

# 耐冬山茶花粉储藏条件及其活力的动态变化

贾文庆<sup>1,2</sup>, 王少平<sup>2</sup>, 范正琪<sup>1</sup>, 李纪元<sup>1\*</sup>

(1. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 杭州 311400; 2. 河南科技学院园艺园林学院, 河南 新乡 453003)

**摘要:**以山东青岛耐冬山茶花粉为试验材料,采用离体培养基法研究了花粉的萌发特性,并探讨了不同贮藏温度与贮藏时间对花粉萌发率和超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性的影响。结果表明:耐冬山茶花粉萌发的最适宜培养基为:150 g·L<sup>-1</sup>蔗糖+0.05 g·L<sup>-1</sup>硼酸+100 mg·L<sup>-1</sup>GA<sub>3</sub>+900 g·L<sup>-1</sup>Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;花粉最佳贮藏温度为-80℃;-80℃贮藏360 d后,花粉萌发率仍达到原来的58.19%,3种保护酶活性较高,花粉抗氧化、衰老能力较强;贮藏过程中,3种保护酶活性出现最高峰值前后花粉萌发率出现大幅度下降;不同贮藏温度下,3种保护酶的作用不同,室温下POD、CAT为敏感性保护酶,4℃下SOD为敏感性保护酶,-20℃、-80℃下CAT为敏感性保护酶;3种保护酶活性对花粉萌发率的影响依次为:SOD>POD>CAT。

**关键词:**耐冬山茶;花粉;萌发;贮藏;超氧化物歧化酶(SOD);过氧化物酶(POD);过氧化氢酶(CAT)

中图分类号:S685.14

文献标识码:A

## Storage Condition and Viability Change of *Camellia japonica* Pollen

JIA Wen-qing<sup>1,2</sup>, WANG Shao-ping<sup>2</sup>, FAN Zheng-qi<sup>1</sup>, LI Ji-yuan<sup>1</sup>

(1. Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Hangzhou 311400, Zhejiang, China;

2. School of Horticulture Landscape Architecture, He'nan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, He'nan, China)

**Abstract:** Fresh pollen of *Camellia japonica* was used to test the pollen viability by *in vitro* culture. The effects of different store methods on pollen viability and the activity of SOD, POD and CAT were also investigated. The results show that 1. The best combination for pollen germination was 150 g·L<sup>-1</sup> sucrose, 0.05 g·L<sup>-1</sup> boric acid, 100 mg·L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub>, and 900 g·L<sup>-1</sup> Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. 2. -80℃ sealed storage was the best storage condition to keep the vitality of the pollen. 3. After 360 days' storage, the activity of the three kinds of enzymes, the antioxidant capacity and aging ability of the pollen kept high. 4. The germination proportion of pollen decreased significantly when the activities of SOD, POD and CAT were around the highest levels. 5. The three enzymes had different responses to the storage temperature. POD and CAT were responding protection enzymes at room temperature, while SOD was a responding protection enzyme at 4℃, however. CAT was a responding protection enzyme at -20℃ and -80℃. The effect of three kinds of enzymes on pollen germination are in the order of SOD>POD>CAT.

**Key words:** *Camellia japonica*; pollen; germination; storage; SOD; POD; CAT

耐冬山茶(*Camellia japonica* L.)为山茶科(Theaceae)山茶属(*Camellia* L.)常绿阔叶小乔木,在山东青岛近海岛屿和崂山等地有相当数量的野生

分布,是我国山茶科植物自然分布的最北缘种<sup>[1-3]</sup>。隆冬季节,雪飘冰封,绿树红花,红白相映,分外妖娆,故被当地人称为“耐冬”,花期从12月到翌年5

收稿日期:2014-07-28

基金项目:“十二五”国家科技支撑计划项目(2012BAD01B07);国家国际科技合作专项项目(2011DFA30490)

作者简介:贾文庆(1979—),男,河南淮阳人,在读博士研究生,副教授,主要研究方向为观赏植物生物技术。

\* 通讯作者:李纪元(1964—),男,研究员,博士生导师,主要研究方向为观赏植物。E-mail: jiyuan@126.com

月,长达半年之久<sup>[1-3]</sup>。耐冬山茶是我国北方地区唯一室外冬春季开花的常绿阔叶植物,具有极高的观赏价值和经济价值<sup>[1-3]</sup>。

花粉是种子植物自然条件下遗传信息交流的载体<sup>[4-6]</sup>,花粉受精过程能否顺利完成及结实量的多少,也是植物杂交育种成败的关键。杂交育种是培育新品种最有效、最常用的手段之一,杂交经常遇到花期不遇、远距离杂交的实际问题,这就需要采集和保存花粉,花粉活力是评价贮藏成败的主要标志。有关耐冬山茶花粉活力仅王翔等<sup>[2]</sup>、杨成利等<sup>[3]</sup>采用 TTC 染色法进行过报道,关于其贮藏特性的研究尚为空白。染色法测定花粉活力容易出现假阳性等,不能准确直观的反应花粉活力<sup>[4-6]</sup>,而离体培养能模拟自然条件下开花时柱头的状态,故能真实地反应植物花粉的活力<sup>[4-7]</sup>。当前,有关花粉保存的研究多集中在不同贮藏方法(温度、湿度等)和萌发率的关系,赵文飞等<sup>[8]</sup>、谭健晖<sup>[9]</sup>、刘艳萍等<sup>[7]</sup>研究发现,花粉保存期间,内部发生一系列的生理代谢反应,活力逐渐下降,而花粉中的保护酶类能够清除氧自由基,延缓衰老,因此保护酶活性的高低也是反映花粉活力的重要指标。作者以山东青岛耐冬山茶花粉为试验材料,研究其萌发特性以及不同贮藏方法对保护酶活性和萌发率的影响,以期对耐冬山茶花粉的科学贮藏、耐冬山茶生殖生物学研究和杂交育种提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

花粉采自山东青岛东都实业有限公司的耐冬山茶‘长柱耐冬’,树龄为 10 a。于 2013 年 4 月 8 日至 15 日,采取盛花期微开花朵,带回实验室后,将花药剪下放到硫酸纸上,避光在  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  的培养箱散粉,真空干燥 6 h,花粉含水量降至 16.00% 左右时,收集花粉转入离心管密封保存,备用。

### 1.2 花粉萌发培养基筛选

在预备试验基础上,采用  $L_9(3^4)$  正交试验设计,研究蔗糖(A)、硼酸(B)、 $\text{GA}_3$ (C)和  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (D)4 个因素不同水平对耐冬山茶花粉萌发的影响,上述培养基均添加  $8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  琼脂,pH 值调至 6.0。用毛笔蘸取花粉播于载玻片培养基上,放入培养皿里浸湿的吸水纸上,加盖。培养条件为  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,全光照培养。每处理设置 3 重复,培养 12 h 后在显微镜下观察拍照,每重复观察 3 视野,总计观察花粉数

大于 200 粒。

花粉萌发率(%) = 花粉管长度大于花粉直径的花粉数/观察花粉数  $\times 100\%$ 。

### 1.3 花粉储藏方法优化

设置室温、 $4^\circ\text{C}$ (低温)、 $-20^\circ\text{C}$ 、 $-80^\circ\text{C}$ (超低温)4 种贮藏温度,将真空干燥的耐冬山茶花粉装入放有硅胶干燥剂 7 mL 试管中,用棉花封口,每个贮藏温度放置 10 ~ 15 支。花粉贮藏 24、40、72、120、184、264、100、360 d 后,从 4 种贮藏条件中各取出 1 管花粉,用少许上述最佳培养基测定花粉萌发率,其余用于 3 种保护酶活性测定。

### 1.4 花粉保护酶活性测定

酶液的提取:准确称取 1.000 g 耐冬山茶花粉,放入  $4^\circ\text{C}$  预冷玻璃研钵中,加入少许 PVP、石英砂,然后加入 10 mL  $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  磷酸缓冲(pH = 7.0),匀速研磨 30 ~ 40 s,然后将混合液倒入试管中于 10 000 r 冷冻离心机里离心 20 min。上清液即为酶液。

超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑法(NBT)测定<sup>[10]</sup>;过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外吸收法<sup>[11]</sup>测定;过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚显色法<sup>[10]</sup>进行测定。

采用 SPSS 11.0 软件进行数据统计分析,利用 Excel 2003 软件制图。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同因素对耐冬山茶花粉萌发的影响

从表 1 可以看出,在不同培养条件下,耐冬山茶花粉均能萌发。处理 4 花粉萌发率最高,平均为 80.50%;对照花粉萌发率最低,平均仅 22.31%。极差数据(表 1)表明,蔗糖是影响花粉萌发率的主要因素,其它依次是硼酸、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  和  $\text{GA}_3$ 。耐冬山茶花粉萌发需要的蔗糖浓度低于许林等<sup>[12]</sup>对川鄂连蕊茶(*C. rosthorniana* Hand. -Mazz.)花粉研究得出的  $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,高于杨盛美等<sup>[13]</sup>对茶组(Sect. *Thea* (L.) Dyer)植物花粉、许林等<sup>[14]</sup>对茶树(*Camellia* spp.)花粉研究得出的  $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,与黄永芳等<sup>[15]</sup>对油茶(*Camellia* spp.)花粉的研究一致。从表 1 结果可知,适宜耐冬山茶花粉萌发的最优组合为: $150 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖 +  $0.05 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 硼酸 +  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  $\text{GA}_3$  +  $900 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Ca( $\text{NO}_3$ )<sub>2</sub>(处理 4:  $\text{A}_2\text{B}_1\text{C}_2\text{D}_3$ )。

表1 不同因素对耐冬山茶花粉萌发的影响

处理	蔗糖/ (g · L <sup>-1</sup> )	硼酸/ (g · L <sup>-1</sup> )	GA <sub>3</sub> / (mg · L <sup>-1</sup> )	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> / (mg · L <sup>-1</sup> )	萌发率/%
1	130	0.05	50	500	55.36 ± 1.12F
2	130	0.1	100	700	56.25 ± 1.09E
3	130	0.2	200	900	55.08 ± 1.05E
4	150	0.05	100	900	80.50 ± 0.96A
5	150	0.1	200	500	63.13 ± 1.15C
6	150	0.2	50	700	64.74 ± 0.89C
7	170	0.05	200	700	67.13 ± 0.78B
8	170	0.1	50	900	64.33 ± 1.25C
9	170	0.2	100	500	59.37 ± 1.12D
10	0	0	0	0	22.31 ± 1.04F
$\bar{K}_1$	55.56	68.83	61.48	59.29	
$\bar{K}_2$	70.62	61.24	66.54	62.71	
$\bar{K}_3$	63.61	59.73	61.78	67.80	
R	13.56	8.20	4.56	7.67	

注:不同大写字母分别表示在0.01水平上存在差异,下同。

## 2.2 不同贮藏温度、贮藏时间下花粉萌发情况

从图1可以看出,不同贮藏方法对耐冬山茶花粉萌发率影响显著,贮藏后花粉萌发率差异较大。室温贮藏的花粉随贮藏时间的延长花粉萌发率迅速降低,贮藏120 d后花粉失去生活力,不再萌发;4℃贮藏264 d时花粉萌发率降为0。贮藏0~120 d时,-20℃、-80℃贮藏温度花粉活力出现较快的下降趋势;贮藏120~360 d时,-20℃、-80℃贮藏温度花粉活力下降速度较慢,至360 d时,-80℃贮藏的花粉仍保持较高的萌发率,达46.70%,为贮藏前花粉萌发率80.25%的58.19%,-20℃贮藏的花粉萌发率也达到26.10%。这与许林等<sup>[14]</sup>研究所得-70℃最适于茶树花粉的长期贮藏的结果基本一致。综合来看,耐冬山茶花粉适宜的贮藏温度为-80℃。

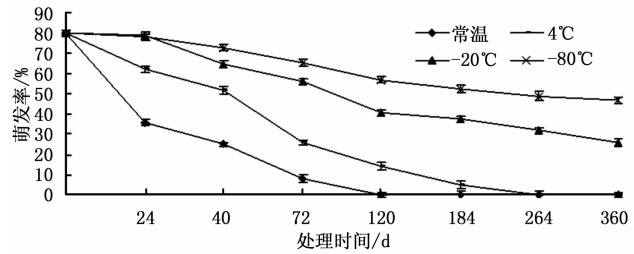


图1 不同贮藏方法对耐冬山茶花粉萌发的影响

## 2.3 不同贮藏温度、贮藏时间对花粉保护酶活性的影响

2.3.1 对花粉SOD活性的影响 从表2和图2可以看出,不同贮藏时间和贮藏温度对耐冬山茶花粉超氧化物歧化酶(SOD)活性有显著影响( $P < 0.01$ )。由表2可知,耐冬山茶花粉SOD活性在室温条件下,随贮藏时间的延长呈先降低后升高再迅速下降趋势,说明花粉室温贮藏后超氧自由基不断增加,诱导SOD活性增强,随着贮藏时间的延长,花粉SOD活性随萌发率的下降而迅速下降。4℃贮藏温度下,耐冬山茶花粉SOD活性呈升高后迅速下降的变化趋势,最高峰出现在贮藏后24 d,贮藏264 d花粉萌发率降为0时的SOD活性仅为最高峰的4.0%。-20℃、-80℃贮藏温度下,贮藏0~40 d,-20℃下花粉SOD活性呈缓慢下降的趋势,-80℃下SOD活性呈先下降后上升的趋势;而后随着贮藏时间的延长,2种贮藏温度下SOD活性均呈下降的变化趋势,比较而言,-80℃贮藏的耐冬山茶花粉SOD活性下降幅度曲线明显较-20℃平缓,-80℃贮藏360 d后,SOD活性为252 u · g<sup>-1</sup>,达到原来的59.15%,说明耐冬山茶花粉仍保持较高的活性。

表2 不同贮藏温度、贮藏时间对花粉保护酶活性的影响

贮藏时间/d	超氧化物歧化酶(SOD)活性 / (u · g <sup>-1</sup> )				过氧化物酶(POD)活性 / (u · g <sup>-1</sup> )				过氧化氢酶(CAT)活性 / (u · g <sup>-1</sup> )			
	室温	4℃	-20℃	-80℃	室温	4℃	-20℃	-80℃	室温	4℃	-20℃	-80℃
0	426B	426B	426A	426B	26C	26D	26E	26E	5.3C	5.3D	5.3F	5.3F
24	393 C	653A	400B	397C	34.3B	25.7C	15.4G	20.2F	12.2A	6.4C	13.6D	14.6E
40	467 A	428B	367C	468A	47.6A	38.9B	8.4H	20.4F	8.2B	10.4B	18.9B	23C
72	127D	357C	320D	374D	13.5D	68.4A	38.4C	32.3D	4.1C	15.9A	6.7F	29B
120	70E	89D	257E	345E	2.3E	24.5	45.5B	38.1C	1.2D	6.3C	10.8E	20.1D
184	23F	45F	242E	303F	0.7F	10E	47.6A	40.2B	0.9D	2.7E	16.7C	25.4C
264	0G	17G	217F	264G	0G	2.5F	30.4D	55.6A	0E	0.6F	19.3B	28.9B
360	0G	0	187G	252G	0G	0G	19.6F	36.7C	0F	0G	23.4A	32.6A

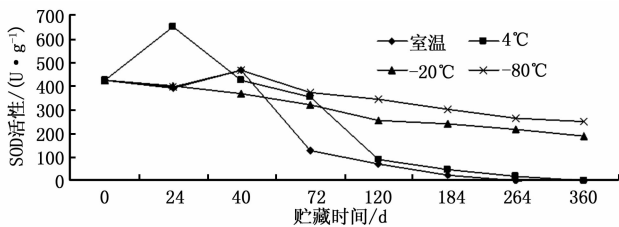


图2 不同贮藏时间、贮藏温度对花粉 SOD 活性的影响

2.3.2 对花粉 POD 活性的影响 从表 2 和图 3 可以看出,耐冬山茶花粉经过不同低温和贮藏时间处理后,过氧化物酶(POD)活性变化显著( $P < 0.05$ )。室温、4℃贮藏温度下,耐冬山茶花粉 POD 活性随贮藏时间的延长,呈现逐步升高后迅速下降的趋势,室温保存至 40 d 时,POD 活性升至  $47.6 \text{ u} \cdot \text{g}^{-1}$ ,达到最高,为原来的 1.83 倍,而后随着贮藏时间的增加,耐冬山茶花粉自身的保护能力迅速下降,POD 合成受到抑制,至贮藏 264 d,降为 0;4℃贮藏,耐冬山茶花粉 POD 活性最高峰出现在 72 d,之后随着贮藏时间的延长,POD 活性开始迅速降低,到 264 d 时,POD 降为 0。-20℃、-80℃ 贮藏,耐冬山茶花粉 POD 活性变化基本一致,呈降低—升高—下降的趋势,最高峰分别出现在 184 d 和 264 d,此时 POD 活性分别为原来的 1.83 倍和 2.14 倍,之后 POD 活性开始下降。360 d 时耐冬山茶花粉 POD 仍保持较高的活性,分别为原来的 0.75 倍和 1.41 倍,这表明花粉能及时分解自由基,进而保护花粉减少低温伤害,保持较高的花粉活力。

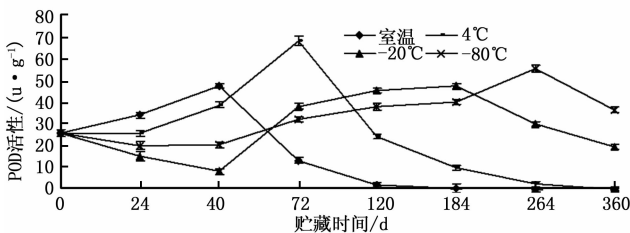


图3 不同贮藏时间、贮藏温度对花粉 POD 活性的影响

2.3.3 对花粉 CAT 活性的影响 如表 2 和图 4 所示,不同贮藏方法对耐冬山茶花粉过氧化氢酶(CAT)活性影响差异显著。室温、4℃贮藏温度下,耐冬山茶花粉的 CAT 活性随贮藏时间的延长,呈现先升高后下降的趋势,最高峰分别在第 24、72 d,最高峰值分别为原来的 1.83 倍和 3 倍。之后 CAT 活性快速下降,到 120 d 时,室温下降至  $1.2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,为原来的 22.64%;-20℃、-80℃贮藏温度下随贮藏时间的延长,耐冬山茶花粉的 CAT 活性呈现升

高—下降—再升高后的趋势,高低起伏较大,最高峰值都出现在 360 d,最高峰值分别为  $23.4 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$  和  $32.6 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ ,为原来的 4.41 倍和 6.15 倍。

耐冬山茶花粉经过不同时间和温度贮藏后,随着贮藏时间的延长,花粉萌发率逐渐下降,保护酶活性则表现出不同趋势。表 3 相关分析显示,耐冬山茶花粉萌发率与 3 种保护酶活性之间均呈正相关。花粉萌发率与过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性呈正相关,与超氧化物歧化酶(SOD)活性的正相关极显著( $P < 0.01$ ),说明在耐冬山茶花粉的贮藏过程中,超氧化物歧化酶(SOD)活性对花粉萌发率起着主导作用,即超氧化物歧化酶(SOD)活性对花粉萌发率的影响作用大于过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)。

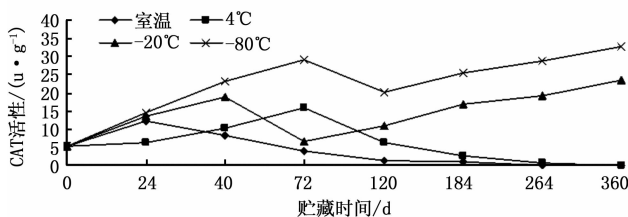


图4 不同贮藏时间、贮藏温度对花粉 CAT 活性的影响

表3 耐冬山茶花粉萌发率与 3 种保护酶活性的相关分析

保护酶活性	相关方程	相关系数
超氧化物歧化酶(SOD)活性	$y = 5.041 2x + 67.874$	0.852 **
过氧化物酶(POD)活性	$y = 0.228 9x + 16.151$	0.384
过氧化氢酶(CAT)活性	$y = 0.138 9x + 5.982 8$	0.423

注: \*\* 表示不相关性达到极显著水平。

## 3 结论与讨论

### 3.1 离体培养法测定耐冬山茶花粉活力

离体萌发法适宜绝大多数植物花粉活力的测定,能准确表现花粉萌发率<sup>[12-21]</sup>。一般植物花粉萌发的糖、硼酸质量浓度分别为 5%~20%、0.01~0.15  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[17-21]</sup>。山茶科植物花粉萌发的蔗糖、硼酸、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  浓度分别为 100~200  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、0.05~0.10  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、0.1~0.3  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[12-16]</sup>。本试验结果显示,耐冬山茶花粉萌发最适合的蔗糖、硼酸、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  浓度分别为 150  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、0.05  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、0.9  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,与多数山茶科植物花粉萌发所需蔗糖、硼酸浓度范围相一致,但要求较高的  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  浓度。王翔等<sup>[2]</sup>杨成利等<sup>[3]</sup>采用 TTC 染色法发现,耐冬山茶‘长柱耐冬’的花粉活力达到 90.29%,显著高于本试验所得的 80.25%,这表明 TTC 法测定耐冬山

茶花粉可能存在假阳性现象<sup>[22]</sup>。综合考虑,150 mg · L<sup>-1</sup>蔗糖 + 0.05 g · L<sup>-1</sup>硼酸 + 100 mg · L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> + 900mg · L<sup>-1</sup> Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 适宜耐冬山茶花粉活力的测定。

### 3.2 不同贮藏方法对花粉萌发的影响

花粉萌发率是表示花粉活力的常用指标,低温贮藏可降低花粉的生理功能,适宜较长时间保持花粉活力<sup>[4,17-21]</sup>。本试验发现,经过不同温度、不同时间贮藏处理的耐冬山茶花粉萌发率较初始萌发率均有不同程度的降低,室温、4℃贮藏的花粉萌发率下降明显,室温保存的花粉120 d后完全丧失活力。4℃贮藏温度下,贮藏40 d时花粉萌发率下降缓慢,而后随贮藏时间的增加而迅速下降,贮藏264 d时,花粉完全丧失活力。说明4℃贮藏温度只适合花粉短期贮藏。-80℃贮藏温度下,花粉贮藏前期活力保持相对平衡状态,贮藏24 d时达到最高值,之后出现下降的趋势,贮藏360 d的花粉萌发率仍达46.70%。这表明耐冬花粉在超低温贮藏条件下能保持较高的活力。不同山茶种间花期相差很大,且经常进行远距离授粉杂交,贮藏耐冬山茶花粉作为父本,对于种间杂交、解决花期不遇、培育新品种具有重要意义。耐冬山茶花粉-20℃、-80℃贮藏360 d仍有较高的萌发率,且保护酶活性较高,这表明适宜的耐冬山茶花粉贮藏方法可满足全年杂交育种的需要。耐冬山茶花粉适宜的贮藏温度为-80℃,但代价较高,从经济的角度来看,-20℃不失为实用的贮藏方法。

### 3.3 花粉萌发率与3种保护酶活性

花粉贮藏后花粉活力和保护酶活性是评价贮藏方法好坏的2个重要指标<sup>[7-8]</sup>。采用-20℃、-80℃低温贮藏耐冬山茶花粉,贮藏360 d后,其花粉萌发率为46.70%、36.50%,分别达到原来的58.01%和45.34%,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)3种保护酶活性基本在原来的50%以上,说明贮藏360 d后花粉生命力旺盛,对活性氧的清除能力强,仍能通过自身的协调作用来抑制花粉的衰老和失活。

研究证实:正常条件下,植物细胞自由基的产生和清除处于动态平衡,逆境(温度等)等破坏了这种平衡,导致活性氧在体内积累,膜脂双分子层中的不饱和脂肪酸易于被氧化分解,造成膜整体的破坏和过敏性死亡,植物通常可以提高保护酶活性,清除过多的活性氧,维持代谢平衡,保持膜系统的稳定,从

而避免或减少伤害<sup>[23-24]</sup>。降低贮藏期间耐冬山茶花粉含水量以及贮藏温度有利于降低贮藏时的生理活动,减少营养消耗,随着贮藏时间的延长,自由基增多,出现膜脂过氧化作用,花粉为了避免或减少伤害,启动3种保护酶进行保护,清除活性氧自由基,维持细胞膜稳定。但随着贮藏时间的增加,花粉细胞水分胁迫加重,自由基出现累积,花粉细胞衰老出现氧化胁迫,耐冬山茶花粉的3种保护酶活性不足以消除因胁迫而造成的伤害,致使花粉活力逐渐下降,最后死亡。本试验发现:花粉萌发率下降最快时期(室温下24~72 d,4℃贮藏40~120 d,-20℃、80℃下40~184 d),CAT、POD、SOD活性迅速增高,先后出现高峰值,之后又逐渐下降,其中CAT活性随着贮藏时间的进一步延长,又出现升高的趋势。这表明在花粉贮藏过程中,萌发率下降最快期间,3种保护酶活性迅速增高,出现最高峰值,活性增强,协同作用以抵抗胁迫,在此前后花粉萌发率出现大幅度下降,推测3种保护酶活性不足以消除因胁迫而造成的伤害,花粉也会逐渐死亡,表现出花粉活力迅速下降。

花粉活力在贮藏过程中逐渐降低,花粉细胞内部的生理代谢活动与加速和抑制其衰老、失活的诸多因子紧密相关,花粉萌发率是花粉内部保护机制效果的外在表现。本试验显示:室温下耐冬山茶花粉POD、CAT较为敏感,室温不适合花粉的长期贮藏。4℃贮藏温度下SOD敏感,适合花粉1~3个月的短期保存;-20℃、-80℃贮藏温度下CAT为低温敏感性保护酶,-80℃适合耐冬山茶花粉的长期保存。

### 参考文献:

- [1] 中国树木志编委会. 中国树木志: 第2册[M]. 北京: 中国林业出版社, 1994: 1602-1603.
- [2] 王翔, 刘庆华, 王奎玲, 等. 耐冬山茶(*Camellia japonica* L.)花粉活力和柱头可授性研究[J]. 西南农业学报, 2008, 21(4): 1078-1080.
- [3] 杨成利, 刘庆华, 王奎玲, 等. 耐冬山茶(*Camellia japonica* L.)花粉活力测定及人工授粉研究[J]. 江西农业学报, 2009, 21(8): 70-72.
- [4] 潘瑞炽. 植物生理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001: 257-261.
- [5] 贾文庆, 尤扬, 刘会超, 等. 矮牡丹花粉形态观察与萌发特性研究[J]. 西北林学院学报, 2012, 27(5): 76-79.
- [6] 管雨, 贾文庆, 刘会超, 等. 木瓜花粉生活力测定及储藏特性[J]. 浙江农林大学学报, 2012, 29(5): 790-794.
- [7] 刘艳萍, 朱延林, 马永涛, 等. 不同贮藏条件对紫玉兰花粉保护

- 酶活性及萌发率的影响[J]. 东北林业大学学报,2013,41(4):59-61.
- [8] 谭健晖. 贮藏温度和时间对马尾松花粉保护酶活性及萌发率的影响[J]. 林业科学,2011,47(9):28-32.
- [9] 赵文飞,邢世岩,姜永旭,等. 贮藏时间对银杏花粉保护酶活性和萌发率的影响[J]. 武汉植物学研究,2004,22(3):259-263.
- [10] 李合生,孙群,赵世杰,等. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000:164-167.
- [11] Omran R G. Peroxide levels and the activities of catalase, peroxidase and indoleacetic acid oxidase during and after chilling cucumber seedlings[J]. Plant Physiology,1980,65(2):407-408.
- [12] 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.
- [13] 杨盛美,宋维希,唐一春,等. 茶组植物花粉生活力测定及种间杂交研究[J]. 中国农学通报,2010,26(8):115-118.
- [14] 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.
- [15] 黄永芳,吴雪辉,何美儿,等. 3种油茶植物花粉贮藏及生活力的研究[J]. 福建林学院学报,2011,31(1):56-59.
- [16] 张涛,黄敏. 蔗糖和PEG对山茶花粉离体萌发的影响[J]. 北方园艺,2009,34(1):101-102.
- [17] Miltiadis V, Porlingis I C. Effect of temperature on pollen germination and pollen tube growth, effective pollination period and fruit set of pear [J]. Hort Science,1985,20(4):733-735.
- [18] 律春燕,王雁,朱向涛,等. 黄牡丹花粉生活力测定方法比较研究[J]. 林业科学研究,2010,23(2):272-277.
- [19] 刘会超,贾文庆,尤扬,等. 红花酢浆草花粉萌发及贮藏特性研究[J]. 江西农业大学学报,2010,32(1):185-189.
- [20] 贾文庆,尤扬,刘会超,等. 鸢尾花粉生活力测定及贮藏特性研究[J]. 西北农业学报,2012,21(8):182-185.
- [21] 程伟,赵志刚,曾杰,等. 西南桦花粉离体萌发的适宜条件与萌发特征[J]. 林业科学研究,2007,20(2):209-212.
- [22] 郭蓓,史芳芳,李晨,等. 20个荷花品种花粉活力测定及贮藏研究[J]. 河南科学,2014,32(1):29-32.
- [23] Kanazaw S, Sano S, Koshiba T, *et al.* Changes in antioxidative in cucumber cotyledons during natural senescence; comparison with those during dark-induced senescence[J]. Physiologia Plantarum,2000,109(2):211-216.
- [24] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutase: purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings[J]. Plant Physiology,1977,59(2):315-318.