

嫁接嵌合体‘早红’脐橙果实细胞来源鉴定及其糖酸和香气物质分析

吴巨勋¹, 肖慧玲², 王小花¹, 伊华林^{1,*}

(¹ 华中农业大学园艺林学学院, 园艺植物生物学教育部重点实验室, 武汉 430070; ² 湖北工程学院城市建设学院, 湖北孝感 432000)

摘 要: ‘早红’脐橙 [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck + *C. unshiu* Marc.] 是来自 ‘罗伯逊’脐橙 [*C. sinensis* (L.) Osbeck] 和 ‘国庆1号’温州蜜柑 (*C. unshiu* Marc.) 的嫁接嵌合体。采用 SSR 和 CpSSR 分子标记分析了 ‘早红’脐橙的叶片、汁胞、囊瓣壁和白皮层的细胞来源, 采用气相色谱 (GC) 和顶空固相微萃取—气质联用 (HS-SPME-GC-MS) 的方法测定了 ‘早红’脐橙及其两个嫁接亲本的可溶性糖和有机酸含量, 以及果皮和果肉的香气物质。结果表明, ‘早红’脐橙汁胞和囊瓣壁中均含有两个亲本的遗传物质, 果肉中的有机酸含量显著低于两个亲本, 果皮中的香气物质与 ‘罗伯逊’脐橙果皮基本一致, 但是果肉中的香气物质与两个亲本都不尽相同。

关键词: 脐橙; 嫁接嵌合体; SSR; CpSSR; 可溶性糖; 有机酸; 香气

中图分类号: S 666

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2014) 10-1993-08

Identification of Fruit Cell Source of Graft Chimera ‘Zaohong’ Navel Orange and Analysis of Soluble Sugars, Organic Acids and Aromas of Fruit

WU Ju-xun¹, XIAO Hui-ling², WANG Xiao-hua¹, and YI Hua-lin^{1,*}

(¹ College of Horticulture and Forestry Science, Huazhong Agricultural University, the Education Ministry Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Wuhan 430070, China; ² College of Urban Construction, Hubei Engineering University, Xiaogan, Hubei 432000, China)

Abstract: ‘Zaohong’ navel orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck + *C. unshiu* Marc.] is a graft chimera from ‘Robertson’ navel orange [*C. sinensis* (L.) Osbeck] and ‘Guoqing 1’ satsuma mandarin (*C. unshiu* Marc.). The cell sources of leaf, juice sac, segment wall and albedo of ‘Zaohong’ navel orange were analyzed using SSR and CpSSR. Gas chromatography (GC) and headspace solid-phase microextraction - GC - MS (HS - SPME - GC - MS) were used to measure the content of soluble sugars and organic acids in the pulps of ‘Zaohong’ navel orange and its grafting parents, and aromas in the peels and pulps of these three materials, respectively. Results revealed that, juice sac and segment wall of ‘Zaohong’ navel orange contained two genotype cells from two parents, the content of organic acids in its pulp was significantly lower than that in the pulps of two parents, the aromas in the peel were basically the same

收稿日期: 2014 - 07 - 23; **修回日期:** 2014 - 09 - 11

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-27); 国家科技支撑计划课题 (2013BAD021302); 教育部创新团队发展计划项目 (IRT13065)

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

with those in the peel of ‘Robertson’ navel orange, however, the aromas in the pulp were different from those of two parents.

Key words: navel orange; graft chimaera; SSR; CpSSR; soluble sugar; organic acid; aroma

Schmidt (1924) 提出的“原套—原体”(tunica - corpus) 学说, 认为大多数双子叶植物的顶端分生组织由 3 层相互独立的细胞组成, 最外层为 L1, 中间层为 L2, 最内层为 L3, 而周缘嵌合体是一层或多层层内的全部细胞在遗传上不同于其它层细胞, 一般认为由不同层细胞演化形成的组织和器官能够反映该细胞层对应亲本的特性(吴姗 等, 2007), 并且周缘嵌合体比较稳定, 可以通过营养繁殖稳定遗传。

嫁接是获得嵌合体的一种方式(Goffreda et al., 1990; Hirata et al., 1992; Noguchi et al., 1992)。在柑橘中, 嫁接嵌合体的获得有自然和人工两种方式, 自然嫁接嵌合体在柑橘中的报道比较多, 比如‘早红’脐橙、‘红肉桃叶橙’和‘小林蜜柑’等(张敏, 2006); 而人工合成柑橘嫁接嵌合体在日本有较多的研究, 如采用 Fukuhara 甜橙(F)和 Kawano 夏橙(N)创造了 NFF 和 FNN 两种类型的周缘嫁接嵌合体(Kuhara, 1988, 1989; Zhou et al., 2002)。Ohtsu 和 Kuhara (1994) 根据“原套—原体”学说以及对多种类型柑橘嵌合体的研究, 绘制了甜橙果实不同组织的起源, 其中汁胞和外果皮来自 L1 层, 种子、外中果皮和内中果皮来自 L2 层, 维管束、大维管束和囊瓣壁来自 L3 层。

柑橘嵌合体果实由来自不同亲本的细胞组成, 它们很多农艺性状都处于两个亲本之间, 因此它是研究细胞互作的理想材料。本研究中的‘早红’脐橙是嫁接嵌合体中的周缘嵌合体类型, Zhang 等(2007)已经对其基本农艺性状和遗传来源进行了研究, 认为 L1 层来自温州蜜柑, L2/L3 层来自‘罗伯逊’脐橙。

为了更深入地了解细胞层间的相互作用对柑橘果实品质的影响, 本研究中首先采用 SSR 和叶绿体 SSR (CpSSR) 分子标记鉴定了‘早红’脐橙果实各部分的细胞来源, 然后在果实不同成熟时期采样, 分析了糖酸和香气物质的变化动态, 从而为柑橘嫁接嵌合体的品质形成机理提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 试材及其取样

‘早红’脐橙[*Citrus sinensis* (L.) Osbeck + *C. unshiu* Marc.]是来自‘罗伯逊’脐橙[*C. sinensis* (L.) Osbeck]和‘国庆 1 号’温州蜜柑(*C. unshiu* Marc.)的嫁接嵌合体。‘早红’脐橙及其嫁接亲本‘国庆 1 号’温州蜜柑(以下简称‘温州蜜柑’)和‘罗伯逊’脐橙(以下简称‘脐橙’)均于 2010 年采自湖北省秭归县柑橘良种场。样品分别在花后 160、180 和 200 d 采取, 样品采自树势一致的果树, 每个品种挑选 3 株作为采样树, 每株树每次随机采摘 12 个果, 从中选取 4 或 5 个果分离果皮和果肉, 液氮速冻, 用于果实香气和糖酸测定; 剩余果实分离为白皮层、汁胞和囊瓣壁 3 部分, 液氮速冻, 用于 DNA 提取; 同时采取‘早红’、温州蜜柑和脐橙的嫩叶, 用于 DNA 提取。所有样品采集处理后都保存于 - 80 °C 冰箱。

1.2 DNA 提取及 SSR 和 CpSSR 分析

DNA 参照程运江等(2001)的方法提取。SSR 及叶绿体 SSR (CpSSR) 分析参照张新建(2011)的方法。SSR 和 CpSSR 所用引物见表 1。

表 1 筛选出的 SSR 和 CpSSR 引物
Table 1 Selected primers for SSR and CpSSR

方法 Method	引物名称 Primer name	序列 (5'-3') Sequence
SSR	TAA33	F-GGTACTGATAGTACTGCGGCG; R-GCTAATCGCTACGTCTTCGC
CpSSR	SPCC1	F-CTTCCAAGCTAACGATGC; R-CTGTCCTATCCATTAGACAATG

1.3 果肉可溶性糖和有机酸的测定

采用气相色谱 (GC) (6890N, Aglient Technologies) 测定果肉可溶性糖和有机酸 (米兰芳, 2009), 每个样品 3 次重复, 结果采用 SPSS 软件 (SPSS Statistics 17.0) 进行差异显著性 ANOVA 分析。

1.4 果皮和果肉香气物质的测定

香气物质的测定采用顶空固相微萃取—气质联用的方法, 使用 DVB/CAR/PDMS 50/30 μm (SUPELCO, USA) 萃取头和 6890-5973N (Agilent, USA) GC-MS 联用仪。萃取方法和气质测定条件参照米兰芳和伊华林 (2012) 的方法。香气物质数据运用计算机检索并与 NIST 05 和 Wiley 7.0 质谱库提供的标准质谱图对照, 结合相关文献鉴定香气物质的各个化学成分, 采用峰面积归一化法进行相对定量分析。

2 结果与分析

2.1 嫁接嵌合体‘早红’脐橙果实细胞来源的鉴定

从图 1 中, 可以看到作为脐橙和温州蜜柑的嫁接嵌合体, ‘早红’的果肉和温州蜜柑的果肉非常相似, 而其果形和果皮都与脐橙相似。为了确定‘早红’果实各个部位的具体细胞来源, 将其果实分成了汁胞、囊瓣壁和白皮层 3 个部分, 并取‘早红’、脐橙和温州蜜柑的叶片, 采用 SSR 和 CpSSR 分子标记对其 DNA 进行分析。

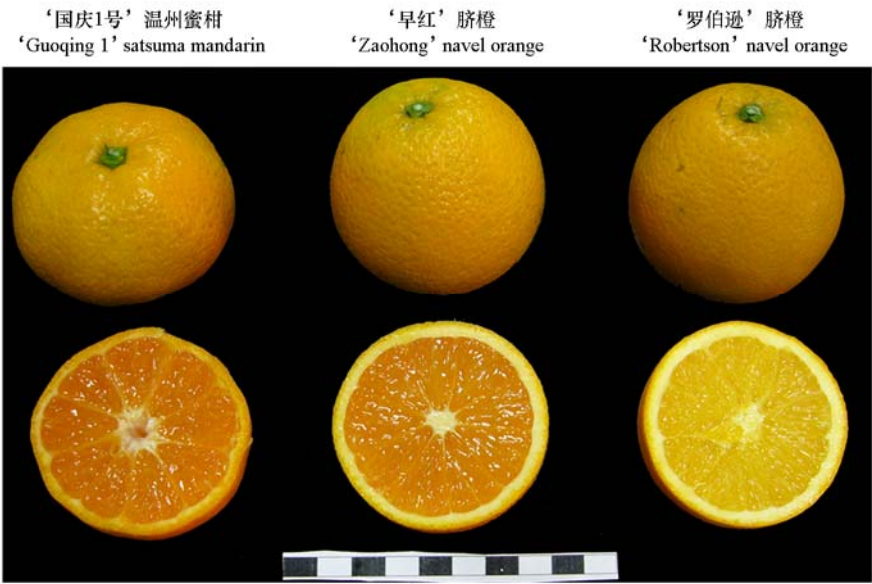


图 1 ‘早红’脐橙、‘罗伯逊’脐橙和‘国庆 1 号’温州蜜柑的果实形态
Fig. 1 The fruit phenotype of ‘Zaohong’ navel orange, ‘Robertson’ navel orange and ‘Guoqing 1’ satsuma mandarin

在核 DNA 分析中, 采用了 8 对 SSR 引物, 引物 TAA33 (表 1) 可以较好地地区分出温州蜜柑和脐橙, 从图 2, A 中, 可以发现, ‘早红’ 的汁胞和囊瓣壁均含有脐橙和温州蜜柑两者的条带, 而白皮层则只含有脐橙的条带。同样, 为了更好地确定汁胞和囊瓣壁中的细胞器 DNA 的来源, 利用叶绿体 DNA 的 SSR 序列引物进行 CpSSR 分析, 通过 5 对 CpSSR 引物的分析, 发现引物 SPCC1 (表 1) 可以清晰地地区分脐橙和温州蜜柑, 通过 CpSSR 分子标记的分析鉴定, 得到了与核 DNA 的 SSR 分子标记分析同样的结果 (图 2, B)。

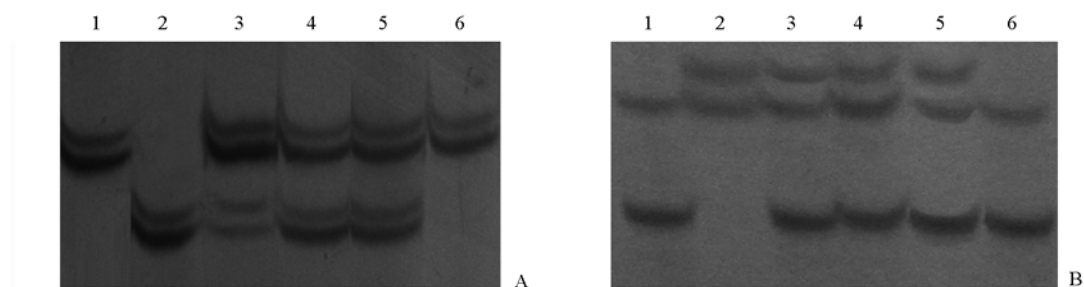


图 2 SSR (A) 和 CpSSR (B) 分子标记分析结果

- 1: ‘罗伯逊’ 脐橙叶片; 2: 温州蜜柑叶片; 3: ‘早红’ 脐橙叶片; 4: ‘早红’ 脐橙汁胞;
5: ‘早红’ 脐橙囊瓣壁; 6: ‘早红’ 脐橙白皮层。

Fig. 2 The analysis result of SSR (A) and CpSSR (B) molecular mark

- 1: The leaf of ‘Robertson’ navel orange; 2: The leaf of ‘Guoqing 1’ satsuma mandarin; 3: The leaf of ‘Zaohong’ navel orange;
4: The juice sac of ‘Zaohong’ navel orange; 5: The segment wall of ‘Zaohong’ navel orange;
6: The albedo of ‘Zaohong’ navel orange.

2.2 可溶性糖和有机酸的动态变化比较分析

虽然 ‘早红’ 的果肉与温州蜜柑果肉颜色非常相似 (图 1), 但是通过分子标记分析, 发现其汁胞中含有两个嫁接亲本的细胞。采用气相色谱测定了 ‘早红’、温州蜜柑以及脐橙果肉的可溶性糖和有机酸的含量。从图 3 中发现, ‘早红’ 的总有机酸含量极显著低于嫁接亲本温州蜜柑和脐橙, 而总可溶性糖含量三者没有差异; ‘早红’ 是三者中固酸比最高的, 其次是温州蜜柑。在有机酸中, 柠檬酸是差异最大的, ‘早红’ 果肉中的柠檬酸最低, 在花后 180 d 三者差异达到了极显著水平。在可溶性糖中, 在花后 160 d 时, ‘早红’ 果肉中的葡萄糖和果糖是最高的, 蔗糖则是温州蜜柑和脐橙较高; 花后 180 d 之后, 脐橙果肉中的葡萄糖和果糖较高, 早红居中, 而在花后 200 d 时温州蜜柑与 ‘早红’ 就没有差异; 蔗糖的含量为温州蜜柑中最高, 脐橙次之, ‘早红’ 最低, 花后 200 d 时三者差异不显著。

2.3 香气物质的比较分析

采用顶空固相微萃取—气质联用的方法 (GC-MS) 分别测定了 ‘罗伯逊’ 脐橙、‘早红’ 和温州蜜柑的果皮和果肉的香气物质。从香气物质的总离子图 (图 4~ 图 6) 中可以看到, ‘早红’ 果皮的香气物质总离子图和 ‘罗伯逊’ 脐橙的非常相似, 而与温州蜜柑的相差较大; ‘早红’ 果肉的香气物质总离子图则具有 ‘罗伯逊’ 脐橙和温州蜜柑两者的特征, 此外还有嫁接亲本都没有的特征峰。从总离子图可以确定 ‘早红’ 的果皮细胞 (不包括外果皮表皮细胞) 来自脐橙, 而果肉的细胞则含有两个嫁接亲本的细胞, 并且由于细胞间的互作还产生了新的变化, 这与分子标记的分析结果吻合。

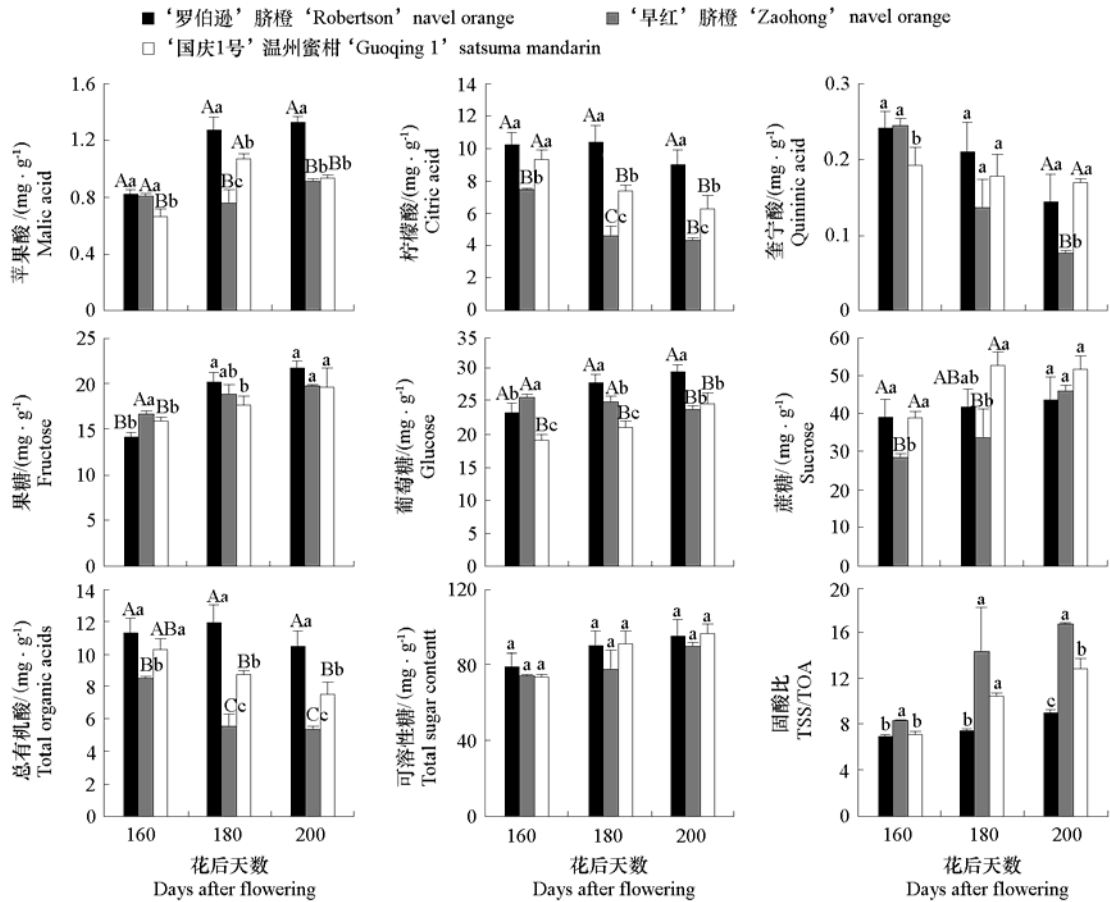


图3 ‘早红’脐橙、‘罗伯逊’脐橙和‘国庆1号’温州蜜柑果肉中有机酸和可溶性糖在成熟过程中的变化
误差线表示标准差 ($n=3$)，小写字母表示显著差异 ($P<0.05$)，大写字母表示极显著差异 ($P<0.01$)。
Fig. 3 Trends of organic acid and soluble sugar contents in ‘Zaohong’ navel orange, ‘Robertson’ navel orange and ‘Guoqing 1’ satsuma mandarin fruit pulps during fruit ripening
Bars represent the standard error ($n=3$). Lowercase represent statistically significant differences ($P<0.05$), Capital letters represent statistically significant differences ($P<0.01$).

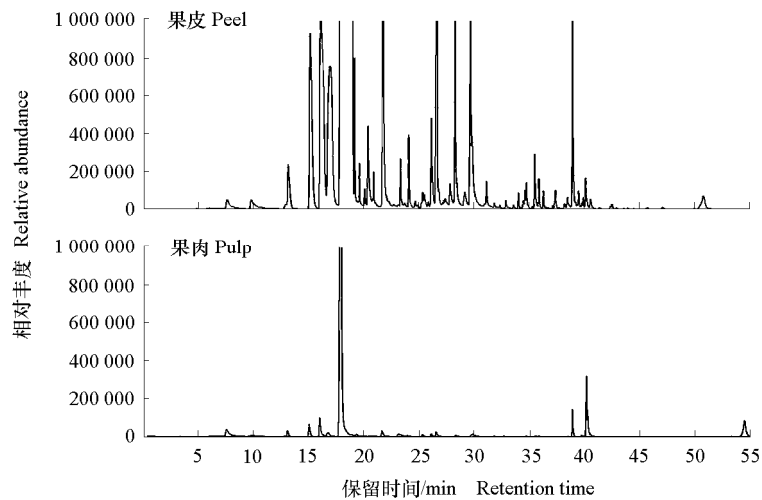


图4 罗伯逊’脐橙果皮和果肉香气成分总离子图
Fig. 4 Total ionic chromatogram of aroma components in the peels and pulps of ‘Robertson’ navel orange

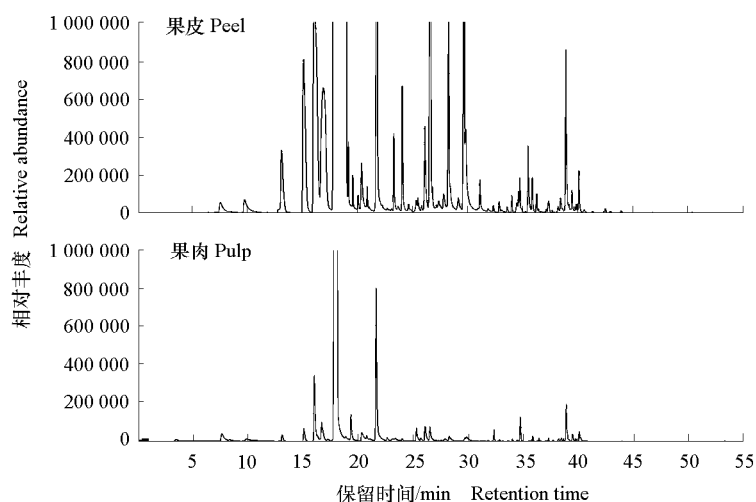


图 5 ‘早红’脐橙果皮和果肉香气成分总离子图

Fig. 5 Total ionic chromatogram of aroma components in the peels and pulps of ‘Zaohong’ navel orange

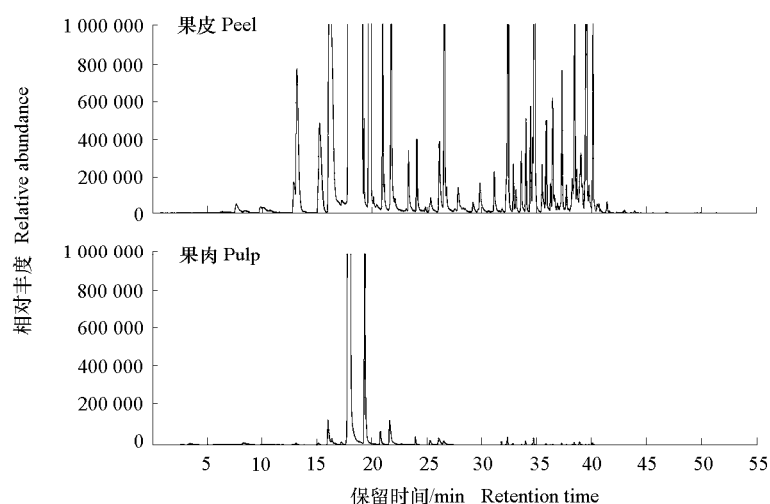


图 6 ‘国庆 1 号’温州蜜柑果皮和果肉香气成分总离子图

Fig. 6 Total ionic chromatogram of aroma components in the peels and pulps of ‘Guoqing 1’ satsuma mandarin

从‘罗伯逊’脐橙、‘早红’和温州蜜柑的果皮中分别鉴定出 95、98 和 98 种香气物质，从果肉中分别鉴定出 57、62 和 36 种香气物质。在果皮中，‘罗伯逊’脐橙和‘早红’的烯烃类、醇类和醛类含量基本一致，尤其是醛类物质，‘罗伯逊’脐橙和‘早红’分别含有 5.028%和 5.7382%，而温州蜜柑的果皮仅含有 1.2349%（表 2）。D-柠檬烯是柑橘中相对含量最高的一种香气物质，在果肉中，脐橙、‘早红’和温州蜜柑分别含有 82.4749%、84.0541%和 87.0273%，在温州蜜柑果肉中含有高达 6.5254%的 γ -蒎烯，而在脐橙和‘早红’中分别只含有 0.3155%和 0.6373%；醇类物质中，早红和温州蜜柑果肉中分别含有 1.2202%和 1.213%，但是脐橙只含有 0.5812%；除此之外，‘早红’果肉中的酯类和醛类物质远远高于脐橙和温州蜜柑，温州蜜柑中这两类物质特别低（表 2）。通过分析，‘早红’的果皮香气物质与‘罗伯逊’脐橙的基本一致，而‘早红’果肉中的香气物质与脐橙和温州蜜柑都不尽相同，并不是简单的两个嫁接亲本香气物质的中和，它具有自己独特的香气物质特征。

表 2 HS-SPME-GC-MS 鉴定的‘早红’脐橙、‘罗伯逊’脐橙和‘国庆 1 号’温州蜜柑果皮和果肉香气成分归类分析及相对含量
Table 2 The categories of aroma compounds and relative content in the peel and pulp of ‘Zaohong’ navel orange, ‘Robertson’ navel orange and ‘Guoqing 1’ satsuma mandarin fruits identified by HS-SPME-GC-MS

组织 Tissue	品种 Cultivar	相对含量/% Relative content						香气种类数 Kinds of aromas
		烯烃类 Olefins	醇类 Alcohols	酯类 Esters	醛类 Aldehydes	酮类 Ketones	其他 Others	
果皮 Peel	罗伯逊 Robertson	91.5775	2.2377	0.3243	5.0280	0.3902	0.1112	95
	早红 Zaohong	91.5507	2.2280	0.2049	5.7382	0.0283	0.0952	98
	国庆 1 号 Guoqing 1	97.0436	1.0309	0.2308	1.2349	0.0141	0.0591	98
果肉 Pulp	罗伯逊 Robertson	90.2075	0.5812	1.4266	0.9948	0.0336	5.0696	57
	早红 Zaohong	90.8880	1.2202	4.3770	1.7770	0.2303	0.6639	62
	国庆 1 号 Guoqing 1	95.9337	1.2130	0.0318	-	-	0.6798	36

3 讨论

柑橘嵌合体的农艺性状(包括果实大小、单果质量、果形指数、产量等)与亲本都有一定的差异,这是因为 L1、L2 和 L3 层细胞对柑橘嵌合体的果实都有影响(Zhou et al., 2002)。前人的研究也表明,‘早红’脐橙果实的形态确实是受到两个嫁接亲本的互相影响,许多形态特征都处于两个嫁接亲本之间(Zhang et al., 2007)。这也表明不同层源的细胞之间存在互作关系,从而使得嫁接嵌合体形成自己特有的一些特征。

有研究表明,在植物地上部分的不同组织和器官当中 L1、L2 和 L3 层的贡献率不同(Stewart & Dermen, 1975),王燕等(2011)在对榨菜和紫甘蓝的嫁接嵌合体的研究中发现,在嵌合体各个组织或器官中来自两个嫁接亲本谱系的 DNA 条带亮度不尽相同。本研究中也发现,在‘早红’的叶片中来自温州蜜柑谱系的 DNA 条带比来自脐橙的 DNA 条带淡一些,在汁胞和囊瓣壁中则没有这种现象,这也说明在嵌合体的不同组织中来自两个亲本的细胞的比例是存在一定差异的。

Ohtsu 和 Kuhara(1994)的研究显示柑橘周缘嵌合体的汁胞来源于 L1 层细胞,Zhou 等(2002)在研究 NFF 和 FNN 两类周缘嵌合体时也得到了类似的结果。如果按照前人的研究结果,‘早红’的汁胞应该只含有温州蜜柑的遗传物质,但是本研究通过 SSR 和 CpSSR 分子标记分析,发现‘早红’汁胞中含有两个嫁接亲本的遗传物质。近年有研究报道,在嫁接部位,遗传物质可以在嫁接亲本之间交换(Stegemann & Bock, 2009),由于在‘早红’嵌合体的顶端分生组织中 L1 层来源于温州蜜柑,L2、L3 层来源于脐橙,所以 L1 和 L2 层之间可能存在遗传物质的交换,从而使得由 L1 层细胞发育而来的汁胞中含有 L2 层的遗传物质,这或许也可以解释嵌合体的某些性状往往独立于两个亲本之外。

分析‘早红’、脐橙和温州蜜柑果肉的可溶性糖和有机酸,发现‘早红’的有机酸含量是三者中最低的,而并不是处于两个亲本之间。香气物质的测定也得到了类似的结果,发现‘早红’果肉的酯类和醛类香气物质都要远远高于脐橙和温州蜜柑,已经超出了两个嫁接亲本。可以发现,嫁接嵌合体虽然在果皮和果肉色泽上与层源亲本性状保持一致,但是在一些数量性状上,如糖酸含量,与层源亲本却相距较远,从这个方面来看,嫁接嵌合体中的不同层源的细胞之间存在互作关系,从而导致某些性状出现新的特性,这也说明嵌合体育种可以创造出优于亲本的性状,不仅仅是综和亲本的优缺点,所以嫁接嵌合体也是创造新种质资源的育种方式之一。

综上所述,柑橘嫁接嵌合体的形成,不是 L1、L2 和 L3 层细胞的简单组合,它们之间可能存在着遗传物质的交流,细胞之间的互作可以让嫁接嵌合体获得新的性状,通过对嫁接亲本和嫁接嵌合体的深入研究可以更加深入地了解植物生长发育的调控机制,从而更好地选择嫁接亲本,创造出新的种质资源。

References

- Cheng Yun-jiang, Yi Hua-lin, Pang Xiao-ming, Guo Wen-wu, Deng Xiu-xin. 2001. An efficient method for genomic DNA extraction from woody fruit plants. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 20 (5): 481 - 483. (in Chinese)
- 程运江, 伊华林, 庞晓明, 郭文武, 邓秀新. 2001. 几种木本果树 DNA 的有效提取. *华中农业大学学报*, 20 (5): 481 - 483.
- Goffreda J C, Szymkowiak E J, Sussex I M, Mutschler M A. 1990. Chimeric tomato plants show that aphid resistance and triacylglycerol production are epidermal autonomous characters. *The Plant Cell Online*, 2 (7): 643 - 649.
- Hirata Y, Yagishita N, Yamamoto K, Sugimoto M. 1992. Interspecific graft chimera between *Brassica oleracea* and *B. campestris*. *Japanese Journal of Breeding*, 42 (2): 203 - 212.
- Kuhara S. 1988. Artificial production of the synthetic periclinal chimera in citrus. *Kyusyu Agric Res*, 50: 222.
- Kuhara S. 1989. Artificial production of citrus periclinal chimera and disease resistance of these plants. *Shokubutsu Boueki (Plant Protection)*, 43: 25 - 29.
- Mi Lan-fang. 2009. Comprehensive analysis and evaluation of quality of orange juice processing cultivars[M. D. Dissertation]. Wuhan: Huazhong Agricultural University. (in Chinese)
- 米兰芳. 2009. 橙汁加工品种综合品质分析与评价[硕士论文]. 武汉: 华中农业大学.
- Mi Lan-fang, Yi Hua-lin. 2011. Dynamic analysis of aroma components of valencia sweet orange. *Journal of Gannan normal University*, 32 (6): 103 - 108. (in Chinese)
- 米兰芳, 伊华林. 2011. 夏橙果实成熟期内香气成分动态变化分析. *赣南师范学院学报*, 32 (6): 103 - 108.
- Noguchi T, Hirata Y, Yagishita N. 1992. Intervarietal and interspecific chimera formation by *in vitro* graft-culture method in *Brassica*. *Theoretical and Applied Genetics*, 83: 727 - 732.
- Ohtsu Y, Kuhara S. 1994. Periclinal chimera of citrus resistant to citrus canker and citrus tristeza virus: Chimerism and composition of fruit tissue in the synthetic periclinal chimeras 'FN-1' and 'NF-3'. *Annals of the Phytopathological Society of Japan (Japan)*, 60: 20 - 26.
- Schmidt A. 1924. Histologische studien an phanerogamen vegetationspunkten. *Bot Archiv*, 8: 345 - 404.
- Stegemann S, Bock R. 2009. Exchange of genetic material between cells in plant tissue grafts. *Science*, 324: 649 - 651.
- Stewart R, Dermen H. 1975. Flexibility in ontogeny as shown by the contribution of the shoot apical layers to leaves of periclinal chimeras. *American Journal of Botany*, 62: 935 - 947.
- Wang Yan, Li Jun-xing, Chen Li-ping. 2011. Studies on the origins of plant tissues and organs by *Brassica chimeras*. *Chinese Journal of Cell Biology*, 33 (8): 867 - 872. (in Chinese)
- 王 燕, 李俊星, 陈利萍. 2011. 利用芸薹属植物嵌合体对组织与器官细胞层起源的研究. *中国细胞生物学学报*, 33 (8): 867 - 872.
- Wu Shan, Li Hao-yan, Liang Yue-rong, Hirata Yutaka. 2007. Morphological and genetic analysis on one combination of chimaeriferous citrus and its donor plants. *Journal of Fruit Science*, 24 (1): 1 - 5. (in Chinese)
- 吴 珊, 黎昊雁, 梁月荣, 平田丰. 2007. 一组柑橘嫁接嵌合体及其嫁接亲本的形态学、遗传学研究. *果树学报*, 24 (1): 1 - 5.
- Zhang M, Deng X X, Qin C P, Chen C L, Zhang H Y, Liu Q, Hu Z Y, Guo L L, Song W H, Tan Y, Liao S C. 2007. Characterization of a new natural periclinal navel-satsuma chimera of citrus: 'Zaohong' navel orange. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 132: 374 - 380.
- Zhang Min. 2006. Separation of citrus fruit sector chimeras and genetic analysis of two graft chimeras[Ph. D. Dissertation]. Wuhan: Huazhong Agricultural University. (in Chinese)
- 张 敏. 2006. 柑橘果实扇形嵌合体的分离及两组嫁接嵌合体的遗传研究[博士论文]. 武汉: 华中农业大学.
- Zhang Xin-jian. 2011. The genetic identification of Nanfeng Miju and the authenticity analysis of Majiayou seedlings[M. D. Dissertation]. Wuhan: Huazhong Agricultural University. (in Chinese)
- 张新建. 2011. 南丰蜜橘的遗传鉴定与马家柚苗木真实性分析[硕士论文]. 武汉: 华中农业大学.
- Zhou J, Hirata Y, Nou I S, Shiotani H, Ito T. 2002. Interactions between different genotypic tissues in citrus graft chimeras. *Euphytica*, 126: 355 - 364.