

国际半干旱热带地区作物研究所花生微核心 种质含油量及脂肪酸分析与鉴定

吕建伟, 姜慧芳, 任小平, 黄家权, 雷 永, 王圣玉, 廖伯寿
(中国农业科学院油料作物研究所 农业部油料作物生物学重点开放实验室, 湖北武汉 430062)

摘要: 以国际半干旱热带地区作物研究所 (ICRISAT) 花生微核心种质为材料, 系统分析测试含油量和脂肪酸组成。分析结果表明, ICRISAT 花生微核心种质的含油量平均为 51.67%, 变异范围 49.16% ~ 55.44%, 珍珠豆型资源的含油量高于其他类型, 发掘出高油种质 1 份。在主要脂肪酸中, 棕榈酸平均含量 10.74%, 变异范围 7.9% ~ 13.5%; 硬脂酸 2.85%, 变异范围 1.8% ~ 3.9%; 油酸 46.36%, 变异范围 37.0% ~ 64.7%; 亚油酸 32.86%, 变异范围 18.0% ~ 40.4%; 饱和脂肪酸含量 19.21%, 变异范围 15.2% ~ 22.1%。普通型花生的油酸含量高于其他类型, 而亚油酸和棕榈酸含量低于其他类型。发掘出高油酸种质 4 份, 低棕榈酸种质 19 份, 低饱和脂肪酸种质 7 份。通过脂肪酸组成的分析, 高油酸种质和低饱和脂肪酸种质均同时具备低棕榈酸的优良特性。SSR 分析结果表明, 这些种质的遗传差异相对较大。根据 5 对 SSR 引物的扩增结果, 绘制了 20 份资源的分子指纹图谱, 为这些优质资源的保护和有效利用奠定了基础。

关键词: 国际半干旱热带地区作物研究所; 花生微核心种质; 含油量; 脂肪酸; 鉴定

Oil and Fatty Acids Variation in ICRISAT Peanut Mini Core Collection

LV Jian-wei JIANG Huifang REN Xiaoping HUANG Jiaquan
LEI Yong WANG Shengyu LIAO Bo-shou
(Key Laboratory of Oil Crop Biology, Ministry of Agriculture
/Oil Crops Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan Hubei 430062)

Abstract Oil content and fatty acid composition are crucial for nutritional value and shelf life of peanut. Increasing oil and oleic acid and decreasing the saturated fatty acids such as palmitic and stearic acids has been important breeding objectives worldwide. In the study, oil content and fatty acids composition of 151 accessions from ICRISAT peanut mini core collection were evaluated. The oil content ranged from 49.16% to 55.44% with an average of 51.67%. The mean oil content in *var. vulgaris* was much higher than that in other botanical types. One high oil content genotype was identified. Major fatty acids, palmitic acid, stearic acid, oleic acid and linoleic acid ranged from 7.9% to 13.5%, 1.8% to 3.9%, 37.0% to 64.7% and 18.0% to 40.4%, respectively. Saturated fatty acids together comprised 15.2% to 22.1% of the total fatty acids. The oleic acid in *var. hypogaea* was higher than that in other botanical types and palmitic and linoleic acids was lower than those in other botanical types respectively. Four genotypes with high oleic acid content, 19 with low palmitic acid content and 7 with low saturated acids content were identified. The results showed that the genotypes with high oleic acid content and genotypes with low saturated fatty acids content possessed the trait of low palmitic acid content. The DNA fingerprints of 20 accessions based on SSR markers which were high oil, oleic acid contents, low palmitic acid and saturated fatty acids were constructed.

Keywords ICRISAT; Peanut mini core collection; Oil content; Fatty acids; Testing and identification

收稿日期: 2009-07-25 修回日期: 2009-12-08
基金项目: 国家科技支撑计划 (2006BAD13B05-2); 国家自然科学基金项目 (30571132); 国家科技基础条件平台项目 (2005DKA21002-13); 农作物种质资源保护项目 (NB05-070401-32)
作者简介: 吕建伟, 硕士研究生, 从事花生种质资源研究

通讯作者: 姜慧芳, 研究员, 从事花生种质资源研究。E-mail: peanutlab@oilcrops.cn

花生是我国重要的植物油脂和蛋白质来源，榨油一直是我国花生最主要的用途^[1-2]。从国内油脂市场需求增长趋势和花生榨油所占比重看，油用型花生是今后我国花生产业发展的主导方向^[3]。目前我国推广的 30 多个主要品种含油量平均仅为 51.4%，尤其是大粒型品种含油量更低，北方主产区种植的一些大花生品种含油量还不到 50%^[2]。据测算，花生榨油原料含油量每提高 1 个百分点，加工企业效益可增加 7% 以上^[2-3]。因此，通过遗传途径提高花生品种含油量，是促进我国花生油脂产业良性发展、增强市场竞争力的基本前提。

影响花生油脂品质的主要因素是脂肪酸组成^[4-6]。花生油脂中含量最多的是油酸^[7-9]，其次是亚油酸^[7-9]，再次是棕榈酸^[8-10]。油酸和亚油酸是不饱和脂肪酸，其中油酸为单不饱和脂肪酸，亚油酸为多不饱和脂肪酸，油酸含量相对较高而亚油酸含量相对较低，有利于花生及制品的贮藏和提高货架寿命。棕榈酸是饱和脂肪酸，其含量过高，对人体健康不利^[11-13]。因此，提高花生油酸含量、降低棕榈酸等饱和脂肪酸含量是花生品质改良的重点，也是国内外研究的热点之一^[14-15]。

在我国过去的花生育种中，相对于高产和抗病性而言，含油量育种进展缓慢，脂肪酸育种开展较少，主要原因除含油量和脂肪酸测试技术繁琐、费用较高外，可供利用的优良高油种质和高油酸低饱和脂肪酸种质较少也是主要原因之一^[2-3]。因此，广泛发掘高油种质和高油酸低饱和脂肪酸种质是花生产业长远发展的重要基础性课题。本研究以 ICRISAT 花生微核心种质为材料，分析测试其含油量和脂肪酸组成，旨在发掘优良种质资源，为花生品质育种提供基础材料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

ICRISAT 花生微核心种质 151 份。

1.2 试验方法

2006–2007 年连续 2 年在湖北武汉种植，成熟收获后晒干。选取饱满无发芽、无破损、无病斑的新鲜干花生种子，由农业部油料及制品质量监督检验测试中心按 GB/T 14488.1-1993 分析含油量，按 GB/T 17377-1998 分析脂肪酸。

1.3 SSR 分析

选取花生健康幼叶，用 CTAB 法提取基因组 DNA^[3]。用国际半干旱研究所（ICRISAT）生物技术

实验室提供 SSR 引物序列，由上海生工公司或北京奥科公司合成的引物进行 PCR 扩增，PCR 反应按本实验室建立的优化体系进行^[3]；用 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离扩增产物，银染显色，电脑扫描。

2 结果与分析

2.1 ICRISAT 花生微核心种质含油量的遗传分化及高油种质的发掘

通过连续 2 年分析的平均结果，ICRISAT 花生微核心种质含油量 49.16% ~ 55.44%，平均 51.67%。151 份资源的含油量分布如表 1 所示，绝大部分资源的含油量在 53% 以下。发现含油量达 53% 以上的种质 1 份（ICG12672），含油量为 55.44%，在植物学分类上属于普通型。赤道型、秘鲁型和多粒型花生的含油量平均值 51.22%，变异范围 49.16% ~ 54.14%，含油量大于 51.67% 的 11 份，占该类型资源的 33.3%。珍珠豆型资源含油量平均 52.14%，变异范围 49.23% ~ 54.82%，含油量大于 51.67% 的 43 份，占该类型资源的 68.3%。普通型含油量平均 51.41%，变异范围 49.33% ~ 55.44%，含油量大于 51.67% 的 19 份，占该类型资源的 34.5%。可见，在 ICRISAT 花生资源中，珍珠豆型种质的含油量相对较高。

表 1 ICRISAT 花生微核心种质含油量分布
Table 1 Distribution of oil content in ICRISAT mini core collection

含油量范围 (%) Range of oil content	种质份数 Accession number	含油量范围 (%) Range of oil content	种质份数 Accession number
49.01~ 50.00	15	53.01~ 54.00	13
50.01~ 51.00	34	54.01~ 55.00	6
51.01~ 52.00	38	55.01~ 56.00	1
52.01~ 53.00	44		

2.2 ICRISAT 花生微核心种质脂肪酸组成的遗传分化及高油酸低饱和脂肪酸优异种质的筛选

通过对 151 份资源的分析，在 8 种脂肪酸中，棕榈酸平均含量 10.74%，与中国花生小核心种质接近（10.73%）^[8]，变异范围 7.9% ~ 13.5%。硬脂酸和油酸平均含量分别为 2.85% 和 46.36%，均低于中国花生小核心种质的对应值（3.21% 和 47.96%），变异范围分别为 1.8% ~ 3.9% 和 37.0% ~ 64.7%。亚油酸平均含量为 32.86%，高于中国花生小核心种质的对应值（31.82%）^[8]，变异范围 18.0% ~ 40.4%。其他脂肪酸的平均含量为：

花生酸 1.44%，花生烯酸 1.11%，廿四碳烷酸 1.30%；山嵛酸 2.89%，高于中国花生小核心种质的对应值（2.51%）^[8]。可见，在 ICRISAT 花生微核心种质油脂中，油酸含量最高，其次是亚油酸，第三是棕榈酸，这 3 种脂肪酸之和占总脂肪酸的 89.96%；第四是山嵛酸，第五是硬脂酸，这 5 种脂肪酸之和占总脂肪酸的 95.7%。棕榈酸、硬脂酸、花生酸、山嵛酸和廿四碳烷酸是饱和脂肪酸，平均饱和脂肪酸含量为 19.21%，变异范围 15.2% ~ 22.1%。不同类型花生的脂肪酸组成见表 2。

表 2 不同类型花生脂肪酸含量平均值及变异范围

Fatty acid	赤道型、秘鲁型及多粒型 <i>aequatoriana, peruviana, fastigiata</i>	珍珠豆型 <i>vulgaris</i>	普通型 <i>hypogaea</i>
棕榈酸 palmitic	10.93 (9.6~12.9)**	11.84 (8.8~13.5)	9.37 (7.9~12.5)
硬脂酸 stearic	2.93 (1.8~3.7)	3.15 (2.4~3.9)	2.45 (1.8~3.3)
油酸 oleic	41.74 (37.8~46.4)	41.89 (37.0~54.5)	54.25 (38.2~64.7)
亚油酸 linoleic	37.20 (33.6~40.1)	35.94 (27.2~40.4)	26.72 (18.0~39.4)
花生酸 arachidic	1.46 (1.1~1.7)	1.53 (1.3~1.7)	1.31 (1.1~1.8)
花生烯酸 eicosenoic	1.06 (0.8~1.4)	0.95 (0.8~1.5)	1.32 (0.9~1.6)
山嵛酸 behenic	2.95 (2.7~3.3)	3.03 (2.3~3.5)	2.68 (2.3~3.9)
廿四碳烷酸 lignoceric	1.32 (1.1~1.6)	1.21 (1.0~1.5)	1.39 (1.1~1.8)
饱和脂肪酸 saturated fatty acid together	19.60 (18.3~20.9)	20.76 (16.7~22.1)	17.2 (15.2~21.1)

* 为平均值，** 括号内数值是变异范围 * , ** means average, the number in brackets are range respectively

从平均值看，在饱和脂肪酸中，普通型花生的棕榈酸、硬脂酸、花生酸和山嵛酸含量均最低，分别为 9.37%、2.45%、1.31% 和 2.68%，廿四碳烷酸最高，为 1.39%。珍珠豆型花生的这 4 种饱和脂肪酸含量均最高，分别为 11.84%、3.15%、1.53% 和 3.03%，廿四碳烷酸最低，为 1.21%。在不饱和脂肪酸中，普通型花生的油酸和花生烯酸含量最高，分别为 54.25% 和 1.32%，亚油酸含量最低，为 26.72%。珍珠豆型与赤道型、秘鲁型及多粒型的油酸含量接近，分别为 41.89% 和 41.74%。这些结果表明，在油脂品质方面，普通型花生相对较优。

通过上述分析，获得高油酸（含量达 60% 以上）种质 4 份，分别为 ICG8285（60.9%）、ICG5745（61.2%）、ICG3053（63.6%）和 ICG8490（64.7%）。低棕榈酸（含量 9% 以下）种质 19 份，分别为 ICG849Q、ICG3053、ICG10185、ICG8285、ICG3027、ICG4598、ICG9777、ICG721、ICG5745、ICG2777、ICG5891、ICG118、ICG312Q、ICG1668、ICG928、ICG9961、ICG9842、ICG513 和 ICG5663。其中有 4 份种质与高油酸种质重复。低饱和脂肪酸种质 7 份（含量 16% 以下），分别为 ICG849Q、ICG3053、ICG513、ICG721、ICG1668、ICG9961 和 ICG8285。这 7 份种质均包含在低棕榈酸种质中。由此可见，高油酸种质同时具备低棕榈酸的优良特性，低饱和脂肪酸种质也同时具备低棕榈酸的优良特性。这

19 份高油酸、低棕榈酸、低饱和脂肪酸种质均属普通型。

2.3 优良种质的 SSR 指纹图谱

以上述高油种质（1 份）和高油酸、低棕榈酸、低饱和脂肪酸种质（19 份）为材料，通过 SSR 技术分析了其遗传多样性和指纹图谱。在 106 对引物中，获得 22 对扩增效果好且具多态性的引物。22 对引物共扩增出 70 条多态性带，平均每对引物扩增出 3.18 条多态性带，扩增片段大小介于 145~720bp 之间，其中 16C06 和 14H06 两对引物扩增获得的多态性条带最多，均为 6 条。

利用 NTSYS 软件对这些优质材料的 SSR 扩增结果进行分析，结果表明 20 份种质间的相似系数为 0.41~0.89。ICG9842 与 ICG5663、ICG9842 与 ICG5891 和 ICG9777 与 ICG9961 之间的相似系数最大，均为 0.89。ICG12672 与其他种质间的相似系数均较小，变异在 0.41~0.61 之间。

类平均法聚类分析结果表明，高油种质 ICG12672 与其他种质的差异较大，单独聚为一组（B 组），其他 19 份种质组成 A 组（图 1）。A 组进一步分为 2 个亚组（A1 和 A2），A1 亚组由 ICG1668、ICG3120 等 14 份资源组成，其中 ICG9842 与 ICG5663 和 ICG9777 与 ICG9961 分别聚在一起，4 份高油种质也聚在这一亚组中。A2 亚组由 ICG118、ICG513 等 5 份资源组成。

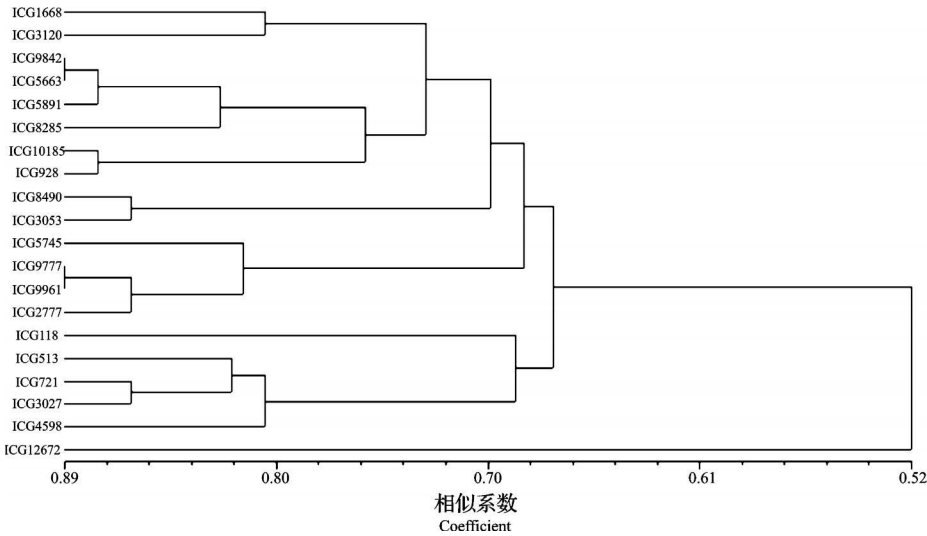


图 1 高油及高油酸低棕榈酸种质 SSR 聚类图

Fig 1 Dendrogram of genotypes with high oil and oleate as well as low palm itic acids

综合分析 22 对引物扩增获得的多态性，其中 5 对引物（2A 06 3B08 2B10 PM 436 和 PM 137）即可将 20 份种质完全区分开。将引物编号和扩增片段大小以及片段的有无（1 和 0）按顺序组成字符串，构成各个种质的分子指纹，20 份优质资源的 DNA 指纹如表 3。

表 3 高油和优良脂肪酸组成花生种质的 SSR 指纹

种质 G enotype	引物扩增位点及片段长度（bp）Primer and band length													
	2A 06		3B08			2B10		PM 436				PM 137		
	410	430	410	420	430	320	330	350	370	400	420	165	170	175
EG 1668	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0
EG 3120	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1	0
EG 9842	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0
EG 10185	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0
EG 8490	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0
EG 928	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0
EG 118	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0
EG 513	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1
EG 721	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
EG 3053	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1
EG 3027	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
EG 4598	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1
EG 5663	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0
EG 5745	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
EG 5891	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1
EG 8285	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0
EG 9777	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0
EG 9961	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0
EG 12672	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1	0
EG 2777	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1

3 讨论

国际半干旱地区热带作物研究所 (ICRISAT) 按资源来源和资源的植物学类型分层分组, 在每组内直接按 10% 的比例取样, 建立了花生核心种质 (以 11.9% 的样本数代表全部样本)^[16] 和微核心种质 (以 1.29% 的样本数代表全部样本)^[17], 通过检测核心种质与基础收集品的平均值差异表明, 用大约 1% 的样本数代表全部样本数的微核心种质是有效的, 基础收集品中的各种性状变异在微核心种质中均存在, 而且核心种质和微核心种质更有利于开展对花生资源的鉴定^[18] 和遗传多样性研究^[19]。本研究首次以 ICRISAT 花生微核心种质为材料, 全面系统地检测和分析了其含油量和脂肪酸组成的遗传变异。分析结果表明, 普通型花生的油酸含量高于其他类型, 而亚油酸和棕榈酸含量低于其他类型。发掘出高油种质 1 份, 高油酸种质 4 份, 低棕榈酸种质 19 份, 低饱和脂肪酸种质 7 份, 丰富了优质遗传基础。通过脂肪酸组成的分析, 高油酸种质同时具备低棕榈酸的优良特性, 低饱和脂肪酸种质也同时具备低棕榈酸的优良特性。因此, 在花生品质性状选择中, 在选择低棕榈酸的同时, 也选择了高油酸和低饱和脂肪酸的优良特性。

所涉及的 19 份高油酸、低棕榈酸、低饱和脂肪酸种质和 1 份高油种质的 SSR 分析结果显示, 这些种质的遗传相似系数在 0.41~0.89 之间, 表明这些种质的遗传差异相对较大, 尤其是高油种质与其他种质的差异较大。在所用的 22 对 SSR 引物中, 5 对即可将所涉及的 20 份优质材料完全区分开。本研究构建了 20 份资源的分子指纹图谱, 为这些优质资源的保护和有效利用奠定了基础。

参考文献

[1] 王耀波, 张艺兵, 张鹏, 等. 入世后中国花生产业发展前景及

促进出口对策[J]. 花生学报, 2003, 32(增刊): 24-29

- [2] 廖伯寿. 中国花生油脂产业竞争力分析[J]. 花生学报, 2003, 32(增刊): 11-15
- [3] 廖伯寿, 雷永, 王圣玉, 等. 花生重组近交系群体的遗传变异与高油种质的创新[J]. 作物学报, 2008, 34(6): 999-1004
- [4] 万勇善, 谭忠, 范晖, 等. 花生脂肪酸组分的遗传效应研究[J]. 中国油料作物学报, 2002, 24(1): 26-28
- [5] 姜慧芳, 段乃雄. 花生油脂品质及含油量、油酸和亚油酸含量的相关分析[J]. 花生科技, 1993, 2: 4-5
- [6] 雷永, 廖伯寿. 花生高油酸遗传育种研究进展[C]/第五届全国花生学术研讨会论文集, 北京: 中国农业科技出版社, 2007: 101-105
- [7] 刘桂梅, 梁泽萍. 我国花生种质资源主要品质性状分析[J]. 中国油料, 1993, 15(1): 18-21
- [8] 姜慧芳, 任小平, 黄家权, 等. 中国花生小核心种质及高油酸基因源的发掘[J]. 中国油料作物学报, 2008, 30(3): 287-291
- [9] Isleib T G, Yong C T, Knauff D A. Faty acid genotypes of five Virginia-type cultivars[J]. Crop Sci 1996, 36: 556-558
- [10] Norden A J, Gorbet D W, Knauff D A, et al Variability in oil quality among peanut genotypes in Florida breeding program[J]. Peanut Sci 1987, 14: 7-11
- [11] 田永全. 脂肪酸的营养功能[J]. 中国食物与营养, 2007(8): 51-52
- [12] 姚云游. 花生与橄榄油营养价值值的比较[J]. 中国油脂, 2005, 30(4): 66-68
- [13] 李铎. 脂肪酸和脂质与人体健康[J]. 国际学术动态, 2007, 5: 12-13
- [14] Jung S, Powell G, Moore K, et al The high oleate trait in cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.): II Molecular basis and genetics of the trait[J]. Mol Gen Genet 2000, 263: 806-811
- [15] Lopez Y, Smith O D, Sensen SA, et al Genetic factors influencing high oleic acid content in Spanish market-type peanut cultivars[J]. Crop Sci 2001, 41: 51-56
- [16] Upadhyaya H D, Ortiz R, Branel P J, et al Development of a groundnut core collection using taxonomical geographical and morphological descriptors[J]. Genet Resour Crop Evol 2003, 50(2): 139-148
- [17] Upadhyaya H D, Branel P J, Ortiz R, et al Developing a mini core of peanut for utilization of genetic resources[J]. Crop Sci 2002, 42: 2150-2156
- [18] Upadhyaya H D, Nigam S N, Singh S Evaluation of groundnut core collection to identify sources of tolerance to low temperature at germination[J]. Indian J Plant Genet Resour 2001, 14: 165-167
- [19] Upadhyaya H D. Phenotypic diversity in groundnut (*A. hypogaea* L.) core collection assessed by morphological and agronomical evaluations[J]. Genet Resour Crop Evol 2003, 50(5): 539-550

欢迎 订阅

《新疆农业科学》是由新疆农业科学院、新疆农业大学、新疆农学会主办的国内外公开发行的综合性农业学术期刊, 中国科技核心期刊、中文核心期刊。

月刊, 2011年 216页/期, 定价: 16元/册, 全年 192元, 邮发代号: 58-18, 订阅: 全国各地邮局、所

地址: (830091)乌鲁木齐市南昌路 403号 新疆农业科学院《新疆农业科学》编辑部

电话: 0991-4502046

E-mail xjnykx-h@xaas.ac.cn

《山东农业科学》是山东省农业科学院、山东农学会、山东农业大学共同主办的综合性农业科技期刊, 中国科技核心期刊、第二届和第三届中国期刊奖百种重点期刊、中国期刊方阵双百期刊、中国农学会优秀期刊、山东省十佳期刊、华东地区最佳期刊。

月刊, 大 16开本, 128页, 每期定价 10元, 全年定价 120元, 国内外公开发行业, 邮发代号 24-2 各地邮局及本刊编辑部均可订阅。

地址: (250100)济南市桑园路 28号

电话: 0531-83179268

邮箱: sdnykx@saas.ac.cn sdnykx@sina.com