

几种植物激素对4种山茶属植物花粉萌发及花粉管生长的影响

刘林秀^{1,2}, 曾海涛^{1*}, 徐皓¹, 姚小华^{2*}

(1. 陕西理工大学, 陕西 汉中, 723001;

2. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 杭州, 311400)

摘要: 为了解不同山茶属植物花粉的生理特性, 找到最佳的萌发时间和萌发条件, 以便为提高杂交育种工作效率、合理搭配杂交组合提供有益借鉴。本研究以浙江红花油茶、越南油茶、山茶、小果油茶4种山茶属植物为材料, 分别统计其单花雄蕊数及花粉粒数, 并重点比较了3种不同植物激素6-BA、GA₃、ABA处理对花粉萌发及花粉管生长的影响。结果表明, 不同山茶属植物花粉萌发及花粉管生长最适宜的激素及最佳浓度各不相同, 其中: (1) 最适宜浙江红花油茶、越南油茶、山茶、小果油茶花粉萌发的激素处理依次为10 mg/L 6-BA、0.5 mg/L 6-BA、5 mg/L GA₃和10 mg/L GA₃; (2) 最适宜4种山茶属植物花粉管生长的激素处理依次为75 mg/L GA₃、4 mg/L ABA、125 mg/L GA₃和10 mg/L GA₃; (3) 4种山茶花初花期、盛花期、末花期花粉萌发率逐渐上升, 其中浙江红花油茶三个时期花粉的萌发率均为4种植物中最高。

关键词: 山茶属植物; 花粉萌发; 植物激素; 花粉粒数; 花药数

中图分类号: S685.14

文献标识码: A

文章编号: 1007-9084(2021)04-0700-08

Effects of phytohormones on pollen germination and pollen tube growth of 4 *Camellia* plants

LIU Lin-xiu^{1,2}, ZENG Hai-tao^{1*}, XU Hao¹, YAO Xiao-hua^{2*}

(1. Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723001, China; 2. Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Hangzhou 311400, China)

Abstract: To improve the efficiency of crossbreeding, *Camellia* pollen was studied on the physiological characteristics in 4 different *Camellia* plants, which included *Camellia chekiangoleosa*, *C. vietnamensis*, *C. japonica* and *C. meiocarpa*. Number of stamens and pollen grains per flower were counted, pollen germination rates and pollen tube growth under different concentrations of 6-BA, GA₃ or ABA were compared. Results showed that optimum hormones and concentrations for germination and pollen tube elongation of the 4 *Camellia* plants were different. The optimum hormones and concentrations for pollen germination of 4 species were 10 mg/L 6-BA, 0.5 mg/L 6-BA, 5 mg/L GA₃ and 10 mg/L GA₃, respectively. At the same time, the most suitable hormones and concentrations for pollen tube elongation were 75 mg/L GA₃, 4 mg/L ABA, 125 mg/L GA₃ and 10 mg/L GA₃, respectively. The pollen germination rates of the 4 *Camellia* species in 3 periods were gradually rising, and the pollen activity were the highest at the late bloom stage. The pollen germination rates of *C. chekiangoleosa* were the highest at all of the 3 stages, which reached to about 70% at late bloom stage.

Key words: *Camellia* plants; pollen germination; phytohormone; pollen grain number; anther number

山茶属(*Camellia* L.)植物主要分布于热带和亚热带地区, 包括200多个常绿树种^[1], 部分树种种仁

含油率高, 以油茶(*Camellia* spp)最为突出^[2]; 部分树种兼具观赏价值, 如浙江红花油茶、山茶等^[3]; 还有

收稿日期: 2020-06-08

基金项目: 国家重点研发计划(2019YFD1001602); 陕西省科技厅农业科技创新与攻关项目(2016NY-007); 陕西省教育厅专项科研计划项目(16JK1144)

作者简介: 刘林秀(1994-), 女, 硕士研究生, 主要从事经济林遗传育种研究, E-mail: lxliu9968@163.com

* 通讯作者: 姚小华(1962-), 男, 研究员, 博士生导师, 主要从事经济林遗传育种和栽培技术研究, E-mail: yaohx168@163.com;

曾海涛(1978-), 男, 讲师, 主要从事林木遗传育种及逆境胁迫分子生物学研究, E-mail: zenghaitao@sut.edu.cn

一些可制作饮品,例如茶(*Camellia sinensis*)等。

油茶又称茶籽树,是山茶科山茶属常绿灌木或小乔木,为我国主要的食用油料树种^[4~6],主要分布于我国的长江流域及以南地区,包括湖南、江西和广西等14个省份^[7]。油茶不但具有很高的食用药用价值^[8,9],还具有很好的水土保持能力和生态效益^[10]。茶油脂肪酸组成成分丰富,包括油酸、亚油酸、亚麻酸、棕榈酸及硬脂酸等^[11,12]。同时,油茶因其相当高的营养成分和保健功能而被称为“食用油之王”^[13]。

目前,我国作为油料资源人工栽培利用的物种仅有10余种,包括普通油茶(*Camellia oleifera*)、浙江红花油茶(*Camellia chekiangoleosa*)、越南油茶(*Camellia vietnamensis*)、南山茶(*Camellia semiserrata*)、小果油茶(*Camellia meiocarpa*)等^[14]。浙江红花油茶是我国特有的油料树种,它不仅具有普通油茶种仁含油率高的特点,同时茶油清香、油品质好,花色艳丽、花型较大,兼具观赏和食用价值^[15~17];越南油茶又称大果油茶,是海南等地区极具地域特色的油茶品种,也是我国种植面积第三的油料树种^[18];山茶是观赏山茶的主要原始品种,现有1000多个观赏品种,作为观赏植物在南方绿化中广泛应用;小果油茶分布广、栽培历史悠久,果小皮薄、含油率和出籽率较高、适应性和抗病性较强,且产量相对稳定^[19,20]。

油茶花期一般在10~12月或者1~3月,在实际生产中此时段多雨雪、气温较低,严重影响了油茶产业的发展^[21,22]。因此,对影响其花粉萌发及花粉管生长的条件进行深入研究,对提高授粉成功率和坐果率,促进丰产稳产具有非常重要的意义。目前为止,对山茶属植物花粉生物学的研究主要集中在花粉贮藏条件及储藏特性^[23~26]、花粉形态特征^[27~30]以及山茶花的器官和形态解剖学观察^[31]。高超等^[32]进行了油茶花自交不亲和性的细胞生物学研究,胡玉玲等^[33]对普通油茶的花发育过程和转化体系构建进行了探究;关于植物激素对山茶属植物影响的研究主要集中在组织培养^[34,35]以及扦插^[36,37]等方面,而激素对油茶花粉萌发影响的研究依然不足。

本研究选用4种山茶属植物:浙江红花油茶(*C. chekiangoleosa*)、越南油茶(*C. vietnamensis*)、山茶(*C. japonica*)、小果油茶(*C. meiocarpa*)为研究对象。主要目的是通过三种植物激素处理对油茶花粉萌发率和花粉管生长影响的研究,掌握山茶属植物花粉萌发及花粉管生长的规律,通过恰当地运用不同的植物激素调节并提高花粉活力,进而为提高

育种效率及合理搭配授粉树等生产实践提供科学的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

以浙江红花油茶、越南油茶、山茶(南山茶与杜鹃红山茶杂交种)、小果油茶为材料,其中小果油茶为12年实生苗,采自浙江省金华市婺城区东方红林场;其余三种材料采自中国林科院亚热带林业研究所国家油茶核心种质资源库,浙江红花油茶、越南油茶均为45年实生苗,山茶为12年实生苗。所选树种均生长正常,开花结果正常。

1.2 方法

1.2.1 单花雄蕊数和单花花粉粒数测定 初花期、盛花期、末花期三个不同时期的设定为:从第一朵花开至花朵盛开率 $\leq 5\%$ 为初花期;最后一朵花落至花朵盛开率 $\leq 5\%$ 为末花期;初花期与末花期之间为盛花期。本实验采集盛花期、生长状况良好的花朵,从4种山茶属植物各自随机摘取5朵盛花期完全开放的花,取5朵雄蕊数平均值作为该品种的单花雄蕊数,然后剪下10个花药,在恒温箱25℃烘烤10 h左右,待其完全散粉后收集在1.5 mL离心管中。向离心管中加入1 mL 1%的纤维素酶溶液,继续25℃培养24 h然后取出,充分摇晃后均匀吸取50 μL 置于载玻片凹槽处,在Nikon显微镜下拍照,每组重复3次,每次全部计数,取平均值,计算公式如下:

单花花粉粒数 = (玻片上总的花粉粒数/0.05 mL) $\times$ 1 mL/10 $\times$ 单花总的花药数

1.2.2 花粉采集 分别于盛花期采集生长状态良好、含苞待放的花蕾,于室内恒温28℃水培至花盛开散粉,后剪下花药,置于1.5 mL离心管中。通过漩涡震荡并离心后去除花药空壳,将干净花粉收集到1.5 mL离心管中,直接用于测定花粉萌发率或加入数粒干燥硅胶后保存于-20℃备用。

1.2.3 不同发育时期花粉萌发率比较 本实验采用液体培养法,参照王友保等的方法^[38],将载玻片放置在铺有湿润滤纸且加盖的培养皿中,加入200 μL 液体培养基(含20%蔗糖、2% H_3PO_3 和4% CaCl_2 的水溶液),将等量花粉均匀撒在液体培养基上,恒温25℃培养2 h,然后在Nikon显微镜(4 $\times$ 4倍)下拍照,统计萌发情况。以花粉管长度超过花粉粒的直径为萌发标准,统计萌发率。4种山茶属植物的花期各不相同,越南油茶花期在2019年11月~2020年1

月;浙江红花油茶花期在2019年11月-2020年1月;山茶花花期在2019年10月-2019年12月;小果油茶的花期在2019年11月-2019年12月;3种激素处理都是在4种山茶属植物的盛花期进行。

1.2.4 不同浓度植物激素对花粉萌发和花粉管生长的影响 选用3种不同植物激素6-BA、GA₃、ABA,各设置8个不同的浓度梯度,分别配置成相应母液,分别精确量取加入基础培养基(20%蔗糖+2% H₃PO₃+4% CaCl₂)中,同时以未作任何激素处理的基础培养基培养的花粉作为对照,参照1.2.3的方法统计萌发率以及不同植物激素对花粉管生长的影响。每个浓度下选取5个视野,每个视野计数至少10个花粉粒,使用尼康NI-U Eclipse Ni显微镜及自带软件测量萌发花粉的花粉管长度,然后统计计算,公式如下:萌发率=已萌发花粉数/计数花粉总数×100%

1.2.5 数据处理 采用Microsoft Excel 2010和IBM SPSS Statistics 23对实验数据进行分析。

2 结果与分析

2.1 单花雄蕊数与单花花粉粒数比较

4种山茶花的单花雄蕊数和单花花粉粒数统计结果见表1。浙江红花油茶、越南油茶、山茶、小果油茶的单花雄蕊数依次为316.33、172.33、135.33、

64.67个。其中,浙江红花油茶单花雄蕊数最多,约为小果油茶的5倍。此外4种山茶花的单花花粉粒分别为42.16万粒、17.83万粒、28.56万粒、7.61万粒。该统计结果差异与花朵大小差异相符:浙江红花油茶>山茶>越南油茶>小果油茶。

图1所示分别为四种植物完全盛开的花朵。可以看出,完全盛开状态下浙江红花油茶花瓣最大,直径约为11.72 cm,同时雄蕊也最密集、紧凑;其次越南油茶花直径为7.23 cm;山茶花直径为6.83 cm;小果油茶花直径最小,为3.40 cm。

2.2 不同发育时期花粉萌发率比较

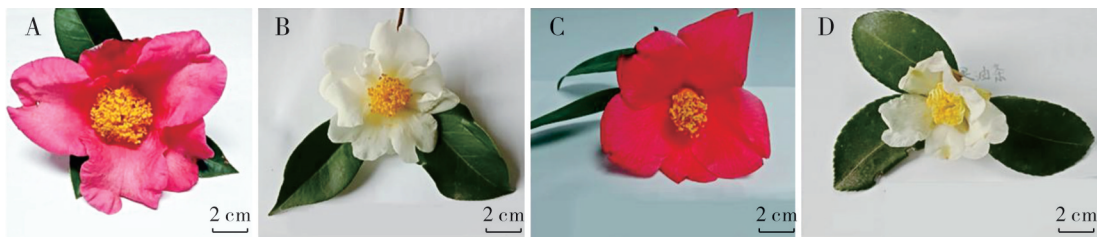
图2所示为浙江红花油茶、越南油茶、山茶、小果油茶不同发育时期花粉的萌发率,每种山茶花三个时期(初花期、盛花期、末花期)花粉取5个视野,每个视野计数至少50个花粉粒,计算均值,作为最后的萌发率。从图中可以看出,4种山茶花三个时期花粉萌发率基本呈上升趋势,末花期花粉活力最高。同时,浙江红花油茶三个时期花粉的萌发率均为4种植物中最高,末花期花粉萌发率达70%。

2.3 不同植物激素对花粉萌发的影响

植物在生长发育中,除了受光照、温度、水分等因素影响之外,还会受到激素等因素的调节。本实验通过体外培养,分别施加不同浓度的植物激素,观察其对花粉萌发的影响。如表2所示,在6-BA处

表1 单花雄蕊数和单花花粉粒数
Table 1 Number of stamens and pollen grains per flower

测定指标 Trait	种名 Species	重复1 Repeat 1	重复2 Repeat 2	重复3 Repeat 3	平均值 Average	标准偏差 Standard deviation
单花雄蕊数 Stamens per flower	浙江红花油茶 (<i>C. chekiangoleosa</i>)	315	313	321	316.33	2.40
	越南油茶 (<i>C. vietnamensis</i>)	173	174	170	172.33	1.20
	山茶 (<i>C. japonica</i>)	134	137	135	135.33	0.88
	小果油茶 (<i>C. meiocarppa</i>)	62	68	64	64.67	1.76
单花花粉粒 Pollens per flower (×10 ⁴)	浙江红花油茶 (<i>C. chekiangoleosa</i>)	42.34	45.78	38.36	42.16	2.14
	越南油茶 (<i>C. vietnamensis</i>)	15.7	19	18.8	17.83	1.07
	山茶 (<i>C. japonica</i>)	36.05	32.28	17.36	28.56	5.71
	小果油茶 (<i>C. meiocarppa</i>)	9.71	8.67	4.45	7.61	1.61



注/Note: A:浙江红花油茶 *C. chekiangoleosa*; B:越南油茶 *C. vietnamensis*; C:山茶 *C. japonica*; D:小果油茶 *C. meiocarppa*

图1 4种山茶花形态比较

Fig. 1 Morphology comparison of 4 camellia flowers

理下,四种山茶属花粉的萌发率均受到诱导,但最佳诱导浓度各有不同。其中,越南油茶花粉萌发的最佳6-BA 诱导浓度为 0.5 mg/L,为对照的 2.44 倍,浙江红花油茶花粉在 10 mg/L 6-BA 处理时萌发率

最高达 55.00%,为对照的 3.17 倍;而山茶花粉萌发的最佳6-BA 诱导浓度为 1 mg/L,为对照的 1.35 倍;小果油茶花粉萌发的最佳6-BA 浓度为 30 mg/L,为对照的 2.25 倍。在 GA₃处理下,4 种山茶属花粉的

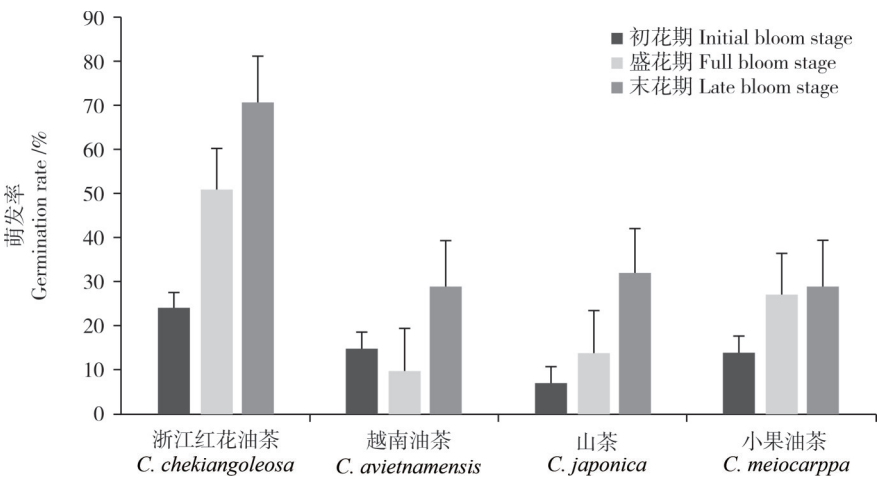


图2 不同发育时期花粉萌发率比较
Fig. 2 Comparison of pollen germination rates in different developmental stages

表2 不同浓度激素处理下的花粉萌发率

Table 2 Effects of different concentrations of phytohormone on pollen germination /%

植物激素 Phytohormone	浓度 /(mg/L) Concentration	越南油茶 <i>C. avietnamensis</i>	浙江红花油茶 <i>C. chekiangoleosa</i>	山茶 <i>C. japonica</i>	小果油茶 <i>C. meiocarppa</i>
6-BA	0	13.00bc	17.33d	32.67bc	12.00bc
	0.5	31.76c	44.67ab	30.67bd	19.67ab
	1	20.33b	45.33ab	44.00a	13.00bc
	5	16.67ab	46.67ab	37.67ab	20.33ab
	10	13.67bc	55.00a	29.00bc	9.00c
	15	15.33bc	35.33bc	29.33bc	6.33c
	20	14.33bc	30.33cd	20.33de	8.67c
	25	10.67c	28.67cd	14.67d	7.33c
	30	13.20a	25.67cd	24.00ce	27.00a
GA ₃	0	14.94a	32.57c	6.50a	27.58c
	5	13.81a	31.61b	39.17a	31.35b
	10	19.00a	48.42ab	25.31ab	50.00a
	50	19.50a	47.00ab	29.13a	29.50b
	75	20.50a	49.85a	25.77ab	27.08b
	100	17.38a	41.35ab	18.18b	33.94b
	125	15.42a	10.67a	27.80ab	29.50b
	150	22.79a	48.95a	25.85ab	24.87b
ABA	0	14.29c	27.33bc	14.00bc	27.56b
	0.5	31.47a	23.47c	23.25a	29.01b
	1	26.16ab	33.83ab	21.25a	37.00ab
	1.5	25.25ab	37.00a	21.00a	41.00ab
	2	22.38b	30.68ac	12.75bc	45.00a
	2.5	0.00d	23.16c	15.75b	27.08b
	3	31.29a	29.98ac	10.66b	29.82b
	4	27.50ab	10.72d	9.50a	37.50ab
	5	31.60a	9.14d	9.00a	0.00c

注:表中同列字母不同的,表示在 0.05 水平差异显著
Note: Different letters in the same column indicate significant differences at 0.05 level

萌发率均受到诱导。其中, 75 mg/L GA₃处理的浙江红花油茶花粉及 10 mg/L GA₃处理的小果油茶花粉萌发率最高, 分别为 49.85% 和 50.00%, 分别为未经处理对照的 1.53 倍和 1.81 倍; 5 mg/L GA₃处理的山茶花粉萌发率达 39.17%, 是对照的 6.03 倍; 75 mg/L GA₃处理的越南油茶花粉萌发率为 20.50%, 是对照的 1.37 倍。在 GA₃处理下, 4 种山茶花粉萌发均受到诱导。(3) 经 ABA 处理后, 浙江红花油茶、越南油茶、山茶、小果油茶花粉的最高萌发率分别为 37.00%、31.60%、23.25% 和 45.00%, 分别为对照的 1.35、2.21、1.66 和 1.63 倍, ABA 对油茶盛花期花粉的萌发率也表现出一定的促进作用(表 2)。

由此可以得出结论, 不同山茶属植物最适宜花粉萌发的激素及其最适宜的浓度并不相同。最适合越南油茶花粉萌发的激素为 6-BA, 最适浓度为 0.5 mg/L; 最适合浙江红花油茶花粉萌发的激素为

6-BA, 最适浓度为 10 mg/L; 最适合山茶花粉萌发的激素为 GA₃, 最适浓度为 5 mg/L; 最适合小果油茶花粉萌发的激素为 GA₃, 最适浓度为 10 mg/L。在最优处理条件下, 4 种山茶属植物花粉萌发率最高分别为 55.00%(浙江红花油茶)、31.76%(越南油茶)、39.17%(山茶)和 50.00%(小果油茶)。

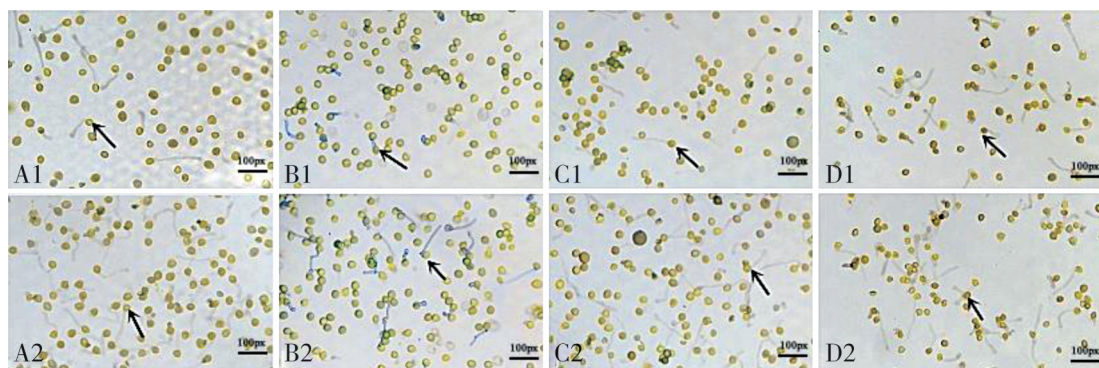
2.4 不同植物激素对花粉管生长的影响

如表 3 所示, (1) 在 20 mg/L 6-BA 处理下, 越南油茶花粉管长度为 145.68 μm, 为未经处理对照的 1.68 倍; 浙江红花油茶和未经处理对照相比, 花粉管没有明显的生长, 反而在 6-BA 30 mg/L 处理时, 花粉管长度仅为 46.44 μm, 为未经处理对照的 0.30 倍; 山茶在 6-BA 浓度为 10mg/L 时, 花粉管长度为 239.82 μm, 为未经处理 1.74 倍。10 mg/L 6-BA 处理下, 小果油茶花粉管长度为 127.99 μm, 为未经处理的 1.59 倍。由此可见, 6-BA 处理后除浙江红花

表 3 不同植物激素对花粉管生长的影响

Table 3 Effect of different phytohormone on pollen tube growth /μm

植物激素 Phytohormone	浓度 / (mg/L) Concentration	越南油茶 <i>C. avietnamensis</i>	浙江红花油茶 <i>C. chekiangoleosa</i>	山茶 <i>C. japonica</i>	小果油茶 <i>C. meiocarpa</i>
6-BA	0	86.55b	156.46a	137.74d	80.39b
	0.5	52.5d	107.51c	165.76c	72.82ab
	1	55.55d	118.11bc	194.89b	77.93b
	5	68bc	126.52b	227.78ea	116.98a
	10	63.70cd	162.86a	239.82a	127.99a
	15	144.4a	153.80a	231.69a	91.67b
	20	145.68a	114bc	102.38e	72.65ab
	25	79.51bc	121.79bc	105.22e	73.79ab
GA ₃	30	52.29d	46.44d	69.62f	54.58c
	0	112.02cd	127.48e	231.15d	104.82d
	5	177.88a	165.66cd	236.13d	100.89d
	10	142.71b	157.42cde	255.99d	197.96ab
	50	123.59bc	186.20c	345.68bc	151.58c
	75	92.23e	291.47a	337.12bc	120.98d
	100	99.11e	239.77b	402.34ab	155.91c
	125	114.45cde	244.33b	426.66a	181.57bc
ABA	150	101.49de	221.62b	395.5ab	181.57bc
	175	127.44bc	149.32de	326.02c	221.71a
	0	110.52d	153.33de	182.91b	165.69a
	0.5	166.66c	132.68e	217.09a	253.17a
	1	190.58bc	191.64bc	201.01ab	211.43ab
	1.5	191.27bc	194.53b	190.95ab	216.26ab
	2	214.93ab	226.22a	131.37cd	175.58bc
	2.5	223.99a	196.90b	133.74c	164.97c
	3	233.05a	167.58cd	148.98c	142.69c
	4	233.05a	69.79f	103.08de	244.39a
	5	216.60ab	60.41f	95.51e	221.71a



注:A为浙江红花油茶花粉萌发状态,A1为未经激素处理的花粉,A2为10 mg/L 6-BA处理后的花粉萌发;B为越南油茶花粉萌发状态,B1为未经激素处理的花粉,B2为0.5 mg/L 6-BA处理后的花粉萌发;C为山茶花粉萌发状态,C1为未经激素处理的花粉,C2为5 mg/L GA₃处理后的花粉萌发状态;D为小果油茶花粉萌发状态,D1为未经激素处理的花粉,D2为10 mg/L GA₃处理后的花粉萌发状态;图中箭头所示为萌发花粉管
Note: A: *C. chekiangoleosa* (A1: without hormone treatment; A2: under 10 mg/L 6-BA treatment); B: *C. vietnamensis* (B1: without hormone treatment; B2: under 0.5 mg/L 6-BA treatment); C: *C. japonica* (C1: without hormone treatment; C2: under 5 mg/L GA₃ treatment); D: *C. meiocarpa* (D1: without hormone treatment; D2: under 10 mg/L GA₃ treatment). Arrows point to germinated pollens

图3 花粉萌发情况比较

Fig. 3 Comparison of pollen germination

油茶花粉管没有明显增长外,对其余三种花粉管的生长都起到诱导作用,同时四种山茶属植物花粉均在浓度10~15 mg/L时花粉管的生长达到最大,随后花粉管生长开始下降。(2)在各自最佳浓度GA₃处理下,浙江红花油茶、越南油茶、山茶和小果油茶4种山茶属植物花粉管的长度分别为未经处理对照花粉管长度的2.29、1.59、1.85、2.12倍,GA₃对四种山茶属植物花粉管生长均有显著诱导作用。(3)在各自最佳浓度ABA处理下,浙江红花油茶、越南油茶、山茶和小果油茶4种山茶属植物花粉管的长度分别为未经处理对照花粉管长度的1.48、2.11、1.19、1.53倍;其中浙江红花油茶和山茶在ABA浓度为5 mg/L时,花粉管长度仅为对照的0.39、0.52倍,说明ABA在低浓度时诱导浙江红花油茶和山茶的花粉管生长,高浓度时抑制生长。

由表3可以得出:最适合浙江红花油茶、越南油茶、山茶、小果油茶的花粉管生长的激素及其浓度分别为:75 mg/L GA₃、4 mg/L ABA、125 mg/L GA₃、10 mg/L GA₃。在最优选处理条件下,4种山茶属植物的花粉管长度分别为对照的2.29倍(浙江红花油茶)、2.11倍(越南油茶)、1.85倍(山茶)和1.89倍(小果油茶)。

花粉管生长状况如图3所示。从图中可以看出,在萌发状态下,浙江红花油茶的花粉粒最为饱满;其余三种花粉粒状态比较接近,相对不够饱满且不均匀。

3 讨论

在被子植物中,双受精过程的完成依赖于雌雄配子体的相互作用,这种相互作用主要指雄配子体即花粉与雌蕊组织之间的相互识别^[39]。目前虽有油茶花粉基本生物学特性的部分研究报道,但对于不同激素处理后油茶花粉萌发状况以及花粉活力的报道甚少。本研究通过对不同品种山茶花的单花雄蕊数、单花花粉粒数的统计,以及不同发育时期花粉萌发情况的研究,可为油茶杂交育种工作以及授粉树的合理配置提供进一步的理论指导。实验结果表明:浙江红花油茶的单花雄蕊数和单花花粉粒数都是四种山茶属植物中最高的,越南油茶和山茶居中,小果油茶最低。何春燕等人^[40]的研究发现,浙江红花油茶和越南油茶的单花雄蕊数的基本趋势一致,而本文的研究中浙江红花油茶及越南油茶的单花雄蕊数均较前文更高,且浙江红花油茶的单花雄蕊数高于越南油茶,这可能与生长环境及气候条件等差异有关。

花粉萌发过程包括花粉的黏附、水合以及萌发过程,通常一粒花粉的萌发伴随着花粉管的产生以及伸长,植物双受精一系列过程都要在花粉顺利萌发的基础上才能完成^[41]。因此对不同种山茶属植物花粉萌发率、花粉管生长状态以及不同激素处理后对花粉萌发率以及花粉管生长状态影响的研究,对于杂交实验以及授粉实验有非常大的指导意义。通过比较不同发育时期花粉萌发率可知:本实验所用4种油茶的花粉萌发率均遵循从初花期到末花期

萌发率逐渐增长趋势。刘佳等^[42]对巨峰葡萄花粉活力的研究发现,巨峰葡萄盛花期花粉活力最高,随后花粉活力开始下降,推测该差异可能与环境温度和物种不同有关。

通过花粉萌发率和花粉管的生长比较发现,在3种不同植物激素处理下,花粉萌发率和花粉管的生长状态并不一致,每种花粉萌发最适的植物激素种类及最适浓度也各不相同。 GA_3 可以促进花粉萌发和花粉管的生长,这与林华忠^[43]对刺槐的研究以及Sun^[44]等对杏花花粉萌发研究所得的规律相一致,但最佳处理浓度在不同物种之间并不相同。

通过上述实验结果可以得出:(1)浙江红花油茶的单花雄蕊数、单花花粉粒数以及激素处理后花粉的萌发状态均是4种植物中最佳的,但实际生产中浙江红花油茶依然存在花多果少现象,这需要更进一步深入研究;(2)越南油茶和山茶花期相近,同时萌发状态也相接近,可以考虑作为相互授粉树;(3)4种山茶花初花期、盛花期、末花期花粉萌发率逐渐上升,但是末花期盛开的花朵较少,因此盛花期的后半段应该是进行人工授粉比较合适的时间;(4)小果油茶花粉萌发及花粉管生长的最适宜激素及其浓度都是10 mg/L GA_3 ,这非常有利于对其花粉萌发及花粉管生长的持续调节;(5)对于浙江红花油茶、越南油茶及山茶而言,花粉萌发及花粉管生长的最适宜激素种类或浓度差异较大,则需要在花粉萌发及花粉管生长之间综合平衡进行选择。例如,对于浙江红花油茶,75 mg/L GA_3 处理最适宜其花粉管生长,同时花粉萌发率也能达到处理条件下萌发率的90.64%,因此75 mg/L GA_3 可作为促进浙江红花油茶花粉萌发及花粉管生长的优选条件;同理,3 mg/L ABA可作为促进越南油茶花粉萌发及花粉管生长的优选条件,125 mg/L GA_3 可作为促进山茶花粉萌发及花粉管生长的较优选条件。

4 结论

自然状态下,山茶属植物以异花授粉为主,高度的自交不亲和性大大增加了育种理论研究及实践生产的难度。针对不同山茶属植物,选用恰当浓度的植物激素以提前或者延缓花粉的萌发,可更好地为育种生产实践服务。本研究以4种具有较高研究价值及开发利用价值的山茶属植物为材料,研究发现不同山茶属植物花粉萌发及花粉管生长最适宜的激素及其浓度各不相同。本研究的结果可更好地为开展杂交育种工作提供重要的理论依据,也

为进一步提高不同品种油茶果实产量的理论研究和实践应用奠定了基础。

参考文献:

- [1] Wu L, J Li, Y Gu, et al. Effect of chilling temperature on chlorophyll florescence, leaf anatomical structure, and physiological and biochemical characteristics of two *Camellia oleifera* cultivars [J]. Int J Agric Biol, 2020, 23: 777-785. DOI: 10.1007/BF00034980.
- [2] 庄瑞林. 中国油茶[M]. 2版. 北京: 中国林业出版社, 2008: 2-4.
- [3] 王玉娟, 何小三, 敖婉初, 等. 贮藏条件对赣无系列油茶花粉活力和萌发率的影响[J]. 经济林研究, 2014, 32(2): 152-155. DOI: 10.3969/j. issn. 1003-8981.2014.02.032.
- [4] Gao C, Yuan D Y, Yang Y, et al. Pollen tube growth and double fertilization in *Camellia oleifera* [J]. J Am Soc Hortic Sci, 2015, 140(1): 12-18. DOI: 10.21273/JASHS.140.1.12.
- [5] Tan X F, Jiang G X, Tan F Y. Research report on industrialization development strategy of *Vernicia fordii* in China[J]. Non Wood Forest Res, 2011, 29: 1-5.
- [6] Li Z, Tan X F, Liu Z M, et al. *In vitro* propagation of *Camellia oleifera* Abel. using hypocotyl, cotyledonary node, and radicle explants [J]. Hortscience, 2016, 51(4): 416-421. DOI: 10.21273/hortsci.51.4.416.
- [7] Li S, Zhu X, Zhang J, et al. Authentication of pure *Camellia* oil by using near infrared spectroscopy and pattern recognition techniques [J]. J Food Sci, 2012, 77(4): C374-C380. DOI: 10.1111/j. 1750-3841.2012.02622.x.
- [8] Zeng Y L, Tan X F, Zhang L, et al. A fructose-1, 6-bisphosphate aldolase gene from *Camellia oleifera*: molecular characterization and impact on salt stress tolerance [J]. Mol Breeding, 2015, 35(1): 1-12. DOI: 10.1007/s11032-015-0233-5.
- [9] Yang C, Liu X, Chen Z, et al. Comparison of oil content and fatty acid profile of ten new *Camellia oleifera* cultivars [J]. J Lipids, 2016, 2016: 3982486. DOI: 10.1155/2016/3982486.
- [10] Li H, Zhou G Y, Qi X Y, et al. First report of *Colletotrichum henanense* causing anthracnose on tea-oil trees in China [J]. Plant Dis, 2018, 102(5): 1040. DOI: 10.1094/pdis-08-17-1302-pdn.
- [11] Yang C, Liu X, Chen Z, et al. Comparison of oil content and fatty acid profile of ten new *Camellia oleifera* cultivars [J]. J Lipids, 2016, 2016: 3982486. DOI: 10.1155/2016/3982486.
- [12] Zhou J Q, Lu M Q, Yu S S, et al. In-depth understanding of *Camellia oleifera* Self-incompatibility by comparative

- transcriptome, proteome and metabolome [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(5): 1600. DOI:10.3390/ijms21051600.
- [13] Qu X J, Wang H, Chen M, et al. Drought stress - induced physiological and metabolic changes in leaves of two oil tea cultivars [J]. *J Amer Soc Hort Sci*, 2019, 144(6): 439-447. DOI:10.21273/jashs04775-19.
- [14] 姚小华, 任华东. 中国油茶遗传资源(全二册)[M]. 北京: 科学出版社, 2020: 2-4.
- [15] 徐梦媛, 郑睿行, 祝华明, 等. 浙江红花山茶油的原料性状及品质分析[J]. *中国粮油学报*, 2019, 34(3): 81-86, 92. DOI:10.3969/j.issn.1003-0174.2019.03.014.
- [16] 刘曲, 姚小华, 王开良, 等. 低海拔地区浙江红花油茶无性系的开花物候特性[J]. *林业科学研究*, 2015, 28(2): 249-254.
- [17] 杨军, 邱日红, 赵文进, 等. 浙江红花油茶种质资源及开发利用[J]. *现代园艺*, 2012(9): 12-13. DOI:10.3969/j.issn.1006-4958.2012.09.007.
- [18] 姚小华, 黄勇, 王开良, 等. 小果油茶优良种质资源筛选与综合评价[J]. *经济林研究*, 2012, 30(4): 1-8.
- [19] 黄勇, 谢一青, 李志真, 等. 小果油茶表型多样性分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2014, 15(2): 270-278. DOI:10.13430/j.cnki.jpgr.2014.02.007.
- [20] 谢一青, 李志真, 姚小华, 等. 小果油茶果实性状与含油率及脂肪酸组成相关性分析[J]. *中国油脂*, 2013, 38(5): 80-83. DOI:10.3969/j.issn.1003-7969.2013.05.020.
- [21] Rademacher W. GROWTH RETARDANTS: effects on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 2000, 51: 501-531. DOI:10.1146/annurev.arplant.51.1.501.
- [22] Zhang L L, Wang Y M, Wu D M, et al. Comparisons of anti oxidant activity and total phenolics of *Camellia oleifera* Abel fruit hull from different regions of China [J]. *J Medicin Plants Res*, 2013, 4(14): 1420-1426. DOI:10.1016/j.jep.2010.05.012.
- [23] 贾文庆, 王少平, 李纪元. 大花红山茶花粉形态特征和培养条件及其储藏过程的生理动态分析[J]. *西北植物学报*, 2015, 35(4): 754-760. DOI:10.7606/j.issn.1000-4025.2015.04.0754.
- [24] 贾文庆, 王少平, 范正琪, 等. 耐冬山茶花粉储藏条件及其活力的动态变化[J]. *林业科学研究*, 2015, 28(3): 374-379. DOI:10.3969/j.issn.1001-1498.2015.03.011.
- [25] 邹锋, 谭晓风, 袁德义, 等. 油茶花粉数量及4℃贮藏萌发率特性研究[J]. *江西农业大学学报*, 2009, 31(5): 892-895. DOI:10.3969/j.issn.1000-2286.2009.05.023.
- [26] 叶欣, 谢云, 茹华莎. 浙江红山茶花粉萌发与贮藏特性研究[J]. *西北林学院学报*, 2016, 31(1): 103-106, 129. DOI:10.3969/j.issn.1001-7461.2016.01.19.
- [27] 魏兆兆, 谢云, 孟辉, 等. 3种类型浙江红山茶的花粉形态学研究[J]. *浙江农林大学学报*, 2012, 29(4): 634-638. DOI:10.3969/j.issn.2095-0756.2012.04.024.
- [28] 李纪艳, 许杰. 茶树花粉研究现状[J]. *江西农业*, 2019(10): 106, 108.
- [29] 谢微微, 于文涛, 杨国一, 等. 14个茶树品种的花粉微形态观察[J]. *南方农业学报*, 2018, 49(9): 1698-1704. DOI:10.3969/j.issn.2095-1191.2018.09.03.
- [30] 陈常颂, 彭艾, 钟秋生, 等. 34份茶树种质的花粉形态特征研究[J]. *福建农业学报*, 2012, 27(11): 1219-1226. DOI:10.3969/j.issn.1008-0384.2012.11.014.
- [31] 贾泽冲, 刘云豪, 陈霞, 等. 海南油茶不育株花器发育生物学特性及解剖学观察[J]. *热带作物学报*, 2020: 1-11. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1019.S.20200323.1412.052.html>.
- [32] 高超. 油茶后期自交不亲和性的细胞学研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2017.
- [33] 胡玉玲. 普通油茶花发育和遗传转化体系构建初步研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2014.
- [34] 汪结明, 周倩, 李瑞雪. 不同激素对比对诱导栓壳红山茶愈伤组织的影响[J]. *中国农学通报*, 2011, 27(13): 112-115.
- [35] 袁颖. 攀西西南山茶幼叶愈伤组织诱导研究[J]. *安徽农业科学*, 2009, 37(17): 7866-7867. DOI:10.3969/j.issn.0517-6611.2009.17.025.
- [36] 吴窃窃, 谢云, 金锡勤, 等. 生长激素对浙江红山茶扦插生根的影响[J]. *西北农业学报*, 2012, 21(10): 123-127.
- [37] 陈典, 李金平. 不同激素处理对山茶嫩枝扦插的影响[J]. *经济林研究*, 2013, 31(1): 153-155.
- [38] 王友保, 张莉. 花粉萌发与花粉管生长实验的改进[J]. *生物学通报*, 2006, 41(12): 57. DOI:10.3969/j.issn.0006-3193.2006.12.027.
- [39] 胡适宜. 被子植物生殖生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2005.
- [40] 何春燕, 谭晓风, 袁德义, 等. 7种油茶花粉数量及花粉萌发率的测定[J]. *中南林业科技大学学报*, 2009, 29(1): 74-78.
- [41] 史密斯(Smith, A M)著, 瞿礼嘉译. 植物生理学[M]. 北京: 科学出版社, 2012.
- [42] 刘佳, 刘晓, 陈建. 巨玫瑰葡萄花粉生活力研究[J]. *西南农业学报*, 2014, 27(5): 2115-2118. DOI:10.3969/j.issn.1001-4829.2014.05.061.
- [43] 林华忠. 几种外源激素对刺槐和红花槐种子萌发的影响[J]. *中国农学通报*, 2018, 34(15): 77-84.
- [44] Sun H Y, Kang L, An X Q, et al. Influence of plant growth regulators on pollen germination and growth of Xinjiang apricots [J]. *J Agri Sci Tech*, 2013, 14(2): 262-268.

(责任编辑:郭学兰)