

葡萄种间杂交香味成分的遗传研究

李记明¹ 贺普超²

(¹ 张裕集团有限公司技术中心, 烟台 264001; ² 西北农林科技大学园艺学院, 杨凌 712100)

摘 要: 利用气相色谱—质谱—计算机联用系统 (GC-MS-CS) 对两个葡萄种间杂交的亲本及其后代的香味成分进行了研究。结果表明: 葡萄种间杂交时, 甲基丙烯醇、二甲基丁烯醇、沉香醇、甲酸异戊酯、2,4-二甲苯己烷等香味成分具有 1 1、1 3、1 9 的分离比例, 表现出了质量性状的遗传特征; 而二甲基丁烷、四氢呋喃、1-甲氧基丙酮、丁内酯、苯乙醇等香味成分呈现多基因控制数量性状的遗传趋势。

关键词: 葡萄; 种间杂交; 香味成分; 遗传

中图分类号: S 663.1; Q 946.82 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2002) 01-0009-04

采用优质抗病品种是提高葡萄与葡萄酒质量的根本途径^[1], 香味成分更是评价葡萄酒品质的重要指标^[2]。欧洲葡萄品种具有优良的鲜食与加工性状, 但其抗病虫、抗逆性差, 严重限制了在我国广大的湿润、半湿润地区的发展。中国葡萄属野生种, 具有丰富的抗性基因^[3,4], 利用欧洲葡萄与中国葡萄野生种杂交是选育优质抗病品种的主要途径之一^[5]。因此, 探讨葡萄种间杂交中香味成分的遗传, 对选育优良抗病新品种, 加快育种进程具有重要的意义。本试验利用气相色谱—质谱—计算机联用系统 (GC-MS-CS) 对两个葡萄种间杂交的亲本及其后代的香味成分进行了系统的研究, 以期对葡萄优良品种的选育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试材选用 2 个中国野生葡萄与欧洲葡萄的杂交组合毛葡萄 [83-4-93 (白)] × 雷司令 (组合代号为 88-109, 后代株数 68) 和毛葡萄 [83-4-96 (黑), 后代株数 44] × 粉红玫瑰 (组合代号为 88-110) 的 4 个亲本和 112 株杂交一代。试验于 1996~1998 年在西北农林科技大学园艺学院果树站进行, 亲本与杂交后代株行距为 0.5 m × 1.0 m, 单篱架有干型整枝, 按照生产常规管理。

1.2 方法

1.2.1 样品处理 待亲本和杂交后代的果实充分成熟后, 采收、除梗、破碎, 加 150 mL/L SO₂, 带皮浸渍 2 d。取汁后经 8 000 r/min 离心。取清汁 200 mL, 分别用 150、100、50 mL CH₂Cl₂ 萃取 3 次。萃取液用 50 mL 50 g/L Na₂CO₃ 洗涤 2 次。将有机层分别用 50 mL CH₂Cl₂ 洗涤 2 次, 得到的有机层用无水 Na₂SO₄ 干燥过夜, 然后在旋转蒸发器 (0~5 °C) 浓缩至 1 mL, 进 GC-MS 分析。

1.2.2 香味成分分析 采用气相色谱-质谱-计算机联用系统 [GC-MS-QP2000A (GC-14A Shimadzu, 日本岛津产)] 定量定性。

1) 色谱条件: 石英弹性毛细管柱 60 m, ϕ 0.32 mm, 液膜厚 0.52 μ m, 氢火焰离子检测器为 FID, 起始温度 50 °C、时间 5 min, 终温 190 °C, 保留 20 min, 检测器温度 200 °C, N₂ 流速 2.5 mL/min, 扫描间隔 2 s, 进样量为 5 μ L, 含量用峰高表示。

2) 质谱条件: 离子化电压 70 eV, 离子源温度 250 °C; 载气为 He, 流速 7 mL/min, 质谱图鉴定利用系统本身的谱库, 用计算机进行检索。

1.2.3 遗传分析 取 3 年试验的平均值, 对于数量性状计算亲中值、子代平均值、子代变异系数;

收稿日期: 2001-05-22; 修回日期: 2001-08-08

基金项目: 高校博士点基金资助项目 (950706)

对于质量性状, 利用 χ^2 进行适合性测验 ($\chi^2 = (O - C)^2 / O$, $\chi^2_{1,0.05} = 3.80$)。

2 结果与分析

2.1 各种成分在 2 个杂交组合亲本中的分布

对 4 个亲本 2 个组合的 112 株后代果实, 共测定了 31 种香味成分。其中有 11 种为 2 个组合的 4 个亲本所共有, 它们分别为 2-甲基丁烷、四氢呋喃、1-甲氧基丙酮、2-丁醇、3-甲氧基戊腈、丁内酯、己烯二醇、苯乙醇、异丁烯酸甲基丁酯、甲酸乙酯和 2,4-二甲基己醇; 有 6 种为杂交组合 88-109 的双亲所共有, 它们分别为甲醇、3-丁烯醇、3-羟基丁酮、丁酸乙酯、2-甲基丁烯醇和 3-甲基丁酯; 有 3 种为杂交组合 88-110 的双亲所共有, 它们分别为二异丙醚、2,4-二甲基己烷和戊酮 (表 1、表 2)。双亲之一具有的有 17 种成分, 这 17 种成分在不同的杂交组合, 甚至在同一杂交组合中的分布也不相同。例如乙酸甲氧基乙酯只在 2 个杂交组合的母本中存在; 2,4-二甲基己烷和戊酮只在杂交组合 88-109 的父本即雷司令中存在; 丙酮、辛烷、三甲基环氧乙烷和 4-甲基吡啶只在杂交组合 88-109 的母本即 83-4-93 (白) 中存在; 甲基丙烯醇、2-甲基丁烯醇和沉香醇只在杂交组合 88-110 的父本中即粉红玫瑰中存在; 3-甲基丁酮、甲氧基乙醛、环己醇、3-甲基-1-丁醇、甲酸异戊酯及 2 种未知的成分只在杂交组合 88-110 的母本即 83-4-93 (黑) 中存在 (表 3)。上述结果说明作为欧亚种葡萄, 各个品种在风味上具有一定的相似性, 也有其自身的独特性; 另一方面也可以看出葡萄风味成分的种类是非常广泛的; 同时也显示了葡萄风味成分的遗传是非常复杂的。

2.2 双亲共有成分的遗传

双亲共有成分有无在种间杂交后代中出现了 3 种情况: 一种在后代中无分离现象; 一种则出现了分离; 另外一种在 2 个杂交组合中表现不同。

表 1 葡萄种间杂交双亲共有、杂交后代未出现分离的香味成分含量的相对峰高

Table 1 Inheritance of flavour compounds shared with parents and not segregated in F_1 generations

香味成分 Flavour components	组合 * Cross combination *	母 本 Female	父 本 Male	亲 中 值 Mid-parent	子 代 平均值 Average	变异系数 Variance coefficients	子 代 分 布 Distribution	超高亲 Above parents (%)	超低亲 Under parents (%)
2-甲基丁烷 C_5H_{12}	1	72.0	50.9	61.5	481.1	90.85	43.9 ~ 1 738.1	84.9	10.9
	2	60.4	67.0	63.0	61.1	30.20	29.41 ~ 106.5	30.0	60.0
四氢呋喃 C_4H_8O	1	155.1	40.4	97.8	206.7	134.80	26.0 ~ 1 756.8	45.5	11.4
	2	33.9	44.3	39.2	43.5	34.30	23.2 ~ 82.4	43.3	26.7
1-甲氧基丙酮 $C_4H_8O_2$	1	31.2	12.2	21.7	151.5	96.04	4.3 ~ 501.6	78.6	7.1
	2	23.9	4.4	14.2	127.2	123.33	4.7 ~ 617.3	63.0	0.0
2-丁醇 $C_4H_{10}O$	1	24.3	12.8	18.6	337.8	128.66	2.1 ~ 1 502.2	81.8	11.1
	2	13.9	6.8	10.3	220.4	158.04	1.5 ~ 1 320.4	64.3	25.0
3-甲氧基戊腈 $C_6H_7NO_3$	1	12.2	8.2	10.2	153.9	173.94	2.7 ~ 1 507.1	84.1	11.4
	2	3.0	5.9	4.5	64.0	174.23	1.7 ~ 509.5	63.3	13.3
丁内酯 $C_4H_6O_2$	1	27.7	17.7	22.7	20.1	77.61	4.3 ~ 92.7	18.2	54.5
	2	16.5	12.1	14.3	30.0	50.82	6.7 ~ 76.6	12.4	14.7
己烯二醇 $C_6H_{12}O_2$	1	10.7	3.4	7.1	13.1	100.76	1.7 ~ 53.3	39.5	14.0
	2	9.6	2.0	5.9	20.8	180.47	1.8 ~ 182.6	36.0	8.0
苯乙醇 $C_8H_{10}O_2$	1	17.0	10.4	13.7	172.4	10.86	7.1 ~ 629.6	93.2	2.3
	2	12.2	5.3	8.7	121.2	150.50	3.8 ~ 863.9	79.3	10.3
甲醇 CH_4O	1	129.8	188.0	158.9	200.8	112.65	88.0 ~ 1651.3	39.1	28.3
3-丁烯醇 $C_6H_{12}O$	1	22.4	22.0	22.2	533.6	126.93	10.2 ~ 3 090.2	85.0	15.0
3-羟基丁酮 $C_4H_8O_2$	1	39.2	55.5	44.9	291.6	27.78	18.9 ~ 2 299.5	81.0	14.3
丁酸乙酯 $C_6H_{12}O_2$	1	2.5	3.1	2.8	3.7	33.33	1.5 ~ 6.2	69.2	23.1
二异丙醚 $C_5H_{12}O$	2	80.3	16.5	48.4	241.1	137.03	1.4 ~ 1 265.4	53.3	10.0
甲酸乙酯 $C_3H_6O_2$	2	38.3	59.5	48.9	45.1	27.50	23.0 ~ 66.3	13.3	36.7

*1 为组合 88-109, 2 为组合 88-110, 下同。

*1. Cross combination 88-109; 2. Cross combination 88-110. The same below.

2.2.1 未分离成分 该类成分共有 13 种 (表 1), 包括醇、酯、烷、酮、呋喃、醚等, 这些物质在后代中均出现了连续性变异, 具有典型的数量性状遗传特征。除个别 (如 88-110 的 2-甲基丁烷、88-109 的丁内酯) 外, 绝大多数物质在后代中的平均值超过了亲本平均值的 1~20 倍, 超高亲率最低者为 12.4% (88-110 的丁内酯), 最高者达 95.0% (88-109 的 3-丁烯醇); 各物质在后代中的分布也相当广泛, 从 23.0~66.3 (88-110 的甲酸己酯) 到 1.5~1 320.4 的分布 (88-109 的 2-丁醇); 变异系数从 27.45 (88-110 的甲酸己酯) 到 180.47 (88-110 的乙烯二醇); 同种物质在不同杂交后代中的变异也不相同, 例如四氢呋喃在 88-109 组合中分布为 26.0~1 756.8, 变异系数达 134.8, 而在 88-110 中分布为 23.2~82.4, 变异系数仅为 34.3, 这表明上述物质可能是由多基因控制的数量性状。

2.2.2 分离的成分 分离的成分共有 7 种 (表 2), 分属于酯、醇、酮、烷等种类, 出现有无的分离比例经 χ^2 测验符合 1 1、1 3、1 9 的理论分离比例, 显示出了孟德尔的质量性状的遗传特征; 另一方面在有分离成分的后代中, 同一物质在不同组合或同一组合的不同物质表现也不相同, 例如异丁烯酸甲基丁酯在 88-109 的分布范围为 0.8~27.5, 而在 88-110 中的分布仅为 1.1~5.2; 同样在 88-109 组合中, 2,4-二甲基己醇的分布范围很宽, 为 1.2~209.0, 而 2-甲基丁烯醇的分布范围很小, 为 2.3~4.8。表明这些物质是由一对至多对基因控制的质量性状, 同时存在一定的加性效应。

2.2.3 在 2 个杂交组合中含量不同的成分 甲酸乙酯在 2 个杂交组合中表现出了不同的情况, 在杂

表 2 葡萄种间杂交双亲共有的杂交后代出现分离的香味成分含量的相对峰高

Table 2 Inheritance of flavour compounds shared with parents and segregated in F_1 generations

香味成分 Flavour components	组 合 Cross Combination	母 本 Female	父 本 Male	亲中值 Mid-parent	分离 Segregated		Segregation χ^2 -test	子代平均值 Averages	子代分布 Distribution
					有 Yes	无 No			
异丁烯酸甲基丁酯 $C_9H_{16}O_2$	1	2.2	20.2	11.2	36	32	1 1	18.2	0.8~27.5
	2	19.2	20.8	20.2	32	12	3 1	2.5	1.1~5.2
2,4-二甲基己醇 $C_8H_{18}O$	1	2.5	3.1	2.8	18	50	1 3	16.2	1.2~209.0
	2	3.0	2.5	2.8	13	31	1 3	2.6	1.0~3.6
2-甲基丁烯醇 $C_5H_{10}O$	1	2.7	1.7	14.4	7	61	1 9	3.9	2.3~4.8
3-甲基丁酮 $C_5H_{10}O$	1	2.2	1.0	1.6	52	16	3 1	8.7	0.7~73.1
2,4-二甲基己烷 C_8H_{20}	2	1.5	1.8	1.7	13	31	1 3	1.5	1.6~3.8
戊酮 $C_5H_{10}O$	2	2.8	2.0	2.4	35	9	3 1	28.4	1.0~93.6
甲酸乙酯 $C_3H_6O_2$	1	132.6	31.9	77.3	49	19	3 1	26.4	10.2~110.6

表 3 葡萄种间杂交双亲之一具有香味成分的遗传

Table 3 Inheritance of flavour compounds of single parent in F_1 generations

香味成分 Flavour components	组 合 Cross Combination	母 本 Female	父 本 Male	亲中值 Mid-parent	分离 Segregated		Segregation χ^2 -test	子代平均值 Averages	子代分布 Distribution
					有 Yes	无 No			
乙酸甲氧基乙酯 $C_5H_9O_3$	1	637.5	—	—	68	0	—	1 126.7	25.3~5 119.7
	2	64.4	—	—	44	0	—	156.4	6.8~121.5
2,4-二甲基己烷 C_8H_{18}	1	—	2.7	—	7	61	1 9	5.9	0.7~16.8
戊酮 $C_5H_{10}O$	1	—	3.6	—	52	16	3 1	47.9	2.4~271.4
丙酮 C_3H_6O	1	34.7	—	—	17	51	1 3	22.5	6.3~45.5
辛烷 C_8H_{18}	1	6.1	—	—	16	52	1 3	10.6	4.8~19.9
三甲基环氧乙烷 $C_5H_{10}O$	1	3.5	—	—	19	49	1 3	1.3	1.0~4.5
甲基丙烯醇 C_4H_8O	2	—	2.1	—	20	24	1 1	8.5	1.1~25.9
2-甲基丁烯醇 $C_5H_{10}O$	2	—	2.1	—	19	25	1 1	8.5	1.1~25.9
3-甲基丁酮 $C_5H_{10}O$	2	3.4	—	—	23	21	1 1	12.9	2.3~40.4
甲氧基乙醛 $C_3H_6O_2$	2	19.7	—	—	18	26	1 1	219.3	15.0~883.2
环己醇 $C_6H_{14}O$	2	121.4	—	—	32	12	3 1	35.0	8.7~133.5
未知 Unidentified	2	1.4	—	—	14	34	1 3	5.2	2.1~12.4
未知 Unidentified	2	6.2	—	—	22	22	1 1	17.6	1.8~44.0
沉香醇 $C_{10}H_{18}O$	2	—	10.1	—	19	25	1 1	10.2	1.8~58.7
3-甲基-1-丁醇 $C_5H_{12}O$	2	2.1	—	—	44	0	—	12.9	6.5~27.5
甲酸异戊酯 $C_6H_{14}O_2$	2	46.4	—	—	33	11	3 1	464.4	18.6~1 651.3

交组合 88-109 中, 母本的平均含量为 132.6, 父本为 31.9, 亲中值为 77.3, F_1 代出现了 3:1 的分离比例, 含有甲酸乙酯杂交株的含量分布为 10.2~110.6, 平均含量为 26.4, 表现为质量性状的遗传; 而在杂交组合 88-110 中, 母本的平均含量为 38.3, 父本的平均含量为 59.5, 亲中值为 48.9, F_1 代中没有分离现象, F_1 代的含量分布为 23.0~66.3, 平均含量为 45.1, 表现为数量性状的遗传。

2.3 双亲之一具有的香味成分遗传

这类物质共有 17 种, 包括了醇、酯、酮、醛、吡啶、烷等种类 (表 3)。这些物质在后代中出现了分离现象, 即全有和有无比例符合 1:9、1:3、1:1 的理论分离比例。在有该物质的后代中出现了数量上的差异, 其 50% 左右成分的平均值位于亲本值的附近, 最多者超亲 10 余倍; 后代分布中, 最高值可达最低值的 200 倍, 显示了质量性状下的数量化特征。其中作为玫瑰香型品种特征香味成分的沉香醇在后代中出现了 1:1 的一对基因的分离比例。

3 讨论

葡萄的香味是各种香味成分通过融合、叠加、掩盖等相互作用而表现出来的。过去的研究主要集中在玫瑰香型、美洲种狐臭味等香型遗传, 而对大量的欧洲葡萄中的芳香型品种、中性品种的香味成分缺乏研究^[2]; 同时, 已有的研究认为控制玫瑰香型的除主效基因外, 还存在修饰基因; 控制美洲种狐臭味的至少有 3 对基因^[5~7]。葡萄香型的评定主要是通过感官嗅、闻分类后得出的。根据我们的研究可以看出, 在有香味 × 无香味和有香味 × 有香味的杂交后代中, 从无香味到有香味浓度间的变异是连续的。因此, 鉴评人、栽培技术和生态条件的不同, 对杂交后代的鉴定结果, 包括香味之有无及浓淡的划分标准, 往往有很大的出入。仅凭综合表现的香型来推测其遗传是很困难的, 也是极不准确的。本研究中, 玫瑰香型特征成分之一的沉香醇之有无受一对基因控制, 呈 1:1 的分离比例, 而其它成分的表现有超亲和广泛变异, 证明是由微效多基因控制的数量性状, 另一些则表现出存在加性效应的受一对至多对基因控制的质量性状。这一结果与前人有关香味单纯为质量性状或数量性状遗传的观点^[6,7]不一致。因此, 要研究香味成分的遗传, 应该首先研究香味成分的遗传, 并将其与香型的遗传分开; 对于非玫瑰香型品种, 应首先弄清各个品种的特征香气成分, 并进一步通过杂交、回交、自交或基因标记技术等来确定它们的遗传控制基因, 然后再进行以优良风味成分为基础的品质育种。

参考文献:

- 1 贺普超. 提高我国葡萄产量和品质的途径和方法. 果树科学. 1995, 12 (4): 265~268
- 2 李记明, 宋长冰, 贺普超. 葡萄与葡萄酒芳香物质研究进展. 西北农业大学学报, 1998, 26 (5): 105~109
- 3 贺普超, 王跃进, 王国英, 等. 中国野生葡萄抗病性研究. 中国农业科学, 1991, 24 (3): 50~56
- 4 郭修武, 景士西, 林兴桂. 山葡萄种质资源研究初报. 沈阳农业大学学报, 1994, 26 (3): 271~276
- 5 贺普超. 葡萄学. 北京: 中国农业出版社, 1999. 265~275
- 6 罗国光, 文丽珠, 李耶波译. 葡萄的遗传及育种. 第二届国际葡萄育种会议论文选译. 北京: 农业出版社, 1989. 158~164
- 7 Alleweldt G. Possingham J V. Progress grape vine breeding. Theor. Appl. Genet., 1988, 75: 669~673

Inheritance of Aroma Components in *Vitis* Interspecific Crossings

Li Jiming¹ and He Puchao²

(¹ Center of Science and Technology, Changyu Group Co. LTD., Yantai 264025; ² College of Horticulture, Northwest Science and Technology University of Agriculture and Forestry, Yangling 712100)

Abstracts: Aroma components of grape from F_1 generation of two *Vitis* interspecific crossings were analysed with Gas chromatography-Mass spectrometry-Computer System (GC-MS-CS). The results indicated that some components showed 1:1, 1:3 and 1:9 segregation ratio, with qualitative inheritance trends; others had quantitative character inheritance.

Key words: *Vitis*; Interspecific crossing; Aroma components; Inheritance