

红三叶新品种 DUS 测试指南的研制

王建丽^{1,2}, 申忠宝¹, 潘多锋¹, 张瑞博¹, 李道明¹, 钟鹏³

(1. 黑龙江省农业科学院 草业研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 哈尔滨师范大学 生命科学与技术学院, 黑龙江 哈尔滨 150025;
3. 黑龙江省农业科学院 大豆研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:以 UPOV 文件为依据, 参照 TGP/7/1、TG/1/3、GB/T19557.1 等相关原则, 根据植物新品种特异性、一致性和稳定性测试的原理和技术规则, 结合我国红三叶育种实际, 阐述了红三叶新品种 DUS 测试指南的研制原则、性状选择与确定、性状分级标准、判定标准及标准品种的选择等内容; 筛选出 30 个测试性状和 16 个标准品种, 其中, 质量性状 4 个、数量性状 18 个、假质量性状 8 个, 为我国红三叶新品种保护提供了 DUS 测试的依据。

关键词: 测试指南; 红三叶; 特异性; 一致性; 稳定性

中图分类号:S 543 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2014)15—0217—04

植物新品种作为人类智力劳动成果, 在农业增产、增效和品质改善中起着至关重要的作用, 对植物新品种实施知识产权保护, 是当今世界的潮流和人类文明的标志。因此, 植物新品种保护的授权是否公正, 关系到品种权申请单位和个人的合法权益^[1-2]。截至 2009 年 4 月 23 日, 我国加入国际植物新品保护联盟(UPOV)10 周年, 受理植物新品种权申请量和授权量分别达到 6 348 件和 2 312 件。自 2004 年以来, 我国植物品种权年申请量一直位居 UPOV 成员国第 4 位, 有效品种权量位居 UPOV 成员国前 10 位。截至 2011 年底, 我国农业部已公布 8 个批次植物新品种保护名录, 共计 80 个种属, 发布了作物的 DUS 测试指南 49 种^[3-4]。在牧草和草坪草中, 已完成早熟禾和苜蓿的测试指南^[5-6], 并作为行业标准颁布实施。2009 年我国农业部新品种保护办公室开始对黑麦草(*Lolium perenne*)、高羊茅(*Festuca arundinacea*)、冰草(*Agropyron cristatum*)、无芒雀麦(*Bromus inermis*)、披碱草属(*Elymus*)、红三叶(*Trifolium pratense L.*)、白三叶(*Trifolium repens L.*)等牧草的 DUS 测试指南进行研制。

红三叶(*Trifolium pratense*)属豆科车轴草属多年生豆科牧草, 是欧洲、美国东部、新西兰等地区的最重要的牧草之一^[7-9], 在我国云南、贵州、湖南、湖北、江西、四川等省都有广泛分布, 而且已开始大面积推广应用^[10]。《红三叶新品种 DUS 测试指南》的研制不仅可以有效保护我国红三叶优良种质资源, 而且可以维护育种者和生

产者的合法利益, 更加科学、公正的对国内外红三叶品种权的申请予以审查、授权。

1 指南研制依据、原则与方法

1.1 研制依据与适用范围

该指南依据 UPOV 文件 TGP/7/1^[11]、TG/1/3^[12] 和 GB/T19557.1^[13] 等的相关原则, 参考 TG/5/7 UPOV^[14]、日本农林水产植物种类别红三叶审查基准^[15] 和三叶草种质资源描述规范和数据标准^[16], 编写出与国际接轨又符合中国国情、且有较强的确定性和可操作性的《红三叶新品种 DUS 测试指南》。

该指南规定了红三叶新品种特异性(Distinctness)、一致性(Uniformity)和稳定性(Stability)测试的结果判定和技术要求的一般原则。适用于红三叶(*Trifolium pratense L.*)新品种特异性、一致性和稳定性的测试和结果判定。

1.2 测试性状筛选的原则

在测试性状选择上, 把国际植物新品保护联盟(UPOV) TG/5/7 中的 20 个性状均作为该指南的必测性状, 同时结合我国红三叶资源、育种和生产实际适当补充适合中国国情的相关性状。坚持以红三叶主要表型形态性状为主, 其它性状为辅, 通过不同观测时期对性状进行排序, 使数据的采集和记录更加方便。本着“能观察就不测量”的原则, 选择受环境影响较小、易于观察和测量的性状, 增加指南的准确性和操作性。

1.3 研制方法

1.3.1 文献查询与分析 指南研制过程中, 对红三叶资源、育种和生产等情况进行了全面的调研, 对与之相关的国内外(测试指南)标准进行了充分的研究。查阅了三叶草和其它豆科牧草遗传育种与栽培技术类书籍资料, 参考了 UPOV 红三叶指南、日本农林水产植物种类

第一作者简介:王建丽(1977-), 女, 内蒙古赤峰人, 博士研究生, 助理研究员, 现主要从事牧草及草坪草育种等研究工作。E-mail: wangjianlivip@126.com。

基金项目:国家公益性行业(农业)科研专项资助项目(200903008)。

收稿日期:2014—04—20

别红三叶审查基准、《三叶草种质资源描述规范和数据标准》、GB-6141-2008 豆科草种子质量分级^[17]以及 NY/T1091-2006 草品种审定技术规程^[18]，初步构建红三叶 DUS 测试指南模块。

1.3.2 指南初稿形成 通过 2010~2011 年 2 个独立生长周期试验，编制组经过文献查询、内部讨论和外部交流，充分吸收牧草资源与育种和 DUS 测试等领域的专家意见，对指南的性状名称、观测时期和观测部位进行多次补充，最终完成红三叶新品种 DUS 测试指南初稿，制定 32 个性状，筛选 16 个标准品种。

1.3.3 测试性状的调查与标准品种筛选 2010~2011 年对引进、搜集、筛选的 110 个品种田间随机种植，设置穴播与条播 2 个测试区，调查和测量各个材料的相关性状，根据数据统计和聚类分析结果调整、确定测试性状，设计规划出红三叶技术问卷，编制出该指南的征求意见稿，广泛征求 DUS 测试和牧草资源与育种等领域的专家意见，完善性状名称、性状的分级及表达状态，并筛选出标准品种，形成送审稿。

2 红三叶 DUS 测试指南的制定

2.1 测试性状的筛选及分析

红三叶新品种 DUS 测试指南研制过程中，筛选测试性状是指南研制的关键内容。在借鉴参考 UPOV TG/5/7、日本农林水产植物种类别红三叶审查基准和三叶草种质资源描述规范等的基础上，结合我国红三叶种质资源、育种及应用等实际情况，以表型形态特征作为主要的测试性状，筛选确定了 30 个测试的基本性状，其中数量性状 18 个，质量性状 4 个，假质量性状 8 个（表 1）。

表 1 红三叶品种 DUS 测试性状

Table 1 The DUS testing characteristics for *Trifolium pratense* L.

质量性状(QL)	数量性状(QN)	假质量性状(PQ)
倍性	子叶：长度	叶：顶生小叶形状
种子：颜色	子叶：宽	叶：叶斑形状
叶：正面柔毛	植株：自然高度(播种当年)	叶：叶斑位置
苞片：花青甙显色	叶：颜色(播种当年)	叶：小叶先端形状
	植株：开花势(播种当年)	叶：小叶相对位置
	开花期	花序：类型
	茎：长度	花序：形状
	茎：粗度	花：颜色
	茎：节间数量	
	茎：柔毛密度	
	茎：花青甙显色强度	
	叶：顶生小叶长度	
	叶：顶生小叶宽度	
	叶：叶斑强度	
	植株：生长习性	
	植株：春季自然高度	
	叶：春季绿色程度	
	植株：再生草自然高度	

带“*”性状为国际植物新品保护联盟(UPOV)对国际品种描述的统一起重要作用的性状，除非性状表中此性状测定的地域环境或者表达状态不适宜 DUS 测试和

品种描述，否则所有 UPOV 成员都应使用这些性状^[11]。在最终选用的种子、子叶、植株、茎、叶、花等测试性状中，按性状的重要性区分，带“*”性状 12 个，非“*”性状 18 个（表 2）。

表 2 红三叶品种 DUS 测试性状分类

Table 2 The classification of DUS testing characteristics for *Trifolium pratense* L.

观测部位	带“*”性状	非“*”性状	质量性状	数量性状	假质量性状	小计
种子	1	1	2	0	0	2
子叶	0	2	0	2	0	2
植株	3	3	0	6	0	6
茎	2	3	0	5	0	5
叶	6	5	1	5	5	11
花	0	3	0	0	3	3
苞片	0	1	1	0	0	1
合计	12	18	4	18	8	30

2.2 标准品种的选用

标准品种是由一群性状表达稳定、容易繁育提纯、国内外应用广泛的品种组成，主要对性状分级和性状表达状态描述起到辅助判断的作用^[19]。根据“广泛容易获得，且每个标准品种用到的次数尽可能地多，选用的标准品种数量应尽可能地少”的原则^[20~21]，选出 16 个红三叶品种作为《指南》的标准品种（表 3）。

表 3 红三叶品种 DUS 测试指南标准品种

Table 3 The DUS example varieties for *Trifolium pratense* L.

品种	来源	引进时间
“龙饲红三叶”	黑龙江省农业科学院种质资源库	2007 年
“牡丹江红三叶”	黑龙江省农业科学院种质资源库	2007 年
“野生红三叶”	黑龙江省农业科学院种质资源库	2007 年
“哈尔滨红三叶”	黑龙江省农业科学院种质资源库	2007 年
“农大红三叶”	黑龙江省农业科学院种质资源库	2007 年
‘z1308’	黑龙江省农业科学院种质资源库	2007 年
‘z1307’	黑龙江省农业科学院种质资源库	2007 年
‘z00014’	黑龙江省农业科学院种质资源库	2007 年
‘violetta’	黑龙江省农业科学院种质资源库	2007 年
‘雷迪’	中国农业科学院草原所	2008 年
‘07p-3029’	中国农业科学院草原所	2008 年
‘07p-3188’	中国农业科学院草原所	2008 年
‘06p-2134’	中国农业科学院北京畜牧兽医研究所	2009 年
‘06p-2395’	中国农业科学院北京畜牧兽医研究所	2009 年
‘06p-2468’	中国农业科学院北京畜牧兽医研究所	2009 年
‘06p-2504’	中国农业科学院北京畜牧兽医研究所	2009 年

2.3 性状解释

倍性：温室种子发芽后，取根尖实验室内观察染色体数，至少观察 100 粒。子叶长度和宽度：在温室播种 12~14 d 后，当第 1 真叶完全展开时，测量最大的完整子叶长度和宽度。植株自然高度：播种当年，在条播试验区植株第 1 次刈割 4~5 周后进行观测。茎长度和粗度：开花后 1~2 周内，测量每株最长茎节长度及分枝节上方 2~4 cm 处茎的粗细。茎柔毛密度：开花后 1~2 周内，从顶部第 1 个完全展开的花序向下，第 3 个茎节柔毛密度。顶生小叶长度和宽度：开花后 1~2 周内，主茎上第 1 花序枝条下的第 3 或第 4 复叶，测定顶生小叶的最

长部位和最宽部位。植株生长习性:播种当年,秋季目测整个植株最外侧嫩枝与水平线的角度。分为直立、半直立、中等、平卧和平半卧5种状态。植株再生草自然高度:第2年在条播试验区夏季刈割4~6周内进行观测(初花期进行刈割)。

3 红三叶新品种特异性、一致性和稳定性的判定标准

3.1 特异性的判定

申请品种与标准品种的性状表达要有显著性的差异。在测试中,当申请品种至少有一个性状与标准品种具有明显且可重现的差异时,即可判定申请品种具备特异性。对于质量性状和假质量性状,如果申请品种和标准品种的同一个性状分属于不同的表达状态,则认为该品种与标准品种间存在明显的差异。例如,在“倍性”(性状1)上,如果申请品种为二倍体,而近似品种为四倍体,则可以判定申请品种和标准品种不属于同一类型,具有特异性。

对于多因素控制的数量性状来说,如果申请品种和标准品种的性状表达代码相差2个以上代码时,则认为该品种与标准品种间存在明显的差异,如果性状表达代码相差2个以下代码时,必须要通过数值统计方法来分析判断二者的差异显著性^[22]。如“茎柔毛密度”(性状12),申请品种表达状态为“无或极稀(1)”,而标准品种为“中(5)”,则认为二者间差异显著,申请品种具有特异性。

3.2 一致性和稳定性的判定

一致性的判定应根据TG/1/3《总则》中关于异花授粉作物的建议进行。申请品种的变异水平不应显著超过已知同类品种的变异水平。如果申请品种具备一致性,则可认为其具备稳定性。一般不对稳定性进行测试。

4 结论与讨论

该指南已完成报批稿,与UPOV TG/5/7指南有一定的技术性差异。增加了“茎:花青甙显色强度”、“叶:正面柔毛”、“叶:叶斑形状”、“叶:叶斑位置”、“叶:小叶先端形状”、“叶:小叶相对位置”、“苞片:花青甙显色”、“花序:类型”、“花序:形状”、“花:颜色”等10个必测性状。分组性状增加了“种子:颜色”和“叶:叶斑强度”。调整了“子叶:长度”、“子叶:宽度”、“茎:粗度”、“叶:顶生小叶形状”、“叶:顶生小叶长度”、“叶:顶生小叶宽度”共6个性状的表达状态。

通过多年观测和调查,对红三叶表型农艺性状进行了综合评价和聚类分析,较好地掌握了红三叶的植物学形态特征,选择确定的30个测试性状具有一定的代表性,对性状分级和表达状态的描述做到了科学、准确、全面。

筛选出的30个必测性状中有18个为多基因控制的数量性状,受环境等因素影响较大,测试时应尽量根

据不同的测试条件安排多个测试地点,同时测试人员要经过多次专业培训,熟悉整个测试操作过程,做出准确判断。

专家组认为该指南的研制填补了国内空白,达到了国际先进水平,对促进我国红三叶新品种选育及品种管理具有重要意义。建议起草单位根据专家组审定意见修改后形成报批稿,尽快颁布实施。

参考文献

- [1] 农业部植物新品种测试中心,全国植物新品种标准化技术委员会.植物新品种特异性、一致性和稳定性审查及性状统一描述总则[M].北京:中国农业出版社,2007.
- [2] 刘洪,徐振江,饶得花,等.花生新品种DUS测试指南的研制[J].广东农业科学,2012(5):29~31.
- [3] 陈海荣,吕波,罗利军,等.莴苣新品种特异性、一致性和稳定性测试指南的研制[J].中国农学通报,2009,25(20):276~281.
- [4] 张一弓,张荟荟,杨刚,等.披碱草属植物新品种特异性、一致性和稳定性测试[J].草原与草坪,2013,33(2):38~40.
- [5] 王彦荣,南志标,孙建华,等.草地早熟禾新品种特异性、一致性和稳定性测试指南初报[J].草业科学,2003,20(12):58~67.
- [6] 王彦荣,任继周,孙建华,等.苜蓿新品种特异性、一致性和稳定性测试指南初报[J].草业科学,2003,19(9):16~23.
- [7] Frame J. The potential of tetraploid redclover and its role in United kingdom[J]. Journal of the British Grassland Society,1976,31:139~152.
- [8] Lancashire J A. The distribution and use of forage legumes in New Zealand[C]//In: Burns J C. et al (eds). Forage Legumes for Energy-Efficient Animal Production, Proceedings of a Trilateral Workshop Hold in N Z, 1984: 5~23.
- [9] 王建丽,申忠宝,潘多峰,等.红三叶种质资源农艺性状的综合评价及聚类分析[J].草原与草坪,2013,33(2):33~36.
- [10] 樊江文.红三叶再生草的生物学特性研究[J].草业科学,2001,18(4):18~20.
- [11] UPOV TGP/7/1 Development of Test Guidelines[S]. Geneva, Switzerland: UPOV, 2004.
- [12] UPOV TG/1/3 General introduction to the examination of distinctness, uniformity and stability and the development of harmonized descriptions of new varieties of plant[S]. Geneva, Switzerland, 2002.
- [13] 农业部科技发展中心.植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南总则[M].北京:中国标准出版社,2001.
- [14] UPOV TG/5/7 Guidelines for the Conduct of Tests for Distinctness, Uniformity and Stability red clover[S]. Geneva, Switzerland: UPOV, 2001.
- [15] 日本农林水产植物种类别审查基准-红三叶[DB/OL]. http://www.hinsyu.maff.go.jp/info/sinsakijun/botanical_taxon.html, 2011.
- [16] 高洪文,王赞.三叶草种质资源描述规范和数据标准[M].北京:中国农业出版社,2007.
- [17] GB-6141-2008 豆科草种子质量分级[M].北京:中国标准出版社,2008.
- [18] NY/T1091-2006 草品种审定技术规程[S]. 2006.
- [19] 苟守华,周建仁,黄发吉,等.刺槐属植物新品种DUS测试指南研究[J].北京林业大学学报,2013,35(2):135~140.
- [20] 高玲,徐丽,刘迪发,等.西番莲属植物新品种(DUS)测试指南的研制初报[J].热带农业科学,2012,32(9):33~37.
- [21] 王彦荣,崔野韩,南志标,等.植物新品种DUS测试指南中的性状选择与标样品种确定[J].草业科学,2002,19(2):44~46.
- [22] 刘洪,陈德权,任永浩,等.龙眼新品种DUS测试指南的研制[J].中国农学通报,2012,28(22):293~297.

乡村旅游对农村生态影响的评价模型构建研究

李 兴，王 健

(河北农业大学 经贸学院,河北 保定 071000)

摘要:乡村旅游开发与发展过程中会对生态产生一系列影响,首先分析乡村旅游对生态的正外部性与负外部性,在此基础上构建乡村旅游对农村生态影响评价模型,并进行了指标的定义与说明;其次运用层次分析法以白洋淀为例评价了模型的合理性与客观性;最后提出了应用指标有利的方面。

关键词:乡村旅游;生态影响;生态外部性;层次分析法

中图分类号:F 590.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2014)15—0220—04

20世纪80年代以后,随着农业产业结构的调整,乡村旅游作为促进农村经济发展的重要手段之一开始起步。在政府的大力扶持下,20世纪90年代乡村旅游进入快速发展阶段。乡村旅游的发展往往依赖一定的农业自然资源基础,作为一个开放的生态系统,增加内外部投入必然对当地的生态产生影响,改变系统原始的生态循环。乡村旅游在带来农村道路交通顺畅、卫生设施

改善等便利的同时,也会产生诸如噪声污染、水污染等负面的生态影响。

不同地区的乡村旅游发展处于不同阶段,对生态影响的程度不同。建立评价指标体系,有助于分析不同地区的乡村旅游对生态影响情况,对于现阶段乡村旅游发展状况的全面认识及后续规划有重要意义。

1 乡村旅游对农村生态的影响

1.1 乡村旅游建设对农村生态的正外部性

1.1.1 改善乡村旅游地生态 乡村旅游是以乡村的原始资源为基础,使游客体验独特乡土风情的旅游。因此在开展乡村旅游的过程中,更多地借助于乡村自然生态特征,而不会较大的改造本地的自然植被、地形、河流和土壤,基本上保护了旅游地的原始生态环境。乡村旅游可持续发展与建立社会主义新农村相辅相成,乡村旅游

第一作者简介:李兴(1989-),女,硕士研究生,研究方向为区域经济学。E-mail:lixing201100@126.com。

责任作者:王健(1958-),男,博士,教授,博士生导师,研究方向为区域经济学及农业信息化。E-mail:wangjian@hebau.edu.cn。

基金项目:国家旅游局科研资助项目(12TABG016);河北省软科学研究计划资助项目(12457204D-4)。

收稿日期:2014—04—25

Study on Test Guideline of Distinctness, Uniformity and Stability for *Trifolium pratense* L.

WANG Jian-li^{1,2}, SHEN Zhong-bao¹, PAN Duo-feng¹, ZHANG Rui-bo¹, LI Dao-ming¹, ZHONG Peng³

(1. Grass and Science Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086; 2. College of Life Science and Technology, Harbin Normal University, Harbin, Heilongjiang 150025; 3. Institute of Soybean Research, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: With UPOV document as the basis, with reference to the relevant principles TGP/7/1, TG/1/3, GB/T19557.1 etc., according to the principles of new plant varieties and technical rules for distinctness, uniformity and stability testing, combined with China red clover breeding practice, elaborated new varieties of red clover DUS testing guidelines developed principle of selection and determine traits, traits grading standards, criteria and standards for species selection, etc. were summarized and finished; 30 standard varieties testing characteristics (4 qualitative, 18 quantitative, and 8 pseudo-qualitative) were adopted for DUS test. This guideline provided DUS testing basis for *Trifolium pratense* L. new variety protection.

Key words: test guideline; *Trifolium pratense* L.; distinctness; uniformity; stability