ICS 65.020.20
B 05

DB15

内 蒙 古 自 治 区 地 方 标 准

DB 15/ T—XXXX
代替 DB

甜菜单胚雄性不育系及保持系表型鉴定规程

Code of practice for phenotype Identifying of monogerm male sterile line and maintainer line in sugar beet

点击此处添加与国际标准一致性程度的标识

（征求意见稿）

XXXX－XX－XX 发布　　XXXX－XX－XX 实施

内蒙古自治区市场监督管理局　发 布

前　　言

本文件按照GB/T　1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由内蒙古自治区农牧厅提出。

本文件由内蒙古自治区农业标准化技术委员会(SAM/TC 20)归口。

本文件起草单位：内蒙古自治区农牧业科学院。

本文件主要起草人：付增娟、张自强、鄂圆圆、赵尚敏、王良、张惠忠、张辉、韩平安、张必周、李晓东、郑文哲、张立华、吕艳霞、肖强、周晓华、孙梦媛、索宁宁。

甜菜单胚雄性不育系及保持系表型鉴定规程

1 范围

本文件规定了甜菜单胚雄性不育系及保持系表型鉴定技术要点。

本文件适用于企业、科研单位、农业院校对二倍体甜菜单胚雄性不育系及保持系花期育性、胚数性表型的鉴定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款，其中，注日期的引用文件仅该日期对应的版本，适用于本文件不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 19176 糖用甜菜种子

NY/T 978 甜菜种子生产技术规程

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

甜菜 sugar beet

苋科甜菜属二年生草本植物，按其用途分为糖用甜菜、饲用甜菜、根用甜菜、叶用甜菜，一般多指糖用甜菜。

3.2

单胚种 genetic monogerm seed

通过遗传获得的种球内只含有一个种胚的种子。

3.3

雄性不育系 male sterile line

雌雄同株植物中，雄蕊发育不正常，不能产生有功能的花粉，但它的雌蕊发育正常，能接受正常花粉而受精结实，并能将雄性不育性遗传给后代的植物品系。

3.4

保持系 maintainer line

当作为父本与不育系杂交时，能使F1保持雄性不育性的植物品系。

3.5

甜菜二倍体 sugar beet diploid

甜菜细胞核内有两组染色体称为二倍体或双倍体（2X=18）。

3.6

开花期 duration of flowering

在甜菜种株开花时进行观察记载，以整个鉴定群体的种株为观测对象，开花种株数达到75%的日期。

3.7

表型一致性 phenotypic consistency

植株在表型特征特性方面的一致程度。

3.8

花粉败育 pollen abortion

植株花药中无花粉或产生的花粉不能正常发育而失去活力的现象。

3.9

花粉败育率 pollen abortion rate

不育花粉数占总花粉数的百分比。

3.10

镜检 microscopic examination

将待检标本花粉取样、制片，在显微镜下观察、分析、判断花粉育性的检查方式。

4 鉴定圃要求

4.1 栽植环境

鉴定现场生态环境和栽培条件应与生产条件相近，周围环境不能有其他甜菜花粉源污染。

4.2 栽植时间

甜菜母根栽植适宜条件是土壤表土解冻25cm、表土5cm深土层平均地温达4℃～5℃为宜。在内蒙古地区甜菜母根栽植时期一般在4月1日～4月10日，寒冷地区栽植时期可延迟至4月底。

4.3 栽植株数

4.3.1 不育系

根据不育系母根窖藏情况确定栽植株数，除未抽苔无效株外，待鉴定不育系株数不少于100株。

4.3.2 保持系

根据保持系母根窖藏情况确定栽植株数，除未抽苔无效株外，待鉴定保持系株数不少于100株。

5 鉴定要求

5.1 鉴定人员

从事作物遗传育种、分子育种、种子管理、种子检验等专业人员不少于3名。

5.2 鉴定时期与内容

5.2.1 花期

对不育系及保持系的育性、胚数性、花粉量、种株表型等进行鉴定。一般在甜菜种株生长60d左右，在甜菜种株刚要开花前进行育性、胚数性观察鉴定。花粉量和种株株型鉴定是在盛花期。

5.2.2 种子成熟期

进行不育率、可育率、单胚率、发芽率鉴定。种子质量满足GB 19176要求。

6 鉴定方法与评价指标

6.1 种株表型一致性鉴定

6.1.1 现场观察

在甜菜种株开花盛期，以鉴定群体种株为观测对象进行种株一致性鉴定，包括株高、株型、叶色、结实密度等。其中采用目测观察种株的生长分枝情况，根据主枝和侧枝的多少确定种株株型。

单茎型：种株仅有一个明显的主枝，侧枝不发达，在主枝上生有第一次分枝，第一次分枝再生第二次分枝。且要求单茎型种株占总抽薹种株70%以上。

多茎型：种株具有多数健壮的侧枝，主枝不明显或没有主枝，总分枝数量多。且要求多茎型种株占总抽薹种株70%以上。

混合型：种株具有发育健壮的主枝和相当数量的侧枝，并有密集的第一次和第二次分枝。且要求单茎型种株占总抽薹种株70%以下或多茎型种株占总抽薹种株70%以下。

6.1.2 公式结果计算

表型一致性计算按公式（1）。

$$C=(Z_T-Z)\times 100/Z_T \quad (1)$$

式中：

C——表型一致性，单位为百分比（%）；

Z_T——观察样本总数，单位为株；

Z——杂株数，单位为株。

计算结果精确到小数点后一位

6.1.3 评价指标

种株表型一致性≥90.0%。

6.2 花粉育性鉴定

6.2.1 育性表型鉴定

甜菜雄性不育系，雄蕊花药色浅、空瘪、花粉没有活力，而雌蕊发育正常；保持系甜菜的花药色彩发黄，花药大、不干瘪，花粉生活力强。

甜菜花粉育性鉴定一般采取完全不育型(W)、半不育Ⅰ型(G)、半不育II型(Ys)、半可育型（Yp)、恢复型（Yn)等五种类型方法进行鉴别。

完全不育型(W)：花药色泽为白色或绿色；花药不开裂；无花粉，少见4分体或小孢子状态的退化花粉；花粉无生活力。

半不育Ⅰ型(G)：花药色泽为淡黄色；花药不开裂；花粉粒与W程度相同或较其进化的花粉粒较多地存在；花粉无生活力。

半不育II型(Ys)：花药色泽为橙色；花药基本不开裂；花粉粒有花粉膜，可以看见花粉孔，虽然花粉粒存在较多但其直径仅为正常的2/3，无授精能力；花粉无生活力。

半可育型（Yp)：花药色泽为略黄色；花药不开裂和开裂均有；花粉粒与Ys相同或较其进化，但以无受精能力的花粉粒为主，同时存在少数正常花粉粒；花粉一般无生活力，大粒的有生活力。

完全可育型（Yn)：花药色泽为黄色，花药开裂；正常花粉粒大量存在；花粉生活力强。

6.2.2 公式结果计算

不育率计算按公式（2）。

$$B=（K_T-K）\times 100/K_T \quad (2)$$

式中：

B——不育率，单位为百分比（%）；

K_T——鉴定样本总数，单位为株；

K——可育株数，单位为株。

计算结果精确到小数点后一位

6.2.3 评价指标

雄性不育系的不育率≥95.0%。

同型保持系的不育率≤5.0%。

6.3 花粉量鉴定

6.3.1 鉴定内容

在甜菜种株开花盛期，以整个鉴定群体种株为观测鉴定对象，采用目测的方法观察甜菜种株开花期间雄蕊的发育情况以及当日开放的花药纵裂、花粉散落的程度。

6.3.2 评价指标

花粉量级别0：花粉量无，种株开花期雄蕊花药白色或翠绿色，花药干瘪不开裂，没有花粉散落。

花粉量级别1：花粉量少，种株开花期雄蕊花药淡黄色，花药裂开后有很少花粉散落。

花粉量级别2：花粉量中，种株开花期雄蕊花药颜色比较黄，花药裂开后有相当一部分花粉散落。

花粉量级别3：花粉量多，种株开花期雄蕊花药颜色为黄色，花药裂开后有相大量成熟的花粉散落。

6.4 花粉活力鉴定

6.4.1 田间取样

一般在六月中旬开花较多时的晴天上午8h～10h进行花粉采集。

6.4.2 镜检

染色制片：每株取2个～3个花朵分别制片，把适量的成熟花粉放在载玻片之上，每个样品添加1滴～2滴配置好的0.5%TTC溶液，盖上盖玻片，在37℃暗箱内培养15min，红色越深表明活性越强，不能染色的是花粉败育为不育花粉。

镜检：制片在低倍镜下观察，每片取5个视野，共统计100粒，计算花粉的活力百分率。

6.4.3 评价指标

雄性不育系的花粉活力≤5.0%。

同型保持系的花粉活力≥95.0%。

6.5 胚数性鉴定

6.5.1 鉴定内容

当每份种质种株成熟收获后以全部收获种子为鉴定对象，种子不应经过任何机械或药物处理，鉴定种子量要控制在500 g以上，观测甜菜种球内种胚的多少。

单胚种：种球内只含有一个种胚的种子。

双胚种：种球内含有两个种胚的种子。

多胚种：种球内含有三个或三个以上种胚的种子。

6.5.2 公式结果计算

在检测的样品中随机取样，4次重复，每个重复200粒种子，进行观测鉴定单胚型种子的数量。

单胚率计算按公式（3）。

$$M=N\times 100/200 \qquad (3)$$

式中：

M——单胚率，单位为百分比（%）；

200——鉴定样本总数，单位为粒；

N——单胚种数，单位为粒。

计算结果精确到小数点后一位

6.5.3 评价指标

单胚雄性不育系的单胚率≥95.0%。

单胚同型保持系的单胚率≥95.0%。