

无花果新品种 DUS 测试指南的研制

颜国荣^{1,2}, 王威^{1,2}, 白玉亭^{1,2}, 刘志勇^{1,2}, 艾海提³

(1. 新疆农业科学院 农作物品种资源研究所, 新疆 乌鲁木齐 830091; 2. 农业部植物新品种测试(乌鲁木齐)分中心, 新疆 乌鲁木齐 830091; 3. 新疆喀什地区园蚕中心, 新疆 喀什 844000)

摘 要:植物新品种特异性(Distinctness)、一致性(Uniformity)和稳定性(Stability)简称为 DUS 测试指南, 是进行植物新品种实质审查的基础, 以国际植物新品种保护联盟(UPOV)的 TG/1/3 和 TGP 系列文件为重要指导, 通过连续 2 个生长周期的田间试验, 编制适合于我国无花果新品种测试的指南, 详细阐述了无花果测试指南主要内容及研制过程, 筛选了 63 个测试性状及性状对应的表达状态、确定了 20 个标准品种和 DUS 判定的标准, 为无花果新品种测试与授权提供技术支持。

关键词:无花果; 测试指南; 特异性; 一致性; 稳定性

中图分类号:S 663.3 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2014)17-0040-04

无花果属桑科(Moraceae)无花果属(*Ficus* L.)无花果种(*Ficus carica* L.)亚热带落叶浆果类果树, 是人类最早栽培的果树之一^[1]。因无花果的小花隐藏在花托内, 只能看到花托形成的假果而看不到花, 故称“无花果”, 其可食部分是由花托膨大而成的聚合果^[2]。无花果果实是 1 种具有高营养、高药效和多功能的新型保健水果, 我国无花果主要分布在新疆、山东、湖南、江苏、浙江、云南、福建等地^[3]。在无花果引种与栽培推广中, 由于种植者对无花果资源不是十分了解, 导致品种资源较为混杂, 目前, 无花果品种资源研究主要报道了引种栽培品种比较试验和品种鉴定评价方面^[4-9], 无花果品种调查的性状及表达状态需要规范, 因此, 研制无花果新品种 DUS 测试指南, 一方面可以按照无花果指南测试性状调查来描述品种, 为无花果品种资源描述规范提供参考性状; 另一方面用于指导无花果新品种 DUS 测试, 根据我国植物新品种保护条例规定, 授权品种必须是在我国植物新品种保护名录范围内, 且具有新颖性、特异性(Distinctness)、一致性(Uniformity)和稳定性(Stability), 并有适当命名的植物新品种^[10], 随着我国植物新品种保护力度的加强, 保护名录范围将逐步扩大, 无花果也即

将进入新品种保护名录, 制订的无花果新品种测试指南将为无花果品种保护提供技术支持。该研究征求了不同生态区的育种家和行业专家意见, 研制的指南更具可操作性, 能有效保护新品种权人的合法利益, 对促进我国无花果新品种选育、开发利用等发挥重要的作用。

1 材料与方法

1.1 试验材料

田间试验于 2011—2012 年在新疆喀什地区园蚕中心疏附园艺场进行, 供试无花果选用引进种植栽培和当地共 11 个品种。

1.2 试验方法

大量收集国内外与无花果相关的测试指南文献及品种资源等方面的研究报道, 初选无花果测试指南性状, 设置田间试验, 对初选性状进行观测调查, 观测方法采用分群体目测、个体目测、群体测量和个体测量, 群体目测和群体测量观测样本为整个小区, 个体目测和个体测量观测 20 个样本, 通过 2 个生长周期的目测、测量、图像采集及统计分析, 编制无花果新品种测试指南, 确定测试性状、分级标准、标准品种和 DUS 判定, 经过征求专家意见并加以修改, 最终形成测试指南报批稿。

2 结果与分析

2.1 无花果测试性状的确定

2.1.1 测试性状的筛选 国际植物新品种保护公约(UPOV)规定品种是由它的性状来定义的, 因此性状是 DUS 审查的基础^[11], 无花果新品种测试性状主要参考了日本无花果新品种测试指南和 UPOV 相关测试指南, 按照 UPOV 测试性状选择的要求^[12], 通过对试验数据、性状表达稳定程度等进行综合分析, 确定观测性状。筛

第一作者简介:颜国荣(1978-), 男, 重庆人, 硕士, 助理研究员, 现主要从事园艺植物新品种测试与研究等工作。E-mail: yangguorong78@163.com.

责任作者:刘志勇(1957-), 男, 天津人, 副研究员, 现主要从事农作物种质资源和植物新品种测试等研究工作。E-mail: xjnkypzs@163.com.

基金项目:公益性行业(农业)科研专项资助项目(200903008-12)。

收稿日期:2014-04-21

选测试性状是无花果测试指南研制中最重要的内容之一,查询资料初步筛选了 91 个性状进行第 1 生长周期的观测试验,根据第 1 生长周期的试验结果,淘汰不易于区分品种和操作性差的性状,保留了 66 个性状进行第 2 生长周期的观测与验证,去除年际间受环境影响大、稳定性差的性状,最终确定了 63 个性状(表 1)。无花果性状主要包括树体、枝、叶、果实 4 部分的表型特征,根据无

花果生产中主要收获果实的特点,测试性状也以果实性状为主,无花果测试指南选出的果实性状占性状总数的一半左右。无花果属于多年生果树,树龄对性状的描述会有一定的影响,为了使品种特性充分表达,该试验中的试验材料都是至少正常结过 1 次果实的同批次扦插的植株,确保试验数据在 2 个生长周期的性状表达相对一致。

表 1

无花果植物新品种 DUS 测试指南性状及类型

Table 1

Characteristics of DUS Testing Guideline of Fig

序号 No.	性状名称 Characteristics	性状类型 Types of expression	序号 No.	性状名称 Characteristics	性状类型 Types of expression
1	树:姿态	QN	33	果实:果粉	QN
2	树:二级分枝下垂	QL	34	果实:纵径	QN
3	树:树势	QN	35	果实:横径	QN
4	树:分枝数	QN	36	果实:重量	QN
5	树:结瘤	QN	37	果实:果柄脱落	QN
6	1 年生枝:皮孔形状	PQ	38	果柄:长度	QN
7	1 年生枝:皮孔大小	QN	39	果柄:粗度	QN
8	1 年生枝:皮孔数量	QN	40	果柄:颜色	PQ
9	1 年生枝:颜色	PQ	41	果实:颈长度	QN
10	1 年生枝:粗度	QN	42	果实:果皮底色	PQ
11	1 年生枝:节间长度	QN	43	果实:果皮盖色	PQ
12	1 年生枝:节数	QN	44	果实:果脉明显程度	QN
13	1 年生枝:顶芽形状	QN	45	果实:果脉密度	QN
14	1 年生枝:顶芽颜色	PQ	46	果实:果点明显度	QN
15	1 年生枝:顶芽大小	QN	47	果实:果点密度	QN
16	2 年生枝:潜伏芽隆起	QN	48	果实:果斑有无	QL
17	顶芽萌动期	QN	49	果实:果孔大小	QN
18	幼叶:绿色程度	QN	50	果实:裂果性	PQ
19	叶片:裂刻类型	PQ	51	果实:剥皮难易程度	QN
20	仅适用于叶片无裂品种:叶片:形状	PQ	52	果实:果肉颜色	PQ
21	仅适用于叶片有裂品种:叶片:顶部裂片形状	PQ	53	果实:空腔大小	QN
22	仅适用于叶片有裂品种:叶片:顶部裂片长与叶长的比率	QN	54	果实:瘦果数量	QN
23	仅适用于叶片有裂品种:叶片:裂片二次裂刻	QN	55	果实:瘦果大小	QN
24	叶片:基部形状	PQ	56	结果习性	QL
25	叶片:长度	QN	57	果实:成熟期	QN
26	叶片:宽度	QN	58	果实:畸形果实数量	QN
27	叶片:绿色程度	QN	59	果实:香味	QL
28	叶片:背面茸毛	QN	60	果实:果肉质地	QN
29	叶柄:长度	QN	61	果实:可溶性固形物含量	QN
30	叶柄:颜色	QN	62	果实:可滴定酸含量	QN
31	单株果实数量	QN	63	果实:果肉汁液	QN
32	果实:形状	PQ			

注:PQ 表示假质量性状,简称 PQ;QN 表示数量性状,简称 QN;QL 表示质量性状,简称 QL;“_”有下划线的文字指出该性状适用的品种类型。

Note:Pseudo-Qualitative characteristics,PQ; Quantitative characteristics,QN; Qualitative characteristics,QL;“_”the characteristics of suitable variety types.

2.1.2 分组性状的确定 无花果测试指南确定了“叶片:裂刻类型”、“果实:形状”、“果实:果皮底色”、“果实:果肉颜色”、“果实:成熟期”共 5 个分组性状,根据分组性状的表达状态不同,如叶片裂刻类型分为 4 个表达状态,可以将所有已知品种按该性状分为 4 个组,继续用其它分组性状进行细分,将无花果已知品种库分为若干小组。分组性状主要用来对已知品种进行品种分组,在特异性测试时,不需要种植所有的品种与申请品种进行比较,筛选与申请品种在分组性状等重要性状表现一致

的小组内已知品种作为近似品种,缩小需要田间试验种植的品种范围。分组性状还可以用于组织田间种植,将同类型的品种安排在一起,方便田间试验管理。

2.1.3 与 UPOV 性状比较 在无花果 DUS 测试指南研制时期,UPOV 无花果指南还未公布,因此,该指南筛选的性状与 UPOV 指南有较大的差异,UPOV 无花果指南性状中果实性状 27 个,按 1 年生枝条上结的果实(breba crop/first crop)和当年新生枝条上结的果实(main crop)分别调查而形成 54 个果实性状,从而使

UPOV 无花果指南达到 78 个性状^[13],该指南研制过程中,也发现无花果果实分批成熟的特性,由于调查的品种资源量有限,没有系统地对一个品种的“first crop”和“main crop”进行比较,随着今后无花果测试的开展和育种的发展,测试指南应进行不断修订以满足测试的需要,在我国无花果 DUS 测试指南修订时,应将每一个果实性状按“first crop”和“main crop”分为 2 个性状调查,达到与 UPOV 指南相对统一。

2.2 表达状态分级的确定

在植物新品种测试中,测试品种是通过性状表达状态描述的,表达状态的描述参考国际统一的植物系统学术语及图解^[14-15],表达状态分级需符合国际通用标准,根据质量性状(QL)、数量性状(QN)和假质量性状(PQ)3 种不同性状类型,采用不同的分级方法,每个表达状态对应数字代码以便数字化统计与管理。质量性状的各表达状态之间是不连续变化的,假质量性状的表达状态存在部分是连续变化且变化范围是多维的,这 2 种性状有几种表达状态就分为几级;数量性状的表达状态覆盖了从一个极端到另一个极端的整个变异范围,数量性状一般分为 9 级(“1~9”尺度),但在品种间变异范围不大或品种内存在一定范围变异时,也可以采用减缩的 3 级(“1~3”尺度)或 5 级(“1~5”尺度)等分级方式。无花果 46 个数量性状中,采用了“1~9”尺度分级的性状有 23 个;采用“1~3”尺度分级的性状有 21 个;采用“1~5”尺度的性状有 2 个。

2.3 标准品种的确定

标准品种一般由一套遗传多样性丰富的已知品种组成,在新品种测试时,可以为描述品种的性状表达状态提供参照标准,有利于直观准确地判定测试品种性状的表达状态,同时也作为矫正年际间气候环境不同引起的差异。针对某些数量性状(如 1~9 尺度),不需要给所有的 9 个表达状态都找出对应的标准品种,给出代码为 3、5、7 对应的标准品种就可以表现出该性状的表达状态的值域范围或趋势。无花果指南中筛选了性状表达稳定的 20 个标准品种,相对于指南中 63 个性状共 223 个表达状态,标准品种覆盖了 138 个表达状态,其中,“B110”、“A1213”、“日本紫果”、“D005”和“玛斯义陶芬”5 个标准品种的出现频率为 95 次,而“A16”、“A42”、“BLM”、“加州黑”、“绿抗 1 号”和“新疆早黄”6 个品种的使用频率仅 1 次。筛选标准品种时,原则上尽量筛选能代表多个性状表达状态的已知品种作为标准品种,无花果标准品种数量还需要进一步精简,如可以对形状等部分性状采用照片或图示说明,替换或删减使用频率不高的品种,提高标准品种的利用率。

该指南研制中收集的资源有限,即使试验品种的遗传多样性非常丰富,但是在某些性状不一定能表现出所

有的表达状态,无花果 DUS 测试之南适用范围为无花果(*Ficus carica* L.)的所有品种,包括普通无花果、斯密那无花果、中间型无花果和原生型无花果 4 个变种,该试验材料均为普通无花果类型,其它类型在我国少有栽培,没有收集到资源,某些性状的表达状态采用了无花果品种描述、图鉴和专家推荐的标准品种,无花果资源、育种等方面专家也为某些性状的表达状态提供了标准品种。

2.4 DUS 结果的判定

2.4.1 特异性的判定 特异性判定时,如果一个品种明显区别于申请时所有已知品种,则该品种被认为具有特异性,性状之间的明显区别应该是一致的且明显的^[16]。“一致的”表示至少在 2 个独立的生长周期表现一致,“明显的”取决于性状的表达类型:质量性状,当表达状态不一样时,即表现为明显差异。数量性状判定是否具有明显差异与观测方法有关,采用目测的数量性状,如果品种内一致性高,通过肉眼可以明显区分 2 个品种在该数量性状上的差异,原则上可以判定具有明显差异,如果品种内变异较大,需要相差 2 个或 2 个以上的代码才能判定具有明显差异;采用测量的数量性状,需要考虑到环境影响和品种内存在的变异,性状的每一个表达状态对应了阈值范围,如果 2 个品种相差超过 2 个代码时,即可判定具有明显差异,如果相差小于 2 个代码,需要统计分析并结合测试专家的经验进行判定。确定数量性状表达状态分级阈值范围的大小,对区分品种间是否有显著差异而具备特异性尤为重要,分级阈值范围大,则在同一级的品种数量多,该性状判定品种是否具备特异性时的变异也需要大一些,因此,测试指南在设定值域时应该充分考虑该植物品种特性和育种水平,但一个代码的阈值至少要大于 2 倍 $LSD_{0.05}$,从而有效避免统计分析存在差异就认定具备特异性。假质量性状判定是否具有明显差异时,需根据具体情况而定,当 2 个品种在某个假质量性状上的表达状态位于不连续区段时,参考质量性状的判定方法;当 2 个品种表达状态位于连续区段时,参考数量性状的判定方法。如无花果性状“果实:果肉颜色”为假质量性状,代码及表达状态分为“1 黄白色”、“2 褐黄色”、“3 粉红色”、“4 橙红色”、“5 红色”、“6 紫色”、“7 浅褐色”和“8 深褐色”共 8 种表达状态,其中,代码为“3”、“4”、“5”的表达状态都为红色的连续的区段,而代码“2”和“3”为不连续区段。

2.4.2 一致性的判定 无花果主要以扦插苗形式繁殖,属无性繁殖,无花果品种一致性判定时,对于质量性状、假质量性状和可明显区分出异型株的数量性状一般采用异型株法进行判定,采用 1% 的群体标准和至少 95% 的接受概率,当调查 10 株时,最多可以允许有 1 个异型株;数量性状可以采用跨年度综合一致性分析法(COYU)^[17]进行判定。

2.4.3 稳定性的判定 稳定性是指一个品种经过反复繁殖在各测试性状表达上能表现一致^[18]。在实际测试中,一般不对稳定性进行专门的测试,如果一个品种具备一致性,则可认为该品种具备稳定性。必要时,可以通过种植测试材料的下一代或新提交的无性繁殖材料的方法对稳定性进行测试,以确保他们表现出和以前提供的测试材料相同的性状。

3 讨论

近年来,随着 DNA 分子技术和无花果育种的发展,亲缘关系很近的品种不易从表型上区分,分子技术应用将表现出一定优势,但是在品种资源调查等方面还是经常需要表型性状来描述^[19-22]。今后用于植物新品种 DUS 测试的性状将以表型性状为主,结合 DNA 指纹图谱检测方法,提高测试结果的准确性和可靠性。

植物新品种 DUS 测试一般包括接收任务与繁殖材料、筛选近似品种、组织种植试验、开展性状观测、DUS 判定、编写测试报告等 5 个步骤,任何一个步骤都会影响到整个流程,因此,在 DUS 测试中,在测试指南为指导的基础上,还需建立对每个性状的观测方法、各表达状态对应的标准照片或示意图等进行详细解释的操作手册,规范测试照片拍摄,从而使 DUS 测试标准化,减少实际操作中的人为误差,为无花果新品种权保护提供较为坚实的技术支撑。

参考文献

- [1] Mordenchai E K, Anat H, Ofer B Y. Early domesticated fig in the Jordan Valley[J]. Science, 2006, 312: 1372-1374.
- [2] 张大海, 徐林, 谢彩梅, 等. 无花果品种资源及生产现状[C]// 多年生和无性繁殖作物种质资源共享研究, 2008: 234-238.
- [3] 吴子江, 马翠兰, 郭阳彬, 等. 无花果生产与研究进展[J]. 亚热带农业研究, 2013, 9(3): 151-157.
- [4] 曹尚银, 杨福兰. 石榴无花果良种引种指导[M]. 北京: 金盾出版社, 2003: 12.
- [5] 孙会兵, 于然龙, 蔡春华. 无花果的引种表现及栽培技术[J]. 落叶果树, 2006, 38(1): 22-23.
- [6] 艾海提, 张强. 无花果不同品种对比试验[J]. 中国果菜, 2012(9): 19-20.
- [7] 黄鹏, 吕顺端, 马贯羊. 无花果优良品种的引种栽培[J]. 经济林研究, 2009, 27(3): 47-52.
- [8] 王亮, 王彩虹, 田义轲, 等. 山东省无花果种质资源多样性的 RAPD 分析[J]. 植物遗传资源学报, 2007, 8(3): 303-307.
- [9] 王亮, 王彩虹, 田义轲, 等. 无花果叶形性状的 SCAR 分子标记[J]. 林业科学, 2009, 46(6): 158-161.
- [10] 农业部植物新品种保护办公室. 中华人民共和国植物新品种保护条例[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997.
- [11] 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: 3.
- [12] TGP/7. Development of Test Guidelines[S]. Geneva: UPOV, 2004.
- [13] TG/265/1. Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability[S]. UPOV, 2010.
- [14] Harris J G, Harris M W. Plant identification terminology: An illustrated glossary[M]. 2nd edition. Spring Lake Pub, 2001.
- [15] TGP/14. Glossary of technical, botanical and statistical terms used in UPOV documents[S]. UPOV, 2008.
- [16] TGP/9. Examining Distinctness [S]. Geneva: UPOV, 2008.
- [17] TGP/8. Trial design and techniques used in the examination of distinctness, uniformity and stability[S]. Geneva: UPOV, 2008.
- [18] TGP/11. Examining Stability [S]. Geneva: UPOV, 2011.
- [19] Achtak H, Oukabli A, Ater M, et al. Microsatellitemarkers as reliable tools for fig cultivar identification[J]. J Amer Soc Hort Sci, 2009, 134: 624-631.
- [20] Giraldo E, opez-Corrales M L', Hormaza J I. Optimization of the management of an ex-situ germplasm bank in common fig with SSRs[J]. J Amer Soc Hort Sci, 2008, 133: 69-77.
- [21] Giraldo E, opez-Corrale M L's, Hormaza J I. Selection of morphological quantitative variables in fig characterization [J]. Acta Hort, 2008, 798: 103-108.
- [22] Giraldo E, Viruel M A, Opez-Corrales M L, et al. Characterisation and cross-species transferability of microsatellites in the common fig (*Ficus carica* L.) [J]. J Hort Sci Bio Technol, 2005, 80: 217-224.

Study on Test Guideline of Distinctness, Uniformity and Stability of Fig

YAN Guo-rong^{1,2}, WANG Wei^{1,2}, BAI Yu-ting^{1,2}, LIU Zhi-yong^{1,2}, AI Hai-ti³

(1. Research Institute of Crop Germplasm Resources, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi, Xinjiang 830091; 2. Urumqi Station of New Plant Varieties Test Center, MOA, Urumqi, Xinjiang 830091; 3. Gardening and Sericulture Center of Kashi Region, Kashi, Xinjiang, 844000)

Abstract: The distinctness, uniformity and stability (DUS) test guideline was the reference and technical standards for the substantive examination. According to the DUS test theory of TG/1/3 and the test guidelines' procedures of international union for the protection of new varieties of plants (UPOV), two growing cycles of field trial were carried out to study on the DUS test guideline of fig. In this paper, the main aspect of test guideline were elaborated in detail. Thus 63 characteristics, 20 standard varieties and techniques for DUS assessment of fig were determined. The DUS test guidelines of fig will provide a standard technology to accelerate the development of plant variety protection.

Keywords: fig; test guideline; distinctness; uniformity; stability