

“腰楼大葱”组织培养技术及田间对比研究

李文峰, 张晓慧, 张书 (阜阳市农业科学院, 安徽阜阳 236065)

摘要 [目的]筛选最佳浓度 NAA“腰楼大葱”生根培养基,比较组培苗和非组培苗的优劣。[方法]以“腰楼大葱”茎尖为外植体材料,接种到不同浓度 NAA 生根培养基上,将获得的组培苗与非组培苗进行田间对比试验。[结果]生根壮苗最佳 NAA 浓度为 0.10 mg/L;组培苗与非组培苗的直立叶数和老叶个数均存在显著差异;非组培苗的平均倒伏叶数为 6.40 片,组培苗仅有 3.29 片,且存在极显著差异。[结论]“腰楼大葱”组培苗商品性明显优于非组培苗。

关键词 大葱;组织培养;倒伏叶

中图分类号 S633.1 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2021)11-0100-02

doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2021.11.027



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Tissue Culture Technique and Field Comparative Study of ‘Yaolou scallion(*Allium fistulosum*)’

LI Wen-feng, ZHANG Xiao-hui, ZHANG Shu (Fuyang Academy of Agricultural Sciences, Fuyang, Anhui 236065)

Abstract [Objective] To select the best concentration of NAA ‘Yaolou scallion’ rooting medium, the advantages and disadvantages of tissue culture and non-tissue culture seedlings were studied. [Method] Shoot tips of ‘Yaolou scallion’ were used as explants and cultured on different concentrations of NAA rooting medium. The tissue culture seedlings and non-tissue culture seedlings were compared in the field. [Result] The results showed that the optimum concentration of NAA was 0.10 mg/L, the number of erect leaves and the number of old leaves were significantly different between tissue-cultured and non-tissue-cultured plantlets, the average number of lodging leaves of non-tissue-cultured plantlets was 6.40, and that of tissue-cultured plantlets was only 3.29. There was a significant difference in the average number of lodging leaves between non-tissue culture seedlings and tissue culture seedlings. [Conclusion] The commercial quality of tissue-cultured plantlets was better than that of non-tissue-cultured plantlets.

Key words *Allium fistulosum*; Tissue culture; Lodging leaf

葱起源于半寒地带,喜冷凉不耐炎热,原产自我国。我国各地广泛栽培,主要作为蔬菜食用,鳞茎和种子亦入药。葱可分为普通大葱、分葱、胡葱和楼葱。“腰楼大葱”为分葱,葱白为纯白色,具有叶色浓、辣味淡、品质佳的特点。栽培历史可上溯至明清时期,栽培地点紧邻阜阳市颍河河畔,土地肥沃,适宜大葱种植,家家户户不仅门前屋后都种植大葱,还有部分大户专业化种植大葱几十年,不仅行销周边地区,还远销至江苏、河南等地。除夏季外,“腰楼大葱”在初夏、秋季、初冬均可收获,是当地群众重要的经济收入来源。但是多年的种植,种苗携带的病菌逐渐增多,产量下降,品质降低,收益骤减。笔者以“腰楼大葱”为试材,对其茎尖进行组织培养及离体再生,以期繁育出脱毒种苗提供基础。

1 材料与方

1.1 试验材料 供试品种取自安徽省颍上县腰楼村大葱种植基地。以“腰楼大葱”嫩芽为外植体材料。

1.2 试验地点 于 2016 年 11 月至 2020 年 3 月,在阜阳市农业科学院生物工程研发中心进行试验。

1.3 试验方法

1.3.1 组织培养。将大葱嫩芽先用清水清洗,切除基部受伤部分,用适量洗洁精浸泡 15 min,再用流水冲洗 20 min;然后在超静工作台上先用 75%乙醇消毒 10 s,0.2% HgCl₂ 消毒 10 min,再用无菌水冲洗多次;在显微镜下挑取大葱嫩芽茎尖端部分,以 0.2~0.4 mm 最为合适;接种到诱导培养基(MS+

BA 1.00 mg/L+NAA 0.10 mg/L+GA₃ 0.05 mg/L)上,30 d 后进行扩大培养(培养基为 MS+ BA 1.00 mg/L+NAA 0.05 mg/L)。

NAA 浓度梯度设为 0.05、0.10 和 0.30 mg/L,在光、暗环境下分别培养,进行生根培养基筛选试验。

选择 NAA 最适浓度培养基接种,在 12h 光/12h 暗、平均温度 22℃ 条件下培养 30 d,从瓶装组培苗中,散点式选择 9 瓶组培苗,测定每瓶平均生根数、平均根长、平均叶片数、平均叶长。

1.3.2 田间对比。选择根长达到 2 cm、长势健壮的组培苗进行炼苗,组培苗经过炼苗和扩繁,形成一定基数的壮苗。随后,以非组培苗为对照,进行田间对比试验。设 3 次重复,试验连续进行 2 年。

1.3.3 数据分析。试验数据均采用 Excel 及 DPS 数据处理系统进行整理分析。

2 结果与分析

2.1 NAA 浓度对生根的影响 由表 1 可知,NAA 浓度为

表 1 生根培养基对“腰楼大葱”组培苗生根的影响

Table 1 Effect of rooting medium on rooting of tissue culture seedlings

NAA 浓度 NAA concentration mg/L	接种数 Inoculations number 个	光、暗处理 Light and dark processing	生根苗数 Number of rooted seedlings 个	生根率 Rooting rate/%	平均根数 Mean radical 条
0.05	30	光	14	46.67	1.5
0.05	30	暗	16	53.33	1.6
0.10	30	光	24	80.00	2.6
0.10	30	暗	25	83.33	2.7
0.30	30	光	16	53.33	2.0
0.30	30	暗	18	60.00	2.1

基金项目 2017 年安徽省农业科技创新项目“腰楼大葱规范化种植技术与推广”。

作者简介 李文峰(1978—),男,安徽阜阳人,高级农艺师,硕士,从事生物技术及遗传育种研究。

收稿日期 2020-08-12;修回日期 2020-10-12

0.10 mg/L时,生根苗数均在 20 个以上,光、暗条件下分别为 24、25 个;生根率最高,分别为 80.00%、83.33%;平均根数均达到 2.5 以上,分别为 2.6、2.7 条。可见,该条件下的生根效果最好,为最合适的培养条件,且光、暗环境处理之间无明显差异。

2.2 组培苗生长情况 随机选择 9 瓶进行比较,平均根数 4.22 个,平均根长 2.38 cm,平均叶数 4.89 片,平均叶长 5.23 cm。利用 DPS 软件采用 Tukey 法对数据进行分析比较,②号瓶的各项指标较好,⑤号较差,存在较明显差异(表 2)。

2.3 组培苗与非组培苗田间对比 组培苗直立叶数平均达到 14.48 片,非组培苗只有 11.08 个。组培苗倒伏叶数平均 3.29 片,非组培苗倒伏叶数是组培苗的 2 倍,达到 6.40 片。组培苗老叶数平均 2.77 片,非组培苗为 4.19 片。分蘖数、葱白长度、总长度和重量平均值差别不大(表 3)。为进一步揭示各组之间差异显著性,利用 DPS 软件采用 Tukey 法对数据进行分析比较,结果显示组培苗与非组培苗的直立叶数和老叶数均存在显著性差异,倒伏叶数存在极显著差异,分蘖数、

葱白长度、总长度和重量均无显著性差异。

表 2 “腰楼大葱”组培苗生长状况

Table 2 Growth condition of ‘Yaolou scallions’ in tissue culture

瓶编号 Bottle number	生根数 Root number 个	平均根长 Root length cm	叶片数 Leaf number 个	平均叶长 Leaf length cm
①	6 a	2.51 c	6 b	3.83 c
②	7 a	6.54 a	6 b	9.17 a
③	4 b	1.56 c	4 b	6.75 b
④	7 a	3.22 b	8 a	5.38 b
⑤	2 b	1.57 c	3 b	3.00 c
⑥	2 b	1.49 c	2 c	4.00 c
⑦	2 b	1.53 c	3 b	6.67 b
⑧	2 b	1.54 c	3 b	5.33 b
⑨	6 a	1.48 c	9 a	2.95 d
平均值 Mean	4.22	2.38	4.89	5.23

注:同列不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著

Note: Different lowercase letters in the same column showed significant difference at 0.05 level

表 3 “腰楼大葱”组培苗和非组培苗 7 种性状比较

Table 3 Comparison of 7 characters between tissue-cultured and non-tissue-cultured seedlings of ‘Yaolou scallions’

处理 Treatment	直立叶数 Number of upright leaves//片	倒伏叶数 Number of lodging leaves//片	老叶数 Old Leaf number//片	分蘖数 Number of tillers//个	总长度 Total length cm	葱白长度 Scallion length// cm	重量 Weight g
组培 Tissue Culture	14.48 aA	3.29 bB	2.77 bA	2.35 aA	64.55 aA	14.38 aA	242.50 aA
非组培 Non-tissue culture	11.08 bA	6.40 aA	4.19 aA	3.66 aA	60.36 aA	14.32 aA	223.67 aA

注:同列不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著,不同大写字母表示在 0.01 水平差异极显著

Note: Different lowercase letters in the same column indicated difference at 0.05 level, and different capital letters in the same column indicated difference at 0.01 level

3 讨论

(1) 田间试验数据显示,“腰楼大葱”组培苗与非组培苗的直立叶数和老叶数均存在显著差异,倒伏叶数存在极显著差异;分蘖数、葱白长度、总长度和重量无显著性差异。综合分析,组培苗明显健壮,多直立不易倒伏,且老叶少,商品性明显优于非组培苗。从技术角度来讲,可大力推广使用组培苗。但是,组培苗的实际生产投入较大,农户不易进行原始苗的繁殖。

(2) 该研究选用的外植体材料是“腰楼大葱”的茎尖,关于大葱茎尖的组织培养,陈典等^[1-2]以章丘大葱茎尖为外植体,对大葱茎尖脱毒苗的培养和增殖技术进行了研究。张松等^[3]利用分蘖茎尖成功诱导了体细胞胚胎发生。关于大葱不同外植体离体培养再生主要利用的外植体还有种子^[4-5]、子叶^[6]、幼叶^[5,7]、根^[5,8]、花蕾^[9-11]、成熟胚^[12-13]和花序轴^[14],不同材料、不同外植体对其愈伤率的影响很大。

(3) 组织培养过程中,发现了一些问题值得思考。例如,接种时,如果根部出现在培养基上方,未接触到培养基,会导致根变短,梢头变黄,枯死。若接种单株,则根较长,叶长而粗壮,如果是丛生株,则根细弱,叶片较多但细弱。因此,在接种时要保持根朝下生长,每瓶的接种量不宜过少,也不宜过多,以 4~6 个最优。组培苗中 1 株出现开花现象,可能是组培苗受到激素的影响,到生长后期,该组培苗植株明显变小,说明生殖生长影响营养生长。

参考文献

- [1] 陈典,黄晓梅,姜玉东,等. 大葱茎尖脱毒苗培养及增殖技术的研究[J]. 园艺学报,2004,31(5):673-675.
- [2] 黄晓梅,陈典,梁艳,等. 热处理对大葱茎尖脱毒效果的影响[J]. 东北农业大学学报,2005,36(3):306-309.
- [3] 张松,李纪蓉,李滨,等. 分蘖组织培养体细胞胚胎发生的研究[J]. 园艺学报,1997,24(3):264-268.
- [4] 谢芝馨,张玉喜,于元杰. 大葱组织培养中玻璃苗特性研究[J]. 西北植物学报,2004,24(11):2146-2149.
- [5] 杨俊杰,谭伟,彭金环,等. 章丘大葱再生体系的建立及组培外植体的选择[J]. 云南农业大学学报,2008,23(4):571-575.
- [6] 穆春华. 大葱组织培养与种质亲缘关系分析[D]. 泰安:山东农业大学,2002.
- [7] 张松,张启沛. 利用大葱幼叶进行组织培养微繁殖的研究[J]. 园艺学报,1995,22(2):161-165.
- [8] SANGLARD N A, AMARAL-SILVA P M, SATTTLER M C, et al. From chromosome doubling to DNA sequence changes: Outcomes of an improved *in vitro* procedure developed for allotriploid “Hibrido de Timor” (*Coffea arabica* L. × *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2017, 131(2): 223-231.
- [9] 张松,张启沛. 大葱 (*Allium fistulosum* L.) 花蕾培养再生植株的研究[J]. 山东农业大学学报,1994,25(3):277-282.
- [10] IBRAHIM A M. Haploid induction of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.), okra (*Abelmoschus esculentus* L.) and spring onion (*Allium fistulosum* L.) using anther, ovary and ovule cultures [D]. Kelantan, Malaysia; Faculty of Agro-Based Industry, University Malaysia Kelantan, 2016: 11-26.
- [11] IBRAHIM A M, KAYAT F B, SUSANTO D, et al. Haploid induction in spring onion (*Allium fistulosum* L.) via gynogenesis [J]. Biotechnology, 2015, 15(1/2): 10-16.
- [12] 盛艳萍,杨建平,齐宪磊,等. 大葱成熟胚离体培养植株再生[J]. 生物技术, 2004, 14(3): 54-55.
- [13] 宗红,陈运起,王秀峰,等. 大葱成熟胚培养再生植株激素浓度及配比的研究[J]. 山东农业科学, 2006, 38(5): 23-25.
- [14] 李娜,贾俊香,杨国栋,等. 大葱花序轴组织培养初步研究[J]. 园艺与种苗, 2019, 39(12): 1-2, 58.