

ICS 65.020.20

CCS B 25

DB23

黑 龙 江 省 地 方 标 准

DB 23/T XXXX- 2023

寒地野生大豆耐盐碱性鉴定技术规程

（征求意见稿）

起草单位：黑龙江省农业科学院耕作栽培研究所

联系人：刘建新

联系电话：13836112240

邮 箱：wendyliujx@163.com

2024 - XX - XX 发布

2024 - XX - XX 实施

黑龙江省市场监督管理局 发布

目 次

前言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

 3.1 野生大豆耐盐碱性 1

 3.2 耐盐碱率.....1

 3.3 耐盐碱级别.....1

4 溶液配制 2

 4.1 标准溶液配制..... 2

 4.2 芽期胁迫盐碱液配制 2

 4.3 苗期胁迫盐碱液配制 2

 4.4 1/2 Hoagland 培养液配制..... 2

5 芽期耐盐碱性鉴定 2

 5.1 种子处理 2

 5.2 培养 2

 5.3 调查 3

 5.4 统计方法 3

6 苗期耐盐碱性鉴定 3

 6.1 种子处理 4

 6.2 培养 4

 6.3 性状调查 5

 6.4 苗期耐盐碱率 5

7 耐盐碱性评价标准 5

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。

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。

本文件由黑龙江省农业农村厅提出。

本文件起草单位：黑龙江省农业科学院耕作栽培研究所。

本文件主要起草人：刘建新、毕影东、来永才、樊超、李炜、刘淼、邸树峰、杨光、刘凯、任洋、侯国强、李信恺、来艳华、李岑、夏天舒、谢婷婷、孙兵、张舒昱、王亭。

寒地野生大豆耐盐碱性鉴定技术规程

1 范围

本文件规定了寒地野生大豆（*Glycine soja*）芽期和苗期耐盐碱性鉴定的术语和定义、鉴定寒地野生大豆种质资源耐盐碱性状过程中的种子处理、标准溶液配制、芽期耐盐碱性鉴定、苗期耐盐碱性鉴定以及芽期、苗期耐盐碱性评价等技术要点提出了具体要求。该标准为首次制定。

本文件适用于野生大豆种质资源的耐盐碱性鉴定。

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/T 1.1-2020 标准的结构和编写规则

GB 4404.2 粮食作物种子 豆类

GB/T 3543 农作物种子检验规程 发芽试验

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 野生大豆耐盐碱性

野生大豆耐受非常规浓度的盐碱环境，仍能正常发育的特征和特性。

3.2 耐盐碱率

盐碱胁迫条件下，待测材料对盐碱胁迫反应相关的生长发育指标与对照条件下相应指标比值的百分率。

3.3 耐盐碱性级别

耐盐碱性分5级，从强到弱依次为：1级，高耐（HR，highly tolerant）；2级，耐（R，tolerant）；3级，中等（MR，moderately tolerant）；4级，敏感（S，susceptible）；5级，高感（HS，highly susceptible）。

4 溶液配制

4.1 标准溶液配制

配制 $1000 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的盐碱标准溶液 1L: 2.925g NaCl, 5.3g Na_2CO_3 , 37.8g NaHCO_3 , 63.9g Na_2SO_4 , 摩尔比为 1:1:9:9, 分别用蒸馏水溶解, 混合后定容至 1L。灭菌锅高压 121°C , 20 min 灭菌后, 4°C 冰箱冷藏保存。

4.2 芽期胁迫盐碱液配制

芽期的盐碱溶液浓度为 $80 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 即取出 80 mL $1000 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的标准溶液, 用灭菌蒸馏水定容至 1L。

4.3 苗期胁迫盐碱液配制

苗期的盐碱溶液浓度为 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 即取出 200 mL $1000 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的标准溶液, 用 1/2 Hoagland 培养液定容至 1L。

4.4 1/2 Hoagland 培养液配制

NSP1020 改良型 Hoagland 营养液, 0.52g 干粉+1mL 钙液, 蒸馏水定容至 1L, 灭菌后储存于 4°C 冰箱保存备用。

5 芽期耐盐碱性鉴定

5.1 种子处理

5.1.1 种子选择

选择大小均匀、表面完整、充分成熟的种子, 50粒为一次重复, 每个处理3次重复。种子质量应符合GB 4404.2的规定。

5.1.2 种子处理

将野生大豆种子用指甲刀在种脐背面破皮处理, 破皮时避免伤害到胚。用质量百分比为 75%的乙醇溶液浸泡 1 分钟, 期间充分震荡, 进行表面消毒, 毒后的种子用无菌蒸馏水清洗 3 次, 置于灭菌后的滤纸上吸干表面水分。

5.2 培养

5.2.1 播种

采用培养皿培养，将两层 90mm 直径的定性滤纸置于培养皿底部铺平，将处理好的种子每皿均匀摆放 50 粒，每份材料 6 皿。

5.2.2 胁迫处理

将 3 皿加入 3 mL 盐碱胁迫溶液(4.1.2), 3 皿加入 5 mL 灭菌蒸馏水作为对照。盖好盖子, 做好标识, 置于暗培养箱中培养, 培养温度为 25 ℃。

每隔一天先将残余的水分吸走，用盐碱胁迫溶液冲洗滤纸 2~3 次，吸净残余水分后再补充 5 mL 胁迫溶液或无菌水。

5.3 调查

5.3.1 发芽势

发芽处理后第3 d 统计种子发芽数。发芽标准为芽长达到种子长度一半以上。

5.3.2 发芽率

发芽处理后第7 d统计种子发芽数。发芽标准为芽长达到种子长度一半以上。

5.3.3 芽长

培养 7 d 时, 测定种子胚芽长度。

5.4 统计方法

5.4.1 统计值的计算

- 相对发芽势：计算盐碱处理发芽势与对照发芽势的比值；
- 相对发芽率：计算盐碱处理发芽率与对照发芽率的比值；
- 相对芽长：计算盐碱处理芽长与对照芽长的比值。

5.4.2 芽期耐盐碱度

根据调查结果,取相对值的平均值相加,计算芽期耐盐碱率。野生大豆芽期耐盐碱率按式(1)计算。

$$STD=RGE+RGR+RFL \dots \dots \dots (1)$$

式中:

STD——野生大豆芽期耐盐碱度；

RGE——相对发芽势；

RGR——相对发芽率；

RFL——相对芽长。

6 苗期耐盐碱性鉴定

6.1 种子处理

6.1.1 种子选择

种子选择方法同5.1.1。

6.1.2 种子处理

将野生大豆种子用指甲刀在种脐背面破皮处理，破皮时避免伤害到胚，用无菌蒸馏水清洗3次。

6.1.3 催芽

托盘中放置灭菌后的滤纸，加入无菌水保持滤纸湿润且无积水。将种子均匀铺在滤纸表面，托盘上覆盖保鲜膜保湿，托盘置于25℃恒温培养箱中催芽。1-2 d后即可发芽。

6.2 培养

6.2.1 播种

选取长势一致的发芽种子均匀播种到已加入等量蛭石的10cm直径的苗盆中，每盆10株，每个材料播10盆。苗盆整齐摆放到托盘中。

6.2.2 培养

置于光照培养箱中25℃恒温培养，相对湿度60%。待种子发芽后，开始浇灌1/2 Hoagland培养液。每2 d浇灌一次，浇灌量是蛭石体积的2倍。（注：Hoagland培养液配方见附录A.1）

6.2.3 胁迫处理

待幼苗长至第一片复叶完全展开，第二片复叶发芽时，处理组开始浇灌盐碱胁迫液，配方见4.1.3。对照组正常浇灌1/2 Hoagland培养液。每2 d浇灌1次，浇灌量是蛭石体积的2倍，以保证将以前积累的盐分冲洗掉，保持盐碱胁迫浓度的恒定。

6.3 性状调查

盐碱胁迫处理 7 d 后，观察苗情表现进行统计，见表 1。

表 1 耐盐碱胁迫处理下单株苗情分类

苗情类别	受害情况
1	生长基本正常，全株几乎无萎蔫或叶缘蜷曲
2	全株 1/4 叶片萎蔫或叶缘蜷曲，叶色变黄
3	全株 1/3 叶片萎蔫或叶缘卷曲，叶尖、叶缘焦枯
4	全株 1/2 叶片萎蔫或叶缘卷曲，叶枯、叶落
5	全株枯死或接近死亡

6.4 苗期耐盐碱率

苗期耐盐碱率按如下公式（2）计算：

$$STI = \frac{\sum CiNi}{5Nt} \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

式中：
STI——苗期耐盐碱率（Saline-alkali tolerance rate at seedling stage）；
Ci——苗情类别；
Ni——每类苗情株数；
5——最高苗情类别；
Nt——检验样本总数。

7 耐盐碱性评价标准

芽期、苗期的耐盐碱性评价应分别符合表 2 及表 3 的规定。

表 2 野生大豆芽期耐盐碱性分级标准

级别	耐盐碱度（STD）	耐盐碱性
1	$3 \geq STD > 2.4$	高耐
2	$2.4 \geq STD > 2.1$	耐
3	$2.1 \geq STD > 0.8$	中等
4	$0.8 \geq STD > 0.3$	敏感
5	$0.3 \geq STD > 0$	高感

表 3 野生大豆苗期耐盐碱性分级标准

级别	苗期耐盐碱率 (STI/%)	耐盐碱性
1	<19.9	高耐
2	$20.0 \leq STI < 40.0$	耐
3	$40.0 \leq STI < 60.0$	中等
4	$60.0 \leq STI < 80.0$	敏感
5	≥ 80.0	高感