

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2026.55071

花生籽仁总超长链脂肪酸和 7 种脂肪酸组分的 QTL 定位

郑玉珍^{1,2} 齐飞艳^{2,3} 孙子淇^{2,3} 刘 华² 秦 利² 石 磊²
王 娟² 汪蒙蒙² 韩锁义² 徐 静² 苗利娟² 黄冰艳² 董文召²
郑 峥² 张新友^{1,2,3,*}

¹ 沈阳农业大学农学院, 辽宁沈阳 110866; ² 河南省作物分子育种研究院 / 河南省农业科学院 / 河南省油料作物遗传改良重点实验室 / 黄淮海平原油料作物重点实验室(农业农村部), 河南郑州 450002; ³ 神农种业实验室, 河南郑州 450002

摘 要: 花生油的品质主要由其脂肪酸组分决定, 因此改良花生的脂肪酸组分已成为花生育种的关键目标之一。本研究以冀花甜 1 号和 PI478819 为亲本构建的 RIL 群体为材料, 采用 BSA-seq 与传统定位相结合的方法, 对 2 个环境中花生籽仁的总超长链脂肪酸(TVLCFAs)和 7 种脂肪酸组分进行 QTL 定位, 基于检测到的主效 QTL, 开发了相应的 KASP 标记, 并在 RIL 群体中进行验证及评价。共定位到 7 个与 TVLCFAs 和 7 种脂肪酸组分相关的 QTL, 其中 3 个 QTLs (*qA06.1*、*qA08.1* 和 *qA16.1*)与 TVLCFAs 和山嵛酸含量共定位且在 2 个环境中被重复检测到, 表型变异解释率为 7.10%~32.85%。此外, 在 2 个环境中均检测到与油酸、亚油酸和棕榈酸含量相关的 *qA08.1*, 表型变异解释率为 13.73%~29.33%。针对 3 个主效 QTLs 开发的分子标记 Tif2.A06.115805462、Tif2.A08.45741511 和 Tif2.A16.148167815 能有效鉴别 TVLCFAs、花生酸和山嵛酸含量存在差异的材料, 且 Tif2.A08.45741511 还与油酸、亚油酸和棕榈酸含量密切相关。本研究为低 TVLCFAs 和高油酸分子育种提供了宝贵的遗传资源, 并有助于加快低 TVLCFAs 和高油酸等优质专用型花生的分子标记辅助选择育种。

关键词: 花生; 脂肪酸组分; 总超长链脂肪酸; 集群分离体分析测序; QTL 定位

QTL mapping of total very long-chain fatty acids and seven fatty acid components in peanut seeds

Zheng Yu-Zhen^{1,2}, Qi Fei-Yan^{2,3}, Sun Zi-Qi^{2,3}, Liu Hua², Qin Li², Shi Lei², Wang Juan², Wang Meng-Meng², Han Suo-Yi², Xu Jing², Miao Li-Juan², Huang Bing-Yan², Dong Wen-Zhao², Zheng Zheng², and Zhang Xin-You^{1,2,3,*}

¹ College of Agronomy, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, Liaoning, China; ² Institute of Crop Molecular Breeding of Henan Province / Henan Academy of Agricultural Sciences / Henan Provincial Key Laboratory for Genetic Improvement of Oil Crops / Key Laboratory of Oil Crops in Huang-Huai-Hai Plains, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Zhengzhou 450002, Henan, China; ³ The Shennong Laboratory, Zhengzhou 450002, Henan, China

Abstract: Peanut oil quality is largely determined by its fatty acid composition; therefore, improving the fatty acid profile is a key

本研究由辽宁省粮食储藏种质创新专项(2023YYJH1/10200002), 国家重点研发计划项目(2023YFD1202800), 河南省科技项目(232102110234), 财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-13), 河南省现代农业产业技术体系(HARS-22-05-S), 河南省农业科学院杰出青年科技基金(2024JQ06)和河南省农业科学院自主创新项目(2025ZC13)资助。

This study was supported by the Liaoning Province Specialized Program for Grain Storage Germplasm Innovation (2023YYJH1/10200002), the National Key Research and Development Program of China (2023YFD1202800), the Science and Technology Project of Henan Province (232102110234), the China Agriculture Research System of MOF and MARA (CARS-13), the Henan Provincial Agriculture Research System, China (HARS-22-05-S), the Fund for Distinguished Young Scholars from Henan Academy of Agricultural Sciences (2024JQ06), and the Independent Innovation Project of the Henan Academy of Agricultural Sciences (2025ZC13).

* 通信作者(Corresponding author): 张新友, E-mail: haasxinyou@163.com

第一作者联系方式: E-mail: yuzhen1004@163.com

Received (收稿日期): 2025-11-20; Accepted (接受日期): 2026-03-16; Published online (网络出版日期): 2026-03-27.

URL: <https://link.cnki.net/urlid/11.1809.S.20260327.0958.004>

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

objective in peanut breeding. Here, we used a recombinant inbred line (RIL) population derived from the cross Jihuatian 1 × PI478819 to map quantitative trait loci (QTLs) for total very long-chain fatty acids (TVLCFAs) and seven individual fatty acid components across two environments, using a combined strategy of BSA-seq and conventional linkage mapping. Based on the major QTLs, we developed kompetitive allele-specific PCR (KASP) markers and validated them in the RIL population. In total, seven QTLs associated with TVLCFAs and the seven fatty acid components were identified. Three QTLs (*qA06.1*, *qA08.1*, and *qA16.1*) were consistently detected in both environments and co-localized for TVLCFAs and behenic acid content, explaining 7.10%–32.85% of the phenotypic variance (PVE). Notably, *qA08.1* was also associated with oleic acid, linoleic acid, and palmitic acid contents in both environments, with PVE values of 13.73%–29.33%. The markers Tif2.A06.115805462, Tif2.A08.45741511, and Tif2.A16.148167815, developed for these three major QTLs, effectively distinguished lines with contrasting levels of TVLCFAs, arachidic acid, and behenic acid. In addition, Tif2.A08.45741511 was closely associated with oleic acid, linoleic acid, and palmitic acid contents. Overall, these results provide useful genetic resources for breeding peanuts with low TVLCFAs and high oleic acid content and support accelerated marker-assisted selection for high-quality specialty peanut cultivars.

Keywords: peanut; fatty acid composition; total very long-chain fatty acids; BSA-seq; QTL mapping

花生(*Arachis hypogaea* L.)是国际范围内广泛种植的油料和经济作物,其油脂含量为50%左右^[1]。花生油的脂肪酸组成主要包含棕榈酸(C16:0)、硬脂酸(C18:0)、油酸(C18:1)、亚油酸(C18:2)、花生酸(C20:0)、山嵛酸(C22:0)、花生烯酸(C20:1)和二十四烷酸(C24:0)。其中,饱和脂肪酸(C16:0、C18:0、C20:0、C22:0和C24:0)与不饱和脂肪酸(C18:1、C18:2和C20:1)的比例约为1:4^[2-4]。该脂肪酸组成及比例直接决定了花生的营养价值、食用品质、储存性能以及加工特性^[5]。此外,摄入过多的饱和脂肪酸可能会使血液中的低密度脂蛋白胆固醇含量升高,增加心血管疾病的风险^[6-7]。因此,降低饱和脂肪酸含量对提高花生的营养品质至关重要。在花生中,碳原子数超过18的脂肪酸属于超长链脂肪酸(very long-chain fatty acids, VLCFAs)^[8-9], VLCFAs是花生饱和脂肪酸的组成部分,因此,可通过降低总超长链脂肪酸(total very long-chain fatty acids, TVLCFAs)的含量,降低总饱和脂肪酸的含量。

研究发现,花生种质资源的脂肪酸组分含量变异丰富,是可遗传的数量性状^[2-4,10-12],改良潜力大。有学者利用F_{2:4}群体通过BSA-seq (bulk segregant analysis sequence)技术和连锁分析将TVLCFAs的QTLs (quantitative trait loci)定位在A01、B03、B04和B05染色体上^[12]。其次在A05染色体上检测到1个调控花生酸和山嵛酸的主效QTL (*qA05.1*),表型变异解释率为10.4%至27.0%^[11]。在B04染色体上鉴定到2个调控花生酸、山嵛酸的QTL集群(CLB04-1和CLB04-3),表型变异解释率为10.77%至19.26%^[13]。虽然花生籽仁脂肪酸组分的QTL定位研究已取得初步进展,但定位区间大,且对TVLCFAs的QTL研究鲜少,其遗传及调控机制仍不明确。因此,开展花生脂肪酸组分及TVLCFAs的

QTL研究,对花生品质育种具有重要意义。

基于二代测序技术与集群分离分析法结合产生的BSA-seq技术已被广泛应用于多种作物性状定位研究中^[14],该技术虽然能快速高效地鉴定功能基因或QTL,但如果混池样本较少,其连锁区间往往比较大^[15]。基于初定位区间再开发标记,对群体进行连锁分析,能将初定位区间大大缩小,更有利于候选基因的确定。采用BSA-seq与传统定位相结合的方法,在花生中已经鉴定出了众多与产量^[16-17]、品质^[12,18-21]或抗病性^[22-23]相关的遗传位点或候选基因。

本研究以包含422个家系的“冀花甜1号×PI478819”重组自交系(recombinant inbred line, RIL)群体为材料,利用近红外光谱法测定花生的棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、花生酸、山嵛酸和花生烯酸含量,筛选极端家系构建混池进行BSA-seq分析,基于初定位区间开发标记对花生TVLCFAs和各脂肪酸组分含量进行连锁分析,以期花生脂肪酸组分分子标记辅助育种提供理论基础,为选育高油酸、低饱和脂肪酸等优质专用花生品种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料是以脂肪酸组分存在显著差异的冀花甜1号(Jihuatian 1, JHT1)和PI478819为亲本构建的重组自交系(RIL)群体。2个亲本杂交后,采用单粒传法至F₈后,从每个家系中挑选单株构建一个包含422个家系的RIL群体,将F_{9:10}代RIL群体于2022年和2023年分别种植于河南省新乡市原阳县河南现代农业研究开发基地(35°18'N, 113°55'E; 2022YY和2023YY),设2次重复,每个家系种植10粒。JHT1由河北省农林科学院选育,PI478819是外引的花生

种质资源。将 353 份花生种质资源(GWAS 群体)^[24]于 2019 年分别种植于新乡市河南现代农业研究开发基地(35°18'N, 113°55'E; 2019XX)、商丘市农林科学院种植基地(34°52'N, 116°39'E; 2019SQ)和潍坊市农业科学院种植基地(36°42'N, 119°09'E; 2019WF), 设 2 次重复, 每个材料种植 20 粒。试验采用随机区组设计, 单粒播种, 株距 20 cm, 行距 40 cm, 试验区四周种植保护区, 常规大田栽培管理。

1.2 试验方法

1.2.1 TVLCFAs 与脂肪酸组分含量的测定 每个家系(材料)选取 15~20 粒饱满、种皮无破损的花生籽仁, 利用近红外光谱分析仪(DA7200, Perten)测定花生脂肪酸组分含量^[3,11], 每份材料重复 3 次。

TVLCFAs 含量(%)为单个超长链脂肪酸含量的总和, 即 TVLCFAs 含量(%)=花生酸含量(%) + 山嵛酸含量(%) + 花生烯酸含量(%)。RIL 群体中各家系的 TVLCFAs 和各脂肪酸含量为 2 个环境下的平均值。

1.2.2 全基因组重测序和 BSA-seq 分析 选取极端 TVLCFAs 含量的家系, 将其基因组 DNA 等量混合, 构建极端 TVLCFAs 混池。利用 DNBSEQ 平台, 采用双端 150 bp 测序策略进行基因组测序, 混池和亲本的测序深度大于 20×。将 2 个亲本及混池的 Clean reads 与花生参考基因组(*Arachis hypogaea* cv. Tifrunner V2.0)进行比对, 使用 GATK 软件检测单核苷酸多态性(SNP)和插入缺失(InDel)位点的变异情况, 只保留双亲纯合多态的位点用于后续的 BSA-seq 分析。选择 Δ (SNP-index)、G 统计(G-statistic)、欧氏距离(euclidean distance)、Fisher 精确检验

(Fisher-exact test) 4 种算法用于 TVLCFAs 的关联分析, 以 2 Mb 间隔、10 kb 步长进行滑动窗口分析, 选择 99%的置信度作为阈值, 4 种关联方法的共定位区间作为候选的 QTL 区间。以上算法的脚本来源于 R 包(<https://github.com/xiekunwhy/bsa>)。

1.2.3 遗传图谱构建及 QTL 分析 在初定位区间设计竞争性等位基因特异性 PCR (kompetitive allele-specific PCR, KASP)标记, 利用 SNPLINE 基因分型平台(LGC Genomics; <https://www.lgcgroup.com>)对亲本和 RIL 群体进行基因分型。使用 IciMapping 4.2 软件对标记进行连锁分析^[25], 构建遗传连锁图谱, 并利用此软件对 TVLCFAs 和脂肪酸组分 QTL 进行定位(步长=0.1 cm, 置信度=0.001, LOD 值 $\geq$ 2.5)。

1.2.4 数据统计分析 使用 SPSS 27.0 (IBM SPSS, 美国; <https://en.wikipedia.org/wiki/SPSS>)进行基本的统计分析和各性状间的相关性分析。使用 Origin 进行频率分布和多重比较分析, 并绘制直方图和箱线图。

2 结果与分析

2.1 花生籽仁 TVLCFAs 及脂肪酸组分的表型变异分析

对亲本及 RIL 群体的 TVLCFAs 和脂肪酸组分含量分析表明, JHT1 的 TVLCFAs、油酸、硬脂酸、花生酸和山嵛酸含量显著或极显著低于 PI478819, 而亚油酸、棕榈酸和花生烯酸含量显著或极显著高于 PI478819 (表 1)。对 RIL 群体中 TVLCFAs 及各脂肪酸含量频率分布进行统计发现, 各性状存在广泛的变异(图 1), 遗传力为 0.79~0.91 (表 1), 表明

表 1 亲本和 RIL 群体的脂肪酸含量表型变异和遗传分析

Table 1 Phenotypic variation and genetic analysis of fatty acid contents in the parents and the RIL population

性状 Trait	亲本 Parents		RIL 群体 RIL population						
	PI478819	冀花甜 1 号 JHT1	最小值 Min. (%)	最大值 Max. (%)	平均值 Mean (%)	标准差 SD (%)	偏度 Skew.	峰度 Kurt.	遗传力 H^2
油酸 Oleic acid	34.46*	29.50	22.61	42.79	31.09	3.05	0.56	0.75	0.81
亚油酸 Linoleic acid	42.15**	48.85	36.97	53.55	46.51	2.71	-0.48	0.18	0.82
棕榈酸 Palmitic acid	12.71*	13.79	11.71	14.88	13.51	0.51	-0.56	0.76	0.79
硬脂酸 Stearic acid	5.04***	3.21	2.23	5.68	4.34	0.59	-0.32	-0.37	0.90
花生酸 Arachidic acid	1.71***	1.14	0.93	1.83	1.48	0.17	-0.52	-0.59	0.91
山嵛酸 Behenic acid	2.21***	1.41	1.37	2.37	1.95	0.26	-0.72	-0.71	0.91
花生烯酸 Arachidonic acid	0.36*	0.64	0.22	1.02	0.52	0.10	0.18	1.21	0.82
总超长链脂肪酸 TVLCFAs	4.43***	3.19	3.08	4.59	3.95	0.38	-0.68	-0.75	0.90

星号表示存在显著差异(t 检验); *: 在 $P < 0.05$ 水平上差异显著; **: 在 $P < 0.01$ 水平上差异显著; ***: 在 $P < 0.001$ 水平上差异显著。

JHT1: female material Jihuatian 1; PI478819: paternal material PI478819; TVLCFAs: total very long-chain fatty acids. H^2 : heritability. Asterisks indicate significant differences (Student's t -test); *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$.

TVLCFAs 及脂肪酸组分含量主要受遗传因素的控制, 具有丰富的遗传变异, 有利于极端表型的选择, 保证了 BSA-seq 方法的有效性。

2.2 花生籽仁 TVLCFAs 与脂肪酸组分相关性分析

为探究 RIL 群体的 TVLCFAs 与脂肪酸组分之间的关系, 进行了相关性分析(图 1)。TVLCFAs 含量与油酸、硬脂酸、花生酸和山萆酸含量呈极显著正相关, 相关系数分别为 0.27、0.76、0.89 和 0.99, 与亚油酸、棕榈酸和花生烯酸含量呈极显著负相关, 相关系数分别为-0.54、-0.37 和-0.26。油酸与亚油酸、棕榈酸含量呈极显著负相关, 相关系数分别为-0.86 和-0.84; 与花生烯酸含量呈正相关, 相关系数为 0.68, 达极显著水平。亚油酸与棕榈酸含量呈极显著正相关, 相关

系数为 0.73。硬脂酸与花生酸和山萆酸含量呈极显著正相关, 相关系数分别为 0.95 和 0.80; 而与花生烯酸呈极显著负相关, 相关系数为-0.78。花生酸与山萆酸含量间呈极显著正相关, 相关系数为 0.91; 与花生烯酸含量呈极显著负相关, 相关系数为-0.66。TVLCFAs 与各脂肪酸组分间存在极显著的相关性, 这暗示它们在遗传上可能紧密关联, 为共定位 QTL 的挖掘提供了线索。

2.3 BSA-seq 分析

挑选 41 个极高 TVLCFAs 含量家系和 51 个极低 TVLCFAs 含量家系, 分别构建高 TVLCFAs 含量混池(HVP)和低 TVLCFAs 含量混池(LVP)(图 2)。对双亲 JHT1 和 PI478819 及极端混池 HVP 和 LVP 的原

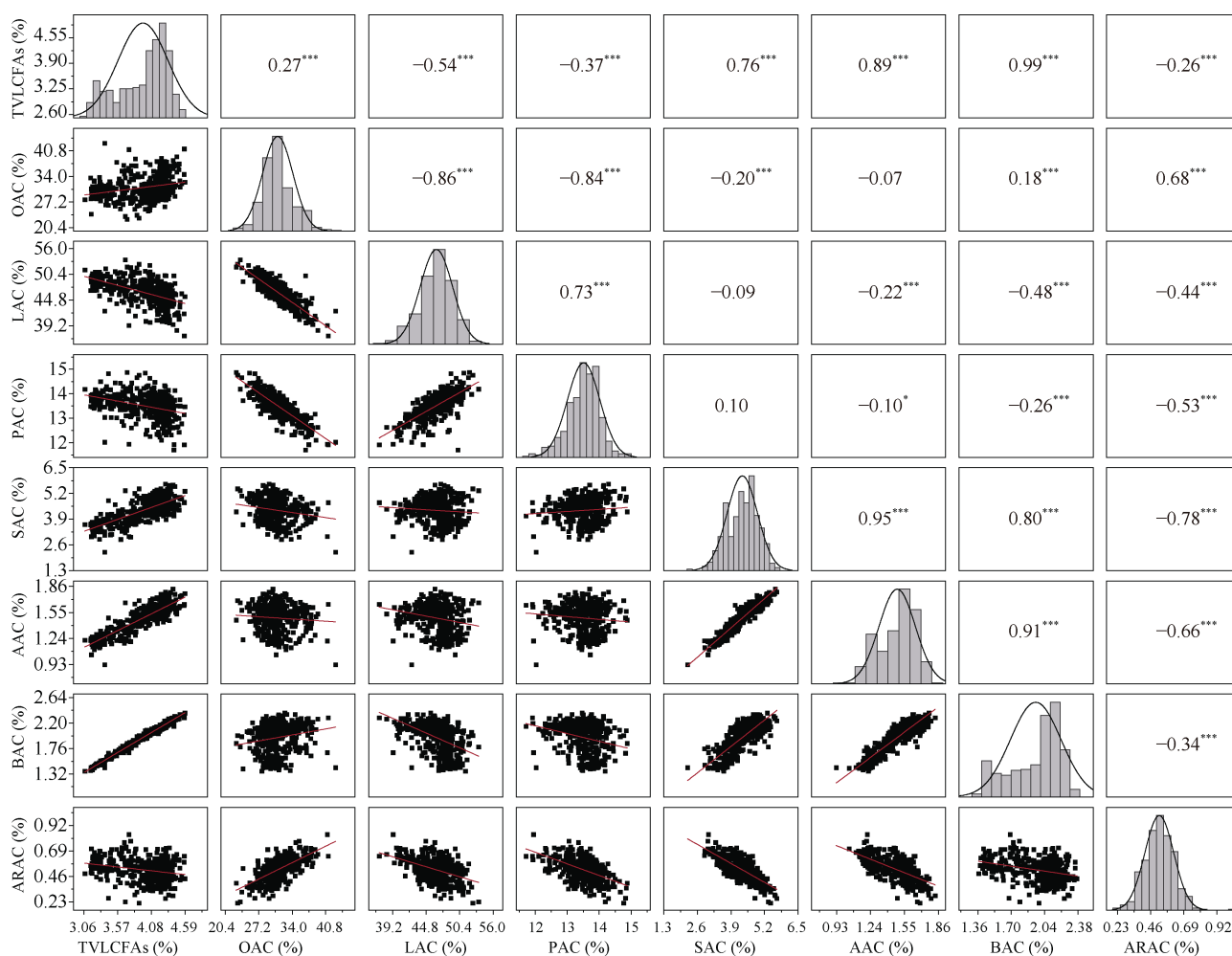


图 1 RIL 群体脂肪酸组分的频率分布及相关性分析

Fig. 1 Frequency distributions and correlation analysis of fatty acid components in the RIL population

TVLCFAs: 总超长链脂肪酸含量; OAC: 油酸含量; LAC: 亚油酸含量; PAC: 棕榈酸含量; SAC: 硬脂酸含量; AAC: 花生酸含量; BAC: 山萆酸含量; ARAC: 花生烯酸含量。星号表示存在显著相关性(t 检验); *, 在 $P < 0.05$ 水平上相关性显著; ***, 在 $P < 0.001$ 水平上相关性显著。

TVLCFAs: total very long-chain fatty acids content; OAC: oleic acid content; LAC: linoleic acid content; PAC: palmitic acid content; SAC: stearic acid content; AAC: arachidic acid content; BAC: behenic acid content; ARAC: arachidonic acid content. Asterisks indicate significant differences (Student's t -test); *, $P < 0.05$; ***, $P < 0.001$.

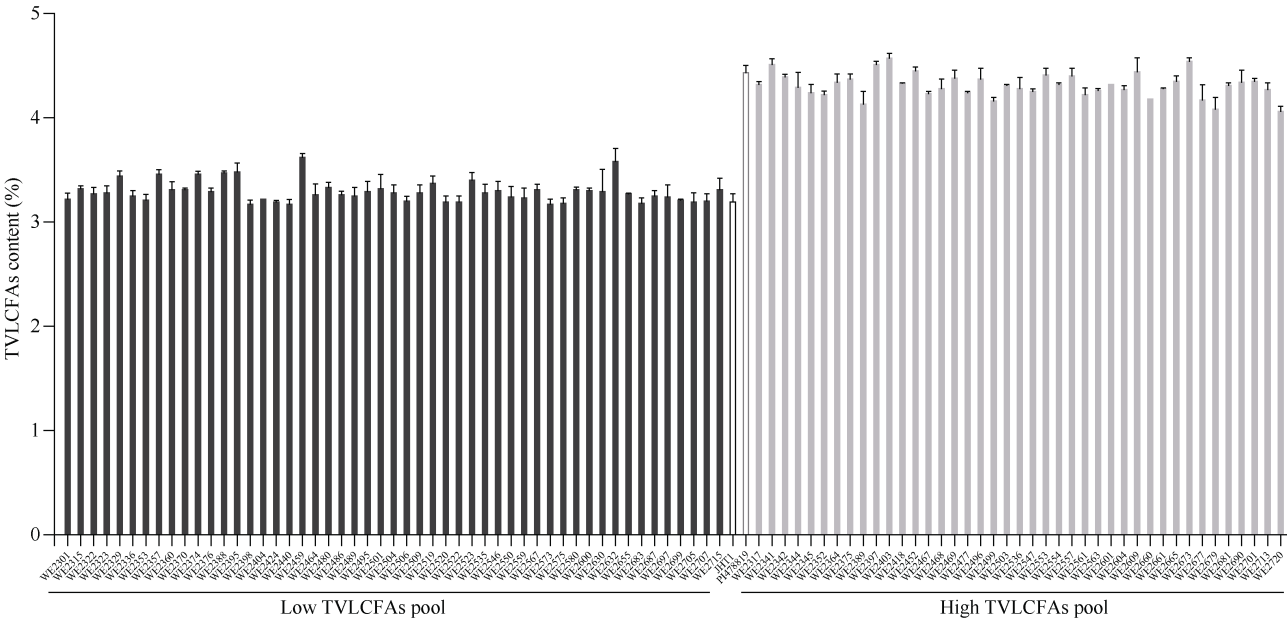


图 2 极端混池家系的 TVLCFAs 含量

Fig. 2 TVLCFAs content in the extreme bulks

误差线表示标准差。TVLCFAs: 总超长链脂肪酸。
Error bars indicate standard deviation. TVLCFAs: total very long-chain fatty acids.

始测序数据进行过滤后, 共获得 Clean data 320.19 Gb, 各样本的 Clean data 在 65.11~98.88 Gb 之间, Q20 在 92%以上, Q30 在 84%以上, GC 含量在 36.66%~38.26%之间。数据检测结果表明, 测序数据质量良好, 可进行后续比对和变异检测分析。将质控后的数据比对到参考基因组, 所有样本的比率为 98.72%~99.08%, 平均测序深度为 32×, 过滤掉低质量的 SNPs/InDels 以及双亲间杂合位点, 共获得了

366,023 个高质量的纯合 SNPs/InDels, 用于 TVLCFAs 的关联分析。

基于 $\Delta(\text{SNP-index})$ 、G 统计、欧氏距离、Fisher 精确检验 4 种算法, 分析 TVLCFAs 的候选基因组区域。将 4 种算法的共定位区间确定为候选区间, 最终在染色体 A06 上 105.21~118.42 Mb、A08 上 44.41~51.52 Mb 和 A16 上 146.72~150.69 Mb 处定位到候选 QTL 区域(表 2)。

表 2 TVLCFAs 含量候选 QTL 区域
Table 2 Candidate QTL regions for TVLCFAs content

算法 Algorithm	染色体 Chromosome	起始 Start (bp)	结束 End (bp)
$\Delta(\text{SNP-index})$	A06	2,530,001	118,420,000
	A08	2,510,001	51,529,986
	A16	1	150,720,000
G-statistic	A06	97,850,001	103,520,000
	A06	105,210,001	118,420,000
	A08	44,410,001	51,529,986
	A16	146,720,001	150,690,000
Fisher-exact test	A06	3,460,001	118,420,000
	A08	4,290,001	7,290,000
	A08	9,180,001	51,529,986
	A16	73,370,001	150,720,000
Euclidean distance	A06	104,860,001	118,420,000
	A08	40,570,001	43,930,000
	A08	44,410,001	51,529,986
	A16	146,430,001	150,690,000

2.4 TVLCFAs 和脂肪酸组分相关的 QTL 分析

在 3 个候选区间选取亲本间具有多态性且纯合的 27 个 SNPs/InDels 位点开发 KASP 标记(未发布)。基于 27 个 KASP 标记在 RIL 群体中的基因分型结果

构建连锁图谱, 连锁群 LG06 包含 10 个 KASP 标记, 遗传距离为 3.8 cM; 连锁群 LG08 包含 6 个 KASP 标记, 遗传距离为 16.1 cM; 连锁群 LG16 包含 11 个 KASP 标记, 遗传距离为 13.6 cM (图 3)。

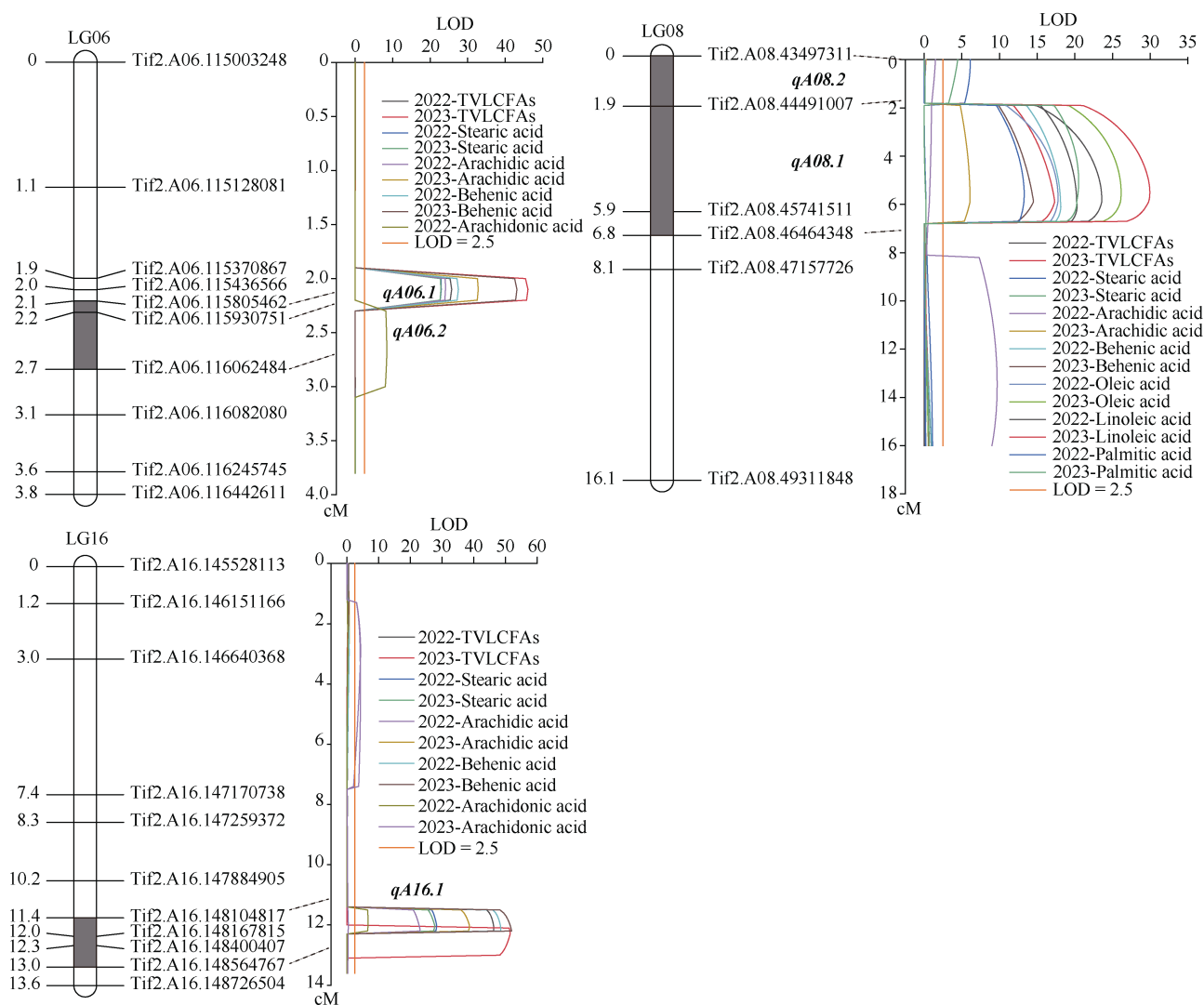


图 3 连锁遗传图谱的构建

Fig. 3 Construction of the genetic linkage map

TVLCFAs: 总超长链脂肪酸。灰色框表示检测到的 QTLs 区间。LOD: 对数比值。

TVLCFAs: total very long-chain fatty acids. Gray shaded boxes indicate the intervals of the identified QTLs. LOD: logarithm of odds.

在 2 个环境下均能重复检测到共同调控 TVLCFAs 和山嵛酸含量的 3 个 QTLs (表 3), 分别位于染色体 A06 (*qA06.1*)、A08 (*qA08.1*)和 A16 (*qA16.1*)。 *qA06.1* 两翼的标记分别为 Tif2.A06.115805462 和 Tif2.A06.115930751, LOD 值为 25.74~46.08, 表型变异解释率 (PVE)为 15.59%~25.85%; *qA08.1* 两翼的标记分别为 Tif2.A08.44491007 和 Tif2.A08.46464348, LOD 值为 14.50~20.30, 解释了 7.10%~12.04% 的表型变异;

qA16.1 两翼的标记分别为 Tif2.A16.148167815 和 Tif2.A16.148564767, LOD 值为 46.31~51.95, PVE 为 29.84%~32.85%。 *qA06.1* 还是与硬脂酸和花生酸含量共定位的 QTL, LOD 值为 22.87~32.81, PVE 为 16.78%~22.57%。 2 个环境下, 油酸、亚油酸和棕榈酸含量均共定位到 *qA08.1*, LOD 值为 13.28~29.95, PVE 为 13.73%~29.33%。 在 2022YY 和 2023YY 两个环境下, 在 8 号染色体上重复检测到 1 个与硬脂

酸含量相关的 QTL 位点 *qA08.2*, LOD 值分别为 6.12 和 4.46, 分别解释了 4.09%和 2.97%的表型变异。2 个环境下, 硬脂酸和花生酸含量均能重复检测到 *qA16.1*, LOD 值为 23.09~38.62, PVE 为 19.57%~27.55%。此外, 在 2022YY 或 2023YY 单一环境下, 检测到 8 号染色体上 2 个与花生酸含量相关的 QTL 位点 *qA08.3* 和 *qA08.1*, LOD 值分别为 9.69 和 6.10, 分别解释了 8.67%和 3.62%的表型变异。单一环境下, 在 16 号染色体上检测到 2 个与花生烯酸含量相关的 QTL 位点 *qA16.1* 和 *qA16.2*, LOD 值分别为 6.67 和 4.28, PVE 分别为 5.60%和 4.15%。在 2022YY 单一环境下, 在 6 号染色体上定位到 1 个与花生烯酸含量相关的 QTL 位点 *qA06.2*, LOD 值为 8.44, PVE 为 7.10%。

表 3 RIL 群体 TVLCFAs 及脂肪酸组分的 QTL 定位
Table 3 QTL mapping for TVLCFAs and fatty acid components in the RIL population

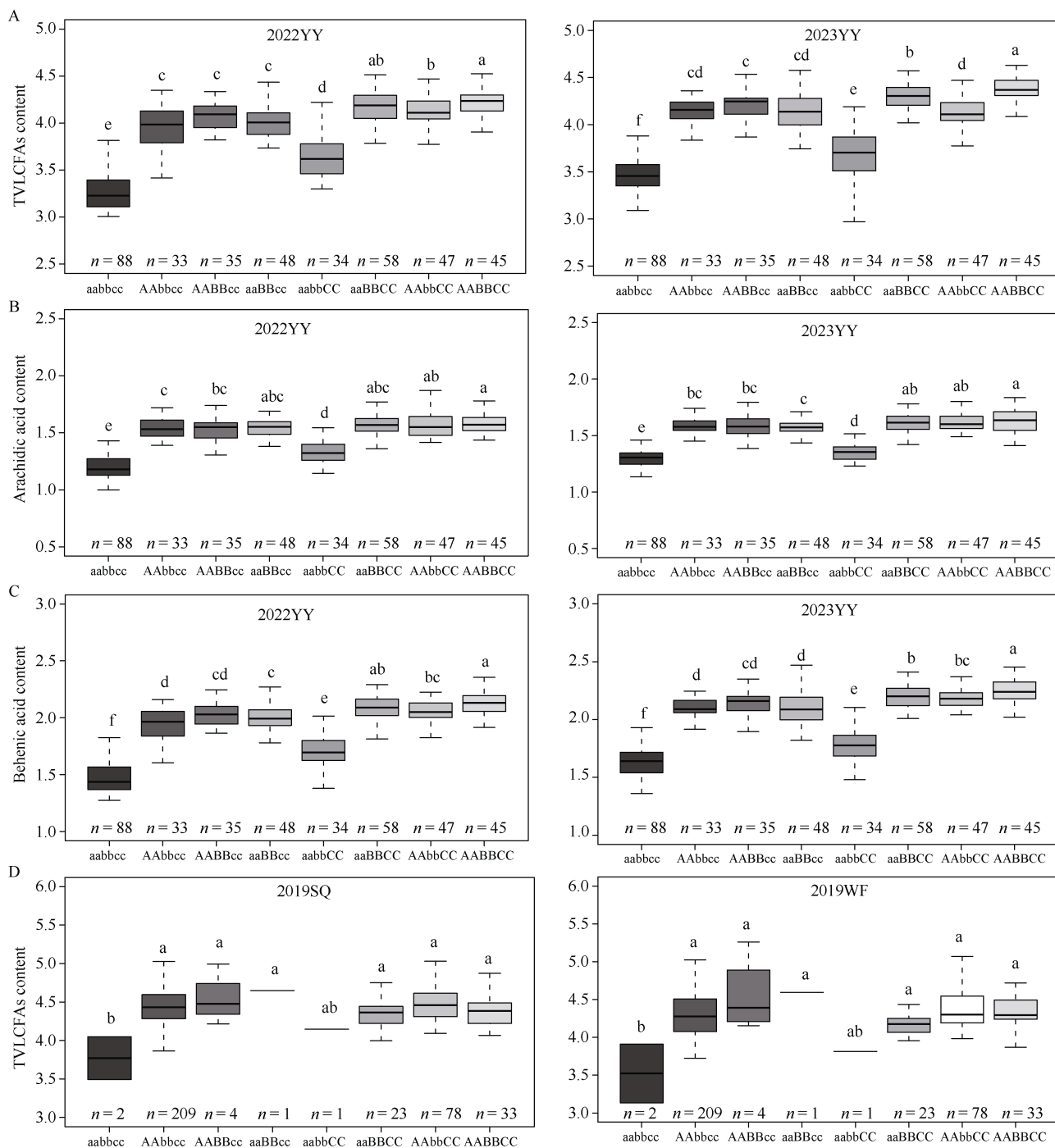
性状 Trait	QTL 名称 QTL name	染色体 Chr.	环境 Env.	区间 Interval (cM)	LOD 值 LOD	表型变异解释 率 PVE (%)	加性效应 Add
总超长链脂肪酸 TVLCFAs	<i>qA06.1</i>	A06	2022YY	2.1–2.2	25.74	15.59	−0.14
			2023YY	2.1–2.2	46.08	25.85	−0.18
	<i>qA08.1</i>	A08	2022YY	5.9–6.8	20.30	12.04	−0.12
			2023YY	5.9–6.8	17.32	8.23	−0.10
	<i>qA16.1</i>	A16	2022YY	12.0–12.2	46.31	31.71	−0.20
2023YY			12.2–13.0	51.48	29.84	−0.19	
油酸 Oleic acid	<i>qA08.1</i>	A08	2022YY	1.9–5.9	17.77	16.30	−1.42
2023YY			1.9–5.9	26.14	24.89	−1.67	
亚油酸 Linoleic acid	<i>qA08.1</i>	A08	2022YY	1.9–5.9	23.57	23.23	1.32
2023YY			1.9–5.9	29.95	29.33	1.53	
棕榈酸 Palmitic acid	<i>qA08.1</i>	A08	2022YY	1.9–5.9	13.28	13.73	0.20
2023YY			1.9–5.9	20.51	19.86	0.26	
硬脂酸 Stearic acid	<i>qA06.1</i>	A06	2022YY	2.1–2.2	22.98	16.78	−0.26
2023YY			2.1–2.2	22.87	16.90	−0.24	
	<i>qA08.2</i>	A08	2022YY	0–1.9	6.12	4.09	−0.13
			2023YY	0–1.9	4.46	2.97	−0.10
	<i>qA16.1</i>	A16	2022YY	11.4–12.0	28.29	21.36	−0.29
			2023YY	11.4–12.0	27.64	21.05	−0.26
	<i>qA06.1</i>	A06	2022YY	2.1–2.2	24.08	20.51	−0.07
			2023YY	2.1–2.2	32.81	22.57	−0.07
	<i>qA08.3</i>	A08	2022YY	8.1–16.1	9.69	8.67	−0.05
<i>qA08.1</i>	A08	2023YY	1.9–5.9	6.10	3.62	−0.03	
花生酸 Arachidic acid	<i>qA16.1</i>	A16	2022YY	12.0–12.2	23.09	19.57	−0.07
			2023YY	12.0–12.2	38.62	27.55	−0.08
	<i>qA06.1</i>	A06	2022YY	2.1–2.2	27.52	16.44	−0.10
			2023YY	2.1–2.2	43.14	24.90	−0.12
	<i>qA08.1</i>	A08	2022YY	5.9–6.8	18.14	10.37	−0.08
			2023YY	5.9–6.8	14.50	7.10	−0.06
	<i>qA16.1</i>	A16	2022YY	12.0–12.2	48.50	32.85	−0.14
山嵛酸 Behenic acid	<i>qA06.1</i>	A06	2022YY	2.1–2.2	27.52	16.44	−0.10
			2023YY	2.1–2.2	43.14	24.90	−0.12
	<i>qA08.1</i>	A08	2022YY	5.9–6.8	18.14	10.37	−0.08
			2023YY	5.9–6.8	14.50	7.10	−0.06
	<i>qA16.1</i>	A16	2022YY	12.0–12.2	48.50	32.85	−0.14
			2023YY	12.0–12.2	51.95	31.49	−0.13
	花生烯酸 Arachidonic acid	<i>qA06.2</i>	A06	2022YY	2.2–2.7	8.44	7.10
	<i>qA16.1</i>	A16	2022YY	11.4–12.0	6.67	5.60	0.03
			2023YY	3.0–7.4	4.28	4.15	0.02

2022YY: 2022 年原阳; 2023YY: 2023 年原阳。
TVLCFAs: total very long-chain fatty acids. 2022YY: Yuanyang in 2022; 2023YY: Yuanyang in 2023. PVE: phenotypic variance explained.

2.5 TVLCFAs 和脂肪酸组分含量高度连锁的分子标记的开发与验证

基于以上 QTL 定位结果发现 3 个分子标记 (Tif2.A06.115805462、Tif2.A08.45741511 和 Tif2.A16.148167815) 与 TVLCFAs 和脂肪酸组分含量高度连锁。将 Tif2.A06.115805462 在 JHT1 和 PI478819 中的基因型分别记为 aa 和 AA; Tif2.A16.148167815 分别记为 bb 和 BB; Tif2.A08.45741511 分别记为 cc

和 CC, RIL 群体各家系被分成 8 种基因型, 分别为 aabbcc、AAbbcc、AABBcc、aaBBcc、aabbCC、aaBBCC、AAbbCC 和 AABBCC。aabbcc 基因型家系的 TVLCFAs、花生酸和山嵛酸含量显著低于其他基因型, 而 AABBCC 基因型的家系中这些脂肪酸含量较高(图 4-A~C)。在 353 份花生种质资源中进一步验证, aabbcc 基因型种质的 TVLCFAs 的含量较 AABBCC 基因型显著降低 14.12%~22.71% (图 4-D)。



(图 4)

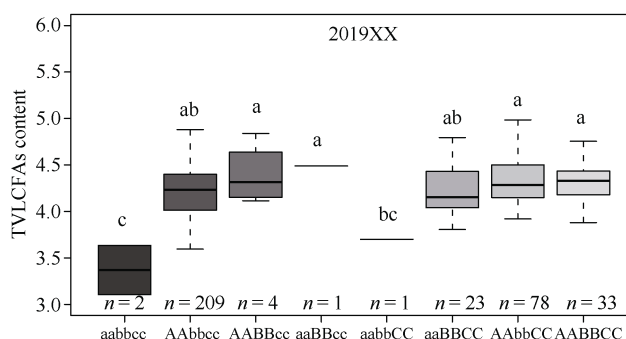


图 4 KASP 标记遗传效应的验证

Fig. 4 Validation of the genetic effects of KASP markers

A–C: 2 个环境下(2022YY: 2022 年原阳; 2023YY: 2023 年原阳), RIL 群体中与 TVLCFAs、花生酸和山嵛酸含量 QTL 相关的 KASP 标记 Tif2.A06.115805462、Tif2.A16.148167815 和 Tif2.A08.45741511 的遗传效应的验证; D: 3 个环境下(2019SQ: 2019 年商丘; 2019WF: 2019 年潍坊; 2019XX: 2019 年新乡), 353 份花生种质资源中与 TVLCFAs 含量 QTL 相关的 KASP 标记 Tif2.A06.115805462、Tif2.A16.148167815 和 Tif2.A08.45741511 的遗传效应的验证。TVLCFAs: 总超长链脂肪酸。不同小写字母表示经 Tukey's HSD 检验在 $P < 0.05$ 水平上差异显著。

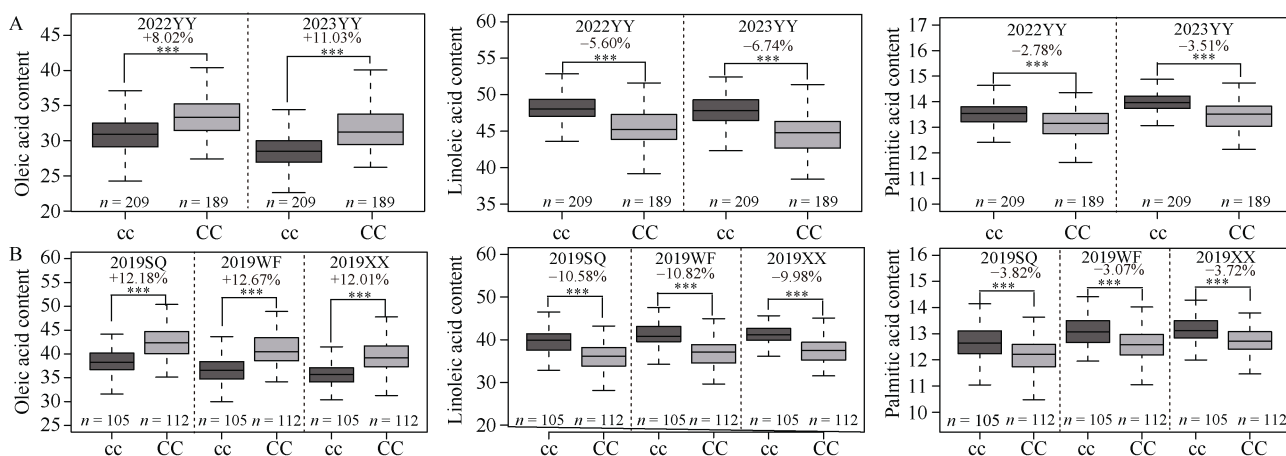
A–C: validation of the genetic effects of KASP markers Tif2.A06.115805462, Tif2.A16.148167815, and Tif2.A08.45741511 in the RIL population across two environments (2022YY: Yuanyang in 2022; 2023YY: Yuanyang in 2023) for QTLs associated with TVLCFAs, arachidic acid, and behenic acid contents; D: validation of the genetic effects of these three markers in a panel of 353 peanut germplasm accessions across three environments (2019SQ: Shangqiu in 2019; 2019WF: Weifang in 2019; 2019XX: Xinxiang in 2019) for QTLs associated with TVLCFAs content. TVLCFAs: total very long-chain fatty acids. Different lowercase letters indicate significant differences at $P < 0.05$ according to Tukey's HSD test.

已有研究表明, 花生籽仁的油酸和亚油酸含量主要受 *FAD2A* 和 *FAD2B* 调控^[26]。本研究的 QTL 定位结果表明, 标记 Tif2.A08.45741511 与油酸、亚油酸和棕榈酸含量高度连锁, 为验证 Tif2.A08.45741511 与油酸、亚油酸和棕榈酸含量的连锁性, 利用本课题组前期已开发基因 *FAD2A*、*FAD2B* 和 Tif2.A08.45741511 的功能标记 FAD2A、FAD2B 和 Tif2.A08.45741511 对 RIL 群体和 353 份花生种质资源进行基因型分型。结果表明, 当 *FAD2A* 和 *FAD2B* 为野生型时, 在 RIL 群体和 353 份花生种质资源中, 具有 CC 基因型家系的油酸含量显著高于 cc 基因型的家系, 而亚油酸和棕榈酸含量则显著低于 cc 基因型的家系。CC 基因型家系的油酸含量比 cc 基因型家系增加 8.02%~

12.67%, 而亚油酸和棕榈酸含量降低 2.78%~10.82% (图 5-A, B)。当 *FAD2A* 和 *FAD2B* 均发生突变时, 在 353 份种质资源中标记 Tif2.A08.45741511 不能有效区分花生籽仁油酸、亚油酸和棕榈酸含量差异的材料(图 5-C)。研究表明, 当 *FAD2A* 和 *FAD2B* 为野生型时, Tif2.A08.45741511 与花生油酸、亚油酸和棕榈酸含量高度连锁。该结果为解析花生油脂相关性状的复杂遗传机制和分子标记辅助育种提供了重要参考。

3 讨论

花生品质性状的改良是花生育种的重要目标之一, 降低饱和脂肪酸的含量是提高花生油及其产品



(图 5)

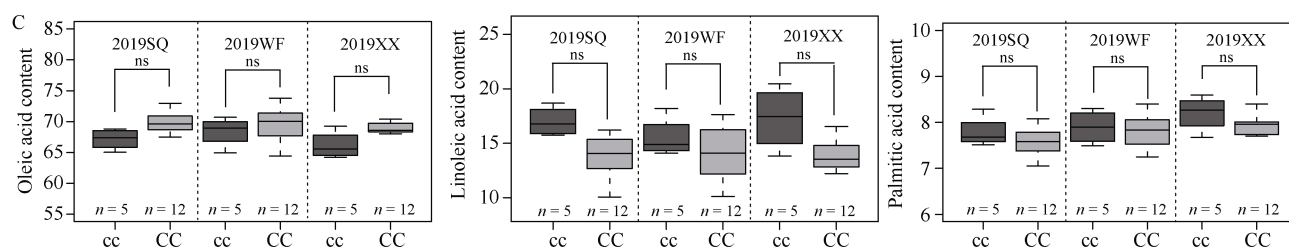


图 5 油酸、亚油酸和棕榈酸含量 QTL 相关的 KASP 标记 Tif2.A08.45741511 的遗传效应验证

Fig. 5 Validation of the genetic effects of the KASP marker Tif2.A08.45741511 for oleic acid, linoleic acid, and palmitic acid contents

A: 2 个环境下(2022YY: 2022 年原阳; 2023YY: 2023 年原阳), KASP 标记 Tif2.A08.45741511 在 RIL 群体中的验证。B: 当 *FAD2A* 和 *FAD2B* 为野生型时, 在 3 个环境下(2019SQ: 2019 年商丘; 2019WF: 2019 年潍坊; 2019XX: 2019 年新乡), KASP 标记 Tif2.A08.45741511 在 353 份花生种质资源中的验证。C: 当 *FAD2A* 和 *FAD2B* 发生突变时, 在 3 个环境下(2019SQ: 2019 年商丘; 2019WF: 2019 年潍坊; 2019XX: 2019 年新乡), KASP 标记 Tif2.A08.45741511 在 353 份花生种质资源中的验证。***表示在 $P < 0.001$ 水平上差异显著(t 检验); ns 表示不存在显著差异。

A: validation of Tif2.A08.45741511 in the RIL population across two environments (2022YY: Yuanyang in 2022; 2023YY: Yuanyang in 2023). B: validation of Tif2.A08.45741511 in 353 peanut germplasm accessions across three environments (2019SQ: Shangqiu in 2019; 2019WF: Weifang in 2019; 2019XX: Xinxiang in 2019) with wild-type *FAD2A* and *FAD2B*. C: validation of Tif2.A08.45741511 in the same panel across the three environments when accessions carry mutations in *FAD2A* and *FAD2B*. *** indicates $P < 0.001$ (Student's t -test); ns indicates no significant difference.

营养品质的关键, VLCFAs 作为花生饱和脂肪酸的组成成分, 可通过降低 TVLCFAs 含量提高花生油品质。本研究中, RIL 群体的 TVLCFAs 和脂肪酸组分的变异范围广泛(图 1), 表明其受多基因的调控, 这与人对 TVLCFAs 和脂肪酸含量进行的表型变异分析的结论一致^[3,11-12]。Xue 等^[12]研究表明, TVLCFAs 含量与油酸、花生酸、花生烯酸、山嵛酸和二十四烷酸含量呈显著正相关, 与棕榈酸和亚油酸呈显著负相关。而本研究中 TVLCFAs 含量与油酸、硬脂酸、花生酸和山嵛酸含量呈极显著正相关, 与亚油酸、棕榈酸、花生烯酸含量呈极显著负相关, 与上述研究结果的差异可能是由分析方法及亲本材料遗传基础不同所致, 同时也表明脂肪酸遗传控制的相对复杂性, 脂肪酸组分间的显著相关性反映了它们可能在植物的同一脂肪酸代谢途径中发挥作用。

本研究利用 BSA-seq 和遗传图谱定位到 3 个与花生籽仁 TVLCFAs、山嵛酸和花生酸含量相关的 QTLs 位点, 即 *qA06.1* (115.81~115.93 Mb)、*qA08.1* (44.50~46.46 Mb) 和 *qA16.1* (148.10~148.56 Mb), 这与 Xue 等^[12]定位到的与 TVLCFAs 相关的 QTL 位点 (*qA01*、*qB04.1* 和 *qB05*) 的染色体位置不同。Huai 等^[28]利用同源比对的方法在花生 A06 (1,872,461 bp) 和 A16 (24,240,143 bp) 染色体上分别定位到一个调控 VLCFAs 的关键候选基因, 其物理位置与本研究定位的 3 个 QTLs 的位置不同。此外, Hu 等^[29]利用 RIL 群体分别在 A08 和 A16 染色体上定位到与花

生酸相关的位点 *qFA_08_1* (42.58~46.78 Mb) 和 *qFA_16_1* (146.96~147.12 Mb), 定位到与山嵛酸有关的位点 *qFam_16_3* (147.52~147.69 Mb), 以上 3 个 QTLs 区间仅 *qFA_08_1* 与本研究的 *qA08.1* 部分重叠。本研究在 3 个 QTLs 区间内开发的标记 Tif2.A06.115805462、Tif2.A08.45741511 和 Tif2.A16.148167815 能够成功区分低 TVLCFAs、山嵛酸和花生酸含量的品系或材料, 因此 *qA06.1*、*qA08.1* 和 *qA16.1* 是控制花生 TVLCFAs、山嵛酸和花生酸含量的新 QTLs 位点。

目前国内高油酸花生品种基本依赖于相同的遗传资源, 即 *FAD2A* 和 *FAD2B* 功能的缺失, 由于连锁不平衡, *FAD2A* 和 *FAD2B* 周围的遗传多样性非常低, 这使得改善与 *FAD2A* 和 *FAD2B* 相关联的性状变得非常困难^[26]。据报道, 位于 A08 染色体上的 *qFA_08_1* (42.58~46.78 Mb) 是与花生油酸、亚油酸和棕榈酸的含量相关的 QTL 位点^[29], 与本研究定位到的稳定、主效的 *qA08.1* (44.50~46.46 Mb) 存在部分重叠, 但与前者相比, 本研究定位的 QTL 区间更小, 将进一步有助于分子标记辅助育种及目标调控基因的挖掘。本研究中, 当 *FAD2A* 和 *FAD2B* 均未发生突变时, 标记 Tif2.A08.45741511 的基因型为 CC 时油酸含量显著高于具有 cc 基因型的家系, 而亚油酸和棕榈酸含量则相反(图 5-A, B), 进一步证实 *qA08.1* 与花生的油酸、亚油酸和棕榈酸含量相关。

4 结论

本研究基于“JHT1×PI478819” RIL 群体对花生

籽仁的 TVLCFAs 和 7 种主要脂肪酸组分进行了 QTL 分析。统计分析表明, TVLCFAs 和 7 种主要脂肪酸组分的遗传变异范围广; 相关性分析表明, TVLCFAs 与各脂肪酸存在极显著的相关性。进一步通过 BSA-seq 分析和连锁图谱分析, 在 2 个环境中重复检测到与 TVLCFAs 和山嵛酸含量相关的 QTL 位点 *qA06.1*、*qA08.1* 和 *qA16.1*; 另外 *qA06.1* 和 *qA16.1* 还与硬脂酸和花生酸含量相关; 在 2 个环境中稳定检测到与油酸、亚油酸和棕榈酸含量相关的主效 QTL 位点 *qA08.1*。KASP 标记 Tif2.A06.115805462、Tif2.A08.45741511 和 Tif2.A16.148167815 与 TVLCFAs、花生酸和山嵛酸含量密切相关, 且 Tif2.A08.45741511 还与花生油酸、亚油酸和棕榈酸含量紧密连锁。本研究为进一步挖掘 TVLCFAs 调控基因及其遗传机制提供了重要的理论依据, 为低 TVLCFAs 和高油酸分子育种提供了宝贵的遗传资源, 将有助于优质专用型花生的分子标记辅助选择育种。

References

- [1] Chen H, Liu N, Huang L, et al. Identification of a major QTL for seed protein content in cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.) using QTL-seq. *Plants*, 2024, 13: 2368.
- [2] Wang M L, Khera P, Pandey M K, et al. Genetic mapping of QTLs controlling fatty acids provided insights into the genetic control of fatty acid synthesis pathway in peanut (*Arachis hypogaea* L.). *PLoS One*, 2015, 10: e0119454.
- [3] 刘华, 秦利, 张新友, 等. 基于花生种间杂交遗传群体的脂肪及脂肪酸含量的遗传模型分析. *中国油料作物学报*, 2016, 38: 172–178.
Liu H, Qin L, Zhang X Y, et al. Genetic models of peanut fat and fatty acid compositions based on interspecific RIL population. *Chin J Oil Crop Sci*, 2016, 38: 172–178 (in Chinese with English abstract).
- [4] Zhang X Y, Zhu S J, Han S Y. Inheritance of fat and fatty acid compositions in peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Agric Sci Technol*, 2011, 12: 943–946.
- [5] Du P X, Deng Q Q, Wang W Y, et al. scRNA-seq reveals the mechanism of *fatty acid desaturase 2* mutation to repress leaf growth in peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Cells*, 2023, 12: 2305.
- [6] Wang D, Wei Y R, Pagliassotti M J. Saturated fatty acids promote endoplasmic reticulum stress and liver injury in rats with hepatic steatosis. *Endocrinology*, 2006, 147: 943–951.
- [7] Siri-Tarino P W, Sun Q, Hu F B, et al. Saturated fatty acids and risk of coronary heart disease: modulation by replacement nutrients. *Curr Atheroscler Rep*, 2010, 12: 384–390.
- [8] 郭建斌, 郭朋霞, 周小静, 等. 含野生种血缘花生品种 ICGV 86699 超长链脂肪酸 QTL 定位. *中国油料作物学报*, 2023, 45: 947–953.
Guo J B, Guo P X, Zhou X J, et al. Identification of QTL related to very-long-chain fatty acids in peanut variety ICGV86699 with wild *Arachis* species consanguinity. *Chin J Oil Crop Sci*, 2023, 45: 947–953 (in Chinese with English abstract).
- [9] Zhukov A, Popov V. Synthesis of C₂₀₋₃₈ fatty acids in plant tissues. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 4731.
- [10] Li W L, Yoo E, Lee S, et al. Seed weight and genotype influence the total oil content and fatty acid composition of peanut seeds. *Foods*, 2022, 11: 3463.
- [11] Sun Z Q, Qi F Y, Liu H, et al. QTL mapping of quality traits in peanut using whole-genome resequencing. *Crop J*, 2022, 10: 177–184.
- [12] Xue X M, Li J G, Wu J, et al. Identification of QTLs associated with very-long chain fatty acid (VLCFA) content via linkage mapping and BSA-seq in peanut. *Theor Appl Genet*, 2024, 137: 33.
- [13] Liu N, Chen H, Huai D X, et al. Four QTL clusters containing major and stable QTLs for saturated fatty acid contents in a dense genetic map of cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Mol Breed*, 2019, 39: 23.
- [14] Zhang B, Qi F X, Hu G, et al. BSA-seq-based identification of a major additive plant height QTL with an effect equivalent to that of *Semi-dwarf 1* in a large rice F₂ population. *Crop J*, 2021, 9: 1428–1437.
- [15] Zou C, Wang P X, Xu Y B. Bulk sample analysis in genetics, genomics and crop improvement. *Plant Biotechnol J*, 2016, 14: 1941–1955.
- [16] Yang H, Luo L, Li Y Y, et al. Fine mapping of *qAHP507* and functional studies of *AhRUVBL2* controlling pod size in peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Plant Biotechnol J*, 2023, 21: 1785–1798.
- [17] Zhao K K, Wang L, Qiu D, et al. PSW1, an LRR receptor kinase, regulates pod size in peanut. *Plant Biotechnol J*, 2023, 21: 2113–2124.
- [18] Guo J J, Qi F Y, Qin L, et al. Mapping of a QTL associated with sucrose content in peanut kernels using BSA-seq. *Front Genet*, 2023, 13: 1089389.
- [19] Li W T, Huang L, Liu N, et al. Identification of a stable major sucrose-related QTL and diagnostic marker for flavor improvement in peanut. *Theor Appl Genet*, 2023, 136: 78.
- [20] Huai D X, Zhi C Y, Wu J, et al. Unveiling the molecular regulatory mechanisms underlying sucrose accumulation and oil reduction in peanut kernels through genetic mapping and transcriptome analysis. *Plant Physiol Biochem*, 2024, 208: 108448.
- [21] 王恩琪, 殷祥贞, 甄萍萍, 等. 基于 BSA-seq 技术定位花生种皮颜色基因. *花生学报*, 2024, 53(3): 14–20.
Wang E Q, Yin X Z, Zhen P P, et al. Mapping of candidate testa color genes in peanuts based on BSA-seq. *J Peanut Sci*, 2024, 53(3): 14–20 (in Chinese with English abstract).
- [22] Wu X H, Zhang M Y, Zheng Z, et al. Fine-mapping of a candidate gene for web blotch resistance in *Arachis hypogaea* L. *J Integr Agric*, 2024, 23: 1494–1506.
- [23] Yu B L, Liu N, Huang L, et al. Identification and application of a candidate gene *AhAfr1* for aflatoxin production resistance in peanut seed (*Arachis hypogaea* L.). *J Adv Res*, 2024, 62: 15–26.
- [24] Zheng Z, Sun Z Q, Qi F Y, et al. Chloroplast and whole-genome sequencing shed light on the evolutionary history and phenotypic diversification of peanuts. *Nat Genet*, 2024, 56: 1975–1984.

- [25] Meng L, Li H H, Zhang L Y, et al. QTL IciMapping: integrated software for genetic linkage map construction and quantitative trait locus mapping in biparental populations. *Crop J*, 2015, 3: 269–283.
- [26] Shi L, Zhao H H, Liu H, et al. Development of novel transgene-free high-oleic peanuts through CRISPR-Cas9-mediated gene editing of two *AhFAD2* homologues. *Plant Biotechnol J*, 2025, 23: 4618–4620.
- [27] 齐飞艳, 孙子淇, 黄冰艳, 等. 基于双列杂交的花生主要品质性状遗传效应分析. *中国油料作物学报*, 2021, 43: 600–607.
- Qi F Y, Sun Z Q, Huang B Y, et al. Genetic analysis of peanut quality traits based on a diallel cross design. *Chin J Oil Crop Sci*, 2021, 43: 600–607 (in Chinese with English abstract).
- [28] Huai D X, Xue X M, Li Y, et al. Genome-wide identification of peanut *KCS* genes reveals that *AhKCS1* and *AhKCS28* are involved in regulating VLCFA contents in seeds. *Front Plant Sci*, 2020, 11: 406.
- [29] Hu P J, Zhang J N, Song Y H, et al. Identification of putative quantitative trait loci for improved seed oil quality in peanuts. *Genes*, 2024, 15: 75.