

# Technology of Domestication and Transplanting of Grape Tissue Culture Seedling in Ningxia

Fenghong Lang<sup>1</sup>, Jinzhu He<sup>2</sup>, Haixu Bai<sup>2</sup>, Guihe Yang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>School of Agriculture, Ningxia University, Yinchuan Ningxia

<sup>2</sup>Ningxia Grape Seedling Engineering Technology Research Center, Yongning Ningxia

Email: langfh2011@163.com

Received: Dec. 10<sup>th</sup>, 2015; accepted: Dec. 26<sup>th</sup>, 2015; published: Dec. 31<sup>st</sup>, 2015

Copyright © 2015 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

This paper reviewed the study on the difficult transplanting and hard survival of tissue culture seedlings, and progress in research on the domestication and transplanting methods and effects of tissue culture seedling in the last 40 years. Combined with the production practice, the process and method of the domestication and transplanting of grape tissue culture seedlings in Ningxia area were discussed. It has directive function for the production of grape tissue culture seedlings.

## Keywords

Grape, Tissue Culture Seedling, Domestication and Transplantation

---

# 宁夏葡萄组培苗驯化移栽技术

郎凤红<sup>1</sup>, 何金柱<sup>2</sup>, 白海旭<sup>2</sup>, 杨贵荷<sup>2</sup>

<sup>1</sup>宁夏大学农学院, 宁夏 银川

<sup>2</sup>宁夏葡萄苗木工程技术研究中心, 宁夏 永宁

Email: langfh2011@163.com

收稿日期: 2015年12月10日; 录用日期: 2015年12月26日; 发布日期: 2015年12月31日

## 摘要

本文综述了近40年来组培苗难移栽难成活的研究理论以及组培苗驯化移栽方法和效果等方面的研究进展,并结合生产实践,探讨了宁夏地区葡萄组培苗驯化移栽过程及方法,对葡萄组培苗的生产具有指导意义。

## 关键词

葡萄, 组培苗, 驯化移栽

## 1. 前言

宁夏贺兰山东麓地区因其得天独厚的地域特色和生态条件,为国内外所公认为最适宜种植优质酿酒葡萄的黄金地带[1]。截止2011年底,全区已建成葡萄基地44万亩,建成葡萄酒厂、酒庄34家,生产能力15万吨;另有57家酒厂、酒庄正在建设中。葡萄产业已成为宁夏的优势特色之一,正沿着区域化、基地化、规模化模式发展[1][2]。

而伴随产业发展的同时也出现了一些亟待解决的问题,那就是葡萄病毒病的发生与蔓延[3][4]。葡萄是果树中感染病毒病最多的树种之一,一旦感染病毒病,就会导致树体出现一系列不健康的症状,如:生长衰退,产量下降,果实成熟推迟,品质变劣,植株寿命缩短,抗逆性减弱等。世界上许多葡萄产区都不同程度受到葡萄病毒病的侵染,并且呈不断蔓延和扩大趋势。2007年至2009年宁夏地区通过对多个葡萄基地进行病毒的田间调查,明确了葡萄扇叶病(GFLV)和葡萄卷叶病(GLRaV)是我区主要病毒类型,病毒感染的主要品种是蛇龙珠、西拉[5]。国内外专家和教授都指出遏制病毒首先要从源头做起,培育优质、无病毒葡萄苗木。因此组织培养、脱毒技术在繁育葡萄苗木上得到了深入的应用和发展,并且技术日趋成熟,但在组培苗的驯化移栽方面,由于受较多因素的限制,还需要结合移栽地的自然条件做更深入的研究和实践,这也是组培苗最终能否运用于生产的关键。

## 2. 组培苗移栽后易于死亡的原因综述

由于组培苗在前期培养过程中,处于一个几乎封闭的恒温、高湿、弱光环境中,营养均衡,条件舒适,因此导致其根、茎、叶等营养器官在生理结构上与外界生长条件下截然不同,从而给后期的移栽工作带来很大难度,葡萄组培苗亦是如此。

### 1) 根的变化

从形态解剖上,王际轩等(1989)和薛光荣等(1989)报道苹果部分品种茎尖再生植株和花药诱导的单倍体植株不生根或生根率极低,无法移栽而采用嫁接法解决。Donnelly等(1985)观察花椰菜植株,发现根与新枝连接处发育不完善,导致根枝之间水分运输效率低。Red(1982)报道杜鹃在培养基上产生的根细小,无根毛。曹义义等报道葡萄试管苗生长在培养基内的根上无根毛,而菊花试管苗在培养基内上部根上生有大量根毛,下部则无根毛,故有根毛的菊花试管苗移栽远比葡萄容易。

从生理功能方面,Skolmen等移栽金合欢生根试管苗,在间歇喷雾下栽入蛭石和泥炭基质中,很快干枯死亡。如果移栽前在Hoagland溶液中培养一个月,再栽入上述基质,83%成活,认为液体培养可恢复根的吸收功能。

从以上研究结果显示组培繁殖所得到的试管苗,在某些植物种类上表现出无根,根与输导组织不相

通, 根无根毛或根毛很少等现象, 因此根的吸收功能极低, 以至于移栽起来非常困难。

## 2) 叶的变化

从叶形态解剖上, 沈孝喜(1989)用扫描电镜观察了梨试管苗叶片的表皮蜡的发生过程见到继代增殖的试管苗小叶上无蜡质, 转入生根培养基后, 少数扩大叶片上偶而可见, 驯化一周后尚未发生, 经 2 周炼苗后才见到大量表皮蜡。而温室苗叶片角质层加厚快于试管苗。

Grout & Aston (1978)报道了花椰菜的试管苗叶片未能发育成明显的栅栏组织。马宝焜等(1991)还对苹果试管苗经强光和未经强光炼苗的茎进行了形态解剖对比, 发现未经强光闭瓶炼苗的试管苗, 茎的维管束被髓线分割成不连续状, 导管少, 茎表皮排列松散、无角质, 厚角组织也少。经强光炼苗的茎, 维管束发育良好, 角质和厚角组织增多, 自身保护作用增强。

从生理功能方面, 曹孜义等(1991)把处于不同炼苗阶段的葡萄试管苗叶片切下, 放在 43%湿度下, 试管苗叶片 20 min, 光培苗 1.5 h, 沙培苗 8 h, 温室苗 15 h 后才萎蔫。

由以上研究看出植物组培苗在高湿、恒温、弱光和异养条件下, 所分化和形成的叶, 叶表保护组织不发达或无, 叶组织间隙大, 气孔不能关闭, 开口大, 故试管苗移栽后极易失水而干枯。

## 3. 组培苗驯化移栽技术综述

曹春英(2001)通过对冬枣试管苗驯化及移植条件研究, 证实较为理想的驯化条件是光照强度 2600~2800 lx, 相对湿度为 90%~100%, 基质为蛭石; 最佳驯化季节为春季 3、4 月份; 理想的移植条件为 50%遮阳网遮荫+微膜覆盖保湿。在上述条件下, 当年试管苗高可达 80 cm 以上, 符合商品苗规格标准。

郑必平等人(2008)以草莓品种春香和女峰的脱毒苗为试验材料, 分析了影响草莓组培苗移栽驯化效果的有关因素。试验结果显示组培苗根系状况、栽培基质种类、消毒剂使用与否、湿度条件等因素对驯化效果的影响都很显著; 选用根长 2 cm 以上的组培苗; 采用草炭: 蛭石: 珍珠岩 = 1:1:1 的栽培基质, 并配合使用 400 倍多菌灵消毒处理, 移栽后保持相对湿度 70%~80%的条件下, 草莓组培苗的驯化效果良好, 移栽成活率可达 100%, 且幼苗生长发育状况良好。

王裕(2010)通过对大叶风兰试管苗驯化移栽技术的研究, 认为利用过渡培养基进行过渡培养能够提高大叶风兰组培苗移栽成活率, 比对照提高 12.5%; 不同炼苗处理对大叶风兰试管苗移栽成活率有较大影响: 室内炼苗 3 天+室外炼苗 3 天这种炼苗方式更有利于移栽, 移栽成活率可达到 86.5%; 苔藓作为栽培基质移栽成活率最高, 可达到 83.3%。

安玉明(2011)以费尔杜德树莓试管苗为试验材料, 将河沙、蛭石、进口草炭和珍珠岩 4 种基质等比例混合, 进行杀菌和不杀菌 2 种处理, 研究不同基质配方处理对费尔杜德树莓试管苗生理指标和形态指标的影响。结果显示杀菌处理有利于提高试管苗的成活率和生根率, 试管苗在进口草炭: 河沙: 珍珠岩 = 1:1:1 的移栽基质中驯化效果最好, 试管苗移栽成活率可达 94%, 生根率为 100%, 苗子十分整齐, 叶色浓绿, 根系分布深, 根细长而集中。因此, 他认为树莓驯化移栽的最佳基质是进口草炭: 河沙: 珍珠岩 = 1:1:1。

郭琪等人(2012)从炼苗时间、移栽基质、移栽季节等方面对桃儿七组培苗炼苗移栽技术进行了研究, 认为在一定范围内, 炼苗时间越长组培苗移栽成活率越高, 开瓶炼苗 5d 最适宜出瓶移栽; 移栽基质选用草炭土与珍珠岩按 2:1 比例混合, 成活率最高, 25~30 d 均有新叶和新根长出。在兰州地区, 10~11 月和 3~4 月适宜进行桃儿七组培苗的移栽, 成活率最高达 98.1%。移栽后 10 个月, 植株生长健壮, 根系发达。

以上针对不同植物种类, 从移栽基质种类及配比、移栽时间、驯化方式等方面进行了深入的研究, 可以看出无论哪种植物组培苗, 要想顺利移栽, 首先要加强移栽前的炼苗工作; 其次要选择适宜的过渡基质进行合理配比; 最后要根据当地的气候条件和生产需要选择适宜的移栽时期。

#### 4. 掌握移栽理论并指导生产实践，在宁夏地区，开展葡萄组培脱毒技术繁育组培苗，在苗木的驯化移栽方面取得初步成果

宁夏葡萄苗木工程技术研究中心位于宁夏农垦玉泉营农场，从2011年开始繁育酿酒葡萄脱毒组培苗，主要品种为赤霞珠、黑比诺、霞多丽、梅鹿辄等。组培苗能否大量应用于生产，最终取决于最后的一关——驯化移栽。我们在掌握有关移栽理论和技术的基础上，结合本区的生产、环境条件，不断改进方法和总结经验，形成了贴近生产适宜移栽的驯化方法，在精细管理的情况下成活率可达92%，年生产苗木10万株。现做如下总结：

##### 1) 驯化措施与移栽时期

在塑料大棚内安装玻璃温箱，温箱长×宽×高为3.6×2×0.6米，温箱床面下铺一层保温材料，再铺5cm厚的细河沙，然后以5cm宽为间隔铺电热线，电热线入口处接控温仪，用以控制温床温度。电热线上面再铺6~8cm厚的细沙[4][6]。大棚棚膜外加一层遮阳网，可进行拉升和遮挡强光。用容易调控温湿度的玻璃温箱对组培苗进行移栽前的驯化和过渡。

根据宁夏的气候条件，驯化移栽时间一般安排在3、4、5、6月份进行，此期是移栽苗木的最佳时期，不仅成活率高，也能保证苗木在后期的生长中，加粗生长和芽的成熟，有利于安全越冬。

##### 2) 驯化过程

驯化过程可分为以下几步：光照培养炼苗(3~4天)、穴盘移栽、温箱培养驯化(10~15天)、下地移栽、苗期管理。

a) 光培炼苗 将通过取材消毒和培养[7][8]，并用葡萄试管简易繁殖方式[8][9]所得到的葡萄试管苗放入事先做好的玻璃温床内，开瓶炼苗3~4天，使试管苗从室内2000Lx光照条件下通过逐渐增加光照后能够接受4~5万Lx光照，湿度由90%以上逐渐降低到40%，温度在保持23℃~32℃的情况下，不停生长，当试管苗长出瓶口，茎秆发红，叶片舒展变厚时，进行穴盘移栽(见图1)。

b) 穴盘移栽 根据郭琪等人对桃儿七组培苗所选用的移栽基质种类与配比，结合生产实践，我们选用进口草炭土：国产泥炭土：蛭石：珍珠岩比例为1:1:2:1，将三种比例的基质充分混合的同时，先用喷雾器加水喷雾，再加入“激活一号”壮根粉10g稀释1500倍液喷雾，至移栽基质“手捏成团，松手即散”时为宜；移栽时间一般安排在下午四点以后。移栽用工具为规格50孔的林业穴盘(穴孔大小为长\*宽\*高=5cm\*5cm\*8cm)，移栽时先给穴盘内装入配好的营养土(移栽基质)，深度为穴孔深度的1/2，然后将组培苗从瓶内移出，用消过毒的剪刀适当剪去过长的根，分株后放入穴盘中，最后一手轻轻扶起苗子，另一手用营养土埋好根部并轻轻按压使营养土与根系充分接触。移栽完毕后，及时将穴盘放入玻璃温箱，温箱上面要及时加玻璃盖，防止组培苗叶片水分散失。



Figure 1. Light culture and seedling exercise  
图1. 光培炼苗

c) 温箱培养驯化 温箱温度一般控制在 18℃~32℃；湿度从移栽后算起前 5 天内不得低于 80%，后 5 天逐渐降低至 50%，从第 7 天开始，要逐渐拉大玻璃盖之间的缝隙，直至最后全部撤掉；中午强光时间段可用遮阳网进行遮挡，并达到逐渐增加光照的目的。通过以上给玻璃温箱的调湿、控温、调光过程，让组培苗逐渐适应在几乎接近自然条件下能正常生长，新生叶片取代原来的老叶而发挥功能叶的作用，根系由于过度基质的加入而逐渐产生根毛恢复吸收自养功能。我们通过 4 年的移栽实践，证明以上环节的炼苗和驯化可大幅度提高组培苗移栽成活率，使之达到 95% 以上(见图 2)。

d) 下地移栽 通过温箱培养驯化环节的葡萄组培苗要适当见风炼苗 10 天以上，然后才可下地移栽。若在简易大棚内移栽，通风炼苗时间可缩短 2~3 天(本文所述为大棚内下地移栽)。移栽地要提前做好施基肥(腐熟有机肥)、旋耕、打垄、铺膜等工作，如水源紧缺，可考虑使用滴灌，还需要在膜下铺滴灌管材。下地移栽时，先用打孔器按 15 × 15 cm 的株行距在膜上打深度×宽度为 10 × 10 cm 的孔，然后将驯化后的穴盘苗从穴盘穴孔中带基质移出放入打好的孔中，加土埋住基部，要注意埋土深度，和移栽入穴盘的深度一样，地径部分照露出地面，以防止由于茎秆未木质化容易被高温高湿烫伤韧皮部(见图 3)。

e) 苗期管理下地移栽后 5 天，每天要注意在高温出现以前用喷雾器给叶片增加湿度，每天可喷 2~3 次，为避开中午强光时间段，可在棚膜外临时拉一道简易遮阳网。等缓苗出现新叶后，逐渐降低湿度至正常。定期进行灌水，防止苗子缺水而干枯。一个月以后，可根据苗木的生长情况适当施肥或喷施叶面肥，根据天气情况做好病虫害预防工作，并及时定枝绑缚(见图 4)。

通过精细管理，在简易温棚内，组培苗二次移栽成活率可达到 92% 以上。



Figure 2. Plug transplanting and domestication cultivation  
图 2. 穴盘移栽及驯化



Figure 3. Transplanting in farmland  
图 3. 下地移栽



Figure 4. Seedling management  
图 4. 苗期管理

### 3) 小结

葡萄试管苗和其他试管苗一样很难移栽成活，主要原因在于其根系没有明显的根毛或根毛很少[10]，因此很难吸收移栽后基质中的养分以供植株需要；又由于叶片气孔开度过大而无关闭功能[10]，极易散失水分而导致死亡。但通过过渡基质的培养和逐步降低湿度、增加光照这样一个驯化过程，能够使葡萄试管苗的根系和叶片逐渐恢复到自然状态下，并且功能增加。在驯化过程中，需要抓住有利的自然条件适时移栽，做到精心管理，温和过渡，才能有效的提高其移栽成活率。

## 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。

## 基金项目

国家科技支撑计划项目(2013BAD09B01)。

## 参考文献 (References)

- [1] 王锡琳, 范为群, 杨峰等. 贺兰山东麓酿酒葡萄栽培技术[M]. 银川: 宁夏人民出版社, 2012.
- [2] 李玉鼎, 李欣, 张军翔. 宁夏葡萄产业持续发展的思考与技术创新[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2010(2).
- [3] 曹孜义. 农业科技通讯[J]. 葡萄脱毒和无毒苗试管快繁技术, 1991(3): 24.
- [4] 张福庆, 曹为玉, 郑燕棠. 葡萄试管苗的移栽技术[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 1993(2): 13-15.
- [5] 沙月霞, 王国珍, 樊仲庆. 贺兰山东麓酿酒葡萄病毒病田间发生状况调查[J]. 中国果树, 2010(4): 60-62.
- [6] 郎凤红, 李金红, 任彦青, 等. 葡萄试管苗绿枝扦插成活因素的影响[J]. 夏农林科技, 2014, 55(2): 9-10.
- [7] 曹孜义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1996.
- [8] 曹孜义, 郭采月, 齐与枢. 葡萄试管繁殖[J]. 葡萄科技, 1979(4): 26-29.
- [9] 曹孜义, 王宏, 郭惠萍, 等. 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[P]. 专利号: 2012100196054.
- [10] 曹孜义, 李唯, 强维亚, 等. 葡萄试管苗在移栽过程中叶解剖和根系活力的变化[J]. 果树科学, 1992, 9(2): 81-86.