|  |  |
| --- | --- |
| ICS | 65.020.01 |
| CCS | |  | | --- | | D:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T.pngD:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T后面的反斜杠.pngGXAS |   B 34 |

团体标准

T/GXAS XXXX—XXXX

甘蔗及其近缘属种质耐酸铝特性 四段式筛选法评价技术规程

Technical code of practice for evaluation of sugarcane and its closely related genera’s acid resistance aluminum characteristics by four-stage screening method

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX实施

广西标准化协会  发布

1. 前言

本文件参照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。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由广西壮族自治区农业科学院提出并宣贯。

本文件由广西标准化协会归口。

本文件起草单位：广西壮族自治区农业科学院、来宾市农业科学院、广西壮族自治区地质调查院、广西泛糖科技有限公司。

本文件主要起草人：

甘蔗及其近缘属种质耐酸铝特性 四段式筛选法评价技术规程

* 1. 范围

本文件界定了四段式筛选甘蔗及其近缘属种质的耐酸铝特性评价技术涉及的术语和定义，规定了筛选方法和评价方法的操作指示。

本文件适用于甘蔗及其近缘属种质耐酸铝特性的筛选和评价。

* 1. 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/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GBT 4889-2008 数据的统计处理和解释 正态分布均值和方差的估计与检验

* 1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

甘蔗及其近缘属种质 sugarcane and its closely related genera

甘蔗属内及其近缘属野生种的种质材料。

四段式筛选法 four-stage screening method

采用苏木精初筛、水培筛选、土培筛选和大田验证四个步骤，高效快速筛选出耐酸铝甘蔗及其近缘属种质的方法。

* 1. 筛选方法
     1. 筛选流程

四段式筛选流程见图1。

苏木精初筛

土培筛选

大田验证

水培筛选

材料准备

1. 四段式筛选流程图
   * 1. 筛选操作
        1. 材料准备
           1. 甘蔗试验材料

选择生长形状良好的待测甘蔗及其近缘属种质茎段。

* + - * 1. 培养液

选用霍格兰氏营养液，按使用说明配制成培养液，成分见附录1，然后稀释浓度至20％备用。

* + - * 1. 铝离子

用符合GB/T 6682中三级水的要求的试验用水溶解六水合氯化铝，配制成0.1mol/L的母液备用。

* + - * 1. 盐酸

用符合GB/T 6682中三级水的要求的试验用水溶解氯化钠，配制成1mol/L的母液备用。

* + - * 1. 培养土

包括以下重量分数的原料：沙子50～100份、珍珠岩30～50份、蛭石10～20份和复合肥（15-15-15）1～5份。

* + - 1. 苏木精初筛
         1. 预处理

将待测甘蔗及其近缘属种质茎段放入珍珠岩中，在28℃下恒温培养3d～4d，得到不同品种甘蔗及其近缘属种质的根尖。然后将实验组根尖放入pH=4，铝离子浓度为250μmol/L的处理液中浸泡1h；将对照组根尖放入pH=6的水溶液中浸泡1h。

* + - * 1. 筛选

用0.02％的苏木精对不同品种甘蔗及其近缘属种质根尖进行染色，与对照组比较，筛选出根尖染色淡白的品种，根尖染色后呈深黑色的品种不进入下一流程的筛选。

* + - 1. 水培筛选
         1. 实验组

将4.2.2选出的甘蔗及其近缘属种质种茎，浸泡在不同铝离子浓度（见表1）的酸性培养液中作为试验组，于20℃～28℃下培养20d～25d，培养液每周更换1次，每个浓度和种质设置4个平行试验。

1. 耐酸铝试验条件

| 酸铝等级 | 试验条件 | |
| --- | --- | --- |
| pH值 | 铝离子浓度/（μmol/L） |
| 低酸铝 | 4.0 | 50～100 |
| 中酸铝 | 4.0 | 100～200 |
| 高酸铝 | 4.0 | ＞200 |

* + - * 1. 对照组

将4.2.2选出的甘蔗及其近缘属种质种茎，浸泡在培养液中性和不含铝离子的中作为参照组，于20℃～28℃下培养20d～25d，培养液每周更换1次，设置4个平行试验。

* + - * 1. 筛选

对比试验组和参照组生长情况，按照表2筛选出水培条件下的低耐酸铝、中耐酸铝、高耐酸铝品种。

* + - 1. 土培筛选
         1. 试验组

将4.2.3选出的甘蔗及其近缘属种质种茎，种植在不同pH和铝离子浓度（见表1）的培养土中作为试验组，种植30d～40d，每个浓度和种质设置4个平行试验。

* + - * 1. 对照组

将4.2.3选出的甘蔗及其近缘属种质种茎，种植在中性和不含铝离子的培养土中作为参照组，种植30d～40d，设置4个平行试验。

* + - * 1. 筛选

观测和对比试验组和参照组生长情况，按照表2筛选出土培条件下的低耐酸铝、中耐酸铝、高耐酸铝品种。

* + - 1. 大田验证
         1. 试验组

将4.2.4选出的甘蔗及其近缘属种质种茎，移栽到pH≤4.5，交换性铝（活性铝）含量≥0.35cmol/kg的试验田内种植作为试验组，种植至成熟期，每个种质设置4个平行试验。

* + - * 1. 对照组

将4.2.4选出的，甘蔗及其近缘属种质种茎移栽到中性和不含铝离子的试验田内种植作为参照组，种植至成熟期，设置4个平行试验。

* + - * 1. 筛选

观测和对比试验组和参照组生长情况，按照表3验证大田自然栽培条件下潜力甘蔗及其近缘属种质的耐酸铝性能。

* 1. 评价方法
     1. 水培、土培评价
        1. 干物质测定

将整株甘蔗苗洗净后，剪下根系，分别将根系和植株（无根）放入恒温干燥箱中，在100℃±2℃下干燥至恒重。取出放入干燥器内冷却至室温，称重，分别记录根和植株的质量。

* + - 1. 差异性计算

按式（1）计算实验组与对照组的根和植株干重的质量差。

()

式中：

*ΔM——*试验组相较于对照组干重的质量差，单位为克（g）；

*M1* ——实验组（根或植株）的干重，单位为克（g）；

*M0* ——对照组（根或植株）的干重，单位为克（g）。

分别对实验组与对照组的根和植株干重进行单因素方差分析，计算显著性。

* + - 1. 结果评价

评价指标符合表2要求时，选择该甘蔗及其近缘属种质进入下一阶段的筛选。

1. 筛选指标

| 项目 | 指标 |
| --- | --- |
| 根干重/g | *ΔM1*≥0 |
| 植株干重/g | *ΔM2*≥0 |
| 根干重差异性 | *P1*＜0.05 |
| 植株干重差异性 | *P2*＜0.05 |
| 1. *ΔM1*为实验组相较于对照组根干重的质量差，*ΔM2*为实验组相较于对照组植株干重的质量差。 2. *p1*为实验组与对照组根干重的显著性，*p2*为实验组与对照组植株干重的显著性。 | |

* + 1. 大田验证评价
       1. 差异性计算

按式（2）分别计算实验组相较于对照组在产量、含糖量、蔗糖分上的差异量。

()

式中：

*x——*实验组相较于对照组的差异量，单位为百分比（％）；

*A——*实验组的量（产量或含糖量或蔗糖分），数值；

*B——*对照组的量（产量或含糖量或蔗糖分），数值。

分别对实验组与对照组的产量、含糖量、蔗糖分进行单因素方差分析，计算显著性。

* + - 1. 结果评定

评价指标符合表3要求时，评为耐酸铝的甘蔗及其近缘属种质。

1. 耐酸铝甘蔗及其近缘属种质评价指标

| 项目 | 指标 |
| --- | --- |
| 产量 | *x1*≥0 |
| 含糖量 | *x2*≥0 |
| 蔗糖分 | *x3*≥0 |
| 产量 | *P1*＜0.05 |
| 含糖量 | *P2*＜0.05 |
| 蔗糖分 | *P3*＜0.05 |
| 1. *x1*为实验组相较于对照组的产量差异量，*x2*为实验组相较于对照组的含糖量差异量，*x3*为实验组相较于对照组的蔗糖分差异量。 2. *p1*为实验组与对照组产量的显著性，*p2*为实验组与对照组含糖量的显著性，*p3*为实验组与对照组蔗糖分的显著性。 | |

2. （资料性）  
   霍格兰氏营养液组成成分

表A.1给出了霍格兰氏营养液组成成分。

* 1. 霍格兰氏营养液成分表

| 成分 | 含量（mg/L） |
| --- | --- |
| 硝酸钾（KNO3） | 506 |
| 硝酸铵（NH4NO3） | 80 |
| 磷酸氢钾（KH2PO4） | 136 |
| 硫酸镁（MgSO4） | 241 |
| 乙二胺四乙酸铁钠（FeNaEDTA） | 36.7 |
| 碘化钾（KI） | 0.83 |
| 硼酸（H3BO3） | 6.2 |
| 硫酸锰（MnSO4） | 22.3 |
| 硫酸锌（ZnSO4） | 8.6 |
| 钼酸钠（Na2MoO4） | 0.25 |
| 硫酸铜（CuSO4） | 0.025 |
| 氯化钴（CoCl2） | 0.025 |
| 硝酸钙[Ca(NO3)2] | 945 |

