

南丰蜜橘无核成因的研究

余 杨¹, 王 微¹, 杨晓伶^{1,*}, 曾知富², 李跃进³, 李 珊¹, 朱云国¹

(¹ 同济大学生命科学与技术学院, 上海 200092; ² 江西省抚州市果业局, 江西抚州 344000; ³ 江西省南丰县蜜橘产业局, 江西南丰 344500)

摘 要: 观察和分析南丰蜜橘 [*Citrus reticulata* Blanco var. *kinokuni* (Tanaka) H. H. Hu] 的花粉育性、成熟胚囊结构以及胚胎发育情况, 探讨其产生无核现象的原因。结果表明: 南丰蜜橘的花粉具有一定的生活力和萌发率, 属于中育性花粉; 南丰蜜橘胚囊发育正常; 授粉 4 周后大部分合子胚发育停滞并且出现败育迹象; 饱满种子在授粉 8 周后胚发育到心形胚阶段时, 部分种子的胚乳开始瓦解, 到授粉 16 周后退化形成瘪籽和痕迹, 另一部分发育成正常种子和充满胚乳的饱满种子; 到成熟期时, 小果系、早熟系南丰蜜橘种子全部退化, 大果系南丰蜜橘种子大部退化, 形成无核果实。胚胎早期败育是南丰蜜橘无核的主要原因。

关键词: 柑橘; 南丰蜜橘; 花粉育性; 胚囊发育; 胚胎发育

中图分类号: S 666

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) 04-0631-06

Causes of Seedless Forming of Nanfeng Tangerine

YU Yang¹, WANG Wei¹, YANG Xiao-ling^{1,*}, ZENG Zhi-fu², LI Yue-jin³, LI Shan¹, and ZHU Yun-guo¹

(¹ College of Life Science and Technology, Tongji University, Shanghai 200092, China; ² Fruit Industry Bureau, Fuzhou, Jiangxi 344000, China; ³ Miju Industry Bureau, Nanfeng, Jiangxi 344500, China)

Abstract: Nanfeng tangerine [*Citrus reticulata* Blanco var. *Kinokuni* (Tanaka) H. H. Hu] was used for studying its seedless forming causes based on the observation of pollen fertility, embryo sac development, and embryonic development. The results showed that the pollen fertility of Nanfeng tangerine belongs to the medium fertility pattern. The mature embryo sac of the Nanfeng tangerine was normal. Most of zygotic embryo stopped growing and began to abortion at 4 weeks after pollination. Some plump seed endosperm began to collapse when the embryo developed into heart-shaped embryo at 8 weeks after pollination, and formed empty-seed and degenerated seeds with funiculi could be observed until 16 weeks after pollination. Another plump seeds developed into normal seeds or plump seeds which filled with endosperm but abnormal embryo. All seeds of Xiaoguo Nanfeng and Zaoshu Nanfeng and most seeds of Daguo Nanfeng were degraded in mature fruit. It is hence proved that embryo degeneration is responsible for the seedless of Nanfeng tangerine.

Key words: citrus; Nanfeng tangerine; pollen fertility; embryo sac development; embryonic development

收稿日期: 2010-12-27; 修回日期: 2011-02-28

基金项目: 教育部留学回国人员科研启动基金项目

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: yangxl@tongji.edu.cn)

南丰蜜橘 [*Citrus reticulata* Blanco var. *kinokuni* (Tanaka) H. H. Hu] 是江西省名优地方品种, 其果小味甜, 已有 1300 年的栽培历史。该品种被引种到日本, 通过培育形成了品种众多的日本纪州蜜柑家族 (佐藤公一, 1972)。南丰蜜橘是宽皮柑橘中少有的单胚品种, 是克服多胚干扰进行无核育种的良好材料。目前根据果形大小、成熟期的早晚从传统的小果中熟型南丰蜜橘中选育出了大果中熟型南丰蜜橘和小果早熟型南丰蜜橘。然而对于南丰蜜橘的无核机理还缺乏深入的研究, 在生产上区分出的 3 个品系在无核特性方面是否存在差异, 还没有明确的结论。

柑橘的无核可由多种成因引起 (Vardi et al., 2008), 雄性不育 (Hu et al., 2007) 或雌性不育 (Yamamoto & Tominaga, 2002)、胚胎败育 (Yamasaki et al., 2009)、雌配子退化 (吕柳新和陈桂信, 1997)、自交不亲和 (Ye et al., 2009)、多倍体 (伊华林和邓秀新, 1998) 等都有可能导致柑橘无核。无核纪州蜜柑的胚珠在授粉后 4~8 周内 40%~50% 的胚发生败育, 剩余胚珠中胚乳不发育, 产生不能发育的缺少胚乳的种子, 称 A 型种子 (Yamasaki et al., 2009)。

本研究以南丰蜜橘 3 个品系为材料, 从花粉育性、胚囊发育、种子发育 3 个方面探讨南丰蜜橘产生无核现象的原因。

1 材料与方法

于 2008 年 3 月在江西省抚州市南丰县望天南丰蜜橘标准化示范基地, 选取南丰蜜橘大果系、小果系、早熟系和红橘为试验材料。

花粉生活力测定: 在盛花期采集新鲜含苞待放的花蕾, 每个品系采 20 朵, 置于干燥器内让其自然散粉。花粉活力采用 0.5% 醋酸洋红染色 5 min 后观察被染成红色的花粉占整个花粉数的百分率, 每个材料观察 1 000 个以上花粉粒。利用 SPSS 软件进行数据显著性分析。

花粉萌发率测定: 采用悬滴培养法 (曾燕如 等, 2005), 萌发培养基为 0.8% 琼脂 + 16% 蔗糖 + $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 硼酸, 将播种有花粉的载玻片放在铺有吸水纸的培养皿中, 盖住保湿, 28°C 培养 24 h 左右, 以花粉管超过花粉直径为花粉发芽的直观标志。每处理 5 个重复, 每个重复 10 个视野, 统计萌发率。

胚囊及种子发育的观察: 从 2008 年 3 月开始, 在开花期取花蕾, 在自交与杂交授粉后 4、8、16 周取幼果。将开花期花蕾和授粉 4 周幼果子房材料浸于 FAA 固定液 (甲醛: 乙酸: 乙醇 = 1: 1: 8) 带回, 固定 24 h, 梯度乙醇浸洗后, 置 70% 乙醇中低温 (4°C) 保存备用。常规石蜡切片法步骤: 整染、冲水返蓝、梯度脱水、二甲苯透明、浸蜡和包埋, 低温 (4°C) 保存备用。用旋转式切片机 (AO820, 美国) 进行切片, 切片厚度 $6 \sim 8 \mu\text{m}$, 二甲苯脱蜡, 中性树胶封片, 观察拍照。对花蕾和授粉后 4 周材料的整个子房进行石蜡切片观察。将授粉后 8 周材料的种子挑出, 对种子进行石蜡切片观察。对授粉后 16 周和成熟期果实中的种子数量进行调查。

杂交和自交处理: 采用红橘花粉对南丰蜜橘 3 个品系进行杂交, 同时以各个品系自交作为对照, 一共 3 组 6 个组合。在授粉后 4、8、16 周以及果实成熟时, 随机取 10 个果实对这些组合的种子发育情况和数量进行跟踪调查。

2 结果与分析

2.1 南丰蜜橘花粉生活力和发芽率调查结果

观察发现, 南丰蜜橘 3 个品系间花粉生活力和萌发率没有显著差异, 但均显著低于红橘 (表 1)。

南丰蜜橘花粉萌发率虽较低，但具有较高的活力，属中育型。

表 1 南丰蜜橘和红橘花粉活力和萌发率的比较
Table 1 Germination rate and pollen viability between ‘Nanfeng’ tangerine and ‘Hongju’

品种 Cultivar	花粉活力 Pollen viability			花粉萌发率 Germinating frequency of pollen		
	花粉粒数 Number of pollen	着色花粉粒数 Number of colored pollen	花粉活力/% Viable pollen rate	花粉粒数 Number of pollen	萌发花粉粒数 Number of germinating pollen	花粉萌发率/% Germination rate
大果南丰 Daguo Nanfeng	1 822	1 208	70.25 b	927	98	10.57 b
小果南丰 Xiaoguo Nanfeng	1 127	890	78.97 b	733	105	14.32 b
早熟南丰 Zaoshu Nanfeng	1 672	1 092	65.31 b	1 373	141	10.27 b
红橘 Hongju	1 573	1 374	89.39 a	601	148	24.63 a

注：不同小写字母表示 Duncan’s 新复极差检验 5%水平。
Note: Different small letters indicate significance at $\alpha = 0.05$ by Duncan’s test.

2.2 南丰蜜橘胚珠与胚囊发育观察结果

南丰蜜橘子房上位，通常 9 ~ 10 室，每室 0 ~ 3 个胚珠，胚珠倒生。统计花朵开放当天材料中胚囊的所处不同发育阶段的胚珠所占的比例，发现花朵开放时 60% ~ 70%胚囊发育处于减数分裂时期（表 2），胚囊结构正常，发育良好。

表 2 南丰蜜橘开花期胚囊发育阶段统计
Table 2 Embryo development stage and average of embryo ratio between ‘Nanfeng’ tangerine

品种 Cultivar	大孢子母细胞 Megaspore mother cell	四分体 Tetrad stage	二核、四核胚囊 2,4-nucleate stage	观察的胚珠总数 Total number of the observed integument
大果南丰 Daguo Nanfeng	77 (22.58%)	214 (62.76%)	50 (14.66%)	341
小果南丰 Xiaoguo Nanfeng	50 (20.92%)	155 (64.82%)	34 (14.23%)	239
早熟南丰 Zaoshu Nanfeng	73 (20.28%)	250 (69.44%)	37 (10.28%)	360

注：括号内数字表示比例。
Note: Data in blankets present proportion.

授粉后 4 周，南丰蜜橘自交、杂交组合中多数胚发育迟缓，停滞于合子胚阶段（图版，1、2）。同时，一部分合子胚胚囊瓦解，出现空泡，周围珠心组织也彼此分离形成空腔（图版，3、4）。

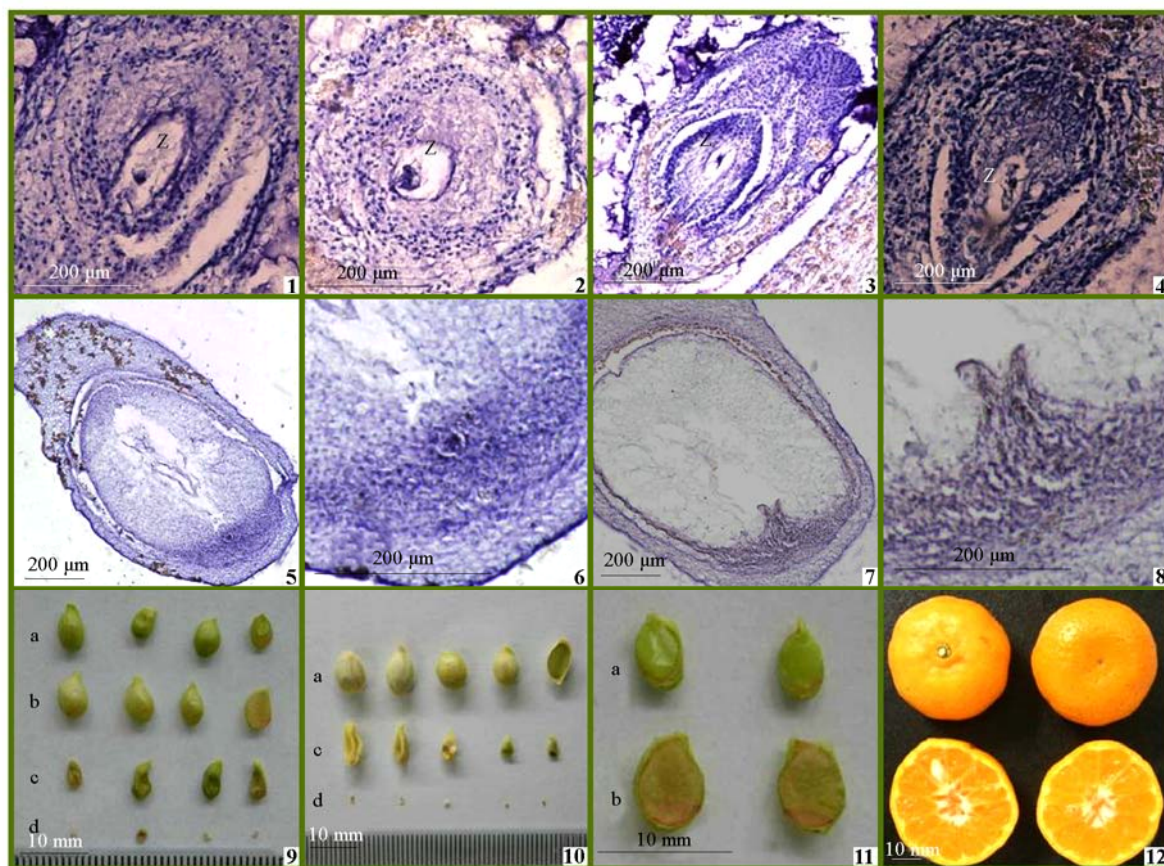
取授粉后 8 周后的南丰蜜橘果实中的饱满种子进行切片观察，发现大部分合子胚的发育停滞于球形胚、心形胚阶段（图版，6、8），胚乳开始瓦解，出现明显空泡（图版，5、7），只有少数种子正常发育。

取授粉后 16 周的幼果，可以观察到发育饱满的种子、瘪籽和种子退化痕迹，其中饱满种子每果约 2 ~ 6 粒。这些外形饱满的种子可分为两种类型，一类是胚发育正常，有绿色子叶的种子，另一类是胚消失，充满半透明胚乳的种子。一般胚败育的种子常常形成瘪籽，而南丰蜜橘中发现的胚败育种子是饱满的，这里将其命名为 B 型种子（图版，9、11）。

对成熟果实进行调查，南丰蜜橘自交和杂交各组合都有饱满种子、瘪籽和种子退化痕迹。对所有发育饱满种子的检查发现，这些种子的胚和子叶均发育完整，没有 B 型种子（图版，10、12）。

统计南丰蜜橘自交和杂交组合在各个发育阶段的种子数量（表 3）发现，各个自交组合种子数变化趋势一致，在 4 周到 8 周间每果平均种子数下降幅度很大，而在 8 周以后种子败育程度明显减

少。比照 16 周和果实成熟时可育种子数量可以发现,可育种子数量在这个阶段几乎不变,这一阶段每果平均种子数的减少主要是由于 B 型种子的退化消失造成。在南丰蜜橘三品系与红橘杂交的组合中,相比自交各组合 4 周到 8 周间种子的败育程度显著减小。比较授粉后 16 周自交和杂交产生的 B 型种子和可育种子数量,自交组有 15.74% ~ 16.80% 的胚珠发育为 B 型种子,杂交组为 9.68% ~ 14.86%。自交组和杂交组 B 型种子数量没有显著性差异,而杂交组每果可育种子数量显著高于自交组。



图版说明:

1、2: 小果型南丰蜜橘自交组、杂交组授粉 4 周后尚未发育的合子胚; 3、4: 小果型南丰蜜橘自交组、杂交组授粉 4 周后, 发生败育的合子胚; 5: 小果南丰自交组授粉后 8 周种子, 其中胚乳部分出现空泡; 6: 小果南丰蜜橘自交组授粉 8 周后种子中的球形胚; 7: 小果型南丰蜜橘杂交组授粉 8 周后的饱满种子, 胚乳从内部瓦解, 出现空泡; 8: 小果型南丰蜜橘杂交组授粉 8 周后的饱满种子中出现的心形胚; 9: 小果南丰蜜橘自交组授粉后 16 周种子的形态; 10: 小果南丰蜜橘自交组成熟果实中种子的形态, 成熟果实中没有 B 型种子; 11: 小果南丰蜜橘自交组授粉后 16 周小果南丰中发现的正常种子和 B 型种子; 12: 小果南丰蜜橘自交组果实。Z: 合子胚; a: 正常种子; b: B 型种子; c: 瘪籽; d: 种子退化痕迹。

Explanation of plates:

1, 2: Zygotic development of 'Xiaoguo Nanfeng' 4 weeks after self-pollination and cross-pollination; 3, 4: Abortive zygote of 'Xiaoguo Nanfeng' 4 weeks after self-pollination and cross-pollination; 5: Abortive endosperm of 'Xiaoguo Nanfeng' 8 weeks after self-pollination; 6: Globular embryo of 'Xiaoguo Nanfeng' 8 weeks after self-pollination; 7: Abortive endosperm of 'Xiaoguo Nanfeng' 8 weeks after cross-pollination; 8: Heart-shaped embryo of 'Xiaoguo Nanfeng' 8 weeks after cross-pollination; 9: The seed's shape of Xiaoguo Nanfeng 16 weeks after self-pollination; 10: The seed's shape of mature fruit of Xiaoguo Nanfeng, type B seeds are not found in mature fruit; 11: Perfect seed and type B seed in 16 weeks after self-pollination of Xiaoguo Nanfeng; 12: Fruit of Xiaoguo Nanfeng. Z: Zygote; a: Normal seed; b: Type B seed; c: Empty-seed; d: Degenerated seeds with funiculi.

表 3 南丰蜜橘自交和杂交组平均每果种子数的变化

Table 3 Average seed number per fruit in process of fruit development of self and cross pollination of Nanfeng tangerine

配组合 Crossing combinations	授粉后 4 周 Four weeks after pollination	授粉后 8 周 Eight weeks after pollination	授粉后 16 周 Sixteen weeks after pollination			成熟果实 Mature fruit	
			可育种子 normal seed	B 型种子 Type B seed	Y/ %	可育种子 Normal seed	B 型种子 Type B seed
小果南丰⊗ Xiaoguo Nanfeng⊗	10.8 ± 2.8 d	1.3 ± 1.8 b (87.96)	0.3 ± 0.7 c (97.22)	1.7 ± 1.3 a	15.74	0.1 ± 0.3 d (99.07)	0
小果南丰 × 红橘 Xiaoguo Nanfeng × Hongju	14.8 ± 1.5 bcd	7.5 ± 1.9 a (49.32)	4.1 ± 1.2 a (72.30)	2.2 ± 1.1 a	14.86	3.8 ± 1.0 a (74.32)	0
早熟南丰⊗ Zaoshu Nanfeng⊗	12.5 ± 1.4 cd	2.7 ± 2.7 b (78.40)	0.2 ± 0.4 c (98.40)	2.1 ± 2.1 a	16.80	0.3 ± 0.7 d (97.60)	0
早熟南丰 × 红橘 Zaoshu Nanfeng × Hongju	15.5 ± 2.1 ab	7.7 ± 3.0 a (50.32)	1.9 ± 1.0 b (87.74)	1.5 ± 1.7 a	9.68	2.1 ± 0.7 bc (86.45)	0
大果南丰⊗ Daguo Nanfeng⊗	12.5 ± 2.3 cd	3.8 ± 1.0 b (69.60)	1.5 ± 1.1 b (88.00)	2.0 ± 1.8 a	16.00	1.4 ± 1.0 c (88.80)	0
大果南丰 × 红橘 Daguo Nanfeng × Hongju	17.8 ± 2.2 a	8.3 ± 2.0 a (53.37)	2.4 ± 1.9 b (86.52)	1.8 ± 1.3 a	10.11	2.9 ± 1.8 ab (83.71)	0

注：括号内数字表示败育率。不同小写字母表示 Duncan's 新复极差检验 5%水平。Y: B 型种子占相对授粉后 4 周的种子的比率。

Note: Data in blankets present proportion. Different small letters indicate significant at $\alpha = 0.05$ by Duncan's test. Y: Ratio of the type B seed at 4 weeks after pollination.

3 讨论

柑橘的雄性不育通常指的是花粉败育，它是造成柑橘无核的一个重要原因。在本研究中，花粉活力、萌发率显示南丰蜜橘具有正常的花药和花粉。采用花粉活力、萌发率显著高于南丰蜜橘的红橘和南丰蜜橘进行杂交，发现杂交各组成熟果实中正常种子数量有显著提高。这说明南丰蜜橘花粉育性不高是其无核现象的原因之一。

胚胎败育也是柑橘无核的重要原因，表现为雌雄蕊发育正常，亦能进行授粉受精，由于发生了致死遗传变异，胚中途死亡而形成无核果实。如芦柑（陈大成 等，1998）、吉首少核沙田柚（陈建业 等，2002）、无核贡柑（王平 等，2009）、无核雪柑（王玉玲 等，2008）等无核或少核品种均由胚胎中途败育引起。在本研究中，从授粉后 4 周到 8 周，自交组 69.60%~87.96%胚珠败育的胚珠退化消失，这说明胚胎早期败育是导致南丰蜜橘无核的主要原因。

采用红橘花粉对南丰蜜橘杂交和南丰蜜橘同品系自交在授粉后 16 周时的 B 型种子数量没有显著差异，说明 B 型种子的数量与花粉育性无关。同时，在各个组合成熟果实中正常种子数量与授粉 16 周时没有变化，而 B 型种子全部消失，提示 B 型种子的退化主要发生在授粉 16 周以后。一些胚中途败育的植物（姚家琳 等，2000；王跃进 等，2007）胚乳往往先于胚发生败育，胚由于失去胚乳的营养供给而继发败育。而南丰蜜橘 B 型种子的胚先于胚乳败育，其胚乳在胚停滞发育的情况下，发育并充满了整个胚珠，在授粉 8 周以后开始败育。这种胚先于胚乳败育的现象与无核贡柑相似（王平 等，2009），但为什么在胚发育停滞的情况下 B 型种子的胚乳依然能够继续发育，其原因还有待进一步的研究。

虽然南丰蜜橘大果系、早熟系均从小果系中选育得到（李祖鑫 等，1991；李祖鑫和葛斌，1993），但本研究中南丰蜜橘大果系 1.5 粒种子显著高于小果南丰（0.1 粒）和早熟南丰（0.3 粒）的种子数。可见，3 个南丰蜜橘品系在种子数量上已产生差异，这与实际生产经验一致。同时，对 3 个品系授以红橘花粉后成熟果中种子平均数进行比较，发现小果南丰对高活力的花粉亲和力更强，达到平均每果 3.8 粒，这提示小果南丰蜜橘更适宜作为杂交育种的亲本。

References

- Chen Da-cheng, Li Zhi-yong, Hu Gui-bing. 1998. Studies on seedless mechanism in 'TAYI' seedless ponkan (*Citrus reticulata*). Journal of South China Agricultural University, 19 (2): 36 - 40. (in Chinese)
- 陈大成, 李志勇, 胡桂兵. 1998. '塔 1' 芦柑无核机理探讨. 华南农业大学学报, 19 (2): 36 - 40.
- Chen Jian-ye, Shi Xue-hui, Xiang Hong-cui, Chen Zu-yu, Zhang Lin-jun, Shi Yuan-gui, Yang Chun-hua, Wu Yu-zhou. 2002. Seedless mechanism of Jishou Shatianyou (*Citrus grandis* Osbeck) I. The seedless cause and fruit quality of Jishou Shatianyou. Journal of Hunan Agricultural University, 24 (1): 176 - 182. (in Chinese)
- 陈建业, 石雪晖, 向宏翠, 陈祖玉, 张林军, 石元贵, 杨春华, 吴玉周. 2002. 吉首沙田柚少核机理研究 I. 吉首沙田柚少核原因及其果实品质初探. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 24 (1): 176 - 182.
- Hu Zhi-yong, Zhang Min, Wen Qi-nen, wei Jie, Yi Hua-lin, Deng Xiu-xin, Xu Xiang-hua. 2007. Abnormal microspore development leads to pollen abortion in a seedless mutant of 'Ougan' mandarin (*Citrus suavisissima* Hort. ex Tanaka). Journal of the American Society for Horticultural Science, 132: 777 - 782.
- Lü Liu-xin, Chen Gui-xin. 1997. Genesis and developments of megaspore and nucellar embryo in Jiaogan. Journal of Fujian Agricultural University, 26 (4): 397 - 400. (in Chinese)
- 吕柳新, 陈桂信. 1997. 蕉柑大孢子与珠心胚的发生发育. 福建农业大学学报, 26 (4): 397 - 400.
- Li Zu-xin, Ge Bin. 1993. Breeding of Daguo Nanfeng. South China Fruits, 22 (3): 14. (in Chinese)
- 李祖鑫, 葛 斌. 1993. 大果系南丰蜜橘的选种. 中国柑桔, 22 (3): 14.
- Li Zu-xin, Ge Bin, Zeng Lang, Wang Ze-yi. 1991. Breeding of precocity Nanfeng Miju. South China Fruits, 20 (3): 16. (in Chinese)
- 李祖鑫, 葛 斌, 曾 朗, 王泽义. 1991. 特早熟南丰蜜橘营养系选种初探. 中国柑桔, 20 (3): 16.
- Sato Koichi. 1972. Fruit gardening dictionary. Tokyo: Yokendo. (in Japanese)
- 佐藤公一. 1972. 果树园艺大辞典. 东京: 养贤堂.
- Vardi A, Levin I, Carmi N. 2008. Induction of seedlessness in citrus: From classical techniques to emerging biotechnological approaches. Journal of the American Society for Horticultural Science, 133: 117 - 126.
- Wang Ping, Tang Xiao-lang, Wu Wen, Ma Pei-qia, Chen Jie-zhong, Huang Yong-jing. 2009. Seedless mechanism of citrus 'Seedless Gonggan'. Chinese Journal of Tropical Crops, 30 (7): 965 - 969. (in Chinese)
- 王 平, 唐小浪, 吴 文, 马培恰, 陈杰忠, 黄永敬. 2009. '无核贡柑'的无核机理. 热带作物学报, 30 (7): 965 - 969.
- Wang Yu-ling, Chen Qing-xi, Su Hai-lan. 2008. Anatomic observation of the embryo development in Wuhexuegan and Xuegan after self-breeding or cross-breeding. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University: Natural Science Edition, 37 (2): 145 - 149. (in Chinese)
- 王玉玲, 陈清西, 苏海兰. 2008. 无核雪柑与普通雪柑自交或杂交后种胚发育的解剖学观察. 福建农林大学学报: 自然科学版, 37 (2): 145 - 149.
- Wang Yue-jin, Jiang Shu-ping, Liu Xiao-ning, Zhang Jian-xia. 2007. Mechanism of embryo abortion in stenopermocarpic seedless grape. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 27 (10): 1987 - 1993. (in Chinese)
- 王跃进, 江淑平, 刘小宁, 张剑侠. 2007. 假单性结实无核葡萄胚败育机理研究. 西北植物学报, 27 (10): 1987 - 1993.
- Yao Jia-lin, Fu Chun-hua, Hu Chun-gen. 2000. Abnormal phenomena during embryo development in *Prunus salicina*. Journal of Huazhong Agricultural University, 19 (1): 71 - 73. (in Chinese)
- 姚家琳, 付春华, 胡春根. 2000. 李胚胎发育败育现象的研究. 华中农业大学学报, 19 (1): 71 - 73.
- Yamamoto M, Tominaga S. 2002. Relationship between seedlessness of keraji (*Citrus keraji* hort. ex Tanaka) and female sterility and self-incompatibility. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 71: 183 - 186.
- Yamasaki A, Kitajima A, Ohara N, Tanaka M, Hasegawa K. 2009. Characteristics of arrested seeds in Mukaku Kishu-type seedless citrus. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 78 (1): 61 - 67.
- Ye Wei-jia, Qin Yong-hua, Ye Zi-xing, Jaime A, Teixeira da Silva, Zhang Ling-xiao, Wu Xiao-ying, Lin Shun-quan, Hu Gui-bing. 2009. Seedless mechanism of a new mandarin cultivar 'Wuzhisatangju' (*Citrus reticulata* Blanco). Plant Science, 177: 19 - 27.
- Yi Hua-lin, Deng Xiu-xin. 1998. A study of culture of citrus triploid plantlets. Journal of Fruit Science, 15: 212 - 216. (in Chinese)
- 伊华林, 邓秀新. 1998. 培养三倍体柑桔植株的研究. 果树科学, 15: 212 - 216.
- Zeng Yan-ru, Zhang Lian-bing, Si Jin-ping, Xu Xiang-hua. 2005. Preliminary study on seedlessness of seedless Ougan. Journal of Zhejiang Forestry College, 22 (4): 359 - 362. (in Chinese)
- 曾燕如, 张炼炳, 斯金平, 徐象华. 2005. 无籽瓯柑无核原因的研究. 浙江林学院学报, 22 (4): 359 - 362.