

## 维生素 C 及植物生长调节物质对油茶花粉萌发率的影响

谭晓风, 袁德义, 袁军, 廖婷

(中南林业科技大学 经济林育种与栽培国家林业局重点实验室, 湖南长沙 410004)

**摘要:** 以油茶‘华硕’*Camellia oleifera* ‘Huashuo’花粉为试材, 运用琼脂培养基萌发法研究维生素 C (AsA) 及植物生长调节物质对油茶花粉萌发率的影响。结果表明: 适宜质量浓度的维生素 (CAsA), 吲哚乙酸 (IAA), 萘乙酸 (NAA), 2, 4-二氯苯氧乙酸 (2, 4-D) 和赤霉素 ( $GA_3$ ) 对油茶花粉萌发率具有显著促进作用, 其中单因素处理 AsA 质量浓度为  $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 花粉萌发率达到最高 (65.86%), 比对照提高了 23.80%;  $GA_3$  质量浓度为  $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时花粉萌发率最高, 达 74.22%; NAA 和 2, 4-D 处理花粉萌发率在质量浓度为  $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时最高, 分别达到 61.33% 和 60.09%, IAA 在质量浓度为  $5.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时花粉萌发率达到最大 (71.52%); 适宜质量浓度的 IAA,  $GA_3$  和 AsA 配合使用能显著提高油茶花粉萌发率。根据适宜质量浓度设计 3 因素 4 水平正交实验, 发现以  $5.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  IAA +  $5.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$   $GA_3$  +  $20.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  AsA 最优, 油茶花粉萌发率达到 82.91%。图 3 表 3 参 13

**关键词:** 经济林学; 油茶; 植物生长调节物质; 花粉; 萌发率

中图分类号: S794.4; Q949.754.4

文献标志码: A

文章编号: 1000-5692(2010)06-0941-04

## Pollen germination in *Camellia oleifera* with ascorbic acid and plant growth regulators

TAN Xiao-feng, YUAN De-yi, YUAN Jun, LIAO Ting

(The Key Laboratory of Non-wood Forest Products of State Forestry Administration, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, Hunan, China)

**Abstract:** The effects of ascorbic acid (AsA) and plant growth regulators, such as gibberellic acid ( $GA_3$ ), naphthalene acetic acid (NAA), 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D), and indoleacetic acid (IAA) on pollen germination percentage of *Camellia oleifera* ‘Huashuo’ were studied with in vitro tissue culture. Results for AsA alone showed that an optimal concentration of  $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  increased ( $P < 0.05$ ) the pollen germination rate to 65.9%, which was 23.8% higher than the control (no AsA). The optimal concentration for  $GA_3$  alone was  $10.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  with a pollen germination rate of 74.22% ( $P < 0.05$ ). The best germination rate was found with  $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA,  $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  2, 4-D, and  $5.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  IAA respectively. However, the best results (pollen germination of 82.91%) was with a combination of  $5.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  IAA +  $5.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$   $GA_3$  +  $20.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  AsA. [Ch, 3 fig. 3 tab. 13 ref.]

**Key words:** cash forestry; *Camellia oleifera*; plant growth regulator; pollen; germination percentage

油茶 *Camellia oleifera* 是中国特有的重要木本食用油料树种<sup>[1]</sup>。中国共有油茶林 302.0 万  $\text{hm}^2$ , 产茶油 26.25 万  $\text{t}\cdot\text{a}^{-1}$ , 平均产茶油  $87.0\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 。油茶产业普遍存在着单位面积产量低和经济效益差两大问题<sup>[2]</sup>, 其中花期不遇和授粉受精不良导致的坐果率低、落花落果严重是最重要的原因之一<sup>[3-4]</sup>。对茶树 *C. sinensis* ‘Fuding Dabaicha’, 阿月浑子 *Pistacia vera*, 油菜 *Brassica napus* 等的研究发现, 适宜质量浓度的植物生长调节物质、维生素类物质及其适宜配比对植物花粉萌发具有明显的促进作用<sup>[5-8]</sup>, 目前

收稿日期: 2010-01-14; 修回日期: 2010-03-31

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划项目(2009BADB1B02, 2009BADB00403);林业公益性行业科研专项(200804044)

作者简介: 谭晓风, 教授, 博士, 从事经济林栽培与育种研究。E-mail: tanxiaofencn@yahoo.com.cn

关于它们对油茶花粉萌发率影响的研究还处于空白。本试验研究了维生素 C(AsA)及 4 种植物生长调节物质对油茶花粉萌发率的影响,以期找出能够提高油茶花粉萌发率的最佳质量浓度和配比,为调控油茶花粉发芽、人工辅助授粉和提高油茶坐果率及效益提供有益的参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

试验材料采自中南林业科技大学马家河采穗圃(26°03'05" ~ 28°01'07"N, 112°57'30" ~ 114°07'15" E),供试品种为‘华硕’*Camellia oleifera* ‘Huashuo’,原名茶陵 766。2009 年 12 月 5 日,采集花药开裂前 1-2 d 的带花枝条,置于室内水培待用。

### 1.2 试验设计及观测方法

本研究采用琼脂培养基萌发法<sup>[9]</sup>,以何春燕等<sup>[10]</sup>研究的最优蔗糖(100 g·kg<sup>-1</sup>)和琼脂(10 g·kg<sup>-1</sup>)质量分数,加入不同质量浓度的吲哚乙酸(IAA),萘乙酸(NAA),2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D),赤霉素(GA<sub>3</sub>)和维生素 C(AsA)为培养基(质量浓度参照茶树<sup>[6]</sup>、阿月浑子<sup>[7]</sup>和油菜<sup>[8]</sup>等,并扩大一定范围),预先进行单因素试验(表 1),根据单因素试验结果确定 IAA,GA<sub>3</sub> 以及 AsA 适宜质量浓度,然后采用正交设计 L<sub>14</sub>(4<sup>3</sup>)(表 2)综合考虑不同配比的作用效果。

将花粉散播于载有不同培养基的载玻片上,25℃恒温培养箱内暗培养 4 h 后用 Olympus 显微镜(型号 B×51)观察。重复 3 次·处理<sup>-1</sup>,观察视野 5 个·重复<sup>-1</sup>,每个视野花粉粒数不小于 50 粒·视野<sup>-1</sup>,统计花粉萌发率。花粉萌发标准以花粉管超过花粉粒直径为准,花粉萌发率 = (萌发花粉数/花粉总数) × 100%。采用 SPSS 13.0 软件对数据进行处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 AsA 对油茶花粉萌发率的影响

油茶花粉萌发率在不同质量浓度 AsA 条件下(图 1),存在显著差异( $P = 0.024 < 0.05$ )。在 AsA 质量浓度为 1.0 mg·L<sup>-1</sup> 时,花粉萌发率受到轻微抑制,比对照低 4.63%;从 5.0 mg·L<sup>-1</sup> 开始,AsA 对油茶花粉萌发率从抑制转为促进,且作用逐渐增强;当 AsA 质量浓度为 20.0 mg·L<sup>-1</sup> 时,花粉萌发率达到最高(65.86%),并与其他质量浓度存在明显差异,此时萌发率比对照提高了 23.80%;随着质量浓度继续升高,萌发率随后降低,到质量浓度为 80.0 mg·L<sup>-1</sup> 时,AsA 的作用又开始表现为抑制,发芽率低于对照。从以上分析得知,适宜质量浓度 AsA 可以促进花粉萌发,而质量浓度过高和过低均对花粉萌发不利。

### 2.2 植物生长调节物质对花粉萌发的影响

不同植物生长调节物质对油茶花粉萌发率的作用效果不同(图 2~3)。GA<sub>3</sub> 在适宜质量浓度(5.0~60.0 mg·L<sup>-1</sup>)能促进花粉萌发,质量浓度过低或过高均抑制花粉萌发。方差分析表明,当 GA<sub>3</sub> 质量浓度为 5.0~20.0 mg·L<sup>-1</sup> 时,花粉萌发率与其他质量浓度存在显著差异( $P < 0.05$ );质量浓度为 10.0 mg·L<sup>-1</sup> 时,萌发率最高,达 74.22%,比对照高 32.16%。IAA, NAA 和 2,4-D 在质量浓度为 0.5 mg·L<sup>-1</sup> 时均表现为抑制作用,随着质量浓度升高,花粉的萌发率逐渐升高;NAA 和 2,4-D 处理萌发率在质量浓度为

表 1 单因素试验处理及质量浓度

Table 1 Levels of single factor experiment

处理试剂	处理质量浓度/(mg·L <sup>-1</sup> )
IAA	0, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0, 20.0, 30.0, 40.0, 50.0
NAA	0, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0, 20.0, 30.0, 40.0, 50.0
2,4-D	0, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0, 20.0, 30.0, 40.0, 50.0
GA <sub>3</sub>	0, 1.0, 5.0, 10.0, 20.0, 40.0, 60.0, 80.0, 100
AsA	0, 1.0, 5.0, 10.0, 20.0, 40.0, 60.0, 80.0, 100

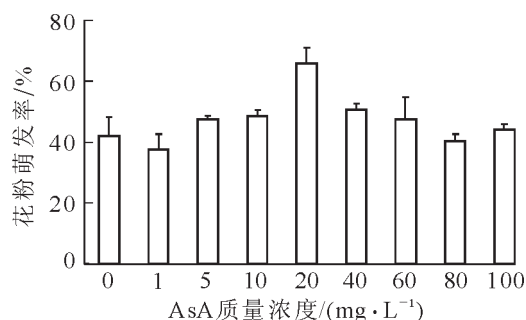


图 1 维生素 C 对油茶花粉萌发率的影响

Figure 1 Effects of different concentration ascorbic acid on pollen germination percentage

1.0 mg·L<sup>-1</sup> 时最高，分别达到 61.33% 和 60.09%，IAA 在质量浓度为 5.0 mg·L<sup>-1</sup> 处萌发率达到最大 (71.52%)，比对照高 29.47%；花粉萌发率 IAA, NAA 和 2, 4-D 分别在质量浓度为 30.0, 10.0, 30.0 mg·L<sup>-1</sup> 时小于对照，且分别在 40.0, 30.0, 50.0 mg·L<sup>-1</sup> 时完全不能萌发。从图中可以看出，花粉萌发率对 2, 4-D 反应灵敏，而对 IAA, NAA 反应相对较为迟钝，最适质量浓度也存在一定的差异，说明花粉对不同生长素的敏感程度不同。

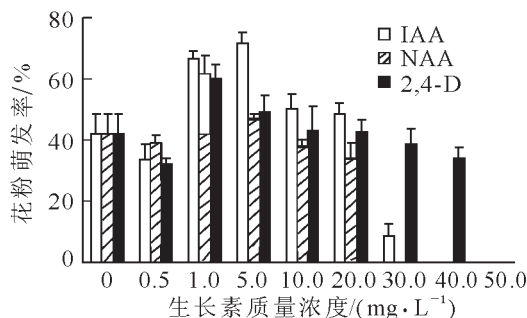


图 2 生长素对油茶花粉萌发率的影响

Figure 2 Effects of different concentration auxin on pollen germination percentage

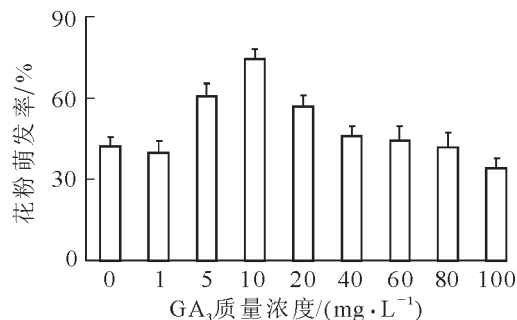


图 3 赤霉素对油茶花粉萌发率的影响

Figure 3 Effects of different concentration GA<sub>3</sub> on pollen germination percentage

### 2.3 AsA 及不同植物生长调节物质配比对油茶花粉萌发率的影响

单因素试验发现，适宜质量浓度的 IAA, NAA, GA<sub>3</sub>, 2, 4-D 及 AsA 均对油茶花粉萌发具有明显的促进作用。选取生长素 IAA, 细胞分裂素 GA<sub>3</sub> 和 AsA 分析不同配比对花粉萌发率的影响。根据其最适质量浓度设计 3 因素 4 水平 14 个正交处理试验 (表 2)。经同样的方法培养，其萌发率情况如表 3。

表 2 正交试验的因素及水平

Table 2 Levels and factors of orthogonal test

因素	水平/(mg·L <sup>-1</sup> )			
	1	2	3	4
AsA	10	20	30	40
IAA	1	5	10	20
GA <sub>3</sub>	5	10	20	40

方差分析表明，14 个处理花粉萌发率存在显著差异。4, 7, 10 和 12 号处理的花粉萌发率低于对照 (62.55%)，其中以 12 号花粉萌发率最低 (42.57%)；9 个处理高于对照，其中以 5 号处理最好，萌发率达到 82.91%，比对照提高 20.36%，显著高于其他处理；AsA 对油茶花粉萌发率影响程度最大，其次为 IAA, GA<sub>3</sub> 最小；油茶花粉萌发率在不同 IAA ( $P = 0.028$ ) 和 AsA 质量浓度下 ( $P = 0.003$ ) 差异极显著，在设定 GA<sub>3</sub> 质量浓度条件下差异不明显，表明油茶花粉对 IAA 和 AsA 敏感性高，而对 GA<sub>3</sub> 的敏感性较低；综合分析单因素统计量表和配对比较表发现：IAA, GA<sub>3</sub> 和 AsA 分别在 5.0, 5.0 和 20.0 mg·L<sup>-1</sup> 均数最大，所以提高花粉萌发率的最优条件应为：5.0 mg·L<sup>-1</sup> IAA + 5.0 mg·L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> + 20.0 mg·L<sup>-1</sup> AsA。

表 3 AsA 及不同激素配比对花粉萌发率的影响

Table 3 pollen germination percentage of orthogonal test in *camellia oleifera*

处理代号	各因素质量浓度/(mg·L <sup>-1</sup> )			花粉萌发率/%
	IAA	GA <sub>3</sub>	AsA	
1	0	0	0	62.55 bc
2	0	10	20	68.99 abc
3	1	10	20	66.33 abc
4	5	0	20	54.96 cd
5	5	5	20	82.91 a
6	5	10	20	77.17 ab
7	5	15	20	59.22 bed
8	5	10	0	67.34 abc
9	5	10	10	71.11 abc
10	5	10	30	43.91 d
11	10	10	20	64.38 abc
12	1	5	20	42.57 d
13	1	10	10	65.74 abc
14	5	5	10	72.14 abc

说明：不同小写字母表示显著性水平为 0.05 时，差异显著。

### 3 结论与讨论

植物花粉萌发率受遗传特性、生长时期、激素水平等影响,通过外源激素调节植物本身激素水平而提高花粉萌发率已在多种农林植物中得以验证<sup>[6-8]</sup>,适宜质量浓度的 IAA, NAA, 2, 4-D, GA<sub>3</sub> 及 AsA 对提高油茶花粉萌发率均具有明显的促进作用。维生素 C 能促进分生组织和中柱鞘细胞从 G1 期到 S 期的分裂并使不活动中心细胞数量大大减少<sup>[11]</sup>,花蜜富含维生素 C 和泛酸等物质<sup>[12]</sup>。从本研究可以看出,花蜜的作用不单是吸引昆虫传粉,还对花粉萌发具有一定的促进作用。油茶花粉对 IAA, NAA, 2, 4-D 灵敏程度不同,对 GA<sub>3</sub> 对反应不灵敏。从正交试验结果分析可以看出,AsA 对油茶花粉萌发率影响程度最大,其次为 IAA, GA<sub>3</sub> 最小;GA<sub>3</sub> 和 IAA 配合使用促进效果不明显,主要是由于 GA<sub>3</sub> 降低了 IAA 氧化酶的活性,抑制了 IAA 的分解,使得浓度偏大<sup>[13]</sup>。花期喷施 AsA 和 IAA 等物质促进花粉萌发和生长,加速授粉受精过程和提高坐果率是生产上一项重要的措施<sup>[13]</sup>。本研究筛选出了维生素 C(AsA)及 4 种植物生长调节剂物质最适宜质量浓度和最佳配比,可为生产应用提供参考。

#### 参考文献:

- [1] 庄瑞林. 中国油茶[M]. 2 版. 北京: 中国林业出版社, 2008: 3.
- [2] 国家林业局. 全国油茶产业发展规划(2009-2012 年)[M]. 北京: 中国林业出版社, 2009: 2, 9.
- [3] 黎章矩, 曾燕如, 戴文圣. 油茶低产低效的内外影响因子调查[J]. 林业科技开发, 2009, **23** (5): 26 - 31.  
LI Zhangju, ZENG Yanru, DAI Wensheng. Studies on internal and external factors which related with low yield and poor benefit in *Camellia oleifera* [J]. *China For Sci Technol*, 2009, **23** (5): 26 - 31.
- [4] 林少韩, 李桂梅. 油茶低产林改造工程的技术策略和实施方式[J]. 林业科学研究, 1991, **4** (4): 353 - 359.  
LIN Shaohan, LI Guimei. The technical tactics and measures of the project for transforming the low-yielding plantation of oil-tea *Camellia* [J]. *For Res*, 1991, **4** (4): 353 - 359.
- [5] RAGHAVAN V, BARUAH H K. Effect of time factor on the stimulation of pollen germination and pollen tube growth by certain auxin, vitamins, and trace elements [J]. *Physiol Plantarum*, 1959, **12**: 441 - 451.
- [6] 林梅, 郭彤. 植物生长调节剂和微量元素对茶树花粉发芽率的影响[J]. 福建农业大学学报, 2001, **30** (4): 557 - 559.  
LIN Mei, GUO Tong. The influence of plant-growth regulator and microelements on the germination percentage of tea tree pollen [J]. *J Fujian Agric Univ Nat Sci*, 2001, **30** (4): 557 - 559.
- [7] 李旭新, 张艳青, 周如久, 等. B 及植物生长调节物质对阿月浑子花粉萌发和花粉管生长的影响[J]. 河北农业大学学报, **32** (3): 63 - 66.  
LI Xuxin, ZHANG Yanqing, ZHOU Rujiu, et al. Effects of boric acid and plant growth regulating substances on pollen germination and tube growth in pistachio [J]. *J Agric Univ Hebei*, 2009, **32** (3): 63 - 66.
- [8] 李秀菊, 朱坤华, 张永军等. 营养元素与植物生长调节剂对油菜花粉萌发的影响[J]. 中国油料作物学报, 1999, **21** (1): 24 - 26.  
LI Xiuju, ZHU Kunhua, ZHANG Yongjun, et al. Influences of nutrition elements and plant growth regulators on the germination and growth of rape pollen [J]. *Chin J Oil Crop Sci*, 1999, **21** (1): 24 - 26.
- [9] 胡适宜. 植物胚胎学实验方法(一)花粉生活力的测定[J]. 植物学通报, 1993, **10** (02): 60 - 62.  
HU Shiyi. Experimental methods in plant embryology (I) determination of pollen viability [J]. *Chin Bull Bot*, 1993, **10** (2): 60 - 62.
- [10] 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.  
HE Chunyan, TAN Xiaofeng, YUAN Deyi, et al. Determination of the pollen number and pollen germination rate of seven *Camellia* species [J]. *J Centr South Univ For Technol*, 2009, **29** (1): 74 - 78.
- [11] 安华明, 陈力耕, 樊卫国, 等. 高等植物中维生素 C 的功能、合成及代谢研究进展[J]. 植物学通报, 2004, **21** (5): 608 - 617.  
AN Huaming, CHEN Ligeng, FAN Weiguo, et al. Advances in research on function, biosynthesis and metabolism of ascorbic acid in higher plants [J]. *Chin Bull Bot*, 2004, **21** (5): 608 - 617.
- [12] DAVID W B. The chemical composition of honey [J]. *J Chem Edu*, 2007, **84** (10): 1643 - 4646.
- [13] 毛景英, 闫振领. 植物生长调节剂调控原理与实用技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 16.