

## 13 份化橘红种质的鉴定研究

叶 宾<sup>1</sup>, 黄洁文<sup>2</sup>, 李 宇<sup>2</sup>, 魏鸿瑶<sup>1</sup>, 吴良肪<sup>1</sup>, 丁 琦<sup>1</sup>, 谷潇雨<sup>1</sup>, 赵杰堂<sup>1</sup>,  
胡桂兵<sup>1</sup>, 秦永华<sup>1</sup>, 王艳慧<sup>2\*</sup>, 张志珂<sup>1\*</sup>

1. 农业农村部华南地区园艺作物生物学和种质创制重点实验室/华南农业大学园艺学院, 广东广州 510642; 2. 广州市香雪制药股份有限公司, 广东广州 510663

**摘 要:** 为了有效地鉴定和区分化橘红种质, 改善市场上橘红产品混乱的现状。本研究以 13 份化橘红当地不同产区的化橘红(大合黄绒、大合密叶、平定黄绒、平定密叶、平定红肉、山车正毛、带刺正毛、山车凤尾、山车副毛、山车假西洋、山车光青、平定金钱笃、平定实生梨)作为材料, 通过植物学形态分析、干品化学成分分析和分子标记分析, 并对所得结果进行相关性分析。结果表明: 正毛和非正毛种质在叶长、叶形指数、 $L^*$ 、 $a^*$ 和  $b^*$ 及果形指数上有显著差异: 正毛种质的叶形较非正毛的更细长, 色差值的绝对值更大, 其果型指数偏小, 形状上更偏向高扁圆形, 而非正毛种质更偏向球形; 正毛与非正毛化橘红种质醇溶性浸出物的含量有显著差异, 且绝大多数正毛化橘红的野漆树苷含量高于 5.00 mg/g, 而二者的柚皮苷和水溶性浸出物均无显著差异; 在遗传距离为 15 cM 时, ISSR 和 SRAP 分子标记能够将 13 份种质分成正毛 1 组和非正毛 3 组; 当  $P < 0.05$  时, 仅有果实形状、果型指数与野漆树苷和柚皮苷含量呈显著相关, 水溶性浸出物与  $L^*$ 值呈显著正相关。结合 3 种鉴定结果表明, 分子标记区分化橘红种质是最为可靠的, 其次利用植物形态(花瓣长度、果实形状与果型指数)或化学成分(野漆树苷和醇浸出物含量)也能在一定程度上区分正毛和非正毛种质。

**关键词:** 化橘红; 种质鉴定; 植物学性状; 化学成分; 分子标记

中图分类号: S666.3 文献标识码: A

## The Identification Research on 13 Germplasms of *Exocarpium Citrus Grandis*

YE Bin<sup>1</sup>, HUANG Jiewen<sup>2</sup>, LI Yu<sup>2</sup>, WEI Hongyao<sup>1</sup>, WU Liangfang<sup>1</sup>, DING Yu<sup>1</sup>, GU Xiaoyu<sup>1</sup>, ZHAO Jietang<sup>1</sup>,  
HU Guibing<sup>1</sup>, QIN Yonghua<sup>1</sup>, WANG Yanhui<sup>2\*</sup>, ZHANG Zhike<sup>1\*</sup>

1. Key Laboratory of Biology and Germplasm Enhancement of Horticultural Crops in South China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs / College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China; 2. Guangzhou Xiangxue Pharmaceutical Co., Ltd, Guangzhou, Guangdong 510663, China

**Abstract:** *Exocarpium Citrus Grandis* (ECG) is a medicinal plant of *Citrus* in Rutaceae. It is a medicine that has great effects. To distinguish the ‘Zhengmao’ and ‘Non-zhengmao’ germplasms, 13 ECG germplasms were selected, including ‘Zhengmao’ germplasms (‘Dahe huangrong’, ‘Dahe miye’, ‘Pingding huangrong’, ‘Pingding miye’, ‘Pingding hongrou’, ‘Shanche zhengmao’ and ‘Shiwan zhengmao’) and ‘Non Zhengmao’ germplasms (‘Shanche fengwei’, ‘Shanche fumao’, ‘Shanche jiaxiyang’, ‘Shanche guangqing’, ‘Pingding jinqiandu’, ‘Pingding shishengli’). The botanical morphological traits were measured, active substances were analyzed, and molecular markers were carried by the ISSR and SRAP for distinguishing analysis. There were significant differences in length of leaf, leaf shape index,  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$ . The leaves of ‘Zhengmao’ germplasms were slenderer than those of ‘Non-zhengmao’, the whole leaf was whiter, greener and yel-

收稿日期 2022-06-21; 修回日期 2022-07-26

基金项目 国家重点研发计划中医药现代化研究重点专项(No. 2018YFC1706700); 广州市科技计划项目对外科技合作计划项目(No. 201807010018)。

作者简介 叶 宾(1997—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 园艺植物种质资源利用与生物技术。\*通信作者( Corresponding author ): 张志珂(ZHANG Zhike), E-mail: poloky@scau.edu.cn; 王艳慧(WANG Yanhui), E-mail: wyh8303@126.com。

lower. There were significant differences in fruit shape and the fruit shape index between ‘Zhengmao’ germplasms and ‘Non-Zhengmao’ germplasms. The content of rhubarb glycoside in most ‘Zhengmao’ germplasms was higher than that of ‘Non-zhengmao’ samples, except the ‘Shanche fumao’. The content of alcohol soluble extract was also significantly different between the germplasms. The clustering results of ISSR and SRAP showed that when the genetic distance of the two molecular markers was 15 cM, the 13 germplasms could be divided into one ‘Zhengmao’ and three ‘Non Zhengmao’ groups. The correlation analysis between germplasm botany and medicinal components showed that, when  $P < 0.05$ , only the fruit shape and fruit shape index were significantly correlated with the content of wild rhubarb glycoside and naringin, the water-soluble extract was significantly positively correlated with  $L^*$ . To conclude, when combined with the three identification results, the molecular marker is the most reliable to distinguish the germplasm of ECG, the plant morphology (petal length, fruit shape and fruit shape index) or medicinal components (content of wild rhubarb glycoside and alcohol extract) can also distinguish these germplasm to a certain extent.

**Keywords:** Exocarpium *Citrus Grandis*; germplasm identification; botanical characters; chemical composition; molecular marker

**DOI:** 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.02.008

化橘红为芸香科 (Rutaceae) 柑橘属 (*Citrus*) 化州柚 (*Citrus grandis* ‘Tomentosa’) 或柚 [*Citrus grandis* (L.) Osbeck] 的未成熟或近成熟的干燥外层果皮, 通过清洗、杀青、烘干、修剪、陈放后得到。化橘红是一种广东省的道地药材, 一般产自广东省化州市, 因其含有丰富的二氢黄酮、野漆树苷、柚皮苷等成分, 具有散寒燥湿、利气消疾、止咳化痰及健脾消食等功效, 素有“南方人参”的美誉, 随着产业的扩张, 化橘红在市场上出现的问题也日益明显, 以假充真、以次充好或产品标识不全的现象充斥在化橘红交易市场中。

以化州当地果农的习惯, 根据果实表面绒毛多少, 可将化橘红品系分为 6 类: 正毛、黄龙正毛、密叶正毛、副毛、假西洋、光青<sup>[1]</sup>。正毛化橘红与非正毛化橘红的种苗在外观形态上非常相似, 运用传统的形态学方法很难加以区分。有研究证明毛橘红的药用价值更高<sup>[2]</sup>, 其售价也会更高, 由于市场的不规范导致利用光橘红冒充毛橘红的现象出现。因此, 如何对不同种质的化橘红进行辨别和分类, 对于农户和市场来说都是一个亟需解决的问题<sup>[3]</sup>。

能否通过多种手段对化州当地不同产区的正毛化橘红和非正毛化橘红进行鉴定和区分, 相关文献中大多采用一种方法 (如分子标记或形态学分析) 进行鉴定。因此, 本研究通过植物性状观察、结合化学分析成分以及利用分子标记技术对化州不同产地的 13 份化橘红材料进行种质鉴别, 为更好地对不同种类的化橘红进行有效辨别和鉴定提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

以化州当地传统分类的正毛化橘红 (大合黄绒、大合密叶、平定黄绒、平定密叶、平定红肉、山车正毛、带刺正毛) 和非正毛化橘红 (山车凤尾、山车副毛、山车假西洋、山车光青、平定金钱笃、平定实生梨) 共 13 份化橘红种质作为供试材料, 每种化橘红共收集健康且生长状况相近的花 30 朵、叶 15 片及大小相近的果实 10 个用作植物学性状特征的测定和分析, 其中叶片采自树体上方每个春梢的前 1~5 片新叶, 花主要采自树体上方每个春梢的前 1~10 朵花, 果实主要采自树体下方生长较密集的区域; 以其果实干品为材料进行药用成分的提取; 以叶片作为材料提取 DNA, 以供后续分子标记实验使用。

### 1.2 方法

1.2.1 化橘红种质植物学特征性状的测定 本研究对化橘红种质植物学特征的测定主要参照柑橘种质资源描述规范 (NY/T 2930—2016), 对叶片进行叶形、叶长、叶宽、叶型指数、叶缘形状、翼叶长、翼叶宽、叶尖形状、翼叶形状、叶基形状和  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  等植物学特征性状进行测定。以叶型指数=叶长/叶宽的计算公式对叶型指数进行计算; 用色差仪测定每片叶片的颜色; 肉眼观察叶缘形状、叶基形状等其他植物学性状并记录; 每个种质随机取其中 2 片叶片, 拍摄其正反面。对化橘红种质的花瓣颜色、花瓣数量、花瓣长度、花瓣宽度、花形指数、花粉数量、花柱及雄蕊数这 8 项植物学特征性状进行测定和数据记录。花型指数=花瓣长/花瓣宽; 每个种质随机取出其中 2

朵花，拍摄其正侧面。对化橘红种质的单果重、果面颜色、中果皮颜色、果实纵横径、果型指数、果基形状、有无果颈、果基凹陷、果顶形状、果顶印圈等植物学特征性状进行测定和数据记录；每个种质取出其中 3 个果实，拍摄其正面、侧面、背面、横切面和纵切面的照片。

1.2.2 化橘红种质的化学成分检测分析 本研究主要对化橘红化学成分中的总黄酮（柚皮苷）、野漆树苷、水溶性浸出物（包含多糖物质、水溶果胶、水溶性维生素、水溶蛋白和无机盐等）和醇溶性浸出物（包括皂苷类成分等）4 项指标进行提取和检测，每种指标测定重复 5 次。

依据《地理标志保护产品 化橘红》<sup>[4]</sup>所提供的方法，测定化橘红种质的总黄酮（柚皮苷）含量；依据《中华人民共和国药典》2015 年版<sup>[5]</sup>，利用 HPLC 测定化橘红种质的野漆树苷含量；参照《中华人民共和国药典四部 2020》<sup>[6]</sup>的方法，测定水溶性浸出物和醇溶性浸出物。

1.2.3 分子标记鉴定化橘红种质 采用 CTAB 法提取叶片 DNA，参照张静芳等<sup>[7]</sup>的方法，确定用于 ISSR 的单引物共 14 个（表 1）和 SRAP 的引物共 20 对（表 2）。

参照赵依杰等<sup>[8]</sup>的方法确定 ISSR 的反应体系，PCR 扩增程序：94℃ 预变性 3 min；94℃ 变

表 1 本研究 ISSR 分子标记引物

Tab. 1 Primers of ISSR molecular marker used in this study

引物 Primer	序列 (5'-3') Sequence (5'-3')	引物 Primer	序列 (5'-3') Sequence (5'-3')
Z807	AGAGAGAGAGAGAGAGT	Z842	GAGAGAGAGAGAGAGAYG
Z809	AGAGAGAGAGAGAGAGG	Z847	CACACACACACACACAYC
Z810	GAGAGAGAGAGAGAGAT	Z848	CACACACACACACACARG
Z825	ACACACACACACACACT	Z855	ACACACACACACACACYT
Z826	ACACACACACACACACC	Z867	GGCGGCGGCGGCGGCGGC
Z834	AGAGAGAGAGAGAGAGYT	Z873	GACAGACAGACAGACA
Z840	GAGAGAGAGAGAGAGAYT	Z881	GGGTGGGGTGGGGTG

表 2 本研究 SRAP 分子标记引物组合

Tab. 2 Primers of SRAP molecular marker used in this study

序号 No.	上/下游 Forward/Reserve	引物组合 Primer pair	序列 (5'-3') Sequence (5'-3')	序号 No.	上/下游 Forward/Reserve	引物组合 Primer pair	序列 (5'-3') Sequence (5'-3')
1	上游引物	Me1	TGAGTCCAAACCGGATA	11	上游引物	Me4	TGAGTCCAAACCGGACC
	下游引物	Em1	GACTGCGTACGAATTAAT		下游引物	Em3	GACTGCGTACGAATTGAC
2	上游引物	Me1	TGAGTCCAAACCGGATA	12	上游引物	Me4	TGAGTCCAAACCGGACC
	下游引物	Em2	GACTGCGTACGAATTTGC		下游引物	Em4	GACTGCGTACGAATTTGA
3	上游引物	Me2	TGAGTCCAAACCGGAGC	13	上游引物	Me4	TGAGTCCAAACCGGACC
	下游引物	Em1	GACTGCGTACGAATTAAT		下游引物	Em5	GACTGCGTACGAATTAAC
4	上游引物	Me2	TGAGTCCAAACCGGAGC	14	上游引物	Me5	TGAGTCCAAACCGGAAG
	下游引物	Em3	GACTGCGTACGAATTGAC		下游引物	Em3	GACTGCGTACGAATTGAC
5	上游引物	Me2	TGAGTCCAAACCGGAGC	15	上游引物	Me6	TGAGTCCAAACCGGTAG
	下游引物	Em4	GACTGCGTACGAATTTGA		下游引物	Em2	GACTGCGTACGAATTTGC
6	上游引物	Me2	TGAGTCCAAACCGGAGC	16	上游引物	Me7	TGAGTCCAAACCGGTTG
	下游引物	Em5	GACTGCGTACGAATTAAC		下游引物	Em2	GACTGCGTACGAATTTGC
7	上游引物	Me3	TGAGTCCAAACCGGAAT	17	上游引物	Me9	TGAGTCCAAACCGGTCA
	下游引物	Em1	GACTGCGTACGAATTAAT		下游引物	Em5	GACTGCGTACGAATTAAC
8	上游引物	Me3	TGAGTCCAAACCGGAAT	18	上游引物	Me18	TGAGTCCAAACCGGAAG
	下游引物	Em2	GACTGCGTACGAATTTGC		下游引物	Em2	GACTGCGTACGAATTTGC
9	上游引物	Me3	TGAGTCCAAACCGGAAT	19	上游引物	Me19	TGAGTCCAAACCGGTAA
	下游引物	Em5	GACTGCGTACGAATTAAC		下游引物	Em1	GACTGCGTACGAATTAAT
10	上游引物	Me4	TGAGTCCAAACCGGACC	20	上游引物	Me20	TGAGTCCAAACCGGTCC
	下游引物	Em1	GACTGCGTACGAATTAAT		下游引物	Em1	GACTGCGTACGAATTAAT

性 30 s, 根据不同的引物调整最适退火温度, 退火 1 min, 72℃延伸 1 min, 35 个循环; 72℃延伸 10 min。参照燕佳文等<sup>[9]</sup>的方法确定 SRAP 的总反应体系, PCR 扩增程序: 94℃预变性 5 min; 94℃变性 1 min, 根据不同的引物调整最适的退火温度, 退火 1 min, 72℃延伸 1 min, 共 5 个循环; 紧接以上反应条件后 94℃变性 1 min, 最适温度下退火 1 min, 72℃下延伸 1 min, 35 个循环; 72℃延伸 10 min。PCR 产物均由 2%的琼脂糖凝胶检测, 130 V 下电泳 60 min, 所得产物于凝胶成像系统下观察。

### 1.3 数据处理

采用 SPSS 23.0 软件对所测定每份种质的叶、花、果等数量性状进行平均值和标准差的计算, 并以平均值±标准差的形式表示各项数据; 计算每份种质中各项化学成分指标的平均值和标准差。根据 Nei's 遗传一致度, 采用 SPSS 23.0 软件将化学成分含量的测定结果结合性状的测定结果利用非加权配对算数平均法 (unweighted pair group method using arithmetic average, UPGMA) 对其进行相关性聚类分析。

利用 Popgen 32 软件对 ISSR 和 SRAP 条带进行观察和记录, 无特异性条带的地方记为“0”, 有则记为“1”, 采用 SPSS 23.0 软件根据 Nei's 遗传一致度, 用 UPGMA 将 ISSR 和 SRAP 分子标记结果进行整合, 对 13 份化橘红种质进行遗传聚类分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 植物学特征性状数据的整理和分析

13 份化橘红种质的性状测定结果见表 3。13 份种质在叶缘形状、翼叶形状和叶基形状上无显著差异; 大部分正毛种质的叶显著比非正毛更长; 正毛的叶宽与非正毛的无显著差异; 叶型指数上, 若以 1.90 为阈值, 非正毛种质中山车凤尾、山车假西洋、山车光青、山车副毛、平定金钱笃和实生梨形皆小于 1.90, 正毛中除平定红肉和带刺正毛外皆大于 1.90, 说明大部分正毛种质的叶要比非正毛更细长; 在色差测定中, 若以  $L^*$  值 42.00 为阈值, 所有非正毛种质均小于 42.00, 正毛中仅有平定红肉和带刺正毛小于 42.00, 说明正毛种质的叶总体上比非正毛更偏白; 从所测  $a^*$  值可知所

表 3 化橘红种质的叶性状测定结果

Tab. 3 Results of leaf characters about 13 ECG germplasms

种质 Germplasm	叶长 Leaf length/mm	叶宽 Leaf width/mm	叶型指数 Leaf shape index	翼叶长 Length of winged petiole/mm	翼叶宽 Width of winged petiole/mm	叶尖形状 Shape of leaf tip	$L^*$	$a^*$	$b^*$
山车凤尾	106.71±27.29 <sup>a</sup>	50.30±4.68 <sup>b</sup>	1.83±0.46	11.28±1.92 <sup>b</sup>	19.12±4.93 <sup>b</sup>	短尖	39.08±1.72 <sup>b</sup>	-14.44±0.88 <sup>a</sup>	20.14±1.70 <sup>b</sup>
山车正毛	100.66±10.61 <sup>a</sup>	51.39±6.37 <sup>b</sup>	1.97±0.20 <sup>a</sup>	14.13±2.29 <sup>a</sup>	19.80±3.41 <sup>b</sup>	短尖	43.22±2.86 <sup>a</sup>	-17.51±1.85 <sup>a</sup>	28.63±3.45 <sup>a</sup>
山车假西洋	83.34±7.25 <sup>b</sup>	48.81±3.86 <sup>b</sup>	1.73±0.16	10.49±2.62	15.24±3.42 <sup>b</sup>	短尖	41.01±1.61 <sup>b</sup>	-15.74±0.90 <sup>a</sup>	22.57±1.99
山车光青	89.88±21.35 <sup>b</sup>	64.49±3.28 <sup>a</sup>	1.39±0.33 <sup>b</sup>	9.40±2.54 <sup>b</sup>	16.12±3.45 <sup>b</sup>	钝尖	40.48±2.14 <sup>b</sup>	-16.34±2.29 <sup>a</sup>	23.86±4.01 <sup>b</sup>
山车副毛	104.94±6.90 <sup>a</sup>	61.09±5.82 <sup>a</sup>	1.73±0.18 <sup>b</sup>	14.33±1.51 <sup>a</sup>	25.91±5.05 <sup>a</sup>	钝尖	38.22±3.40 <sup>b</sup>	-14.11±3.46 <sup>a</sup>	20.08±5.70 <sup>b</sup>
平定金钱笃	97.26±10.04 <sup>b</sup>	52.64±5.66 <sup>b</sup>	1.86±0.20 <sup>b</sup>	14.85±2.40 <sup>a</sup>	27.07±3.96 <sup>a</sup>	短尖	35.43±5.03 <sup>b</sup>	-11.99±1.43 <sup>b</sup>	17.72±6.10 <sup>b</sup>
平定黄绒	110.72±8.82 <sup>a</sup>	52.93±4.75 <sup>b</sup>	2.10±0.21 <sup>a</sup>	17.37±5.20 <sup>a</sup>	23.40±8.11 <sup>b</sup>	短尖	44.74±6.41 <sup>a</sup>	-17.16±3.23 <sup>a</sup>	28.87±9.09 <sup>a</sup>
平定密叶	111.96±6.10 <sup>a</sup>	57.73±4.41 <sup>a</sup>	1.95±0.12 <sup>a</sup>	12.51±1.88 <sup>b</sup>	19.28±2.49	短尖	51.01±3.19 <sup>a</sup>	-20.36±0.35 <sup>a</sup>	36.57±2.75 <sup>a</sup>
平定红肉	119.12±10.12 <sup>a</sup>	65.85±7.96 <sup>a</sup>	1.82±0.13 <sup>b</sup>	15.46±2.34 <sup>a</sup>	27.25±5.79 <sup>a</sup>	短尖	31.86±8.50 <sup>b</sup>	-11.45±0.93 <sup>b</sup>	18.39±7.36 <sup>b</sup>
实生梨形	92.47±10.36 <sup>b</sup>	58.85±4.11 <sup>a</sup>	1.57±0.21 <sup>b</sup>	9.88±2.23 <sup>b</sup>	15.93±3.35 <sup>b</sup>	钝尖	39.49±4.17 <sup>b</sup>	-15.71±1.52 <sup>a</sup>	22.66±3.98 <sup>b</sup>
大合黄绒	109.62±27.00 <sup>a</sup>	54.59±6.75 <sup>b</sup>	2.04±0.52 <sup>a</sup>	17.57±1.71 <sup>a</sup>	32.97±13.19 <sup>a</sup>	短尖	48.62±7.72 <sup>a</sup>	-17.98±3.70 <sup>a</sup>	32.93±9.75 <sup>a</sup>
大合密叶	100.05±10.79 <sup>a</sup>	53.16±5.12 <sup>b</sup>	2.08±0.15 <sup>a</sup>	13.42±2.65 <sup>b</sup>	23.52±2.71 <sup>b</sup>	短尖	51.59±7.31 <sup>a</sup>	-19.04±2.83 <sup>a</sup>	35.74±7.89 <sup>a</sup>
带刺正毛	63.05±6.65 <sup>b</sup>	44.91±5.54 <sup>b</sup>	1.41±0.12 <sup>b</sup>	10.13±2.86 <sup>b</sup>	18.99±4.87 <sup>b</sup>	钝尖	36.19±1.16	-10.14±0.97 <sup>b</sup>	14.76±2.05 <sup>b</sup>

注: 同列不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ); 表中未列举出的叶片性状为 13 份种质的观测结果相同的性状, 分别为叶形 (均为卵圆形)、叶缘形状 (均为波状缘)、翼叶形状 (均为倒卵形)、叶基形状 (均为广楔形)。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ( $P<0.05$ ); The leaf characters not listed in the Tab. 3 are the same as the observed results of 13 germplasms, which are the leaf shape (all oval), the blade edge shape (all undulate margin), the wing shape (all obovate), the blade base shape (all are wide wedge).

有非正毛种质(山车凤尾、山车假西洋、山车光青、山车副毛、平定金钱笃、实生梨形)均大于-17.00,正毛种质除平定红肉和带刺正毛外均小于-17.00,说明大部分正毛种质的叶比非正毛更偏绿;从所测  $b^*$  值可知所有非正毛种质(山车凤尾、山车假西洋、山车光青、山车副毛、平定金钱笃、实生梨形)均小于 25.00,正毛种质除平定红肉和带刺正毛外均大于 25.00,说明大部分正毛种质的叶比非正毛更偏黄。

花的性状测定结果见表 4,在花瓣数量、花瓣颜色和花柱状况上这 13 份种质无显著差异;在花瓣长度上,非正毛种质山车凤尾、山车光青、山车副毛、平定金钱笃和实生梨形的均值均在 23.00 mm 以下,而正毛种质除平定黄绒、大合黄绒和大合密叶外,剩余均在 23.00 mm 以上,最大的是平定密叶,均值为 36.77 mm;在花瓣宽度上,非正毛种质山车凤尾、山车光青、山车副毛和实生梨形的均值均小于 9.50 mm,仅有平定金钱笃大于 9.50 mm,为 9.67 mm,而在正毛种质中有平定黄绒、平定密叶、大合黄绒和大合密叶 4 份种质大于 9.50 mm,剩余正毛种质的花瓣宽度均大于 9.50 mm,最大的是带刺正毛,均值为 10.91 mm;

在花粉数量上,山车凤尾、山车假西洋和平定金钱笃的花粉数量测定为中或少,3 份均为非正毛种质;在雄蕊数上,两类种质无显著差异。

果实性状测定结果见表 5。13 份化橘红种质在放射沟纹、果顶印圈、果顶凸环、果皮颜色、果心充实度和中果皮颜色这 6 个性状中无显著差异;在果形上,正毛和非正毛种质有显著差异,其中山车假西洋、山车光青、山车副毛、平定金钱笃和实生梨形等非正毛种质中果形指数大于 0.95,多呈球形或梨形,而正毛种质果实果型指数小于 0.95,整体呈高扁圆形,差异显著;在果顶形状上,非正毛种质多呈平滑状,正毛种质多浅凹;在果基形状上,2 类种质无显著差异。以平均果型指数 0.95 作为分界时,可见非正毛种质山车凤尾、山车假西洋、山车光青、山车副毛和实生梨形的果型指数均大于 0.95,仅有平定金钱笃小于 0.95;正毛种质中有山车正毛和大合密叶果型指数大于 0.95,剩余正毛种质中平定黄绒和平定红肉的果型指数分别为 0.81 和 0.89,小于 0.90,和非正毛种质差异较大。从果实横纵径也可看出,正毛种质的果实形状相比非正毛种质更趋向于扁圆,而非正毛种质果实更趋向于球形。

表 4 化橘红种质的花性状测定结果

Tab. 4 Results of flower characters about 13 ECG germplasms

种质 Germplasm	花瓣数 Number of petals	花瓣颜色 Petal color	花瓣长 Length of petal/mm	花瓣宽 Width of petal/mm	花型指数 Flower shape index	花粉数量 Pollen quantity	雄蕊数 Number of stamens	花柱状况 Style
山车凤尾	4.1±0.3 <sup>a</sup>	白色	19.01±2.77 <sup>b</sup>	8.22±1.16 <sup>a</sup>	2.33±2.20 <sup>b</sup>	中	33.6±2.3 <sup>a</sup>	直立
山车正毛	4.1±0.3 <sup>a</sup>	白色	24.76±2.19 <sup>b</sup>	10.22±0.99 <sup>a</sup>	2.44±0.21 <sup>a</sup>	多	33.2±2.0 <sup>a</sup>	直立
山车假西洋	4.2±0.4 <sup>a</sup>	白色	26.32±0.97 <sup>a</sup>	10.08±0.63 <sup>a</sup>	2.62±0.15 <sup>a</sup>	中	33.7±2.6 <sup>a</sup>	直立
山车光青	4.2±0.4 <sup>a</sup>	白色	21.58±2.05 <sup>b</sup>	9.19±1.17 <sup>a</sup>	2.37±0.25 <sup>b</sup>	多	32.3±2.1 <sup>a</sup>	直立
山车副毛	4.1±0.3 <sup>a</sup>	白色	21.32±3.12 <sup>b</sup>	8.71±1.29 <sup>a</sup>	2.46±0.30 <sup>a</sup>	多	31.2±2.7 <sup>b</sup>	直立
平定金钱笃	4.2±0.4 <sup>a</sup>	白色	22.81±3.66 <sup>b</sup>	9.67±1.10 <sup>a</sup>	2.37±0.27 <sup>b</sup>	少	32.7±3.0 <sup>a</sup>	直立
平定黄绒	4.7±0.6 <sup>a</sup>	白色	21.60±3.40 <sup>b</sup>	8.56±1.41 <sup>a</sup>	2.55±0.23 <sup>a</sup>	多	34.0±4.0 <sup>a</sup>	直立
平定密叶	4.2±0.4 <sup>a</sup>	白色	36.77±2.22 <sup>a</sup>	7.20±0.88 <sup>b</sup>	2.33±0.30 <sup>b</sup>	多	32.8±3.2 <sup>a</sup>	直立
平定红肉	4.1±0.3 <sup>a</sup>	白色	23.33±3.53 <sup>b</sup>	9.74±1.16 <sup>a</sup>	2.40±0.33 <sup>a</sup>	多	37.2±2.9 <sup>a</sup>	直立
实生梨形	4.0±0.0 <sup>a</sup>	白色	16.12±2.10 <sup>b</sup>	7.42±0.88 <sup>b</sup>	2.20±0.33 <sup>b</sup>	多	36.8±3.5 <sup>a</sup>	直立
大合黄绒	4.1±0.3 <sup>a</sup>	白色	18.53±2.69 <sup>b</sup>	7.41±0.86 <sup>b</sup>	2.56±0.30 <sup>a</sup>	多	35.3±3.8 <sup>a</sup>	直立
大合密叶	4.1±0.3 <sup>a</sup>	白色	18.84±0.94 <sup>b</sup>	8.66±0.79 <sup>a</sup>	2.18±0.19 <sup>b</sup>	多	31.9±2.4 <sup>b</sup>	直立
带刺正毛	4.1±0.3 <sup>a</sup>	白色	25.72±0.88 <sup>a</sup>	10.91±0.72 <sup>a</sup>	2.36±0.32 <sup>b</sup>	多	36.2±3.0 <sup>a</sup>	直立

注: 同列不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ( $P<0.05$ ).

表 5 化橘红种质的果实性状测定结果  
Tab. 5 The determination results of fruit characters about ECG

种质 Germplasm	果实形状 Fruit shape	果顶形状 Shape of fruit top	果基形状 Shape of fruit base	单果重 Single fruit weight/g	果实横径 Fruit transverse diameter/mm	果实纵径 Fruit longitudinal diameter/mm	果型指数 Fruit shape index	光滑度 Fruit peel	有无绒毛 Little hairs on the peel	中果皮颜色 Color of sarcocarp
山车凤尾	高扁圆形	平	浅凹	85.46±7.03 <sup>a</sup>	62.00±5.86 <sup>a</sup>	58.42±4.32 <sup>a</sup>	0.95±0.04 <sup>a</sup>	粗糙	较少	黄白色
山车正毛	高扁圆形	平	浅凹	64.18±15.80 <sup>b</sup>	62.16±13.33 <sup>a</sup>	61.33±15.26 <sup>a</sup>	0.98±0.04 <sup>a</sup>	粗糙	有	黄白色
山车假西洋	球形	平	平	65.14±13.95 <sup>b</sup>	55.14±5.10 <sup>b</sup>	52.34±4.43 <sup>a</sup>	0.95±0.04 <sup>a</sup>	粗糙	较少	黄白色
山车光青	球形	平	浅凹	104.67±11.21 <sup>a</sup>	69.76±3.92 <sup>a</sup>	69.95±4.47 <sup>a</sup>	1.00±0.05 <sup>a</sup>	光滑	无	白色
山车副毛	高扁圆形	平	浅凹	88.32±6.47 <sup>a</sup>	53.44±8.36 <sup>b</sup>	53.00±7.20 <sup>a</sup>	1.00±0.10 <sup>a</sup>	粗糙	较少	黄白色
平定金钱笃	球形	浅凹	平	102.25±15.96 <sup>a</sup>	70.38±5.12 <sup>a</sup>	65.84±4.22 <sup>a</sup>	0.94±0.08 <sup>b</sup>	粗糙	有	黄白色
平定黄绒	高扁圆形	浅凹	平	121.15±17.95 <sup>a</sup>	75.18±2.96 <sup>a</sup>	61.28±4.73 <sup>a</sup>	0.81±0.05 <sup>b</sup>	粗糙	有	黄白色
平定密叶	高扁圆形	浅凹	浅凹	55.51±7.03 <sup>b</sup>	51.81±2.76 <sup>b</sup>	47.21±3.15 <sup>b</sup>	0.91±0.05 <sup>b</sup>	粗糙	有	黄白色
平定红肉	高扁圆形	浅凹	平	59.38±7.96 <sup>b</sup>	55.48±2.63 <sup>b</sup>	49.37±4.93 <sup>b</sup>	0.89±0.07 <sup>b</sup>	粗糙	有	黄白色
实生梨形	梨形	平	平	86.49±7.74 <sup>a</sup>	65.66±2.88 <sup>a</sup>	64.68±3.67 <sup>a</sup>	0.99±0.04 <sup>a</sup>	粗糙	较少	黄白色
大合黄绒	高扁圆形	浅凹	平	64.30±6.68 <sup>b</sup>	50.65±2.37 <sup>b</sup>	47.59±3.64 <sup>b</sup>	0.94±0.05 <sup>b</sup>	粗糙	有	黄白色
大合密叶	高扁圆形	浅凹	短颈	31.18±5.74 <sup>b</sup>	41.03±2.63 <sup>b</sup>	41.36±2.85 <sup>b</sup>	1.00±0.04 <sup>a</sup>	粗糙	有	黄白色
带刺正毛	高扁圆形	浅凹	短颈	48.29±8.99 <sup>b</sup>	49.09±5.75 <sup>b</sup>	47.13±4.08 <sup>b</sup>	0.94±0.08 <sup>b</sup>	粗糙	有	黄白色

注：同列不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )；表中未列举的果实性状为 13 份种质观测结果相同的性状，分别为放射沟纹（均无）、果顶印圈（均无）、果顶凸环（均无）、果皮颜色（均为绿色）、剥皮难易（均为难）、果心充实度（均为充实）。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ( $P<0.05$ ); The fruit characters not listed in the Tab. 5 are the same as the observed results of 13 germplasms, which are the radial groove (none), the fruit top seal ring (none), the apical convex ring (none), peel color (all green), peeling difficult or easy (difficult), the fruit core fullness (full).

## 2.2 化橘红种质干品的化学成分

化橘红种质的化学成分检测结果见表 6。在 13 份化橘红样品中，绝大多数正毛种质的野漆树苷平均含量高于 5.00 mg/g，平均含量最高的种质为大合黄绒和山车正毛，分别达到了 11.80 mg/g 和 11.59 mg/g；6 份非正毛样品除山车副毛（5.01 mg/g），其他种质的野漆树苷平均含量均低于 5.00 mg/g，尤其是山车假西洋和平定实生梨形，含量低于 1.00 mg/g，非正毛种质的野漆树苷含量与正毛有显著差异，可以一定程度上区分出正毛和非正毛化橘红。

13 份材料中有 8 份化橘红样品（其中包括 3 份正毛和 5 份非正毛材料）的柚皮苷平均含量高于 80.00 mg/g，平均含量最高为平定金钱笃（124.53 mg/g），非正毛的山车光青和山车副毛柚皮苷平均含量分别为 117.57 mg/g 和 106.35 mg/g，剩余 5 份材料的柚皮苷含量均低于 80.00 mg/g，其中最低为山车凤尾（25.30 mg/g），另外 4 份为正毛化橘红；待测种质中正毛和非正毛化橘红中均存在柚皮苷含量相对较高且含量接近的种质，因此不能完全将正毛种质和非正毛种质区分开来；平定黄绒种质柚皮苷含量要低于大合黄绒，而大合密叶则比平定密叶要低，说明不同的产区或地理条件也可能影响化橘红种质的柚皮苷含量。

表 6 化橘红种质的化学成分含量  
Tab. 6 Content of chemical composition results about 13 ECG germplasms

种质 Germplasm	野漆树苷 Wild rhubarb glycoside/ (mg·g <sup>-1</sup> )	柚皮苷 Naringin/ (mg·g <sup>-1</sup> )	水溶性浸出物 Aqueous extract/%	醇溶性浸出物 Alcohol extract/%
平定黄绒	3.92±0.24 <sup>b</sup>	72.61±5.38 <sup>b</sup>	37.67	26.69
平定红肉	5.28±0.38 <sup>b</sup>	74.91±3.22 <sup>b</sup>	40.69	32.21
平定金钱笃	2.34±0.16 <sup>b</sup>	124.53±9.63 <sup>a</sup>	39.42	34.33
平定密叶	4.90±0.40 <sup>b</sup>	119.71±8.21 <sup>a</sup>	36.75	30.58
平定实生梨形	0.35±0.09 <sup>b</sup>	99.55±5.25 <sup>a</sup>	40.17	28.26
石湾实生带刺	6.39±0.56 <sup>b</sup>	103.04±8.42 <sup>a</sup>	41.67	36.50
大合黄绒	11.80±0.94 <sup>a</sup>	99.79±7.52 <sup>a</sup>	36.06	30.67
大合密叶	2.27±0.16 <sup>b</sup>	75.85±6.84 <sup>b</sup>	39.56	27.32
山车正毛	11.59±0.85 <sup>a</sup>	79.04±4.50 <sup>b</sup>	32.91	25.83
山车副毛	5.01±0.48 <sup>b</sup>	106.35±6.44 <sup>a</sup>	38.42	34.43
山车光青	1.59±0.12 <sup>b</sup>	117.57±10.21 <sup>a</sup>	40.31	36.14
山车假西洋	0.59±0.10 <sup>b</sup>	98.37±8.82 <sup>a</sup>	41.82	33.73
山车凤尾	4.39±0.36 <sup>b</sup>	25.32±2.25 <sup>b</sup>	36.24	38.65

注：同列不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ( $P<0.05$ ).

正毛与非正毛种质在醇溶性浸出物中有显著性差异，在水溶性浸出物中无显著差异。13 份化橘红种质的醇溶性浸出物含量为 25%~39%，其中含量最低的为山车正毛（25.83%），含量最高的为

山车凤尾 (38.65%); 在正毛化橘红种质中, 醇溶性浸出物的含量为 25%~35%, 部分种质的浸出物含量低于 30%, 而在非正毛化橘红种质中, 醇溶性浸出物为 35%~39%, 除平定金钱笃 (34.33%) 和石湾实生带刺 (36.50%) 以外, 相比于大多数正毛化橘红种质, 非正毛种质 (山车正毛、山车光青、山车假西洋和山车凤尾) 的含量相对更高; 水溶性浸出物含量为 33%~42%, 含量最低的是山车正毛, 为 32.91%; 含量最高的是山车假西洋, 为 41.82%; 在正毛化橘红中, 水溶性浸出物的含量为 33%~42%, 而非正毛种质则为 36%~42%, 相对于部分正毛化橘红, 其水溶性浸出物含量更高, 但与平定密叶 (36.75%)、平定金钱笃 (39.42%)、大合密叶 (39.56%) 等种质相比, 其水溶性浸出物的含量差异并不大。

**2.3 植物学性状与化学成分结果的聚类分析**

聚类分析结果见图 1, 以遗传距离为 10 cM 作为分界时, 可将 13 份化橘红种质聚为 4 类, 其中平定黄绒、平定密叶、大合密叶、山车正毛、山车副毛、山车凤尾、平定金钱笃、平定红肉、

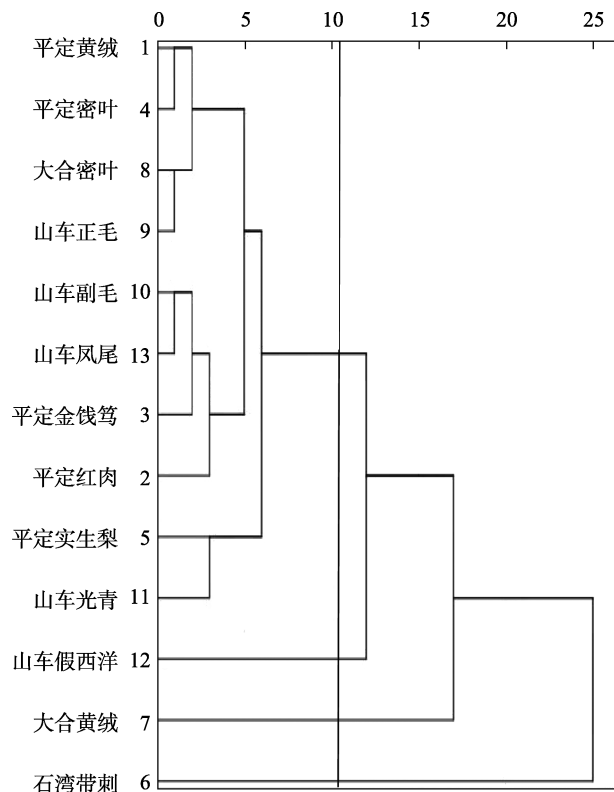


图 1 13 份化橘红种质性状与化学成分 UPGMA 聚类树状图

Fig. 1 The UPGMA clustering tree between botanical characters and chemical composition of 13 ECG germplasm

平定实生梨以及山车光青 10 份种质聚为第 1 类, 山车假西洋、大合黄绒和石湾带刺正毛分别单独聚为第 2、第 3 和第 4 类。在第 1 类聚类结果中既存在正毛化橘红 (平定黄绒、平定密叶等), 也存在非正毛化橘红 (山车副毛、山车凤尾等), 因此仅依靠植物学性状和化学成分无法区分 13 份种质中的正毛和非正毛化橘红。

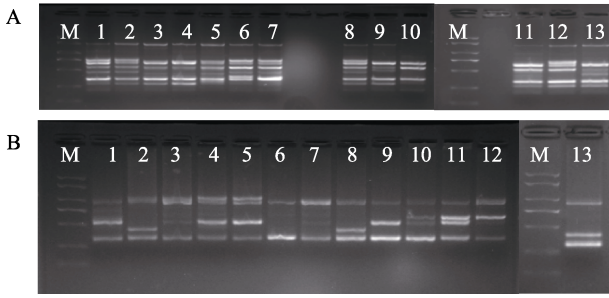
**2.4 化橘红种质的分子标记**

**2.4.1 ISSR 分子标记鉴定化橘红种质** ISSR 扩增结果见表 7。所有引物扩增共获得 103 条扩增条带, 其中多态性条带共有 77 条, 平均多态位点百分率为 74.8%; 引物扩增出的条带数为 5~10 条, 平均 7.4 条; 多态性条带数为 3~8 条, 平均 5.5 条; 部分引物扩增结果见图 2, 扩增条带数最多的为引物 Z809, 共扩增出 10 条条带, 其中多态性 8 条, 多态率为 80% (图 2)。

**2.4.2 SRAP 分子标记鉴定化橘红种质** SRAP 扩增结果见表 8, 所有引物扩增共获得 76 条扩增条带, 其中多态性条带共有 72 条, 平均多态位点百分率为 94.7%; 引物扩增条带为 1~8 条, 平均 3.8 条; 多态性条带数为 1~8 条, 平均 3.6 条, 多态性相对 ISSR 较低; 部分扩增结果见图 3。

表 7 ISSR-PCR 对 13 份化橘红种质的扩增结果  
Table. 7 The amplification results of ISSR molecular marker about 13 ECG germplasm

引物 Primer	扩增条带数 Number of amplified bands	多态性条带数 Number of polymorphic bands	多态百分率 Percentage of polymorphisms/%
Z807	9	7	77.8
Z809	10	8	80.0
Z810	7	4	57.1
Z825	6	4	66.7
Z826	5	4	80.0
Z834	7	6	85.7
Z840	8	6	75.0
Z842	8	6	75.0
Z847	6	5	83.3
Z848	9	5	55.6
Z855	9	8	90.0
Z867	5	3	60.0
Z873	8	5	62.5
Z881	7	6	85.7
平均	7.4	5.5	74.8
总量	103	77	



A: Z809; B: Z825; M: DL2000 marker, 1~13 分别为大合黄绒、山车正毛、山车假西洋、山车副毛、山车光青、大合密叶、平定黄绒、平定红肉、山车凤尾、实生梨形、平定金钱笃、平定密叶、石湾带刺正毛。

A: Z809; B: Z825; M: DL2000 marker, 1~13 are Dahe huangrong, Shanche zhengmao, Shanche jiaxyang, Shanche fumao, Shanche guangqing, Dahe miye, Pingding huangrong, Pingding hongrou, Shanche fengwei, Shisheng lixing, Pingding jinqiandu, Pingding miye, Shiwan zhengmao, respectively.

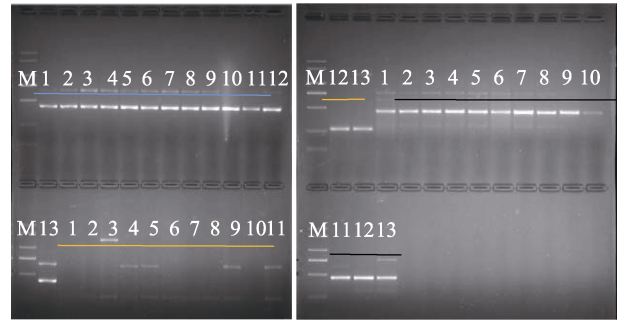
图 2 ISSR 引物对 13 份化橘红种质的扩增结果

Fig. 2 The amplification results of primers of 13 ECG germplasms

表 8 SRAP-PCR 对 13 份化橘红种质的扩增结果

Tab. 8 The amplification results of SRAP molecular marker about 13 ECG germplasms

引物 Primer	扩增条带数 Number of amplified bands	多态性条带数 Number of polymorphic bands	多态百分率 Percentage of polymorphisms/%
Me1-Em1	3	3	100.0
Me1-Em2	6	6	100.0
Me2-Em1	6	6	100.0
Me2-Em3	3	3	100.0
Me2-Em4	4	4	100.0
Me2-Em5	3	3	100.0
Me3-Em1	2	2	100.0
Me3-Em2	5	5	100.0
Me3-Em5	4	3	100.0
Me4-Em1	3	3	100.0
Me4-Em3	4	3	75.0
Me4-Em4	3	2	66.7
Me4-Em5	4	4	100.0
Me5-Em3	4	3	75.0
Me6-Em2	1	1	100.0
Me7-Em2	8	8	100.0
Me9-Em5	4	4	100.0
Me18-Em2	5	5	100.0
Me19-Em1	3	3	100.0
Me20-Em1	1	1	100.0
平均	3.8	3.6	94.7
总量	76	72	



M: DL2000 marker, 1~13 分别为大合黄绒、山车正毛、山车假西洋、山车副毛、山车光青、大合密叶、平定黄绒、平定红肉、山车凤尾、实生梨形、平定金钱笃、平定密叶、石湾带刺正毛；从左右第一组 1~13 点样孔（蓝色）为引物组合 Me3-Em1 的扩增结果，第二组 1~13 点样孔（橙色）为引物组合 Me4-Em1 的扩增结果，第三组 1~13 点样孔（黑色）为引物组合 Me19-Em1 的扩增结果。

M: DL2000 marker, 1~13 are Dahe huangrong, Shanche zhengmao, Shanche jiaxyang, Shanche fumao, Shanche guangqing, Dahe miye, Pingding huangrong, Pingding hongrou, Shanche fengwei, Shisheng lixing, Pingding jinqiandu, Pingding miye, Shiwan zhengmao respectively. From left to right, the first group of 1~13 sample holes (blue) is the amplification result of primer combination Me3-Em1, the second group of 1~13 sample holes (orange) is the amplification result of primer combination Me4-Em1, and the third group of 1-13 sample holes (black) is the amplification result of primer combination Me19-Em1.

图 3 SRAP 引物组合 Me3-Em1、Me4-Em1 和 Me19-Em1 对 13 份化橘红种质扩增结果

Fig. 3 The amplification results of primer Me3-Em1, Me4-Em1 and Me19-Em1 of 13 ECG germplasms

### 2.5 13 份化橘红种质的 ISSR 和 SRAP 分子标记结果的聚类分析

13 份化橘红种质的聚类分析结果见图 4，当遗传距离为 15 cM 时，可将 13 份化橘红分为 4 类。其中大合密叶、平定黄绒、大合黄绒、山车正毛、平定红肉、带刺正毛、山车假西洋和平定密叶共 8 份种质聚为第 1 类，山车副毛和山车光青 2 份种质聚为第 2 类，山车凤尾和平定金钱笃 2 份种质聚为第 3 类，实生梨形单独聚为第 4 类。从聚类分析结果看，第 1 类中的 8 份种质除山车假西洋外均为正毛化橘红，在果实绒毛、果实形状等性状上均较为相似，而第 2、第 3 和第 4 类共 5 份种质均为非正毛化橘红，与第 1 类中的种质在叶长、叶型指数、色差值、花瓣长、果实形状和有茸毛等性状上差异显著。由此可见，ISSR 和 SRAP 分子标记能较好地地区分正毛和非正毛化橘红种质。

### 2.6 13 份化橘红种质植物学性状与化学成分含量的相关性分析

13 份化橘红种质植物学性状测定及化学成分

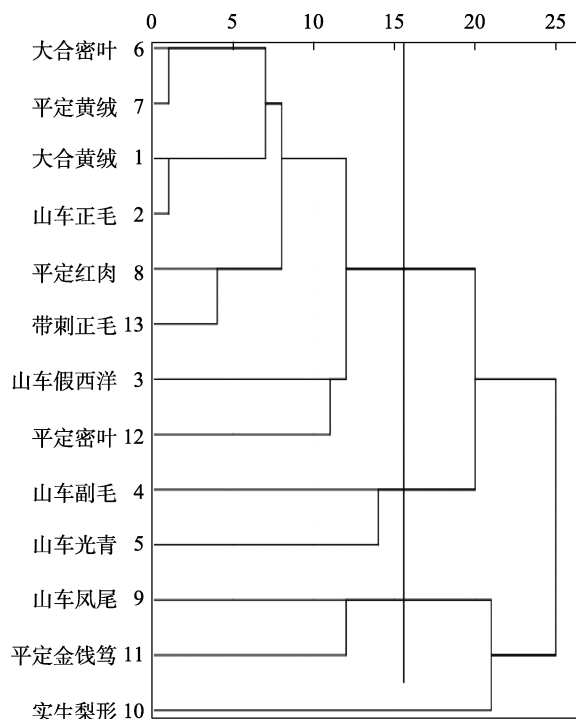


图 4 13 份化橘红种质分子标记 UPGMA 聚类树状图  
Fig. 4 The UPGMA clustering tree of molecular marker of 13 ECG germplasms

含量相关性分析结果见表 9, 化橘红果实的野漆树苷含量与花瓣数量、果实横径呈显著正相关 ( $P < 0.05$ ), 水溶性浸出物与  $L^*$  值呈显著正相关; 野漆树苷含量与果型指数呈极显著负相关 ( $P < 0.01$ ), 从该结果推测化橘红的植物学性状中仅有果型指数和果实形状与化学成分含量相关性较大, 果型指数对有效成分的含量影响更大; 其他植物学性状与化学成分含量间无显著相关。

### 3 讨论

#### 3.1 关于化橘红植物学性状对种质鉴别的影响

许多植物学性状可对化橘红的种质鉴别产生影响, 缺少相关的性状数据会导致化橘红资源管理的欠缺, 阻碍化橘红的生产与发展<sup>[10]</sup>。通过肉眼观察部分性状能直观地区分正毛和非正毛化橘红, 如正毛和非正毛种质的叶型指数有显著差异; 其次, 相对于正毛种质的叶尖而言, 部分非正毛种质(光青、副毛)的叶尖更钝; 还可直接观察果实形状和果面上的茸毛量等。若借助实验仪器(游标卡尺、色差仪、电子天秤等)进行其他性状(如叶型指数、花型指数、果型指数和单果重等)进行测定, 便能对化橘红种质作更进一步的鉴别。在 13 份化橘红种质中, 无论叶、花还是果

实在正毛和非正毛种质中均存在差异显著的性状, 这与曹征等<sup>[11]</sup>的研究结果一致, 测定植物学性状是化橘红种质鉴别的有效手段之一。

#### 3.2 化橘红种质化学成分含量差异的原因及其在种质鉴别上的应用

不同产地及品种的化橘红种质, 其内在所含的化学成分的含量也会存在差异<sup>[12]</sup>; 通常来说, 相同条件下毛橘红化学成分含量要比光橘红高。因此, 针对来自不同产地的 13 份化橘红种质可通过测定果实干品化学成分含量, 对其进行质量检测分析, 通过化学成分的含量差异对这些种质进行区分和鉴定。作为一款应用历史悠久的传统中药材, 对于化橘红各种化学成分的研究也有不少报道, 方法也在不断地创新, 发挥药用作用的如柚皮苷<sup>[13]</sup>、野漆树苷等<sup>[14]</sup>, 其提取和测定的效率对于化橘红作为中药材在市场上的应用有着十分重要的意义。本研究发现在这 13 份种质中, 正毛和非正毛化橘红的化学成分含量不同, 尤其是野漆树苷和醇浸出物的含量有显著差异, 推测这 2 个成分可作为种质鉴别的参考依据之一; 不同产地可能会对相同种质的药效产生一定影响, 由于化州市各乡镇产区在地形、生态和土壤环境等存在较大差异<sup>[15]</sup>, 推测可能是气候、土壤等环境因素或管理水平等会影响种质的化学成分。本研究中正毛和非正毛种质在柚皮苷和水溶性浸出物上无显著差异, 部分正毛种质还出现了柚皮苷含量相对较低的情况, 同样也可能是受环境因素影响, 也可能是加工和保存过程中造成部分正毛种质果实的化学成分含量发生变化<sup>[16]</sup>; 相反, 平定金钱笃和山车光青等一些非正毛化橘红也有着相对较高的柚皮苷含量, 因此也具有较好的药用功效。从研究结果推论, 以醇溶性浸出物含量作为标准对正毛和非正毛化橘红进行区分和鉴定的效果优于水溶性浸出物, 可以用作区分正毛化橘红和非正毛化橘红的手段和参考依据之一; 水溶性浸出物一般包含各种游离氨基酸、核苷酸和糖原、糖类物质, 而醇溶性浸出物包含皂苷物质和其他各种有机物质等, 均是人体所需的一部分营养物质, 对于研究化橘红的药用功效有着重要意义。通过化学成分结果可以看出从野漆树苷和醇溶性浸出物含量, 对于 13 份化橘红种质的鉴别和区分都有着良好的效果, 说明利用化学成分也可在一定程度上鉴别和区分不同类别化橘红种质。

表 9 13 份化橘红种质性状与化学成分的相关性分析  
Tab. 9 The correlation analysis between botanical characters and chemical composition of 13 ECG germplasm

指标 Index	花瓣数 Petal number	花瓣长 Petal length	花瓣宽 Petal width	雄蕊数 Stamen number	单果重 Single fruit weight	果实横径 Fruit transverse diameter	果实纵径 Fruit longitudinal diameter	果型指数 Fruit shape index	果实形状 Fruit shape	果顶部形状 Fruit top shape	果基形状 Fruit base shape	果皮光滑度 Peel smoothness	花型指数 Flower shape index	叶长 Leaf length	叶宽 Leaf width	叶型指数 Leaf shape index	L <sup>*</sup>	a <sup>*</sup>	b <sup>*</sup>	野漆树苷 Wild rhu-barb glyco-side	柚皮苷 Nari-ngin	水溶性浸出物 Aqueous extract	醇溶性浸出物 Alcohol extract
花瓣数	1	0.190	0.050	-0.004	0.575 <sup>*</sup>	0.694 <sup>**</sup>	0.418	-0.849 <sup>*</sup>	0.295	-0.160	-0.402	0.009	0.478	0.287	-0.099	0.413	0.167	-0.192	0.198	0.600 <sup>*</sup>	0.144	-0.272	-0.153
花瓣长	0.190	1	0.941 <sup>**</sup>	-0.112	0.319	0.265	0.408	-0.190	0.090	0.035	-0.489	0.061	0.601 <sup>*</sup>	-0.224	-0.187	-0.079	-0.448	0.388	-0.410	0.292	0.041	-0.166	0.087
花瓣宽	0.050	0.941 <sup>**</sup>	1	-0.121	0.209	0.200	0.369	-0.047	-0.021	-0.014	-0.435	0.128	0.314	-0.210	-0.095	-0.107	-0.487	0.406	-0.423	0.302	0.016	-0.155	0.051
雄蕊数	-0.004	-0.112	-0.121	1	-0.008	0.201	-0.016	-0.361	-0.159	-0.417	-0.218	-0.232	0.023	0.298	0.270	0.051	-0.304	0.187	-0.145	0.542	0.131	-0.368	-0.031
单果重	0.575 <sup>*</sup>	0.319	0.209	-0.008	1	0.861 <sup>**</sup>	0.755 <sup>**</sup>	-0.498	-0.025	0.320	-0.264	0.002	0.513	0.229	0.076	0.125	-0.326	0.217	-0.294	0.398	0.315	0.008	-0.072
果实横径	0.694 <sup>**</sup>	0.265	0.200	0.201	0.861 <sup>**</sup>	1	0.859 <sup>**</sup>	-0.633 <sup>*</sup>	0.054	-0.108	-0.449	0.035	0.357	0.192	-0.038	0.100	-0.353	0.219	-0.313	0.648 <sup>*</sup>	0.206	-0.241	-0.116
果实纵径	0.418	0.408	0.369	-0.016	0.755 <sup>**</sup>	0.859 <sup>**</sup>	1	-0.277	-0.115	-0.036	-0.519	0.316	0.360	-0.048	-0.046	-0.179	-0.423	0.255	-0.439	0.347	0.355	-0.125	-0.071
果型指数	-0.849 <sup>**</sup>	-0.190	-0.047	-0.361	-0.498	-0.633 <sup>*</sup>	-0.277	1	-0.210	0.281	0.342	0.045	-0.475	-0.419	-0.139	-0.352	0.005	0.090	-0.142	-0.786 <sup>**</sup>	-0.049	0.453	0.250
果实形状	0.295	0.090	-0.021	-0.159	-0.025	0.054	-0.115	-0.210	1	-0.116	-0.013	-0.116	0.082	-0.576 <sup>*</sup>	-0.511	-0.295	-0.178	0.420	-0.317	0.254	-0.657 <sup>*</sup>	-0.390	0.411
果顶部形状	-0.160	0.035	-0.014	-0.417	0.320	-0.108	-0.036	0.281	-0.116	1	0.460	-0.083	0.144	0.117	0.290	-0.097	-0.169	0.141	-0.202	-0.355	0.085	0.156	-0.270
果基形状	-0.402	-0.489	-0.435	-0.218	-0.264	-0.449	-0.519	0.342	-0.013	0.460	1	-0.243	-0.464	-0.069	0.136	-0.122	0.225	-0.232	0.195	-0.437	-0.243	0.225	-0.070
果皮光滑度	0.009	0.061	0.128	-0.232	0.002	0.035	0.316	0.045	-0.116	-0.083	-0.243	1	-0.064	-0.191	0.456	-0.531	-0.056	-0.080	-0.042	0.021	0.312	-0.218	-0.100
花型指数	0.478	0.601 <sup>*</sup>	0.314	0.023	0.513	0.357	0.360	-0.475	0.082	0.144	-0.464	-0.064	1	0.080	-0.161	0.187	-0.053	0.020	-0.049	0.146	0.286	-0.010	0.036
叶长	0.287	-0.224	-0.210	0.298	0.229	0.192	-0.048	-0.419	-0.576 <sup>*</sup>	0.117	-0.069	-0.191	0.080	1	0.524	0.700 <sup>**</sup>	0.235	-0.381	0.434	0.255	0.275	0.002	-0.697 <sup>**</sup>
叶宽	-0.099	-0.187	-0.095	0.270	0.076	-0.038	-0.046	-0.139	-0.511	0.290	0.136	0.456	-0.161	0.524	1	-0.135	-0.153	-0.077	0.047	0.202	0.375	-0.305	-0.582 <sup>*</sup>
叶型指数	0.413	-0.079	-0.107	0.051	0.125	0.100	-0.179	-0.352	-0.295	-0.097	-0.122	-0.531	0.187	0.700 <sup>**</sup>	-0.135	1	0.576 <sup>*</sup>	-0.538	0.662 <sup>*</sup>	0.061	0.177	0.402	-0.178
L <sup>*</sup>	0.167	-0.448	-0.487	-0.304	-0.326	-0.353	-0.423	-0.005	-0.178	-0.169	0.225	-0.056	-0.053	0.235	-0.153	0.576 <sup>*</sup>	1	-0.925 <sup>**</sup>	0.958 <sup>**</sup>	-0.460	0.233	0.558 <sup>*</sup>	0.054
a <sup>*</sup>	-0.192	0.388	0.406	0.187	0.217	0.219	0.255	0.090	0.420	0.141	-0.232	-0.080	0.020	-0.381	-0.077	-0.538	-0.925 <sup>**</sup>	1	-0.950 <sup>**</sup>	0.353	-0.414	-0.475	0.160
b <sup>*</sup>	0.198	-0.410	-0.423	-0.145	-0.294	-0.313	-0.439	-0.142	-0.317	-0.202	0.195	-0.042	-0.049	0.434	0.047	0.662 <sup>*</sup>	0.958 <sup>**</sup>	-0.950 <sup>**</sup>	1	-0.298	0.289	0.471	-0.094
野漆树苷	0.600 <sup>*</sup>	0.292	0.302	0.542	0.398	0.648 <sup>*</sup>	0.347	-0.786 <sup>**</sup>	0.254	-0.355	-0.437	0.021	0.146	0.255	0.202	0.061	-0.460	0.353	-0.298	1	-0.134	-0.714 <sup>**</sup>	-0.221
柚皮苷	0.144	0.041	0.016	0.131	0.315	0.206	0.355	-0.049	-0.657 <sup>*</sup>	0.085	-0.243	0.312	0.286	0.275	0.375	0.177	0.233	-0.414	0.289	-0.134	1	0.356	0.008
水溶性浸出物	-0.272	-0.166	-0.155	-0.368	0.008	-0.241	-0.125	0.453	-0.390	0.156	0.225	-0.218	-0.010	0.002	-0.305	0.402	0.558 <sup>*</sup>	-0.475	0.471	-0.714 <sup>**</sup>	0.356	1	0.420
醇溶性浸出物	-0.153	0.087	0.051	-0.031	-0.072	-0.116	-0.071	0.250	0.411	-0.270	-0.070	-0.100	0.036	-0.697 <sup>**</sup>	-0.582 <sup>*</sup>	-0.178	0.054	0.160	-0.094	-0.221	0.008	0.420	1

注: \*表示显著相关 (P<0.05), \*\*表示极显著相关 (P<0.01).  
Note: \* indicates significant correlation (P<0.05), \*\* indicates extremely significant correlation (P<0.01).

因此在实际的化橘红种植和生产中, 选择种植品种时要充分考虑当地的环境条件<sup>[17]</sup>, 最大程度增加橘红果实的药用价值, 也可适当种植部分化学成分较高的非正毛种质, 增加当地橘红的多样性, 有利于化橘红种植产业的蓬勃发展。总的来说, 对化橘红的化学成分测定和分析都是十分重要且对橘红产业发展意义重大的一项工作。

### 3.3 ISSR 与 SRAP 分子标记对于化橘红种质鉴别效果的比较

ISSR 和 SRAP 两种分子标记能成功地将 13 份化橘红种质中的正毛与非正毛种质从一定程度上区分开来, 与前人用 ISSR 实验的鉴定结果吻合<sup>[3]</sup>。SRAP 的条带数量和多态性条带数量都比 ISSR 少, 可能是 SRAP 的引物组合可能对于外界温度的变化较 ISSR 的敏感, 在一定程度上影响了 SRAP 的结果; 从聚类结果可知, 2 种分子标记综合聚类下可将 13 份化橘红种质区分为正毛和非正毛两大类, 鉴定效果较好。

ISSR 和 SRAP 分子标记能很好地应用于化橘红的种质鉴别, 2 种分子标记方法各有优劣, 而相比于 ISSR 分子标记, SRAP 分子标记在引物组合选择上更为灵活, 正向引物可与反向引物两两组合, 使用效率更高<sup>[18]</sup>。因此, 在实际操作中, 应当依据不同分子标记的特点和注意事项, 力求得到更好的实验结果。

### 3.4 13 份化橘红种质植物学性状、化学成分与分子标记结果的相关性分析

化橘红果实的形状与其所含的化学成分有较大的关系, 更趋向于扁圆形的果实的化学成分含量越高, 而正毛化橘红果实的形状趋向于高扁圆形, 而非正毛化橘红果实更趋向于梨形或球形。化州柚的化学成分含量要显著高于光青柚和其他柚, 一定程度上也说明正毛的化学成分要高于非正毛种质, 与前人研究结果<sup>[19]</sup>一致。曹征等<sup>[11]</sup>通过聚类分析将正毛橘红归为第 1 类, 光橘红归为第 2 类, 且第 2 类化橘红种质资源的化学成分含量更高。水溶性浸出物含量与  $L^*$  值呈显著正相关, 叶片的  $L^*$  值越高, 其水溶性浸出物含量 (如游离氨基酸等各类含氮营养物质) 可能也越高。2 种分子标记都可将 13 份种质以平定假西洋为界分为正毛和非正毛种质, 二者在部分植物学性状上存在显著差异, 如叶长、叶型指数、色差值、花瓣长、果实形状和有无茸毛等, 可知分子标记

结果与植物性状具有一定的相关性。

### 3.5 化橘红种质鉴定研究对其产业发展的实际应用和意义

首先, 橘红作为化州市的特色支柱产业<sup>[20]</sup>, 不仅用途广泛, 对于延缓咳嗽、利气消痰等病症都有着相当显著的药用功效。橘红在市面上的需求量也日益增长, 除了化州道地产区在逐步扩大橘红种植规模, 广西等地也在逐渐推广橘红的种植和产品<sup>[21]</sup>, 相比以前, 种植化橘红所带来的经济效益有着明显提高, 市面上的橘红产品质量也变得参差不齐, 同时许多农户在种植过程中会出现把橘红种质混淆的情况。对产区内的橘红种质进行种质鉴定, 既可以应对市面需求, 一定程度上解决品种混乱和品种优劣的问题<sup>[22]</sup>, 又能最大限度保证高质量橘红种质的种植和产业化生产, 为市场源源不断地提供高质量橘红产品, 也可给当地农户带来可观的收益。

其次, 虽然在大多数情况下, 化橘红的中药活性成分是由其种质特性决定的, 但其对环境也有较大的依赖性<sup>[23]</sup>: 一方面, 化橘红作为道地药材, 其道地产区的生态环境对化橘红的独特品质形成和保持有着极强的相关性<sup>[24]</sup>, 土壤作为植物生长的养分库, 其成分的含量和变化都会影响到橘红的生理代谢过程及体内各种药用化合物的合成和变化<sup>[25]</sup>; 另一方面, 气候也是影响橘红生长的一个重要因素, 气候条件若发生较大的变化, 会直接影响到橘红的生长发育<sup>[26]</sup>, 进而影响其化学成分的含量。作为道地中药材, 橘红的价值还是体现在其化学成分上, 如何保证化橘红果实的质量和化学成分的含量始终贯穿着整个生产过程<sup>[27]</sup>, 让橘红在整个生长周期中保持果实健康发育, 提高化学成分含量才是橘红产业蓬勃发展和保持竞争力的第一要务。作为橘红的道地产区, 对化州各个种植区的橘红种质进行鉴定, 以当地高质量的橘红产品作为各项指标的标准, 可为其他橘红产区提供一个模板和参考, 从而促进其橘红产品的质量提升以及产业发展; 此外, 通过合适的鉴别方法, 各橘红产区也可对当地橘红产品进行各项指标的检验和对比, 如定期观察物候期、测定各项植物学性状指标和化学成分的含量变化等, 并根据所测定的结果为之后的产业化种植制定更详细的计划, 这将有利于整个橘红产业更长远、更健康地发展。

## 参考文献

- [1] 李润唐, 李映志, 旺永保, 余庆, 李映辉. 中药化橘红原料化州柚种质资源初步研究[J]. 中国南方果树, 2012, 4(41): 53-55.  
LI R T, LI Y Z, WANG Y B, YU Q, LI Y H. The research on germplasm resources of exocarpium citri grandis which is a kind of Chinese medicine ingredients[J]. South China Fruits, 2012, 4(41): 53-55. (in Chinese)
- [2] 游娜. 化橘红产业“医”点红[J]. 中国林业产业, 2018(9): 14-15.  
YOU N. Orange peel industry “medicine” points red[J]. China Forestry Industry, 2018(9): 14-15. (in Chinese)
- [3] 邓锋, 莫结丽, 陈浩桢. 采用 ISSR 分子标记法鉴别道地药材化橘红[J]. 广东药学院学报, 2009, 25(5): 455-458.  
DENG F, MO J L, CHEN H A. Identification of exocarpium citri grandis by inter-simple sequence repeat markers[J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical University, 2009, 25(5): 455-458. (in Chinese)
- [4] 广东省质量技术监督局. 地理标志产品 化橘红: DB44/T 615—2017[S]. 化州: 化州市技术监督协会, 2017.  
Guangdong Provincial Bureau of Quality and Technical Supervision. Product of geographical indication—citri grandis exocarpium: DB44/T 615—2017[S]. Huazhou: Huazhou Technical Supervision Association, 2017. (in Chinese)
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 24.  
The Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the people's Republic of China[M]. Beijing: The Medicine Science and Technology Press of China, 2015: 24. (in Chinese)
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典四部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 232  
The Chinese Pharmacopoeia Commission. Four Pharmacopoeia of the people's Republic of China[M]. Beijing: The Medicine Science and Technology Press of China, 2020: 232. (in Chinese)
- [7] 张静芳, 王平, 谢倩, 倪玉洁, 闫梅. 33 份“红橘”种质资源的 ISSR 分析[J]. 分子植物育种, 2020, 18(9): 2969-2976.  
ZHANG J F, WANG P, XIE Q, NI Y J, YAN M. The ISSR analysis of 33 “red tangerine” germplasm[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(9): 2969-2976. (in Chinese)
- [8] 赵依杰, 林丽霞, 姚立萍, 骆志坚, 胡章琼. 福州地区柑橘种质资源的 ISSR 分析[J]. 农学学报, 2020, 10(1): 72-76.  
ZHAO Y J, LIN L X, YAO L P, LUO Z J, HU Z Q. Genetic analysis of *Citrus* germplasm resources in Fujian by ISSR markers[J]. Journal of Agronomy, 2020, 10(1): 72-76. (in Chinese)
- [9] 燕佳文, 武晓晓, 唐艳, 陈传武, 邓崇岭. 基于 SRAP 分子标记的 11 份柑橘种质材料遗传多样性分析[J]. 分子植物育种, 2021, 19(2): 664-671.  
YAN J W, WU X X, TANG Y, CHEN C W, DENG C L. Analysis of genetic diversity of 11 *Citrus* germplasm resources by SRAP molecular markers[J]. Molecular Plant Breeding, 2021, 19(2): 664-671. (in Chinese)
- [10] 李润唐, 李映志, 张映南, 陈端, 谢春生. 化橘红种质资源的植物学性状观察[J]. 广东农业科学, 2010, 37(8): 43-44.  
LI R T, LI Y Z, ZHANG Y N, CHEN D, XIE C S. Observation on botanical characters of *Citrus grandis* germplasm resources[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2010, 37(8): 43-44. (in Chinese)
- [11] 曹征, 陈国军, 何春玲, 曾祥有. 化州市化橘红种质资源主成分分析和聚类分析[J]. 中国农学通报, 2021, 37(10): 77-83.  
CAO Z, CHEN G J, HE C L, ZENG X Y. Principal component analysis and cluster analysis of *Citri grandis* exocarpium germplasm resources in Huazhou[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2021, 37(10): 77-83. (in Chinese)
- [12] 李琼霞, 黎晓欣, 谢承恩, 廖辉. 不同直径化橘红果实中柚皮苷含量的比较[J]. 中国当代医药, 2018, 25(27): 38-41.  
LI Q X, LI X X, XIE C E, LIAO H. Comparison of naringin content in exocarpium citri grandis fruits at different diameters[J]. Contemporary Medicine of China, 2018, 25(27): 38-41. (in Chinese)
- [13] ZENG X, SU W W, ZHENG Y Y, HONG L, LI P L, ZHANG W J, LIANG Y T, BAI Y, PENG W, YAO H L. UFLC-Q-TOF-MS/MS-based screening and identification of flavonoids and derived metabolites in human urine after oral administration of exocarpium citri grandis extract[J]. Molecules, 2018, 23(4): 895.
- [14] 张刊, 张双双, 张百霞. 化橘红黄酮类化学成分研究进展[J]. 医学研究与教育, 2017, 34(5): 60-65.  
ZHANG K, ZHANG S S, ZHANG B X. Research progress of flavonoids chemical composition in citri grandis exocarpium[J]. Medical Research and Education, 2017, 34(5): 60-65. (in Chinese)
- [15] 黄剑波, 董华强, 张英慧. 化州不同产区化橘红道地性差异 HPLC 分析[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(2): 428-429, 454.  
HUANG J B, DONG H Q, ZHANG Y H. Analysis on genuineness differences of exocarpium *Citrus grandis* from different area in Huazhou by HPLC[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2013, 52(2): 428-429, 454. (in Chinese)
- [16] 黄兰珍, 梁照恒, 林励, 高道侠, 欧剑锋. 不同炮制方法对化橘红中柚皮苷含量的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2005, 16(1): 59-61.  
HUANG L Z, LIANG Z H, LIN L, GAO D X, OU J F. Influences of different processing technique on the content of

- naringin in exocarpium citri grandis[J]. Traditional Chinese Drug Research and Clinical Pharmacology, 2005, 16(1): 59-61. (in Chinese)
- [17] 谢苗苗. 广西化橘红产区生产条件分析及其发展对策[D]. 南宁: 广西大学, 2018.  
XIE M M. Analysis of the production condition and development countermeasures in the production area of Guangxi citri grandis exocarpim[D]. Nanning: Guangxi University, 2018. (in Chinese)
- [18] 杨迎花. 利用 SRAP 标记对湖南柚资源遗传多样性的分析[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2009.  
YANG Y H. The development of SRAP marker and identification of pummelo germplasm diversity in Hunan[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2009. (in Chinese)
- [19] 田静, 庞一波, 陈嘉景, 袁子彧, 曾继吾, 徐娟. 化州柚种质资源的 SSR 分析及其果实不同发育期柚皮苷含量变化[J]. 华中农业大学学报, 2019, 38(5): 64-70.  
TIAN J, PANG Y B, CHEN J J, YUAN Z Y, ZENG J W, XU J. SSR analysis of germplasm resources and changes of naringin content at different developmental stages of *Citrus grandis* 'Tomentosa' fruit[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2019, 38(5): 64-70. (in Chinese)
- [20] 陈俊颖. 化橘红的品牌建设研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2018.  
CHEN J Y. Study on the brand construction of exocarpium citri grandis[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2018. (in Chinese)
- [21] 梁小静. 茂名市化橘红地理标志的品牌提升研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2021.  
LIANG X J. Study on brand promotion of citri grandis exocarpim geographical indication in Maoming[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2021. (in Chinese)
- [22] 胡珊, 杨志业, 邬龙怡, 李华, 计周正. 利用 ISSR 分子标记的特征条带鉴别正毛化橘红[J]. 中国现代中药, 2018, 20(6): 663-668.  
HU S, YANG Z Y, WU L Y, LI H, JI Z Z. Identification of Zhengmao citri grandis exocarpium by ISSR molecular markers[J]. Modern Chinese Medicine, 2018, 20(6): 663-668. (in Chinese)
- [23] 王晓峰. 基于化学成分分析的广西化橘红种植适宜性研究[D]. 南宁: 广西大学, 2018.  
WANG X F. Study on the suitability of citri grandis exocarpium planting in Guangxi based on chemical composition analysis[D]. Nanning: Guangxi University, 2018. (in Chinese)
- [24] 钟继洪, 林兰稳, 谭军, 林励, 黄兰珍. 化橘红产地土壤与幼果的重金属研究[J]. 中药材, 2005(5): 361-364.  
ZHONG J H, LIN L W, TAN J, LIN L, HUANG L Z. Study on heavy metals in growing area soils and young fruit of *Citrus grandis* 'Tomentosa'[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2005(5): 361-364. (in Chinese)
- [25] 杨晖, 陈四清. 道地药材的环境影响及保护和发展[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(8): 1971-1972.  
YANG H, CHEN S Q. The influences of environment and the protection and development of genuine medicinal materials[J]. Shizhen Journal of Traditional Chinese Medicine Research, 2015, 26(8): 1971-1972. (in Chinese)
- [26] 陈冰, 宋祖钦, 彭荣南, 何泽华, 李东萍. 化橘红始花期与气象因子的相关分析及预报模型[J]. 中国农学通报, 2019, 35(10): 104-107.  
CHEN B, SONG Z Q, PENG R N, HE Z H, LI D P. Correlation analysis and prediction model of *Citrus grandis* 'Tomentosa' initial flowering period and meteorological factors[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2019, 35(10): 104-107. (in Chinese)
- [27] 岑庆源, 郑明涛, 董汉武, 雷炳富. 道地化橘红产业发展现状及品质调控展望[J]. 广州化工, 2021, 49(5): 33-37.  
CEN Q Y, ZHENG M T, DONG H W, LEI B F. Development status and quality control prospect of genuine citri grandis exocarpium industry[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2021, 49(5): 33-37. (in Chinese)