

光周期对油桃芽休眠诱导及呼吸代谢的影响*

谭 钺^{1,2} 李 玲^{1,2} 李冬梅^{1,2} 陈修德^{1,2} 李 瑾³ 高东升^{1,2**}

(¹山东农业大学园艺科学与工程学院 泰安 271018)

(²作物生物学国家重点实验室 泰安 271018)

(³山东省曲阜市林业局 曲阜 273100)

摘 要 以‘曙光’(*Prunus persica* var. *nectariana* cv. Shuguang)油桃为试材,研究光周期对油桃芽休眠诱导进程以及对芽内底物水平的呼吸代谢运行的影响。结果表明:短日照使油桃芽提前进入休眠诱导,并促进休眠迅速加深,而长日照使休眠延迟。整个休眠诱导期内,叶芽和花芽的总呼吸速率先升高后降低。在底物水平上,随着休眠诱导的进行,三羧酸循环(TCA)略有下降,但仍维持高位运行,磷酸戊糖途径(PPP)在总呼吸中比例持续上升。短日照诱导相关的呼吸代谢变化提前出现,而长日照对相关呼吸代谢的变化具有推迟作用。图4 表1 参24

关键词 光周期; 休眠诱导; 油桃芽; 三羧酸循环; 磷酸戊糖途径

CLC Q945.35 : S662.1

Effects of Photoperiod on Dormancy Induction and Respiration of Nectarine Buds*

TAN Yue^{1,2}, LI Ling^{1,2}, LI Dongmei^{1,2}, CHEN Xiude^{1,2}, LI Jin³ & GAO Dongsheng^{1,2**}

(¹College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, Shandong, China)

(²State Key Laboratory of Crop Biology, Tai'an 271018, Shandong, China)

(³Forestry Bureau of Qufu, Qufu 273100, Shandong, China)

Abstract The effect of photoperiod on the bud respiration based on substrate level during dormancy induction were studied with ‘Shuguang’ nectarine (*Prunus persica* var. *nectariana* cv. Shuguang) using oxygen-electrode system and respiratory inhibitors. The results showed that the total respiration of both leaf and blossom buds presented single peak curves during dormancy induction. On the substrate level, the tricarboxylic acid cycle (TCA) slightly decreased but still kept at a high level while the pentose phosphate pathway (PPP) increased during the whole period. Short-day radiation brought the buds into dormancy earlier and accelerated its deepening while long-day radiation had opposing effects. Relevant respiration was also advanced by short-day radiation treatment. Long-day radiation delayed the dormancy and had opposite influences on respiration. Fig 4, Tab 1, Ref 24

Keywords photo period; dormancy induction; nectarine bud; tricarboxylic acid cycle; pentose phosphate pathway

CLC Q945.35 : S662.1

周年生长的特性决定了木本植物需要在不同光照条件下完成生长发育,光周期在生长节奏的调整中具有重要的作用,并被广泛认为是影响木本植物自然休眠的重要因子。短日照能够诱导挪威槭、杨树、云杉等枝条停止生长,枝条顶端生长锥突起形成顶芽,最终进入休眠状态^[1~2]。而随着日长的增长,某些木本树种的还会出现生长恢复的现象,珠眉苹果在长日照条件下枝条加长生长增强,短日照条件下则急剧

减弱^[3]。虽然对美洲葡萄、桑树、杨树的研究表明单一短日照处理可以诱导木本植物提前停长进入休眠^[4~5],但也有观点认为光周期对休眠的诱导作用因树种而异,某些木本植物如杉树^[6]、苹果和梨^[7]等必须在短日照和低温共同作用或只在单一低温作用下才能完成休眠诱导。

关于光周期对休眠的影响机制,目前仍未形成完整的理论体系。许多研究表明呼吸代谢的变化与休眠有着密切的关系。在有效低温积累达到需冷量的80%后,苹果休眠芽呼吸速率开始上升^[8],并且呼吸速率的变化与代谢效率的变化不相符^[9],说明休眠过程中代谢模式发生变化。关于呼吸途径的研究大多集中在休眠解除上,已经证明磷酸戊糖途径在休眠期间活性提高,但此途径具体活化过程以及光周期对此过程的影响还缺少充分的研究^[10~12]。本研究以‘曙光’油桃为

收稿日期: 2011-09-29 接受日期: 2011-10-28

* “十二五”国家科技支撑计划项目(No. 2011BAD12B02)和山东省优秀中青年科学家科研奖励基金(No. BS2011NY011)资助
Supported by the Key Sci-tech Project of the “12th 5-year-plan” of China (No. 2011BAD12B02) and the Shandong Research Rewarding Funds for Distinguished Young and Middle-aged Scientists (No. BS2011NY011)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: dsgao@sdaa.edu.cn)

试材,在不同日照长度处理下,测定秋梢生长量及芽萌发时间,分析光周期对桃芽休眠的诱导作用,并对休眠诱导期花芽、叶芽的总呼吸速率和底物水平上主要呼吸途径的运行进行研究,探讨光周期对呼吸代谢运行规律的影响,以了解光周期和呼吸代谢在休眠诱导中可能的作用以及相互关系,为自然休眠的人工调控和无休眠栽培提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料处理

试验于2010年8月至11月在山东农业大学园艺实验站和设施果树实验室进行。试材为10年生露天栽培‘曙光’油桃 (*Prunus persica* var. *nectariana* cv. *Shuguang*),株高2.5~3 m,树体生长健壮,生长势一致,试验期间正常管理。

长日照处理(LD):于不同角度内置规格为500 W的碘钨灯,共计4根,分别于早、晚进行补光处理,保持昼/夜为15 h/9 h的照光处理,平均光强约为 $400\ \mu\text{mol}\ \text{m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$,自然温度。短日照处理(SD):小区定时以无纺布遮盖,保持短日照条件,昼/夜9 h/15 h的照光处理,自然温度。对照(CK):自然条件。

1.2 休眠状态的确定

利用芽萌发时间和新梢生长变化两项指标确定芽的休眠状态。

参照Jian等的方法^[5],自处理之日起,每隔7 d采集树冠外围生长健壮一致的新梢,每种处理3次重复,每重复随机采集8条新梢,去掉叶和5 cm顶部梢端,采用清水培养法确定休眠状态。具体培养条件:气温,昼/夜25 °C/21 °C;光照强度 $400\ \mu\text{mol}\ \text{m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$;光照时间:光/暗14 h/10 h;相对空气湿度80%~90%。当第一芽萌发所需时间 $\geq 10\ \text{d}$ 时,表示桃芽自然休眠的诱导已经开始;第一芽萌发所需时间 $\geq 40\ \text{d}$ 时,表示桃芽进入深休眠。

自处理之日起,每处理选择12条树体中部外围生长势一致的1年生新梢,标记后每7 d测量一次新梢长度,3次重复。

1.3 呼吸速率的测定

自8月17日起,每隔7 d采集芽体,采用氧电极及抑制剂

法进行呼吸速率测定,以氧气消耗速率表示呼吸速率,所用仪器为英国Hansatech公司生产的Oxy-Lab氧电极自动测定系统。以丙二酸(琥珀酸脱氢酶的竞争性抑制剂)作为三羧酸循环(TCA)的抑制剂,以 Na_3PO_4 (葡萄糖-6-磷酸脱氢酶的专一性抑制剂)作为磷酸戊糖途径(PPP)的抑制剂^[10~11]。

准确称取0.1 g花芽(叶芽),去除表层鳞片并切成两半,充分抽气后置入反应杯中,以蒸馏水为介质,在20 °C恒温下对氧浓度变化进行实时监测,待反应曲线稳定并达一定长度后停止反应,记录数据。测定各呼吸途径速率时将反应介质由蒸馏水换为抑制剂溶液,浓度均为 $50\ \text{mmol}\ \text{L}^{-1}$ 。具体测定及计算方式见表1。

表1 呼吸参数及其测定

Table 1 The determination of respiratory parameters

呼吸参数 Parameter	测定及计算方式 Measurement and calculation
R 总呼吸速率 Total respiration	无抑制剂时的耗氧速率 O_2 uptake without the presence of any inhibitors
R_{res1} 剩余呼吸1 Residual respiration 1	丙二酸存在时的耗氧速率 O_2 uptake in the presence of malonic acid
R_{res2} 剩余呼吸2 Residual respiration 2	丙二酸和 Na_3PO_4 同时存在时的耗氧速率 O_2 uptake in the presence of malonic acid and Na_3PO_4
R_{TCA} TCA速率 Rate of TCA	$R_{\text{TCA}} = R - R_{\text{res1}}$
R_{PPP} PPP速率 Rate of PPP	$R_{\text{PPP}} = R_{\text{res1}} - R_{\text{res2}}$
P_{TCA} TCA比例 Proportion of TCA	$P_{\text{TCA}} = (R_{\text{TCA}}/R) \times 100\%$
P_{PPP} PPP比例 Proportion of PPP	$P_{\text{PPP}} = (R_{\text{PPP}}/R) \times 100\%$

2 结果与分析

2.1 光周期对油桃芽休眠诱导进程的影响

光周期处理明显影响了油桃的休眠进程。由图1-A可见,在秋季自然条件下,‘曙光’油桃新梢生长速度逐渐减缓,并在9月14日停止生长。在长日照处理中,新梢在处理前期仍然

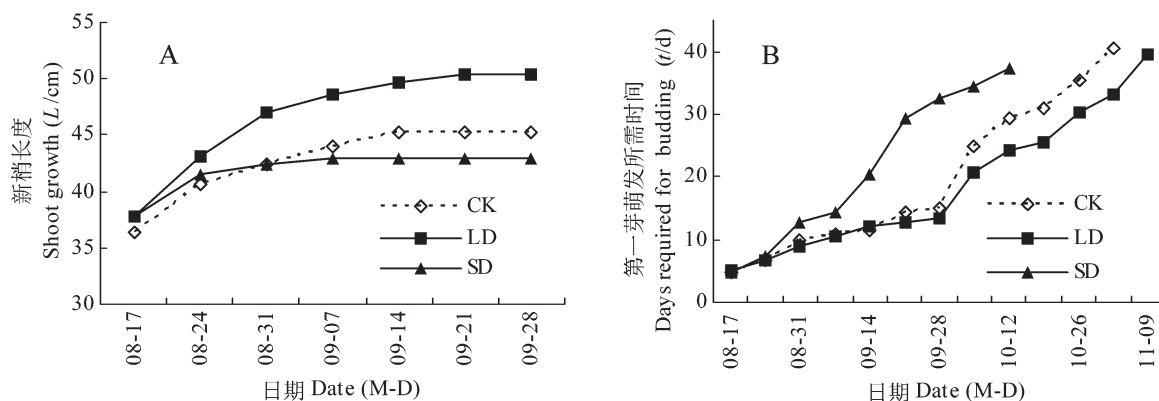


图1 不同光周期处理对‘曙光’油桃休眠进程的影响

Fig. 1 Effects of photoperiod on dormancy process of ‘Shuguang’ nectarine

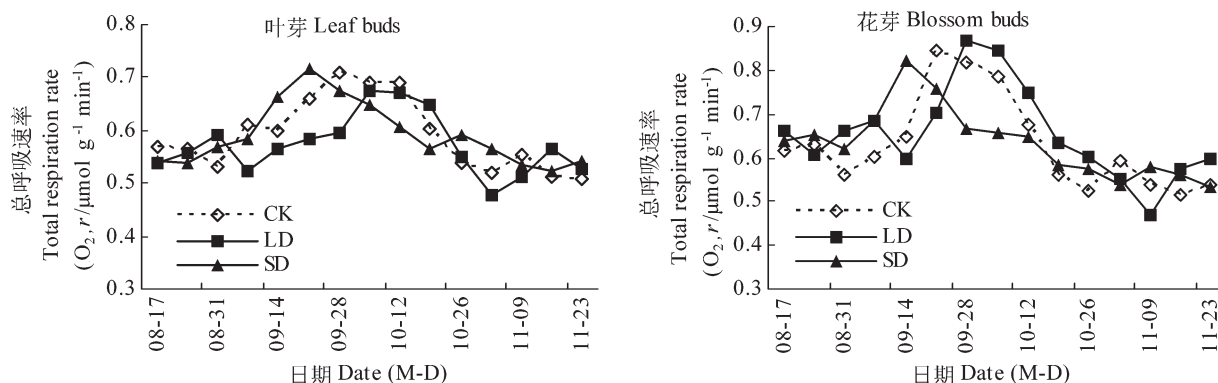


图2 不同光周期处理对‘曙光’油桃芽总呼吸速率的影响

Fig. 2 Effects of photoperiod on total bud respiration of ‘Shuguang’ nectarine

保持了较快的生长速度,但后期生长速度也减缓,最终在9月21日停止生长,比对照延迟7 d。短日照处理使新梢的生长速度明显减缓,并在9月7日停止生长,比对照提前7 d。

不同时期的曙光油桃枝条萌芽所需时间如图1-B所示。自然条件下,8月31日采集的枝条第一芽萌发所需时间达到10 d,说明此时大田‘曙光’油桃开始进入休眠诱导期,至11月2日,采集的样品在40 d内无萌发迹象,说明此时大田‘曙光’油桃已进入深休眠。长日照延迟了‘曙光’油桃的休眠进程,处理材料在9月14日才进入休眠诱导期,并在11月9日进入深休眠,分别比对照延迟7 d和14 d。短日照处理的‘曙光’油桃与对照同在8月31日进入休眠诱导期,但此后其芽萌发所需时间迅速增加,在10月12日就进入深休眠,比对照提前21 d。

2.2 光周期对桃芽总呼吸强度的影响

休眠诱导期内,‘曙光’油桃芽的总呼吸强度变化表现为单峰曲线。自然条件下,花芽和叶芽的呼吸强度在经过短时间的稳定期后,均在9月14日开始迅速上升,并在9月21日达到峰值(图2)。其中,叶芽峰值比前期呼吸强度平均值提高23.4%,花芽峰值比前期呼吸强度平均值提高37.8%。此后,叶芽总呼吸速率逐渐回归到初始水平,而花芽总呼吸降低至略低于初始强度的水平。

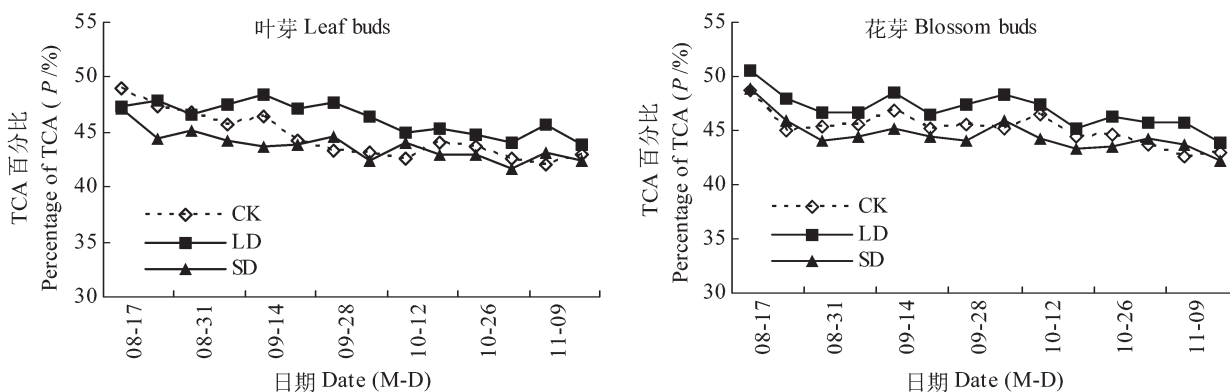


图3 不同光周期处理对‘曙光’油桃芽三羧酸循环运行比例的影响

Fig. 3 Effects of photoperiod on TCA contribution in buds of ‘Shuguang’ nectarine

不同光周期条件下,芽总呼吸强度的变化与对照相似,但峰值出现的时间不同(图2)。长日照处理下叶芽和花芽呼吸速率峰值的出现均比对照延迟约7 d,峰值分别比前期平均值提高19.1%和29.3%;短日照处理下,叶芽和花芽呼吸速率峰值的出现时间均比对照提前7 d,峰值分别比前期平均值提高28.2%和26.8%。

2.3 光周期对桃芽呼吸代谢途径的影响

如图3所示,休眠诱导期内,不同光周期条件的桃芽TCA途径在总呼吸中所占的比例均略有下降,由47%~50%下降到41%~44%。长日照处理使TCA运行比例高于对照,短日照处理与对照间没有明显差异。叶芽中TCA运行比例的下降较为平缓,而花芽中TCA运行比例的下降主要出现在8月31日之前。

桃芽PPP途径的运行比例在休眠诱导期呈稳定的上升趋势,由不足10%提高到20%以上(图4)。长日照使PPP的运行比例低于对照,而短日照使其高于对照。至试验结束,不同光周期处理的叶芽PPP的运行比例均提高到初始值的3倍左右,而花芽中PPP的运行比例提高到初始值的2.7倍左右。

3 讨论

光周期被认为是诱导休眠的重要因子之一,夏末秋初落

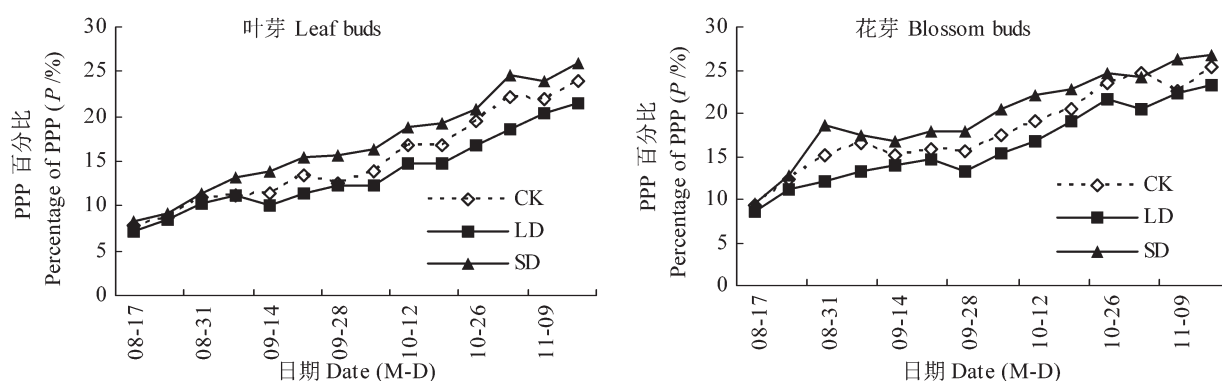


图4 不同光周期处理对‘曙光’油桃芽磷酸戊糖途径运行比例的影响
Fig. 4 Effects of photoperiod on PPP contribution in buds of ‘Shuguang’ nectarine

叶果树往往出现生长停滞,进而出现休眠芽。在短日照条件下,挪威槭、杨树、云杉等枝条都会出现生长停止^[2]。简令成等通过同时控制温度和光周期,证实光周期缩短是诱导桑树、杨树等木本植物进入休眠的必要条件^[5]。但也有学者认为苹果和梨的休眠由低温诱导而非光周期^[13]。本试验未设计单独的低温试验,无法确定低温对桃树休眠是否有诱导作用,但试验结果显示,日照长度缩短能够显著诱导休眠的提前,并促进休眠迅速加深;而长日照延缓新梢的停长、推迟休眠发生,推迟深度自然休眠的来临。因此,在油桃生产中,理论上可以通过调节光周期使休眠诱导提前,进而通过人工预冷使休眠解除提前。

呼吸代谢是植物维持生命活动的基本代谢活动之一,呼吸代谢的途径和类型都具有多样性,代谢模式的改变能够与细胞、组织或机体的功能和活动状态密切相关、相互影响^[14]。呼吸代谢的控制和被控制过程同时也受到生长发育和不同环境条件的影响,自然休眠期内呼吸强度的改变与休眠的状态及进程关系密切^[15-16]。本试验结果表明,休眠诱导期内桃芽总呼吸强度先升高后下降,短日照使呼吸代谢的变化提前,而长日照使其延后。休眠诱导是芽分生组织状态转换的过程,呼吸强度的暂时提高可能与芽生理状态的转变有关,并涉及代谢模式的转换。虽然有研究表明光周期现象与呼吸代谢变化有关^[17],但光周期通过何种方式影响呼吸代谢,目前仍然没有结论。

休眠诱导期内呼吸代谢的变化是多条呼吸途径共同作用的结果,呼吸代谢在电子传递水平上的变化与休眠诱导密切相关^[18]。本试验结果显示,呼吸途径在底物水平上的转变同样与休眠诱导有着密切的关系。曙光油桃桃芽伴随着休眠诱导的进行,TCA途径略有下降,但运行比例始终高于PPP,这说明在休眠诱导期TCA仍然在能量代谢中占据主要地位。TCA途径其偶联的高效氧化磷酸化产生大量的ATP^[19],该途径运行的稳定对于休眠诱导期间桃芽能量代谢的维持具有积极作用。休眠诱导期桃树芽内PPP运行比例呈现出明显的

上升趋势,并持续到休眠诱导结束。Simmonds和Simpson在野燕麦休眠过程中也检测到EMP/TCA途径到PPP途径的转变以及G6PDH活性的变化^[20]。因此,PPP的活化可以作为植物进入休眠诱导期的标志。木本植物自然休眠的主要目的是抵御冬季低温,短日照诱导杨树进入休眠的同时使分生组织细胞发生一系列有利于抵御外界环境的变化^[1,5],PPP的活化与此相适应。PPP途径的效率提高增加了某些中间产物(如戊糖、赤藓糖-4-磷酸)和NADPH的含量,这些物质对确保植物及时利用ATP释放的能量并合成与抗冻性发育有关的蛋白质和脂类物质有重要作用^[21-22]。PPP关键酶葡萄糖-6-磷酸脱氢酶参与包括氧化胁迫和盐胁迫在内的多种胁迫反应,在维持抗氧化系统的正常运行中起着重要作用^[22-24]。

References

- Jian LC (简令成), Lu CF (卢存福), Deng JM (邓江明), Li JH (李积宏), Li PH. Inducing factor and regulating role of intracellular Ca^{2+} level for woody plant bud dormancy. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 2004, **10** (1): 1~6
- Shimizu-Sato S, Mori H. Control of outgrowth and dormancy in axillary buds. *Plant Physiol*, 2001, **127** (4): 1405~13
- Gorter CJ. Photoperiodism of flowering in Lombartscaville apple. *Hort Res*, 1965, **5**: 1~4
- Fennel A, Hoover E. Photoperiod influences growth, bud dormancy and cold acclimation in *Vitis labruscana* and *V. riparia*. *J Amer Soc Hort Sci*, 1991, **116**: 270~273
- Jian LC, Li PH, Sun LH, Chen THH. Alteration in ultrastructure and subcellular localization of Ca^{2+} in poplar apical bud cells during the induction of dormancy. *J Exp Bot*, 1997, **48**: 1195~1270
- Tung CH, Deyoe DR. Dormancy induction in container-grown abies seedlings: Effects of environmental cues and seedlings age. *New For*, 1991, **5**: 13~22
- Heide OM, Pestrud AK. Low temperature, but not photoperiod, controls growth cessation and dormancy induction and release in apple and pear.

- Tree Physiol*, 2005, **25**: 109~114
- 8 Young E, Dautlick TK, Belding RD. Respiratory changes during dormancy breaking of apple trees. *Acta Hort*, 1995, **395**: 21~34
- 9 Carvajal ME, Goycoolea VF. Calorimetric characterization of apple bloom. *Agrociencia*, 2000, **34**: 543~551
- 10 Atkin OK, Zhang Q, Wiskich JT. Effect of temperature on rates of alternative and cytochrome pathway respiration and their relationship with the redox poise of the quinone pool. *Plant Physiol*, 2002, **128**: 212~222
- 11 Tan Y, Gao DS, Li L, Chen XD, Xu AH. Respiratory response of dormant nectarine floral buds on chilling deficiency. *Agric Sci Chin*, 2010, **9** (10): 1448~1454
- 12 Li DM (李冬梅), Tan QP (谭秋平), Zhang HS (张海森), Gao DS (高东升), Yu Q (于芹). Effects of photoperiod on cyanide-resistant respiration of nectarine leaf buds during dormancy induction. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 2011, **26** (6): 775~778
- 13 Heide OM, Prestrud AK. Low temperature, but not photoperiod, controls growth cessation and dormancy induction and release in apple and pear. *Tree Physiol*, 2005, **25**: 109~114
- 14 Tang PS (汤佩松). Regulation and control of multiple pathways of respiratory metabolism in relation to other physiological functions in higher plants. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1979, **21**: 93~10
- 15 Li X (李霞), Li XL (李宪利), Gao DS (高东升). Respiratory changes during dormancy of the buds of the deciduous fruit trees. *J Shandong Agric Univ Nat Sci Ed* (山东农业大学学报自然科学版), 2003, **34** (2): 185~188
- 16 Li ZH (李政红), Gao DS (高东升), Li XL (李宪利). The relation between en-dormancy and changes in two main electron transport pathways of nectarine (*Prunus persica* var. *nectariana*) buds. *J Plant Physiol Mol Biol* (植物生理与分子生物学学报), 2006, **32** (2): 156~162
- 17 Elliott BB, Leopold AC. A relationship between photoperiodism and respiration. *Plant Physiol*, 1952, **27** (4): 787~793
- 18 Yu Q (于芹), Gao DS (高东升), Xu XM (徐小明), Li J (李瑾), Xu CS (徐臣善). Relationship between endodormancy induction and changes in two main electron transport pathways of nectarine buds. *Sci Agr Sin* (中国农业科学), 2008, **41** (12): 4149~4154
- 19 Ching TM. Temperature Regulation of Germination in Crimson Clover Seed. *Plant Physiol*, 1975, **56**: 768~771
- 20 Simmonds JA, Simpson GM. Increased participation of pentose phosphate pathway in response to afterripening and gibberelic acid treatment in caryopses of *Avena fatua*. *Can J Bot*, 1971, **49**: 1833~1840
- 21 Huang J (黄骥), Wang JF (王建飞), Zhang HS (张红生). Advances on plant pentose phosphate pathway and its key enzymes. *Chin Bull Bot* (植物学通报), 2004, **21** (2): 139~145
- 22 Nemoto Y, Sasakuma T. Specific expression of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) gene by salt stress in wheat. *Plant Sci*, 2000, **158**: 53~60
- 23 Hauschild R, Von Schaewen A. Differential regulation of glucose-6-phosphate dehydrogenase isoenzyme activities in potato. *Plant Physiol*, 2003, **133**: 47~62
- 24 Salvemini F, Franzé A, Iervolino A, Filosa S, Salzano S, Ursini MV. Enhanced glutathione levels and oxidoresistance mediated by increased glucose-6-phosphate dehydrogenase expression. *J Biol Chem*, 1999, **274**: 2750~2757