

葡萄“闭花受精”与去雄自交结实问题的研究

贺普超 雷慧英 王永熙 王跃进 张群英

(西北农学院园艺系)

一、前言

什么是葡萄“闭花受精 (Cleistogamy)”，这在文献上是有不同理解的。有人认为“闭花受精”是指两性花品种的散粉至受精这一生物学过程是在花蕾开放前即蕾期进行的；也有人认为“闹花受精”，是指两性花品种的散粉、受精以至幼果的发育是在不脱落的罩状花冠内进行的。本文所要讨论的“闹花受精”是指前者而不是后者。

许多学者都承认葡萄两性花品种普遍存在着“闭花受精”现象，但这个生物过程究竟是从什么时候开始的呢？бараңов П А^[1]认为，“花药刚一散粉，花蕾就开放了”，即花粉仅在花蕾开放前夕散出的；沈阳农学院^[4]的试验证明，欧洲葡萄的“闭花受精”，发生在花前3—4天。为了避免葡萄杂交育种时母本自交结实，有人主张欧洲葡萄在花序始花前3—4日^[4]或6—7日^[2]去雄是合适的。

在已往有关葡萄“闭花受精”的研究中，人们普遍用品种或花序的始花期表示葡萄去雄自交的大致时间，我们认为这是不够严谨的，因为一个葡萄花序有几十个至一千多个花蕾，它们都处于不同的发育状态，大致在一周或较长的不同时期开放的。另外，很多人都把葡萄去雄后自交结实的原因一概归处于品种本身的“闭花受精”，这种观点是否完全正确？为了查明葡萄花序内单花“闭花受精”的时间和去雄技术对自交结实的影响，以便为葡萄杂交育种和遗传学分析制定合理的去雄时期和方法，我们在1979年研究的基础上，又于1981~82年进行了本试验。

二、材料和方法

材料：先后供试的葡萄品种计有：小白玫瑰 (мускат белый)、小红玫瑰 (мускат розовый)、葡萄园皇后 (Queen of vinyard)、金后 (Golden Queen)、黑马依斯克 (Майский черный)、白克列特 (Клерет белый)、巴柯 (Вассо) 和意斯林 (Italian Riesling)。

* 和纯成同志参加部分工作

方法:

1. 为查明单花蕾期散粉时期, 从供试品种植株的中部选择发育良好的花序若干个。约于始花前4~5日, 从上述花序中标记一批发育状况相似的较大花蕾。自标记之日起至始花之日止, 每天上午10时前随机采取30~50个花蕾, 放于保湿的培养皿内, 立即由田间带回实验室, 用镊子小心剥去花冠和雄蕊, 并用刀片切取柱头表面一薄层, 置载玻片上, 滴一滴番红液, 盖上盖玻片, 在显微镜下观察柱头上是否有散落的花粉粒。

2. 自不同品种的柱头下发现有散落的花粉之日起, 亦同时自标记的花蕾中另采取30~50个, 在室内镜检柱头上花粉粒萌发以及花粉管伸入柱头的情况。观察前先用树脂兰染色^[6]。

3. 为了查明正常葡萄田间去雄是否完全彻底, 我们对人工刚去完雄的花序, 在套袋前随机采取20~30个雌蕊进行镜检, 以与同期室内去雄作比较。

4. 每个杂交组合, 每次去雄时, 一般分为以下三种处理:

处理Ⅰ(对照): 去雄后立即套袋, 以后不授粉;

处理Ⅱ: 去雄后, 将整个花序在盛有自来水的杯中, 充分摆动, 目的在于冲去可能遗留在柱头上的花粉粒和花药碎片, 然后套装; 以后不授粉;

处理Ⅲ: 同处理Ⅱ, 但在盛花期授以其它品种花粉, 目的在于镜检受水冲洗过的柱头是否仍保持正常的受精能力。

三、结果与分析

为消除人为差异, 曾固定专人去雄, 在同一处理中, 每人仅去雄一个花序。

(一) 蕾期散粉的时间葡萄“闭花受精”的最主要标志是蕾期花药向柱头散出成熟的花粉粒。我们二年的试验资料(表1)表明, 所有供试品种的柱头在花前第4日均未发现花粉粒, 多数品种是在花前第2~3日散粉的。但需要强调指出, 白克列特的蕾期柱头一直未发现花粉粒, 因此, 有理由认为, 该品种可能不存在“闭花受精”现象。

表1 不同蕾期柱头上发现花粉粒的情况

品 种	年 份	时 期	观察花蕾 (柱头)数	有花粉粒的柱头		
				总 数	%	平均粒数
小白玫瑰	1981	花前3~4日	30	0	0	0
		花前2~3日	30	0	0	0
	1982	花前4日	30	0	0	0
		花前3日	30	1	3.3	3
		花前2日	30	1	3.3	2
		花前1日	30	8	26.7	13
		开花当日	32	15	46.9	15

葡萄园皇后	1981	花前3~4日	30	0	0	0
		2~3日	30	2	6.7	13
		开花当日	54	26	48.1	—
小红玫瑰	1981	花前3~4日	30	0	0	0
		2~3日	30	1	3.3	17
金 后	1982	花前4日	30	0	0	0
		3日	30	1	3.3	2
		2日	30	4	13.3	8
		1日	30	6	20.0	10.7
		开花当日	30	7	23.3	16
黑马依斯克	1982	花前3日	30	0	0	0
		2日	30	1	3.3	3
		1日	30	1	3.3	4
		开花当日	30	6	20.0	13.8
白克列特	1982	花前4日	30	0	0	0
		3日	30	0	0	0
		2日	30	0	0	0
		1日	30	0	0	0
		开花当日	30	4	13.3	—
巴 柯	1982	花前4日	30	0	0	0
		3日	30	0	0	0
		2日	30	0	0	0
		1日	30	7	23.3	—
		开花当日	30	10	33.3	—

(二) 蕾期花粉的萌发与花粉管的伸入花柱前面已经提到, 当花蕾柱头上出现花粉时, 我们立即采集同令花蕾观察花粉粒在柱头上的萌发及其花粉管伸入花柱的情况。

表2 蕾期柱头上花粉粒的萌发情况 (1982)

品 种	时 间	观察花粉 (柱头) 粉	有花粉萌发的柱头	
			数 量	%
小白玫瑰	花前2日	30	0	0
	1日	30	8	26.7
	开花当日	30	13	43.3

金 后	花前2日	30	0	0
	1日	30	1	3.3
	开花当日	30	2	6.7
黑马依斯克	花前2日	30	0	0
	1日	30	0	0
	开花当日	30	1	3.3
巴 柯	花前2日	30	0	0
	1日	30	3	10.0
	开花当日	30	5	16.6
白克列特	花前2日	30	0	0
	1日	30	0	0
	开花当日	30	0	0

表2的资料说明,多数葡萄品种在开花的前一天,散落在柱头上的花粉已经萌发,伸出较长的花粉管,有的品种如小白玫瑰的花粉管,此时已伸入到花柱组织的深处。白克列特品种在开花当天上午,仍未观察到萌发的花粉粒。这进一步证明,该品种很可能不存在“闭花受精”现象。

如果把表1和表2的资料加以比较,那就不难发现这样一个问题:为什么小白玫瑰、金后和黑马依斯克品种在蕾期散粉2日之后才在柱头上出现花粉管呢?我们认为,除了其它尚待研究的原因外,雌雄性器官的不同时成熟很可能是个重要因素,根据我们的资料分析,花粉粒要比柱头成熟早一些,当成熟的花粉散落在柱头上以后,大约经过一天左右的时间,成熟的柱头才为花粉的萌发和花粉管伸入花柱提供了可能性。

(三)田间杂交去雄时花粉散落在柱头上的情况果树遗传育种者普遍认为,葡萄去雄后自交结实的原因,完全是由于生物学的“闭花受精”造成的。至于手工去雄对自交结实有无影响的问题,至今却未见有人研究。

表3 田间去雄与实验室去雄柱头上花粉存在情况

品 种	观察年份	去雄时期	田 间			实 验 室		
			观察柱头数	有花粉粒柱头		观察柱头数	有花粉粒柱头	
				数目	%		数目	%
小白玫瑰	1981	花前3~4日	20	15	75.0	30	0	0
		2~3日	20	17	85.0	30	0	0
	1982	花前3日	30	4	13.3	30	1	3.3
		1日	30	9	30.0	30	8	26.6

葡萄园皇后	1981	花前3~4日	20	16	80.0	30	0	0
		2~3日	20	15	75.0	30	2	6.7
小红玫瑰	1981	花前3~4日	20	12	60.0	30	0	0
		2~3日	20	11	55.0	30	0	3.3
意 斯 林	1981	花前3~4日	20	17	85.0	30	0	0
金 后	1982	花前4日	30	5	16.7	30	0	0
		1日	30	8	26.7	30	6	20.0
黑马依斯克	1982	花前4日	30	2	6.7	30	0	0
		2日	30	3	10.0	30	1	3.3
白克列特	1982	花前4日	30	0	0	30	0	0
		2日	30	0	0	30	0	0
		1日	30	4	13.3	30	0	0

我们二年的试验(表3)说明,实验室去雄的大多数品种,自花前第3日或2日起,仅在少数柱头上发现了花粉粒,这是完全正常的。但在田间去雄条件下,从开花前第4日或第3日起,却在相当多的柱头上出现了花粉粒,尤其是1981年花前第3~4日去雄的意斯林和花前2~3日去雄的小白玫瑰,有花粉粒的柱头数竟高达85%,这与同期实验室去雄无一柱头存在花粉粒的事实相比,差异是极其悬殊的。更有意义的是田间去雄的柱头上存留的花粉粒数量多,而且往往是成堆的,且多与花药碎片共存一起,而实验室去雄的则无这种现象,花粉粒是单个、散生的形式存在的。

以上事实说明:葡萄花器小,人工用镊子去雄极易创伤花药,使其碎块遗留于柱头上,从而增加了柱头上的花粉数量。这是造成葡萄“闭花受精”的第二个原因

(四) 去雄自交与杂交结实

如何消除葡萄自交结实,这是葡萄遗传育种工作者长期以来最关心的问题之一。当前,在葡萄杂交育种工作中,大家强调应在开花前4~6日去雄,但实际上这是很难完全实现的,由于去雄杂交的工作量大,常常不得不在花前1~2日甚至开花初期去雄,这就造成了自交结实率高的严重问题。为此,多年来我们曾进行了克服葡萄自交结实的实验。

表4 葡萄去雄自交与授粉杂交结实率

品 种	年 份	处 理 *	去 雄 花序数	去 雄 花蕾数	去雄日期	品 种 始花期	授粉座果	
							数	%
葡 萄 园	1981	I	4	662	14/V	17/V	10	1.5
		II	4	658	"	"	1	0.2

皇 后		I	4	611	17/V	17/V	30	4.9
		II	5	699	"	"	4	0.6
意 斯 林	1981	I	8	360	16/V	18/V	0	0
		II	8	511	"	"	2	0.4
		I	6	675	18/V	18/V	1	1.6
		II	4	470	"	"	2	0.5
小 红 玫 瑰	1981	I	5	500	15/V	18/V	0	0
		II	5	527	"	"	5	0.9
		I	4	424	18/V	18/V	44	10.4
		II	4	555	"	"	4	0.8
巴 柯	1982	I	3	388	7/V	8/V	51	13.1
		II	2	301	"	"	32	10.6
		III	4	605	"	"	169	27.9
		I	2	212	10/V	8/V	19	9.0
		II	4	524	"	"	40	7.6
		III	4	513	"	"	170	33.1
黑 马 依 斯 克	1982	I	4	1264	23/V	23/V	194	15.4
		II	4	1469	"	"	158	10.8
		III	4	1246	"	"	260	20.9

• 处理 I: 去雄、套袋

II: 去雄、自来水冲洗、套袋

III: I × 授粉

从表4的统计数字可见,在绝大多数情况下,去雄后用自来水冲洗的花序(II),其自交结实率低于未冲洗的(I),这就在一定程度上减少了甚至完全消除了自交结实。但在个别处理中,也出现过相反的情况,即用水冲洗的花序自交结实率反而高于未冲洗的。但是,1979年的试验结果^[5]有力说明,只要在品种始花前2~3日认真去雄并用自来水充分冲洗,就能够完全克服由于“闭花受精”和杂交技术造成的自交结实。

柱头对环境条件的反应是敏感的。我们多年来对不同葡萄品种的去雄柱头用与气温相同的自来水充分冲洗(III),仍能得到正常的杂交结实率。

四、结 论

1. “闭花受精”是欧洲葡萄品种普遍存在的生物学现象,多数品种在花蕾开放前2~3日,花药破裂,花粉粒散出,花前1日,散落在柱头上的花粉已经萌发,有的花粉

管已伸入花柱。也有个别品种，蕾期柱头上并未发现花粉粒，很可能不存在“闭花受精”现象。

2. 葡萄去雄后自交结实的主要原因是“闭花受精”引起的，但人工杂交时，往往由于去雄不完全或将花药碎块遗传留于柱头上，人为地提高了自交结实率。

3. 花蕾开放前2~3日去雄时，只要认真操作并用自来水充分冲洗就可显著减少以至完全消除葡萄的自交结实，从而获得高纯度的杂交种子。

参 考 文 献

1. Баранов. П. А.; Строение виноградной лозы. Ампелография СССР, Т. I, 1946, Москва.
2. Негрупь А. М.; Виноградарство, 1959, Москва.
3. 崔绍良、王庸生、范树隆：葡萄品种某些特征特性的观察，陕西省园艺学会论文选集，1964年元月。
4. 沈阳农学院果蔬选育加工教研组：葡萄有性杂交技术研究初报（油印本），1964。
5. 贺普超、雷慧英、和纯成：关于葡萄去雄后自交结实问题的研究，陕西省农学会农业科学论文选（园艺分册），1979。
6. 李懋学：花粉管在花柱中生长的观察方法，《遗传与育种》，1978。