

云南大叶茶细胞学研究

李光涛

(云南茶叶研究所)

摘要 本文采用去壁低渗法研究了云南大叶茶的染色体核型, 间期核形态和多核现象。结果表明大多数染色体是中部着丝粒染色体, 5对是近中部着丝粒染色体, 第7和12对染色体中各有1条具随体染色体。根据Levan等的分类原则, 其核型为 $2n=20m+8sm+2sm$ (SAT), 属于Stebbins核型分类的“2A”型, 同时亦发现有“2B”型的核型。云南大叶茶间期核型为浓密分散型和复杂染色中央微粒型两种; 并首次发现茶树中的多核现象, 在所观察的1250个细胞中有6个是具双核细胞(占0.48%), 有2个是具三核细胞占(0.16%)。另外, 本文还对部份山茶属植物的核型进行了讨论。从核型上可以看出: (1)山茶属植物在进化上属于较原始的种系; (2)山茶属植物核型的进化基本符合Stebbins提出的植物界核型进化的规律, 即对称 \rightarrow 不对称; (3)山茶属植物的核型在一定范围内变异甚大, 这种变异没有一定的规律性。这些观点与张宏达提出的山茶属植物的分类系统基本吻合。带随体的染色体数目在山茶属植物核型的进化上没有什么明显的变化规律。

关键词 云南大叶茶; 核型; 间期核形态; 多核现象; 山茶属; 核型进化。

山茶属植物大部分产于我国, 目前已发现250种, 其中近90%集中分布于我国南部和东南部, 其余20多种扩散到邻近的热带亚热带地区。山茶属植物具有高度的经济利用价值, 长期以来受到各方面的重视。

山茶属植物细胞学研究自从Morinaga等^[16](1929)首次发现山茶属植物(*Camellia sinensis*)配子的染色体数目为 $n=15$; Morinaga和Fukushima^[17](1931)首次发现*Camellia japonica*的孢子体染色体数目为 $2n=30$; 以及Karasawa^[11](1932)首次发现山茶属植物(*Camellia sinensis*)多倍体 $2n=45$ 以来, 至今已有五十多年的历史。目前在已发现的250种(此外还有1个亚种, 20个变种, 1个变型)山茶属植物中, 进行过染色体计数者有45种, 作过核型分析者仅有19种^[19, 29, 49, 79, 89, 109, 129, 13], 而大部分着重于花粉母细胞减数分裂染色体和体细胞有丝分裂中期染色体数目和形态的研究, 对体细胞分裂间期核形态的研究还未见报道, 本文对云南大叶茶的核型、间期核形态和茎尖细胞的多核现象作了研究。

材料和方 法

研究材料为云南大叶茶*Camellia assamica* (Mast.) Chang茎尖, 材料取自云南茶叶研究所栽培茶园。

核型标本制备: 茶树茎尖 \rightarrow 前处理(0.2%秋水仙, 3小时) \rightarrow 前低渗(0.075M氯

本文摘要曾发表于1987年“茶——品质——人类健康”国际学术讨论会论文摘要集 P. 16

化钾, 30分)→酶解(2.5%混合酶液, 23℃, 3小时)→后低渗(蒸馏水, 30分)→固定(甲醇:冰乙酸, 3:1, 30分)→制片→染色(Giemsa色素, 30:1, pH7.2, 30分)→水洗, 空气干燥。

染色体类型按 Levan 等^[15]的方法进行分类; 核型不对称类型按 Stebbins^[18]的方法, 即“1A”为最对称, “4C”最不对称; 核型不对称系数(As. K% = 长臂总长/染色体组总长×100)按 Arano^[9]的方法。

结果和讨论

一、云南大叶茶的核型, 陈瑞阳和作者等^[4](1983)曾作过简要报道为 $2n = 20m + 6sm + 4sm(SAT)$ 。

本文分析结果表明, 云南大叶茶体细胞染色体数目为 $2n = 30$, 为二倍体。其中有10对中部着丝粒染色体, 分别为第1、2、3、6、8、9、11、13、14和15对染色体; 有5对近中部着丝粒染色体, 分别为第4、5、7、10和12对; 第12对染色体中有1条染色体具随体, 第7对中的1条染色体具有显而易见的随体丢失的痕迹(可能是制片之故, 使随体丢失)。作者将它视为随体染色体。制片中没有发现端部和近端着丝粒染色体。按照 Levan 等^[15]的分类原则, 核型为 $2n = 20m + 8sm + 2sm(SAT)$ 。核型中染色体臂比大于2:1的染色体占0.3, 最长染色体与最短染色体之比为1.76:1, 故属于 Stebbins 核型分类标准^[18]的“2A”型。核型不对称系数 As. K% = 58.76。此外, 我们发现云南大叶茶核型有微小的变异, 在相同的核型公式中, 有“2B”型的核型, 不对称系数为60.04(图1)。共测定9个细胞, 6个为“2A”型, 3个为“2B”型。

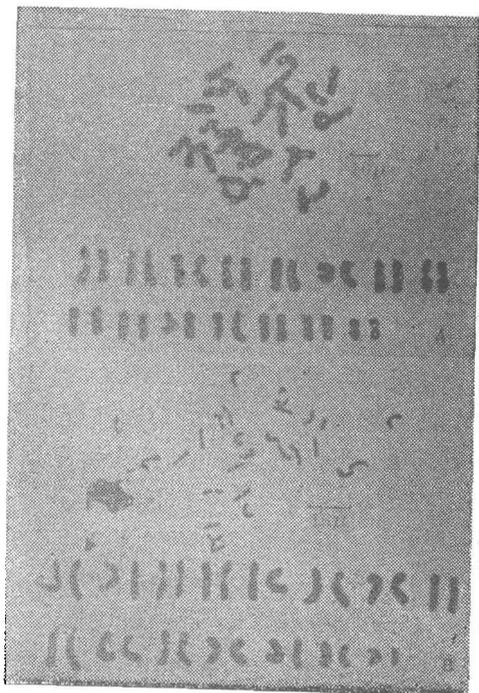


图1 云南大叶茶染色体核型

A: “2A”型; B: “2B”型

在所观察的核型中, 不同程度地存在杂合性, 即同源染色体间在形态上和大小上存在微小的差异, 这与前人的结果一致^[13]。这可能是因为茶树是多年生异花授粉植物, 长期的自然杂交, 渐渗杂交和染色体变异等所致。在已报道的山茶属植物核型中, 都或多或少地存在杂合性, 核型的杂合性在山茶属植物中可能广泛存在。

二、体细胞间期核形态: 多年来的研究证实, 染色体在间期核中保持其个体性与连续性。许多植物的间期核中看到有染色较深的块状或粒状的染色中心(chromocenter)。在多倍体系列中染色中心数目与染色体倍数呈正相关。黑麦, 玉米, 洋葱和蚕豆^[5]及红山茶(*C. japonica*)^[14]的分生组织间期核经 Giemsa 显带后, 可看到几个大染色中心。据研究大染色中心代表端粒异染色质区, 小染色中心代表着丝粒或中间异染色质区, 在间期不发生螺旋消失而保持持久浓缩状态。大小染色中心通常有规律地分布于间期核的两半边, 这意味着分裂后期的染色体基本姿态——着丝点朝向纺锤体

表 1 云南大叶茶染色体相对长度、臂比和类型

染色体编号	相对长度(%)	臂 比	类 型
1	8.27	1.41	m
2	7.95	1.47	m
3	7.52	1.39	m
4	7.41	1.76	sm
5	7.19	1.73	sm
6	6.70	1.19	m
7	6.67	1.95	sm 1条SAT*
8	6.63	1.19	m
9	6.51	1.40	m
10	6.50	2.05	sm
11	6.13	1.12	m
12	6.12	1.73	sm 1条SAT
13	6.10	1.17	m
14	5.58	1.08	m
15	4.70	1.08	m

随体长度不计算在内

* 作者发现有显而易见的随体丢失的痕迹, 作者将它视为随体染色体

极, 端粒朝向赤道板——依然维持到间期^[3]。上述资料表明染色体在整个细胞周期中基本上保持着一定的排列方向, 这对研究间期核的结构与染色体的行为是很有意义的。

有些植物如黄瓜和甘薯用去壁低渗法制备的标本, 不经任何分带处理, 在间期核内仍显示有染色中心。本文采用去壁低渗法制备云南大叶茶标本, 未经任何分带处理, 清晰地看到有染色中心。

间期核的形态, Tschermak-Woess^[10] (1963)根据对多种植物分裂间期的核进行观察结果, 按照染色微粒的大小、数量与分布, 将高等植物分裂间期染色体形态大致分为7种类型, 即浓密分散型(Densely diffuse type); 单纯染色中央微粒型(Simple chromocenter type); 渐变型(Gradient type); 复杂染色中央微粒型(Complex chromocenter type); 棒状前染色体型(Rod-shaped prochromosome type); 球状前染色体型(Round prochromosome type)和稀淡分散型(Sparsely diffuse type)。依据上述分类, 云南大叶茶体细胞间期核型为复杂染色中央微粒型和浓密分散型(见图版2)。在复杂染色中央微粒型核中可观察到10—30个大染色中心。

三、云南大叶茶的多核现象: 细胞核的数目, 一般情况下通常一个细胞中含有一个核。但也有例外, 在某些藻类中, 一个细胞中有几个核, 甚至几十个。在高等植物毡绒层细胞中也有2—4个核。周世琦(1982)在棉花根尖细胞中发现有双核和三核细胞, 分别占所观察细胞总数的9.2%和0.8%。

我们首次在云南大叶茶茎尖细胞中发现多核现象, 共观察了5张片子, 1250个细胞, 具有单核细胞1243个, 占99.44%; 具双核细胞6个, 占0.48%; 具三核细胞2个, 占0.16% (见图2)。

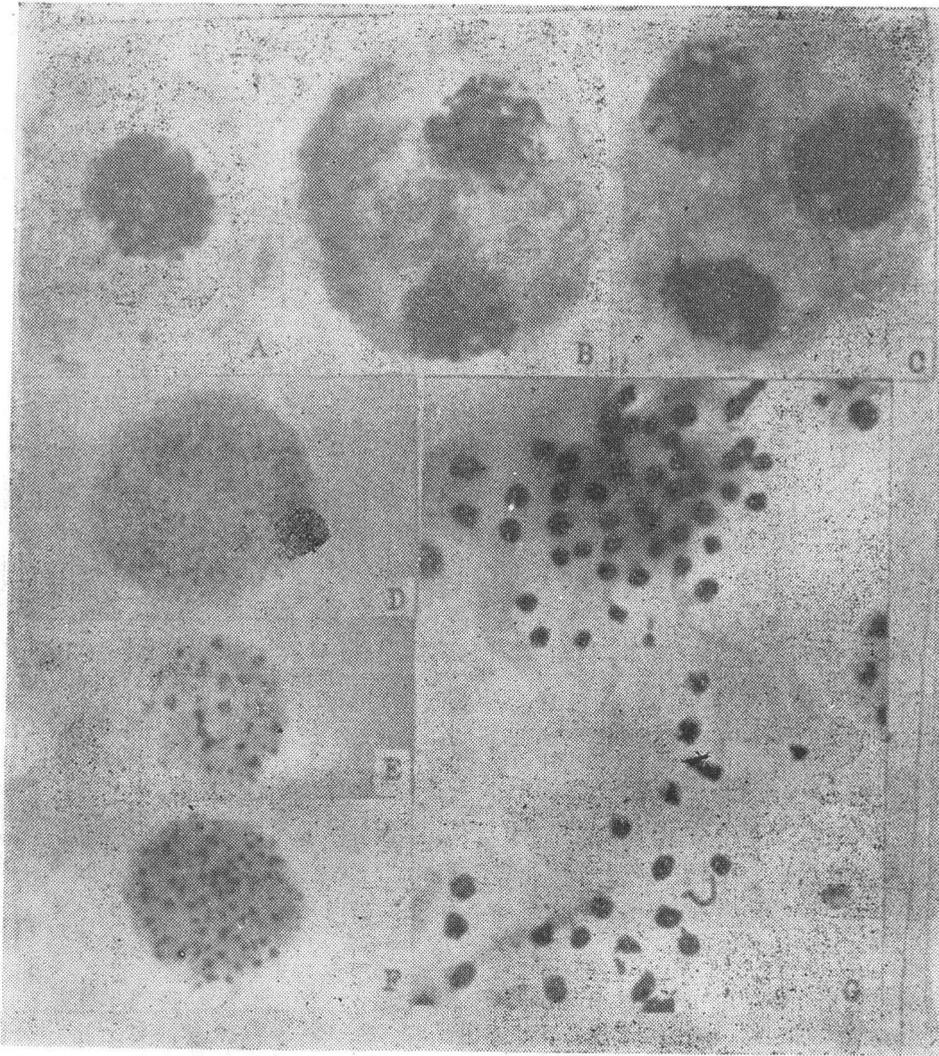


图2、A: 单核, $\times 1310$; B: 双核, $\times 1240$; C: 三核, $\times 1220$; D—F: 间期核,
D: 浓密分散型, $\times 1650$; E、F: 复杂染色中央微粒型, $\times 1400$; G: 去壁低渗法标本,
示裸露的固缩核, $\times 300$ 。

这些多核细胞可能是细胞融合的结果,也可能是茎尖细胞无丝分裂或质核分裂不均衡所引起,这对细胞学和遗传学的研究可能是有参考意义的。

四、山茶属植物的核型:核型是生物在染色体水平上的表型,是再现性很高的细胞遗传学信息。Stebbins 分析了大量的核型研究资料,指出整个植物界核型进化的趋势,是由对称向不对称方向发展的。系统演化上处于较古老或较原始的植物,大多具有较对称的核型,而极不对称的核型则主要存在于进化较高级的单子叶植物中。Stebbins 根据核型中染色体的臂比值和长度比值的大小,以及它们所占百分比的多少将生物界核型分为12种类型,即1A至4A;1B至4B;1C至4C。1A为最对称,4C为最不对称。

12种核型的类型中,在植物界迄今未发现1B和1C类型,其余类型均有。已报道的山茶属植物的核型,均为“2A”和“2B”型(表2)。从核型看,山茶属植物在进化上属

表 2 部份山茶属 *Camellia* 植物的核型^[1, 2, 4, 7, 8, 10, 12, 13]

植 物 名 称	核 型 公 式	核型类型
油茶 <i>C. oleifera</i>	22m+2m(SAT)+4sm+2st	2A
红皮糙果茶 <i>C. crapnelliana</i>	20m+8sm+2st	2A
落瓣短柱茶 <i>C. kissii</i>	22m+4sm+4st	2A
多齿红山茶 <i>C. po'yodonta</i>	18m+6m(SAT)+4sm+2st	2A
南山茶 <i>C. semiserrata</i>	20m+2m(SAT)+6sm+2st	2B
百花南山茶 <i>C. semiserrata</i> var. <i>albiflora</i>	19m+1m(SAT)+8sm+1st+1st(SAT)	2B
浙江红山茶 <i>C. chekiangoleosa</i>	24m+4sm+2sm(SAT)	2A
金花茶 <i>C. chrysantha</i>	22m+6sm+2sm(SAT)	2A
凹脉金花茶 <i>C. impressinervis</i>	18m+10sm+2sm(SAT)	
显脉金花茶 <i>C. euphlebica</i>	18m+10sm+2sm(SAT)	
大理茶 <i>C. taliensis</i>	10m+18sm+2sm(SAT)	2A
滇缅茶 <i>C. irrawadiensis</i>	18m+12sm	2B
云南大叶茶 <i>C. assamica</i>	20m+8sm+2sm(SAT)	2A, 2B
南糯山“茶树王” “King of the tea plant” in Nannuo Mountain	22m+6sm+2sm(SAT)	2A
小叶茶 <i>C. sinensis</i>	15m+10sm+4sm(SAT)+1st	2A

于较原始的种系,这与张宏达的观点一致^[6]。山茶属植物核型进化的总趋势与张宏达提出的分类系统基本一致,基本符合 2A→2B, 对称→不对称的进化规律。但也有例外,在茶组植物中被认为较栽培茶原始的滇缅茶,以及云南大叶种出现 2B 型核型,较之特化的栽培小叶种则为 2A 型核型,这一现象与 Stebbins 提出的植物核型进化的普遍规律不相吻合。此外,可以看出山茶属植物核型在小范围内变异甚大,这也与张宏达“属内分群很复杂”的观点相吻合^[6],这种变异没有一定的规律性,这给山茶属植物核型研究带来了一定的困难,与前人的研究结果是一致的^[4]。

带随体的染色体数目在山茶属植物核型的进化上没有什么明显的变化规律。Kondo, K.^[13]详细地研究了栽培小叶种的核型,发现带随体的染色体数目在不同的细胞中有一定的变异,并指出随体染色体对茶树来说没有分类学意义。黄少甫等^[7]指出南山茶细胞中随体染色体数目有一定的变异,其范围在 1—4 条之间,但在绝大多数细胞中都是明显的 2 条。云南大叶种随体染色体数目变异范围在 2—4 条,并似乎有野化类型为 2 条,栽培类型为 4 条的现象。在分类学上,随体通常只作为一种附加特征来鉴别。各种生物的核型中,随体染色体数目有一定的变化,可能是因为有些核仁合并了,同样与核仁形成有关的染色体可能并不具有随体。另外,同源染色体的随体大小可以不同。一个种的核仁形成中心可能对另一个种是显性,所以在杂种中,较弱染色体组可能不显示出亲本中存在的随体。茶树是异花授粉植物,长期自然杂交,故形成了核型的多样化。

参 考 文 献

- [1] 卢天玲等, 1986: 宛田红花油茶染色体核型研究. 广西植物, 6(1—2): 111—115
- [2] 卢天玲等, 1986: 红皮糙果茶的体细胞染色体形态. 云南植物研究, 8(3): 319—321
- [3] 杨弘远, 1978: 植物染色体显带技术及其在遗传学与细胞学中的应用. 武汉大学学报, (3): 110—118
- [4] 陈瑞阳等, 1983: 中国植物学会五十周年年会学术报告及论文摘要汇编, P. 531
- [5] 陈瑞阳等, 1979: 植物染色体 Giemsa 分带技术的研究. 植物学报, 21(1): 11—18
- [6] 张宏达, 1981: 山茶属植物的系统研究. 中山大学学报, (自然科学)论丛(1)
- [7] 黄少甫等, 1984: 南山茶染色体核型的分析. 广西植物, 4(1): 9—12
- [8] 黄少甫等, 1985: 落瓣油茶染色体核型的分析. 广西植物, 5(4): 369—372
- [9] Arano, H., 1963: Cytological studies in Subfamily Carduoidae of Japan IX. The Karyotype analysis and Phylogenic Consideration on *Pertya* and *Ainsliaea* (2), Bot. Mag. Tokyo, 76: 32—39
- [10] Fukushima, E., 1966: Cytogenetic studies in *Camellia* 1. Chromosome survey in some *Camellia* species. Japan. J. Hort., 35(4): 413—421
- [11] Karasawa, K., 1932: On triploid *Thea*, Bot. Mag. Tokyo, 46: 458—460
- [12] Kondo, K., 1977: Chromosome numbers in the genus *Camellia*. Biotropica, 9: 86—94
- [13] Kondo, K., 1979: Cytological studies in cultivated species of *Camellia* V. Intraspecific variation of karyotypes in two species of sect. *Thea*, Japan. J. Breed., 29(3): 205—210
- [14] Kondo, K., et al., 1981: Cytological studies in cultivated species of *Camellia* VI. Giemsa C-banded karyotypes of seven accessions of *Camellia japonica* L. sensu lato Japan. J. Breed., 31(1): 26—34
- [15] Levan, A., et al., 1964: Nomenclature for centromeric position on chromosomes, Hereditas, 52(2): 201—220
- [16] Morinaga, T., et al., 1929: Chromosome number of cultivated plant II. Bot. Mag. Tokyo, 43: 589—594
- [17] Morinaga, T., et al., 1931: Chromosome number of cultivated plant III. Bot. Mag. Tokyo, 45: 140—145
- [18] Stebbins, G. L., 1971: Chromosomal evolution in higher plant, Edward. arnold, London
- [19] Tschermak—Woess, E., 1963: Strukturtypen der ruhekerne von pflanzen und tieren, Protoplasmatologia, V. P. 158, Springer—Verlag, Vienna

CYTOLOGICAL STUDIES OF CAMELLIA ASSAMICA

Li Guang-tao

(Yunnan Institute of Tea)

Abstract In this paper, the karyotype, interphase morphokaryon and polykaryon in stem tip cells of *Camellia assamica* (Mast.) Chang have been studied, by wall degradation, hypotonic treatment and flame-drying method and stain with Giemsa. The somatic complement showed that the 1, 2, 3, 6, 8, 9, 11, 13, 14 and 15th chromosomes are median centromeres, the 4, 5, 7, 10 and 12th chromosomes are submedian centromeres, and one of the 7 and 12th chromosome respective are sat-chromosome. According to the classification systems given by Levan et al., the karyotype formula is therefore $2n=20m+8sm+2sm$ (SAT). Of the 9 cells examined in this paper, 6 cells are "2A" type of Stebbins karyotypic symmetry, and 3 cells are "2B" type. The interphase morphokaryon of the tea plant are complex chromocenter type and densely diffuse type. Furthermore, the polykaryon on the tea plant was observed for the first time, among 1250 cells of the tea plant was examined, 6 are cells with two nuclei (0.48% two nuclei) and 2 are cells with three nuclei (0.16% three nuclei). In addition, the karyotypes of some *Camellia* plants were also discussed, it can be simplified as follows: (1) The genus *Camellia* is more original race in their evolution; (2) Karyotypic evolution of the genus *Camellia* basically agreeing with that concluded by Stebbins, i. e., karyotype evolution from symmetry to asymmetry; (3) The karyotypes of the genus *Camellia* are obviously different to a certain degree, which is irregularity. These results basically tallied with viewpoint in "A Taxonomy of the Genus *Camellia*" of Chang Hung-ta. Variation of the sat-chromosome number were obviously irregularity in the karyotype evolution of the genus *Camellia*.

Key words *Camellia assamica*; Karyotype; Interphase morphokaryon; polykaryon; Genus *Camellia*; Karyotypic evolution