

潮州凤凰茶种质染色体数目观察

杨东娟,庄东红,马瑞君,林鸿生,林晓玲,杨飞红

(韩山师范学院 生物系,广东 潮州 521041)

摘要:为了解凤凰茶的细胞学特性,以茶树芽尖为试验材料,采用酶解去壁低渗法制片,对潮州凤凰山区14份凤凰水仙茶种质和2份起源于福建省色种茶种质材料的染色体进行观察计数。结果表明,蜜兰香等14份材料的染色体数目为 $2n=2X=30$,属于二倍体;梅占的染色体数目为 $2n=3X=45$,属于三倍体;而八仙以二倍体为主,出现了三倍体个体。

关键词:凤凰茶;染色体数目;制片技术

中图分类号:Q243;S571.1 文献标志码:A 文章编号:1004-3268(2015)06-0043-04

Observation on Chromosome Number of Chaozhou Fenghuang Tea Germplasm

YANG Dongjuan, ZHUANG Donghong, MA Ruijun, LIN Hongsheng, LIN Xiaoling, YANG Feihong

(Biology Department of Hanshan Normal University, Chaozhou 521041, China)

Abstract: In order to study the cytological characteristics of Fenghuang tea, with tea tree shoot tips as experimental material, enzymolysis to remove cell wall and hypotonic methods were used to make slice, and then the chromosome number was observed and counted of 14 Fenghuang tea Shuixian germplasm in Chaozhou and 2 Sezhong germplasm originated from Fujian province. The results showed that the Fenghuang tea was diploid with 30 chromosomes ($2n=2X$), the Meizhan was triploid with 45 chromosomes ($2n=3X$), while the Baxian mostly was diploid, with a small amount of triploid individuals.

Key words: Fenghuang tea; chromosome number; slice production technology

凤凰茶产于我国广东省潮州市凤凰山区,是全国名茶之一,属山茶科(Theaceae)山茶属(*Camellia*)植物^[1]。凤凰茶是青茶品种之一,归于乌龙茶类,属于半发酵茶,是全国六大茶类之一。凤凰茶经过长期栽培选育,优良品种很多,由古代的乌龙和红茵2个品种发展到现在的乌龙、红茵、水仙、黄茶和色种5个品种及近百个株系^[2]。有关凤凰茶品种的分类,依据标准不一,主要是宏观分类。因此,探索新的、稳定的分类方法具有实际意义。核型分析是探讨植物亲缘关系和系统演化的一种有效方法,而获得形态、数目清晰的染色体标本是进行核型分析的基础。20世纪初, Morinaga等^[3]、大野日出每^[4]、志村乔^[5]等研究证明,茶树染色体以 $X=15$ 为基数,一般茶树为二倍体植株,体细胞染色体数为30条,而日本学者 Karasawa^[6]和 Simura^[7]对采自我

国云南的 *Camellia sinensis* var. *macrophylla* 植株的研究结果为 $2n=45$ 和 $2n=60$,发现茶树的整倍性变异。梁月荣等^[8]也发现,武夷水仙是三倍体,毛蟹、上梅州种、政和大白茶和梅占4种是以三倍体细胞为主、嵌合不同比例二倍体和非整倍体细胞的混倍体。迄今未见对潮州凤凰单枞茶染色体数目的研究报道。鉴于此,对潮州凤凰山区14份凤凰水仙茶种质和2份起源于福建省色种茶种质材料进行染色体数目研究,以期为凤凰茶的遗传育种及品种分类理论提供细胞学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

凤凰茶种质材料于2012年和2013年春秋两季分别采于潮州铁铺中华名茶园(z)以及凤凰山区的

收稿日期:2014-12-10

基金项目:广东省科技计划项目(2011B020304012);广东省高等学校科技创新重点项目(cxzd1131)

作者简介:杨东娟(1978-),女,宁夏吴忠人,高级实验师,硕士,主要从事细胞与分子生物学研究。

E-mail:dongjuan_1235@126.com

南馥茶园(n)、鹏龙茶园(p)、乌岽李仔坪村(w)、天池茶园(t)栽种的多年生茶树,5个采集地点海拔分别为181、338、600、1 150、1 392 m。凤凰茶名称等信息见表1。

表 1 16 个凤凰茶种质的信息和来源

序号	种质材料名称	种质分类	香型	采集地点
1	蜜兰香	水仙	蜜兰香	z,n,p,w,t
2	八仙	水仙	芝兰花香	z,w,t,n
3	大沙仁	水仙	(未确定)	z
4	大乌叶	水仙	黄枝香	z,n,p,t
5	贡香	水仙	(未确定)	z
6	红心沙仁	水仙	(未确定)	z,w
7	黄枝	色种	(未确定)	z
8	黄橘香	水仙	(未确定)	z
9	锯朵仔	水仙	杏仁香	z,n,p,w
10	梅占	色种	(未确定)	z
11	老仙翁	水仙	(未确定)	p
12	白叶	水仙	蜜兰香	p,w
13	桂花香	水仙	桂花香	p
14	宋种	水仙	玉兰香	n,t
15	玉兰香	水仙	玉兰香	n,w
16	柚花香	水仙	柚花香	n,w

1.2 方法

于上午9:00—10:30剥取生长良好的茶树幼嫩芽尖放入盛有0.002%8-羟基喹啉的玻璃容器内,4℃预处理4~5 h,蒸馏水清洗后加入新配置的固定液(甲醇:冰乙酸=3:1)固定4 h以上,分别切取

生长点部分及叶原基置于载玻片上,然后按Zhuang等^[9]和李懋学等^[10]的酶解方法制片:用4%纤维素酶和1%果胶酶的混合液酶解2.5 h左右,低渗10 min后用镊子蘸取固定液后迅速捣碎使细胞分散。制好的片子在酒精灯上微微加热烘干,过夜晾干后用1:10的Giemsa染液染色25 min。用OLYMPUS CX31显微镜观察,拍照。每个品种选取50个染色体分散性良好的中期分裂相,进行染色体计数,以确定其染色体数目和倍性。

2 结果与分析

观察结果显示,潮州凤凰山区14份凤凰水仙茶种质中,蜜兰香、大沙仁、大乌叶、贡香、红心沙仁、黄橘香、锯朵仔、老仙翁、白叶、桂花香、宋种、玉兰香和柚花香13个凤凰茶种质染色体数目均为30条,由此证明这13个茶树品种均为二倍体($2n=2X=30$);中华名茶园、鹏龙茶园、乌岽李仔坪村和天池茶园采集的八仙种质的染色体数目是30条,为二倍体,而南馥茶园采集的八仙种质的染色体数目是45条,为三倍体,属首次发现。起源于福建省色种茶种质的黄枝染色体为30条,属二倍体;而梅占染色体为45条($2n=3X=45$),为三倍体(表2)。16个茶种质的体细胞染色体如图1所示。

表 2 16 个凤凰茶种质染色体数目及倍性

序号	种质材料名称	染色体数目/倍性	采集地	序号	种质材料名称	染色体数目/倍性	采集地
1	蜜兰香	$2n=2X=30$ /二倍体	z,n,p,w,t	9	锯朵仔	$2n=2X=30$ /二倍体	z,n,p,w
2	八仙	$2n=2X=30$ /二倍体	z,w,t	10	梅占	$2n=3X=45$ /三倍体	z
		$2n=3X=45$ /三倍体	n	11	老仙翁	$2n=2X=30$ /二倍体	p
3	大沙仁	$2n=2X=30$ /二倍体	z	12	白叶	$2n=2X=30$ /二倍体	p,w
4	大乌叶	$2n=2X=30$ /二倍体	z,n,p,t	13	桂花香	$2n=2X=30$ /二倍体	p
5	贡香	$2n=2X=30$ /二倍体	z	14	宋种	$2n=2X=30$ /二倍体	n,t
6	红心沙仁	$2n=2X=30$ /二倍体	z,w	15	玉兰香	$2n=2X=30$ /二倍体	n,w
7	黄枝	$2n=2X=30$ /二倍体	z	16	柚花香	$2n=2X=30$ /二倍体	n,w
8	黄橘香	$2n=2X=30$ /二倍体	z				

3 结论与讨论

选取具有旺盛分裂活性的材料是获得高质量制片的关键。一般来说,幼嫩根尖是最常用的材料,以往关于茶树染色体的报道,均采用根尖制片^[11-13]。凤凰茶树种质,有的是嫁接苗木,有的是多年生老树,不能成为鲜嫩根尖的供体,因而试验中选择芽尖为材料进行制片。茶树嫩芽虽也处于活跃分裂期,但采用传统的压片法,不易使其细胞分散平铺,难以获得高质量制片。经过前期的试验探索,本研究成功建立了以茶树芽尖为材料的酶解去壁制片方法,主要技术流程是:在上午

9:00—10:30采集即将开叶的饱满嫩芽芽尖,立即进行前处理使更多细胞停留在有丝分裂中期,再经固定、酶解、敲片,使细胞散开平铺于载玻片上。应用该技术方法制片,不同茶园、不同年份和季节采集的种质材料都获得了分散良好、清晰可数的染色体图像。从图中能清楚地观察到棒状染色体、L形染色体、V形染色体等各种染色体形态以及部分染色体中存在的随体,其中红心沙仁、桂花香、宋种和柚花香等染色体着丝点非常清晰,为核型分析打下了良好基础。目前,韩山师范学院细胞工程实验室正进一步研究凤凰茶种质核型方面的特点,其结果将另文报道。

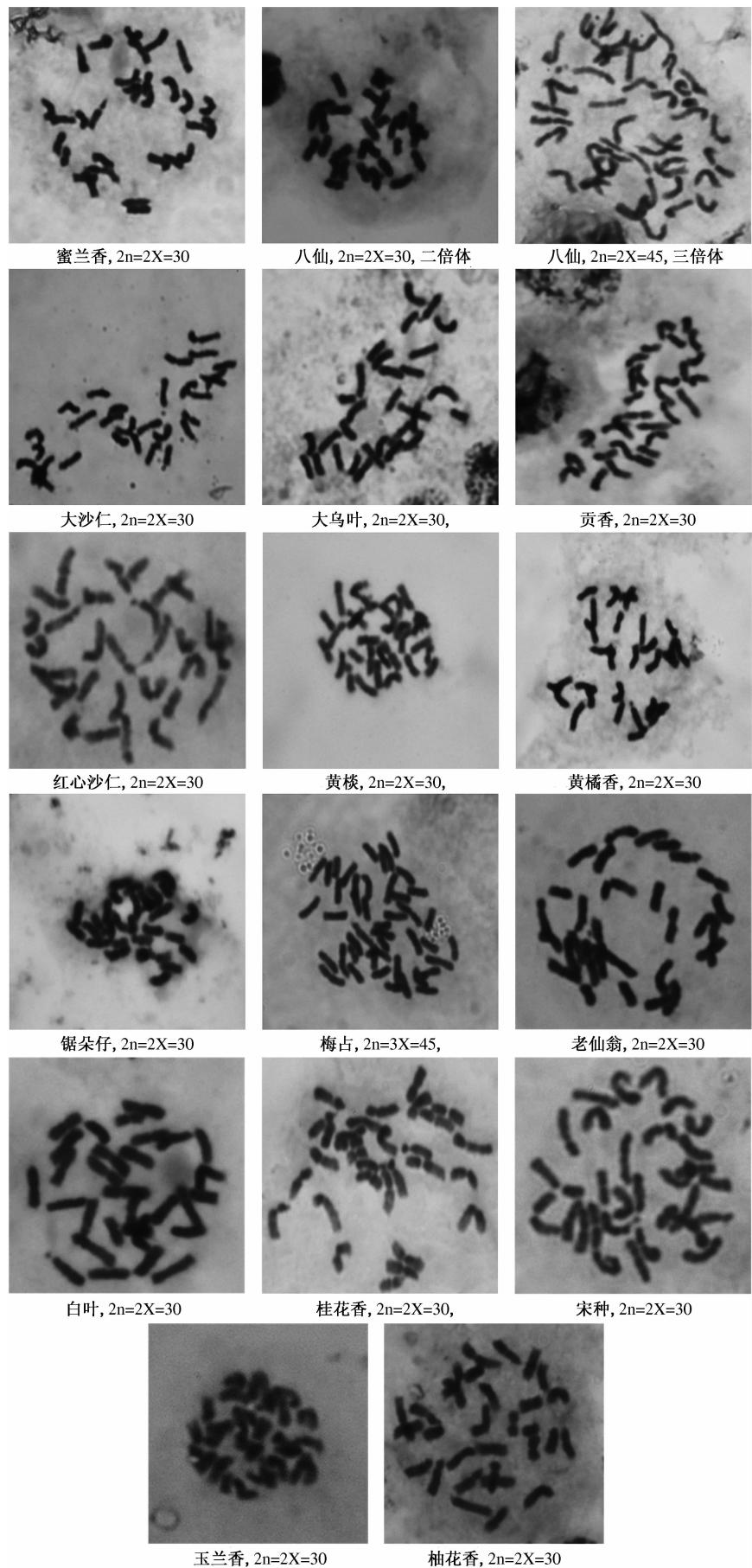


图 1 16 个凤凰茶种质的中期染色体

本研究观察确定了凤凰茶不同香型种质的染色体数目和倍性。蜜兰香等 14 个材料均为二倍体 ($2n = 2X = 30$)，说明凤凰茶在长期的栽培选育过程中虽然繁衍出众多品种和株系，但其中大部分并未发生染色体数目及倍性的变异，唯有八仙在南馥茶园出现了三倍体 ($2n = 3X = 45$)。这是首次报道的本地起源的凤凰茶三倍体。本次试验也确定了梅占为三倍体，与梁月荣等^[8]报道的结果一致，该种质归属色种茶，系从福建引进的无性繁殖株系^[14]，具有三倍体的主要特征——不育性^[8]。三倍体一般产生于减数分裂异常所形成的未减数配子 ($n = 2X$) 和正常配子 ($n = X$) 的结合，而气候变化如低温、霜冻等是减数分裂异常和未减数配子形成的诱因^[15]。且三倍体植物具有光合同化能力强、抗逆性强、生殖器官生长缓慢等特征特性^[13]。凤凰茶的三倍体八仙种质是否由上述途径产生以及该三倍体的形态特征和育性等有待进一步研究查明。

参考文献：

- [1] 李镇魁, 詹潮安. 潮汕中草药 [M]. 广东: 科技出版社, 2010.
- [2] 刘少群, 陈丽佳, 张巨保, 等. 广东潮州凤凰茶的发展历史及品种体系成因 [J]. 农业考古, 2010 (2): 207-211.
- [3] Morinaga T, Fukushima E, Kano T, et al. Chromosome numbers of cultivated plants II [J]. Bot Mag, 1929, 43: 589-594.
- [4] 大野日出每. 茶树の染色体 [J]. 日本作物学会纪事, 1932 (7): 319-321.
- [5] 志村乔. 茶树の细胞学的研究(豫报) [J]. 日本作物学会纪事, 1935, 7 (2): 121-128.
- [6] Karasawa K. On triploid tea [J]. Bot Mag, 1932, 46: 458-460.
- [7] Simura T. Studio prilateplantoj [J]. Prpc Crop Sic Soc Japan, 1935, 7: 121-133.
- [8] 梁月荣, 刘祖生. 5 个茶树无性系品种染色体数目和核型的研究 [J]. 茶叶科学, 1988, 8 (2): 37-41.
- [9] Zhuang D H, Kitajima A, Ishida M, et al. Chromosome numbers of *Diospyros kaki* cultivars [J]. J Jap Soc Hort Sci, 1990, 59 (2): 289-297.
- [10] 李懋学, 张赞平. 作物染色体及其技术研究 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 5-6.
- [11] 周才琼, 梁国鲁. 茶树染色体技术研究 [J]. 茶叶科学, 1988, 18 (1): 28-34.
- [12] 李光涛, 梁涛, 张梅莉. 两个茶树品种的染色体数目和核型研究 [J]. 热带作物学报, 1991, 12 (1): 61-64.
- [13] 李斌, 陈国本, 贺利雄, 等. 两广茶区 10 个茶树品种染色体数目研究 [J]. 广西植物, 1999, 19 (3): 233-235.
- [14] 黄柏梓. 中国凤凰茶 [M]. 广东: 凤凰茶叶专业协会, 2003: 65.
- [15] 庄東紅, 北島宣, 石田雅士. カキ品種‘平核無’の原木及び後代の染色体数について [J]. 園藝学会雑誌, 1990, 59 (3): 479-485.