

石灰氮和水杨酸对破除葡萄芽休眠的影响

姜卫兵^{1*}, 韩浩章¹, 费宪进², 曹 晶¹, 李 刚¹

(¹南京农业大学园艺学院, 南京 210095; ²镇江园艺技术指导站, 江苏镇江 212003)

摘 要: 2003年 12月 ~2004年 3月, 在江苏省镇江市南山农业科技示范园葡萄园, 以藤稔品种为试材, 分别在树体的初休眠期 (12月上旬)、深休眠期 (1月上旬) 和休眠后期 (2月上旬), 取芽体饱满、生长充实的 1年生枝条, 用不同浓度的石灰氮 (CaCN_2) 和水杨酸 (SA) 进行涂芽破眠处理; 之后放入温室进行发芽培养, 并每 5 d取冬芽测定 H_2O_2 及其抗氧化酶系统的变化, 21 d后统计各处理最终萌芽率。结果表明: 施用 CaCN_2 和 SA 能不同程度的提高 H_2O_2 含量和 POD 活性, 降低 CAT 活性; 但在不同休眠期对 SOD 活性的影响不一致。而破眠或促进萌芽效果好的化学药剂处理, 花芽在培养前期的 H_2O_2 含量、POD 和 SOD 活性增幅较大, CAT 活性下降较明显。对萌芽率的统计表明, 初休眠期施用石灰氮和水杨酸对葡萄破眠无效; 到深休眠期及以后施用 25% 的石灰氮对葡萄破眠效果较为明显, 萌芽较对照提前 4 ~ 6 d, 最终萌芽率达 41.6% ~ 90.0%; 而水杨酸处理对葡萄花芽破眠基本无效。

关键词: 葡萄; 石灰氮; 水杨酸; 休眠解除; 过氧化氢; 抗氧化酶

中图分类号: S 663.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2007) 02-0317-08

Effects of Calcium Cyanamide and Salicylic Acid on Dormancy-release of Grape Bud

JIANg Wei-bing^{1*}, HAN Hao-zhang¹, FEI Xian-jin², CAO Jing¹, and LI Gang¹

(¹College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; ²Technical Service Station of Horticulture, Zhenjiang, Jiangsu 212003, China)

Abstract: The canes with well-developed buds from Fujiminori grape grown in a vineyard in Nanshan Agricultural Science and Technology Demonstration Park in Zhenjiang of Jiangsu Province were treated with CaCN_2 and salicylic acid (SA) at three different stages of dormancy to study the effects on dormancy-release of grape bud in an experiment from December 2003 to March 2004. After treatment, the twigs were put in the greenhouses for sprouting cultivation. The content of H_2O_2 , activities of antioxidant enzymes of grape buds were investigated every 5 days, and the sprouting percentage of grape bud after 21 days was calculated. The results showed that CaCN_2 and SA increased respiratory rate, H_2O_2 content, POD activities, and decreased CAT activities, but had different effects on SOD activities at different stages of dormancy. The increased degree of H_2O_2 content, POD and SOD activities of flower buds at the early stages of sprouting cultivation was higher, but the decreased extent of CAT activities of flower buds was larger, when treatments with chemicals had significant effects on dormancy-release or sprouting. The results of sprouting rate showed that CaCN_2 and SA had no effect on dormancy-release in early-dormancy stage. The treatment of 25% CaCN_2 had a significant effect on dormancy-release of grape bud at deep-dormancy stage or late-dormancy stage, the sprouting was 4 - 6 days earlier than those of control (no CaCN_2 and SA treatment) grapes, and the final sprouting rate reached 41.6% - 90.0%. SA had little effect on dormancy-release of grape bud.

Key words: Grape; Calcium cyanamide; Salicylic acid; Dormancy-release; H_2O_2 ; Antioxidant enzymes

收稿日期: 2006 - 09 - 05; 修回日期: 2007 - 01 - 22

基金项目: 江苏省 '十五' 科技攻关项目 (BE2001325-1)

* E-mail: weibingj@sohu.com

休眠及其解除是一个在理论和实践上极其重要而又尚未弄清的问题 (袁志友 等, 2002)。在落叶果树设施栽培和引种栽培过程中, 由于栽培地不同的环境条件, 尤其是南方一些地区“暖冬”问题的存在, 栽培品种的自然休眠结束期会发生相应的改变, 并由此导致栽培过程中的盲目性 (高东升 等, 2001)。

生产中落叶果树休眠破除, 除辅助性的人工、物理方法外, 目前普遍使用的是喷洒一定浓度的化学药剂促进休眠解除。

氨基氰的类似物氰氨基化钙 (石灰氮) 是目前国内落叶果树栽培过程中常用的化学药剂。但施用化学药剂仅在自然休眠接近结束时才有效, 过早无效, 过晚则会发生药害 (Uzun et al, 1997), 化学药剂只能补充落叶果树需冷量的 30% (张运涛, 1997)。

关于休眠和破眠机制, Wang和 Faust (1994) 发现苹果芽萌发过程与抗氧化系统可能存在关系, 并在以后的研究中发现活性氧含量的变化与芽的萌发也有关; 高东升等 (2002a) 的研究表明, 果树休眠芽中 H_2O_2 含量的变化趋势与自然休眠的解除密切相关, 而且对桃、杏、樱桃和葡萄花芽破眠有效果的化学药剂处理后, 能降低花芽 H_2O_2 的含量; 而 Nir等 (1986, 1993) 发现能解除葡萄芽体休眠的硫脲、氨基脲、叠氮钠、胍类等化学药剂能降低 CAT活性, 提高 POD活性, 增加 H_2O_2 含量。

本研究中以藤稔葡萄为试验材料, 在不同休眠期分别施用不同浓度的石灰氮和水杨酸, 并定期测定萌芽培养过程中 H_2O_2 含量及其抗氧化酶系统的变化, 以期为进一步探讨落叶果树解除休眠的机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料取自江苏省镇江南山农业科技示范园, 供试葡萄品种为‘藤稔’, 树龄 5 年, 露地栽培, 生长良好。

2003 年 12 月 ~ 2004 年 3 月, 分别在初休眠期 (12 月上旬)、深休眠期 (1 月上旬)、休眠后期 (2 月上旬) 定期从葡萄园随机剪取芽体饱满充实、生长良好的 1 年生枝条, 带回实验室, 取饱满冬芽用去离子水洗净后, 吸水纸吸干, 用于测定和处理。

1.2 处理

每期取 25 捆 (每捆含枝条 15 根, 每根枝条有芽 4 ~ 7 个, 芽体总鲜质量 > 3 g), 分 5 个处理 (每处理 5 捆): 对葡萄芽体用毛笔涂施 15% 和 25% 的石灰氮 ($CaCN_2$) 及 2% 和 10% 的水杨酸 (Salicylic acid, SA), 均以喷水作对照。

处理之后放入温室中 [昼夜温度: $(25 \pm 1) / (15 \pm 1)$; 光暗时数: 14/10 h; 光照强度: $1\ 000 \sim 1\ 200 \mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$; 相对湿度: 50% ~ 65%], 以经过灭菌处理的湿细砂为基质培养萌芽 (杨天仪 等, 2001)。

1.3 测定

于处理前及枝条放入温室培养开始每 5 d 每处理取 1 捆 (每捆平均分为 3 份, 作为重复), 取新鲜花芽 (或混合芽) 测定。

过氧化氢 (H_2O_2) 含量以 OD 值的变化量作为 H_2O_2 含量变化的相对值 (林植芳 等, 1988), 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性以抑制 NBT 50% 所需的酶量为一个活性单位 (沈文飏 等, 1997), 过氧化氢酶 (CAT) 活性以 240 nm 下减少 0.1 个 OD 值为一个活性单位 (Rao et al, 1996; 刘凤权和王金生, 2002)。过氧化物酶 (POD) 活性以 460 nm 下增加 0.1 个 OD 值为一个活性单位 (张志良, 1990)。第 21 天统计各处理的萌芽率。以 SAS8.2 进行重复间误差统计。

2 结果与分析

2.1 不同休眠期石灰氮和水杨酸处理芽体后藤稔葡萄的萌芽期和萌芽率

初休眠期施用石灰氮和水杨酸对葡萄破眠无效（数据省略），深休眠期以后以高浓度石灰氮（25% CaCN_2 ）处理破眠效果较为明显，萌芽较对照提前 4~6 d，最终萌芽率达 41.6%~90.0%；水杨酸处理对葡萄破眠和促进萌芽基本无效（表 1）。

表 1 不同休眠时期石灰氮和水杨酸处理芽体后藤稔葡萄的萌芽期和萌芽率

Table 1 Sprouting date and rate of Fujinori grape buds treated with CaCN_2 and SA at different dormancy stages

处理时间 Period of treatment	石灰氮 CaCN_2 (%)	水杨酸 SA (%)	处理芽数 Buds of treatment	从处理到萌芽时间 Sprouting date (d)	萌发芽数 Buds of sprouting	最终萌芽率 Sprouting rate (%)
深休眠期 Deep-dormancy	0	0	105	19	2	1.9
	15	0	88	17	10	11.4
	25	0	94	15	39	41.6
	0	2	93	17	5	5.4
休眠后期 Late-dormancy	0	10	85	17	16	18.8
	0	0	94	14	48	51.2
	15	0	97	8	58	60.0
	25	0	98	8	88	90.0
	0	2	90	14	48	53.3
	0	10	90	11	52	57.8

2.2 不同休眠期石灰氮和水杨酸处理后芽体内 H_2O_2 相对含量的变化

由图 1和图 2看出，初休眠期对芽体施用石灰氮和水杨酸并进行温室培养后，处理和对照芽体 H_2O_2 在较低含量基础上（ $41 \text{ OD} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FM}$ ）均明显升高。

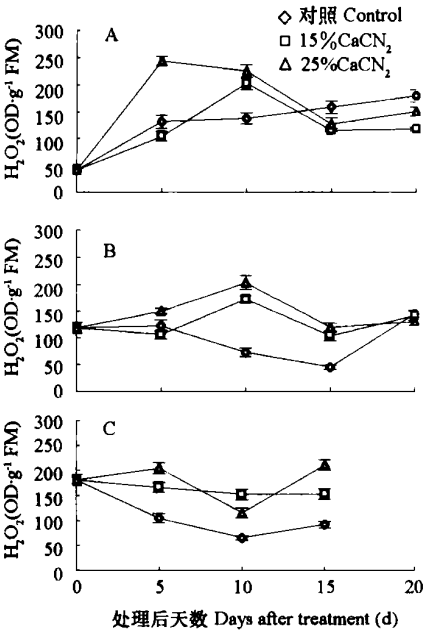


图 1 不同休眠期石灰氮处理后葡萄芽体内 H_2O_2 相对含量的变化

A. 初休眠期；B. 深休眠期；C. 休眠后期。

Fig. 1 Changes of relative content of H_2O_2 in grape-bud treated with CaCN_2 at different dormancy stages

A. Early-dormancy; B. Deep-dormancy; C. Late-dormancy.

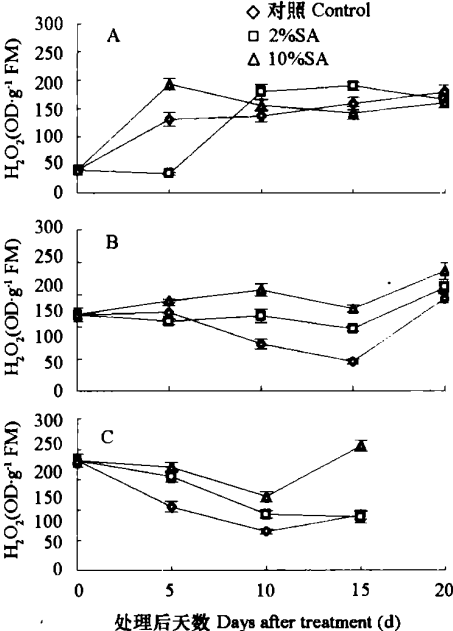


图 2 不同休眠期水杨酸处理后葡萄芽体内 H_2O_2 相对含量的变化

A. 初休眠期；B. 深休眠期；C. 休眠后期。

Fig. 2 Changes of relative content of H_2O_2 in grape-bud treated with SA at different dormancy stages

A. Early-dormancy; B. Deep-dormancy; C. Late-dormancy.

在深休眠期, 对照芽体 H_2O_2 在较高含量基础上 ($>120 \text{ OD} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FM}$) 先降低后期有所回升, 而处理的则先升后降, 但总体水平高于对照, 且石灰氮处理的芽体 H_2O_2 峰值高于水杨酸, 25%石灰氮处理高于 15%处理。在休眠后期, 对照和处理芽体 H_2O_2 在更高含量水平上 ($>180 \text{ OD} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FM}$) 呈下降趋势, 但处理高于对照。

2.3 不同休眠期石灰氮和水杨酸处理后芽体内 CAT、POD 和 SOD 活性的变化

图 3和图 4可以看出, 初休眠期对芽体施用石灰氮和水杨酸后温室培养, 对照芽体的 CAT在较高活性基础上 ($>21 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FM}$) 先上升后下降, 而两个处理则表现下降或有所波动, 且 CAT总体水平平均明显低于对照; 深休眠期和休眠后期, 对照和处理的芽体的 CAT基础活性很低 ($2 \sim 12 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FM}$), 变化幅度小, 但处理低于对照。

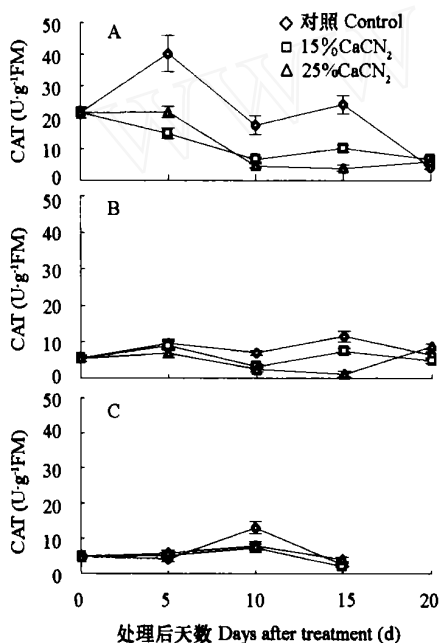


图 3 不同休眠期石灰氮处理后葡萄芽体内 CAT 活性的变化

A. 初休眠期; B. 深休眠期; C. 休眠后期。

Fig. 3 Changes of CAT activity in grape-bud treated with CaCN_2 at different dormancy stages

A. Early-dormancy; B. Deep-dormancy;
C. Late-dormancy.

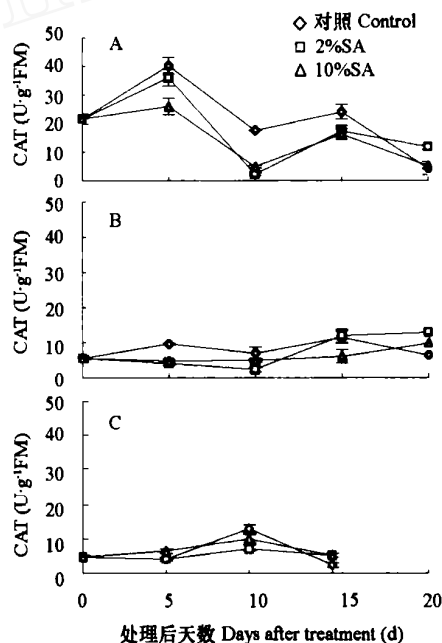


图 4 不同休眠期水杨酸处理后葡萄芽体内 CAT 活性的变化

A. 初休眠期; B. 深休眠期; C. 休眠后期。

Fig. 4 Changes of CAT activity in grape-bud treated with SA at different dormancy stages

A. Early-dormancy; B. Deep-dormancy;
C. Late-dormancy.

与 CAT的变化趋势不同, 初休眠期对照和处理芽体在培养期间的 POD活性总体呈缓慢下降趋势, 且差异不大; 到深休眠期均呈现先上升后下降的趋势, 但 25%石灰氮处理 (图 5和图 6) 的则明显高于其他处理和对照; 休眠后期亦呈先上升后下降趋势, 但处理的高峰值出现迟于对照, 也高于对照。

此外, 不同休眠期培养芽体的 POD基础活性水平差别很小 ($11 \sim 14 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FM}$)。

图 7和图 8表明, 初休眠期处理及对照芽体在培养期间的 SOD在较低活性基础上 ($218 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FM}$) 呈上升趋势, 但处理均低于对照; 到深休眠期, 对照和处理的 SOD在较高活性基础上 ($292 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FM}$) 总体亦呈上升趋势; 休眠后期的 SOD活性变化亦呈上升趋势, 但石灰氮处理的上升幅度高于对照和水杨酸处理, 尤其是 25%石灰氮处理的上升幅度最大。

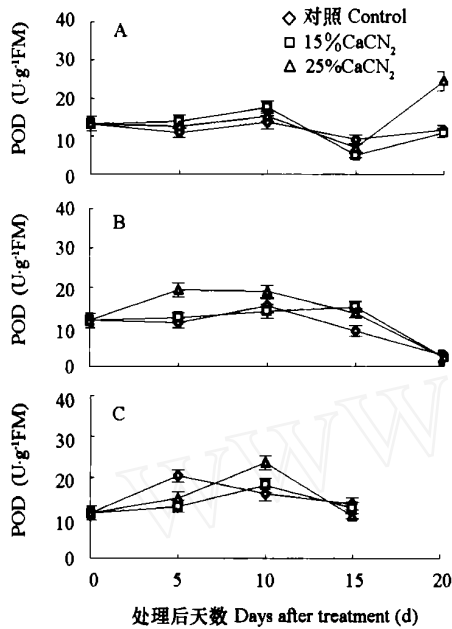


图5 不同休眠期石灰氮处理后葡萄芽体内 POD 活性的变化

A. 初休眠期; B. 深休眠期; C. 休眠后期。

Fig. 5 Changes of POD activity in grape-bud treated with CaCN₂ at different dormancy stages

A. Early-dormancy; B. Deep-dormancy; C. Late-dormancy.

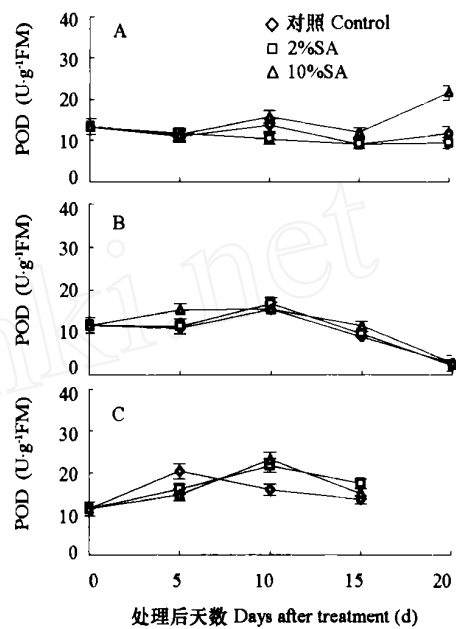


图6 不同休眠期水杨酸处理后葡萄芽体内 POD 活性的变化

A. 初休眠期; B. 深休眠期; C. 休眠后期。

Fig. 6 Changes of POD activity in grape-bud treated with SA at different dormancy stages

A. Early-dormancy; B. Deep-dormancy; C. Late-dormancy.

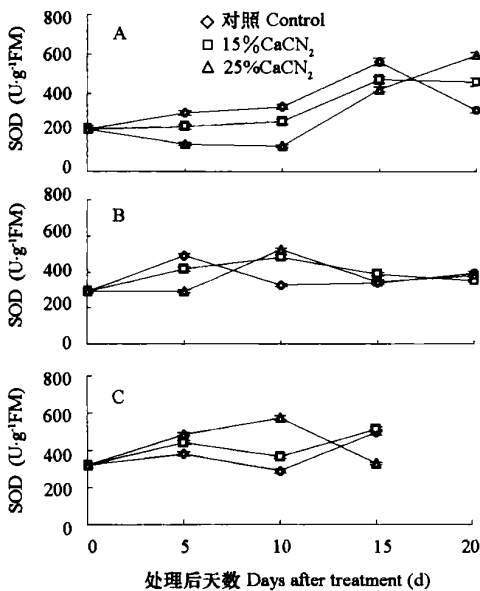


图7 不同休眠期石灰氮处理后葡萄芽体内 SOD 活性的变化

A. 初休眠期; B. 深休眠期; C. 休眠后期。

Fig. 7 Changes of SOD activity in grape-bud treated with CaCN₂ at different dormancy stages

A. Early-dormancy; B. Deep-dormancy; C. Late-dormancy.

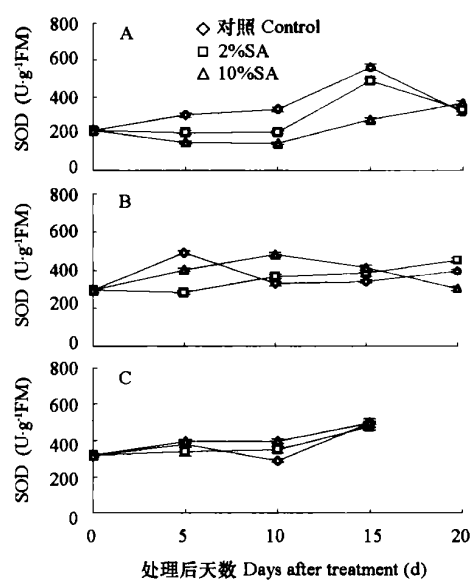


图8 不同休眠期水杨酸处理后葡萄芽体内 SOD 活性的变化

A. 初休眠期; B. 深休眠期; C. 休眠后期。

Fig. 8 Changes of SOD activity in grape-bud treated with SA at different dormancy stages

A. Early-dormancy; B. Deep-dormancy; C. Late-dormancy.

3 讨论

3.1 化学药剂打破葡萄休眠的效应

高东升等 (2002a) 发现石灰氮打破葡萄休眠效果稳定, 本试验亦表明了同样结果, 但存在浓度效应; 在深休眠期须用较高浓度 (25%) 处理才能表现出明显效果, 萌芽率达 41.6%, 大约能替代 50% 的需冷量。在休眠后期需冷量基本满足条件下 (韩浩章 等, 2007a), 石灰氮处理则表现出促进提早萌芽和提高萌芽率的效果。

本试验中水杨酸处理对葡萄破眠无效, 但对桃花芽破眠和萌发有一定效果 (韩浩章 等, 2007b), 说明休眠及其解除这一生理现象受环境和遗传的双重复杂影响, 不同年份、地点和种质之间的差异均影响着果树休眠的程度以及对外源化学物质施用后的生理敏感性和代谢方向。

3.2 施用化学药剂解除葡萄芽体休眠的生理机制探讨

虽然目前对化学药剂解除落叶果树休眠机制中涉及的有关活性氧及其抗氧化酶系统的变化及其因果关系尚存不同看法 (Nir et al, 1986; Nir & Lavee, 1993; 高东升 等, 2002a, 2002b), 但芽体中 H_2O_2 的含量在自然休眠期高水平积累、休眠解除 (需冷量满足) 时下降的变化规律却是许多研究的相同结果 (袁志友 等, 2002; 高东升 等, 2002a; 李宪利 等, 2002; 邵浩和马锋旺, 2004; 韩浩章 等, 2007a, 2007b), 因而 H_2O_2 可能作为休眠传递的信号物质, 对低温、破除休眠有效的化学药剂和摘叶等措施敏感 (高东升 等, 2002a; 李宪利 等, 2002; 邵浩和马锋旺, 2004; 段成国 等, 2005)。Shuman 等 (1986) 认为低温处理和施用化学药剂 (如 HCN) 都能降低芽体内 CAT 活性, 芽体休眠的打破需要氧化胁迫; 对活性氧的清除是促进休眠花芽代谢正常进行的基础 (段成国 等, 2005)。

本研究表明, 在深休眠期, 仅有 25% 石灰氮处理对葡萄破眠有较好效果; 与对照相比, 其处理芽体的 H_2O_2 含量进一步上升, 到培养后第 10 天达到高峰, 第 15 天又明显降到较低水平, 且此时芽已萌动; 通常认为植物细胞内的 H_2O_2 一般由 CAT 分解或被 POD 利用掉, 但 POD 活性又受 H_2O_2 的诱导 (高东升 等, 2002a), SOD 则能将超氧化物分解为基态氧和 H_2O_2 (李宪利 等, 2002); 所以 CAT 活性的下降和 SOD 活性的升高可能促进了前期 H_2O_2 的积累, 且诱导了 POD 活性的升高, 进而促进了休眠解除的启动。而后期 H_2O_2 含量的下降则可能是较高活性的 POD 清除所致, 并能减少对生物膜的伤害, 并进而诱导芽的萌发。本研究还表明, 休眠后期需冷量已满足的花芽在温室培养期间的 H_2O_2 含量从较高水平上迅速下降, 则可能是同期 CAT、POD 和 SOD 等抗氧化酶活性不同程度提高下的协同清除所致, 并促进细胞代谢活跃和芽的萌发; 但处理的 H_2O_2 含量和 POD、SOD 活性增加高于对照, 而 CAT 活性略低于对照, 则可能是芽体内活性氧和相关清除酶系统间更平衡的状态, 更有利于细胞代谢和芽的萌发, 因此萌芽时间早于对照, 萌芽率也高于对照。

总之, 破眠有效的化学药剂处理促进了 H_2O_2 含量的积累并在更高水平上明显下降, 与自然越冬状况下需冷量满足之际芽体 H_2O_2 含量在高水平上迅速下降表现一致 (高东升 等, 2002a; 邵浩和马锋旺, 2004), 进一步证明了落叶果树芽体的自然休眠及其解除需要一定时期高含量 H_2O_2 的积累, 而自然休眠解除后的萌芽, 则可能需要低含量 H_2O_2 的诱导 (Shuman et al, 1986; 高东升 等, 2002a; 邵浩和马锋旺, 2004; 韩浩章 等, 2007b)。

References

- Duan Cheng-guo, Li Xian-li, Liu Huan-fang, Gao Dong-sheng, Li Meng. 2005. Effects of defoliation on endogenous hormones and active oxygen metabolism of sweet cherry flower buds during dormancy. *Scientia Agricultura Sinica*, 38 (1): 203 - 207. (in Chinese)
- 段成国, 李宪利, 刘焕芳, 高东升, 李 萌. 2005. 摘叶对大樱桃休眠花芽内源激素及活性氧代谢的调控. *中国农业科学*, 38 (1): 203 - 207.

- 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 (2): 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 (2): 283 - 289.
- Gao Dong-sheng, Li Xian-li, Shu Huai-rui 2002a Effects of some chemicals on dormancy breaking of grape and peach trees. *Journal of Fruit Science*, 19 (6): 385 - 388. (in Chinese)
- 高东升, 李宪利, 束怀瑞. 2002a 几种化学药剂对破除葡萄与桃自然休眠的效果. *果树学报*, 19 (6): 385 - 388.
- Gao Dong-sheng, Shu Huai-rui, Li Xian-li 2002b The relationship of H_2O_2 content changes in buds with the endodormancy of fruit trees. *Acta Horticulturae Sinica*, 29 (3): 209 - 213. (in Chinese)
- 高东升, 束怀瑞, 李宪利. 2002b 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*, 29 (3): 209 - 213.
- Han Hao-zhang, Jiang Wei-bing, Fei Xian-jin, Cao Jing, Li Gang 2007. Effects of $CaCN_2$ and SA on H_2O_2 and activities of antioxidant enzymes and dormancy-release of 'Jinshanzhong' nectarine. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 23 (1): 60 - 66. (in Chinese)
- 韩浩章, 姜卫兵, 费宪进, 曹晶, 李刚. 2007. 石灰氮和水杨酸对破除 '金山早红' 油桃花芽休眠及其 H_2O_2 含量和抗氧化酶活性变化的影响. *江苏农业学报*, 23 (1): 60 - 66.
- Han Hao-zhang, Jiang Wei-bing, Fei Xian-jin, Cao Jing, Li Gang 2007. Changes in H_2O_2 content and activities of antioxidant enzymes of grape and nectarine during nature dormancy-release. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 30 (1): 50 - 54. (in Chinese)
- 韩浩章, 姜卫兵, 费宪进, 曹晶, 李刚. 2007. 葡萄和油桃自然休眠解除过程中 H_2O_2 含量和抗氧化酶活性的变化. *南京农业大学学报*, 30 (1): 50 - 54.
- Li Xian-li, Yan Tian-li, Gao Dong-sheng, Yuan Zhi-you 2002 Metabolic changes during low temperature induced dormancy release in 'NJ72' nectarine (*Prunus persica* L. Batsch). *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 10 (3): 27 - 29. (in Chinese)
- 李宪利, 闫田力, 高东升, 袁志友. 2002 低温在诱导油桃芽解除休眠过程中对代谢的影响. *中国生态农业学报*, 10 (3): 27 - 29.
- Lin Zhi-fang, Li Shuang-shun, Lin Gui-zhu 1988. The accumulation of hydrogen peroxide in senescing leaves and chloroplasts in relation to lipid peroxidation. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 14 (1): 16 - 22. (in Chinese)
- 林植芳, 李双顺, 林桂珠. 1988 衰老叶片中叶绿素中 H_2O_2 积累与膜脂过氧化的关系. *植物生理与分子生物学学报*, 14 (1): 16 - 22.
- Liu Feng-quan, Wang Jin-sheng 2002. Systemic induction of several defense response enzymes in rice seedlings by salicylic acid. *Plant Physiology Communications*, 38 (2): 121 - 123. (in Chinese)
- 刘凤权, 王金生. 2002 水杨酸对水稻防卫反应酶系的系统诱导. *植物生理学通讯*, 38 (2): 121 - 123.
- Nir G, Shulman Y, Fanberstein L. 1986. Changes in the activity of catalase (EC1.11.1.6) in relation to the dormancy of grapevine (*Vitis vinifera* L.) buds. *Plant Physiology*, 81: 1140 - 1142.
- Nir G, Lavee S. 1993. Metabolic changes during cyanamide induced dormancy release in grapevines. *Acta Horticulturae*, 329: 271 - 274.
- Rao M V, Paliyath G, Ommrod D P. 1996. Ultraviolet-B radiation and ozone-induced biochemical changes in the antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology*, 110: 125 - 136.
- Shao Hao, Ma Feng-wang 2004. Relationship between breaking of dormancy and reactive oxygen species metabolism in flower buds of pear. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 30 (6): 660 - 664. (in Chinese)
- 邵浩, 马锋旺. 2004 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*, 30 (6): 660 - 664.
- Shen Wen-biao, Ye Mao-bing, Xu Lang-lai 1997. Changes of ability of scavenging active oxygen during natural senescence of wheat flag leaves. *Acta Botanica Sinica*, 39 (7): 634 - 640. (in Chinese)
- 沈文彪, 叶茂炳, 徐朗莱. 1997 小麦旗叶自然衰老过程中清除活性氧能力的变化. *植物学报*, 39 (7): 634 - 640.
- Shulman Y, Nir G, Lavee S. 1986. Oxidative processes in bud dormancy and the use of hydrogen cyanamide in breaking dormancy. *Acta Horticulturae*, 179: 141 - 147.
- Uzun H I, Kuden A B, Dennis F G. 1997. Effects of hydrogen cyanamide application at various times, during dormancy on phenological stages and fruit characteristics of grapes. *Acta Horticulturae*, 441: 201 - 206.
- Wang S T, Faust M. 1994. Changes in the antioxidant system associated with budbreak in 'Anna' apple (*Malus domestica* Borkh.) buds. *Journal of America Society of Horticultural Science*, 119 (4): 735 - 741.
- Yang Tian-yi, Li Shi-cheng, Jiang Ai-li 2001. Study on the chilling requirement of grape cultivars and the methods for breaking the dormancy. *Journal of Fruit Science*, 18 (6): 321 - 324. (in Chinese)
- 杨天仪, 李世诚, 蒋爱丽. 2001. 葡萄品种需冷量及打破休眠研究. *果树学报*, 18 (6): 321 - 324.
- Yuan Zhi-you, Li Xian-li, Yan Tian-li 2002. Effects of several chemicals on dormancy-releasing of 'NJ72' nectarine. *Chinese Bulletin of Botany*

ny, 19 (5): 601 - 606. (in Chinese)

袁志友, 李宪利, 闫田力. 2002 几种化学药剂对 'NJ72' 油桃休眠解除的影响. 植物学通报, 19 (5): 601 - 606

Zhang Yun-tao. 1997. Methods for releasing the dormancy of deciduous fruit trees. World Agriculture, (4): 28 - 29. (in Chinese)

张运涛. 1997. 解除落叶果树休眠的方法. 世界农业, (4): 28 - 29.

Zhang Zhi-liang. 1990. Experiment guide in plant physiology. Beijing: Higher Education Press: 154 - 155. (in Chinese)

张志良. 1990. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社: 154 - 155.

夏蜡梅的离体培养和快速繁殖

顾福根*, 万志刚, 孙丙耀, 赵林川 (苏州大学生命科学学院, 苏州 215123)

In Vitro Culture and Rapid Propagation of *Sinocalycanthus Chinensis*

GU Fu-gen*, WAN Zhi-gang, SUN Bing-yao, and ZHAO Lin-chuan (School of Life Sciences, Suzhou University, Suzhou 215123, China)

关键词: 夏蜡梅; 茎段; 离体培养; 快速繁殖

中图分类号: S 685.17 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2007) 02-0324-01

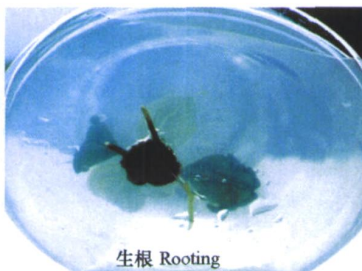
夏蜡梅 (*Sinocalycanthus chinensis* Cheng et S. Y. Chang) 为中国特有的第三纪孑遗植物, 特产于浙江临安、昌化、天台, 是蜡梅科唯一夏季开花的植物, 但种源数量稀少, 自然生境恶化, 处于濒危状态。夏蜡梅通常用播种和分株繁殖, 但结实率低, 生长和繁殖速度极慢。目前尚无采用组织培养的方法对夏蜡梅进行快速繁殖的研究报道。

作者于 7 月采浙江西天目山夏蜡梅当年生枝条, 剪取 1.5 cm 的带节茎段, 去叶片, 留 0.5 cm 的叶柄, 用洗洁精 500 倍稀释液清洗 5 min, 流水冲洗约 1 h, 再用 0.1% HgCl_2 溶液浸泡灭菌 8 ~ 10 min, 无菌水冲洗 5 ~ 6 次, 剥去叶柄, 露出叶柄下芽, 于芽上下各留约 0.4 cm 处剪切, 接种在 $\text{MS} + 6\text{-BA } 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{GA}_3 0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的启动培养基上培养。温度 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, 光照 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 。培养基中含琼脂粉 $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 5.8。增殖培养光照强度 $30 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 生根培养光照强度 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 培养基中含蔗糖 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

增殖培养: 将启动培养获得的无菌外植体转接到 $\text{MS} + 6\text{-BA } 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基上, 45 d 后腋芽生长至约 2.5 cm 时切下腋芽接种到 MS 分别加入 6-BA 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以及 NAA 0.1、0.2、0.3 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (共 15 个组合) 的增殖培养基, 45 d 后统计发现: 当 6-BA 浓度不变时, 随 NAA 浓度的提高, 试管苗高度有明显增高趋势, 侧芽分化率稍有降低。若 NAA 浓度不变, 随 6-BA 浓度增高, 试管苗高度变化不明显, 而丛芽分化率明显提高。综合考虑认为用 MS 附加 6-BA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 较为合适, 增殖率可达 2.85 (图版)。

生根培养: 切取增殖培养产生的丛芽接种到 1/2 MS 分别加入 NAA 0.2、0.5、1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 或 BA 0.2、0.5、1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基上, 1 个月后统计结果表明, 1/2 MS + BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 较为适宜。将试管苗接入此培养基后约 13 d, 出现嫩黄的根原基, 以后以每天约 2 mm 的速度生长, 21 d 后陆续有部分试管苗生根, 平均每株生根数达 3.27 条。

炼苗与移栽: 在试管苗根长 3 ~ 5 mm 时打开瓶盖注进一薄层水, 放在塑料大棚内适当遮阴, 早晚通风, 3 d 后倾去瓶内的水。7 d 后洗净粘附在根上的培养基移栽到穴盘中 (珍珠岩 草炭土 菜园土 = 1 : 1 : 1)。预先在穴盘表面喷洒 1 次多菌灵, 栽好后再喷 1 次; 移栽后 7 d 内保持湿度 85% ~ 90%。20 d 后顶芽开始生长, 30 d 后新叶展开, 移栽成活率达 92% (图版)。



收稿日期: 2007 - 01 - 25; 修回日期: 2007 - 04 - 06

基金项目: 苏州市农业科技发展计划攻关项目 (snz-0305)

* E-mail: gufugen64@163.com; Tel: 0512-65880172