

菽北种茶组织培养中培养基的研究

杨艳磊 刘超伟

(平顶山市理工学校,河南平顶山467091)

摘要:本文通过采用基本培养基、诱导培养基和植物激素试验等探索利用菽北种茶外殖体进行快速组织培养的最适培养基。研究发现,用菽北种茶带腋芽的茎段做为外殖体进行组织培养可获得再生植株,并可建立快速无性繁殖系。实验表明,芽增殖最适培养基为1/2MS+BA1.0mg/L+IBA0.2mg/L;生根壮苗最适培养基为1/4MS+BA0.5mg/L+IBA0.1mg/L+Al³⁺0.01mg/L。此外,还探讨了菽北种茶组织培养中褐变问题以及试管苗的移栽。

关键词:菽北种茶;组织培养;培养基

中图分类号S571.1

文献标识码B

文章编号1007-7731(2008)22-101-02

Study on Medium of Tissue Culture of Yabukita

Yang yanlei Liu chaowei

(Science and Technology School of Ping Dingshan, Ping ding shan 467091,China)

Abstract: The clonal propagation of Yabukita is developed through culture of stem with lateral bud. In using MS basal medium with addition of different content ration of plant hormones. The results show that the best proliferation medium is 1/2MS + BA1.0mg/L + IBA0.2mg/L; Induction of root is better for shoots in 1/4MS + BA0.5mg/L + IBA0.1mg/L + Al³⁺0.01mg/L.

Key words: Yabukita; Tissue Culture; medium

菽北种茶是日本国内的优良品种占日本茶叶种植面积的75%。菽北种茶1993年从日本引种到我国,多年栽培表明,菽北种茶长势好、产量高、制作的茶叶品质优,适宜在信阳等地推广种植。日本政府禁止向我国出口种苗,所以我国菽北种茶的繁育问题显得十分必要。目前,国内对该茶繁育方法的研究并不多。袁正仿等研究出一套有效的菽北种茶扦插繁育方法,但该茶的组织培养中培养基的研究鲜有报道。本试验分别以菽北种茶的顶芽、节间和叶片为外殖体,探讨不同取材部位及不同激素对比对诱导、增殖分化和生根壮苗的影响,选择出了菽北种茶的最适诱导、增殖及生根培养基。本实验为菽北种茶的繁育方法研究开辟了新的途径,对菽北种茶的组织培养有一定指导意义。

1 材料和方法

1.1 实验材料 取自信阳罗山藩新乡和浉河区五云二茶场

1.2 实验方法 选取菽北种茶的顶芽、叶片和一年生带腋芽茎段做为外殖体。所有材料均采用自来水冲洗干净,在超净工作台上用70%酒精浸泡1min,然后放在0.1%的HgCl₂溶液消毒3次,时间分别为5min、5min、4min,每次消毒后均使用无菌水冲洗四五次。消毒好的材料放在预先消毒过的滤纸上以除去水分,然后接入诱导培养基中。

1.3 培养条件 基本培养基为MS培养基, pH为5.8,蔗糖含量为3%,琼脂含量为0.75%。接种后材料置于(25±2)℃的培养室内培养,每天光照12h,光照强度约为1 200lx。

2 结果与讨论

2.1 基本培养基与芽苗形成的关系 培养基是决定组织培

养成败的重要因素。实验结果显示,决定培养基效率的因子除激素外还有矿物质。为了确定适合菽北种茶芽苗生长的基本培养基,我们分别采用了MS、N₆和White基本培养基和无机盐,附加相同量的维生素、氨基酸、糖及植物激素,进行了比较试验。实验结果(表1)表明:菽北种茶外殖体在MS培养基中所形成的芽苗数及苗高度均优于其他两种基本培养基,故此后的试验均采用MS做为基本培养基。

表1 基本培养基与芽苗形成的关系

基本培养基	接种数(个)	形成芽苗数(个/块)	苗高度(cm)
MS	30	3.5	2.5
N ₆	30	2.0	1.0
White	30	1.5	1.5

2.2 不同外殖体的诱导情况 在培养基及其他条件相同情况下,为选择合适的外殖体,用顶芽、节间和叶片3种外殖体进行诱导比较试验。结果(表2)表明:由于顶芽在消毒过程中易受损伤,且在以后的培养过程中易褐化,所以诱导率较低。节间和叶片的诱导率都较高。虽然叶片在试验中

表2 不同外殖体的诱导情况

外殖体	诱导率(%)	愈伤组织情况	诱导时间(d)
顶芽	20	嫩绿易褐化	25
节间	100	嫩绿紧密	25
叶片	100	嫩绿紧密易污染	25

诱导较快,但在以后的培养中易污染,主要是叶片比较粗糙,背面有绒毛,不易彻底消毒。因此,节间做外殖体诱导较理想,以后的试验均采用节间做外殖体诱导愈伤组织。

2.3 植物激素BA和IBA对增殖分化的影响 培养基中植物激素的状况,在诱导植物组织形成器官过程中起着重要作用。将菽北种茶外殖体上长出的无菌苗剪下,培养在附加了细胞分裂素BA0.5~2.0mg/L和生长素IBA0.1~0.3mg/L的分化培养基中。培养结果(表3)表明:BA和IBA有明显促进芽苗形成作用,但浓度过高或过低都不利于芽的分化。当BA浓度为0.1mg/L, IBA浓度为0.2mg/L配合使用时,分化率最高,增殖倍数也较大。当BA和IBA浓度继续增大时,虽然增殖倍数还逐渐增大,但是分化率却不变,茎反而逐渐缩短,叶极小。这种分化芽在以后的壮苗培养过程中,叶茎也不易伸长,从而影响了以后的生根培养和移栽。实验结果表明,要既能达到繁殖目的,又能得到壮苗,以BA1.0mg/L+IBA0.2mg/L为宜。另外还发现用1/2MS比MS培养的芽苗要好,可能是MS中所含有的无机离子浓度较高,对芽苗的分化起到一定的抑制作用。

表3 植物激素对芽苗分化的影响

1/2MS	BA (mg/L)	IBA (mg/L)	外殖体 (个)	分化芽 数(个)	分化率 (%)	芽苗增 殖个数	苗高 (cm)	培养天 数(d)
1/2MS	0	0	30	3	10	6	0.5	30
1/2MS	0.5	0.1	30	20	67	60	1.0	30
1/2MS	1.0	0.2	30	27	90	90	2.0	30
1/2MS	1.5	0.25	30	27	90	99	1.0	30
1/2MS	2.0	0.3	30	27	90	120	0.5	30

2.4 生根培养 将高度为1.5cm以上的无根芽苗转到附加不同浓度BA和IBA的MS培养基中诱导生根。实验结果(表4)表明:诱导菽北种茶芽苗生根以1/4MS+BA0.5mg/L+IBA0.1mg/L+Al³⁺0.01mg/L为好,其生根率达到67%,且苗健壮,为移栽成活创造了条件。实验过程中用1/4MS比1/2MS和MS效果都要好。如果在培养基中加入一定量的Al³⁺

表4 激素对生根培养的影响

1/4MS	BA (mg/L)	IBA (mg/L)	接种 株数	生根 株数	生根率 (%)	根数 (条)	根长 (cm)	根生长 情况	培养天 数(d)
1/4MS	0	0	30	0	0	0		细短,有	30
1/4MS	0.2	0.05	30	15	50	2~3	1.5~1.7	愈伤组织	30
1/4MS	0.5	0.1	30	20	67	1~3	1.5~2.0	粗长	30
1/4MS	0.7	0.15	30	10	33	1~2	0.3~0.5	细短,有 愈伤组织	30

对生根有很大作用。实验结果(表5)表明:生根率与Al³⁺的浓度有一定关系, Al³⁺的浓度过高或过低都不利于生根。

(上接87页)

2.8 及时防治病虫害 (1)以举肢蛾为主的果实害虫,采后至第2年5月中旬扩盘、清园、消灭越冬虫卵。6~8月摘除虫果,深埋销毁,减少当年和第2年虫口密度。虫害较重的桃园应于6月中旬至7月成虫羽化期进行树冠喷药消灭当年幼虫。药剂选用高效氯氰菊酯1 500~2 000倍液或苦烟油1 500倍液或高渗苯氧威3 000倍液。

(2)以小吉虫、黄须球小蠹为主的枝芽害虫,4~5月发芽后至成虫飞出前或秋季采果至落叶前结合修剪,彻底去除病虫、干枯枝(带一段活枝),在园外集中销毁。5月下旬至6月上旬成虫羽化盛期,树冠喷施4.5%高效氯氰菊酯1 500~2 000

一定浓度的Al³⁺对生根是必要的,但其生理原因还不清楚。

表5 Al³⁺对生根率的影响

Al ³⁺ (mg/L)	接种数 (株)	生根数 (根)	生根率 (%)
0	30	0	0
0.01	30	10	33
0.02	30	20	67
0.03	30	12	40
0.04	30	8	27

2.5 继代培养 菽北种茶外殖体分化的芽每30d转接1次,转接二三次后将无根苗接入生根培养基中培养。30d左右转接1次,培养三四代后形成完整植株,将获得的完整植株用于试管苗的移栽。

2.6 试管苗的移栽 当试管苗根长2.0cm左右,根数二三条,苗高3~5cm,叶片4~6片时,将瓶移到自然环境下炼苗4d左右易成活。生根小苗从培养瓶中取出,用清水冲洗干净根部的培养基,栽于泥炭土做基质的培养袋中,浇透水,放入塑料大棚内,控制温度25℃左右,湿度90%,20d后移到自然环境中,注意浇水、施肥。菽北种茶试管苗移栽成活率达90%,目前移栽成活的试管苗生长良好。

2.7 褐变问题 植物组织培养中,外殖体常褐变,特别是含酚类物质多的木本植物尤为突出。本实验用2.0g/L的PVP预处理外殖体,并在培养基中加入1g/L的活性炭溶液,拟防外殖体褐变,获得较好效果。这就为菽北种茶组织培养研究中如何阻止褐变的问题提供了经验和改进的路子。至于阻止菽北种茶褐变问题的生理依据还有待于进一步的研究。

3 结论

以菽北种茶的节间做为材料,在附加BA2.0mg/L的MS培养基上,诱导愈伤组织形成的效果最佳。在MS培养基上附加BA1.0mg/L+IBA0.2mg/L,生根效果最佳,并利于试管苗的移栽。当苗高3~5cm,每株根数二三条,根长2.0cm左右时,用泥炭土做基质,试管苗移栽易于成活。

参考文献

[1]陈孟宜.世界名茶的发展体系[J].中国茶叶,1998,(4):12~14.
 [2]袁正仿,孔凡权,远凌威等.菽北茶的组织培养研究[J].信阳师范学院学报,2003,(2).
 [3]高金润.培养基关键因素研究[J].山西林业科技,1998,(4):18~20.

(方 达编,郑丹丹校)

倍液或2.5%溴氰菊酯4 000倍液。

(3)以云斑天牛为主的蛀干害虫,5~7月成虫发生期人工捕捉成虫,集中销毁,6~8月在核桃树或周围杨树上寻找卵槽,砸卵或挖除卵槽,消灭卵和初孵幼虫。7~8月幼虫蛀食木质部时,用铁丝钩出粪屑,再用棉球蘸高效氯氰菊酯加少量煤油的药液塞入虫道,外用黄泥封口。

(4)核桃溃疡病的防治。可采取清除病枝、落叶,刮除树干基部粗皮,涂抹5~10波美度石硫合剂或50%甲基托布津。再于7~8月份喷2次退菌特800倍液,可使病株降低到1%以下。

(徐爱民编,校)