按DB34

安 徽 省 地 方 标 准

DB34/ XXXX —2020

大豆品种耐旱与耐热性评价体系技术规程

Technical Procedure of Evaluation System of Drought and Heat Tolerance of Soybean Germplasms

（征求意见稿）

2020—XX—XX发布 2020—XX—XX实施

安徽省市场监督管理局发布

DB34/ XXXX —2020

前言

为规范安徽省大豆耐旱与耐热性评价技术规程，特制定本标准。

本标准按照GB/T 1.1-2012 给出的规则起草。

本标准由安徽农业大学提出。

本标准由安徽省农业标准化专业委员会归口。

本标准起草单位：安徽农业大学，中国农业科学院作物科学研究所，合肥市农业经济技术监督管理总站

本标准主要起草人：李佳佳，王晓波，邱丽娟，李英慧，刘章雄，张俊，张文明，汪明华，赵敬会，邵文韬，程安东

本标准于2020年XX月XX日首次发布。

DB34/ XXXX —2020

大豆品种耐旱与耐热性评价体系技术规程

1. 范围

本规程规定了大豆品种耐旱与耐热性评鉴体系构建过程中的干旱胁迫和热胁迫处理条件、处理时间、主要指标选择、响应干旱和热胁迫的综合值公式及其定义以及耐旱与耐热性分级标准等技术内容。

本标准适用于黄淮海流域生态区（安徽省）大豆品种耐旱与耐热性的鉴定和评价，耐旱与耐热种质资源的筛选、鉴定及生产。

1. 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB 4404.2 粮食种子 豆类

GB 1352-2009 大豆

GB 4285 农药安全使用标准

GB/T 8321 农药合理使用准则

NY/T 496 肥料合理使用准则 通则

1. 术语与定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1 干旱胁迫 （Drought Stress, DS）

因土壤失水等环境变化引起植物的生理性伤害称为干旱胁迫。在本标准中，将干旱胁迫简称DS。

3.2 热胁迫（Heat / High Temperature Stress, HS）

由热环境引起植物的生理性伤害称为热胁迫。在本标准中，将热胁迫简称HS。

3.3 萎蔫天数（Days-to-wilt, DTW）

大豆植株从干旱胁迫开始至其底部叶片出现失水皱缩时的天数。在本标准中，将萎焉天数简称DTW。

4、耐旱和耐热性鉴定方法

4.1 种子材料

选用黄淮海大豆生态区主栽品种、种间分离群体、微核心种质等种质资源作为试验材料。种子质量标准按 “GB 4404.2 粮食种子 豆类”执行。

4.2 幼苗培育

采用盆栽播种，播前用1%的次氯酸钠浸泡大豆种子1-2 min，纯水冲洗3-5次，于穴盘中萌发3 d，挑选长势基本一致的健壮幼苗移栽，每盆种植3棵大豆植株。

4.3 试验设计

以田间自然条件下的自然正常供水和温度为对照，采用大棚盆栽试验，盆钵高25 cm、直径29 cm，每盆装土和沙共8-9 kg（土壤和沙按4:1比例混合，以便于洗根并调查根系性状）。每个处理下采用随机区组设计，3次重复。

4.4 胁迫处理

处理前按正常田间管理，在大豆始花期（R1期）开始处理，至成熟期（R8）间不浇水，以形成有效的干旱胁迫效应。同时于每天上午10:00至下午16:00连续7天进行塑料大棚热（高温）处理，高温设定为高于田间气温5 ℃左右，通过温湿度记录仪（RC-4HC, Elitech）实时监测棚内温度，随时调控塑料薄膜的覆盖高度，使棚内温度较田间自然温度一直浮动高于5 ℃左右，使其能够形成有效的干旱和热胁迫处理效应。

5、耐旱和耐热性指标检测

5.1 花粉活性检测

5.1.1 花芽标记法-花粉萌发率检测

为了精确检测热对大豆花粉萌发率的胁迫效应，在热处理前的早上用挂线标记大豆幼小花芽（较杂交花芽小一些），实施跟踪观察检测。然后于热胁迫处理后的第二天早上采集处理与对照植株上的标记花芽（已露白/紫但尚未开放），根据盖钧镒等（1980）记录的方法统计并分析花粉萌发率。

5.1.2 花芽标记法-花粉活力检测

花芽标记方法同上，利用I2-KI染色法检测热胁迫处理与对照植株的花粉活力，统计并分析。

5.2 渗透调节物质检测

5.2.1 相对电导率

干旱和热胁迫处理后，分别采集热胁迫处理与对照植株上部第3、4复叶为实验材料，利用浸泡法检测其相对电导率。

5.2.2 相对含水量（RWC）

取样同5.2.1，首先对叶片称其鲜重 (FW) ，之后将其放入盛水的培养皿中(水量占培养皿2/3) ，浸泡24 h后用吸水纸将其叶面水擦干，称其饱和鲜重 (SFW) ，FW与SFW均在室温下测定，温度25 ℃，湿度60%～70%，之后将所有样品放入烘箱，105 ℃杀青30 min，再置于80 ℃烘干24 h (烘干至恒重) ，冷却至室温后称其干重 (DW) 。

相对含水量计算公式为: RWC（%） = ( FW-DW) / ( SFW-DW) ×100%。

5.2.3 萎蔫天数统计

统计分析大豆植株从干旱、热胁迫开始至其底部叶片出现失水皱缩时的天数。

5.3 保护酶活性测定

5.3.1超氧化物歧化酶（SOD）活性

利用氯化硝基四氮唑蓝（NBT）光化还原法或试剂盒方法检测分析。

5.3.2过氧化物酶（POD）活性

利用邻甲氧基苯酚（愈创木酚）显色法或试剂盒方法检测分析。

5.3.3 过氧化氢酶（CAT）活性

利用紫外吸收法或试剂盒方法检测分析。

5.4 产量性状检测

大豆收获期间，每种材料（处理和对照）考察10个单株的有效结荚率（%）、单株粒数（粒）、单株粒重（g）、百粒重（g）、籽粒饱满度（饱满/皱缩）等产量组分及性状。该类性状部分指标检测按 “GB 1352-2009大豆”执行。

1. 注意事项

在进行大豆品种耐旱、耐热性鉴定期间，要及时防治病、虫、草和鸟害，防止倒伏等不利情况发生。防止病虫草害使用农药等药品按“GB 4285 农药安全使用标准”和“GB/T 8321 农药合理使用准则”要求执行。

1. 大豆耐旱和耐热性评价体系分级标准

**7.1 大豆耐旱性评价体系标准**

基于大豆响应干旱胁迫综合值（C）和聚类分析结果进行鉴定。以花粉活力作为主要指标，结合相关渗透调节物质、保护酶活性和产量组分等生理指标，进行主成分分析（SPSS 19.0），同时运用隶属函数值对各主成分得分值进行标准化，从而获得一个大豆响应干旱胁迫综合值(C)，根据C值进行聚类分析（SPSS 19.0）。大豆响应干旱胁迫综合值(C)的计算公式。

**image12**

（i = 1, 2, 3,……, n）

**image13image12**其中：

式中：C—大豆响应干旱胁迫综合值；

U (xi) —通过隶属函数方法分析在主成分分析中的标准数据；

X max—每个主成分中的最大值；

X min—每个主成分中的最小值；

i—样本数量；

Wi—每个主成分中的权重系数；

Pi—主成分分析中每个主成分的特征值。

基于 C 综合值和聚类分析图的平均隶属值结果，将大豆抗旱评价体系划分为五个等级（表1）。

**表1** 大豆抗旱性评价体系标准

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **耐旱性平均隶属值** | **聚类分析结果** | **抗旱性等级** |
| 平均隶属值≥0.65 | V级 | 耐旱型 |
| 0.50 ≤平均隶属值＜0.65 | IV级 | 较耐旱型 |
| 0.35 ≤平均隶属值＜0.50 | III级 | 中间型 |
| 0.20 ≤平均隶属值＜0.35 | II级 | 较敏感型 |
| 平均隶属值＜0.20（或植株枯死） | I级 | 敏感型 |

**7.2 大豆耐热性评价体系标准**

基于大豆响应热胁迫综合值（D）和聚类分析结果进行鉴定。以花粉活力作为主要指标，结合相关渗透调节物质、保护酶活性和产量组分等生理指标，进行主成分分析（SPSS 19.0），同时运用隶属函数值对各主成分得分值进行标准化，从而获得一个大豆响应干旱和热胁迫综合值(D)，根据D值进行聚类分析（SPSS 19.0）。大豆响应热胁迫综合值(D)的计算公式。

**image12**

（i = 1, 2, 3,……, n）

**image13image12**其中：

式中：D—大豆响应热胁迫综合值；

U (xi) —通过隶属函数方法分析在主成分分析中的标准数据；

X max—每个主成分中的最大值；

X min—每个主成分中的最小值；

i—样本数量；

Wi—每个主成分中的权重系数；

Pi—主成分分析中每个主成分的特征值。

基于 D 综合值和聚类分析图的平均隶属值结果，将大豆耐热性评鉴体系划分为五个等级（表2）。

**表2** 大豆耐热性评价体系标准

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **耐热性平均隶属值** | **聚类分析结果** | **耐热性等级** |
| 平均隶属值≥0.50 | V级 | 耐热型 |
| 0.40 ≤平均隶属值＜0.50 | IV级 | 较耐热型 |
| 0.30 ≤平均隶属值＜0.40 | III级 | 中间型 |
| 0.20 ≤平均隶属值＜0.30 | II级 | 较敏感型 |
| 平均隶属值＜0.20 | I级 | 敏感型 |

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_