

离体诱变定向培育高油花生新品种宇花 9 号

王晶珊, 姜亚男, 尹秀波, 衣艳君, 赵健, 史普祥, 李松坚, 禹山林

青岛农业大学 农学院, 山东 青岛 266109

王晶珊, 姜亚男, 尹秀波, 等. 离体诱变定向培育高油花生新品种宇花 9 号. 生物工程学报, 2019, 35(7): 1277-1285.

Wang JS, Jiang YN, Yin XB, et al. Directional breeding of high oil content peanut variety Yuhua 9 by *in vitro* mutagenesis and screening. Chin J Biotech, 2019, 35(7): 1277-1285.

摘要: 笔者前期研究发现经干旱胁迫处理后的花生叶片水势与其籽仁含油率呈显著正相关。文中对羟脯氨酸作为水势(渗透压)调节物质用于离体定向筛选花生高油突变体及培育花生新品种进行了研究。以花生品种花育 20 号胚小叶作为外植体, 平阳霉素作为诱变剂添加于体胚诱导培养基上进行离体诱变培养。形成的体胚转移到添加 6 mmol/L 羟脯氨酸(培养基水势为 -2.079 MPa)的体胚萌发和再生培养基上诱导体胚萌发成苗, 同时进行高油突变体定向筛选。再生小苗经嫁接移栽田间, 从再生植株后代中获得了 132 份含油率 55% 以上的高油突变体, 其中 27 份含油率超过 58%, 2 份超过 60%。再生植株后代结合系谱育种法育成了高产高油花生新品种宇花 9 号, 在辽宁省花生新品种备案试验中, 籽仁产量比对照品种增产 14.0%, 并通过了国家非主要农作物品种登记。宇花 9 号含油率达 61.05%, 比亲本花育 20 号高 11.55 个百分点, 是目前国际上含油率最高的花生品种。本研究结果表明, 利用离体诱变、培养基低水势定向筛选及其再生植株后代结合常规育种法选择是定向培育高油花生品种的有效方法。

关键词: 花生, 离体诱变, 水势, 定向筛选, 含油率

Directional breeding of high oil content peanut variety Yuhua 9 by *in vitro* mutagenesis and screening

Jingshan Wang, Yanan Jiang, Xiubo Yin, Yanjun Yi, Jian Zhao, Puxiang Shi, Songjian Li, and Shanlin Yu

College of Agriculture, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, Shandong, China

Abstract: Leaf water potential of peanut subjected to drought stress is positively related to the oil content of peanut kernels. The aim of this study was to directly screen the high oil mutants of peanut and create the new peanut varieties using hydroxyproline as water potential regulator. *In vitro* mutagenesis was carried out with the embryonic leaflets of peanut variety Huayu 20 as explants and pingyangmycin as a mutagen added into the somatic embryo formation medium. The formed somatic

Received: January 5, 2019; **Accepted:** March 14, 2019

Supported by: National Natural Science Foundation of China (No. 31872875), Shandong Province Science and Technology Development Plan Project (No. 2018GNC111014).

Corresponding author: Shanlin Yu. E-mail: yshanlin1956@163.com

国家自然科学基金 (No. 31872875), 山东省重点研发计划 (No. 2018GNC111014) 资助。

embryos were successively transferred to somatic embryo germination and selection medium containing 6 mmol/L hydroxyproline (at -2.079 MPa water potential) to induce regeneration and directionally screen high oil content mutants. After that, these plantlets were grafted and transplanted to the experimental field and 132 high oil mutants with oil content over 55% were obtained from the offspring of regenerated plants. Finally, among them, the oil contents of 27 lines were higher than 58% and of 2 lines were higher than 60%. A new peanut variety Yuhua 9 with high yield and oil content was bred from the regenerated plant progenies combining the pedigree breeding method. The yield was 14.0% higher than that of the control cultivar in the testing new peanut varieties of Liaoning province, and also it has passed the national registration of non-major crop varieties. Yuhua 9 with an oil content of 61.05%, which was 11.55 percentage points higher than that of the parent Huayu 20, was the peanut cultivar with the highest oil content in the world. The result showed that it was an effective way for directional breeding of high oil peanut varieties by means of the three-step technique including *in vitro* mutagenesis, directional screening by reducing water potential in medium and pedigree selection of regenerated plant progenies.

Keywords: peanut, *in vitro* mutagenesis, water potential, directed screening, oil content

花生是重要的油料作物之一,我国花生 50% 以上用作榨油,据报道,花生籽仁含油率每提高 1 个百分点,纯利润可提高 7%^[1]。因此创造花生高油新种质、培育高产高油新品种对提高花生产值、增加农民收益有着重要意义^[2-3]。但目前栽培花生中缺乏高油种质资源,高油育种没有适宜的鉴定方法、育种过程存在盲目性,采用杂交育种难以获得突破性进展^[4],目前栽培花生品种含油率一般在 50% 左右^[5],极少数能达到 53% 以上,尤其是在我国胶东半岛、辽东半岛、广州市、吉林省等高纬度和沿海地区培育高油品种更加困难,而含油率 55% 以上则定为高油花生品种^[6]。诱变能够产生自然界不存在的或极为罕见的新性状、新个体^[7-10]。但突变是不定向的^[11],诱变往往产生大量突变体,而突变体的后续鉴定需要大量人力、物力和财力^[12]。诱变结合定向筛选可解决这一难题^[13-15],利用离体诱变结合离体定向筛选创造新种质已在多种植物上获得成功。罗静等^[16]利用 EMS 诱变处理草莓愈伤组织并筛选得到抗灰霉病草莓植株。陈丽等^[17]应用 EMS 处理杨树胚性愈伤组织,经盐胁迫定向筛选后获得了耐盐植株。李红等^[18]采用 NaN_3 处理苜蓿愈伤组织,对诱变处理的愈伤组织进行碱胁迫处理,获得了耐碱的变异植株。平阳霉素 (PYM) 是一种抗生素,作为一种新的诱变剂已在多种植物育种中应

用,它与 EMS 的诱变特点相近,且在某些方面优于 EMS,被证明具有安全、高效、诱变频率高、范围大等特点,具有广阔的开发和应用前景。Zhao 等^[19]利用平阳霉素作为诱变剂进行离体诱变,并结合 NaCl 定向筛选获得了花生耐盐突变体。

我们前期研究发现,经干旱胁迫处理后的花生叶片水势与其籽仁含油率呈极显著正相关^[20]。本论文利用羟脯氨酸作为水势(渗透压)调节物质,对平阳霉素离体诱变后获得的体胚进行定向筛选,获得的再生植株后代采用系统选择,培育出了高产高油花生新品种。

1 材料与方法

1.1 植物材料

供试材料为花生品种花育 20 的成熟种子,由青岛农业大学农学院保存。花育 20 号是我国主要栽培的小花生品种,是山东省和国家区域试验小粒组对照。

1.2 方法

1.2.1 培养基及培养条件

体胚诱导培养基为 MS+2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D),水势为 -1.873 MPa。体胚诱导和诱变培养为 MS+2,4-D+4 mg/L 平阳霉素 (PYM),PYM 作为诱变剂,水势为 -1.873 MPa。体胚萌发和筛选培养基为 MS+4 mg/L 6-BA+6 mmol/L 羟脯氨酸

(HYP), 水势为 -2.079 MPa。每种培养基均添加 3%蔗糖, 0.8%琼脂, pH 调至 5.8。培养条件均为 (25 ± 1) °C, 光照时间为 6–19 点, 强度为 2 000 lux。

1.2.2 体胚诱导培养基中适宜 2,4-D 浓度的确立

选取成熟饱满的花育 20 号干种子, 去子叶, 将种胚用 70%的酒精浸泡 20 s, 再用 0.1%的升汞浸泡 10 min 进行表面消毒。用无菌水漂洗 5 次后, 置于装有无菌水的培养瓶中浸泡 12 h。取出种胚, 置于无菌培养皿中分离胚小叶, 接种到添加不同浓度 2,4-D (0、5、10、15、20 mg/L) 的体胚诱导培养基中进行培养。每个处理重复 3 次, 每个处理接种 60 个外植体。4 周后统计体胚诱导率, 根据试验结果确定适宜的 2,4-D 浓度。

体胚诱导率=形成体胚的胚小叶外植体数/接种胚小叶外植体数 $\times 100\%$ 。

1.2.3 离体诱变、定向筛选、再生植株嫁接和移栽

选用花育 20 号的胚小叶, 接种在体胚诱导和诱变培养基上进行培养, 诱导体胚形成, 同时进行诱变处理。培养 4 周后, 将存活的形成体胚的外植体转移到体胚萌发和筛选培养基上诱导体胚萌发, 同时进行高油突变体的定向筛选。转移 4 周后将存活的萌发的体胚转移到植株再生和筛选培养基上培养, 每 4 周继代培养 1 次, 直到体胚萌发长成的小苗达 1.5 cm 以上。

以沙子中无菌萌发的花生实生苗作为砧木, 再生小苗作为接穗, 采用插接法在超净工作台内进行无菌嫁接。嫁接苗继续在沙子中培养 2–3 d 后, 直接移栽试验田, 浇足水。移栽初期 2 周搭塑料拱棚, 上午 10 点至下午 4 点搭遮阳网, 之后撤掉遮阴网和塑料拱棚, 按常规进行田间管理。成熟后按单株收获再生植株的种子 $M_{1,2}$ 。

1.2.4 再生植株后代系统选育过程

再生植株后代进行系统选育。将收获的再生植株的种子按株行种植 (M_2 代), 起垄单粒播种,

每垄播种 2 行, 垄距 100 cm, 株距 20 cm, 试验在青岛农业大学莱阳试验基地进行。生育期间选择出苗早、开花集中、抗逆性强的单株挂牌, 结合收获期选择结果多、荚果整齐的单株作为育种材料。其他明显变异的单株作为突变体自交纯合。 M_3 代及以后世代继续选择单株种成株行, 并结合海南加代, 缩短育种年限, 直到同一株行的单株间无明显分离, 混收荚果形成株系。

对入选的优良株系进行产量鉴定试验, 试验在青岛农业大学莱阳试验基地进行, 起垄双粒播种, 垄距 90 cm, 每垄播种 2 行, 每行播种 30 穴, 穴距 16.7 cm, 每个株系播种 1 垄。收获后晒干称重产量。

选择产量高、荚果整齐、抗逆性强的优良株系形成品系。对入选品系进行品种比较试验, 起垄双粒播种, 垄距 90 cm, 每垄播种 2 行, 每行播种 30 穴, 穴距 16.7 cm, 每个小区播种 3 垄, 小区面积为 13.5 m²。以诱变亲本花育 20 号作为对照, 设置 3 次重复。按常规进行田间管理, 收获晒干后称重各小区荚果产量。品种比较试验连续进行 2 年。

1.2.5 含油率的测定

再生植株后代品系籽仁含油率的测定, 使用脂肪提取器 YLSB022 并采用残余法, 由农业农村部油料及制品质量监督检验测试中心测试化验, 每个样本重复 2 次, 以诱变亲本作为对照。

1.2.6 辽宁省新品种备案试验

选择高产高油品系参加辽宁省新品种备案试验, 试验为春播, 5 月中旬播种, 9 月中旬收获, 全省不同地域共设 7 个试验点, 每个试验点重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 2,4-D 浓度对体胚诱导和植株再生的影响

花育 20 号胚小叶在添加不同浓度 2,4-D (0、5、10、15、20 mg/L) 的体胚诱导培养基上培养

1 周后, 胚小叶伸展, 并由白色变为绿色。培养 2 周后开始形成体胚, 4 周后统计体胚诱导率于图 1。由图 1 可以看出, 2,4-D 浓度极显著影响体胚诱导率, 随 2,4-D 浓度的增加, 体胚诱导率呈先升高后下降的趋势。在未添加 2,4-D 的培养基上无体胚形成, 在添加 10 mg/L 2,4-D 的培养基上体胚诱导率最高, 为 92.7% (图 2A), 确定体胚诱导培养基中添加适宜的 2,4-D 浓度为 10 mg/L。

将形成体胚的外植体转移到添加 4 mg/L BAP 的体胚萌发培养基上进行培养, 体胚逐渐萌发成苗 (图 2B)。调查结果显示, 平均每个外植体可获得再生植株 15 个以上。一个种子可获得 8 个胚小叶, 1 粒种子最终可获得再生植株 120 个以上。

2.2 离体诱变、定向筛选及再生植株结果

以上述确立的体胚诱导方法为基础进行离体诱变。花育 20 号胚小叶外植体在添加 4 mg/L PYM 和 10 mg/L 2,4-D 的体胚诱导及诱变培养基上培养 4 周后, 外植体约 50% 褐化, 存活的外植体大部分形成了体胚。将存活的外植体转移到添加 6 mmol/L HYP 和 4 mg/L 6-BA 的体胚萌发及筛选培养基上培养, 大部分体胚褐化, 仅有 0.91% 的体胚存活并萌发成苗 (图 3A-B)。

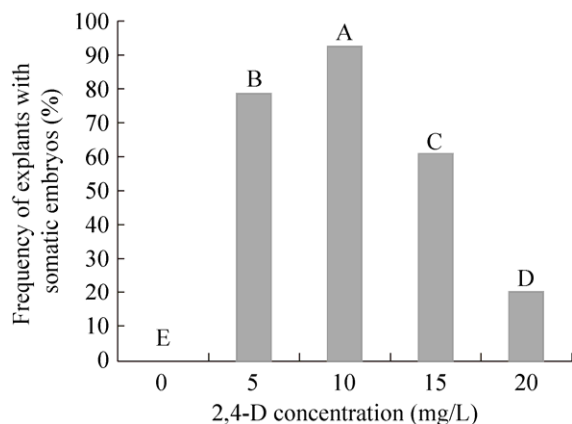


图 1 2,4-D 浓度对体胚诱导率的影响

Fig. 1 Influence of 2,4-D concentration on somatic embryo induction. A, B, C, D, E indicates significantly different at $P < 0.01$.

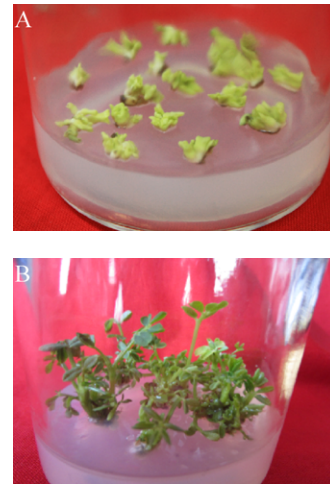


图 2 体胚形成及植株再生

Fig. 2. Somatic embryo formation and plantlet regeneration. (A) Somatic embryos formed from embryonic leaflets on induction medium containing 10 mg/L 2,4-D. (B) Plantlets regenerated from embryogenic masses on germination medium containing 4 mg/L BAP.

当再生苗长到 1.5 cm 高时进行嫁接 (图 3C)。嫁接苗在培养瓶中继续培养 2-3 d, 成活率 100% (图 3D)。嫁接苗经驯化后移栽田间, 正常生长, 成熟后按单株收获荚果, 所有的嫁接苗均收获到荚果 (图 3E)。

2.3 再生植株后代表现

收获的单株荚果种子次年按株行单粒播种, 收获期观察发现再生植株的 M_2 代发生多样的变异。将入选育种材料的单株及突变单株在 M_3 代以后继续按株行播种和选择单株。直到 M_5 代生育期及收获后观察, 遗传性状已基本稳定, 按株行收获荚果形成株系。共获得了 162 份突变材料。这些突变系农艺性状表现出多样的变异, 如突变系 2-2-5-4 表现为交替开花、侧枝变长 (80.7 cm)、分枝数变多 (25 条)、荚果突变为串珠形、种皮颜色突变为紫色 (图 4 A)。突变系 8-3-2-4 荚果变大、果形细长 (图 4 B)。突变系 2-1-9-2 结果数较多 (图 4 C)。而诱变亲本花育 20 号为连续开花, 分枝数 8-10 条, 荚果粗短, 种皮粉红色 (图 4 D)。

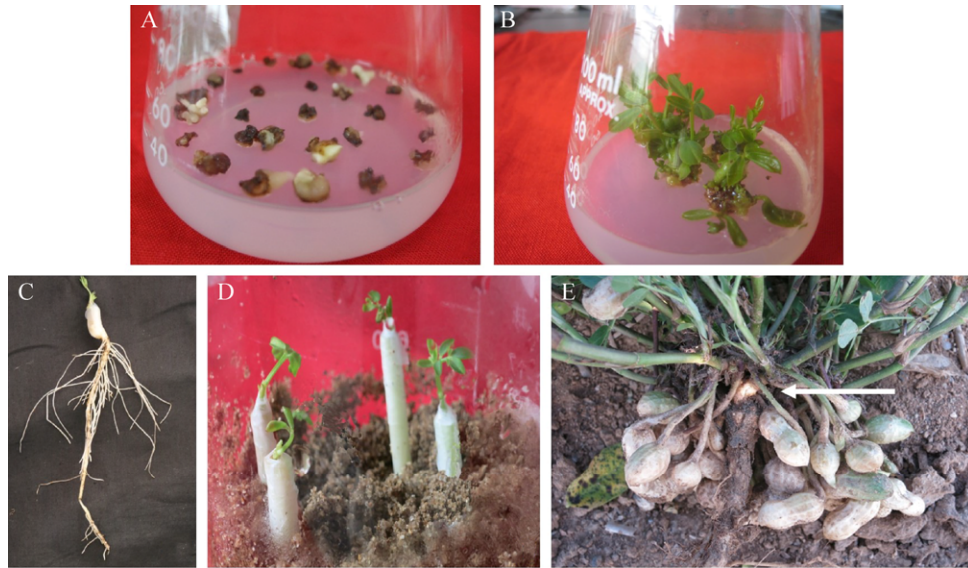


图 3 外植体在 HYP 定向筛选培养基上筛选、再生、嫁接移栽及正常结实

Fig. 3 Surviving somatic embryos and plantlets on the the medium supplemented with HYP, and grafting and producing pods of regenerated plants. (A) The surviving somatic embryos and the browning explants on the somatic embryo germination and selection medium supplemented with 6 mmol/L HYP. (B) Plantlets formed from somatic embryos. (C–D) Grafted plantlets. (E) An grafted plant produced pods (The arrow stands for the position of graft).



图 4 突变系及诱变亲本植株

Fig. 4 The plants of the mutant lines and their parents. (A): Line 2-2-5-4. (B): Line 8-2-3-4. (C): Line 2-1-9-2. (D): Parent Huayu 20.

2.4 品种比较试验结果

162 份突变系中, 经 4 代连续选择, 其中 12 个株系表现优良, 作为育种材料进行产量鉴定试验, 其中 8 个株系荚果产量比对照花育 20 号增产 5%

以上, 并且荚果整齐、抗旱性较强。这 8 个株系入选形成品系, 继续进行两年品种比较试验。试验结果列于图 5, 第一年试验结果, 参试的 8 个品系平均荚果产量均高于对照花育 20 号 ($5\ 322.7\ \text{kg}/\text{hm}^2$),

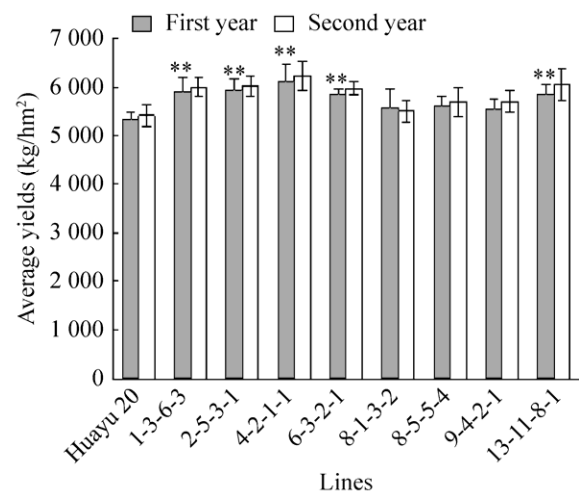


图 5 突变品系和亲本花育 20 号的产量

Fig. 5 The yields of the mutants and the parent Huayu 20. * indicates significantly different at $P < 0.05$.

其中 5 个品系增产达到显著水平, 增产幅度最大的是品系 4-2-1-1, 平均产量为 6 103.4 kg/hm², 比对照增产 14.7%, 1-3-6-3 增产 10.2%, 2-5-3-1 增产 11.3%, 6-1-4-1 和 13-11-4-1 分别增产 9.5%。

由图 5 可以看出, 第二年试验结果与第一年试验结果基本一致, 5 个显著增产的品系第二年也显著增产。对照花育 20 号平均产量为 5 411.4 kg/hm², 品系 4-2-1-1 产量最高, 平均为 6 223.1 kg/hm², 比对照增产 15.0%。品系 1-3-6-3 增产 10.7%, 2-5-3-1 比对照增产 11.1%, 6-1-4-1 增产 10.4%, 13-11-4-1 增产 11.8%。

2.5 突变系含油率检测结果

检测获得的 162 份突变系的含油率, 结果 132 份突变系含油率超过 55%, 达到高油标准, 其中 27 份超过 58%, 2 份超过 60%, 品系 1-3-6-3 含油率最高达到 61.05% (表 1)。每个再生植株后代均有含油率 55% 以上的突变系。

表 1 籽仁含油率在 58% 以上的突变品系和亲本花育 20 号

Table 1 Seed oil content over 58% of mutants and there parent Huayu 20

Lines	Oil content (%)	Lines	Oil content (%)
1-1-7-1	58.71	13 HB-4	58.45
1-3-6-3	61.05	13 HB-5	59.38
2-5-3-1	59.32	13 HB-6	59.48
2-17-2-3	59.36	15-3-8-2	58.08
3 HB-3	58.02	16-2-4-3	58.20
4 HB-4	59.52	16-3-2-2	58.37
4-11-1-2	58.69	22-3-5-2	58.28
6-2-4-1	58.94	31-3-4-2	58.06
6 HB-4	59.06	36-1-1-4	58.17
8 HB-1	58.34	36-6-4-2	58.49
9 HB-5	58.40	41-9-12-4	58.96
9 HB-7	58.83	41-21-8-1	59.63
12-3-1-6	60.35	41-21-18-3	59.50
13 HB-1	58.65	Huayu 20	49.50

Notes: HB is Hainan breeding; The oil contents were measured by the Quality Inspection and Test Center for Oilseeds Products at the Ministry of Agriculture of China.

2.6 宇花 9 号区域试验结果及品种特性

品系 1-3-6-3 含油率最高, 品种比较试验 2 年均比亲本花育 20 号显著增产, 表现出高产性和高油性。在参加辽宁省新品种备案试验中, 比对照白沙 1016 籽仁增产 14.0%, 命名为宇花 9 号, 并通过了国家非主要农作物品种登记, 登记号为 GPD Peanut (2018) 370182。

宇花 9 号为高油小粒花生品种, 春播全生育期 120 d 左右, 夏播 110 d 左右。株型直立、疏枝、连续开花。主茎高 37.4 cm, 侧枝长 40.7 cm, 有效枝长 7.5 cm, 有效分枝数 7-8 条, 总分枝数 8-9 条 (图 6A)。荚果普通型, 缢缩极浅, 果嘴不明显, 网纹浅。籽仁桃形, 种皮粉红色, 内种皮白色 (图 6B)。百果重 172.9 g, 百仁重 70.9 g, 出米率 75.82%。宇花 9 号含油率达 61.05%, 比亲本花育 20 号含油率高 11.55 个百分点。

3 讨论

离体诱变中通过胚胎发生途径再生植株能克服突变体的嵌合现象^[8]。本研究首先对胚胎发生途径有效植株再生方法进行了研究, 结果表明 2,4-D 浓度极显著影响体胚诱导频率。胚小叶在添加 10 mg/L 2,4-D 的体胚诱导培养基上体胚诱导率最高 (92%), 当转移到添加 4 mg/L BAP 的体胚萌发培养基上进行培养, 平均每个外植体可获得

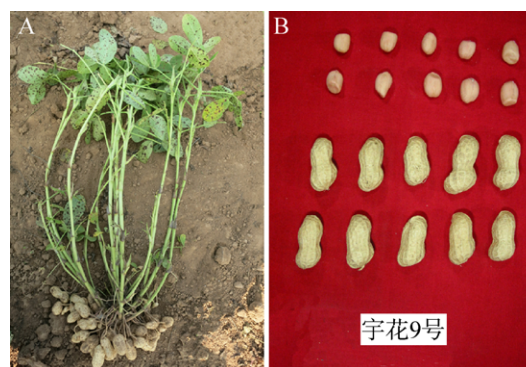


图 6 宇花 9 号单株 (A) 及荚果籽仁 (B)
Fig. 6 Single plants (A), pod and kernel (B) of Yuhua 9.

15 个以上再生植株, 1 个种子含有 8 个胚小叶, 每个种子可获得 120 个以上再生植株。

PYM 是一种抗生素, 作为诱变剂与其他化学诱变剂相比具有安全、高效、诱变频率高、范围大等特点^[21-22]。通过对大豆^[23]、小麦^[24]、油菜^[25]等诱变效应的研究, 肯定了其效用和应用价值。PYM 的诱变机理是能够造成 DNA 分子结构损伤且不能被修复, 与 EMS 相比具有更稳定的化学性质^[26]。本研究利用平阳霉素作为诱变剂添加于体胚诱导培养基中进行诱变培养, 再生植株后代中获得了多个高油突变体, 并育成了高产高油新品种, 进一步说明平阳霉素具有良好的诱变效果。

叶片水势是表示植物水分亏缺或水分状态的一个直接指标, 通过研究不同土壤水分下的植物水势的变化特征, 可以了解植物的抗旱特性^[27]。杨彦会等^[28]研究中发现, 在干旱胁迫下抗旱性强(多蜡质)的小麦品系较抗旱性差(少蜡质)的小麦品系旗叶水势更高。我们前期研究发现, 在干旱胁迫下的花生主茎倒三叶水势与其籽仁含油率呈极显著正相关, 即籽仁含油率高的花生, 在干旱胁迫下叶片细胞水势高, 而一般含油率的花生水势低^[20], 也即含油率高的花生抗旱性强。利用这一特点, 本研究以 HYP 作为水势(渗透压)调节物质添加于体胚萌发培养基中降低培养基的水势, 模拟干旱胁迫, 培养的一般含油率花生体胚或萌发的小苗因失水而褐化凋亡, 仅有含油率高、抗旱性强的花生体胚或萌发的小苗才能存活。将离体诱变存活的体胚, 转移到添加 6 mmol/L HYP 的体胚萌发培养基(培养基水势为-2.079 MPa)上培养, 大部分体胚凋亡, 最终获得了少量再生小苗。再生苗经嫁接移栽田间, 所有再生植株的后代均有含油率 55% 以上的突变系, 并且姊妹系之间含油率明显分离。例如 13 号再生植株后代株系 13-23-17-1 的含油率仅为 52.6% (结果未列出), 而姊妹系 13 HB-6 的含油率达 59.48%。说明高

含油量基因发生了突变, 经自交纯合, 导致姊妹系含油率发生分离。本研究结果说明, 利用 HYP 作为水势调节物质添加于体胚萌发培养基中, 对离体诱变形成的体胚进行离体定向筛选, 能够存活的必定是高油的, 而非高油的突变或未突变的细胞因失水凋亡被淘汰, 这种筛选方法简单易行, 可节省大量人力物力财力, 提高选育效率。

4 结论

本研究经离体诱变后, 采用降低培养基水势定向筛选高含油量花生突变体, 获得了 132 份含油率超过 55% 的高油突变体, 其中 27 份含油率超过 58%, 并育成了高产高油花生新品种宇花 9 号。宇花 9 号产量比对照增产 14.0%, 含油率达到 61.05%, 是目前国际上含油率最高的花生品种。本研究结果表明, 利用离体诱变、培养基降低水势定向筛选及其再生植株后代进行系统选择是定向培育高油花生品种的有效方法。本研究为花生高油育种开辟了一条新的途径。

REFERENCES

- [1] Huang L, Zhao XY, Zhang WH, et al. Identification of SSR markers linked to oil content in peanut (*Arachis hypogaea* L.) through RIL population and natural population. *Acta Agron Sini*, 2011, 37(11): 1967-1974 (in Chinese).
黄莉, 赵新燕, 张文华, 等. 利用 RIL 群体和自然群体检测与花生含油量相关的 SSR 标记. *作物学报*, 2011, 37(11): 1967-1974.
- [2] Chen MN, Chi XY, Pan LJ, et al. The development progress and prospects of peanut breeding in China. *Chin Agric Sci Bull*, 2014, 30(9): 1-6 (in Chinese).
陈明娜, 迟晓元, 潘丽娟, 等. 中国花生育种的发展历程与展望. *中国农学通报*, 2014, 30(9): 1-6.
- [3] Chen SL. Identification and functional analysis of lipid biosynthesis related genes in peanut (*Arachis hypogaea* L.) [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural

- Sciences, 2012 (in Chinese).
陈四龙. 花生油脂合成相关基因的鉴定与功能研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012.
- [4] Yu SL. Genetics and Breeding of Peanuts in China. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2011 (in Chinese).
禹山林. 中国花生遗传育种学. 上海: 上海科学技术出版社, 2011.
- [5] Wang XJ. Studies on Peanut Biotechnology. Beijing: Science Press, 2015 (in Chinese).
王兴军. 花生生物技术研究. 北京: 科学出版社, 2015.
- [6] Yu SL. Varieties and Their Pedigree of Peanuts in China. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2008 (in Chinese).
禹山林. 中国花生品种及其系谱. 上海: 上海科学技术出版社, 2008.
- [7] Ao Y, Pan QH. Phenotypic variation of *Euonymus fortunei* branches treated by ^{60}Co γ -rays irradiation. J Nucl Agric Sci, 2008, 22(3): 271–275 (in Chinese).
敖妍, 潘青华. ^{60}Co γ 射线辐照扶芳藤枝条的表型变异研究. 核农学报, 2008, 22(3): 271–275.
- [8] Yu XL, Liu LX, Qiao LX, et al. Effects of mixed high energy particle field on embryonic leaflet culture and plant regeneration of peanut. J Nucl Agric Sci, 2012, 26(3): 433–438 (in Chinese).
于新玲, 刘录祥, 乔利仙, 等. 高能混合粒子场辐照对花生胚小叶组织培养及植株再生的影响. 核农学报, 2012, 26(3): 433–438.
- [9] Wang JS, Sui JM, Xie YD, et al. Generation of peanut mutants by fast neutron irradiation combined with *in vitro* culture. J Radiat Res, 2015, 56(3): 437–445.
- [10] Wang JS, Zhao MX, Qiao LX, et al. Effects of fast neutron irradiation on plant regeneration in embryonic leaflet culture of peanut (*Arachis hypogaea* L.). Chin J Oil Crop Sci, 2013, 35(2): 148–152 (in Chinese).
王晶珊, 赵明霞, 乔利仙, 等. 快中子辐照对花生种子胚小叶植株再生的影响. 中国油料作物学报, 2013, 35(2): 148–152.
- [11] Wang JS, Qiao LX, Zhao LS, et al. Performance of peanut mutants and their offspring generated from mixed high-energy particle field radiation and tissue culture. Genet Mol Res, 2015, 14(3): 10837–10848.
- [12] Wang Y, Qiao LX, Wu XL, et al. Effect of *in vitro* mutagenesis with pingyangmycin and NaCl-directed screening on production and quality of offspring in peanut. Acta Agric Boreali-Sin, 2015, 30(1): 202–206 (in Chinese).
王亚, 乔利仙, 武秀玲, 等. 平阳霉素诱变与 NaCl 定向筛选对花生后代产量和品质性状的影响. 华北农学报, 2015, 30(1): 202–206.
- [13] Rai MK, Kalia RK, Singh R, et al. Developing stress tolerant plants through *in vitro* selection—an overview of the recent progress. Environ Exp Bot, 2011, 71(1): 89–98.
- [14] Wu WG, Liu GR, Yang XJ. Applications of the mutation in connection with *in vitro* culture for plant breeding. Chin Agric Sci Bull, 2005, 21(11): 197–201 (in Chinese).
吴伟刚, 刘桂茹, 杨学举. 诱变与组织培养相结合在植物育种中的应用. 中国农学通报, 2005, 21(11): 197–201.
- [15] Patade VY, Suprasanna P. An *in vitro* radiation induced mutagenesis-selection system for salinity tolerance in sugarcane. Sugar Tech, 2009, 11(3): 246–251.
- [16] Luo J, Zhou HC, Wang YQ, et al. EMS mutagenesis *in vitro* and screening of calli from strawberry leaves of resistance to *Botrytis chinerea* Pers. J Nucl Agric Sci, 2009, 23(1): 90–94 (in Chinese).
罗静, 周厚成, 王永清, 等. EMS 离体诱变及抗草莓灰霉病愈伤组织的筛选. 核农学报, 2009, 23(1): 90–94.
- [17] Chen L, Dong JW, Tang Y, et al. Selection of salt-tolerant mutants from ethyl methanesulfonate-mutagenized poplar embryonic calli. Acta Agric Shanghai, 2007, 23(3): 86–91 (in Chinese).
陈丽, 董举文, 唐寅, 等. EMS 诱变处理定向筛选杨树耐盐突变体研究. 上海农业学报, 2007, 23(3): 86–91.
- [18] Li H, Li B, Zhao HB, et al. Study on alkalinity resistance of alfalfa callus in mutagenic treatments. Pratac Sci, 2009, 26(7): 32–35 (in Chinese).
李红, 李波, 赵洪波, 等. 诱变处理苜蓿愈伤组织抗碱性的研究. 草业科学, 2009, 26(7): 32–35.
- [19] Zhao MX, Sun HY, Ji RR, et al. *In vitro* mutagenesis and directed screening for salt-tolerant mutants in peanut. Euphytica, 2013, 193(1): 89–99.
- [20] Wang X, Li Y, Zhu H, et al. Directional screening on peanut mutant with high oil content and correlation between oil content and leaf water potential. J Qingdao Agric Univ, 2019, 36(1): 30–33 (in Chinese).

- 王霞, 李艳, 朱虹, 等. 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. 青岛农业大学学报, 2019, 36(1): 30–33.
- [21] Zhang DD, Wang WH, Li G, et al. Chemistry mutagenesis *in vitro* and characteristics of mutants in sweet potato. *Plant Physiol J*, 2016, 52(3): 343–348 (in Chinese).
张丹丹, 王维华, 李冠, 等. 甘薯化学离体诱变及突变体的性状表现. 植物生理学报, 2016, 52(3): 343–348.
- [22] Yan ZM, Feng YN, Han YL, et al. Effects of exogenous proline on proline metabolism of *Cucumis melo* under salt stress. *Acta Bot Bor Occid Sin*, 2015, 35(10): 2035–2041 (in Chinese).
颜志明, 冯英娜, 韩艳丽, 等. 外源脯氨酸对盐胁迫下甜瓜脯氨酸代谢的影响. 西北植物学报, 2015, 35(10): 2035–2041.
- [23] Gillman JD, Tetlow A, Hagely K, et al. Identification of the molecular genetic basis of the low palmitic acid seed oil trait in soybean mutant line rg3 and association analysis of molecular markers with elevated seed stearic acid and reduced seed palmitic acid. *Mol Breed*, 2014, 34(2): 447–455.
- [24] Zhang YB, Xiao L, Dong C, et al. Comparative study on mutagenic effects of pingyangmycin and NaN_3 on wheat. *J Henan Instit Sci Technol: Nat Sci Ed*, 2015, 43(5): 6–9 (in Chinese).
张彦波, 肖磊, 董策, 等. 平阳霉素和 NaN_3 对小麦诱变效应的比较研究. 河南科技学院学报: 自然科学版, 2015, 43(5): 6–9.
- [25] Zeng XH. Comparing effectiveness of different mutagens for seed quality and analysis of mutants in *Brassica napus*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2010 (in Chinese).
曾新华. 不同诱变方法对油菜种子诱变效果及突变体的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.
- [26] Zhang RC, Li W, Pan SJ, et al. Application of chemical mutagenesis in improving germplasm resource. *Mol Plant Breed*, 2017, 15(12): 5189–5196 (in Chinese).
张瑞成, 李魏, 潘素君, 等. 化学诱变在种质资源改良上的应用. 分子植物育种, 2017, 15(12): 5189–5196.
- [27] Shan CJ, Liang ZS. Study on water physiological characteristics of black locust seedling under soil drought condition. *J Shandong Agric Univ: Nat Sci Ed*, 2006, 37(4): 598–602 (in Chinese).
单长卷, 梁宗锁. 土壤干旱对刺槐幼苗水分生理特征的影响. 山东农业大学学报: 自然科学版, 2006, 37(4): 598–602.
- [28] Yang YH, Ma X, Zhang ZS, et al. Effects of drought stress on photosynthetic characteristics of wheat near-isogenic lines with different wax contents. *Sci Agric Sin*, 2018, 51(22): 4241–4251 (in Chinese).
杨彦会, 马晓, 张子山, 等. 干旱胁迫对蜡质含量不同小麦近等基因系光合特性的影响. 中国农业科学, 2018, 51(22): 4241–4251.

(本文责编 郝丽芳)