

The Effect of Various Subculture Times on Plant Traits and Transplanting Survival Rate of Wine Grape Cultivar “Heibinnuo”

Fenghong Lang¹, Jinzhu He¹, Huiping Guo², Guihe Yang¹, Yanqin Ren¹, Bin Zhou¹, Hairong Huang¹, Lei Zhang¹

¹Ningxia Grape Plantlet Engineering and Technology Research Center, Yinchuan

²Nningxia State Farm Xixiawang Industry Co., Ltd., Yinchuan

Email: langfh2011@163.com

Received: Jun. 23rd, 2014; revised: Jul. 20th, 2014; accepted: Jul. 25th, 2014

Copyright © 2014 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

In this study, test-tube plantlets of three vegetatively propagated lines from wine grape cultivar “Heibinnuo” were selected as plant materials to investigate the effects of subculture times on plant traits and transplanting survival rate of various vegetatively propagated lines. The results indicated that with the increase of subculture times and subculture prolonging three vegetatively propagated lines from wine grape cultivar “Pinot Noir” maintained the original plant traits of the cultivar in leaf shape, leaf color and shoot buddy etc. Subculture times have no effects on plantlet rate and survival rate. Therefore, we proposed that “cutting culture method” does not affect micro-propagation characteristics and plant life vigor of wine grape cultivars.

Keywords

Wine Grapes, Micro-Propagation, Subculture Times, Plant Traits, Transplanting Survival Rate

不同继代次数对酿酒葡萄黑比诺植株性状和移栽成活率的影响

郎凤红¹, 何金柱¹, 郭惠萍², 杨贵荷¹, 任彦青¹, 周彬¹, 黄海蓉¹, 张蕾¹

¹宁夏葡萄苗木工程技术研究中心, 银川

²宁夏农垦西夏王实业有限公司, 银川

Email: langfh2011@163.com

收稿日期: 2014年6月23日; 修回日期: 2014年7月20日; 录用日期: 2014年7月25日

摘要

以酿酒葡萄黑比诺三个营养系试管苗为试验材料, 研究了不同继代次数对不同营养系植物形态学和移栽成活率的影响。结果表明, 随着继代次数和继代时间的增加, 酿酒葡萄黑比诺试管苗不同营养系在叶形、叶色、枝芽等植物学形态上仍保持该品种的原有的特性; 继代次数对成苗率和移栽成活率均无影响。因此, “节培法”继代不影响酿酒葡萄品种的繁殖特性和植株生活力。

关键词

酿酒葡萄, 微繁殖, 继代次数, 植株特性, 移栽成活率

1. 引言

近年来我国西部酿酒葡萄产业发展很快, 这里多数地区, 气候干燥, 昼夜温差大, 日照充足, 土壤呈沙性, 富含钙质, 极有利于葡萄根系的生长, 生产出的葡萄糖酸比适合, 适合酿酒葡萄的生产。采前两月雨量稀少, 病虫害少, 生产的葡萄是真正的绿色食品。世界和全国公认我国西部是生产优质高档葡萄酒原料较理想的地区, 现东部一些葡萄酒企业纷纷到甘肃、宁夏和新疆等地建立原料基地, 这些省区都把酿酒葡萄产业列为优势产业, 要做大做强这一优势产业[1] [2], 需一批优良酿酒葡萄营养系和脱毒苗木, 而常规方法难以满足, 应用近代生物技术——试管繁殖, 是解决这一问题的最有效途径[3]-[6], 但葡萄离体快繁能否保持原良种特性, 是否随继代次数的增加, 植株生活力下降, 有关此这方面报导较少。周万海等报导了红提葡萄试管苗继代 2 代、12 代、24 代、60 代后对植株性状和遗传稳定性没有影响[7]。曹孜义报道一些鲜食葡萄品种, 随继代次数的 48~80 代, 经 6~8 年试管培养, 未发现其增殖倍数下降, 但经继代培养 5 年移栽后, 成活率略有下降, 为慎重起见, 建议超过 5 年的应重新从优株取材[3], 但有关酿酒葡萄不同营养系和继代次数对植株性状和移栽成活率影响尚未见有报道[3] [5] [6]。为此, 本文对酿酒葡萄黑比诺试管苗, 不同营养系、不同继代次数的该酿酒葡萄品种的植物形态学和移栽成活率做以报道, 为酿酒葡萄试管苗能否长期继代繁殖提供一定参考。

2. 材料与方法

2.1. 试验材料

黑比诺(Heibinnuo) (此品种不清是什么营养系)代号: “比”, 2010 年 6 月取自兰州市安宁区农业科学实验站; 黑比诺 777 代号: “七”、黑比诺 292 代号: “九”, 2012 年 7 月取自甘肃省张掖市国风酿酒葡萄无病毒母本园。取材消毒和繁殖方法见曹孜义等和我们的报道[3] [5] [7]。

2.2. 移栽

移栽方法见曹孜义的早先报道的葡萄试管苗工厂化生产的工艺流程[3] [5]。移栽过程略做了改进, 用葡萄试管简易繁殖, 详见专利[8]。移栽前转入成本低的蛭石培养基中, 等葡萄试管苗长至瓶口, 进行光

培炼苗→育苗盘炼苗(50孔)→温室营养钵炼苗→大棚或田间。

2.3. 统计方法:

琼脂培养基中培养每 30 ± 2 天转管培养, 为一次继代培养, 从开始消毒, 萌发成苗, 剪取带芽的茎段转管为第一代, 其后每一月将带单芽茎段再转接管为第二代, 依次类推为继代次数。把各月葡萄试管简易繁殖和在适宜季节移栽的苗数按年、月分别把相同营养系归类, 统计移栽数和移栽成活数, 以移栽的成活苗数去除该总移栽数即为该代的成活率。比较黑比诺不同营养系、不同继代次数试管苗的植株形态特征和移栽成活率, 以此来判断继代次数对酿酒葡萄植株形态特征和移栽成活率有无影响。

3. 结果与分析

3.1. 黑比诺不同营养系不同继代次数试管苗的植株形态特征

黑比诺三个品种和营养系在植株形态学上没有差异, 黑比诺品种和营养系在产量和酿酒特征不同, 黑比诺 777 穗大果大, 产量略高, 酿酒品质中, 黑比诺 292 穗和果略小, 产量中, 酿酒品质上, 黑比诺介于其间[9]。观察了三个不同营养系不同继代次数, 在不同年份和不同继代次数, 植株形态学上保持一致, 仍与原植株一样, 没有变异。

3.2. 黑比诺不同营养系、不同年代, 相同最佳移栽月份, 不同继代次数育苗盘的移栽成活率

把不同年份, 相同最佳移栽月份的不同营养系、不同继代次数的黑比诺蛭石苗, 光培后栽入 50 孔林木育苗盘中, 移入营养钵中统计了三个黑比诺营养系蛭石苗的成活率, 结果见表 1。

从表 1 可见, 在三个黑比诺品种和营养系在不同年份和不同继代次数, 在最佳移栽月份下不论继代 8 次、20 次、21 次、33 次、45 次大量移栽结果成活率相近, 都在 85%~89%, 没有统计学上的明显差异, 表明继代次数多少不影响移栽成活率。

3.3. 黑比诺同一营养系、同期移栽的不同成活率

2012 年开始移栽最早取材是继代 21 次的黑比诺, 用了不同移栽基质, 移栽成活率不同, 试验结果见表 2, 从表 2 中可看出, 优质花卉土移栽成活率显著高于普通花卉土, 表明酿酒葡萄试苗移栽基质对移栽成活率影响较大。

3.4. 不同营养系、不同继代次数对光培成活率的影响

把黑比诺不同营养系、不同继代次数的琼脂试管苗转入蛭石培养基中, 每瓶转接 8 个双芽茎段, 在培养室培养, 当长至瓶子口时取出在自然光下(20000lx)进行光培炼苗, 其后光强渐增、湿度渐降, 至全部开盖, 出瓶时统计成苗数, 以此作为光培成活率, 结果见表 3: 从表 3 可见, 不同营养系、不同继代次数的琼脂试管苗转入蛭石培养基进行光培成活率不一, 继代次数 43~45 代的黑比诺, 高于继代 18~20 代的黑比诺 292。光培成活率与月份和管理水平有关, 而与继代次数无关。表 3 还可见, 黑比诺“比”2014 年继代培养 43~45 代后, 光培成活率基本相近。黑比诺 777, 继代 18~20 代次数增加还略有增加, 而黑比诺 292, 18~20 代次数的光培成活率完全相同, 但比黑比诺 777 低, 这是不同营养系之间的差异, 与继代次数无关, 看来三个黑比诺继代次数与光培成活率无明显相关。

3.5. 黑比诺不同营养系、不同继代次数的不同年份和月份的移栽成活率

经光培炼苗后的蛭石苗栽入温棚花卉营养土的 50 孔林木育苗盘中, 后光线渐增加、湿度渐降低, 20 天后统计育苗盘中的成活率, 结果见表 4: 从表 4 可见, 不同营养系、不同继代次数的光培炼苗后的蛭

Table 1. Transplanting survival rates of wine grape cultivar “Heibinnuo” vermiculite cultured plantlets with various subculture year**表 1.** 不同年份相同移栽月份的不同营养系黑比诺蛭石苗的移栽成活率

品种	营养系	代号	继代次数	移栽时间	移栽数	成活数	成活率(%)
黑比诺		比	21	2012-4	908	774	85.24
		比	33	2012-4	13855	11998	86.60
	292	九	8	2013-4	2241	1937	88.43
	777	七	8	2013-4	1605	1410	87.85
	292	比	45	2014-4	4427	3837	86.67
		九	20	2014-4	2403	2100	87.39

Table 2. Transplanting survival rate of wine grape cultivar “Heibinnuo” with different matrix in 2012**表 2.** 2012 年不同移栽基质的黑比诺成活率

品种	移栽基质	移栽数量	成活数	成活率(%)
黑比诺	优质花卉土	372	344	92.47
黑比诺	优质花卉土	218	202	92.67
黑比诺	普通花卉土	288	216	75.00

Table 3. Transplanting survival rate of various vegetative lines with different subculture times from wine grape cultivar “Heibinnuo” under light**表 3.** 黑比诺不同营养系、不同继代次数的光培成活率

品号	时间	继代次数	转接数	成活数	成活率
比	2014-2	43	2496	2035	81.53
	2014-3	44	2340	1860	79.49
	2014-4	45	2478	1975	79.70
七	2014-2	18	4140	3165	76.4
	2014-3	19	36318	29417	81.20
	2014-4	20	12840	10690	83.25
九	2014-2	18	540	405	75.00
	2014-3	19	2340	1755	75.20
	2014-4	20	540	405	75.00

石苗栽入温棚花卉营养土的育苗盘中，成活率差异较大，从 50.0% 到 99.1%，这与移栽年份、季节、移栽条件、管理水平等密切相关。如黑比诺“比”2013 年 2~3 月移栽气温较低，温棚加温跟不上造成成活率特低。2014 年温棚改建后，解决温度不足，移栽成活率大幅提高，继代次数虽增加 12 代，移栽成活率反而提高 30%~55%。从一年中移栽月份的成活率不一，严寒的冬季和炎热的夏季不进行移栽，移栽最适月份是 4 月，次为 3 月和 5 月，因此继代次数影响移栽成活率远比年份、季节、移栽条件、管理水平等为低。

3.6. 黑比诺不同营养系、不同继代次数秋季移栽，次年再植的成活率

葡萄规模化试管繁殖，在最适宜的季节最易成活，在春季移栽虽当年能出合格的商品成苗，但时间短，移栽过分集中，造成设备、用具和人工的压力太大，影响脱毒葡萄试管苗繁殖速度和效益，为了克

Table 4. Transplanting survival rate of various vegetative lines with different subculture times from wine grape cultivar “Heibinnuo” under light**表 4.** 黑比诺不同营养系、不同继代次数的光培成活率

品名	时间	继代次数	移栽数	成活数	成活率(%)
黑比诺	2012-4	21	2572	2285	88.88
	2012-5	22	3521	3262	91.83
	2013-2	31	11387	5740	50.00
	2013-3	33	7626	5070	60.0
	2013-4	34	13855	11998	86.60
	2014-2	43	1603	1304	81.3
	2014-3	44	2192	2091	95.4
七	2014-4	45	4427	3837	86.67
	2014-2	18	500	364	72.8
	2014-3	19	13255	12690	95.7
九	2014-4	20	2403	2100	87.39
	2014-3	19	1245	1234	99.1
	2014-4	20	42227	37984	89.95

Table 5. Transplanting survival rate of various vegetative lines with different subculture times from wine grape cultivar “Heibinnuo” after the winter**表 5.** 黑比诺不同营养系、不同继代次数的越冬后起苗再移栽的成活率

品种	代号	代数	移栽时间	另栽数	成活数	成活率(%)
黑比诺	比	38	2014-3-23	832	578	69.47
		38	2014-3-24	405	356	87.90
						平均 78.69
黑比诺	七	12	2014-3-23	1230	955	77.64
黑比诺	九	12	2014-3-23	480	255	53.13

服这一不足,改进了工艺流程,利用秋季生产半成品苗,次年挖出栽入温棚或大田,看黑比诺不同营养系、不同继代次数移栽的成活率如何?从这反映了植株的生活力,统计结果见表 5:表 5 表明不同继代时间的秋季半成品苗,次年再栽入温棚的黑比诺不同营养系、不同继代次数移栽的成活率有一定差异,继代次数 38~40 代的黑比诺“比”比高于继代 12~14 代少的黑比诺 777、292,还高出约 10~20 个百分点,如果继代次数增加生活力降低,那么继代次数增加了二倍,移栽成活率反而明显增加,这说明继代次数影响植株的生活力,这也表明酿酒葡萄继代培养代数的增加并未降低植株的生活力。

从以上 5 个方面证实了不论继代培养 8 次、20 次、21 次、33 次、45 次大量移栽结果试验表明三个营养系,不同继代次数的植物学性状保持不变,植株生活力也不会因为继代次数增加而降低,表明这种离体微繁能用于酿酒葡萄优良营养系的快繁,与葡萄生食品种一样,在生产上可大量应用[4]-[6] [10]。

4. 讨论

植物组织培养再生植株随继代次数的增加,并伴随着植株生活力下降和遗传不稳定性增加,已有不少报道,并且认为与基因型、再生方式、器官类型和植物激素等有关[3] [6]。育种角度出发,植物组织培养中发生变异是有利的,而从良种离体微繁是不利的。曹孜义等早先已报道了葡萄离体微繁用的“节培法”,

即葡萄试管微型扦插,与数千年的葡萄常规扦插方法繁殖一样,能高度保持原葡萄优良品种的遗传特性和生活力[4]-[6],周万海等报道用“节培法”继代繁殖 2、12、24 代、64 代对红提葡萄试管苗繁殖对该品种植物性性状和遗传稳定性影响没有影响[10]。宋润刚等[11]报道山葡萄品种脱毒遗传稳定性及生产性能研究中,经过 4 年离体繁殖也能保持原品种特性。Quoirm, Lupoivro 报道苹果经 10 年离体繁殖,没有发现变异现象[12]。师校欣等报道苹果离体新梢外植体经过 20 年培养,继代 160 次,其再生能力没有发生显著变化[13],这些都与我们的结论相同。但通过细胞、组织、愈伤组织诱导不定芽,随着继代次数的增加,就有可能发生变异和生活力下降问题。王正询和刘鸿先在香蕉试管繁殖染色体数量畸变的研究中发现高次数的试管苗染色体畸变率显著增高[14]。这是繁殖方法不同而不同。因此酿酒葡萄应用曹孜义等的“节培法”,如同葡萄常规数千年用扦插繁殖一样,年年用这种方法,能保持良种的特性一样,不过“节培法”是在试管内“扦插”,一月继代一次,故继代次数不会影响到酿酒葡萄品种快繁的品种特性和植株生活力。

致 谢

本文是在甘肃农业大学曹孜义教授指导下完成的,在此致谢。

参考文献 (References)

- [1] 贺普超,主编 (1999) 葡萄学. 中国农业出版社,北京.
- [2] 李玉鼎,李欣,张光弟,等 (2010) 宁夏葡萄酒产业持续发展的思考与技术创新. *中外葡萄与葡萄酒*, **3**, 74-77.
- [3] 曹孜义 (1999) 葡萄组织培养. In: 贺普超,主编, *葡萄学*, 中国农业出版社,北京, 322-345.
- [4] 曹孜义,齐与枢,主编 (1989) 葡萄组织培养及应用. 高等教育出版社,北京.
- [5] 曹孜义 (2001) 葡萄离体微繁和脱毒研究工作的回顾及展望. In: 朱德蔚,主编, *植物组织培养与脱毒快繁技术*, 中国科学技术出版,北京, 82-88.
- [6] 曹孜义,刘国民,主编 (2002) 实用植物组织培养技术教程(修订本). 甘肃科学技术出版社,兰州.
- [7] 郎凤红,何金柱,曹孜义 (2012) 酿酒葡萄秋季消毒技术及影响成苗因素研究. *宁夏农林科技*, **5**, 24-26.
- [8] 曹孜义,王宏,郭惠萍,等 (2010) 青霉素在葡萄试管简易繁殖上的应用及葡萄试管繁殖新技术. 专利号: 2012100196054.
- [9] 陈建军,繆长海,徐宝善,等 (2013) 9 个法引酿酒葡萄营养系在河西走廊的栽培表现. *中外葡萄与葡萄酒*, **1**, 73-75.
- [10] 周万海,等 (2006) 继代次数对红提葡萄试管苗繁殖及遗传稳定性影响的研究. <http://www.docln.com/week114>
- [11] 宋润刚,路文鹏,王军,等 (1999) 山葡萄品种脱毒遗传稳定性及生产性能的研究. *园艺学报*, **3**, 191-193.
- [12] Quoirm, M. and Lupoivro, Ph. (1997) Improved medium for in vitro culture of Prunus sp. *Acta Horticulturae*, **78**, 437-442.
- [13] 师校欣,杜国强,王晨,等 (2007) 苹果离体新梢外植体继代次数及其再生的影响. *园艺学报*, **3**, 561-564.
- [14] 王正询,刘鸿先 (1997) 香蕉试管繁殖染色体数量畸变的研究. *遗传学报*, **6**, 550-560.