**成果名称：**花生离体诱变及精准高效新品种培育技术

**申报奖种：**技术发明奖

该成果针对花生新品种培育中高油种质缺乏，选择效率低的技术难题，历经18年攻关研究，在创造花生变异、筛选高油技术、培育新品种等方面取得了突破。发明了花生离体诱变技术方法，创建了花生化学诱变与体胚再生相结合的诱变技术体系。发明了花生高油性状离体定向选择方法。培育高油、高产花生新品种5个；新品系3个，高油新种质133份。获国家发明专利15件，软件著作权13件，整体技术居国际先进水平，在高油花生定向选育技术方面，达到国际领先水平。培育的5个高油花生新品种已在多个省份推广应用，尤其深受榨油企业的青睐，累计种植1271.3万亩，累计增产效益30.1919亿元。

对照山东省科技奖授奖条件，推荐该成果申报2020年度技术发明二等奖。

**项目简介：**

本项目属于作物育种学技术领域。针对花生高油种质缺乏,高油性状选择效率低的难题,历经 18 年研究，在创造变异、筛选高油技术、培育新品种等方面取得了突破，“是生物技术育种的一个范例”。

1．发明了花生离体诱变方法。创建了化学诱变培养、体胚诱导和体胚成苗的高效技术体系，突变率分别是常规辐射技术的 207.6 倍、193.3 倍。发明了组培苗移栽方法，再生苗嫁接移栽成活率98.7%。

（1）发明了离体诱变方法，大幅提高突变率。创建诱导变异、诱导体胚、诱导体胚成苗技术体系，确定 MS + 3 mg/L 平阳霉素 + 8 mg/L 2,4-D 是诱变和体胚诱导的最佳培养基；MS + 4 mg/L BAP 是最佳体胚成苗培养基。化学离体诱变 M2 代突变率是常规诱变技术的 207.6 倍。

（2）发明了花生组培苗移栽方法，创建无菌嫁接移栽田间技术体系。成活苗全部结果。

2．发明了花生高油性状离体定向筛选方法，首创出高油花生培养基水势选择指标，解决了花生高油性状选择效率低的难题。

（1）发现花生叶水势与其籽仁含油量呈极显著正相关。

（2）首创出筛选高油花生培养基水势指标，研制出筛选高油花生培养基。筛选高油花生培养基水势指标-2.079 MPa，MS + 4mg/L BAP + 6 mmol/L 羟脯氨酸培养基是高油筛选的核心技术，高油植株获得率 100%。

3．发明了高油花生培育技术，培育高油花生新品种3个，新品系2个，新种质 133 份。

（1）组织培养结合田间传统选择培育新品种，“是生物技术育种的一个范例”。高油植株 M2 代分离。M3 和 M4 代进行高产、高油、耐盐选择；育成高油新品种5 个，种质 133 份。

（2）育成品种含油量和产量比原品种显著提高，兼具耐盐特点。

宇花1号，含油量58.04%，比原品种鲁花11号提高了6.04个百分点。籽仁、产油量比原品种鲁花11号增产9.3%、21.9%。盐碱地示范，亩产429.3公斤。分别通过了安徽省、国家登记。

宇花4号，含油量 57.86%，比原品种花育20号提高了8.36个百分点。籽仁、产油量比原品种花育20号增产11.1%、30.0%。盐碱地示范，亩产401.0公斤。分别通过了安徽省、国家登记。

宇花 9 号含油量 61.05%，是迄今国际上含油量最高的品种，比原品种花育 20 号提高 11.55 个百分点。籽仁、产油量比原品种花育20号分别增产 11.0%、37.9%。盐碱地示范，亩产 419.1 公斤。2018 年国家登记。

宇花 14 号含油量 59.32%，比原品种花育20号提高9.82个百分点。籽仁、产油量比原品种花育20号分别增产 12.7%、35.0%。盐碱地示范，亩产353.1公斤。2018 年国家登记。

宇花16号含油量58.94%，比原品种花育20号提高了9.44个百分点。籽仁、产油量比原品种花育20号分别增产 8.2%、30.4%。2018年国家登记。

另外，宇花11号，含油量55.91%；宇花17号，含油量55.51%；宇花18号，含油量56.73%，国家品种登记审查中。

本成果获国家授权发明专利 8 件，软件著作权7 件；发表论文 82 篇。品种累计种植 1271.3万亩，增产效益 30.1919亿元；本成果技术和新种质被多家单位采用并培育出新品种。

**客观评价：**

1.科学技术评价

（1）国内同行评价

2019 年 3 月 27 日，中国农学会/农业农村部人力资源开发中心受青岛农业大学委托，组织盖钧镒院士、董英山研究员、张海洋研究员领衔的咨询评价专家组对“高含油量花生品种定向培育技术”项目进行了评价：“该成果针对花生新品种培育中高油种质缺乏，选择效率低的技术难题，历经 18 年攻关研究，在创造花生突变、定向筛选高油技术、培育高油、耐盐、高产新品种等方面取得了创新性技术突破，整体技术居国际先进水平，在高油花生定向选育技术方面，达到国际领先水平，是生物技术育种的一个范例。”（附件 21）

①创建了花生物理和化学诱变与体细胞胚再生相结合的诱变技术体系，再生率和诱变率比传统技术显著提高；研发了再生植株无菌嫁接成苗技术；创制了 3035 份突变体。

②明确了干旱胁迫处理后的花生叶水势与籽仁含油量呈高度正相关，建立了利用羟脯氨酸调控水势（-2.079MPa）进行高油花生相关选择技术，大幅度提高了高油花生育种效率。

③采用研发的体细胞胚诱变技术和叶水势相关选择技术，培育高油、耐盐、高产花生新品种 5 个，其中宇花 9 号含油量 61.05%，是迄今国际上含油量最高的花生品种；获得高产、高油、耐盐品系 7 个和含油 55%以上新种质 167 份。

（2）国际同行评价

由英国皇家学会会员、美国国家科学院院士 Jonathan,Jones；英国皇家学会会员、美国国家科学院院士 Rajeev，K. Vashney；美国前花生研究与发展协会主席，北卡州立大学终身教授 Tom Isleib；印度国家农科院院长，Panjab. Singh；美国北卡州立大学终身教授 Tom Stalker 等组成的第五届国际作物基因组大会组委会主要成员代表来自 34 个国家的 370 名入会代表的评价：“Dr. Yu Shanlin 在印度国际半干旱所举办的第五届国际作物基因组大会所做的报告：利用水势定向筛选高含油量花生的技术具有划时代意义，解决了花生高油品种培育的世界性难题”。

2.查新报告

本课题发现了以花生胚小叶为外植体，平阳霉素为诱变剂进行离体诱变，通过胚胎发生途径获得再生苗，1 粒种子可获得小苗 60 棵以上,选择群体比传统诱变技术增加 60 倍以上,离体诱变与体胚诱导连续完成。体胚起源于单个细胞,突变也由单细胞生成,再生突变苗全部非嵌合体。再生苗嫁接在砧木的下胚轴，后直接移栽田间，成活率高，100%接穗正常结果,解决了离体诱变中突变植株生根难，难以保存的难题（文献 6、7、8）。本课题组研究发现：经干旱胁迫处理后的花生组织细胞渗透压与其含油量呈显著负相关（文献 1），本课题组采用渗透压（水势）定向筛选高含油量花生，每个再生苗的后代含油量均有 55%以上的后代，育成了花生新品种宇花 9 号（文献 2）。此外，本课题采用常规方法稳定高

含油量花生品系的高含油量花生品种定向培育技术。育成了高产高油花生新品种宇花 4 号、宇花 9 号、宇花 14 号、宇花 16 号，经农业部油料及制品质量监督检测中心测试，均达到高油标准（含油率56%以上），其中宇花 9 号含油量高达 61.05%（文献 2），未检索到含油量高于本课题组的文献。

综上所述，除本项目组成员发表的文献外，在检索出的文献中，未见与本课题查新点完全相同的其他研究报道。

**推广应用情况：**

宇花1号、宇花4号、宇花 9 号、宇花 14 号、宇花16号花生新品种含油量高，产量高，所以深受榨油企业青睐，种植面积迅速扩大，尤其通过企业与花生专业合作社签订协议回收，合作建立原料生产基地，在山东省、河南省、辽宁省、江苏省、安徽省等花生产区推广应用。自 2016 年至 2018 年宇花 9 号、宇花 14 号、宇花16号累计种植面积1271.3 万亩，增产效益30.1919 亿元。

发明的花生高油性状定向选择技术被河北农业大学、临沂大学、辽宁农科院风沙所、山东烟台农科院等大专院校、科研单位采用，创造出了一批高油花生新种质，培育出了高油花生新品种。高油花生新种质，被山东潍坊农科院等单位采用，培育出了高油花生新品种。

**主要知识产权证明目录（国家发明专利）：**

1. 一种高含油量花生的定向筛选方法
2. 一种花生离体诱变定向筛选耐盐体的方法
3. 一种花生组培苗的无菌嫁接方法
4. 一种花生组培苗的移栽方法
5. 一种花生植株再生方法
6. 一种花生离体定向筛选和鉴定抗乙草胺体的方法
7. 一种固液两相PEG培养基的制备方法及应用
8. 花生维生素E合成相关基因AhPK及其在提高植物维生素E含量和耐盐性中的应用
9. 花生维生素E合成相关基因APG1、APG2在提高植物ɑ生育酚含量和耐盐性中的应用
10. 花生耐盐相关基因Rab7及其在提高耐盐性中的应用

**代表性论文论著目录：**

1. In Vitro Mutagenesis and Directed Screening for Salt-tolerant Mutants in Peanut
2. Generation of Peanut Drought Tolerant Plants by Pingyangmycin-Mediated In Vitro Mutagenesis and Hydroxyproline-Resistance Screening
3. Generation of peanut mutants by fast neutron irradiation combined with in vitro culture
4. Performance of peanut mutants and their offspring generated from mixed high-energy particle field radiation and tissue culture
5. Transcriptome profiling and digital gene expression analysis of genes associated with salinity resistance in peanut
6. Isolation and characterization of a stress responsive small GTP-binding protein AhRabG3f in peanut (Arachis hypogaea L.)
7. Transcriptome profilinganddigital gene expression analysis of genes associated with salinity resistance in peanut
8. 离体诱变定向培育高油花生新品种宇花9号
9. 花生高油突变体的定向筛选及籽仁含油率与叶片水势的相关性分析
10. 利用离体诱变培育花生新品种宇花4号

**主要完成人情况：**

禹山林，本项目负责人，制定方案，对发明点一、二、三做出了突出贡献。是2篇论文的通讯作者，是3个发明专利、3个软件著作权和1个品种的第一完成人。本人在该项技术研究中工作量占本人工作总量的70%。 旁证材料：附件1、3-4、6-13。

王晶珊，对发明点一、二、三做出了突出贡献。对离体诱变和离体高含油量定向筛选进行了系统研究。是7篇论文的第一作者或通讯作者，是1个发明专利和1个品种的第一完成人。本人在该项技术研究中工作量占本人工作总量的70%。 旁证材料：附件1-8、10-20。

乔利仙，对发明点一、二、三做出了突出贡献，主要负责高含油量花生新品种的选育。是2篇论文的第一作者或通讯作者，是4个发明专利、3个品种和6篇论文的主要完成人，本人在该项技术研究中工作量占本人工作总量的70%。 旁证材料：附件1-4、7、9、10-11、15、17-20。

隋炯明，对发明点一、三做出了突出贡献。是4篇论文的第一作者或通讯作者，是4个发明专利以及3个品种的主要完成人。本人在该项技术研究中工作量占本人工作总量的70%。 旁证材料：附件1-4、6、8、11、15、17-20。

姜德锋，对创新点二、三做出了突出贡献。是2个专利和2篇论文的主要完成人。本人在该项技术研究中工作量占本人工作总量的70%。 旁证材料：附件1-2，37-10、37-5。

**主要完成单位及创新推广贡献：**

青岛农业大学为本项目主要完成单位，为试验的开展提供了全方位的支持，包括实验室、仪器设备、莱阳实验基地、水电、测试化验、研究生的培养等。学校在东营市利津县毛坨村建设了青岛农业大学东营研究院，为本项目中花生耐盐种质的筛选和品种耐盐性鉴定提供了试验场所和其它便利条件。在本项目中对离体诱变、高油离体定向筛选技术进行了系统的研究，利用筛选获得的突变体培育出高油高产花生新品种，在山东省、河南省、安徽省、辽宁省、江苏省推广应用，取得了很好的社会效益和经济效益。