

# The Comparison of Two Vegetatively Micro-Propagated Lines of Wine Grape Cultivar “Pinot Noir”

Guihe Yang<sup>1</sup>, Jinzhu He<sup>1</sup>, Yanqing Ren<sup>1</sup>, Fenghong Lang<sup>1</sup>, Ningjuan Zhang<sup>1</sup>, Hui Wang<sup>1</sup>, Hong Kang<sup>1</sup>, Lei Zhang<sup>1</sup>, Huiping Guo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ningxia Grape Seedling Engineering and Technology Research Center, Yinchuan Ningxia

<sup>2</sup>Nningxia State-Farm Xixiawang Industry Limited Company, Yinchuan Ningxia

Email: [yangguihe@126.com](mailto:yangguihe@126.com)

Received: Aug. 31<sup>st</sup>, 2015; accepted: Sep. 13<sup>th</sup>, 2015; published: Sept. 17<sup>th</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

Two excellent vegetatively micro-propagated lines 777 and 292 of wine grape cultivar “Pinot Noir” were used as comparison materials in this experiment. The result indicate that there are certain differences between the two lines in the tolerance of sterilization, seedling rate of first and later generations, the monthly proliferation multiple and the survival rates of transplanting of acclimatization in nutrition pots and under light during the micropropagation process with those indexes for line 777 higher than line 292. However, the differences are far less than among various cultivars.

## Keywords

Wine Grapes, Pinot Noir, Vegetatively Lines, Micro-Propagation, Experimental Comparison

---

# 黑比诺酿酒葡萄品种两个营养系微繁的比较

杨贵荷<sup>1</sup>, 何金柱<sup>1</sup>, 任彦青<sup>1</sup>, 郎凤红<sup>1</sup>, 张宁娟<sup>1</sup>, 王惠<sup>1</sup>, 康宏<sup>1</sup>, 张蕾<sup>1</sup>, 郭惠萍<sup>2</sup>

<sup>1</sup>宁夏葡萄苗木工程技术研究中心, 银川

<sup>2</sup>宁夏农垦西夏王实业有限公司, 银川

Email: [yangguihe@126.com](mailto:yangguihe@126.com)

收稿日期：2015年8月31日；录用日期：2015年9月13日；发布日期：2015年9月17日

## 摘要

以酿酒葡萄品种黑比诺(Heibinnuo)优良营养系777和黑比诺292两个营养系为实验对比材料，在微繁过程中，消毒、初代和继代培养、光培炼苗、育苗盘炼苗、温室营养钵炼苗阶段，对消毒剂耐药性、初代和继代培养的成苗率、月增殖倍数，以及光培炼苗、育苗盘炼苗和移栽成活率对比有一定差异，黑比诺777耐药性、初代和继代培养的成苗率、月增殖倍数以及光培炼苗、育苗盘炼苗和移栽成活率都略高于黑比诺(Heibinnuo) 292，呈现着一定差异，但远小于品种间差异。

## 关键词

酿酒葡萄，黑比诺，营养系，微繁，试验对比

## 1. 引言

黑比诺葡萄是一个世界著名的酿酒葡萄品种之一，多数国家和葡萄公司用它酿制多种高档葡萄酒，特别适宜酿造香槟葡萄酒[1]-[5]。2012年，德国专门召开了全世界第一届黑比诺国际学术研讨会，可见黑比诺酿酒葡萄品种多么受人们的青睐。黑比诺酿制的葡萄酒，口感细腻优雅，口味感特别，能充分表达各地的风土条件和酿酒风格[4]-[6]。酿酒葡萄品种往往不改名，通过营养系选种而育成各具特色的营养系[1]-[5]，关于不同酿酒葡萄品种、同品种不同营养系栽培和酒质差异报道较多[7]-[13]。西北农林科技大学尹春丽[12]，张晓[5]，山东轻工学院孙传艳等[11]在酿酒葡萄营养系做了较深入研究。特别值得提出的是张晓的硕士论文对4个黑比诺营养系进行葡萄与葡萄酒香气研究，黑比诺115、292、375、521在植物学形态上没有明显差异，在抗病性和香气上有大的差异，最后综合评价黑比诺521是最好的品系，认为黑比诺521酿制的葡萄酒表现最好，酒体澄清透亮，呈宝石红色，有光泽，果香、花香浓郁，入口圆润，口感协调，结构感好[5]。郎凤红等曾报道了三个黑比诺营养系在不同继代时间试管繁殖速度上没有明显差异，但黑比诺不同营养系试管繁殖各阶段对比尚未见有报道，本文报道二个黑比诺营养系微繁不同阶段的繁殖增殖倍数和成活率做了对比，以期说明同品种不同营养系试管繁殖速度不同，有较明显的差异，但小于品种间差异。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 试验材料

应宁夏一葡萄酒公司要求，要提供一批无病毒的黑比诺优良营养系种苗，我们葡萄苗木工程技术中心接收了这一任务，于2012年7月从甘肃省张掖市国风酿酒葡萄无病毒母本园[14]，采取黑比诺优良营养系(Heibinnuo) 777，代号：“七”和黑比诺292，代号：“九”，采条时，从同一株十年生黑比诺优良营养系单株采取嫩梢，取材消毒和繁殖方法见曹孜义等和我们的报道[15]-[17]。

### 2.2. 消毒方法

采用甘肃农业大学葡萄试管繁殖研究组研制成功的“综合无伤复合消毒法”进行消毒[13]。

消毒过程如下：用酒精棉球擦拭取材用具，从植株上部剪取长势旺盛的健壮嫩梢，除去叶片，剪成短于500 ml广口瓶的枝条。

第一步：先将无菌水倒入广口瓶中，并剧烈摇动 1 分钟，冲洗 2 次。

第二步：倒入清洁剂(84 消毒液, 80 倍液)摇洗 5 分钟，无菌水冲洗 3 次，倒入 70% 酒精迅速过一下，不超过 5 秒钟，去酒精，无菌水冲洗 2 次。

第三步：倒去无菌水，加入 0.1‰ 升汞(内加 2% 的 95% 酒精)浸没材料，并剧烈摇动，根据材料老幼确定时间(上部幼嫩枝条时间短，下部较老时间长)，0.1‰ 升汞摇动时间为 4~6 分钟，用无菌水冲洗 4 次。

消毒结束后，在超净工作台上剪去受伤药面，剪取带有 1~2 芽的茎段接种于装有 GS 培养基 50 ml 的小三角瓶中。GS 培养基配制方法见报道[15] [17]。一般每瓶接种一个茎段，接种后，放在光照培养箱中培养，温度为  $29^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  培养。

第四步：观察统计方法：培养 3~7 天后，统计污染数，霉菌和细菌分开统计，统计后并及时清除污染瓶。未污染的瓶，若茎段萌发长至瓶口或培养基快干时及时转入新培养基中。污染率统计是以污染数去除接种总数，得出污染率。有根、茎、叶的叫苗，只有根称有根无芽茎段，只有茎、叶的茎段叫无根茎段。无根茎段继续培养多数可生根成苗。2 个月以后以成苗数除以接种总数则为成苗率。

### 2.3. 继代培养方法

获得的无菌试管苗经鉴定不带葡萄主要病毒病，即无毒苗，繁殖和继代方法见曹孜义等和我们的报道和专利[15]-[17]。

### 2.4. 光培炼苗方法

光培炼苗和蛭石苗光培方法见曹孜义等和我们的报道和专利[13] [16] [17]。

### 2.5. 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[15]。移栽过程略做了改进，用葡萄试管苗繁殖，详见专利[17]。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，用可降解的高 15~20 厘米，直径 10 厘米营养钵栽植，大田定植前经去棚膜曝晒 7 天，装框运至宁夏一葡萄酒公司大田定植。

### 2.6. 统计方法

琼脂培养基中培养每  $30 \pm 2$  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，其后每一月将带单芽茎段再转管繁殖，统计月成苗和增殖倍数。把各年葡萄试管苗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，以移栽的成活苗数除以该总移栽数即为成活率。比较黑比诺二不同营养系试管苗的植株形态特征和移栽成活率，以此来对比二个成苗率、增殖倍数和移栽成活率。

## 3. 结果与分析

### 3.1. 黑比诺二个营养系消毒和成苗效果

采用甘肃农业大学的“综合无伤复合消毒法”对黑比诺 777 和 292 营养系发嫩梢进行消毒，其消毒效果和成苗数见表 1。

从表 1 可见，用同样消毒方法，黑比诺二个营养系消毒效果和成苗数基本相近；从成功数和成苗率黑比诺 777 略高于黑比诺 292，从药害数来看出；黑比诺 777 耐药性也略高于黑比诺 292。这表明二个营养系对消毒剂敏感性略有差异，黑比诺 777 各项表现均高于黑比诺 292。

**Table 1.** The effect of sterilization and seedling number of wine grape cultivar “Pinot Noir” lines 777 and 292  
**表 1.** 黑比诺 777 和 292 营养系消毒效果和和成苗数

品种	代号	嫩梢数	10 天后成功数	%	污染数	%	药害数	%	2 月后成苗数	成苗率%
黑比诺 777	七	75	51	68.0	3	0.41	0	0	72	96
黑比诺 292	九	73	44	60.2	1	0.13	4	0.54	68	93.2

### 3.2. 琼脂培养基和蛭石培养基对黑比诺二个营养系繁殖倍数的影响

黑比诺 777 和 292 营养系消毒成功的成苗,用节培法进行转接培养,一月后统计繁殖倍数和成苗率,结果见表 2。

从黑比诺 777 和 292 营养系的微繁成苗情况看,用节培法进行转接培养,一月后统计繁殖倍数,黑比诺 777 高于黑比诺 292,增殖倍数增加约 5%~10%,这一繁殖倍数虽不高,但随继代扩繁二者数量差异会越来越大。

### 3.3. 黑比诺二个营养系光培苗成活率

把黑比诺 777 和 292 营养系,用节培法进行转接培养,到大量移栽光培炼苗时统计每月光培养一月后统计繁殖倍数和成苗率,结果见表 3。

表 3 表明,黑比诺 777 和 292 营养系光培成活率有一定差异,黑比诺 777 光培成活率都高于黑比诺 292 营养系,高出 1.4~8.0 个百分点。

### 3.4. 黑比诺二个营养系移栽成活率

把黑比诺营养系 777 和 292 蛭石苗,进行光培炼苗后,栽入 50 孔的育苗盘中,在大棚中进行炼苗,方法见我们的专利和报道[13] [16] [17],半月后栽入可降解的营养钵中,每钵栽 1 苗,统计营养钵中的苗,可知黑比诺 777 和 292 营养系移栽成活率,结果见表 4。

从表 4 可知,黑比诺二个育苗盘中移栽,在二年中最好的移栽季节,二者成活率相近,没有明显的差异,但是二者当移栽晚时,虽成活但达不到出圃标准,晚秋起苗后,冬季贮存于低温湿沙窖中,越冬后此苗再移栽时,移成活率出现明显的差异,黑比诺 777 营养系比 292 营养系高出 24.51 个百分点,高出很多,这是因为黑比诺 777 生长快,枝芽成熟好,抗低温和脱水能力强,冬藏后,受害轻故成活率高,结果见表 5 从移栽光培炼苗也能看出这二个营养系的差异。

光培炼苗时黑比诺 777 比与黑比诺 292 (九)出现明显差异,777 叶片出现角质层早,叶片大、叶色深,顶端茎秆容易变红色,茎秆木质化程度快,故枝芽成熟好,抗性较强,因此再次移栽成活率则高。

## 4. 小结

由微繁对比可以看出,同一黑比诺葡萄品种的二个营养系在不同阶段表现出差异,黑比诺 777 营养系在消毒取材、转管繁殖,大棚移栽及冬藏后栽植的各生长阶段都高于黑比诺 292,产生差异,说明黑比诺 777 在长势上强于黑比诺 292,故微繁过程中都前者都高于后者,产生明显差异现象,但这种差异远小于葡萄品种间差异。

## 5. 讨论

酿酒葡萄品种往往不改名,通过营养系选种而育成各具特色的营养系[1]-[5],关于不同酿酒葡萄品种及同品种不同营养系葡萄栽培和酒质差异报道较多[7]-[13],但同品种不同营养系微繁差异尚未见报道[15]-[17]。

**Table 2.** The influence of agar medium and vermiculite medium on the monthly proliferation multiple of wine grape cultivar “Pinot Noir” lines 777 and 292**表 2.** 琼脂培养基和蛭石培养基对黑比诺二个营养系月繁殖倍数的影响

品种	代号	培养基类型	增值倍数	相对百分数
黑比诺 777	七	琼脂苗	3.5	100% (相对)
黑比诺 292	九	琼脂苗	3.37	96.28%
黑比诺 777	七	蛭石苗	3.20	100%
黑比诺 292	九	蛭石苗	2.94	91.88%

**Table 3.** The survival rates of light culture of wine grape cultivar “Pinot Noir” lines 777 and 292**表 3.** 2014 年黑比诺二个营养系光培成活率

品号	时间	转接	成活数	成活率(%)
七	2014 年 2 月	4140	3165	76.40
	2014 年 3 月	36,318	29,417	81.20
	2014 年 4 月	12,840	10,690	83.25
九	2014 年 2 月	540	405	75.00
	2014 年 3 月	2340	1755	75.20
	2014 年 4 月	540	405	75.00

**Table 4.** The survival rates of transplanting of wine grape cultivar “Pinot Noir” lines 777 and 292**表 4.** 黑比诺二个营养系在穴盘中移栽成活率

品名	时间	移栽数	成活数	成活率(%)
七	2013 年 4 月	1605	1410	87.85
	2014 年 4 月	3123	2784	89.13
九	2013 年 4 月	2241	1937	88.43
	2014 年 4 月	2403	2100	87.37

**Table 5.** The survival rate of transplanting after winter of wine grape cultivar “Pinot Noir” lines 777 and 292 after lifting of seedlings**表 5.** 黑比诺二个营养系起苗越冬后移栽成活率

品种	代号	黑比诺不同营养系起苗越冬后移栽成活率			
		移栽时间	另栽数	成活数	成活率(%)
黑比诺	七	2014 年 3 月 23 日	1230	955	77.64
黑比诺	九	2014 年 3 月 23 日	480	255	53.13

葡萄试管脱毒和繁殖近年应用较多，也是植物组织培养最有成效的一种技术，但要应用于生产，要有较高的增殖倍数、成苗率和移栽成活率，月增殖倍数要在 2.6 倍以上，成苗率和移栽成活率要达到 80%，才能在生产上应用。曹孜义等试验了 GS 系列培养基，研究了 46 个品种，月增殖倍数在 2.6~8.2 倍，其中一个葡萄品种 401 巨峰 X 希姆劳(49-1 JufengxXimulade)未获成功，月增殖倍数最高的黑多内(Heiduonei)达 8.2 倍，黑多内生长最快，因而葡萄试管繁殖也最高[13]。葡萄试管繁殖速度与品种、培养基、培养条件和操作技术等密切相关[15]-[17]，不同基因型，其月增殖倍数、成苗率和移栽成活率都不相同，差异较

大。刘娜等用四个酿酒葡萄品种试管繁殖, 赤霞珠(Cabernee)、西拉(Syrah)、霞多丽(Chardounay)、美乐(Merlot)都从 12 株试管苗开始, 6 代后分别繁殖为 1383、1095、744、100 株, 繁殖倍数或称繁殖速度倍数品种间最大相差 13.83 倍(赤霞珠: 美乐), 最小相差相差 1.26 倍(赤霞珠: 西拉), 表现出品种间的差异很大[18], 与我们早期报道相同, 但它们都是品种而不是同品种不同营养系。

黑比诺二个营养系他们虽在形态上差异不大, 但在生长、产量和品质等有一定差异, 黑比诺 777 穗大, 产量高, 它的生长量大于黑比诺 292 [13] [14], 故增殖倍数、成苗率和移栽成活率要高于黑比诺 292, 但因同一品种, 不可能差异太大, 也不可能向品种之间那样有几倍的差异。因此, 葡萄同品种不同营养系之间, 只要一个葡萄营养系能进行试管繁殖, 其他营养系也一定能繁殖成功, 不过其增殖倍数、成苗率和移栽成活率不同罢了。

## 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] 贺普超, 主编 (1999) 葡萄学. 中国农业出版社, 北京.
- [2] 尹春丽, 张振文 (2001) 葡萄营养系选种进展. *中外葡萄栽培与酿酒*, **6**, 14-15.
- [3] 刘崇怀 (2012) 葡萄芽变选种和营养系选种. In: 曹孜义, Ed., *全国高效优质无病毒酿酒葡萄栽培技术学术研讨会论文集*, 张掖, 33-39.
- [4] 曹孜义 (2008) 葡萄育苗和栽培技术. 甘肃文化出版社, 兰州.
- [5] 张晓 (2007) 黑比诺营养系进行葡萄与葡萄酒香气研究. 硕士学位论文, 西北农林科技大学, 杨凌.
- [6] 穆宁, 张振文 (2007) 赤霞珠营养系品种葡萄与葡萄酒品质的研究. 硕士学位论文, 西北农林科技大学, 杨凌.
- [7] 张辉, 李学文, 胡瑞兰, 等 (2004) 高档酿酒葡萄品种引种的适应性研究. *中外葡萄与葡萄酒*, **3**, 9-12.
- [8] 李红娟 (2004) 赤霞珠营养系研究. *农业工程学报*, **20**, 104-107.
- [9] 牛锐敏, 陈卫平, 王国珍, 窦云萍 (2012) 几个酿酒葡萄品种在广夏第三种植基地的栽培表现. *北方园艺*, **10**, 9-12.
- [10] 李春玲 (2009) 甘肃河西地区酿酒葡萄栽培技术. *现代农业科技*, **6**, 54-56.
- [11] 孙传艳, 牟京霞, 赵新节, 等 (2009) 蛇龙珠葡萄营养系的差异性分析. *酿酒科技*, **6**, 47-50.
- [12] 尹春丽 (2004) 法引酿酒葡萄霞多丽、黑比诺营养系研究. 硕士学位论文, 西北农林科技大学, 杨凌.
- [13] 单永生 (2007) 甘肃张掖地区酿酒葡萄品种比较试验报. *甘肃农业大学学报*, **1**, 37-39.
- [14] 李天栋, 陈建军, 繆长海, 等 (2012) 国风无病毒酿酒葡萄母本园建立过程及管理. In: 曹孜义, Ed., *全国高效优质无病毒酿酒葡萄栽培技术学术研讨会论文集*, 张掖, 237-243.
- [15] 曹孜义 (1999) 葡萄组织培养. In: 贺普超, Ed., *葡萄学*, 中国农业出版社, 北京, 322-334.
- [16] 郎凤红, 何金柱, 郭惠萍, 等 (2014) 不同继代次数对酿酒葡萄黑比诺的植株性状和移成活率的影响. *林业世界*, **3**, 42-47.
- [17] 曹孜义, 王宏, 郭惠萍, 等 (2012) 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.
- [18] 刘娜, 许柯, 张文, 等 (2013) 四个酿酒葡萄品种组培快繁体系的初建. *植物生理学报*, **10**, 1071-1076.