

甲基磺酸乙酯(EMS)对黄蜀葵植株表型性状和花黄酮类成分含量的影响及优株筛选

廖恩慧^{1,2}, 郑玉红², 葛海涛³, 汪 琼², 王殿广³, 徐增莱^{1,2,①}

[1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210046; 2. 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园)
江苏省植物资源研究与利用重点实验室, 江苏 南京 210014; 3. 苏中药业集团股份有限公司, 江苏 泰州 225500]

摘要: 以甲基磺酸乙酯(EMS)为化学诱变剂,对体积分数 1.0%(T1)、1.2%(T2)、1.4%(T3)、1.6%(T4)EMS 诱变处理后黄蜀葵[*Abelmoschus manihot* (Linn.) Medik.]植株表型性状和花黄酮类成分含量差异进行比较,对单株花产量和花黄酮类成分含量与植株表型性状进行相关性分析,并基于单株花总黄酮产量进行优株筛选。结果表明:与对照组(体积分数 0.0%EMS)相比,EMS 处理组黄蜀葵株型变为接近丛生或丛生,叶裂片细长,花冠较小。4 个 EMS 处理组黄蜀葵的株高较对照组显著($P<0.05$)降低,茎粗与对照组差异不显著;随着 EMS 体积分数增加,叶片长、叶片宽、叶裂片长、叶裂片宽总体上先降低后升高,其中,体积分数 1.4%和 1.6%EMS 处理组的叶片长、叶片宽、叶裂片长、叶裂片宽均高于或显著高于对照组;4 个 EMS 处理组的花直径和花瓣宽低于或显著低于对照组,花瓣长和始花节数与对照组差异不显著,但体积分数 1.4%和 1.6%EMS 处理组的单株开花数和单株花产量显著高于对照组。与对照组相比,4 个 EMS 处理组花中 6 个黄酮类成分及总黄酮含量多无显著变化,仅体积分数 1.0%和 1.4%EMS 处理组的棉皮素-8-*O*- β -D-葡萄糖醛酸苷含量以及体积分数 1.0%EMS 处理组的槲皮素-3'-*O*-葡萄糖苷含量显著升高。相关性分析结果显示:单株花产量与茎粗、叶片长、叶裂片长、始花节数和蒴果长显著正相关,与单株开花数极显著($P<0.01$)正相关,而花中 6 个黄酮类成分和总黄酮含量与植株表型性状多无显著相关性。优株筛选结果显示:编号 T3-3、T4-5、T3-1 和 T1-3 植株的单株花总黄酮产量均在 65 g 以上,排名前 4。总体来看,体积分数 1.4%EMS 的诱变效果最佳;并且,编号 T3-3、T4-5、T3-1 和 T1-3 单株可作为黄蜀葵高花总黄酮产量的优株。

关键词: 黄蜀葵; 甲基磺酸乙酯(EMS); 表型性状; 黄酮类成分; 优株筛选

中图分类号: Q946.8; S503.52; S567.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2024)06-0094-08
DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2024.06.10

Effects of ethylmethane sulfonate (EMS) on plant phenotypic traits and flower flavonoids contents of *Abelmoschus manihot* and screening of superior strains LIAO Enhui^{1,2}, ZHENG Yuhong², GE Haitao³, WANG Qiong², WANG Dianguang³, XU Zenglai^{1,2,①} [1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China; 2. Key Laboratory for the Research and Utilization of Plant Resources, Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences (Nanjing Botanical Garden Mem, Sun Yat-Sen), Nanjing 210014, China; 3. Suzhong Pharmaceutical Group Co., Ltd., Taizhou 225500, China], *J. Plant Resour. & Environ.*, 2024, 33(6): 94–101

Abstract: Taking ethylmethane sulfonate (EMS) as a chemical mutagen, the differences in plant phenotypic traits and flower flavonoids contents in *Abelmoschus manihot* (Linn.) Medik. were compared after EMS mutagenesis treatment with volume fractions of 1.0% (T1), 1.2% (T2), 1.4% (T3), and 1.6% (T4), the correlations of flower yield per plant and flower flavonoids contents with plant phenotypic

收稿日期: 2024-06-13

基金项目: 苏中药业技术合作项目(20223201)

作者简介: 廖恩慧(1999—),女,江苏泗洪人,硕士研究生,主要从事药用植物种质资源及育种方面的研究。

①通信作者 E-mail: 1355655293@qq.com

引用格式: 廖恩慧, 郑玉红, 葛海涛, 等. 甲基磺酸乙酯(EMS)对黄蜀葵植株表型性状和花黄酮类成分含量的影响及优株筛选[J]. 植物资源与环境学报, 2024, 33(6): 94–101.

traits were analyzed, and the superior strains were screened based on flower total flavonoids yield per plant. The results show that compared with the control group (EMS with volume fraction of 0.0%), the plant type of *A. manihot* in the EMS treatment groups changes to close to bushy or bushy, with elongated leaf lobes and smaller corollas. The plant height of *A. manihot* in the four EMS treatment groups is significantly ($P<0.05$) lower than that in the control group, but there is no significant difference in stem diameter from the control group; with the increase of volume fraction of EMS, the leaf length, leaf width, leaf lobe length, and leaf lobe width first decrease and then increase in general, among which, the four traits of 1.4% and 1.6% (volume fraction) EMS treatment groups are all higher or significantly higher than those of the control group; the flower diameter and petal width of the four EMS treatment groups are lower or significantly lower than those of the control group, the petal length and number of initial flower nodes show no significant difference from the control group, but the number of flowers per plant and flower yield per plant of 1.4% and 1.6% (volume fraction) EMS treatment groups are significantly higher than those of the control group. Compared with the control group, there are no significant variations in contents of the six flavonoids and total flavonoids in flowers of the four EMS treatment groups, and only the content of gossypitin-8- O - β - D -glucuronide in 1.0% and 1.4% (volume fraction) EMS treatment groups and the content of quercetin-3'- O -glucoside in 1.0% (volume fraction) EMS treatment group increase significantly. The correlation analysis result shows that flower yield per plant shows significant positive correlations with stem diameter, leaf length, leaf lobe length, number of initial flower nodes, and capsule length, and an extremely significant ($P<0.01$) positive correlation with number of flowers per plant, however, the contents of the six flavonoids and total flavonoids in flowers have no significant correlations with plant phenotypic traits in general. The superior strain screening result shows that the flower total flavonoids yields per plant of T3-3, T4-5, T3-1, and T1-3 individuals are above 65 g, ranking the top four. Overall, the mutagenic effect of 1.4% EMS (volume fraction) is the best, and T3-3, T4-5, T3-1, and T1-3 individuals can be considered as superior strains of *A. manihot* with high flower total flavonoids yield.

Key words: *Abelmoschus manihot* (Linn.) Medik.; ethylmethane sulfonate (EMS); phenotypic trait; flavonoids; superior strain screening

黄蜀葵 [*Abelmoschus manihot* (Linn.) Medik.] 为锦葵科 (Malvaceae) 秋葵属 (*Abelmoschus* Medik.) 一年生或多年生草本植物, 广泛分布于东欧和亚洲^[1]。黄蜀葵药用历史悠久, 含有黄酮类、有机酸类、多糖类等化学成分^[2], 具有活血、利尿通淋、止血、消肿解毒等功效^[3], 总黄酮为其主要药效成分, 临床上用于保肝、护肾、改善脑卒中后抑郁等^[4]。近年来, 随着黄蜀葵系列药物的研发^[5-6], 黄蜀葵花的市场需求量大增^[7]。然而, 由于黄蜀葵前期栽培管理不规范及品种选育研究滞后等原因, 近年来黄蜀葵的种质资源退化严重, 出现低产、病害、连作障碍等问题^[8-9], 导致黄蜀葵花供不应求。选育及培育优良黄蜀葵品种是解决其供不应求问题的根本途径。

化学诱变是常用的培育植物新品种方法之一, 具有突变范围广、易操作、成本低等特点^[10-11]。甲基磺酸乙酯 (ethylmethane sulfonate, EMS) 是目前最常用的一种化学诱变剂^[12], 可在短时间内获得大量的突变体, 并且在农作物和药用植物培育上应用广泛^[13-16]。目前化学诱变产生的突变品种中 20% 以上

是通过 EMS 诱变获得的^[17]。迄今为止, 有关黄蜀葵育种的研究较少^[18], 且采用 EMS 诱变技术培育黄蜀葵新品种的研究尚未见报道。

鉴于此, 本研究以黄蜀葵种子为材料, 采用 EMS 诱变技术, 比较了体积分数 1.0%、1.2%、1.4% 和 1.6% EMS 诱变处理后黄蜀葵植株表型性状和花黄酮类成分含量的差异, 对单株花黄酮类成分产量与植株表型性状进行了相关性分析, 并以单株花总黄酮产量为指标, 筛选优良单株, 为黄蜀葵优良品种选育提供基础研究数据。

1 材料和方法

1.1 材料

于 2022 年秋季在江苏省中国科学院植物研究所药用植物园采收黄蜀葵种子, 置于 4 ℃ 冰箱中保存、备用。

使用的主要试剂有 EMS (纯度 99.0%, 上海源叶生物科技有限公司)、金丝桃苷 (纯度 94.7%, 中国食

品药品检定研究院)、乙腈(色谱纯,美国 TEDIA 公司)、磷酸(色谱纯,美国 TEDIA 公司)和乙醇(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

于 2023 年 4—11 月在江苏省中国科学院植物研究所黄蜀葵实验苗圃地(东经 118° 50' 12"、北纬 32° 03' 11",海拔 47 m)内进行实验。苗圃地气候条件见文献[19]。

1.2 方法

1.2.1 EMS 诱变方法及田间播种和管理 于 2023 年 4 月,参照其他植物的 EMS 诱变条件^[13,20-21]设置 4 个 EMS 处理水平,即 EMS 体积分数分别为 1.0%、1.2%、1.4%、1.6%,依次编号 T1、T2、T3、T4。用 0.1 mol · L⁻¹磷酸盐缓冲液(pH 7.0)配制 EMS 溶液,并以磷酸盐缓冲液为对照(CK),即 EMS 体积分数为 0.0%。具体方法如下:采用漂浮法^[22]初步筛选黄蜀葵种子,并收集下沉的种子;用滤纸吸干种子表面水分,挑选颗粒饱满的种子,置于装有 100 mL EMS 溶液的三角瓶中,于转速 120 r · min⁻¹摇床上振荡 4 h;流水冲洗种子 30 min,除去残留的 EMS 溶液;将废弃的 EMS 溶液用硫代硫酸钠溶液中和后统一回收。每瓶 200 粒种子,每处理 3 瓶,视为 3 个重复。

将 EMS 诱导过的种子播种于江苏省中国科学院植物研究所黄蜀葵实验苗圃地中。每个处理 1 个小区,各小区面积均为 25 m²。以幼苗破土为出苗标准,在播种 14 d 后统计出苗种子数,计算出苗率,计算公式为出苗率 = (出苗种子数/供试种子数) × 100%。待苗高 10 ~ 15 cm 时,按株距 60 cm、行距 120 cm 定植,定植 2 周后,每个处理挑选 20 株健康幼苗进行编号和挂牌。实验期间,定期进行浇水、除草及病虫害防治等田间管理。

1.2.2 表型性状测定 于 2023 年 8—10 月,待黄蜀葵植株进入花期后,对植株形态和农艺性状进行观测。株型根据侧枝生长姿态进行分类。使用卷尺(精度 0.1 cm)测量每个植株从茎基部到顶端的距离,即株高。使用电子游标卡尺(精度 0.01 cm)测量每个植株距离地面 30 cm 处的茎直径,即茎粗。使用卷尺测量每个植株第 1 个分枝距离地面的高度,即一级分枝高度;同时,统计每个植株的一级分枝数。在每个植株中部随机选取 10 枚成熟叶,使用直尺(精度 0.1 cm)测量叶片长(叶片基部到顶端的距离)、叶片宽(叶片的最大宽度)、叶裂片长(叶片裂处到叶片顶端的距离)、叶裂片宽(叶片中央主脉对应的裂片宽度)。

于盛花期(8 月底),在每个植株上随机选取 15 朵完全开放的花,使用直尺测量花直径(花的最大直径)、花瓣长(花瓣基部到边缘的距离)、花瓣宽(花瓣的最大宽度)。观察并统计每个植株上第 1 朵开放的花所在节数,即始花节数;统计单株所有花的总数量,即单株开花数。使用电子天平(精度 0.01 g)称量每日各单株的花鲜质量,并计算单株所有花的总鲜质量,即单株花产量。每株随机选取 10 个成熟果实,使用电子游标卡尺测量蒴果长(果实从基部到顶端的距离)和蒴果直径(果实基部的直径);同时,统计每个果实的种子数,即单果种子数。每个果实取 10 粒饱满种子,使用电子天平称量单粒种子质量,即单种子质量。

1.2.3 黄酮类成分含量测定 于 2023 年 8 月 1 日开始采摘供试黄蜀葵植株上盛开的花,每 7 d 取 1 次样,共取样 9 次,结果取平均值。每个处理随机选取 5 株植株,每株随机采集 20 g 盛开的花,同株样品混匀,每株重复取样测定 3 次。鲜花于 70 °C 烘 8 h 后,粉碎并过筛(孔径 250 μm);取干花粉末 0.2 g,精密称量后加入体积分数 70%乙醇溶液 15 mL;超声(功率 250 W,频率 30 kHz)提取 30 min,自然冷却至室温;用体积分数 75%乙醇溶液稀释至 25 mL,摇匀;用微孔滤膜过滤,滤液即待测液。

参照《中华人民共和国药典》^[23]和陆林玲等^[24]的方法测定花黄酮类成分含量。以质量浓度 0.1 mg · mL⁻¹金丝桃苷标准物溶液为对照品,采用华谱 S6000 plus 高效液相色谱仪[华谱科仪(北京)科技有限公司]进行 HPLC 分析。色谱条件:Alphasil VC-C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 150 mm, 2.5 μm);柱温 35 °C;检测波长 360 nm;流速 0.3 mL · min⁻¹;进样量 2 μL。流动相 A 为乙腈,流动相 B 为体积分数 0.1%磷酸溶液,梯度洗脱,洗脱程序为 0.0 ~ 10.0 min, 15% A; 10.0 ~ 18.0 min, 15% ~ 50% A; 18.0 ~ 18.1 min, 50% ~ 15% A; 18.1 ~ 25.0 min, 15% A。通过相对校正因子校正,计算黄蜀葵花中 6 种黄酮类成分(金丝桃苷、异槲皮苷、棉皮素-8-O-β-D-葡萄糖醛酸苷、杨梅素、槲皮素-3'-O-葡萄糖苷、槲皮素)的含量,将这 6 个黄酮类成分含量的总和作为总黄酮含量。

1.3 数据分析

采用 EXCEL 2016 软件整理实验数据,采用 SPSS 19.0 软件进行单因素方差分析、多重比较及相关性分析。基于单株花总黄酮产量(单株花产量与花总黄酮含量的乘积)进行优株筛选^[25-26]。

2 结果和分析

2.1 EMS 对黄蜀葵种子出苗率的影响

EMS 对黄蜀葵种子出苗率的影响见表 1。结果表明:随着 EMS 体积分数增加,黄蜀葵种子出苗率逐渐下降,并且,各组间的出苗率差异显著($P<0.05$)。

2.2 EMS 对黄蜀葵植株表型性状的影响

2.2.1 对株型、叶型和花型的影响 观察发现,经过 EMS 诱变处理后,供试黄蜀葵植株的株型、叶型和花

型均发生变异。从株型看,对照组(体积分数 0.0% EMS)植株直立,EMS 处理组植株接近丛生或丛生。与对照组相比,EMS 处理组植株的叶裂片变得细长,花冠较小。

2.2.2 对株高、茎粗和一级分枝的影响 统计结果(表 2)表明:随着 EMS 体积分数增加,黄蜀葵的株高呈先降低后升高的趋势,其中体积分数 1.2%EMS 处理组的株高最低,较对照组降低了 33.4%;并且,4 个 EMS 处理组的株高显著($P<0.05$)低于对照组。随着 EMS 体积分数增加,黄蜀葵的茎粗也呈先降低后升高的趋势,其中体积分数 1.2%EMS 处理组的茎粗最小,较对照组降低了 11.4%;4 个 EMS 处理组的茎粗均与对照组差异不显著,其中,体积分数 1.4%和 1.6% EMS 处理组的茎粗高于对照组。与对照组相比,一级分枝高度在体积分数 1.0%EMS 处理组显著升高,之后随着 EMS 体积分数增加而逐渐减小;而一级分枝数则在体积分数 1.0%EMS 处理组显著下降,之后一直维持在对照组水平。

2.2.3 对叶的影响 叶性状(表 2)表明:随着 EMS 体积分数增加,黄蜀葵的叶片长、叶片宽、叶裂片长、叶裂片宽总体上呈先降低后升高的趋势,其中,体积

表 1 甲基磺酸乙酯(EMS)对黄蜀葵种子出苗率的影响($\bar{X}\pm SD$)¹⁾
Table 1 Effects of ethylmethane sulfonate (EMS) on seedling rate of *Abelmoschus manihot* (Linn.) Medik. seeds ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

EMS 体积分数/% EMS volume fraction	出苗率/% Seedling rate
0.0(CK)	82.50±0.02a
1.0	59.50±0.01b
1.2	52.67±0.01c
1.4	47.83±0.01d
1.6	40.83±0.01e

¹⁾ 同列中不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant differences ($P<0.05$).

表 2 甲基磺酸乙酯(EMS)对黄蜀葵植株表型性状的影响($\bar{X}\pm SD$)¹⁾
Table 2 Effects of ethylmethane sulfonate (EMS) on plant phenotypic traits of *Abelmoschus manihot* (Linn.) Medik. ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

EMS 体积分数/% EMS volume fraction	株高/cm Plant height	茎粗/mm Stem diameter	一级分枝高度/cm Primary branch height	一级分枝数 Number of primary branches	叶片长/cm Leaf length	叶片宽/cm Leaf width
0.0(CK)	284.65±30.04a	17.82±1.78ab	1.13±1.40b	11.1±1.3a	26.27±4.28b	36.78±5.45b
1.0	223.07±37.45b	16.59±5.24ab	5.28±6.86a	9.0±2.4b	25.38±3.88ab	33.59±5.95c
1.2	189.50±31.53c	15.78±5.94b	2.64±3.21ab	11.2±2.4a	23.57±4.03b	32.93±6.98c
1.4	244.63±19.60b	19.22±3.68ab	2.13±1.82ab	11.0±2.1a	29.07±4.78a	39.02±6.70ab
1.6	246.82±30.55b	20.25±2.40a	0.93±1.60b	11.2±2.6a	30.13±5.60a	40.54±7.32a

EMS 体积分数/% EMS volume fraction	叶裂片长/cm Leaf lobe length	叶裂片宽/cm Leaf lobe width	花直径/cm Flower diameter	花瓣长/cm Petal length	花瓣宽/cm Petal width	始花节数 Number of initial flower nodes
0.0(CK)	22.96±4.09ab	3.29±1.20cd	15.72±3.03a	9.01±1.54ab	8.85±2.45a	6.7±5.8a
1.0	21.43±3.45bc	3.58±0.99bc	15.50±3.17ab	9.24±1.89a	8.18±2.12b	8.2±4.5a
1.2	20.20±3.75c	3.00±0.80d	14.44±3.76c	8.54±1.88c	8.06±2.66b	5.9±6.4a
1.4	24.75±4.17a	3.85±0.98b	14.89±3.16bc	8.76±1.64bc	8.15±2.39b	9.2±5.0a
1.6	24.98±5.46a	4.99±1.38a	15.51±3.48ab	9.02±1.73ab	8.51±2.31ab	10.8±4.3a

EMS 体积分数/% EMS volume fraction	单株开花数 Number of flowers per plant	单株花产量/g Flower yield per plant	蒴果长/cm Capsule length	蒴果直径/mm Capsule diameter	单果种子数 Number of seeds per fruit	单种子质量/g Single seed mass
0.0(CK)	83.4±72.1b	555.27±232.58b	5.36±0.42b	19.27±1.63a	46.7±22.0b	0.23±0.03a
1.0	128.7±86.1ab	648.42±437.18ab	5.27±0.43b	18.64±2.25b	60.4±16.2a	0.23±0.04a
1.2	86.6±60.0b	462.54±360.02b	5.29±0.42b	17.15±1.36c	63.6±22.0a	0.24±0.05a
1.4	186.2±80.1a	991.98±390.38a	5.64±0.37a	18.40±1.60b	64.0±20.7a	0.24±0.03a
1.6	179.2±40.1a	974.81±334.52a	5.56±0.42a	18.38±2.28b	61.4±20.3a	0.23±0.03a

¹⁾ 同列中不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant differences ($P<0.05$).

分数1.4%和1.6%EMS处理组的这4个性状均高于对照组。体积分数1.6%EMS处理组的叶片长、叶片宽、裂片长、裂片宽最大,分别较对照组增加了14.7%、10.2%、8.8%和51.7%;体积分数1.2%EMS处理组的叶片长、叶片宽、裂片长、裂片宽最小,分别较对照组减少了10.3%、10.5%、12.0%、8.8%。

2.2.4 对花的影响 花性状(表2)表明:随着EMS体积分数增加,黄蜀葵的花直径和花瓣宽呈先降低后升高的趋势,且均在体积分数1.2%EMS处理组最低,分别较对照组降低了8.1%和8.9%。与对照组相比,4个EMS处理组的花直径和花瓣宽均降低,其中,体积分数1.2%和1.4%EMS处理组的花直径以及体积分数1.0%、1.2%和1.4%EMS处理组的花瓣宽显著降低。黄蜀葵的花瓣长和始花节数表现为在体积分数1.0%EMS处理组略高于对照组,在体积分数1.2%EMS处理组降到最低,之后随着EMS体积分数增加逐渐升高。体积分数1.2%和1.4%EMS处理组的花瓣长显著低于体积分数1.0%EMS处理组,但各EMS处理组间的始花节数差异均不显著。黄蜀葵的单株开花数和单株花产量变化趋势相同,均表现为在体积分数1.0%EMS处理组明显高于对照组,在体积分数1.2%EMS处理组最低,在体积分数1.4%处理组最

高,并在体积分数1.6%处理组略有下降。体积分数1.4%和1.6%EMS处理组的单株开花数和单株花产量显著高于体积分数1.2%EMS处理组和对照组。

2.2.5 对果实和种子的影响 果实和种子性状(表2)表明:与对照组相比,体积分数1.0%和1.2%EMS处理组的蒴果长略有降低,而体积分数1.4%和1.6%EMS处理组的蒴果长显著升高,且显著高于体积分数1.0%和1.2%EMS处理组;4个EMS处理组的蒴果直径显著降低,且体积分数1.2%EMS处理组的蒴果直径显著低于其余3个EMS处理组。4个EMS处理组的单果种子数均显著高于对照组,且在各处理组间差异不显著;4个EMS处理组的单种子质量与对照组接近,且在各处理组间差异不显著。

2.3 EMS对黄蜀葵花黄酮类成分含量的影响

统计结果(表3)表明:不同体积分数EMS处理组的黄蜀葵花中金丝桃苷、异槲皮苷、杨梅素、槲皮素和总黄酮含量均无显著差异;体积分数1.0%和1.4%EMS处理组的棉皮素-8-O- β -D-葡萄糖醛酸苷含量显著($P<0.05$)高于对照组(体积分数0.0%EMS),增幅分别为15.3%和13.9%;体积分数1.0%EMS处理组的槲皮素-3'-O-葡萄糖苷含量也显著高于对照组,增幅为27.7%。

表3 甲基磺酸乙酯(EMS)对黄蜀葵花黄酮类成分含量的影响($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

Table 3 Effects of ethylmethane sulfonate (EMS) on flavonoids contents in flowers of *Abelmoschus manihot* (Linn.) Medik. ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

EMS 体积分数/% EMS volume fraction	含量/(mg·g ⁻¹) Content						
	金丝桃苷 Hyperoside	异槲皮苷 Isoquercitrin	棉皮素 8-O- β -D- 葡萄糖醛酸苷 Gossypitin-8-O- β -D- glucuronide	杨梅素 Myricetin	槲皮素-3'-O-葡萄糖苷 Quercetin-3'-O-glucoside	槲皮素 Quercetin	总黄酮 Total flavonoids
0.0 (CK)	11.03±1.16a	7.34±0.61a	20.35±1.53b	1.64±0.31a	5.77±0.50b	1.41±0.29a	47.54±3.32a
1.0	10.53±1.04a	7.62±1.03a	23.47±1.94a	1.90±0.10a	7.37±1.16a	1.25±0.33a	52.15±4.25a
1.2	10.07±1.60a	7.74±0.52a	22.65±1.08ab	1.92±0.29a	6.37±0.51ab	1.32±0.26a	50.06±2.54a
1.4	10.37±1.22a	7.58±0.57a	23.17±2.15a	1.77±0.43a	6.06±0.73b	1.40±0.17a	50.34±3.43a
1.6	9.38±0.70a	7.20±0.35a	22.59±2.31ab	1.79±0.15a	6.00±0.77b	1.42±0.20a	48.38±4.05a

¹⁾ 同列中不同小写字母表示差异显著($P<0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant differences ($P<0.05$).

2.4 黄蜀葵单株花产量和花黄酮类成分含量与植株表型性状的相关性分析

相关性分析结果(表4)表明:单株花产量与茎粗、叶片长、叶裂片长、始花节数和蒴果长显著($P<0.05$)正相关,与单株开花数极显著($P<0.01$)正相关。金丝桃苷和异槲皮苷含量与17个植株表型性状均无显著相关性;棉皮素-8-O- β -D-葡萄糖醛酸苷含量仅与单果种子数显著正相关;杨梅素含量与株高

和花瓣宽显著负相关;槲皮素-3'-O-葡萄糖苷含量与一级分枝高度极显著正相关,与一级分枝数显著负相关;槲皮素含量与叶片宽和叶裂片长显著正相关;总黄酮含量仅与一级分枝高度显著正相关。

2.5 基于单株花总黄酮产量的黄蜀葵优株筛选

优株筛选结果(表5)表明:编号T3-3、T4-5、T3-1、T1-3植株的单株花总黄酮产量排名前4,单株花总黄酮产量均在65 g以上,其中,编号T3-3植株

表 4 黄蜀葵单株花产量和花黄酮类成分含量与植株表型性状的相关性分析
Table 4 Analysis on correlations of flower yield per plant and flower flavonoids contents with plant phenotypic traits of *Abelmoschus manihot* (Linn.) Medik.

植株表型性状 Plant phenotypic trait	与单株花产量和花黄酮类成分含量的相关系数 ¹⁾ Correlation coefficient with flower yield per plant and flower flavonoids contents ¹⁾							
	<i>m</i>	ω_1	ω_2	ω_3	ω_4	ω_5	ω_6	ω_7
株高 Plant height	0.292	0.390	-0.745	-0.662	-0.917 *	-0.551	0.823	-0.655
茎粗 Stem diameter	0.900 *	-0.433	-0.697	-0.021	-0.364	-0.559	0.869	-0.471
一级分枝高度 Primary branch height	-0.298	0.228	0.664	0.617	0.662	0.980 **	-0.804	0.930 *
一级分枝数 Number of primary branches	0.146	-0.258	-0.326	-0.481	-0.428	-0.926 *	0.574	-0.773
叶片长 Leaf length	0.948 *	-0.437	-0.620	0.100	-0.272	-0.455	0.818	-0.346
叶片宽 Leaf width	0.865	-0.390	-0.701	-0.104	-0.434	-0.649	0.912 *	-0.546
叶裂片长 Leaf lobe length	0.903 *	-0.287	-0.635	-0.037	-0.422	-0.555	0.902 *	-0.434
叶裂片宽 Leaf lobe width	0.836	-0.727	-0.659	0.245	0.000	-0.218	0.538	-0.240
花直径 Flower diameter	0.160	0.213	-0.757	-0.407	-0.576	-0.029	0.416	-0.338
花瓣长 Petal length	0.161	0.152	-0.465	-0.008	-0.182	0.400	0.081	0.106
花瓣宽 Petal width	-0.029	0.272	-0.856	-0.863	-0.910 *	-0.574	0.641	-0.826
始花节数 Number of initial flower nodes	0.932 *	-0.615	-0.498	0.407	0.073	-0.092	0.518	-0.040
单株开花数 Number of flowers per plant	0.978 **	-0.542	-0.197	0.575	0.202	-0.073	0.469	0.137
蒴果长 Capsule length	0.921 *	-0.381	-0.337	0.163	-0.196	-0.559	0.789	-0.287
蒴果直径 Capsule diameter	0.210	0.508	-0.595	-0.459	-0.729	-0.146	0.561	-0.318
单果种子数 Number of seeds per fruit	0.391	-0.648	0.532	0.905 *	0.872	0.353	-0.353	0.613
单种子质量 Single seed mass	0.002	-0.046	0.716	0.330	0.373	-0.130	-0.167	0.259

¹⁾ *m*: 单株花产量 Flower yield per plant; ω_1 : 金丝桃苷含量 Hyperoside content; ω_2 : 异槲皮苷含量 Isoquercitrin content; ω_3 : 棉皮素-8-*O*- β -*D*-葡萄糖醛酸苷含量 Gossypitin-8-*O*- β -*D*-glucuronide content; ω_4 : 杨梅素含量 Myricetin content; ω_5 : 槲皮素-3'-*O*-葡萄糖苷含量 Quercetin-3'-*O*-glucoside content; ω_6 : 槲皮素含量 Quercetin content; ω_7 : 总黄酮含量 Total flavonoids content. *: $P<0.05$; **: $P<0.01$.

表 5 黄蜀葵单株花总黄酮产量排名前 10 的植株
Table 5 The top ten strains of flower total flavonoids yield per plant of *Abelmoschus manihot* (Linn.) Medik.

单株编号 ¹⁾ No. of individual ¹⁾	单株花总黄酮产量/g Flower total flavonoids yield per plant
T3-3	92.65
T4-5	76.90
T3-1	68.00
T1-3	67.58
T4-1	63.52
T4-15	60.36
T1-1	58.22
T4-4	57.25
T3-11	55.39
T3-16	55.30

¹⁾ T1, T3, T4: 分别代表体积分数 1.0%、1.4% 和 1.6% EMS 处理组
Representing EMS treatment groups with volume fractions of 1.0%, 1.4%, and 1.6%, respectively.

的单株花总黄酮产量最高(92.65 g)。

3 讨论和结论

相关研究表明:EMS 溶液的浓度和诱变时间会严重影响植物材料的存活率和突变率,一般以达到半

致死量的浓度和时间为最佳诱变处理条件^[27-28]。本研究采用不同体积分数 EMS 处理黄蜀葵种子,其中,体积分数 1.2%EMS 处理组的出苗率为 52.67%,略高于种子的半致死率;体积分数 1.4%EMS 处理组的出苗率略低于体积分数 1.2%EMS 处理组,但单株花产量最高且显著($P<0.05$)高于对照组(体积分数 0.0% EMS),花中棉皮素-8-*O*- β -*D*-葡萄糖醛酸苷含量显著高于对照组,其余黄酮类成分含量和总黄酮含量与对照组的差异均不显著。综合考虑黄蜀葵的育种目标(即培育高花产量和高花总黄酮含量的黄蜀葵植株),笔者认为体积分数 1.4%EMS 为适宜的诱变处理条件。

在植物诱变育种中,EMS 具有诱变率高、点突变多、产生常规育种方法难以获得的新基因和新性状等优势^[29]。本研究中,EMS 处理组黄蜀葵的株型发生了明显变化,株型由直立变为接近丛生(一级分枝几乎贴地生长)或丛生。相关研究者在海岛棉(*Gossypium barbadense* Linn.)^[30]、海滨木槿(*Hibiscus hamabo* Siebold et Zucc.)^[31]和辣木(*Moringa oleifera* Lam.)^[32]的 EMS 诱变研究中也得到类似的研究结果,说明 EMS 诱变能够使植物的株型产生丰富的变

异。经 EMS 诱变处理后,玉米(*Zea mays* Linn.)^[33]、木槿(*Hibiscus syriacus* Linn.)^[34]和海滨木槿^[31]实生苗矮化现象明显。本研究结果显示:随着 EMS 体积分数增加,黄蜀葵的株高越来越低,且体积分数 1.0%~1.6%EMS 处理组的株高显著低于对照组,而茎粗则表现为在体积分数 1.0%和 1.2%EMS 处理组略低于对照组,在体积分数 1.4%和 1.6%EMS 处理组略高于对照组。EMS 诱变还能改善作物的农艺性状,达到增产的目的。例如:张瑜琨等^[35]发现,不同 EMS 处理对豇豆[*Vigna unguiculata* (Linn.) Walp.]经济性状的影响较为明显,可利用此技术诱导筛选出优质、高产的豇豆植株;陈开等^[36]对 EMS 诱变处理后水稻(*Oryza sativa* Linn.)种子萌发形成的幼苗进行优株筛选,并筛选出有效分蘖数增加、穗长增大、单株产量升高的优良植株。本研究中,体积分数 1.4%和 1.6%EMS 处理组黄蜀葵的单株开花数和单株花产量显著升高,单果种子数显著增加,可见,一定水平的 EMS 诱变处理能够促使黄蜀葵增产。然而,目前关于 EMS 诱变后黄蜀葵植株出现矮化等变化的具体机制尚未明确,有待进一步研究。

本研究中,4 个 EMS 处理组黄蜀葵花中 6 个代表性黄酮类成分及总黄酮含量多与对照组差异不显著,仅体积分数 1.0%和 1.4%EMS 处理组花中的棉皮素-8-*O*- β -D-葡萄糖醛酸苷含量和体积分数 1.0%EMS 处理组花中的槲皮素-3'-*O*-葡萄糖苷含量显著高于对照组,说明实验设置的 EMS 处理水平对黄蜀葵花中黄酮类成分积累的影响不明显。后续研究可尝试通过¹²C⁶⁺^[37]或⁶⁰Co- γ ^[38]辐射等物理诱变方式提高黄蜀葵花中黄酮类成分的含量。

相关性分析结果表明:黄蜀葵的单株花产量与单株开花数极显著($P<0.01$)正相关,与叶片长、叶裂片长、始花节数、茎粗和蒴果长显著正相关,因此,在生产实践中可根据这些表型性状,尤其是单株开花数进行高花产量黄蜀葵植株筛选;各表型性状与花中黄酮类成分含量的相关性普遍较低,仅棉皮素-8-*O*- β -D-葡萄糖醛酸苷含量与单果种子数显著正相关,杨梅素含量与花瓣宽和株高显著负相关,槲皮素-3'-*O*-葡萄糖苷含量与一级分枝高度极显著正相关、与一级分枝数显著负相关,槲皮素含量与叶片宽和叶裂片长显著正相关,总黄酮含量与一级分枝高度显著正相关,因此,可通过这些表型性状初步判定黄蜀葵花中黄酮类成分水平。

优株筛选结果显示:编号 T3-3、T4-5、T3-1 和 T1-3(T1、T3 和 T4 分别代表体积分数 1.0%、1.4%和 1.6%EMS 处理组)植株的单株花总黄酮产量排名前 4,可作为黄蜀葵高花总黄酮产量的优株。目前,黄蜀葵通常作为一年生植物进行栽培,繁殖方式为种子繁殖,因此,这些优质变异能否通过有性繁殖稳定遗传至关重要,后续应开展这方面的系统研究。另外,还应对筛选到的优良单株进行分子水平或其他方面的检测,从而探明性状突变的原因。

综上所述,EMS 诱变对黄蜀葵植株表型性状有一定影响,但对其花黄酮类成分含量的影响不明显,总体来看,体积分数 1.4%EMS 的诱变效果最佳。并且,编号 T3-3、T4-5、T3-1 和 T1-3 单株可作为高花总黄酮产量的优株。

参考文献:

- [1] LUAN F, WU Q, YANG Y, et al. Traditional uses, chemical constituents, biological properties, clinical settings, and toxicities of *Abelmoschus manihot* L.: a comprehensive review [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2020, 11: 1068.
- [2] HOU J, ZHOU Y, RAN L, et al. Transcriptome and metabolome analysis reveal the flavonoid biosynthesis mechanism of *Abelmoschus manihot* L. at different anthesis stages [J]. *Metabolites*, 2023, 13: 216.
- [3] 李爽,袁菱,杨青,等.黄蜀葵多糖提纯及结构与活性的研究进展[J]. *中国医药导刊*, 2019, 21(6): 356-358.
- [4] 温锐,谢国勇,李旭森,等.黄蜀葵化学成分与药理活性研究进展[J]. *中国野生植物资源*, 2015, 34(2): 37-44.
- [5] 邹佳.黄葵胶囊治疗慢性肾炎药效及作用机制研究[D].昆明:昆明医科大学,2023:14.
- [6] 凌沛学.侧金盏总黄酮口腔贴片及其制备方法:200710113698.8[P]. 2009-06-10.
- [7] 段琼辉,李永,徐振宇.黄蜀葵非药用部位资源研究进展[J]. *现代农业科技*, 2020(21): 70-72, 78.
- [8] 梁文波,覃柳燕,严方明.中药材黄蜀葵的研究现状及存在问题[J]. *农业研究与应用*, 2012(5): 48-52.
- [9] 唐立霞,谈献和,张瑜,等.不同种植年限黄蜀葵根际土壤养分变化规律[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(22): 3871-3874.
- [10] 闫锋.EMS 诱变对谷子萌发及幼苗生长的影响[J]. *江苏农业科学*, 2023, 51(2): 104-109.
- [11] 陆珂,吴则东,李胜男.黄瓜幼苗育种研究进展[J]. *江苏农业科学*, 2022, 50(18): 208-214.
- [12] CHEN L, DUAN L, SUN M, et al. Current trends and insights on EMS mutagenesis application to studies on plant abiotic stress tolerance and development[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 13: 1052569.
- [13] 陈煜,霍雪寒,宋章强,等.陆地棉 EMS 诱变体系的优化及

- 种子和纤维发育异常突变体的鉴定[J]. 植物遗传资源学报, 2019, 20(4): 911-919.
- [14] 康勋杰, 刘士尧, 冀占东. 利用EMS诱变技术创制弱感光水稻种质资源[J]. 杂交水稻, 2024, 39(3): 48-54.
- [15] 张桂芳, 周韦钦, 陈斯嘉, 等. EMS诱变广金钱草突变体库的构建[J]. 中药材, 2018, 41(10): 2255-2260.
- [16] 任婷婷, 任宏伟, 杜海娜, 等. 罗布麻EMS突变体库构建及黄酮变异突变体筛选[J]. 植物遗传资源学报, 2020, 21(3): 655-662.
- [17] DENG Y, LIU S, ZHANG Y, et al. A telomere-to-telomere gap-free reference genome of watermelon and its mutation library provide important resources for gene discovery and breeding[J]. Molecular Plant, 2022, 15: 1268-1284.
- [18] 孙 哲, 张 辉, 李澳旋, 等. 秋水仙素诱导黄蜀葵多倍体[J]. 中南农业科技, 2022, 43(2): 8-11.
- [19] 宋佳蓉, 刘梦溪, 葛春峰, 等. 不同蓝莓品种幼苗氮素利用效率和适宜施氮水平分析[J]. 植物资源与环境学报, 2024, 33(3): 58-68.
- [20] 何林池, 王 康, 魏小云, 等. EMS处理对海滨锦葵种子萌发影响研究[J]. 金陵科技学院学报, 2013, 29(2): 85-87.
- [21] 孔德培, 屈凌波, 张雪妍, 等. 亚洲棉EMS诱变条件优化与突变体筛选[J]. 棉花学报, 2017, 29(4): 336-344.
- [22] 梁伟玲, 孟繁伟, 陈翠果. 黄蜀葵种子催芽试验研究[J]. 现代农业科技, 2020(4): 51-52, 57.
- [23] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020年版(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 319.
- [24] 陆林玲, 钱大玮, 郭建明, 等. 一测多评法测定黄蜀葵花中7个黄酮类成分[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(12): 2082-2087.
- [25] 罗会婷, 许梦洋, 贾晓东, 等. 薄壳山核桃种仁中酚类成分含量和抗氧化能力差异分析及优株筛选[J]. 植物资源与环境学报, 2018, 27(4): 63-71.
- [26] 罗会婷, 贾晓东, 翟 敏, 等. 76株薄壳山核桃实生单株的果实品质差异及综合评价[J]. 植物资源与环境学报, 2017, 26(1): 47-54.
- [27] SHAHWAR D, ANSARI M Y K, KHATOON B, et al. Phenotypic characterization of ethyl methanesulfonate (EMS) induced bigger pod (bp) with multiple seed mutant in lentil (*Lens culinaris* Medik.)[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2024, 59: 103259.
- [28] WANG W, GUAN X, GAN Y, et al. Creating large EMS populations for functional genomics and breeding in wheat[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2024, 23(2): 484-493.
- [29] 徐瑞廷, 刘中原, 韩雅婷, 等. 白桦种子EMS诱变条件分析及突变体库初步构建[J/OL]. 分子植物育种. (2022-10-10) [2024-10-08]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20221009.1804.032.html>.
- [30] ABID M A, WANG P, ZHU T, et al. Construction of *Gossypium barbadense* mutant library provides genetic resources for cotton germplasm improvement[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21: 6505.
- [31] 孙 慧. EMS诱变海滨木槿及抗寒突变体筛选的初步研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2019: 24.
- [32] 张 慧, 阮明菊, 王 韦, 等. 辣木甲基磺酸乙酯(EMS)诱变及表型变异的初步研究[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2022, 37(2): 302-310.
- [33] ZHAO Y, HUANG Y, GAO Y, et al. An EMS-induced allele of the *brachytic2* gene can reduce plant height in maize[J]. Plant Cell Reports, 2023, 42: 749-761.
- [34] 任雪羽. 木槿种子的秋水仙素和EMS诱变与鉴定[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2019: 33.
- [35] 张瑜琨, 杨 净, 蔺国仓, 等. 甲基磺酸乙酯处理对豇豆种子活力及农艺性状的影响[J]. 北方园艺, 2018(8): 64-68.
- [36] 陈 开, 陈宇峰, 封昱均, 等. 水稻EMS诱变根系突变体的筛选及其农艺性状分析[J]. 西南农业学报, 2022, 35(6): 1233-1242.
- [37] 唐君蔚, 曹天光, 秦 垒, 等. $^{12}\text{C}^{6+}$ 辐射对菊苣根黄酮类物质及抗氧化活性的影响[J]. 核农学报, 2024, 38(8): 1434-1442.
- [38] 赵东晓, 董亚茹, 耿 兵, 等. $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐射对胡麻耐盐性及生物活性物质含量的影响[J]. 山东农业科学, 2022, 54(2): 29-39.

(责任编辑: 佟金凤)