

# 马尾松松脂化学组分家系变异及相关分析

刘青华<sup>1</sup>, 魏永成<sup>2</sup>, 范辉华<sup>2</sup>, 沈丹玉<sup>1</sup>, 陈文荣<sup>3</sup>, 周志春<sup>1\*</sup>

(1. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 杭州 311400; 2. 福建省林业科学研究院, 福建 福州 350012;  
3. 福建省国有来舟林业试验场, 福建 南平 353004)

**摘要:**【目的】研究马尾松松脂化学组分在家系间的变异以及松脂组分间的相关性,为以松脂品质为目标的马尾松遗传改良工作提供理论依据和指导。【方法】以福建省国有来舟林业试验场11年生马尾松高产脂半同胞家系测定林为研究对象,通过气相色谱/质谱联用技术(GC/MS)检测每株样木树干胸径部位木质部内松脂化学组分的种类和含量,分析这些组分在家系间的遗传变异以及它们之间的遗传相关性,并利用在家系间差异显著的松脂化学组分对所有家系进行聚类。【结果】从马尾松松脂中共检出20种主要化学组分,其中, $\alpha$ -蒎烯、 $\beta$ -蒎烯、长叶烯、 $\beta$ -石竹烯、海松酸、山达海松酸、长叶松酸/左旋海松酸、脱氢枞酸、枞酸和新枞酸为松脂中含量较高的组分。经方差分析发现:单萜中的蒎烯和柠檬烯,倍半萜中的长叶环烯、酒萜烯、 $\beta$ -石竹烯和 $\alpha$ -石竹烯以及二萜中的海松酸和新枞酸在家系间的差异显著或极显著,家系遗传力为0.45~0.59,意味着通过家系选择,这10个组分的遗传改良可取得较好的成效。对松脂化学组分进行遗传相关分析发现:在单萜类内, $\beta$ -蒎烯、蒎烯和柠檬烯间遗传相关显著或极显著,组分间遗传相关系数为0.59~0.78;在倍半萜内,长叶蒎烯、长叶环烯、酒萜烯和长叶烯之间遗传相关达极显著水平,遗传相关系数为0.67~1.00, $\beta$ -石竹烯和 $\alpha$ -石竹烯遗传相关性也达极显著水平;但在二萜类内和各萜类间,遗传相关性较弱,未达到显著水平。依据在家系间差异显著的10个松脂化学组分将所有家系聚为3类。【结论】马尾松树干木质部松脂共检出20种组分,其中,蒎烯、柠檬烯、长叶环烯、酒萜烯、 $\beta$ -石竹烯、 $\alpha$ -石竹烯、海松酸和新枞酸受家系影响较大,受中度遗传控制。在单萜、倍半萜类和双萜类内和类间,较强的遗传相关主要出现在单萜和倍半萜类内。

**关键词:**马尾松;半同胞家系;松脂化学组分;家系变异;遗传相关

中图分类号:S791.248

文献标识码:A

## Family Variation of Oleoresin Compounds and Their Correlation in *Pinus massoniana*

LIU Qing-hua<sup>1</sup>, WEI Yong-cheng<sup>1</sup>, FAN Hui-hua<sup>2</sup>, SHEN Dan-yu<sup>1</sup>, CHEN Wen-rong<sup>3</sup>, ZHOU Zhi-chun<sup>1</sup>

(1. Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Hangzhou 311400, Zhejiang, China;

2. Fujian Academy of Forestry Sciences, Fuzhou 350012, Fujian, China;

3. Laizhou Experimental Forest Farm of Fujian Province, Nanning 353004, Fujian, China)

**Abstract:** [Objective] To study the variation of oleoresin compounds among *Pinus massoniana* families and their correlations among compounds in order to provides data for the genetic improving of *P. massoniana*. [Method] Eleven-year-old half-sib family of *P. massoniana* at Laizhou Experimental Forest Farm of Fujian Province was used as research object. The type and content of oleoresin compounds taken from xylem of stem in 1.3 m height of each sample were identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). Then, genetic variations in compounds

收稿日期:2015-10-21

基金项目:“十二·五”国家科技支撑计划课题(2012BA01B02);国家自然科学基金项目(31470670);浙江省农业新品种选育重大科技专项“竹木育种协作组”课题(2012C12908-12)

作者简介:刘青华(1981—),女,山西繁峙人,助理研究员,博士,主要从事林木遗传改良研究。

\* 通讯作者:周志春,研究员,博士,主要从事林木遗传育种及森林培育研究。E-mail: zczhou-risf@163.com

of oleoresin and their genetic correlations were analyzed. Finally, the tested families were clustered based on the significant difference of compounds among families. [Result] The results showed that 20 oleoresin terpenoids were identified. The abundant terpenoids in oleoresin were  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, longifolene,  $\beta$ -caryophyllene, pimaric acid, sandaracopimaric acid, palustric acid/levopimaric acid, dehydroabietic acid, neoabietic acid and abietic acid. Camphene and limonene in monoterpenes, longicyclene, sativene,  $\beta$ - and  $\alpha$ -caryophyllene in sesquiterpenes, and pimaric acid and neoabietic acid in diterpenes were revealed significantly difference among families with the family heritability ranging from 0.45 to 0.59, which suggesting these compounds can obtain better genetic improving effects through family selection. Within the class of monoterpenes, the genetic correlations among  $\beta$ -pinene, camphene and limonene were significant at the level of  $P < 0.05$  or  $0.01$  with the genetic correlation coefficients ranging from 0.59 to 0.78. Within the class of sesquiterpenes, the genetic correlations among longipinene, longicyclene, sativene and longifolene were significant at the level of  $P < 0.01$  with the genetic correlation coefficients ranging from 0.67 to 1.00, and the genetic correlation between  $\beta$ - and  $\alpha$ -caryophyllene was also at the significant level of  $P < 0.01$ . However, within diterpenes or among the different classes of terpenoids, the genetic correlations were weak and not significant. According to the ten compounds having significant difference between families, 35 families were classified into three categories. [Conclusion] In total, twenty compounds were identified from the oleoresin of xylem in *P. massoniana*. Eight compounds of camphene, limonene, longicyclene, sativene,  $\beta$ - and  $\alpha$ -caryophyllene, pimaric acid and neoabietic acid showed larger family effect and were under moderate genetic control. Among and within the categories of monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes, most of the stronger genetic correlation existed within the categories of monoterpenes and sesquiterpenes.

**Key words:** *Pinus massoniana*; half-sib families; oleoresin compounds; family variation; genetic correlation

松脂由树脂道上皮细胞产生,主要贮藏在松树(*Pinus* spp.)树干、针叶、球果和根系中,含松节油(单萜和倍半萜)和松香(二萜),是林化产业的主导产品之一,用途十分广阔,涉及国民经济许多部门,如造纸、肥皂、油墨、油漆、合成橡胶、胶粘剂、电子、食品、医药、机械、农药、香料和新型燃料等,共有400多种用途<sup>[1-2]</sup>。尽管由炼油副产品相继合成的石油树脂具有松脂的大部分功效,但在相溶性和色泽等方面仍与天然产品松脂无法相比,而且松脂为可再生资源,有利于产业的可持续发展。

在欧美国家,由于采脂劳动强度大,且劳动力短缺,松脂生产已逐年下降,对松脂产量的遗传改良工作也有所忽视,但随着南方松小蠹(*Dendroctonus frontalis* Zimmermann)等病虫害对松树的入侵,研究发现,松脂化学组分与病虫害的侵袭程度密切相关<sup>[3-4]</sup>,使对松脂的研究再次成为热点。松脂化学组分在种间、种内不同群体间、群体内不同林木间以及同株内不同组织间均存在显著差异,这种变异分为定性变异和定量变异,定性变异只存在于不同树种间<sup>[5]</sup>;在同一树种内松脂化学组分组成较为稳定,受环境影响较小<sup>[6]</sup>,但在不同群体、个体、组织间普遍存在化学组分定量变异<sup>[7-8]</sup>,如 $\alpha$ -蒎烯在一些单

株中含量高达75.7%~88.6%,而在另一些单株中仅为53.9%~56.1%<sup>[6]</sup>。鉴于松脂化学组分的遗传稳定性,松脂中一个或多个化学组分还可作为植物化学标记<sup>[9-10]</sup>,在分类研究中鉴别不同种、种源和无性系,如Gallis等<sup>[11]</sup>利用皮层松节油将地中海白松(*P. halepensis* Miller)和卡拉布里亚松(*P. brutia* Tenore)以及它们的杂种区分出来。Forrest<sup>[12]</sup>依据 $\beta$ -水芹烯、 $\beta$ -蒎烯和3-蒎烯的相对含量将美国西北部的150个扭叶松(*P. contorta* Dougl. ex Loud.)种源归为12个类型。Arrabal等<sup>[13]</sup>利用异海松酸和 $\alpha$ -蒎烯的含量将5个不同的海岸松(*P. pinaster* Ait.)种源区别开来。

目前,已识别很多松脂组分的功用,如 $\alpha$ -蒎烯和柠檬烯被认为是天然的杀虫剂, $\beta$ -蒎烯、法呢烯和 $E$ - $\alpha$ -甜没药烯可被开发为替代石油燃料的潜在生物燃料<sup>[14]</sup>;而具有抗菌特性的海松酸型树脂酸(海松酸、山达海松酸、异海松酸)在医药上发挥着重要的作用,可用来制备消炎及抗癌药剂<sup>[15]</sup>。因此,松脂中各化学组分的含量决定着松脂的品质,但品质的优劣又随着对化学组分功能及用途的不断开发以及育种目标而变化;而了解松脂中所有组分在群体间和群体内的遗传变异是制定改良策略的第一步。马尾

松(*P. Massoniana* Lamb.)为我国南方山地的主要针叶用材树种,也是我国最主要的采脂树种,约90%的松脂来自于马尾松。到目前为止,我国对马尾松松脂的遗传改良工作主要集中在对松脂产量的改良上,初步揭示了松脂产量的遗传变异,并为生产选出了一批脂用马尾松优良种源、家系和无性系<sup>[16-20]</sup>。尽管目前已鉴定了马尾松松脂的大部分化学组分<sup>[21-22]</sup>,而对马尾松松脂品质的遗传改良鲜有报道。为此,本文利用马尾松高产脂优树子代测定林,以系统研究松脂化学组分在家系间的变异以及松脂组分间的相关性,为以松脂品质为目标的马尾松遗传改良工作提供理论依据和指导。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料来源

试验材料取自设置在福建省国有来舟林业试验场的11年生马尾松半同胞家系测定林,共有35个家系(包括1个对照,其种子来源于当地未改良林分)参试,其余34个家系种子来源于1984年利用福建省各地高产脂优树的穗条进行嫁接而营建的高产脂无性系种子园。试验林位于该林业试验场的螺蛳薄毕山场(117° 57' E, 26° 38' N, 海拔306~352 m),年均气温19.3℃,年降水量1669 mm,无霜期285 d,年日照时数1968 h,坡度25°~30°,土壤为山地红壤,肥力中等,土层厚度在80 cm以上。试验采用完全随机区组设计,5次重复,5株单列小区,株行距2 m×3 m,带状整地,穴规40 cm×40 cm×30 cm。造林后第5年伐去被压木,每小区保留生长正常的植株3~4株。

### 1.2 松脂收集及化学组成分析

由于1个重复有部分家系缺失,本研究只利用其余的4个重复。2011年曾对该林分进行过松脂采割。2014年7月在每个试验小区中选择1~2株生长最佳的健康马尾松植株进行采脂,每株样木在原来的剖面上割刀、采脂,并用5 mL聚乙烯管接取新鲜松脂后立即封口放入冰盒,之后转移到冰箱冷冻直至测定。

使用气相色谱-质谱分析法(GC/MS)测定各样木松脂的化学组分含量,测定前样品的制备参考Karanikas<sup>[23]</sup>的方法,其中加入的异丁基苯为单萜和倍半萜的内标,十七烷酸为二萜的内标。试验仪器为Agilent HP6890GC/5975B气相色谱-质谱联用仪。气相色谱柱升温程序为:起始温度为60℃,保

持2 min,以2℃·min<sup>-1</sup>的速度升温至80℃,保持5 min,再以4℃·min<sup>-1</sup>的速度升温到280℃,保持5 min;进样口温度为260℃;进样量1 μL,分流比50:1。电子电离质谱分析条件为电子能量70 eV,离子源温度230℃,连接处温度280℃。将获得的片段与NIST08谱库匹配来识别松脂化学组分,然后由各组分与内标的面积确定各组分在松脂中的含量,单位为mg·g<sup>-1</sup>。

### 1.3 数据分析

马尾松家系松脂化学组分含量采用以下线性模型进行方差分析<sup>[24]</sup>:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + F_j + B_i \times F_j + \varepsilon_{ij}$$

式中: $Y_{ijk}$ 表示第*i*个区组第*j*个家系的第*k*个观察值, $\mu$ 为总体平均值, $B_i$ 为第*i*个区组的区组效应, $F_j$ 为第*j*个家系的家系效应, $B_i \times F_j$ 为第*j*个家系和第*i*个区组的交互作用, $\varepsilon_{ijk}$ 为机误。 $B_i$ 为固定效应, $F_j$ 和 $B_i \times F_j$ 为随机效应。随机效应方差分量估算由SAS/STAT软件中的PROC ANOVA程序进行。

$$\text{家系遗传力 } H_f^2 = \frac{\sigma_f^2}{\sigma_f^2 + \sigma_{f \times b}^2/T + \sigma_e^2/NT}$$

式中: $T$ 表示区组数, $N$ 表示每个区组中每个家系的个体数, $\sigma_f^2$ 为家系方差, $\sigma_{f \times b}^2$ 为家系和区组互作方差, $\sigma_e^2$ 为随机方差。

$$\text{遗传相关系数 } r_G = \frac{\text{cov}_a(x, y)}{\sqrt{\sigma_{ax}^2 \cdot \sigma_{ay}^2}}$$

式中: $\text{cov}_a(x, y)$ 为*x*和*y*性状加性遗传协方差, $\text{cov}_a(x, y) = 4 \text{cov}_f(x, y)$ , $\text{cov}_f(x, y)$ 为*x*和*y*性状家系协方差; $\sigma_{ax}^2$ 为*x*性状的加性遗传方差, $\sigma_{ax}^2 = 4\sigma_{fx}^2$ , $\sigma_{fx}^2$ 为*x*性状的家系方差; $\sigma_{ay}^2$ 为*y*性状的加性遗传方差, $\sigma_{ay}^2 = 4\sigma_{fy}^2$ , $\sigma_{fy}^2$ 为*y*性状的家系方差。由统计软件ASReml 3估算遗传相关系数并检验其显著性。

利用在家系间差异显著的化学组分对家系进行聚类分析,由DPS 14.5数据处理系统软件(<http://www.chinadps.net/>)完成,聚类距离采用卡方距离,聚类方法为可变类平均法。

## 2 结果与分析

### 2.1 马尾松松脂主要化学组分的种类及含量

对马尾松松脂进行GC/MS检测,选择与NIST08库匹配质量数在95%以上、含量超过0.5 mg·g<sup>-1</sup>的萜类松脂化学组分,共检出20种,其中,单

萜 6 种,倍半萜 6 种,二萜 8 种(图 1)。所检出的萜类化学组分在松脂中的总含量约为 89.7%,变异幅度为 83.6%~92.8%。在萜类中,二萜含量最高,约占所有萜类的 80.6%;其次为单萜,约占所有萜类的 15.2%;倍半萜含量最低,仅为所有萜类的 4.2%。

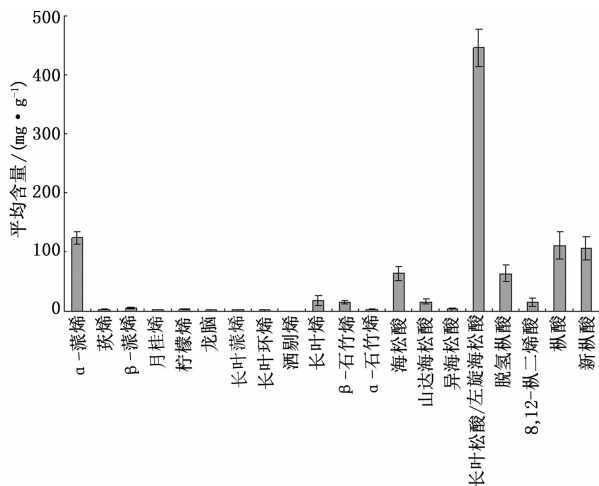


图 1 马尾松松脂中的萜类组分及含量

单萜中含量最丰富的为  $\alpha$ -蒎烯,在松脂中的平均含量为  $123.5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,约占单萜含量的 90.7%,其次为  $\beta$ -蒎烯,平均含量为  $5.1 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,为单萜含量的 3.75%。单萜中其它组分,如柠檬烯、蒎烯和月桂烯等在松脂中的平均含量均低于  $3.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。倍半萜中,长叶烯和  $\beta$ -石竹烯含量最高,各自平均含量约占倍半萜的 48.2% 和 38.7%,但由于倍半萜在马尾松松脂中含量较低,故在倍半萜中含量最高的长叶烯和  $\beta$ -石竹烯在松脂中的含量也仅为  $18.2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  和  $14.6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ;其次为  $\alpha$ -石竹烯、长叶蒎烯和长叶环烯,在松脂中平均含量约为  $1.0 \sim 2.3 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。在二萜中,长叶松酸/左旋海松酸含量最高,在松脂中平均含量为  $392.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,约占二萜含量的 80.6%;其次为枞酸和新枞酸,平均含量分别为  $96.8, 92.9 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,约占二萜含量的 19.9% 和 19.1%;含量最低的为异海松酸,平均含量仅为  $2.6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,约占二萜含量的 0.5%。

## 2.2 马尾松松脂主要化学组分的家系遗传变异

对检出的 20 种马尾松萜类组分进行方差分析,结果(表 1)显示:在单萜中,仅蒎烯和柠檬烯在家系间差异达显著或极显著,家系遗传力分别为 0.59 和 0.47。在倍半萜中,长叶环烯、酒别烯、 $\beta$ -石竹烯和  $\alpha$ -石竹烯在家系间差异达极显著,家系遗传力为 0.45~0.52。在二萜中,海松酸和新枞酸在家系间

差异极显著,家系遗传力分别为 0.47 和 0.53。该结果表明:通过家系选择,这 8 个萜类组分的遗传改良可取得较好的成效;另外,所有倍半萜和异海松酸还受到家系和重复的互作。

表 1 马尾松松脂化学组分方差分析及遗传参数估算

化学组分	F 值			家系遗传力 ( $H_f^2$ )
	重复	家系	重复 × 家系	
<b>单萜</b>				
$\alpha$ -蒎烯	48.309 0	0.704 5	0.578 8	0.18
蒎烯	0.007 9	0.002 1**	0.000 9	0.59
$\beta$ -蒎烯	0.015 4	0.024 1	0.019 9	0.18
月桂烯	0.003 8	0.003 2	0.003 0	0.06
柠檬烯	0.004 7	0.005 7*	0.003 0	0.47
龙脑	0.053 1	0.002 8	0.003 7	0.00
长叶蒎烯	0.011 7	0.006 7	0.004 7*	0.29
长叶环烯	0.006 8	0.007 2**	0.003 5**	0.52
<b>倍半萜</b>				
酒别烯	0.004 2	0.001 7**	0.000 9**	0.45
长叶烯	2.916 3	1.059 9	0.805 0**	0.24
$\beta$ -石竹烯	0.423 1	0.361 2**	0.179 5*	0.50
$\alpha$ -石竹烯	0.016 1	0.009 7**	0.005 2**	0.47
海松酸	16.904 2	2.144 3**	1.143 4	0.47
山达海松酸	0.760 8	0.036 4	0.030 0	0.18
异海松酸	0.235 3	0.054 9	0.047 1**	0.14
<b>二萜</b>				
长叶松酸/左旋海松酸	146.618 3	9.360 3	9.094 7	0.03
脱氢枞酸	32.556 8	1.922 9	1.567 6	0.18
8,12-枞二烯酸	1.765 4	0.413 6	0.492 1	0.00
枞酸	55.089 3	6.077 1	4.991 4	0.18
新枞酸	4.844 6	3.304 8**	1.537 5	0.53

注:重复、家系、重复 × 家系和机误自由度分别为 3、34、102 和 115。\* 和 \*\* 分别表示 0.05 和 0.01 显著水平。

## 2.3 马尾松家系松脂主要化学组分的遗传相关

在实施林木遗传改良计划前,了解目标性状之间的遗传相关信息非常重要。本研究对松脂化学组分进行遗传相关分析,结果(表 2)显示:较高的遗传相关主要存在各萜类内的化学组分间,尤其是在倍半萜类内。在单萜类内,仅发现  $\beta$ -蒎烯、蒎烯和柠檬烯间遗传相关显著或极显著,遗传相关系数为 0.59~0.78。在倍半萜类内,检出的前 4 个组分长叶蒎烯、长叶环烯、酒别烯和长叶烯间遗传相关达极显著,遗传相关系数为 0.67~1.00,尤其是长叶环烯、酒别烯和长叶烯间相关系数在 0.99 以上,而倍半萜中后检出的 2 个组分  $\beta$ -石竹烯和  $\alpha$ -石竹烯相关性也极显著,遗传相关系数为 0.99,但它们与倍半萜检出的前 4 个组分相关性较弱。在二萜内,组分间的遗传相关均不显著。在不同的萜类间,组分间的相关性也较弱,未达显著水平。

表2 马尾松脂化学组分间的遗传相关

	aPin	Cam	bPin	Myr	Lim	Bor	Lop	Loc	Sat	Lof	bCar	aCar	Pim	San	Iso	Pal	Deh	8-Ab	Abi	Neo
aPin		0.60	0.48	0.67	0.52	0.46	-0.33	-0.43	-0.39	-0.40	-0.33	-0.31	-0.19	-0.30	0.07	0.16	-0.44	0.27	0.39	0.39
Cam	0.43		0.75**	0.62	0.78**	0.49	-0.20	-0.41	-0.38	0.35	-0.33	-0.32	-0.19	-0.32	-0.06	0.04	-0.28	-0.15	0.09	0.05
bPin	0.37	0.28		0.62	0.59*	0.43	-0.28	-0.24	-0.26	-0.26	0.32	0.31	-0.03	-0.21	0.06	0.05	-0.43	-0.37	0.08	0.21
Myr	0.50	0.39	0.51		0.86	0.50	-0.16	-0.39	-0.47	-0.42	-0.28	-0.24	0.12	-0.25	0.24	-0.11	-0.50	0.08	0.12	0.23
Lim	0.38	0.26	0.40	0.66		0.44	-0.17	-0.33	-0.36	0.49	-0.36	-0.14	0.03	-0.20	0.25	-0.15	-0.43	-0.33	0.16	0.16
Bor	0.36	0.56	0.31	0.73	0.27		-0.06	-0.06	-0.07	-0.10	-0.17	-0.16	-0.20	-0.32	0.07	-0.26	-0.17	0.09	0.37	0.13
Lop	0.29	0.38	0.24	0.48	0.19	0.11		0.67**	0.79**	0.74**	0.33	0.33	-0.02	-0.14	-0.07	-0.27	0.24	0.32	-0.04	-0.16
Loc	0.32	0.36	0.24	0.53	0.23	0.06	0.23		0.99**	1.00**	0.12	0.14	0.19	0.15	0.18	0.28	0.82	0.15	0.07	-0.35
Sat	0.22	0.48	0.18	0.37	0.32	0.22	0.18	0.04		1.00**	0.17	0.18	-0.16	-0.13	-0.18	-0.32	0.49	0.13	0.01	-0.35
Lof	0.32	0.47	0.16	0.45	0.27	0.09	0.22	0.06	0.02		0.18	0.16	-0.12	-0.16	-0.14	-0.28	0.47	0.08	0.05	-0.35
bCar	0.27	0.25	0.24	0.43	0.25	0.14	0.45	0.36	0.43	0.45		0.99**	0.09	-0.02	0.11	-0.19	0.18	-0.25	0.06	-0.03
aCar	0.24	0.22	0.24	0.34	1.00	0.28	0.49	0.41	0.46	0.55	0.30		0.03	-0.03	0.12	-0.20	-0.19	-0.37	0.01	-0.05
Pim	0.20	0.13	0.04	0.15	0.03	0.13	0.46	0.33	0.40	0.42	0.39	0.46		0.57	0.06	0.19	-0.19	-0.36	-0.13	-0.14
San	0.21	0.55	0.25	0.57	0.19	0.35	0.44	0.16	0.39	0.30	0.47	0.77	0.35		0.08	0.34	-0.02	0.28	-0.27	0.09
Iso	0.12	0.23	0.19	0.33	0.24	0.18	0.32	0.20	0.27	0.50	0.30	0.18	0.54	0.45		-0.17	-0.32	-0.04	-0.07	0.08
Pal	0.10	0.37	0.33	0.37	0.42	0.39	0.61	0.42	0.45	0.48	0.61	0.40	0.29	0.45	0.68		-0.02	0.53	0.25	0.17
Deh	0.31	0.30	0.45	0.61	0.49	0.19	0.32	0.35	0.38	0.37	0.17	0.27	0.18	0.58	0.27	0.36		0.39	-0.02	-0.54
8-Ab	0.18	0.19	0.31	0.44	0.29	0.43	0.39	0.12	0.28	0.43	0.21	0.46	0.32	0.53	0.30	0.39	0.58		0.42	-0.48
Abi	0.27	0.06	0.05	0.17	0.14	0.26	0.18	0.52	0.63	0.59	0.57	0.67	0.09	0.41	0.19	0.20	0.19	0.29		0.45
Neo	0.29	0.15	0.22	0.10	0.19	0.13	0.13	0.29	0.26	0.31	0.43	0.06	0.42	0.53	0.49	0.56	0.45	0.43	0.57	

注:上三角为遗传相关系数,下三角为标准误差。\*和\*\*分别表示0.05和0.01显著水平。aPin, $\alpha$ -蒎烯;Cam,蒎烯;bPin, $\beta$ -蒎烯;Myr,月桂烯;Lim,柠檬烯;Bor,龙脑;Lop,长叶蒎烯;Loc,长叶环烯;Sat,酒薊烯;Lof,长叶烯;bCar, $\beta$ -石竹烯;aCar, $\alpha$ -石竹烯;Pim,海松酸;San,山达海松酸;Iso,异海松酸;Pal,长叶松酸/左旋海松酸;Deh,脱氢枞酸;8-Ab,8,12-枞二烯酸;Abi,枞酸;Neo,新枞酸。

## 2.4 马尾松家系聚类分析

选择在家系间差异显著的8个松脂化学组分对参试的家系进行聚类(图2)。结果显示:35个马尾松家系可以划分为3类:第一类仅包括1个家系(5号),特征为蒎烯、柠檬烯、长叶环烯、酒薊烯、 $\alpha$ -石竹烯、海松酸和新枞酸含量均高于其它2类(表3)。第二类包括12个家系(ck、422、41号等),特征为蒎烯、柠檬烯、 $\beta$ -石竹烯、 $\alpha$ -石竹烯、海松酸和新枞酸含量较低,长叶环烯和酒薊烯含量中等。第三类包括22个家系(42号、16号、11号等),在家系间差异显著的松脂化学组分中,长叶环烯和酒薊烯含量低于第一类和第二类,新枞酸含量最高,此外其它组分处于第一类和第二类之间。3类家系中,第二类家系与第三类家系更相近。今后对某一种或多种松脂化学组分的遗传改良工作中,可利用该聚类结果选择适宜的类群。

## 3 讨论

本研究从马尾松松脂中共检出20种化学组分,总含量约占松脂的89.7%,其中单萜主要有 $\alpha$ -蒎烯、蒎烯、 $\beta$ -蒎烯、月桂烯、柠檬烯和龙脑,倍半萜主要有长叶蒎烯、长叶环烯、酒薊烯、长叶烯、 $\beta$ -石竹烯和 $\alpha$ -石竹烯,二萜则主要包括海松酸、山达海松酸、

表3 各类马尾松家系松脂化学组分含量

松脂组分	含量/(mg·g <sup>-1</sup> )		
	第一类	第二类	第三类
蒎烯	2.79	2.16	2.26
柠檬烯	3.77	2.69	2.85
长叶环烯	2.14	1.12	0.96
酒薊烯	1.06	0.54	0.49
$\beta$ -石竹烯	15.46	13.12	15.57
$\alpha$ -石竹烯	2.52	2.00	2.40
海松酸	66.64	51.74	56.98
新枞酸	96.92	87.38	97.63

异海松酸、长叶松酸/左旋海松酸、脱氢枞酸、8,12-枞二烯酸、枞酸和新枞酸。本研究检出的组分与古研等<sup>[22]</sup>对马尾松松节油及王振洪等<sup>[21]</sup>对马尾松松香检出的组分基本一致。根据各组分含量,认为马尾松松脂含量较高的组分为 $\alpha$ -蒎烯、 $\beta$ -蒎烯、长叶烯、 $\beta$ -石竹烯、海松酸、山达海松酸、长叶松酸/左旋海松酸、脱氢枞酸、枞酸和新枞酸。

不同树种松脂化学组分种类及含量差异较大。如湿地松(*P. Elliottii* Engelm.)中含湿地松酸<sup>[25]</sup>,而在马尾松松脂中并不含该组分;马尾松松脂单萜中 $\alpha$ -蒎烯含量最丰富,约占单萜总量的90.7%,而在湿地松松脂单萜中 $\beta$ -蒎烯含量也较高,约为 $\alpha$ -蒎烯的0.5倍,因此 $\alpha$ -蒎烯与 $\beta$ -蒎烯含量的比值可作为区

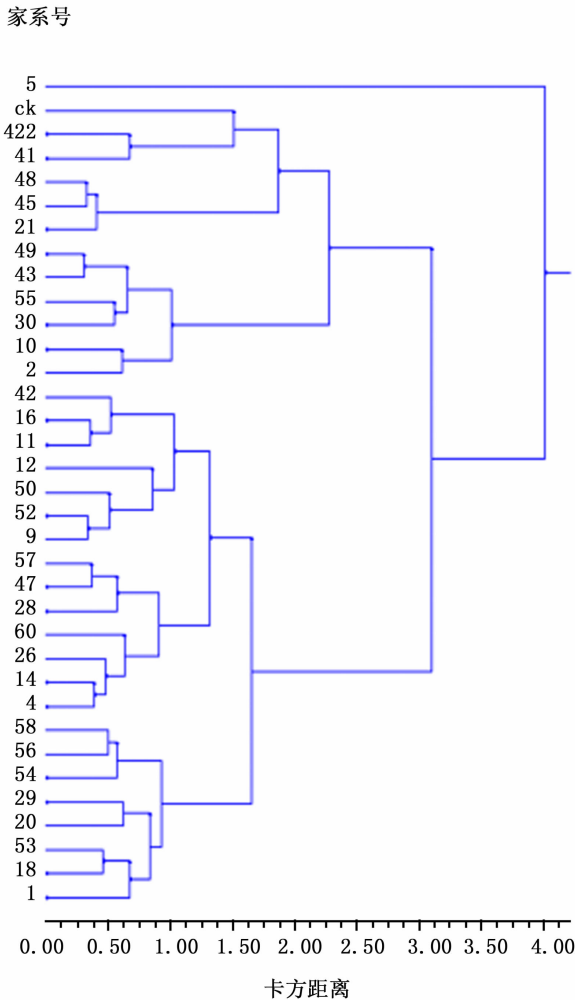


图2 马尾松家系聚类

分马尾松松脂和湿地松松脂的最佳指标之一。在同一树种内,松脂化学组分也存在较大的遗传变异。何波祥等<sup>[26]</sup>发现,马尾松不同种源松脂中一些化学组分呈纬向遗传变异,其中长叶松酸/左旋海松酸、新枞酸、脱氢枞酸由北向南递增,而茨烯、石竹烯和山达海松酸含量则由北向南递减。McRae等<sup>[27]</sup>发现,12个火炬松(*P. taeda* L.)种源单萜中柠檬烯、月桂烯、 $\alpha$ -蒎烯含量存在着由东到西的梯度变化趋势。本研究中的参试材料均来源于福建,研究发现,单萜中茨烯和柠檬烯,倍半萜中长叶环烯、洒别烯、 $\beta$ -石竹烯和 $\alpha$ -石竹烯,二萜中海松酸和新枞酸在家系间差异显著,且家系遗传力为0.45~0.59,意味着利用该群体对松脂化学组分进行遗传改良时,通过家系选择这些松脂化学组分可在下一代中取得较好的改良效果。

在对松脂化学组分进行遗传改良时,了解松脂各组间的遗传相关性尤为重要。单萜组分由牻牛

儿基焦磷酸酯(GPP)在多种单萜类合酶作用下形成,而倍半萜组分由法尼基焦磷酸酯(FPP)在多种倍半萜合酶下形成<sup>[28-29]</sup>。本研究发现,较高的遗传相关主要存在于单萜和倍半萜类内,尤其是在倍半萜类在组分间遗传相关极高,该现象在地中海白松松脂中也被发现<sup>[23]</sup>,而在二萜类内各组分间相关性较弱。单萜和二萜组分主要通过甲基-D-赤藓醇4-磷酸酯途径(MEP)在质体中合成,而倍半萜组分主要通过甲羟戊酸途径(MVA)在细胞质中合成<sup>[30-31]</sup>。本研究发现,在不同萜类间,遗传相关均未达到显著水平,由此推测各萜类间的合成互不影响。因此认为,在单萜、倍半萜类和双萜类内和类间,较强的遗传相关主要出现在单萜和倍半萜类内。

## 4 结论

马尾松树干木质部松脂中共检出20种组分, $\alpha$ -蒎烯、 $\beta$ -蒎烯、长叶烯、 $\beta$ -石竹烯、海松酸、山达海松酸、长叶松酸/左旋海松酸、脱氢枞酸、枞酸和新枞酸为松脂中含量较高的组分。其中,茨烯、柠檬烯、长叶环烯、洒别烯、 $\beta$ -石竹烯、 $\alpha$ -石竹烯、海松酸和新枞酸受家系影响较大,受中度遗传控制,通过家系选择,可取得较好的遗传改良效果。在各萜类内,较强的遗传相关主要出现在单萜和倍半萜类内,尤其是倍半萜类内,长叶蒎烯、长叶环烯、洒别烯和长叶烯之间以及 $\beta$ -石竹烯和 $\alpha$ -石竹烯之间呈高度正遗传相关。在二萜类内和各萜类间,相关性较弱。依据松脂化学组分,将35个参试家系聚为3类,为今后松脂组分遗传改良缩小了选择群体范围。

## 参考文献:

- [1] Lee H J, Ravn M M, Coates R M. Synthesis and characterization of abietadiene, levopimaradiene, palustradiene, and neoabietadiene: hydrocarbon precursors of the abietane diterpene resin acids[J]. Tetrahedron, 2001, 57(29): 6155-6177.
- [2] Kelkar V M, Geils B W, Becker D R, et al. How to recover more value from small pine trees: essential oils and resins[J]. Biomass & Bioenergy, 2006, 30(4): 316-320.
- [3] Strom B L, Goyer R A, Ingram Jr L L, et al. Oleoresin characteristics of progeny of loblolly pines that escaped attack by the southern pine beetle[J]. Forest Ecology and Management, 2002, 158(1-3): 169-178.
- [4] Tisdale R A, Nebeker T E, Hodger J D. The role of oleoresin flow in the induced response of loblolly pine to a southern pine beetle associated fungus[J]. Canadian Journal of Botany, 2003, 81(4): 368-374.
- [5] von Rudloff E. Volatile leaf oil analysis in chemosystematic studies of

- North American conifers[J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 1975, 2(3-4): 131-167.
- [6] Jantan I, Ahmad A S. Oleoresins of three *Pinus* species from Malaysian pine plantations[J]. *Journal of Essential Oil Research Jeor*, 1999, 14(5):327-332.
- [7] Rezzi S, Bighelli A, Castola V, *et al.* Composition and chemical variability of the oleoresin of *Pinus nigra* ssp. *laricio* from Corsica [J]. *Industrial Crops and Products*, 2005, 21(1): 71-79.
- [8] Sjodin K, Persson M, Faldt J, *et al.* Occurrence and correlations of monoterpene hydrocarbon enantiomers in *Pinus sylvestris* and *Picea abies* [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2000, 26(7): 1701-1720.
- [9] Coppen J J W, Gay C, James D J, *et al.* Variability in xylem resin composition amongst natural populations of Indonesian *Pinus merkusii* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 33(1): 129-136.
- [10] Manninen A M, Tarhanen S, Vuorinen M, *et al.* Comparing the variation of needle and wood terpenoids in Scots pine provenances [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2002, 28(1): 211-228.
- [11] Gallis A T, Panetsos K P. Use of cortical terpenes to discriminate *Pinus brutia* (Ten.), *Pinus halepensis* (Mill.) and their hybrids [J]. *Silvae Genetica*, 1997, 46(2-3): 82-88.
- [12] Forrest G I. Geographical variation in the monoterpenes of *Pinus contorta* oleoresin [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 1980, 8(4): 343-359.
- [13] Arrabal C, Cortijo M, Fernandez de Simon B, *et al.* Differentiation among five Spanish *Pinus pinaster* provenances based on its oleoresin terpenic composition[J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2005, 33(10): 1007-1016.
- [14] Peralta-Yahya P P, Zhang F, del Cardayre S B, *et al.* Microbial engineering for the production of advanced biofuels[J]. *Nature*, 2012, 488(7411): 320-328.
- [15] 陈玉湘, 赵振东, 李兴迪, 等. 海松酸型树脂酸生物活性及应用研究进展[J]. *林产化学与工业*, 2008, 28(4): 118-122.
- [16] 蔡邦平, 梁一池, 吴端正, 等. 马尾松高产脂优树选择方法的研究[J]. *福建林学院学报*, 1998, 18(1): 32-35.
- [17] 连辉明, 何波祥, 曾令海, 等. 马尾松速生、优质及高产脂半同胞家系综合选择的研究[J]. *广东林业科技*, 2002, 18(1): 1-6.
- [18] 刘月蓉. 高产脂马尾松优树自由授粉家系及其单株选择[J]. *福建林业科技*, 2005, 32(3): 122-124.
- [19] 刘月蓉. 高产脂马尾松半同胞的产脂力优良单株的选择[J]. *福建林业科技*, 2006, 31(3): 1-4.
- [20] 覃 冀, 连辉明, 曾令海, 等. 高产脂马尾松半同胞子代 20 年生测定林产脂力分析[J]. *广东林业科技*, 2005, 21(2): 30-34.
- [21] 王振洪, 商士斌, 宋湛谦, 等. 气相色谱用马尾松松香标准样品的研制[J]. *生物质化学工程*, 2007, 41(6): 1-5.
- [22] 古 研, 赵振东, 毕良武, 等. 马尾松松节油标准样品的定值研究[J]. *生物质化学工程*, 2011, 45(1): 21-24.
- [23] Karanikas C, Walker V, Scaltsoyiannes A, *et al.* High vs. low yielding oleoresin *Pinus halepensis* Mill. trees GC terpenoids profiling as diagnostic tool[J]. *Annals of Forest Science*, 2010, 67(4): 412P1-412P8.
- [24] 沈熙环. 林木育种学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1990.
- [25] 李彦杰, 栾启福, 沈丹玉, 等. 湿地松自由授粉家系松脂组分遗传变异研究[J]. *林业科学研究*, 2012, 25(6): 773-779.
- [26] 何波祥, 连辉明, 曾令海, 等. 高脂马尾松优树松脂化学组分及其地理变异的研究[J]. *广东林业科技*, 1999, 15(4): 1-7.
- [27] McRae J, Thor E. Cortical monoterpene variation in 12 loblolly pine provenances planted in Tennessee[J]. *Forest Science*, 1982, 28(4): 732-736.
- [28] Bohlmann J, Crock J, Jetter R, *et al.* Terpenoid based defences in conifers: cDNA cloning, characterization and functional expression of wound-inducible (E)- $\alpha$ -bisabolene synthase from grand fir (*Abies grandis*) [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1998, 95(12): 6756-6761.
- [29] Martin D M, Faldt J, Bohlmann J. Functional characterization of nine Norway spruce *TPS* genes and evolution of gymnosperm terpene synthases of the *TPS-d* subfamily[J]. *Plant Physiology*, 2004, 135(6): 1908-1927.
- [30] Lange B M, Ghasseman M. Genome organization in *Arabidopsis thaliana*: A survey for genes involved in isoprenoid and chlorophyll metabolism [J]. *Plant Molecular Biology*, 2003, 58(6): 925-948.
- [31] Zulak K G, Bohlmann J. Terpenoid biosynthesis and specialized vascular cells of conifer defense[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2010, 52(1): 86-97.

(责任编辑:金立新)