

自然突变株系——大叶龙茶核型 及酯酶同工酶研究

徐玲玲¹, 方 亮¹, 廖 亮¹, 樊启水²

(1. 江西九江师专生物研究所, 江西九江 332000; 2. 江西修水茶叶研究所, 江西修水 332400)

摘 要: 对自然突变株系——大叶龙茶进行了核型研究, 并对 7 个茶叶品种进行了酯酶同工酶研究。大叶龙的核型公式为 $2n=2x=30=18m+10sm(2SAT)+2st(2SAT)$, 酯酶同工酶酶谱能反映茶叶品种的区域性特征。大叶龙茶酯酶酶谱发生变异, 即突变体(大叶龙)比母株(宁洲群体种)少一条 C_5 酶带。

关键词: 茶树; 自然突变株系; 核型; 酯酶同工酶

中图分类号: Q942.4; Q946.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2003)06-0558-03

Study on karyotypes and isozyme of esterase in the natural mutant train ——Dayelongcha

XU Ling-ling¹, FANG Liang¹, LIAO Liang¹, FAN Qi-shui²

(1. Institute of Biology, Jiujiang Teachers' College, Jiujiang 332000, China;

2. Xiushui Tea Research Institute, Xiushui 332400, China)

Abstract: In the present paper, karyological study was carried out in natural mutant train——Dayelongcha (*Camellia sinensis*) and the esterase isozymes of 7 tea varieties were studied by means of polyacrylamide electrophoresis. The karyotype formula of Dayelongcha is $2n=2x=30=18m+10sm(2SAT)+2st(2SAT)$. The zymograms of EST isozyme can show the characteristic of regionalism in tea varieties. The variation of EST isozyme of Dayelongcha was discovered. Dayelongcha has one C_5 enzyme band fewer than maternal plant (Ningzhou population).

Key words: *Camellia sinensis*; natural mutant train; karyotype; EST isozymes

王柏龄等(1992)发现的无蕾大叶龙茶是来源于修水茶科所宁洲群体品种茶园中 1 株自然突变体形成的无性繁殖株系。经过十年的扦插和栽培观察表明, 其性状稳定, 变异表现在叶大, 约为母体的 2 倍, 叶上端背卷呈 360° , 形似龙尾, 叶片周缘及上部极薄, 基部和中部肥厚, 是制乌龙茶的上等原料, 故得名“大叶龙”茶。而且这一自然突变体经过近十年栽培比较, 无论是 1 年生或 9 年生的扦插茶株, 或是经不同地域移栽实验, 或进行正反嫁接实验, 均证明母

株小叶、有蕾, 而突变体——大叶龙均是叶大并未发现有花蕾形成, 说明这一自然突变是有一定的遗传物质基础。众所周知, 无蕾可提供茶叶一个优质高产的生理基础, 无蕾大叶龙茶无疑是一个茶树高产优质育种中极其罕见的种质资源。由于其母体尚在, 这对茶树育种研究及植物发育研究均有重要意义。有必要对大叶龙茶的变异机制进行全面的深入研究, 本文是这一工作中的核型及酯酶同工酶部分结果的初报。

收稿日期: 2002-06-21 修订日期: 2002-09-14

基金项目: 江西省农业发展基金项目; 江西省教育厅科技项目。

作者简介: 徐玲玲(1963-), 女, 江西湖口人, 副教授, 主要从事遗传学及分子生物学研究。

1 材料及方法

1.1 材料

核型及酯酶同工酶分析的材料于 2000 年 6 月 1 日~5 日采自修水茶科所品种园, 大叶龙和宁洲群体品种是来自自然突变体(大叶龙)及突变体母株(宁洲群体品种)的扦插后代。

1.2 核型实验方法

取幼嫩根尖用 0.1% 或 0.5% 秋水仙素溶液预处理 3~4 h, 用卡诺氏固定液固定 2~24 h, 用 1 mol/L 盐酸 60 °C 下水解 10 min, 然后用改良品红染色压片。核型分析采用李懋学等(1985)的标准。

1.3 同工酶实验方法

取幼叶按 1:2 比例加入提取缓冲液。提取缓冲液为 Tris-HCl(pH7.5), 根据 Soltis 等(1983)配方稍作变动, 即 0.1 M Tris-HCl(pH7.5) 50 mL, 加 0.001 M(0.02 g) EDTA, 0.01 M(0.038 g) 氯化钾, 0.01 M(0.1 g) 氯化镁和 5% 蔗糖, 提取前再加 0.1%(V/V) 巯基乙醇和 8%(W/V) 聚乙烯吡咯烷酮(PVP)。冰浴研磨成匀浆, 经 6 000 r/min, 离心 20 min 取上清液再离心 1 次, 上清液保存于冰箱待用。采用垂直平板聚丙烯酰胺凝胶电泳, 分离胶浓度 8%, 浓缩胶浓度 3.8%, 凝胶厚度 0.5 mm。缓冲液分别为 pH8.9 和 pH6.5 的 Tris-HCl; 点样后上面覆盖一层 40% 蔗糖液, 在 4 °C 的冰箱内电泳。酯酶同工酶染色液配制如下: 20 mg α -萘酯, 40 mg β -萘酯, 40 mg 坚牢兰 RR 盐, 先溶于 2 mL 丙酮溶液中, 再溶于 60 mL 0.1 M pH6.4 磷酸缓冲液, 过滤后常温下染色, 直至酶带清晰为止。除去染色液, 用 7% 的醋酸溶液固定 5 min, 再用自来水冲洗几次, 制成干胶。

2 结果与讨论

2.1 核型分析

大叶龙茶的染色体参数见表 1。宁洲群体种和大叶龙中期染色体形态见图 1-A, B, 大叶龙核型图见图 1-C。突变体(大叶龙)和母株(宁洲群体种)的染色体数目均是 $2n=30$, 大叶及无蕾的性状并不是染色体加倍所致。大叶龙的核型公式为 $2n=2x=30=18m+10sm(2SAT)+2st(2SAT)$, 核型类型为 2A, 平均臂比为 1.72。从核型特征来看与李斌(1986)报道的 $2n=2x=30=18m+6sm+4sm(SAT)+2st(SAT)$

结果相似, 只是随体数目的差异。

2.2 酯酶同工酶谱分析

在供试的 7 个品种中共有 10 条酶带(图 2)。可分为 A、B、C 三个区, A 区迁移率范围为 0.0~0.3, 仅有 $a(0.18)$ 1 条酶带; B 区迁移率范围为 0.3~0.52, 有 $b_1(0.43)$ 、 $b_2(0.47)$ 和 $b_3(0.50)$ 3 条酶带; C 区迁移率范围(0.52~0.80), 有 $C_1(0.55)$ 、 $C_2(0.58)$ 、 $C_3(0.62)$ 、 $C_4(0.65)$ 、 $C_5(0.69)$ 和 $C_6(0.74)$ 6 条酶带。

表 1 大叶龙茶染色体参数

Table 1 The parameters of chromosomes of Dayelongcha

染色体编号 Chromosome No.	相对长度(%) Relative length (L+S=T)	臂比 Arm ratio	类型 Type
1	5.34+3.35=8.87	1.51	m
2	4.67+3.54=8.21	1.32	m
3	5.60+2.41=8.01	2.32	sm
4	5.51+2.16=7.67	2.55	sm
5	3.87+3.13=7.00	1.24	m
6	4.34+2.40=6.74	1.81	sm(2SAT)
7	4.34+2.20=6.54	1.97	sm
8	3.40+3.07=6.47	1.11	m
9	4.18+2.16=6.34	1.94	sm
10	3.48+2.57=6.05	1.35	m
11	3.34+2.66=6.00	1.26	m
12	4.40+1.27=5.67	3.46	st(2SAT)
13	3.00+2.53=5.53	1.18	m
14	3.34+2.06=5.40	1.62	m
15	2.74+2.40=5.14	1.14	m

C_2 和 C_3 酶带是 7 个品种共有的, 似茶的酯酶特征性酶带, 变异发生其他 7 条酶带中。在 7 个品种中, 其中有 2 个品种由福建原产地引种而来, 即政和大白茶及福鼎白毫(图 2-1, 2)。其他 5 个品种都原产修水, 均由宁洲群体品种选育而来, 属宁洲品种系列。从 C_1 酶带来看, 宁洲品种系列均不含 C_1 酶带, 而福建品种均含有这一酶带。政和大白茶 b_1 和 b_6 是其特有酶带, 说明它与其他品种差别较大, 在宁洲品种系列中, 宁洲群体品种是其原始品种, 从酯酶酶带也反映这一点, 其酯酶带最为丰富, 酶谱最为清晰。与其酶谱最为相似的是宁洲 2 号, 两者形态也是最为接近。与其他 3 个宁洲系列品种相比, 其酶谱多少有变异, 变异表现在缺少 1 条或更多的酶带, 黄金菊少 2 条, 金春少 4 条, 而无蕾大叶龙与母体(宁洲群体品种)等 4 个宁洲品种比较, 变异表现在缺少一条 C_5 的酶带, 基因突变可能发生在编码 C_5 酶带的基因。

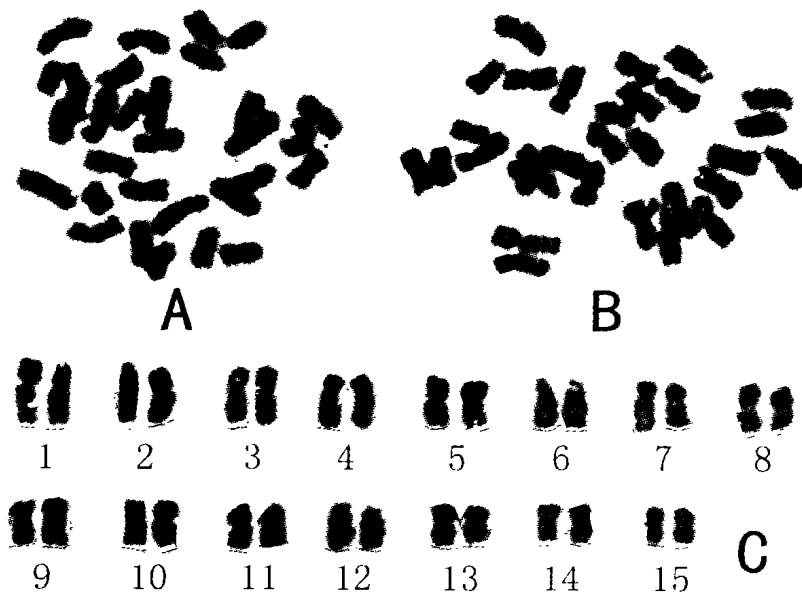


图 1 宁洲群体品种和大叶龙中期染色体形态及核型图

Fig. 1 Photomicrographs of chromosome at metaphase and karyotypes of Ningzhou population and Dayelong

A. 宁洲群体品种中期染色体形态图 Metaphase chromosome of Ningzhou population; B. 大叶龙中期染色体形态图 Metaphase chromosome of Dayelong; C. 大叶龙核型图 Karyotypes Dayelong.

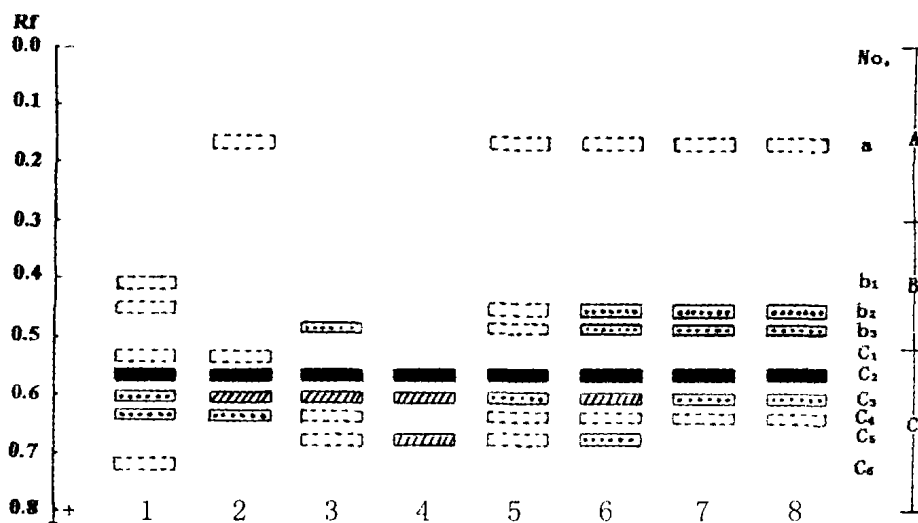


图 2 大叶龙等 7 个品种的酯酶同工酶谱模式图

Fig. 2 The zymogram patterns of EST isozymes of seven varieties of tea

1. 政和大白茶 Zhenghedabaicha; 2. 福鼎白毫 Fudingbaihao; 3. 黄金菊 Huangjinju; 4. 金春 Jinchun; 5. 宁洲 2 号 Ningzhou No. 2; 6. 宁洲群体种(母株) Ningzhou population (maternal plant); 7. 大叶龙 1(变异株) Dayelong 1(varity plant); 8. 大叶龙 2(变异株) Dayelong 2(varity plant).

参考文献:

Li B(李 斌), Cheng XY(陈兴琰). 1986. The karyotype analysis of *Camellia sinensis* (茶树染色体组型分析)[J]. *Journal of Tea Science*(茶叶科学), 6(1): 7-14.
Li MX(李懋学), Chen RY(陈瑞阳). 1985. A suggestion on the standardization of karyotype analysis in plants(关于植物核型分析的标准化问题)[J]. *Journal of Wuhan Botan-*

ical Research(武汉植物研究), 3(4): 297-302.

Solits DE, et al. 1983. Starch gel electrophoresis of fens; A compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedules[J]. *Amer Fern J*, 73(1): 9-27.

Wang BL(王柏龄), Zhang DY(张冬燕), Yu ZC(余志成). 1997. A newly-produced natural mutant train—Dayelongche (自然突变的茶树新株系——大叶龙)[J]. *Newsletter of Sericulture and Tea*(蚕桑茶叶通讯), (1): 21.