

⑤
中国葡萄野生种花色素双糖苷的研究段长青¹ 贺普超¹ 康靖全² ✓

(1 西北农业大学园艺系, 2 西北农业大学实验中心, 陕西杨凌 712100)

摘 要 利用荧光光度法测定了中国野生葡萄 12 个种的 39 个株系、8 个杂交组合 397 个 F₁ 代杂种的花色素双糖苷含量。结果表明: 中国葡萄野生种均含有花色素双糖苷, 其含量在种和株系间差异较大; 1 对基因控制花色素双糖苷的有无; 3 对基因决定花色素双糖苷的含量。

关键词 葡萄, 野生种, 花色素双糖苷 品种 开发利用**中图分类号** S602.4 5663.102.4

葡萄果实中的花色素作为红葡萄酒的主要呈色物质, 常与葡萄糖结合, 以糖苷的形式存在于葡萄果皮中。1957 年, R. Gayon 报道了欧亚种葡萄无花色素双糖苷, 而美洲种葡萄及欧美杂种都含花色素双糖苷后, 国际葡萄、葡萄酒组织 (O. I. V.) 就把花色素双糖苷的有无作为检测欧亚种葡萄酒掺假的标志^[1,2]。此后, 有关研究者指出除欧亚种之外所有葡萄种及其种间杂种可检出花色素双糖苷^[3,4]。但是目前尚无花色素双糖苷对葡萄及葡萄加工品的品质有不良影响的报道。所以在利用野生葡萄资源选育酿酒葡萄新品种的研究中, 是否应执行 O. I. V. 关于葡萄酒中花色素双糖苷含量应少于 5 mg/L 的规定就是一个值的探讨的问题。而且在利用东亚种葡萄野生种进行育种的过程中, 花色素双糖苷的含量及其遗传特点, 目前尚无系统研究。本文旨在探讨中国葡萄野生种中花色素双糖苷的含量及遗传特点, 选择花色素双糖含量较低的亲本或杂种后代, 以便对中国葡萄野生种的开发利用提供科学的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

试验于 1995~1996 年进行, 试材取自西北农业大学果树试验站, 所用野生种有: 山葡萄 (*V. amurensis* Rupr.) 7 个株系、秋葡萄 (*V. romanetii* Roman.) 5 个株系、华东葡萄 (*V. pseudoreticulata* W. T. Wang) 6 个株系、毛葡萄 (*V. quinquangularis* Rehd) 5 个株系、刺葡萄 (*V. davidii* (Roman.) Foëx) 6 个株系、瘤枝葡萄 (*V. davidii* var. *Cyanocarpa* (Gapn.) Sarg.) 1 个株系、嬰奥葡萄 (*V. thunbergii* Sarg.) Sieb. et Zucc.) 1 个株系、华北葡萄 (*V. bryoniifolia* Bunge) 2 个株系、燕山葡萄 (*V. yeshanensis*) 1 个株系、复叶葡萄 (*V. Piasezkii* Maxim.) 3 个株系、小复叶葡萄 (*V. liubaensis* Niu L. X.) 1 个株系、麦黄葡萄 (*V. SPP.*, 地方俗名) 1 个株系。用作对照的欧洲葡萄品种和欧美杂种为粉红玫瑰 (Muscat rose)、法国

收稿日期 1997-07-10

课题来源 高等学校博士点基金资助项目

作者简介 段长青, 男, 1964 年生, 讲师、硕士

兰(Blue French)、神索(Sinsault)、佳利酿(Carignane)、赤霞珠(Cabernet Sauvignon)、五月紫(Maisky Noir)、玫瑰香(Muscat Hamburg)和康早(Campbell Early)。所用杂交组合及后代为镇 3×法国兰、白河 35-1×佳利酿、广西 1×白诗南、广西 1×神索、五月紫×广西 2、秋葡萄(留 1)×秋[†]、83-4-96×粉红玫瑰、83-4-96×白诗南。

1.2 方法

1.2.1 果实采收及处理 在气候条件允许和不发生严重落粒的情况下,尽量推迟采收,以便葡萄充分成熟。采收后剔除生青粒和腐烂果、除梗、破碎装瓶浸提 4 d,取汁、离心澄清(8000~10000 r/min,离心 10 min)。分离清汁稀释备用。

1.2.2 测定方法 花色素双糖苷含量用 Biber^[2]法测定。

1.2.3 数据统计分析 参考果树研究法^[5]进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 中国葡萄野生种中花色素双糖苷的含量

表 1 中国葡萄野生种中花色素双糖苷含量

种	株系或品种	花色双糖苷含量(mg/L)			种	株系或品种	花色双糖苷含量(mg/L)		
		1995 年	1996 年	平均			1995 年	1996 年	平均
山葡萄	通化 3	38.20	61.04	46.62	毛葡萄	泰山 12	51.07	81.71	66.39
	有 左山 1	57.28	/	/	有 商 24	153.34	132.06	142.70	
	有 左山 2	217.45	242.21	229.83	有 渭南 3	60.12	138.87	99.50	
	有 左山 75097	79.40	/	/	有 83-4-67	94.40	/	/	
	有 左山 74-1-36	134.52	240.86	187.69	有 83-4-96	101.94	100.63	101.29	
	有 双优	336.9	311.06	323.98	华北葡萄	安林 2	/	18.01	/
	有 辽宁山葡萄	16.35	17.66	17.01	有 安林 3	96.06	/	/	
华东葡萄	白河 35-1	145.41	197.66	171.54	复叶葡萄	甘肃 91	/	189.91	/
	有 白河 13	79.55	/	/	有 留 7	66.81	/	/	
	有 湖南 1	34.90	/	/	有 留 9	/	321.4	/	
	有 商南 1	121.49	/	/	晏奥葡萄	晏奥	23.79	59.73	41.76
	有 广西 1	171.42	119.06	145.24	麦穗葡萄	白河 4	/	6.654	/
	有 白河 13-1	23.79	/	/	瘤枝葡萄	镇 3	43.11	19.69	31.40
	刺葡萄	济南 1	31.48	32.29	31.89	小复叶葡萄	岚 2	303.67	/
刺葡萄	有 雪峰	178.38	/	/	燕山葡萄	燕山	146.01	108.83	127.42
	有 略阳 4	46.32	/	/	欧美杂种	康早	7.936	/	/
	有 塘尾	11.29	292.45	201.87	欧亚种	粉红玫瑰	0	0	0
	有 福建 4	172.46	75.68	124.07	无 神索	0	0	0	
	有 宁强 6	45.09	/	/	无 法国兰	0	0	0	
	秋葡萄	留 1	44.72	55.72	50.00	无 玫瑰香	0	0	0
	有 平利 7	92.56	166.73	129.65	无 五月紫	0	0	0	
秋葡萄	有 平利 2	/	160.77	/	无 赤霞珠	0	0	0	
	有 江西 1	/	70.84	/	无 佳利酿	0	0	0	
	有 白河 2	/	72.03	/					

表 1 的结果显示,欧亚种葡萄各品种中均不含花色素双糖苷;欧美杂种康早含有较少量(7.936 mg/L)的花色素双糖苷;中国葡萄野生种都不同程度的存在花色素双糖苷,它

们的含量无论是在种间还是株系间都存在相当大的差异,而且还因年份的不同,同一种或株系也都表现出含量的差异,1995年山葡萄双优含量最高(336.90 mg/L),含量最低的是辽宁山葡萄(16.35 mg/L);1996年含量最高的是复叶葡萄留9(321.40 mg/L),麦黄葡萄白河4含量最低(6.654 mg/L)。两年平均含量低的依次为辽宁山葡萄(17.01 mg/L)、瘤枝葡萄镇3(31.40 mg/L)、刺葡萄济南1(31.89 mg/L)、婴奥葡萄(41.76 mg/L)和山葡萄通化3(46.62 mg/L);平均含量高的依次为山葡萄双优(323.98 mg/L)、山葡萄左山2(229.83 mg/L)、刺葡萄塘尾(201.87 mg/L)和山葡萄左山74-1-36(187.69 mg/L)。有些种和株系因没连续结果,只有一年的测定数据,其中含量的高低还需进一步测定。

2.2 花色素双糖苷有无的遗传

由表2可知:组合五月紫×广西2、白河35-1×佳利酿、广西1×白诗南、镇3×法国兰、广西1×神索的 F_1 代杂种都含有花色素双糖苷,无分离现象,因各组合都有一个亲本为不含双糖苷的欧亚种葡萄,故可推知镇3、广西1、广西2、白河35-1中控制花色素双糖苷有无的基因为显性纯合;秋葡萄自交后代中无分离现象,说明至少有一个亲本中控制该性状的基因处于显性纯合状态;83-4-96×白诗南、83-4-96×粉红玫瑰两组合的 F_1 代杂种出现花色素双糖苷有无的分离,其中白诗南和粉红玫瑰为已知无花色素双糖苷的欧亚种葡萄,这说明83-4-96中控制双糖苷有无的基因属异质结合,因其有和无的分离比例分别为1.4:1和1.09:1,对其进行适合性 χ^2 测验(表3),发现这两个组合的 F_1 代杂种花色素双糖有无的分离比例符合1:1,所以可推知花色素双糖苷的有无受一对显性基因控制。

表2 花色素双糖苷有无的遗传

组 合	F_1 代株数		F_1 花色素双糖苷含量(mg/L)*				双 糖 苷		
	1995 年	1996 年	1995 年		1996 年		含有株数	不含株数	有:无
			平均值	标准差	平均值	标准差			
83-4-96×白诗南	5	7	12.56	14.63	27.60	26.10	7	5	1.4:1
83-4-96×粉红玫瑰	34	37	57.35	58.67	60.96	70.17	37	34	1.09:1
五月紫×广西2	41	29	110.57	66.37	139.71	60.32	70	0	
白河35-1×佳利酿	70	63	59.12	89.36	94.91	62.39	133	0	
镇3×法国兰	16	15	411.64	182.86	252.39	75.15	31	0	
广西1×白诗南	15	20	53.87	24.79	43.36	18.68	35	0	
广西1×神索	12	12	77.10	56.32	44.20	27.45	24	0	
秋葡萄(留1)×秋葡萄	10	11	63.48	34.37	152.98	65.08	21	0	

注:* 雄株广西2和秋葡萄的花色素双糖含量用其雌株广西1和秋葡萄(留1)代替,表4同。

表3 83-4-96 花色素双糖苷遗传的 χ^2 测验

双糖苷有无	观察株数(O)	理论株数(E)	O-E	$(O-E -0.5)^2/E$
有	44	41.5	2.5	0.096
无	39	41.5	-2.5	0.096
总计	83	83	0	0.192

查表得 $\chi^2_{0.05,1}=3.84$, $\chi^2_{0.001,1}=6.63$; $\chi^2=0.192<\chi^2_{0.05,1}<\chi^2_{0.001,1}$

表 4 F_1 代杂种中花色双糖苷含量分布

亲本组合	中亲值		F_1 代平均		F_1 代株数		F_1 代双糖苷含量分布(%)						超亲亲(%)		优势率(%)		相关系数
	1995	1996	1995	1996	1995	1996	0	0~50	50~110	110~170	170~230	260~320	>320	1995	1996	1995	1996
83-4-96 × 白诗南	50.97	50.31	12.56	27.60	5	7	60	40	28.57	42.86	28.57		0	0	-75.36	-45.16	
83-4-96 × 粉红玫瑰	50.97	50.31	57.3	60.96	34	37	47.06	20.59	20.59	11.76			28.57	24.32	12.51	21.17	
五月紫 × 广西 2	85.71	59.53	110.57	139.71	41	29	14.64	48.78	19.51	9.76	7.31		17.07	48.28	29.00	134.69	1995 年 -0.586
白河 35-1 × 佳利隆	72.71	98.83	59.12	94.91	70	53	64.29	32.86				2.85	2.85	9.52	-18.69	-3.95	
镇 3 × 法国 三	21.56	9.85	411.64	252.39	16	15	6.25		6.67	6.67	33.33	40.00	13.33	93.75	100	1809.71	2652.84
广西 1 × 白 诗南	85.71	59.53	53.87	42.36	15	20	53.33	40	6.67					0	0	-37.15	-28.84
广西 1 × 先 家	85.71	59.53	77.10	44.20	12	12	33.33	58.33	8.34				8.33	0	-10.05	-25.76	1996 年 -0.535
秋(留-1) × 秋葡萄 2	44.72	55.72	63.48	152.98	10	11	40	50	10			18.18	70	100	41.95	174.56	

* 杂种双糖苷含量所属区间的划分是根据对这些后代花色双糖苷含量方差分析多重比较的结果划分的, 双糖苷含量分布各组合上格为 1995 年值, 下格为 1996 年值。

表 5 83-4-96 × 粉红玫瑰花色双糖苷含量遗传的 χ^2 测验

亲本基因型	年份	F_1 含有株数	理论株数					χ^2	$\chi^2_{(0.05,1)}$
			低	中	高	0~50	50~110	110~170	
83-4-96 × 粉红玫瑰	1995	18	6	6	6	6	7	5	0.083
DdBrr × ddbbRr	1996	19	6.33	6.33	6.33	7	4	8	0.750

2.3 花色素双糖苷含量的遗传

表4的结果表明, F_1 代杂种中花色素双糖苷含量的分布具不连续性,都有一个相对集中的区域,有些组合后代出现了较大比例的超高亲现象,对后代平均花色素双糖苷含量与亲本含量进行相关分析,二者无显著相关,即后代中花色素双糖苷的含量不呈趋中变异,这些都说明:花色素双糖苷含量的遗传不是数量性状,而属质量性状。

分析表4中各组合的亲本组成,欧亚种葡萄法国兰、五月紫、佳利酿、神索、粉红玫瑰等红色品种的杂种后代花色素双糖苷含量都不同程度的出现超高亲现象,而且颜色较深的法国兰、五月紫等出现的比率较高,但含白色品种白诗南的组合无一超高亲现象出现,同时还出现较高的负优势率。由此可推断花色素双糖苷含量多少除和控制其有无的基因有关外,还和控制花色素形成的基因有密切联系。据罗素兰等人的研究结果^[6],83-4-96和粉红玫瑰的果皮颜色基因型为Bbrr和bbRr,考虑到控制双糖苷的基因(暂定为Dd),对83-4-96×粉红玫瑰的 F_1 代杂种中花色素双糖苷含量分布做适合性 χ^2 测验(表5),结果证明以上的推论是正确的,即花色素双糖苷的含量多少由3对基因决定。这3对基因如何作用,是否有互作关系,是否受亲本基因型、组合数、样本数等条件的限制,还需做进一步研究。

3 讨 论

3.1 花色素双糖苷作为检测葡萄酒掺假标准的局限性

花色素双糖苷的有无作为O.I.V.鉴定非欧亚种葡萄酒的掺假标准,主要是基于美洲种具不良的酿酒品质,特别是具有由邻氨基苯甲酸甲酯引起的“狐臭味”^[2],且美洲种葡萄都含有花色素双糖苷而制定的。但是,目前尚无任何研究表明,花色素双糖苷对葡萄酒的质量有不良影响,所以,O.I.V.制定的限制葡萄酒中花色素双糖苷含量不得超过5mg/L的标准就不利于研究开发不同的葡萄野生资源,对解决欧亚种葡萄抗性问题的促进作用。根据本研究结果,作者认为应对此标准做进一步的研究,并结合目前先进的检测手段予以修定,以期加速葡萄野生资源的开发利用,解决欧亚种的抗逆性问题。

3.2 花色素双糖苷的遗传

R. Gayon 在美洲种葡萄中研究发现花色素双糖苷有无是由一对基因控制的质量性状,且属显性纯合。作者的结果也证实在中国葡萄野生种中,控制花色素双糖苷有无的是一对基因,且为质量性状。在大多数种和株系中为显性纯合,但在毛葡萄(83-4-96)中处于异质结合。在所有杂交后代中花色素双糖苷含量都是不连续分布,和亲本的含量不相关,同时还有超高亲现象出现,说明其含量的多少属质量性状。另外花色素双糖苷的含量、超高亲比例、优势率等还表现出和亲本颜色深浅有一定的联系。结合花色素苷的生物合成,可以推测,控制其有无的基因实质上决定着3,5-花色素二葡萄糖苷形成时花色素分子5位上结合葡萄糖的糖苷酶,而在一般的欧亚种葡萄中只存在花色素分子3位上结合葡萄糖的糖苷酶。这样,花色素双糖含量的多少除和该酶有关外,还与花色素的形成以及作用于花色素分子3位上的糖苷酶有关,因一般葡萄果皮颜色的遗传由两对基因控制(BbRr),其中B对R为上位显性^[7],故作者假设了控制花色素双糖苷的含量高低为3对基因,经对基因型清楚的83-4-96×粉红玫瑰^[6]的 χ^2 测验,证实了这一推测是正确的。但

因其它亲本的基因型不清,组合数少,样本数少的局限,这一推测的可靠性还有待于进一步研究证明。

参 考 文 献

- 1 秦含章. 葡萄酒化学分析. 北京: 中国轻工业出版社, 1991
- 2 Amerine M A, Ough C S. Methods for Analysis of Musts and Wines. A Wiley-Interscience publication JOHN WILEY & SONS, New York, 1980
- 3 Goldy R G, Manesa E P. Pigment Quantity and Quality Characteristics of Some Native *Vitis rotundifolia* Michx. Am J Enol and Vitic, 1989(4): 253~258
- 4 Lamikanra O. Development of Anthocyanin Pigments in Muscadine grapes. Hortscience, 1988, 23(3): 597~599
- 5 华中农业大学主编. 果树研究法. 北京: 中国农业出版社, 1991
- 6 罗素兰. 葡萄种间杂交一代重要性状的遗传[硕士论文]. 杨凌: 西北农业大学, 1994
- 7 贺普超, 罗国光. 葡萄学. 北京: 中国农业出版社, 1991

Anthocyanin Diglucoside of the Wild *Vitis* Resources in China

Duan Changqing¹ He Puchao¹ Kang Jingquan²

(Department of Horticulture, 2 The Central Laboratory, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract The anthocyanin diglucoside contents of 39 clones in 12 species, and 397 F₁ of 8 crossings of the wild *Vitis* resources in China were determined. The results showed that all the wild *Vitis* resources contain anthocyanin diglucoside and the anthocyanin diglucoside contents of different species and clones vary much; A pair of genes decides the existence of anthocyanin diglucoside, where three pairs of genes determine how much anthocyanin diglucoside the grape berries contain.

Key words *Vitis*, wild resource, anthocyanin diglucoside