

# 溫度與水溶性擴散物對茶樹自交不親和性之影響

## Effects of temperature and water-soluble diffusates on the Self-Incompatibility of Tea

楊美珠<sup>1</sup> 陳右人<sup>2</sup>

by

Meei-Ju Yang and Iou-Zen Chen

台大園藝系助教和副教授

Teaching assistant and associate professor (corresponding author), respectively,  
Department of Horticulture, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, R. O. C.

計畫編號 NSC 89-2313-B-002-109

**摘要：**於 30/25、25/20、20/15°C 工氣候室中進行瓶插授粉試驗，結果高溫下花粉管的生長速率較快，且高溫使有花粉管生長進入胚珠的比例增加。將雌蕊組織解剖後體外培養，並在距離其 1 至 2mm 處平行排列供試花粉，觀察雌蕊組織對花粉生長的影響。結果顯示，排列在自交後的雌蕊組織周圍的自花花粉，發芽及花粉管的生長會受到抑制，而此抑制作用在花柱基部及子房腔最為顯著。  
**關鍵字：**體外培養、花粉管生長、水溶性擴散物擴散物、化學向性。

**Key word:** in vitro culture, pollen tube growth, water-soluble diffusates, chemotropism.

### 前言

從授粉到受精，花粉管生長的過程可區分為：花粉的水合和萌發；花粉管在柱頭、花柱和子房的生長；花粉管被引導至珠孔；及精細胞傳至胚，總計四個階段(Wihelmi and Preuss, 1997)。一般而言，花柱對花粉管的生長有物理性的輔助作用(Sanders and Load, 1989)，及化學性的引導作用，或是提供營養物質供花粉管生長所需(Cheung et al. 1995; Wu et al., 1995)。體外花粉培養的試驗已瞭解雌蕊組織的擴散物及抽出物質、鈣離子、葡萄糖，對某些植物花粉管的生長具有化學向性(Reger, et al., 1992a; b)以導引花粉管之生長方向。而胚珠也會產生引導花粉管生長的化學物質(Hulskamp et al., 1995; Wihelmi and Preuss, 1996)，這些物質會藉由成熟花柱來傳導訊息，而產生辨識作用；而未成熟花柱通常較無法傳達胚珠的訊息(Kandasamy et al., 1994)。茶樹的自交不親和性已知問題不在柱頭，而是在花柱或其他部位(吳, 1954; Rogers, 1975; 楊與陳, 2000)，為詳細了解其作用機制，本研究擬從雌蕊組織及花粉管之體外培養，來探討雌蕊組織在自交不親和性上所扮演的角色。此外藉由不同溫度處理，來探討溫度變化對自交不親和性之影響。

### 材料與方法

**試驗材料:**台茶 12 號(雜交品種:台茶八號為母本，地方優良品種硬枝紅心為父本)、青心烏龍(地方優良品種)、及台農 978 品系茶樹。

**試驗方法:**

#### (一) 溫度對花粉管生長之影響

以瓶插的方式進行本試驗，取開花前 1~5 天的花苞進行人工雜交(青心烏龍× 台茶 12 號)及人工自交(青心烏龍自交)，授粉後放入日溫/夜溫為 30/25°C、25/20°C 及 20/15°C 之人工氣候室

(phytotron)。取授粉後 3 小時、6 小時、12 小時、1 天、2 天、3 天、4 天、5 天的樣品。以螢光顯微鏡觀察花粉管生長的最遠距離，及有花粉管生長進入的胚珠數目，並將花粉管進入胚珠歸為受精，以計算花朵受精比例及花朵的胚珠受精率，計算方法如下：

$$\text{受精的花朵比例} = \frac{\text{受精花朵數}}{\text{總花朵數}}$$

$$\text{花朵的胚珠受精率} = \frac{\text{受精胚珠數}}{\text{總胚珠數}}$$

## (二) 茶樹雌蕊組織離體培養對花粉發芽及花粉管生長之影響

分別取開花前 3 至 5 天及已開的花進行人工自交授粉，並以未授粉及異交的花作為對照，進行離體試驗。將授粉後的雌蕊組織進行解剖，分成花柱、子房上部、中軸、及胚珠等部份。將解剖的組織置於培養基上，培養基的配方為 10% Sucrose、20ppm Boric acid、0.9% Agar(修改自:李 1987; Konishi and Yokota 1980; Konishi and Miyamoto 1983; Reger et al. 1992)。在距離雌蕊組織 1 至 2mm 處平行排上供試花粉後，於加濕的 20~25°C 生長箱中進行試驗，觀察供試花粉的花粉管生長情形。雌蕊組織的授粉組合、供試花粉的來源及觀測時間如下：

雌蕊組織來源	供試花粉	觀測時間	時間間隔
台農 978 品系自交	台農 978 品系	0-15 小時	15-60 分
台茶 12 號成熟花自交	台茶 12 號	0-5 小時	30-60 分
台茶 12 號未成熟花自交	台茶 12 號	0-5 小時	30-60 分
青心烏龍自交	青心烏龍	0-5 小時	30-60 分
青心烏龍自交	台茶 12 號	0-5 小時	330-60 分
未授粉台茶 12 號成熟花柱	台茶 12 號	0-5 小時	30-60 分
青心烏龍x 台茶 12 號	台茶 12 號	0-5 小時	30-60 分
青心烏龍x 台茶 12 號	青心烏龍	0-5 小時	30-60 分

## 結果與討論

### (一) 溫度對花粉管生長之影響

溫度對自交及雜交授粉後花粉管生長速率會有影響(表 1)。在 30/25°C、25/20°C 及 20/15°C 溫度下，授粉之初，花粉管生長速率大致相同，但在授粉 6~18 小時間，高溫的處理下的花粉管生長較快。而同一溫度下，自交或雜交後花粉管生長的速率，略有不同。30/25°C 下，最初的 6 小時，自交及雜交花粉管生長速率大致相同，但 6~12 小時間以自交的花粉管生長較快，至授粉 18 小時後，花粉管均已生長至花柱基部。25/20°C 下花粉管的表現與在 30/25°C 的狀況下大致相同，6 到 12 小時間以自交的花粉管生長較快，至 18 小時則均已至花柱基部。20/15°C 下，最初的 6 小時，自交及雜交花粉管生長速率大致相同，6 至 12 小時則以雜交的花粉管生長較雜交的快，至 18 小時兩者均已達花柱基部。

溫度對自交及雜交授粉後受精的花朵比例(圖 1)、及花朵的胚珠受精率也會有影響(表 2)。高溫(30/25°C)有利於受精，其中雜交的組合在授粉 18 小時後，花朵的受精率已達百分之百，而 25/20°C 在授粉 24 小時後花朵的受精率達到 100%，20/15°C 下則在授粉 48 小時後，才達到百分之百。自

交的花雖然無法達到百分之百的受精，但由圖2可看出高溫下促進花受精的作用較為明顯。30/25℃在授粉24小時後到達最高的受精率，而25/20℃及20/15℃則較晚才有花受精。此外高溫也有提高自交花受精率的效果，30/25℃下自交受精率最高可達接近60% 而且後續的花朵受精率一直上升，而25/20℃下花朵的最大受精率為40%，20/15℃下的花朵卻只有20%，而大部份的受精率為0。在胚珠受精率方面也是呈現類似的結果(表2)，高溫下花粉管生長進入胚珠的時間較早，且在高溫下自交的花胚珠受精率也較高，而雜交組合的胚珠受精率明顯比自交的胚珠受精率高出許多。

表 1 溫度對青心烏龍自交及雜交授粉後花粉管生長之影響

Table 1 Effect of temperature on pollen tube growth of tea (*Camellia sinensis* cv. Chin-Shin Oolong) by self- and cross-pollination

授粉後時間 Hours after pollination	授粉組合 Pollination combination					
	青心烏龍x 台茶 12 號 CSOx TTES No.12			青心烏龍自交 CSO self-pollination		
	(日/夜溫 Day/Night temperature)			(日/夜溫 Day/Night temperature)		
	30/25℃	25/20℃	20/15℃	30/25℃	25/20℃	20/15℃
3hr	剛通過 柱頭 (ST)	剛通過 柱頭 (ST)	剛通過 柱頭 (ST)	剛通過 柱頭 (ST)	剛通過 柱頭 (ST)	剛通過 柱頭 (ST)
6hr	至花柱 1/10 處 (1/10 St)	至花柱 1/10 處 (1/10 St)	至花柱 1/10 處 (1/10 St)	至花柱 1/10 處 (1/10 St)	至花柱 1/10 處 (1/10 St)	至花柱 1/10 處 (1/10 St)
12hr	已近花柱 基部 (close Sb)	至花柱 4/5 處 (4/5 St)	至花柱 1/2 處 (1/2 St)	已達花柱 基部 (Sb)	已近花柱基 部 (close Sb)	至花柱 1/5 處 (1/5 St)
18hr	已達花 柱基部 (Sb)	已達花柱基 部 (Sb)	已達花柱 基部 (Sb)	已達花柱 基部 (Sb)	已達花柱基 部 (Sb)	已達花 柱基部 (Sb)

\*5 個樣品(15 個花柱)中，花粉管在花柱中生長的最長距離。 The longest distance of pollen tube arrive. \*\*ST: through stigma; St: style; Sb: base of style; CSO: Chin-Shin Oolong

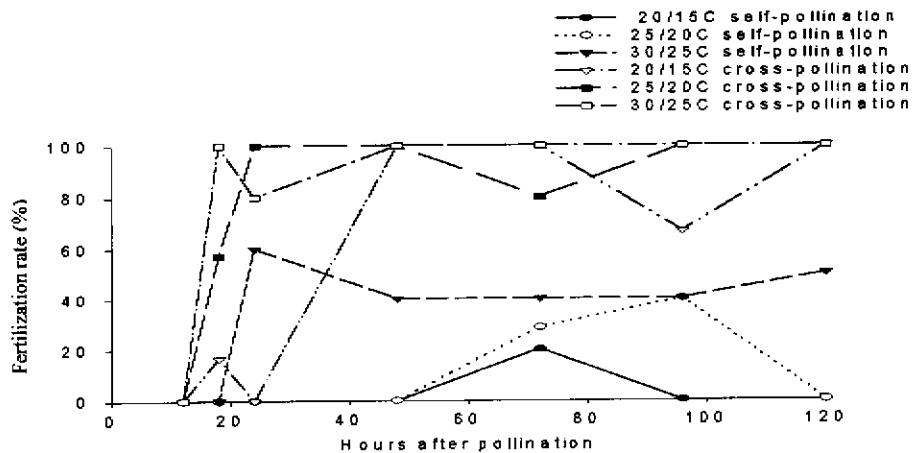


圖 1 溫度對青心烏龍自交及雜交授粉後受精率之影響

Fig. 1 Effect of temperatures on fertilization rate of tea (*Camellia sinensis* var. Chin-Shin Oolong) by self- and cross-pollination

表 2 溫度對青心烏龍自交及雜交授粉後胚珠受精率之影響

Table 2 Effect of temperature on ovule fertilization ratio of tea (*Camellia sinensis* var. Chin-Shin Oolong) by self and cross pollination

授粉時間 Hours after pollination	授粉組合 pollination combination					
	青心烏龍× 台茶 12 號 CSO× TTES No.12 (日/夜溫 Day/Night temperature)			青心烏龍自交 CSO self-pollination (日/夜溫 Day/Night temperature)		
	30/25°C	25/20°C	20/15°C	30/25°C	25/20°C	20/15°C
12	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
18	10.83 ab	12.84 a	1.85 bc	0 c	0 c	0 c
24	15.48 a	8.20 b	0 c	4.76 bc	0 c	0 c
48	33.19 a	20.20 ab	18.02 b	4.17 c	0 c	0 c
72	31.38 a	18.38 b	23.08 ab	7.86 c	8.64 c	2.5 c
96	19.58 a	6.68 bc	12.73 b	3.54 bc	5.56 bc	0 c
120	24.27 a	31.65 a	20.73 b	8.33 c	0 c	0 c

\*表中的值為 5 個樣品的胚珠受精率平均值。Values in the table are the mean of 5 ovules fertilization percentage (%). Values within a row follow by the same letters are not significantly different of 5% level according to Duncan's multiple range testing.

雜交及自交的花粉管均能生長至花柱基部，但是受到自交不親和性作用的影響，使自交的花朵之花粉管無法生長到達胚珠。這是造成自交的花受精率較雜交低很多，而且每朵花受精的胚珠數也較低的主因。高溫能加快茶樹花粉管的生長速率，並增加雜交及自交的花朵受精率、及胚珠受精數，尤其在 30/25°C 下自交的花受精率高達 40% 以上，且胚珠受精率平均 4.22% 比低溫組 0.54% 高 3% 以上。在許多植物，高溫可以克服自交不親和性，例如蘿蔔(Matsubara, 1980)、牽牛花屬的 *Ipomoea fistulosa* (Prabha et al., 1982) 及百合(Hiratsuka et al., 1989) 等，以熱處理可使自交親和的比例提高。高溫能加速花粉管的萌發及生長，例如樺樹(Hughes and Cox, 1994)、胡桃(Marquard, 1992)，而低溫會使三葉草的花粉管的生長減短，使上部的胚珠受精率較下部的高。在本試驗中，高溫下茶樹自交受精率提昇的原因之一，可能是自交不親和性作用的減低。在百合於授粉後 2 小時之內及 3-8 小時間，以 45°C 熱處理雌蕊組織 5 分鐘，可以加速花粉管的生長，但前者花粉管生長的速率比後者快，而授粉 12 小時後再熱處理，則不再有促進花粉管生長的效果(Hiratsuka et al., 1989)，可見其自交不親和性在授粉後 3 小時之內已發生作用；熱處理雖然能抵銷一些自交不親和性的作用，但是當導致自交不親和性的內在因子或物質大量累積之後，則熱處理不再有效果。

茶樹自交後置於高溫下的胚珠受精率均較低溫的高；與雜交相較，雖然高溫可以增加花粉管的生長速率及胚珠受精率，但是在低溫下雜交的受精率卻有後來居上之勢，因此雜交的花高溫下受精比率的提昇，應是花粉管生長速率提高的影響；然而在低溫的自交受精率到後期卻無相同之勢，此種現象可能是低溫使花粉管的生長速率減低，又受到比較強烈的自交不親和性作用，使生長較緩慢的花粉管受到抑制；相對的在高溫下，授粉後花粉管的快速生長，可能避過自交不親和性之作用，或誘致自交不親和性的物質生成減少所致。溫度對自交不親和性之影響會受到遺傳因子所調控，例如三葉草、薔苔屬、百合屬等，不同品系間，其自交不親和性對溫度的敏感度會有所不同(孟等, 1995)。從實際的生長速度上看，20/15°C 授粉後 6 至 12 小時間自交的花粉管生長較雜交的慢，但是，25/20°C 及 30/25°C 授粉後 6 至 12 小時間，自交的花粉管生長速率卻較雜

交的高，而且高溫下自交結實率較高，因此茶樹的自交不親和性受溫度的影響，有可能也是受到遺傳控制，而 20/15°C 可能是一個自交不親和性對溫度感應的界限溫度。

## (二) 茶樹雌蕊組織離體培養對花粉發芽及花粉管生長之影響

由花粉管生長速度與方向之離體培養觀測結果，台農978品系自交後的雌蕊組織對自花花粉之花粉管具有負向引導性。試驗後90分鐘已可見到位於花柱部份的花粉已有花粉管伸出(圖2A)；處理後120分至220分時排在花柱部份的花粉之花粉管持續向兩邊生長，亦即同時向內與向外均可看到花粉管，但在子房的部份只有向外側的花粉花粉管向外生長，向著子房這一側的花粉卻不萌發(圖2B)；處理後240分鐘，可觀察到花柱基部切口的部位所排花粉之花粉管，較花柱其他部份所排的花粉花粉管生長緩慢(圖2C)。至授粉後330分鐘，花柱部位所排的花粉所生之花粉管，大部份已抵達花柱，但是越靠近花柱基部切口部位的花粉管，生長越緩慢，而子房部位的花粉依然沒有萌發。至處理後15小時(圖2D)與5.5小時時之表現類似，子房部位的花粉管向內依然沒有生長，但是向外的花粉管卻生長良好，此外距離子房越近的花粉管生長越緩慢。以上結果顯示台農978品系的子房及花柱基部某些水溶性的擴散物，具有抑制花粉管生長的效果；而將供試花粉置於放有自交雌蕊的培養基2小時後，即有抑制花粉生長的現象，5小時可看到明顯的抑制效果。

青心烏龍於開花後才自交的雌蕊組織，與開花前3至5天授粉的雌蕊組織比較，兩者對自花粉的化學向性之表現相同。成熟的雌蕊自交後，其花柱對花粉管的化學向性從柱頭到基部逐漸增加(圖3A)，子房腔的中軸部位，對自花粉管也具有較強的排斥效果(圖3B)，而胚珠則對自己的花粉管沒有排斥的作用(圖3C)。開花前自交的花柱也是顯現類似的效果，花柱的擴散物對花粉管的排拒作用十分明顯(圖4A)，子房上半部對花粉管也有排斥效果(圖4B)，胚珠則沒有抑制花粉管生長的效果(圖4C)。

自交後的雌蕊組織對其它品種的花粉也有化學向性。以自交後的台茶12號為試驗材料，自花花粉為供試花粉，可觀察到，花柱前段對自花花粉排斥作用較小(圖5A)，而花柱末段至子房的擴散物對自花花粉管的排斥作用很大(圖5B~5C)；後者的自花花粉管幾乎不生長，即使有生長，至一定的部位後，也會有逆向生長之現象。而台茶12號自交後雌蕊組織擴散物，對於其他品種(台

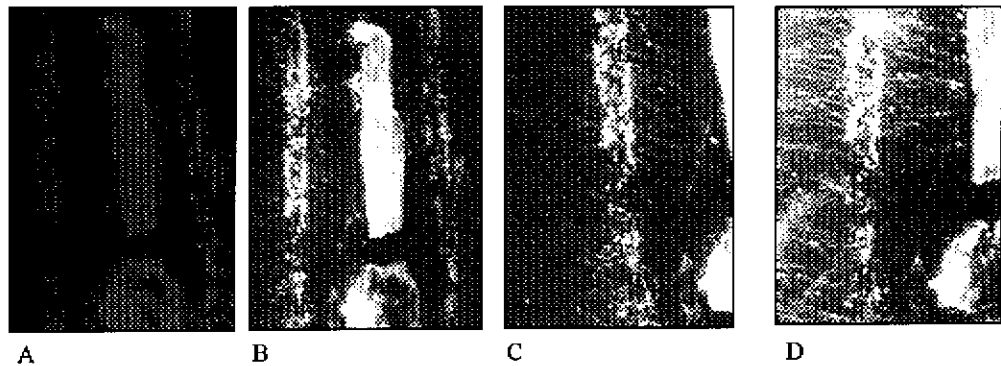
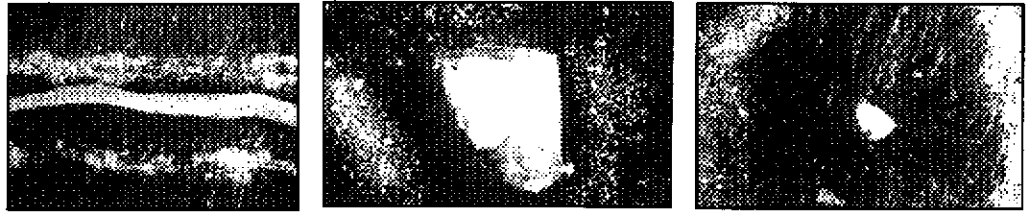


圖 2 台農 978 品系雌蕊組織離體培養對自花花粉發芽及花粉管生長之影響

Fig.2 Effects of the diffusates from self pollinated pistil on self pollen tubes germination and pollen tube growth of tea (*Camellia sinensis* Line Tainon 978)

A: 與花柱並排花粉在放置後 90 分鐘向內向外均有發芽。90 min. after treated. The pollen beside style germinates and grows to both sides equally. B: 與花柱並排花粉在放置後 220 分鐘花粉管向內向外均在生長，而與子房並排的花粉向內仍然沒有發芽。220 min. after treated. The pollen besides style grows outward and inward equally, but those besides ovary did not germination. C: 花粉放置至培養基中 240 分鐘。240 min. after treated. D: 花粉放置至培養基中 15 小時。15 hours after treated.



A

B

C

圖 3 自交的青心烏龍茶樹成熟雌蕊組織體外培養對自花花粉生長的影響

Fig. 3 Effects of the diffusates from self-anthesis-pollination pistil on germination and pollen tube growth of self-pollens of tea (*Camellia sinensis* var. Chin-Shin Oolong)

A: 越靠近花柱基部抑制花粉管生長的作用越顯著。The most proximate place to the base of style shows the stronger inhibition. B: 中軸對花粉管生長的抑制作用。The pollen tube growth inhibited by central part of ovary. C: 胚珠對自花花粉管沒有抑制作用。No influence on pollen tube growth by ovule.



A

B

C

圖 4 自交的青心烏龍茶樹未成熟雌蕊組織體外培養對自花花粉生長的影響

Fig. 4 Effects of the diffusates from self-bud-pollination pistil on germination and pollen tube growth of self pollen of tea (*Camellia sinensis* var. Chin-Shin Oolong)

A: 花柱擴散物對自花花粉管生長的抑制作用。Style diffusates retard pollen tube growth. B: 子房上半部對花粉管生長的抑制作用。The inhibition of pollen tube growth by ovary. C: 胚珠對自花花粉管沒有抑制作用。No inhibition of pollen tube growth by ovule.



A

B

C

圖 5 自交的台茶 12 號茶樹雌蕊組織體外培養對自花花粉生長的影響

Fig. 5 Effects of the diffusates from self-pollinated pistil on germination and pollen tube growth of self pollen of tea (*Camellia sinensis* var. TTES No. 12)

A: 花柱中段擴散物對自花花粉管生長的抑制作用。Inhibition of the diffusate from middle part of style to pollen tube growth. B: 與花柱末段平行的自花花粉向內均無發芽，向外生長良好。Besides basal part of style, pollen growth outward normally, but no germination or growth inward. C: 與子房上半部平行的自花花粉向內均無發芽，向外生長良好。Pollen tube growth was retarded by ovary as same as B.

農 978 品系)的花粉也具有排斥作用(圖 6);與台茶 12 號花柱末段及子房平行的台農 978 品系花粉，

幾乎不生長；而與花柱前段平行的花粉會在生長一段時間後，停止生長或反向彎曲生長回花粉的方向。顯示茶樹自交後的雌蕊組織水溶性擴散物，對其他品種花粉生長具有排斥用；而排斥作用發生的部位與對自花花粉相同，越靠近花柱下方，抑制作用越顯著。未授粉的雌蕊組織之水溶性擴散物對於自花的花粉，則完全沒有排斥的作用(圖 7)。顯示茶樹雌蕊組織排斥花粉管生長的水溶性物質，應該是自交不親和性的作用所產生的。此外，從青心烏龍與台茶 12 號異交後的雌蕊組織，對台茶 12 號花粉管沒有排斥作用(圖 8)上，也可瞭解到茶樹自交不和性的抑制物質，並非由授粉後的花粉管產生，應是花粉管與雌蕊組織相互辨識後，由雌蕊組織所產生。

雖然茶樹的排拒作用是在自交授粉後才有的，但是茶樹雌蕊組織對自花粉產生排斥作用的部位及現象與珍珠粟類似。珍珠粟成熟後1至2天的雌蕊組織，在花柱基部和子房相接合處，會累積排斥自花粉管生長的物質，而此物質在年輕的子房數量較少，排斥作用較低(Reger and Sprague, 1983)。Chaubal and Reger (1992) 發現此接合處會累積鈣離子，這些鈣離子是由子房壁細胞間隙擴散而來的。而在胚珠的助細胞也具有高濃度的鈣離子，以引導花粉管生長 (Reger et al. 1992)。茶樹胚珠在此種離體培養條件下，對花粉管的生長沒有影響，顯示胚珠沒有如花柱或子房腔一般，產生具有抑制花粉管生長的水溶性擴散物質，授粉後胚珠的水溶性分泌物的引導作用也沒有改變，但是在自交後其他組織的引導作用在水溶性物質部份卻產生了變化，顯示其他組織在自交後，產生了某些對花粉管生長具有明顯抑制效果，且不具選擇性的水溶性物質。由於越靠近子房的排斥作用越明顯，而花柱向上越靠近柱頭排斥作用越小，故此抑制物質的運移有可能與珍珠粟相似，在子房腔傳導組織產生辨識作用後，大量累積抑制物質，再往上輸送或擴散的。這種現象導致茶樹自交花粉管也能延伸至花柱基部，但卻無法繼續深入，以致受精率偏低。由此種表現中，可看出茶樹的自交不親和性與配子體型自交不親和性的傳統定義，即配子體型自交不親和性植物花柱

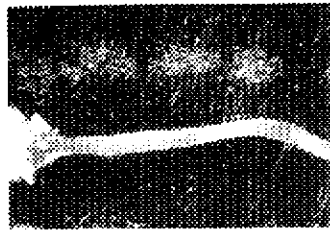


圖 6 自交的台茶 12 號茶樹雌蕊組織體外培養對台農 978 品系花粉生長的影響

Fig.6 Effects of the diffusates from self-pollinated pistil on germination and pollen tube growth of Tainon 978 pollen of tea (*Camellia sinensis* var. TTES No.12)

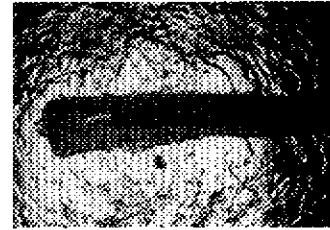


圖 7 台茶 12 號茶樹盛花期雌蕊組織花柱體外培養對自花花粉生長的影響

Fig.7 Effects of the diffusates from pistil on germination and pollen tube growth of self pollen of tea (*Camellia sinensis* var. TTES No.12)

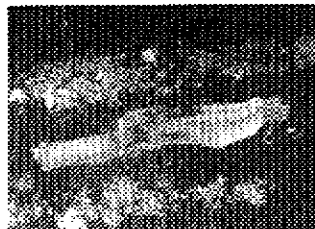


圖 8 雜交的青心烏龍茶樹(青心烏龍x 台茶 12 號)雌蕊組織體外培養對台茶 12 號花粉生長的影響

Fig.8 Effects of the diffusates from cross-pollinated pistil on germination and pollen tube growth of TTES No.12 pollen of tea (Chin-Shin Oolongx TTES No.12)

引導組織，為辨識配子體的主要部位(孟, 1995; 許, 1993; Singh and Kao, 1992; Newbiggin et al., 1993; Mascarenhas, 1993; Kao and Huang, 1994)，顯然並非一致。除了由子房腔生成的水溶性抑制物質外，由於茶樹的花柱為中空型，花粉管傳導組織從柱頭以下一直延伸至子房腔(徐等, 1986)；或可能由於重力的緣故，使在花柱產生的抑制物質向子房腔累積，造成越往下的雌蕊組織擴散物濃度越高，對花粉生長的排斥作用越明顯。當此抑制物質累積至一定的濃度，足以使花粉管生長停止或破裂，則此部位可能即為花粉管生長停頓的位置。



圖 9 雜交的青心烏龍茶樹(台茶 12 號× 青心烏龍)雌蕊組織體外培養對自花粉生長的影響

Fig. 9 Effects of the diffusates from cross-pollinated pistil on germination and pollen tube growth of self pollen of tea (TTES No.12× Chin-Shin Oolong).

A: 與花柱平行的花粉管向內生長受到抑制。The diffusates from style inhibit the pollen tube growth. B: 與花柱基部平行的自花花粉向內生長受到抑制。The diffusates from basal style inhibit the pollen tube growth. C: 與子房上半部平行的自花花粉管向內生長受到抑制。The diffusates from ovary inhibit the pollen tube growth.

異交(台茶 12 號× 青心烏龍)的雌蕊組織花柱(圖 9A)、花柱基部(圖 9B)，及子房腔(圖 9C)擴散物對於自花粉也會有排斥的現象產生。現今台灣人工雜交的方法均需除雄及套袋，而日本的異交授粉是不除雄、也不套袋的。從這個結果中，使我們瞭解異交後也會產生辨識物質，來排斥自己的花粉生長，因此人工異交後除雄的必要性，應該重新考量，但是由於雜交後的雌蕊組織不排斥其他品種花粉管的生長，因此人工授粉後套袋的步驟可能無法免除，以避免遭到其他品種花粉之污染。

由以上的結果，我們可以歸結：茶樹開花前後的雌蕊組織自交後，對本身花粉所生之花粉管已有排斥的作用，顯示開花前3~5天雌蕊組織即具有產生自交不親和性的能力，能排斥自己的花粉管生長。而排斥花粉管生長的部位，在不同品種間會有差異。64978品系在子房的排拒作用最為明顯，而台茶12號與青心烏龍在花柱及子房部位，均有抑制自花粉生長的物質，然而越靠近花柱基部，抑制作用越明顯，以子房腔抑制作用最為明顯，胚珠對於自己的花粉管則沒有排斥的能力。自交後之雌蕊對所有花粉均有排斥作用，而雜交後之雌蕊，則僅對自花花粉具有排斥的作用，對其他花粉則無排斥作用。

## 結論

在體外花粉管生長的試驗中，觀察到茶樹自交後的雌蕊組織，花柱、花柱基部、子房及中軸對自花粉具有因水溶性物質所產生的排拒的作用，且越靠下方抑制作用越強，所以茶樹自交不親和性，有可能是一種延後作用的配子體型自交不親和性，而在子房腔中產生辨識作用。在苜蓿屬體外及體內的試驗中，已證實子房組織對於自花粉管會有減慢速度及限制其生長至胚珠的作用(Seavcy and Bawa, 1986)，而從生化的分析也瞭解到*Lotus corniculatus*子房內含物在自交及雜交後會有所不同，且這不同在受精之前已發生，使自交的花粉管生長受阻無法到達胚珠(Dobrofsk and Grant,



1980)。

處於 20~30°C 環境下自交的花粉管生長速率在 6~12 小時比雜交的快，而自交的花粉管雖然與雜交一樣可以生長到達花柱基部，但是大部份卻停留於子房腔中不再生長。顯示在 12 小時之後，自交花粉管生長速率已開始下降，終至停止。而雜交的花粉管，生長速率依然不變或加速前進至胚珠。與 Regors(1975) 以其他品種茶樹觀察的結果類似，顯示茶樹自交的花粉管在花柱中已受到自交不親和性的作用，而使自交的花粉管生長速率逐漸減緩。如果自交後的辨識作用在子房腔發生，則以上的推論可以說明子房所產生的抑制物是向上擴散，使花粉管的生長減緩。但是根據組織專一性的原理，如果在花柱末段即有花粉管生長的抑制作用的話，自交不親和性的辨識應該是在此就發生的。因此，可推知茶樹自交不親和性作用的部位，應該是在花柱基部至子房腔的位置，也就是花粉管傳導組織的後段，這些部位會累積排斥花粉管生長的水溶性物質，使花粉管無法生長到達胚珠。此種物質似乎在產生後，即不再具有專一性，亦即一旦生成後，對自花與他花之花粉均有排斥或負向導引作用；有趣的是，異交的雌蕊組織對他花花粉不再產生排斥，但對自花花粉的生長，仍具有抑制作用，又顯示似乎有一種較具專一性的物質參與其中。

## 參考文獻

1. 吳信淦. 1954. 茶樹自交不親和性的初步研究. 平鎮茶業試驗所茶葉研究論文集. 第一卷: 97-101.
2. 吳振鐸. 1967. 茶樹自交及雜交的結實率與其雜交第一代經濟性狀之相關的研究. 中華農學會報. 新 59: 24-37.
3. 孟金陵等. 1995. 植物生殖遺傳學. 科學出版社. 北京.
4. 胡家儉. 1954. 茶樹開花習性之觀察研究. 平鎮茶業試驗所茶葉研究論文集. 1: 102-129.
5. 徐紅寶等. 1986. 中國茶樹栽培學. 中國農業科學院茶葉研究所主編. 上海科學技術出版社出版.
6. 馮鑑淮、許詩謀. 1965. 茶樹自交不孕性形成落果之觀察. 科學農業. 13: 289-292.
7. 楊美珠、陳右人. 2000. 茶樹自交不親和性之觀察. 中國園藝 46:83-92.
8. Anderson, M. A., E. C. Cornish, S. L. Mau, E. G. Williams, R. Hoggart, A. Atkinson, H. D. Niall, G. W. Tregear, J. P. Coghlan, R. J. Crawford, and A. E. Clarke. 1986. Cloning of cDNA for a stylar glycoprotein associated with expression of self-incompatibility in *Nicotiana glauca*. *Nature* 321: 38-44
9. Chaubal, R. and B. J. Rege. 1992. Calcium in the synergid cells and other regions of pearl millet ovaries. *Sex Plant Reprod* 5:34-36
10. Cheung, A. Y., H. Wang, and H. M. Wu. 1995. A floral transmitting tissue-specific glycoprotein attracts pollen tubes and stimulates their growth. *Cell* 82:383-393
11. Cresti M, F. Ciampolini, D. L. Mulcahy, and G. Mulcahy. 1985. Ultrastructure of *Nicotiana tabacum* pollen, its germination and early tube formation. *Amer. J. Bot.* 72:719-727
12. De Nettancourt, D. 1997. Incompatibility in angiosperms. *Sex Plant Reprod* 10:185-199
13. Elleman, C. J., C. E. Wilson, R. H. Sarker, and H. G. Dickinson. 1988. Interaction between the pollen tube and stigmatic cell wall following pollination in *Brassica oleracea*. *New Phytol.* 109:111-117
14. Elleman, C. J., and H. G. Dickinson. 1990. The role of the exine coating in pollen-stigma interaction in *Brassica oleracea* L. *New Phytol.* 114:511-518
15. Elleman, C. J., V. Franklin-Tong, and H. G. Dickinson. 1992. Pollination in species with dry stigmas: the nature of the early stigmatic response and the pathway taken by pollen tubes. *New Phytol.* 121:413-424
16. Gray, J. E., B. A. McClure, I. Bonig, M. A. Anderson, and A. E. Clarke. 1991. Action of the style product of the self-incompatibility gene of *Nicotiana glauca* (S-Rnase) in vitro grown pollen tubes. *Plant Cell* 3:271-283
17. Heslop-Harrison, J. 1982. Pollen-stigma interaction and cross-incompatibility in the grasses. *Nature* 215:1358-1364
18. Heslop-Harrison, Y. and K. R. Shivanna. 1977. The receptive surface of angiosperm stigma. *Ann. Bot.* 41: 1233-1258
19. Heslop-Harrison, Y. 1977. The pollen-stigma interaction: pollen-tube penetration in *Crocus*. *Ann. Bot.* 41:913-922
20. Hiratsuka, S., T. Tezuka, and Y. Yamamoto. 1989. Analysis of self-incompatibility reaction in Easter lily by using heat treatment. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 114:505-508
21. Huang, S., H. S. Lee, B. Karunanandaa, and T. H. Kao. 1994. Ribonuclease activity of *Petunia inflata* S proteins is essential for rejection of self-pollen. *Plant Cell*. 6:1021-1028
22. Hulskamp, M., K. Schneitz, and R. E. Pruitt. 1995. Genetic evidence for a long-range activity that directs pollen tube guidance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 7:57-64

23. Jahnen, W., M. P. Batterham, A. E. Clarke, R. L. Mortiz, and R. J. Simpson. 1989. Inhibition of pollen tube growth by isolated s-glycoproteins of *Nicotiana glauca*. *Plant Cell* 1:501-510
24. Kao, T. H. and S. Huang. 1994. Gametophytic self-incompatibility: A mechanism for self/nonself discrimination during sexual reproduction. *Plant Physiol.* 105: 461-466
25. Konishi, S., and H. Yokota. 1980. Promotion of tea pollen tube growth by incubated solution of rapeseed cakes. *Plant Cell Physiol.* 21:255-263
26. Konishi, S. and S. Miyamoto. 1983. Alleviation of aluminum stress and stimulation of tea pollen tube growth by fluorine. *Plant Cell Physiol.* 24:857-862
27. Lee, H. S., S. Huang, and T. H. Kao. 1994. S protein control rejection of incompatible pollen in *Petunia inflata*. *Nature* 367:560-563
28. Marquard, R. D. 1992. Pollen tube growth in *Carya* and temporal influence of pollen deposition on fertilization success in pecan. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 117:328-331
29. Mascarenhas, J. P. 1993. Molecular mechanism of pollen tube growth and differentiation. *Plant Cell* 5: 1303-1314
30. Matsubara, S. Overcoming self-incompatibility in *Raphanus sativus* L. with high temperature. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 105:842-846
31. McClure, B. A. et al. 1989. Style self-incompatibility gene products of *Nicotiana glauca* are ribonucleases. *Nature* 342:955-957
32. Murfett, J., T. L. Atherton, B. Mou, C. S. Gasser, and B. A. McClure. 1994. S-RNase expressed in transgenic *Nicotiana* causes S-allele-specific pollen rejection. *Nature* 367:563-566
33. Nasrallah, J. B. and M. E. Nasrallah. 1993. Pollen-stigma signaling in the sporophytic self-incompatibility response. *Plant Cell* 5:1325-1335
34. Nasrallah, J. B., J. C. Stein, M. K. Kandasamy, M. E. Nasrallah. 1994. Signaling the arrest of pollen tube development in self-incompatible plants. *Science* 266:1505-1508
35. Newbiggin, E., M. A. Anderson., and A. E. Clarke. 1993. Gametophytic self-incompatibility systems. *Plant Cell* 5: 1315-1324
36. Prabha, K., R. Sood, and S. C. Gupta. 1982. High temperature-induce inactivation of sporophytic self-incompatibility in *Ipomoea fistulosa*. *New Phytol.* 92:115-122
37. Reger, B. J. and J. J. Sprague. 1983. Pearl millet and sorghum pollen tube growth in pearl millet gynoecea of different ages. *Crop Sci.* 23: 931-934
38. Reger, B. J., R. Chaubal, and R. Pressey. 1992a. Chemotropic responses by pearl millet pollen tubes. *Sex Plant Reprod* 5:47-56
39. Reger, B. J., R. Pressey, R. and Chaubal. 1992b. In vitro chemotropism of pearl millet pollen tubes to stigma tissue: a response to glucose production in the medium by tissue-bound invertase. *Sex Plant Reprod* 5:201-205
40. Roger, S. 1975. Preliminary observation on pollen tube incompatibility in some tea clones. *Tea Quarterly* 45 : 91-100
41. Sanders, L. C. and E. M. Lord. 1989. Directed movement of latex particles in the gynoecea of three species of flowering plants. *Science* 243:1606-1608
42. Seavey, S. R. and K. S. Bawa. 1986. Late-acting self-incompatibility in angiosperms. *Bot. Rev.* 52:195-219
43. Shimura, T. and K. Osone. 1956. Studies on the fertilization of tea plant. *Jap. J. Breeding.* 6:111-114
44. Singh, A. and T. H. Kao. 1992. Gametophytic self-incompatibility: Biochemical, molecular genetic, and evolutionary aspects. *Int. Rev. Cytol.* 140: 449-483
45. Tomo, N., Y. Fuchinoue, and H. Yamane. 1956. Studies on self-fertilization of tea plant. *Jap. J. Breeding* 5:247-253
46. Wilhelmi, L. K. and D. Preuss. 1997. Blazing new trails-pollen tube guidance in flowering plant. *Plant Physiol.* 113:307-312
47. Wu, H. M., H. Wang, and A. Y. Cheung. 1995. A pollen tube growth stimulatory glycoprotein is deglycosylated by pollen tubes and displays a glycosylation gradient in the flower. *Cell* 182:395-403

#### Abstract:

In order to understand the acting position of self-incompatibility in tea, a pistil organism was dissected and cultured *in vitro*, and the pollens were placed in a row within a distance of one to two mm parallel to the pistil. Observations of the effects the pistil had on the growth of the pollens placed around the self-fertilized pistil organism showed that germination and pollen tube growth were suppressed and the most obvious area of suppression occurred at the base of the stylus and inside the ovary. It seems that there are other reasons for preventing the fruition. Hence the self-incompatibility of tea should be late-acting-self-incompatibility. The cause for the incompatibility may occur in the base of the stylus, in the ovary, or in the ovule.