



# 干旱胁迫下 EMS 诱变大豆生理生化特性研究

付小红<sup>1</sup>, 董丽君<sup>1</sup>, 罗佳玉<sup>1</sup>, 赵琳<sup>1</sup>, 孙永媛<sup>2</sup>, 苑会宣<sup>1</sup>, 刘建凤<sup>1</sup>

(1. 河北大学 生命科学学院, 河北 保定 071002; 2. 沧州市农林科学院/河北省农作物耐盐碱评价与遗传改良重点实验室, 河北 沧州 061001)

**摘要:**为了解析化学诱变剂—甲基磺酸乙酯 (ethylmethane sulfonate, EMS) 诱变后大豆耐旱性植株的生理生化特性变化, 探讨 EMS 诱变选育抗旱大豆材料的可行性, 本研究选取一级抗旱品种汾豆 93 为材料, 对其进行 EMS 诱变处理, 筛选长势较好的 EMS 诱变植株, 进行干旱胁迫, 调查植株生长状况, 分析生理生化指标, 并采用石蜡切片法观察组织解剖结构变化情况。结果显示: 在正常处理下, 对照植株和 EMS 植株的表型差异不明显; 而在 PEG 干旱处理下, 对照植株叶片显著萎蔫、枯黄, 而 EMS 植株则长势良好, 且其地上部和根部生物量均显著高于对照植株, 其中 EMS 植株叶片中超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化物酶 (POD) 活性分别为对照植株的 1.30 ~ 1.41 倍和 1.23 ~ 1.38 倍, 而过氧化氢 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 和丙二醛 (MDA) 含量则是对照植株的 0.56 ~ 0.65 倍和 0.55 ~ 0.69 倍。从植株组织石蜡切片中看出, EMS 植株叶片和根部的组织结构较完整, 且染色均匀, 其中叶片上表皮、下表皮和栅栏组织厚度分别约是对照植株的 1.71, 1.81 和 1.65 倍; 海绵组织厚度则约是对照植株的 0.32 倍; 根表皮和皮层厚度约为对照植株的 0.33 倍和 0.36 倍; 木质部和韧皮部厚度分别是对照植株的 1.25 倍和 1.65 倍。EMS 诱变可获得能够通过生理生化变化和组织结构变化抵御干旱胁迫的大豆植株, 可用于抗旱大豆材料选育。

**关键词:** 大豆; 干旱胁迫; EMS 诱变; 防御酶; 解剖结构

## Physiological and Biochemical Characteristics of EMS Mutagenic Soybean under Drought Stress

FU Xiao-hong<sup>1</sup>, DONG Li-jun<sup>1</sup>, LUO Jia-yu<sup>1</sup>, ZHAO Lin<sup>1</sup>, SUN Yong-yuan<sup>2</sup>, YUAN Hui-xuan<sup>1</sup>, LIU Jian-feng<sup>1</sup>

(1. College of Life Science, Hebei University, Baoding 071002, China; 2. Cangzhou Academy of Agriculture and Forestry Sciences/Hebei Key Laboratory of Crop Salt-alkali Stress Tolerance Evaluation and Genetic Improvement, Cangzhou 061001, China)

**Abstract:** In order to analyze the physiological and biochemical characteristics of drought-tolerant soybean plants after the chemical mutagen agent ethylmethane sulfonate (EMS) mutagenesis, and to explore the feasibility of EMS mutagenesis to breed drought-resistant soybean materials, this study used the first-class drought-resistant variety Fendou 93 as the material, treated it with EMS mutagenesis, screened the better-growing EMS mutagenic plants and carried out drought stress. Then we investigated the growth status of plants, analyzed physiological and biochemical indicators, and observed the changes in tissue anatomy with paraffin sectioning. Under normal treatment, phenotypic differences between control and EMS plants were not significant. Under PEG drought treatment, the leaves of the control plants significantly wilted and withered, while the EMS plants grew well. The biomass of shoot and root was significantly higher than that of the control plant. The activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) in the leaves were 1.30-1.41 times and 1.23-1.38 times of the control plant, respectively. The contents of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and malondialdehyde (MDA) were 0.56-0.65 times and 0.55-0.69 times of the control plant. From that anatomical structure of the plant tissue, the paraffin sections of the leave and roots of the EMS plant were complete in tissue structure and uniform in staining relatively. The thickness of that upper epidermis, the low epidermis and the palisade tissue of the leaves were about 1.71, 1.81 and 1.65 times of the control plant, respectively. The thickness of spongy tissue was about 0.32 times of the control plant. The thickness of root epidermis and cortex was about 0.33 and 0.36 times of the control plant. The thickness of xylem and phloem was 1.25 and 1.65 times of control, respectively. EMS mutagenesis can obtain soybean plants that can respond to drought stress through physiological biochemical changes and tissue structure changes, which can be used for further selection and breeding of drought-resistant soybean materials.

**Keywords:** soybean; drought stress; EMS mutagenesis; defense enzyme; anatomical structure

大豆是中国重要的经济作物和油料作物, 含有丰富的膳食纤维, 能够促进胃肠道蠕动, 有利于体内有害物质的排出, 起到预防慢性炎症和一些疾病发生的作用<sup>[1]</sup>。大豆生长易受到干旱、寒冷、炎热

和高盐等逆境的不利影响。我国大豆的 3 个主要产区 (东北地区、黄淮海地区和长江流域南方地区) 在大豆生育期过程中都会遭受不同程度的干旱影响<sup>[2-3]</sup>, 即使是在非干旱的农业种植区, 季节性的干

收稿日期: 2022-06-24

基金项目: 河北省引进留学人员资助项目 (C20220357); 2023 年河北大学研究生创新资助项目 (HBU2023SS014)。

第一作者: 付小红 (1998—), 女, 硕士研究生, 主要从事植物分子育种研究。E-mail: xhxh119\_01@163.com。

通讯作者: 刘建凤 (1979—), 女, 博士, 副教授, 主要从事植物分子育种研究。E-mail: jianfengliu@hbu.edu.cn;

董丽君 (1981—), 女, 硕士, 实验师, 主要从事分子生物学研究。E-mail: lijundong@hbu.edu.cn。

旱问题也经常制约农业生产<sup>[4]</sup>,极端的干旱环境可使大豆单产降低 80%<sup>[5]</sup>。然而传统的节水灌溉技术并不能从根本上解决干旱问题。因此,提高大豆的抗旱性并选育出抗旱新材料有重要意义。

目前关于作物抗旱的研究有很多,秦彬<sup>[6]</sup>研究发现在干旱胁迫下外源褪黑素可以清除体内较多活性氧,促进根系生长发育,利于作物群体质量建成。有研究表明在玉米(*Zea mays* L.)栽培中施用一定浓度褪黑素可显著提高其耐旱性<sup>[7]</sup>。喷施表油菜素内酯(EBR)明显提高大豆组织中脯氨酸含量,提高渗透势,维持细胞膨压,从而缓解干旱胁迫带来的危害<sup>[8]</sup>。同时张小琴等<sup>[9]</sup>研究表明,干旱胁迫下 CO<sub>2</sub>浓度升高可显著提高大豆叶片蒸腾速率、水分利用效率和净光合速率,但降低了叶绿素 b 含量,缓解干旱胁迫对大豆带来的影响。

甲基磺酸乙酯(EMS)诱变试剂试验操作简单易行而且购买价格低廉,具有突变专一性和多效性,突变率高,可使育种年限大大缩短<sup>[10]</sup>,近几年被广泛应用于农作物新性状、新材料创制和种质资源的改良<sup>[11]</sup>。薛芳等<sup>[12]</sup>从小麦 EMS 突变体库中筛选出 7 个农艺性状优良、品质较好的高抗性淀粉含量的小麦突变家系。冯悟一等<sup>[13]</sup>利用 EMS 诱变技术对大豆籽粒进行化学诱变,构建大豆 EMS 突变体库,获得了大量的稳定遗传表型,为改良大豆品质提供了一个新思路。郭玉虹等<sup>[14]</sup>EMS 处理大豆,发现其表型指标和生理生化指标均有所提高。由此可见,EMS 诱变可筛选获得一些具有较好农艺性状的新材料。

本研究选用一级抗旱大豆品种汾豆 93 为材料,利用 EMS 诱变大豆种子,选择长势优良的植株,在 PEG 干旱胁迫下对其生长表型、生理生化指标以及组织解剖结构等进行测定,分析干旱前后的变化,探讨 EMS 诱变后大豆抗旱植株的响应效应,旨在为大豆抗旱新材料的筛选和培育提供重要理论依据和种质资源。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 供试品种 供试大豆品种为由山西省农业科学院经济作物研究所提供的一级抗旱大豆品种汾豆 93,该品种具有抗旱、高产和抗病等特点。

1.1.2 主要试剂及仪器 SIGMA-M0880 甲基磺酸乙酯(Ethyl Methyl Sulfone,EMS,型号 AJ020,CAS 号 62-50-00,纯度 > 98%,润友化学公司);控温摇床(IS-RDS3,科德);恒温培养箱(280 B3,宁波江南仪器厂);聚乙二醇(15% PEG-6000,合肥巴斯夫公司)、Hoagland 营养液(北京溪青春农业科技有限公司)、总过氧化物酶(POD)测试盒(A084-3)、总超氧

化物歧化酶(T-SOD)测试盒(A001-3-2)、过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)试剂盒(A064-1-1)、丙二醛(MDA)试剂盒(A003-1)(南京建成生物工程研究所);奥林巴斯 BX53 生物显微镜等。

1.2 试验设计

首先分析不同浓度 EMS 溶液诱变处理时大豆种子发芽率,选择最适 EMS 溶液处理浓度。选择粒大、饱满且均匀一致无破损的汾豆 93 种子约 2 000 粒,用纯水浸种 4 h,分别用浓度为 0、0.4%、0.8%、1.0% 和 1.2% 的 EMS 溶液处理种子。每个处理 100 粒种子,设置 3 次重复,处理温度为 20 ± 2 ℃,处理时间为 8 h<sup>[14]</sup>。将处理好的种子密封好,用黑色塑料袋包裹(以防止 EMS 会见光分解和泄露),置于 180 r·min<sup>-1</sup>,28 ℃ 控温摇床上避光震荡 14 h。诱变处理完毕后,将诱变剂沥干,加入适量配置好的 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>,震荡 10 min,此过程 3 次重复<sup>[15]</sup>,达到完全解毒终止诱变的效果,之后用自来水再将种子连续冲洗 5 h 以上,放置室外自然晾干后放入 28 ℃ 培养箱中避光发芽,7 d 后统计发芽率。

盆栽试验于 2021 年在河北省保定市河北大学生命科学学院实验室进行,所用花盆高 12 cm,内径 15 cm,土壤选用灭菌后的蛭石和珍珠岩 1:1 混合。未用 EMS 溶液处理的种子为野生型对照(WT)。将对照种子和 1% EMS 溶液处理后的种子于 28 ℃ 培养箱中避光催芽,于 5 月份播种,播种前进行灌水,使土壤处于正常土壤湿度,每盆播种 6 粒种子,待幼苗长至 2 片真叶时各筛选 20 盆,每盆植株长势优良且较一致,每盆保留 2 株长势一致的植株。

设置不同株系(WT、1% EMS)和两个水分处理,分别为正常处理(CK)和干旱胁迫处理(PEG)。正常处理的大豆每盆每 2 d 浇 200 mL Hoagland 营养液(桶底有水分渗出);PEG 处理每盆每 2 d 浇灌 200 mL 含有 15% PEG-6000(W/V)的 Hoagland 营养液,每个处理 10 盆。处理 10 d 后,分析比较各处理长势、干重及叶片的防御酶活性及过氧化物含量,制作各处理根部和叶片的石蜡切片并分析组织解剖结构。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 种子发芽率 调查不同 EMS 浓度处理的发芽情况,计算第 7 天种子发芽率,种子发芽率(%) = (发芽种子粒数/供试种子粒数) × 100。

1.3.2 植株表型及生物量的测定 将处理 10 d 后的植株从基质中取出,每个重复取 3 株,洗净其根部基质,用滤纸吸干表面水分,将样品置于 105 ℃ 烘箱杀青 30 min,调至 80 ℃ 烘干至恒重,分别称取地上部和根部干重。

1.3.3 抗旱相关生理生化指标测定 处理 10 d 后取大豆鲜叶 0.5 g 放入冰浴的研钵内,加入适量

0.05 mol·L<sup>-1</sup>磷酸钠缓冲液,慢速研磨,获得组织匀浆。以4℃,4 000 r·min<sup>-1</sup>低温离心20 min,取上清液即酶提取液,测定抗氧化酶活性。使用南京建成生物工程研究所的试剂盒分别测定大豆叶片中过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)活性。

分别取处理10 d后正常处理和PEG干旱处理下EMS植株和对照植株0.1 g叶片组织,使用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定大豆叶片中的过氧化氢和丙二醛含量。

1.3.4 石蜡切片制作 将处理10 d后的大豆根部缓慢从基质中取出,保证主根完整,尽量减少须根的破坏,用清水冲洗根部基质并用吸水纸将水分吸干,从主根中间部位切下根段,将所有根段样品放入FAA固定溶液(70%乙醇、冰乙酸和甲醛,体积比为18:1:1)进行材料固定,经酒精、二甲苯脱水、透明、浸蜡,包埋后制片,参照邹杭等<sup>[16]</sup>的方法进行脱蜡染色和封片。用奥林巴斯BX53生物显微镜观察和拍摄根的解剖结构

切取处理10 d后的大豆叶主径脉两侧1 cm×1 cm小方块,制作叶片的石蜡切片样品,具体制作方法同上。

采用TopView软件测量根部和叶片的解剖参数,包括根表皮、皮质、内皮层、木质部和韧皮部的厚度,以及叶片上表皮、下表皮、栅栏组织和海绵组织的厚度。

1.4 数据分析

运用Origin 8.5软件整理数据并作图,进行方差分析和显著性检验。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 EMS 处理种子的发芽率分析

由图1可知,随EMS溶液浓度的升高,发芽率呈逐渐降低的趋势,分别为92%、86.7%、75.3%、47.7%和27.3%。其中,1.00%浓度EMS溶液处理下大豆种子发芽率接近50%,该浓度下其致死率适中,符合半数致死率<sup>[17]</sup>。故后续试验选取1.00%浓度EMS溶液处理大豆种子。

2.2 不同处理长势及干重分析

由图2A可知,正常处理条件下,对照植株与EMS植株长势差异不明显,而在PEG处理条件下,对照植株出现显著萎蔫现象,而EMS植株长势较好。由图2B可知,正常处理条件下,EMS植株地上部和根部干重较对照植株分别增加了11.9%和6.4%,但未达到差异显著水平;而在PEG处理条件下,EMS植株地上部和根部干重较对照分别提高了40%和70%,差异显著。由此可见,EMS诱变处理可以获得耐旱性较强的大豆植株。

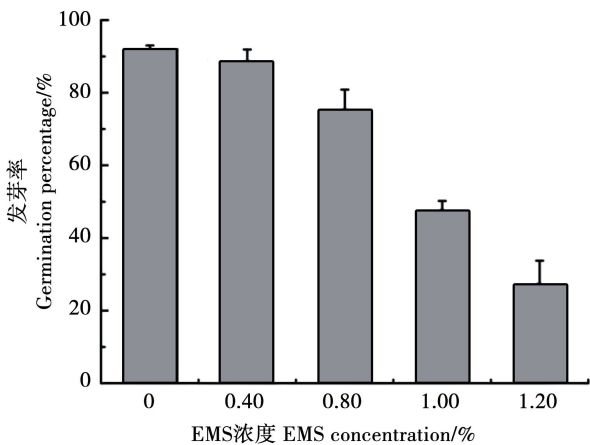
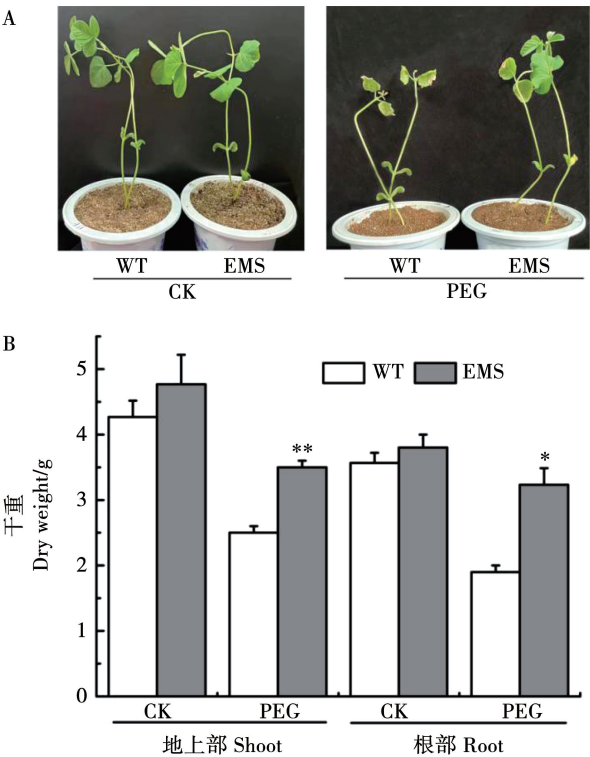


图1 不同浓度 EMS 溶液对大豆种子发芽的影响  
Fig.1 Effects of EMS solution with different concentrations on soybean seed germination



注: \* 和 \*\* 分别表示差异显著 ( $P < 0.05$ ) 和极显著 ( $P < 0.01$ )。下同。  
Note: \* and \*\* indicate significant difference ( $P < 0.05$ ) and very significant difference ( $P < 0.01$ ). The same below.

图2 不同处理对大豆地上部和根部干重的影响  
Fig.2 Effects of different treatments on dry weight of shoot and roots

2.3 不同处理植株防御相关生理指标分析

由图3可知,正常水分处理条件下,SOD、POD活性和MDA、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量在对照大豆植株和EMS植株叶片内含量差异不显著;而在PEG处理条件下,EMS植株叶片内SOD和POD活性较对照大豆植株分别提高了36.4%和41.2%,而MDA和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量分别降低了17.8%和23.1%,差异均达到显著水平。以上结果表明,EMS诱变获得的抗旱大豆可以通过提高防御酶或降低膜受损程度来抵御干旱胁迫。



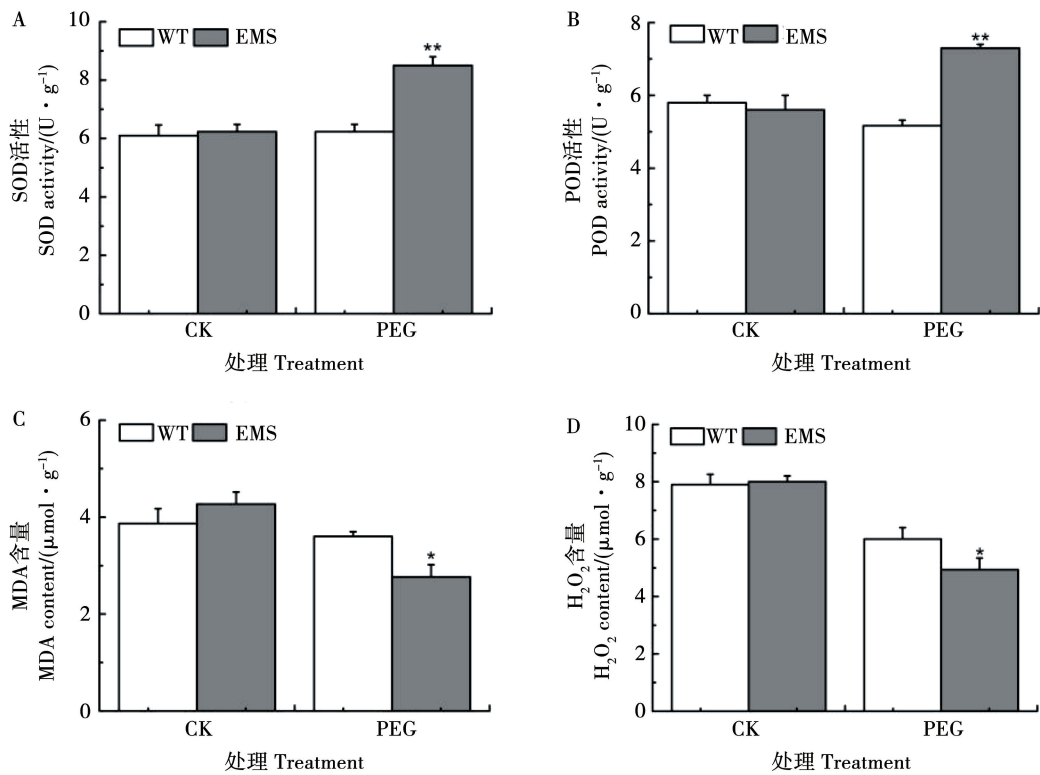


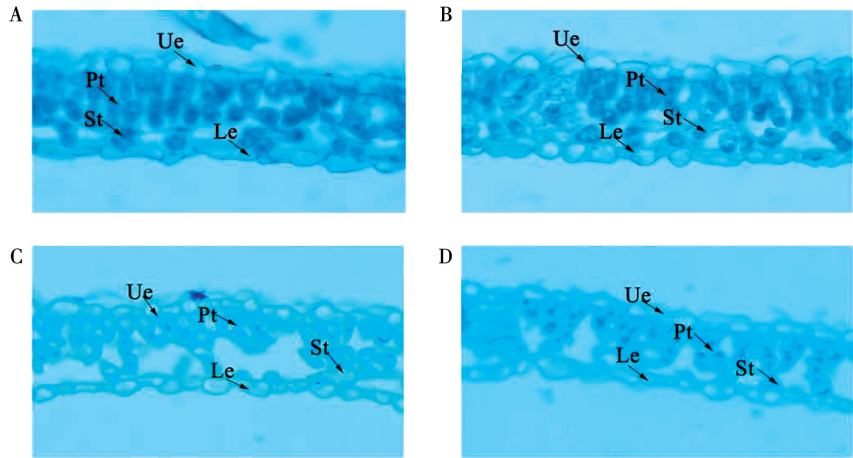
图3 干旱胁迫对 SOD (A)、POD (B) 活性及 MDA (C) 和  $\text{H}_2\text{O}_2$  (D) 含量的影响

Fig.3 Effects of drought stress on SOD (A) and POD (B) activities, and the content of MDA (C) and  $\text{H}_2\text{O}_2$  (D)

2.4 不同处理叶片解剖结构分析

如图 4 所示,与正常水分条件下相比,干旱胁迫下对照植株叶片栅栏组织和海绵组织形状多样、排

列松散,细胞之间存在间隙,而 EMS 植株的栅栏组织和海绵组织排列整齐紧密,栅栏组织有 2~3 层细胞,且呈长圆柱型,垂直于上表皮细胞。



注:A. WT 植株正常水分处理;B. EMS 植株正常水分处理;C. WT 植株干旱胁迫处理;D. EMS 植株干旱胁迫处理。Ue. 叶片上表皮;Pt. 叶片栅栏组织;St. 叶片海绵组织;Le. 叶片下表皮。

Note: A. WT plants under normal moisture treatment; B. EMS plants under normal moisture treatment; C. WT plants under drought treatment; D. EMS plants under drought treatment. Ue. Leaf upper epidermis; Pt. Leaf palisade tissue; St. Leaf sponge tissue; Le. Leaf lower epidermis.

图4 大豆叶片的纵切解剖结构图

Fig.4 Longitudinal anatomical structure of soybean leaves

如图 5 所示,正常水分处理条件下,EMS 植株叶片组织结构上表皮、下表皮、栅栏组织和海绵组织厚度与对照植株差异不显著;在 PEG 处理条件下,EMS 植株叶片组织结构上表皮、下表皮和栅栏组织厚度较对照植株分别显著增加了 71.42%、

80.57% 和 65.83%,海绵组织厚度较对照植株减少了 32.13%。由此可知,EMS 诱变获得的抗旱大豆植株可通过改变细胞组织结构来缓解干旱胁迫带来的危害。



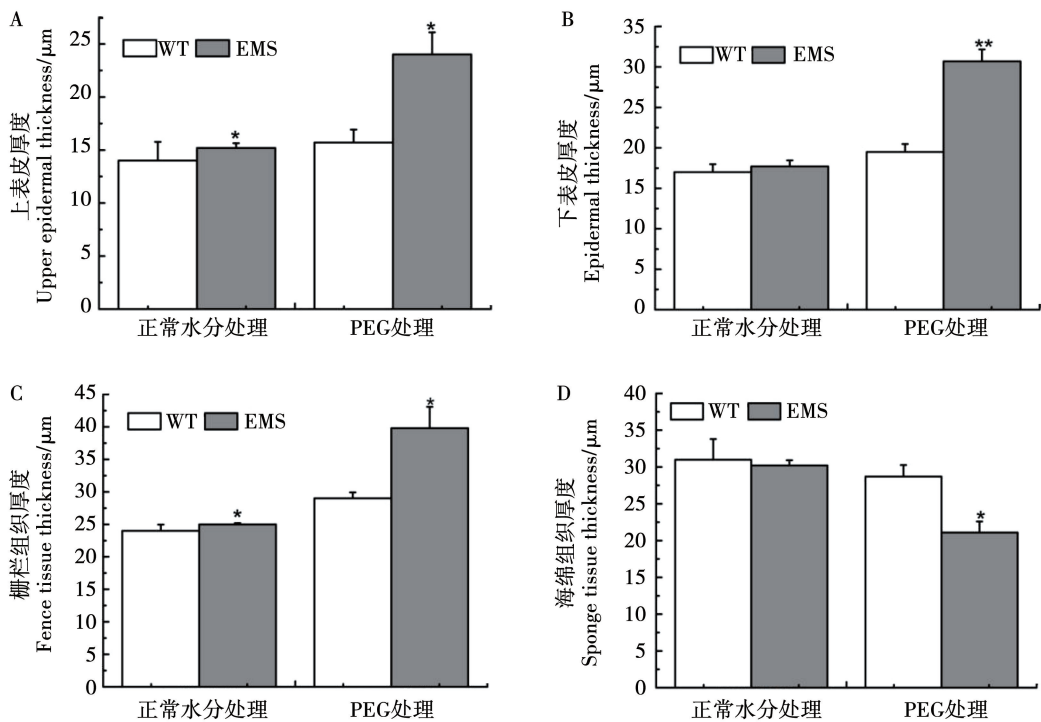


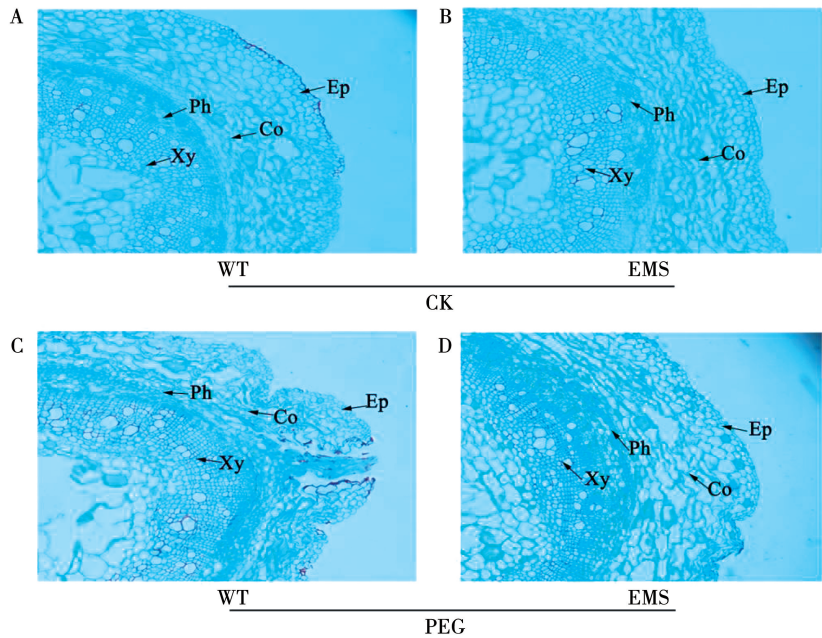
图 5 大豆叶片解剖结构分析

Fig. 5 Anatomical structure analysis of soybean leaves

2.5 不同处理根部解剖结构分析

如图 6 所示,干旱胁迫后,相比对照植株根部表皮发生内外凹陷甚至细胞发生脱水破裂,中央细胞也发生破坏(图 6A 和 C),而 EMS 植株根部解剖结构较完整,细胞排列较整齐,没有明显变化(图 6B 和 D)。此外,在正常水分处理下,与对照植株相比,EMS 植株根表皮和皮层厚度无明显变化;而木质部

和韧皮部分别显著减少了 33. 12% 和 36. 21% (图 7A 和 B);而在 PEG 处理条件下,EMS 植株较对照植株木质部和韧皮部厚度分别明显增加了 29. 23% 和 65. 67% (图 7C 和 D)。综上,在干旱胁迫下,EMS 诱变获得的抗旱植株可通过减小根部表皮和皮层厚度,增加木质部和韧皮部厚度来抵御干旱胁迫。



注:A. WT 植株正常水分处理;B. EMS 植株正常水分处理;C. WT 植株干旱胁迫处理;D. EMS 植株干旱胁迫处理。Ep. 表皮;Co. 皮层;Ph. 韧皮部;Xy. 木质部。  
A. WT plants under normal moisture treatment; B. EMS plants under normal moisture treatment; C. WT plants under drought treatment; D. EMS plants under drought treatment. Ep. Root epidermis; Co. Root cortex; Ph. Root phloem; Xy. Root Xylem.

图 6 大豆根部的横切解剖结构图

Fig. 6 Cross-sectional anatomical structure of soybean root

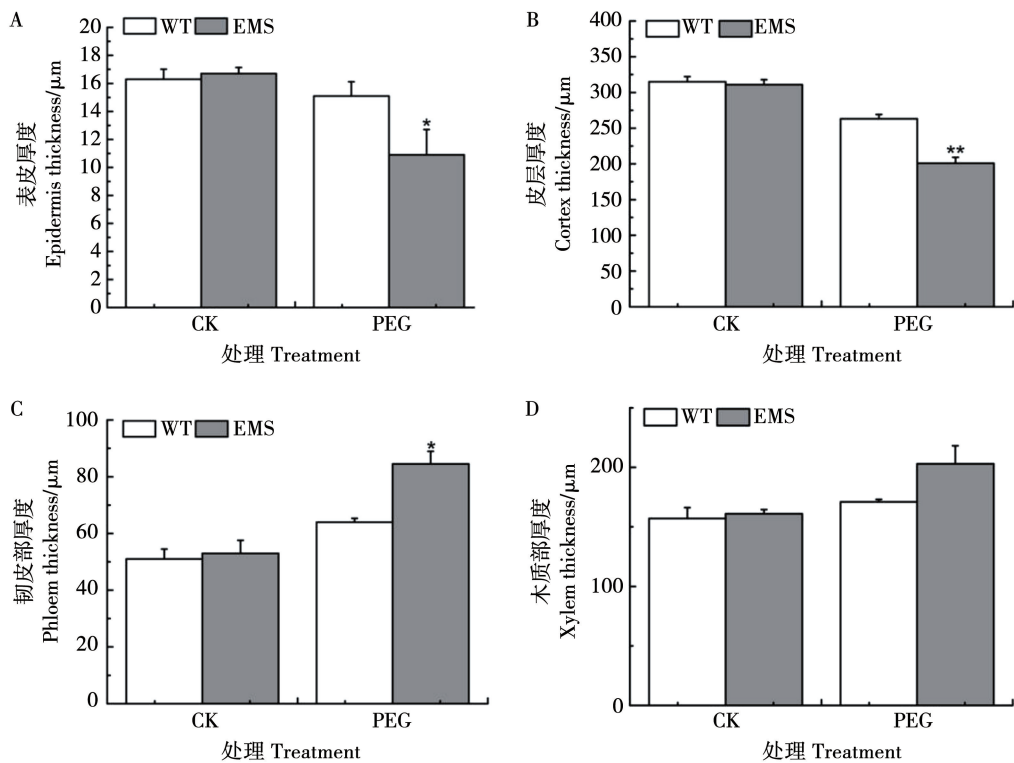


图7 大豆根部的解剖结构分析  
Fig.7 Anatomical structure analysis of soybean roots

3 讨论

目前 EMS 诱变已被广泛应用于大麦<sup>[18]</sup>、花生<sup>[19]</sup>、黄瓜<sup>[20]</sup>等多种作物的种质资源创制和新品种培育等方面。利用 EMS 诱变方法筛选出抗旱性强的大豆材料,有利于提高我国干旱地区土地利用率,提高大豆产量。本研究对 1% EMS 诱变处理获得的长势优良植株进行抗旱处理,分析植株生长状况、生理生化指标及叶片和根部解剖结构变化情况,表明 EMS 植株抗旱能力相关各项指标高于对照植株,说明 1% EMS 诱变可获得耐旱能力更强的植株。

植物受到逆境环境胁迫时,体内会产生大量活性氧,活性氧的积累会导致膜脂过氧化,破坏细胞结构进而影响植物正常生长发育<sup>[4]</sup>。在逆境胁迫下维持细胞内水分是植物保证正常生长的必要条件,相对含水量则是植物重要的耐旱指标<sup>[21]</sup>。研究表明幼苗在受到干旱胁迫后 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量也会增加<sup>[22]</sup>,活性氧的增加会导致 MDA 的积累<sup>[23]</sup>,MDA 含量随干旱时间的延长而增加<sup>[24]</sup>,细胞受到伤害,相对含水量降低,叶片出现显著卷曲发黄的现象。为了减少过氧化作用,减轻对细胞膜的损伤,植物体在长期进化过程中也相应形成了酶促和非酶促两大类保护系统,使植物体自身具有清除活性氧的能力,减轻或避免了活性氧对细胞造成伤害<sup>[25]</sup>。酶促系统会通过产生抗氧化作用的酶来清除植物体

内的有毒物质,其中 SOD、POD 等起主要作用。本研究发现,在干旱胁迫下 EMS 植株 MDA 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量较正常植株显著降低,而 POD 和 SOD 活性显著上升,与武银玉、张恒友等<sup>[25-26]</sup>结果一致。以上结果说明,EMS 诱变可以使大豆植株产生较多防御酶等物质,以清除过量活性氧和其他有毒物质,减轻氧化作用,从而提高植株抵御逆境胁迫的能力。

综上所述,EMS 处理可以诱变出一些防御酶活性提高、过氧化作用降低的抗旱大豆植株。但要确定这些突变是否为可遗传的稳定变异,还有待于进一步研究与探讨。该结果将为抗旱型大豆品种的筛选及育种提供理论基础和参考依据。

4 结论

在干旱胁迫下 EMS 处理获得的抗旱植株的抗氧化酶 SOD、POD 活性显著增加,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 MDA 含量降低,且植株叶片和根组织的解剖结构较完整,使大豆植株的抗氧化能力改善,耐旱防御能力显著提高,植株长势良好。EMS 诱变能够获得抵御干旱胁迫能力增强的大豆植株,可用于后续进一步选育抗旱大豆材料。

参考文献

[1] 李傲辰.大豆的主要营养成分及营养价值研究进展[J]. 现代农业科技, 2020 (23): 213-214, 218. (LI A C. Main nutritional components and values of soybean [J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2020(23): 213-214,218. )

[2] DU W J, YU D Y, FU S X. Detection of quantitative trait loci for yield and drought tolerance traits in soybean using a recombinant inbred line population[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2009, 51(9): 868-878.

[3] 王伟, 姜伟, 张金龙, 等. 大豆种质的耐旱性鉴定及耐旱指标筛选[J]. 大豆科学, 2015, 34(5): 808-818. (WANG W, JIANG W, ZHANG J L, et al. Selection of drought-tolerant soybean and evaluation of the drought tolerance indices[J]. Soybean Science, 2015, 34(5): 808-818.)

[4] 周红霞. 大豆种质芽苗期耐旱性评价及全基因组关联分析[D]. 太谷:山西农业大学, 2015. (ZHOU H X. Evaluation of soybean drought tolerance during seedling stage and association analysis[D]. Taigu: Shanxi Agricultural University, 2015.)

[5] OYA T, NEPOMUCENO A L, NORMAN N, et al. Drought tolerance characteristics of Brazilian soybean cultivars[J]. Plant Production Science, 2004, 7(2): 129-137.

[6] 秦彬. 外源褪黑素对大豆苗期干旱的缓解效应[D/OL]. 黑龙江: 黑龙江八一农垦大学, 2021. DOI: 10.27122/d.cnki.ghlnu.2021.000081. (QIN B. Regulation of exogenous melatonin on drought resistance of soybean seedlings under drought stress[D/OL]. Heilongjiang: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2021. 10.27122/d.cnki.ghlnu.2021.000081.)

[7] 赵成凤, 王晨光, 李红杰, 等. 干旱及复水条件下外源褪黑素对玉米叶片光合作用的影响[J]. 生态学报, 2021, 41(4): 1431-1439. (ZHAO C F, WANG C G, LI H J, et al. Effects of exogenous melatonin on photosynthesis of maize leaves under drought stress and rewetaring[J]. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(4): 1431-1439.)

[8] 张野, 张瀚竹, 杜叶堇, 等. 过表达 *GmXTH1* 基因大豆对干旱胁迫的生理生化响应[J]. 大豆科学, 2021, 40(3): 327-333. (ZHANG Y, ZHANG H Z, DU Y M, et al. Physiological and biochemical responses of *GmXTH1* overexpression soybean to drought stress at seedling stage[J]. Soybean Science, 2021, 40(3): 327-333.)

[9] 张小琴, 张媛铃, 李炳言, 等. CO<sub>2</sub> 浓度升高对大豆干旱胁迫的缓解效应[J]. 应用生态学报, 2021, 32(1): 182-190. (ZHANG X Q, ZHANG Y L, LI B Y, et al. Elevated CO<sub>2</sub> concentration mitigate the effects of drought stress on soybean[J]. Journal of Applied Ecology, 2021, 32(1): 182-190.)

[10] 张瑞成, 李魏, 潘素君, 等. 化学诱变在种质资源改良上的应用[J]. 分子植物育种, 2017, 15(12): 5189-5196. (ZHANG R C, LI W, PAN S J, et al. Application of chemical mutagenesis in improving germplasm resource[J]. Molecular Plant Breeding, 2017, 15(12): 5189-5196.)

[11] 温日宇, 刘建霞, 肖东东, 等. EMS 诱变对藜麦种子萌发及幼苗生理特性的影响[J/OL]. 分子植物育种, 2022[2022-11-01]. (WEN R Y, LIU J X, XIAO D D, et al. Effects of EMS mutagenesis on seed germination and physiological characteristics of *Quinoa* seedlings[J/OL]. Molecular Plant Breeding, 2022[2022-11-01]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20211015.1433.016.html>.)

[12] 薛芳, 褚洪雷, 胡志伟, 等. EMS 对新春 11 小麦抗性淀粉和农艺性状的诱变效果[J]. 麦类作物学报, 2010, 30(3): 431-434. (XUE F, ZHU H L, HU Z W, et al. Mutation effect on resistant starch content and agronomic traits of Xinchun 11 treated by EMS[J]. Journal of Triticeae Crops, 2010, 30(3): 431-434.)

[13] 冯悟一, 王楠, 李朔, 等. 大豆 EMS 突变体种子品质鉴定[J]. 齐鲁工业大学学报(自然科学版), 2016, 30(2): 22-26. (FENG W Y, WANG N, LI S, et al. Examination of seeds quality EMS mutants in soybean[J]. Journal of Qilu University of Technology(natural science edition), 2016, 30(2): 22-26.)

[14] 郭玉虹, 王培英, 张军政. EMS 对大豆的诱变效应[J]. 核农学通报, 1994(4): 162-164. (GUO Y H, WANG P Y, ZHANG J Z. Mutagenic effect of EMS on soybean[J]. Journal of Nuclear Agriculture Science, 1994(4): 162-164.)

[15] 沙国飞, 鲁敏, 安华明. EMS 诱变对刺梨种子出苗及早期生长性状的影响[J]. 北方园艺, 2022(2): 33-39. (SHA G F, LU M, AN H M. Effects of mutagenesis on *Rosa roxburghii* Tratt. seed emergence and its early growth traits[J]. Northern Horticulture, 2022(2): 33-39.)

[16] 邹杭. 硫化氢信号分子在大豆-根瘤菌共生固氮体系中的调控作用及其机制研究[D]. 西安: 西北农林科技大学, 2019. (ZOU H. Regulation and mechanism of hydrogen sulfide signaling molecule in soybean-rhizobia symbiotic nitrogen fixation system[D]. Xian: Northwest A & F University, 2019.)

[17] 谢圣男, 王宏光, 杨振, 等. 大豆绥农 14 突变体库构建及株高性状分析[J]. 核农学报, 2013, 27(3): 307-313. (XIE S N, WANG H G, YANG Z, et al. Construction of Suinong 14 mutant library and analysis of soybean height mutant[J]. Journal of Nuclear Agricultural Journal, 2013, 27(3): 307-313.)

[18] HUA W, TAN C, XIE Z D, et al. Alternative splicing of a barley gene results in an excess-tillering and semi-dwarf mutant[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2020, 133: 163-177.

[19] HAN S Y, ZHOU X M, SHI L, et al. The AhNPR3 regulates the gene expression of WRKY and PR genes, and mediate the immune response of peanut (*Arachis hypogaea* L.) [J/OL]. Plant Journal, 2022 [2022-10-25]. <http://doi.org/10.1111/tbj.15700>.

[20] CHEN C, CUI Q Z, HUANG S W, et al. An EMS mutant library for cucumber[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2018, 17(7): 1612-1619.

[21] SALEHI-LISAR S Y, BAKHSHAYESHAN-AGDAM H. Drought stress in plants: Causes, consequences, and tolerance[J]. Drought Stress Tolerance Plants, 2016, 1: 1-16.

[22] 陶雨佳, 李蕾, 任宗梁, 等. 弱干旱下 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 稳态调控大豆抗旱性的信号作用研究[J]. 中国油料作物学报, 2022, 44(3): 602-609. (TAO Y J, LI L, REN Z L, et al. Regulation of signaling of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> homeostasis under mild drought on drought resistance of soybean[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2022, 44(3): 602-609.)

[23] 杨秀丽, 宁东贤, 周红琴, 等. 干旱胁迫下 EMS 诱变花生后代突变体萌发期抗旱性评价[J]. 山西农业科学, 2021, 49(7): 817-821. (YANG X L, NING D X, ZHOU H Q, et al. Evaluation of drought resistance in the germination period of mutants induced by chemical mutagenesis under drought stress[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2021, 49(7): 817-821.)

[24] 时忠杰, 胡哲森, 李荣生. 水分胁迫与活性氧代谢[J]. 贵州大学学报(农业与生物科学版), 2002(2): 140-145. (SHI Z J, HU Z S, LI R S. Water stress and active oxygen metabolism[J]. Journal of Guizhou University (Agricultural and Biological Science), 2002(2): 140-145.)

[25] 武银玉, 曹亚萍, 范绍强. 小麦 EMS 诱变材料的抗旱性评价[J]. 山西农业科学, 2020, 48(8): 1185-1188, 1197. (WU Y Y, CAO Y P, FAN S Q. Drought resistance evaluation of EMS mutagenic materials in wheat[J]. Shanxi Agricultural University, 2020, 48(8): 1185-1188, 1197.)

[26] 张恒友. EMS 诱变大豆突变体的鉴定与大豆开花调控基因 *GmSVPI* 和 *GmOFPI* 的克隆及功能分析[D]. 南京: 南京农业大学, 2011. (ZHANG H Y. Identification of mutants induced by EMS, cloning and functional analysis of flowering regulating genes *GmSVPI* and *GmOFPI* in soybean[D]. Njing: Nanjing Agricultural University, 2011.)