

文章编号: 1674-7054(2023)02-0173-05



海南油茶授粉后雌蕊内源激素的动态变化

杜明¹, 于旭东^{2,3}, 吴繁花¹

(1. 海南大学 生命科学学院, 海口 570228; 2. 海南大学 农业农村学院, 海口 570288;
3. 海南大学 热带作物种质资源保护与开发利用教育部重点实验室; 海口 570228)

摘要: 为了研究内源激素与海南油茶自交不亲和性的关系, 利用酶联免疫检测法, 研究了海南‘青果油茶’(*Camellia vietnamensis*)和‘糙果油茶’(*Camellia furfuracea*)授粉过程雌蕊内源激素(赤霉素 GA₃、吲哚乙酸 IAA、脱落酸 ABA、玉米素核苷 ZR)含量的动态变化规律。结果表明: 花粉管进入胚囊后, IAA 的水平降低, 抑制了后期花粉管的生长, 较低水平的 GA₃ 也抑制了花粉管的生长; 当花粉管进入胚囊后, 高水平的 GA₃ 抑制了花粉管的生长和配子体的释放, 但高水平的 ZR 能促进花粉管在柱头中的正常生长, 同时高水平的 ABA 也能促进花粉管的生长和受精; 内源激素的比例失调也是海南油茶的自交不亲和性的影响因素。

关键词: 油茶; 授粉; 激素

中图分类号: S 794.4 **文献标志码:** A

引用格式: 杜明, 于旭东, 吴繁花. 海南油茶授粉后雌蕊内源激素的动态变化 [J]. 热带生物学报, 2023, 14(2): 173-177. DOI: 10.15886/j.cnki.rds wxb.2023.02.006

油茶 (*Camellia oleifera*) 属于山茶科 (Theaceae) 山茶属 (*Camellia*) 植物, 常绿灌木或小乔木, 树高 2~3 m^[1], 自然状态下可高达 4~6 m, 树皮淡褐色, 光滑。海南油茶又名海南山柚, 其花为两性花, 花瓣颜色均为白色, 山柚花的发育通常为腋生或者顶生, 花瓣通常 5~7 枚, 花瓣形状为倒卵形, 先端常有凹入; 其雄蕊的数量较多, 花丝的基部呈现联合; 其子房上位, 子房一般有 3~5 个子房室, 花柱分离, 柱头通常为 3~5 裂, 有时裂至基部; 其子房上位, 子房一般有 3~5 个子房室, 花柱分离, 柱头通常为 3~5 裂, 有时裂至基部; 海南山柚的树叶生长模式为单叶互生, 具有叶柄、革质, 叶片形状一般呈卵状的椭圆形或近椭圆形, 叶片长度在 6~10 cm, 叶片宽度 2~4 cm, 叶片基部的形状为楔形, 先端略尖, 叶片边缘有细锯齿, 侧脉不明显; 海南山柚的果实为蒴果, 常见棕色粗糙果皮和青色果皮 2 种, 经分类学鉴定为‘青果油茶’

(*Camellia vietnamensis*)和‘糙果油茶’(*Camellia furfuracea*), 果型多为桃形、球形、扁圆形、橄榄形等, 果的直径在 2~4 cm 之间, 最大可以超过 10 cm, 单果质量可达 275 g, 果实内部含有种子数 1~12 粒, 种壳颜色通常为茶褐色或黑色, 且具有光泽, 种皮有纤维状绒毛。海南栽培油茶的历史已有 500 多年, 于旭东博士研究团队曾在海南省儋州市王五镇和琼海市会山镇等地发现了 500 年以上的古油茶树居群^[2]。海南油茶树能适应贫瘠、干旱、高温等恶劣的自然环境, 其抗逆性强, 又四季常绿, 而且可以生产名贵的木本油料—山柚油, 因此, 海南油茶可以作为土壤改良、园林绿化、木本油料生产的绿化树种和经济树种。但由于海南不是我国油茶油的主产区, 人们对海南油茶的研究较少, 其中, 海南油茶自交不亲和性的机理研究尚未见报道。

植物激素在调节植物生长过程起到了重要的

收稿日期: 2022-09-08

修回日期: 2022-09-16

基金项目: 2022 年专家服务基层示范团项目 (2022030134)

第一作者: 杜明 (1993-), 男, 海南大学生命科学学院 2015 级硕士研究生. E-mail: 1192350496@qq.com

通信作者: 于旭东 (1973-), 男, 博士, 副教授, 硕士生导师. 研究方向: 植物资源与利用. E-mail: docast@163.com

作用,植物的花芽分化过程中的生长调节和成花的信号传导均离不开激素的调节,植物的自交授粉和异交授粉的亲和性和结实率同样也受到激素的调节作用^[3-4]。针对于油茶的内源激素检测方面的研究,文献显示,目前只对油茶的叶片、果实等进行了内源激素的相关研究^[5-6],对其授粉过程内源激素的研究鲜见报道。本研究在前期对油茶自花和杂交授粉受精研究的基础上,重点针对其存在的后期自交不亲和性,通过内源激素动态检测来探究其自交不亲和性的内在机理,旨在为海南油茶的高产稳产和优良种质的选育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样地概况 试验样地选择在海南昌江县和白沙县交界的农场马岭山(110.24°E, 20.18°N),该地区属于典型的热带季风气候区、地形以坡地为主,大部分为20世纪80年代种植,种植规模约66.7 hm²,种植密度较大,植株长势健壮,长期缺乏人工修剪。

1.2 试验材料 随机选取海南‘青果油茶’和‘糙果油茶’树各10株作为试验植株,其中,2种油茶各选5株进行自花授粉后套袋编号,将5株海南青果油茶花的花粉随机对5株海南糙果油茶待开放花苞的花柱进行种间杂交授粉(以下称‘杂交授粉’)后套袋编号。分别在授粉后0、6、12、24、48、72 h采摘雌蕊(每个时间采样4份,每份1 g)。

1.3 试验方法 称取花柱样品1 g,液氮研磨,用80%的冰甲醇3 mL洗入离心管中,4℃避光静置12 h,6 000 r·min⁻¹离心10 min,取上清液,氮气吹干,加入0.5 mL冰凉的0.01 mol·L⁻¹磷酸缓冲盐溶液(PBS),置于-20℃保存备用。利用酶联免疫法进行内源激素的测定。

1.4 仪器和试剂 检测读数使用酶标仪(美国BIO-RAD伯乐公司,550型全自动酶标仪),氮吹仪(郑州宝晶电子科技有限公司,YGC-12D型)。酶联免疫吸附试剂盒[广州奥瑞达生物科技有限公司,吲哚乙酸(IAA)ARD40178,赤霉素(GA₃)ARD40179,脱落酸(ABA)ARD13775,玉米素核苷(ZR)ARD13758]。

1.5 数据处理 利用Excel 2003进行数据处理和分析,采用SPSS16.0进行显著性差异分析。

2 结果与分析

2.1 海南油茶自花授粉和种间杂交授粉后花柱中 IAA 含量的变化 从图1可知,海南油茶在自花授粉后6 h内,花柱中的 IAA 含量由6 120 pmol·g⁻¹显著升高至13 230 pmol·g⁻¹;6~24 h,花柱中的 IAA 含量的变化趋于平缓;种间杂交授粉后24~48 h,花柱中的 IAA 含量从29 041 pmol·g⁻¹急剧下降至20 165 pmol·g⁻¹,48~72 h, IAA 含量变化趋于平缓;而自花授粉在24~72 h期间, IAA 含量基本不变。在整个授粉过程中,‘杂交授粉’的 IAA 含量均显著高于自花授粉 IAA 的含量,‘杂交授粉’ IAA 含量呈现先升高后下降的趋势,而自花授粉 IAA 含量呈现不断上升的趋势。

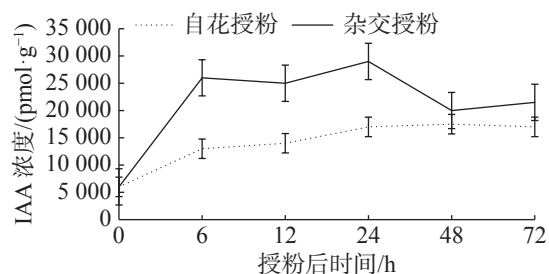


图1 海南油茶自花授粉和‘杂交授粉’花柱中 IAA 含量的变化

2.2 海南油茶自花授粉和种间杂交授粉花柱中 GA₃ 含量的变化 从图2可知,海南油茶授粉后,6 h内花柱中的 GA₃ 含量急剧下降,6~48 h花柱中的 GA₃ 含量呈现缓慢升高的趋势并且趋于平缓,在授粉后48~72 h,‘杂交授粉’的 GA₃ 含量由483 pg·g⁻¹显著下降至419 pg·g⁻¹,但是自花授粉 GA₃ 含量由392 pg·g⁻¹显著急剧升高至502 pg·g⁻¹。在授粉后的48 h内,‘杂交授粉’GA₃ 含量显著高于自花授粉的 GA₃ 含量,但是在48 h后,出现自花授粉 GA₃ 含量显著高于‘杂交授粉’GA₃ 含量的情况。在整个授粉过程中,自花授粉 GA₃ 含量呈现先下降后缓慢上升最后急剧上升的趋势,‘杂交授

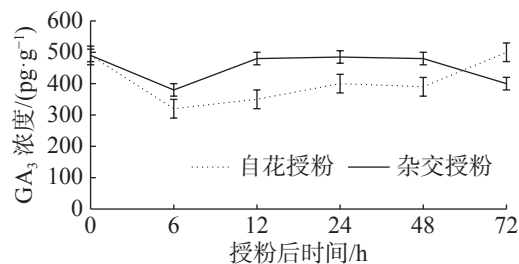


图2 海南油茶自花授粉和‘杂交授粉’花柱中 GA₃ 含量的变化

粉'GA₃ 含量呈现先下降后升高再下降的趋势。

2.3 海南油茶自花授粉和种间杂交授粉花柱中 ZR 含量的变化 如图 3 所示, 海南油茶在杂交授粉后 12 h 内, ZR 的含量由 496 ng·g⁻¹ 上升至 710 ng·g⁻¹, 12~24 h 由 710 ng·g⁻¹ 下降至 690 ng·g⁻¹, 到 72 h 又上升至 763 ng·g⁻¹。自花授粉后 6 h 内, 花柱中 ZR 的含量由 496 ng·g⁻¹ 急剧升高至 713 ng·g⁻¹, 6~12 h 又急剧下降至 392 ng·g⁻¹, 12~24 h 再急剧升高至 1 008 ng·g⁻¹, 24 h 后又趋于下降的趋势。授粉后, 前 6 h 自花授粉 ZR 含量高于‘杂交授粉’ZR 含量, 在 12 h 自花授粉 ZR 含量显著低于‘杂交授粉’ZR 含量, 24~72 h 自花授粉 ZR 含量均显著高于‘杂交授粉’ZR 含量。

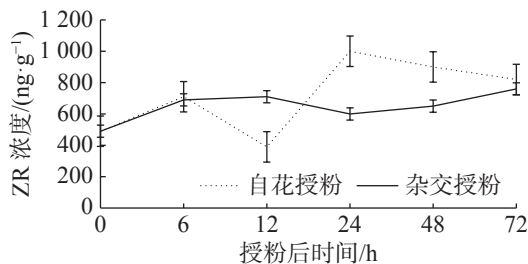


图 3 海南油茶自花授粉和‘杂交授粉’花柱中 ZR 含量的变化

2.4 海南油茶自花授粉和种间杂交授粉花柱中 ABA 含量的变化 如图 4 所示, 海南油茶‘杂交授粉’后, 花柱中的 ABA 含量随着授粉时间的增加呈现先增加后降低的趋势变化, 授粉后 12 h 内, ABA 含量呈现缓慢上升的趋势; 授粉 12 h 后, 花柱中的 ABA 含量开始由 426 μg·g⁻¹ 急剧上升至 974 μg·g⁻¹, 在 24 h, ABA 含量达到最高 974 μg·g⁻¹; 授粉超过 24 h 后, ABA 含量开始急剧下降。海南油茶自花授粉后, ABA 含量随着授粉时间的增加呈现先降低后增加再降低的趋势变化, 在授粉后 6 h 内, ABA 含量由 380 μg·g⁻¹ 下降至 212 μg·g⁻¹; 6~48 h 内, ABA 含量呈现缓慢上升的趋势; 授粉

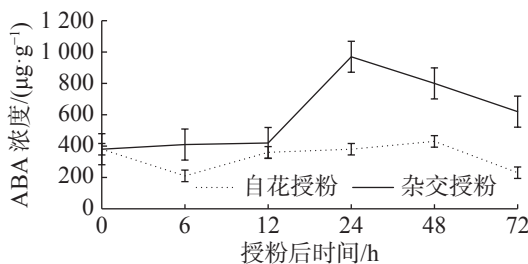


图 4 海南油茶自花授粉和‘杂交授粉’花柱中 ABA 含量的变化

48 h 后, ABA 含量又开始呈现下降趋势。在授粉的整个过程中, 自花授粉的 ABA 含量显著低于种间杂交授粉的 ABA 含量。

2.5 海南油茶自花授粉和种间杂交授粉内源激素间的平衡关系 植物内源激素发生的效应具有相互作用性, 多种内源激素的相互作用是植物生长发育的必要条件。从图 5-a 可知, 在整个授粉过程中, 自花授粉 GA₃/ABA 的比值均显著高于‘杂交授粉’; 授粉后 6 h 内, 自花授粉比值呈现上升趋势, 而‘杂交授粉’的比值呈现下降趋势; 自花授粉在 6~48 h 均呈现下降趋势, 48~72 h 呈现急剧上升趋势; ‘杂交授粉’在 12~24 h 呈现急剧下降趋势, 24~72 h 又呈现急剧上升趋势。

从图 5-d 可知, 自花授粉后 ZR/ABA 的比值不断上下波动, 授粉后 6 h 呈现上升, 6~12 h 有所下降, 12~24 h 呈现上升趋势, 24~48 h 呈现下降趋势, 48~72 h 呈现上升趋势。‘杂交授粉’后 12 h 呈现上升趋势, 12~24 h 有所下降, 24~72 h 持续呈现上升趋势。授粉后 6 h, 自花授粉 ZR/ABA 的比值显著高于‘杂交授粉’的比值, 至 12 h 自花授粉比值略低于‘杂交授粉’。

从图 5-b 可知, 自花授粉后 6 h 内, IAA/ABA 的比值呈现急剧上升的趋势, 6~12 h 呈现下降趋势, 12~24 h 略有上升, 24~48 h 又呈现下降趋势, 48~72 h 急剧上升至 71.31。杂交授粉后 6 h 内, IAA/ABA 的比值急剧上升, 6~48 h 持续下降, 48~72 h 呈现上升趋势。在整个授粉过程中, 6~12 h 自花授粉的 IAA/ABA 比值均低于‘杂交授粉’, 24~72 h 自花授粉的 IAA/ABA 比值均显著高于‘杂交授粉’的比值。

从图 5-c 可知, 自花授粉后 12 h 内, IAA/ZR 的比值呈现持续上升的趋势, 12~24 h 呈现急剧下降趋势, 24~72 h 又缓慢上升。‘杂交授粉’后 6 h, IAA/ZR 的比值持续上升, 到 12 h 有所下降, 12~24 h 呈现上升的趋势, 24~72 h 持续下降。授粉后 6 h, 自花授粉的比值显著低于‘杂交授粉’, 至 12 h 自花授粉略高于‘杂交授粉’, 24 h 以后自花授粉均显著低于‘杂交授粉’。比值, 12~72 h 自花授粉比值均显著高于‘杂交授粉’比值。

从图 5-e 可知, 自花授粉后 (GA₃+ZR+IAA)/ABA 的比值不断上下波动, 授粉后 6 h 内呈现上升, 6~12 h 有所下降, 12~24 h 呈现上升趋势,

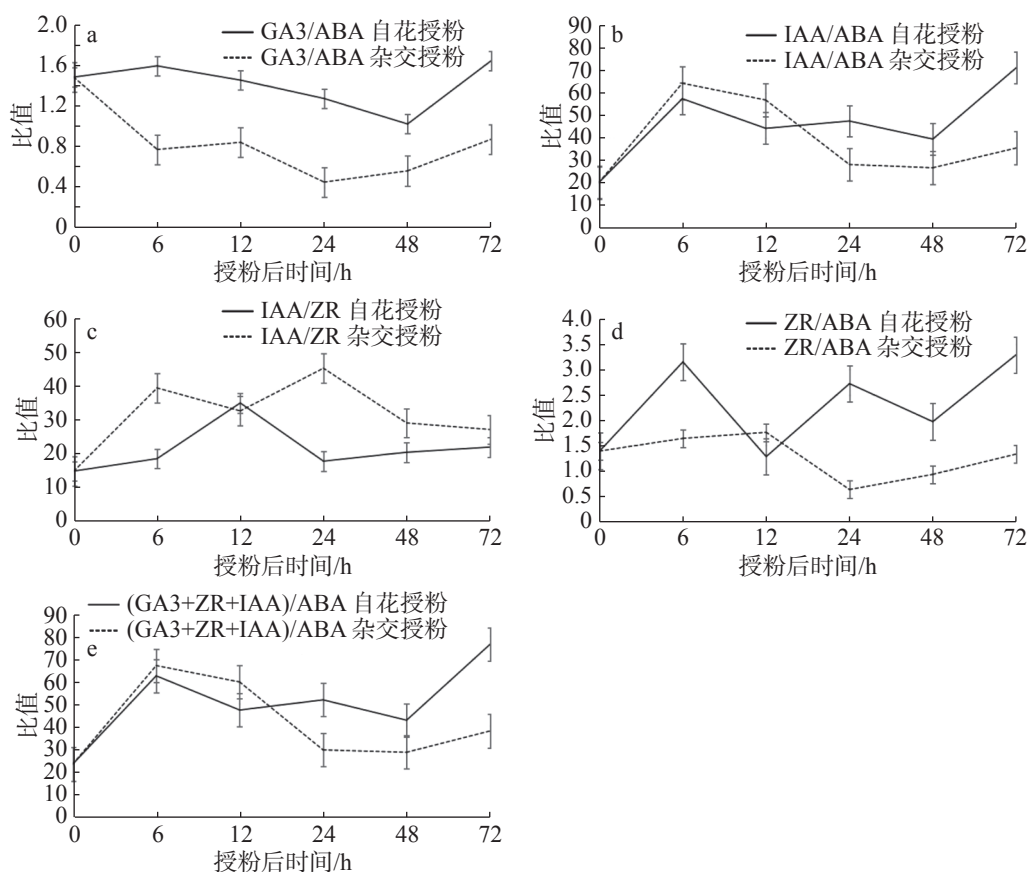


图5 海南油茶自花授粉和‘杂交授粉’内源激素比值的动态变化

24~48 h 呈现下降趋势, 48~72 h 呈现上升趋势。‘杂交授粉’后 6 h 内 $(GA_3+ZR+IAA)/ABA$ 急剧上升, 6~48 h 持续下降, 48~72 h 呈现上升趋势。授粉后 12 h 自花授粉比值均显著低于‘杂交授粉’比值, 24~72 h 自花授粉比值均显著高于‘杂交授粉’比值。

3 讨论

油茶具有后期自交不亲和性, 自花和‘杂交授粉’(种间杂交授粉)后, 花粉粒在柱头上的萌发无差异, 但花粉管长到柱头中部后, 自花授粉花粉管出现膨大、卷曲、折叠、分叉等不亲和反应, 仅有少部分花粉管生长进入子房随后停止生长, 而‘杂交授粉’花粉管生长分布均匀并有大量花粉管进入子房完成受精过程^[6]。本研究结果表明, 内源激素对植物的可育性以及花粉萌发、花粉管伸长及受精过程起到重要作用, 这与 Sawhney 和 Ma 等的研究结果相似^[7-8]。

本研究结果表明, 高水平的 IAA、 GA_3 、ABA 和 ZR 含量有助于花粉管的生长, 这一结果也在板栗、冬枣、西瓜和梨花等作物中均得到了验证^[9-12]。

当花粉管进入胚囊后, 高水平的 GA_3 含量有可能抑制了花粉管的生长和配子体的释放, 这也说明花粉管在胚囊中的生长和配子体的释放需要较低水平的 GA_3 含量。

不同植物激素间的平衡关系对植物的生长发育起到关键性作用, 甘蓝不育系花蕾发育过程中 GA/ABA 、 IAA/ABA 和 IAA/ZR 等比例对花药发育起决定性作用, 当比例失调时甘蓝不育系小孢子败育^[13]。本研究发现, 海南油茶自交授粉和‘杂交授粉’ GA_3/ABA 、 IAA/ABA 、 IAA/ZR 、 ZR/ABA 、 $(GA_3+ZR+IAA)/ABA$ 等比值均存在显著性差异, 这一结果说明内源激素的比例失调是海南油茶的自交不亲和性的影响因素。

参考文献:

- [1] 何艳萍, 钱永祥. 油茶种植管理技术分析[J]. 现代园艺, 2018(24): 38-39.
- [2] 苏晓杰. 儋州发现 16 棵 500 年古油茶树[N]. 海南日报, 2015-04-08(A03).
- [3] 王海波, 赵君全, 王孝娣, 等. 新梢内源激素变化对设施葡萄花芽孕育的影响[J]. 中国农业科学, 2014, 47(23): 4695-4705.

- [4] 段娜, 贾玉奎, 徐军, 等. 植物内源激素研究进展[J]. *中国农学通报*, 2015, 31(2): 159–165.
- [5] 丁少净, 钟秋平, 袁婷婷, 等. 干旱胁迫对油茶花苞生长及产量的影响[J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2017, 41(5): 197–202.
- [6] 汤佳, 冯金玲, 杨志坚, 等. 油茶果实内源激素变化与果实发育的关系[J]. *森林与环境学报*, 2015, 35(4): 331–336.
- [7] 高超, 袁德义, 杨亚, 等. 油茶自交不亲和性的解剖特征[J]. *林业科学*, 2015, 51(2): 60–68.
- [8] SAWHNEY V K, SHUKLA A. Male sterility in flowering plants: Are plant growth substances involved? [J]. *Am J Bot*, 1994, 81(12): 1640–1647.
- [9] MA K F, SONG Y P, HUANG Z, et al. The low fertility of Chinese white poplar: Dynamic changes in anatomical structure, endogenous hormone concentrations, and key gene expression in the reproduction of a naturally occurring hybrid [J]. *Plant Cell Rep*, 2013, 32(3): 401–414.
- [10] 郭素娟, 吕文君, 邹峰, 等. 板栗授粉后子房内源激素含量的变化[J]. *西北林学院学报*, 2013, 28(6): 56–62.
- [11] 王玖瑞, 刘孟军, 梁海永. 枣树单花不同开放阶段花粉萌发率和内源激素的变化[J]. *园艺学报*, 2005, 32(4): 677–679.
- [12] 万正林, 周艳霞, 邓俭英, 等. 内源激素对同源四倍体黑皮冬瓜自交花粉萌发生长的影响[J]. *华南农业大学学报*, 2018, 9(1): 57–63.
- [13] 齐国辉, 徐继忠, 张玉星. 鸭梨自交不亲和性与花柱内源激素关系的研究[J]. *河北农业大学学报*, 2007, 30(1): 31–34.

Dynamic changes of endogenous hormones in self-pollinated and cross-pollinated pistils of two *Camellia* species in Hainan

DU Ming¹, YU Xudong^{2,3}, WU Fanhua¹

(1. College of Life Science, Hainan University, Haikou, Hainan 570228; 2. College of Agriculture and Rural Affairs, Hainan University, Haikou, Hainan 570228; 3. Ministry of Education Key Laboratory for Conservation, development and Utilization of Tropical Crop Germplasm Resources, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: In order to understand self-pollination and cross-pollination of two camellia species, *Camellia vietnamensis* and *Camellia furfuracea* in Hainan, *C. furfuracea* and *C. vietnamensis* were self pollinated, or *C. furfuracea* was pollinated with the pollen of *C. vietnamensis* for crossing, and the pistils were sampled after different days of pollination to determine their dynamic changes in endogenous hormones, gibberellin (GA₃), indole acetic acid (IAA), abscisic acid (ABA) and zeatin nucleoside (ZR), by using an enzyme-linked immunoassay. The results show that after the pollen tube enters the embryo sac, the level of IAA is reduced, which inhibits the growth of the pollen tube in the late stage, while the lower level of GA₃ inhibits the growth of the pollen tube. When the pollen tube enters the embryo sac, high levels of GA₃ may inhibit the growth of pollen tubes and the release of gametophytes, but high levels of ZR greatly promote the normal growth of pollen tubes in the stigma, and high levels of ABA greatly promote the growth and fertilization of pollen tubes. The imbalance of endogenous hormones plays a decisive role in the incompatibility of self-pollination of both *C. furfuracea* and *C. vietnamensis* in Hainan.

Keywords: camellia; pollination; hormone

(责任编辑:潘学峰)