

中南林业科技大学学报

Journal of Central South University of Forestry & Technology

ISSN 1673-923X，CN 43-1470/S

《中南林业科技大学学报》2026年第9期

Doi:10.14067/j.cnki.1673-923X.2026.09.021

论文标题： 13种山茶属植物的染色体制片方法优化及核型分析

作　　者： 唐人可，王海舟，孔庆博，等

收稿日期： 2025-08-23

引文格式： 唐人可,王海舟,孔庆博,等.13种山茶属植物的染色体制片方法优化及核型分析[J].中南林业科技大学学报,2026,46(9):229-238.

Tang R K, Wang H Z, Kong Q B, et al. Optimization of chromosome preparation methods and karyotype analysis of 13 species of *Camellia sinensis* plants[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2026,46(9):229-238.

相关论文推荐

Recommended articles

滇山茶不同品种花表型性状的多样性分析

Diversity analysis of flowers phenotypic traits of *Camellia reticulata* cultivars

不同倍性云南山茶染色体核型分析

Chromosome karyotype analysis of *Camellia reticulata* with different ploidy

美洲黑杨×大青杨染色体制片优化及核型分析

Chromosome preparation optimization and karyotype analysis of *Populus deltoides* × *P. ussuriensis*

50种茶花叶表型性状的多样性分析

Diversity analysis of leaf phenotypic traits in 50 camellias species

山茶WRKY基因家族鉴定及其在花色形成中的表达分析

Identification and expression analysis of WRKY gene family in flower color formation in *Camellia japonica*

报春苣苔属植物染色体制片优化及核型分析

Chromosome preparation optimization and karyotype analysis of *Primulina*

Doi:10.14067/j.cnki.1673-923x.2026.09.021
http: //qks.csuft.edu.cn

13 种山茶属植物的染色体制片方法优化及核型分析

唐人可[1]，王海舟[1]，孔庆博[1]，徐琳钦[1]，郑师衡[1]，丁春邦[1]，周莉君[1]，冯士令[1]，蒋孝禹[1]，陈　涛[1, 2]

（1. 四川农业大学 生命科学学院，四川 雅安 625014；
2. 西南特色生物资源研究与利用四川省重点实验室，四川 成都 610064）

摘　要：【目的】探索不同处理条件对根尖压片的影响，优化染色体制片方法，并完成山茶属 *Camellia* 13 个物种染色体核型分析，为山茶属植物研究提供理论依据。【方法】比较不同预处理条件和解离条件对根尖染色体制片效果的影响，筛选广适于山茶属植物的染色体制片方法；并用优化后的制片方法对山茶属 13 个物种染色体进行核型分析，得出 13 个物种的核型模式图、核型参数及核型进化趋势。【结果】优化后广适于山茶属植物的压片法为：用饱和对二氯苯处理根尖 6 h，在 60 ℃条件下置于 1 mol/L 盐酸中水浴 15 min，用改良苯酚品红溶液染色 15 min 后进行常规压片操作。13 个山茶属植物染色体基数均为 x=15，核型倍数包含二、四、六和八倍体，其中二倍体大果红山茶核型公式为 2n=2x=30=24m+6sm，浙江红山茶为 2n=2x=30=22m+8sm；四倍体小果油茶核型公式为 2n=4x=60=40m+20sm；六倍体普通油茶核型公式为 2n=6x=90=42m+44sm+4st，越南油茶为 2n=6x=90=60m+26sm+4st；八倍体高州油茶核型公式为 2n=8x=120=94m+26sm。13 个物种的核型不对称系数为 47.90% ～ 64.63%，染色体相对长度为 2.78 ～ 13.59，臂比值为 1.00 ～ 4.22，最长与最短的比值为 1.62 ～ 4.89。按 Stebbins 核型分类标准，浙江红山茶、岳麓连蕊茶和小果油茶为 2A 型，滇北红山茶为 1A 型，香花油茶为 2C 型，其余 8 个物种均为 2B 型。【结论】确立了广适于山茶属植物染色体制片技术，确定了 13 种山茶属植物染色体数目及倍性水平，并报道了岳麓连蕊茶、心叶毛蕊茶和香花油茶的核型特征，可为山茶属染色体制片及核型分析提供重要参考。

关键词：山茶属；染色体制片方法；染色体；核型分析

中图分类号：S718.47　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1673-923X(2026)09-0229-10

Optimization of chromosome preparation methods and karyotype analysis of 13 species of *Camellia sinensis* plants

Tang Renke[1], Wang Haizhou[1], Kong Qingbo[1], Xu Linqin[1], Zheng Shiheng[1], Ding Chunbang[1], Zhou Lijun[1], Feng Shiling[1], Jiang Xiaoyu[1], Chen Tao[1,2]

(1. College of Life Sciences, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, Sichuan, China;
2. Southwest Bio-resources R & D Key Laboratory of Sichuan Province, Chengdu 610064, Sichuan, China)

Abstract:【Objective】This study aims to explore the effects of different treatment conditions on chromosome root tip squashing, optimize the chromosome preparation method, conduct karyotype analysis of 13 *Camellia* species, and to provide a theoretical basis for the research on *Camellia* plants.【Method】The effects of different pretreatment and dissociation conditions on chromosome slide preparation were compared to select a universally applicable method for *Camellia* species. Karyotype analysis of 13 *Camellia* species was conducted using the optimized method, yielding karyotype diagrams, parameters, and evolutionary trends for each species.【Result】The optimized pressing method suitable for *Camellia* is to treat the root tips with saturated 1,4-dichlorobenzene for 6 h, then place in a 1 mol/L hydrochloric acid water bath at 60 ℃ for 15 minutes and stain with a modified carbol-fuchsin solution for 15 minutes for the conventional pressing operation. All 13 *Camellia* species exhibit a chromosome base number of x=15, the results of

收稿日期（Received）：2025-08-23　　**修订日期**（Revised）：2025-12-04
基金项目：四川省科技计划资助项目（2023YFN0035）；四川省科技支持计划项目（2024YFHZ0236）。
第一作者：唐人可（trk20001126@163.com），硕士研究生。**通信作者：**陈涛（chentao293@163.com），副教授，博士，硕士研究生导师。
引文格式：唐人可 , 王海舟 , 孔庆博 , 等 .13 种山茶属植物的染色体制片方法优化及核型分析 [J]. 中南林业科技大学学报 ,2026,46(9): 229-238.

Tang R K, Wang H Z, Kong Q B, et al. Optimization of chromosome preparation methods and karyotype analysis of 13 species of *Camellia sinensis* plants[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2026,46(9):229-238.

the karyotype analysis show that the karyotypes include diploid, tetraploid, hexaploid, and octoploid. Among diploids, the karyotype formula for *C. semiserrata* is 2*n*=2*x*=30=24m+6sm, and for the *C. chekiangoleosa* , it is 2*n*=2*x*=30=22m+8sm; for the tetraploid *C. meiocarpa*, the karyotype formula is 2*n*=4*x*=60=40m+20sm; among the hexaploid species, the karyotype formula for *C. oleifera* is 2*n*=6*x*=90=42m+44sm+4st, and for *C. drupifera* , it is 2*n*=6*x*=90=60m+26sm+4st; additionally, the karyotype formula for the octaploid *C. gauchowensis* is 2*n*=8*x*=120=94m+26sm. The range of asymmetry indexes for 13 *Camellia* species is 47.90%–64.63%, the relative length of chromosomes ranges from 2.78 to 13.59, the arm ratios range from 1.00 to 4.22, and the Lt/St ranges from 1.62 to 4.89. According to the Stebbins' karyotype classification system, the *C. sinensis*, *C. chekiangoleosa*, *C. transarisanensis*, and *C. meiocarpa* are of type 2A, *C. boreali-yunnanica* is type 1A, and *C. osmantha* is type 2C, while the remaining eight species are type 2B. 【Conclusion】 This study explored chromosome staining techniques widely applicable to *Camellia*, determined the chromosome numbers and ploidy levels of 13 *Camellia* species, and reported the karyotypes of *C. transarisanensis*, *C. cordifolia*, and *C. osmantha* for the first time. It provides an important reference for chromosome preparation and karyotype analysis of *Camellia sinensis* plants.

Keywords: *Camellia*; chromosome preparation; chromosome; karyotype

油茶 *Camellia oleifera* 隶属山茶科 Theaceae 山茶属 *Camellia*，是我国总产油量最高、栽培面积最广的木本油料经济作物 [1]，距今已有 2 300 多年的栽培和利用历史。山茶属植物共约 20 组，我国是世界上山茶属植物种类最多的国家，已知物种 200 余种。油茶在我国南方广泛栽培，适应性强，对土壤要求不严。油茶果实产量高，种仁含油率高，营养品质佳，且植株抗病虫能力突出 [2]。茶油主要由油酸、亚油酸等不饱和脂肪酸构成，具有较高的食用、药用和美容价值 [3]。我国油茶杂交育种工作始于 20 世纪 70 年代，受种间杂交与环境作用影响，山茶属植物普遍存在多倍化现象 [4]。因此，明确山茶属植物染色体倍性并开展核型研究，对山茶属植物的研究及利用具有重要意义。

山茶属植物种类繁多，现有的核型研究表明，山茶属植物的染色体基数为 *x*=15，是倍数从二倍体到十倍体均有的多倍体植物 [5]。针对普通油茶种内杂交、普通油茶和攸县油茶种间杂交育种的研究已较为丰富，现已培育出一批杂交优良品系 [6]。现阶段已有部分山茶属植物完成染色体核型分析。叶天文 [7] 研究探明，普通油茶为六倍体；张敬涛等 [8] 发现，海南油茶主要为八倍体和十倍体；张坤昌等 [9] 证实，高州油茶存在四倍体、六倍体、十倍体，普通油茶同样包含这 3 种倍性，小果油茶为六倍体，南山茶和香花糙果茶为四倍体；颜成敏 [10] 研究显示，滇山茶倍性多样，涵盖二倍体、四倍体、六倍体及八倍体。多数近缘物种（尤其是多倍体类群）的基因组染色体形态差异微小，加之受地理隔离等因素影响，传统核型分析方法易造成亲缘关系判定偏差。现有山茶属核型研究结论不尽统一，部分物种的倍性划分尚存争议，给相关研究带来困扰；同时该属仍有大量物种缺乏核型资料。

染色体是遗传物质的主要载体，开展染色体分析是探究物种起源与演化的重要基础 [11]。染色体制片主要采用去壁低渗法、压片法和酶解法。压片法通用性强，还能减少去壁环节带来的材料损失。山茶属植物种类繁多，其中油茶组和短柱茶组内多倍体分化现象尤为普遍。常规压片法的优化对于山茶属植物倍性及染色体研究至关重要。基于此，本研究以常规压片技术为基础，通过对山茶属植物根尖预处理条件、解离条件进行系统探索，确定并建立广泛适用于山茶属植物的染色体制片方法，并获取 13 个山茶属植物染色体图像，确定其倍性及核型，以期为山茶属植物的系统发育、种质资源鉴定和进一步杂交育种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试的 13 个山茶属 *Camellia* 物种材料均为 9—11 月采集的成熟种子，现种植于四川农业大学雅安现代畜禽科技创新示范园试验田中。将成熟种子培育生根后，于 8:30—10:30 截取根尖备用。材料详情见表 1。

1.2 染色体制片方法优化

1.2.1 种子生根

采收的山茶属果实经晾晒脱果，剥离果皮获取种子，阴干后妥善保存。选取饱满健康的种子，去除种皮后用 2% 次氯酸钠溶液浸种 10 min，洗去表面杂质，再经 37 ℃温水浴活化种子。将活化后的种子埋入珍珠岩 - 木屑湿润基质中，每日观察，始终保持木屑湿润并及时剔除坏种。待种子主根伸长至 1 cm 左右时，剪取根尖组织用于后续染色体制片。

1.2.2 根尖预处理优化

在 8:30—10:30 剪取生长状况良好的根尖顶端 1 cm，于 25 ℃黑暗环境下进行梯度预处理（表 2）。

各组预处理完成后，在 4 ℃条件下，用卡诺氏液（$V_{无水乙醇}$∶$V_{冰乙酸}$=3∶1）固定 24 h。经 90%、80% 和 70% 乙醇各洗涤 5 min 后，70% 乙醇浸泡，置于 4 ℃冰箱内保存备用。

表 1　13 份试验材料及分组
Table 1　13 experimental materials and groups

编号 No.	物种 Species	拉丁名 Latin name	组 Sect.	来源 Source
1	普通油茶	*Camellia oleifera*	油茶组	四川隆昌市
2	越南油茶	*Camellia drupifera*	油茶组	四川隆昌市
3	高州油茶	*Camellia gauchowensis*	油茶组	广东茂名市
4	小果油茶	*Camellia meiocarpa*	油茶组	四川隆昌市
5	浙江红山茶	*Camellia chekiangoleosa*	红山茶组	广西桂林市
6	腾冲红花油茶	*Camellia reticulata*	红山茶组	云南腾冲市
7	宛田红花油茶	*Camellia polyodonta*	红山茶组	广西桂林市
8	大果红山茶	*Camellia semiserrata* var. *magnocarpa*	红山茶组	广西桂林市
9	滇山茶	*Camellia reticulat*a	红山茶组	云南腾冲市
10	滇北红山茶	*Camellia boreali-yunnanica*	红山茶组	云南弥渡县
11	岳麓连蕊茶	*Camellia transarisanensi*s	连蕊茶组	四川天全县
12	心叶毛蕊茶	*Camellia cordifolia*	毛蕊茶组	四川天全县
13	香花油茶	*Camellia osmantha*	短柱茶组	广西桂林市

表 2　预处理试剂与时间
Table 2　Pretreatment reagents and time

编号 No.	试剂 Reagent	处理时间 Treatment time /h
1	饱和对二氯苯	2、4、6、8
2	0.002 mol/L 8- 羟基喹啉	2、4、6、8

1.2.3　解离时间优化

采用盐酸解离法处理制备好的根尖，在 60 ℃条件下用 1 mol/L 盐酸溶液分别解离 13、15、17 min，探讨不同解离时间对山茶属植物根尖染色体制片的影响，并筛选最佳解离时长。

1.2.4　染色和制片

解离后根尖用蒸馏水洗去解离液，切取根尖分生区于载玻片上，用刀片碾碎材料并稍晾干，滴加改良苯酚品红染色 15 min。加盖玻片后轻柔敲片，促使细胞分散、染色体均匀平铺。

1.2.5　镜检、图像处理及数据分析

制片完成后进行光学显微镜镜检，先以 20 倍低倍镜确定目标细胞，再切换 40 倍高倍镜观察染色体形态与结构。选择染色体短而粗、形态清晰、不重叠且视野明亮不含杂质的画面进行拍照。随机选取 10 个能清晰辨认染色体的细胞进行计数，选取 3 个以上染色体状态良好的细胞进行核型分析。采用 Photoshop 制作染色体核型图。采用 Image J 软件测定染色体相关形态参数。根据染色体长度、短臂长度及缢痕位置，从长到短依次排列配对染色体，并对染色体进行编号。参照李懋学等 [12] 的标准进行核型分析，根据 Kuo 等 [13] 的方法计算染色体相对长度系数，采用 Arano 等 [14] 的方法计算核不对称系数。

2　结果与分析

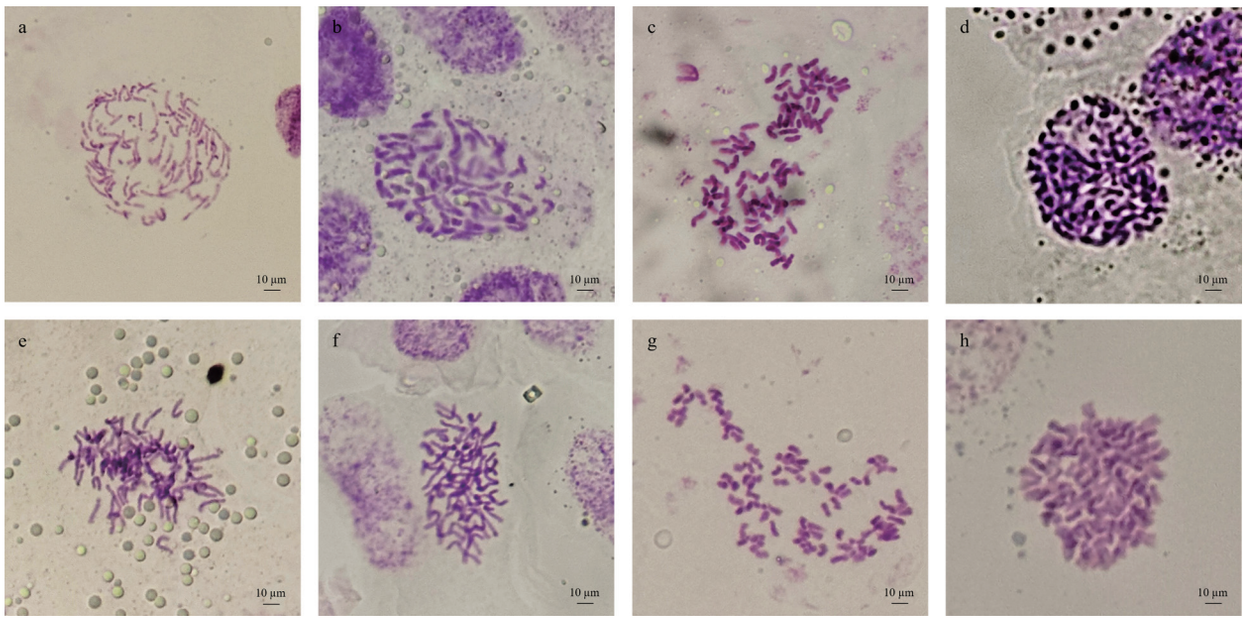
2.1　山茶属植物染色体制片技术优化

2.1.1　不同预处理方式对山茶属植物染色体压片效果的影响

对于不同物种，不同预处理液的最佳处理时间各不相同。以六倍体普通油茶为试验对象，以饱和对二氯苯为处理试剂时，处理 2 h，发现染色体收缩不足，相互粘连且缠绕交错，背景模糊不清，不利于后续染色体计数和长度测量（图 1a）；处理 4 h，染色体较为收缩，但仍有部分缠绕情况（图 1b）；处理 6 h，染色体短而粗，较少的交错情况对后续测量的影响可忽略不计（图 1c）；处理 8 h，染色体呈点状，聚缩成团，粘连现象严重，不可用于后续测量（图 1d）。以 8- 羟基喹啉为处理试剂时，处理 2 h，染色体长度相对于饱和对二氯苯处理 2 h 更长，缠绕交错情况更为严重（图 1e）；处理 4 h，染色体明显短缩，与饱和对二氯苯处理 4 h 结果相似（图 1f）；处理 6 h，相较于处理 4 h 染色体有所短缩，但不明显，缠绕交错情况较少，可用于后续测量（图 1g）；处理 8 h，染色体聚缩成团，缢痕难分辨（图 1h）。

油茶物种倍性丰富，倍性水平涵盖二倍体至八倍体。以二倍体大果红山茶为试验材料，以饱和对二氯苯为处理试剂时，处理 2 h，染色体收缩不足，相互粘连且缠绕交错，背景杂乱，不利于

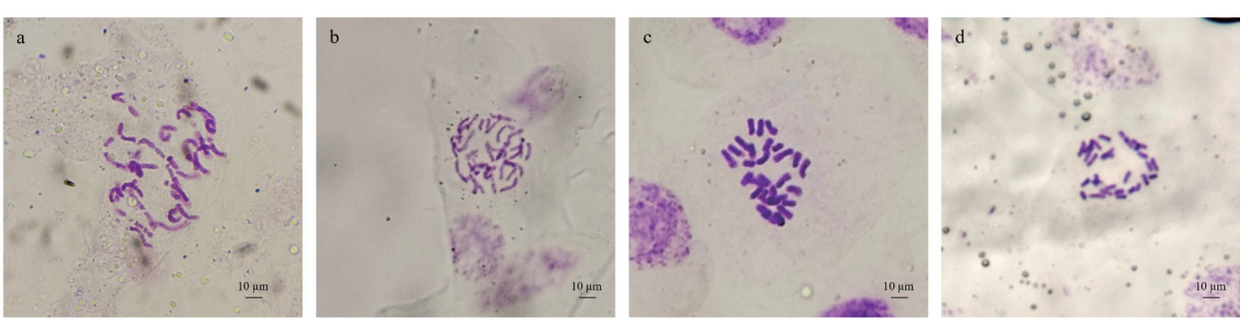
后续染色体计数和长度测量（图 2a）；处理 4 h，染色体较为收缩（图 2b）；处理 6 h，染色体形态良好，可用于后续测量（图 2c）；处理 8 h，与处理 6 h 几乎无差别（图 2d）。



a ～ d，饱和对二氯苯处理 2、4、6、8 h；e ～ h，8- 羟基喹啉处理 2、4、6、8 h。
a-d. Saturated p-dichlorobenzene treatment for 2, 4, 6, and 8 h; e-h. 8-Hydroxyquinoline treatment for 2, 4, 6, and 8 h.

图 1　不同预处理试剂和处理时间对六倍体物种制片效果的影响

Fig. 1　Effects of different pretreatment reagents and durations on slide preparation in a hexaploid species



a ～ d．饱和对二氯苯处理 2、4、6、8 h。a-d. Saturated p-dichlorobenzene treatment for 2, 4, 6, and 8 h.

图 2　在饱和对二氯苯溶液处理下不同处理时间对二倍体物种制片效果的影响

Fig. 2　Effects of different durations of saturated p-dichlorobenzene treatment on slide preparation in a diploid species

因此，广适于油茶物种的预处理方式为饱和对二氯苯溶液黑暗预处理 6 h，此时染色体分散度理想，着丝粒和次缢痕等结构特征清晰可辨。

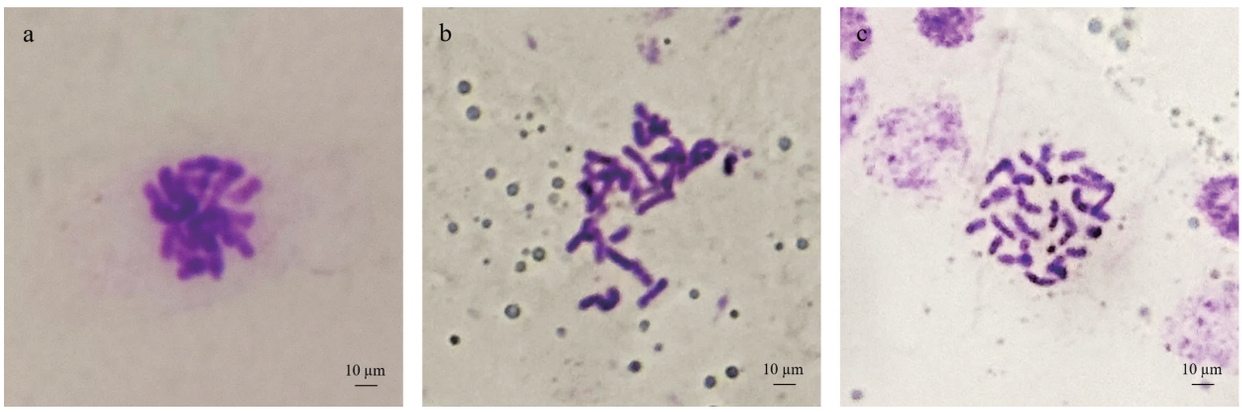
2.1.2　不同解离时间对山茶属植物染色体压片效果的影响

即便采用最优预处理方案，解离时间的变化仍会对油茶根尖染色体制片效果产生明显影响。在 60 ℃条件下用 1 mol/L 盐酸溶液解离 13 min，压片过程较困难，细胞结构明显，染色体聚合不分散，难以观察与测量（图 3a）；盐酸解离 15 min，压片可轻易进行，并可观察到细胞结构，杂质少，背景清晰，染色体分散情况良好，易于观察（图 3b）；盐酸解离 17 min，根尖易于压片，但细胞结构不明显，染色体虽然分散，却极易在敲片时溃散游离，造成染色体交叉混杂，不利于显微观测与指标测量（图 3c）。

综上所述，山茶属植物根尖最优染色体制片参数为：预处理后的根尖于 60 ℃、1 mol/L 盐酸溶液中解离 15 min，经蒸馏水洗净后碾碎于玻片上，用改良苯酚品红试剂染色 15 min，经压片、敲片后可显微镜观察。

2.2　山茶属 13 个物种的染色体计数及核型分析

基于优化后的制片方式，对 13 个山茶属物种进行核型分析，具体核型参数见表 3，中期分裂相与核型模式见图 4。



a ～ c．在 60 ℃条件下用 1 mol/L 盐酸溶液解离 13、15、17 min。a-c. Dissociate with 1 mol/L hydrochloric acid solution for 13, 15, and 17 min at 60 ℃.

图 3　不同解离时间对二倍体物种制片效果的影响

Fig. 3　Effects of different dissociation times on slide preparation in a diploid species

表 3　13 个物种主要核型指标

Table 3　Major karyotypic indices of 13 species

序号 No.	种名 Species	相对长度 Relative length /%	染色体长度比 Lt/St	臂比值 Arm ratio	核型公式 Formula of karyotype	核型类型 Karyotype type	核不对称系数 Asymmetry index /%
1	普通油茶	4.29 ～ 10.18	2.50	1.01 ～ 4.20	2*n*=6*x*=90=42m+44sm+4st	2B	63.23
2	越南油茶	3.62 ～ 10.22	3.09	1.02 ～ 4.22	2*n*=6*x*=90=60m+26sm+4st	2B	59.90
3	高州油茶	2.81 ～ 10.17	3.62	1.02 ～ 2.44	2*n*=8*x*=120=94m+26sm	2B	57.86
4	小果油茶	5.15 ～ 9.52	1.85	1.04 ～ 2.71	2*n*=4*x*=60=40m+20sm	2A	60.83
5	浙江红山茶	4.78 ～ 8.42	1.76	1.03 ～ 2.15	2*n*=2*x*=30=22m+8sm	2A	58.53
6	腾冲红花油茶	3.72 ～ 9.96	2.68	1.02 ～ 2.19	2*n*=6*x*=90=78m+12sm	2B	57.85
7	宛田红花油茶	3.36 ～ 10.64	3.16	1.11 ～ 3.58	2*n*=2*x*=30=14m+14sm+2st	2B	64.63
8	大果红山茶	4.02 ～ 8.86	2.20	1.17 ～ 2.24	2*n*=2*x*=30=24m+6sm	2B	59.37
9	滇山茶	4.58 ～ 10.27	2.40	1.00 ～ 3.90	2*n*=6*x*=90=54m+40sm+4st+2M	2B	62.82
10	滇北红山茶	4.21 ～ 9.60	2.33	1.09 ～ 1.57	2*n*=2*x*=30=24m+6sm	1A	55.23
11	岳麓连蕊茶	3.66 ～ 8.66	1.62	1.21 ～ 2.68	2*n*=2*x*=30=16m+14sm	2A	63.75
12	心叶毛蕊茶	3.66 ～ 8.66	2.54	1.04 ～ 1.91	2*n*=2*x*=30=22m+8sm	2B	57.93
13	香花油茶	2.78 ～ 13.59	4.89	1.00 ～ 3.04	2*n*=6*x*=90=58m+28sm+2st+2M	2C	47.90

由表 3 和图 4 可知，13 个山茶属物种均为染色体基数为 15 的二倍体、四倍体、六倍体和八倍体，并未观察到非整倍体和染色体缺失的情况。其中 6 个物种是二倍体，染色体数目为 2*n*=30，包括大果红山茶、浙江红山茶、宛田红花油茶、滇北红山茶、岳麓连蕊茶和心叶毛蕊茶；5 个物种为六倍体，染色体数目为 2*n*=90，分别是香花油茶、越南油茶、普通油茶、滇山茶和腾冲红花油茶；小果油茶为四倍体，染色体数目为 2*n*=60；高州油茶为八倍体，染色体数目为 2*n*=120。

核型组成分别有正中部着丝粒染色体（M）、中部着丝粒染色体（m）、近中部着丝粒染色体（sm）和近端部着丝粒染色体（st）4 种类型。核型不对称系数为 47.90% ～ 64.63%，香花油茶最小，为 47.90%，宛田红花油茶最大（64.63%）。染色体相对长度为 2.78% ～ 13.59%，臂比值为 1.00 ～ 4.22，最长与最短的比值是 1.62 ～ 4.89。按 Stebbins 核型分类标准，13 个山茶属植物中浙江红山茶、岳麓连蕊茶和小果油茶为 2A 型，滇北红山茶为 1A 型，香花油茶为 2C 型，其余 8 个物种均为 2B 型。

2.3　核型进化趋势分析

核型对称性与物种进化水平存在显著相关性，物种进化沿对称核型向不对称核型方向演变，核型不对称程度越高，进化程度越高。本研究以核型不对称系数为纵坐标、平均臂比值为横坐标，绘制 13 个山茶属植物的核型不对称性散布图。由图 5 可知，高州油茶、浙江红山茶、腾冲红花油茶、滇北红山茶、心叶毛蕊茶和香花油茶位于左下角，其余 7 个物种位于右上角。越靠近右上角表示进化程度越高，反之则越低，因此 13 个山茶属植物进化程度由高到低为：宛田红花油茶＞普通油茶＞滇山茶＞岳麓连蕊茶＞大果红山茶＞越南油茶＞小果油茶＞心叶毛蕊茶＞浙江红山茶＞高州油茶＞腾冲红花油茶＞滇北红山茶＞香花油茶。

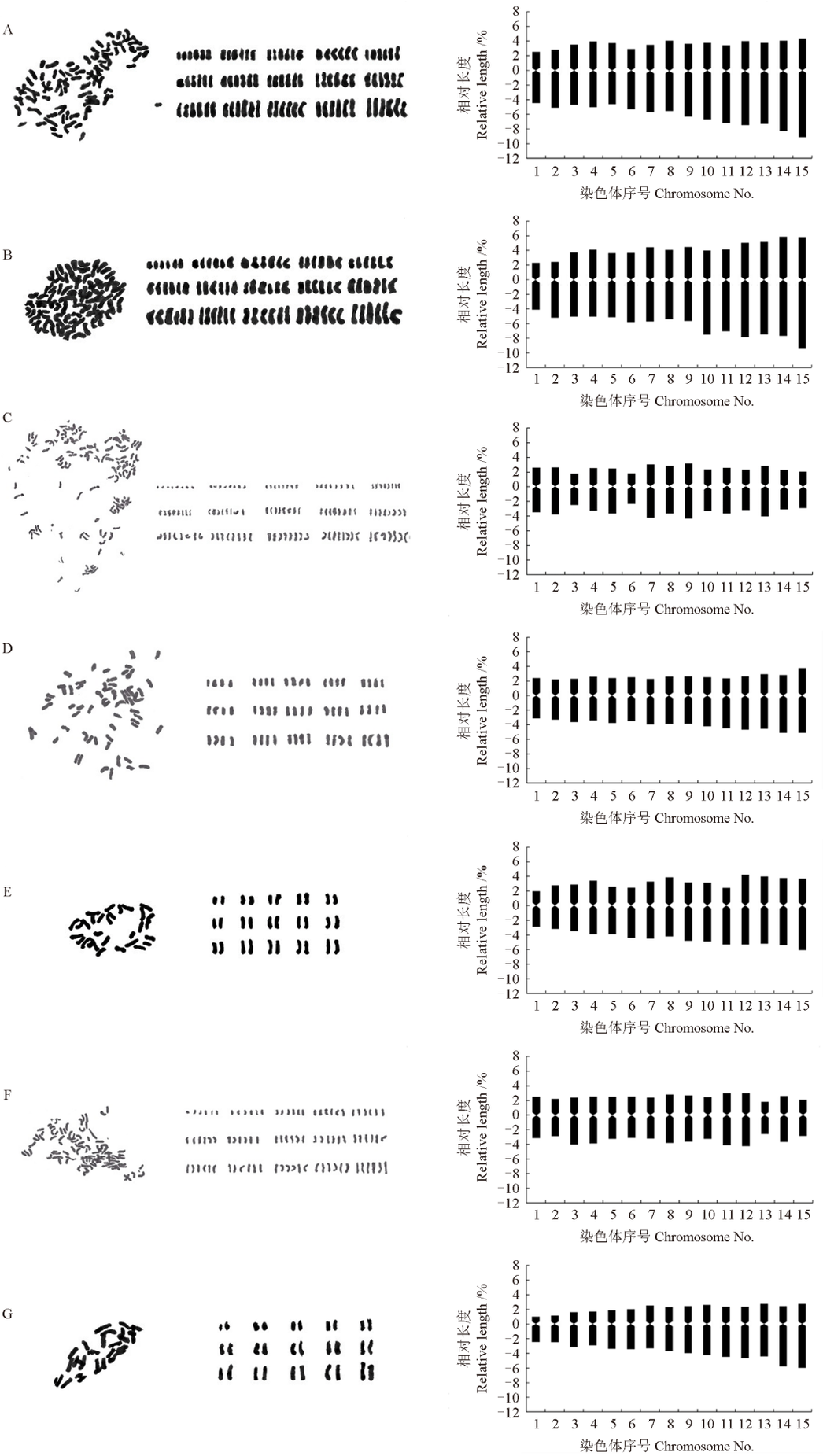
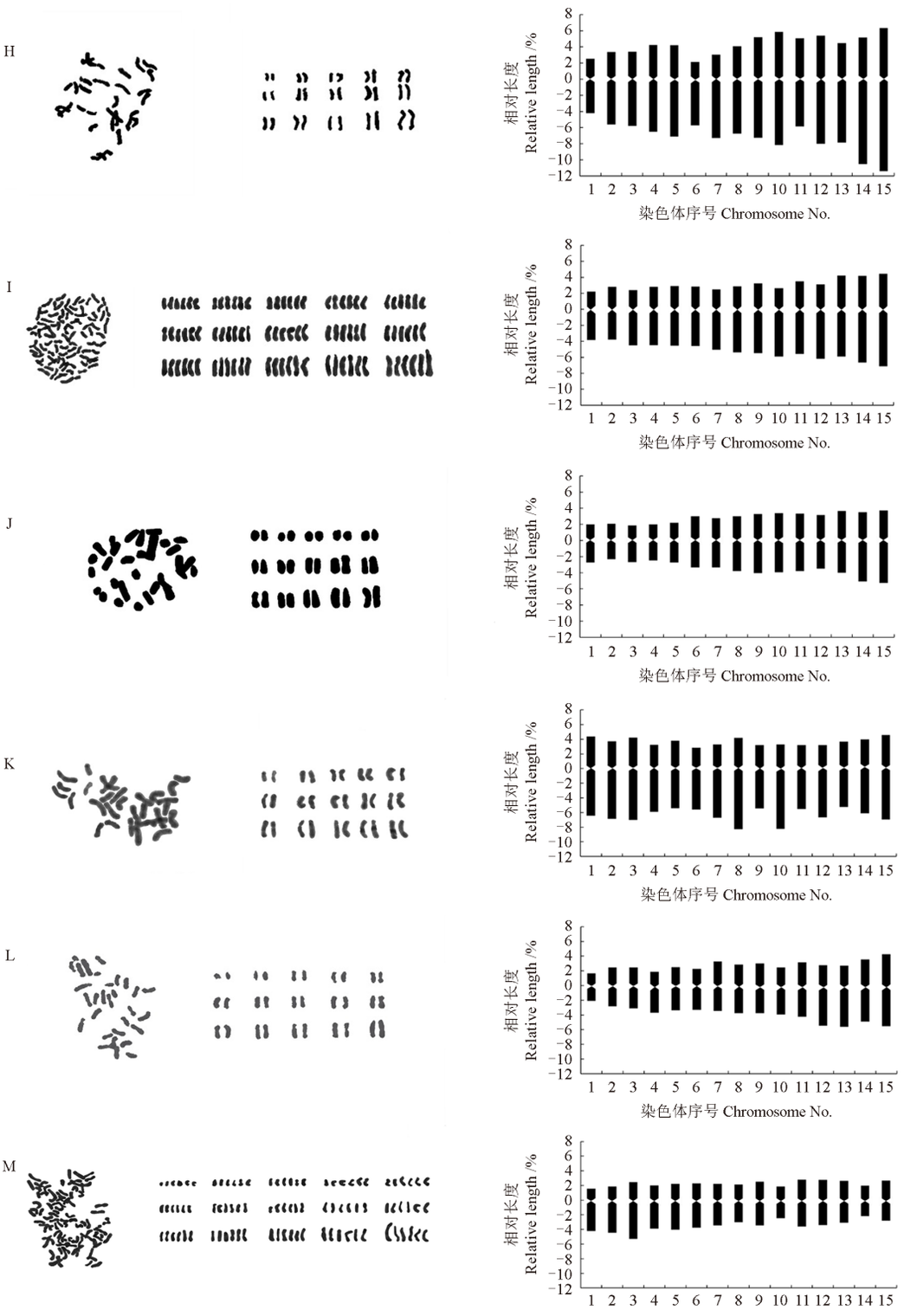


图 4　13 个物种中期分裂相与核型模式

Fig. 4　Metaphase chromosomes and karyotypes of 13 species



A．普通油茶；B．越南油茶；C．高州油茶；D．小果油茶；E．浙江红山茶；F．腾冲红花油茶；G．宛田红花油茶；H．大果红山茶；I．滇山茶；J．滇北红山茶；K．岳麓连蕊茶；L．心叶毛蕊茶；M．香花油茶。下同。

A: *C. oleifera*; B: *C. drupifera*; C: *C. gauchowensis*; D: *C. meiocarpa*; E: *C. chekiangoleosa*; F: *C. reticulata*; G: *C. polyodonta*; H: *C. semiserrata*; I: *C. reticulata*; J: *C. borealiyunnanica*; K: *C. transarisanensis*; L: *C. osmantha*; M: *C. osmantha.* The same below.

续图 4

Continuation of Fig. 4

3　讨　论

3.1　山茶属植物压片法染色体制片技术优化

染色体核型分析的首要目标是制作出良好的染色体压片，标准的染色体压片需分散效果好且着丝点清晰 [15]。预处理是染色体制片流程中的关键环节，该步骤可有效提升细胞中期分裂相数量，同时调控染色体分散效果和成像清晰度，是决定

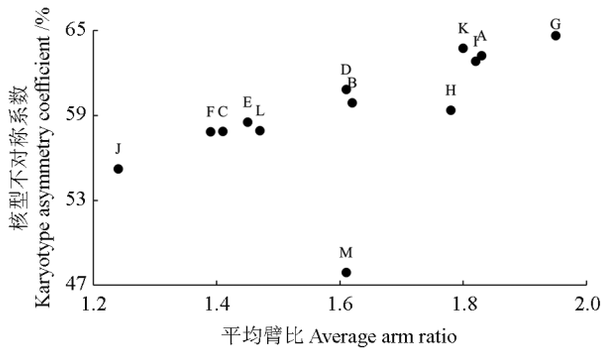


图 5 核型不对称性散布图
Fig. 5 Karyotype asymmetry scatter plot

染色体制片质量的核心步骤 [6]。选取幼嫩根尖组织制备装片，可便于预处理试剂渗透进入细胞，充分作用于分裂旺盛的分生组织细胞。固定处理能够快速杀死细胞，使经预处理的分裂细胞形态保持稳定，为后续解离、染色及显微观察提供良好基础。王霜等 [16] 对杜鹃红山茶的预处理以及叶天文 [7] 对普通油茶的预处理均采用 8 - 羟基喹啉，而贾文庆 [17] 则认为饱和对二氯苯对山茶属植物的预处理效果更好。本研究发现，饱和对二氯苯较 8- 羟基喹啉处理 13 种山茶属植物更能达到预期效果，不同预处理试剂之间的效果差距并不明显，预处理时间对处理效果的影响更大。中期分裂相的多少及理想程度除了受预处理的影响外，还受到植物材料生长状态的直接影响，而山茶属物种的根系生长缓慢，对植物材料的培养应格外注意。试验过程中发现，解离时间不足，制片难度大，染色体结构难以观察清楚；而解离时间过长，细胞内容物易溃散，染色体过于分散，完整性遭到破坏。常规压片法成本低廉，能够获得分散且形态良好的中期染色体，但压片过程中压片动作易导致染色体断裂、丢失，若制备的染色体制片需应用于荧光原位杂交、基因组原位杂交等对玻片质量精度要求极高的后续细胞遗传学试验，还需进行揭片、固定和洗片等一系列操作，这些过程极易引发目标染色体脱落、遗失，对后续试验造成影响。

3.2 山茶属植物染色体核型特征及进化分析

本研究对 13 种山茶属植物的染色体核型进行分析，所得结果与已有研究报道各有异同，并报道了岳麓连蕊茶、心叶毛蕊茶和香花油茶的核型。其中大果红山茶的核型公式为 $2n=2x=30=24m+6sm$，已被黄少甫等 [18]、漆龙霖等 [19]、贾文庆 [17] 分别报道，但本研究结果与之均不相同，其中更偏向于贾文庆报道的核型公式 $2n=2x=30=28m+2sm$，只有中部和近中部着丝粒染色体核型类型。黄少甫等 [20]、顾志建等 [21]、贾文庆 [17] 在 1984、1988、2015 年对浙江红山茶的核型进行过报道，核型公式差距较小，类型均为 2B 型，与顾志建等 [21] 的研究成果更为相似。滇北红山茶和腾冲红花油茶同被归于滇山茶，滇山茶的二倍体、四倍体 [22]、六倍体 [23] 核型均有报道，本研究得出的滇北红山茶为二倍体，腾冲红花油茶和滇山茶为六倍体，与已报道的倍性相符，主要核型参数也相似。小果油茶在植物志上被归为普通油茶。普通油茶作为分布最广的油茶物种，倍性也很丰富，二到六倍体的核型已有 Xiao 等 [24]、Kondo 等 [25]、张文驹 [26]、黎麦秋等 [27] 报道，同一倍性的油茶核型公式也存在较大差异。本研究小果油茶缺少近端部着丝粒染色体（st）类型，具体核型公式也有区别。高州油茶已被归到越南油茶，但已报道的高州油茶与越南油茶一个为二倍体 [22]，一个为八倍体 [24]，倍性差异巨大。本研究得到的高州油茶核型公式与已报道的八倍体核型公式相近，越南油茶核型分析为六倍体，具体核型公式为 $2n=6x=90=60m+26sm+4st$。1986 年卢天玲等 [28] 已报道宛田红花油茶核型，与本研究结果一致，为二倍体，核型公式也与本结果相差无几。

与前人研究比较发现，本研究得到的核型结果与已有报道存在差异。核型类型不同的直接原因是中期分裂相存在差异。造成中期分裂相差异的可能原因包括样本来源不同、预处理方式的影响、材料生长培育环境等，这些都会对样本的核型类型造成影响。不同来源的样本会导致染色体形态差异，主要包括来源地气候、海拔和经纬度等因素，样品在物种进化和世代传递过程中会对染色体形态造成影响。染色体制片方法的原理是通过系列处理使细胞停留在分裂中期，去除细胞质干扰，清晰显示染色体形态，为核型分析等后续观察提供基础。其中对二氯苯、秋水仙素、冰水等不同预处理试剂抑制纺锤体微管聚合的效果各不相同。本研究采用饱和对二氯苯处理样本，处理方式与已有研究不一致，进而造成染色体核型存在差异。

核型类型不同，在植物进化过程中所产生的发展方向也不同。在进化过程中，植物染色体形态往往从对称形态向不对称形态进化发展，故而核型越对称的植物越原始，不对称的核型通常出现在较为进化或特殊的植物中 [29]。由此推测，宛田红花油茶进化程度最高，香花油茶最低。本研究中 13 种山茶属植物的核型不对称系数是

47.90% ～ 64.63%，其中普通油茶、小果油茶、宛田红花油茶、滇山茶和岳麓连蕊茶的核型不对称系数大于 60%，其余均小于 60%。植物中核型不对称系数小于 60% 的物种通常保留其原始核型特征 [30]，可见山茶属植物大部分物种较为原始，驯化时间较短，但普通油茶和滇山茶等常见油用山茶和观赏用山茶物种已呈现驯化后核型特征，且核型不对称系数跨度范围较大，表明所分析物种不仅倍性差异大，在进化过程中它们的染色体也发生了不同程度的变化。

4　结　论

广适于山茶属植物根尖最优染色体制片方法为：将预处理后的根尖于 60 ℃、1 mol/L 盐酸溶液中解离 15 min，经蒸馏水冲洗干净后在载玻片上压碎，后滴加改良苯酚品红试剂染色 15 min，最后经压片后显微镜观察核型。13 种山茶属植物的核型不对称系数为 47.90% ～ 64.63%；染色体相对长度为 2.78% ～ 13.59%；臂比值为 1.00 ～ 4.22；最长与最短的比值范围是 1.62 ～ 4.89。核型分类中，浙江红山茶、岳麓连蕊茶和小果油茶为 2A 型，滇北红山茶为 1A 型，香花油茶是 2C 型，其余 8 个物种均为 2B 型。分析 13 种山茶属植物核不对称性，得出宛田红花油茶进化程度最高，香花油茶最低。本研究为之后的山茶属种质资源开发和遗传育种提供理论参考。

参考文献：

[1] Quan W X, Wang A P, Gao C, et al. Applications of Chinese *Camellia oleifera* and its by-products: a review[J]. Frontiers in Chemistry,2022,10:921246.

[2] 秦声远 . 普通油茶系统发育及种群遗传分化的地理格局 [D]. 南昌 : 南昌大学 ,2018:1-12.
Qin S Y. Phylogeny and geographical pattern of population genetic differentiation in *Camellia oleifera*[D]. Nanchang: Nanchang University,2018:1-12.

[3] 邢凯峰 , 张剑 , 陈尚 , 等 . 普通油茶良种资源表型性状多样性分析与综合评价 [J]. 浙江大学学报 (农业与生命科学版),2024,50(2):244-257.
Xing K F, Zhang J, Chen S, et al. Diversity analysis of phenotypic traits and comprehensive evaluation of *Camellia oleifera* excellent germplasm resources[J]. Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Sciences),2024,50(2):244-257.

[4] 殷国兰 , 杨金亮 , 冯绍玉 , 等 . 四川油茶产业发展现状与建议 [J]. 四川林业科技 ,2013,34(6):96-98,59.
Yin G L, Yang J L, Feng S Y, et al. The current status and prospects of *Camellia oleifera* industry in Sichuan Province[J]. Journal of Sichuan Forestry Science and Technology,2013,34(6):96-98,59.

[5] 李拓键 , 屈燕 , 王兵益 , 等 . 不同倍性云南山茶染色体核型分析 [J]. 中南林业科技大学学报 ,2023,43(3):167-174.
Li T J, Qu Y, Wang B Y, et al. Analysis of chromosome karyotype of *Camellia reticulata* with different ploidy[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2023,43(3):167-174.

[6] 韩志强 , 袁德义 , 李承想 , 等 . 攸县油茶与大果油茶 ‘ 华硕 ’ 及其 F_1 代优株的光合特性 [J]. 经济林研究 ,2015,33(2):9-13.
Han Z Q, Yuan D Y, Li C X, et al. Photosynthetic characteristics of *Camellia yuhsienensis*, Hu *C. oleifera* ‘Huashuo’ and superior individuals in their F_1 hybrids[J]. Non-wood Forest Research, 2015,33(2):9-13.

[7] 叶天文 . 海南省油茶资源倍性鉴定及核型分析 [D]. 长沙 : 中南林业科技大学 ,2020:38.
Ye T W. Ploidy identification and karyotype study of *Camellia oleifera* from Hainan Province[D]. Changsha: Central South University of Forestry & Technology,2020:38.

[8] 张敬涛 , 赖杭桂 , 张诗慧 , 等 . 海南岛十倍体油茶资源分布及评价 [J]. 热带作物学报 ,2024,45(8):1585-1595.
Zhang J T, Lai H G, Zhang S H, et al. Distribution and evaluation of decaploid *Camellia* resources in Hainan island[J]. Chinese Journal of Tropical Crops,2024,45(8):1585-1595.

[9] 张坤昌 , 廖柏勇 , 黄润生 , 等 . 高州油茶杂交 F_1 代群体构建及遗传评估Ⅱ [J]. 经济林研究 ,2023,41(3):91-105.
Zhang K C, Liao B Y, Huang R S, et al. Populations construction and genetic evaluation of hybrid F_1 generation of *Camellia gauchowensis* ChangⅡ[J]. Non-wood Forest Research,2023,41(3):91-105.

[10] 颜成敏 . 滇山茶八倍体品种起源的核基因研究 [D]. 昆明 : 昆明理工大学 ,2023:1-3.
Yan C M. Study on the nuclear gene of the origin of octoploid cultivars of *Camellia reticulata*[D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology,2023:1-3.

[11] 武慧敏 , 李博 , 刘彦青 , 等 . 报春苣苔属植物染色体制片优化及核型分析 [J]. 中南林业科技大学学报 ,2025,45(11):197-206.
Wu H M, Li B, Liu Y Q, et al. Chromosome preparation optimization and karyotype analysis of *Primulina*[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2025,45(11):197-206.

[12] 李懋学 , 陈瑞阳 . 关于植物核型分析的标准化问题 [J]. 武汉植物学研究 ,1985,3(4):297-302.
Li M X, Chen R Y. A suggestion on the standardization of karyotype analysis in plants[J]. Journal of Wuhan Botanical Research,1985,3(4):297-302.

[13] Kuo S R, Wang T T, Huang T C. Karyotype analysis of some Formosan gymnosperms[J]. Taiwania,1972,17(1):66-80.

[14] Arano H, Nakamura T. Cytological studies in subfamily carduoideae (Compositae) of Japan XV: the karyotype analysis in some species of Tribe Inuleae and Heliantheae[J]. Shokubutsugaku Zasshi,1964,77:54-58.

[15] 刘丹 , 夏雪 , 吴益梅 , 等 . 植物染色体制片效果影响因素的解析 [J]. 浙江农业科学 ,2015,56(10):1654-1657.
Liu D, Xia X, Wu Y M, et al. Analysis of factors affecting the effect of plant chromosome production[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences,2015,56(10):1654-1657.

[16] 王霜 , 王仲朗 , 梁静 , 等 . 濒危植物杜鹃红山茶的细胞学研究 [J]. 云南植物研究 ,2007,29(6):655-658.
Wang S, Wang Z L, Liang J, et al. Karyological study on the endangered species *Camellia azalea* (Theaceae)[J]. Acta Botanica Yunnanica,2007,29(6):655-658.

[17] 贾文庆 . 山茶花生殖生物学及倍性育种基础研究 [D]. 北京 : 中国林业科学研究院 ,2015:15-20.
Jia W Q. Fundamental study on reproductive biology and ploidy breeding of *Camellia* flower[D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry,2015:15-20.

[18] 黄少甫 , 赵治芬 , 李建平 , 等 . 南山茶 *Camellia semiserrata* Chi 染色体核型的分析 [J]. 广西植物 ,1984,4(1):9-12.
Huang S F, Zhao Z F, Li J P, et al. Karyotype analysis in *Camellia semiserrata* Chi[J]. Guihaia,1984,4(1):9-12.

[19] 漆龙霖 , 吕芳德 , 张志刚 , 等 . 山茶属三种植物染色体组型及 C—带带型分析 [J]. 经济林研究 ,1986,4(1):40-46.
Qi L L, Lü F D, Zhang Z G, et al. An analysis of the type of the chromosomes and the C-bands of the three plants in *Camellia*[J]. Economic Forest Researches,1986,4(1):40-46.

[20] 黄少甫 , 赵治芬 , 吴若菁 , 等 . 浙江红山茶染色体核型的分析 [J]. 广西植物 ,1984,4(4):285-288.
Huang S F, Zhao Z F, Wu R J, et al. Karyotype analysis in *Camellia chekiangoleosa* Hu[J]. Guihaia,1984,4(4):285-288.

[21] 顾志建 , 夏丽芳 , 谢立山 , 等 . 中国部分山茶属植物的染色体数目报告 [J]. 云南植物研究 ,1988,10(3):291-296.
Gu J Z, Xia L F, Xie L S, et al. Report on the chromosome numbers of some species of *Camellia* in China[J]. Acta Botanica Yunnanica,1988,10(3):291-296.

[22] 顾志建 , 孙先凤 . 山茶属 17 个种的核形态学研究 [J]. 云南植物研究 ,1997,19(2):159-170.
Gu Z J, Sun X F. A karyomorphological study of seventeen species of Chinese *Camellia*[J]. Acta Botanica Yunnanica,1997,19(2):159-170.

[23] Kondo K, Gu Z J, Na H Y, et al. A cytological study of *Camellia reticulata* and its closely related species in Yunnan, China[J]. American *Camellia* Yearbook,1988,43:72-87.

[24] Xiao T J, Gu Z J, Xia L F, et al. A karyomorphological study of ten species of Chinese *Camellia*[J]. American *Camellia* Yearbook, 1991,46:130-137.

[25] Kondo K, Taniguchi K, Tanaka N, et al. A karyomorphological study of twelve species of Chinese *Camellia*[J]. The American *Camellia* Yearbook,1991,46:123-129.

[26] 张文驹 , 闵天禄 . 山茶属的细胞地理学研究 [J]. 云南植物研究 ,1999,21(2):184-186.
Zhang W J, Min T L. A cytogeological study of genus *Camellia*[J]. Acta Botanica Yunnanica,1999,21(2):184-186.

[27] 黎麦秋 . 普通油茶、板栗染色体组型和 Giemsa C—带的带型研究 [J]. 林业科技通讯 ,1981(4): 9-12.
Li M Q. Karyotype study of *Camellia oleifera* and chestnut and Giemsa C-band[J]. Forest Science and Technology,1981(4):9-12.

[28] 卢天玲 , 廖汉刃 . 宛田红花油茶的染色体组型研究 [C]// 中国林学会林木遗传育种分会 . 全国林木遗传育种第五次学术报告会论文汇编 . 广西农学院林学分院 ,1986:151-152.
Lu T L, Liao H R. Karyotype study of *Camellia polyodonta*[C]// Division of Forest Tree Genetics and Breeding, Chinese Society of Forestry. Proceedings of the Fifth National Academic Symposium on Forest Tree Genetics and Breeding. School of Forestry, Guangxi Agricultural College,1986:151-152.

[29] 陈铭健 , 王淑安 , 王鹏 , 等 . 铁线莲组 (铁线莲属) 植物染色体核型分析 [J]. 植物资源与环境学报 ,2024,33(2):99-105.
Chen M J, Wang S A, Wang P, et al. Chromosome karyotype analysis of Sect. *Viticella* DC. species (*Clematis* Linn.)[J]. Journal of Plant Resources and Environment,2024,33(2):99-105.

[30] 文书生 , 苗大鹏 , 朱葛 , 等 . 5 种溲疏属植物的核型分析 [J]. 分子植物育种 ,2025,23(1):159-166.
Wen S S, Miao D P, Zhu G, et al. Karyotype analysis of five *Deutzia* species[J]. Molecular Plant Breeding,2025,23(1):159-166.

[本文编校：谢荣秀]