

柚类种质资源DUS测试数量性状分级研究

陈璞¹, 徐振江¹, 江 东², 易 静¹, 苏穆清¹, 邓 超^{3*}, 饶得花^{1*}

(¹华南农业大学农学院, 广州 510642; ²西南大学柑桔研究所, 重庆 400712; ³农业农村部科技发展中心, 北京 100122)

摘要:【目的】验证中国柑橘属DUS测试指南中数量性状对柚类种质资源的适应性, 为更客观更科学地描述柚类数量性状和修订柑橘属DUS测试指南提供参考。【方法】以中国柑橘属测试指南为标准, 对117份柚类种质资源的25个数量性状进行数据采集, 根据各性状的特点选择合适的分级方法并确定分级范围。【结果】25个数量性状品种内变异系数在2.96%~26.96%之间, 品种间变异系数在10.33%~62.90%之间, 大部分数量性状数据的多态性和稳定性较好; 根据正态性检验结果对25个数量性状进行分级, 得到了25个数量性状的分级标准, 与柑橘属测试指南的分级数相比: 花萼直径、果形指数、汁胞长度由3级增为5级, 花瓣长度、花瓣宽度、叶片长度、叶片宽度、果皮厚度由9级减为7级, 花瓣指数、叶形指数、中心柱大小、囊瓣数、果汁含量、可溶性固形物含量由9级减为5级, 对果实质量、果实纵径和果实横径3个性状分别制定了柚和葡萄柚的分级标准; 该分级标准下25个数量性状的多样性指数变化范围为0.878~1.954, 性状间的相似系数分布在-0.69~0.91之间; 通过主成分分析得到6个主成分, 累积贡献率达72.76%。【结论】初步建立了柚类种质资源25个数量性状的分级指标, 对柚类品种的性状评价、利用及良种选育具有一定指导意义, 同时为中国柚类种质鉴定和DUS测试指南修订提供参考。

关键词: 柚类; DUS测试; 数量性状; 分级

中图分类号: S666.3

文献标志码: A

文章编号: 1009-9980(2024)09-1885-18

Classification study on quantitative characteristics of pomelo germplasm resources for DUS test

CHEN Pu¹, XU Zhenjiang¹, JIANG Dong², YI Jing¹, SU Muqing¹, DENG Chao^{3*}, RAO Dehua^{1*}

(¹College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, Guangdong, China; ²Citrus Research Institute of Southwest University, Chongqing 400712, China; ³Development Center of Science and Technology, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100122, China)

Abstract: 【Objective】The DUS (Distinctness, Uniformity and Stability) test refers to the process of testing the specificity, consistency and stability of new plant varieties. The DUS test guideline is the technical basis and standard for DUS test of tested varieties, and has become the technical basis for variety approval, variety registration and variety protection in China. At present, the DUS testing guideline of *Citrus* in China (NY/T 2435—2013) covers the entire *Citrus* genus. However, there are great differences in some characteristics between the different species in the same genus. Therefore, this study aimed to explore the adaptability of quantitative characteristics in the DUS testing guidelines for *Citrus* in China to pomelo varieties, and to provide reference for more objective and scientific description of quantitative characteristics of pomelo and revision of DUS test guidelines of *Citrus*. 【Methods】In this study, twenty-five quantitative characteristics of the 117 pomelo germplasm resources in the National *Citrus* Germplasm Resource collection were observed according to the DUS testing guideline of *Citrus* in China. The data of these twenty-five quantitative characteristics were collected by measurement method. The normality of the data was comprehensively judged according to the significant test value

收稿日期: 2024-04-24 接受日期: 2024-06-17

基金项目: 农业农村部物种资源保护项目: 申请保护品种DUS测试及已知品种库维护(h20230603)

作者简介: 陈璞, 女, 在读硕士研究生, 研究方向为种业。E-mail: 402103519@qq.com

*通信作者 Author for correspondence. E-mail: dengchaowin@sina.com; E-mail: huard_001@163.com

of the K-S test for each quantitative characteristics, the fitting of the frequency distribution diagram and the normality curve, and the deviation between the measured value of the Q-Q diagram and the predicted normal value. The least significant difference method was used to grade the quantitative characteristics that conformed to the normal distribution, and the range method was used to grade the quantitative characteristics that did not conform to the normal distribution. **【Results】** The intra-variety variation coefficient of the twenty-five quantitative characteristics was between 2.96% and 26.96%, and the inter-variety variation coefficient was between 10.33% and 62.90%. Most quantitative characteristics showed great polymorphism and stability. According to the results of normality test, the petal length, petal length/width, leaf blade length, leaf blade length/width, petiole length, petiole wing width, stylar scar diameter, core diameter, fruit rind thickness, number of segments per fruit, number of seeds, fruit juiciness, total soluble solids, fruit juice acidity and edible rate conformed to normal distribution; The length of spring shoot internode, petal width, stamens number per flower and leaf blade width conformed to the approximate normal distribution, calyx diameter, fruit length, fruit diameter, fruit length/diameter, juice vesicles length and single-fruit weight did not conform to normal distribution. Among the six quantitative characteristics that did not follow a normal distribution, the frequency distribution of the fruit weight, fruit length and fruit diameter showed a clear bimodal distribution, which was mainly caused by the significant differences between pomelo and grapefruit species. Grapefruit and pomelo showed significant differences in these three characteristics, leading to a bimodal distribution. Therefore, if pomelo and grapefruit were uniformly graded on these quantitative characteristics, it would lead to a wide grading range and misjudge varieties with differences as no differences, thereby increase the probability of errors occurring. This study developed different grading standards for pomelo and grapefruit based on these three characteristics. After separating the data of the two species based on the three quantitative characteristics mentioned above, it was found that except for the pomelo group whose data on fruit diameter did not follow a normal distribution, the rest basically followed a normal distribution or approximate normal distribution. The least significant difference method was used to grade the quantitative characteristics that conformed to the normal distribution, and the range method was used to grade the quantitative characteristics that did not conformed to the normal distribution. The classification standards of the twenty-five quantitative characteristics were obtained. Compared with the grading numbers in the DUS testing guideline of Citrus in China, the calyx diameter, fruit shape index and juice cell length increased from 3 levels to 5 levels, the petal length, petal width, leaf length, leaf width and pericarp thickness decreased from 9 levels to 7 levels, and the petal index, leaf shape index, central column size, capsule number, juice content and soluble solids decreased from 9 levels to 5 levels. For fruit weight, fruit length and fruit diameter, the grading standards of pomelo and grapefruit were formulated respectively. The Shannon diversity index of each characteristics under this grading standard ranged from 0.878 to 1.954, and the Shannon diversity index of fruit juice acidity was relatively large, indicating that this characteristics had more phenotypes and was evenly distributed in different grades. The correlation coefficient of the twenty-five quantitative characteristics ranged from -0.69 to 0.91, and the correlation coefficient between fruit diameter and fruit weight was the highest, reaching 0.91, showing a very significant positive correlation. Six principal components were obtained by principal component analysis, with a cumulative contribution rate of 72.76%. The first principal component contained the most information, which was mainly determined by the 11 characteristics, including the fruit diameter, fruit weight, fruit length, petal width, calyx diameter, petal length, core diameter, stamens number per flower, juice vesicles length, leaf blade width and number of seeds. **【Conclusion】** This study estab-

lished a preliminary classification index for the twenty-five quantitative characteristics of pomelo germplasm resources, which would have certain guiding significance for the evaluation, utilization, and breeding of pomelo germplasm resources. At the same time, it would provide reference for the identification of pomelo germplasm and the revision of pomelo DUS testing guideline in China. In addition, the classification standard of this study was based on the growth performance of pomelo in Chongqing, and the specific classification range might not be fully applicable to other ecological regions. In the process of DUS testing, researchers should make corresponding adjustments according to the expression status of standard varieties and combine with the field conditions, so as to ensure accurate evaluation and comparison of the character differences of the varieties in different regions.

Key words: Pomelo; DUS testing; Quantitative characteristics; Grade

柚[*Citrus grandis* (L.) Osbeck]又名抛子、文旦,葡萄柚(*C. paradisi* Macf.)又名西柚或圆柚,两者均为芸香科柑橘属植物。柚的果实柚子,果型硕大、营养丰富、耐贮藏、便于运输,有“天然罐头”之称^[1];葡萄柚果实比柚子较小,口感酸甜,略带苦味,具有清热退火的功效,主要用作鲜食、果汁、罐头和色拉的原料^[2]。大多学者认为葡萄柚是柚与甜橙的回交后代^[3-5],在植物分类上属于与柚并列的一个种,在栽培上将其列入柚类^[6]。柚类是柑橘属四大栽培种类群(宽皮柑橘类、橙类、柚类、柠檬类)之一,中国作为柚类的原产地和变异中心,有着丰富的种质资源以及数千年的栽培历史^[7-9]。

植物新品种保护是实施国家知识产权和种业振兴的重要组成部分,其不仅关系到育种权人的切身利益,还对推动种业的创新和发展起到关键作用。根据《中华人民共和国种子法》规定,申请品种权保护和品种审定、登记的农作物,均需开展特异性、一致性和稳定性(DUS)测试^[10]。中国于2003年将柑橘属列入中华人民共和国农业植物品种保护名录(第五批)中,并于2013年发布《植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南 柑橘》(NY/T 2435—2013)农业行业标准(以下简称柑橘属测试指南)。该指南的适用范围包括整个柑橘属,共有113个测试性状,含质量性状和假质量性状45个,数量性状68个。数量性状是指表达状态覆盖了从一个极端到另一个极端之间的整个变异范围的性状^[11],如叶片长度、果实质量等。数量性状分级是数量性状代码转换的重要依据,数量性状分级科学与否直接影响测试的最终结果。由于数量性状极易受环境条件的影响,测试指南中没有规定每个数量性状的具体分级范围,通过给出相应的一套标准品种作为标尺

矫正每个生长周期中外界环境对测试结果的影响。

柑橘属测试指南中列出了甜橙、宽皮橘、柚类和柠檬这四种类群的标准品种。其中,柚和葡萄柚虽同为柚类,两者体型却存在较大差异,在果型大小方面有着显著差别。但柑橘属测试指南对这些性状的分级较少,例如在果实纵径和果实横径上仅分为三级,第一级“小”的标准品种为葡萄柚品种马叙,第二级“中”的标准品种为柚品种梁平柚(果实横径对应的是沙田柚),第三级“大”的标准品种为柚品种琯溪蜜柚。由于级数过少,仅把葡萄柚放置在最小等级中,不能很好地区分葡萄柚品种间以及柚品种间的差异。另外,柑橘属的各种间形态大小各异,特别是柚,其果实体积是其他几个种的数倍,采用同一套分级代码进行测试可能会对柚品种的区分和鉴别产生偏差。

笔者在本研究中针对柚类种质资源在柑橘属测试指南中的25个数量性状进行分级研究,建立了一套柚类数量性状的分级标准,可为更客观更科学地描述柚类数量性状和柑橘属DUS测试指南修订提供参考。

1 材料和方法

1.1 试验材料

117份柚类种质资源均来自国家柑橘种质资源圃(重庆)。由于中国葡萄柚的发展历程较短,仅收集了13份葡萄柚品种资源进行研究,其余104份为柚品种资源。供试材料包括大部分柑橘属测试指南中的标准品种,具有良好的代表性(表1)。

1.2 数据采集方法

DUS测试中数量性状表达可通过目测或测量的方法观测。当品种内变异较小时,通常可以通过目测而减少工作量;而当品种间差异较小,目测无法

表 1 供试柚类种质资源信息

Table 1 List of the pomelo germplasm resources tested

编号 Code	名称 Name	产地 Place of origin	编号 Code	名称 Name	产地 Place of origin
P1	梁沙柚 Liangsha Pomelo	重庆 Chongqing	P45	梅湾柚 Meiwan Pomelo	四川 Sichuan
P2	左氏柚 Zuoshi Pomelo	重庆 Chongqing	P46	玉环柚 Yuhuan Pomelo	四川 Sichuan
P3	安柚 Anyou	重庆 Chongqing	P47	锅魁柚 Guokui Pomelo	四川 Sichuan
P4	贡水红柚 Gongshuihong Pomelo	重庆 Chongqing	P48	金堂绿柚 Jintanglü Pomelo	四川 Sichuan
P5	绿肉柚 Green Flesh Pomelo	重庆 Chongqing	P49	合江柚 Hejiang Pomelo	四川 Sichuan
P6	沙暹柚 Shaxian Pomelo	重庆 Chongqing	P50	龙安柚 Longan Pomelo	四川 Sichuan
P7	脆柚 Cuiyou	重庆 Chongqing	P51	华盖山柚 Huayingshan Fragrant Pomelo	四川 Sichuan
P8	夏蜜柚 Xiami Pomelo	重庆 Chongqing	P52	凤凰柚 Fenghuang Pomelo	四川 Sichuan
P9	陈氏柚 Chenshi Pomelo	重庆 Chongqing	P53	白玉霜 Baiyushuang Pomelo	湖南 Hunan
P10	刘氏柚 Liushi Pomelo	重庆 Chongqing	P54	安江石榴柚 Anjiangshiliu Pomelo	湖南 Hunan
P11	沙田柚 × 垫江柚 Shatian Pomelo × Dianjiang Pomelo	重庆 Chongqing	P55	香水柚 Xiangshui Pomelo	湖南 Hunan
P12	灌香柚 Guanxiang Pomelo	重庆 Chongqing	P56	金兰柚 Jinlan Pomelo	湖南 Hunan
P13	清沙柚 Qingsha Pomelo	重庆 Chongqing	P57	安江无核蜜柚 Anjiang Seedless Honey Pomelo	湖南 Hunan
P14	28-11 Pomelo	重庆 Chongqing	P58	龙安一号 Longanyihao Pomelo	湖南 Hunan
P15	39-6 Pomelo	重庆 Chongqing	P59	金香柚 Jinxiang Pomelo	湖南 Hunan
P16	98-1 Pomelo	重庆 Chongqing	P60	安江香柚 Anjiangxiang Pomelo	湖南 Hunan
P17	垫江白柚 Dianjiang White Flesh Pomelo	重庆 Chongqing	P61	彭县漳州柚 Pengxianzhangzhou Pomelo	福建 Fujian
P18	江津红心柚 Jiangjin Red Flesh Pomelo	重庆 Chongqing	P62	杭红柚 Hanghong Pomelo	福建 Fujian
P19	脐柚 Qiyou	重庆 Chongqing	P63	琯溪蜜柚 Guanxi Honey Pomelo	福建 Fujian
P20	蓬溪柚 Pengxi Pomelo	重庆 Chongqing	P64	红锦蜜柚 Hongjin Honey Pomelo	福建 Fujian
P21	舒化柚 Shuhua Pomelo	重庆 Chongqing	P65	黄肉蜜柚 Yellow Flesh Honey Pomelo	福建 Fujian
P22	垫江黄沙岩白心柚 Dianjianghuangshayan White Flesh Pomelo	重庆 Chongqing	P66	虎蜜柚 Humi Pomelo	福建 Fujian
P23	垫江老柚 Dianjianglao Pomelo	重庆 Chongqing	P67	文旦柚 Wendan Pomelo	福建 Fujian
P24	垫江红心柚 Dianjiang Red Flesh Pomelo	重庆 Chongqing	P68	红肉琯溪蜜柚 Red Flesh Guanxi Honey Pomelo	福建 Fujian
P25	夔柚 Kuyou	重庆 Chongqing	P69	红绵蜜柚 Hongmian Honey Pomelo	福建 Fujian
P26	江北无核柚 Jiangbeiwuhe Pomelo	重庆 Chongqing	P70	坪山柚 Pingshan Pomelo	福建 Fujian
P27	长寿沙田柚 Changshoushatian Pomelo	重庆 Chongqing	P71	盘县柚 Panxian Pomelo	贵州 Guizhou
P28	菊花芯沙田柚 Juhuaxinshatian Pomelo	重庆 Chongqing	P72	本地柚 Bendi Pomelo	贵州 Guizhou
P29	梁平柚 Liangping Pomelo	重庆 Chongqing	P73	毛南柚 Maonan Pomelo	贵州 Guizhou
P30	卫寺蜜柚 Weisi Honey Pomelo	重庆 Chongqing	P74	毛南本地柚 Maonanbendi Pomelo	贵州 Guizhou
P31	浦连柚(子代) Pulian Pomelo (Offspring tree)	重庆 Chongqing	P75	江西早柚 Jiangxi Early Pomelo	江西 Jiangxi
P32	五布红心柚 Wubu Red Flesh Pomelo	重庆 Chongqing	P76	桃溪柚 Taoxi Pomelo	江西 Jiangxi
P33	楚门文旦 Chumenwendan Pomelo	浙江 Zhejiang	P77	金沙柚 Jinsha Pomelo	江西 Jiangxi
P34	永嘉早香柚 Yongjiagozaixiang Pomelo	浙江 Zhejiang	P78	马家柚 Majia Pomelo	江西 Jiangxi
P35	世界蜜柚 Shijiemi Pomelo	浙江 Zhejiang	P79	晚白柚 Wanbai Pomelo	中国台湾 Taiwan, China
P36	四季抛 Sijipao Pomelo	浙江 Zhejiang	P80	绿柚 Green Pomelo	越南 Vietnam
P37	东风早柚 Dongfengzao Pomelo	云南 Yunnan	P81	囊内柚 Nangnei Pomelo	越南 Vietnam
P38	东试柚 Dongshi Pomelo	云南 Yunnan	P82	光皮柚 Guangpi Pomelo	越南 Vietnam
P39	勐仑早柚 Menglun Early Pomelo	云南 Yunnan	P83	斐红柚 Feihong Pomelo	越南 Vietnam
P40	早熟沙田柚 Early-maturing Shatian Pomelo	四川 Sichuan	P84	平阳拉柚 Pingyangla Pomelo	越南 Vietnam
P41	永安柚 Yongan Pomelo	四川 Sichuan	P85	平阳柚 Duong Da Lang Pomelo	越南 Vietnam
P42	通贤柚 Tongxian Pomelo	四川 Sichuan	P86	宜安倭柚 Yi'anwo Pomelo	越南 Vietnam
P43	纳溪樱桃柚 Naxiyingtao Pomelo	四川 Sichuan	P87	越南小甜柚 Vietnam Sweet Pomelo	越南 Vietnam
P44	沙田柚 Shatian Pomelo	四川 Sichuan	P88	延城柚 Yancheng Pomelo	越南 Vietnam

表 1 (续) Table 1 (Continued)

编号 名称 Code Name	产地 Place of origin	编号 名称 Code Name	产地 Place of origin
P89 早熟暹罗柚 Early-maturing Siamese Pomelo	泰国 Thailand	P104 金黄柚 Jinhuang Pomelo	产地未知 NA
P90 晚熟暹罗柚 Late-maturing Siamese Pomelo	泰国 Thailand	G1 05-07 葡萄柚 Grapefruit 05-07	浙江 Zhejiang
P91 泰国柚 3(Kitik) Tailand Pomelo No. 3 (Kitik)	泰国 Thailand	G2 胡柚 Huyou	浙江 Zhejiang
P92 暹罗低酸柚 Siamese Acidless Pomelo	泰国 Thailand	G3 蜜罗金 Miluojin Grapefruit	美国 America
P93 泰国柚 Tailand Pomelo	泰国 Thailand	G4 奥罗布郎柯 Oroblanco Grapefruit	美国 America
P94 暹罗蜜柚 Siamese Honey Pomelo	泰国 Thailand	G5 鸡尾葡萄柚 Cocktail Grapefruit	美国 America
P95 强德勒 Chandler Pomelo	美国 America	G6 瑞红葡萄柚 Ruihong Grapefruit	美国 America
P96 Croddanw Pomelo	美国 America	G7 火焰葡萄柚 Flame Grapefruit	美国 America
P97 HB 柚 HB Pomelo	美国 America	G8 粉红汤姆逊 Pink Thompson	美国 America
P98 缅甸柚 Burma Pomelo	缅甸 Myanmar	G9 星路比 Star Ruby Grapefruit	美国 America
P99 古巴柚 Guba Pomelo	墨西哥 Mexico	G10 马叙 Marsh Grapefruit	美国 America
P100 尼 800 Ni 800 Pomelo	尼泊尔 Nepal	G11 红马叙 Red Marsh Grapefruit	美国 America
P101 水晶文旦 Suisyo Buntan	日本 Japan	G12 四倍马叙 Tetraploid Marsh Grapefruit	意大利 Italy
P102 平安柚 Pingan Pomelo	产地未知 NA	G13 奇龙嘉葡萄柚杂种 Qilongjia Grapefruit Hybrid	波多黎各 PuertoRico
P103 夏沙龙柚 Xiashalong Pomelo	产地未知 NA		

注:编号 P 开头为柚品种资源,G 开头为葡萄柚品种资源。

Note: The number beginning with the letter P is pomelo resources; The number beginning with the letter G is grapefruit resources.

判定该性状是否存在明显差异,或当对一个通常采用目测的数量性状作为与另一品种相区别的性状没把握时,应对该数量性状进行测量,通过统计分析的方法判定^[1]。

对柑橘属测试指南中的 25 个数量性状采集田间数据,其中 18 个为测量性状,7 个为群体目测性状(T1、T2、T10、T11、T16、T17、T20)。为提升性状观测的精准性,调查时均采用测量的方法,以测量值对个体或群体进行记录(表 2)。

1.3 数据处理与分析

利用 Microsoft Excel 2021 计算出各性状的最小值、最大值、中值、平均值和标准差。根据公式(1)计算品种内变异系数 CV_1 ,根据公式(2)计算品种间变异系数 CV_2 。其中 X_1 为每个性状每个品种的均值, X_2 为各性状的均值, S_1 为每个性状每个品种的标准差, S_2 为各性状的标准差。

$$CV_1 = S_1 \div X_1 \times 100\% ; \quad (1)$$

$$CV_2 = S_2 \div X_2 \times 100\% 。 \quad (2)$$

遗传多样性指数采用香农多样性指数,计算公式为 $H' = -\sum P_i \times \ln(P_i)$,其中 P_i 表示某个性状第 i 个代码出现的概率, H' 为遗传多样性指数。使用 SPSS 软件进行 K-S 检验及 LSD 检验,通过 Origin 软件绘制频率分布直方图和 Q-Q 图,利用 R 语言进行相关性分析并作图。

2 结果与分析

2.1 柚类种质资源数量性状变异情况分析

性状表达状态在品种内变异系数越小,该性状在品种内表达越稳定;在品种间变异系数越大,遗传背景越丰富,利用该性状鉴别品种的可能性越大。对 117 份柚类种质资源的数量性状进行统计分析(表 3),结果表明,25 个数量性状的品种内变异系数介于 2.96%~26.96%之间,其中 T23 可溶性固形物含量、T14 果实横径和 T15 果形指数的品种内变异系数较小,分别为 2.96%、3.40%和 3.86%,说明这几个性状在品种内的稳定性较好;T11 翼叶宽度和 T21 种子数量的品种内变异系数较大,分别为 23.01%和 26.96%,表明这 2 个性状在品种内的稳定性较差,易受环境等因素影响。

所有数量性状的品种间变异系数均大于品种内变异系数,变化范围在 10.33%~62.90%之间。品种间变异系数较大的有 T11 翼叶宽度(43.33%)、T12 果实质量(39.75%)、T17 中心柱大小(42.49%)、T18 果皮厚度(36.79%)、T21 种子数量(62.90%)和 T24 果汁含酸量(54.82%),这些性状在品种间的变异幅度大,遗传变异较为丰富。

2.2 柚类种质资源数量性状正态性检验

数量性状分级方法的选择与性状表达状态是否

表 2 研究中观测的 25 个数量性状

Table 2 25 quantitative characteristics investigated in this study

性状 编号 No.	性状 Characteristics	单位 Unit	测试 时期 Test period	观测方法 Method of observation	性状 编号 No.	性状 Characteristics	单位 Unit	测试 时期 Test period	观测方法 Method of observation
T1	春梢节间长度 Spring shoot internode length	cm	22	MS	T14	果实横径 Fruit diameter	cm	33	MS
T2	花萼直径 Calyx diameter	mm	24	MS	T15	果形指数 Fruit length/diameter		33	MS
T3	花瓣长度 Petal length	cm	25	MS	T16	花柱痕直径 Stylar scar diameter	mm	33	MS
T4	花瓣宽度 Petal width	cm	25	MS	T17	中心柱大小 Core diameter	cm	33	MS
T5	花瓣指数 Petal length/width		25	MS	T18	果皮厚度 Fruit rind thickness	cm	33	MS
T6	雄蕊数量 Stamens number per flower	个 No.	25	MS	T19	囊瓣数量 Number of segments per fruit	个 No.	33	MS
T7	叶片长度 Leaf blade length	cm	28	MS	T20	汁胞长度 Juice vesicles length	cm	33	MS
T8	叶片宽度 Leaf blade width	cm	28	MS	T21	种子数量(自然授粉) Number of seeds (open pollination)	个 No.	33	MS
T9	叶形指数 Leaf blade length/ width		28	MS	T22	果汁含量 Fruit juiciness	%	33	MG
T10	叶柄长度 Petiole length	cm	28	MS	T23	可溶性固形物含量 Total soluble solids content	%	33	MG
T11	翼叶宽度 Petiole wing width	cm	28	MS	T24	果汁含酸量 Fruit juice acidity	$g \cdot 100 mL^{-1}$	33	MG
T12	果实质量 Single-fruit mass	g	33	MG	T25	可食率 Edible rate	%	33	MG
T13	果实纵径 Fruit length	cm	33	MS					

注:测试时期中 22 代表春梢自剪期,24 代表初花期,25 代表盛花期,28 代表第二次生理落果期,33 代表果实成熟期。观测方法,MS 为个体测量,对 1 批个体或个体的某器官或部位进行逐个测量,获得 1 组个体记录;MG 为群体测量,对 1 批个体或个体的某器官或部位进行测量,获得 1 个群体记录。

Note: In test period, 22 represents the self-pruning period of spring shoots, 24 represents the initial flowering period, 25 represents the full flowering period, 28 represents the second physiological fruit drop period, and 33 represents the fruit maturity period. Method of observation, MS is individual measurement. One group of individual records is obtained by measuring one batch of individuals or one organ or part of individuals one by one; MG is group measurement. One group of individual records is obtained by measuring one batch of individuals or one organ or part of individuals.

符合正态分布密切相关,对各数量性状的数据进行 K-S 正态性检验并绘制频率分布直方图和 Q-Q 图(表 4,图 1)。T3 花瓣长度、T5 花瓣指数、T7 叶片长度、T9 叶形指数、T10 叶柄长度、T11 翼叶宽度、T16 花柱痕直径、T17 中心柱大小、T18 果皮厚度、T19 囊瓣数量、T21 种子数量、T22 果汁含量、T23 可溶性固形物含量、T24 果汁含酸量以及 T25 可食率这 15 个性状的 K-S 检验 p 值大于 0.05,中值与平均值接近,数据分布较均匀,Q-Q 图中实测值与预测正态值偏差不大,符合正态分布;T1 春梢节间长度、T4 花瓣宽度、T6 雄蕊数量及 T8 叶片宽度这 4 个性状的 K-S 检验 p 值小于 0.05,但其频次分布曲线与正态分布曲线较为相似,偏度与峰度值均小于 1,Q-Q 图中实测

值与预测正态值偏差不大,可认为符合近似正态分布;T2 花萼直径、T13 果实纵径、T14 果实横径、T15 果形指数、T20 汁胞长度这 5 个性状的 K-S 检验 p 值小于 0.05,中值与平均值差距较大,频率分布直方图可看出对称性较差且 Q-Q 图中实测值与预测正态值偏差较大,不符合正态分布;T12 果实质量的 K-S 检验 p 值虽大于 0.05,但中值与均值相差较大,数据分布不均匀,同时其 Q-Q 图中实测值与预测正态值也具有偏差,故认为不符合正态分布。

在不符合正态分布的 6 个性状中,发现 3 个性状的频率分布图呈现出明显的双峰分布,这些性状分别是 T12 果实质量、T13 果实纵径和 T14 果实横径。进一步分析发现,这种双峰现象主要由葡萄柚和柚

表 3 25 个数量性状数据的变异分析
Table 3 Variation analysis of 25 quantitative characteristics

性状编号 No.	最小值 Min.	最大值 Max.	中值 Median	均值±标准差 Mean±SD	品种内变异系数 Intra-variety variation coefficient/%	品种间变异系数 Inter-variety variation coefficient/%
T1	7.68	12.72	10.82	10.65±1.10	8.29	13.02
T2	5.07	11.73	9.28	9.09±1.55	7.40	18.67
T3	1.62	3.90	2.85	2.81±0.44	6.39	17.01
T4	0.71	1.61	1.24	1.20±0.20	9.15	19.12
T5	1.85	3.20	2.37	2.37±0.26	10.30	15.10
T6	17.00	41.40	32.40	31.55±4.87	7.72	17.16
T7	7.23	13.92	11.19	11.27±1.33	6.03	13.35
T8	3.74	7.18	5.86	6.01±0.76	6.92	14.68
T9	1.45	2.41	1.93	1.94±0.20	6.21	12.36
T10	1.42	4.13	2.75	2.74±0.61	15.08	26.55
T11	0.31	2.46	1.33	1.31±0.49	23.01	43.33
T12	177.99	1 922.30	1 087.62	1 036.62±402.44	8.88	39.75
T13	6.52	20.36	13.65	14.08±2.85	4.31	21.28
T14	7.48	17.70	14.34	13.84±2.43	3.40	17.84
T15	0.77	1.29	0.96	0.98±0.12	3.86	13.29
T16	1.31	5.02	2.71	2.78±0.66	13.58	27.84
T17	0.48	3.42	1.64	1.63±0.65	15.16	42.49
T18	0.44	2.46	1.32	1.29±0.46	10.46	36.79
T19	9.60	20.60	13.80	13.95±1.97	8.73	16.58
T20	0.75	2.38	1.69	1.69±0.34	7.58	21.63
T21	0.00	164.20	73.60	70.85±41.89	26.96	62.90
T22	10.27	56.74	39.59	40.58±7.84	6.72	20.61
T23	8.70	14.17	10.63	10.75±1.05	2.96	10.33
T24	0.03	2.70	1.02	1.03±0.55	15.71	54.82
T25	36.30	81.97	55.47	55.77±8.58	6.08	16.32

表 4 数量性状 K-S 检验

Table 4 K-S normal test of the quantitative characteristics

性状编号 No.	极差 Extremum	K-S(<i>p</i> 值) K-S (<i>p</i> -value)	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis	性状编号 No.	极差 Extremum	K-S(<i>p</i> 值) K-S (<i>p</i> -value)	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis
T1	5.04 cm	0.04	-0.63	0.11	T14	10.22 cm	0.00	-0.77	-0.03
T2	6.66 mm	0.01	-0.80	0.18	T15	0.52	0.00	0.62	-0.36
T3	2.28 cm	0.06	-0.43	0.22	T16	3.71 mm	0.07	0.60	1.19
T4	0.90 cm	0.03	-0.56	-0.05	T17	2.94 cm	0.20	0.45	0.04
T5	1.35	0.20	0.17	0.34	T18	2.02 cm	0.20	0.19	-0.35
T6	24.40	0.04	-0.64	0.39	T19	11.00	0.07	0.33	0.27
T7	6.77 cm	0.20	-0.40	0.12	T20	1.64 cm	0.00	-0.68	0.86
T8	3.48 cm	0.01	-0.68	0.31	T21	164.20	0.20	-0.06	-0.74
T9	0.96	0.20	-0.01	-0.19	T22	46.47%	0.17	0.14	-0.58
T10	2.71 cm	0.20	0.00	-0.20	T23	5.47%	0.20	0.48	0.34
T11	2.16 cm	0.20	-0.05	-0.63	T24	2.67 g·100 mL ⁻¹	0.20	0.47	0.16
T12	1 744.32 g	0.20	-0.28	-0.50	T25	45.68%	0.20	0.14	0.02
T13	13.84 cm	0.00	-0.64	0.30					

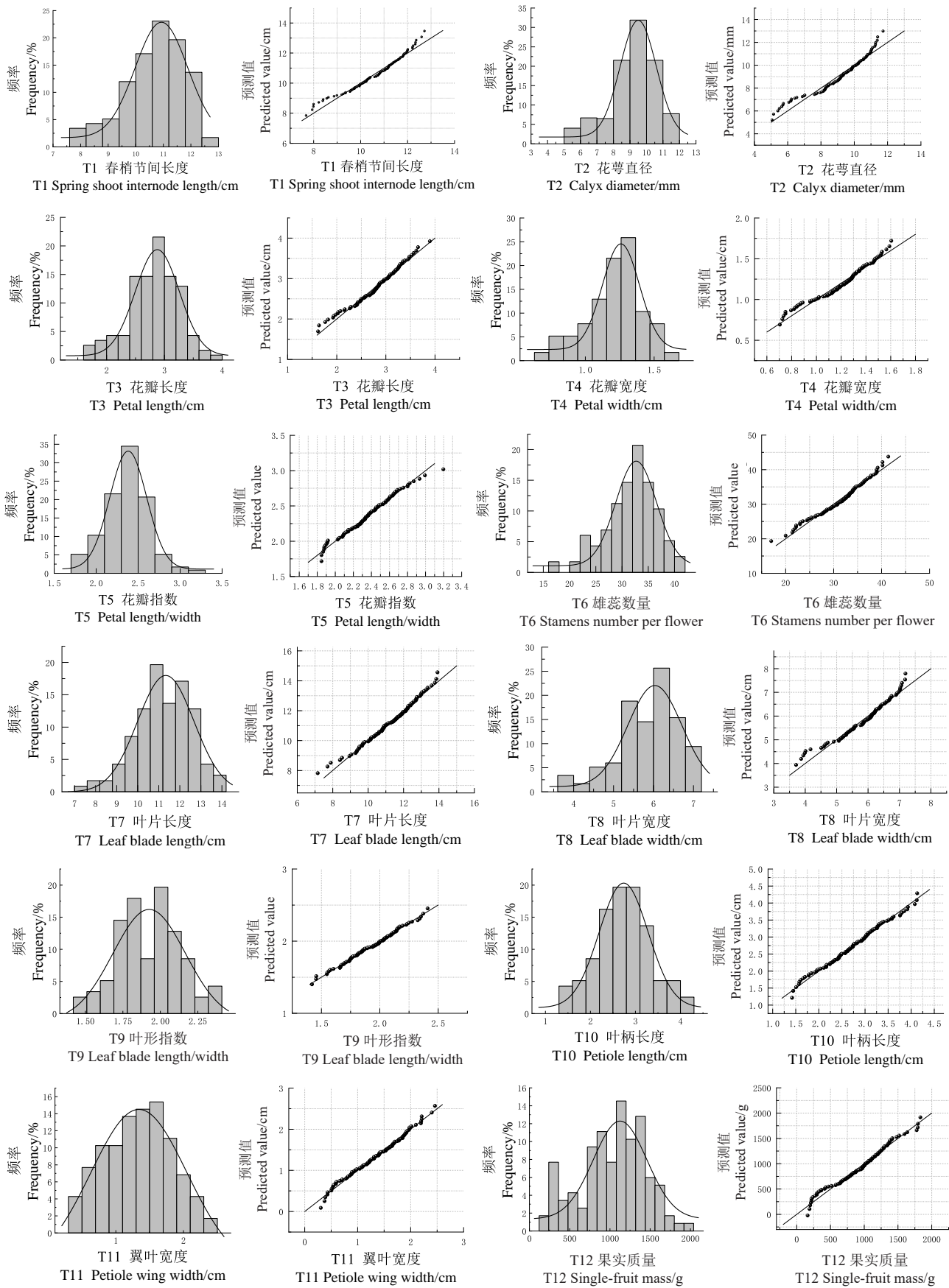


图 1 25 个数量性状的频率分布图和 Q-Q 图

Fig. 1 Frequency distribution of 25 quantitative characteristics and Q-Q testing

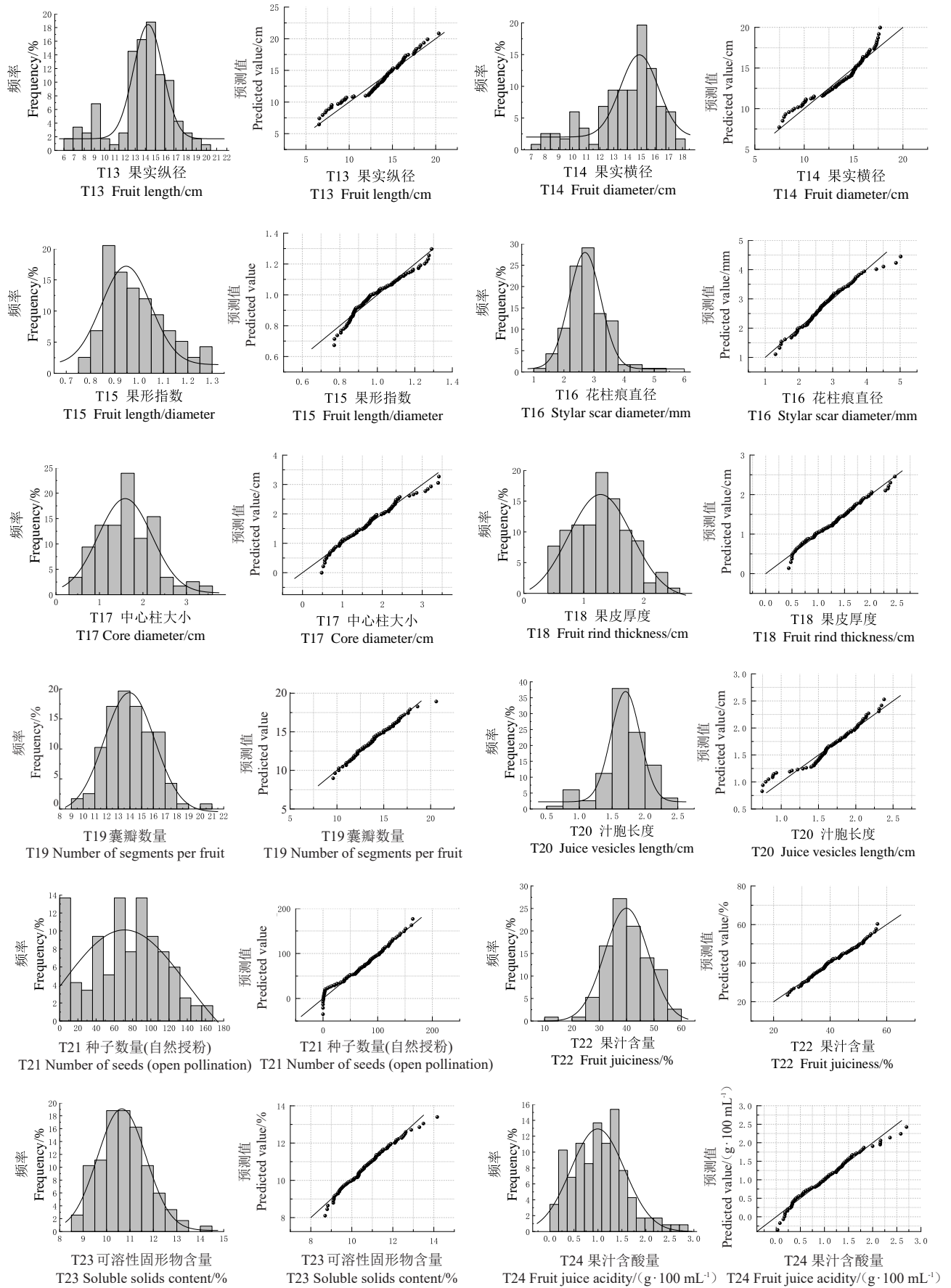


图 1 (续) Fig. 1 (Continued)

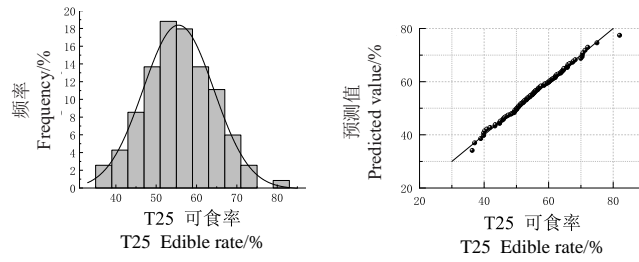


图 1 (续) Fig. 1 (Continued)

两个种之间的显著差异所引起。葡萄柚属于小型果而柚属于大型果,两者在这 3 个的性状上表现出较大的差异,从而导致双峰分布的情况。因此若将柚和葡萄柚在这些数量性状上进行统一分级,会导致分级范围宽而将有差异的品种错判为无差异,进而增加错误发生的概率。将针对这 3 个性状分别为柚和葡萄柚制定不同的分级标准,并以“编号 1(仅适用于柚)”、“编号 2(仅适用于葡萄柚)”的形式呈现。

上述 3 个性状在柚和葡萄柚群体中的分布情况

及其 K-S 检验如图 2、表 5 所示。对两类群数据进行分离处理后,发现除柚群体在性状 T14 的数据不符合正态分布外,其余基本符合正态分布或近似正态分布。

2.3 柚类种质资源数量性状分级和多样性分析

在 DUS 测试中,对符合正态分布的数量性状分级使用较多的是概率分布法和最小显著差法。概率分布法按 $(X-1.281 8S)$ 、 $(X-0.524 6S)$ 、 $(X+0.524 6S)$ 和 $(X+1.281 8S)$ 4 个分点可将性状分为 3 或 5 级(X 为

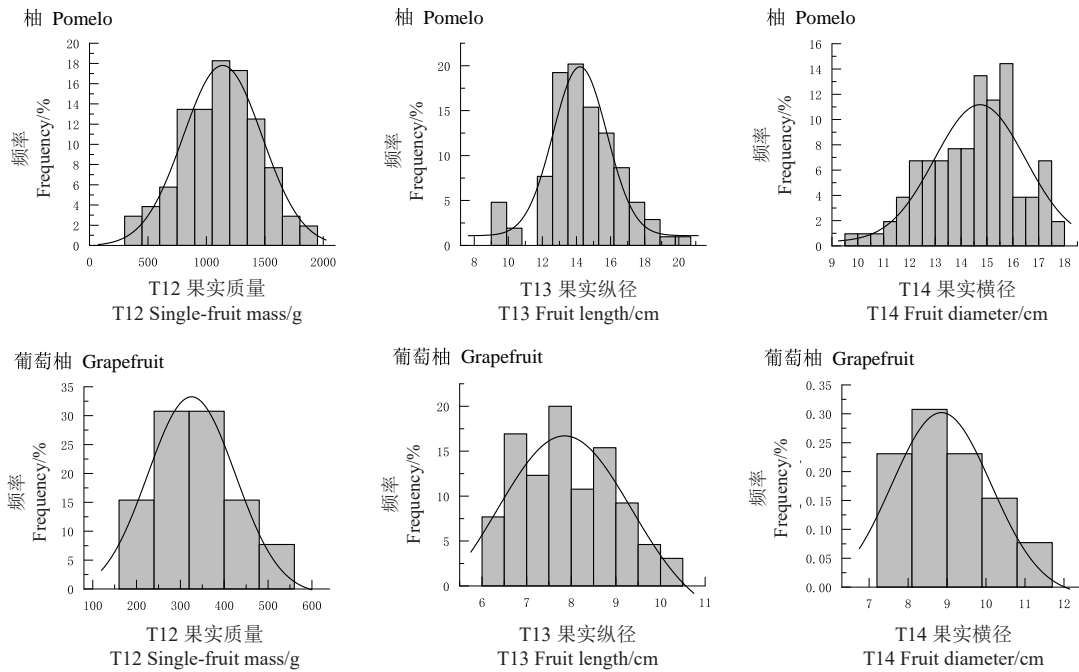


图 2 果实质量、果实纵径和果实横径在柚和葡萄柚群体中的分布情况

Fig. 2 Distribution of single-fruit mass, fruit length and fruit diameter in pomelo and grapefruit populations

表 5 基于柚和葡萄柚群体数据的 3 个数量性状 K-S 检验

Table 5 K-S test of three quantitative characteristics based on population data of pomelo and grapefruit

性状编号 No.	柚 Pomelo			葡萄柚 Grapefruit		
	K-S(<i>p</i> 值) K-S (<i>p</i> -value)	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis	K-S(<i>p</i> 值) K-S (<i>p</i> -value)	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis
T12	0.200	-0.084	-0.209	0.200	0.406	-0.885
T13	0.121	-0.067	0.689	0.200	0.240	-0.859
T14	0.016	-0.497	-0.087	0.200	0.016	-0.761

均值、 S 为标准差);最小差异显著法通过计算每个数量性状的 $LSD_{0.05}$ 的值,以测量数据的中值为中心,级差大于等于2倍 $LSD_{0.05}$ 向两侧进行等距划分,再通过实际情况对每个区间进行调整,可将数量性状分为3~9级不等。国际植物新品种保护联盟(简称UPOV)提出每个分级所包含的区间不得小于2倍 $LSD_{0.05}$ ^[12],不仅确保了每个相邻分级之间具有明显的差异,而且能将相对集中的数据进行较为细致的划分。

大多性状利用概率分布法的分级区间不满足大于等于2倍 $LSD_{0.05}$ 的要求,且有较多的品种资源落在两端代码的范围,不利于区分特殊的(如极大或者极小)品种,故对符合正态分布和近似正态分布的性状均采用最小显著差法进行分级。对于不符合正态分布的数量性状,运用极差法来进行划分。首先通过极差与分级数的比值计算出每一个数量性状的分级级差,以分布范围的中位数为分级中点,按公式 $y=G\pm(1/2+n)x$ ($n=0,1,2,3,4$, G 为数据中位数, x 为分级级差)进行级别划分,确定各数量性状分级区间。根据性状的变异、数据分布情况以及田间的整体表现情况来确定分级数(表6)。

通过最小差异显著法和极差法,将性状T1春梢节间长度、T6雄蕊数量、T10叶柄长度、T11翼叶宽度、T16花柱痕直径和T25可食率分成3个连续分布的分级范围,性状T2花萼直径、T5花瓣指数、T9叶形指数、T12.2果实质量(仅适用于葡萄柚)、T13.2果实纵径(仅适用于葡萄柚)、T14.2果实横径(仅适用于葡萄柚)、T15果形指数、T17中心柱大小、T19囊瓣数量、T20汁胞长度、T21种子数量(自然授粉)、T22果汁含量和T23可溶性固形物含量分成5个连续分布的分级范围,性状T3花瓣长度、T4花瓣宽度、T7叶片长度、T8叶片宽度、T13.1果实纵径(仅适用于柚)、T14.1果实横径(仅适用于柚)和T18果皮厚度分成7个连续分布的分级范围,性状T12.1果实质量(仅适用于柚)和T24果汁含酸量分成9个连续分布的分级范围。

25个性状的区间均大于2倍的 $LSD_{0.05}$,符合UPOV对相邻分级间明显差异的要求。将分级数与柑橘属测试指南的分级数相比(表6),T2花萼直径、T15果形指数、T20汁胞长度由3级增为5级;T3花瓣长度、T4花瓣宽度、T7叶片长度、T8叶片宽度、T18果皮厚度由9级减为7级;T5花瓣指数、T9叶形

指数、T17中心柱大小、T19囊瓣数量、T22果汁含量、T23可溶性固形物含量由9级减为5级。对于性状T12果实质量、T13果实纵径和T14果实横径,中国柑橘属测试指南中分为了9级、3级、3级,笔者在本研究中针对柚类种质资源的分布特点,单独划分了柚和葡萄柚的分级范围,这3个性状对柚划分为9级、7级、7级,对葡萄柚均划分为5级,此分级范围更适用于中国柚类的DUS测试。

利用分布频率计算的25个数量性状的遗传多样性指数 H' 在0.878~1.954之间变化(表7),均值为1.318,遗传多样性指数 H' 从高到低依次为:T24>T12.1>T18>T14.1>T3>T13.1>T8>T7>T4>T14.2>T21>T12.2>T17>T9>T5>T13.2>T20>T2>T23>T15>T22>T11>T10>T19>T6>T1>T25>T16。T24果汁含酸量、T12.1果实质量(仅适用于柚)、T18果实横径等性状的多样性指数相对较大,表明这些性状的表现型较多且在不同等级中均匀分布。

2.4 柚类种质资源数量性状相关性分析

为了排除种间差异带来的影响,除去葡萄柚品种资源单独绘制104个柚品种资源在25个数量性状之间的相关性热图(图3)。多个性状之间存在不同程度相关性,相关系数分布在-0.69~0.91之间,花、叶、果内部间包含的性状相关性高。5个花性状间的相关系数绝对值在0.25~0.73之间,平均相关系数绝对值为0.46,T2花萼直径与T3花瓣长度、T4花瓣宽度、T6雄蕊数量存在极显著正相关关系(0.59、0.73、0.47);T4花瓣宽度与T3花瓣长度、T6雄蕊数量呈极显著正相关(0.66、0.50),与T5花瓣指数呈极显著负相关(-0.48)。5个叶性状间的相关系数绝对值在0.03~0.82之间,平均0.33,T10叶柄长度与T11翼叶宽度呈极显著正相关(0.82);T7叶片长度与T8叶片宽度、T9叶形指数和T10叶柄长度呈极显著正相关(0.47、0.44、0.31);T8叶片宽度与T9叶形指数呈极显著负相关(-0.58)。14个果实性状间的相关系数绝对值在0.00~0.91之间,平均0.22,T14果实横径与T12果实质量的相关系数最大,为0.91,呈极显著正相关;T22果汁含量与T25可食率呈极显著正相关(相关系数为0.76);T13果实纵径与T14果实横径、T15果形指数和T18果皮厚度呈极显著正相关(0.60、0.55、0.47)。另外,T18果皮厚度还与T22果汁含量、T25可食率呈极显著负相关(-0.69、-0.67),表明果皮

表 6 25 个数量性状的分级范围和分布频率
Table 6 Grading range and frequency for 25 quantitative characteristics

性状编号 No.	分级范围及分布频率 Grading and frequency									本研究 分级数 Number of grades in this study	柑橘属测试 指南分级数 Number of grades in the testing guide lines of Citrus	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9			
T1/cm				≤9.80 20.7%	9.80~11.40 54.5%	>11.40 24.8%					3	3
T2/mm			≤6.25 8.6%	6.25~8.00 8.6%	>8.00~9.75 44.8%	>9.75~11.50 35.3%	>11.50 2.6%				5	3
T3/cm		≤1.80 2.6%	1.80~2.20 7.8%	>2.20~2.60 19.8%	>2.60~3.00 35.3%	>3.00~3.40 27.6%	>3.40~3.80 6.0%	>3.80 0.9%			7	9
T4/cm		≤0.66 0.9%	0.66~0.86 9.4%	>0.86~1.06 11.1%	>1.06~1.26 33.3%	>1.26~1.46 35.0%	>1.46~1.66 10.3%	>1.66 0.0%			7	9
T5			≤1.88 5.1%	1.88~2.20 20.5%	>2.20~2.52 47.0%	>2.52~2.84 23.9%	>2.84 3.4%				5	9
T6/个, No.				≤28.30 23.9%	28.30~35.00 53.8%	>35.00 22.2%					3	3
T7/cm		≤8.10 2.6%	8.10~9.35 5.1%	>9.35~10.60 23.1%	>10.60~11.85 35.9%	>11.85~13.10 27.4%	>13.10~14.35 6.0%	>14.35 0.0%			7	9
T8/cm		≤3.90 1.7%	3.90~4.65 6.8%	>4.65~5.40 16.2%	>5.40~6.15 36.8%	>6.15~6.90 29.9%	>6.90~7.65 8.5%	>7.65 0.0%			7	9
T9			≤1.55 3.3%	1.55~1.80 23.1%	>1.80~2.05 45.5%	>2.05~2.30 23.1%	>2.30 5.0%				5	9
T10/cm				≤2.35 24.8%	2.35~3.15 51.3%	>3.15 23.9%					3	3
T11/cm				≤1.05 29.9%	1.05~1.65 41.9%	>1.65 28.2%					3	3
T12.1/g	≤230.0 0.0%	230.0~485.0 3.8%	>485.0~740.0 8.7%	>740.0~995.0 24.0%	>995.0~1250.0 26.0%	>1250.0~1505.0 25.0%	>1505.0~1760.0 9.6%	1760.0~2015.0 2.9%	>2015.0 0.0%		9	9
T12.2/g			≤183.0 7.7%	183.0~278.0 38.5%	>278.0~373.0 30.8%	>373.0~468.0 7.7%	>468.0 15.4%				5	5
T13.1/cm		≤10.00 4.8%	10.00~11.80 1.9%	>11.80~13.60 27.9%	>13.60~15.40 34.6%	>15.40~17.20 21.2%	>17.20~19.00 7.7%	>19.00 1.9%			7	3
T13.2/cm			≤6.26 0.0%	6.26~7.36 30.8%	>7.36~8.46 38.5%	>8.46~9.56 23.1%	>9.56 7.7%				5	5
T14.1/cm		≤10.60 3.8%	10.60~12.20 7.7%	>12.20~13.80 23.1%	>13.80~15.40 34.6%	>15.40~17.00 22.1%	>17.00~18.60 8.7%	>18.60 0.0%			7	3

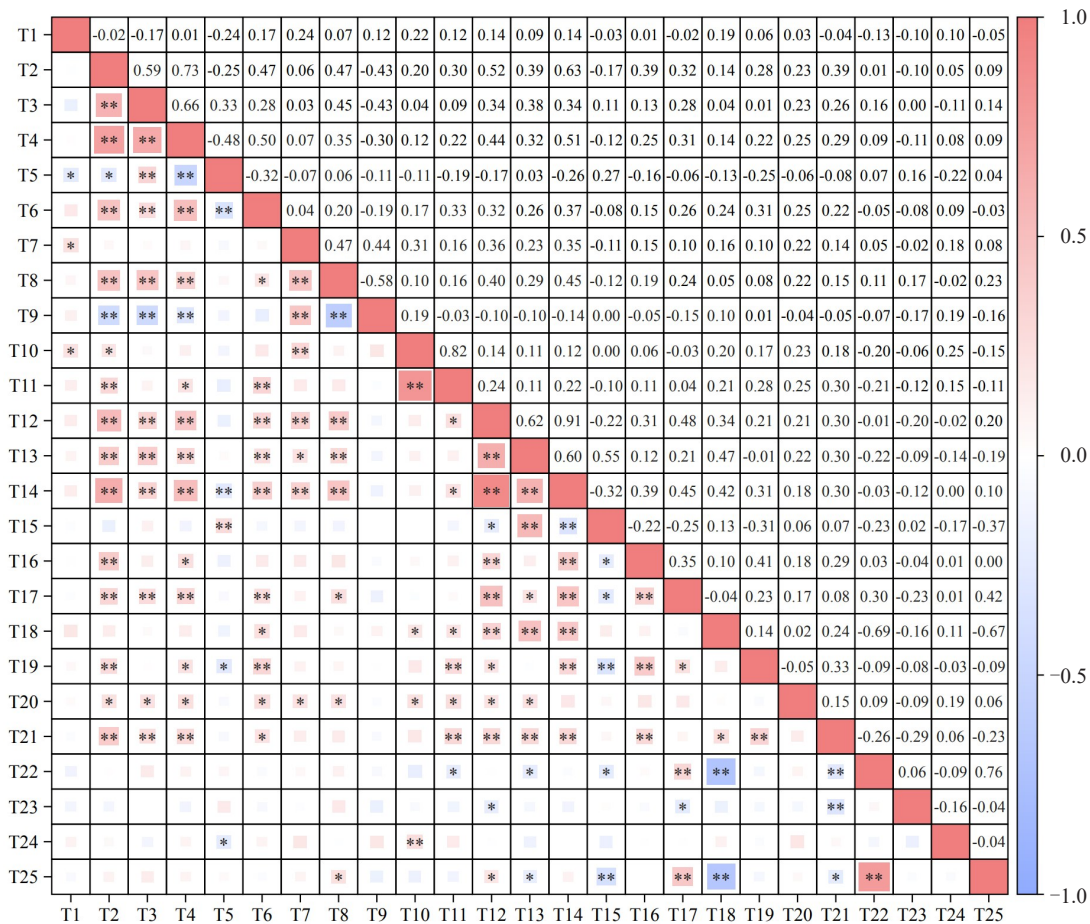
表 6 (续) Table 6 (Continued)

性状编号 No.	分级范围及分布频率 Grading and frequency									本研究 分级数 Number of grades in this study	柑橘属测试 指南分级数 Number of grades in the testing guidelines of Citrus
	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
T14.2/cm			≤7.50 7.7%	7.50~8.60 30.8%	>8.60~9.70 30.8%	>9.60~10.80 23.1%	>10.80 7.7%			5	
T15			≤0.73 0.0%	0.73~0.90 24.0%	>0.90~1.07 46.2%	>1.07~1.24 25.0%	>1.24 4.8%			5	3
T16/mm			≤2.22 15.4%	2.22~3.32 65.8%	>3.32 18.8%					3	3
T17/cm			≤0.60 4.3%	0.60~1.30 27.4%	>1.30~2.00 40.2%	>2.00~2.70 22.2%	>2.70 6.0%			5	9
T18/cm		≤0.45 0.9%	0.45~0.80 17.1%	>0.80~1.15 19.7%	>1.15~1.50 28.2%	>1.50~1.85 24.8%	>1.85~2.20 5.1%	>2.20 4.3%		7	9
T19/个, No.			≤8.95 0.0%	8.95~12.30 23.1%	>12.30~15.65 57.3%	>15.65~19.00 18.8%	>19.00 0.9%			5	9
T20/cm			≤1.10 7.7%	1.10~1.45 8.5%	>1.45~1.80 49.6%	>1.80~2.15 29.9%	>2.15 4.3%			5	3
T21/个, No.			≤5.00 12.0%	5.00~49.00 19.7%	>49.00~93.00 36.8%	>93.00~137.00 26.5%	>137.00 5.1%			5	5
T22/%			≤22.40 3.4%	22.40~33.80 17.9%	>33.80~45.20 51.3%	>45.20~56.50 26.5%	>56.50 0.9%			5	9
T23/%			≤8.60 0.0%	8.60~10.00 39.3%	>10.00~11.40 37.6%	>11.40~12.80 19.7%	>12.80 3.4%			5	9
T24/ (g·100 mL ⁻¹)	≤0.05 0.9%	0.05~0.35 12.0%	>0.35~0.65 15.4%	>0.65~0.95 16.2%	>0.95~1.25 19.7%	>1.25~1.55 20.5%	>1.55~1.85 9.4%	>1.85~2.15 3.4%	>2.15 2.6%	9	9
T25/%			≤49.00 18.8%	49.00~62.00 56.4%	>62.00 24.8%					3	3

表 7 25 个数量性状的多样性指数

Table 7 Shannon's index of 25 quantitative characteristics

性状编号 No.	遗传多样性指数 H'	性状代码 No.	遗传多样性指数 H'	性状代码 No.	遗传多样性指数 H'
T1	1.002	T11	1.083	T18	1.652
T2	1.224	T12.1	1.704	T19	1.013
T3	1.547	T12.2	1.413	T20	1.251
T4	1.474	T13.1	1.547	T21	1.446
T5	1.290	T13.2	1.266	T22	1.159
T6	1.010	T14.1	1.574	T23	1.170
T7	1.475	T14.2	1.458	T24	1.954
T8	1.487	T15	1.159	T25	0.983
T9	1.297	T16	0.878		
T10	1.030	T17	1.358		



*表示显著相关,**表示极显著相关。

* indicates significant correlation, ** indicates extremely significant correlation.

图 3 25 个数量性状相关性热图

Fig. 3 Correlation heat map of 25 quantitative characteristics

越厚,果汁含量和可食率越低。不同类型的性状也存在一定的相关性,比如 T2 花萼直径、T3 花瓣长度、T4 花瓣宽度与 T9 叶形指数呈极显著负相关(-0.43,-0.43,-0.30)、与 T8 叶片宽度呈极显著正相关(0.47,0.45,0.35);T12 果实质量、T13 果实纵径、

T14 果实横径与 T2 花萼直径、T3 花瓣长度、T4 花瓣宽度、T6 雄蕊数量、T8 叶片宽度也均呈极显著正相关。

2.5 数量性状主成分分析

利用 SPSS 将 25 个数量性状进行主成分分析,

以特征值大于等于1为标准,共提取出6个主成分(表8),累积贡献率达72.76%,表明这25个数量性状的遗传信息可由这6个主成分代表。第一个主成分特征值为7.57,贡献率为30.27%,包含着最多的信息,主要由果实横径、果实质量、果实纵径、花瓣宽度、花萼直径、花瓣长度、中心柱大小、雄蕊数量、汁胞长度、叶片宽度和种子数量这11个性状决定;第二个主成分特征值为2.99,贡献率为11.98%,包含可食率、果汁含量和果皮厚度3个性状,主要是与果实的食用性相关的性状;第三个主成分的特征值为2.60,贡献率为10.40%,包含叶柄长度、翼叶宽度、叶片长度和春梢节间长度4个性状,主要与叶片大小和春梢节间长度相关;第四个主成分的特征值为2.00,贡献率为7.98%,包含囊瓣数量、花柱痕直径、果形指数和花瓣指数4个性状,为果心以及长宽比相关性状;第五个主成分的特征值为1.61,贡献率为6.45%,包含叶形指数1个性状;第六个主成分的特征值为1.42,贡献率为5.67%,包含可溶性固形物含量和果汁含酸量2个性状,为果实品质相关性状。

表8 主成分分析特征值、贡献率和累积贡献率
Table 8 Principal component analysis of eigenvalue, contribution rate and cumulative contribution rate

成分 Component	特征值 Characteristic value	贡献率 Contribution rate/%	累积贡献率 Cumulative contribution rate/%
1	7.57	30.27	30.27
2	2.99	11.98	42.25
3	2.60	10.40	52.65
4	2.00	7.98	60.63
5	1.61	6.45	67.09
6	1.42	5.67	72.76

3 讨 论

变异系数是衡量数据离散程度的重要指标,不仅能够评估单一数据集内的变异性,还能够跨数据集进行变异程度的比较。在本研究中,25个数量性状中果实质量和果汁含酸量在品种内的稳定性较好,其变异系数分别为8.88%和15.71%,同时在品种间表现出较丰富的遗传多样性,变异系数分别为39.75%和54.82%,说明这两个性状在描述和区分品种时具有较高的实用价值和应用潜力。种子数量和翼叶宽度的品种间变异系数分别达62.90%和43.33%,尽管这两个性状在品种间存在较大的遗传变异,但两者的品种内变异系数也较大,分别为

26.96%和23.01%,反映这两个性状在品种内的稳定性较差,因此在对种子数量和翼叶宽度进行测试时,需要考虑环境条件等因素以确保测试结果的准确性和可靠性。

DUS测试数量性状的合理分级是特异性判定的重要环节,也是制定、修订测试指南最重要和最关键的部分^[13]。为方便测试数据信息化处理,以及消除同一品种在不同年度、不同测试地点间同一性状表达数据不同造成的差异,在DUS测试中需要将性状表达状态实际测量值转化为以数字表示的分级代码。数量性状分级过少,每一级可能导致性状表达状态有差异的两个品种代码相同,增加错误概率;分级过多,不仅无法排除品种内差异、校正测量误差,还可能错将两个相似品种判定为有差异,导致误判^[14]。数量性状的分级有极差法、概率分级法、中值平均标准差法以及最小显著差法等多种。极差法又称等距法,此方法简单直观,在向日葵^[15]、毛花猕猴桃^[16]等数量性状的分级中得以应用;概率分级法依据数据的分布规律进行分级,适用于正态分布的性状,该方法在枣^[17]、草莓^[18]、大花惠兰^[19]、杜仲^[20]等数量性状的分级中均有应用,能较准确地反映性状的变异范围和分布状态,但通常只能将数量性状分为3级或5级^[21],并且对于数据分布比较集中的性状会存在分级区间过小的情况,使之不满足UPOV对数量性状的基本要求(分级级差不得小于2倍 $LSD_{0.05}$);褚云霞等^[22]和纪军建等^[13]利用中值平均标准差法进行数量性状分级,此法操作简便,但若数据呈偏态分布,仅依靠平均值和标准差进行分级可能会导致分级不够精细或不够准确;最小显著差法适用于符合正态分布的性状,能够检测出较小的差异,即使在性状数据相近时也能区分出显著性差异,同时灵活性强,可将性状分为3~9级不等,目前已经广泛应用于多种植物的数量性状分级^[23-25]。不同的分级方法有各自的适用范围和局限性,分级方法的选择需考虑测试目标、性状的分布特征以及测试指南的要求。笔者在本研究中根据柚类种质的调查数据,将25个数量性状进行正态性检验,对符合正态分布的性状采用最小显著差法,对不符合正态分布的性状选用极差法,同时结合田间表现情况及未来育种发展的可能性,对25个数量性状的分级进行调整,最终各性状的分级区间均符合大于等于2倍 $LSD_{0.05}$ 的基本要求。由于数量性状的表达易受到栽

培环境和气候条件的影响,本研究中的分级标准以重庆地区柚类的生长情况为基础,具体分级范围可能不完全适用于其他生态区域。确定的25个数量性状表达状态划分可作为参考,在测试过程中研究者需根据标准品种的表达状态并结合田间情况做出相应的调整,确保能够准确地评估和比较不同区域内品种的性状差异。

由于数量性状的表达易受到栽培环境和气候条件的影响,同一品种在不同年度或区域间的表现可能会有所变化^[26]。因此即便UPOV发布了相应的测试指南,也需要针对各国家和地区的具体条件进行调整,以确保分级标准的实用性^[27]。UPOV作为国际指南,对数量性状的分级大多采用最大尺度(1~9级尺度),各成员国可结合本国的具体情况对其进行修改。笔者在本研究中针对柚类种质资源,对中国柑橘属测试指南中的数量性状重新进行划分,与中国柑橘属测试指南相比:花萼直径、果形指数、汁胞长度由3级增为5级,花瓣长度、花瓣宽度、叶片长度、叶片宽度、果皮厚度由9级减为7级,花瓣指数、叶形指数、中心柱大小、囊瓣数量、果汁含量、可溶性固形物含量由9级减为5级。与UPOV发布的柚类测试指南(TG/204/1)相比:花瓣长度、花瓣宽度、叶片长度、叶片宽度、果皮厚度由9级减为了7级;花萼直径、花瓣指数、果形指数、中心柱大小、囊瓣数量、汁胞长度、果汁含量、可溶性固形物含量、种子数量(自然授粉)由9级减为了5级;叶柄长度、翼叶宽度、花柱痕直径由9级减为了3级。而对于果实质量、果实纵径和果实横径,笔者在本研究中发现这3个性状在柚类材料的频率分布图中呈明显的双峰型分布,且这种分布情况是由柚和葡萄柚的种间差异造成的。中国柑橘属测试指南和UPOV柚类测试指南(TG/204/1)均没有在这3个性状上对两者进行区分,笔者在本研究中通过对两年的测量数据分级发现,若两个种一起分级会导致分级区间范围过大,可能会使两个有差异的品种代码相同,增加测试的错误概率,不利于两种类型品种的区分^[14]。玉米测试中存在着类似的情况,自交系玉米在植株高度、穗位高度和果穗长度等性状上会明显低于杂交种玉米,对此玉米DUS测试指南(GB/T 19557.24—2018)在这些性状上进行划分,对不同类型品种分别制定了分级标准和标准品种。同样棉花DUS测试指南(NY/T 2238—2012)也采用了相同的方法,在6个数

量性状上对陆地棉和海岛棉两个种分类分级。柚与葡萄柚虽同为柚类,在较多性状上有着相似之处,使得两者可同用一本测试指南进行测试,但在体型的大小上却存在较大的区别。因此笔者在本研究中参照玉米DUS测试指南的处理方法,分别在果实质量、果实纵径和果实横径3个性状上制定了柚和葡萄柚的分级标准。该分级范围更适用于中国柚类的区分和鉴别,增强了对柚类品种鉴定的准确性,为柚类DUS测试的准确性和科学性提供理论基础和参考。

柑橘属含有宽皮柑橘、甜橙、柠檬、柚等几十个种,这些种亲缘关系较近,但在形态上却差异巨大。目前中国柑橘属的DUS测试仅有《植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南 柑橘》(NY/T 2435—2013)一个测试指南可依,采用同一个指南作为测试标准可能会对性状表达状态的判断产生偏差。例如柑橘属指南中“果实:果脐”、“果实:乳突”在柚类中就鲜有表达。国际植物新品种保护联盟(UPOV)已将柑橘属分为了宽皮柑橘、橙、柠檬和来檬、柚和葡萄柚等不同组,每组都有其特定的测试指南,可以更精确地反映不同品种间的差异。因此,为更好地开展柚类品种测试工作,服务广大育种者和生产者,使中国柚类品种的DUS测试工作有其特有的标准可依,确保植物品种DUS测试数据的准确性和权威性,应当结合国际测试指南,有针对性地制定适合中国柚类品种鉴定及保护的DUS测试指南,从而更精准地为柚类品种DUS测试服务。

4 结 论

依据《植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南 柑橘》对25个数量性状数据进行了分级研究,确定了各数量性状的分级范围,对柚类DUS测试数量性状描述分级具有较好的指导作用,并可对下一步修订柑橘属DUS测试指南提供参考。

参考文献 References:

- [1] 张太平,彭少麟. 柚的起源、演化及分布初探[J]. 生态学杂志, 2000, 19(5): 58-61.
ZHANG Taiping, PENG Shaolin. Introduction to the origin and evolution of pomelo and its distribution in China[J]. Chinese Journal of Ecology, 2000, 19(5): 58-61.
- [2] 郭林榕, 陈文光, 熊月明. 葡萄柚的产销及发展前景[J]. 福建果树, 2002(3): 34-35.

- GUO Linrong, CHEN Wenguang, XIONG Yueming. Grapefruit production, marketing and development prospects[J]. Fujian Fruits, 2002(3): 34-35.
- [3] BARRETT H C, RHODES A M. A numerical taxonomic study of affinity relationships in cultivated citrus and its close relatives[J]. Systematic Botany, 1976, 1(2): 105.
- [4] 钟广炎, 叶荫民. 柑橘植物的数值分类学研究[J]. 植物分类学报, 1993, 31(3): 252-260.
- ZHONG Guangyan, YE Yinmin. A numerical taxonomy study of *Citrus* and its close relatives[J]. Acta Phytotaxonomica Sinica, 1993, 31(3): 252-260.
- [5] LI X M, XIE R J, LU Z H, ZHOU Z Q. The origin of cultivated citrus as inferred from internal transcribed spacer and chloroplast DNA sequence and amplified fragment length polymorphism fingerprints[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2010, 135(4): 341-350.
- [6] 彭良志. 柚类产业发展现状与发展对策[J]. 中国果业信息, 2008(6): 8-11.
- PENG Liangzhi. Development status and development countermeasures of pomelo industry[J]. China Fruit News, 2008(6): 8-11.
- [7] 张太平, 彭少麟, 王峥峰, 陈碧琛. 柚类种质资源研究与保护概况[J]. 生态科学, 2001, 20(3): 8-13.
- ZHANG Taiping, PENG Shaolin, WANG Zhengfeng, CHEN Bichen. Introduction to the study and protection of pomelo germplasm[J]. Ecologic Science, 2001, 20(3): 8-13.
- [8] 胡安华, 窦万福, 祁静静, 雷天刚, 陈善春, 邹修平, 彭爱红, 许兰珍, 姚利晓, 何永睿, 李强. 柚类种质资源表型多样性分析及综合评价[J]. 分子植物育种, 2020, 18(2): 650-664.
- HU Anhua, DOU Wanfu, QI Jingjing, LEI Tiangang, CHEN Shanchun, ZOU Xiuping, PENG Aihong, XU Lanzhen, YAO Lixiao, HE Yongrui, LI Qiang. Phenotypic diversity analysis and comprehensive evaluation of pomelo germplasms[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(2): 650-664.
- [9] 汪奇. 我国柚品种(系)选育分析及海南柚种质资源收集、鉴定与初步评价[D]. 海口: 海南大学, 2021.
- WANG Qi. Breeding analysis of pomelo varieties (lines) in China and collection, identification and preliminary evaluation of pomelo germplasm resources in Hainan[D]. Haikou: Hainan University, 2021.
- [10] 褚云霞, 陈海荣, 邓姗, 黄志城, 李寿国. 中外植物新品种保护 DUS 审查方式之比较与借鉴[J]. 种子, 2016, 35(6): 70-74.
- CHU Yunxia, CHEN Hairong, DENG Shan, HUANG Zhicheng, LI Shouguo. The comparison and revelation on the DUS testing methods of protection of plant new varieties among China and foreign countries[J]. Seed, 2016, 35(6): 70-74.
- [11] 唐浩. 植物品种特异性、一致性、稳定性测试总论[M]. 北京: 中国农业出版社, 2017: 25-28.
- TANG Hao. General introduction to plant variety distinctness, uniformity and stability testing[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2017: 25-28.
- [12] UPOV. Document TGP/8/1 Use of statistical procedures in distinctness, uniformity and stability testing[S]. 2002.
- [13] 纪军建, 付国庆, 寇淑君, 王瑶, 左振兴, 杨德智, 刘晓婕, 霍阿红. 谷子新品种 DUS 测试数量性状分级及遗传多样性研究[J]. 种子, 2022, 41(9): 17-27.
- JI Junjian, FU Guoqing, KOU Shujun, WANG Yao, ZUO Zhenxing, YANG Dezhi, LIU Xiaojie, HUO Ahong. Quantitative character classification and genetic diversity of new millet varieties based on DUS testing[J]. Seed, 2022, 41(9): 17-27.
- [14] 郭晓亮, 王红娟, 段媛媛, 阮芝艳. 重齿当归形态数量性状的分级研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2021, 29(6): 688-693.
- GUO Xiaoliang, WANG Hongjuan, DUAN Yuanyuan, RUAN Zhiyan. Classification study on morphological quantitative characteristics of *Angelica biserrata*[J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 2021, 29(6): 688-693.
- [15] 王永行, 单飞彪, 白立华, 杜瑞霞, 杨钦方, 刘春晖. 向日葵 DUS 测试主要数量性状的变异及概率分布研究[J]. 作物研究, 2019, 33(1): 26-28.
- WANG Yongxing, SHAN Feibiao, BAI Lihua, DU Ruixia, YANG Qinfang, LIU Chunhui. Variation and distribution of main quantitative characters of sunflower in DUS testing[J]. Crop Research, 2019, 33(1): 26-28.
- [16] 郎彬彬, 朱博, 谢敏, 张文标, SEYREK U A, 黄春辉, 徐小彪. 野生毛猕猴桃种质资源主要数量性状变异分析及评价指标探讨[J]. 果树学报, 2016, 33(1): 8-15.
- LANG Binbin, ZHU Bo, XIE Min, ZHANG Wenbiao, SEYREK U A, HUANG Chunhui, XU Xiaobiao. Variation and probability grading of the main quantitative characteristics of wild *Actinidia eriantha* germplasm resources[J]. Journal of Fruit Science, 2016, 33(1): 8-15.
- [17] 刘孟军. 枣树数量性状的概率分级研究[J]. 园艺学报, 1996, 23(2): 105-109.
- LIU Mengjun. Studies on the variations and probability gradings of major quantitative characters of Chinese jujube[J]. Acta Horticulturae Sinica, 1996, 23(2): 105-109.
- [18] 杨雷, 杨莉, 李莉, 孙立祎, 郝保春. 草莓种质资源果实主要数量性状变异及概率分级[J]. 西南农业学报, 2007, 20(5): 1067-1069.
- YANG Lei, YANG Li, LI Li, SUN Liyi, HAO Baochun. Variation and probability grading of main quantitative characters of fruit in strawberry germplasm resource[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2007, 20(5): 1067-1069.
- [19] 张韶伊, 宁惠娟, 范义荣. 大花蕙兰主要数量性状的变异及概率分级[J]. 浙江农业科学, 2013, 54(9): 1118-1121.
- ZHANG Shaoyi, NING Huijuan, FAN Yirong. Variation and probability grading of the main quantitative traits of *C. grandiflora*[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2013, 54(9): 1118-1121.
- [20] 杜庆鑫, 庆军, 王璐, 刘攀峰, 何凤, 朱利利, 杜红岩. 杜仲种质资源果实主要数量性状变异及概率分级[J]. 植物研究, 2019, 39(3): 387-394.

- DU Qingxin, QING Jun, WANG Lu, LIU Panfeng, HE Feng, ZHU Lili, DU Hongyan. Variation and probability grading of main quantitative traits of fruits for *Eucommia ulmoides* germplasm[J]. Bulletin of Botanical Research, 2019, 39(3):387-394.
- [21] 王红娟, 蒋晓英, 官玲, 唐荣莉, 白文钦, 林清. 南方春大豆品种 DUS 测试数量性状表达状态分级[J]. 分子植物育种, 2023, 21(3):1015-1025.
- WANG Hongjuan, JIANG Xiaoying, GUAN Ling, TANG Rongli, BAI Wenqin, LIN Qing. Grading of DUS testing quantitative characteristics of southern spring soybean varieties[J]. Molecular Plant Breeding, 2023, 21(3):1015-1025.
- [22] 褚云霞, 邓姗, 黄志城, 顾晓君, 李寿国, 张永春, 陈海荣. 朱顶红新品种 DUS 测试数量性状筛选与分级[J]. 植物遗传资源学报, 2016, 17(3):466-474.
- CHU Yunxia, DENG Shan, HUANG Zhicheng, GU Xiaojun, LI Shouguo, ZHANG Yongchun, CHEN Hairong. Selection and classification for *Amaryllis (Hippeastrum)* DUS testing quantitative traits[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2016, 17(3):466-474.
- [23] 李娟, 孔德章, 焦爱霞, 周欢欢, 韦启迪, 张丽娜, 霍可以. 基于贵州地区玉米 DUS 测试数量性状变异与分级标准研究[J]. 种子, 2021, 40(10):34-40.
- LI Juan, KONG Dezhang, JIAO Aixia, ZHOU Huanhuan, WEI Qidi, ZHANG Lina, HUO Keyi. Study on quantitative trait variation and grading standard of maize by DUS test in Guizhou region[J]. Seed, 2021, 40(10):34-40.
- [24] 方超, 唐轩, 胡桂兵, 刘洪, 马强, 陈孟强, 饶得花, 徐振江. 荔枝 DUS 测试数量性状分级研究[J]. 果树学报, 2020, 37(5):635-644.
- FANG Chao, TANG Xuan, HU Guibing, LIU Hong, MA Qiang, CHEN Mengqiang, RAO Dehua, XU Zhenjiang. A study on grading of quantitative characteristics of litchi[J]. Journal of Fruit Science, 2020, 37(5):635-644.
- [25] 徐丽, 高玲, 刘迪发, 张如莲, 刘维侠. 黄秋葵 DUS 测试主要数量性状的测量及分级[J]. 中国蔬菜, 2017(12):51-56.
- XU Li, GAO Ling, LIU Difa, ZHANG Rulian, LIU Weixia. Measuring and grading of major quantitative traits of okra DUS test[J]. China Vegetables, 2017(12):51-56.
- [26] 唐浩, 刘洪, 余汉勇, 张浙峰, 肖应辉, 杨益善, 陈立云. 基于 DUS 测试的标准品种形态性状稳定性和重要性分析[J]. 作物学报, 2013, 39(4):632-641.
- TANG Hao, LIU Hong, YU Hanyong, ZHANG Zhefeng, XIAO Yinghui, YANG Yishan, CHEN Liyun. Stability and importance of morphological characteristics in example varieties based on DUS test[J]. Acta Agronomica Sinica, 2013, 39(4):632-641.
- [27] 陈宇华, 陈剑锋, 钟声远, 钟海丰, 刘中华. 金鱼草 DUS 测试数量性状分析与分组性状判定[J]. 福建农业学报, 2023, 38(8):944-952.
- CHEN Yuhua, CHEN Jianfeng, ZHONG Shengyuan, ZHONG Haifeng, LIU Zhonghua. DUS traits and classification of *Antirrhinum majus* L.[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2023, 38(8):944-952.