

碧螺春茶树微繁殖技术研究

易鑫¹, 万志刚¹, 顾福根¹, 沈爱英¹, 宋卫平¹, 孙丙耀¹, 杨忠星²

(1. 苏州大学生命科学学院, 江苏 苏州 215123; 2. 苏州市吴中区东山镇多种经营服务公司, 江苏 苏州 215000)

关键词: 碧螺春茶树; 组织培养; 微繁殖

中图分类号: S571.103

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2008)01-0095-02

Micropropagation of Tea Tree of Biluochun

YI Xin¹, WAN Zhi-gang¹, GU Fu-gen¹, SHEN Ai-ying¹, SONG Wei-ping¹, SUN Bing-yao¹, YANG Zhong-xing²

(1. School of Life Sciences, Suzhou University, Suzhou 215123, China; 2. Dongshan Multi-industry Service Company, Suzhou 215000, China)

Key words: tea tree of Biluochun; tissue culture; micropropagation

洞庭碧螺春是中国十大名茶之一, 苏州太湖之东西洞庭山为碧螺春原产地^[1]。名茶的基础是良种, 因此加强原产群体种茶树种质资源的保护和开发十分重要^[2]。虽然有关茶树的组织培养曾有报道^[3], 但碧螺春茶树的组织培养研究尚未见报道。本试验以从碧螺春原产地选出的早芽茶的腋芽为外植体, 对无菌外植体的建立、试管苗的增殖和生根等各个阶段的培养条件进行优化, 以期对碧螺春茶树优质种苗生产奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 材 料

试验材料为2月中旬采自苏州东洞庭山带有腋芽的早芽茶树枝条。

1.2 试 验 方 法

1.2.1 无菌外植体的建立 将采集的枝条带回实验室, 切下的腋芽在适量的洗衣粉溶液中洗涤5 min后, 置于自来水下冲洗2 h。在无菌条件下, 腋芽外植体用75%酒精灭菌30 s, 再用0.1%升汞灭菌, 升汞灭菌时间设6个处理: 4 min、

6 min、8 min、10 min、12 min和14 min。灭菌后用无菌水冲洗5~6次, 剥去已展开的芽鳞和部分幼叶, 并切去腋芽基部1~2 mm, 取3~5 mm长的茎尖, 接种到启动培养基上, 启动培养基为MS+6-BA 2.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L+GA₃ 0.3 mg/L+4.0%蔗糖, 培养基中加0.7%琼脂, pH值调至5.8, 在121℃高压下蒸汽灭菌18 min, 冷却凝固后备用。培养温度为(25±1)℃, 光照度为1 500~2 000 lx, 光照时间13 h/d。3 d后开始观察、记载外植体的污染和腋芽萌发情况, 并在20 d后统计生长正常、无污染的外植体数, 计算无菌外植体成活率。

1.2.2 增殖培养 将启动培养20 d左右、已展开1~2片叶的碧螺春茶树试管苗, 转接至外源植物激素浓度较低的增殖培养基(MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L)中, 35 d继代1次, 连续继代3~4次, 在得到较大数量的试管苗后, 再进行增殖培养基的优化筛选试验。增殖培养基的筛选采用正交设计L₉(3³)^[4], 设置的3个因素为6-BA浓度、NAA浓度和蔗糖浓度, 每个因素设置3个水平: 6-BA浓度为1.0 mg/L、2.0 mg/L、5.0 mg/L, NAA浓度为0.1 mg/L、0.2 mg/L、0.5 mg/L, 蔗糖浓度为3%、4%、5%。转接后35 d统计增殖率。每个试验重复3次。

1.2.3 生根培养 将碧螺春茶树试管苗在增殖培养基上继代2次后, 切取苗高2 cm左右的试管苗进行生根培养。生根培养基中添加的外源植物激素是IBA (Indolr-3-butyric acid, 吲哚丁酸), 基本培养基配方为1/2 MS+2%蔗糖。IBA的浓度设置8个水平: 2.0 mg/L、2.5 mg/L、3.0 mg/L、3.5

收稿日期: 2007-02-19

基金项目: 苏州市农业科技攻关项目(SNZ-0305)

作者简介: 易鑫(1978-), 女, 江苏通州人, 硕士研究生, 主要从事细胞生物学研究。(Tel) 13584892865; (E-mail) yixinji@sohu.com

通讯作者: 万志刚, (Tel) 13815250140; (E-mail) wanzg@sohu.com

mg/L、4.0 mg/L、5.0 mg/L、6.0 mg/L、7.0 mg/L。15 d 后开始统计生根率,40 d 时统计每株苗的根数及根长。每个试验重复 3 次。

1.2.4 移栽 将碧螺春茶树试管苗接种在生根培养基上生根培养,25 d 后将培养瓶从培养室中移到自然光照、自然温度条件下炼苗 3~5 d,之后打开培养瓶瓶盖,再炼苗 2~3 d。取出生根苗,小心洗去残留在生根苗基部的培养基,在 0.1% 多菌灵溶液中处理 2~3 min,移栽到不同的过渡基质 [细沙、黄壤土(山地非耕作层土壤)、混合基质(草炭土:珍珠岩=1:1)] 中,移栽后浇足水,再喷一次 0.1% 多菌灵溶液,温度 18~25℃、空气湿度 85% 左右,每天喷雾 3~4 次,并注意通风。30 d 后统计碧螺春茶树试管苗移栽成活率。

2 结果与分析

2.1 外植体的选择与灭菌对无菌外植体建立的影响

外植体接种后 7 d 左右腋芽开始萌动,14 d 左右腋芽外层包裹的叶片开始展开,20 d 时外植体已经展叶 1~2 片,腋芽已经生长至原来高度的 2 倍左右。0.1% 升汞灭菌时间对于外植体成活率有一定的影响,试验结果表明:0.1% 升汞灭菌 8 min 较为适宜,在此灭菌条件下外植体成活率能达到 70% 以上;如果灭菌时间较短,则灭菌不彻底,外植体容易污染;如果灭菌时间较长,虽然污染率较低,但容易造成外植体死亡、外植体不易萌发或外植体萌发异常。采用腋芽作为茶树外植体材料的方法已经比较成熟^[5],但是在不同季节采集的外植体,培养成功的几率是有差异的,在春季 2 月中旬早芽碧螺春茶树发芽的时期采集腋芽作为外植体比其它时间容易得到成活率较高的外植体。

2.2 6-BA、NAA 和蔗糖浓度对试管苗增殖率的影响

在按照正交设计的碧螺春茶树试管苗增殖培养基中,试管苗都能正常生长,最适宜的增殖培养基为 MS + 6-BA 5.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L + 5.0% 蔗糖,对试管苗增殖影响最大的因素为 6-BA 浓度,其次为 NAA 浓度,最小为蔗糖浓度(表 1)。以最适增殖培养基(MS + 6-BA 5.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L + 5.0% 蔗糖)进行碧螺春茶树试管苗增殖培养,35 d 统计增殖率,增殖率可达到 3.14,试管苗生长正常,并且较粗壮。

2.3 IBA 浓度对试管苗生根的影响

碧螺春茶树试管苗生根培养试验结果表明:在 IBA 浓度较低的培养基中试管苗生根率较低,当 IBA 浓度为 2.0 mg/L 时,培养 30 d,生根率仅有 36.4%;随着 IBA 浓度的提高,生根率也随着提高,在 IBA 浓度为 5.0 mg/L 时,30 d 生根率达 84.6%;IBA 浓度在 5.0~7.0 mg/L 范围内试管苗的生根率相差不大。本试验筛选出的碧螺春茶树试管苗生根

适宜培养基为 1/2MS + IBA 5.0 mg/L + 2.0% 蔗糖,在该培养基中试管苗 30 d 生根率可达 80% 以上,根数在 8 条左右。

2.4 基质对试管苗移栽成活率的影响

碧螺春茶树生根试管苗在 3 种不同过渡基质中移栽成活率都能达到 85% 以上,长势正常。说明试管苗对移栽基质的适应性较强。

表 1 增殖培养的 $L_9(3^3)$ 正交试验结果与分析

Table 1 Orthogonal design of the culture medium for the proliferation

试验号 Experimental no.	6-BA 浓度 6-BA concentration (mg/L)	NAA 浓度 NAA concentration (mg/L)	蔗糖浓度 Sucrose concentration (%)	增殖率 Proliferation rate
1	1	0.1	3	1.73
2	1	0.2	4	1.77
3	1	0.5	5	1.46
4	2	0.1	4	2.41
5	2	0.2	5	2.23
6	2	0.5	3	1.98
7	5	0.1	5	3.14
8	5	0.2	3	2.89
9	5	0.5	4	2.71

3 结论

本试验围绕优化碧螺春茶树微繁殖技术进行了初步的研究,为碧螺春茶树优质种苗工厂化生产奠定了技术基础。试验分析了外源植物激素对碧螺春茶树组织培养的影响,得到的优化微繁殖组织培养技术参数为:以腋芽为外植体材料,增殖培养基为 MS + 6-BA 5.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L + 5.0% 蔗糖;生根培养基为 1/2MS + IBA 5.0 mg/L + 2.0% 蔗糖。

参考文献:

- [1] 戈佩贞,陈 桦.洞庭碧螺春茶史考及机理探讨[J].茶叶科学技术,2005(3):46-47.
- [2] 季小明,韩国珍,黄争鸣.加强洞庭碧螺春原产地保护[J].江苏农村经济,2006(4):40-41.
- [3] 周 健,成 浩,王丽鸳.茶树组培快繁技术的优化研究[J].茶叶科学,2005,25(3):172-176.
- [4] 方开泰,马长兴.正交与均匀试验设计[M].北京:科学出版社,2001:40-50.
- [5] 曾 亮,蔡利娅,黄建安,等.茶树微繁殖技术的研究进展[J].福建茶业,2006(1):3-6.