

不同破眠处理对阳光玫瑰葡萄冬芽萌发的影响¹

饶余倩¹, 黄亚倩¹, 夏龙腾², 杨国顺¹, 王美军¹, 刘昆玉^{1*}, 许延帅^{1*}

(¹湖南农业大学园艺学院·湖南省葡萄工程技术研究中心, 长沙 410128; ²永州市柑橘科学研究所, 湖南永州 425045)

摘要:【目的】为寻找阳光玫瑰葡萄理想安全的破眠方法以及探究其破眠机制。【方法】本研究以阳光玫瑰葡萄冬芽为试材, 通过研究类休眠阶段和生理休眠阶段不同破眠处理对葡萄萌芽率、成花率和花穗质量的影响, 并通过转录组测序筛选了可能影响葡萄冬芽萌发的关键基因。【结果】在萌芽前1个月对阳光玫瑰葡萄冬芽进行单氰胺处理、石硫合剂+ACC处理, 均能使萌芽提前, 显著提高萌芽率, 不影响成花率及花穗质量。通过分析转录组数据, 筛选了 *PYL4*、*PP2C24*、*PP2C8*、*PP2C37*、*PP2C25*、*SAPK2* 等差异表达基因, 这些基因可能通过参与激素信号传导、氧化应激等途径影响葡萄芽的萌发。【结论】5 °Be 石硫合剂+0.25 mg mL⁻¹ACC 是阳光玫瑰葡萄打破休眠的一种安全、有效的药剂。

关键词: 葡萄; 休眠; 萌芽; 转录组

Effects of different bud dormancy breaking treatments on winter bud germination of Shine Muscat grape

RAO Yuqian¹, HUANG Yaqian¹, XIA Longteng², YANG Guoshun¹, WANG Meijun¹, LIU Kunyu^{1*}, XU Yanshuai^{1*}

(1 College of Horticulture, Hunan Agricultural University/Hunan Engineering and Technology Research Center for Grapes, Changsha 410128, Hunan, China; 2 Yongzhou Citrus Scientific Research Institute, Yongzhou 425045, Hunan, China)

Abstract:【Objective】This study aims to find an ideal and effective bud dormancy break method for Shine Muscat grapes and to explore the gene express level of bud dormancy break by using H₂CN₂ and 'lime sulfur mixture+ACC'.【Methods】By using the winter buds of 'Shine Muscat' grapes as material, we studied the effects of different bud dormancy breaking treatments in the endodormancy stage and paradormancy stage on germination rate, flowering rate and inflorescence quality, and screened the possible effects on grape winter buds through transcriptome sequencing, and the key genes that may affect grape winter bud germination were screened through transcriptome sequencing.【Results】The winter buds on the isolated branches of the Shine Muscat grape in the endodormancy stage were treated with cyanamide (T1) and 'lime sulfur mixture + ACC' (T2) at one month before germination stage. The results showed that the T1 treatment sprouted earliest, followed by the T2 treatment, and finally the CK group. The overall germination speed of each treatment showed a trend of slow first and then fast. In terms of germination rate, the germination rate of T2 treatment was the highest at 85.80%, followed by T1 treatment and CK group,

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32172519); 湖南省自然科学区域联合基金 (2023JJ50063)

作者简介: 饶余倩, 女, 在读硕士研究生, 研究方向为果树生理与栽培。Tel: 18074468426, E-mail: 1248780906@qq.com

*通讯作者 Author for correspondence. Tel: 18874880200, E-mail: yx56@hunau.edu.cn

with germination rates of 81.48% and 66.05% respectively. And the germination rates after T1 treatment and T2 treatment were significantly higher than those of the CK group. The growth and development dynamics of winter buds on isolated branches were observed, and it was found that the winter buds treated with T1 and T2 all grew 2 to 3 new leaves on March 21, 2022. T1 treatment sprouts the earliest, T1 and T2 sprout more neatly; In the Control group, 2 to 3 new leaves were grown on April 2, 2022, and the growth was relatively slow and the sprouts were irregular. In August 2022, cyanamide treatment (H_2CN_2 , T1) and 'lime sulfur mixture + ACC' treatment (T2) was carried out on the winter buds of Shine Muscat grapes in the paradormancy stage, the results showed that the T1 treatment sprouted earliest, followed by the CK group, and T2 treatment. The germination speed of among each treatment showed a trend of first slow and then fast as well. The germination rate of T2 treatment was the highest, which was 69.70%, followed by T1 treatment and CK group, with germination rates of 65.66% and 41.41% respectively. The germination rate of T1 and T2 treatment was significantly higher than that of the CK group. In February 2023, by treating the winter buds of Shine Muscat grapes in the endodormancy stage with cyanamide (T1) and 'lime sulfur mixture + ACC' (T2), The results showed that the T2 treatment had the highest germination rate of 97.22%, followed by the T1 treatment and CK group, with the germination rates of 96.43% and 76.19% respectively. From 25 days post treatment to the end of counts, the germination rate of T1 and T2 treatments shows significantly higher level than the CK group. There is no significant difference in the inflorescence rate under T1 and T2 treatments compared with the CK group. At the same time, and the length of inflorescence was not influenced as well; The growth status of the branches was observed, and the results showed that, compared with the CK group, the leaves grew fastest after the T1 treatment on April 3, 2023, followed by the T2 treatment. On April 29, 2023, the leaf growth rate, leaf size, and internode length after T1 and T2 treatments had no significant impact compared with the CK group. Six samples in the endodormancy stage (winter buds were collected at 24 h and 72 h after CK group, T1 treatment, and T2 treatment) and six samples in the paradormancy stage (CK group, T1 treatment, and T2 treatment were collected at 24 h and 72 h after winter bud) for transcriptome analysis, a total of 4399 differentially expressed genes were obtained by using $|\log_2\text{fold changes}| \geq 1$, $FDR < 0.01$ as the filtering parameters, 4399 significantly different genes (DEGs) can be divided into 8 clustering groups. Among all the DEGs, in W-CK-72 samples and W-HC-72 samples of the endodormancy stage samples, 10 genes were annotated as transcription factor coding genes, which were all related to bud germination. There transcription factors of them were up-regulated and 7 transcription factors were up-regulated. In addition, 10 genes were annotated as being involved in the biosynthesis or signal transduction processes of hormones such as auxin, gibberellins, abscisic acid, and brassinosteroids; Five gene were related to the ABA signaling pathway, among them, *PYL4* and *PP2C25* genes shows up-regulated expression, while *PP2C24*, *PP2C8* and *PP2C37* genes have down-regulated expression; The *SAPK2* gene which related to the Snrk2 family was down regulated expression; The remaining differential genes screened are related to oxidative stress, glutathione S-transferase, etc. These candidate genes may affect grape bud germination by participating in hormone signaling, oxidative stress and other pathways. **【Conclusion】**The mixed solution of 'lime sulfur + ACC' is a safe and effective agent for breaking the bud dormancy of 'Shine Muscat' grapes. Genes such as hormone signaling and oxidative stress may respond to the dormancy release process.

Key words: grape; dormancy; bud break; transcriptome

葡萄 (*Vitis vinifera*. spp) 是多年生落叶藤本植物, 栽培历史悠久。中国是葡萄生产大国, 2020 年我国葡萄产量为 1 431.4 万 t, 居世界前列。休眠是落叶果树的典型特征, 是植物应对外界环境变化和季节变化的一种生物适应性, 是植物生长发育过程中的一个周期性时期^[1]。葡萄作为一种典型的落叶果树, 萌芽整齐度与产量密切相关^[2]。南方地区是近年来发展最快的葡萄产区之一, 但在南方地区, 由于树形培养管理 (1 年生枝条的培养) 不当和需冷量积累不足, 导致萌芽不整齐, 造成在后期冬季修剪和盛花期花果管理上更加费时费工等问题。目前, 单氰胺虽被广泛应用于打破葡萄休眠, 但其本身具有很强的毒性, 使用过程中需要戴口罩、手套等, 操作不便。因此, 寻找一种可以有效打破休眠且理想安全的破眠方法尤为重要。

多年生落叶植物芽休眠是一种十分复杂的过程, 受到多条通路基因的综合调控^[3]。当植物芽开始进入休眠阶段时, 可以抵御外界不良条件, 暂时停止生长, 当外界环境适宜时, 植物可恢复正常生长, 是一种对植物有利的生物学特征。1987 年, Lang^[1]等根据休眠的诱因把芽休眠分为内休眠、类休眠和生态休眠三大类, 并将休眠的整个过程分为五个阶段: 类休眠、类休眠-内休眠、内休眠、内休眠-生态休眠和生态休眠。内休眠 (生理休眠, Endodormancy) 发生在冬季, 由植物内部原发性反应引起的生长停滞现象, 这种原发性反应由休眠组织内部信号独自诱导引发^[4]。处于内休眠阶段的芽, 即使在有利的环境条件, 且没有附近器官的限制, 也不能萌动, 只有达到一定的低温积累后才能解除休眠。类休眠 (Paradormancy) 是由分生组织外的因子引起的植物生长暂停, 本质上是一个器官对另一个器官的影响, 如芽的顶端优势^[5]。处于类休眠阶段的芽, 即使在环境条件有利时仍保持休眠, 但若除去相邻器官的限制源, 则休眠结构会迅速恢复生长。生态休眠 (Ecodormancy) 是指冬芽从生理休眠中释放后, 由于环境因子限制暂未萌发, 环境条件适宜时即可迅速恢复生长^[4]。

休眠和萌发是两个连续的生物过程, 芽休眠是温带落叶果树的一种适应机制^[4]。葡萄的内休眠需要在经历一定的低温积累后才能自然打破, 这种特性成为“需冷量” (Chilling requirement), 葡萄的需冷量一般需要 0~7.2 °C 的低温积累 600~1000 h。为使落叶果树能够在低纬度地区正常生长发育, 人们通常通过使用氰氨类、硝酸盐类、植物生长调节剂 (GA₃、6-BA、TDZ 等)、大蒜汁、乙烯、破眠剂 1 号等化学物质来代替部分低温的作用, 提早打破休眠, 使休眠芽提前萌发。

植物激素在芽休眠的形成与解除过程中发挥重要的调节作用, 不同的植物激素以不同的作用方式来诱导和解除芽休眠。ABA 对萌芽有显著的抑制作用。在梨、葡萄、桃和蓝莓等多年生落叶果树中, 外源 ABA 可以促进芽的休眠而抑制芽的萌发。在桃花芽的休眠过程中, ABA 的含量在生态休眠期逐渐降低并达到最低水平^[6]。杨博等^[7]研究表明, 由 *PpyERF060*、*PpyABF3* 和 *PpyMADS71* 构成的互作网络可整合乙烯与脱落酸的信号通路进而调控梨芽休眠进程。玉米分蘖芽发生过程中, 叶片与基部茎节中 ABA 含量较低且呈下降的趋势, 当分生长停止时 ABA 含量上升^[8]。在杨树上, 转录因子 SVL 可以通过促进 *CALSI* (胍酰质合酶基因) 的表达, 抑制赤霉素的合成, 控制自然休眠^[9]。在桃中, 外施 GA 可以促进桃叶内休眠的解除^[10]。梨花芽可能通过下调 *miR159* 表达, 促进 *GAMYB* 提高 GA 含量促进花芽冬季休眠的解除^[11]。乙烯对葡萄芽休眠解除起一定的促进作用。在葡萄的研究中发现外源乙烯的处理使葡萄芽的萌发率显著提高, 而抑制乙烯合成和信号转导后, 葡萄芽的萌

发受到抑制，推测乙烯可以作为刺激信号促进葡萄芽休眠提前解除^[12]。Khalil-Ur-Rehman 等^[13]的研究结果表明，ABA、乙烯、赤霉素、生长素和细胞分裂素均参与了葡萄芽类休眠和内休眠的调控。

本研究对处于两种冬芽休眠阶段（类休眠阶段和内休眠阶段）的阳光玫瑰葡萄冬芽进行不同破眠处理，以未处理作为对照，进行单氰胺涂芽处理和石硫合剂+ACC 涂芽处理。记录和观察处理后阳光玫瑰葡萄冬芽的生长发育动态，并统计其萌芽率、成花率及花穗质量。通过采用基于 RNA-seq 分析，筛选不同休眠阶段阳光玫瑰葡萄冬芽破眠的相关基因表达情况，通过对差异表达基因进行 KEGG 代谢通路分析探索不同休眠阶段阳光玫瑰葡萄冬芽休眠解除的关键影响基因。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验于 2022—2023 年在湖南农业大学教学基地内进行，供试品种为四年生阳光玫瑰葡萄。栽培方式为起高垄式根域限制栽培，喷灌方式为微喷。试验所用试剂：石硫合剂（有效成分含量 29%，山东东信生物农药有限公司）；单氰胺（有效成分含量 50%，宁夏大荣化工冶金有限公司）；1-氨基环丙烷羧酸（ACC，纯度 98%，上海源叶生物科技有限公司）。

1.2 试验方法

1.2.1 冬季（内休眠阶段）冬芽破眠处理与样品采集

2022 年 1 月 16 日，对阳光玫瑰基部留 2 芽修剪，收集基部起第 3 节位以上的枝条 78 根在室外进行埋沙贮藏。于 2022 年 2 月 28 日选取 3~11 节位（9 个冬芽）的枝条在自然条件下进行涂芽处理，每个处理 26 根枝条：

表 1 内休眠阶段离体枝条冬芽破眠处理

Table 1 Breaking dormancy treatment of winter buds in detached branches during endodormancy stage

处理	处理
Treatment	Treatment
T1	2%单氰胺 2% H_2CN_2
T2	5 °Be 石硫合剂+0.25 mg mL ⁻¹ ACC 5 °Be lime sulfur mixture+0.25 mg mL ⁻¹ ACC
CK	空白对照 Control

分别在 0 h、处理后 24 h 和 72 h 收集冬芽，样品收集标准：每个处理随机取 4 根枝条，收集每根枝条全部的冬芽，并迅速放入液氮中速冻，随后保存在-80 °C超低温冰箱备用。

2023 年 2 月 16 日，在 6 年生“飞鸟”架活体阳光玫瑰葡萄树上重复上述试验验证结果。

1.2.2 夏季（类休眠阶段）冬芽破眠处理与样品采集

2022 年 8 月 13 日，将平棚架“一”字型阳光玫瑰采收后的 1 年生主梢进行摘叶处理，将主梢进行

第7节位短截后对其第5~7节位上的冬芽进行不同破眠剂处理（处理方法同表1），每个处理53根枝条。分别在0 h、处理后24 h和72 h收集冬芽，样品收集标准：每个处理随机取10根枝条，每根枝条上取5~7节位上的3个芽，并迅速放入液氮中速冻，随后保存在-80℃超低温冰箱备用。

1.2.3 观测指标与方法

以花芽出现明显膨大、鳞片松动、露绿较多作为萌发指标，进行冬芽萌芽率的统计。花穗长度分级标准：一级花穗长度：≤3 cm；二级花穗长度：3~10 cm；三级花穗长度：≥10 cm。

萌芽率=已萌动的冬芽数/调查的冬芽数

成花率=有花穗新梢数/已萌动冬芽数

1.2.4 RNA提取、文库构建和转录组测序

将2022年2月28日、3月1日、3月3日和8月13日、8月14日、8月16日收集的冬芽样品（表2）的RNA提取以及转录组测序委托百迈客生物科技有限公司（北京）完成。使用Nanodrop2000（赛默飞，Nanodrop2000）对于提取的RNA进行浓度检测，并使用Agilent2100，LabChip GX（厂家铂，型号铂铂金埃尔默LabChip GX）对完整性进行检测。样品检测合格后，进行文库构建：用带有Oligo（dT）的磁珠富集真核生物mRNA加入Fragmentation Buffer将mRNA进行随机打断；以mRNA为模板，合成第一条cDNA链及二链，并进行cDNA纯化；纯化的双链cDNA再进行末端修复、加A尾并连接测序接头，然后用AMPure XP beads进行片段大小选择；最后通过PCR富集得到cDNA文库。经库检合格后，使用Illumina NovaSeq6000测序平台进行PE150模式测序。

表2 送测样品情况

Table 2 Status of samples sent for testing

2022年2月			2022年8月		
February 2022			August 2022		
处理	取样时间	样品名称	处理	取样时间	样品名称
Treatment	(处理后)	Name of sample	Treatment	(处理后)	Name of sample
	Date of sampling			Date of sampling	
	(after processing)			(after processing)	
CK	0 h	W-CK-0	CK	0 h	S-CK-0
CK	24 h	W-CK-24	CK	24 h	S-CK-24
CK	72 h	W-CK-72	CK	72 h	S-CK-72
T1	24 h	W-HC-24	T1	24 h	S-HC-24
T1	72 h	W-HC-72	T1	72 h	S-HC-72
T2	24 h	W-ACC-24	T2	24 h	S-ACC-24
T2	72 h	W-ACC-72	T2	72 h	S-ACC-72

1.2.5 差异表达基因的筛选和分析

首先对样品中的 Mapped Reads 的数目和转录本长度进行归一化,以 FPKM 方法作为检测转录本或基因表达水平的指标。不同样本中表达水平存在显著差异的基因称之为差异表达基因 (DEGs)。根据不同样品之间表达水平的相对高低,差异表达基因可以分为上调基因 (Up-regulated Gene) 和下调基因 (Down-regulated Gene)。使用 edgeR 软件进行差异分析,将 $|\log_2\text{Fold Change}|\geq 1$ 且 $\text{FDR}<0.01$ 作为差异表达基因的筛选标准。使用百迈客分析平台导出基因在不同样品中的功能注释和相关代谢通路等信息,差异表达基因基于 GO 数据库和 KEGG 数据库进行功能注释并按照生物学过程、细胞组分和分子功能对其富集分析,找出差异基因显著富集的 GO term 和 KEGG term。

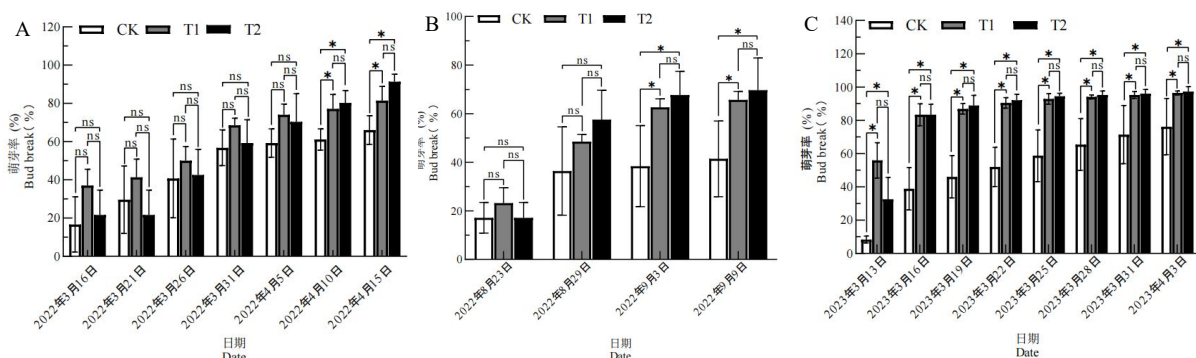
1.2.6 数据分析

所有数据的采集和计算均设 3 组生物学重复。运用 Excel 整理数据, GraphPad Prism8 和 R 语言聚类程序作图; SPSS26.0 进行单因素 ANOVA 分析,多重比较采用 LSD 法。

2 结果与分析

2.1 不同破眠处理对不同休眠阶段葡萄萌芽和开花的影响

不同破眠剂处理会对不同休眠阶段的阳光玫瑰葡萄芽的萌芽率、萌芽速度均会产生一定影响(图 1)。内休眠阶段进行不同破眠处理后的葡萄离体枝条冬芽萌芽率结果(图 1-A)显示, T1 处理萌芽最早,其次是 T2 处理,最后是 CK 组,各处理萌芽整体速度呈现先慢后快的趋势(图 1-A)。2022 年 4 月 10 日 T1、T2 处理后的萌芽率与 CK 相比开始出现差异显著,其中 T2 处理的萌芽率最高。2022 年 4 月 15 日 T1 处理与 T2 处理的萌芽率分别为 81.48%和 85.80%,显著高于 CK 组(66.05%)。类休眠阶段进行不同破眠处理后的葡萄冬芽萌芽率结果(图 1-B)显示, T1 处理萌芽最早,2022 年 9 月 3 日 T1、T2 处理后的萌芽率与 CK 相比开始出现差异显著,其中 T2 处理的萌芽率最高。2022 年 9 月 9 日 T1 处理与 T2 处理的萌芽率分别为 65.66%和 69.70%,显著高于 CK 组(41.41%)。内休眠阶段进行不同破眠处理后的葡萄冬芽萌芽率结果(图 1-C)显示,处理后 25 d T1、T2 处理后的萌芽率与 CK 相比开始出现差异显著,2023 年 4 月 3 日 T1 处理与 T2 处理的萌芽率分别为 96.43%和 97.22%,显著高于 CK 组(76.19%)。



A. 对内休眠阶段离体枝条冬芽进行不同破眠处理后不同时间点的萌芽率比较; B. 对类休眠阶段冬芽进行不同破眠处理后不同时间点的萌芽率比较; C. 对内休眠阶段冬芽进行不同破眠处理后不同时间点的萌芽率比较; “*”表示两者之间差异显著 ($p<0.05$)。“ns”表示两者之间无差异显著。

A. Comparison of germination rates at different time points after different dormancy-breaking treatments for winter buds of

isolated branches in the internal dormancy stage; B. Comparison of germination rates at different time points after different dormancy-breaking treatments for winter buds in class dormancy stage; C. Comparison of germination rates at different time points after different dormancy-breaking treatments for winter buds in the internal dormancy stage; Asterisks “*” indicate a significant difference between the two ($p < 0.05$). “ns” indicates that there is no significant difference between the two.

图 1 不同时期不同破眠剂处理不同休眠阶段阳光玫瑰葡萄冬芽萌芽率比较

Fig. 1 Different breaking dormancy treatments at different periods of dormant stages of Shine Muscat grape winter bud germination rate comparison

破眠处理后阶段离体枝条上的葡萄芽的生长发育动态如图 2 所示，T1、T2 处理的葡萄芽提早解除休眠，均在 2022 年 3 月 21 日出现 2~3 枚新叶，整体呈现先慢后快的趋势。T1 处理在 2022 年 3 月 15 日已经开始萌芽，萌芽开始时间最早，萌芽较为整齐；其次是 T2 处理的葡萄芽在 3 月 21 日左右完成萌芽期，萌芽较为整齐。CK 组的葡萄芽在 2022 年 4 月 2 日出现 2~3 枚新叶，生长相对缓慢，萌芽不整齐。

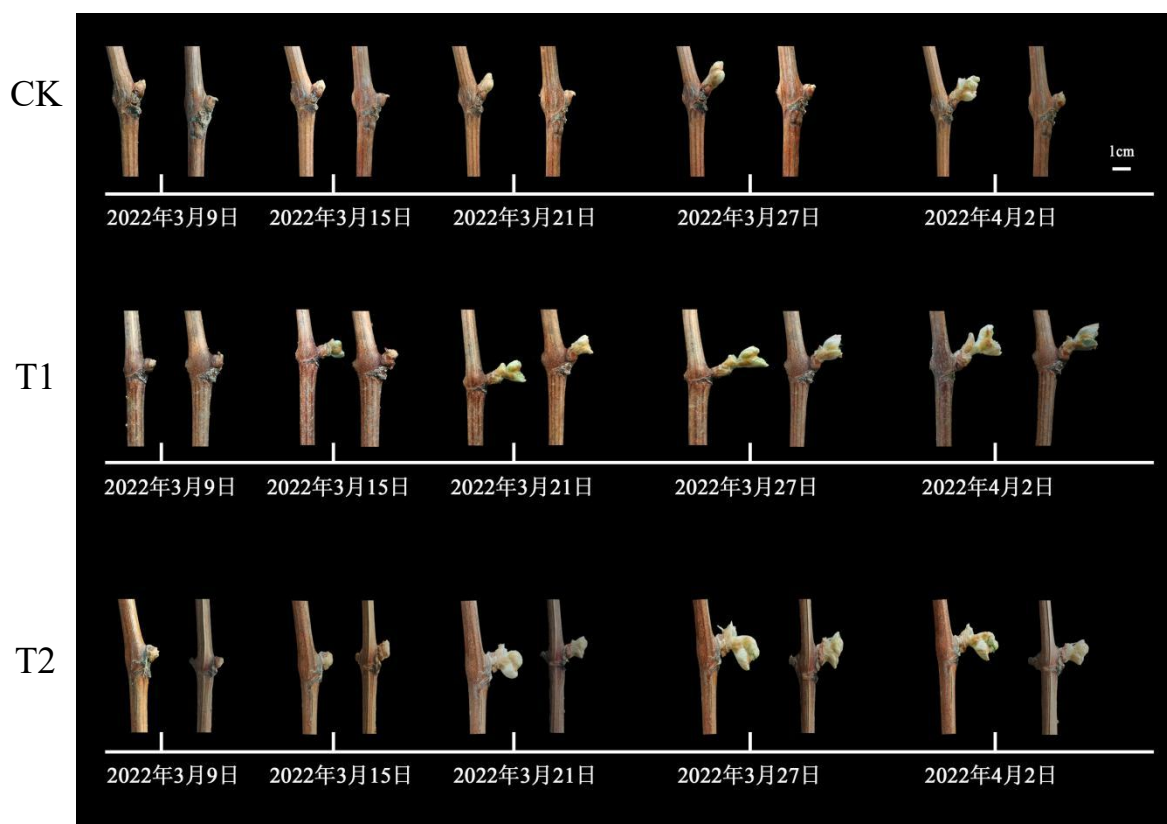
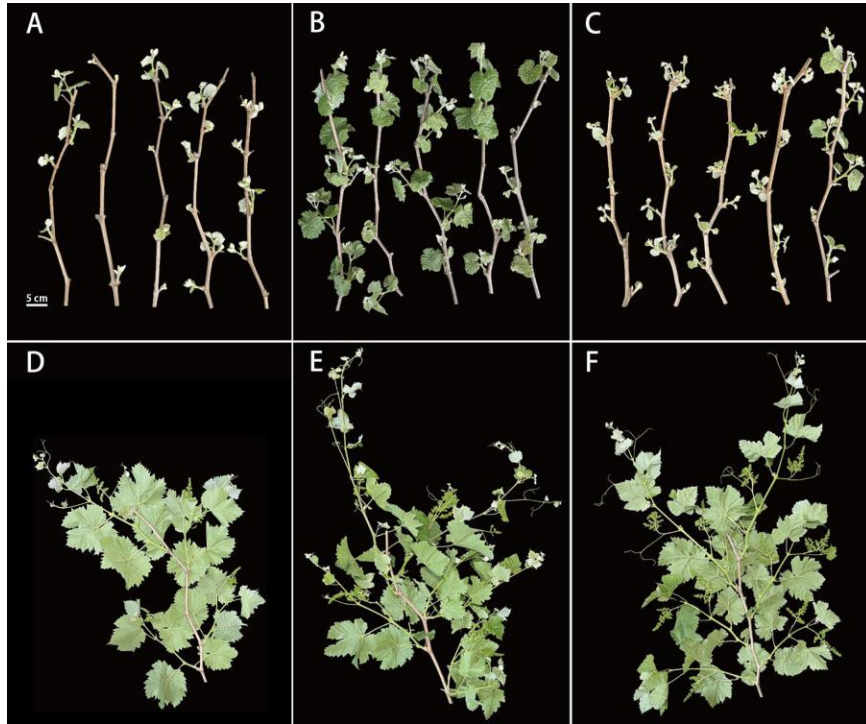


图 2 不同破眠剂处理后阳光玫瑰葡萄代表芽发育动态图

Fig. 2 Dynamic map of representative bud development of Shine Muscat grape treated with different breaking dormancy treatments

破眠处理后葡萄枝条生长状态如图 3 所示，相比于 CK 组，2023 年 4 月 3 日 T1 处理后的叶片生长速度最快，其次是 T2 处理。2023 年 4 月 29 日 T1、T2 处理后的叶片生长速度、叶片大小、节间长度与 CK 组相比无显著影响。

为了解不同破眠处理对葡萄花穗的影响，本研究统计了不同破眠处理后所有 1 年生枝条的成花情况。图 4 显示，T1、T2 处理对葡萄 1 年生枝条的成花率相比于 CK 组没有出现差异显著，同时也不影响花序长度。

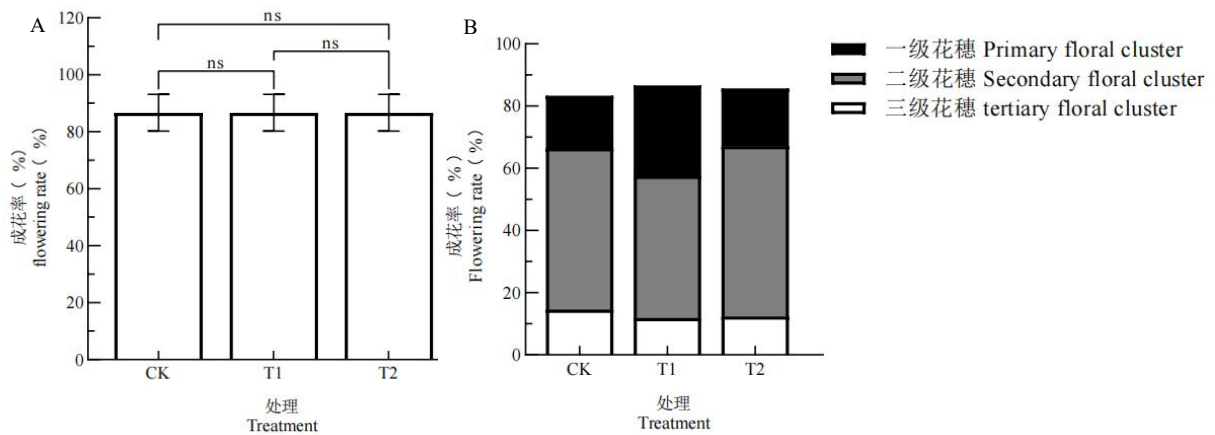


A-C. CK、T1、T2 处理后枝条萌芽时的状态（2023 年 4 月 3 日），五根代表枝条为一组；D-F. CK、T1、T2 处理后枝条开花前的状态（2023 年 4 月 29 日），一根典型枝条为代表。

A-C. state of branches at germination after CK, T1 and T2 treatments (April 3, 2023), the five representative branches are a group; D-F. Pre-flowering state of branches after CK, T1 and T2 treatments (April 29, 2023), a typical branch is represented.

图 3 不同破眠剂处理后阳光玫瑰葡萄枝条生长状态

Fig. 3 Growth status of Shine Muscat grape branches treated with different breaking dormancy treatments



A. 不同时期不同破眠处理后的冬芽成花率比较（2023 年 4 月 28 日）； B. 不同破眠剂处理对阳光玫瑰葡萄花穗长度的影响（2023 年 4 月 28 日）；

A. Comparison of flowering rate of winter buds at endodormant stage within different dormancy breaking treatments at different periods of time (April 28, 2023); B. Effects of different dormant breaker treatments on inflorescence length in Shine Muscat grapes during the endodormancy stage (April 28, 2023); Length of primary inflorescence: ≤ 3 cm; Length of secondary inflorescence: 3-10 cm; Length of tertiary inflorescences: ≥ 10 cm.

图 4 不同破眠剂处理对阳光玫瑰葡萄成花情况的影响

Fig. 4 The effect of different dormant breaking agents on the flower formation of Shine Muscat grape

2.2 转录组测序数据质量分析及序列比对

利用 Illumina 平台，完成 14 个样本的转录组测序。为保证后续分析的准确，笔者通过对原始数据进行一系列严格的质量控制后得到高质量的 Clean Data。经过测序质量控制后，共得到 92.92 Gb Clean Data，各样品 Clean Data 均达到 5.89 Gb，Q30 碱基百分比在 94.21%及以上，GC 含量为 45.72%~47.50%。表明测序质量比较好，可以用于后续的比对分析。通过使用 HISAT2 将 Clean Reads 与参考基因组进行比对后发现，各样本的 Reads 与指定的参考基因组的比对率在 85.18%~90.91%。

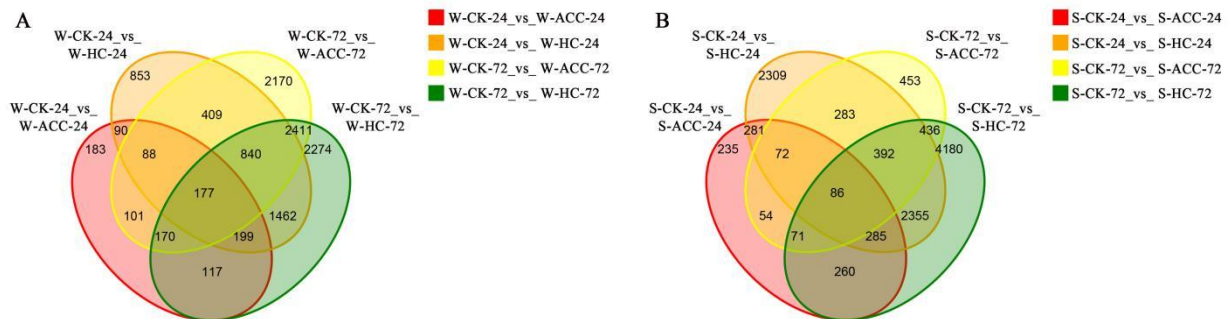
表 3 测序数据统计

Table 3 Sequencing data statistics

样品分析编号 Samples	Clean Data 中 pair-end Reads 总数 Clean reads	Clean Data 总 碱基数 Clean bases	GC 含量 GC Content/%	质量值≥30 的碱基所占的百分比 ≥Q30/%	比对到参考基因组上的 Reads 数目及在 Clean Reads 中占的百分比 Mapped Reads/%
S-ACC-24	19 660 592	5 885 287 322	47.02%	94.68%	34 032 669 (86.55%)
S-ACC-72	24 317 732	7 279 063 052	47.01%	95.03%	42 031 824 (86.42%)
S-CK-0	24 443 483	7 315 405 780	46.79%	94.92%	42 399 364 (86.73%)
S-CK-24	20 285 727	6 072 872 052	47.12%	95.03%	35 067 880 (86.43%)
S-CK-72	19 999 122	5 987 578 370	46.88%	95.09%	34 730 332 (86.83%)
S-HC-24	20 085 597	6 012 439 936	46.67%	94.96%	35 978 055 (89.56%)
S-HC-72	21 245 632	6 359 799 698	47.43%	95.32%	37 000 056 (87.08%)
W-ACC-24	22 053 492	6 600 951 608	46.31%	94.58%	37 934 294 (86.01%)
W-ACC-72	22 983 903	6 876 720 830	47.50%	95.46%	40 315 932 (87.70%)
W-CK-0	20 664 079	6 185 916 612	45.93%	94.21%	36 587 320 (88.53%)
W-CK-24	20 255 830	6 063 390 850	46.65%	94.92%	34 507 028 (85.18%)
W-CK-72	24 043 851	7 196 458 108	47.28%	94.76%	41 278 536 (85.84%)
W-HC-24	23 857 734	7 141 020 722	46.07%	94.79%	40 671 417 (85.24%)

2.3 差异表达基因的筛选

以 $|\log_2\text{fold changes}|\geq 1$ 、 $\text{FDR}<0.01$ 为筛选条件。通过总差异韦恩图（图 5）分析发现，在内休眠阶段，6 个处理组中全部共有的差异基因为 177 个，W-CK-72 中的样品与 W-ACC-72 中的样品比和 W-HC-72 中的样品比有大量相同的差异基因，为 2411 个；W-CK-24 中的样品与 W-ACC-24 中的样品比和 W-CK-72 中的样品与 W-ACC-72 中的样品比共有差异基因 101 个；W-CK-24 中的样品与 W-HC-24 中的样品比和 W-CK-72 中的样品与 W-HC-72 中的样品比共有差异基因 1462 个；W-CK-24 中的样品与 W-ACC-24 中的样品比和 W-HC-24 中的样品比差异基因较少，仅 90 个。在类休眠阶段，6 个处理组中全部共有的差异基因为 86 个，S-CK-24 中的样品与 S-HC-24 中的样品比和 S-CK-72 中的样品与 S-HC-72 中的样品比有大量相同的差异基因，为 2355 个；S-CK-72 中的样品与 S-ACC-72 中的样品比和 S-HC-72 中的样品比共有差异基因 436 个；S-CK-24 中的样品与 S-ACC-24 中的样品比和 S-HC-24 中的样品比共有差异基因 281 个；S-CK-24 中的样品与 S-ACC-24 中的样品比和 S-CK-72 中的样品与 S-ACC-72 中的样品比共差异基因较少，仅 54 个。



A. 不同时期不同破眠处理内休眠阶段葡萄冬芽基因表达数目韦恩图; B. 不同时期不同破眠处理类休眠阶段葡萄冬芽基因表达数目韦恩图。

A. Venn map of the number of genes expressed in winter buds of endodormant stage grapes of different breaking dormancy treatments at different periods; B. Venn map of the number of genes expressed in winter buds of paradormant stage grapes of different dormancy-breaking treatments at different periods.

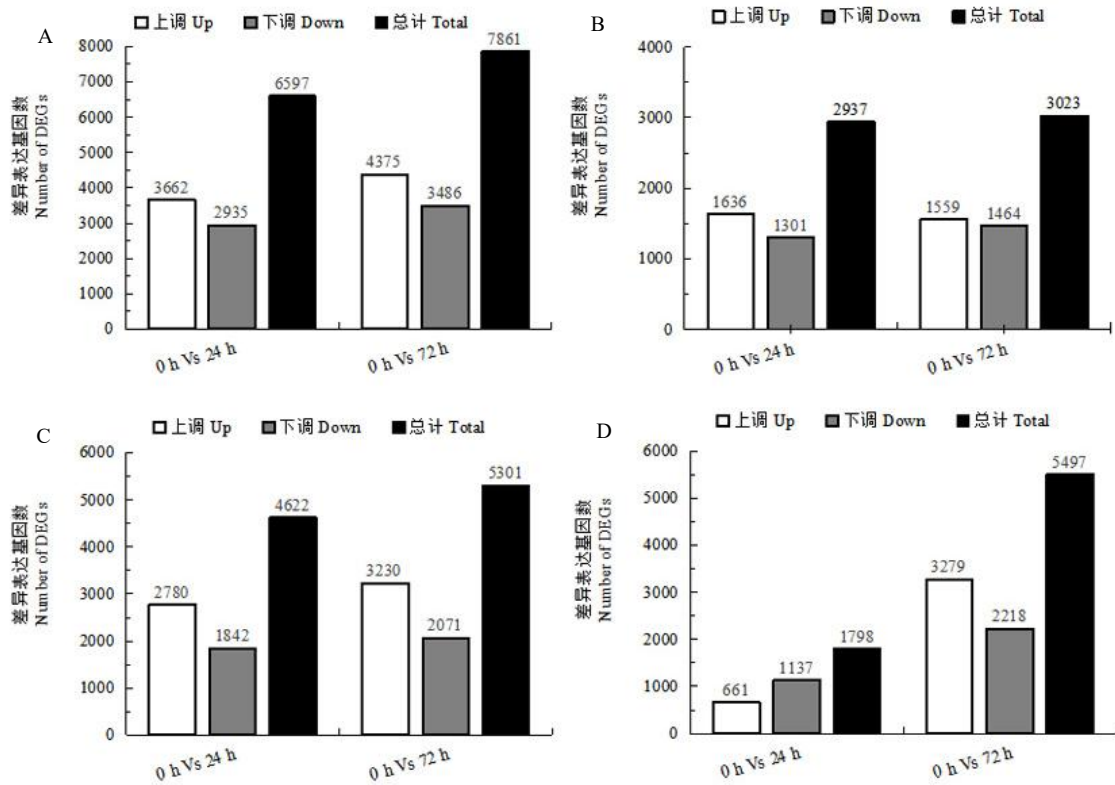
图 5 不同处理不同时期的葡萄冬芽基因表达数目韦恩图

Fig. 5 Venn Map of the number of genes expressed in grape winter buds at different times for different treatments

2.4 休眠期间差异表达基因模式变化

研究了不同休眠阶段不同破眠剂处理后葡萄芽 2 个时期的基因表达模式，不同时期样本之间的 DEGs 数量被鉴定（图 6）。结果表明，类休眠阶段，T1 处理后 24 h 有 3662 个基因显著上调，2935

个基因显著下调；T1 处理后 72 h 有 4375 个基因显著上调，3486 个基因显著下调；T2 处理后 24 h 有 1636 个基因显著上调，1301 个基因显著下调；T2 处理后 72 h 有 1559 个基因显著上调，1464 个基因显著下调。内休眠阶段，T1 处理后 24 h 有 2780 个基因显著上调，1842 个基因显著下调；T1 处理后 72 h 有 3230 个基因显著上调，2071 个基因显著下调；T2 处理后 24 h 有 661 个基因显著上调，1137 个基因显著下调；T2 处理后 72 h 有 3279 个基因显著上调，2218 个基因显著下调。



A-B. 类休眠阶段 T1、T2 处理冬芽后差异表达基因数量；C-D. 内休眠阶段 T1、T2 处理冬芽后差异表达基因数量。
A-B. The number of differentially expressed genes after treatment of winter buds at paradormancy stage T1 and T2; C-D. Number of differentially expressed genes after treatment of winter buds at endodormancy stage T1 and T2.

图 6 不同休眠阶段不同破眠处理冬芽差异表达基因模式变化

Fig. 6 Changes in differentially expressed gene patterns in winter buds treated with different dormancy stages and breaking dormancy treatments

2.5 休眠期间差异基因的聚类分析

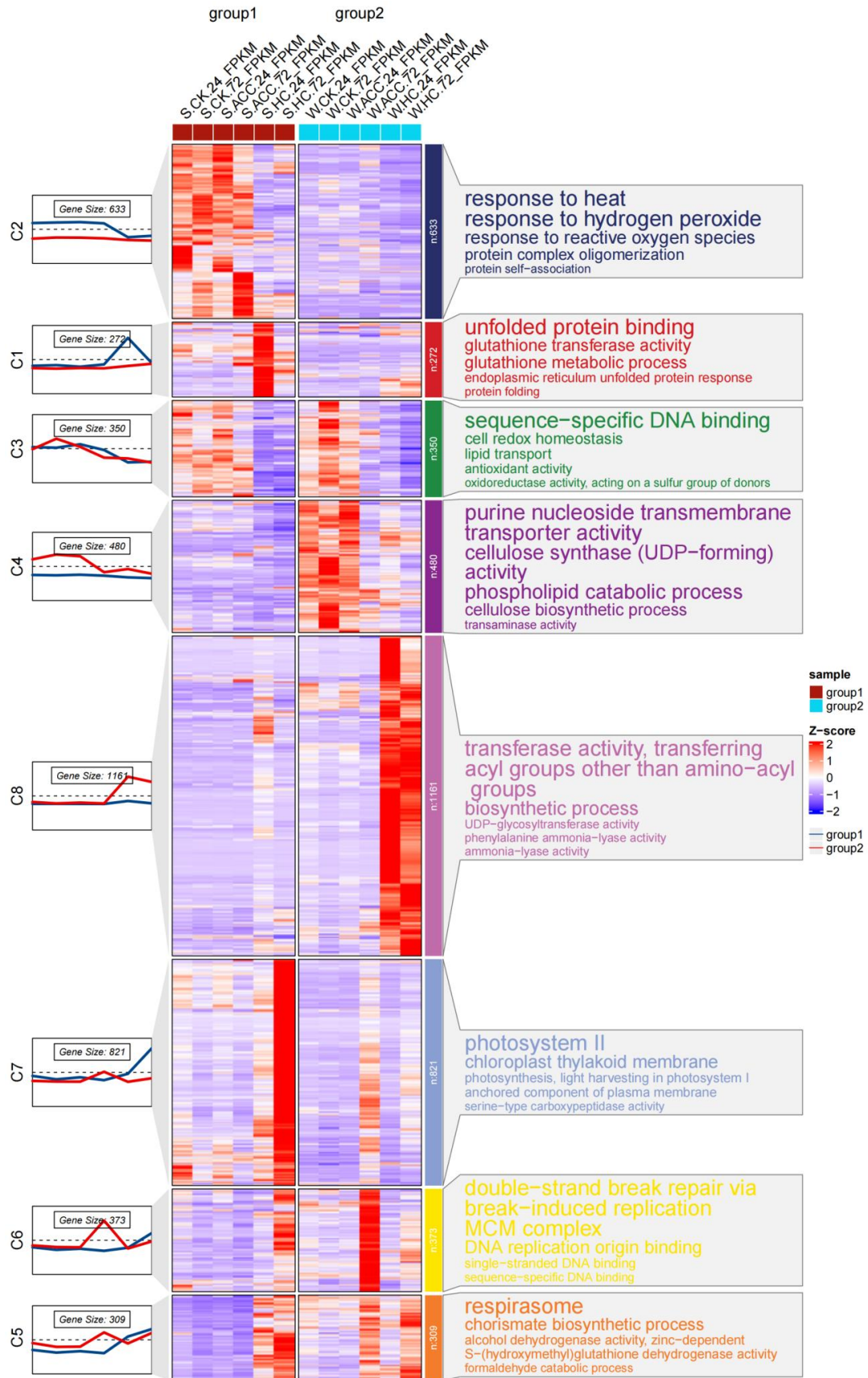


图 7 不同休眠阶段不同破眠处理冬芽差异表达基因聚类

Fig. 7 Cluster analysis of differentially expressed genes in winter buds treated with different dormancy stages and breaking dormancy treatments

表达模式相似的基因通常具有相似的功能，为了理解不同休眠阶段不同破眠处理后不同时期芽的差异表达基因的表达模式，笔者利用 R 语言中的聚类程序对 12 组样本的显著差异基因进行等级聚类分析（图 7）。结果表明，4399 个基因被分成 8 组，最多的一组（Class 8）包含了 1161 个 DEGs，DEGs 的表达模式呈现为在 W-HC-24 样本、W-HC-72 样本上调表达，其他样本基本下调表达，这些基因显著富集在转移酶活性，转移氨基酰基以外的酰基、生物合成进程、UPD-糖基转移酶活性、苯丙氨酸解氨酶活性、解氨酶活性等途径。

第二大组（Class 7）包含 821 个基因，DEGs 的表达模式呈现为在 S-HC-72 样本上调表达，其他样本基本下调表达，这些基因主要富集在光系统 II、叶绿体类囊体膜、光合作用，光系统 I 的捕光天线复合体、膜的锚固成分、丝氨酸型羧肽酶活性等途径。

第三大组（Class 2）包含 633 个基因，DEGs 的表达模式呈现为在 S-CK-24 样本、S-CK-72 样本、S-ACC-24 样本、S-ACC-72 样本上调表达，其他样本基本下调表达，这些基因主要富集在响应热休克、响应过氧化氢、响应活性氧、蛋白质复合物寡聚化、蛋白质自聚集等途径。

第四大组（Class 4）包含 480 个基因，DEGs 的表达模式呈现为在 W-CK-24 样本、W-CK-72 样本、W-ACC-24、样本上调表达，其他样本基本下调表达，这些基因主要富集在嘌呤核苷跨膜转运蛋白活性、纤维素合酶（UDP-forming）活性、磷脂代谢过程、纤维素生物合成过程、转氨酶活性等途径。

在 Class 6 中，373 个基因在 S-HC-72 样本、W-ACC-72 样本中上调表达，其他样本基本下调表达，这些基因主要富集在通过断裂诱导复制进行 DNA 双链断裂修复、微小染色体维持蛋白复合物、DNA 复制起点结合、单链 DNA 结合、序列特异性 DNA 结合等途径。

在 Class 3 中，350 个基因在 S-CK-24 样本、S-CK-72 样本、S-ACC-24 样本、S-ACC-72 样本、W-CK-24 样本、W-CK-72 样本、W-ACC-24 样本上调表达，其他样本基本下调表达，这些基因主要富集在序列特异性 DNA 结合、细胞氧化还原稳态、脂质转运、抗氧化活性、氧化还原酶活性、作用于硫基供体等途径。

在 Class 5 中，309 个基因在 S-HC-24 样本、S-HC-72 样本、W-ACC-72 样本、W-HC-72 样本上调表达，其余样本基因下调表达，这些基因主要富集在呼吸链、分枝酸生物合成过程、锌离子依赖的乙醇脱氢酶活性、S-羟甲基谷胱甘肽脱氢酶活性、甲醛分解代谢过程等途径。

在 Class 1 中，272 个基因在 S-HC-24 样本中上调表达，其余样本基本下调表达，这些基因主要富集在未折叠蛋白反应、谷胱甘肽转移酶活性、谷胱甘肽代谢过程、内质网未折叠蛋白反应、蛋白质折叠等途径。

2.6 与休眠相关的差异表达基因筛选

在使用不同破眠剂打破葡萄芽休眠的过程中会引起植物体内一系列生理生化变化，同时会诱导破眠相关基因的表达。在内休眠阶段 W-CK-72 样本与 W-HC-72 样本比的差异表达基因（表 4）中有 10 被注释为转录因子编码基因，其中上调的转录因子有 3 个，包括 MYB4、ERF073、HSF A-4a；下调的转录因子有 7 个，包括 ERF023-like、ERF011-like、TT2、MYB44、HSF C-1、Nuclear transcription factor Y、HSF30。另外，有 10 个被注释为参与生长素（auxin, AUX）、赤霉素（gibberelli acid,

GA)、脱落酸 (abscisic acid, ABA)、油菜素甾醇 (brassinosteroids, BR) 等激素的生物合成或介导的信号转导过程。在 ABA 信号通路中, *PYL4* 基因上调表达; 4 个与蛋白磷酸酶 2C (PP2C) 家族相关的基因被注释, *PP2C24*、*PP2C8*、*PP2C37* 均下调表达, *PP2C25* 上调表达; 与 Snrk2 家族相关的 *SAPK2* 基因下调表达。剩下的差异基因与氧化应激、谷胱甘肽 S-转移酶等有关。

表 4 与休眠相关的差异表达基因

Table 4 Differential expression genes related to dormancy

基因号 Gene ID	W-ACC-72 (FPKM)	W-CK-72 (FPKM)	W-HC-72 (FPKM)	W-CK-72_vs_ W-HC-72 log ₂ FC	描述 Description
VIT_18s0089g0103 0	16.096 42	221.443 512	14.871 614	-4.075 849 656	ethylene-responsive transcription factor ERF023-like
VIT_18s0001g1015 0	25.380 707	181.451 263	24.903 498	-3.044 206 696	ethylene-responsive transcription factor ERF011-like
VIT_18s0001g0985 0	95.736 549	448.962 006	69.399 773	-2.873 525 827	transcription factor MYB44
VIT_05s0049g0102 0	12.105 489	22.771 122	134.747 925	2.384 435 77	MYB-related protein MYB4
VIT_07s0005g0082 0	205.472 626	17.746 599	470.972 809	4.548 570 103	ethylene-responsive transcription factor ERF073
VIT_11s0016g0130 0	68.304 054	529.510 193	53.680 5	-3.481 606 611	transcription factor TT2
VIT_11s0016g0394 0	6.620 32	85.222 687	2.3641 17	-5.344 165 637	heat stress transcription factor C-1
VIT_10s0003g0177 0	9.960 817	16.779 918	71.531 156	2.589 336 047	heat stress transcription factor A-4a
VIT_08s0007g0825 0	66.528 664	141.121 414	38.006 241	-2.072 382 106	Nuclear transcription factor Y
VIT_04s0008g0111 0	37.966 908	66.158 081	19.188 953	-1.964 110 333	heat shock factor protein HSF30
VIT_06s0061g0121 0	10.915 986	12.974 057	61.613 895	2.066 367 069	GABA transporter 1
VIT_07s0191g0007 0	38.000 809	66.263 977	18.271 461	-2.038 371 337	serine/threonine-protein kinase SAPK2

VIT_15s0048g0286 0	58.062 737	153.309 433	16.139 681	-3.427 064 905	auxin-responsive protein SAUR32
VIT_08s0058g0047 0	12.304 12	5.885 877	49.325 424	2.886 364 183	abscisic acid receptor PYL4
VIT_13s0067g0127 0	5.175 064	2.889 816	60.523 064	4.206 064 047	probable protein phosphatase 2C 25
VIT_06s0004g0546 0	85.074 593	171.045 654	14.743 216	-3.715 938 958	probable protein phosphatase 2C 24
VIT_16s0050g0268 0	46.599 277	77.593 636	7.859 811	-3.479 700 952	probable protein phosphatase 2C 8
VIT_13s0019g0220 0	60.448 475	155.026 443	34.034 561	-2.367 060 854	protein phosphatase 2C 37
VIT_18s0001g1069 0	26.255 377	122.197 327	13.528 647	-3.353 083 726	BR11 kinase inhibitor 1
VIT_09s0002g0070 0	94.735 909	410.549 347	29.799 694	-3.961 123 921	dormancy-associated protein homolog 3
VIT_14s0060g0172 0	730.039 734	3733.714 844	355.246 216	-3.573 613 53	dormancy-associated protein homolog 3
VIT_10s0003g0009 0	925.583 313	5714.664 062	487.998 474	-3.729 586 286	auxin-repressed 12.5 kDa protein-like
VIT_18s0001g1325 0	408.120 209	230.913 666	1 263.362 793	2.271 520 396	thioredoxin H-type-like
VIT_04s0023g0270 0	102.136 169	119.764 008	25.723 745	-2.399 097 345	thioredoxin H-type 2
VIT_08s0040g0304 0	36.746 822	32.391 224	1 937.169 067	5.721 268 928	glutathione S-transferase L3
VIT_16s0100g0034 0	99.968 591	220.4837 01	48.622 46	-2.357 203 041	calcium-dependent protein kinase 26

3 讨论

生长期和休眠期是葡萄生长发育过程中较为明显的两个时期。在浅内休眠阶段，通过对葡萄冬芽进行物理或化学等破眠措施可使冬芽提前萌发^[5]。前人在不同品种葡萄（如巨峰葡萄、户太八号、香悦葡萄等）上均已试验证明单氰胺可以提前打破葡萄休眠，在我国南方地区，萌芽前一个月对葡萄冬芽进行单氰胺处理破眠效果最佳，可明显提高萌芽率，从而在一定程度上提高能够提升葡萄产量。乙烯是五大植物激素之一，广泛参与到植物生长发育的各个进程中，前人研究证明植物器官本身能生成乙烯，并提出了乙烯具有促进植物成熟衰老的作用。乙烯是气体，在实际生产中主要使用

乙烯利对香蕉、猕猴桃、油梨、杏等进行催熟，浙江、上海地区常用乙烯利对葡萄进行催熟。ACC是乙烯前体，在1-氨基环丙烷-1-羧酸氧化酶（ACC氧化酶，ACO）的氧化作用下生成乙烯。因此，笔者推测ACC可能与芽的萌发有一定的促进作用。

Keilin等^[14]在构建HC诱导表达的EST文库后，利用比较基因组学发现氧化应激、钙信号传导等生化过程中的功能基因可能参与休眠解除过程。Halaly等^[15]研究表明，HC和热击（Heat shock, HS）两种方式均可解除生理休眠，触发细胞生化水平暂时性呼吸和氧化应激，诱导CAT、ADH和PDC等相关基因瞬时上调表达，破眠处理还诱导抗坏血酸过氧化物酶、谷胱甘肽还原酶、硫氧还蛋白h、谷胱甘肽S-转移酶和蔗糖合成酶编码基因表达。单氰胺处理休眠芽后，通过释放氰化物抑制有氧呼吸和过氧化氢酶活性，导致细胞缺氧同时诱导过氧化氢产生，进而导致植物体内活性氧含量升高^[16]。Pacey-Miller等^[17]报道了葡萄休眠芽中活性氧相关的基因Cu/Zn超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、谷胱甘肽硫转移酶、谷胱甘肽还原酶和过氧化氢酶基因表达高。在本研究中，MYB、ERF、MADS-box等转录因子都与芽萌发有关，这些转录因子通过共同调控多种途径从而影响葡萄萌芽，一些与氧化应激相关、钙信号传导等基因也对葡萄活性氧代谢进行调控。

植物激素与芽休眠密切相关，尤其是ABA和GA在调控芽休眠和萌发的过程中发挥着重要作用。Khalil-Ur-Rehman等^[13]认为ABA和GA信号通路作为调节开关调节葡萄芽休眠。ABA可以促进杨树SVL的表达^[9]，而内源ABA可通过激活*PpyABF3*调控梨*PpyDAM3*的转录，从而调控其休眠进程^[18]。在梨芽内休眠解除后观察到较低水平的*NCEDs*表达，*PpyCYB8*和*Ppy707A3*的表达水平增加，同时ABA含量降低（Yang, 2021）。李可等^[19]研究表明，外源ABA可抑制蓝莓花芽萌芽。在本研究中，鉴定出与激素相关的基因，如GABA转运蛋白1、生长素反应蛋白、生长素抑制蛋白、脱落酸受体、BRI1激酶抑制剂1、蛋白磷酸酶、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶等可能均参与了植物激素信号传导。

本试验对不同休眠阶段的阳光玫瑰葡萄冬芽进行破眠试验。用萌芽率、成花率及花穗质量作为衡量葡萄破眠效果优劣的三个指标，试验结果表明，在类休眠阶段和内休眠阶段，单氰胺处理、石硫合剂+ACC处理均对阳光玫瑰葡萄萌芽产生积极影响，石硫合剂+ACC处理后的萌芽率略高于单氰胺处理，两种处理均能使阳光玫瑰葡萄冬芽萌发时间提前，显著提升植株萌芽率，对后续成花率及花穗长度均无影响，且不会引起药害。在本研究中，还有一些与环境响应相关的差异基因，如热击蛋白（Heat shock protein, HSP）基因、光敏色素（phytochrome）基因、水孔蛋白（aquaporin, AQP）等水分代谢相关的基因、蔗糖合酶（sucrose synthase）等能量与物质代谢相关的基因、细胞周期蛋白（cyclin, CYC）、细胞周期蛋白依赖激酶（cyclin-dependent protein kinase, CDK）等细胞发育相关的基因，可能也参与了葡萄芽休眠解除的调控。

4. 结论

5 °Be石硫合剂+0.25 mg mL⁻¹ACC处理能提早打破葡萄休眠，且不影响后续成花率及花穗质量，对操作人员较为安全。石硫合剂+ACC的混合溶液是阳光玫瑰葡萄打破休眠的一种安全、理想的药剂。单氰胺处理、石硫合剂+ACC处理均诱导了*PYL4*、*PP2C24*、*PP2C8*、*PP2C37*、*PP2C25*、*SAPK2*等基因的表达，这些基因可能参与了打破芽的休眠，促进萌芽。

参考文献 References:

- [1] LANG G A. Dormancy: A new universal terminology[J]. HortScience, 1987, 22(5): 817-820.
- [2] 郭松涛, 张亚红, 李琴, 张晓丽, 付玉芳, 刘帅. 宁夏地区设施葡萄需冷量和需热量研究[J]. 果树学报, 2020, 37(7): 997-1007.
- GUO Songtao, ZHANG Yahong, LI Qin, ZHANG Xiaoli, FU Yufang, LIU Shuai. Chilling and heat requirements of grape cultivars under protected culture in Ningxia area[J]. Journal of Fruit Science, 2020, 37(7): 997-1007.
- [3] 董阳. 转录和蛋白质组学联合分析单氰胺(HC)打破葡萄芽休眠分子机制研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2020.
- DONG Yang. Combined transcription and proteomics analysis of molecular mechanism of hydrogen cyanamide (HC) breaking grape bud dormancy[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2020.
- [4] 樊绍刚, 吴胜, 朱明涛, 余俊, 白描, 杨国顺. 葡萄冬芽生理休眠机理研究进展[J]. 东北农业大学学报, 2019, 50(10): 88-96.
- FAN Shaogang, WU Sheng, ZHU Mingtao, YU Jun, BAI Miao, YANG Guoshun. Progress research on mechanism of grape bud dormancy[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2019, 50(10): 88-96.
- [5] LAMELA C S P, REZEMINI F, BACINO M F, MALGARIM M B, HERTER F G, DA SILVEIRA PASA M. Dormancy dynamics of 'Tannat' grapes in warm-winter climate conditions[J]. Agricultural and Forest Meteorology, 2020, 288/289: 108016.
- [6] WANG Q J, XU G X, ZHAO X H, ZHANG Z J, WANG X X, LIU X, XIAO W, FU X L, CHEN X D, GAO D S, LI D M, LI L. Transcription factor TCP20 regulates peach bud endodormancy by inhibiting DAM5/DAM6 and interacting with ABF2[J]. Journal of Experimental Botany, 2020, 71(4): 1585-1597.
- [7] 杨博, 魏佳, 李坤峰, 王程亮, 倪隽蓓, 滕元文, 白松龄. PpyERF060-PpyABF₃-PpyMADS71 调控乙烯信号通路介导的梨芽休眠进程[J]. 园艺学报, 2022, 49(10): 2249-2262.
- YANG Bo, WEI Jia, LI Kunfeng, WANG Chengliang, NI Junbei, TENG Yuanwen, BAI Songling. PpyERF060-PpyABF₃-PpyMADS71 regulates ethylene signaling pathway-mediated pear bud dormancy process[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2022, 49(10): 2249-2262.
- [8] DONG Z B, XIAO Y G, GOVINDARAJULU R, FEIL R, SIDDOWAY M L, NIELSEN T, LUNN J E, HAWKINS J, WHIPPLE C, CHUCK G. The regulatory landscape of a core maize domestication module controlling bud dormancy and growth repression[J]. Nature Communications, 2019, 10(1): 3810.
- [9] SINGH R K, MAURYA J P, AZEEZ A, MISKOLCZI P, TYLEWICZ S, STOJKOVIČ K, DELHOMME N, BUSOV V, BHALERAO R P. A genetic network mediating the control of bud break in hybrid aspen[J]. Nature Communications, 2018, 9: 4173.
- [10] LI S, WANG Q J, WEN B B, ZHANG R, JING X L, XIAO W, CHEN X D, TAN Q P, LI L. Endodormancy release can be modulated by the GA4-GID1c-DELLA2 module in peach leaf buds[J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 713514.
- [11] 刘瑾航, 沈炳荣, 李宜轩, 梁沁, 冯宇, 林晓洁, 沈茂芬, 吴少华, 李亮, 李永裕. 砂梨 miR159 家族进化特性及在冬季休眠的表达模式分析[J]. 果树学报, 2022, 39(11): 2007-2018.
- LIU Jinhang, SHEN Bingrong, LI Yixuan, LIANG Qin, FENG Yu, LIN Xiaojie, SHEN Maofen, WU Shaohua, LI Liang, LI Yongyu. Molecular evolution of miR159 family and their expression profiling during dormancy of *Pyrus pyrifolia* in the winter[J]. Journal of Fruit Science, 2022, 39(11): 2007-2018.
- [12] 施招婉. 葡萄芽休眠解除过程中乙烯合成与信号途径关键基因的筛选与功能分析[D]. 华南农业大学, 2022.
- SHI Zhaowan. Screening and functional analysis of key genes involved in ethylene biosynthesis and signaling pathways during grape bud dormancy release[D]. South China Agricultural University, 2022.
- [13] KHALIL-UR-REHMAN M, DONG Y, FAHEEM M, ZENG J J, WANG W, TAO J M. Expression profiling of ABA and GA signaling cascades regulating bud dormancy in grape[J]. Scientia Horticulturae, 2019, 246: 45-50.
- [14] KEILIN T, PANG X Q, VENKATESWARI J, HALALY T, CRANE O, KEREN A, OGRODOVITCH A, OPHIR

- R, VOLPIN H, GALBRAITH D, OR E. Digital expression profiling of a grape-bud EST collection leads to new insight into molecular events during grape-bud dormancy release[J]. *Plant Science*, 2007, 173(4): 446-457.
- [15] HALALY T, PANG X Q, BATIKOFF T, CRANE O, KEREN A, VENKATESWARI J, OGRODOVITCH A, SADKA A, LAVEE S, OR E. Similar mechanisms might be triggered by alternative external stimuli that induce dormancy release in grape buds[J]. *Planta*, 2008, 228(1): 79-88.
- [16] SUDAWAN B, CHANG C S, CHAO H F, KU M S B, YEN Y F. Hydrogen cyanamide breaks grapevine bud dormancy in the summer through transient activation of gene expression and accumulation of reactive oxygen and nitrogen species[J]. *BMC Plant Biology*, 2016, 16(1): 202.
- [17] PACEY-MILLER T, SCOTT K, ABLETT E, TINGEY S, CHING A, HENRY R. Genes associated with the end of dormancy in grapes[J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2003, 3(4): 144-152.
- [18] YANG Q S, GAO Y H, WU X Y, MORIGUCHI T, BAI S L, TENG Y W. Bud endodormancy in deciduous fruit trees: Advances and prospects[J]. *Horticulture Research*, 2021, 8: 139.
- [19] 李可, 申滕晓, 潘炜浩, 章诗渲, 毛欣烨, 尹亚红, 李永强, 朱友银, 郭卫东. 蓝莓 C₂H₂ 家族基因在花芽休眠解除中的作用初探[J]. *园艺学报*, 2023, 50(4): 737-753.
- LI Ke, SHEN Mengxiao, PAN Weihao, ZHANG Shixuan, MAO Xinye, YIN Yahong, LI Yongqiang, ZHU Youyin, GUO Weidong. Preliminary investigation of C₂H₂ family genes in blueberry flower bud dormancy release[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2023, 50(4): 737-753.