

桃种质资源托叶长度评价与分级体系的建立

蔡志翔, 严娟, 沈志军, 马瑞娟, 俞明亮

(江苏省农业科学院园艺研究所/江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室, 南京 210014)

摘要: 为了完善桃种质资源托叶长度评价方法, 对不同果枝长度、不同树龄和不同年份托叶长度进行了稳定性分析, 建立了稳定可靠的桃托叶长度评价方法: 树龄 3~10 年, 树冠外围 1.0~1.5 m 高度、长果枝中部新梢完全展开叶片的托叶, 测量托叶基部至托叶尖端的长度。依据此方法测量了 718 份桃种质资源托叶长度; 并结合桃种质资源“种”和“品种类群”2 个分类依据, 利用 SPSS 统计分析软件对托叶长度进行分类分析和比较。提出桃托叶长度分级指标: <0.55 cm 为 1 级, 0.55~0.90 cm 为 2 级, 0.91~1.30 cm 为 3 级, 1.31~1.65 cm 为 4 级, >1.65 cm 为 5 级, 参照品种分别为: 光核桃 2 号、红花碧桃、新白凤、早乙女、TX4C199。

关键词: 桃; 叶片; 托叶长度; 种质资源

Evaluation and Grading of Stipule Length in Peach Germplasm Resources

CAI Zhi-xiang, YAN Juan, SHEN Zhi-jun, MA Rui-juan, YU Ming-liang

(Institute of Horticulture, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Jiangsu Key Laboratory for Horticultural Crop Genetic Improvement, Nanjing 210014)

Abstract: The evaluation was made based on different branch length, tree age and different years in order to improve and perfect the method of the stipule length in peach. A stable method of evaluating the stipule length in peach is established. outside the crown, 1–1.5 m height from the ground, 15–25 cm length of young shoot in the middle part of long fruit shoot was chosen in 3–10 years old trees to measure the stipule length of the grown leaves. We observed and measured the stipule length in 718 Peach Germplasm Resources by this method. We studied the stipule length of peach according to the classification of species and taxons of peaches by SPSS. The stipule length of Peach Germplasm Resources are graded: <0.55 cm is extremely short, 0.55–0.9 cm is short, 0.91–1.30 cm is intermediate, 1.30–1.65 cm is long, >1.65 cm is extremely long. The reference cultivars of stipule length of peaches are ‘Guanghetao2’, ‘Honghuabita0’, ‘New hakuho’, ‘saotome’ and ‘TX4C199’.

Key words: peach; leaves; stipule length; germplasm resource

托叶是叶柄基部或叶柄两侧腋部所着生的细小绿色或膜质片状物, 是完全叶的组成部分之一。托叶主要发生在双子叶植物中; 单子叶植物中的原始水生植物, 如眼子菜等有托叶; 裸子植物则较稀少。在被子植物进化过程中, 托叶逐渐退化, 绝大多数合瓣花类植物缺少托叶^[1-3]。托叶一般呈叶状, 1 片或 2 片, 位于叶柄基部与茎相接处, 通常有保护幼叶和腋芽的作用, 在某些植物中还是重要的光合组织。

托叶的形状、大小因植物种类不同而异, 如豌豆的托叶较大呈叶状; 梨树的托叶呈线形; 洋槐和酸枣的托叶变为刺; 蓼的托叶呈鞘状, 包围在茎节的基部, 叫做托叶鞘。托叶的存在多是暂时性的, 一般或早或晚便自行脱落, 仅少数植物的托叶在植物的一生中都保留着^[1-3]。

桃起源于我国, 具有极其丰富的种质资源^[4], 它具有 1 对托叶。其托叶存在的时间较短, 一般只能在

收稿日期: 2015-06-11 修回日期: 2015-07-08 网络出版日期: 2016-04-06

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20160406.1406.026.html>

基金项目: 江苏省农业科技自主创新资金项目(CX(14)2015); 农作物种质资源保护(2015NWB007)

第一作者主要从事桃种质资源收集、鉴定、评价及其相关工作。E-mail: czx1y05@163.com

通信作者: 俞明亮, 研究方向为桃育种。E-mail: mly1008@aliyun.com

刚萌芽和新叶时见到,当叶片完全展开,托叶会很快脱落。国际植物新品种保护联合会(UPOV)^[5]及我国农业行业标准《植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南 桃》^[6]中均使用托叶长度作为评价指标之一,但两者只是利用目测将托叶长度分为长、中、短3级,参照品种均为普通桃,评价范围仅限于普通桃,目的主要是评价区分生产品种;《桃种质资源描述规范与数据标准》^[7]未将托叶长度列为描述项,《中国果树志-桃卷》^[8]也未对托叶进行描述。国内外对草莓、轮藻、苎麻、豌豆等物种的托叶进行了较详细的研究^[9-18],但针对桃种质资源托叶的评价还仅限于普通桃,评价方法主要为目测,缺乏科学的数字化评价方法,对其长度与分级也未见报道。

托叶长度可能受到枝条长短、树龄等因素的影响,不同年份间也可能有差别^[17]。本试验通过对桃不同长度果枝、不同树龄及不同年份的托叶长度进行稳定性分析,建立可靠、稳定的桃树托叶长度评价方法;利用该方法对国家果树种质南京桃资源圃保存的718份桃种质资源的托叶进行了观察测量,并进行统计分析和初步分级,为桃种质资源托叶的规范化和标准化描述提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

供试桃种质资源共718份,均来源于国家果树种质南京桃资源圃。

1.2 方 法

1.2.1 托叶长度稳定性分析 2010年5月选取资源圃内3年生、5年生、10年生霞晖8号与3年生、6年生、8年生霞晖6号作为试材,分别测量不同树龄1年生长果枝(长度30~60cm)、中果枝(长度15~30cm)、短果枝(长度5~15cm)^[7]中部成熟且尚未衰老的托叶长度,利用SPSS软件分析不同树龄及不同果枝托叶长度间差异是否显著,初步建立桃树托叶长度评价方法。

分别于2011年、2012年5月份,依据上述初步建立的桃树托叶长度评价方法,选取资源圃内5年生以上、健康生长的桃资源578份,每份资源测量10个托叶的长度,利用SPSS软件分析不同年份托叶长度间差异是否显著。

在不同果枝长度、不同树龄和不同年份稳定性分析的基础上建立稳定可靠的桃树托叶长度评价方法。

1.2.2 桃种质资源托叶长度测量及分析 分别于2013年、2014年5月份,选取资源圃内5年生以上、健康生长的桃资源718份,其中油桃资源93份、蟠桃资源41份、普通桃资源512份、新疆桃资源9份、山桃资源5份、甘肃桃资源3份、光核桃资源16份、扁桃资源2份、碧桃资源27份、垂枝桃资源8份、陕甘山桃资源1份、寿星桃资源1份。依据稳定性分析建立的托叶长度评价方法,测量桃资源托叶长度,每份资源测量10个托叶的长度。

将2年数据取算术平均数,并用SPSS软件进行统计分析。在对资源托叶长度进行分类分析和比较时,参考《中国果树志-桃卷》^[8]的分类方法,对参试资源从“种”和“品种类群”2个分类依据进行讨论。其中“种”的描述将桃分为普通桃、新疆桃、山桃、陕甘山桃、甘肃桃、光核桃、扁桃,普通桃在中国长期栽培的有5个变种:油桃、蟠桃、寿星桃、碧桃和垂枝桃;以“品种类群”的描述将桃划分为硬肉桃品种群、蜜桃品种群、水蜜桃品种群、蟠桃品种群、油桃品种群、黄桃品种群,共6个品种群。

2 结果与分析

2.1 桃托叶长度的稳定性分析

桃树托叶附生于叶柄而成对,披针状,托叶缘生有齿状凸起,形似章鱼触手;叶片成熟后托叶衰老,颜色由绿变红褐色,后脱落。桃种质资源托叶形态基本相同,但托叶长度品种间差异较大。

稳定性分析结果显示:霞晖6号和霞晖8号长果枝、中果枝、短果枝^[7]托叶长度经SPSS独立样本T检验, P 值均为0.000,小于0.01,说明不同长度果枝之间托叶长度差异极显著(表1)。不同树龄霞晖6号和霞晖8号托叶长度 P 值均大于0.05,差异不显著,说明树龄与托叶长度无显著关系(表2)。

2011年、2012年选取578份资源测量托叶长度并经SPSS配对样本T检验,结果显示其 P 值为0.318,大于0.05,表明托叶长度年份间差异不显著。

通过稳定性分析得出,不同长度果枝之间托叶长度差异显著,同一长度果枝之间差异不显著,而托叶长度与树龄(树龄3~10年之间)、测定年份无关。因大部分资源树冠外围长果枝较多,长果枝中部新梢也较多,选择余地大,基于稳定性分析,建立桃托叶长度评价方法:选取树龄3~10年生桃树、树冠外围1.0~1.5m高度处长果枝中部新梢上完全展开的叶片托叶,测量托叶基部至托叶尖端的长度。

表 1 霞晖 6 号和霞晖 8 号不同果枝独立样本 T 检验

Table 1 Independent samples T test of Xiahui 6 and Xiahui 8 in different branches

分组比对 Grouping comparison	霞晖 6 号 Xiahui 6			霞晖 8 号 Xiahui 8		
	<i>t</i> 值	自由度	<i>P</i> 值	<i>t</i> 值	自由度	<i>P</i> 值
	<i>t</i> value	<i>df</i>	<i>P</i> value	<i>t</i> value	<i>df</i>	<i>P</i> value
长果枝 - 中果枝	6.553	28	0.000	6.040	28	0.000
中果枝 - 短果枝	5.111	28	0.000	5.828	28	0.000
短果枝 - 长果枝	12.073	28	0.000	9.504	28	0.000

表 2 不同树龄霞晖 6 号和霞晖 8 号独立样本 T 检验

Table 2 Independent samples T test of Xiahui6 and Xiahui8 in different ages

类别 Category	霞晖 6 号 Xiahui 6			霞晖 8 号 Xiahui 8		
	6~8 年生	3~8 年生	3~6 年生	3~10 年生	3~5 年生	5~10 年生
	6-8 year old	3-8 year old	3-6 year old	3-10 year old	3-5 year old	5-10 year old
长果枝	0.153	0.455	0.402	0.899	0.094	0.057
中果枝	0.066	0.148	0.700	0.195	1.000	0.323
短果枝	0.731	0.633	0.894	1.000	0.838	0.854

2.2 依据“种”及“品种类群”划分 - 桃资源托叶长度统计与分析

2013 - 2014 年选取 718 份桃资源测量托叶长度并计算平均值。将 718 份桃资源依据《中国果树志 - 桃卷》^[8] 种的描述进行分类,结果显示,新疆桃、甘肃桃、扁桃、普通桃包括其变种油桃、蟠桃托叶长度大致相近且接近总体均值,而山桃、陕甘山桃、光核桃、碧桃、垂枝桃托叶长度偏短。界外值与极端值主要出现在普通桃上,少量出现在油桃与蟠桃上(图 1)。

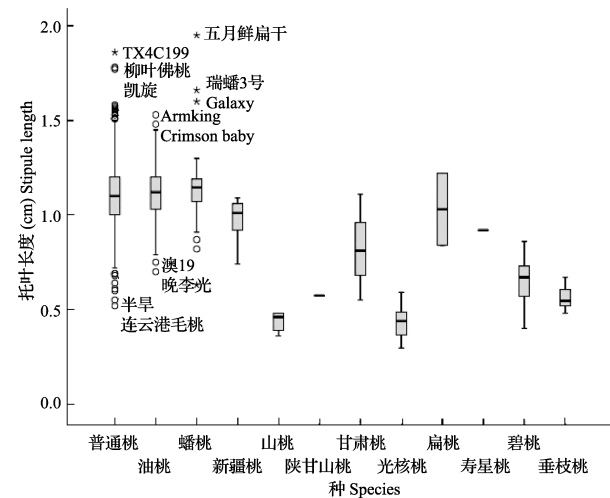


图 1 桃不同“种”分类箱图

Fig.1 The boxplot of different species in peach

对各类群进行单样本 T 检验,结果显示,油桃、蟠桃、普通桃、新疆桃、甘肃桃和扁桃 *P* 值 > 0.05,

说明其与总体均值差异不显著,而山桃、光核桃、碧桃、垂枝桃 *P* 值 < 0.05,说明其与总体均值差异显著(表 3),T 检验结果与箱图的直观判断基本吻合。

表 3 桃不同“种”单样本 T 检验

Table 3 One sample T test of different species in peach

类别 Category	<i>t</i> 值	自由度	<i>P</i> 值
	<i>t</i> value	<i>df</i>	<i>P</i> value
油桃 <i>P. persica</i> var. <i>nectarina</i> (Ait) Maxim.	1.504	92	0.136
蟠桃 <i>P. persica</i> var. <i>compressa</i> Bean.	1.644	40	0.108
普通桃 <i>P. persica</i> (L.) Batsch.	1.971	511	0.050
新疆桃 <i>P. ferganensis</i> Kost. et Riab.	-1.269	8	0.240
山桃 <i>P. davidiana</i> (Carr.) Franch	-26.431	4	0.000
甘肃桃 <i>P. kansuensis</i> Rehd.	-1.648	2	0.241
光核桃 <i>P. mira</i> Koehne	-30.802	15	0.000
扁桃 <i>P. communis</i> Fritsch.	-0.318	1	0.805
碧桃 <i>P. persica</i> var. <i>duplex</i>	-18.928	26	0.000
垂枝桃 <i>P. persica</i> var. <i>pendula</i>	-24.041	7	0.000

依据此种分类方法能够客观描述山桃、光核桃、碧桃、垂枝桃这几类桃托叶长度的特殊性,但从箱图上也能看出此分类方法在托叶长度评价、分类上的局限性,它没有将硬肉桃、蜜桃、水蜜桃、黄桃及野生毛桃分离开来,此分类中普通桃包含范围过大,遗传背景复杂,导致大部分界外值与极端值集中于普通桃分类中。

依据“品种类群”分类方法将普通桃分为 6 个品种群,并制作箱图,观察发现,界外值与极端值不

再集中分布于单一分组内,依据“种”划分的普通桃在品种类群划分中被分割为6个品种群(图2),解决了普通桃包含范围过大,遗传背景复杂,出现的界外值与极端值过多的弊端。

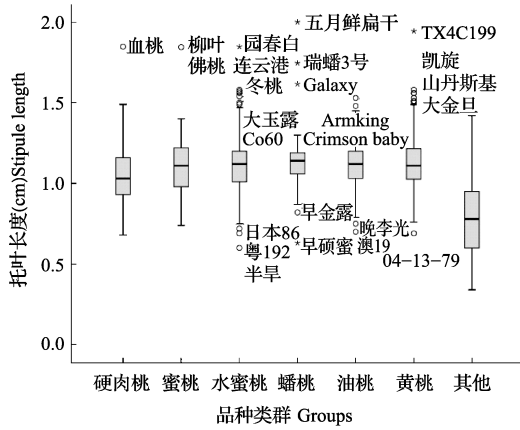


图2 桃不同品种类群分类箱图

Fig.2 The boxplot of different groups in peach

将2种分类方法相结合(图3),结果显示,碧桃、垂枝桃、山桃、光核桃托叶长度明显短于均值,并与总体差异显著;硬肉桃、蜜桃、水蜜桃、蟠桃、油桃、黄桃、寿星桃、新疆桃、甘肃桃和扁桃托叶长度接近均值,与总体差异不显著(表4)。

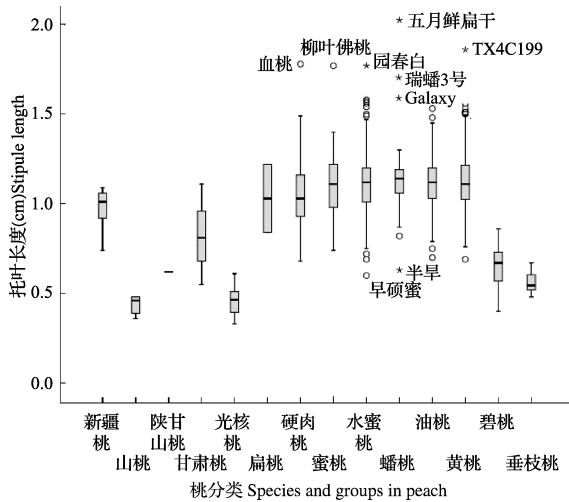


图3 桃分类箱图

Fig.3 The boxplot of different species and groups in peach

2.3 桃托叶长度的初步分级

依据这2种分类方法,并结合本研究中托叶长度统计分析,将资源圃现有桃资源划分为普通桃、新疆桃、山桃、陕甘山桃、甘肃桃、光核桃、扁桃。普通桃又分为硬肉桃、蜜桃、水蜜桃、蟠桃、油桃、黄桃、寿星桃、碧桃和垂枝桃。

表4 桃不同“种”及“品种类群”单样本 T 检验

Table 4 One sample T test of different species and groups in peach

类别	t 值	自由度	P 值
Category	t value	df	P value
新疆桃 <i>P. persica ferganensis</i> Kost. et Riab.	-1.269	8	0.240
山桃 <i>P. davidiana</i> (Carr.) Franch	-26.431	4	0.000
甘肃桃 <i>P. kansuensis</i> Rehd.	-1.648	2	0.241
光核桃 <i>P. mira</i> Koehne	-30.802	15	0.000
扁桃 <i>P. amygdalus</i> Stokes	-0.318	1	0.805
碧桃 <i>P. persica</i> var. <i>duplex</i>	-18.928	26	0.000
垂枝桃 <i>P. persica</i> var. <i>pendula</i>	-24.041	7	0.000
硬肉桃 <i>P. persica</i> (L.) Batsch.	-0.808	40	0.424
蜜桃 <i>P. persica</i> (L.) Batsch.	0.532	14	0.603
水蜜桃 <i>P. persica</i> (L.) Batsch.	1.499	305	0.135
蟠桃 <i>P. persica</i> var. <i>platycarpa</i> Bailey	1.478	40	0.147
油桃 <i>P. persica</i> var. <i>nectarina</i> (Ait) Maxim.	1.504	92	0.136
黄桃 <i>P. persica</i> (L.) Batsch.	0.694	150	0.489

基于SPSS箱图和T检验的推断,将桃资源依据托叶长度分为普通类,即与总体差异不显著类(群),包括硬肉桃、蜜桃、水蜜桃、蟠桃、油桃、黄桃、寿星桃、甘肃桃和扁桃;短小类,即与总体差异显著类(群),包括碧桃、垂枝桃、山桃、陕甘山桃、光核桃。对短小类托叶长度进行均值与标准差计算,其均值为0.5504,标准差为0.13993,极小值为0.33,与均值差约2个标准差,极大值为0.86,据此将其划分为2级,<0.5504 cm为1级(极短),0.5504~0.86 cm为2级(短)。对普通类资源进行均值与标准差计算,普通资源托叶长度均值为1.1065,中值为1.100,标准差为0.18645,极小值为0.52,极大值为1.95,据此将其划分为3级,0.86~1.28645(1.100+0.18645)cm定义为3级(中),1.28645(1.100+0.18645)cm~1.65935(1.100+0.18645×3)cm定义为4级(长),>1.65935 cm定义为5级(极长)。

为了便于记忆和推广,将分类值尽量取整,且调整不超过1/5个标准差。调整后的结果为<0.55 cm为1级;0.55~0.90 cm为2级;0.91~1.30 cm为3级;1.31~1.65 cm为4级;>1.65 cm为5级。根据此方法分类,碧桃、垂枝桃、山桃、光核桃托叶长度主要分布于1级和2级区域内,硬肉桃、蜜桃、水蜜桃、蟠桃、油桃、黄桃、寿星桃、甘肃桃和扁桃主要分布于2~4级区域内,其中3级区域内分布最多。718份资源依据此分类方法分布频率分别为3.90%、16.02%、70.47%、8.77%、0.83%(表5),3级区域内最多,2级与4级次之,1级与5级最少。

表 5 桃托叶长度分级指标及参照品种

Table 5 Scale index and reference cultivars of stipule length of peaches

分级	托叶长度 (cm)	比例 (%)	评价	参照品种
Scale	Stipule length	Percentage	Evaluation	References
1	<0.55	3.90	极短	光核桃 2 号
2	0.55 ~ 0.90	16.02	短	红花碧桃
3	0.91 ~ 1.30	70.47	中	新白凤
4	1.31 ~ 1.65	8.77	长	早乙女
5	>1.65	0.83	极长	TX4C199

参照品种选择原则为:在相应级别内尽量选择接近本级别中位数且国内外公知品种(极端性状除外)。依据此原则,选取了 5 份具有代表性的资源作为参照品种。选取品种光核桃 2 号作为“极短”参照品种,其托叶长 0.34 cm;选取品种红花碧桃作为“短”参照品种,其托叶长 0.72 cm;选取品种新白凤作为“中”参照品种,其托叶长 1.10 cm;选取品种早乙女作为“长”参照品种,其托叶长 1.45 cm;选取品种 TX4C199 作为“极长”参照品种,其托叶长 1.86 cm。

3 讨论

本试验通过稳定性分析发现,托叶长度不同年份间差异不显著,同一品种不同树龄托叶长度差异不显著,不同长度的果枝托叶长度差异显著,长度近似的新梢中部托叶长度差异不显著。据此,在后续试验数据采集时尽量选取相同部位,长度近似的新梢中部采集托叶长度数据,保证了数据的可靠性、一致性与稳定性。

性状的变异频率是遗传多样性的数量化体现,变异系数越大,在优异资源的选择方面的余地就越大^[19]。通过数据分析,不同品种的桃树托叶长度存在差异,从 0.33 ~ 1.95 cm 不等,变异系数为 22.36%。大多数资源托叶长度集中于 0.9 ~ 1.3 cm 区域内,且总体分布有一定的连续性,因此托叶长度在桃分类中有相当的分类价值。国际植物新品种保护联合会(UPOV)将桃托叶分为长、中、短 3 级^[5];农业行业标准《植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南 桃》也将其分为长、中、短 3 级^[6]。本研究部分参考其观测方法,并认为仅依靠目测将其分为 3 级,存在主观性且缺乏数据支撑。同时 UPOV 与农业行业标准划分的 3 级所依赖的参照品种均为普通桃,评价目标主要为生产品种及育成品种,而碧桃、垂枝桃、山桃、光核桃等非生产用桃和野生资源托叶长度并不在其划分的 3 级内,无法用 UPOV 与农业行业标准划分的 3 级对其进行评价描述。本文通过对桃种质资源南京圃保存资源的观察与测量,结合“种”和“品种类群”2 个分类依据,经数据统计分析,

将托叶长度细分为 5 个等级,即: <0.55 cm 为极短, 0.55 ~ 0.9 cm 为短, 0.91 ~ 1.30 cm 为中, 1.31 ~ 1.65 cm 为长, >1.65 cm 为极长。该分级标准解决了 UPOV 与农业行业标准在桃资源托叶评价上的缺陷,范围涵盖所有桃资源,为桃种质资源托叶分级与评价提供了数据支撑与理论依据。

参考文献

- [1] 卢菁菁. 植物托叶的观察拾零[J]. 生物学教学, 1994(6): 34-35
- [2] 罗通, 余晓东. 轮藻托叶生态变异的研究[J]. 重庆师范学院学报:自然科学版, 1999, 6(4): 68-74
- [3] Tyler A A. The nature and origin of stipules[J]. Annal New York Acad Sci, 1897, 10(1): 1-49
- [4] 赵玉, 王力荣, 曹珂, 等. 桃果肉花色苷遗传多样性及红肉桃判定指标的探讨[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(1): 167-172
- [5] International Union for the Protection of New Varieties of Plants. TG/53/7, Guidelines for the conduct of test for distinctness, uniformity and stability(*Prunus persica*) [S]. Switzerland: International Union for the Protection of New Varieties of Plants, 2012
- [6] 中华人民共和国农业部农产品质量安全监管局. NY/T 2341-2013 植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南-桃[S]. 北京: 中华人民共和国农业部, 2013
- [7] 王力荣, 朱更瑞. 桃种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京: 中国林业出版社, 2001: 74-87
- [8] 王祖华, 庄恩及. 中国果树志-桃卷[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 211-226
- [9] 张波, 郑长清, 臧巩固, 等. 中国苧麻属植物比较形态学研究[J]. 中国农业科学, 1998, 31(2): 56-62
- [10] 徐茜, 徐燕, 余鸿燕, 等. 草莓托叶和花托再生体系建立[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(12): 66-68
- [11] Collier D E, Grodzinski B. Growth and maintenance respiration of leaflet, stipule, tendrill, rachis, and petiole tissues that make up the compound leaf of pea (*Pisum sativum*) [J]. Can J Bot, 2011, 74(8): 1331-1337
- [12] Kumar A K, Sharma V, Khan M, et al. Auxin transport inhibitor induced low complexity petiolated leaves and sessile leaf-like stipules and architectures of heritable leaf and stipule mutants in *Pisum sativum* suggest that its simple lobed stipules and compound leaf represent ancestral forms in angiosperms[J]. J Genet, 2013, 92(1): 25-61
- [13] Kumar A, Sharma V, Khan M, et al. *Pisum sativum* wild-type and mutant stipules and those induced by an auxin transport inhibitor demonstrate the entire diversity of laminated stipules observed in angiosperms[J]. Protoplasma, 2013, 250(1): 223-234
- [14] Kumar S, Mishra R K, Kumar A, et al. Regulation of stipule development by COCHLEATA and STIPULE-REDUCED genes in pea *Pisum sativum* [J]. Planta, 2009, 230, (3): 449-458
- [15] Sharma V, Kumar S. Stipules are the principal photosynthetic organs in the papilionoid species *Lathyrus aphaca* [J]. Natl Acad Sci Lett, 2012, 35(2): 75-78
- [16] Sharma V, Kumar S. Roles of stipules include determination of flowering time and pod harvest index in garden pea grain legume *Pisum sativum* [J]. Natl Acad Sci Lett, 2012, 35(5): 449-456
- [17] 傅华龙, 罗通, 兰利琼. 轮藻生态变异及系统分类研究-I. 环境中有毒物质对轮藻托叶长度的影响[J]. 四川大学学报:自然科学版, 1996, 33(3): 316-322
- [18] Sharma V, Tripathi B N, Kumar S. Organ-wise homologies of stipule, leaf and inflorescence between *Pisum sativum* genetic variants, *Delonix regia* and *Caesalpinia bonduc* indicate parallel evolution of morphogenetic regulation[J]. Plant Syst Evol, 2012, 298(6): 1167-1175
- [19] 王力荣, 朱更瑞, 方伟超. 桃种质资源果实数量性状评价指标探讨[J]. 园艺学报, 2005, 32(1): 1-5