

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2026.55068

外源激素对低温胁迫下大豆叶片叶绿素荧光参数及抗氧化酶系统的影响

金昱何¹ 王雪菲¹ 徐张一娃¹ 缪怡宁¹ 蒋云杰² 伊莹¹ 缪德麟¹
朱静仪¹ 钟一帆¹ 陈铭亨¹ 方芳¹ 刘鹏^{1,*}

¹ 浙江师范大学生命科学学院, 浙江金华 321004; ² 浙江师范大学教育学院, 浙江金华 321004

摘 要: 低温胁迫是制约大豆生产的关键非生物逆境, 为探究外源激素对低温胁迫下大豆叶片叶绿素荧光参数及抗氧化酶系统的影响, 本试验以耐冷性差异较大的蒙豆 16 (Mengdou 16) 和黑河 18 (Heihe 18) 为试验材料, 在 4℃ 低温胁迫下分别喷施最适浓度的脱落酸(ABA)、水杨酸(SA)、褪黑素(MT)、油菜素内酯(BR)和茉莉酸(JA), 探究其对大豆各时期(2、4 和 6 d)形态形状、光合特性、渗透调节系统和抗氧化酶系统的影响。同时通过隶属函数分析法筛选出高效抗寒激素, 在此基础上采用响应面优化法探究激素最佳配比。结果表明, 大豆在低温胁迫下损伤严重, 蒙豆 16 的抗寒能力强于黑河 18, 生理响应更为稳定。各外源激素处理均能缓解低温对大豆生长的抑制作用, ABA、SA 和 MT 浓度分别为 13.93、200.62 和 30.30 mg L⁻¹ 时效果最佳, 喷施外源激素对大豆株高、鲜重和叶面积均呈积极作用, 但 2 个品种的反应程度存在差异。蒙豆 16 中叶绿素总量的最大增幅为 97.60%, 黑河 18 为 108.28%; 2 个品种的初始荧光(F_0)和非光化学猝灭系数(q_N)下降, 蒙豆 16 的光化学猝灭系数(q_P)和光合相对电子传递速率(ETR)上升, 黑河 18 的 q_P 部分下降, F_0 最大降幅分别可达 34.38% 和 24.86%, 光合转化效率显著增强。各处理下丙二醛(MDA)含量均显著降低, 蒙豆 16 的最大降幅为 66.50%, 黑河 18 为 62.57%; 脯氨酸含量则有所上升, 最大增幅分别为 24.47% 和 19.97%。此外, 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性均显著增加, SOD 与 CAT 活性在第 4 天达到最大升幅, POD 则在第 6 天达到最大。综上, 施加不同外源激素可以通过调节光化学系统、抗氧化酶系统和渗透调节系统等途径来缓解低温对大豆造成的损伤, 也为大豆的低温种植提供了理论依据和实践经验。

关键词: 低温胁迫; 外源激素; 大豆; 叶绿素荧光; 抗氧化酶系统

Effects of exogenous hormones on chlorophyll fluorescence parameters and the antioxidant enzyme system in soybean leaves under low-temperature stress

Jin Yu-He¹, Wang Xue-Fei¹, Xu Zhang-Yi-Wa¹, Miao Yi-Ning¹, Jiang Yun-Jie², Yi Ying¹, Miao De-Lin¹, Zhu Jing-Yi¹, Zhong Yi-Fan¹, Chen Ming-Heng¹, Fang Fang¹, and Liu Peng^{1,*}

¹ College of Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, Zhejiang, China; ² College of Education, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, Zhejiang, China

Abstract: Low-temperature stress is a major abiotic constraint on soybean production. To evaluate how exogenous hormones affect chlorophyll fluorescence and the antioxidant defense system in soybean leaves under low-temperature stress, we used two cultivars with contrasting cold tolerance, Mengdou 16 and Heihe 18. Plants were exposed to 4℃ and treated separately with optimal concentrations of abscisic acid (ABA), salicylic acid (SA), melatonin (MT), brassinolide (BR), and jasmonic acid (JA). Their effects on morphology, photosynthetic performance, osmotic adjustment, and antioxidant enzyme activities were assessed after 2, 4, and 6 days. Membership function analysis was used to identify the most effective hormones for enhancing cold toler-

本研究由国家自然科学基金项目(30540056, 31971426, 32001224)资助。

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (30540056, 31971426, 32001224).

* 通信作者(Corresponding author): 刘鹏, E-mail: sky79@zjnu.cn

第一作者联系方式: E-mail: 1498942439@qq.com

Received (收稿日期): 2025-11-08; Accepted (接受日期): 2026-03-16; Published online (网络出版日期): 2026-03-20.

URL: <https://link.cnki.net/urlid/11.1809.S.20260319.1808.004>

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

ance, and response surface methodology was applied to determine an optimal hormone combination. Low-temperature stress caused substantial injury, with Mengdou 16 showing greater cold tolerance and more stable physiological responses than Heihe 18. All hormone treatments alleviated growth inhibition, and the most effective concentrations were 13.93 mg L⁻¹ ABA, 200.62 mg L⁻¹ SA, and 30.30 mg L⁻¹ JA. Hormone application increased plant height, fresh weight, and leaf area, although responses differed between cultivars. Total chlorophyll content increased by up to 97.60% in Mengdou 16 and 108.28% in Heihe 18. In both cultivars, initial fluorescence (F_0) and non-photochemical quenching (qN) decreased; photochemical quenching (qP) and electron transport rate (ETR) increased in Mengdou 16, whereas qP in Heihe 18 decreased in some treatments. The maximum reductions in F_0 were 34.38% and 24.86% in Mengdou 16 and Heihe 18, respectively, indicating improved photosynthetic energy conversion. Malondialdehyde (MDA) content decreased significantly under all treatments, with maximum reductions of 66.50% (Mengdou 16) and 62.57% (Heihe 18), while proline content increased by up to 24.47% and 19.97%, respectively. Activities of SOD, POD, and CAT were also enhanced, with SOD and CAT peaking at day 4 and POD showing the greatest increase at day 6. Overall, exogenous hormones mitigated low-temperature damage in soybean by improving photochemical performance and strengthening antioxidant and osmotic adjustment systems, providing a theoretical basis and practical guidance for soybean production under low-temperature conditions.

Keywords: low-temperature stress; exogenous hormones; *Glycine max* (Linn.) Merr; chlorophyll fluorescence; antioxidant enzyme system

植物在生长发育过程中,经常会受到多种非生物胁迫的影响,例如低温、高温、重金属和盐胁迫等,这些非生物胁迫会限制植物的生长发育,降低其生产力^[1],甚至导致死亡。其中,低温胁迫对植物影响巨大,会抑制光合作用能力,改变细胞膜的通透性,并导致活性氧(reactive oxygen species, ROS)过量累积^[2],进而扰乱植物体内的渗透平衡,引起生长发育迟缓甚至停滞。如低温会降低水稻(*Oryza sativa* L.)最大光合速率、气孔导度和蒸腾速率,阻碍其干物质积累^[3],农作物产量会显著降低,进而对农业生产造成巨大的经济负担。

大豆(*Glycine max* (Linn.) Merr.), 豆科(Fabaceae)大豆属(*Glycine*)草本植物,为喜温性、低温敏感型作物,富含蛋白质、油脂等人体必需的营养物质,具有极高的营养价值与经济价值。我国是大豆生产大国,目前大豆总产量居世界第四^[4],尤其在东北地区有大面积种植。东北地区属于大陆性季风气候,春季常发生低温冷害;且全球气候变化、极端天气频发,进一步扩大了冷害的影响范围,造成大部分地区大豆产量减少、品质降低,导致产业的可持续发展受到限制^[5]。因此,低温冷害已经成为限制国内外大豆产量和品质的突出问题,在全球作物种植方面不容忽视。

现有研究表明,脱落酸(abscisic acid, ABA)、水杨酸(salicylic acid, SA)、褪黑素(melatonin, MT)、油菜素内酯(brassinolide, BR)和茉莉酸(jasmonic acid, JA)等多种外源激素可提高作物抗寒性,并且不同激素之间存在着广泛的协同或拮抗作用,能够一定程度调节植物对外界胁迫的响应^[6]。但目前国内外关于不同外源激素组合成的复合激素在提高植物抗

逆性方面报道鲜见,且针对大豆展开的相关研究尚显不足,而复合激素共同处理对苗期低温胁迫生理调控的探索更为缺乏。因此,本试验以耐寒性差异显著的 2 种大豆为材料,探究不同外源激素调控下低温胁迫大豆表观形态、生理代谢指标变化情况,以阐明不同外源激素抗寒机理,同时通过隶属函数分析法筛选出高效抗寒激素,并在此基础上采用响应面优化法探究激素最佳配比,避免复合激素对植株生长产生抑制作用,从而推动我国大豆种植业高质量发展,同时也为缓解其他植物在低温胁迫下受到的损伤提供一定新思路。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于 2024 年 2 月至 2025 年 10 月在浙江师范大学生物园和植物逆境生物学实验室内进行,20 个地区生长的大豆作为备试材料,采用恒温发芽法^[7],根据预试验结果选取耐冷型大豆品种蒙豆 16 (Mengdou 16)和冷敏感型大豆品种黑河 18 (Heihe 18)为试验材料。

1.2 试验设计

选取长势一致的 2 个大豆品种幼苗,以红心土与泥炭土 2 : 1 (v/v)作为培养基质,选用上、下口径分别为 30 cm 和 20 cm、高度为 30 cm 的塑料花盆作为基质容器。将其置于光照培养箱内,设置光照和黑暗 2 个时段,分别为光强 600 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 处理 12 h 和暗处理 12 h,光照时间 07:00—19:00,期间人工气候室温度变化控制在 18~28℃,调节空气相对湿度约 75%,采用 1/2 Hongland 完全营养液进行浇灌^[8],每 3 d 换 1 次营养液。

培养一段时间后选取长势相近、生长状况良好的大豆植株, 将 ABA^[9]、SA^[10]、MT^[11]、BR^[12]和 JA^[13]共 5 种植物激素分别配制成一系列浓度梯度溶液, 喷施于植株叶片正反面(以叶面附上一层均匀水雾为准), 24 h 后置于光照培养箱(光照强度 600 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 光周期 12 h)中进行 4℃ 持续低温胁迫, 每个处理组设置 3 个重复。6 d 内每隔 24 h 喷施相应激素, 于第 2 天、第 4 天和第 6 天测定各组植株的相关指标, 从而筛选出最适浓度。

随后将 ABA、SA、MT、BR 和 JA 共 5 种植物激素配置成最适浓度的溶液, 重复进行上述处理。以喷施蒸馏水为对照组(CK), 置于光照培养箱中培养(除温度条件外, 其他条件均与低温胁迫组相同), 以 4℃ 低温胁迫无激素喷施为低温组(LT)。于第 2 天、第 4 天和第 6 天测定各组植株的株高、叶面积和鲜重等表观形态指标及叶片的叶绿素含量和荧光参数、丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量、脯氨酸(proline, Pro)含量和抗氧化酶活性等生理指标, 分析各激素调控大豆幼苗的生理响应机制。采用隶属函数分析法筛选出高效抗寒激素, 同时通过测定复合激素作用下大豆植株表观形态指标以及生理指标变化情况, 从而进行复合激素效果验证。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 表观指标的测定 每组重复中随机挑选 3 株大豆幼苗, 用直尺(精确到 0.1 cm)测量从子叶节至主茎顶端的高度即为株高; 选择幼苗第 3 节位、叶龄相同的叶片, 使用 Li-3000C 叶面积仪测定叶面积, 并利用 SPAD-502PLUS 叶绿素仪测定其叶绿素的相对含量; 从每组重复中挑选 3 株幼苗, 从基质中拔出洗净, 擦干后放入电子天平中称量鲜重。

1.3.2 叶绿素荧光参数测定 使用叶绿素荧光仪 PAM-210 测定叶绿素荧光参数^[14], 测定前对植株进行 30 min 暗适应, 在植株相同叶位上选取 3 片生长旺盛的叶片, 测定叶片的初始荧光(initial fluorescence, F_0)、最大光化学效率 PSII 有效光化学电子产量(maximum photochemical quantum yield of PSII, F_v/F_m)、光合相对电子传递速率(electron transport rate, ETR)、光化学猝灭系数(photochemical quenching, qP)和非光化学猝灭系数(non-photochemical quenching, qN), 每个处理组设置 3 个重复。

1.3.3 膜过氧化指标的测定 采用硫代巴比妥酸测定法^[15]测定丙二醛含量。称取 0.2 g 新鲜叶片, 在含有 4 mL 10% 的三氯乙酸溶液的研钵中研磨成匀

浆, 然后于 6000 转 min^{-1} 离心 20 min。取上清液加入 1.6 mL 0.6% 的硫代巴比妥酸, 放入沸水浴中加热 20 min, 冷却后于 4000 转 min^{-1} 离心 20 min。在 450、532 和 600 nm 处测定上清液的吸光度, 每个处理组设置 3 个重复。计算公式如下:

$$\text{MDA 浓度}(\mu\text{mol L}^{-1}) = 6.45 \times (\text{OD}_{532} - \text{OD}_{600}) - 0.56 \times \text{OD}_{450} \quad (1)$$

$$\text{MDA 含量}(\mu\text{mol g}^{-1} \text{FW}) = C \times V / W \quad (2)$$

式中, C 代表 MDA 浓度, OD 值代表对应光波长下的吸光度, V 代表待测液体积(mL), W 代表样品鲜重(g)。

1.3.4 渗透调节物质的测定 采用茚三酮显色法^[16]测定脯氨酸含量。取 0.1 g 新鲜叶片剪碎放入研钵中, 加入 3% 的磺基水杨酸溶液 3 mL, 冰浴研磨, 随后放入沸水浴中加热 10 min, 冷却后于 3000 转 min^{-1} 离心 10 min。取 1 mL 上清液, 加入蒸馏水、冰醋酸各 1 mL 和 2.5% 茚三酮 2 mL, 放入沸水浴中加热 40 min。冷却后加入 4 mL 甲苯, 并充分震荡试管 30 s, 静置分层后, 于 520 nm 处测定吸光度, 每个处理组设置 3 个重复。计算公式如下:

$$\text{脯氨酸含量}(\%) = [(C_{\text{Pro}} \times V_{\text{总}}) / (V_{\text{上清}} \times m \times 10^6)] \times 100 \quad (3)$$

式中, C_{Pro} 代表对比标准曲线得出的样品中脯氨酸浓度($\mu\text{g g}^{-1} \text{FW}$), $V_{\text{总}}$ 代表样品提取液体积(mL), $V_{\text{上清}}$ 代表吸取的上清液体积(mL), m 代表样品鲜重(g)。

1.3.5 抗氧化系统指标的测定 称取 0.2 g 新鲜叶片, 洗净后置于预冷的研钵中, 加入 2 mL 50 mmol L^{-1} (pH = 7.8) 预冷的磷酸缓冲液, 在冰浴中研磨成匀浆。用冷冻高速离心机在 4℃、10,000 转 min^{-1} 条件下离心 15 min, 所得上清液即为叶片的粗酶液。采用氮蓝四唑(nitro-blue tetrazolium, NBT)显色法测定超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性^[17], 采用愈创木酚比色法测定过氧化物酶(peroxidase, POD)活性^[18], 采用紫外吸收法测定过氧化氢酶(catalase, CAT)活性^[19], 每个处理组设置 3 个重复。计算公式如下:

$$\text{SOD 总活性}(\text{U g}^{-1} \text{FW}) = [(\text{OD}_{\text{对照}} - \text{OD}_{\text{样品}}) \times V_{\text{总}} / (1/2 \text{OD}_{\text{对照}} \times m \times V_{\text{测}})] \quad (4)$$

$$\text{CAT 总活性}(\text{U g}^{-1} \text{min}^{-1} \text{FW}) = \Delta \text{OD}_{240} \times V_{\text{总}} / (0.01 \times \Delta t \times V_{\text{测}} \times m) \quad (5)$$

$$\text{POD 总活性}(\text{U g}^{-1} \text{min}^{-1} \text{FW}) = \Delta \text{OD}_{470} \times V_{\text{总}} / (0.01 \times \Delta t \times V_{\text{测}} \times m) \quad (6)$$

式中, OD 值代表对应光波长下的吸光度, $V_{\text{总}}$ 代表样

品提取液体积(mL), $V_{\text{酶}}$ 代表酶液体积(mL), m 代表样品鲜重(g), Δt 代表测定间隔时间(min)。

1.3.6 隶属函数分析法与响应面优化法分析 高效抗寒激素的筛选应用数学中的隶属函数法进行分析, 根据隶属度函数值法的计算公式, 将不同处理下植株的各项指标转化为隶属度平均值, 作为其对大豆幼苗抗寒性影响的综合指标。计算公式如下:

$$R(X_i) = (X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min}) \tag{7}$$

式中, R 代表隶属函数值, X_i 为指标测定值, $X_{\min}$ 、 $X_{\max}$ 为所有参试材料某一指标的最小值和最大值。

探究复合激素的最佳配比利用响应面优化法, 通过 Box-Behnken 中心组合设计试验, 以隶属度平均值为响应值, 取 3 因素 3 水平建立响应面优化模型, 获得最佳浓度配比^[20]。

1.4 数据处理

采用 WPS Office 进行原始数据整理与分析, 利用 Microsoft Excel 2020 软件整理和分析数据, 借助 SPSS 27.0 进行单因素方差分析(one-way ANOVA),

经 Design-Expert 12 设计响应面优化试验, 并利用 Origin 9.0 软件作图。

2 结果与分析

2.1 不同植物激素处理对低温胁迫下大豆表观性状的影响

株高、鲜重和叶面积是植物重要的表观指标, 能直观地反映植物的生长状况。与 LT 组相比, 低温胁迫下各植物激素处理对大豆植株的株高、鲜重与叶面积均呈促进作用(表 1)。然而随着低温胁迫时间的增加, 施加外源植物激素后蒙豆 16 与黑河 18 的叶面积均降低, 但相较于 LT 组, 外源植物激素已然在一定程度上缓解低温胁迫。其中, ABA 对蒙豆 16 和黑河 18 株高的促进效果最佳, 6 d 时施加 ABA 组相比 LT 组增幅分别为 24.52%和 21.52%; ABA 和 SA 可有效提高植株的鲜重, 6 d 时施加 ABA 较 LT 组增幅分别为 59.42%和 66.51%, 施加 SA 增幅分别为 56.28%和 69.05%。

表 1 不同植物激素对大豆表观性状的影响
Table 1 Effects of different plant hormones on soybean phenotypic traits

指标 Index	品种 Variety	天数 Days (d)	CK	LT	SA ₂₀₀	MT ₃₀
株高 PH (cm)	蒙豆 16 Mengdou 16 (MD)	2	23.11±0.11 a	18.07±0.12 d	21.15±0.21 b	20.78±0.20 b
		4	25.99±0.10 a	19.56±0.16 e	23.77±0.10 b	22.74±0.22 c
		6	28.12±0.05 a	19.78±0.02 f	24.20±0.06 b	23.72±0.02 c
	黑河 18 Heihe 18 (HH)	2	22.01±0.10 a	16.74±0.21 e	19.37±0.19 b	18.56±0.20 c
		4	24.64±0.25 a	18.47±0.09 f	21.68±0.19 c	20.46±0.16 d
		6	26.18±0.04 a	18.77±0.04 g	22.11±0.02 d	22.65±0.01 c
鲜重 FW (g)	蒙豆 16 Mengdou 16 (MD)	2	5.44±0.03 a	3.33±0.10 g	5.07±0.03 b	4.68±0.02 d
		4	6.46±0.06 a	3.60±0.03 f	5.62±0.02 b	5.40±0.01 c
		6	7.24±0.04 a	3.82±0.02 g	5.97±0.03 c	5.77±0.03 d
	黑河 18 Heihe 18 (HH)	2	7.27±0.10 a	3.78±0.02 f	5.97±0.04 c	5.75±0.04 d
		4	8.18±0.08 a	4.21±0.08 e	6.75±0.07 bc	6.56±0.04 c
		6	9.33±0.10 a	4.33±0.06 e	7.32±0.04 b	7.08±0.03 c
叶面积 LA (cm ²)	蒙豆 16 Mengdou 16 (MD)	2	31.94±0.09 a	28.56±0.17 c	31.02±0.18 a	30.99±0.09 ab
		4	32.63±0.15 a	28.05±0.11 c	30.77±0.14 a	30.07±0.11 ab
		6	33.36±0.11 a	27.87±0.03 d	30.27±0.24 bc	29.71±0.22 c
	黑河 18 Heihe 18 (HH)	2	35.17±0.22 a	29.08±0.23 c	34.33±0.18 ab	33.69±0.13 b
		4	36.17±0.16 a	28.39±0.18 c	33.15±0.13 ab	32.52±0.18 b
		6	37.16±0.20 a	27.43±0.22 c	32.19±0.16 ab	31.57±0.22 b
指标 Index	品种 Variety	天数 Days (d)	ABA ₁₄	JA ₃₀	BR _{0.12}	
株高 PH (cm)	蒙豆 16 Mengdou 16 (MD)	2	21.33±0.11 b	19.52±0.15 c	20.60±0.16 b	
		4	23.98±0.20 b	20.93±0.26 d	22.48±0.13 c	
		6	24.63±0.20 b	21.65±0.22 e	22.93±0.17 d	

(续表 1)

指标 Index	品种 Variety	天数 Days (d)	ABA ₁₄	JA ₃₀	BR _{0.12}
株高	黑河 18	2	19.86±0.14 b	17.94±0.09 d	18.38±0.26 cd
PH (cm)	Heihe 18 (HH)	4	22.32±0.16 b	19.86±0.16 e	20.15±0.19 de
		6	22.81±0.12 b	20.62±0.11 f	21.03±0.03 e
鲜重	蒙豆 16	2	4.88±0.05 c	4.08±0.02 f	4.30±0.03 e
		4	5.51±0.04 bc	4.65±0.05 e	5.09±0.04 d
		6	6.09±0.04 b	5.17±0.03 f	5.31±0.02 e
FW (g)	Mengdou 16 (MD)	2	6.37±0.03 b	5.34±0.05 e	5.45±0.03 e
		4	6.93±0.03 b	6.05±0.04 d	6.23±0.03 d
		6	7.21±0.02 bc	6.38±0.03 d	6.47±0.03 d
叶面积	蒙豆 16	2	31.03±0.13 a	30.57±0.20 b	30.44±0.25 b
		4	30.11±0.15 a	29.70±0.20 b	29.91±0.20 b
		6	29.90±0.21 ab	29.44±0.16 c	29.73±0.17 c
LA (cm ²)	Mengdou 16 (MD)	2	34.23±0.25 ab	33.74±0.30 b	33.24±0.19 b
		4	33.00±0.11 b	32.65±0.22 b	32.21±0.20 b
		6	32.03±0.32 b	31.68±0.21 b	31.24±0.20 b

CK: 常温喷施蒸馏水; LT: 低温喷施蒸馏水; SA₂₀₀: 200 mg L⁻¹ 水杨酸; MT₃₀: 30 mg L⁻¹ 褪黑素; ABA₁₄: 14 mg L⁻¹ 脱落酸; JA₃₀: 30 mg L⁻¹ 茉莉酸; BR_{0.12}: 0.12 mg L⁻¹ 油菜素内酯。不同小写字母表示 2 个品种同一时间点各处理间在 $P < 0.05$ 水平差异显著。
CK: spraying distilled water at room temperature; LT: spraying without hormone at low temperature; SA₂₀₀: 200 mg L⁻¹ salicylic acid; MT₃₀: 30 mg L⁻¹ melatonin; ABA₁₄: 14 mg L⁻¹ abscisic acid; JA₃₀: 30 mg L⁻¹ jasmonic acid; BR_{0.12}: 0.12 mg L⁻¹ brassinolide. PH: plant height; FW: fresh weight; LA: leaf area. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments at the same time point within the same cultivar ($P < 0.05$).

2.2 外源激素对低温逆境下大豆光化学系统的影响

叶绿素是光合作用的重要色素, 其含量高低可直接体现植株光合能力的强弱, 能够表明植物的生长状况和生产能力, 对植物受环境胁迫的状态具有指示作用^[21]。低温会导致叶绿素的生物合成受阻,

而与 LT 组相比, 施加各类外源激素后, 低温胁迫下 2 个大豆品种的叶绿素含量均有所提升, 说明施加适宜的外源激素可有效缓解低温对大豆叶绿素合成的阻碍, 其中 200 mg L⁻¹ SA 处理下增幅最大, 蒙豆 16 在 6 d 时叶绿素含量增加了 97.60%, 而黑河 18 在 4 d 时增加了 108.28% (图 1)。

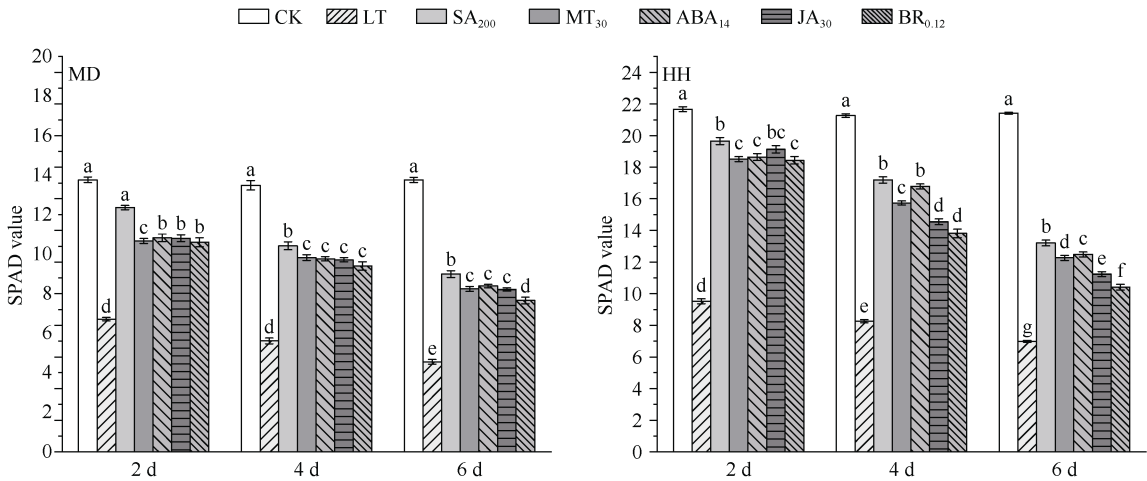


图 1 不同植物激素对大豆叶绿素含量的影响

Fig. 1 Effects of different plant hormones on chlorophyll content in soybean

处理和缩写同表 1。SPAD value: 叶绿素含量值。不同小写字母表示同一时间点各处理间在 $P < 0.05$ 水平差异显著。
Treatments and abbreviations are the same as those given in Table 1. SPAD value: chlorophyll content value. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments at the same time point ($P < 0.05$).

叶绿素荧光参数的变化可有效衡量植株光系统的运转状况, 反映出作物光合生理响应与逆境胁迫之间的关系^[22]。在低温胁迫下, 2 个大豆品种的 qP 与 ETR 均出现显著降低, qN 则呈上升趋势(表 2)。随着低温胁迫时间的延长, 2 个大豆品种的 F_0 表现为先降低后升高; F_v/F_m 表现则不同, 蒙豆 16 表现为先

降低后升高, 黑河 18 则呈连续下降趋势。外源施加各激素后, 与 LT 组相比, 蒙豆 16 的 F_0 、 qN 呈下降趋势, F_v/F_m 、 qP 和 ETR 则有所上升, 其中 30 mg L^{-1} JA 的影响最为显著; 黑河 18 叶绿素荧光参数的变化趋势与蒙豆 16 存在差异, 除 SA_{200} 外, 其他外源激素组的 qP 值均明显降低。

表 2 不同激素在最适浓度下对低温胁迫下大豆叶绿素荧光参数的影响

Table 2 Effects of different hormones at their optimal concentrations on chlorophyll fluorescence parameters in soybean under low-temperature stress

品种 Variety	指标 Index	天数 Days (d)	CK	LT	SA_{200}	MT_{30}
蒙豆 16 Mengdou 16 (MD)	F_0	2	0.281±0.002 d	0.445±0.002 a	0.292±0.002 cd	0.303±0.003 bc
		4	0.255±0.002 e	0.414±0.002 a	0.322±0.002 d	0.319±0.001 b
		6	0.284±0.002 d	0.470±0.002 a	0.406±0.002 b	0.397±0.002 cd
	F_v/F_m	2	0.815±0.002 a	0.792±0.002 cd	0.803±0.002 b	0.796±0.003 bc
		4	0.818±0.002 a	0.702±0.002 d	0.767±0.002 b	0.703±0.003 d
		6	0.818±0.002 a	0.732±0.002 b	0.646±0.002 e	0.651±0.002 e
	qP	2	0.684±0.002 a	0.318±0.002 f	0.412±0.003 c	0.498±0.003 b
		4	0.687±0.002 a	0.318±0.002 g	0.406±0.002 d	0.492±0.003 b
		6	0.687±0.002 a	0.320±0.003 f	0.398±0.002 d	0.486±0.003 b
	qN	2	0.433±0.002 e	0.660±0.002 a	0.457±0.001 c	0.448±0.001 d
		4	0.426±0.002 f	0.701±0.002 a	0.478±0.001 c	0.461±0.001 e
		6	0.431±0.002 f	0.756±0.001 a	0.492±0.001 d	0.480±0.001 e
	ETR	2	23.22±0.06 a	20.04±0.06 e	21.53±0.09 d	21.74±0.15 cd
		4	22.81±0.07 a	16.72±0.12 e	19.22±0.12 c	17.41±0.09 d
		6	23.03±0.07 a	14.41±0.12 e	16.62±0.12 c	15.72±0.06 d
黑河 18 Heihe 18 (HH)	F_0	2	0.261±0.002 e	0.370±0.003 a	0.278±0.002 d	0.281±0.001 cd
		4	0.261±0.002 c	0.255±0.002 a	0.414±0.002 b	0.322±0.002 c
		6	0.257±0.003 e	0.447±0.001 a	0.372±0.002 bc	0.349±0.001 d
	F_v/F_m	2	0.828±0.001 a	0.773±0.002 b	0.778±0.002 b	0.737±0.002 c
		4	0.825±0.001 a	0.697±0.001 b	0.689±0.001 b	0.675±0.002 c
		6	0.828±0.002 a	0.640±0.002 c	0.638±0.001 c	0.628±0.002 d
	qP	2	0.582±0.003 a	0.313±0.003 c	0.393±0.002 b	0.290±0.002 de
		4	0.583±0.003 a	0.316±0.003 d	0.410±0.002 c	0.299±0.002 d
		6	0.579±0.003 a	0.307±0.002 c	0.377±0.002 b	0.271±0.002 e
	qN	2	0.537±0.002 f	0.867±0.002 a	0.592±0.002 e	0.642±0.003 c
		4	0.553±0.002 g	0.902±0.002 a	0.618±0.002 f	0.665±0.003 d
		6	0.535±0.002 g	0.966±0.002 a	0.633±0.002 f	0.672±0.002 d
	ETR	2	20.31±0.10 a	17.51±0.17 d	18.40±0.12 c	19.11±0.10 b
		4	20.20±0.09 a	15.12±0.09 d	16.21±0.09 c	17.41±0.12 b
		6	20.81±0.09 a	12.92±0.09 e	13.52±0.10 d	13.80±0.09 d
品种 Variety	指标 Index	天数 Days (d)	ABA_{14}	JA_{30}	$BR_{0.12}$	
蒙豆 16 Mengdou 16 (MD)	F_0	2	0.308±0.002 bc	0.298±0.002 bc	0.312±0.015 b	
		4	0.327±0.002 b	0.329±0.001 c	0.319±0.010 b	
		6	0.410±0.002 b	0.408±0.002 b	0.411±0.002 b	

(续表 2)

品种 Variety	指标 Index	天数 Days (d)	ABA ₁₄	JA ₃₀	BR _{0.12}
蒙豆 16 Mengdou 16 (MD)	F_v/F_m	2	0.805±0.002 b	0.783±0.002 d	0.760±0.007 e
		4	0.742±0.002 c	0.701±0.003 d	0.698±0.007 d
		6	0.659±0.002 d	0.626±0.002 f	0.670±0.002 c
	qP	2	0.492±0.002 b	0.358±0.002 e	0.380±0.007 d
		4	0.481±0.002 c	0.355±0.003 f	0.385±0.007 e
		6	0.464±0.002 c	0.371±0.002 e	0.392±0.002 d
	qN	2	0.456±0.002 c	0.469±0.002 b	0.473±0.004 b
		4	0.472±0.002 d	0.483±0.001 c	0.503±0.003 b
		6	0.508±0.002 c	0.519±0.002 b	0.519±0.002 b
黑河 18 Heihe 18 (HH)	ETR	2	21.60±0.15 d	22.52±0.09 b	22.22±0.43 bc
		4	19.31±0.09 c	19.91±0.15 b	20.03±0.21 b
		6	17.72±0.18 b	17.76±0.07 b	16.60±0.31 c
	F_0	2	0.286±0.002 c	0.297±0.002 b	0.287±0.004 c
		4	0.319±0.001 b	0.327±0.002 b	0.329±0.001 b
		6	0.366±0.002 c	0.373±0.002 b	0.348±0.002 d
	F_v/F_m	2	0.779±0.001 b	0.748±0.001 c	0.751±0.015 c
		4	0.697±0.001 b	0.677±0.002 c	0.676±0.007 c
		6	0.669±0.001 b	0.631±0.001 d	0.632±0.001 d
	qP	2	0.285±0.003 e	0.229±0.003 f	0.295±0.001 d
		4	0.293±0.003 d	0.236±0.002 e	0.298±0.008 d
		6	0.284±0.003 d	0.245±0.003 f	0.273±0.003 e
	qN	2	0.613±0.002 d	0.690±0.002 b	0.647±0.001 c
		4	0.631±0.002 e	0.723±0.003 b	0.675±0.004 c
		6	0.641±0.002 e	0.752±0.002 b	0.694±0.002 c
	ETR	2	19.20±0.12 b	18.43±0.12 c	19.23±0.47 b
		4	17.05±0.09 b	16.53±0.15 c	16.30±0.31 c
		6	14.91±0.09 c	14.71±0.12 c	15.21±0.09 b

处理同表 1。 F_0 : 初始荧光; F_v/F_m : 最大光化学效率 PSII 有效光化学电子产量; qP : 光化学猝灭系数; qN : 非光化学猝灭系数; ETR : 光合相对电子传递速率。不同小写字母表示 2 个品种同一时间点各处理间在 $P < 0.05$ 水平差异显著。
Treatments are the same as those given in Table 1. F_0 : initial fluorescence; F_v/F_m : maximum photochemical quantum yield of PSII; qP : photochemical quenching; qN : non-photochemical quenching; ETR : electron transport rate. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments at the same time point within the same cultivar ($P < 0.05$).

2.3 外源激素对低温逆境下大豆渗透调节物质及膜脂过氧化物丙二醛含量的影响

低温胁迫下植物的抗氧化系统会受到影响, 保护酶活性显著降低, 导致活性氧大量积累, 使细胞受到损伤^[23]。MDA 作为膜脂过氧化的主要产物之一, 其含量高低能够反映出生物膜的受损伤程度^[24]。在最适浓度下施加各激素均可显著降低低温胁迫下植株叶片的 MDA 含量, 其中 14 mg L⁻¹ ABA 对蒙豆 16 膜脂损伤的缓解效果最佳, 6 d 时较 LT 降低 66.50%, 而 30 mg L⁻¹ MT 处理下黑河 18 的 MDA 含量减少最为明显, 较 LT 减少 62.57% (图 2-A)。在遭受冷害时

植物细胞内渗透势增大而导致细胞失水, 而脯氨酸作为植物体内具有保水作用的渗透调节物质之一, 在低温条件下会大量积累, 以维持细胞的渗透平衡, 提高细胞膜和细胞结构的稳定性^[25]。与此同时, 各激素在最适浓度施加下均可使植株的 Pro 含量增加, 不同处理组存在差距, 蒙豆 16 与黑河 18 中 Pro 含量增幅分别为 7.92%~24.47%与 6.72%~19.97% (图 2-B)。

2.4 外源激素对低温逆境下大豆抗氧化系统的影响

植物的抗氧化酶系统由 SOD、POD 和 CAT 等

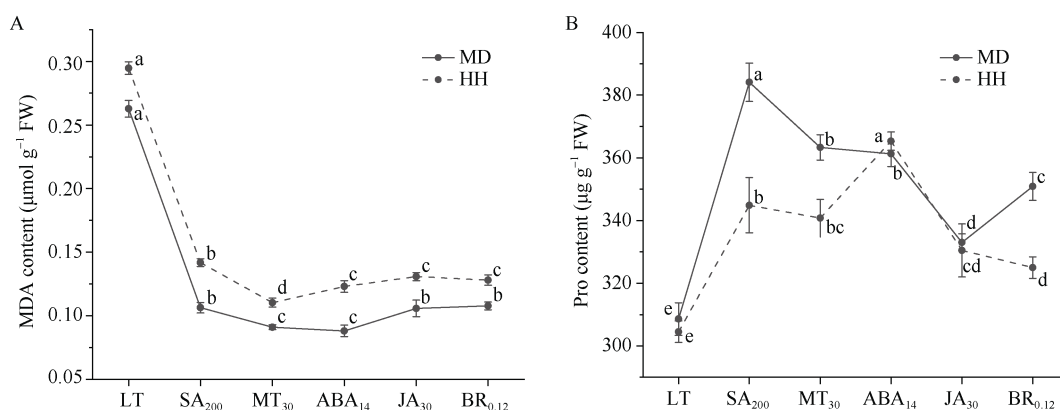


图 2 6 d 时不同激素处理下大豆叶片中 MDA 含量和 Pro 含量

Fig. 2 Malondialdehyde and proline content in soybean leaves under different hormone treatments at 6 days

处理和缩写同表 1。MDA: 丙二醛; Pro: 脯氨酸。不同小写字母表示同一品种同一时间点各处理间在 $P < 0.05$ 水平差异显著。

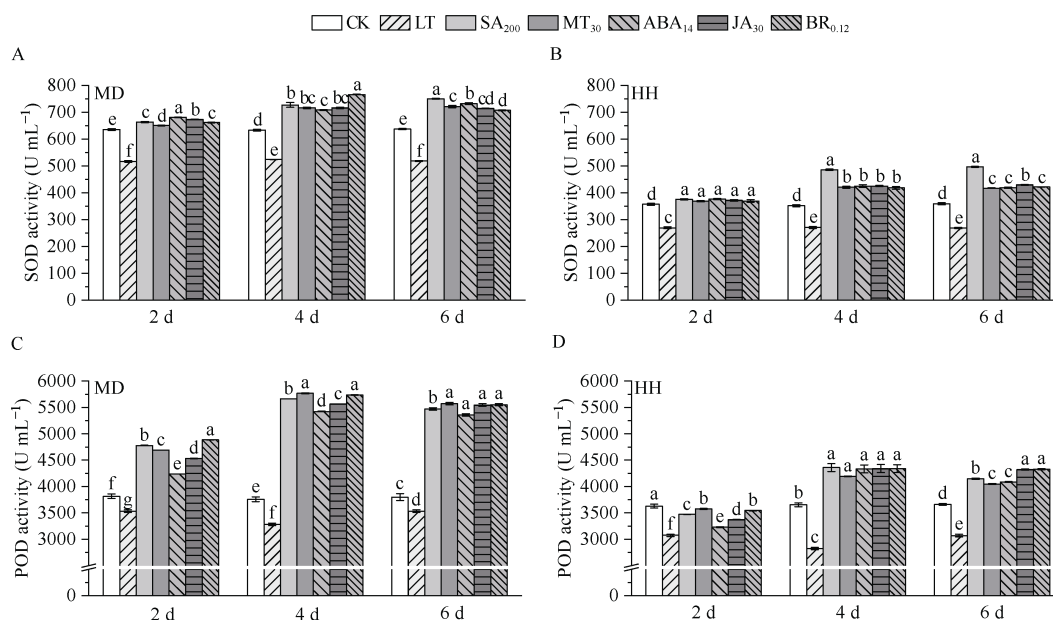
Treatments and abbreviations are the same as those given in Table 1. MDA: malonaldehyde; Pro: proline. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments at the same time point within the same cultivar ($P < 0.05$).

组成, 抗氧化酶可以减少 ROS 积累, 降低活性氧带来的损伤^[26]。CK 组与 LT 组大豆 SOD 和 CAT 活性均有所下降, 且随着胁迫时间的延长作用更加明显。而低温胁迫下 2 个大豆品种 POD 胁迫效果更加显著, 呈现先降后升趋势, 在 4 d 左右酶活性下降至低谷而后又缓慢上升, 但仍低于 CK 组, 其中蒙豆 16 和黑河 18 的 POD 活性在低温处理 4 d 时达到最低, 相较于 CK 组分别下降 7.06% 和 16.17%, 表明持续低温下大豆抗氧化酶系统均受到一定程度破坏 (图 3-C, D)。添加不同外源激素可以缓解低温造成的抗氧化酶活性下降, 与 LT 处理相比使用 0.12 mg L^{-1} 油菜素内酯处理 4 d 时耐冷型大豆的 SOD 活性上升幅度最大, 升幅达到 46.34% (图 3-A); 施用 200 mg

L^{-1} 水杨酸处理 4 d 时耐冷型大豆的 CAT 活性升幅最大, 达 397.52% (图 3-E)。而 200 mg L^{-1} 水杨酸对冷敏感型大豆的作用效果最佳, 第 4 天黑河 18 大豆的 SA_{200} 组较 LT 组 SOD 酶与 CAT 酶活性分别增高 79.63% 和 500.82% (图 3-B, F)。2 个大豆品种的 POD 活性在不同时期和不同浓度激素处理与 LT 间差异均显著, 0.12 mg L^{-1} 油菜素内酯处理后蒙豆 16 和黑河 18 大豆的 POD 活性上升均最为显著, 第 6 天 2 个大豆品种的 SA_{200} 组相较于 LT 组分别提升 54.91% 和 35.09% (图 3-C, D)。

2.5 隶属函数分析筛选高效抗寒激素

用隶属函数的平均值, 既可以消除个别指标带来的片面性, 又由于平均值处于 0 到 1 区间, 使得各



(图 3)

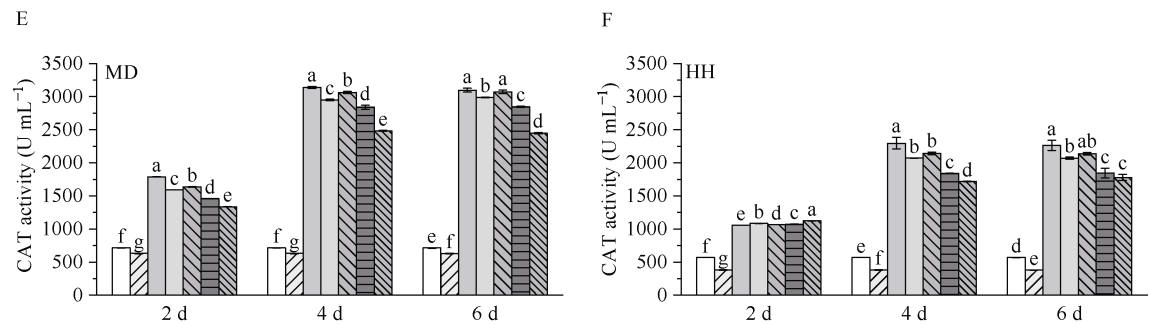


图 3 外源激素对低温胁迫下大豆叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性的影响

Fig. 3 Effect of exogenous hormones on superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), and catalase (CAT) activities in soybean leaves under low-temperature stress

处理和缩写同表 1。SOD: 超氧化物歧化酶; POD: 过氧化物酶; CAT: 过氧化氢酶。不同小写字母表示同一品种同一时间点各处理间在 $P < 0.05$ 水平差异显著。

Treatments and abbreviations are the same as those given in Table 1. SOD: superoxide dismutase; POD: peroxidase; CAT: catalase. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments at the same time point within the same cultivar ($P < 0.05$).

处理组植株的抗寒能力具有可比性^[27]。以耐冷型的蒙豆 16 品种为例, 通过隶属函数分析法综合评价各外源激素对大豆抗寒性的影响大小, 将植株各生长指标转化为隶属函数值后得到平均值(表 3)。根据各组平均隶属度, 排名第一的为 14 mg L⁻¹ ABA, 其次为 200 mg L⁻¹ SA、30 mg L⁻¹ MT, 表明这 3 种激素在最适浓度下可有效提高大豆的抗寒能力, 因此将其筛选作为高效抗寒激素用于复合激素的优化试验。

2.6 响应曲面结果分析

为探究外源复合激素对大豆低温胁迫缓解效果

的最佳配比, 本试验通过 Box-Behnken 中心组合设计, 把 Y 作为响应值, 将 10、14 和 18 mg L⁻¹ ABA 浓度(A), 180、200 和 220 mg L⁻¹ SA 浓度(B), 25、30 和 35 mg L⁻¹ MT 浓度(C)作为 3 因素、3 水平进行响应面优化建立响应模型: $Y = -22.58 + 0.14 \times A + 0.19 \times B + 0.23 \times C - 0.000144 \times AB + 0.000250 \times AC + 0.000030 \times BC - 0.004 \times A^2 - 0.0005 \times B^2 - 0.004 \times C^2$ ($R^2 = 0.998$)。从图中可知, 该 3 种因素在所选范围内均存在极值(图 4), 且均能形成较好的交互作用关系, 其中由各极值范围对比可知, SA 浓度对复合激素调控效果的影响

表 3 低温胁迫下各植物激素对大豆各抗寒指标影响的隶属函数值综合评价

Table 3 Comprehensive evaluation of membership function values for cold-tolerance indicators in soybean under low-temperature stress

处理 Treatment	隶属函数值 Subordinate function value							
	株高 PH	鲜重 FW	叶面积 LA	叶绿素含量 Chlorophyll content	F_0	F_v/F_m	qP	qN
SA ₂₀₀	0.86	0.75	0.87	1.00	1.00	0.88	0.49	0.95
MT ₃₀	0.71	0.66	0.78	0.77	0.75	0.96	1.00	1.00
ABA ₁₄	1.00	0.84	1.00	0.81	0.76	0.82	0.94	0.90
JA ₃₀	0.07	1.00	0.76	0.59	0.52	1.00	0.37	0.84
BR _{0.12}	0.50	0.89	0.76	0.76	0.62	0.98	0.40	0.86

处理 Treatment	隶属函数值 Subordinate function value						平均值 Average	排名 Rank
	ETR	Pro	MDA	SOD	POD	CAT		
SA ₂₀₀	0.81	0.98	0.89	1.00	0.99	1.00	0.89	2
MT ₃₀	0.25	0.81	0.98	0.82	1.00	0.95	0.82	3
ABA ₁₄	0.66	1.00	1.00	0.83	0.99	0.98	0.89	1
JA ₃₀	1.00	0.88	0.89	0.81	0.99	0.99	0.76	5
BR _{0.12}	0.69	0.83	0.88	0.88	0.99	0.99	0.79	4

处理同表 1。缩写同表 1、表 2、图 2 和图 3。

Treatments are the same as those given in Table 1. Abbreviations are the same as those given in Table 1, Table 2, Fig. 2 and Fig. 3.

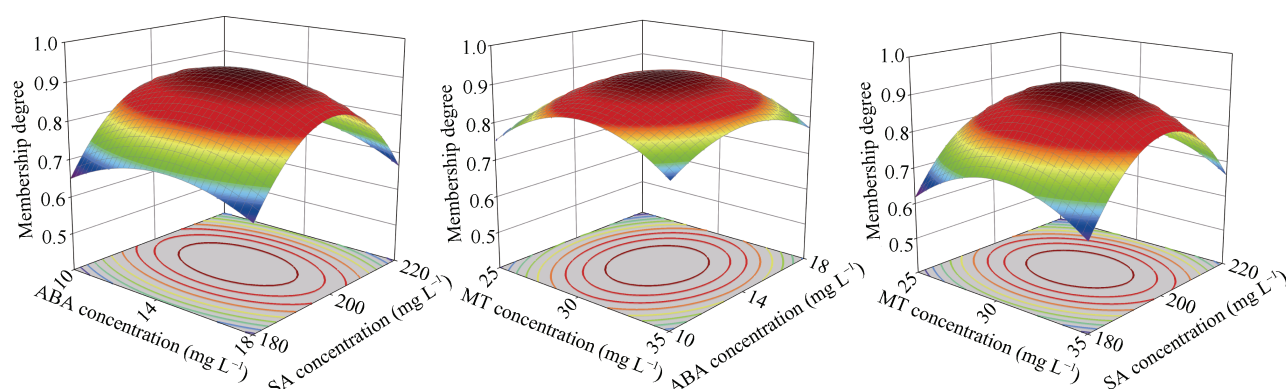


图 4 复合激素配比响应面优化曲面图

Fig. 4 Response surface plots for optimization of the compound hormone formulation

ABA: 脱落酸; SA: 水杨酸; MT: 褪黑素。ABA: abscisic acid; SA: salicylic acid; MT: melatonin.

最大, MT 与 ABA 浓度次之。经计算分析, 最佳组合为 ABA 浓度 13.93 mg L^{-1} 、SA 浓度 200.62 mg L^{-1} 和 MT 浓度 30.30 mg L^{-1} 。在此条件下进一步开展验证试验, 发现在最佳配比组合的复合激素处理下, 与 LT 相比, 蒙豆 16 在表观性状方面, 其株高、总鲜重及叶面积分别增加了 19.70%、78.44% 和 23.37%, 这说明复合激素可有效减缓大豆幼苗的低温损害程度; 通过分析各生理响应指标, 发现各项指标变化趋势与单一激素处理相一致, 其中抗氧化酶活性的变化最为显著, SOD、POD 及 CAT 活性增幅分别为 44.08%、39.60% 和 26.27%。由此可知, ABA、SA 和 MT 3 种激素协同调控低温胁迫下大豆的生理响应, 且主要通过激活抗氧化酶系统来提高大豆幼苗的耐低温能力。

3 讨论

在低温胁迫下, 植物的形态特征会发生明显变化, 主要表现为植株生长缓慢甚至受阻死亡、叶片褪绿黄化及萎蔫皱缩和开花结实率降低等^[28]。研究结果表明, 与 CK 组相比, 低温处理会显著降低大豆的株高、鲜重、叶面积以及叶绿素含量, 与杨昊等^[29]发现低温胁迫会导致大豆生物量积累变慢的结果相一致。而施加外源植物激素可以缓解低温胁迫, 与 LT 组相比, 株高、鲜重和叶面积均上升。同时, 在 200 mg L^{-1} SA 处理下, 叶绿素含量增幅最大, 蒙豆 16 在 6 d 时叶绿素含量较 LT 组增加了 97.60%, 黑河 18 在 4 d 时增加了 108.28%。其次, 低温易引起植物光合速率、蒸腾速率以及叶片气孔导度等光合参数下降, 与其能够加剧能量来源与代谢的不平衡、抑制植物的电子传递和碳同化能力有关^[30]。而叶绿素荧光参数可直接反映出植物在逆境下的光合

生理情况^[31], 本试验中, 与 CK 组相比, LT 处理组的大豆 F_0 、 qN 上升, F_v/F_m 、 qP 与 ETR 下降, 这与赵丝雨等^[32]得出低温胁迫下大豆光能的分配、耗散异常, 光合机构会产生损伤的结论相匹配。外源施加植物激素后, 与 LT 组相比, 蒙豆 16 的 F_0 、 qN 下降, F_v/F_m 、 qP 与 ETR 则呈上升趋势, 而黑河 18 的部分 qP 值明显降低, 可见植物激素对不同大豆品种低温胁迫的缓解作用具有显著差异。

在膜脂氧化方面, 丙二醛作为膜脂过氧化过程中的主要产物之一, 其含量高低能够反映生物膜的受损程度, 一般情况下与植物耐寒性呈负相关^[33]。由试验结果可知, 在 14 mg L^{-1} ABA 处理组中, 蒙豆 16 的 MDA 含量较 LT 组降低了 66.50%, 而在 30 mg L^{-1} MT 处理下, 黑河 18 较 LT 组下降了 62.57%, 可见施加适宜浓度植物激素可显著降低大豆叶片的 MDA 含量, 这些生理调控机制已在小麦 (*Triticum aestivum* L.)^[34]、番茄 (*Solanum lycopersicum* L.)^[35] 等多种植物中得到验证。同时, 植物遭受低温胁迫会使细胞失水, 此时其会主动积累有机物或无机物, 降低细胞渗透势从而避免细胞过度失水, 使细胞维持一定的渗透浓度。研究显示, 在不同植物激素处理下, 蒙豆 16 与黑河 18 叶片中 Pro 含量较 LT 组增幅分别为 7.92%~24.47% 与 6.72%~19.97%。可见, 外源植物激素可以促进脯氨酸的积累, 维持细胞渗透平衡, 从而增强植株对低温胁迫的耐受性, 该现象与张慧君和梁亚灵^[36]发现低温胁迫下 Pro 积累的能力和植物的抗寒性呈正相关关系的现象相符合。

活性氧作为信号转导中的第二信使, 在植物的生长发育过程中起重要作用^[37]。植物在自然选择中进化出多种 ROS 清除机制来进行自我防护, 从而降低活性氧带来的损伤, 主要包括酶保护系统和非酶

抗氧化剂^[38]。研究发现, 在 LT 处理组 6 d 时, 蒙豆 16 与黑河 18 的 POD 活性相较于 CK 组分别下降了 7.06% 和 16.17%, 可见持续低温胁迫会对植物造成持久性伤害。而外源施加植物激素可以显著缓解低温胁迫对植物的伤害, 与 LT 组相比, 蒙豆 16 在 0.12 mg L⁻¹ 油菜素内酯处理 4 d 时 SOD 升幅最大可达 46.34%, 200 mg L⁻¹ 水杨酸处理 4 d 时 CAT 增加 397.52%; 黑河 18 在 200 mg L⁻¹ 水杨酸处理 4 d 时, SOD 和 CAT 酶活性分别增高 79.63% 和 500.82%。由此可见, 外源施加植物激素能有效激活抗氧化酶活性, 清除多余活性氧从而提升大豆抗氧化能力, 这与贾景瑞等^[39]探明色氨酸能通过提高抗氧化酶活性, 从而缓解低温胁迫带来不利影响的结果相似。

单一生长指标难以全面反映作物的抗寒能力, 为准确评价 ABA、SA、MT、BR 和 JA 激素对大豆幼苗抗寒性的影响, 本试验采用隶属函数法进行综合分析。结果表明, 各植物激素的平均隶属度为 0.769~0.899, 其中 ABA、SA 和 MT 的平均值位列前三, 表明这三者可作为大豆的高效抗寒激素。同时, 不同的植物激素之间存在着广泛的协同或拮抗关系, 可精细调控植物对外界胁迫反应的响应^[40], 例如 Ding 等^[41]发现 MT 和 JA 在番茄的抗寒性中发挥着协同促进作用。本研究将 ABA、SA 和 MT 进行组合, 通过 3 因素、3 水平的响应面优化建立响应模型。经计算分析可知, SA 浓度对复合激素调控效果的影响最大, MT 与 ABA 浓度次之, 得到的最佳激素配比组合为 13.93 mg L⁻¹ ABA、200.62 mg L⁻¹ SA 和 30.30 mg L⁻¹ MT。在此基础上开展的验证试验表明, 各指标中抗氧化酶活性变化最为显著, 与 LT 组相比, 蒙豆 16 的 SOD、POD 和 CAT 活性增幅分别为 44.08%、39.60% 和 26.27%。由此说明, 复合激素主要通过激活大豆的抗氧化酶系统, 使体内活性氧含量维持在较低水平, 从而减缓低温损伤。此外, 复合激素使大豆的株高、鲜重及叶面积较 LT 组显著增加, 增幅分别为 19.70%、78.44% 和 23.37%。可见其通过减轻低温对大豆生长的抑制作用、增强植株的光合作用, 进而提高大豆的耐低温能力。

4 结论

低温胁迫导致大豆生长缓慢、光合效率减弱、膜脂过氧化加剧及抗氧化酶系统受损。对蒙豆 16 和黑河 18 外源喷施 ABA、SA、MT、BR 和 JA 均可有效缓解低温损伤, 其中 ABA 对株高和叶面积的缓

解效果最为显著, SA 可有效提高叶绿素含量、增强抗氧化酶活性, MT 则明显降低 MDA 在植物体中的积累。采用隶属函数分析法综合评价各激素抗寒效果, 筛选出 ABA、SA 和 MT 作为大豆的高效抗寒激素。同时, 通过响应面法优化上述 3 种激素配比, 获得最佳激素配比组合为 13.93 mg L⁻¹ ABA、200.62 mg L⁻¹ SA 和 30.30 mg L⁻¹ MT, 该复合激素配比能协同增强抗氧化酶活性、改善光合作用和减轻膜损伤, 显著提升大豆耐低温能力。本研究为解析外源植物激素缓解大豆低温胁迫的途径和大豆的低温种植提供了理论依据。

References

- [1] 程爽, ULAANDUU Namuun, 李卓琳, 等. 植物光系统 II (PSII) 应答非生物胁迫机理研究进展. 生物技术通报, 2023, 39(12): 33–42.
Cheng S, Namuun U, Li Z L, et al. Research progress in the mechanism of plant photosystem II (PSII) responding to abiotic stress. Biotechnol Bull, 2023, 39(12): 33–42 (in Chinese with English abstract).
- [2] 王芳, 王淇, 赵曦阳. 低温胁迫下植物的表型及生理响应机制研究进展. 分子植物育种, 2019, 17: 5144–5153.
Wang F, Wang Q, Zhao X Y. Research progress of phenotype and physiological response mechanism of plants under low temperature stress. Mol Plant Breed, 2019, 17: 5144–5153 (in Chinese with English abstract).
- [3] Kang M, Wang S Y, Xu Z K, et al. Simulating the effects of low-temperature stress during flowering stage on leaf-level photosynthesis with current rice models. Agric For Meteorol, 2024, 354: 110087.
- [4] 施文华, 严茂林, 刘昌勇, 等. 我国油料进口贸易的结构特征及对策分析. 中国油脂, 2023, 48(8): 1–8.
Shi W H, Yan M L, Liu C Y, et al. Structural characteristics and countermeasures analysis of Chinese oilseeds import trade. China Oils Fats, 2023, 48(8): 1–8 (in Chinese with English abstract).
- [5] 于水, 张晓龙, 王妍, 等. 气候变化对中国东北三省主要粮食作物影响研究综述. 中国生态农业学报(中英文), 2024, 32: 970–985.
Yu S, Zhang X L, Wang Y, et al. Review of research on the impacts of climate change on staple grain crops in the three provinces of Northeast China. Chin J Eco-Agric, 2024, 32: 970–985 (in Chinese with English abstract).
- [6] 高红秀, 朱琳, 刘天奇, 等. 水稻植物激素响应低温胁迫反应的转录组分析. 分子植物育种, 2021, 19: 4188–4197.
Gao H X, Zhu L, Liu T Q, et al. Transcriptomic analysis of plant hormone response to low temperature stress in rice. Mol Plant Breed, 2021, 19: 4188–4197 (in Chinese with English abstract).
- [7] 盖志佳, 张敬涛, 刘婧琦, 等. 耐低温大豆品种(系)的筛选与研究. 中国种业, 2018(6): 57–60.
Gai Z J, Zhang J T, Liu J Q, et al. Screening and study of soybean varieties (lines) with low temperature tolerance. China Seed Ind, 2018(6): 57–60 (in Chinese).

- [8] 许基磊, 汪兴中, 范吉标. 盐胁迫诱导野大豆生理和光合作用的变化. 植物科学学报, 2022, 40: 829–838.
Xu J L, Wang X Z, Fan J B. Changes in physiology and photosynthesis of *Glycine soja* Sieb. et Zucc. induced by salt stress. Plant Sci J, 2022, 40: 829–838 (in Chinese with English abstract).
- [9] 陈金梅, 褚一凡, 谭启洋, 等. 外源脱落酸对湿地植物美人蕉抗寒性的影响. 水生生物学报, 2021, 45: 1264–1272.
Chen J M, Chu Y F, Tan Q Y, et al. Study on increase of the cold resistance and overwintering effect of *Canna indica* linn in constructed wetland by abscisic acid. Acta Hydrobiol Sin, 2021, 45: 1264–1272 (in Chinese with English abstract).
- [10] 周丽霞, 曹红星, 肖勇. 外源水杨酸对低温胁迫椰子幼苗生理特性的影响. 南方农业学报, 2017, 48: 2039–2045.
Zhou L X, Cao H X, Xiao Y. Effects of exogenous salicylic acid on physiological characteristics of *Cocos nucifera* L. young seedlings under cold stress. J South Agric, 2017, 48: 2039–2045 (in Chinese with English abstract).
- [11] Ding F, Liu B, Zhang S X. Exogenous melatonin ameliorates cold-induced damage in tomato plants. Sci Hort, 2017, 219: 264–271.
- [12] 陈奕可, 代星苗, 田义, 等. 低温胁迫下外源油菜素内酯对核桃抗寒性的影响. 北方园艺, 2025(6): 72–81.
Chen Y K, Dai X M, Tian Y, et al. Effects of exogenous brassinolide on cold resistance of walnut under low-temperature stress. North Hort, 2025(6): 72–81 (in Chinese with English abstract).
- [13] Iqbal A, Bao H N, Wang J, et al. Role of jasmonates in plant response to temperature stress. Plant Sci, 2025, 355: 112477.
- [14] 张雪悦, 左师宇, 田礼欣, 等. 不同密度下越冬型黑麦产量形成的光合特性差异. 草业学报, 2019, 28(3): 131–141.
Zhang X Y, Zuo S Y, Tian L X, et al. Effect of planting density on photosynthetic performance and yield of winter rye. Acta Pratac Sin, 2019, 28(3): 131–141 (in Chinese with English abstract).
- [15] Liu C, Yu Y C, Liu H Z, et al. Effect of different copper oxide particles on cell division and related genes of soybean roots. Plant Physiol Biochem, 2021, 163: 205–214.
- [16] 肖强, 郑海雷, 陈瑶, 等. 盐度对互花米草生长及脯氨酸、可溶性糖和蛋白质含量的影响. 生态学杂志, 2005, 24: 373–376.
Xiao Q, Zheng H L, Chen Y, et al. Effects of salinity on the growth and proline, soluble sugar and protein contents of *Spartina alterniflora*. Chin J Ecol, 2005, 24: 373–376 (in Chinese with English abstract).
- [17] 王继庆, 任毅, 时晓磊, 等. 小麦籽粒超氧化物歧化酶(SOD)活性全基因组关联分析. 中国农业科学, 2021, 54: 2249–2260.
Wang J Q, Ren Y, Shi X L, et al. Genome-wide association analysis of superoxide dismutase (SOD) activity in wheat grain. Sci Agric Sin, 2021, 54: 2249–2260 (in Chinese with English abstract).
- [18] Jday A, Ben Rejeb K, Slama I, et al. Effects of exogenous nitric oxide on growth, proline accumulation and antioxidant capacity in *Cakile maritima* seedlings subjected to water deficit stress. Funct Plant Biol, 2016, 43: 939–948.
- [19] Wang P J, Xu Z J, Zhang Y, et al. Over-expression of spermidine synthase 2 (SISPS2) in tomato plants improves saline-alkali stress tolerance by increasing endogenous polyamines content to regulate antioxidant enzyme system and ionic homeostasis. Plant Physiol Biochem, 2022, 192: 172–185.
- [20] Wang Z J, Zhang X J, Yang S H, et al. Optimization of the ultrasound-assisted aqueous enzymatic extraction of *Pinus koraiensis* nuts oil by response surface methodology. Nat Prod Res, 2023, 37: 2602–2607.
- [21] 孔维平, 毕银丽, 李少朋, 等. 利用高光谱估测干旱胁迫下接菌根菌大豆叶绿素含量. 农业工程学报, 2014, 30(12): 123–131.
Kong W P, Bi Y L, Li S P, et al. Hyperspectral estimation of leaf chlorophyll content in mycorrhizal inoculated soybean under drought stress. Trans CSAE, 2014, 30(12): 123–131 (in Chinese with English abstract).
- [22] Nesterenko T V, Tikhomirov A A, Shikhov V N. Physiological (integral) approach to the use of chlorophyll fluorescence parameters of plant leaves. Russ J Plant Physiol, 2022, 69: 53.
- [23] Zheng S, Su M, Wang L, et al. Small signaling molecules in plant response to cold stress. J Plant Physiol, 2021, 266: 153534.
- [24] Guo M X, Zhang X T, Liu J J, et al. *OsProDH* negatively regulates thermotolerance in rice by modulating proline metabolism and reactive oxygen species scavenging. Rice, 2020, 13: 61.
- [25] Miya S P, Modi A T, Tesfay S Z, et al. Maize grain soluble sugar and protein contents in response to simulated hail damage. S Afr J Plant Soil, 2018, 35: 377–383.
- [26] 严锐, 韩延超, 吴伟杰, 等. 水杨酸处理对鲜莲采后品质及抗氧化酶活性的影响. 中国食品学报, 2022, 22(3): 235–245.
Yan R, Han Y C, Wu W J, et al. Effect of salicylic acid treatment on the postharvest quality and antioxidant enzyme activity of fresh Lotus. J Chin Inst Food Sci Technol, 2022, 22(3): 235–245 (in Chinese with English abstract).
- [27] 鲍俊杰, 郭广振, 凡超杰, 等. 基于主成分分析和隶属函数分析研究收获期与青贮对甜玉米秸秆饲用品质的影响. 动物营养学报, 2023, 35: 2677–2689.
Bao J J, Guo G Z, Fan C J, et al. Effects of harvest time and silage on forage quality of sweet corn straw based on principal component analysis and membership function analysis. Chin J Anim Nutr, 2023, 35: 2677–2689 (in Chinese with English abstract).
- [28] Wu Y Q, Cai X, Tang Y H. Outcomes of low-temperature stress on biological alterations within *Pothos* (*Epipremnum aureum*) leaves. Life, 2022, 12: 1432.
- [29] 杨昊, 谷文文, 方淑梅, 等. 羧乙酸钠与吡啶丁酸钾对大豆苗期低温胁迫的缓解作用. 作物杂志, 2026(2): 180–187.
Yang H, Gu W W, Fang S M, et al. Alleviation effect of sodium naphthylacetate and potassium indolebutyrate on low temperature stress of soybean seedling stage. Crops, 2026(2): 180–187 (in Chinese with English abstract).
- [30] Liu T, Han Y Q, Shi J L, et al. Abscisic acid involved in trehalose improved melon photosynthesis via regulating oxidative stress tolerance and cell morphology structure under cold stress. Environ Exp Bot, 2022, 202: 105042.
- [31] Dong Z F, Zhao J, Ji W W, et al. Classification of tomato seedling chilling injury based on chlorophyll fluorescence imaging and DBO-BiLSTM. Front Plant Sci, 2024, 15: 1409200.
- [32] 赵丝雨, 王思宇, 王文艳, 等. 低温和荫蔽双重胁迫对大豆光合特性的影响. 西南大学学报(自然科学版), 2024, 46(8): 22–30.
Zhao S Y, Wang S Y, Wang W Y, et al. The effects of dual stresses

- of low temperature and shade on the photosynthetic characteristics of soybean. *J Southwest Univ (Nat Sci Edn)*, 2024, 46(8): 22–30 (in Chinese with English abstract).
- [33] Guan Y L, Hwarari D, Korboe H M, et al. Low temperature stress-induced perception and molecular signaling pathways in plants. *Environ Exp Bot*, 2023, 207: 105190.
- [34] Li X N, Tan D X, Jiang D, et al. Melatonin enhances cold tolerance in drought-primed wild-type and abscisic acid-deficient mutant barley. *J Pineal Res*, 2016, 61: 328–339.
- [35] Ding F, Ren L M, Xie F, et al. Jasmonate and melatonin act synergistically to potentiate cold tolerance in tomato plants. *Front Plant Sci*, 2022, 12: 763284.
- [36] 张慧君, 梁亚灵. 火龙果抗寒性研究. *基因组学与应用生物学*, 2017, 36: 2088–2093.
- Zhang H J, Liang Y L. Study on cold resistance of pitaya. *Genom Appl Biol*, 2017, 36: 2088–2093 (in Chinese with English abstract).
- [37] 潘凌云, 马家冀, 李建民, 等. 植物盐胁迫应答转录因子的研究进展. *生物工程学报*, 2022, 38: 50–65.
- Pan L Y, Ma J J, Li J M, et al. Advances of salt stress-responsive transcription factors in plants. *Chin J Biotechnol*, 2022, 38: 50–65 (in Chinese with English abstract).
- [38] Wang S Q, Dai H P, Skuza L, et al. Difference in Cd^{2+} flux around the root tips of different soybean (*Glycine max* L.) cultivars and physiological response under mild cadmium stress. *Chemosphere*, 2022, 297: 134120.
- [39] 贾景瑞, 褚需宇, 裴福月, 等. 色氨酸对大豆幼苗低温胁迫抗性的影响. *分子植物育种*, 网络首发[2025-05-20], <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20250520.1503.004>.
- Jia J R, Zhu P Y, Pei F Y, et al. Effects of tryptophan on low antioxidant physiology of soybean seedlings under low temperature stress. *Mol Plant Breed*, Published online [2025-05-20], <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20250520.1503.004> (in Chinese with English abstract).
- [40] Li C, Wang J H, Yu C, et al. Growth-promoting effects of phytohormones on capillary-driven attached *Chlorella* sp. biofilm. *Bioresour Technol*, 2022, 364: 128117.
- [41] Ding Z H, Wu C L, Tie W W, et al. Strand-specific RNA-seq based identification and functional prediction of lncRNAs in response to melatonin and simulated drought stresses in cassava. *Plant Physiol Biochem*, 2019, 140: 96–104.