

研究报告

Research Report

花生 *AhFAD2* 的基因型与 O/L 值的相关性分析

王允[✉], 张幸果[✉], 李贺敏[✉], 甄愿愿[✉], 崔党群[✉], 殷冬梅[✉]

河南农业大学, 郑州, 450002

[✉]通讯作者: Yindm@126.com; [✉]作者

豆科基因组学与遗传学, 2015 年, 第 6 卷, 第 4 篇 doi: 10.5376/lgg.cn.2015.06.0004

收稿日期: 2015 年 07 月 11 日

接受日期: 2015 年 07 月 11 日

发表日期: 2015 年 07 月 11 日

本文首次发表在《分子植物育种》(2015 年, 第 13 卷, 第 6 期, 第 1318-1322 页)上。现依据版权所有人授权的许可协议, 采用 Creative Commons Attribution License 协议对其进行授权, 再次发表与传播。只要对原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式(中文):

王允等, 2015, 花生 *AhFAD2* 的基因型与 O/L 值的相关性分析, 豆科基因组学与遗传学(online), 6(4):19-24 (doi: 10.5376/lgg.cn.2015.06.0004)

引用格式(英文):

Wei et al., 2015, Correlation between Genotype of *AhFAD2* and Oleic/Linoleic Acid Value in the Different Peanut Varieties, DoukeJiyinzuxue Yu Yichuanxue (online) (Legume Genomics and Genetics), 6(4): 19-24 (doi: 10.5376/lgg.cn.2015.06.0004)

摘要 花生(*Arachis hypogaea* L.)高油酸性状受 2 对同源非等位隐性基因 *ol1* 和 *ol2* 调控, 分别编码 *AhFAD2A* 和 *AhFAD2B*。本研究利用红外无损检测技术分析不同花生品种的油酸、亚油酸及粗脂肪含量, 并设计等位基因特异引物, 对不同油亚比值的 12 个花生品种进行 AS-PCR 检测分析。结果表明: 对 12 个花生基因型均能准确分析出 *AhFAD2* 基因型, 其中 1514、606、9102、614 和 1474 的基因型为 *OL1OL1OL2OL2*, 其相应的 O/L 值位于 0.971~1.759; 花 17、1513、1476 和 1586 的基因型是 *ol1ol1/OL2OL2*, 其相应的 O/L 值位于 2.252~3.679; 1504、1505 和 1515 的基因型为 *ol1ol1ol2ol2*, 其相应的 O/L 值位于 8.204~12.79。综合 12 个花生品系籽粒 O/L 值和 *AhFAD2* 基因型的相关性结果表明, 基因型的改变直接导致 O/L 值的变化, 但与含油量无特定相关性。

关键词 花生; *AhFAD2*; 油亚比(O/L); 等位基因特异 PCR (AS-PCR)

Correlation between Genotype of *AhFAD2* and Oleic/Linoleic Acid Value in the Different Peanut Varieties

Wang Yun[✉], Zhang Xingguo[✉], Li Hemin[✉], Zhen Yuanyuan[✉], Cui Dangqun[✉], Yin Dongmei[✉]

Henan Agricultural University, Zhengzhou, 450002

[✉] Corresponding authors, Yindm@126.com; [✉] Authors

Abstract Peanut oil acid trait is controlled by the two recessive genes *ol1* and *il2* (encoding *AhFAD2A* and *AhFAD2B* respectively). Twelve peanut cultivars with different oil and O/L ratio were selected to detect the genotype of *FAD2A/FAD2B* gene to improve the peanut quality breeding of peanut breeding effectively. The results showed that the *AhFAD2* genotype of 12 lines could be accurately analyzed. The genotypes of 1514, 606, 9102, 614 and 1474 are *OL1OL1OL2OL2* and the corresponding O/L value is between 0.971~1.759. Hua17, 1513, 1476 and 1586 are *ol1ol1/OL2OL2* and the corresponding O/L value is between 2.252~3.679, 1504, 1505 and 1515 are *ol1ol1ol2ol2* and the corresponding O/L value is between 8.204~12.79. *AhFAD2* genotypes of the 12 peanut lines, the content of oil and the O/L value integrated showed us the difference of genotype leading to the variation of O/L directly, and the O/L value had no specific correlation with the content of oil.

Keywords Peanut; *AhFAD2*; Oleic/Linoleic acid (O/L); AS-PCR

花生是中国食用植物油和风味食品的重要来源之一。在种子干重中籽粒含油量约占

44.27%~53.86%, 其中花生油的主要脂肪酸是油酸和亚油酸。花生油脂的氧化稳定性和营养价值主要

由油酸/亚油酸比值(油亚比, O/L)决定(Bolton and Sanders, 2002)。油酸

属于单不饱和脂肪酸, 是十八碳单烯酸, 有助于人体内低密度脂蛋白胆固醇(LDL)的含量的降低; 并能维持人体内高密度脂蛋白胆固醇(HDL)的含量, 有利于人体的心血管健康, 因此油酸含量高的油也被称为营养保健油。影响花生制品贮存期的重要因素是油

酸/亚油酸(O/L)的比值, 高 O/L 的花生贮存期长且不易氧化和腐败; 而低 O/L 的花生制品和花生油在保存时很容易发生酸败, 存放时间长则会产生有毒物质, 危害人们的生活健康。因此, 衡量花生品质性状的重要指标是 O/L 值, 提高花生籽粒的 O/L 值是花生品质改良的主要目标。

控制籽粒油酸、亚油酸含量和 O/L 比值的关键酶是 Δ^{12} 脂肪酸脱氢酶(delta 12 fatty acid desaturase, FAD2)。FAD2 催化油酸在碳 12 位上脱氢引入第二个双键生成亚油酸, 控制籽粒中油酸和亚油酸的含量及比值(Jung et al., 2000a; Lopez et al., 2000)。产生高 O/L 比花生的主要原因之一是由于 FAD2 酶活性的丧失(Jung et al., 2000a)。栽培种花生属于异源四倍体, 花生中 FAD2 是由 *AhFAD2A* 和 *AhFAD2B* 这 2 个不同基因组上的同源非等位基因共同调控编码, 这 2 个基因的 DNA 序列在编码区有 99% 的相似, 分别位于花生的 A 基因组和 B 基因组(Jung et al., 2003)。Lopez 等(2001)研究表明花生高油酸性状是由 2 对隐性基因的加性效应控制的。Jung 等(2000b)研究验证了控制高油酸性状的 *ol₁* 位点和 *ol₂* 位点分别编码花生的 *AhFAD2A* 和 *AhFAD2B* 基因的可能性。这两个基因的同时突变引起酶活性的变化导致高油酸性状的产生。

高油酸花生突变体主要是 FAD2A 基因序列的第 448 bp 位置由碱基 A 取代原来的碱基 G, 引起错义氨基酸使天冬酰胺替代天冬氨酸(D150N), 在 FAD2B (FAD2B 441_442insA)441 与 442 位置中插入一个 1 bp 的 A 碱基, 导致一个移码即三联体密码的阅读方式改变; 即花生高油酸基因型是由 *AhFAD2A* 的 448 bp 的点突变(G448A)和 *AhFAD2B* 突变(441~442 位点插入 A 或插入 1 个 205 bp 的反向重复序列)共同调控的(Lopez et al., 2002; Patel et al., 2004)。在酵母体系的基因突变和基因表达中被测定证实出, 高的去饱和酶活性的油酸突变体明显

低于正常油酸花生基因型酶活性(Yin et al., 2007; Yu et al., 2008)。这些高油酸突变体可为高油酸新品种的培育提供宝贵的实验材料。

本研究利用 AS-PCR 检测不同花生材料的 *AhFAD2* 基因型, 结合其含油量及 O/L 值, 分析基因型与表型之间的联系, 旨在为更好地选育优质、高油、高油亚比花生品种奠定基础。

1 结果与分析

1.1 花生 *AhFAD2* 基因型的测定

在 AS-PCR 检测中, 实验所采用的 12 个花生材料经 PCR 反应均产生预期的 1.2 kb 的参照带(图 1)和目标条带, 根据各个反应的 PCR 结果能够准确地检测出每个花生材料的 FAD2A/FAD2B 等位基因和基因型。

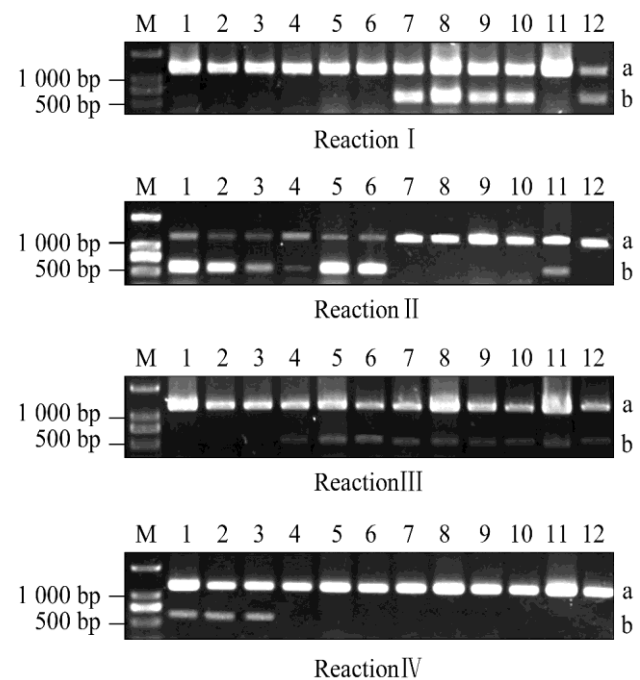


图1 PCR 琼脂糖凝胶电泳产物带

注: a: 内部参考条带; b: 目标条带; 1: 1504; 2: 1505; 3: 1515; 4: 1586; 5: 1513; 6: 1476; 7: 1514; 8: 606; 9: 9102; 10: 614; 11: 花 17; 12: 1474

Figure 1 The band patterns of PCR agarose gel electrophoresis
Note: a: Internal reference band; b: Target band; 1: 1504; 2: 1505; 3: 1515; 4: 1586; 5: 1513; 6: 1476; 7: 1514; 8: 606; 9: 9102; 10: 614; 11: Hua17; 12: 1474

表1 花生不同基因型的油亚比和含油量性状

Table 1 Peanut major quality traits of different genotypes

材料	基因型	O/L (Oleic acid/ Linoleic acid)	含油量(%) Oil content (%)
1504	ol1ol1/ol2ol2	8.204	56.098
1505	ol1ol1/ol2ol2	12.790	59.124
1515	ol1ol1/ol2ol2	12.735	55.479
1586	ol1ol1/Ol2Ol2	3.679	56.657
1513	ol1ol1/Ol2Ol2	3.269	57.874
1476	ol1ol1/Ol2Ol2	2.567	54.372
1514	Ol1Ol1/Ol2Ol2	1.759	58.824
606	Ol1Ol1/Ol2Ol2	1.439	59.540
9102	Ol1Ol1/Ol2Ol2	0.971	56.204
614	Ol1Ol1/Ol2Ol2	1.170	51.840
花 17	ol1ol1/Ol2Ol2	2.252	57.737
Hua17			
1474	Ol1Ol1/Ol2Ol2	1.037	56.340

1.2 *AhFAD2* 基因型与 O/L 值之间的关系

ol₁ 和 *ol₂* 两个隐性非等位同源基因共同调控花生高油酸的产生。具有活性的 *AhFAD2A* 和 *AhFAD2B* 分别是由 *OL₁* 和 *OL₂* 编码的。*ol₁* 是 *AhFAD2A* 的一个隐性突变等位基因, 能导致其编码的酶功能降低或丧失活性; *ol₂* 是 *AhFAD2B* 的隐性突变等位基因, 它的改变导致 *AhFAD2B* 不能编码正常有活性的蛋白。花生高油酸的基因型是 *ol₁ol₁ol₂ol₂*; 而普通油酸的显性纯合基因型是 *OL₁OL₁OL₂OL₂*(Chen et al., 2010)。结合这些花生材料的基因型(表 1)和相应花生籽粒的 O/L 值分析, 基因型为 *OL₁OL₁/OL₂OL₂* 的五份材料(1514, 606, 9102, 614 和 1474)的油亚比都低于 2.0, 属于低油亚比材料; 基因型为 *ol₁ol₁/OL₂OL₂* 的四份材料(1586, 1513, 1476 和 花 17)的油亚比均处于 2.0~5.0, 属于中油亚比材料; 基因型为 *ol₁ol₁/ol₂ol₂* 的三份材料(1504, 1505 和 1515)的油亚比均高于 5.0, 属于高油亚比材料。由此可见花生的 *AhFAD2* 基因型与油亚比之间存在一定的关联。双显性纯合基因 *OL₁OL₁/OL₂OL₂* 即常规油酸花生的显性纯合子表现为低油亚比, 因为 *AhFAD2* 控制其编码的酶蛋白活性不受抑制, 即 Δ^{12} 脂肪酸脱氢酶活性不丧失, 能正常催化油酸在碳 12 位上脱氢及在油酸中引入第二个双键生成亚油酸, 则籽粒中亚油酸含量相对增多, 导致油酸和

亚油酸的比值相对较低。双隐性基因 *ol₁ol₁/ol₂ol₂* 即双突变体花生的纯合子表现出高油亚比, *AhFAD2A* 和 *AhFAD2B* 基因的同时突变使其编码的酶蛋白活性降低或功能丧失, 引起 Δ^{12} 脂肪酸脱氢酶酶结构、酶活性或表达调控的变化, 不能催化油酸脱氢生成亚油酸, 共同导致高油酸性状的产生。而只有一个 *AhFAD2A* 基因突变产生的基因型 *ol₁ol₁/OL₂OL₂* 则表现为中油亚比, 亚油酸含量高于常规油酸纯合子, 又低于双突变高油酸隐性纯合子, 说明了高油亚比性状的产生需要 *AhFAD2A* 和 *AhFAD2B* 基因的同时突变, 单独一个等位基因突变所产生的效果不如等位基因同时突变的效果明显。

1.3 O/L 值与含油量之间的关系

在 12 份实验材料中, 平均含油量 56.67%, 其中 3 份是基因型为 *ol₁ol₁/ol₂ol₂* 的花生材料中, 平均含油量 56.90%, 油亚比平均为 11.24, 并且油酸含量均高于 70%, 其中基因型为 *ol₁ol₁/OL₂OL₂* 有 4 份, 油酸含量低于 70% 的材料。在 5 份基因型为 *OL₁OL₁/OL₂OL₂* 的材料中, 含油量平均 56.54%, 油亚比 1.28。卡方测验结果 $P=0.846$ 5 表明, 实验材料的含油量和油亚比之间的没有特定的关联。通过 O/L 值与含油量的相关性分析其相关系数为 0.124 948 38(表 2), 也说明 O/L 值与含油量之间没有显著的正相关, 表明油亚比与含油量之间没有特定的关联。

表2 O/L 值与含油量之间的相关性分析

Table 2 Correlation analysis between the value of O/L and Oil content

相关系数	O/L X ₁	Oil (%) X ₂
The correlation coefficient		
O/L X	1	
Oil (%) X ₂	0.124 948 38	1

2 讨论

花生高油酸性状由两对隐性基因 *ol₁* 和 *ol₂* 共同调控, 种子高油酸(油酸含量高于 70%)性状的产生是由 *AhFAD2A* 和 *AhFAD2B* 基因共同突变导致的。在普通油酸含量(油酸 70% 以下)的花生资源材料中仅存在 *AhFAD2B* 的野生型基因(*AhFAD2B-wt*), 但

同时存在 *AhFAD2A* 基因的野生型或突变型 (*AhFAD2A-wt* 和 *AhFAD2A-m*) 等位基因的分离 (Chu et al., 2007)。前人研究表明, *AhFAD2A-m* 突变基因的存在总是存在着油酸含量的相对提高, 表现为中等油酸含量在 55%~70% 的中等油酸性状 (雷永等, 2000; 丁锦平等, 2007; 周丽侠等, 2011)。目前研究表明 *AhFAD2A* 和 *AhFAD2B* 基因共同调控着花生种子中油酸和亚油酸的含量及比值, 至于在调控油酸含量中的相对贡献目前尚无确切定论, Jung 等 (2000b) 认为在野生型花生材料中 *AhFAD2A* 或 *AhFAD2B* 基因任何一个有活性就能促使种子中油酸到亚油酸的正常转化, 表现为普通油酸性状。

综合 *AhFAD2* 基因型、O/L 值和含油量之间的相关分析, 发现基因型的改变引起 O/L 值的变化, 但与含油量的改变没有特定的相关性。等位基因双突变产生的高油亚比材料含油量均较高。本研究可以得出 *AhFAD2* 基因型与 O/L 值的高低有着直接的关联, 但与花生含油量之间的相关性不显著, 也表明等位基因单一突变效果不如双突变对不同花生基因型 O/L 值的影响大, 但还不能说明 *AhFAD2A* 与 *AhFAD2B* 基因的单一突变效应及其活性对 O/L 比值的影响。该研究结果为亲本及后代的选择更有科学性, 提高高油酸花生新品种选育效率。

3 材料与方法

3.1 试验材料

选材取于河南农业大学自选的品系, 不同 O/L 值花生材料分别为: 1504、1505、1515、1586、1513、1476、1514、606、9102、614、花 17 和 1474。

3.2 DNA 提取

12 份参试材料统一种植在玻璃器皿中, 于恒温培养室培养, 待种子萌发出苗后取每个材料未展开的小叶 2~4 片。采用常规 SDS-酚/氯仿法提取花生叶片 DNA, 将幼嫩的花生组织叶片置于研钵中, 加入液氮研磨成白色粉末后加入 2.0 mL 离心管中; 加入 800 μ L 1% 的 SDS 基因组 DNA 提取缓冲液, 摇床 5 min; 取出后加入 800 μ L 25:24:1, 摇床 5 min; 12 000 r/min 离心 10 min; 吸上清 500 μ L 左右, 并加入等体积异丙醇, 上下颠倒 2 min 后于 -20 $^{\circ}$ C 静置 5 min 沉淀; 12 000 r/min 离心 10 min 弃上清; 75%

酒精洗涤 1 次后再加纯酒精洗涤 1 次; 晾干后加灭过菌的蒸馏水溶解 DNA; 紫外分光光度计下测 DNA 的浓度和纯度。

3.3 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA

配置 1% 琼脂糖凝胶, 在取 5 μ L DNA 的 PCR 反应物原溶液样品, 与 1 μ L 6 \times 电泳加样缓冲液混匀, 用微量移液枪小心加入样品槽中。加完样后, 立即接通电源, 使电压调到 100 V, 恒压电泳 15 min。最后在凝胶成像仪下拍照。

3.4 PCR 反应

根据 FAD2A/FAD2B 等位基因的差异设计的 AS-PCR 引物 (Yu et al., 2013) (表 3)。

表3 FAD2A/FAD2B 等位基因的AS-PCR 引物序列

Table 3 Sequences of AS-PCR primers for FAD2A/FAD2B genotyping

引物	序列(5'-3')
Primers	Sequence (5'-3')
FAD2A-F	GATTACTGATTATTGACTTGGCTTTG
FAD2A-G	GTTTTGGGACAAACACTTCTCTC
FAD2A-A	GTTTTGGGACAAACACTTCTTT
FAD2B-F	CAGAACCATTAGCTTTGTAGTAGTG
FAD2B-C	AACACTTCGTCGCGGTTG
FAD2B-A	AACACTTCGTCGCGGTTT
FAD2-R	CTCTGACTATGCATCAGAACTTGT

为检测 FAD2A/FAD2B 的野生型和突变等位基因分别设定四个 PCR 反应 (Chen et al., 2010), 本研究分别检测 FAD2A 野生型等位基因 (OL_1)、FAD2A 基因的突变等位基因 (ol_1)、FAD2B 野生等位基因 (OL_2) 和 FAD2B 突变体等位基因 (ol_2)。每个反应 (总体积为 25 mL) 含有 12.5 mL 的 2 \times Taq PCR 混合和 3 个引物。这四个反应中所加引物如表 4 所示, 利用 FAD2A-F/FAD2-R 和 FAD2B-F/FAD2-R 特异性 PCR 引物分别扩增 1.2 kb 的 *FAD2A* 和 *FAD2B* 基因片段作为参照带来验证 PCR。PCR 程序: 94 $^{\circ}$ C 温度下 2 min, 其次是 94 $^{\circ}$ C 温度下每 30 s 30 个周期, 53 $^{\circ}$ C 温度下 30 s 和 72 $^{\circ}$ C 温度下 90 s, 和最后 72 $^{\circ}$ C 下延伸 5 min。

表 4 鉴定 *FAD2A/FAD2B* 基因型时 4 个 PCR 反应中引物的组合

Table 4 Primer combinations in the 4 PCR reactions for *FAD2A/FAD2B* genotyping

PCR 反应	FAD2A-F	FAD2A-G	FAD2A-A	FAD2B-F	FAD2B-C	FAD2B-A	FAD2-R
PCR reaction							
反应 I (μL)	1	1					0.5
Reaction I (μL)							
反应 II (μL)	1		1				0.5
Reaction II (μL)							
反应 III (μL)				1	1		0.5
Reaction III (μL)							
反应 IV (μL)				1		1	0.5
Reaction IV (μL)							

3.5 品质测定与统计方法

12 个花生品系于 2013 年种植在河南农业大学科教园区。晒干后分别取饱满的成熟一致的单粒种子用德国布鲁克公司生产的近红外仪进行扫描, 收集光谱数据, 利用王传堂构建的近红外模型进行脂肪及主要脂肪酸含量分析(张建成等, 2011)。应用 DPS 统计软件(唐启义和冯明光, 2002)进行相关性分析。

作者贡献

王允和张苹果是本研究的实验设计和实验研究的执行人; 李贺敏和甄愿愿完成数据分析, 论文初稿的写作; 崔党群参与实验设计, 试验结果分析; 殷冬梅是项目的构思者及负责人, 指导实验设计, 数据分析, 论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由国家自然科学基金项目(31471525)和河南省现代农业产业技术体系(S2014-05-G03)共同资助。

参考文献

- Bolton G.E., and Sanders T.H., 2002, Effect of roasting oil composition on the stability of roasted high-oleic peanuts, Journal of the American Oil Chemists' Society., 79(2): 129-132
- Chen Z.B., Wang M.L., Barkley N.A., and Pittman R.N., 2010, A simple allele-specific PCR assay for detecting FAD2

- alleles in both A and B genomes of the cultivated peanut for high-oleate trait selection, Plant Mol. Biol. Rep., 28(3): 542-548
- Chu Y., Ramos L., Holbrook C.C., and Ozias-Akins P., 2007, Frequency of a loss-of-function mutation in oleoyl-PC desaturase (*ahFAD2A*) in the mini-core of the U.S. peanut germplasm collection, Crop Sci., 47(6): 2372-2378
- Ding J.P., Han Z.Q., Zhou R.Y., Gao G.Q., and Yang Y.P., 2007, Genetic analysis of oleic/linoleic (O/L) ratio in peanut, Zhong guo Youliao Zuowu Xuebao (Chinese Journal of Oil Crop Sciences), 29(3): 233-237 (丁锦平, 韩柱强, 周瑞阳, 高国庆, 杨玉萍, 2007, 花生油酸亚油酸比值(O/L)的遗传分析, 中国油料作物学报, 29(3): 233-237)
- Jung S., Powell G.L., Moore K., and Abbott A.G., 2000a, The high oleate trait in the cultivated peanut (*Arachis hypogaea*): II. Molecular basis and genetics of the trait, Mol. Gen. Genet., 263(5): 806-811
- Jung S., Swift D., Sengoku E., Patel M., Teule F., Powell G., Moore K., and Abbott A., 2000b, The high oleate trait in the cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.), I. isolation and characterization of two genes encoding microsomal oleoyl-PC desaturases, Mol. Gen. Genet., 263(5): 796-805
- Jung S., Tate P.L., Horn R., Kochert G., Moore K., and Abbott A.G., 2003, The phylogenetic relationship of possible progenitors of the cultivated peanut, J. Her., 94(4): 334-340
- Lei Y., Jiang H.F., Wen Q.G., Huang J.Q., Yan L.Y., and Liao B.S., 2010, Frequencies of *ahFAD2A* alleles in Chinese peanut mini core collection and its correlation with oleic

- acid content, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 36(11): 1864-1869 (雷永, 姜慧芳, 文奇根, 黄家权, 晏立英, 廖伯寿, 2010, *ahFAD2A* 等位基因在中国花生小核心种质中的分布及其与种子油酸含量的相关性分析, *作物学报*, 36(11): 1864-1869)
- Lopez Y., Nadaf H.L., Smith O.D., Connell J.P., Reddy A.S., and Fritz A.K., 2000, Isolation and characterization of the Δ^{12} -fatty acid desaturase in peanut (*Arachis hypogaea* L.) and search for polymorphisms for the high oleate trait in Spanish market-type lines, *Theor. Appl. Genet.*, 101(7): 1131-1138
- Lopez Y., Nadaf H.L., Smith O.D., Simpson C.E., and Fritz A.K., 2002, Expressed variants of Δ^{12} -fatty acid desaturase for the high oleate trait in Spanish market-type peanut lines, *Mol. Breed.*, 9(3): 183-190
- Lopez Y., Samith O.D., Senseman S.A., and Rooney W.L., 2001, Genetic factors influencing high oleic acid content in Spanish market-type peanut cultivars, *Crop Sci.*, 41(1): 51-56
- Patel M., Jung S., Morre K., and Powell G., 2004, High-oleate peanut mutants result from a MITE insertion into the *FAD2* gene, *Theor. Appl. Genet.*, 108(8): 1492-1502
- Tang Q.Y., and Feng M.G., eds., 2002, DPS Data processing system for practical statistics, Science Press, Beijing, China, pp. 1-648 (唐启义, 冯明光, 编著, 2002, 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统, 科学出版社, 中国, 北京, pp.1-648)
- Yin D.M., Cui D.Q., and Jia B., 2007, The construction of a high-efficiency expression vector of Δ^{12} fatty acid desaturase from *Arachis* and prokaryotical expression, *J. Genet. Ge- nomics*, 34(1): 81-88
- Yu H.T., Yang W.Q., Tang Y.Y., Wang X.Z., and Wu Q., 2013, An AS-PCR assay for accurate genotyping of *FAD2A/FAD2B* gene in peanut (*Arachis hypogaea* L.), *Grasasy Aceites*, 64(4): 395-399
- Yu S.L., Pan L.J., Yang Q.L., Min P., Ren Z.K., and Zhang H.S., 2008, Comparison of the Δ^{12} fatty acid desaturase gene between high-oleic and normal-oleic peanut genotypes, *J. Genet. Genomics*, 35: 679-685
- Zhang J.C., Wang C.T., Wang X.Z., Tang Y.Y., Zhang S.W., and Li G.J., 2011, NIRS calibration models predictive of oleic, linoleic and palmitic acid content in sun-dried bulk peanut seed samples, *Zhongguo Nongxue Tongbao (Chinese Agricultural Science Bulletin)*, 27(3): 90-93 (张建成, 王传堂, 王秀贞, 唐月异, 张树伟, 李贵杰, 2011, 花生自然风干种子油酸、亚油酸和棕榈酸含量的近红外分析模型构建, *中国农学通报*, 27(3): 90-93)
- Zhou L.X., Tang G.Y., Chen G., Bi Y.P., and Shan L., 2011, Correlation between *AhFAD2* polymorphism and oleic acid/linoleic acid ratio in peanut seeds, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 37(3): 415-423 (周丽侠, 唐桂英, 陈高, 毕玉平, 单雷, 2011, 花生 *AhFAD2* 基因的多态性及其与籽粒油酸/亚油酸比值间的相关性, *作物学报*, 37 (3): 415-423)