

武夷岩茶大红袍的组织培养与快速繁殖

田奥磊¹, 高俊杰², 李丹丹¹, 刘建福^{1*}, 王明元¹, 徐茂兴³, 张斌⁴

¹华侨大学园艺系, 福建厦门361021; ²泉州市农业局种植业管理站, 福建泉州362000; ³武夷山市茶业局, 福建南平354300; ⁴武夷山市仙茗岩茶厂, 福建南平354300

摘要: 以武夷岩茶大红袍的无菌种胚为外植体, 通过对其胚的诱导、继代增殖及生根诱导培养的筛选, 建立了完整的组织培养的体系。结果表明: 武夷岩茶大红袍生长最简单的诱导培养基为MS+蔗糖30 g·L⁻¹, 诱导率100%; 继代最适培养基为MS+TDZ 0.1 mg·L⁻¹+蔗糖20 g·L⁻¹, 平均增殖系数5.64; 培养基中同时添加2.5 mg·L⁻¹ 6-BA和1.5 mg·L⁻¹ IBA壮苗效果明显; 最佳生根培养基为1/3MS+NAA 2 mg·L⁻¹+IAA 10 mg·L⁻¹+抗坏血酸50 g·L⁻¹+柠檬酸50 g·L⁻¹+蔗糖10 g·L⁻¹, 生根率达80%以上。

关键词: 武夷岩茶; 种胚; 组织培养; 快速繁殖

武夷山的乌龙茶通称为武夷岩茶, 分布在我国福建省武夷山市, 因其独特的生长环境(叶元高和徐斌2009), 选育出多种优良品种(王飞权等2015), 其中以大红袍最为有名, 是全国唯一被列入国家首批非物质文化遗产名录的茶类(周和平2007)。近年来随着人们对健康问题的关注, 武夷岩茶也因其良好的保健作用备受关注, 对武夷岩茶的推广势在必行。组培快繁作为快速繁殖优良品种的重要手段, 是实现武夷岩茶高品质品种大规模生产最简单直接的方式。然而, 对于茶树组织培养的研究虽有不少, 也有部分已经建立起特有品种的快繁体系, 如江苏洞庭碧螺春(易鑫等2008)、福建铁观音(郭玉琼等2008a, b)、海南山苦茶(梁柳等2011)、广西金花茶(黄昌艳等2016)和大果红花油茶(黄雪娟和张桂琴2015)、但不同茶品种之间基因型不同, 生长生存环境差别较大, 组培快繁体系差异显著。本实验采用常规组培方法, 经过多次试验调整, 最终获得了武夷岩茶大红袍的完整植株, 主要解决了茶树组培苗生根难的问题, 为武夷岩茶高品质品种的推广提供了可能。

材料与方法

1 实验材料

本实验选取武夷岩茶大红袍[*Camellia sinensis* (L.) O. Ktze. Dahongpao]的种胚为实验材料, 样品于2015年8月上旬采摘于福建省南平市武夷山市南源岭茶园。

2 实验方法

2.1 武夷岩茶的种胚消毒和萌发

选取颗粒饱满、大小一致的种子, 剥去种皮, 先用无菌水清洗1遍, 再用0.1% HgCl₂分别消毒3和

5 min, 最后漂洗3次。消毒和漂洗过程均伴有轻微震荡, 使得消毒和漂洗更加充分。

将处理过的种胚接种到初代培养基MS+蔗糖30g·L⁻¹上, 每瓶放置1个。30 d后记录污染率和无菌萌发率, 选取长势良好的枝条进行下一步实验。

2.2 武夷岩茶茎段的增殖培养和壮苗培养

以30 d的武夷岩茶无菌实生苗为外植体, 首先切去子叶, 再将种胚萌发所获得的无菌苗切割成1.0~2.0 cm长的枝条, 基部用刀尖切一个伤口, 分别转接到含不同植物生长调节剂(KT 0.1 mg·L⁻¹、6-BA 0.1 mg·L⁻¹、TDZ 0.1 mg·L⁻¹), 附加蔗糖20 g·L⁻¹、琼脂6.5 g·L⁻¹的MS培养基中进行增殖培养。30 d后观察结果, 记录无菌苗的增殖系数、茎段高度以及茎段生长状况。将长势较差的无菌苗转移到不同配比的6-BA和IBA、蔗糖20 g·L⁻¹的MS培养基中进行壮苗培养。

2.3 武夷岩茶无菌苗的生根

选取增殖培养效果较好、生长到2 cm以上的健壮无菌苗进行切割, 将其基部的愈伤组织去除, 然后转接到不同生根培养基[(1) 1/3MS+NAA 2 mg·L⁻¹+IAA 10 mg·L⁻¹, (2) 1/3MS+NAA 2 mg·L⁻¹+IAA 10 mg·L⁻¹+抗坏血酸50 g·L⁻¹, (3) 1/3MS+NAA 2 mg·L⁻¹+IAA 10 mg·L⁻¹+柠檬酸50 g·L⁻¹, (4) 1/3MS+NAA 2 mg·L⁻¹+IAA 10 mg·L⁻¹+抗坏血酸50 g·L⁻¹+柠檬酸50 g·L⁻¹]上, 生根培养基中均附加蔗糖10 g·L⁻¹和琼脂5.5 g·L⁻¹。60 d后记录无菌苗生根数、根长以及根系生长状况。

收稿 2016-11-18 修定 2017-03-20

资助 福建省产业技术联合创新项目(闽发改高技[2014]514号)和泉州科技计划项目(2016N0031和2015N47)。

* 通讯作者(E-mail: jianfu@hqu.edu.cn)。

2.4 培养条件

上述培养在光周期为12 h/12 h (光/暗), 光照强度 $40 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 温度为 25°C , 相对湿度控制在60%的培养条件下进行。

2.5 数据处理及分析

采用Microsoft Excel整理数据, SPSS 17.0软件进行方差分析。污染率=污染的外植体/接种的外植体 $\times 100\%$; 萌发率=萌发的外植体/接种的外植体 $\times 100\%$ 。

实验结果

1 武夷岩茶大红袍无菌外植体的诱导

种胚是武夷岩茶大红袍离体培养的理想外植

体(图1-A), 不同时间 HgCl_2 消毒种胚的污染率均较低, 分别为6.7%和9.3%, 萌发率均为100%。

初代培养中发现, 种胚在抽芽后, 枝条顶端首先长出叶片, 其侧芽则先长出圆球状的绿色物质, 然后慢慢展开形成嫩叶(图1-B)。部分胚表面出现有色的颗粒物(图1-C), 将带有色颗粒物的胚转移培养后, 有色物质逐渐消失(图1-D)。

2 不同细胞分裂素对武夷岩茶大红袍增殖的影响

由表1可知, 单独使用一种细胞分裂素, 对茶树外植体增殖均有效果, 但不同细胞分裂素的影响不同。使用TDZ所得的平均增殖系数可达5.64, 明显大于6-BA的, 甚至比KT的多2倍。使用KT与TDZ所得茎段的平均高度相差不大, 且均高于

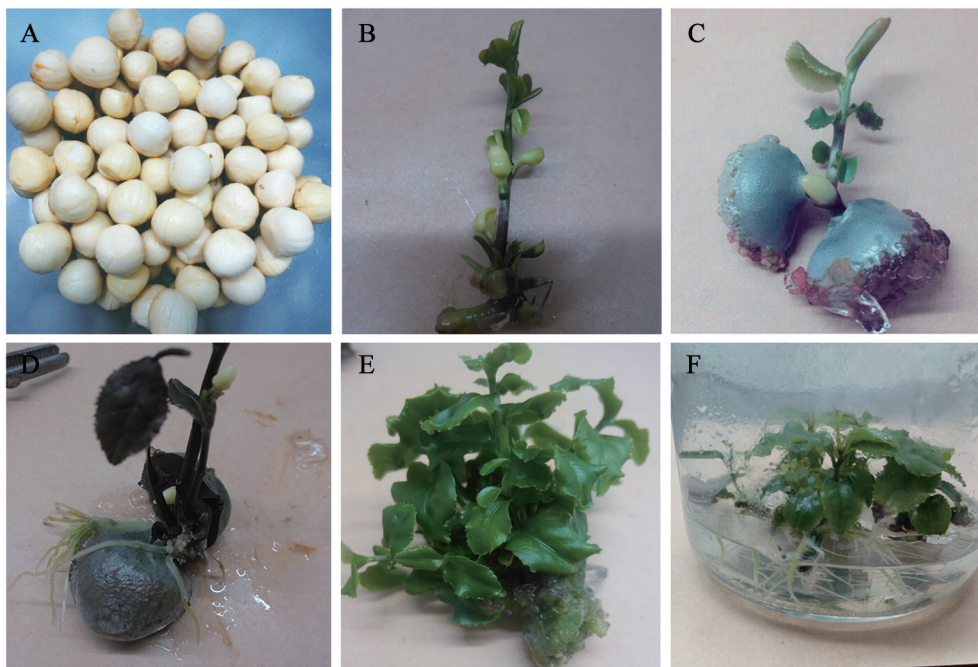


图1 武夷岩茶组织培养与快速繁殖

Fig.1 Tissue culture and rapid propagation of Wuyi rock tea

A: 种胚预处理情况; B和C: 无菌苗初代培养30 d后, 胚的生长情况; D: 有色胚培养20 d生长情况; E: 丛芽壮苗培养20 d生长情况; F: 生根培养60 d生长情况。

表1 不同细胞分裂素对外植体增殖的影响

Table 1 Effects of different cytokinins on the proliferation of explants

生长调节剂	浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	增殖系数	茎段高度/cm	茎段生长状况
KT	0.1	2.32 ^c	3.74 ^b	瘦弱, 叶片少
6-BA	0.1	3.58 ^b	2.88 ^a	粗壮, 叶片较多
TDZ	0.1	5.64 ^{ab}	3.62 ^a	粗壮, 叶片较多

同列不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$), 下表同此。

6-BA, 但使用KT的茎段比较瘦弱, 且叶片较少, 生长状况不良。综合分析, TDZ的增殖效果最好, 因此TDZ更适合武夷岩茶大红袍茎段的增殖培养。

3 不同6-BA和IBA配比对武夷岩茶大红袍壮苗的影响

由于增殖培养的无菌苗部分较瘦弱, 故将这部分茎段接种到壮苗培养基上进行培养, 长势较差的侧芽继续使用培养基(MS+TDZ 0.1 mg·L⁻¹+蔗糖20 g·L⁻¹)增殖, 长势健壮的枝条接种到生根培养基进行下一步实验。

由表2可以看出, 在高6-BA浓度低IBA浓度条件下无菌苗生长健壮, 植株较高, 且有少量增殖; 在低6-BA浓度高IBA浓度条件下植株虽然生长较高, 但相对瘦弱; 而当6-BA:IBA为1:1时, 植株生长健壮, 但苗生长较矮。综合分析, 高6-BA浓度低IBA浓度更有利于武夷岩茶的壮苗生长。

使用壮苗培养基生长后的无菌苗茎高4~5 cm, 茎秆较粗, 生长茂盛, 叶片鲜绿, 基部出现与植株长势成正比的愈伤组织(图1-E)。因此培养基MS+6-BA 2.5 mg·L⁻¹+IBA 1.5 mg·L⁻¹+蔗糖20 g·L⁻¹适宜武夷岩茶的壮苗培养。

表2 不同6-BA和IBA配对外植体壮苗的影响

Table 2 Effects of different proportions of 6-BA and IBA on seedling growth of explants

6-BA浓度/mg·L ⁻¹	IBA浓度/mg·L ⁻¹	生长状况	苗高	增殖数量
2.5	1.5	健壮	较高	少量
1.5	2.5	瘦弱	较高	无
2.0	2.0	健壮	较矮	少量

4 抗坏血酸和柠檬酸对武夷岩茶生根的影响

由表3可知, 无根试管苗在1/3MS+NAA 2 mg·L⁻¹+IAA 10 mg·L⁻¹生根培养基上培养60 d后, 生根率约31.7%; 而抗坏血酸和柠檬酸的添加对武夷岩茶的生根率有了明显的提升, 分别达到56.7%和63.3%。其中, 添加柠檬酸能有效提高无菌苗的平均生根数, 但根长变化不大, 且伴有侧根生长。培养基添加抗坏血酸后, 无菌苗在提高了平均生根数的同时, 也增加了根的平均长度, 但平均生根数不如添加柠檬酸的效果好。同时添加抗坏血酸和柠檬酸各50 g·L⁻¹后, 生根率显著提高到81.7%, 且生根数由2.4增加到7.6, 提升了近2倍, 根长也由1.4增加到3.7, 有了很大幅度的提升(表3和图2), 且根系生长较长, 并伴有侧根, 有利于营养的吸收。

无菌茶树试管苗生根培养基培育60 d后有明

显生根现象, 生根率达80%以上。每株生6~8个根, 根长2~4 cm, 最长可达6 cm, 大部分伴有侧根产生(图1-F)。

讨 论

外植体的选择是组织培养的首要环节, 尽管茎段早已成为组织培养最简单直接的原材料, Seran等(2006)、程柳(2007)等国内外学者也均以茶树茎作为外植体获得无菌植株, 但植株内生菌依旧比较难克服。杨亚萍等(2015)使用发根农杆菌抑菌剂发现, 抑菌剂在有效抑制农杆菌的同时, 显著降低了丛芽增殖率, 且畸形率增加。本实验选取武夷大红袍的叶片、芽尖和种胚作为实验材料, 结果发现叶片和芽尖的污染率特别严重。周国兰等(2011)报道使用夏秋季茶树腋芽以获得再生植株

表3 抗坏血酸与柠檬酸对外植体生根的影响

Table 3 Effects of ascorbic acid and citric acid on rooting of explants

培养基	生根数/条	根长/cm	生根率/%	生根状况描述
1/3MS+NAA 2 mg·L ⁻¹ +IAA 10 mg·L ⁻¹	2.4	1.4	31.7	根较短, 粗, 比较脆
1/3MS+NAA 2 mg·L ⁻¹ +IAA 10 mg·L ⁻¹ +柠檬酸50 g·L ⁻¹	4.5	1.3	63.3	根较短, 细, 有侧根
1/3MS+NAA 2 mg·L ⁻¹ +IAA 10 mg·L ⁻¹ +抗坏血酸50 g·L ⁻¹	3.9	2.1	56.7	根较长, 基部伴有愈伤组织
1/3MS+NAA 2 mg·L ⁻¹ +IAA 10 mg·L ⁻¹ +抗坏血酸50 g·L ⁻¹ +柠檬酸50 g·L ⁻¹	7.6	3.7	81.7	根较长, 细, 伴有侧根

时污染严重。相比较而言,种胚生长在一个相对封闭的无菌环境中,只是外表皮与外界短暂的接触,不易被污染。付姝颖等(2015)在对猴耳环的组织培养中将种子去种皮消毒,污染率明显下降,且证实种胚对汞的耐受力更强。因此本研究只对其进行简单的消毒,并未出现大量污染状况。

初代培养中,培养基(MS+蔗糖 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)没有添加任何其他激素,而无菌苗的长势很好,其原因可能是种胚子叶为胚初期生长提供生长所必需的营养元素,这与付姝颖等(2015)的研究结果一致。侧芽出现圆球状绿色物质后展开形成嫩叶,可能是茶树叶片的生长方式,这种方式并未在其他文献报道中出现。种胚周围出现的有色颗粒物,形状类似于愈伤组织,而陈菁(2008)在对武夷名丛的离体培养中也出现了同样的物质,称其为“红色愈伤”,笔者猜测有色物质可能与外植体本身有关,因为在其他地区茶树研究中并未报道此现象,该物质具体是什么还有待进一步研究。TDZ作为一种高效植物调节剂被广泛应用于植物组织培养过程中,徐晓峰和黄学林(2003)在对TDZ植物激素的研究中表明它具有生长素和细胞分裂素的双重作用。张铁和万京(2004)、王鑫和孔祥生(2014)分别在对勃氏甜龙竹和流苏树的研究也表明使用一定浓度的TDZ可显著增加芽的增殖系数及效果。

对于茶树的组培快繁体系建立,生根是较为困难的一步。虽有不少研究对茶树的组培生根做了研究,但均未建立完整的组培快繁体系,茶树的种植依旧以扦插为主,对扦插苗基质的改良更容易使苗生根(蔡冬元等2016)。大多数学者认为在诱导和增殖过程可采用全量的大量元素,而生根过程应采用半量的大量元素,李金英等(2013)在对组培苗生根的影响因素中也指出,适当减少培养基中营养成分对生根有明显促进作用,这可能是由于MS培养基的总盐含量较高,不适宜某些木本植株的生长(梁柳等2011)。Fukaki等(2005)使用模式植物拟南芥研究其生根机制时发现,外源NAA的使用可以促进内源IAA的形成,更有利于植物生根。一般生根培养基会加入适量的活性炭来模拟植株的生存环境,以便植株正常生根,如阳翠等(2016)就在蓝莓的生根培养基中加入 $300\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的活性炭,不仅缩短了生长周期,还提高了其生根

率。但也有不少研究发现,活性炭是一种较强的无极吸附剂,在吸附了不少有害物质时,也吸附植株所需的营养物质抑制其生长(涂俊凡等2014;曾文丹等2015),胡洪沙和唐琳(2012)在对枇杷花组培研究中加入活性炭也未能使其生根,可见是否添加活性炭与植物本身对其它物质的抗性有关。本实验在吸取前人经验的基础上,在生根培养基中加入了柠檬酸和抗坏血酸,柠檬酸不仅为茶苗提供了更为适应的酸性条件,并具有杀菌的效果(马英姿等2015);抗坏血酸则可以促进吸收,防止褐化(付崇毅等2016),更有利于茶苗的生长。黄晓娜等(2014)尝试了组培苗管外生根,确定该方法有一定的可行性,认为原因可能是培养基的透气性差。实验过程就此问题做了调整,减少琼脂量,使培养基较软,从而增加培养基透气性,确定了最终的生根培养基。

本实验立足于福建省乌龙茶产业,采用大红袍种胚作为外植体,建立完整的武夷岩茶离体培养和快繁体系,为武夷岩茶优良种质推广应用的快繁提供理论基础,也为中国乌龙茶优良品种选育研究提供了技术支持。

参考文献

- Cai DY (2015). Effects of “0.618 gold cup” and different substrates on rooting of tissue culture seedling in *Camellia oleifera*. *Non-wood For Res*, 33 (1): 123–126 (in Chinese with English abstract) [蔡冬元(2015). “0.618黄金杯”和不同基质对油茶组培苗生根的影响. *经济林研究*, 33 (1): 123–126]
- Chen J (2008). In vitro culture and analysis of changes of endogenous hormones in Wuyimingcong cultivar group of *Camellia sinensis* L (Master’s thesis). Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University (in Chinese with English abstract) [陈菁(2008). 武夷名丛离体培养及其内源激素变化分析(硕士论文). 福州: 福建农林大学]
- Cheng L (2007). Study on the technique system of micropropagation in vitro of tea plant and variety about organic ingredient between test tube plant and outside plant (Master’s thesis). Yaan: Sichuan Agricultural University (in Chinese with English abstract) [程柳(2007). 茶树的茎段快繁与组培苗内含物变化的研究(硕士论文). 雅安: 四川农业大学]
- Fu CY, Jiang W, Wang JG, Du JW (2016). Study on preventing browning and vitrification for strawberry in stem-tip culture. *J North Agric*, 44 (1): 46–51 (in Chinese with English abstract) [付崇毅, 姜伟, 王建国, 杜金伟(2016). 草莓茎尖组织培养防褐化及玻璃化研究. *北方农业学报*, 44 (1): 46–51]
- Fu SY, Pan CM, Liu LT, Zhang JY, Su JX, Liu YQ, Yang SS, Zou GG (2015). Tissue culture and rapid propagation of medicinal plant

- Pithecellobium chypearia*. Plant Physiol J, 51 (12): 2195–2200 (in Chinese with English abstract) [付姝颖, 潘超美, 刘良婷, 张家瑛, 苏家贤, 柳亚青, 杨森山, 邹国光(2015). 药用植物猴耳环的组织培养与快速繁殖. 植物生理学报, 51 (12): 2195–2200]
- Fukaki H, Okushima Y, Takasa M (2005). Regulation of lateral root formation by auxin signaling in *Arabidopsis*. Plant Biotechnol, 22 (5): 393–399
- Guo YQ, Lai ZX, Lv LX, Lin TH, Chen J (2008a). *In vitro* preservation of germplasm of oolong tea trees (*Camellia sinensis*) in Fujian I. Establishment of aseptic lines from adult stem nodes. J Fujian Agric Forest Univ-Nat Sci, 37 (6): 587–591 (in Chinese with English abstract) [郭玉琼, 赖钟雄, 吕柳新, 林腾辉, 陈菁(2008a). 福建乌龙茶种质离体保存研究I. 成年茎段无菌系建立. 福建农林大学学报(自然科学版), 37 (6): 587–591]
- Guo YQ, Lai ZX, Lv LX, Lin TH, Chen J (2008b). *In vitro* preservation of germplasm of oolong tea trees (*Camellia sinensis*) in Fujian II. Subculturing multiplication and rooting formation of aseptic lines from adult stem nodes. Chin Agric Sci Bull, 24 (10): 390–395 (in Chinese with English abstract) [郭玉琼, 赖钟雄, 吕柳新, 林腾辉, 陈菁(2008b). 福建乌龙茶种质离体保存研究II-无菌系继代增殖与生根. 中国农学通报, 24 (10): 390–395]
- Hu HS, Tang L (2012). A primary study on tissue culture of *Camellia sinensis* cv. Chongqinpipacha. North Hortic, (5): 122–124 (in Chinese with English abstract) [胡洪沙, 唐琳(2012). 崇庆枇杷茶组织培养初步探究. 北方园艺, (5): 122–124]
- Huang CY, Zhou ZG, Wang XG, Lu JS, Guan SK, Bu ZY (2016). Seed germination and rapid propagation of *Camellia nitidissima*. J South Agric, 47 (5): 611–616 (in Chinese with English abstract) [黄昌艳, 周主贵, 王晓国, 卢家仕, 关世凯, 卜朝阳(2016). 金花茶种子萌发与快繁技术研究. 南方农业学报, 47 (5): 611–616]
- Huang XJ, Zhang GQ (2015). Rapid propagation technology and cultural techniques of *Camellia*. Beijing Agric, (7): 54–55 (in Chinese with English abstract) [黄雪娟, 张桂琴(2015). 大果红花油茶快繁技术及栽培要点. 北京农业, (7): 54–55]
- Huang XN, Ye PM, Huang LD, Luo YY (2014). Study on non-tube rootage for golden camellia's tissue culture plantlet. Anhui Agric Sci, 42 (18): 5751–5752 (in Chinese with English abstract) [黄晓娜, 叶品明, 黄连冬, 罗燕英(2014). 金花茶组培苗试管外生根研究. 安徽农业科学, 42 (18): 5751–5752]
- Li JY, Zhao CL, Zhang ZD, Li YD, Wu L (2013). Factors influencing rooting of two ribes *in vitro*. Jilin Agric Sci, 38 (2): 75–77, 96 (in Chinese with English abstract) [李金英, 赵春莉, 张志东, 李亚东, 吴林(2013). 两种茶藨属植物组培苗生根的影响因素. 吉林农业科学, 38 (2): 75–77, 96]
- Liang L, Wang HF, Liu JP (2011). The study on culture and rapid propagation of *Mallotus furetianus*. Chinese Agric Sci, 27 (28): 139–144 (in Chinese with English abstract) [梁柳, 王和飞, 刘进平(2011). 山苦茶组织培养与快速繁殖研究. 中国农学通报, 27 (28): 139–144]
- Ma YZ, Liu JH, Xu H, Liu F (2015). *In vitro* culture of *Huperzia ser-rata*. Plant Physiol J, 51 (4): 465–470 (in Chinese with English abstract) [马英姿, 刘江海, 许欢, 刘芬(2015). 蛇足石杉的离体培养. 植物生理学报, 51 (4): 465–470]
- Seran TH, Hirimburegama K, Gunasekare MTK (2006). Direct somatic embryogenesis from explants obtained from *in vitro* germinated embryonic axes of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze. J Hortic Sci, 81 (5): 883–890
- Tu JF, Qin ZQ, Li XM, Yang FC, Zhu HY, Wu T (2014). Tissue culture and micropropagation of blueberry duke. Hubei Agric Sci, 53 (24): 6134–6137 (in Chinese with English abstract) [涂俊凡, 秦仲麒, 李先明, 杨夫臣, 朱红艳, 伍涛(2014). 都克蓝莓组织培养育苗技术研究. 湖北农业科学, 53 (24): 6134–6137]
- Wang FQ, Feng H, Wang F, Zhang JM, Hong YC, Zheng YD, Luo SC (2015). Diversity analysis of biochemical components of 42 Wuyi Mingcong tea germplasms. J Plant Genet Resour, 16 (3): 670–676 (in Chinese with English abstract) [王飞权, 冯花, 王芳, 张见明, 洪永聪, 郑瑜丹, 罗盛财(2015). 42份武夷名丛茶树资源生化成分多样性分析. 植物遗传资源学报, 16 (3): 670–676]
- Wang X, Kong XS (2014). Tissue culture and rapid propagation of *Chionanthus retusus*. Plant Physiol J, 50 (10): 1510–1514 (in Chinese with English abstract) [王鑫, 孔祥生(2014). 流苏树的组织培养和快速繁殖. 植物生理学报, 50 (10): 1510–1514]
- Xu XF, Huang XL (2003). TDZ: An efficacious plant growth regulator. Bull Bot, 20 (2): 227–237 (in Chinese with English abstract) [徐晓峰, 黄学林(2003). TDZ一种有效的植物生长调节剂. 植物学通报, 20 (2): 227–237]
- Yang C, Wang J, Dong SW, Deng L, Chen K.(2016)The effect of different culture media on the rooting of blueberry shoots *in vitro*. Plant Physiol J, 52 (9): 1438–1442 (in Chinese with English abstract) [阳翠, 王军, 董顺文, 邓岚, 陈昆(2016). 培养基组分对蓝莓组培苗瓶内生根的影响. 植物生理学报, 52 (9): 1438–1442]
- Yang YP, Li YL, Liang YR, Lu JL, Zheng XQ (2015). Antibiotics inhibition to *Agrobacterium Rhizogenes* and effect to tea multiple shoots. J Tea Sci, 35 (5): 437–442 (in Chinese with English abstract) [杨亚萍, 李永兰, 梁月荣, 陆建良, 郑新强(2015). 发根农杆菌抑制剂的抑菌效果及对茶组培苗丛生芽的影响. 茶叶科学, 35 (5): 437–442]
- Ye YG, Xu B (2009). The present situation and development of tea industry in Wuyishan City. China Tea, (6): 37–38 (in Chinese) [叶元高, 徐斌(2009). 浅谈武夷山市茶产业发展的现状和发展. 中国茶叶, (6): 37–38]
- Yi X, Wan ZG, Gu FG, Shen AY, Song WP, Sun BY, Yang ZX (2008). Micropropagation of tea tree of Biluochun. Jiangsu J Agric Sci, 24 (1): 95–96 (in Chinese with English abstract) [易鑫, 万志刚, 顾福根, 沈爱英, 宋卫平, 孙丙耀, 杨忠星(2008). 碧螺春茶树微繁殖技术研究. 江苏农业学报, 24 (1): 95–96]
- Zeng WD, Lu LY, Xie XY, Yan HB (2015). Test-tube cultivation technology for strong cassava plantlets. J South Agric, 46 (10): 1750–1755 (in Chinese with English abstract) [曾文丹, 陆柳英, 谢向誉, 严华兵(2015). 木薯组培苗壮苗生根技术研究. 南方农业学报, 46 (10): 1750–1755]
- Zhang T, Wan J (2004). The organizational culture and quick proliferate propagation of *Dendrocalamus brandisii*. J Yunnan Nationalities Univ-Natl Sci, 13 (3): 203–206 (in Chinese with English abstract) [张铁, 万京(2004). 勃氏甜龙竹的组培快繁. 云南民族大学学报(自然科学版), 13 (3): 203–206]

Zhou GL, Huang YF, Zhao HF, Liu XX, He P (2011). The study on the technology of the rapid propagation by tissue culture of the good variety of tai tea in Meitan. *Guizhou Tea*, 39 (2): 19–20 (in Chinese with English abstract) [周国兰, 黄燕芬, 赵华富, 刘晓霞, 何萍(2011). 湄潭苔茶良种组培快繁技术初探. 贵州茶叶,

39 (2): 19–20]

Zhou HP(2007). The First Batch of National Intangible Cultural Heritage List. Beijing: Culture and Arts Publishing House (in Chinese with English abstract) [周和平(2007). 第一批国家级非物质文化遗产名录图典. 北京: 文化艺术出版社]

Tissue culture and rapid propagation of *Camellia sinensis* Dahongpao

TIAN Ao-Lei¹, GAO Jun-Jie², LI Dan-Dan¹, LIU Jian-Fu^{1*}, WANG Ming-Yuan¹, XU Mao-Xing³, ZHANG Bin⁴

¹Department of Horticulture, Huaqiao University, Xiamen, Fujian 361021, China; ²Quanzhou Municipal Bureau of Agriculture Planting Station, Quanzhou, Fujian 362000, China; ³Wuyishan Mncipal Bureau of Tea Industry, Nanping, Fujian 354300, China;

⁴Tea Factory of Xianmingyan in Wuyishan County, Nanping, Fujian 354300, China

Abstract: The aseptic embryos of *Camellia sinensis* Dahongpao were used as explants, and the whole tissue culture system was established through the selection of embryo induction, subculture and root induction culture. The results showed that the optimum induction medium was MS+sucrose 30 g·L⁻¹ and the induction rate was 100%. The optimal medium for subculture was MS+TDZ 0.1 mg·L⁻¹+sucrose 20 g·L⁻¹, the average increment coefficient was 5.64. The effect of 2.5 mg·L⁻¹ 6-BA and 1.5 mg·L⁻¹ IBA on seedling growth was obvious. The optimal rooting medium was 1/3MS+NAA 2.0 mg·L⁻¹+IAA 10.0 mg·L⁻¹+ascorbic acid 50 g·L⁻¹+citric acid 50 g·L⁻¹+sucrose 10 g·L⁻¹+agar 5.5 g·L⁻¹, the rooting rate was more than 80%.

Key words: Wuyi rock tea (*Camellia sinensis* Dahongpao); seed embryo; tissue culture; rapid propagation

Received 2016-11-18 Accepted 2017-03-20

This work was supported by the Joint Innovation Project of Fujian Industrial Technology (Grant No. [2014]514) and Science and Technology Plan Projects of Quanzhou (Grant Nos. 2016N0031 and 2015N47).

*Corresponding author (E-mail: jianfu@hqu.edu.cn).