez F J，Rubio S，Ormeño-Núñez J. 2007. Is erratic bud-break in grapevines grown in warm winter areas related to disturbances in mitochondrial respiratory capacity and oxidative metabolism. Functional Plant Biology，34：624－632.

Pérez F J，Vergara R，Or E. 2009. On the mechanism of dormancy release in grapevine buds：A comparative study between hydrogen cyanamide and sodium azide. Plant Growth Regul，59：145－152.

Tan Yue，Li Ling，Li Dong-mei，Chen Xiu-de，Li Jin，Gao Dong-sheng. 2012. Effects of photoperiod on dormancy induction and respiration of nectarine buds. Chin J Appl Environ Biol，18 (5)：838－842.

谭　钺，李　玲，李冬梅，陈修德，李　瑾，高东升. 2012. 光周期对油桃芽休眠诱导及呼吸代谢的影响. 应用与环境生物学报，18 (5)：838－842.

Walser R H，Walker D R，Seeley S D. 1981. Effect of temperature，fall defoliation and gibberellic acid on the rest period of peach buds. Journal American Society for Horticultural Science，106：91－94.

Wang Hai-bo，Li Jiang，Gao Dong-sheng，Wang Xiao-di. 2004. Effects of dormancy on peach trees with leaves. Xinjiang Agricultural Sciences，41 (4)：200－203. (in Chinese)

王海波，李　疆，高东升，王孝娣. 2004. 桃带叶休眠的效果研究. 新疆农业科学，41 (4)：200－203.

Wang Hai-bo，Ma Bao-jun，Wang Bao-liang，Cheng Yuan-yuan，Liu Feng-zhi. 2009. Regulatory standards and techniques of grape under protected cultivation. Sino-Overseas Grapevine & Wine，(5)：35－39. (in Chinese)

王海波，马宝军，王宝亮，程媛媛，刘凤之. 2009. 葡萄设施栽培的环境调控标准和调控技术. 中外葡萄与葡萄酒，(5)：35－39.

Young E，Dautlick T K，Belding R D. 1995. Respiratory changes during dormancy breaking of apple trees. ISHS Acta Horticulture，395：21－33.