

# 中药材衢枳壳的基源植物研究

赵维良<sup>1</sup>, 黄琴伟<sup>1</sup>, 张文婷<sup>1</sup>, 岳超<sup>1</sup>, 宋剑锋<sup>2</sup> (1.浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310052; 2.衢州市食品药品检验研究院, 浙江 衢州 324002)

**摘要:** 目的 厘清中药材衢枳壳基源植物的起源, 解决衢枳壳基源植物起源的争议, 根据各种文献使用的不同名称, 确定科学的中文名和拉丁学名正名。方法 对衢枳壳形态、栽培历史和抗寒基因特性进行调查研究, 对 PCR 扩增、化学成分和基因片段测序等方面进行文献考证。结果 衢枳壳基源植物的形态、PCR 扩增结果和 ITS1 测序结果均与柚和酸橙非常相似或相同, 而化学成分和抗寒基因特性与酸橙十分相近。结论 衢枳壳的基源植物系柚和酸橙的自然杂交栽培变种, 不具备独立种的地位, 其拉丁学名应为 *Citrus aurantium* 'Changshan-huyou', 中文名宜为常山柚橙, 常山胡柚和胡柚可作为别名。

**关键词:** 衢枳壳; 常山柚橙; 常山胡柚; 柚; 酸橙

中图分类号: R281 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2019)13-1652-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.13.011

引用本文: 赵维良, 黄琴伟, 张文婷, 等. 中药材衢枳壳的基源植物研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(13): 1652-1655.

## Research for the Original Plant of Chinese Medicinal Materials Qu Aurantii Fructus

ZHAO Weiliang<sup>1</sup>, HUANG Qinwei<sup>1</sup>, ZHANG Wenting<sup>1</sup>, YUE Chao<sup>1</sup>, SONG Jianfeng<sup>2</sup> (1. Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310052, China; 2. Quzhou Institute for Food and Drug Control, Quzhou 324002, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To clarify the plant origin of the Chinese medicinal materials Qu Aurantii Fructus and solve the controversy about the original plant of Qu Aurantii Fructus, determine its scientific Chinese name and Latin names from different names which used in various literature. **METHODS** Making an investigation of the morphology, culture history and characteristics of cold-resistant genes, and literature textual research on PCR amplification, chemical composition and gene fragment sequencing of the original plant. **RESULTS** The morphology, PCR amplification and ITS1 sequencing of the Qu Aurantii Fructus were same or very similar to those of *Citrus grandis* and *Citrus aurantium*. The chemical composition and cold-resistance genes were very similar to those of *Citrus aurantium*. **CONCLUSION** It is determined that the original plant of Qu Aurantii Fructus is a natural hybrid cultivated variety of *Citrus grandis* and *Citrus aurantium*, which does not have the status of independent species of plant. The original plant Latin name and Chinese name of the Qu Aurantii Fructus are *Citrus aurantium* 'Changshan-huyou' and Changshan Youcheng respectively. Changshan Huyou and Huyou can be used as synonymy.

**KEYWORDS:** Qu Aurantii Fructus; *Citrus aurantium* 'Changshan-huyou'; *Citrus changshan-huyou*; *Citrus maxima*; *Citrus aurantium*

枳壳为历版中国药典收载的药材品种, 四川、湖南、江西和浙江为其四大主产地, 主要商品规格有川枳壳、湘枳壳、苏枳壳、江枳壳和衢枳壳。衢枳壳收载于《浙江省中药炮制规范》<sup>[1]</sup>, 主产地是浙江省衢州市, 产量以该市常山县最大, 其植物基源为芸香科柑橘属 *Citrus* L. 植物, 但对其起源一直没有定论, 《中国植物志》亦未收载该植物。吴耕民<sup>[2]</sup>、蔡剑华等<sup>[3]</sup>根据形态特征和过氧化物同工酶分析, 认为其可能是柚与甜橙的自然杂交品种; 贝增明等<sup>[4]</sup>则认为可能是柚与其他柑桔的自然杂交种; 陈力耕等<sup>[5]</sup>根据随机扩增多态性 DNA 标

记(random amplified polymorphic DNA, RAPD)分析结果, 结合形态特征, 认为其是柚、柑橘和甜橙重复杂交而产生的自然杂交品种。另其种名亦不固定, 中文名有常山柚橙、常山胡柚、胡柚或金柚。张韵冰<sup>[6]</sup>于 1991 年将其定为新种 *Citrus changshan-huyou* Y.B. Chang sp.nov.。但对常山柚橙的独立种地位也颇有争议, 故其尚有 *Citrus changshanensis* K. S. Chen et C. X. Fu<sup>[7]</sup>和 *Citrus aurantium* cv. *Changshan-huyou*<sup>[8]</sup>等拉丁学名。本研究对常山柚橙的亲本植物、独立种的地位及合适的中文名和拉丁学名等问题进行考证研究。

基金项目: 浙江省食品药品安全“十三五”规划项目[浙食药(Z-2016001)]

作者简介: 赵维良, 男, 硕士, 主任中药师 Tel: (0571)86452373 E-mail: zwl@zjy.org.cn

## 1 原植物形态及其近似种群

### 1.1 栽培历史及形态

浙江省衢州市常山县为衢枳壳基源植物(以下称“该种群”)的主产地,首先发现在常山县的青石乡有分布,并已有上百年栽培历史。该种群集中分布于常山县,嗣后邻近的江山、龙游等县亦从常山县引种栽培,1981年后开始引起有关方面的关注。本种群仅见栽培,未见野生。

衢枳壳为常绿小乔木,高3~5.5 m。树冠开展,呈球形至半球形,除花枝外的枝有刺,幼枝绿色,有棱,无毛,芽鳞有缘毛。单身复叶,叶片革质,椭圆形,长5~9 cm,宽2.3~5.8 cm,先端钝尖,微凹头,基部楔形至宽楔形,全缘或有不明显微浅钝齿,有油点,两面无毛,中脉两面均隆起,侧脉下面隆起;叶柄有倒披针形翅。花单生或为总状花序生于叶腋,有花2~4朵;花萼浅杯状,3~4浅裂,果期宿存;花瓣4~5枚,白色,有油点;雄蕊18~24(偶可达到30)枚,花丝扁平,基部合生;子房无毛,柱头大,头状。柑果橙黄色,近球形至梨形,直径6~13 cm,顶端平,有时具一圆铜钱状印纹,近果柄部有沟脊,果皮稍厚,油胞下凹,果皮稍难剥离,果心略中空,瓢囊10~12瓣。种子淡黄白色,有棱,稍扁;子叶白色,多胚或单胚,乳白色。花期4~5月,果期11月。

### 1.2 同属近似种群

浙江省柑橘属植物中,与该种群形态最为接近的有柚 *Citrus maxima* (Burm.) Merr. [*Citrus grandis* (L.) Osb.]、甜橙 *Citrus sinensis* Osb.、香橙 *Citrus junos* sieb. ex Tanaka、酸橙 *Citrus aurantium* L.和柑橘 *Citrus reticulata* Blanco,这些种为该种群可能的天然杂交亲本。

柚与该种群的区别点:柚嫩枝上部、叶片下面至少中脉下半部、花梗、花萼、子房均有柔毛,有时成熟的果实也有毛,叶柄具倒心形宽翅,倒披针形,宽2~4 cm,果实大至特大,直径12~30 cm,种子亦大,并具显著肋状棱;而该种群叶、子房无毛,叶柄翅较小,倒披针形,宽2~6 mm,果实较小,直径<13 cm,种子较狭,宽约8 mm。

甜橙与该种群的区别点:甜橙全体无毛,果实较小,直径约8 cm,果心充实,果皮不易剥离,果皮细胞凸出,果肉味甜,种子较小;而该种群叶柄基部、总花梗、萼片外面有微毛,果实较大,

直径可达13 cm,果皮较易剥离,果皮细胞下凹,果肉酸甜适度,种子较大,长达2 cm,宽达8 mm。

香橙与该种群的区别点:香橙叶片质地较薄,叶柄具倒卵状翅,宽0.6~1.5 cm,花单生叶腋,果扁圆形,直径4~7 cm,两端凹入,近果柄部无沟脊;而该种群叶片革质,花单或为总状花序生于叶腋,果近球形至梨形,直径6~13 cm,顶端平,近果柄部有沟脊。

酸橙与该种群的区别点:酸橙叶片质地厚,花萼在果时增大或增厚,果皮紧贴果肉,不易剥离,果心实;而该种群叶片质地较薄,花萼在果时不增大或稍增大,果皮较易剥离,果成熟时不完全充实。

柑橘(柑)与该种群的区别点:柑橘叶柄的翅甚狭至仅具痕迹,但夏枝或徒长枝的则常较明显,花单生或2~3朵簇生于叶腋,果皮易剥离,子叶和胚均深绿色,少为淡绿色;该种群叶柄的翅明显,花单生或为总状花序生于叶腋,果皮较易剥离,子叶和胚均乳白色。柑橘(柑)的栽培品种较多,温州蜜柑 *Citrus reticulata* ‘Unshiu’(*Citrus unshiu* Marc.)和衢橘(*Citrus reticulata* ‘Qujie’)等均为其栽培品种。

该种群的杂交亲本应在上述几种范围内。

## 2 化学成分的相似性

据分析,常山柚橙和酸橙的化学成分非常接近,均含黄酮类、三萜类、甾体类、酚酸类、香豆素类<sup>[9-11]</sup>和挥发油类<sup>[12-14]</sup>等成分。其中黄酮类两者均含橙皮苷<sup>[15-16]</sup>、柚皮素<sup>[10,17]</sup>、川陈皮素<sup>[15,18-19]</sup>,柚皮素-7-O-葡萄糖苷<sup>[18,20]</sup>、柚皮苷<sup>[10,16-17]</sup>、新橙皮苷<sup>[17,19,21]</sup>。三萜类两者均含柠檬苦素<sup>[12,18]</sup>;甾体类两者均含胡萝卜苷<sup>[11,22]</sup>;酚酸类两者分别含异阿魏酸<sup>[21]</sup>和阿魏酸<sup>[11]</sup>。当然两者成分亦有一些差别,如酸橙含生物碱类成分<sup>[23]</sup>,而常山柚橙是否含生物碱成分尚未见文献报道,另大类成分中的单体成分亦有一定区别。

常山柚橙和柚的化学成分也较为接近,两者均含黄酮类、三萜类、香豆素类和挥发油类等成分<sup>[9,12,17,24-27]</sup>。黄酮类两者均含柚皮素、柚皮苷<sup>[17,24]</sup>;三萜类均含柠檬苦素<sup>[17,25]</sup>;挥发油类均含 $\alpha$ -蒎烯、 $\beta$ -蒎烯、D-柠檬烯等<sup>[12,27]</sup>。两者成分亦有一定差别,常山柚橙含甾体类成分<sup>[9]</sup>,而柚是否含此类成分尚未见报道,另大类成分中的单体成分亦有一定区别,如香豆素类单体成分多不相同<sup>[9,26]</sup>。

### 3 RAPD 多态性分析

陈力耕等<sup>[5]</sup>采用重复性较好的 OP46 引物扩增方法,对柚、柑橘、衢橘、甜橙和该种群进行了 RAPD 多态性分析。结果分子量为 720 bp 的扩增带为 5 个供试材料所共有,分子量为 837, 910 bp 的 2 条带为该种群和柑橘、衢橘、甜橙所共有,但该种群的这 2 条带较弱,990, 1 080 bp 的 2 条带在柚、柑橘、衢橘和该种群一致,610 bp 带在甜橙、柚和该种群中均存在,1 335 bp 带则在柑、衢橘与该种群中存在,而 768, 575 bp 的 2 条带只存在于柚与该种群中。

由此可见,在 OP46 引物的扩增带中,该种群与柚相同的带有 6 条,与甜橙相同的带有 4 条,与柑、衢橘相同的带也有 6 条。根据该结果,陈力耕等<sup>[5]</sup>认为该种群的起源过程与柚、橙、柑橘均密切相关,其中柑橘和柚可能是主要的起源亲本。

### 4 抗寒性比较

该种群的抗逆性强,适应性广,尤其是耐寒性明显强于柚、甜橙和柑橘。浙江省在 1999 年 12 月曾发生罕见的大寒,结果导致柚、脐橙、甜橙与柑橘等柑橘属植物的大面积冻害,轻者为 2~3 级,重者达 4~5 级冻害,部分被冻死,而该种群受冻最轻,部分为 2 级左右冻害,基本无 5 级冻害<sup>[28]</sup>。由此可见,该种群具有较强的耐寒性基因,耐寒温度 $-10\sim-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ <sup>[29]</sup>,此与酸橙约 $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的耐寒温度<sup>[30]</sup>相当。而柚、脐橙、甜橙与柑橘的耐寒性均较差。

### 5 内转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)序列的研究

徐昌杰等<sup>[7]</sup>对该种群可能的亲本候选植物进行了 ITS 序列的研究。研究的样本除该种群外,尚有柚、酸橙、甜橙、柑橘和温州蜜柑。根据研究,ITS2 范围和 5.8S、18S、26S 范围均未发现柑橘属植物间序列的变化,故 ITS1 片段是柑橘属植物亲本认定和系统谱研究的主要依据<sup>[31]</sup>。研究结果显示,在 250 bp 范围内,带有 8 个可变区的 2 个不同 ITS 序列分别为酸橙和柚与该种群的相同序列,该种群的 *ITS1B* 基因片断与酸橙完全相同, *ITS1A* 与柚完全相同,其他甜橙、柑橘、温州蜜柑与该种群的序列均不同,尤其是先前的观点认为可能的亲本甜橙,其 3 条 ITS 序列中没有一条与该种群相同,故可排除甜橙为亲本的可能性。该结果表明常山柚橙应为酸橙和柚的栽培杂交种。

### 6 结论和讨论

#### 6.1 亲本的确定

关于该种群自然杂交的亲本,上述研究中,专属性最强,科学依据最充分的当为徐昌杰等<sup>[7]</sup>关于基因测序的研究,该研究根据 ITS 基因序列测定结果,认为柚和酸橙为常山柚橙的亲本;另该种群的植物形态、化学成分、抗寒性能及其作为枳壳药用的历史(现作为枳壳药用的,均为酸橙及其栽培变种)均支持该结论的正确性。

#### 6.2 独立种及地位的探讨

植物作为独立种的要素,应具有相对稳定的性状,且其性状不应由栽培或杂交变异造成,另应具有一定的分布范围,否则独立种地位不能成立。该种群系由栽培及杂交而产生,有上百年的栽培历史,并且无野生分布,不属于植物分类上独立的种,故不应为文献<sup>[6]</sup>报道的新种,而应为栽培变种。

#### 6.3 关于名称问题

作为酸橙的栽培变种,其学名宜为 *Citrus aurantium* 'Changshan-huyou', 而学名 *Citrus changshan-huyou* Y.B. Chang 和 *Citrus changshanensis* K. S. Chen et C. X. Fu 可作异名;中文名应为常山柚橙,这一名称既意涵产地,又寓意亲本,常山胡柚和胡柚可作为别名。

致谢:该种群基源植物的研究得到林泉老师的指导,谨此致谢!

### REFERENCES

- [1] 浙江省中药炮制规范[S]. 2015: 180-182.
- [2] 吴耕民. 金柚特性及其栽培技术要点[J]. 中国柑桔, 1987, 16(1): 16-18.
- [3] 蔡剑华, 贺善安, 缪天纲, 等. 珍贵的柑桔种质资源[C]//张上隆主编. 纪念吴耕民教授诞辰一百周年论文集. 北京: 中国农业科技出版社, 1995: 18-22.
- [4] 贝增明, 叶杏元. 我国杂柑良种常山柚橙简介[C]//纪念吴耕民教授诞辰一百周年论文集. 北京: 中国农业科技出版社, 1995: 23-24.
- [5] CHEN L G, HU X Q, ZHAO S Q. Molecular research on Huyou origin [J]. Acta Horticu Sinica(园艺学报), 2002, 29(3): 276-277.
- [6] ZHANG Y B. A new species of genus *Citrus* from China [J]. Bull Bot Res, 1991, 11(2): 5-7.
- [7] XU C J, BAO L, ZHANG B, et al. Parentage analysis of Huyou (*Citrus changshanensis*) based on internal transcribed spacer sequences [J]. Plant Breeding, 2006(125): 519-522.
- [8] ZHAO W L, GUO Z X, ZHANG W T, et al. Study on original plant species and geographical distribution of *Fructus Aurantii* [J]. Chin J Chin Meter Med(中国中药杂志), 2018, 43(21):

- 4361-4364.
- [9] ZHAO X M, YE X Q, ZHU D Y. Isolation and identification of chemical constituents from peels of *Citrus changshan-huyou* Y. B. Chang [J]. Beijing Da Xue Xue Bao, 2009, 41(41): 575-577.
- [10] ZHANG Y Y, YE W C, FAN C L, et al. A New coumarin glucoside from the fruits of *Citrus aurantium* [J]. Chin J Nat Med(中国天然药物), 2005, 3(3): 141-143.
- [11] DENG K Z, DING Y Q, ZHOU B, et al. Isolation and structural identification of chemical constituents from Aurantii Fructus [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2015, 21(14): 36-38.
- [12] ZHAO X M, YE X Q, ZHU D Y. Study on the volatile oils and volatile components in the rind of Chanshan Huyou pomelo cultivar [J]. J Fruit Sci(果树学报), 2007, 24(1): 109-112.
- [13] 黄爱华, 吴波, 曾元儿, 等. 酸橙幼果中挥发油的 GC-MS 分析[J]. 中药材, 2010, 33(11): 1748-1750.
- [14] YUAN W B, WU Q D, WU X R. Analysis of the constituents of volatile oil from *Fructus Auranti* immaturus by GC-MS [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2011, 34(7): 1067-1069.
- [15] ZHAO X M, YE X Q, XI Y F, et al. Flavonoids in peels of *Citrus changshanhu-you* [J]. Chin Tradit Herb Drug(中草药), 2003, 34(1): 11-13.
- [16] ZHOU D Y, XU Q, XUE X Y, et al. Analysis of flavonoid glycosides in Fructus Aurantii by high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem(分析化学), 2006, 34(S1): 31-35.
- [17] ZHAO X M, YE X Q, XI Y F, et al. Isolation and identification of effective constituents from the peels of *Citrus paradise* cv. Changshanhu you and their pharmacological activities [J]. J Fruit Sci(果树学报), 2006, 23(3): 458-461.
- [18] DING Y Q, XIONG Y, ZHOU B, et al. Isolation and structural identification of flavonoids from Aurantii Fructus [J]. Chin J Chin Meter Med(中国中药杂志), 2015, 40(12): 2352-2356.
- [19] HUANG W K, YUE C, SONG J F, et al. Simultaneous determination of seven constituents in *Citrus Changshanhu you* Y. B. Chang by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2018, 35(3): 404-407.
- [20] LI C M, ZHONG Z H, DOU H L, et al. Separation and identification of two flavonones from peels of *Citrus Changshan-huyou* [J]. Food Sci(食品科学), 2006, 27(6): 161-164.
- [21] ZHAO X M, YE X Q, ZHU D Y. A novel compound isolated from the peels of *Citrus Changshan-huyou* Y. B. Chang [J]. Acta Pharmac Sinica, 2008, 43(12): 1208-1210.
- [22] MIN P, ZHAO Q C, GAO Y J, et al. The chemical constituents of *Citrus changshan-huyou* Y. B. Chang [J]. Chin J Med Chem(中国药物化学杂志), 2010, 20(2): 129-132.
- [23] ARBO M, LARENTIS E R, LINCK V M, et al. Concentrations of p-synephrine in fruits and leaves of *Citrus species*(Rutaceae) and the acute toxicity testing of *Citrus aurantium* extract and p-synephrine [J]. Food and Chemical Toxicology, 2008, 6(8): 2770-2775.
- [24] YIN L, CAO X L, XU J, et al. Preparative separation of flavonoids from *Exocarpium Citri grandis* by high performance countercurrent chromatography [J]. Food Sci(食品科学), 2013, 34(20): 268-272.
- [25] XIANG Y, CAO J, LUO F, et al. Simultaneous from purification of limonin, nomilin and isoobacunoic acid pomelo fruit(*Citrus grandis*)segment membrane [J]. J Food Sci(果树学报), 2014, 79(10): C1956- C1963.
- [26] FENG B M, PEI Y H. Research on the chemical constituents of the coumarins from *Citrus grandis* Osbeck [J]. J Shenyang Pharm Univ(沈阳药科大学学报), 2000, 17(4): 253-255.
- [27] YUAN X L, LIANG C Y, TAN Y F, et al. Analysis of the volatile oil from *Citrus grandis* in different habitats by GC-MS [J]. China Pharmacy(中国药房), 2011, 22(47): 4481-4483.
- [28] 刘联友. 一九九一年柑桔冻害专题报导[J]. 浙江柑桔, 1992(2): 8-9.
- [29] 温明霞, 林媚, 聂振朋, 等. 胡柚及其芽变品系抗寒性研究初报[J]. 福建果树, 2008(2): 18-19.
- [30] MA W T, FAN W G. Determination and comprehensive evaluation on cold-tolerance of wild *Citrus* from Guizhou [J]. Acta Bot Boreal, 34(10): 2063-2069.
- [31] BALDWIN B G, SANDERSON M J, PORTER J M, et al. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny [J]. Ann Mo Bot Gard, 1995(82): 247-277.

收稿日期: 2018-08-03

(本文责编: 蔡珊珊)