

大豆品种耐高温特性的评价方法及 耐高温种质筛选与鉴定

汪明华¹, 李佳佳¹, 陆少奇¹, 邵文韬¹, 程安东¹, 张文明¹, 王晓波¹, 邱丽娟²

(¹安徽农业大学农学院, 合肥 230036; ²中国农业科学院作物科学研究所 / 农业部作物基因资源与遗传改良重大科学工程 / 农业部作物基因资源与种质创制重点实验室, 北京 100081)

摘要:近年来,全球气候变化引起的高温胁迫已严重影响大豆的生长发育,是导致黄淮海大豆产量和品质下降的重要因素之一。为了发掘大豆耐高温种质资源,建立科学的大豆品种耐高温评价方法,本研究从黄淮海生态区大豆主栽品种和中国大豆微核心种质资源中选择 35 份遗传材料,利用田间人工增温的方法创造高温环境,于大豆花期进行高温胁迫 ($44.1 \pm 1.47^\circ\text{C}$) 处理,在综合逆境相关生理生化性状的基础上,构建了一套以花粉活力(花粉萌发率)为主要指标的大豆耐高温评价标准,并利用该标准筛选出耐高温大豆种质资源。结果发现,相较于正常田间生长环境,高温胁迫后大豆叶片相对电导率显著升高,花粉萌发率、单株荚数、有效分枝数显著下降。根据显著性响应高温胁迫性状的耐高温系数,对其进行主成分和隶属函数标准化分析,估算获得大豆响应高温胁迫综合评价值(C),并基于 C 值对品种进行聚类分析,最终将大豆品种的耐高温特性划分为 5 个等级,即: I 级(敏感型)、II 级(较敏感型)、III 级(中间型)、IV 级(较耐热型)和 V 级(耐热型),分级标准与田间表型鉴定基本吻合,说明该方法可用于大豆耐高温种质资源的筛选和鉴定,并初步筛选出 2 个耐高温型大豆品种(冀豆 21 和南农 34),为进一步开展大豆耐高温新品种选育和耐高温分子机理研究奠定了方法和材料基础。

关键词:大豆; 高温胁迫; 耐高温性; 花粉萌发率

Construction of Evaluation Standard for Tolerance to High-Temperature and Screening of Heat-Tolerant Germplasm Resources in Soybean

WANG Ming-hua¹, LI Jia-jia¹, LU Shao-qi¹, SHAO Wen-tao¹, CHENG An-dong¹,
ZHANG Wen-ming¹, WANG Xiao-bo¹, QIU Li-juan²

(¹School of Agronomy, Anhui Agricultural University, Hefei 230036; ²Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences/The National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement (NFCRI) / Key Laboratory of Crop Gene Resource and Germplasm Enhancement (MOA), Beijing 100081)

Abstract: The high temperature (HT) stress caused by global climate change has seriously affected the growth and development of soybean. In recent years, HT became one of the important factors leading to the decline of soybean yield and quality in Huanghuaihai. This study attended to identify the HT resistance germplasm resources and establish a scientific method for evaluating the HT tolerance. By taking use of 35 soybean varieties

收稿日期: 2018-10-27 修回日期: 2018-11-18 网络出版日期: 2018-12-14

URL: <http://www.doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20181027004>

第一作者主要从事大豆耐逆遗传育种研究, E-mail: wmh19950917@163.com; 李佳佳为共同第一作者

通信作者: 王晓波, 主要从事大豆分子遗传育种研究, E-mail: wxbphd@163.com

邱丽娟, 主要从事大豆种质资源研究, E-mail: qjulijuan@caas.cn

基金项目: 国家重点研发计划 (2016YFD0100201); 国家自然科学基金 (31771819); 安徽省博士后科研项目 (2017B187); 中国博士后科学基金 (2017M621990)

Foundation project: The National Key R & D Program of China (2016YFD0100201), The National Natural Science Foundation of China (31771819), The Postdoctoral Research Project of Anhui Province (2017B187), The China Postdoctoral Science Foundation (2017M621990)

that were collected from the Huanghuaihai ecological and the Chinese soybean micro-core germplasm resources, we determined the phenotypic variation at flowering stage via the field artificial warming ($44.1 \pm 1.47 \text{ }^\circ\text{C}$). Based on the comprehensive physiological and biochemical traits related to the HT stress, we constructed a set of HT resistance evaluation standards for soybean with pollen vigor (pollen germination rate) as the main indicator, and used this standard to screen for HT soybean germplasm resources. The results found that compared with the natural environment in the field, the pollen germination rate, the number of pods per plant and the number of effective branches after HT stress showed a significant decrease, while the relative conductivity increased significantly. According to the HT resistance coefficient significant responding to HT stress traits, the principal component and membership function were standardized and analyzed and estimated the comprehensive evaluation value (C) of soybean response to HT stress and clustered analysis based on C value. Finally, the HT resistance of soybean varieties classified into 5 types (I, sensitive type; II, strong sensitive; III, medium; IV, tolerance; V, strong tolerance). The grading standard is basically consistent with the field phenotype identification, indicating that the method can be used for the screening and identification of soybean HT resistance germplasm resources, and two HT resistant soybean varieties (Jidou 21 and Nannong 34) are initially screened for further research, which laid method and material basis on breeding for HT resistant new varieties and HT resistance molecular mechanism.

Key words: soybean; high-temperature stress; high temperature resistance; pollen germination rate

植物在生长发育过程中会受到各种非生物因子的胁迫危害。研究表明,因全球变暖加剧而形成的高温热害已成为制约大豆产量和品质的主要气候因素之一^[1]。作物对气候变化很敏感,气候变化对农作物生理机制的改变和产量损失具有重要影响,在不考虑降水、施肥和田间管理等其他因素条件下,全球平均温度每升高 $1 \text{ }^\circ\text{C}$ 将造成小麦、水稻、玉米和大豆分别减产 6.0%、3.2%、7.4% 和 3.1%^[2]。经预测,全球平均地面气温在 21 世纪末将会增加 $1.5\sim 4.5 \text{ }^\circ\text{C}$, 其中,夜温的增幅将远大于日温的增幅^[3]。研究指出,高温胁迫能够显著影响植物的正常生长发育,造成细胞膜完整性损伤,叶片或花结构组织畸变,花粉活力及萌发率下降、花粉败育,结荚率降低、种子组构成异常、活力下降、减慢或抑制发芽,最终导致作物产量和品质均显著下降^[4-6]。研究表明,植物生殖生长阶段对温度升高的敏感性高于营养生长,开花季节作物经受热胁迫似乎是最有害的,过高温度会损害植物叶片酶的功能,破坏膜和细胞代谢过程,如果温度超过一定阈值,会造成植株不可挽回的组织损伤^[7-9]。水稻开花期,当环境气温高于 $35 \text{ }^\circ\text{C}$ 并伴有热风的情况下,能够显著性降低其花粉活力,甚至失活,进而严重影响其授粉率和最终产量^[10]。水稻抽穗期遇高温胁迫,能够使其花药开裂性降低,花粉活力及萌发率下降,最终可能造成其产量受到影响^[11]。小麦灌浆期,高温胁迫 ($30 \text{ }^\circ\text{C}$ 及以上)能够缩短灌浆时间,造成千粒重下降^[12]、影响其淀粉

含量^[13]、产量及品质等^[14]。高温胁迫还会造成玉米花粉活力显著下降,在 $35 \text{ }^\circ\text{C}$ 胁迫处理 6 h 后其花粉活力全部丧失; $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 胁迫处理 4 h 之后有 8 个 (8/10) 自交系的花粉丧失生活力,这将会严重影响玉米杂交授粉成功率,进而影响其产量形成^[15]。

大豆起源于中国,已有逾 5000 年的栽培历史,是重要的经济作物,富含植物油份、蛋白质、异黄酮、卵磷脂等营养物质,是重要的植物蛋白和食用油来源^[16-18]。大豆对日照长度和温度条件中的变化比较敏感,生长发育过程中常受到逆境胁迫,近些年黄淮海地区大豆花期常常遭遇连续高温天气,已成为造成大豆大面积减产的重要原因之一。此外,高温胁迫还能显著降低大豆花粉活力,导致花粉败育率增加,影响籽粒发育和产量形成,造成结荚率下降,最终导致减产^[4]。前人对作物耐逆性(耐热、耐旱等)鉴定已经进行了广泛研究。靳路真等^[19]根据 13 个生理指标(百粒重、单株粒重等)的耐热系数进行主成分分析、隶属函数标准化数据、聚类分析和逐步回归分析等得到一个综合评价,进而将 155 份大豆品系划分为 6 种类型,即强耐热型 I、耐热型 II、中度耐热型 III、中度敏感型 IV、敏感型 V 和极敏感型 VI。王伟等^[20]以萎蔫天数和叶片相对含水量作为耐旱鉴定指标,利用平均隶属函数值划分耐旱等级,并筛选出强耐旱型材料(1 级)2 份和干旱敏感型材料(5 级)3 份。在黄淮大豆种质苗期耐旱性鉴定过程中,王应党等^[1]结合两年地上部干重、株

高、主根长和根干重 4 个性状数据,分析其基因型、干旱胁迫和年份三因子互作关系,通过主成分分析、隶属函数标准化数据以及聚类分析最终求得耐旱性综合指标值,将耐旱等级分为 5 类,并在 210 份材料中鉴定出强耐旱型材料 5 份、耐旱型材料 57 份。代希茜等^[21]结合路径分析、探索性因子分析、隶属函数计算 D 值、聚类分析以及回归分析等多元分析方法,最终建立了大豆种质综合评价数学模型用于大豆种质资源综合评价。新疆冬小麦萌发期响应干旱胁迫的抗旱性综合评价研究发现,表型和分子标记结合的方法能更有效的评价萌发期冬小麦的抗旱能力,并鉴定出胚芽鞘长和最长根长为小麦抗旱性快速鉴定指标^[22]。目前,对植物抗逆性评价多采用主成分分析、因子分析、隶属函数值法、聚类分析以及多元回归分析等对多项指标(产量、形态或者品质等生理指标)综合评价,尚未形成以花粉活力(萌发率)为主要指标,综合其他相关生理生化特性的作物耐逆(耐热/高温)评价标准。因此,探索和建立一种适应性广、科学化、综合性的大豆耐高温评价标准,并将其应用于大豆种质资源鉴定和耐高温型新品种选育等方面,将是未来大豆育种的重要方向之一。本研究以花粉萌发率(活力)为主要参数指标,结合其他相关生理生化指标,根据显著($P < 0.05$)差异性状的耐高温系数,通过主成分分析、隶属函数标准化数据、耐高温综合评价值(C)估算和聚类分析等,对大豆响应高温胁迫进行了综合性评价和分级鉴定,建立了一种系统性、科学化的大豆耐高温综合评价标准,并基于该标准初步筛选出若干耐高温型和高温敏感型大豆资源,为进一步深入研究耐高温分子调控机理提供了材料基础。

1 材料与方法

1.1 植物材料

黄淮海生态区主栽品种和微核心种质资源等共计 35 份大豆种质资源(表 1,相同材料分为处理组 and 对照组),于 2017 年夏季种植于安徽农业大学农萃园试验场,单行播种,行长 3.0 m,行距 0.5 m。

1.2 处理方法

在大豆始花期,于 9:00-16:00 进行塑料大棚覆膜增温处理 7 d,通过温湿度记录仪(RC-4HC, Elitech)实时监测棚内温度,使其较田间自然温度浮动上升 5 °C 左右,形成高温胁迫效应。胁迫处理完毕后,通风散热使之与外界环境温度保持一致,对照样本以田间自然生长条件为主。

表 1 供试大豆品种(系)信息

Table 1 Information of soybean accessions (line) used in this study

编号 No.	样本名称 Sample name	属性或生态区 Characteristic and ecological zone
17NC001	阜豆 05-10	主栽,黄淮
17NC002	阜豆 06-32	黄淮
17NC003	冀豆 12	主栽,核心种质,黄淮
17NC004	冀豆 21	主栽,黄淮
17NC005	冀豆 23	黄淮
17NC007	南农 29	黄淮
17NC008	南农 30	黄淮
17NC009	南农 34	黄淮
17NC010	南农 38	黄淮
17NC012	商豆 066	黄淮
17NC013	商豆 1201	黄淮
17NC014	商豆 1310	黄淮
17NC015	商豆 14 号	黄淮
17NC016	商豆 151	黄淮
17NC017	商豆 157	黄淮
17NC018	商豆 6 号	黄淮
17NC019	五星 1 号	黄淮
17NC020	五星 2 号	黄淮
17NC021	五星 3 号	黄淮
17NC022	徐豆 23	主栽,黄淮
17NC023	中黄 46	黄淮
17NC024	中黄 57	黄淮
17NC025	中黄 606	黄淮
17NC026	中黄 68	黄淮
17NC027	中品 661	黄淮
17NC028	皖宿 01-15	主栽,黄淮
17NC029	皖豆 21144	黄淮
17NC030	皖豆 21116	黄淮
17NC031	皖豆 20001	黄淮
17NC032	皖豆 16	黄淮
17NC033	皖豆 28	主栽,黄淮
17NC034	皖豆 29	黄淮
17NC035	皖豆 30	黄淮
17NC036	皖豆 33	主栽,黄淮
17NC038	荷豆 14	主栽,黄淮

1.3 测定指标及方法

1.3.1 花粉活力(花粉萌发率)测定 为了精确检测高温胁迫对大豆花粉萌发率的影响,在高温处理前的早上用挂线标记大豆幼小花芽(较大豆杂交花芽小一些),实施跟踪观察检测。于高温胁迫处理后的第2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^[23]的方法检测其花粉萌发率。

1.3.2 叶绿素含量测定 利用叶绿素仪(SPAD-502 plus, Konica Minolta)分别检测高温胁迫处理与对照植株主茎顶端三出复叶3片叶子的叶绿素含量,3次生物学重复。

1.3.3 相对电导率测定 利用改良后的浸泡法检测高温胁迫处理与对照植株主茎顶端三出复叶3片叶子的相对电导率^[24],3次生物学重复。

1.3.4 保护酶——超氧化物歧化酶(SOD)活性测定 利用氯化硝基四氮唑蓝(NBT)光化还原法检测分析高温胁迫处理与对照植株主茎顶端三出复叶3片叶子的SOD酶活性^[24],3次生物学重复。

1.3.5 产量性状测定 于大豆收获期,分别检测高温胁迫处理与对照植株的株高、有效结荚率、单株荚数、单株粒数、百粒重、籽粒饱满度等产量组分及产量性状。

1.4 数据统计与分析

采用WPS Office和Excel进行原始数据整理与分析;采用SPSS 19.0数据处理软件进行主成分分析、隶属函数分析以及聚类分析。采用T检验方法进行性状指标显著性分析。相关分析步骤如

下^[19-20]:

(1)计算各个指标性状的耐高温系数=高温处理性状值/对照处理性状值;

(2)主成分分析:根据特征值大于1的准则提取主成分;

(3)利用隶属函数将各个指标性状在所提取的主成分上的得分值进行标准化: $F(x_i) = (X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$; $i=1, 2, 3, \dots, n$; 其中 X_{\min} 和 X_{\max} 分别表示每个主成分上各性状指标得分值的最小值和最大值;

(4) $w_p = \lambda_p / \sum_{p=1}^p \lambda_p$; w_p 表示提取的第 p 个主成分的权重; λ_p 表示提取的主成分所对应的特征值;

(5) $C = \sum_{p=1}^p (w_p \times Fx_i)$; C 表示高温处理响应因子综合值;

(6)以 C 值进行聚类统计,并加以调整划分耐高温等级。

2 结果与分析

2.1 高温胁迫处理效应

在大豆始花期,于9:00进行塑料大棚覆膜增温处理,利用温湿度记录仪(RC-4HC, Elitech)实时监测并记录棚内温度,处理7d,记录处理期间整点时间段温度值。统计分析结果表明,相较于自然环境条件下的温度(35.5 ± 2.17 °C),大棚覆膜对大豆植株连续进行高温处理能够形成显著性胁迫效应(44.1 ± 1.47 °C)(图1),说明本研究采用的处理方法是有效的。

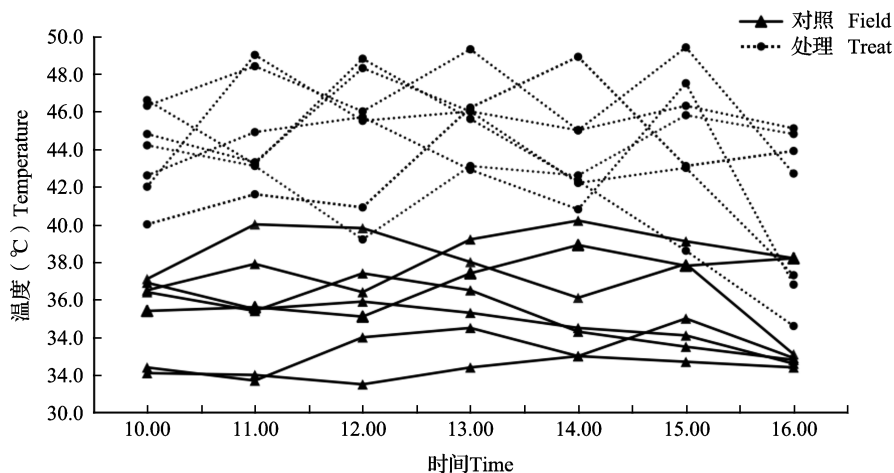


图1 高温胁迫处理与田间环境温度统计

Fig.1 Temperature statistics of HT stress treatment and field environmental

2.2 高温胁迫对大豆主要农艺性状及生育期的影响

开花期高温胁迫处理能够显著地影响大豆植株的生育期长短、生理指标、农艺性状和产量性状(表2)。结果发现,相较于田间自然条件,高温胁迫处理后的大豆植株花粉萌发率和单株荚数分别极显著地下降了45.49%和27.10% ($P < 0.01$),有效分枝数显著地下降了25.11% ($P < 0.05$),而叶片相对电导率则极显著上升了51.98% ($P < 0.01$) (表2)。综合分析发现,除相对电导率、叶片叶绿素含量、百粒重和生育期升高外,其他生理指标、农艺性状和产

量性状等在高温胁迫下均表现出下降趋势(表2)。此外,研究还发现,开花期高温处理后的大豆植株生育期(生育期指从播种到收获的天数)显著延长了4.44% ($P < 0.01$)。结果表明,开花期高温胁迫处理能够显著地影响大豆植株花粉活力(萌发率)和叶片渗透调节物质含量,导致瘪粒增多、株高、有效分枝数、主茎节数等形态性状和单株荚数、有效结荚数、单株粒数、单株粒重等产量性状下降,影响大豆植株体内干物质积累,进而影响大豆籽粒生长发育和产量形成等,最终可能造成大豆减产。

表2 开花期高温胁迫对大豆农艺性状及生育期的影响

Table 2 Effect of high temperature stress on agronomic traits and growth period of soybean at flowering stages

性状 Trait	对照均值 ± 标准差 Control mean ± SD	高温胁迫后的平均值 ± 标准差 Mean ± SD after HT stress	变幅(%) Range	F
花粉萌发率(%) Pollen germination rate	57.66 ± 16.64	31.03 ± 16.05	-45.49	45.05**
相对电导率(%) REC	26.62 ± 19.75	40.45 ± 21.23	51.98	7.96**
叶绿素含量(SPAD) Chlorophyll content	35.61 ± 5.33	35.65 ± 2.94	0.11	0.00
SOD 酶活性(U/g·h) SOD activity	152.70 ± 17.22	150.75 ± 20.14	-1.28	0.19
株高(cm) Plant high	57.75 ± 13.34	57.45 ± 13.70	-0.53	0.01
单株荚数 Pods per plant	74.43 ± 38.38	54.26 ± 30.67	-27.10	5.90**
有效结荚数 Effective pods per plant	62.74 ± 35.53	49.71 ± 30.01	-20.77	2.74
有效分枝数 Effective branch number	4.54 ± 2.82	3.40 ± 1.93	-25.11	3.91*
主茎节数 Main stem node number	17.06 ± 3.51	15.69 ± 2.96	-8.03	3.12
单株粒数 Seeds per plant	104.09 ± 63.11	82.60 ± 54.22	-20.65	2.33
单株粒重(g) Seed weight per plant	22.41 ± 13.02	18.52 ± 12.77	-17.37	1.59
百粒重(g) 100-Seed weight	21.83 ± 7.00	22.76 ± 6.32	4.28	0.34
生育期(d) Growth period	116.37 ± 5.38	121.54 ± 6.08	4.44	14.20**

*: 0.05 显著水平; **: 0.01 显著水平。下同

*: significant different at 0.05 probability level, **: significant different at 0.01 probability level. The same as below

2.3 大豆主要农艺性状的耐高温系数及其相关性分析

高温胁迫处理后大豆主要农艺性状均受到一定影响,为了度量不同性状受影响的程度,用胁迫后与胁迫前各性状值的比值即耐高温系数进行比较分析。结果表明,花粉萌发率、叶片相对电导率、单株荚数、有效结荚数、有效分枝数、单株粒数、单株粒重等性状变异系数较大,变异幅度为49.82%~119.01%;而叶片叶绿素含量和SOD酶

活性、株高、主茎节数和百粒重等性状变异系数较小,变异幅度为9.60%~16.99%(表3),说明不同性状指标之间的耐高温系数变异幅度不同,即使是表现出显著或极显著差异的4个性状指标(X1、X2、X6和X8,表3)。它们的变异系数也都表现出较宽泛的浮动范围,因此,以单个生理指标的耐高温系数来直接判断或鉴定开花期大豆种质资源响应高温胁迫的等级标准显得过于单一化而并不可信。

表3 不同大豆品种(系)各单项指标的耐高温系数
Table 3 The coefficient of high temperature resistance of each individual index of different soybean varieties (lines)

性状 Traits	极小值 Min.	极大值 Max.	均值 ± 标准差 Mean ± SD	变异系数 (%) CV
X1	0.03	1.57	0.61 ± 0.37	61.15
X2	0.14	2.31	0.70 ± 0.43	62.02
X3	0.76	1.29	1.01 ± 0.13	13.09
X4	0.76	1.14	0.98 ± 0.10	9.60
X5	0.70	1.35	1.01 ± 0.17	16.99
X6	0.23	1.96	0.84 ± 0.43	49.82
X7	0.30	2.21	0.90 ± 0.46	51.18
X8	0.00	7.00	1.01 ± 1.21	119.01
X9	0.70	1.18	0.93 ± 0.12	12.83
X10	0.23	2.51	0.95 ± 0.59	61.99
X11	0.25	4.63	1.00 ± 0.82	81.75
X12	0.80	1.39	1.06 ± 0.13	12.09

X1: 花粉萌发率; X2: 相对电导率; X3: 叶绿素含量; X4: SOD 酶活性; X5: 株高; X6: 单株荚数; X7: 有效结荚数; X8: 有效分枝数; X9: 主茎节数; X10: 单株粒数; X11: 单株粒重; X12: 百粒重。下同
X1: Pollen germination rate, X2: REC, X3: Chlorophyll content, X4: SOD activity, X5: Plant high, X6: Pods per plant, X7: Effective pods per plant, X8: Effective branch number, X9: Main stem node number, X10: Seeds per plant, X11: Seed weight per plant, X12: 100-Seed weight. The same as below

为了更准确地评判大豆花期耐高温等级标准,本研究对单个性状耐高温系数进行了相关性分析(表4)。结果表明,各性状之间有一定的相关性,如单株荚数(X6)与叶绿素含量(X3, $R = 0.520$)、

表4 不同大豆品种各单项指标的耐高温系数的相关系数分析

Table 4 Correlation analysis of the coefficient of high temperature resistance of each individual index of different soybean varieties

性状 Trait	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12
X1												
X2	-0.003											
X3	0.116	0.209										
X4	-0.286	-0.044	-0.101									
X5	0.030	0.070	0.292	0.086								
X6	0.040	0.138	0.520**	-0.045	0.397*							
X7	-0.059	0.107	0.360*	-0.009	0.299	0.925**						
X8	0.000	0.360*	0.150	0.050	0.234	0.632**	0.650**					
X9	0.485**	0.111	0.127	-0.216	0.512**	0.460**	0.356*	0.343*				
X10	-0.052	0.117	0.158	-0.058	0.218	0.717**	0.799**	0.609**	0.368*			
X11	0.117	0.178	0.264	-0.113	0.228	0.629**	0.683**	0.289	0.325	0.696**		
X12	0.304	0.224	0.286	0.313	0.054	0.000	-0.052	-0.016	0.009	-0.249	0.002	

有效结荚数(X7, $R = 0.925$)、有效分枝数(X8, $R = 0.632$)、主茎节数(X9, $R = 0.460$)、单株粒数(X10, $R = 0.717$)和单株粒重(X11, $R = 0.629$)极显著相关($P < 0.01$);花粉萌发率(X1)与主茎节数(X9)存在极显著相关性($R = 0.485$, $P < 0.01$);相对电导率(X2)与有效分枝数(X8)显著相关($R = 0.360$, $P < 0.05$);叶绿素含量(X3)与有效结荚数(X7)之间相关性显著($R = 0.360$, $P < 0.05$)。说明上述单个性状耐高温系数不能有效评价大豆品种耐高温特性,存在信息上的重叠,只有将各单个性状的耐高温系数进行整合,并利用多元综合分析方法才能准确评价大豆响应高温胁迫特性。

2.4 大豆主要农艺性状耐高温系数的主成分分析

基于上述显著性指标及其相关性分析结果,对高温胁迫处理后表现为显著性差异变化的花粉萌发率、相对电导率、单株荚数和有效分枝数等4个性状指标进行主成分分析。结果显示,按照特征值大于1的准则提取主成分,得到了2个主成分因子,其累计贡献率为69.915%,具有较大的信息代表性(表5)。另外,各性状的成分矩阵分析结果显示,相对电导率(0.553)、单株荚数(0.818)和有效分枝数(0.903)与第1主成分相关性较高,说明第1主成分基本反映了这3个指标的信息;花粉萌发率(0.986)与第2主成分有较高的相关性,说明第2主成分基本反映了该指标的信息(表5)。提取这2个主成分可以综合反映出这4个显著性变异指标的基本信息,因此,可以将这4个指标转化为2个新的综合性指标进一步对大豆耐高温性进行评价。

表 5 高温胁迫后显著性变化性状的主成分分析结果

Table 5 The results of principal component of traits of significantly changed after HT stress

指标名称 Items name	特征值 Eigenvalue		成分矩阵 Component matrix	
	1	2	1	2
花粉萌发率 Pollen germination	0.029	0.984	0.039	0.986
相对电导率 REC	0.413	-0.152	0.553	-0.152
单株荚数 Pod number per plant	0.611	0.087	0.818	0.087
有效分枝数 Effective branch number per plant	0.674	-0.028	0.903	-0.028
特征值 Eigenvectors	1.793	1.004		
贡献率(%) Contribution ratio	44.817	25.098		
累计贡献率(%) Cumulative contribution ratio	44.817	69.915		

2.5 大豆耐高温综合评价方法的建立

基于上述转化合成的 2 个综合性评价指标, 对其进行标准化数据分析处理, 利用公式计算各综合指标中的隶属函数值, 计算其相应权重。基于新指标权重, 根据公式计算出开花期大豆品种耐高温胁迫综合评价值 (Comprehensive evaluation value response to high temperature stress, 简称 C 值), 并根据 C 值的大小划分不同大豆品种对高温胁迫的抵抗能力, C 值越大表明其抗高温能力越强, 反之越差。如表 6 所示, 荷豆 14 的 C 值为 0.049, 对高温最敏感; 商豆 14 号的 C 值为 0.733, 抗高温能力最强。为更好地按 C 值对大豆响应高温胁迫能力进行清楚地分级评价, 本研究利用欧氏距离组间平

均联接法对不同大豆品种响应高温胁迫能力进行了聚类分析^[18]。结果显示, 相较于其他距离位置, 当欧氏距离为 5.0 时可以更清晰地体现出分类层次 (图 2)。因此, 当欧氏距离在 5.0 处时, 可以将 35 个参试大豆品种初步划分为 7 大类 (图 2), 并结合 C 值将其划分为 5 个等级 (表 6), 即: I 级高温敏感型 9 个 ($C < 0.2$), II 级高温较敏感型 15 个 ($0.2 \leq C < 0.3$), III 级耐高温中间型 5 个 ($0.3 \leq C < 0.4$), IV 级较耐高温型 3 个 ($0.4 \leq C < 0.5$) 和 V 级耐高温型 3 个 ($C > 0.5$)。根据综合分析结果, 初步筛选出 2 个高温敏感型品种 (荷豆 14 和皖豆 28) 和 2 个耐高温型品种 (冀豆 21 和南农 34)。

表 6 大豆品种开花期耐高温综合评价值

Table 6 The comprehensive value response to high temperature stress of soybean cultivar at flowering stage

编号 No.	样本名称 Sample name	C 值 C value	编号 No.	样本名称 Sample name	C 值 C value
17NC001	阜豆 05-10	0.214	17NC021	五星 3 号	0.172
17NC002	阜豆 06-32	0.254	17NC022	徐豆 23	0.273
17NC003	冀豆 12	0.256	17NC023	中黄 46	0.435
17NC004	冀豆 21	0.446	17NC024	中黄 57	0.105
17NC005	冀豆 23	0.234	17NC025	中黄 606	0.381
17NC007	南农 29	0.555	17NC026	中黄 68	0.281
17NC008	南农 30	0.296	17NC027	中品 661	0.258
17NC009	南农 34	0.509	17NC028	皖宿 01-15	0.253
17NC010	南农 38	0.353	17NC029	皖豆 21144	0.138
17NC012	商豆 066	0.336	17NC030	皖豆 21116	0.218
17NC013	商豆 1201	0.261	17NC031	皖豆 20001	0.236
17NC014	商豆 1310	0.096	17NC032	皖豆 16	0.107
17NC015	商豆 14 号	0.733	17NC033	皖豆 28	0.102
17NC016	商豆 151	0.291	17NC034	皖豆 29	0.205
17NC017	商豆 157	0.334	17NC035	皖豆 30	0.166
17NC018	商豆 6 号	0.316	17NC036	皖豆 33	0.097
17NC019	五星 1 号	0.299	17NC038	荷豆 14	0.049
17NC020	五星 2 号	0.413			

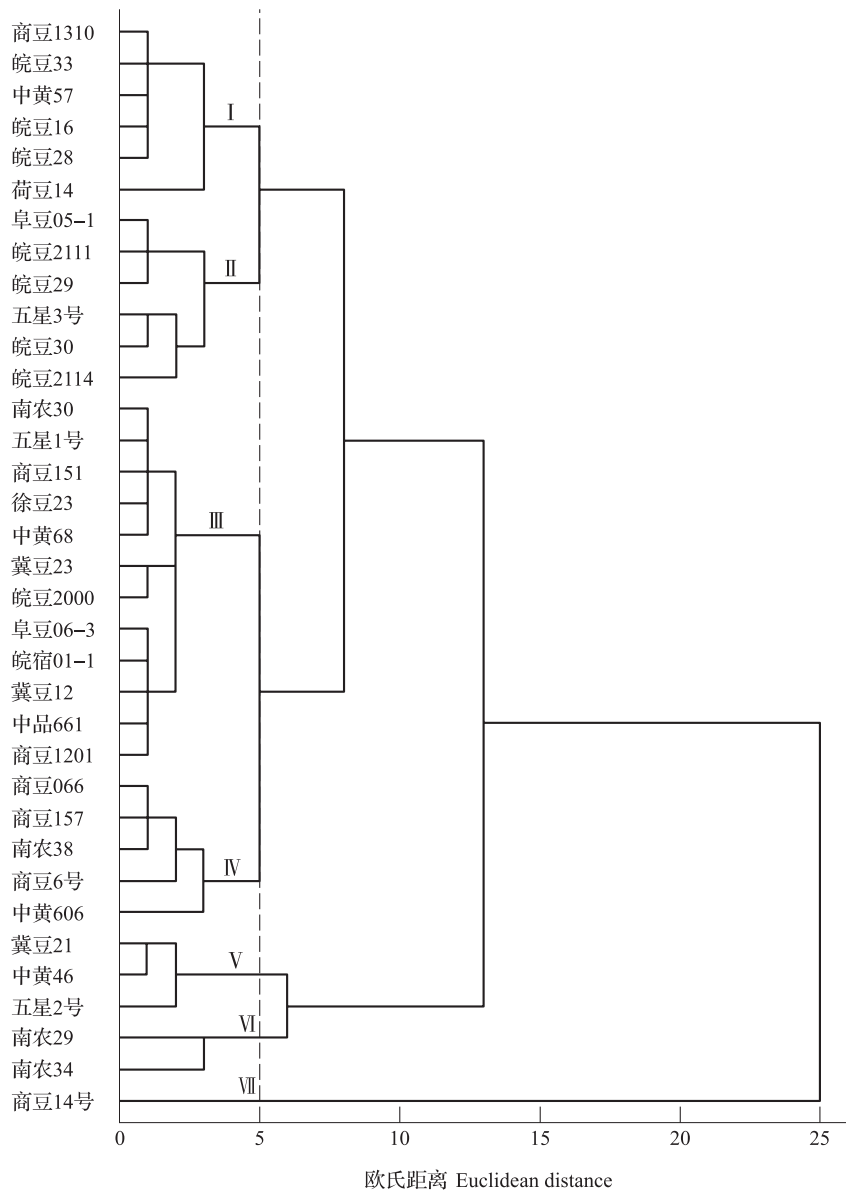


图2 35份大豆种质开花期耐高温性综合聚类分析

Fig.2 Cluster analysis of high temperature tolerance of 35 soybean accessions at flowering stage

3 讨论

3.1 高温胁迫已严重影响了农作物的生产发展

温度是控制植物生长和发育的关键因素^[25]。近年来,随着全球气候变化导致不同季节均出现高温(日温/夜温)胁迫现象,已对全球农作物不同生育期(甚至全生育期内)的生长发育和生理生化进程造成了显著性胁迫效应^[2,9,26-33]。作物的生育期受高温影响显著,相较于正常年份,高温干旱使夏玉米的拔节时期延长了15 d^[34]。并且近25年美国玉米分期播种试验发现,平均气温每升高1℃,其出苗至成熟期生长速率提高17.0%左右,生育期可以

缩短14 d^[35]。生育期间的高温胁迫会使小麦的抽穗时间缩短,抽穗期和成熟期均提前^[36]。高温环境在作物上造成胁迫损伤和产量及品质流失等不胜枚举。近期一项对高温环境下全球四大农作物的研究表明,在不考虑降水变化、CO₂施肥效应和适应性管理措施的前提下,全球平均温度每上升1℃将造成全球小麦、水稻、玉米和大豆分别呈不同程度的减产,由此可知,全球变暖带来的高温胁迫(热害)已对主要农作物产生了重要影响^[2]。

本研究中,于花期对大豆进行高温胁迫处理考察的所有12个性状指标中,除相对电导率(51.98%, $P < 0.01$)显著上升、叶绿素含量(0.11%)

和百粒重(4.28%)略有增幅外,其他9个指标在高温胁迫下均表现出不同程度的下降趋势,尤其是花粉萌发率下降最为明显(-45.59%, $P < 0.01$),而相对电导率的极显著升高表明高温胁迫可能已造成大豆植株的细胞膜透性增加、细胞内电解质外渗,细胞组织结构和膜稳定性已被严重破坏^[37]。此外,研究发现大豆植株的生育期在高温处理后表现出延长现象,其可能的原因是大豆植株为了躲避高温胁迫造成的影响,致使其生殖生长时间延迟,在恢复为田间正常条件后,仍有部分花芽呈现开花但无法完全结实的情况,进而使整个生育期延长。本研究结果与前人^[35-36]发现高温胁迫能缩短作物生育期有相悖之处,因此,高温胁迫影响大豆生育期的机理有待进一步试验解析。上述结果表明,高温胁迫对大豆植株的生长发育、生理生化进程和产量形成等均产生了损伤效应,这与高温胁迫对大豆种子萌发、幼苗期、开花期和鼓粒期造成的胁迫损伤是相似的^[19, 29, 32-33, 38-41]。

3.2 大豆花期耐高温鉴定指标筛选及综合评价标准的建立

大豆生育期几乎全部处于夏季高温环境下,高温胁迫能够对不同发育时期不同生理进程等造成一定的影响效应,因而相关性状在高温胁迫下的变化就成了判定耐高温性的鉴定指标。前人已经从不同时期、不同侧面对大豆耐高温性鉴定进行了相应的等级划分和评价标准建立。Koti 等^[40]以花粉活力综合响应指标作为各基因型总的胁迫响应指标(TSRI)对6种基因型大豆耐胁迫(3种胁迫类型)等级进行了分类,该方法综合了花朵和花粉形态、花粉产量、萌发率和花粉管长度等在不同胁迫(高温、CO₂和UV-B辐射)下的变异性。此后,又以营养和生理参数响应胁迫指标为标准对上述6种基因型大豆耐胁迫性再次评价分型^[42]。但是,两次的耐胁迫分型结果并不完全一致。Salem 等^[43]通过计算不同基因型品种的最大花粉萌发率、花粉管长度以及最高温度、最适温度和最低温度分别对花粉萌发率和花粉管长度的温度效应值,并将这8个独立响应指标的综合形成一个总的温度累积响应指标(CTRI),然后根据CTRI值将44种基因型大豆品种划分为耐高温型(13个)、中间型(22个)和高温敏感型(9个)等3种类型。上述研究多是从花粉活力与花器官形态变化或者营养与生理指标等单个

方面对大豆耐逆性(高温胁迫)进行评价,而没有将两者结合起来进行综合分析并进一步用于耐逆种质资源的鉴定。随后,靳路真等^[19]基于耐热性综合评价对155份大豆种质进行耐热评价分级,最终筛选出花期与鼓粒期各7个耐热性鉴定指标,除单株荚重、每荚粒数和节间长度3个指标外,其余4个包含了产量性状和形态性状的鉴定指标也并不完全一致,而且,此综合评价体系中也未涉及到花粉活力等相关性状或指标。

综上所述,当前大豆耐高温性鉴定指标多局限于不同时期植株的形态性状和产量性状等生理指标的研究,尚未有统一的评价标准体系。高温胁迫对作物的影响效应是全面的,能够对作物的形态特征、生殖生长、产量构成和品质质量等产生多方面的胁迫效应。因此,仅用单一的产量、形态或品质等生理生化指标并不能完全准确地评判大豆的耐高温性等级。正如前文所述,花粉活力及萌发率的高低直接关乎到豆科作物最终的有效结实率和籽粒产量,而高温胁迫显著性降低花粉活力及其萌发率可能是高温胁迫导致大豆减产的直接原因^[33, 40, 43-46]。因此,以生殖参数——花粉活力(萌发率)为主要指标,结合其他生理生化指标形成一种响应高温胁迫的综合性指标,对耐高温型大豆品种的鉴定可能是一种更加准确和有效的方法。

由于高温胁迫能够对整个植株生长发育造成全面的影响,而植株各性状之间又存在一定的相关性,因此,高温对单个性状形成的胁迫效应值并不是孤立的,而能反映出胁迫对不同性状之间造成了重叠或交叉效应(表4)。所以,需要对多性状表现出的变异进行综合性统计分析才能更好更准确地评判作物的耐高温性等级。本研究在综合逆境相关生理生化性状的基础上,构建了一套以花粉活力(花粉萌发率)为主要指标的大豆耐高温评价标准,并利用该标准筛选出耐高温大豆种质资源,根据显著性响应高温胁迫性状的耐高温系数,对其进行主成分和隶属函数标准化分析,估算获得大豆响应高温胁迫综合评价(C),并基于C值对品种进行聚类分析,最终将大豆品种的耐高温特性划分为5个等级,即:I级(敏感型)、II级(较敏感型)、III级(中间型)、IV级(较耐热型)和V级(耐热型),分级标准与田间表型鉴定基本吻合,说明该方法可用于大豆耐高温种质资源的筛选和鉴定,并初步筛选出2个

耐高温型大豆品种(冀豆 21 和南农 34),为进一步开展大豆耐高温新品种选育和耐高温分子机理研究奠定了方法和材料基础。

参考文献

- [1] 王应党,许孟歌,张雅娟,翁焯阳,李晓勇,孔杰杰,赵团结,何小红.江淮大豆育种种质苗期耐旱性鉴定.大豆科学,2017,36(5):669-678
Wang Y D, Xu M G, Zhang Y J, Weng Y Y, Li X Y, Kong J J, Zhao T J, He X H. Identification of drought-tolerance of soybean germplasm from Yangtze and Huaihe river valleys at seedling stage. Soybean Science, 2017, 36(5): 669-678
- [2] Zhao C, Liu B, Piao S L, Wang X H, Lobell D B, Huang Y, Huang M T, Yao Y T, Bassu S, Ciaia S, Durand J L, Elliott J, Ewert F, Janssens I A, Li T, Lin E, Liu Q, Martre P, Müller C, Peng S S, Peñuelas J, Ruane A C, Wallach D, Wang T, Wu D H, Liu Z, Zhu Y, Zhu Z C, Asseng S. Temperature increase reduces global yields of major crops in four independent estimates. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2017, 114(35): 9326-9331
- [3] Peng S B, Huang J L, Sheehy J E, Laza R C, Visperas R M, Zhong X H, Centeno C S, Khush G S, Cassman K G. Rice yields decline with higher night temperature from global warming. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2004, 101(27): 9971-9975
- [4] 李佳佳,郑双雨,孙根楼,张文明,王晓波,邱丽娟.大豆响应高温胁迫的生理和分子遗传机理研究现状与展望.中国农业科学,2017,50(14):2670-2682
Li J J, Zheng S Y, Sun G L, Zhang W M, Wang X B, Qiu L J. Advances and perspectives in research of physiological and molecular mechanism of soybean response to high temperature stress. Scientia Agricultura Sinica, 2017, 50(14): 2670-2682
- [5] Nadeem M, Li J J, Wang M H, Shah L, Lu S Q, Wang X B, Ma C X. Unraveling field crops sensitivity to heat stress: Mechanisms, approaches, and future prospects. Agronomy Basel, 2018, 8: 128
- [6] 张松,苗晗,宋子超,薄凯亮,王焯,顾兴芳,张圣平.黄瓜发芽期耐热性评价及全基因组关联分析.植物遗传资源学报,2019,20(2):335-346
Zhang S, Miao H, Song Z C, Bo K L, Wang Y, Gu X F, Zhang S P. Evaluation and genome-wide association study (GWAS) of thermotolerance for cucumber at the germination stage. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20(2): 335-346
- [7] Mourtzinis S, Specht J E, Lindsey L E, Wiebold W J, Ross J, Nafziger E D, Kandel H J, Mueller N, Devillez P L, Arriaga F J. Climate-induced reduction in US-wide soybean yields underpinned by region- and in-season-specific responses. Nature Plants, 2015, 1: 14026
- [8] Wahid A, Gelani S, Ashraf M, Foolad M R. Heat tolerance in plants: An overview. Environmental and Experimental Botany, 2007, 10(1016): 199
- [9] Wright I J, Dong N, Maire V, Prentice I C, Westoby M, Diaz S, Gallagher R V, Jacobs B F, Kooyman R, Law E A, Leishman M R, Niinemets Ü, Reich P B, Sack L, Villar R, Wang H, Wilf P. Global climatic drivers of leaf size. Science, 2017, 357: 917-921
- [10] 李训贞,梁满中,周广治,陈良碧.水稻开花时的环境条件对花粉活力和结实的影响.作物学报,2002,28(3):417-420
Li X Z, Liang M Z, Zhou G Q, Chen L B. Effect of environment condition on pollen vigor and seed set during flowering time of rice. Acta Agronomica Sinica, 2002, 28(3): 417-420
- [11] 张桂莲,刘思言,张顺堂,肖应辉,唐文邦,陈立云.抽穗开花期不同高温处理对水稻开花习性和结实率的影响.中国农学通报,2012,28(30):116-120
Zhang G L, Liu S Y, Zhang S T, Xiao Y H, Tang W B, Chen L Y. Effects of different high temperature treatment on flowering characteristics and seed setting of rice during heading and flowering period. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(30): 116-120
- [12] Waralaw I F, Sofield I, Cartwright P M. Factors limiting the rate of dry matter accumulation in the grain of wheat grown at high temperature. Functional Plant Biology, 1980, 7(4): 387-400
- [13] 刘萍,郭文善,蒲汉春,封超年,朱新开,彭永欣.灌浆期短暂高温对小麦淀粉形成的影响.作物学报,2006,32(2):182-188
Liu P, Gou W S, Pu H C, Feng C N, Zhu X K, Peng Y X. Effects of transient high temperature during grain filling period on starch formation in wheat (*Triticum aestivum* L.). Acta Agronomica Sinica, 2006, 32(2): 182-188
- [14] 敬海霞,王晨阳,左学玲,胡吉帮,王永华,郭天财.花后高温胁迫对小麦籽粒产量和蛋白质含量的影响.麦类作物学报,2010,30(3):459-463
Jing H X, Wang C Y, Zuo X L, Hu J B, Wang Y H, Guo T C. Effect of post-anthesis high temperature stress on grain yield and protein content of different wheat cultivars. Journal of Triticeae Crops, 2010, 30(3): 459-463
- [15] 宋方威,吴鹏,邢吉敏,周小英,宋方威,吴鹏.高温胁迫对玉米自交系父本花粉生活力的影响.玉米科学,2014,22(3):153-158
Song F W, Wu P, Xing J M, Zhou X Y, Song F W, Wu P. Influences of high temperature stress on viability of pollen grain inbred lines of male parent. Maize Science, 2014, 22(3): 153-158
- [16] Li B, Tian L, Zhang J Y, Huang L, Han F X, Yan S R, Wang L Z, Zheng H K, Sun J M. Construction of a high-density genetic map based on large-scale markers developed by specific length amplified fragment sequencing (SLAF-seq) and its application to QTL analysis for isoflavone content in *Glycine max*. BMC Genomics, 2014, 15: 1086
- [17] Li Y H, Zhou G Y, Ma J X, Jiang W K, Jin L G, Zhang Z H, Guo Y, Zhang J B, Sui Y, Zheng L T, Zhang S S, Zuo Q Y, Shi X H, Li Y F, Zhang W K, Hu Y Y, Kong G Y, Hong H L, Tan B, Song J, Liu Z X, Wang Y S, Ruan H, Yeung C K L, Liu J, Wang H, Zhang L J, Guan R X, Wang K J, Li W B, Chen S Y, Chang R Z, Jiang Z, Jackson S A, Li R Q, Qiu L J. *De novo*

- assembly of soybean wild relatives for pan-genome analysis of diversity and agronomic traits. *Nature Biotechnology*, 2014, 32: 1045-1052
- [18] Fang C, Ma Y M, Wu S W, Liu Z, Wang Z, Yang R, Hu G H, Zhou Z K, Yu H, Zhang M, Pan Y, Zhou G A, Ren H X, Du W G, Yan H R, Wang Y P, Han D Z, Shen Y T, Liu S L, Liu T F, Zhang J X, Qin H, Yuan J, Yuan X H, Kong F J, Liu B H, Li J Y, Zhang Z W, Wang G D, Zhu B G, Tian Z X. Genome-wide association studies dissect the genetic networks underlying agronomical traits in soybean. *Genome Biology*, 2017, 18: 161
- [19] 靳路真, 王洋, 张伟, 邱红梅, 陈健, 候云龙, 马晓萍, 王跃强, 谢甫缙. 大豆品种(系)耐热性鉴定及分级评价. *中国油料作物学报*, 2016, 38(1): 77-87
Jin L Z, Wang Y, Zhang W, Qiu H M, Chen J, Hou Y L, Ma X P, Wang Y Q, Xie F T. Grading evaluation heat-tolerance in soybean and identification of heat-tolerant cultivars. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2016, 38(1): 77-87
- [20] 王伟, 姜伟, 张金龙, 苗龙, 赵团结, 盖钧镒, 李艳. 大豆种质的耐旱性鉴定及耐旱指标筛选. *大豆科学*, 2015, 34(5): 808-818
Wang W, Jiang W, Zhang J L, Miao L, Zhao T J, Gai J Y, Li Y. Selection of drought-tolerant soybean and evaluation of the drought tolerance indices. *Soybean Science*, 2015, 34(5): 808-818
- [21] 代希茜, 赵银月, 詹和明, 单丹丹, 张亮, 王铁军. 云南省夏大豆种质资源表型鉴定和综合评价模型构建. *植物遗传资源学报*, 2018, 19(5): 830-845
Dai X Q, Zhao Y Y, Zhan H M, Shan D D, Zhang L, Wang T J. Phenotypic screening of summer sowing soybean germplasm resources in yunnan province and constructing a comprehensive evaluation model. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2018, 19(5): 830-845
- [22] 张芳, 颜安, 任毅, 杨卫君, 耿洪伟. 新疆冬小麦萌发期抗旱性综合评价. *植物遗传资源学报*, 2019, 20(1): 100-112
Zhang F, Yan A, Ren Y, Yang W J, Geng H W. Evaluation on drought resistance of winter wheat cultivars in Xinjiang. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2019, 20(1): 100-112
- [23] 盖钧镒, 胡蕴珠, 陈建民, 顾蕴洁. 保存大豆花粉生活力的试验. *作物学报*, 1980, 6(1): 11-16
Gai J Y, Hu Y Z, Chen J M, Gu Y J. Experiment to preserve the pollen viability of soybean. *Acta Agronomica Sinica*, 1980, 6(1): 11-16
- [24] 王学奎. *植物生理生化实验原理和技术*. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2014: 280-283
Wang X K. *Principles and Techniques of Plant Physiological Biochemical Experiment*. 3th edn. Beijing: Higher Education Press, 2014: 280-283
- [25] Patel D, Franklin K A. Temperature-regulation of plant architecture. *Plant Signaling Behavior*, 2009, 4(7): 577-579
- [26] 吴韩英, 寿森炎, 朱祝军, 杨信廷. 高温胁迫对甜椒光合作用和叶绿素荧光的影响. *园艺学报*, 2001, 28(6): 517-521
Wu H Y, Shou S Y, Zhu Z J, Yang X T. Effects of high temperature stress on photosynthesis and chlorophyll fluorescence of sweet pepper. *Acta Horticulturae Sinica*, 2001, 28(6): 517-521
- [27] 潘宝贵, 王述彬, 刘金兵, 曹培生, 袁希汉. 高温胁迫对不同辣椒品种苗期光合作用的影响. *江苏农业学报*, 2006, 22(2): 137-140
Pan B G, Wang S B, Liu J B, Cao P S, Yuan X H. Effect of heat stress on photosynthesis of pepper cultivars at seedling stage. *Jiangsu Journal of Agriculture Science*, 2006, 22(2): 137-140
- [28] Prasad P V V, Pisipati S R, Mutava R N, Tuinstra M R. Sensitivity of grain sorghum to high temperature stress during reproductive development. *Crop Science*, 2008, 48(48): 1911-1917
- [29] Djanaguiraman M, Prasad P V V. Ethylene production under high temperature stress causes premature leaf senescence in soybean. *Functional Plant Biology*, 2010, 37(11): 1071-1084
- [30] Djanaguiraman M, Prasad P V V, Boyle D L, Schapaugh W T. High-temperature stress and soybean leaves: Leaf anatomy and photosynthesis. *Crop Science*, 2011, 51(5): 2125-2131
- [31] Djanaguiraman M, Prasad P V V, Al-Khatib K. Ethylene perception inhibitor 1-MCP decreases oxidative damage of leaves through enhanced antioxidant defense mechanisms in soybean plants grown under high temperature stress. *Environmental and Experimental Botany*, 2011, 71(2): 215-223
- [32] Djanaguiraman M, Prasad P V V, Boyle D L, Schapaugh W T. Soybean pollen anatomy, viability and pod set under high temperature stress. *Journal of Agronomy Crop Science*, 2012, 199(3): 171-177
- [33] Djanaguiraman M, Prasad P V V, Schapaugh W T. High day- or nighttime temperature alters leaf assimilation, reproductive success, and phosphatidic acid of pollen grain in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Crop Science*, 2013, 53(4): 1594-1604
- [34] 姚玉臣, 孟庆平, 李桂杰, 林立艳, 李鑫, 韩国良, 张旭. 高温干旱对夏玉米生育性状及产量因子影响初探. *现代农业科技*, 2008(1): 118
Yao Y C, Meng Q P, Li G J, Lin L Y, Li X, Han G L, Zhang X. Preliminary study on the effects of high temperature and drought on the growth traits and yield factors of summer maize. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2008(1): 118
- [35] 穆佳, 赵俊芳, 郭建平. 近 30 年东北春玉米发育期对气候变化的响应. *应用气象学报*, 2014, 25(6): 680-689
Mu J, Zhao J F, Guo J P. Response of northeast spring maize to climate change in recent 30 years. *Journal of Applied Meteorological Science*, 2014, 25(6): 680-689
- [36] 郭叶航. 春小麦重要农艺性状响应高温胁迫的相关性分析. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016
Guo Y H. The correlation analysis of important traits of spring wheat in response to heat stress. Yangling: Northwest A & F University, 2016
- [37] 韩永华, 郑易之, 李甜, 高扬. 高温/渗透双重胁迫对大豆某些生理反应具累加效应的初报. *大豆科学*, 2001, 20(1): 41-44
Han Y H, Zheng Y Z, Li T, Gao Y. Preliminary report on the cumulative effect of high temperature/osmotic double stress on

- some physiological responses of soybean. *Soybean Science*, 2001, 20 (1): 41-44
- [38] 宋晓坤, 胡燕金, 闫龙, 冯燕, 荆慧贤, 赵青松, 杨春燕. 持续高温对大豆品种萌发及幼苗生长的影响. *河北农业科学*, 2009, 13 (4): 1-3
- Song X K, Hu Y J, Yan L, Feng Y, Jing H X, Zhao Q S, Yang C Y. Effect of continuous high temperature on germination and seedling growth of soybean varieties. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 2009, 13 (4): 1-3
- [39] 卢琼琼, 宋新山, 严登华. 高温胁迫对大豆幼苗生理特性的影响. *河南师范大学学报: 自然科学版*, 2012, 40 (1): 112-115
- Lu Q Q, Song X S, Yan D H. Effects of high temperature stress on physiological characteristics of soybean seedlings. *Journal of Henan Normal University: Natural Science Edition*, 2012, 40 (1): 112-115
- [40] Koti S, Reddy K R, Reddy V R, Kakani V G, Zhao D. Interactive effects of carbon dioxide, temperature, and ultraviolet-B radiation on soybean (*Glycine max* L.) flower and pollen morphology, pollen production, germination, and tube lengths. *Journal of Experimental Botany*, 2005, 56 (412): 725-736
- [41] Xu G, Singh S, Barnaby J, Buyer J, Reddy V, Sicher R. Effects of growth temperature and carbon dioxide enrichment on soybean seed components at different stages of development. *Plant Physiology Biochemistry*, 2016, 108: 313-322
- [42] Koti S, Reddy K R, Kakani V G, Zhao D, Gao W. Effects of carbon dioxide, temperature and ultraviolet-B radiation and their interactions on soybean (*Glycine max* L.) growth and development. *Environmental and Experimental Botany*, 2007, 60 (1): 1-10
- [43] Salem M A, Kakani V G, Koti S, Reddy K R. Pollen-based screening of soybean genotypes for high temperatures. *Crop Science*, 2007, 47: 219-231
- [44] Srinivasan A, Johansen C, Saxena N P. Cold tolerance during early reproductive growth of chickpea (*Cicer arietinum* L.): characterization of stress and genetic variation in pod set. *Field Crop Research*, 1998, 57 (2): 181-193
- [45] Davies S L, Turner N C, Khm S, Plummer J A, Leport L. Seed growth of desi and kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.) in a short-season mediterranean-type environment. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 1999, 39 (2): 181-188
- [46] Hall A E. Breeding for adaptation to drought and heat in cowpea. *European Journal of Agronomy*, 2004, 21 (4): 447-454