

研究报告

Research Report

4 种杨梅果实挥发性有机物及品种间的亲缘关系分析

陈方永* 王引 倪海枝 颜帮国

浙江省柑桔研究所, 浙江省台州市黄岩区头陀镇鱼山坪, 台州, 318026

通信作者, cfy17266@126.com

摘要 本研究通过 GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) 和感官评价, 对 2 个白杨梅和 2 个紫红色杨梅的果实挥发性成分及与松树的亲缘关系进行分析。GC-MS 检测结果表明, 4 个杨梅品种中共检测到醛类、酸类、酮类、醇类、酯类、酚类、烯烃、烷烃 8 大类 60 种挥发性有机物, 其中荸荠含 32 种、永嘉白杨梅含 25 种、上虞白杨梅、野乌均为 18 种。该 4 种杨梅的主要 3 种挥发性成分种类不同, 其中永嘉白杨梅主要为松油烯-4-醇、1-甲基-4-(1-甲基亚乙基)环己烯、松油烯, 占 53.30%; 野乌为石竹烯、L-松油醇和 D-柠檬烯, 占 53.77%。上虞白杨梅为松油烯-4-醇、松油烯、1,3,8-对-薄荷三烯, 占 61.37%; 荸荠为石竹烯、乙酸乙酯、邻异丙基甲苯, 占 73.22%。对马尾松脂进行定性检测, 主要成分为 α -蒎烯、蒎烯、 β -蒎烯, 与杨梅无对应成分。与此同时, 对杨梅叶片和松针叶的 ISSR 分子标记分析结果表明, 荸荠与野乌、上虞白杨梅与永嘉白杨梅的亲缘关系密切, 与马尾松无亲缘关系。因此, 研究认为杨梅果实的松香味可能是杨梅在进化过程中的特征表现形式, 与杨梅的遗传演化和选育结果有关, 与马尾松树无关。

关键词 杨梅, 挥发性有机物, 亲缘关系

Analysis of Volatile Organic Compounds in 4 Kinds of *M. rubra* Fruits and Their Relationship Among Varieties

Chen Fangyong* Wang Yin Ni Haizhi Yan Bangguo

Citrus Research Institute of Zhejiang Province, Yushanping, Toutuo Town, Taizhou city, Zhejiang province, 318026

* Corresponding author, cfy17266@126.com

DOI: 10.5376/mpb.cn.2020.18.0047

Abstract In this study, GC-MS and sensory evaluation were used to analyze the volatile components of the fruits of 2 white *M. rubra* and 2 purple *M. rubra*. Meanwhile, their relationship among each other and masson pine (*Pinus massoniana*) were detected. The GC-MS test results showed that, there were 60 volatile organic compounds (VOCs) in 8 categories, including aldehydes, acids, ketones, alcohols, esters, phenols, olefins and alkanes, found in the four *M. rubra* cultivars. Among which, 32 were found in *M. rubra* cv “Biqi”, and 25 were found in *M. rubra* cv “Yongjia”. 18 were both found in *M. rubra* cv “Shangyu” and *M. rubra* cv “Yewu”. The three main volatile components of the four *M. rubra* were different, among which, Yongjia was mainly composed of turpentine-4-alcohol, 1-methyl-4-(1-methyl-ethyl) cyclohexene and turpentinene, accounting for 53.30%. Yewu was caryophyllene, L-turpinol and D-limonene, accounting for 53.77%. Shangyubaiyangmei was composed of pinole-4-alcohol, pinolene, 1,3,8-p-menthotriene, accounting for 61.37%. Biqi were caryophyllene, ethyl acetate

本文首次发表在《分子与植物育种》上, 现依据版权所有人授权的许可协议, 采用 Creative Commons Attribution License, 协议对其进行授权, 再次发表与传播

收稿日期: 2020 年 11 月 3 日; 接受日期: 2020 年 11 月 3 日; 发表日期: 2020 年 11 月 10 日

引用格式: 陈方永, 王引, 倪海枝, 颜帮国, 2020, 4 种杨梅果实挥发性有机物及品种间的亲缘关系分析, 分子植物育种(网络版), 18(47): 1-7 (doi: 10.5376/mpb.cn.2020.18.0047) (Chen F.Y., Wang Y., Ni H.Z., and Yan B.G., 2020, Analysis of volatile organic compounds in 4 kinds of *M. rubra* fruits and their relationship among varieties, Fengzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding (online)), 18(47): 1-7 (doi: 10.5376/mpb.cn.2020.18.0047))

and *o*-isopropyl toluene, accounting for 73.22%. The main components of masson pine resin were α -pinene, camphene, β -pinene, which were different with *M. Myrica*. At the same time, ISSR molecular marker analysis of bayberry leaves and pine needles showed that Biqi had close relationship with Yewu, Shangyubaiyangmei had close relationship with Yongjia bayberry, but not with Masson's pine. Therefore, it is suggested that the pine aroma of *M. Myrica* fruit may be the characteristic expression form in the evolutionary process, which is related to the genetic evolution and breeding results, and has nothing to do with masson pine.

Keywords *Myrica rubra*, Volatile organic compound; Genetic relationship

中国是杨梅(*Myrica rubra* Sieb.)的原产地和主产区,已有 2000 多年的栽培历史。目前,全国有栽培杨梅品种 305 个,面积 30 多万 hm^2 ,产量 100 多万吨,面积和产量均占全球的 90%以上(陈方永, 2014, 华中农业大学, pp.4)。东魁(*Myrica rubra* cv.Dongkui)、荸荠(*Myrica rubra* cv.Biqi)、丁岙梅(*Myrica rubra* cv.Dingyomei)、舟山晚稻梅(*Myrica rubra* cv.Zhoushanwandaomei) 4 个主栽品种占全国栽培面积产量的 85%以上,同时还有一些地方特色的品种资源,作为花色品种丰富和调节市场供应,以满足不同层次的市场。

杨梅果实的香味是重要的品质指标,如果果实有松香味,则鲜食的经济价值大幅下降。杨梅出现松香味,民间素有反映。作者通过调查发现,浙江、湖南、湖北、重庆等省市的杨梅产区均有此现象。浙江省的上虞糖霜杨梅,黄岩白杨梅、野乌,永嘉白杨梅、荔枝梅,萧山棠湘、湘红,余杭早野乌、松毛荔,其中以永嘉县的荔枝梅(白杨梅)松香味最浓,难以入口。此外,湖南省靖州县的上村杨梅、大叶杨梅,重庆纂江、湖北恩施的一些野杨梅都具有松香味(陈方永, 2014, 华中农业大学, pp.4)。因而,不少果农认为是杨梅与松树杂交的结果,但迄今为止尚无试验依据。李睿琦(2004, 中国科学院研究生院, pp.111-118)经过 PHYC 基因谱系分析研究,发现胡桃科(Juglandaceae)、马尾树科(Rhoipteleaceae)作为姐妹群与杨梅科聚类分别得到 97%、85%的 BS 支持,推测胡桃目与杨梅科可能起源于共同的四倍体祖先。胡桃(*Juglans regia* L.)与杨梅及马尾松脂(*Pinus massoniana* Lamb.)的挥发性有机物成分明显不同(李睿琦, 2004, 中国科学院研究生院, pp.111-118; 粟本超, 2010, 广西大学, pp.24-30; 张泽煌等, 2013)。生产中多通过感官评价,即采用嗅觉感知判断杨梅的松香味与松树的次生代谢物松脂味比较接近,然而,目前还未有对两者的亲缘关系进行定性分析。基于此,本研究通过 GC-MS 测定分析杨梅果实的挥发性有机物种类和含量,并通过 ISSR 分子标记分析杨梅与松树可能存在的亲缘

关系,探讨杨梅果实产生松香味的原因,为选育无松香味的杨梅品种提供信息参考。

1 结果与分析

1.1 杨梅果实品质和香气感官评价

通过走访调查发现,野乌、上虞白杨梅、永嘉白杨梅在生长发育过程中都有不同程度的松香味存在,但随着果实成熟度的增加而减弱,上虞白杨梅在完熟时基本没有松香味。与荸荠比较,永嘉白杨梅、野乌在常温条件下果实存放在 2.5 d 内不变色变味,贮藏 3 d 后的品质与荸荠贮藏 12 h 相近。同时,上虞白杨梅的耐贮性也优于荸荠(表 1; 图 1)。原生品种比栽培种的松香味更加浓郁,如荸荠、上虞白杨梅作为栽培种经过长期驯化选种则没有或者基本没有松香味,而永嘉白杨梅、野乌等野生品种松香味浓郁。此外,色泽与松香味无相关性,如紫黑色的野乌和乳白色的永嘉白杨梅均有松香味。

1.2 杨梅果实挥发性成分分析

GC-MS 分析结果表明,4 个品种杨梅果实共检测到 60 种挥发性有机物,分属 8 个类别,其中荸荠 32 种,永嘉白杨梅 25 种,上虞白杨梅、野乌均为 18 种(表 2)。在酸类、酮类物质中,永嘉白杨梅、上虞白杨梅均未检出,野乌仅有酸类 1 种,其它成分均无检出。烯烃成分以野乌最多有 5 种,荸荠 4 种,而永嘉白杨梅、上虞白杨梅均未检出。烷烃成分荸荠 6 种,其他 3 种品种均未检出。苯酚类永嘉白杨梅 13 种,上虞白杨梅 9 种,野乌 7 种,荸荠仅 5 种。

荸荠中烯烃含量最高,为 73.2 $\mu\text{g/L}$,其次为野乌 67.6 $\mu\text{g/L}$,2 个白杨梅品种均未检出。苯酚类含量最高的为永嘉白杨梅 108.0 $\mu\text{g/L}$,其次为上虞白杨梅 100.0 $\mu\text{g/L}$ 。醇类含量最高的是上虞白杨梅达 78.3 $\mu\text{g/L}$,其次为荸荠 72.0 $\mu\text{g/L}$,永嘉白杨梅品种 53.87 $\mu\text{g/L}$,最低的野乌只有 25.5 $\mu\text{g/L}$ 。烷烃含量最高为荸荠 37.0 $\mu\text{g/L}$,其次为永嘉白杨梅 12.0 $\mu\text{g/L}$,而其它 2 个均未检出。醛类物质中上虞白杨梅 45.0 $\mu\text{g/L}$,3 倍

表 1 杨梅松香味调查结果

Table 1 Investigation result of the pine odor phenomenon of *Myrica rubra*

名称 Name	产地 Production area	果实色泽 Fruit color	单果重(g) Single fruit weight (g)	TSS (%)	货架期(d) Shelf life (d)	松香味 Pine aroma	松香味历史 History of pine aroma
荸荠 BJ	余姚 Yuyao	紫黑色 Purple black	10.2	11.50	1.0	/	无 No
永嘉白杨梅 YJBYM	永嘉 Yongjia	乳白色 Milky white	7.8	8.22	2.5~3.0	浓 Strong	有 Yes
上虞白杨梅 SYBYM	上虞 Shangyu	乳白色, 少有 粉红色 Milky white with little pink	10.3	9.78	2.0	完熟基本无 No when mature	量逐渐变少, 味变淡 Less when mature
野乌 YW	黄岩 Huangyan	紫黑色 Purple black	7.9	8.49	2.0~2.5	松毛草味 Loose hair grass flavor	有 Yes

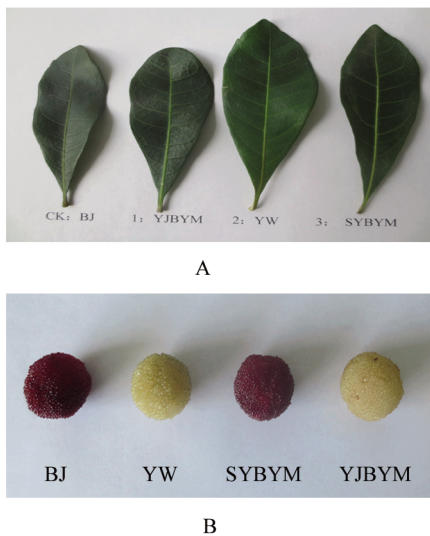


图 1 4 个品种杨梅叶片(A)和成熟果实(B)外观

注: CK: BJ; 1: YW; 2: SYBYM; 3: YJBYM

Figure 1 Leaves (A) and appearance (B) of the ripe fruits of *Myrica Rubra*

Note: CK: BJ; 1: YW; 2: SYBYM; 3: YJBYM

于荸荠,其它 2 个材料均未检出。酸类物质野乌近 3 倍于荸荠,而其它 2 个材料均未检出(表 2)。

以前 3 位的主要挥发性有机物成分为例(表 3), 4 个品种间在组成和含量上均无明显规律性。荸荠的主要挥发性有机物是石竹烯、邻异丙基甲苯、乙酸乙酯,三者占挥发性有机物总量的 73.22%;永嘉白杨梅为 1- 甲基 -4-(1- 甲基亚乙基)环己烯、松油烯 -4- 醇、松油烯,同比为 53.30%;上虞白杨梅是松油烯 -4- 醇、松油烯、1,3,8- 对 - 薄荷三烯,同比为 61.37%;野乌是石竹烯、L- 松油醇、D- 柠檬烯,同比为 53.77%。而马尾松是 α - 蒎烯、 β - 蒎烯、 β - 石竹烯,同比占

51.70%;马尾松脂经过定性分析的主要物质是 α - 蒎烯、蒎烯、 β - 蒎烯。比较马尾松的针叶、松脂挥发性有机物组分与 4 个杨梅品种均不相同。表中 SS* 数据参考粟本超(2010, 广西大学, pp.4-10)的硕士学位论文。

1.3 4 个杨梅品种与松树的亲缘关系 ISSR 分析结果

经过 7 个引物扩增显示(图 2),5 个样品的检测结果可分成 2 大类 3 小类。4 个杨梅品种中,荸荠与野乌亲缘关系最近,它们自 500~2 000 bp 之间基本无差别;上虞白杨梅与永嘉白杨梅亲缘关系较近,它们自 750~2 000 bp 之间基本无差别;而 4 个杨梅品种与松树之间无亲缘关系。

2 讨论

水果的挥发性有机物可通过人体嗅觉器官感知,进而影响消费者的选择。不同水果的挥发性有机物明显不同,如草莓(*Fragaria ananassa* Duchesne)、石榴(*Punica granatum* L.)、杨梅(*Myrica rubra*)、樱桃(*Cerasus pseudocerasus* (Lindl.) G. Don)、蒲桃(*Syzygium jambos*)、醋番石榴(*Psidium guajava* L.guava)(Mariana et al., 2014; Chen et al., 2015; Ola et al., 2015),且同一水果不同品种间的挥发性有机物种类和含量也存在较大差异。目前,对主要挥发性有机物组分或挥发性有机物活性组分的评价通常采用 GC-O 吸闻技术(Gaschromatogra-phy-olfactometry)(Jelen et al., 2012; 陈焕等, 2016)。但 GC-O 法通常工作量大、耗时,对评价员的要求较高,而采用 GC-MS 法分离效果较好、灵敏度更高,更加适于香味挥发类气态物质的鉴定。

表 2 杨梅挥发性有机物分类结果汇总($\mu\text{g/L}$)Table 2 Summary of aroma components detection results of *Myrica rubra* ($\mu\text{g/L}$)

品种	类别	醛类	酸类	酮类	醇类	酯类	苯酚类	烯烃	烷烃	共计
Variety	Category	Aldehyde	Acid	Ketones	Alcohols	Esters	Phenol	Olefin	Alkanes	Total
荸荠	含量(种)	15.0/2	2.6/1	4.7/1	72.0/7	12.0/6	20.9/5	73.2/4	37.0/6	32
BJ	Content (kind)									
	相对含量(%)	1.25	0.22	0.39	6.04	10.06	17.53	61.39	3.12	100
	Relative content (%)									
永嘉白杨梅	含量(种)	0/0	0/0	0/0	53.7/5	11.4/5	108.0/13	0/2	12.0/0	25
YJBYM	Content (kind)									
	相对含量(%)	0	0	0	30.80	6.54	61.96	0	0.7	100
	Relative content (%)									
上虞白杨梅	含量(种)	45.0/1	0/0	0/0	78.3/3	20.0/5	100.0/9	0/0	0/0	18
SYBYM	Content (kind)									
	相对含量(%)	2.21	0	0	38.61	9.86	49.32	0	0	100
	Relative content (%)									
野乌	含量(种)	0/0	7.7/1	0/0	25.5/2	79.0/3	28.0/7	67.6/5	0/0	18
YW	Content (kind)									
	相对含量(%)	0	0.59	0	19.65	6.08	21.58	52.10	0	100
	Relative content (%)									

表 3 杨梅果实主要挥发性有机物及相对含量

Table 3 The main volatile organic compounds and their relative contents in *M. Myrica* fruit

品种	主要成分及相对含量(%)		总计(%)
Variety	Main ingredients and relative content (%)		Total (%)
BJ	乙酸乙酯	邻异丙基甲苯	石竹烯
	Ethyl acetate	o-cymene	Caryophyllene
	8.22	11.49	53.51
			73.22
YJBYM	松油烯-4-醇	1-甲基-4-(1-甲基亚乙基)环己烯	松油烯
	Terpinen-4-ol	1-methyl-4-(1-methylethylidene)cyclohexene	Terpinene
	19.22	21.57	12.51
			53.30
SYBYM	松油烯-4-醇	松油烯	1,3,8-对-薄荷三烯
	Terpinen-4-ol	Terpinene	1,3,8-p-Mentha triene
	28.40	19.56	13.41
			61.37
YW	L-松油醇	D-柠檬烯	石竹烯
	L-Terpineol	D-limonene	Caryophyllene
	11.71	8.39	33.67
			53.77
SS*	α -蒎烯	β -蒎烯	β -石竹烯
	α -pinene	β -pinene	β -caryophyllene
	26.09	11.70	13.91
			51.70
MWS*	α -蒎烯	莰烯	β -蒎烯
	α -pinene	camphene	β -pinene

注: MWS*, 指马尾松的松脂主要挥发物, 未定量检测

Note: MWS* represents main volatile matter of pinus massoniana turpentine which has not been quantitatively detected

本研究通过 GC-MS 检测到杨梅果实中的 60 个挥发性有机物, 分属于 8 个类别, 这与张泽煌等(2013)、康等(2009)的“烷烃、烯烃是绝大部分杨梅品

种的最主要挥发性成分”的结果存在较大差别。本研究发现, 烯烃可能是乌紫色杨梅与白色杨梅品种中的典型特征标志, 前者含量高居前两位, 而后者未检

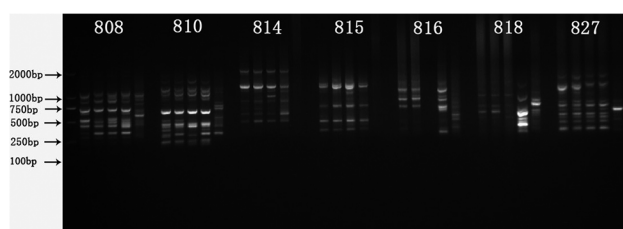


图 2 4 个杨梅品种与马尾松树亲缘关系对照

注: 自左至右各引物 6 条酶谱带序号均为: Marker, BJ YW, SYBYM, YJBYM, MWS

Figure 2 Genetic relationship comparison between the four *Myrica Rubra* cultivars and pine trees.

Note: Description: from left to right, the order of the 6 enzyme bands of each primer are: MarKer, BJ, YW, SYBYM, YJBYM, SS

测到。在荸荠杨梅中共检测到 19 种成分,比张泽煌等(2014)的研究增加了 8 种,可能与种植地域、管理水平及提取及检测方法的差异相关。Chen 等(2015)用固相微萃取法等 3 种方法分析了荸荠、东魁、粉红色 3 个品种的气味组成,在检测出的 36 种芳香成分中,发现“荸荠”香草味浓郁,主要成分是苯甲酸甲酯;“东魁”青草味浓郁,主要成分是 2,6-二甲基-2,4,6-辛三烯;“粉红色”香味浓郁,主要成分是 α -蒎烯。这与本研究关于特征挥发性有机物结果相近,且马尾松的主要挥发性有机物(松针,松脂)与粉红色种的松香味主要成分相同,均为 α -蒎烯。Chen 等(2016)利用 PCA 分析,将荸荠、东魁、粉红色等 11 个杨梅品种的气味归为 3 类: α -蒎烯、 β -石竹烯和乙酸乙酯。Kang 等(2009)研究表明,杨梅最重要的挥发性有机物为石竹烯、薄荷醇、4-松油醇、氧化芳樟醇、苯甲醇、 β -苯乙醇、 α -甲基苜醇、3-甲基丁酸、乙酸等。本次检测的 4 个杨梅中石竹烯成分最高的只有荸荠和野乌这两个紫红色品种,而其它 2 个白色品种前 3 种挥发性有机物均无石竹烯,这个结果与 Kang 等(2009)“石竹烯含量极高是杨梅的一个典型特征”的结果不同。

然而,在不同年份、不同产地的东魁、荸荠挥发性有机物中,石竹烯虽然同年含量最高,但绝对值相差十分悬殊。如 Kang 等(2009)在仙居东魁中测定含量为 1 069.8 $\mu\text{g/L}$,而笔者在黄岩取样只有 688.3 $\mu\text{g/L}$ 。林旗华等(2015)研究福建省 3 个地方品种杨梅,发现烃类相对含量分别占挥发性有机物的 89.26%~95.99%,但不同品种的杨梅果肉中所含的挥发性有机物及含量差异极大,浮宫 1 号的挥发性有机物主要由十八烷、二十七烷、1-石竹烯等构成,共

占 76.69%;软丝安海变的挥发性有机物主要由 1-石竹烯和环氧石竹烯等构成,共占 83.30%。本研究对照马尾松的 3 个主要挥发性有机物 α -蒎烯、蒎烯、 β -蒎烯,均与荸荠、永嘉白杨梅、上虞白杨梅、野乌不同。

从花期分析,杨梅与松树似乎存在杂交的可能性,杨梅雄花与松树雄花的花期为 2 月下旬-4 月上旬,雌花为 3 月上旬-4 月上旬,推断松树(δ) \times 杨梅(η)有可能在某一时间段内自然杂交授粉。马尾松的主要挥发性成分是 α -蒎烯、蒎烯、 β -蒎烯,与前述某些杨梅品种的一些成分存在类似。这样,考虑存在遗传关系的可能性,为此,先后连续 2 年分别对荸荠、上虞白杨梅、永嘉白杨梅、野乌中进行人工喷粉与点粉、折枝摇花等杂交授粉试验,结果表明它们均不授精,因此可以排除马尾松作为裸子植物与杨梅这个被子植物远缘杂交的可能性。有些杨梅品种中为什么存在松香味成分,还有待于深入研究。

可以推断,部分杨梅出现松香味有其遗传进化的过程,导致固有挥发性有机物含量发生变化,因此在品种选育上可以通过栽培、杂交等技术减少松香味成分,提高果实品质,如上虞白杨梅就是松香味逐渐减少乃至消失的实例。上虞白杨梅与永嘉白杨梅相比,前者经过长期的民间品种选育,在上虞二都镇选出了口感没有松香味的二都白杨梅;而永嘉白杨梅一直无人选种因此松香味的固有特征没有改变。色泽气味类似性不能推定一个品种的遗传演化关系。如甜橙中有番茄红素并不代表它与番茄类品种彼此间有亲缘关系(Xu et al., 2009)。笔者发现,有松香味的杨梅品种具有较强的耐贮性,自然条件下的贮藏时间比对照提高 2 倍及以上,这可能也是今后杨梅品种选育的方向之一。

3 材料与方 法

3.1 供试材料

随机选择大小相近、成熟期的永嘉白杨梅(YJBYM)、上虞白杨梅(SYBYM)、野乌(YW)、荸荠杨梅(BJ)果实各 1 kg,贮存于 -18°C 的冷柜中待用。马尾松针叶、马尾松脂采自浙江省柑橘研究所试验基地。

主要仪器设备包括:Finnigan Trace MSGC-MS (Finnigan, USA),手动萃取头(型号 75 μm Carbox-en/PDMS)、SPME 手动进样器(Supelco, USA)等。

3.2 调研

采取面上调查与资源圃调查相结合的办法进

行。面上调查,永嘉白杨梅,在主产区永嘉县;上虞白杨梅,在上虞市、余姚市;野乌,在黄岩县、临海市;荸荠,在余姚、黄岩县。上述每产区随机选择3个果园,每果园选择10株树开展现场调查与鲜果品尝。点上调查则在浙江省柑桔研究所杨梅种质资源圃内(浙江省台州市黄岩区,面积4 hm²)进行,每个品种选择5株,每株树随机选择10个果实进行品尝。

3.3 挥发性有机物检测

3.3.1 样品处理

加2.4 g CaCl₂与去核的杨梅果肉混合放入榨汁机中榨汁,快速将8 mL杨梅汁装入15 mL萃取瓶中,加入1×10⁶的内标3-壬酮5 μL,加入磁性转子并用铝箔和封口膜封口;在老化温度250 °C的条件下,将固相微萃取头置于气相色谱进样口老化40 min,待萃取头老化好后,将其插入萃取瓶顶空部分,谨慎推出纤维头,然后将萃取瓶置于40 °C水浴锅中萃取30 min;纤维头推回后将萃取头从萃取瓶中拔出,插入已设好条件的GC-MS进样口,推出纤维头,在220 °C条件下解吸3 min,推回纤维头后拔出萃取头,采集数据。

3.3.2 GC-MS 分析

色谱条件:载气为高纯度氦气;色谱柱为PEG-20M毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);体积流量1 ml/min;柱温升温模式为程序升温:60 °C (5 min)、240 °C (5 min),每分钟升温5 °C;气化室温度设置:250 °C。

质谱条件:采用电子轰击(EI)电离模式,电子能量设置为70 eV;离子源温度为230 °C,气谱/质谱连接管温度250 °C;扫描范围50~300 amu。

3.3.3 方法

定性:松脂用Agilent7890-5975GC-MS定性分析法。

定量:(1)用峰面积归一法计算各化合成分的相对含量;(2)选择浓度为1.0×10⁻⁶的3-壬酮为内标,采用SIM(选择离子检测)方式定量。计算公式参照田平等(2010, 山东农业大学, pp.20-25)的方法,并略做改动。挥发性有机物含量(μg/g)=[组分峰面积/内标峰面积×内标浓度(μg/g)×内标体积/样品重量(g)]。

3.3 ISSR 分子标记检测

3.4.1 材料准备及DNA提取

检测前1 h,在资源圃内采集上述4个杨梅品种

树冠上部的当年生幼嫩叶及马尾松树幼嫩尖叶(CK),用纯净水清洗晾干。

3.4.2 ISSR 分子标记实验及耗材

参照罗慧等(2015)的方法组织采购材料与上机实验。

作者贡献

王引参与松香味成分的测定与亲缘关系检测;倪海枝参与数据整理及论文初稿的写作;颜帮国参与部分实验;陈方永是项目的负责人,指导实验设计,数据统计,论文写作与修改。全体作者都同意最终的文本。

致谢

本研究由浙江省农科院浙东特色果树学科建设项目、浙江省十三五杨梅育种专项(2016C02052-2)和浙江省省院合作林业科技项目2019SY05-1共同资助。

参考文献

- Chen H., Chen J.L., Chen S.G., Wu D., Liu D.H., and Ye X.Q., 2015, Characterization of aroma-active volatiles in three Chinese bayberry (*Myrica rubra*) cultivars using GC-MS-olfactometry and an electronic nose combined with principal component analysis, *Food Research International*, 72: 8-15
- Chen H., Chen J.L., Chen S.G., Xia Q.L., Liu D.H., and Ye X.Q., 2016, Sensory evaluation, physicochemical properties and aroma-active profiles in a diverse collection of Chinese bayberry (*Myrica rubra*) cultivars, *Food Chemistry*, 212: 374-385
- Cheng H., Chen J.L., Zhou X.Z., Chen R.R., Liu D.H., and Ye X.Q., 2016, Advances in identification and biosynthetic pathway of Key Aroma in fruits, *Zhongguo Shipin Xuebao (Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology)*, 16(1): 211-218 (陈焕, 陈健乐, 周晓丹, 陈荣荣, 刘东红, 叶兴乾, 2016, 水果香气物质分析及合成途径研究进展, *中国食品学报*, 16(1): 211-218)
- Jelen H.H., Majcher M., and Dziadas M., 2012, Microextraction techniques in the analysis of food flavor compounds: a review, *Analytica Chimica Acta*, 738: 13-26
- Kang W.H., Xu Y., Fan W.L., Jiang W.G., Zhou Z.Q., and Zhu Y.F., 2009, Quantitative analysis of characteristic aromatic compounds in red berry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) by HS-SPME and GC/MS, *Science and Technology of Food Industry*, (12): 380-384

- Lin Q.H., Zhang Z.H., and Zhong Q.Z., 2015, Aroma components analysis of three major local Chinese bayberry cultivars in Fujian, *Redai Zuowu Xuebao* (Chinese Journal of Tropical Crops), 36(1): 115-119. (林旗华, 张泽煌, 钟秋珍, 2015, 三个福建地方主栽杨梅品种果实香气成分分析, 热带作物学报, 36(1): 115-119)
- Luo H., Ding G.W., Guo Q.G., Xiang S.Q., Sun H.Y., Liang G.L., Wang J., Wu Z., and He Q., 2015, Study of genetic diversity of *Prunus persica* accessions based on ISSR markers. *Xinan Daxue Xuebao* (Journal of Southwest University (Natural Science Edition)), 37(5): 45-50 (罗慧, 丁广文, 郭启高, 向素琼, 孙海燕, 梁国鲁, 王静, 武峥, 何桥, 2015, 基于 ISSR 标记的 44 份桃种质资源遗传多样性分析, 西南大学学报 (自然科学版), 37(5): 45-50)
- Mariana B.E., Aducto B.P., Juan C., Vicente F., and Ricardo L., 2014, Comparative analysis of aroma compounds and sensorial features of strawberry and lemon guavas (*Psidium cattleianum* Sabine), *Food Chemistry*, 164: 272-277
- Ola L., and Ng S.S., 2015, Key volatile aroma compounds of three black velvet tamarind (*Dialium*) fruit species *Food Chemistry*, 168: 561-565
- Xu Q., Yu K.Q., Zhu A.D., Ye J.L., Liu Q., Zhang J.C., and Deng X.X., 2009, Comparative transcripts profiling reveals new insight into molecular processes regulating lycopene accumulation in a sweet orange (*Citrus sinensis*) red-flesh mutant, *BMC Genomics*, 10: 540
- Zhang Z.H., Lin Q.H., and Zhong Q.Z., 2014, GC-MS analysis of aroma components and cluster analysis of fruit of ten Chinese bayberry cultivars, *Fujian Nonglin Daxue Xuebao* (Journal of Fujian Agricultural and Forestry University (Natural Science Edition)), 43(5): 269-272 (张泽煌, 林旗华, 钟秋珍, 2014, 10 个品种杨梅果实香气成分的 GC-MS 检测及聚类分析, 福建农林大学学报 (自然科学版), 43(5): 269-272)
- Zhang, Z.H., Lin, Q.H., and Zhong Q.Z., 2013, Aromatic compounds in Chinese bayberries (*Myrica rubra*), *Fujian Nongye Xuebao* (Fujian Journal of Agricultural Science), 28(6): 552-556 (张泽煌, 林旗华, 钟秋珍, 2013, 10 个杨梅品种果实的香气成分研究, 福建农业学报, 28(6): 552-556)