

# 云南割手密创新种质 F<sub>2</sub> 的主成分聚类分析及其评价

俞华先, 田春艳, 经艳芬, 安汝东, 郎荣斌, 边 芯, 董立华, 周清明, 杨李和, 孙有芳, 桃联安

(云南省农业科学院甘蔗研究所瑞丽育种站, 瑞丽 678600)

**摘要:** 云南割手密是甘蔗育种中比较宝贵的野生种质资源。对 68 份云南割手密 F<sub>2</sub> 创新种质材料的 9 个主要农艺性状进行主成分分析, 并以前 3 个主成分为基础, 分别作聚类分析和二维排序图。结果表明: 68 份云南割手密 F<sub>2</sub> 创新种质的变异系数为 10.57%~35.30%, 11 月份理论含糖量和单产的变异系数超过 30%, 说明 11 月份理论含糖量和单产性状的变异潜力较高。主成分分析结果表明, 单茎重产量因子、锤度糖分因子和丛有效茎含糖量这 3 个主因子提供了原始性状 80.8292% 的信息; 在欧氏距离为 10.00 处将 68 份材料分为 4 类, 各个类群具有不同的特点, 在甘蔗杂交育种上可以根据不同类群的特点加以利用; 二维排序表明云割 F<sub>2</sub>11-50、云割 F<sub>2</sub>11-56、云割 F<sub>2</sub>11-40、云割 F<sub>2</sub>11-66、云割 F<sub>2</sub>11-77、云割 F<sub>2</sub>11-10、云割 F<sub>2</sub>11-19、云割 F<sub>2</sub>11-85、云割 F<sub>2</sub>11-45、云割 F<sub>2</sub>11-37、云割 F<sub>2</sub>11-25、云割 F<sub>2</sub>11-23、云割 F<sub>2</sub>11-18 等 13 份材料的 3 个主成分构成因子协调性最好, 可在育种中加以利用。

**关键词:** 割手密; 创新种质; 相关分析; 主成分分析; 聚类分析

## Principal Component Clustering Analysis and Evaluation of F<sub>2</sub> Generation from Yunnan *Saccharum spontaneum* L. Innovation Germplasm

YU Hua-xian, TIAN Chun-yan, JING Yan-fen, AN Ru-dong, LANG Rong-bin, Bian Xin,

DONG Li-hua, ZHOU Qing-ming, YANG Li-he, SUN You-fang, TAO Lian-an

(Ruili Breeding Station, Sugarcane Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Ruili 678600)

**Abstract:** Yunnan *Saccharum spontaneum* L. serves as valuable wild germplasm resource can be used in sugarcane breeding. The quantitative characters of 68 F<sub>2</sub> Yunnan *Saccharum spontaneum* L. were investigated using the principal of numerical classification, and the PCA (define) of 10 quantitative characters were analyzed. Scatter plot was drawn based on the first 3 principal components (PC) and clustering analysis was carried out based on the genetic coefficients. The results showed that the coefficient variation of the quantitative characters ranged from 10.57% to 35.30%. The theoretical sugar content and yield in November had a high coefficient of variation over 30%, indicating a high variation potential. Principle component analysis indicated that the first 3 PC accounted for 80.8292% of variation among the materials, followed by single stem weight yield factor, brix sugar factor and cluster effective stem sugar yield factor. These 68 innovative materials could be divided into 4

收稿日期: 2018-09-24 修回日期: 2018-10-15 网络出版日期: 2018-11-22

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20181121.1616.003.html>

第一作者主要从事甘蔗遗传育种和甘蔗品质分析, E-mail: yuhuaxian19841219@163.com

通信作者: 经艳芬, 主要从事甘蔗遗传育种和创新种质的利用研究, E-mail: rlyjf@126.com

**基金项目:** 国家自然科学基金 (31360358); 云南省农业科学院科技创新及成果转化 (2018BB02901); 云岭英才计划“高端外国专家”专项 - 甘蔗品种改良与应用; 云南省应用基础研究重点项目 (2015FA034)

**Foundation project:** National Natural Science Foundation of China Program (31360358), The Scientific and Technological Innovation Achievement Transformation of Yunnan Academy of Agricultural Sciences (2018BB02901), Yunling Yingcai Plan “High-end Foreign Experts” Special - Sugarcane Variety Improvement and Application, Key project of Applied Basic Research in yunnan Province (2015FA034)

categories at D=10.00. Each group had different characteristics, which could be referred for castor breeding with different purposes. The scatter plot of the former three principal components indicated the coefficients of the first three PCs were higher in YGF<sub>2</sub>11-50, YGF<sub>2</sub>11-56, YGF<sub>2</sub>11-40, YGF<sub>2</sub>11-66, YGF<sub>2</sub>11-77, YGF<sub>2</sub>11-10, YGF<sub>2</sub>11-19, YGF<sub>2</sub>11-85, YGF<sub>2</sub>11-45, YGF<sub>2</sub>11-37, YGF<sub>2</sub>11-25, YGF<sub>2</sub>11-23, YGF<sub>2</sub>11-18, and these accessions could be used in the breeding.

**Key words:** *Saccharum spontaneum* L.; germplasm innovation; correlation analysis; principal component; cluster analysis

甘蔗细茎野生种(*Saccharum spontaneum* L.) 俗称割手密, 又名甜根子草、小巴茅, 为禾本科(Gramineae) 蜀黍族(Andropogoneae) 甘蔗属(*Saccharum* L.) 多年生草本植物<sup>[1]</sup>。割手密的类型多、具有较高糖分、适应性强、分布范围广, 在热带、亚热带两大气候区均有其踪迹, 在我国江西、台湾、云南、湖南、广西、海南、广东、福建、四川、西藏等省(区) 都有割手密的分布<sup>[2]</sup>。现代甘蔗栽培品种的抗逆性、分蘖性基因资源主要来源于割手密, 利用甘蔗野生种质资源改良甘蔗生产品种的抗旱性、抗逆性、宿根性、适应性, 是甘蔗育种的有效手段<sup>[3]</sup>。在甘蔗品种改良中, 割手密起着重要的作用, 它是栽培甘蔗品种的原始亲本之一<sup>[4]</sup>, 生产种植的甘蔗品种中几乎都有割手密的血缘<sup>[5]</sup>。因而世界各主要甘蔗生产国都很重视割手密种质资源的收集和保护, 并开展一系列的遗传多样性与核心种质构建研究<sup>[6-7]</sup>。

我国是世界上重要的甘蔗种植国和甘蔗原产地之一, 一直非常重视割手密收集保育及其在甘蔗品种改良的应用<sup>[8]</sup>。前人已对我国广东、广西和四川等地割手密种质资源的遗传特点做了大量研究<sup>[9-11]</sup>, 各个地方割手密遗传多样性丰富, 有多种类型。云南边疆少数民族聚居地大多为高山峡谷地带, 这些地区自然环境破坏程度较小, 分布着大量的甘蔗野生种质资源, Chen 等<sup>[12]</sup> 研究认为我国割手密起源于云南, 特别是在云南的高山峡谷中; 杨清辉等<sup>[13]</sup> 对我国不同纬度、海拔的割手密进行 RAPD 分析, 认为分布于云南西部的割手密具有丰富的多样性。因此, 加大云南少数民族地区割手密及其血缘后代种质资源的利用研究, 对培育突破性新品种提供重要的抗逆性、分蘖性基因源具有重要的意义。云南省农业科学院甘蔗研究所瑞丽甘蔗育种站(国家内陆甘蔗杂交育种站) 课题组研究人员一直致力于利用云南丰富的割手密创新种质、培育创新亲本、改良甘蔗品种抗逆性的研究<sup>[14-20]</sup>。云南省在“十五”攻关期间, 审定了第 1 个含云南割手密血缘的甘蔗新

品种云蔗 99-155, 它是由瑞丽站育成的, 为改良高产、高糖与抗性、适应性难于兼优的矛盾迈出了艰难的一步。本研究以 68 份云南割手密 F<sub>2</sub> 创新种质材料为研究对象, 采用主成分分析法对其 9 个主要农艺性状指标进行分析, 并通过系统聚类和二维评价, 剖析该群体材料的类群特点, 同时进行综合评价, 为云南割手密创新种质材料的利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

本试验材料为云南割手密血缘 F<sub>1</sub> 优良种质云瑞 08-254 (CP65-357 × 云割 06-7-3) 和云瑞系列创新优良亲本云瑞 09-525 (RB85-5156 × 云瑞 06-3598) 的回交后代中筛选出的 68 份材料, 编号为 1~68, 供试材料名称详见表 1。

### 1.2 试验设计

试验地位于云南省农业科学院甘蔗研究所瑞丽育种站的基地内, 海拔 780 m, 24°01'N, 97°51'E, 年均温 20 °C, 年降雨量 1394 mm, 属于南亚热带季风性湿润蔗区。田间试验采用随机区组设计, 设 3 次重复, 小区面积 7.2 m<sup>2</sup>, 长 6 m, 宽 1.2 m, 四周设保护行, 田间管理和大田生产一样。

### 1.3 调查项目

于 2016 年 4 月下旬调查宿根萌苗数, 2015 年 9 月 18 日对新植、2016 年 9 月 27 日对宿根分别调查株高、茎径、丛有效茎数、11 月份锤度等性状, 并计算其平均值、最大值、最小值、标准差、极差和变异系数。参照经艳芬等<sup>[21]</sup> 的方法利用以下公式计算单产、11 月份理论蔗糖分和 11 月份理论含糖量。

$$\text{单茎重} = (\text{株高} - 50) \times \text{茎径}^2 \times 0.785 / 1000$$

$$\text{单产} (\text{t/hm}^2) = \text{茎径}^2 \times (\text{株高} - 50) \times 0.785$$

$$\times \text{丛有效茎数} (\text{条/hm}^2) \times 10^{-6}$$

$$11 \text{ 月份理论蔗糖分} (\%) = \text{蔗汁平均}$$

$$\text{锤度} (\%) \times 1.01 - 5.6$$

表1 参试割手密编号及其名称

Table 1 The codes and names of the tested *Saccharum spontaneum* L.

编号 Code	名称 Name						
1	云割 F <sub>2</sub> 11-3	18	云割 F <sub>2</sub> 11-23	35	云割 F <sub>2</sub> 11-44	52	云割 F <sub>2</sub> 11-65
2	云割 F <sub>2</sub> 11-4	19	云割 F <sub>2</sub> 11-24	36	云割 F <sub>2</sub> 11-45	53	云割 F <sub>2</sub> 11-66
3	云割 F <sub>2</sub> 11-5	20	云割 F <sub>2</sub> 11-25	37	云割 F <sub>2</sub> 11-46	54	云割 F <sub>2</sub> 11-67
4	云割 F <sub>2</sub> 11-7	21	云割 F <sub>2</sub> 11-26	38	云割 F <sub>2</sub> 11-47	55	云割 F <sub>2</sub> 11-68
5	云割 F <sub>2</sub> 11-8	22	云割 F <sub>2</sub> 11-27	39	云割 F <sub>2</sub> 11-49	56	云割 F <sub>2</sub> 11-71
6	云割 F <sub>2</sub> 11-10	23	云割 F <sub>2</sub> 11-28	40	云割 F <sub>2</sub> 11-50	57	云割 F <sub>2</sub> 11-73
7	云割 F <sub>2</sub> 11-11	24	云割 F <sub>2</sub> 11-29	41	云割 F <sub>2</sub> 11-51	58	云割 F <sub>2</sub> 11-74
8	云割 F <sub>2</sub> 11-12	25	云割 F <sub>2</sub> 11-31	42	云割 F <sub>2</sub> 11-52	59	云割 F <sub>2</sub> 11-75
9	云割 F <sub>2</sub> 11-13	26	云割 F <sub>2</sub> 11-32	43	云割 F <sub>2</sub> 11-53	60	云割 F <sub>2</sub> 11-77
10	云割 F <sub>2</sub> 11-15	27	云割 F <sub>2</sub> 11-33	44	云割 F <sub>2</sub> 11-55	61	云割 F <sub>2</sub> 11-78
11	云割 F <sub>2</sub> 11-16	28	云割 F <sub>2</sub> 11-35	45	云割 F <sub>2</sub> 11-56	62	云割 F <sub>2</sub> 11-79
12	云割 F <sub>2</sub> 11-17	29	云割 F <sub>2</sub> 11-36	46	云割 F <sub>2</sub> 11-58	63	云割 F <sub>2</sub> 11-80
13	云割 F <sub>2</sub> 11-18	30	云割 F <sub>2</sub> 11-37	47	云割 F <sub>2</sub> 11-59	64	云割 F <sub>2</sub> 11-83
14	云割 F <sub>2</sub> 11-19	31	云割 F <sub>2</sub> 11-38	48	云割 F <sub>2</sub> 11-60	65	云割 F <sub>2</sub> 11-84
15	云割 F <sub>2</sub> 11-20	32	云割 F <sub>2</sub> 11-39	49	云割 F <sub>2</sub> 11-61	66	云割 F <sub>2</sub> 11-85
16	云割 F <sub>2</sub> 11-21	33	云割 F <sub>2</sub> 11-40	50	云割 F <sub>2</sub> 11-63	67	云割 F <sub>2</sub> 11-86
17	云割 F <sub>2</sub> 11-22	34	云割 F <sub>2</sub> 11-43	51	云割 F <sub>2</sub> 11-64	68	云割 F <sub>2</sub> 11-87

11 月份理论含糖量 ( $t/hm^2$ ) = 单产 ( $t/hm^2$ ) ×  
11 月份理论蔗糖分 / 100

#### 1.4 统计分析

采用 Microsoft Excel 2007 的一般通用公式对各项形态指标和生理指标的原始数据进行整理, 用 DPS 15.1 软件<sup>[22]</sup>进行主成分分析和系统聚类分析, 聚类分析采用欧氏距离、离差平方和法进行; 在主成分分析的结果基础上, 作二维排序分析, 筛选出高糖和高产的优良创新种质材料。

## 2 结果与分析

### 2.1 云南割手密 F<sub>2</sub> 创新种质材料 9 个主要农艺性状的变异情况分析

供试材料的 9 个主要农艺性状的平均值及其变异情况详见表 2。云南割手密 F<sub>2</sub> 创新种质材料间的变异系数幅度比较大, 范围为 10.57%~35.30%, 其中变异系数最大的是单产达到 35.30%, 变幅为 36.40~200.60  $t/hm^2$ , 其次 11 月份理论含糖量的变异系数最大, 达到 31.77%, 变幅为 6.98~26.40  $t/hm^2$ , 由此表明 11 月份理论含糖量和单产是这 68 份云南割手密 F<sub>2</sub> 创新种质材料遗传变异最为丰富的指标, 在云南割手密创新种质材料的选择利用上要重点考虑糖分和产量; 萌苗率、单茎重和丛有效茎数的变异系数分别为 22.51%、27.05% 和 27.79%, 萌苗率、单茎重和丛有效茎数的变幅分

别为 26.60%~70.40%、0.59~1.93 kg 和 4.00~21.00 条 / 丛; 株高、茎径、11 月份锤度和 11 月份理论蔗糖分的变异系数在 10%~20% 之间; 这表明参试的 68 份割手密 F<sub>2</sub> 种质材料各具特点, 差异较明显, 类型丰富。

### 2.2 数量性状间的相关分析

对 68 份云南割手密 F<sub>2</sub> 创新种质材料的 9 个主要农艺性状进行相关分析 (表 3), 大部分性状之间均存在极显著 ( $P < 0.01$ ) 或显著 ( $P < 0.05$ ) 的相关性。11 月份理论含糖量与萌苗率呈负相关, 与其他指标均呈极显著正相关。萌苗率与 11 月份锤度、丛有效茎数和 11 月份理论蔗糖分呈正相关, 与其他指标呈负相关; 株高、茎径和单茎重之间相互呈极显著正相关, 且三者与单产和 11 月份理论含糖量呈极显著正相关; 丛有效茎数与单产和 11 月份理论含糖量呈极显著正相关, 与其他指标呈负相关, 且与茎径、单茎重达到极显著水平; 11 月份锤度与丛有效茎数和单产呈负相关, 与其他指标正相关。

### 2.3 主成分分析

利用 DPS 数据处理系统对云南割手密创新种质材料的 9 个主要农艺性状进行主成分分析。选取  $\lambda \geq 1$  的 3 个特征根作为 68 份云南割手密 F<sub>2</sub> 创新种质材料的主成分 (表 4)。入选的 3 个主成分的累计贡献率为 80.8292% (一般认为累积贡献率达 70% 以上即为比较满意<sup>[23]</sup>), 特征值总和为 7.2747,

表 2 供试材料 10 个数量性状的变异情况

Table 2 Statistics of main yield characters of the test materials

性状 Character	最大值 Max.	最小值 Min.	极差 Range	平均值 Mean	标准差 SD	变异系数 (%) CV
萌苗率 (%) GR	70.40	26.60	43.80	46.11	10.38	22.51
株高 (cm) PH	375.80	232.80	143.00	306.24	32.37	10.57
茎径 (cm) SD	2.92	1.85	1.07	2.34	0.25	10.68
丛有效茎数 CSN	21.00	4.00	17.00	12.02	3.34	27.79
单茎重 (kg) WS	1.93	0.59	1.34	1.22	0.33	27.05
单产 (t/hm <sup>2</sup> ) CY	200.60	36.40	164.20	68.53	37.25	35.30
11 月份锤度 (%) BN	19.70	12.00	7.70	15.48	1.81	11.69
11 月份理论蔗糖分 (%) TTSCN	14.27	6.52	7.75	10.03	1.83	18.25
11 月份理论含糖量 (t/hm <sup>2</sup> ) TTSYN	26.40	6.98	19.42	14.73	4.68	31.77

GR: Germination rate, PH: Plant height, SD: Stem diameter, CSN: Cluster Stalk number, WS: Weight of stalk, CY: Cane yield, BN: Brix in Nov., TTSCN: The theoretical sucrose content in Nov., TTSYN: The theoretical sucrose yield in Nov. The same as below

表 3 供试材料各性状间的相关分析

Table 3 Correlation analysis of the tested materials

性状 Character	萌苗率 GR	株高 PH	茎径 SD	丛有效茎数 CSN	单茎重 WS	单产 CY	11 月份锤度 BN	11 月份理论蔗 糖分 TTSCN	11 月份理论含糖量 TTSYN
萌苗率 GR	1	-0.102	-0.019	0.010	-0.020	-0.080	0.025	0.023	-0.066
株高 PH		1	0.398**	-0.213	0.713**	0.507**	0.117	0.118	0.443**
茎径 SD			1	-0.510**	0.919**	0.468**	0.032	0.032	0.337**
丛有效茎数 CSN				1	-0.469**	0.347**	-0.098	-0.098	0.390**
单茎重 WS					1	0.573**	0.067	0.067	0.431**
单产 CY						1	-0.045	-0.044	0.766**
11 月份锤度 BN							1	1.000**	0.468**
11 月份理论蔗糖分 TTSCN								1	0.470**
11 月份理论含糖量 TTSYN									1

\* 表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), \*\* 表示差异极显著 ( $P < 0.01$ )

\* and \*\* represent different significance at 0.05 and 0.01 levels, respectively

已经包含了大部分的信息。第 1 主成分特征值为 3.3875, 贡献率为 37.6385%, 其特征向量主要是单茎重、茎径、11 月份理论含糖量、株高、单产, 特征向量分别为 0.4864、0.4205、0.4109、0.4073 和 0.3948, 主要反映的是云南割手密创新种质材料的产量性状情况, 可概括为单茎重产量因子; 第 2 主成分特征值为 2.1246, 贡献率为 23.6066%, 其特征向量主要是 11 月份理论蔗糖分、11 月份锤度和 11 月份理论含糖量, 特征向量分别为 0.5939、0.5938 和 0.2790, 主要解释为云南割手密创新种质材料的品质性状情况, 可概括为锤度糖分因子; 第 3 主成分特征值为 1.7626, 贡献率为 19.5841%, 其特征向量主要是丛有效茎数、单产和 11 月理论含糖量, 特征向量分别为 0.6806、0.4680 和 0.3495, 主要解释为云南割手密创新种质材料的产量和品质性状情况, 可概括为丛有效茎含糖量因子。

表 4 供试材料数量性状的特征向量及贡献率

Table 4 Eigenvectors and cumulative contribution rate of quantitative characters in the tested materials

性状 Character	第 1 主成分 The first PC	第 2 主成分 The second PC	第 3 主成分 The third PC
萌苗率 CR	-0.0448	0.0362	-0.0799
株高 PH	0.4073	-0.1161	0.0117
茎径 SD	0.4205	-0.2762	-0.2058
丛有效茎数 CSN	-0.1138	0.2213	0.6806
单茎重 WS	0.4864	-0.2615	-0.1485
单产 CY	0.3948	-0.0918	0.4680
11 月份锤度 BN	0.2010	0.5938	-0.2501
11 月份理论蔗糖分 TTSCN	0.2015	0.5939	-0.2493
11 月份理论含糖量 TTSYN	0.4109	0.2790	0.3495
特征值 Eigenvalue	3.3875	2.1246	1.7626
贡献率 (%) contribution rate	37.6385	23.6066	19.5841
累计贡献率 (%) Cumulative percentage	37.6385	61.2451	80.8292

## 2.4 基于 68 份云南割手密 F<sub>2</sub> 创新种质数量性状的聚类分析

基于 68 份云南割手密 F<sub>2</sub> 创新种质材料的 3 个主成分,采用欧氏距离、离差平方和法进行系统聚类分析。在欧氏距离 10.00 的水平上,将其分成 4 大类群(图 1)。由图 1 和表 5 可知,第 I 类包含

12 份材料,占参试材料的 17.65%,这些材料的共同特点是宿根萌芽率高,植株高大,中茎、有效茎数适中,单产高,该类材料可选择性的作为高产潜力的亲本加以利用;第 II 类包含 28 份材料,占参试材料的 41.18%,这些材料表现为中大茎,有效茎数较多,平均单产为 130.93 t/hm<sup>2</sup>,11 月份平均理论含糖量

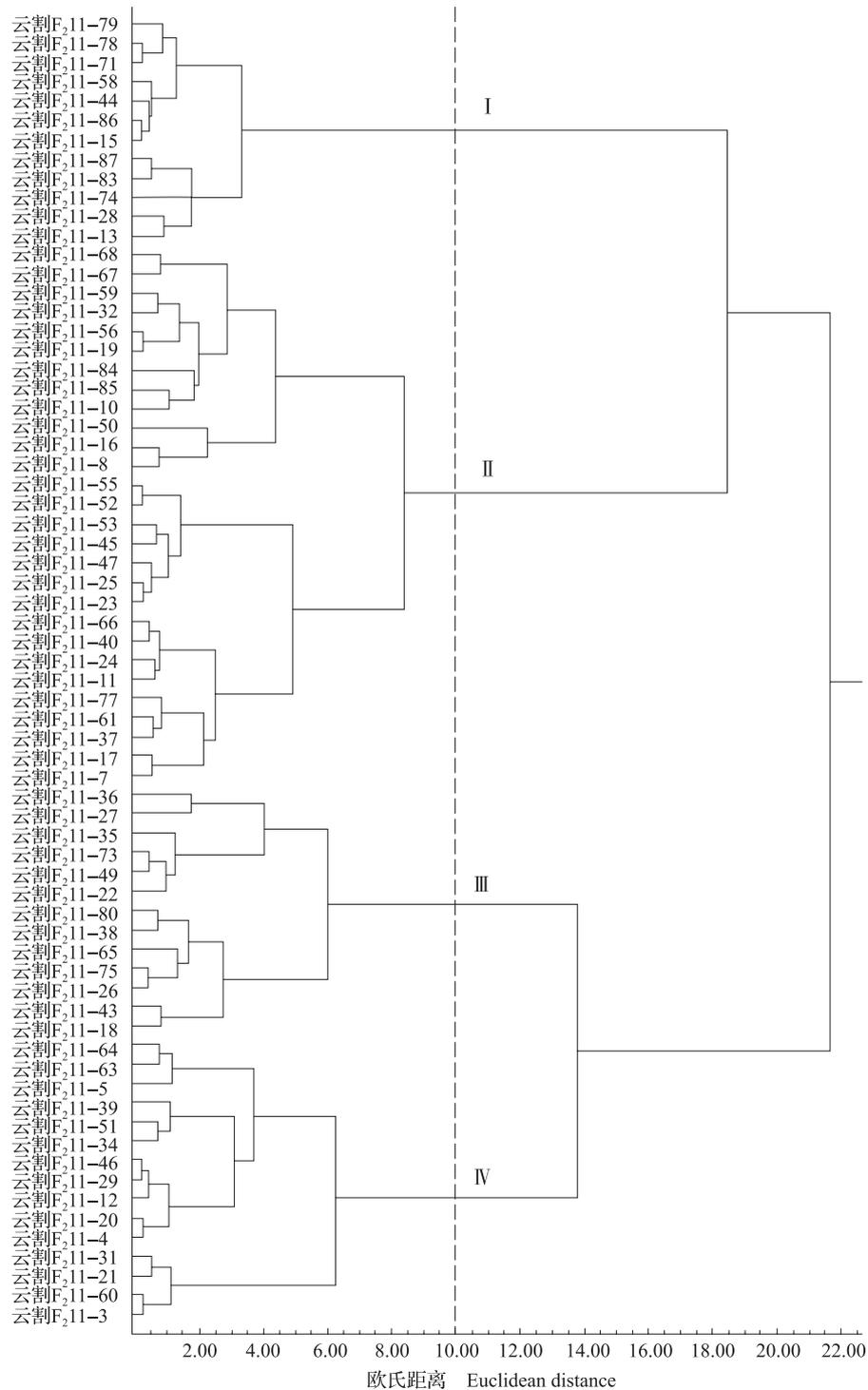


图 1 云南割手密 F<sub>2</sub> 创新种质材料主要工农艺性状的系统聚类图

Fig. 1 Clustering diagram of the main industrial and agronomic characters in yunnan's innovative *Saccharum spontaneum* L.

表 5 4 个类群及其性状特征

Table 5 Four cluster groups and their characteristics

性状 Character	I (n=12; 17.65%)		II (n=28; 41.18%)		III (n=13; 19.12%)		IV (n=15; 22.06%)	
	平均值 Mean	变异系数 (%) CV	平均值 Mean	变异系数 (%) CV	平均值 Mean	变异系数 (%) CV	平均值 Mean	变异系数 (%) CV
幼苗率 GR	48.64	20.51	43.10	27.00	48.39	13.45	47.74	21.79
株高 PH	336.40	9.26	315.42	6.11	297.33	10.03	272.70	8.56
茎径 SD	2.62	5.38	2.31	9.18	2.30	11.48	2.19	8.84
丛有效茎数 SN	9.81	14.09	14.26	19.23	9.61	28.23	11.69	28.80
单茎重 WS	1.65	10.54	1.22	20.15	1.14	29.03	0.93	21.72
单产 CY	126.83	16.80	130.93	20.41	69.08	32.11	72.65	28.03
11 月份锤度 BN	13.98	6.35	16.06	8.56	17.45	8.04	13.87	6.51
11 月份理论蔗糖分 TTSCN	8.52	10.58	10.61	13.10	12.02	11.75	8.41	10.73
11 月份理论含糖量 TTSYN	14.43	17.84	18.51	18.59	13.12	28.72	9.30	14.12

为 18.51 t/hm<sup>2</sup>, 田间表现为高糖高产, 这类材料在育种工作中应加强利用; 第 III 类包含 13 份材料, 占参试材料的 19.12%, 这些材料表现为植株高大、中大茎, 有效茎数偏少, 产量偏低, 平均单产低于 70 t/hm<sup>2</sup>, 糖分适中, 且单产和 11 月份平均理论含糖量的变异系数相对其他类型高; 第 IV 类包含 15 份材料, 占参试材料的 22.06%, 这些材料表现为植株高大、中小茎, 有效茎数适中, 田间表现为低糖低产。

### 2.5 二维分析及其评价

本研究以第 1 主成分(单茎重产量因子)作横坐标, 分别以第 2(锤度糖分因子)和第 3 主成分(丛有效茎含糖量因子)为纵坐标作成二维散点图(图 2、图 3), 可以直观地揭示云南割手密创新种质材料间基因型差异状况, 能更直观、简便地显示出各材料自然类型分类的特点。

根据甘蔗育种的要求, 第 1 主成分(单茎重产量因子)和第 2 主成分(锤度糖分因子)取值越高越好, 故二维排序图上品种的横坐标与纵坐标值越大, 其产量性状越好, 糖分越高。从图 2 可见, 12、4、62、49、60、46、61、17、30、10、56、67、19、35、53、28、40、29、66、58、57、33、20、39、23、18、55、45、7、13、64、54、14、36、6、38、9 等材料的第 1 主成分值较大, 是丰产潜力较好的创新种质材料。40、22、13、34、5、52、53、63、11、12、17、6、29、33、19、51、7、4、60、57、44、14、42 等材料的第 2 主成分值(锤度糖分因子)均高于 0.80, 说明其糖分较高, 是选育高糖型亲本的理想创新种质材料。其中 40 第 2 主成分值达 3.661, 说明该创新种质材料既具

有良好糖分性状, 也具备较好的丰产能力。在所有参试创新材料中, 40、13、6、4、7、14、60、17、19、53、29、33、57 是同时兼顾第 1 主成分(单茎重产量因子)和第 2 主成分(锤度糖分因子)的创新材料, 其为重要的亲本资源, 在育种工作中应重点加强利用。

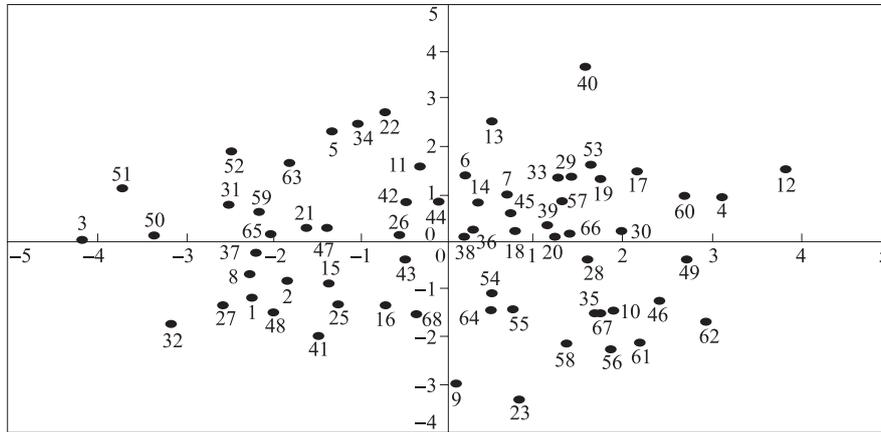
从第 1 和第 3 主成分二维排序图(图 3)可以看出, 在供试创新种质材料中, 66、6、55、40、14、45、54、49、33、36、30、60、23、10、53、18、67、7、20、46 等材料, 可用于选育有效茎数多且单产高的创新材料。

结合图 2 和图 3 的结果分析可知, 在 68 份云南割手密 F<sub>2</sub> 创新种质材料中, 同时兼顾第 1 主成分、第 2 和第 3 主成分的材料主要有 40、33、53、60、6、7、14, 它们是云南割手密创新材料在遗传改良上值得重视和可直接或间接利用的优良种质材料。

## 3 讨论

### 3.1 云南割手密 F<sub>2</sub> 创新种质材料的遗传多样性分析

甘蔗种质资源创新与利用是甘蔗育种和品种改良的基础工作, 是影响甘蔗育种效益的重要因素<sup>[24]</sup>。割手密在甘蔗品种改良中起着重要的作用, 是栽培甘蔗种的原始亲本之一, 生产种植的甘蔗品种中几乎都有割手密的血缘<sup>[25]</sup>, 现代甘蔗栽培种中大约有 10% 的染色体来源于割手密<sup>[26]</sup>。割手密的杂交一、二代(F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>) 创新种质材料, 是甘蔗有性杂交育

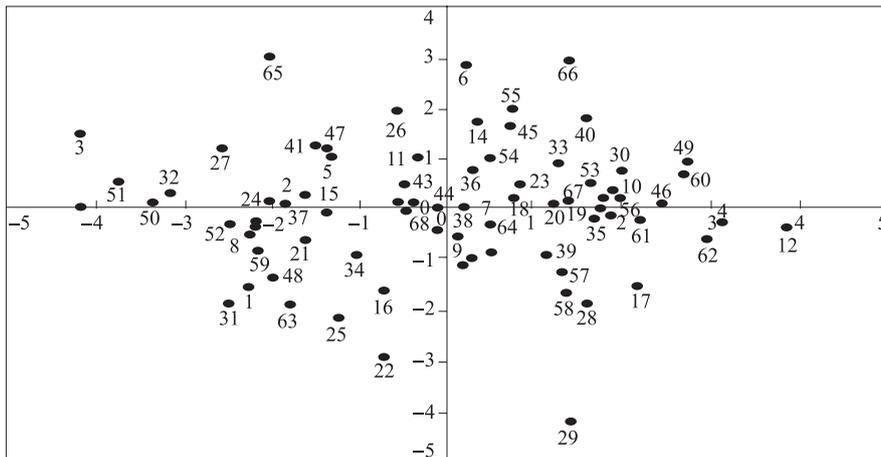


横坐标: 第 1 主成分(单茎重产量因子); 纵坐标: 第 2 主成分(锤度糖分因子)

Abscissa: the first principal component ( single stem weight yield factor ), ordinate: the second principal component ( brix sugar factor )

图 2 第 1、2 主成分二维排序图

Fig. 2 Scatter plot based on the first and second PC



横坐标: 第 1 主成分(单茎重产量因子); 纵坐标: 第 3 主成分(丛有效茎含糖量因子)

Abscissa: the 1st principal component ( single stem weight yield factor ), ordinate: the 3rd principal component

( cluster effective stem sugar content factor )

图 3 第 1、3 主成分二维排序图

Fig.3 Scatter plot based on the first and third PC

种中割手密优良基因随世代升级而遗传的载体<sup>[21]</sup>。云南割手密遗传多样性丰富,是甘蔗育种中的宝贵资源,挖掘优良的云南割手密血缘创新种质材料是甘蔗品种改良的重要工作。本研究结果表明,68份云南割手密F<sub>2</sub>创新种质材料的单产、11月份理论含糖量的变异系数较大,分别达到35.30%和31.77%,丛有效茎数、单茎重和种苗率变异系数介于20%~30%之间,株高的变异系数最小,68份创新种质材料的9个主要工农艺性状的变异系数均在10%以上,变异范围为10.57%~35.30%,张加强等<sup>[27]</sup>和孙铭等<sup>[28]</sup>认为变异系数大于10%就表示样本间差异大,因此云南割手密创新种质血缘后

代遗传多样性丰富,资源可选范围大。刘建乐等<sup>[4]</sup>认为遗传变异系数是遗传变异潜力大小的标志,表示群体中直接选择的范围。变异系数大的性状说明从该群体中选出具有该性状的优良个体的几率大,反之则小。在选择时,可参考性状的变异情况进行选择。单产和糖分是甘蔗新品种选育的重要性状指标,单产、11月份理论含糖量两个性状上的高遗传变异,为将来有针对性地利用割手密创新种质改良栽培甘蔗品种提供遗传基础。齐永文等<sup>[9]</sup>对64份广东割手密资源农艺性状遗传多样性评价中,与本研究的株高、茎径、有效茎数及锤度的变异系数相比要低很多,这可能是因为本研究试验的群体材料均

种植在冬无严寒、夏无酷暑的南亚热带季风性气候型的瑞丽有关。

### 3.2 创新种质材料各数量性状的相关性分析

皮尔森相关分析表明,株高、茎径、丛有效茎数、单茎重分别与单产呈极显著正相关,株高、茎径与丛有效茎数呈负相关,丛有效茎数与单茎重呈极显著负相关,11月份锤度、11月份理论蔗糖分、11月份理论含糖量相互之间呈显著正相关,这与张革民等<sup>[29]</sup>、刘新龙等<sup>[30]</sup>和齐永文等<sup>[9]</sup>的研究结果基本一致。本试验由于群体材料特定,且有相同的父母本血缘,在相关分析中,株高与11月份锤度、11月份理论蔗糖分相关性不显著,这一结论与刘新龙等<sup>[31]</sup>对中国十倍割手密资源的表型相关性及其遗传多样性中,株高与甘蔗糖分无相关性的研究结论一致。

### 3.3 主成分分析与聚类分析及其二维评价

主成分分析和聚类分析能综合多种来源数据,借助计算机软件,加快信息处理和利用,是现代育种的重要方法和手段之一。本试验通过对68份云南割手密 F<sub>2</sub> 创新种质的9个主要工农艺性状进行主成分分析,确定单茎重产量因子、锤度糖分因子和丛有效茎含糖量因子等3个主成分,其累计贡献率为80.8292%,代表了原始性状的绝大部分信息。由于单茎重单产因子在68份云南割手密 F<sub>2</sub> 创新种质主要工农艺性状中变异系数是比较大的,结合本研究相关分析结论,株高、茎径、单茎重、单产之间相互呈极显著正相关,因此针对该类创新材料选亲本时应选择植株高大、中等茎粗的材料,其次还要考虑育种目标要求的其他性状。在主成分分析基础上,利用9个主要工农艺性状将68份创新种质材料系统聚类为4大类群,较好的揭示创新材料类群间或类群内创新材料的遗传特点。4个类群材料各具特色,第Ⅰ类群的材料可选择性的作为高产潜力的亲本加以利用;第Ⅱ类群材料表现为高糖高产;第Ⅲ类群材料产量偏低糖分适中,但单产和11月份平均理论含糖量的变异系数相对其他类型高;第Ⅳ类群材料田间表现低糖低产。

通过二维排序分析,评选出综合性状表现较好的创新材料,云割 F<sub>2</sub>11-50、云割 F<sub>2</sub>11-56、云割 F<sub>2</sub>11-40、云割 F<sub>2</sub>11-66、云割 F<sub>2</sub>11-77、云割 F<sub>2</sub>11-10、云割 F<sub>2</sub>11-19、云割 F<sub>2</sub>11-85、云割 F<sub>2</sub>11-45、云割 F<sub>2</sub>11-37、云割 F<sub>2</sub>11-23、云割 F<sub>2</sub>11-18、云割 F<sub>2</sub>11-25 等共13份,它们同时兼顾第1主成分、第2和第3主成分,在甘蔗品种遗传改良上值得重视和可直接或间接利用的优良种质材料。而系统聚类分析可知,这13

份创新材料有12份聚在第Ⅱ类群,只有1份云割 F<sub>2</sub>11-18聚在第Ⅲ类群,这两个类群材料表现为第Ⅱ类群高糖高产,第Ⅲ类群的材料单产和11月份平均理论含糖量的变异系数相对其他类型高。可见基于主成分分析基础上的系统聚类和二维排序分析,在揭示创新材料的相似性与差异性方面既有共性又有个性特点。这与陶爱芬等<sup>[32]</sup>、陈书霞等<sup>[33]</sup>和张加强等<sup>[34]</sup>的研究结论一致。总之,二维排序能比较直观、简单地揭示出各创新材料在产量与糖分表现等方面明显的差异及相近或相对的位置特点,系统聚类却具有揭示创新材料产量与糖分综合表现和同一性状差异性分类的特点或相对遗传距离<sup>[35]</sup>,将两者综合应用可以更好地了解创新种质材料产量与糖分性状的遗传特点,以此为甘蔗品种遗传改良中创新种质资源的利用提供科学客观的依据。

本试验仅从创新材料的株高、茎径、丛有效茎数、单茎重、11月份锤度等工农艺性状进行分析,为了全面、客观地掌握这些材料的遗传信息,还需对材料进行抗性、适应性和分子水平的研究。

### 参考文献

- [1] 刘建乐. 割手密种质资源遗传多样性及其产能潜力的研究. 海口: 海南大学, 2015  
Liu J L. Evaluation of potential production and genetic diversity analysis of *Saccharum Spontaneum* L. germplasm resources. Haikou: Hainan University, 2015
- [2] Editorial board of the flora of China. Flora of China, Vol.9. Beijing: Science Press, 2002: 48-49
- [3] 桃联安, 杨李和, 经艳芬, 段慧芬, 董立华, 安汝东, 周清明, 朱建荣. 云南割手密血缘 F<sub>2</sub> 代抗旱性隶属函数法综合评价. 西南农业学报, 2011, 24(5): 1676-1680  
Tao L A, Yang L H, Jing Y F, Duan H F, Dong L H, An R D, Zhou Q M, Zhu J R. Comprehensive evaluation of drought resistance for descendant F<sub>2</sub> of *Saccharum spontaneum* in Yunnan by subjection function. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2011, 24(5): 1676-1680
- [4] 刘建乐, 白昌军, 严琳玲, 贾庆麟, 罗灿, 张瑜. 43份割手密资源工农艺性状遗传多样性评价. 热带作物学报, 2015, 36(2): 229-236  
Liu J L, Bai C J, Yan L L, Jia Q L, Luo C, Zhang Y. Genetic diversity assessment of 43 *Saccharum spontaneum* L. varieties with agronomic traits. Chinese Journal of Tropical Crops, 2015, 36(2): 229-236
- [5] 李奇伟. 现代甘蔗改良技术. 广州: 华南理工大学出版社, 2000: 15-18  
Li Q W. Modern sugarcane improvement technology. Guangzhou: South China University of Technology Press, 2000: 15-18
- [6] Amalraj V A, Balakrishnan R, Jebadhas A W, Balasundaram N. Constituting a core collection of *Saccharum spontaneum* L. and comparison of three stratified random sampling procedures.

- Genetic Resources & Crop Evolution, 2006, 53(8): 1563-1572
- [7] Tai P Y P, Miller J D. A core collection for *Saccharum spontaneum* L. from the world collection of sugarcane. *Crop Science*, 2001, 41(3): 879-885
- [8] 黄忠兴, 周峰, 王勤南, 金玉峰, 符成, 胡后祥, 张垂明, 常海龙, 吉家乐, 吴其卫, 齐永文, 刘少谋. 国内外割手密资源农艺性状表型遗传多样性分析. *植物遗传资源学报*, 2012, 13(5): 825-829  
Huang Z X, Zhou F, Wang Q N, Jin Y F, Fu C, Hu H X, Zhang C M, Chang H L, Ji J L, Wu Q W, Qi Y W, Liu S M. Genetic diversity assessment of *Saccharum spontaneum* L. native of domestic and overseas with phenotype agronomic traits. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2012, 13(5): 825-829
- [9] 齐永文, 樊丽娜, 何慧怡, 陈勇生, 敖俊华, 邓海华. 广东割手密资源农艺性状遗传多样性评价. *甘蔗糖业*, 2009(3): 7-10, 20  
Qi Y W, Fan L N, He H Y, Chen Y S, Ao J H, Deng H H. Genetic diversity assessment of *Saccharum spontaneum* L. native to Guangdong area with agronomic traits. *Sugarcane and Cane Sugar*, 2009(3): 7-10, 20
- [10] 张革民, 廖江雄, 黄宏套, 黎焕光, 容凤玉, 杨荣仲, 方位宽, 闭少玲, 贤武, 谭芳. 广西高糖割手密遗传多样性的表型分析和 RAPD 分析. *西南大学学报: 自然科学版*, 2007, 29(8): 83-88  
Zhang G M, Liao J X, Huang H T, Li H G, Rong F Y, Yang R Z, Fang W K, Bi S L, Xian W, Tan F. Genetic diversity of *Saccharum spontaneum* L. with high sugar content in Guangxi based on phenotypic traits and RAPD markers. *Journal of Southwest University: Natural Science Edition*, 2007, 29(8): 83-88
- [11] 杨荣仲, 吴才文, 黄久凯. 四川割手密资源聚类分类研究. *亚热带农业研究*, 2001, 8(2): 1-6  
Yang R Z, Wu C W, Huang J K. Clustering classification of Sichuan *S. spontaneum*. *Subtropical Agriculture Research*, 2001, 8(2): 1-6
- [12] Chen H, Fan Y H, Shi X W, Cai Q, Zhang M, Zhang Y P. Research on genetic diversity and systemic evolution in *Saccharum spontaneum* L.. *Acta Agronomica Sinica*, 2001, 27: 645-652
- [13] 杨清辉, 李富生, 肖凤回. 割手密 RAPD 指纹图谱分析. *云南农业大学学报: 自然科学版*, 1998, 13(4): 347-351  
Yang Q H, Li F S, Xiao F H. Analysis of RAPD fingerprinting on *Saccharum spontaneum* L.. *Journal of Yunnan Agricultural University: Natural Science Edition*, 1998, 13(4): 347-351
- [14] 桃联安, 经艳芬, 董立华, 安汝东, 杨李和, 周清明, 段慧芬, 朱建荣. 云南甘蔗细茎野生种 82-114 测交后代主要性状遗传分析. *植物遗传资源学报*, 2011, 12(3): 419-424  
Tao L A, Jing Y F, Dong L H, An R D, Yang L H, Zhou Q M, Duan H F, Zhu J R. Genetic analysis of main traits in descendants of crossing with *Saccharum spontaneum* 82-114 in Yunnan. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2011, 12(3): 419-424
- [15] 朱建荣, 桃联安, 董立华, 周清明, 段慧芬, 杨李和, 安汝东, 刘洪博, 经艳芬. 中国本土割手密血缘创新亲本材料的利用潜力分析. *云南农业大学学报: 自然科学版*, 2011, 26(1): 12-19  
Zhu J R, Tao L A, Dong L H, Zhou Q M, Duan H F, Yang L H, An R D, Liu H B, Jing Y F. Breeding potential of creation parents derived from china native *Saccharum spontaneum* in Sugarcane. *Journal of Yunnan Agricultural University: Natural Science*, 2011, 26(1): 12-19
- [16] 桃联安, 杨李和, 安汝东, 经艳芬, 董立华, 俞华先. 5种分析方法对 08 系列云南割手密血缘 F<sub>2</sub> 代的综合分析及比较. *西南农业学报*, 2015, 28(5): 1907-1915  
Tao L A, Yang L H, An R D, Jing Y F, Dong L H, Yu H X. Comprehensive analysis and comparison of five methods for 08 Series *Saccharum spontaneum* F<sub>2</sub> in Yunnan. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2015, 28(5): 1907-1915
- [17] 边芯, 董立华, 孙有芳, 桃联安, 朱建荣, 周清明, 杨李和, 安汝东, 郎荣斌, 俞华先, 冯蔚, 经艳芬. 云南割手密及其血缘 F<sub>1</sub> 代材料抗旱相关性状的主成分分析. *干旱地区农业研究*, 2014, 32(3): 56-61  
Bian X, Dong L H, Sun Y F, Tao L A, Zhu J R, Zhou Q M, Yang L H, An R D, Lang R B, Yu H X, Feng W, Jing Y F. Principal component analysis of drought resistance related traits of *Saccharum spontaneum* L. and its F<sub>1</sub> hybrids. *Agricultural Research in the Areas*, 2014, 32(3): 56-61
- [18] 桃联安, 张家瑞. 云南割手密与斑茅血缘 F<sub>1</sub> 代优良材料抗砍晒晒质特性初步研究. *甘蔗*, 1997(2): 9-11  
Tao L A, Zhang J R. A preliminary study on the anti-sunning germplasm characteristics of the excellent material of the F<sub>1</sub> generation of the blood relationship between yunnan mowing manchuria and zebra chinensis. *Sugarcane*, 1997(2): 9-11
- [19] 经艳芬, 董立华, 孙有芳, 桃联安, 朱建荣, 周清明, 杨李和, 安汝东. 云南不同生态型割手密及其血缘 F<sub>1</sub> 代种质的抗旱性遗传分析. *湖南农业大学学报: 自然科学版*, 2013(S1): 1-6  
Jing Y F, Dong L H, Sun Y F, Tao L A, Zhu J R, Zhou Q M, Yang L H, An R D. Drought resistance genetic analysis of different ecological cutters in Yunnan and their consanguineous F<sub>1</sub> generations. *Journal of Hunan Agricultural University: Natural Sciences Edition*, 2013(S1): 1-6
- [20] 田春艳, 桃联安, 俞华先, 董立华, 经艳芬, 边芯, 郎荣斌, 周清明, 安汝东, 孙有芳, 杨李和. 5种气候生态型割手密 F<sub>1</sub> 和 F<sub>2</sub> 杂种的耐旱性评价. *中国农业科学*, 2017, 50(22): 4408-4421  
Tian C Y, Tao L A, Yu H X, Dong L H, Jing Y F, Bian X, Lang R B, Zhou Q M, An R D, Sun Y F, Yang L H. Drought resistance evolution of F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub> hybrids from five climatic ecotypes *Saccharum spontaneum* L.. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(22): 4408-4421
- [21] 经艳芬, 边芯, 桃联安, 董立华, 周清明, 朱建荣, 安汝东, 杨李和, 郎荣斌, 俞华先, 冯蔚. 云南割手密血缘 F<sub>1</sub> 创新种质的因子和聚类分析. *植物遗传资源学报*, 2014, 15(1): 177-181  
Jing Y F, Bian X, Tao L A, Dong L H, Zhou Q M, Zhu J R, An R D, Yang L H, Lang R B, Yu H X, Feng W. Factor and cluster analysis of Yunnan innovated germplasm materials F<sub>1</sub> of *Spontaneum*. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2014, 15(1): 177-181
- [22] 唐启义. *DPS 数据处理系统*. 北京: 科学出版社, 2010: 719-761  
Tang Q Y. *DPS data processing system*. Beijing: Science Press, 2010: 719-761
- [23] 洪楠, 侯军. *SAS for Windows (v8) 统计分析系统教程新编*. 北京: 清华大学出版社, 2004: 354-360

- Hong N, Hou J. New edition of SAS for Windows (v8) statistical analysis system tutorial. Beijing: Tsinghua University Press, 2004: 354-360
- [ 24 ] 吴才文, 王炎炎, 夏红明, 李复琴, 杨昆, 侯朝祥, 刘家勇, 赵俊, 赵培方. 云南甘蔗创新亲本的遗传力和配合力研究. 西南农业学报, 2009, 22(5): 1274-1278  
Wu C W, Wang Y Y, Xia H M, Li F Q, Yang K, Hou C X, Liu J Y, Zhao J, Zhao P F. Research on herit ability and combining ability of creation parents in Yunnan sugarcane. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2009, 22(5): 1274-1278
- [ 25 ] 李杨瑞. 现代甘蔗学. 北京: 中国农业出版社, 2010: 68  
Li Y R. Modern sugarcane science. Beijing: China Agricultural Press, 2010: 68
- [ 26 ] Simmonds N W. Sugarcane in evolution of crop plants. London: Longmans, 1976: 104-108
- [ 27 ] 张加强, 骆霞虹, 陈常理, 朱关林, 金关荣. 叶用芥菜种质表型性状的遗传多样性分析. 植物遗传资源学报, 2015, 16(3): 535-540  
Zhang J Q, Luo X H, Chen C L, Zhu G L, Jin G R. Diversity analysis of leaf mustard germplasms based on phenotypic traits. Journal of Plant Genetic Resources, 2015, 16(3): 535-540
- [ 28 ] 孙铭, 符开欣, 范彦, 张新全, 张成林, 郭志慧, 汪霞, 马啸. 15份多花黑麦草优良引进种质的表型变异分析. 植物遗传资源学报, 2016, 17(4): 655-662  
Sun M, Fu K X, Fan Y, Zhang X Q, Zhang C L, Guo Z H, Wang X, Ma X. Analysis of phenotypic variations in 15 introduced elite germplasm of lolium multiflorum lam. Journal of Plant Genetic Resources, 2016, 17(4): 655-662
- [ 29 ] 张革民, 杨荣仲, 刘海斌, 方位宽. 割手密主要数量性状的主成分及聚类分析. 西南农业学报, 2006, 19(6): 1127-1131  
Zhang G M, Yang R Z, Liu H B, Fang W K. Principal component analysis for 7 quantitative traits and cluster analysis based on 7 quantitative traits of *Saccharum spontaneum* L.. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2006, 19(6): 1127-1131
- [ 30 ] 刘新龙, 苏火生, 刘洪博, 马丽, 徐超华, 范源洪. 云南八倍体割手密资源产量和品质性状相关性和聚类分析. 西南农业学报, 2014, 27(4): 1382-1386  
Liu X L, Su H S, Liu H B, Ma L, Xu C H, Fan Y H. Correlation and clustering relationship analysis of Yunnan octoploid clones of *Saccharum spontaneum* in China on basis of yield and quality related traits. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2014, 27(4): 1382-1386
- [ 31 ] 刘新龙, 苏火生, 应雄美, 马丽, 陆鑫, 刘洪博, 邓祖湖. 中国十倍体割手密资源的表型相关性及其遗传多样性. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2012, 38(6): 574-579  
Liu X L, Su H S, Ying X M, Ma L, Lu X, Liu H B, Deng Z H. Phenotypic correlation and genetic diversity of decaploids of *Saccharum spontaneum*. Journal of Hunan Agricultural University: Natural Sciences, 2012, 38(6): 574-579
- [ 32 ] 陶爱芬, 祁建民, 林培青, 方平平, 吴建梅, 林荔辉. 红麻优异种质产量和品质性状主成分聚类分析与综合评价. 中国农业科学, 2008, 41(9): 2859-2867  
Tao A F, Qi J M, Lin P Q, Fang P P, Wu J M, Lin L H. Cluster analysis and evaluation of elite kanaf germplasm based on principal components. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(9): 2859-2867
- [ 33 ] 陈书霞, 周静, 申晓青, 常燕霞, 杜俊娜, 孟焕文, 程智慧. 大蒜种质产量和品质性状主成分聚类分析与综合评价. 植物遗传资源学报, 2012, 13(3): 429-434  
Chen S X, Zhou J, Shen X Q, Chang Y X, Du J N, Meng H W, Cheng Z H. Cluster analysis and evaluation of garlic (*Allium sativum* L.) germplasm based on principal components. Journal of Plant Genetic Resources, 2012, 13(3): 429-434
- [ 34 ] 张加强, 金关荣, 骆霞虹, 陈常理. 红麻品种(系)表型性状的因子和聚类分析. 植物遗传资源学报, 2016, 17(6): 1000-1007  
Zhang J Q, Jin G R, Luo X H, Chen C L. Factor and cluster analysis on phenotype characters of kenaf varieties (Lines). Journal of Plant Genetic Resources, 2016, 17(6): 1000-1007
- [ 35 ] 方平平, 郑鹭, 陶爱芬, 祁建民, 林荔辉, 吴建梅. 蓖麻遗传资源产量与品质性状主成分聚类分析及其评价. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2011, 40(3): 231-236  
Fang P P, Zheng L, Tao A F, Qi J M, Lin L H, Wu J M. Traits identification and cluster analysis of castor (*Ricinus communis* L.) germplasm. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University: Natural Science Edition, 2011, 40(3): 231-236