

## 7个茶树品种的花粉形态与生活力研究

郭锐<sup>1</sup>, 密孝增<sup>1</sup>, 王华斌<sup>2</sup>, 夏小波<sup>1</sup>, 刘露<sup>1</sup>, 刘升锐<sup>1\*</sup>, 韦朝领<sup>1\*</sup>

(1. 安徽农业大学茶树生物学与资源利用国家重点实验室, 合肥 230036; 2. 安徽农业大学农业园管理中心, 合肥 230036)

**摘要:** 为研究不同茶树品种之间花粉的形态特征与生活力变化, 以7个茶树品种为试材, 进行花粉形态结构观察及其随培养时间增长萌发率的变化趋势研究。结果表明: (1) 7个茶树品种花粉均呈左右对称, 具有3个萌发沟, 长度和宽度差异不显著, 萌发沟长度、宽度以及延伸比例呈现多样性, 赤道面观呈椭圆形和棱锥形, 极面观呈圆形和近三角形; 外壁呈现光滑瘤状和粗糙瘤状, 且部分品种花粉表面有穿孔。(2) 在24 h的培养时间内, 7个茶树品种的花粉萌发率均呈“S”型曲线增长, 且基本上在1、3和5 h呈现显著性差异增长, 到7 h接近萌发峰值。其中, 柿大茶黄种、龙井43、福鼎大白茶的花粉萌发率较高, 而云抗10号的花粉萌发率均显著低于其他6个品种。对中国种舒茶早(*Camellia sinensis* var. *sinensis* ‘Shuchazao’)与阿萨姆种云抗10号(*Camellia sinensis* var. *assamica* ‘Yunkang 10’)的花粉在不同贮藏条件下的生活力进行进一步的比较, 发现它们在4°C和-20°C温度下的生活力存在显著差异, 在180 d的贮藏时间内, 舒茶早与云抗10号分别在-80°C与-20°C的贮藏温度下对其花粉活力的保存更适宜。

**关键词:** 茶树; 花粉形态; 生活力; 贮藏温度

中图分类号: S571.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2020)03-0331-09

### Identification of morphology and viability of pollen from seven tea cultivars

GUO Rui<sup>1</sup>, MI Xiaozeng<sup>1</sup>, WANG Huabin<sup>2</sup>, XIA Xiaobo<sup>1</sup>, LIU Lu<sup>1</sup>, LIU Shengrui<sup>1</sup>, WEI Chaoling<sup>1</sup>

(1. State Key Laboratory of Tea Plant Biology and Utilization, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;

2. Agricultural Park Management Center, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

**Abstract:** In order to study the morphological characteristics and pollen viability among different tea cultivars, we picked pollens from seven tea cultivars for the detection, including the observation of the pollen morphology and the variation trend of pollen germination. The results showed that: (1) The pollens of all the seven tea cultivars were bilaterally symmetric along with three germination grooves which possessed diversity of the length and extension ratio, while no significant difference could be observed in the length and width among them. Their equatorial planes were elliptical and pyramidal, and the polar views were round and nearly triangular; the outer walls of pollens were smooth and rough, however, some tea cultivars possessed perforations on the surface of their pollens. (2) Within 24 h of culture time, the pollen germination rates of all the seven tea cultivars presented "S" curves of the growth trend, demonstrating significant differences of their growth rates at 1, 3 and 5 h time points, and they all reached the germination peak values at 7 h time point. Among them, the pollen germination rates of ‘Shidacha huangzhong’, ‘Longjing 43’ and ‘Fudingdabaicha’ were relatively higher, while the pollen germination rate of ‘Yunkang 10’ was significantly lower than that of the other six tea cultivars. We further compared the pollen viability between *Camellia sinensis* var. *sinensis* ‘Shuchazao’ and *Camellia sinensis* var. *assamica* ‘Yunkang 10’ under different conditions, and the results demonstrated that there was a significant difference between them under 4°C and -20°C. During the storage period of 180 days, ‘Shuchazao’ and ‘Yunkang 10’ were more suitable for their pollen storage under -80°C and -20°C, respectively.

**Key words:** tea plant; pollen morphology; viability; storage temperature

收稿日期: 2019-12-11

基金项目: 安徽省创新型省份建设专项资金(15czs08032, 2060402)资助。

作者简介: 郭锐, 硕士研究生。E-mail: guorui19940417@163.com

\* 通信作者: 刘升锐, 副教授。E-mail: liushengrui@ahau.edu.cn 韦朝领, 教授, 博士生导师。E-mail: weichl@ahau.edu.cn

茶树[*Camellia sinensis* (L.) O. Ktze.]是自交亲和性极差的多年生木本植物,其花芽分化通常在每年1月份,开花时间可从9月份持续到12月份<sup>[1-2]</sup>。虽然茶树花期长、开花率高,但由于茶花开花时期气温低、昆虫活动量少以及自交亲和性差等多方面的原因,茶树的结实率比较低,影响茶树的育种效率,增大育种难度<sup>[3]</sup>。茶树育种主要有传统育种、诱变育种和生物技术育种3种方式,而传统育种是茶树育种技术的最主要形式,主要包括系统选种和杂交育种。目前,我国栽培的茶树品种大部分是通过传统育种技术育成<sup>[4]</sup>。

茶树花粉是茶树生长、遗传、变异特性和功能的基础,而且性状稳定,有许多微细形态特征明显体现出种间的差异和生存信息<sup>[5]</sup>。在杂交育种中进行花粉形态观察,可作为分析亲本与杂种表现型联系的指标之一<sup>[6]</sup>,现已广泛地应用在茶树研究中。在茶树中,何丽卿<sup>[7]</sup>根据花粉形态特征的变异验证了茶树植物存在种内变异;蔡继炯等<sup>[8]</sup>发现茶花粉为长球型至近球形,赤道面观椭圆形,极面观钝三角形,花粉粒面积为 $33.5\ \mu\text{m}\times 20\ \mu\text{m}$ ;谢微微等<sup>[9]</sup>利用扫描电镜对10个省的14个茶树品种进行测量,发现花粉粒体积为 $941.09\sim 1\ 644.05\ \mu\text{m}^3$ ;陈荣冰和林汉章<sup>[10]</sup>对13个省的20个茶树品种花粉形态进行观察,应用模糊聚类分析方法进行分类,探讨了我国茶树起源、演化途径及各品种之间的亲缘关系。花粉生活力的高低直接关系到受精过程能否顺利完成及结实量的多少,也是茶树杂交育种成败的关键。例如应华军<sup>[11]</sup>研究12个茶树品种在不同贮藏时间未成熟花粉的萌发率,发现未成熟花粉以贮藏24 h时萌发率最高且花粉管长度最长;罗小梅等<sup>[12]</sup>对广西省的8个优良茶树品种花粉生活力进行了测定,发现其生活力在31.80%~74.24%之间;许林等<sup>[13]</sup>以台茶12号和福鼎大白茶为试材,发现两种茶树花粉离体萌发的最适培养基成分均为 $300\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + 200\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{MgSO}_4 + 100\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{KNO}_3 + 100\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{H}_3\text{BO}_3 + 10.0\% \text{蔗糖} + 1.0\% \text{琼脂}$ ,最适pH5.4,适宜萌发温度为 $16\sim 21\ ^\circ\text{C}$ 。许林等<sup>[14]</sup>对川鄂连蕊茶花粉的生活力及贮藏力进行了研究,发现在室温自然干燥后于 $4\ ^\circ\text{C}$ 条件下贮藏60 d后花粉仍具有较高的萌发率。赵克跃<sup>[15]</sup>对初开和盛开的山茶花粉生活力进行了研究,发现花朵的开放程度对花粉的生活力影响不大,而贮藏条件对其影响显著。尽管关于茶树的花粉形态和花粉的生活力、贮藏力的研究均有报道,但对短周期内的茶树花粉萌发状况研究较少,且将中国种与阿萨姆种茶树花粉之间进

行系统分析的研究也鲜有报道。

中国种茶树通常为灌木型、小叶种,生长缓慢,能够适应较冷的气候,而阿萨姆种茶树为小乔木或乔木型、大叶种,生长迅速,对寒冷天气较敏感<sup>[16-17]</sup>,其花粉活力可能也存在差异。基于此,作者在24 h之内对不同茶树品种花粉的萌发做了更细致的研究,以中国种舒茶早与阿萨姆种云抗10号为代表进行了贮藏试验,探索不同茶组之间花粉的贮藏力差异性,以期为茶树杂交育种与优良种质保存提供参考,也为后续茶树自交亲和性试验研究中关于花粉的贮藏奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

以安徽农业大学皖中试验站茶树种质资源圃(合肥,安徽; $31^\circ 49' 21''\text{N}$ , $117^\circ 13' 18''\text{E}$ )栽培的7个五年生的茶树品种(舒茶早、柿大茶黄种、龙井43、中茶108、福鼎大白茶、云抗10号和紫娟)为供试材料,其种质资源、主要形态特征及适栽地区等详见表1<sup>[18]</sup>。

### 1.2 方法

**1.2.1 花粉的采集与处理** 于2018年11月盛花期间晴朗的上午采摘7个茶树品种含苞待放的花蕾(图1)。



图1 7个供试茶树品种的花蕾形态

Figure 1 The flower morphology of the tested seven tea cultivars

(1) 挑选7个茶树品种的花蕾各10颗,用镊子剥下花药置于垫有吸水滤纸的培养皿中,放入装有2 kg 变色硅胶的干燥器中干燥12 h,待花药散粉后,收集花粉于新的垫有吸水滤纸的培养皿中,用电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)于 $45\ ^\circ\text{C}$ 下干燥处理6 h,用于扫描电镜观察。

(2) 选取7个茶树品种的花蕾各30颗,用镊子小心剥下花药于垫有吸水滤纸的培养皿中,放入同一个装有2 kg 变色硅胶的干燥器中干燥,12 h后收集花药于灭菌的1.5 mL离心管中,并用封口膜封口,分别置于室温、 $4\ ^\circ\text{C}$ 、 $-20\ ^\circ\text{C}$ 和 $-80\ ^\circ\text{C}$ 冰箱中保存待用。

**1.2.2 花粉形态观测** 将干燥处理后的花粉洒落在导电胶带上,置于E-1010型离子溅射镀膜仪(日本

HITACHI 公司) 中表面镀膜 60 s。用 Hitachi S-4800 冷场发射扫描电镜对花粉外壁纹饰进行观察并拍照, 在 400、2 000、2 000 和 7 000 倍下对花粉群体、极面、赤道面、外壁纹饰进行观察并拍照; 每组选择 10 粒花粉, 分别对花粉的长度 (L)、宽度 (W)、萌发沟长 (E) 及萌发沟角至花粉顶端中心点 (P) 进行测量, 并计算萌发沟延伸比例 [L/E]; 观测花粉形态, 对花粉粒的对称性、赤道面观、极面观、萌发沟特征、外壁构造等特征进行描述。

**1.2.3 花粉离体萌发培养** (1) 花粉离体萌发培养基成分参考许林等<sup>[13]</sup>的研究结果, 并做部分修改, 具体配方如下: 1.0% 琼脂+10.0% 蔗糖+100 mg·L<sup>-1</sup> H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>+300 mg·L<sup>-1</sup> Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>+200 mg·L<sup>-1</sup> MgSO<sub>4</sub>+100 mg·L<sup>-1</sup> KNO<sub>3</sub>, pH = 6.0。

(2) 取保存于 -80℃ 冰箱 2 d 的 7 个茶树品种花粉于 4℃、饱和空气湿度条件下放置 2 h, 以充分

吸水。同时用洁净玻璃棒蘸 1~2 滴配好的培养基于载玻片上, 待培养基凝固后, 用洁净的毛笔蘸适量花粉抖落在培养基上, 并将培养基置于铺有湿润滤纸的培养皿中, 盖上培养皿分别于 25℃ 暗培养 1、3、5、7、12 和 24 h 后观察花粉萌发情况, 设置 3 个生物学重复。4×10 倍光学显微镜下观察每个载玻片, 随机选择 3 个视野, 每个视野不少于 50 粒花粉, 记录每个视野的花粉萌发率 (萌发花粉数/花粉总数), 以花粉管长度大于花粉直径时记为萌发。取 3 个视野的平均值作为该载玻片的花粉萌发率。

(3) 取室温、4℃、-20℃ 和 -80℃ 冰箱中的舒茶早和云抗 10 号茶树品种花粉, 采用上述离体培养方法, 培养 7 h 后观察留图, 并统计花粉萌发率。若出现实验结果有较大波动, 重复实验 3 次, 以减小实验误差。

表 1 7 个供试茶树品种的基本信息

Table 1 Basic information of the tested seven tea cultivars

品种 Cultivar	学名 Scientific name	种质资源 Germplasm resource	主要特征 Main features	适栽地区 Suitable areas
舒茶早	<i>Camellia sinensis</i> var. <i>sinensis</i> 'Shuchazao'	舒城县农业委员会、舒茶九一六茶场从当地群体种中采用单株系统选育法育成	无性系, 灌木型, 树姿半开张, 分枝较密, 中叶类, 叶形长椭圆形, 早生种, 花瓣 6 瓣, 花柱 3 裂	江南茶区
柿大茶黄种	<i>Camellia sinensis</i> var. <i>sinensis</i> 'Shidacha huangzhong'	安徽省黄山市黄山区新新乡猴坑地区	有性系, 灌木型, 树姿半开张, 分枝较稀, 大叶类, 叶椭圆形似柿叶, 晚生种, 花瓣 5 瓣, 花柱 3 裂	江南茶区
龙井 43	<i>Camellia sinensis</i> var. <i>sinensis</i> 'Longjing 43'	中国农业科学院茶叶研究所于 1960—1978 年从龙井群体中采用单株系统选种法育成	无性系, 灌木型, 树姿半开张, 分枝密, 中叶类, 叶椭圆形, 特早生种, 花瓣白色 6 瓣, 花柱 3 裂	江北、江南茶区
中茶 108	<i>Camellia sinensis</i> var. <i>sinensis</i> 'Zhongcha 108'	中国农业科学院茶叶研究所于 1986—2010 年从龙井 43 辐射诱变后代中经单株选择—无性繁殖的方法选育而成	无性系, 灌木型、树姿半开张, 分枝较密, 中叶类, 叶片长椭圆形, 特早生种, 花瓣白色 6~8 瓣, 花柱 3 裂	江北、江南茶区
福鼎大白茶	<i>Camellia sinensis</i> var. <i>sinensis</i> 'Fuding dabaicha'	原产福建省福鼎市点头镇柏柳村, 已有 100 多年栽培史	无性系, 小乔木型, 树姿半开张, 分枝较密, 中叶类, 叶椭圆形, 早生种, 花瓣 7 瓣, 花柱 3 裂	江北、江南、华南茶区
云抗 10 号	<i>Camellia sinensis</i> var. <i>assamica</i> 'Yunkang 10'	云南省农业科学院茶叶研究所 1973—1985 年从勐海县南糯山群体中采用单株育种法育成	无性系, 乔木型, 树姿开张, 分枝密, 大叶类, 叶形长椭圆, 早生种。花瓣 6~7 瓣, 花柱 3 裂	西南、华南茶区
紫娟	<i>Camellia sinensis</i> var. <i>assamica</i> 'Zijuan'	云南省农业科学院茶叶研究所于 1985—2004 年从云南大叶群体中采用单株选育法育成	无性系, 小乔木型, 树姿开张, 分枝密度中等, 大叶类, 叶形长椭圆形, 花瓣 5~6 瓣花柱 3 裂	西南茶区

注: 部分内容引用杨亚军等<sup>[18]</sup>中国无性系茶树品种志

Note: Part of the contents cited from Yajun Yang et al<sup>[18]</sup> Chinese clonal tea cultivars

**1.2.4 数据处理与分析方法** 本文数据使用 WPS 2019 进行常规分析, SigmaPlot 12.5 软件进行图形绘制, Adobe Illustrator CS6 进行图形和图表整理、修饰, DPS 2005 软件进行差异显著性分析。

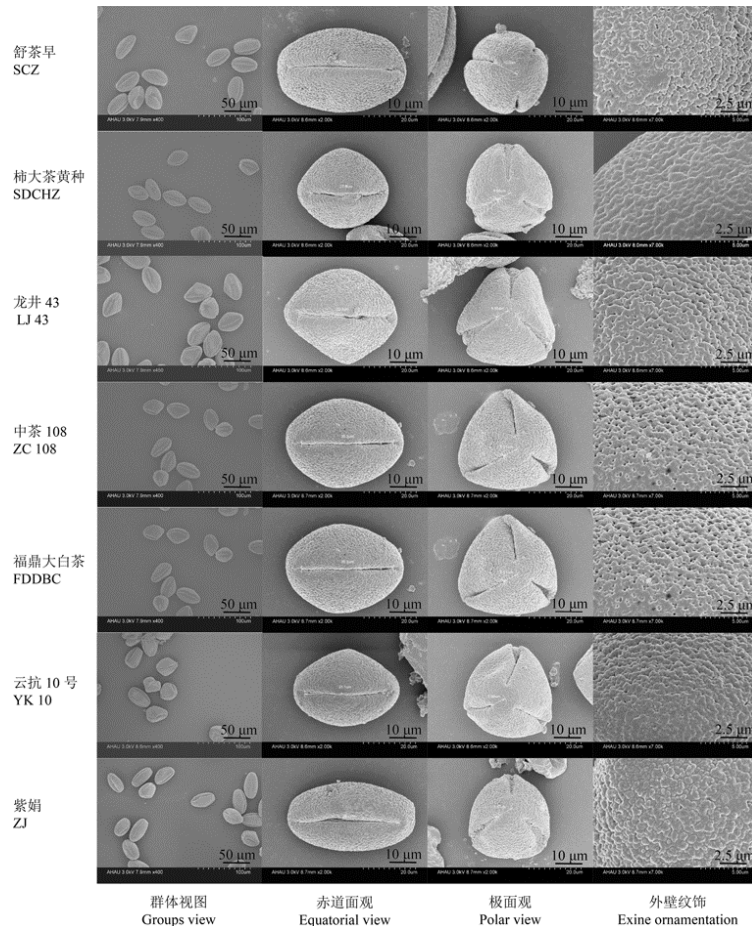
## 2 结果与分析

### 2.1 7 个茶树品种花粉的形态比较

从花粉粒的长度、宽度、赤道面观、极面观以

及外壁构造等方面对不同花粉进行了系统观测。结果(图2和表2)显示,7个茶树品种的花粉粒均呈左右对称,花粉长(L)为45.67~49.34  $\mu\text{m}$ ,花粉宽(W)为27.34~30.27  $\mu\text{m}$ 。赤道面观有椭圆形和棱锥形两种类型,其中舒茶早、中茶108、福鼎大白茶和紫娟呈现椭圆形,并且其萌发沟长度(E)均较长,为38.97~40.87  $\mu\text{m}$ ,而呈现棱锥形的柿大

茶黄种、龙井43和云抗10号的萌发沟长度(E)为34.99~37.45  $\mu\text{m}$ 。极面观有近圆形和近三角形两种类型,其中福鼎大白茶、舒茶早、柿大茶黄种和紫娟呈近圆形,龙井43、云抗10号和中茶108呈现近三角形,其萌发沟角至顶端中心点距离(P)为5.89~6.89  $\mu\text{m}$ ,总体上差异不明显。



SCZ、SDCHZ、LJ 43、ZC108、FDDBC、YK 10 和 ZJ 分别代表茶树品种舒茶早、柿大茶黄种、龙井 43、中茶 108、福鼎大白茶、云抗 10 号和紫娟。下同

SCZ, SDCHZ, LJ43, ZC108, FDDBC, YK10 and ZJ represent the tea cultivars 'Shuchazao', 'Shidachahuangzhong', 'Longjing 43', 'Zhongcha 108', 'Fudingdabaicha', 'Yunkang 10' and 'Zijuan', respectively. The same below

图 2 7 个茶树品种不同视野的花粉形态

Figure 2 The pollen morphology of seven tea cultivars with different views

7 个茶树品种的花粉粒均有 3 个萌发沟, 其中舒茶早和中茶 108 的萌发沟较窄且深, 而其余 5 种花粉的萌发沟较宽且浅。从萌发沟延伸比例可知, 龙井 43 和福鼎大白茶的花粉萌发沟延伸较长, 舒茶早较短, 其他 4 种处于中等水平。由此可知, 赤道面观呈现椭圆形的一般极面观呈现近圆形, 并且其萌发沟都较长, 而赤道面观呈现棱锥型的一般极面观呈现近三角形, 且萌发沟较短; 但是萌发沟的长度与延伸比例并不成正比, 表明不同品种之间的花粉萌发沟状态存在差异, 可能是由于物种在进化过

程中发生的细微变异导致。对外壁构造分析可知, 福鼎大白茶、云抗 10 号和紫娟的雕纹呈现粗糙瘤状, 而舒茶早、柿大茶黄种、龙井 43 和中茶 108 则呈光滑瘤状; 此外, 柿大茶黄种、福鼎大白茶和紫娟的花粉粒表面无穿孔, 而舒茶早、龙井 43、中茶 108 和云抗 10 号的花粉粒表面有部分穿孔(图 2)。7 个茶树品种花粉的形态特征具有明显的种内异质性和多样性, 其形状和外壁纹饰的细微结构和萌发器官均呈种内多样性, 说明茶树种内遗传较丰富, 这也可以为茶树品种的辨别提供依据。

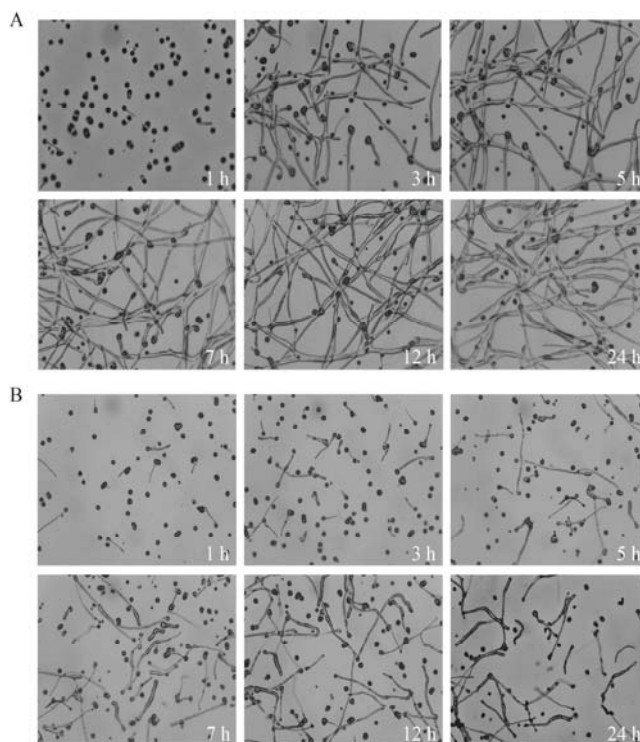
表 2 7 个茶树品种花粉的形态特征  
Table 2 The morphological characteristics of pollens from the tested seven tea cultivars

品种 Cultivar	对称性 Symmetry	长度/ $\mu\text{m}$ Length (L)	宽度/ $\mu\text{m}$ Width (W)	赤道面观及萌发沟长/ $\mu\text{m}$ EVLGD (E)
舒茶早	左右对称	48.66 $\pm$ 4.42	30.27 $\pm$ 1.58	椭圆形, 40.87 $\pm$ 3.24
柿大茶黄种	左右对称	47.54 $\pm$ 3.92	27.74 $\pm$ 1.62	棱锥形, 36.17 $\pm$ 4.88
龙井 43	左右对称	47.46 $\pm$ 2.93	27.34 $\pm$ 2.06	棱锥形, 34.99 $\pm$ 2.70
中茶 108	左右对称	49.94 $\pm$ 3.85	29.82 $\pm$ 1.24	椭圆形, 39.52 $\pm$ 2.86
福鼎大白茶	左右对称	49.34 $\pm$ 1.98	27.43 $\pm$ 2.03	椭圆形, 38.97 $\pm$ 4.13
云抗 10 号	左右对称	45.67 $\pm$ 2.77	29.78 $\pm$ 2.64	棱锥形, 37.45 $\pm$ 3.38
紫娟	左右对称	49.30 $\pm$ 2.90	29.20 $\pm$ 2.88	椭圆形, 39.24 $\pm$ 3.06

极面观及萌发沟角至顶端中心点距离/ $\mu\text{m}$ PVDAGDTC (P)	萌发沟延伸比例 PGFE [E/L]	萌发沟特征 CGD	外壁构造 Outer wall structure
近圆形, 6.89 $\pm$ 0.66	0.84	3 个, 沟窄, 较深, 延伸较长	雕纹呈光滑瘤状, 有穿孔
近圆形, 6.19 $\pm$ 0.77	0.76	3 个, 沟宽, 较浅, 延伸中等	雕纹呈光滑瘤状, 无穿孔
近三角形, 6.28 $\pm$ 0.61	0.74	3 个, 沟宽, 较浅, 延伸较短	雕纹呈光滑瘤状, 有穿孔
近三角形, 6.38 $\pm$ 0.65	0.79	3 个, 沟窄, 较深, 延伸中等	雕纹呈光滑瘤状, 有穿孔
近圆形, 6.54 $\pm$ 0.63	0.79	3 个, 沟宽, 较浅, 延伸中等	雕纹呈粗糙瘤状, 无穿孔
近三角形, 6.59 $\pm$ 0.48	0.82	3 个, 沟宽, 较浅, 延伸较长	雕纹呈粗糙瘤状, 有穿孔
近圆形, 5.89 $\pm$ 0.51	0.80	3 个, 沟宽, 较浅, 延伸中等	雕纹呈粗糙瘤状, 无穿孔

EVLGD (E): Equatorial view and length of germination ditch (E); PVDAGDTC (P): Polar view and the distance from the angle of germination ditch to the top center point (P); PGFE [E/L]: Percentage of germination furrow extension [E/L]; CGD : Characteristics of germination ditch



(A) 舒茶早‘Shuchazao’; (B) 云抗 10 号 ‘Yunkang 10’

图 3 茶树品种舒茶早和云抗 10 号在不同培养时间点的花粉萌发状态

Figure 3 Pollen germination status of tea cultivars ‘Shuchazao’ and ‘Yunkang 10’ at different culture time points

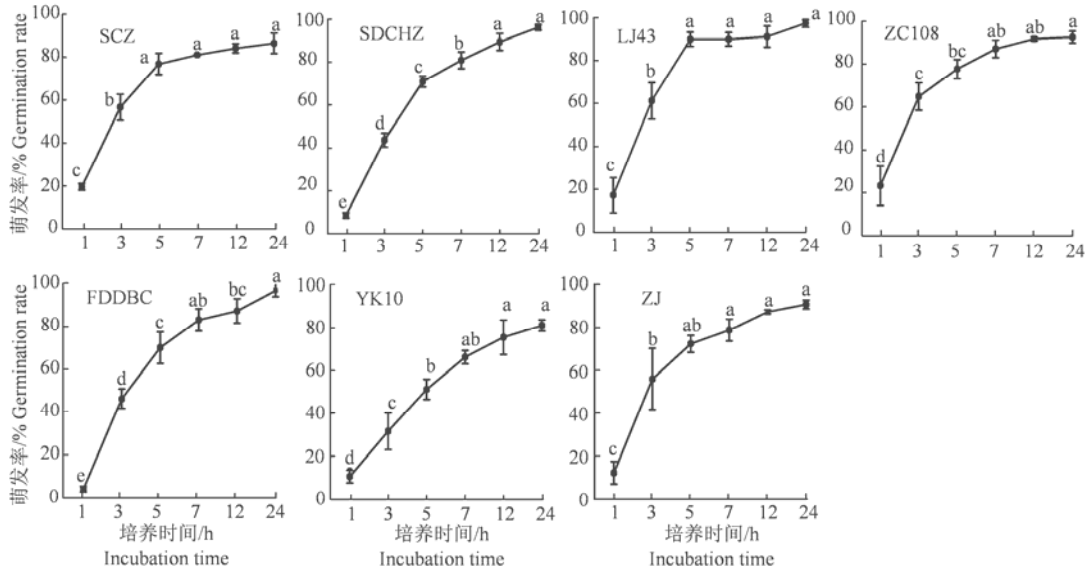
## 2.2 7 个茶树品种花粉随培养时间增长萌发率的变化规律

研究表明, 随着时间的增加, 7 个茶树品种的花粉萌发状态和萌发规律基本相似, 花粉萌发

状态以舒茶早和云抗 10 号为例 (图 3)。7 个茶树品种的花粉在 1 h 内萌发均较少, 且随培养时间的增加, 花粉萌发率均呈现“S”型曲线增长趋势; 它们在 1、3 和 5 h 3 个时间点增长率均差异显著, 而

到 7 h 之后基本上处于稳定状态 (图 4)。总的来看, 除 1 h 外, 云抗 10 号的花粉萌发率显著低于其他 6 个品种。其中, 舒茶早、中茶 108 和龙井 43 在 1 h 萌发率较高, 显著高于柿大茶黄种和福鼎大白茶; 龙井 43 在 5 h 花粉萌发率就高达 90% 以上, 显著高

于柿大茶黄种、福鼎大白茶、云抗 10 号和紫娟 (图 5)。随着培养时间的增长, 不同茶树品种之间的花粉萌发率在各个时间段内既有着相似的规律, 同时又表现出了明显的差异, 表现出了茶树花粉萌发状态的种内统一性与差异性。



不同字母代表在  $P < 0.05$  水平上差异显著。下同

Different letters above the bars represent significant differences at  $P < 0.05$ . The same below

图 4 7 个茶树品种花粉萌发率随培养时间的变化

Figure 4 The pollen germination rates of the tested seven tea cultivars varied with the culture time

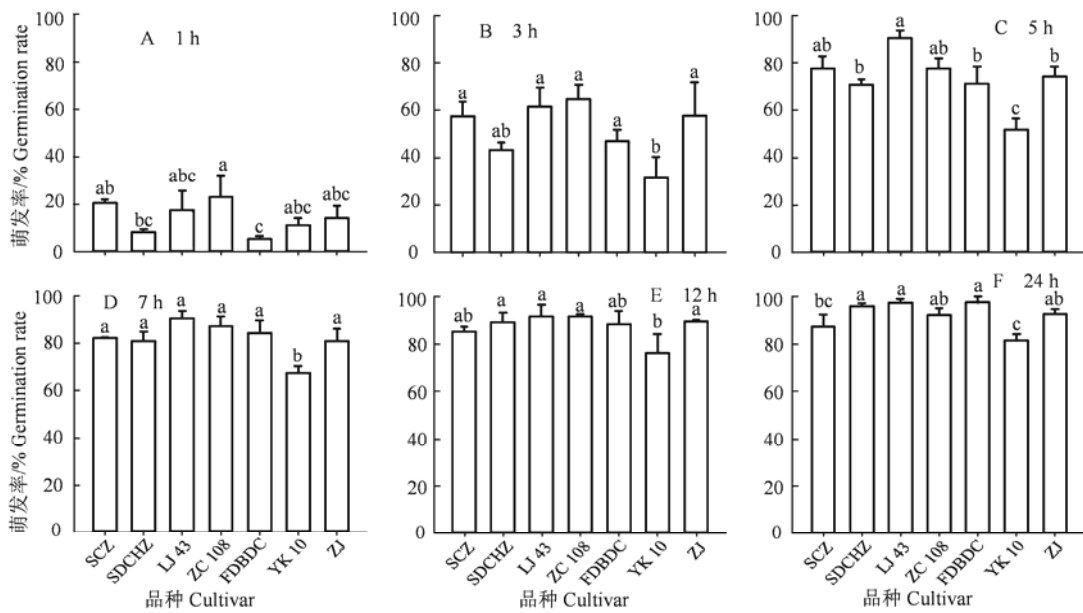


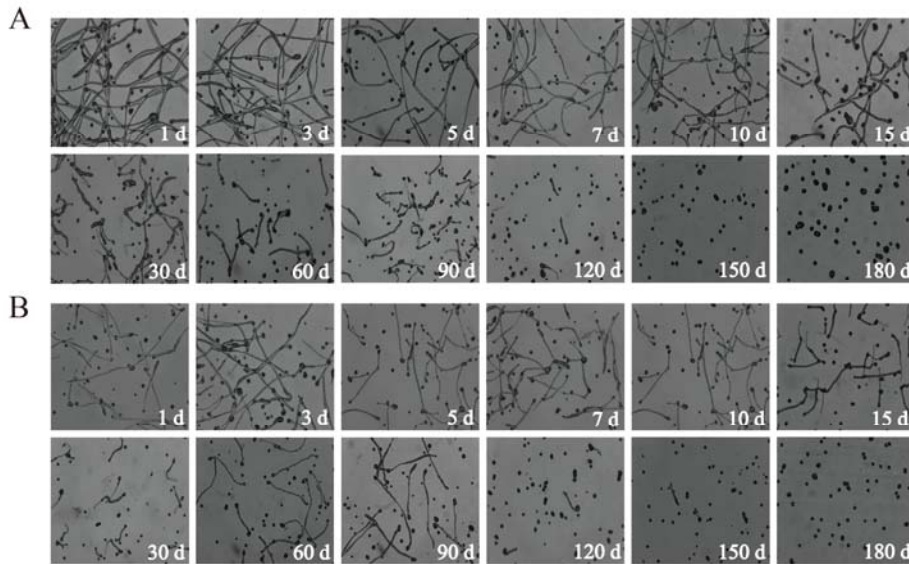
图 5 7 个茶树品种在不同时间点花粉萌发率的比较

Figure 5 Comparison of pollen germination rate of the tested seven different tea cultivars at different time points

### 2.3 中国种舒茶早与阿萨姆种云抗 10 号花粉的贮藏力研究

目前, 中国种舒茶早 (*Camellia sinensis* var. *Sinensis* ‘Shuchazao’) 和阿萨姆种云抗 10 号 (*Camellia sinensis* var. *assamica* ‘Yunkang 10’) 的基

因组测序均已完成<sup>[16, 19]</sup>。为进一步弄清这两种茶树的花粉在贮藏力上的差异性, 对它们在 4 种贮存温度下花粉的活力变化进行了研究, 进而了解中国种和阿萨姆种茶树的花粉适宜贮存温度, 为不同茶组茶树花粉的保存提供理论基础。



(A) 舒茶早‘Shuchazao’; (B) 云抗 10 号 ‘Yunkang 10’

图 6 室温贮存条件下舒茶早和云抗 10 号的花粉在 180 d 内不同时间点的萌发状态

Figure 6 The pollen germination status of tea cultivars ‘Shuchazao’ and ‘Yunkang 10’ at different time points within 180 days under room temperature storage conditions

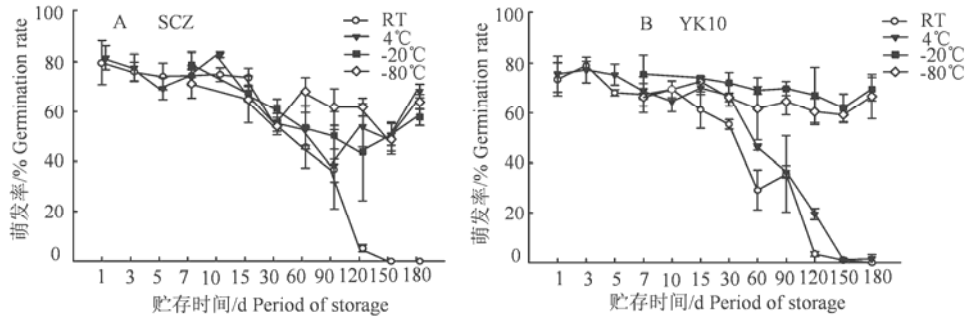
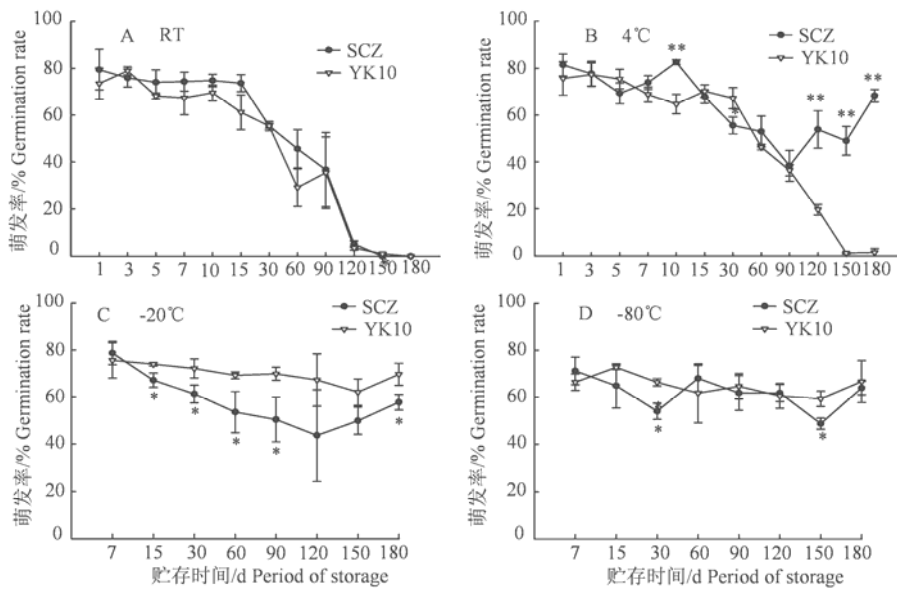


图 7 舒茶早和云抗 10 号花粉在不同贮存温度下的活力变化趋势

Figure 7 Trends of vigor of tea cultivars ‘Shuchazao’ and ‘Yunkang 10’ pollen at different storage temperatures



“\*”表示差异达显著水平( $P < 0.05$ ), “\*\*”表示差异达极显著水平( $P < 0.01$ )

“\*” and “\*\*” mean significant difference at the 0.05 and 0.01 level, respectively

图 8 不同贮存温度下舒茶早与云抗 10 号的花粉活力比较

Figure 8 Comparison of pollen vitality between tea cultivars ‘Shuchazao’ and ‘Yunkang 10’ under different storage temperatures

由室温贮存条件下的舒茶早与云抗10号花粉萌发状态比较结果可以看出,舒茶早花粉萌发率明显偏高,花粉管显著长于云抗10号且花粉管要稍粗(图6)。室温贮存条件下,舒茶早花粉萌发率从第15天开始显著下降,150 d完全失活;而在4℃、-20℃和-80℃贮存条件下,生活力在180 d之内仍然保持在40%以上,且舒茶早花粉活力整体上-80℃>-20℃>4℃>RT(图7A)。云抗10号花粉的萌发率在室温和4℃贮存条件下分别从第10天和第30天开始显著下降,均在150 d时基本完全失活;在-20℃和-80℃贮存下至180 d萌发率仍保持在60%以上,且花粉活力整体上-20℃>-80℃>4℃>RT(图7B)。因此,舒茶早花粉在-80℃贮存条件下的保存效果更好,而云抗10号的最适保存温度为-20℃。

在室温和-80℃贮存条件下,舒茶早与云抗10号花粉活力变化趋势保持一致,而在4℃贮存条件下90 d之后,舒茶早的花粉活力极显著高于云抗10号;此外,在-20℃贮存条件下,舒茶早花粉萌发率基本都显著低于云抗10号(图8)。可见舒茶早和云抗10号的花粉萌发率在不同贮存温度下差异明显,且并不是温度越低对所有茶树花粉的贮存就越有利,而是不同茶组茶树品种耐贮温度呈现一定的差异性。

### 3 讨论与结论

花粉是植物携带遗传信息的生殖器官,是种质保存和交换的重要资源,植物的花粉形态特征比较稳定,环境因素影响较小,花粉的外壁纹饰各有特色,对研究物种之间的亲缘关系及演化历史具有重要的参考价值<sup>[20-21]</sup>。由花粉粒的测量结果可知,花粉粒长度和宽度分布范围分别在45.67~49.34 μm和27.34~30.27 μm之间,与先前的研究结果基本一致<sup>[22]</sup>。武海霞等<sup>[23]</sup>研究表明,桉树不同品种花粉的大小、萌发器官及外壁纹饰可作为桉树种间鉴别的重要手段。本研究中,中国种茶树花粉的外壁纹饰大多呈现光滑瘤状,而阿萨姆种则为粗糙瘤状,虽然多数中国种茶树与阿萨姆种茶树在花粉的外壁纹饰上有所差异,但中国种茶树福鼎大白茶外壁纹饰也呈现粗糙瘤状。此外,花粉大小、萌发沟状态、穿孔密度等性状在中国种与阿萨姆种之间没有明显的差异,所以凭借花粉形态差异直接判断品种分类和亲缘关系在茶树中可能不适用,但可作为一种参考。

茶树中,对同一茶组内不同品种的花粉活力探究已有相关报道,如连蕊茶组<sup>[14]</sup>,但总体上差异不显著。本研究结果表明,适栽于西南茶区的阿萨姆种紫娟花

粉活力与中国种茶树花粉在保存时间上没有显著差异,而阿萨姆种云抗10号的花粉活力显著低于中国种茶树花粉。紫娟品种的花粉活力随着栽培地区的改变并未有较大改变,而研究报道花青素可以增强茶树的抗逆性<sup>[24-26]</sup>,因此推测这可能与紫娟品种富含花青素有一定的关系。此外,中国种的柿大茶黄种、龙井43、中茶108和福鼎大白茶品种的花粉活力较高,这可能是由于江北和江南茶区气候适宜,茶树营养生长与生殖生长相对较好的原因。

离体花粉的寿命长短对茶树的杂交育种有重要的指导作用。本研究结果表明,舒茶早与云抗10号的花粉在室温条件下保存30 d、在4℃下保存60 d、在-20℃和-80℃条件下保存180 d,花粉萌发率仍高于40%,都能满足杂交育种的需要。花粉在贮藏过程中,花粉内贮藏物质逐渐减少、酶活性下降、水分慢慢流失,导致花粉生活力会逐渐下降。温度是影响花粉保存的最重要因素之一,如低温可降低花粉呼吸作用及其他生理功能,有利于花粉较长时间保持生活力<sup>[27-28]</sup>。然而,我们发现舒茶早的花粉在4℃条件下贮存90 d后萌发率不减反增,在梨不同品种花粉生活力的研究中也出现过这种现象<sup>[29]</sup>;推测可能是由于花粉在贮藏过程中,酶在低温条件下受到抑制,经过一定时间后测定,冷热交替刺激使酶活性恢复,致使萌发率升高。在4℃条件下,贮存90 d之后,舒茶早显著高于云抗10号,而在-20℃下的云抗10号显著高于舒茶早,也表明了舒茶早与云抗10号花粉贮藏力遗传特性的差异性。目前,有关对低温保存后的植物花粉萌发率尚有争议,且不同物种之间具有一定的差异。本试验对茶树花粉生活力研究结果表明,在短时间内低温保存后的茶树花粉与新鲜花粉的萌发率无显著差异,但随着时间推移,低温保存的花粉萌发率逐渐降低且花粉管长度逐渐变短。

### 参考文献:

- [1] 陈暄,彭英,郝姗,等. 茶树花粉的离体萌发研究[J]. 江苏农业科学, 2010, 38(6): 233-235.
- [2] 张成才. 茶树育性相关基因的克隆与表达研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.
- [3] 刘莹,郝心愿,郑梦霞,等. 茶树成花机理研究进展[J]. 茶叶科学, 2019, 39(1): 1-10.
- [4] 王新超,杨亚军. 茶树营养遗传育种学发展前景[J]. 中国茶叶, 2002, 24(3): 12-14.
- [5] ERDTMAN G. Pollen morphology and plant taxonomy[J]. Geol Föreningen I Stock Förhandlingar, 1952, 74(4): 526-527.



- [6] 杨尚尚. 石榴花粉亚微形态结构与萌发特性研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2013.
- [7] 何丽卿. 茶树花粉形态的研究[J]. 茶叶科学, 1989, 9(1): 39-48.
- [8] 蔡继炯, 朱锡林. 茶树花粉形态与成分初探[J]. 蜜蜂杂志, 1989, 9(2): 3, 10.
- [9] 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.
- [10] 陈荣冰, 林汉章. 茶树不同品种花粉形态的研究[J]. 茶叶科学简报, 1990, 31(2): 1-6.
- [11] 应华军. 贮藏时间对茶树花粉生活力的影响[J]. 中国茶叶, 1992, 14(2): 24-26.
- [12] 罗小梅, 林国轩, 韦柳花, 等. 广西(国家)优良茶树品种花粉生活力测定及种间杂交试验初报[J]. 广东农业科学, 2015, 42(17): 26-30.
- [13] 许林, 李应发, 周忠诚, 等. 两种茶树花粉的生活力及贮藏力研究[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(24): 6067-6071.
- [14] 许林, 杜克兵, 陈法志, 等. 川鄂连蕊茶花粉的形态、生活力及贮藏力研究[J]. 园艺学报, 2010, 37(11): 1857-1862.
- [15] 赵克跃. 山茶花粉生活力及贮藏条件初探[J]. 四川林业科技, 2013, 34(5): 13-18.
- [16] WEI C L, YANG H, WANG S B, et al. Draft genome sequence of *Camellia sinensis* var. *sinensis* provides insights into the evolution of the tea genome and tea quality[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018, 115(18): E4151-E4158.
- [17] 班秋艳, 纪晓明, 余有本, 等. 陕西茶树种质资源表型性状的遗传多样性研究[J]. 安徽农业大学学报, 2018, 45(4): 7-11.
- [18] 杨亚军, 梁月荣. 中国无性系茶树品种志[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2014.
- [19] XIA E H, ZHANG H B, SHENG J, et al. The tea tree genome provides insights into tea flavor and independent evolution of caffeine biosynthesis[J]. Mol Plant, 2017, 10(6): 866-877.
- [20] 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.
- [21] 倪穗, 李纪元. 山茶属植物花粉形态的研究进展[J]. 江西林业科技, 2007, 35(3): 41-43, 55.
- [22] 束际林, 陈亮. 茶树花粉形态的演化趋势[J]. 茶叶科学, 1996, 16(2): 115-118.
- [23] 武海霞, 刘丽婷, 廖柏勇, 等. 20 种桉树及杂交种的花粉形态分析及分类学意义[J]. 中南林业科技大学学报, 2012, 32(3): 29-36.
- [24] 王燕, 杨晓萍, 陈波伟, 等. 紫娟茶花青素的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(11): 4253-4258.
- [25] TAN L Q, LIU Q L, ZHOU B, et al. Paternity analysis using SSR markers reveals that the anthocyanin-rich tea cultivar 'Ziyan' is self-compatible[J]. Sci Hort, 2019, 245: 258-262.
- [26] 张艳, 洪晓如, 黎庭耀, 等. 芥蓝紫萼性状的遗传分析与基因定位[J]. 分子植物育种, 2018, 16(5): 1545-1550.
- [27] 吴君, 李因刚, 柳新红, 等. 白花树花粉生活力检测方法与其贮藏特性研究[J]. 林业科学研究, 2014, 27(1): 17-23.
- [28] MESNOUA M, ROUMANI M, SALEM A. The effect of pollen storage temperatures on pollen viability, fruit set and fruit quality of six date palm cultivars[J]. Sci Hort, 2018, 236: 279-283.
- [29] 赵纪伟, 李莉, 彭建营, 等. 梨不同品种花粉生活力测定及授粉特性研究[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(1): 152-156.