

分子标记辅助选择高油酸花生 品种冀农花 10 号的选育

侯名语¹ 李丽² 崔顺立¹ 李文平³ 刘盈茹¹ 李秀坤¹ 刘立峰¹

(¹河北农业大学,保定 071001; ²河北工程大学,邯郸 056038; ³河北省保定市农业科学院,保定 071001)

摘要:冀农花 10 号是河北农业大学以海花 1 号为母本、GYS01 为父本,杂交后代采用衍生系统法,结合分子标记和近红外辅助选择技术选育而成。2018 年 9 月通过农业农村部非主要农作物品种登记。冀农花 10 号为普通型小果花生,具有高产、高油酸、抗逆性强、适应性广等突出优点,适宜河北省各花生产区种植。对冀农花 10 号的选育过程、特征特性及产量表现进行了介绍,为冀农花 10 号的大面积推广应用提供指导。

关键词:高油酸;花生;分子标记;冀农花 10 号;选育

花生是我国重要的油料作物^[1],花生籽仁中含有 50% 左右的脂肪,花生脂肪酸中主要含有棕榈酸(Palmitic acid, C16:0)、硬脂酸(Stearic acid, C18:0)、油酸(Oleic acid, C18:1)、亚油酸(Linoleic acid, C18:2)、花生酸(Arachidic acid, C20:0)、花生烯酸(Cis-11-Eicosenoic acid, C20:1)、山嵛酸(Docosanoic acid, C22:0)和二十四碳烷酸(Lignoceric acid, C24:0)等 8 种主要脂肪酸。其中油酸含量是评价花生油质量的一个重要指标。油酸的分子式为 C₁₈H₃₄O₂,为单不饱和脂肪酸,其含量高低影响花生制品的风味及货架期。在膳食营养中,油酸具有调节人体脂质代谢、改善心血管疾病、消炎等保健功能^[2-4]。提高花生中的油酸含量已成为花生育种的重要任务。

亚油酸也是十八碳烯脂肪酸,油酸脱饱和生成亚油酸,两者的比例(油亚比)也是衡量高油酸花生种质的重要指标。 $\Delta 12$ 脂肪酸脱氢酶(FAD, Fatty acid desaturase)是油酸生成亚油酸的关键酶。相对于普通花生,在高油酸花生基因型中, *ahFAD2A* 和 *ahFAD2B* 序列具有点突变或插入突变^[2,4]。根据突变序列,已开发了 CAPS (Cleaved amplified polymorphic sequence)和 AS-PCR (Allele-specific PCR)标记^[4],并已广泛应用于高油酸花生育种研究中。本研究选用在 *ahFAD2A* 和 *ahFAD2B* 序列具有点突变的花生种质 GYS01 作为亲本,与高产广适品种海花 1 号杂交,在后代选育中采用 AS-PCR 标记结合近红外分析仪检测技术,选育出冀农花 10 号高油酸品种。

1 亲本来源及选育过程

1.1 亲本来源 父本材料为 GYS01,是河北农业大学花生研究所高油酸种质,具有油酸含量高、抗逆性强、株型匍匐等特征特性,油酸含量 80.07%,亚油

基金项目:国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-13);河北省现代农业产业技术体系建设专项(HBCT2018090202);河北省重点研发计划项目(21326316D-2)

通信作者:刘立峰

参考文献

- [1] 陈传华,李虎,刘广林,陈远孟,罗群昌. 广西香稻育种现状及发展策略. 中国稻米, 2017, 23 (6): 117-120
- [2] 王威豪,石瑜敏,韦善富,刘百龙,毛昌祥. 优质香稻新品种中广香 1 号及无公害栽培技术. 中国种业, 2011 (8): 71-73
- [3] 何俊,莫振勇,莫桂林,梁劲. 优质稻“丝香 1 号”的选育及高产栽培技术. 广西农业科学, 2010, 41 (2): 120-121
- [4] 刘驰,秦钢,张月雄,马增凤,韦敏益,李振经,岑贞陆,颜群,黄大辉. 优质常规稻品种桂野丰的选育与栽培技术. 种子, 2020, 39 (2):

131-133

- [5] 刘广林,罗翠萍,黄起东,黄世旅,莫千持,易小林,梁忠明,梁仁敏,陈传华,李虎,吴子帅,罗群昌. 广西优质稻米产业现状及发展对策. 中国稻米, 2020, 26 (4): 51-56
- [6] 林爵卫,邓荣烈,吴定刚,李新,黄煊隆. 广西宾阳县香稻产业化现状及发展对策. 中国种业, 2022 (4): 34-37
- [7] 陈传华,刘广林,李虎,罗群昌,陈远孟,朱其南. 优质常规水稻新品种桂育 11 号的选育. 种子, 2019, 38 (2): 121-123

(收稿日期: 2022-05-27)

酸含量 3.53%, 油亚比 22.68。母本材料为海花 1 号 (图 1), 是由山东省花生研究所和山东省海阳县农业局联合培育的高产稳产大果花生品种, 油酸含量 41.75%, 亚油酸含量 36.82%, 油亚比 1.13, 直立型, 在我国黄淮海流域广泛种植。

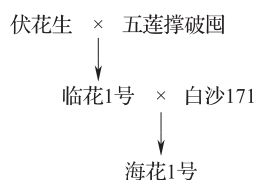


图 1 母本海花 1 号系谱图

在 *ahFAD2A/ahFAD2B* 基因序列中, GYS01 含有与高油酸突变体 F435 相同的突变位点, 即 *ahFAD2A* (*OL1*) 在起始密码子后第 448 位点处 GYS01 为 A, 海花 1 号为野生型 G (图 2a); GYS01 的 *ahFAD2B* (*OL2*) 在起始密码子后第 442 处插入 A, 海花 1 号无此插入 (图 2b)。

1.2 选育过程 2009 年在河北农业大学试验农场花生杂交圃种植父本 GYS01 和母本海花 1 号, 进行杂交, 获得 F_1 杂交种。2009 年 11 月在海南三亚种植 F_1 杂交种。取幼苗叶片提取基因组 DNA, 利用 AS-PCR 反应检测基因型是否为 OL_1ol_1/OL_2ol_2 , 以鉴定真假杂交种。2010 年 3 月收获 F_2 种子。2010 年 5 月在保定农研所试验田种植 F_2 种子, 9 月收获得到 F_3 种子。2010 年 11 月在海南三亚加代。2011 年 3 月获得衍生系统 F_4 种子; 5 月在保定农研所试验地种植 F_4 , 进行测产评价, 淘汰不良衍生系, 获得 F_5 系统种子; 11 月在海南三亚加代。2012 年 3 月得到 F_6 种子, 同年对每个入选的衍生系统 F_6 大量选择单株, 获得 F_7 种子; 年底在三亚将每个单株种成株系, 按衍生系统混合获得冀农 G32。从 $F_2 \sim F_6$, 每代在幼苗期取样提取基因组 DNA 进行 AS-PCR 检测, 收获的种子用近红外光谱模型检验油酸含量,

根据检测结果, 保留 ol_1ol_1 与 ol_2ol_2 基因型及油酸含量 >45% 的株系。 F_6 种植时, 以冀花 2 号作为产量对照, 进行植株性状、产量性状的鉴定。在产量和高油酸双重压力下, 保留高产高油酸花生新材料。2013 年在清苑、深州、新乐等地进行品系比较试验, 平均荚果产量 329.8kg/667m², 比对照冀花 2 号增产 9.0%。2014 年在清苑、深州、新乐等地进行品系比较试验, 平均荚果产量 373.5kg/667m², 比对照冀花 2 号增产 7.3%。2015 年参加了高油酸品系鉴定试验, 比冀花 2 号增产显著。2018 年提交农业农村部非主要农作物品种登记, 登记编号为 GPD 花生 (2018) 130264, 命名为冀农花 10 号。

1.3 AS-PCR 法检测 *ahFAD2A* 和 *ahFAD2B* 基因型

基因组 DNA 的提取采用 CTAB 法。检测 *ahFAD2A/ahFAD2B* 的引物序列及基因型判定见表 1 和表 2, PCR 条件参照李丽等^[4]。通过不同的引物组合组成 4 个 AS-PCR 反应 (表 2), 以检测 *ahFAD2A* 的野生型 OL_1 和突变型 ol_1 , *ahFAD2B* 的野生型 OL_2 和突变型 ol_2 。根据电泳结果的带型判断基因型, GYS01 的 *ahFAD2A* 和 *ahFAD2B* 的基因型为 $ol_1ol_1ol_2ol_2$ (图 3a), 海花 1 号的基因型为 $OL_1OL_1OL_2OL_2$ (图 3c), 在后代选择中, 为保证高油酸, 选择与 GYS01 的检测结果相同的带型 (图 3a)。经检测, 冀农花 10 号的 *ahFAD2A* 和 *ahFAD2B* 为 $ol_1ol_1ol_2ol_2$ 高油酸突变基因型 (图 3b)。

2 品种特征特性

2.1 植物学特性 2017~2018 年连续进行 2 年调查, 冀农花 10 号的植物学特征为: 连续开花、疏枝、直立, 叶片绿色、长椭圆, 主茎高 62.3cm、侧枝长 73.7cm、总分枝数 9 个、结果枝数 7 个、单株饱果数 12.9 个。荚果普通形、缩缢较浅, 果嘴钝, 百果重 168.3g。籽仁球形, 种皮浅红色, 百仁重 66.3g, 出仁率 72.3%, 生育期 121d。

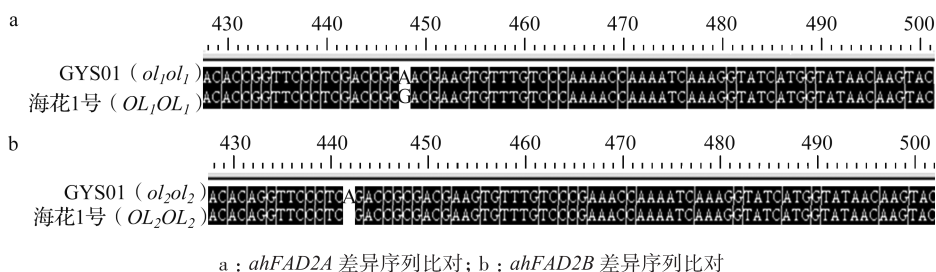


图 2 两亲本的 *ahFAD* 差异序列比对

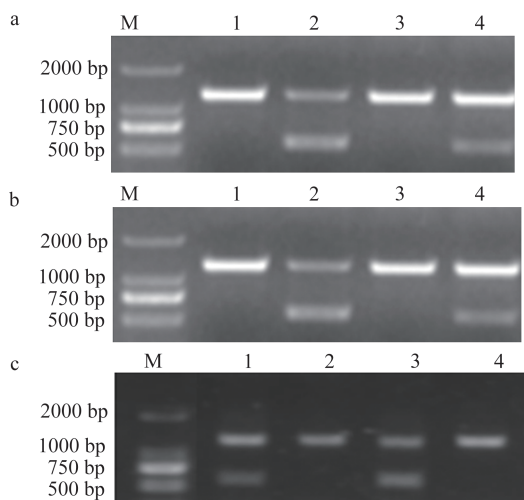
表1 鉴定高油酸基因型 AS-PCR 反应所用引物

引物序号	引物名称	引物序列(5'→3')	引物用途
1	FAD2A-F	GATTACTGATTATTGACTTGCTTTG	FAD2A 上游引物
2	FAD2A-G	GTTTTGGGACAAACACTTCTTC	FAD2A 上游野生型 <i>OL₁</i> 特异引物
3	FAD2A-A	GTTTTGGGACAAACACTTCTTT	FAD2A 上游突变 <i>ol₁</i> 特异引物
4	FAD2B-F	CAGAACCATTAGCTTTGTAGTAGTG	FAD2B 上游引物
5	FAD2B-C	AACACTTCGTCGCGGTTG	FAD2B 上游野生型 <i>OL₂</i> 特异引物
6	FAD2B-A	AACACTTCGTCGCGGTTT	FAD2B 上游突变 <i>ol₂</i> 特异引物
7	FAD2-R	CTCTGACTATGCATCAGAAGTTGT	下游引物

表2 *ahFAD2A/ahFAD2B* 基因型鉴定标准

PCR	<i>ahFAD2A/ahFAD2B</i> 基因型					
	<i>OL₁OL₁</i>	<i>OL₁ol₁</i>	<i>ol₁ol₁</i>	<i>OL₂OL₂</i>	<i>OL₂ol₂</i>	<i>ol₂ol₂</i>
反应 I	+	+	-			
反应 II	-	+	+			
反应 III				+	+	-
反应 IV				-	+	+

反应 I ~ 反应 IV 是 AS-PCR 反应中的不同引物组合,反应 I : *FAD2A-F*,*FAD2A-G*,*FAD2-R* ;反应 II : *FAD2A-F*,*FAD2A-A*,*FAD2-R* ;反应 III : *FAD2B-F*,*FAD2B-C*,*FAD2-R* ;反应 IV : *FAD2B-F*,*FAD2B-A*,*FAD2-R*。“+”代表反应为阳性,琼脂糖凝胶电泳显示为“有带”;“-”代表反应为阴性,琼脂糖凝胶电泳显示为“无带”



a : GYS01 的电泳图谱; b : 冀农花 10 号的电泳图谱;

c : 海花 1 号的电泳图谱

1:检测 *ahFAD2A* 的野生基因 *OL₁* 的反应 I ; 2:检测 *ahFAD2A* 的突变基因 *ol₁* 的反应 II ; 3:检测 *ahFAD2B* 的野生基因 *OL₂* 的反应 III ; 4:检测 *ahFAD2B* 的突变基因 *ol₂* 的反应 IV

图3 *OL₁OL₁OL₂OL₂* 和 *ol₁ol₁ol₂ol₂* 基因型电泳图谱

2.2 品质与抗病性 经农业农村部油料及制品质量监督检验测试中心检测,含油率 51.0%,蛋白质 23.4%,油酸 79.0%,亚油酸 4.4%,油亚比 17.9。2017 年和 2018 年种植期间进行田间调查,冀农花 10 号抗叶斑病,耐病毒病,抗旱性、耐涝性强。

3 产量表现

2018 年参加高油酸品种鉴定试验,荚果产量 369.2kg/667m²,比对照冀花 4 号增产 5.08%。2019 年新乐市邯邰村高产示范田冀农花 10 号荚果产量高达 478.7kg/667m²。2020 年在深州得朝村高产示范田冀农花 10 号荚果产量高达 482.6kg/667m²。

4 栽培措施

冀农花 10 号适宜在河北省春播地覆膜或露地种植。春播地膜覆盖播期在 4 月 20 日至 5 月 5 日,露地种植播期在 5 月 5-15 日。种植密度 1.0 万 ~ 1.2 万穴 /667m²,每穴 2 粒。生长过程中主要病虫害防治对象是根茎腐病和蛴螬、蓟马等。

参考文献

- [1] 张忠信,刘华,徐静,韩锁义,秦利,董文召,杜培,齐飞艳,张新友,薛璐璐,孙子淇,孙彦辉. 高油高产花生新品种豫花 89 号的选育. 中国种业,2021 (11): 109-111
- [2] 彭美祥,刘懿萱,刘钰,周俊强,樊宏伟,孙自亮,周伟,张佃文. 高油酸花生新品种日花 OL1 号的选育与应用. 安徽农业科学,2020,48 (23): 65-67,71
- [3] 荆建国,李洁,赵平. 高油酸花生新品种濮花 58 号的选育与栽培技术要点. 农业科技通讯,2020 (1): 253-254
- [4] 李丽,何美敬,崔顺立,侯名语,陈焕英,杨鑫雷,王鹏超,刘立峰,穆国俊. 高油酸、中果型花生新材料的创制与鉴定,中国农业科学,2014,47 (19): 3898-3906 (收稿日期: 2022-04-18)