

菜用大豆和普通大豆叶片内源激素活性对钾素营养响应的差异研究

涂冰洁^{1,2}, 刘长锴^{1,2}, 田博文^{1,2}, 李彦生², 张秋英², 刘晓冰^{1,2}, 李蕊^{1,2}, 杨越^{1,2}

(1. 东北农业大学 资源与环境学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 中国科学院 东北地理与农业生态研究所/黑土区农业生态重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150081)

摘要:以菜用大豆品系 121、中科毛豆 1 号和普通大豆东生 7 号为材料,采用酶联免疫吸附法,在正常施用氮肥和磷肥的基础上,施用不同的钾肥(K0:不施钾肥;K1:K₂SO₄ 120 kg·hm⁻²;K2:K₂SO₄ 120 kg·hm⁻²并在花期和荚期喷施 1% K₂SO₄叶面肥),研究了菜用大豆与普通大豆籽粒形成期叶片中内源激素的活性变化,结果表明:开花后 28~56 d 菜用大豆和普通大豆叶片中内源激素 IAA、GA、ZR 和 ABA 的变化动态差异明显,其中 GA 和 ZR 的变化动态趋势相反。施用钾肥提高菜用大豆叶片中 IAA、GA 和 ZR 的含量(K2>K1>K0),降低 ABA 的含量(K0>K1>K2),普通大豆叶片中 IAA、GA 和 ZR 的含量对钾肥施用的响应与菜用大豆不同(K1>K2>K0),但是钾肥施用对菜用大豆和普通大豆叶片中 ABA 含量的影响一致(K0>K1>K2)。施钾提高了菜用大豆和普通大豆籽粒形成期叶片中 IAA/ABA、GA/ABA 和 ZR/ABA 的比值,可能是提高大豆产量和改善品质的部分生理机制。

关键词:钾肥;内源激素;叶片;菜用大豆
中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2016.06.0969

Study on Response Differences to Potassium Nutrition in Leaf Endogenous Hormone Dynamic Changes of Vegetable Soybean and Grain Soybean

TU Bing-jie^{1,2}, LIU Chang-kai^{1,2}, TIAN Bo-wen^{1,2}, LI Yan-sheng², ZHANG Qiu-ying², LIU Xiao-bing^{1,2}, LI Rui^{1,2}, YANG Yue^{1,2}

(1. College of Natural Resources and Environment, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. Key Laboratory of Mollisols Agroecology, Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin 150081, China)

Abstract: This research aimed to find out the responses of endogenous hormones to potassium application during seeds filling between vegetable soybean and grain soybean leaf. Three semi determinate soybean cultivars were used in the experiment, which were Line 121, Zhongkemaodou 1 and Dongsheng 7. Three potassium(K) fertilization treatments were imposed including No K application(K0), 120 kg K₂SO₄ ha⁻¹ at seeding(K1), and 120 kg K₂SO₄ ha⁻¹ at seedling + 1% K₂SO₄ foliar application at flowering(K2). The endogenous plant hormone analysis was carried out with Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The results showed that: There was an obvious difference in content of IAA, GA, ZR and ABA between vegetable soybean and grain soybean leaf from 4 to 8 weeks after flowering while the dynamic change of GA and ZR had the opposite trend. The potassium fertilizer increased the content of IAA, GA and ZR (K2>K1>K0), but reduced the ABA content(K0>K1>K2) in vegetable soybean leaf. However, the response of grain soybean was different from that of vegetable soybean (K1>K2>K0). Same differences(K0>K1>K2) were found for ABA content in vegetable soybean and grain soybean leaf. Potassium fertilizer increased the ratio of IAA/ABA, GA/ABA and ZR/ABA, which might be a partial mechanism involved in K nutrition to improve the yield and quality of soybean.

Keywords: Potassium fertilization; Endogenous hormones; Leaf; Vegetable soybean

大豆是重要的经济作物,根据其利用方式可以分为普通大豆和菜用大豆。普通大豆油脂含量高,是榨油、豆制品的主要原料。菜用大豆也叫毛豆(vegetable soybean),是指在豆荚鼓粒饱满但尚未达到完全成熟,荚色、籽粒色呈翠绿时采收,作为菜用或休闲用的大豆品种。早在西周初年至春秋时期就有食用毛豆的记载^[1]。菜用大豆粒大,籽粒中的蛋白,游离氨基酸、可溶性糖和不饱和脂肪酸的含量高,脂肪含量低,区别于普通大豆。菜用大豆含有丰富的蛋白质、粗纤维、矿物质、维生素 C 和 β-胡萝卜素,难消化的低聚糖含量较低^[2],是防癌、抗老化的保健佳品。叶片是供应作物生长的“源”端,其营养状况和衰老进程对籽粒(库)中有机物质的积累和储存有重要的影响。

钾作为植物生长必须的营养元素,与光合作用、酶的活性、蛋白质的合成以及木质部的运输和能量的转换密切相关^[3]。缺钾导致大豆叶片中蔗糖的输出受阻,加速叶片衰老^[4],增施适量的钾肥可以延缓甜玉米和烤烟叶片的衰老进程^[5-6]。钾素在菜用大豆产量和品质的形成过程中有重要的作

用,施用钾肥可以增加菜用大豆鲜荚的产量和鲜籽粒中蔗糖积累量^[7]。研究显示同样施用相同水平的磷酸二铵时,菜用大豆籽粒中脂肪含量低于普通大豆,蛋白质和可溶性糖的含量明显高于普通大豆^[8]。植物的内源激素是调节植物生长发育和植物感知环境变化的重要信号^[9],大豆内源激素的变化影响大豆的生理生化反应和植株的形态。研究显示内源 IAA、GA、ZR 可以促进植物生长,延缓营养器官的衰老^[10],ABA 是生长抑制剂,并对其它促进生长型激素产生拮抗作用^[11-12]。内源激素的平衡和比例直接影响植物的糖分积累和衰老进程,IAA/ABA、ZR/ABA 及 GA/ABA 的比值与植物的衰老进程呈负相关^[5]。可能是内源激素的差异导致菜用大豆和普通大豆籽粒中糖分积累差别较大,然而有关菜用大豆和普通大豆叶片内源激素活性的变化动态对钾素营养响应差异的研究较少,本研究旨在明确钾素对菜用大豆和普通大豆籽粒形成期叶片中内源激素活性的差异,为提高两种大豆的产量和品质提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试品种为普通大豆东生 7 号,菜用大豆品系 121 和中科毛豆 1 号(表 1)。试验仪器设备主要有酶标仪(ZS-2)、氮气吹扫仪(苏州吉米诺仪器有限公司 JN300-1)、37 度恒温箱(北京市永光明医疗仪器厂 DHP-360)。酶联免疫吸附试剂盒由中国农业大学化控中心自制。

表 1 供试大豆品种(系)特性

Table 1 Agronomic characteristics of different soybean varieties (lines)

品种(系) Variety(line)	生育期 Growth duration /d	结荚习性 Growth habit	百粒重 100-seed weight/g	蛋白质含量 Protein content/%
品系 121 Line 121	120 ~ 130	亚有限	33	42. 2
中科毛豆 1 号 Zhongkemaodou 1	125 ~ 135	亚有限	35	44. 2
东生 7 号 Dongsheng 7	110 ~ 120	亚有限	20	40. 6

2 结果与分析

2.1 钾肥施用对大豆籽粒形成过程中叶片内 GA 变化动态的影响

菜用大豆品系 121 和中科毛豆 1 号叶片中 GA 的变化动态呈现 M 型(图 1),峰值出现在开花后 35 和 49 d,施用钾肥增加了菜用大豆叶片中 GA 的含量(K2>K1>K0),在开花后 49 d,品系 121 K2 和 K1 处理分别比 K0 高 12% 和 7.1%,同期中科毛豆 1 号的 K2 和 K1 处理分别比 K0 处理高 29.2% 和 20.8%。施钾对中科毛豆 1 号叶片中 GA 含量的影响大于品系 121。

普通大豆叶片中 GA 的变化动态与菜用大豆差

1.2 试验设计

试验于 2015 年在中国科学院东北地理与农业生态研究所哈尔滨试验场内进行(45°73'N,126°61'E,海拔 128 m)。该地区气候属中温带大陆性季风气候,冬季寒冷干燥,夏季温热多雨。供试土壤为典型黑土。

试验设置 3 个施肥处理,分别是 K0(不施钾肥);K1(K₂SO₄ 120 kg·hm⁻²);K2(K₂SO₄ 120 kg·hm⁻²并在花期和荚期喷施 1% K₂SO₄ 叶面钾肥)。全部钾肥和 98 kg·hm⁻² (0.7 g N·盆⁻¹) 尿素和 70 kg·hm⁻² (1.12 g P₂O₅·盆⁻¹) 磷酸二铵作为基肥一次性施入。采用盆栽试验,3 个品种的每个处理 15 次重复,随机排列。分别于开花后 28~56 d 取样,每隔 7 d 取样 1 次,鲜叶片用液氮速冻 30 min 于 -80℃ 冰箱保存。

1.3 测定项目与方法

植物激素的测定采用酶联免疫吸附法。称取 0.5 g 鲜样于研钵中,分两次加入 80% 甲醇(分析纯)共 5 mL,冰浴下加少量 PVP 研磨成匀浆,转入 10 mL 离心管中,摇匀在 4℃ 下提取过夜。离心收集上清液用氮气吹干过 C-18 柱纯化。测定时加入样品稀释液溶解样品,于酶联免疫吸附试剂盒中测定赤霉素(GA)、玉米素(ZR)、生长素(IAA)和脱落酸(ABA)的含量。

1.4 数据分析

采用 Excel 2010 进行数据分析,采用 Sigma Plot 10.0 作图。

别较大。普通大豆东生 7 号籽粒形成过程中叶片内 GA 的含量先缓慢降低,在开花 49 d 后迅速升高。施钾 120 kg·hm⁻² 并喷施叶面肥反而降低了籽粒中 GA 的含量,但明显高于不施用钾肥处理(K1>K2>K0),开花后 49 d 东生 7 号 K1 处理叶片中 GA 的含量比 K0 处理高 20.6%,而 K2 处理只比 K0 处理高 5.5%。

2.2 钾肥施用对大豆籽粒形成过程中叶片内 ZR 变化动态的影响

菜用大豆品系 121 和中科毛豆 1 号叶片中 ZR 的变化动态与 GA 变化趋势相反,呈现 W 型(图 2),最低值出现在开花后 35 和 49 d,中科毛豆 1 号叶片中 ZR 的含量比品系 121 略高。钾肥施用增加了菜

用大豆叶片中 ZR 的含量($K2 > K1 > K0$),在开花后 35 d 品系 121 K2 和 K1 处理分别比 K0 高 16.6% 和 5.7%,同期中科毛豆 1 号的 K2 和 K1 处理分别比 K0 处理高 51.6% 和 24.6%。施钾对中科毛豆 1 号叶片中 ZR 含量的影响大于品系 121。

普通大豆东生 7 号叶片中 ZR 含量的变化动态

也与 GA 趋势相反,开花后 28 ~ 49 d 缓慢升高,49 d 后迅速降低。施钾增加了普通大豆叶片中 GA 的含量,但施钾 $120\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 并喷施叶面肥降低了 GA 的含量($K1 > K2 > K0$),开花后 35 d 东生 7 号 K1 处理叶片中 GA 的含量比 K0 处理高 36.5%,K2 处理比 K0 处理高 29.6%。

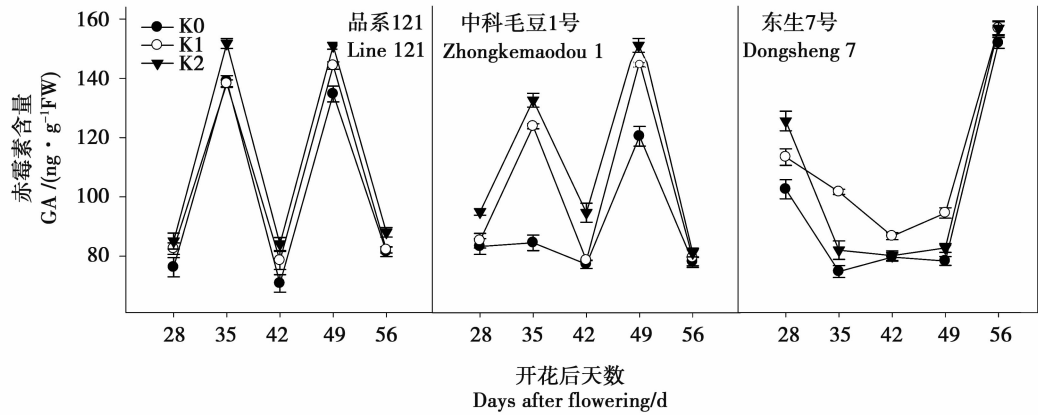


图 1 钾肥施用对不同品种大豆籽粒形成过程中叶片内 GA 变化动态的影响
Fig. 1 The dynamic change of GA in different soybean leaf with potassium fertilization application during seed filling

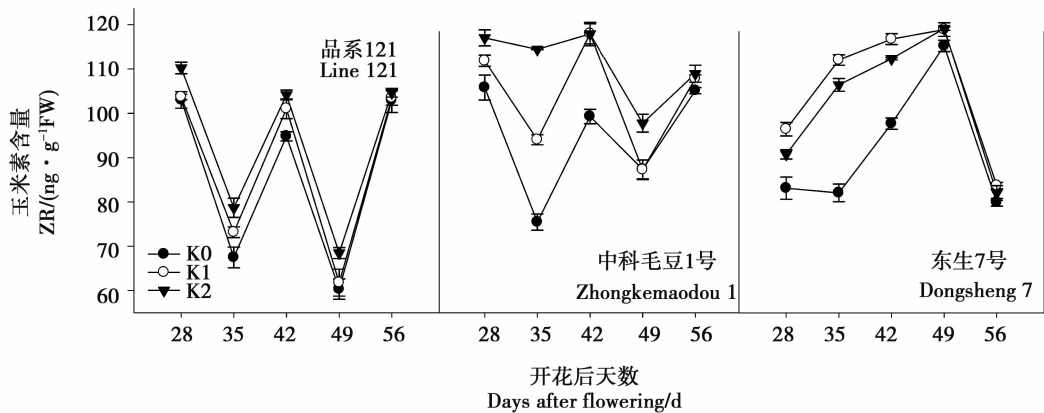


图 2 钾肥施用对不同品种大豆籽粒形成过程中叶片内 ZR 变化动态的影响
Fig. 2 The dynamic change of ZR in different soybean leaf with potassium fertilization application during seed filling

2.3 钾肥施用对大豆籽粒形成过程中叶片内 IAA 变化动态的影响

菜用大豆品系 121 和 中科毛豆 1 号开花后 28 ~ 56 d 叶片中 IAA 的含量先升高后降低 (图 3),峰值出现在开花后 49 d,施用钾肥增加了菜用大豆叶片中 IAA 的含量($K2 > K1 > K0$),在开花后 35 d 品系 121 K2 和 K1 处理分别比 K0 处理高 12.2% 和 4.6%,同期中科毛豆 1 号的 K2 和 K1 处理分别比 K0 处理高 14.7% 和 1.7%。普通大豆东生 7 号叶片中 IAA 的含量有两个峰值,分别出现在开花后 35 和 49 d,但开花后 28 ~ 49 d 叶片中 IAA 的含量整体缓慢升高,开花 49 d 后降低。施钾对普通大豆叶片中 IAA 含量的影响与 GA、ZR 一致 ($K1 > K2 > K0$)。

2.4 钾肥施用对大豆籽粒形成过程中叶片内 ABA 变化动态的影响

菜用大豆品系 121 和 中科毛豆 1 号籽粒形成过程中叶片内 ABA 的含量先缓慢降低后升高 (图 4),最低值出现在开花后 49 d。普通大豆东生 7 号籽粒形成期叶片中 ABA 的含量与菜用大豆不同,先降低后升高再降低。钾肥施用对菜用大豆和普通大豆叶片中 ABA 含量的影响一致。与其它 3 种激素相反,施钾降低了菜用大豆和普通大豆叶片中 ABA 的含量($K0 > K1 > K2$)。开花后 35 d 品系 121 K2 和 K1 处理分别比 K0 低 13.4% 和 4.9%,同期中科毛豆 1 号的 K2 和 K1 处理分别比 K0 低 9.1% 和 2.5%,东生 7 号的 K2 和 K1 处理分别比 K0 低 18% 和 12.3%。

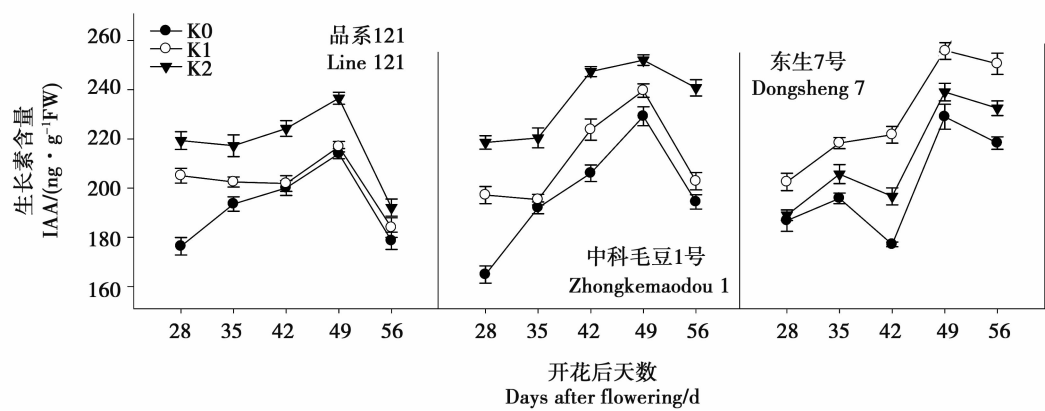


图3 钾肥施用对不同品种大豆籽粒形成过程中叶片内 IAA 变化动态的影响
Fig. 3 The dynamic change of IAA in different soybean leaf with potassium fertilization application during seed filling

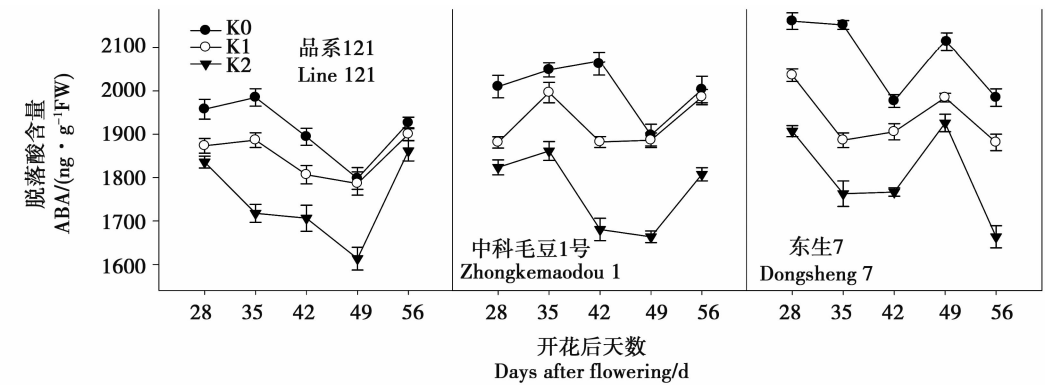


图4 钾肥施用对不同品种大豆籽粒形成过程中叶片内 ABA 变化动态的影响
Fig. 4 The dynamic change of ABA in different soybean seeds with potassium fertilization application during seed filling

2.5 钾肥施用对菜用大豆和普通大豆籽粒形成过程中叶片内不同激素比值变化动态的影响

由于激素之间的平衡可能比单一激素的作用更为重要,由此我们分析了不同激素之间的比值,发现施用钾肥(K1)增加了菜用大豆籽粒形成期叶片中 IAA/ABA, GA/ABA 和 ZR/ABA 的比值(图 5

~7),且施钾 120 kg · hm⁻²并喷施叶面肥(K2)显著增加了 IAA/ABA, GA/ABA 和 ZR/ABA 的比值(K2 > K1 > K0);施钾同样增加了普通大豆叶片中 IAA/ABA, GA/ABA 和 ZR/ABA 的比值,但 K1 和 K2 处理差异不显著。

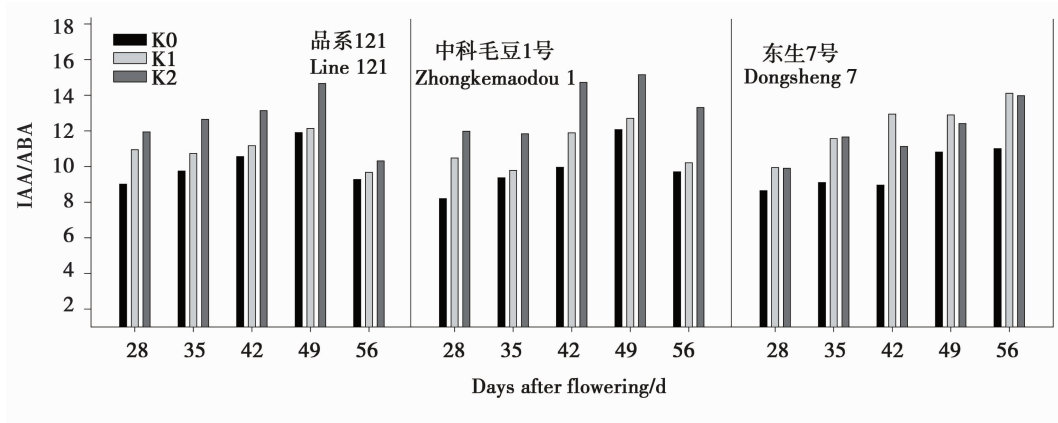


图5 钾肥施用对不同品种大豆籽粒形成过程中叶片内 IAA/ABA 变化动态的影响
Fig. 5 The dynamic change of IAA/ABA ratio in different soybean seeds with potassium fertilization application during seed filling

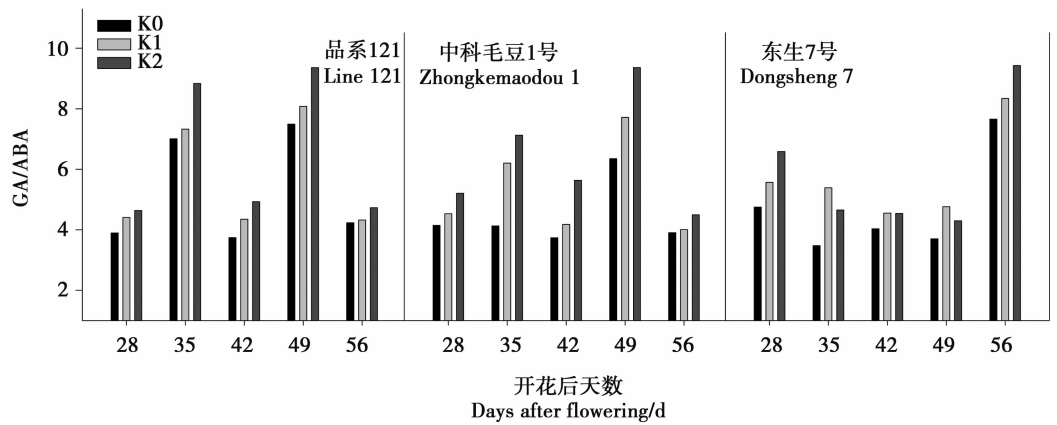


图6 钾肥施用对不同品种大豆籽粒形成过程中叶片内 GA/ABA 变化动态的影响

Fig. 6 The dynamic change of GA/ABA ratio in different soybean seeds with potassium fertilization application during seed filling

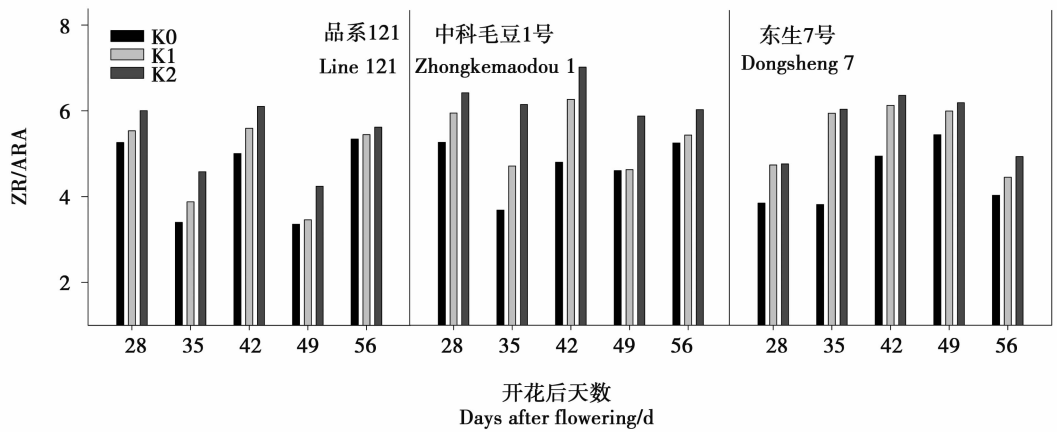


图7 钾肥施用对不同品种大豆籽粒形成过程中叶片内 ZR/ABA 变化动态的影响

Fig. 7 The dynamic change of ZR/ABA ratio in different soybean seeds with potassium fertilization application during seed filling

3 结论与讨论

植物内源激素作为信号物质参与调控同化物的积累、运输、分配以及植物生长发育的各个进程。叶片是植物生长的源端,叶片中内源激素的活性直接影响植物营养器官中同化物的代谢和源库的平衡^[13]。已有研究表明施用钾肥可以显著增加菜用大豆最佳采食期(开花后 49 d)的单株荚数和百粒重^[14],施用钾肥 120 kg·hm⁻²时,菜用大豆籽粒形成期叶片中叶绿素 a 和叶绿素 a/b 的值显著增加,喷施叶面钾肥显著提高了菜用大豆叶绿素总量^[15]。

以往的研究发现,植物叶片中 CTA 类促进植物生长的物质含量的下降和 ABA 含量的升高是启动叶片衰老的主要因素^[16]。ABA 抑制细胞中蛋白质的合成并降低了光合速率,加速蛋白质的分解,促进衰老;而促进生长类的内源激素则能刺激叶片中核酸和蛋白质的合成,延缓叶片衰老^[17]。本研究显示,菜用大豆和普通大豆籽粒形成期叶片中内源激

素变化动态的差异较大,两种大豆叶片中内源激素的含量对钾肥施用的响应不一致。施用钾肥增加了菜用大豆和普通大豆籽粒形成期叶片中 IAA、GA 和 ZR 的含量,降低了 ABA 的含量,并提高了叶片中 IAA/ABA、GA/ABA 和 ZR/ABA 的值,对延缓叶片衰老有重要的意义。钾尽管不参与植物细胞的组成,但它却在植物的生理生化过程中起到重要的作用。在开花后 28~42 d,缺钾植株籽粒中 ABA 的含量明显高于供钾植株,施用适量的钾肥可以使籽粒中 ABA 高峰推迟 4 或 7 d 出现,ABA 含量峰值降低 44%,因此可以明显延长灌浆期,增加粒重^[18]。Bhatia 等^[19]研究发现,在高粱籽粒中,IAA 促进了蔗糖运输而 ABA 则起抑制作用。缺钾时蓖麻根系中 ABA 的合成量增加,外源 ABA 增加了冬小麦籽粒中蔗糖的含量^[20-21]。

内源激素不是单独存在的,内源激素之间的平衡和比例在植物的生长过程中有重要作用。本研究中,菜用大豆和普通大豆叶片中 GA 和 ZR 的变化

动态出现相反的趋势。我们推测在籽粒形成期,菜用大豆和普通大豆叶片中 GA 和 ZR 有拮抗作用。

综上所述,菜用大豆籽粒形成期叶片中 GA、ZR 和 IAA 的变化动态和普通大豆有明显的差异,但是 ABA 的变化动态趋势一致。施钾增加了菜用大豆和普通大豆籽粒形成期叶片中 IAA、GA 和 ZR 的含量,降低了 ABA 的含量并影响了内源激素之间的平衡,但是普通大豆和菜用大豆差异明显,施钾 $120\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 并喷施叶面肥显著增加了菜用大豆叶片中 GA、ZR 和 IAA 的含量,但是却降低其在普通大豆叶片中的含量,这可能是由于菜用大豆与普通大豆相比籽粒中蔗糖和蛋白质的含量较高。菜用大豆和普通大豆叶片中内源激素的差异可能是影响两种大豆籽粒品质形成的重要因素。本研究中施钾对菜用大豆中科毛豆 1 号的影响大于品系 121,因此,钾肥施用对不同品种增产与内源激素的影响有待深入探讨。

参考文献

- [1] 盖钧镒,王明军,陈长之. 中国毛豆生产的历史渊源与发展[J]. 大豆科学, 2002, 21(2): 7-13. (Gai J Y, Wang M J, Cheng C Z. Historical origin and development of maodou production in China[J]. Soybean Science, 2002, 21(2): 7-13.)
- [2] Katou T, Fukushima T, Akazawa T. Differences in contents of amino acid, sugar and composition of fatty acids between edamame and normal soybean[J]. Journal of Japanese Society for Horticultural Science, 1982, 51(suppl 2): 537.
- [3] Maathuis F J. Physiological functions of mineral macronutrients[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2009, 12(3): 250-258.
- [4] Cakmak I, Hengeler C, Marschner H. Changes in phloem export of sucrose in leaves in response to phosphorus, potassium and magnesium deficiency in bean plants[J]. Journal of Experimental Botany, 1994, 45(9): 1251-1257.
- [5] 何萍,金继运. 氮钾营养对春玉米叶片衰老过程中激素变化与活性氧代谢的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 1999, 5(4): 289-296. (He P, Jin J Y. Effect of N and K nutrition on change of endogenous hormone and metabolism of active oxygen during leaf senescence in spring maize[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 1999, 5(4): 289-296.)
- [6] 赵平,林克惠,郑毅. 氮钾营养对烟叶衰老过程中内源激素与叶绿素含量的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2005, 11(3): 379-384. (Zhao P, Lin K H, Zheng Y. Effect of N and K nutrition on chlorophyll content and endogenous hormones in the process of tobacco senescence[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2005, 11(3): 379-384.)
- [7] 杜明. 钾肥施用对菜用大豆产量和品质的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2012. (Du M. Effects of potassium fertilizer application on yield and quality in vegetable soybean [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2012.)
- [8] 于惠琳,张惠君,王海英,等. 施肥处理对菜用大豆和普通大豆品质形成的影响[J]. 大豆科学, 2008, 27(3): 475-479. (Yu H L, Zhang H J, Wang H Y, et al. Effect of different fertilizer levels on quality of vegetable-type and grain-type soybeans [J]. Soybean Science, 2008, 27(3): 475-479.)
- [9] Davies P J. Plant hormones and their role in plant growth and development[M]. Germany: Springer Science & Business Media, 2012.
- [10] Yang J, Zhang J, Wang Z, et al. Hormonal changes in the grains of rice subjected to water stress during grain filling[J]. Plant Physiology, 2001, 127(1): 315-323.
- [11] Wilkinson S, Davies W J. ABA-based chemical signalling: The co-ordination of responses to stress in plants[J]. Plant, cell & Environment, 2002, 25(2): 195-210.
- [12] Vreugdenhil D. Absciscic acid inhibits phloem loading of sucrose[J]. Physiologia Plantarum, 1983, 57(4): 463-467.
- [13] Ross J J, Weston D E, Davidson S E, et al. Plant hormone interactions: How complex are they? [J]. Physiologia Plantarum, 2011, 141(4): 299-309.
- [14] 刘长锴,李彦生,涂冰洁,等. 钾肥施用对菜用大豆生殖生长期可溶性糖含量及产量的影响[J]. 大豆科学, 2016, 35(2): 270-274. (Liu C K, Li Y S, Tu B J, et al. Effect of potassium fertilizer application on soluble sugar content during reproductive stages and yield in vegetable soybean [J]. Soybean Science, 2016, 35(2): 270-274.)
- [15] 杜明,李彦生,张秋英,等. 钾肥对菜用大豆生殖生长期叶片叶绿素含量的影响[J]. 大豆科学, 2012, 31(6): 941-946. (Du M, Li Y S, Zhang Q Y, et al. Effects of potassium fertilizer on chlorophyll of vegetable soybean in reproductive stages [J]. Soybean Science, 2012, 31(6): 941-946.)
- [16] Guinn G, Brummett D L. Leaf age, decline in photosynthesis, and changes in abscisic acid, indole-3-acetic acid, and cytokinin in cotton leaves[J]. Field Crops Research, 1993, 32(3-4): 269-275.
- [17] Marschner H, Rimmington G. Mineral nutrition of higher plants [J]. Plant Cell Environment, 1988, 11: 147-148.
- [18] 张福锁. 环境胁迫与植物营养[M]. 北京:北京农业大学出版社,1993. (Zhang F S. Environmental stresses and plant nutrition [M]. Beijing: Beijing Agricultural University Press, 1993.)
- [19] Bhatia S, Singh R. Phytohormone-mediated transformation of sugars to starch in relation to the activities of amylases, sucrose-metabolising enzymes in sorghum grain[J]. Plant Growth Regulation, 2002, 36(2): 97-104.
- [20] Peuke A D, Jeschke W D, Hartung W. Flows of elements, ions and abscisic acid in Ricinus communis and site of nitrate reduction under potassium limitation[J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53(367): 241-250.
- [21] Liu L, Cang J, Yu J, et al. Effects of exogenous abscisic acid on carbohydrate metabolism and the expression levels of correlative key enzymes in winter wheat under low temperature[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2013, 77(3): 516-525.