

高油酸花生品种(系) *ahFAD* 基因变异 鉴定及遗传多样性分析

王 瑾, 李玉荣, 程增书, 陈四龙, 宋亚辉, 刘义杰, 张朋娟
(河北省农林科学院粮油作物研究所 / 河北省作物遗传育种实验室, 石家庄 050035)

摘要: 为研究不同亲本来源高油酸品种(系)的遗传差异, 选用来源于5个高油酸供体亲本的25个品种(系)进行分析。所选材料油酸含量均大于75%, 油酸亚油酸比值大于10。对控制油酸基因 *ahFAD* 进行分析, 结果表明, 所选高油酸品种(系)的 *ahFAD2A* 与 *ahFAD2B* 均未发生突变, *ahFAD2A* 为 G448A 的替换, *ahFAD2B* 为 442 A 的插入。698对 SSR 引物对25个品种(系)进行检测, 140对引物在品种间检测到差异; 共检测到379个等位变异, 遗传多态性指数的变化范围为0.074~0.728, 平均0.371; 筛选到17个多态性丰富, 扩增产物稳定的引物, 可用于25个品种(系)进行鉴定区分。遗传距离分析表明, 25个品种遗传距离在0.057~0.624之间, 平均为0.451。对高油酸品种(系)进行聚类分析, 在遗传相似性系数0.745处, 被分为11个类群, 类群分布与亲本来源具有一致性, 可实现对一些资源或育成品种进行亲本类型的推测, 并为花生分子标记辅助育种提供参考。

关键词: 花生; 高油酸; 亲本来源; SSR 标记; 遗传多样性

ahFAD Genotype Identification and Genetic Diversity Analysis of High Oleic Acid Peanut Cultivars

WANG Jin, LI Yu-rong, CHENG Zeng-shu, CHEN Si-long, SONG Ya-hui, LIU Yi-jie, ZHANG Peng-juan
(Institute of Cereal and Oil Crops, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences /
Laboratory of Crop Genetics and Breeding of Hebei Province, Shijiazhuang 050035)

Abstract: To study the genetic difference of the high oleic acid peanut cultivars, twenty-five offspring varieties from five high oleic acid parents were investigated by using gene-based and genetic marker-based diversity analysis approaches. The oleic acid content and O/L of 25 peanut varieties were higher than 75% and 10, respectively. By analyzing the full-length sequence of *ahFAD* genes of these varieties, a nucleotide substitution of G448A was found in *FAD2A*, while a nucleotide insertion of A at 442 from the translation starting code in *FAD2B* was identified. Searching for polymorphism in 25 varieties using 698 SSR markers, 140 SSR markers were found to be polymorphic, which produced a total of 379 alleles. The genetic diversity index value ranged from 0.074 to 0.728 with average of 0.371. Notably, these 25 varieties were distinguishable by using 17 polymorphic SSR markers. The genetic distance ranged from 0.057 to 0.624 with a mean value of 0.451. Eleven groups were revealed when the genetic similar coefficients of 0.745 which was able to distinguish the parents and the offspring varieties. Taken together, the results may become useful in the pedigree analysis of the high oleic acid peanut varieties and the molecular marker assisted selection in peanut breeding.

Key words: peanut; high oleic acid; parent-of-origin; SSR markers; genetic diversity

收稿日期: 2019-10-29 修回日期: 2019-11-13 网络出版日期: 2019-12-31

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20191029005>

第一作者研究方向为花生遗传育种与栽培研究, E-mail: wangjinnky@163.com

通信作者: 李玉荣, 研究方向为花生遗传育种与栽培研究, E-mail: liyrl@163.com

基金项目: 河北省自然科学基金(C2018301076); 河北省科技计划项目(16226301D); 河北省现代农业产业技术体系(HBCT2018090201); 基本科研业务费(2018JBYWF06); 河北省现代农业科技创新工程项目(2019-4-3-3)

Foundation project: Natural Sciences Foundation of Hebei(C2018301076), Science and Technology Plans Project of Hebei(16226301D), Hebei Agriculture Research System(HBCT2018090201), The Basic Scientific Research(2018JBYWF06), The Hebei Modern Agricultural Science and Technology Innovation and Research Project(2019-4-3-3)

花生是中国主要油料作物之一,自 20 世纪 50 年代以来,我国花生经历了 5 次品种更替,均带来了单位面积产量的显著提高^[1]。近年来,高油酸品种替代普通油酸品种为标志的新一次花生品种更新已经开始,此次更新在提高产量的基础上也带来了品质的显著改善。高油酸花生顾名思义就是指所含油脂脂肪酸成分中油酸含量高的花生。按我国认可的标准,高油酸花生指的是油酸含量占脂肪酸总量 75% 以上,油酸和亚油酸比值大于 10 的花生^[2]。

Norden 等^[3]于 1987 年在 494 份花生材料中鉴定出 2 份高油酸突变体:435-1 和 435-2,后命名为 F435。经研究,此突变体编码花生油酸去饱和酶(*FAD2*)的基因发生了变异,表现为 *FAD2A* 基因在编码区 448 位有一个 G → A 的替换^[4],*FAD2B* 基因在编码区 442 位发生了一个 A 的插入^[5]。Petal 等^[6]通过化学诱变获得高油酸品种 M2-225,是由于 *FAD2B* 基因起始密码子后 665bp 和 997bp 处存在 MITE (Miniature Inverted-repeat Transposable Element) 插入导致基因功能丧失。Wang 等^[7]发现了 *FAD2B* 基因的新突变,为 C301G 突变导致第一个组氨酸盒中的氨基酸改变。

高油酸花生中的油酸是一种单不饱和脂肪酸,具有很好的抗酸败能力。研究表明高油酸花生与非高油酸花生相比,花生油氧化诱导期和货架期分别延长 27.27 h 和 4.09 年^[8]。高油酸花生非常有益于人体健康,可以降低低密度脂蛋白胆固醇,减少心血管疾病风险;增强胰岛素敏感性,从而控制血糖和体重;有益于脑血管健康,增强脑认知能力;抑制肺癌发生^[9]。高油酸花生的推广应用可大大延长花生制品的货架期、提高我国食用油的质量。

微卫星标记 SSR (Simple Sequence Repeats) 是一种从分子水平探讨材料间遗传差异及遗传多样性的工具。具有多态性好、信息量高、共显性等特点,早已广泛应用在花生的遗传多样性分析、遗传图谱的构建、QTL 定位和杂交种鉴定等方面^[10-13]。近年来 SNP (Single Nucleotide Polymorphism) 标记在花生中也已经开发利用^[14-15],但 SSR 标记因为其简单易操作、重复性好,仍具有不可替代性。

据统计,中国高油酸花生亲本主要有 AT201、SunOleio 95R、开选 01-6、开选 176、CTWE、P76 等,其中 AT201 和 SunOleio 95R 是从美国直接引进的品种。开选 01-6 和开选 176 是利用引进高油酸资源选育而成的高油酸材料。CTWE、P76 等是经诱变获得的高油酸材料^[16]。依托于这些高油酸资源,

中国近年来育成了一系列的高油酸品种(系)。但目前针对不同亲本来源的高油酸品种(系)间遗传差异还没有相关报道。针对这个问题,本研究选用了来源于 5 个高油酸亲本的 25 份品种(系)进行高油酸相关基因 *ahFAD* 测序和 SSR 标记检测,分析其遗传多样性,并根据其结果进行亲缘关系聚类分析,分析标记结果与亲本来源的一致性,从而为将来进行高油酸材料的选育提供理论依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2018 年 3 月本研究室选用来源于 5 家育种单位的 25 份高油酸品种(系)进行分析,25 份高油酸品种(系)均为近年来育成的高油酸品种(系),有极大的推广应用潜力。其中包含河北省农林科学院粮油作物研究所(与开封市农林科学研究院合作选育)品种 6 个,山东省花生研究所培育品种(系)9 个,开封市农林科学研究院品种(系)6 个,河南省农业科学院经济作物研究所品种(系)3 个,中国农业科学院油料作物研究所品种 1 个。品种选育单位提供选用品种(系)的亲本。

1.2 试验方法

1.2.1 DNA 提取 剪取 0.1 g 新鲜花生叶片用液氮研成粉末,置于 2 mL 离心管中,选用生工生物工程(上海)有限公司的基因组 DNA 快速抽提试剂盒(植物)进行 DNA 样品提取。DNA 提取完成后用分光光度计测量其浓度和纯度。

1.2.2 SSR 标记检测 将部分 DNA 稀释成 20 ng/μL,置于 4 °C 备用。采用 698 对 SSR 标记^[10,17-19]对其进行多态性筛选。PCR 反应体系(12 μL)为:2 × power Taq PCR 混合液 6 μL,2 μmol/L SSR 引物 1.5 μL,DNA 2 μL,ddH₂O 2.5 μL。反应程序为 94 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 45 s;50 °C 退火 45 s;72 °C 延伸 45 s;共 34 个循环;72 °C 延伸 10 min。扩增产物采用 6% 的聚丙烯酰胺变性凝胶电泳,银染显色。

1.2.3 *ahFAD2A* 和 *ahFAD2B* 的扩增及测序 本研究中高油酸基因 *ahFAD2A* 和 *ahFAD2B* 采用直接测序法进行鉴定。扩增 *FAD2* 基因 A 基因组全长,所用引物为 AhFAD2A_F_wml (5'-GATTATTGACTTGCTTTGTAGTAGTGC-3') 和 AhFAD2A_R_wml (5'-ACACAAACGTTTTCAACTCTGAC-3')^[7]。扩增 *FAD2* 基因 B 基因组全长,所用引物为 bF19 (5'-CAGAACCATTAGCTTTG-3') 和 R1

(5'-CTCTGACTATGCATCAG-3')^[20]。花生 DNA 稀释成 100~300 ng/μL,置于 4 °C 备用。扩增体系为 (20 μL): 2×PCR 混合液 10 μL,上下游引物各 1 μL,模板 0.5 μL,其余用 ddH₂O 补足。扩增程序为 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 60 °C /50 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 80 s,共 30 个循环; 72 °C 延伸 10 min。

以冀花 6 号为非高油酸对照。每个样品扩增 3 个重复,PCR 完成后混合,抽取 2 μL PCR 产物在 1% 的琼脂糖胶上 200 V, 15~20 min 分离。有条带且条带单一的可以送测序。

1.2.4 脂肪酸含量测定 所选品种(系)高油酸值主要来源于育种单位提供,部分为气相色谱仪(Agilent 6890)和近红外光谱分析仪(波通 DA7200)检测结果。

1.2.5 数据处理 采用 Geneious4.8.2^[21] 软件对测序结果进行分析。采用 PowerMarker V3.25 软件^[22] 进行等位变异数、多态性信息含量(PIC,

polymorphism information content) 和材料间遗传距离的计算。利用 NTSYS-PC 2.1 遗传分析软件以 UPGMA 进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 25 份高油酸花生的高油酸供体亲本分析

对 25 份高油酸品种(系)高油酸供体亲本进行分析(表 1),所选 25 份材料高油酸亲本有开选 01-6、P76、CTWE、06B16 和 F20。其中高油酸材料开选 01-6 为亲本培育品种(系)最多,包含 6 个冀花系列品种、6 个开农系列品种、3 个豫花系列品种(系)和 1 个中花系列品种。花育系列品种在选育过程中注重高油酸亲本的多样性,9 个品种来源于 4 个高油酸亲本,其中 P76 为花育 51、花育 52、花育 951 和花育 957 共 4 个品种提供了高油酸基因。CTWE 和 06B16 分别是 2 个品种(系)高油酸性状来源。F20 仅为花育 910 提供了高油酸基因。

表 1 25 份高油酸花生品种(系)依据亲本来源的分类情况

Table 1 The classification of 25 high oleic acid peanut varieties (lines) based on the pedigree information

亲本名称 Name of parent	品种(系) Varieties (lines)
开选 01-6	冀花 11 号、冀花 13 号、冀花 16 号、冀花 18 号、冀花 19 号、冀花 21 号、开农 61、开农 71、开农 176、开农 301、开农 1715、开农 1760、豫花 65、豫花 80、中花 24、豫花 37
P76	花育 51、花育 52、花育 951、花育 957
CTWE	花育 662、花育 961
06B16	花育 655、花育 956
F20	花育 910

2.2 高油酸花生品种(系) *ahFAD2A* 和 *ahFAD2B* 序列分析

25 份高油酸花生品种(系)的油酸含量在 75.1%~81.6% 之间,油亚比为 10.0~40.9(表 2),均为高油酸材料。

利用引物 AhFAD2A_F_wml/AhFAD2A_R_wml 和引物 bF19/R1 扩增花生的 *ahFAD2A* 和 *ahFAD2B* 的基因全长(图 1),在起始密码子后的第 448 位点处,25 份高油酸品种的 *ahFAD2A* 为 A,非高油酸对照冀花 6 号为 G。所有高油酸品种(系) *ahFAD2B* 在起始密码子后第 442 处插入 A,非高油酸对照冀花 6 号的 *ahFAD2B* 位点未见插入。即所有高油酸品种(系)的 *ahFAD2A* 与 *ahFAD2B* 均为突变型(表 2)。

2.3 高油酸品种(系)SSR 标记遗传多样性分析

选用 698 对 SSR 标记对 25 份高油酸花生新品

种(系)进行检测,其中 140 对引物在品种间检测到差异,多态性引物比例为 20.06%。遗传多态性指数的变化范围为 0.074~0.728,平均 0.371。140 个 SSR 标记共检测到 379 个等位变异,位点的平均等位变异数为 2.70 个,等位变异最小为 2 个,最多为 6 个。

依据引物等位变异数目的多少和多态性信息含量(表 3),筛选到 17 个多态性丰富,扩增产物清晰的 SSR 引物,其等位变异数为 3~6 个,遗传多态性指数的变化范围为 0.536~0.728。利用这些引物可对 25 份高油酸花生新品种(系)进行鉴别区分,其中开农 61 和花育 961 遗传差异最大,17 个引物均可在两者之间检测到多态性;豫花 80 和豫花 37 差异最小,只有引物 Ah1TC6E01 可在两者之间检测到差异。

表 2 25 份高油酸品种(系)基因型及油酸含量

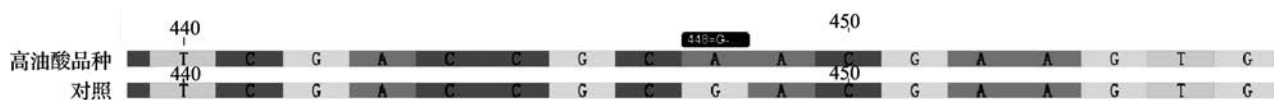
Table 2 The genome and the oleic acid content of 25 high oleic acid peanut varieties(lines)

序号 No.	品种(系) Varieties(lines)	A 基因组 A genome	B 基因组 B genome	油酸含量(%) Oleic acid content	油亚比 Oleic acid/Linoleic acid
1	冀花 11 号	突变	突变	80.7	26.0
2	冀花 13 号	突变	突变	79.6	19.4
3	冀花 16 号	突变	突变	79.3	20.6
4	冀花 18 号	突变	突变	76.7	13.1
5	冀花 19 号	突变	突变	75.4	10.6
6	冀花 21 号	突变	突变	80.4	24.4
7	花育 51	突变	突变	80.3	23.9
8	花育 52	突变	突变	81.5	27.0
9	花育 655	突变	突变	80.3	24.8
10	花育 662	突变	突变	80.8	29.9
11	花育 910	突变	突变	79.3	40.9
12	花育 951	突变	突变	80.5	27.8
13	花育 956	突变	突变	81.6	26.7
14	花育 957	突变	突变	80.0	24.5
15	花育 961	突变	突变	81.2	24.6
16	开农 61	突变	突变	77.7	13.6
17	开农 71	突变	突变	76.5	11.9
18	开农 176	突变	突变	76.8	11.1
19	开农 301	突变	突变	75.1	10.9
20	开农 1715	突变	突变	75.6	10.9
21	开农 1760	突变	突变	76.4	11.6
22	豫花 65	突变	突变	75.9	10.0
23	豫花 80	突变	突变	75.6	10.3
24	中花 24	突变	突变	78.9	35.3
25	豫花 37	突变	突变	77.5	12.7

A 基因组突变为 *ahFAD2A* 发生了 G448A 的替换, B 基因组突变为 *ahFAD2B* 在 442 A 的插入

A nucleotide substitution of G448A was found in *FAD2A*, while a nucleotide insertion of A was identified at 442 in *FAD2B*

A



B

图 1 *ahFAD2A* (A) 和 *ahFAD2B* (B) 序列的扩增结果Fig. 1 The amplification results for *ahFAD2A* (A) and *ahFAD2B* (B)

表3 17对引物在25份高油酸品种(系)中等位变异数和遗传多态性指数

Table 3 Number of alleles and *PIC* for 25 high oleic acid peanut varieties by 17 SSR primers

SSR 引物 SSR primer	等位变异数 No. of alleles	遗传多态性指数 <i>PIC</i>
Ah1TC1E01	6	0.728
2A5	5	0.725
pPGPseq2E6	5	0.707
PM50	5	0.684
Ah1TC6H03	5	0.663
pPGPseq5D5	5	0.663
IPAHM569	5	0.555
IPAHM123	5	0.545
2E6	4	0.687
pPGSseq15C12	4	0.649
IPAHM356	4	0.635
17F6	4	0.626
IPAHM407a	4	0.588
Ah1TC4F12	4	0.553
Ah1TC4H02-c	4	0.549
pPGSseq13A10	4	0.536
Ah1TC6E01	3	0.577

分析25份高油酸花生品种(系)两两之间的遗传距离,共获得300个数据,其中豫花37和豫花80遗传距离最短为0.057,开农61和花育961遗传距离最大为0.624,平均为0.451。两两品种间遗传距离

分布在0.4~0.5之间最多,为132个,占总数44.00%。品种间遗传距离98.00%分布在0~0.6之间(图2),表明所选高油酸品种(系)遗传基础较为狭窄。

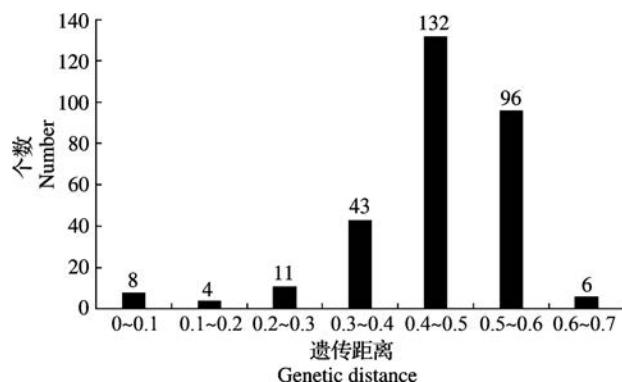


图2 25份高油酸花生品种(系)遗传距离分布

Fig.2 Distribution of genetic distance for 25 high oleic acid peanut varieties (lines)

25份高油酸花生品种(系)进行聚类分析(图3),随着遗传相似性系数的增加品种(系)分类愈多,在遗传相似性系数0.62处,所有材料被聚为一类。在遗传相似性系数0.67处被分为6类,第I类和第IV类亲本均为开选01-6; II、V和VI类高油酸亲本分别为CTWE、06B16和F20;第III类中亲本为P76的花育52、花育951和花育957与亲本为开选01-6的豫花65、豫花80、豫花37没有被区分开,聚在了一组。表明在此位点进行聚类,部分区段不能依据分类结果明确其亲本来源。在遗传相似性系数0.745处被分为11类,其中I、V、VI、VII、VIII和IX共6类亲本均为开选01-6; III和IV两类的亲本为

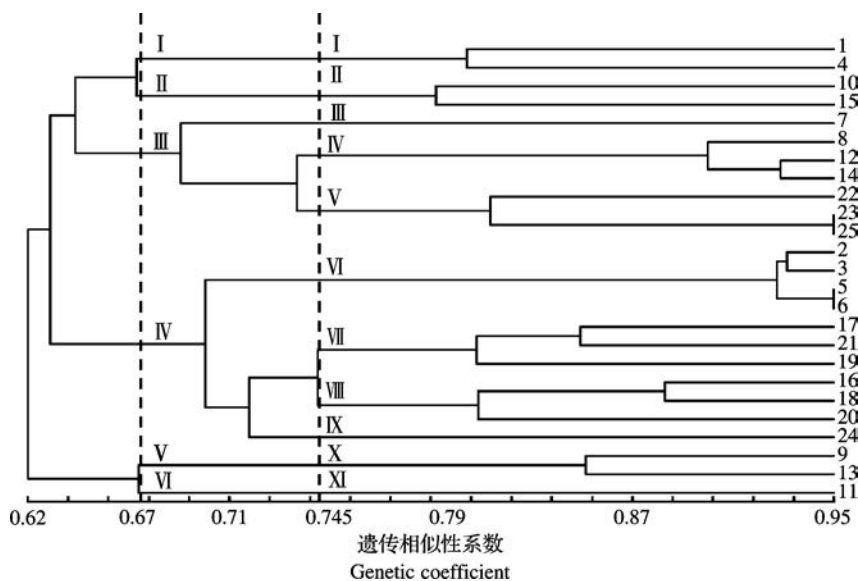


图3 25份高油酸花生品种(系)的SSR标记聚类图

Fig.3 Dendrogram of 25 high oleic acid peanut varieties cluster analysis based on SSR dataset

P76; 剩余 II、X 和 XI 类的亲本分别为 CTWE、06B16 和 F20, 亲本来源不同的品种(系)均被分在不同的类别, 可以按照分类结果将高油酸亲本来源鉴别出来。因此, 可选择遗传相似系数大于 0.745 作为本研究进行亲本来源推测的标准。

3 讨论

3.1 品种(系)间多态性 SSR 引物的筛选

近年来随着测序技术的飞速发展, SNP 标记在花生中得到了开发利用^[14-15], 但与 SNP 标记相比, SSR 标记由于其扩增产物稳定、操作过程简单、多态性高等优点仍受到很多基层单位的喜爱。对于一些高油酸品种来说, 由于其亲本来源较为单一, 仅依靠表型性状进行分辨结果不够准确, 利用分子标记技术进行区别鉴定, 建立品种(系)的指纹图谱也是今后工作的重点。本研究中根据扩增产物的稳定性、标记的多态性等因素筛选到 17 个 SSR 标记, 利用这些标记可对所选的 25 个品种(系)进行检测, 品种(系)间至少有 1 个标记可检测到差异。此结果可为 25 个品种(系)的鉴定提供依据。

3.2 高油酸基因的分析比较

花生高油酸遗传机制研究表明, 花生高油酸特性主要由油酸去饱和酶(*FAD2*) 基因控制, 目前主要发现 3 种高油酸突变类型。第 1 种为 *FAD2A* 基因均在编码区 448 位有一个 G → A 的替换^[4], *FAD2B* 基因一种变异为在编码区 442 位发生了一个 A 的插入^[5]。第 2 种为 *FAD2B* 基因起始密码子后 665bp 和 997bp 处存在 MITE 插入导致基因功能丧失^[6]。第 3 种为 *FAD2B* 基因 C301G 突变导致第一个组氨酸盒中的氨基酸改变^[7]。本研究通过对 *FAD2* 基因全长的分析表明所选材料均为第一种变异, 选育品种依赖高油酸突变类型狭窄。因此, 以后研究中可通过诱变等形式, 创制出更多的高油酸突变类型, 拓宽遗传基础。

3.3 依据高油酸供体分类与 SSR 标记检测结果分析的符合性

品种(系)的基因型为父母本共同作用的体现, 为了使检测结果准确可靠, 本研究共选用了 698 对分布于各染色体的引物对 25 个品种(系)进行检测, 研究结果表明大部分来源于同一个高油酸亲本的材料聚为一类, SSR 标记聚类结果与系谱来源具有高度一致性, 并随着相似系数的增加, 分类愈加准确。此结果对于鉴定高油酸品种(系)亲本来源具有重要的指导作用。

参考文献

- [1] 王瑾, 李玉荣, 程增书, 陈四龙, 宋亚辉, 张朋娟. 中国花生品种更替引发的 SSR 位点遗传多样性变化趋势分析. 四川农业大学学报, 2017, 35(3): 309-316
Wang J, Li YR, Cheng ZS, Chen SL, Song YH, Zhang PJ. Analysis the genetic diversity variation trends of peanut elite cultivars in China using SSR markers. Journal of Sichuan Agricultural University, 2017, 35(3): 309-316
- [2] 滕葳, 李倩, 万书波, 张树秋, 柳琪, 刘建洋, 甄爱华, 孙东伟, 宫旭洲, 吕崇晓, 张鹏, 单世华, 王磊, 董焜, 刘学峰, 段银琴, 李秋, 刘芳, 王玉涛, 张佳蕾, 李宇阳, 高磊, 李腾. 中华人民共和国农业行业标准, NY/T 3250-2018. 北京: 中华人民共和国农业农村部, 2018
Teng W, Li Q, Wan S B, Zhang S Q, Liu Q, Liu J Y, Zhen A H, Sun D W, Gong X Z, Lv C X, Zhang P, Shan S H, Wang L, Dong Z, Liu X F, Duan Y Q, Li Q, Liu F, Wang Y T, Zhang J L, Li N Y, Gao L, Li T. Agricultural trade standards of the People's Republic of China, NY/T 3250-2018. Beijing: Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China, 2018
- [3] Norden A J, Gorbet D W, Knauff D A, Young C T. Variability in oil quality among peanut genotypes in the florida breeding program. Peanut Science, 1987, 14(1): 7-11
- [4] Jung S, Powell G, Moore K, Abbott A. The high oleate trait in the cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.) II. Molecular basis and genetics of the trait. Molecular and General Genetics, 2000, 263(5): 806-811
- [5] López Y, Nadaf H L, Smith O D, Connell J P, Reddy A S, Fritz A K. Isolation and characterization of the Delta (12)-fatty acid desaturase in peanut (*Arachis hypogaea* L.) and search for polymorphisms for the high oleate trait in Spanish market-type lines. Theoretical and Applied Genetics, 2000, 101(7): 1131-1138
- [6] Petal M, Jung S, Moore K, Powell G, Abbott A. High-oleate peanut mutants result from a MITE insertion into the *FAD2* gene. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 108: 1492-1502
- [7] Wang M L, Tonnis B, An Y, Pinnow D L, Tishchenko V, Pederson G A. Newly identified natural high-oleate mutant from *Arachis hypogaea* L. subsp. *hypogaea*. Molecular Breeding, 2015, 35: 186
- [8] 郑畅, 杨湄, 周琦, 黄凤洪, 邓乾春, 郭萍梅, 刘昌盛. 高油酸花生油与普通油酸花生油的脂肪酸、微量成分含量和氧化稳定性. 油脂化学, 2014, 39(11): 40-42
Zheng C, Yang M, Zhou Q, Hang F H, Deng Q C, Guo P M, Liu C S. Contents of fatty acid and minor component and oxidative stability of high-oleic peanut oil and normal-oleic peanut oil. Oil Chemistry, 2014, 39(11): 40-42
- [9] 王传堂, 朱立贵. 高油酸花生. 上海: 上海科技出版社, 2017: 12, 27-35
Wang C T, Zhu L G. High oleic acid peanut. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 2017: 12, 27-35
- [10] Gautami B, Fonceka D, Pandey M K, Márcio C, Moretzsohn S V, Qin H, Hong Y, Faye I, Chen X, Bhanuparkash A, Shah T M, Gowda M, Nigam S N, Liang X, Hoisington D A, Guo B, Bertoli A, Rami J, Varshney R K. An international reference consensus genetic map with 897 marker loci based

- on 11 mapping populations for tetraploid groundnut (*Arachis hypogaea* L.). PLoS One, 2012, 7(7): 41213
- [11] 王瑾,李玉荣,张嘉楠,程增书,陈四龙,宋亚辉,王利媛,孔海彦. 花生杂交种 F₁ 真伪的 SSR 标记检测. 中国油料作物学报, 2013(35): 171-175
Wang J, Li Y R, Zhang J N, Cheng Z S, Chen S L, Song Y H, Wang L Y, Kong H Y. Hybrid identification of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by SSR markers. Chinese Journal of Oil Crops Sciences, 2013(35): 171-175
- [12] 王燕龙,单雷,付春,徐平丽,姜言生,柳展基,曲志才,唐桂英. 不同 SSR 标记检测技术及其在花生栽培种遗传多样性分析中的应用. 植物遗传资源学报, 2014, 15(1): 96-105
Wang Y L, Shan L, Fu C, Xu P L, Jiang Y S, Liu Z J, Qu Z C, Tang G Y. Different SSR detection techniques and their application in genetic diversity analysis of peanut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars. Journal of Plant Genetic Resources, 2014, 15(1): 96-105
- [13] 陈静,胡晓辉,苗华荣,石运庆,禹山林. SSR 标记分析国家北方花生区试品种的遗传多样性. 植物遗传资源学报, 2009, 10(3): 360-366
Chen J, Hu X H, Miao H R, Shi Y Q, Yu S L. Analysis of genetic diversity of peanut (*Arachis hypogaea* L.) varieties under the region tests of north China based on SSR marker. Journal of Plant Genetic Resources, 2009, 10(3): 360-366
- [14] Ratan C, Gloria B, Andrew F, Joann M, Charles E S, Thea A W, Michael R B, Naveen P, Kelly D C, Mark D B. Next-generation transcriptome sequencing, SNP discovery and validation in four market classes of peanut, *Arachis hypogaea* L.. Molecular Genetic Genomics, 2015, 290(3): 1169-1180
- [15] Wang L, Zhou X, Ren X, Huang L, Luo H, Chen Y, Chen W, Nian L, Liao B, Lei Y, Yan L, Shen J, Jiang H. A major and stable QTL for bacterial wilt resistance on Chromosome B02 identified using a high-density SNP-based genetic linkage map in cultivated peanut Yuanza 9102 derived population. Frontiers in genetics, 2018, doi: 10.3389/fgene.2018.00652
- [16] 王传堂,张建成,唐月异,于树涛,王强,刘峰,李秋. 中国高油酸花生育种现状与展望. 山东农业科学, 2018, 50(6): 171-176
Wang C T, Zhang J C, Tang Y Y, Yu S T, Wang Q, Liu F, Li Q. Current situation and future directions of high oleic peanut breeding in China. Shandong Agricultural Sciences, 2018, 50(6): 171-176
- [17] Gimenes M A, Hoshino A A, Barbosa A V, Palmieri D A, Lopes C R. Characterization and transferability of microsatellite markers of the cultivated peanut (*Arachis hypogaea*). BMC Plant Biology, 2007, doi: 10.1186/1471-2229-7-9
- [18] Guo B Z, Chen X P, Hong Y B, Liang X Q, Dang P, Brennen T, Corley H, Culbreath A. Analysis of gene expression profiles in leaf tissues of cultivated peanuts and development of EST-SSR markers and gene discovery. International Journal of Plant Genomics, 2009, doi: 10.1155/2009/715605
- [19] Cuc L M, Mace E S, Crouch J H, Quang V D, Long T D, Varshney R K. Isolation and characterization of novel microsatellite markers and their application for diversity assessment in cultivated groundnut (*Arachis hypogaea*). BMC Plant Biology, 2008, doi: 10.1186/1471-2229-8-55
- [20] Shirasawa K, Koilkonda P, Aoki K, Hirakawa H, Tabata S, Watanabe M, Hasega M, Kiyoshi H, Suzuki S, Ku C, Naito Y, Kuboya T, Nakaga A, Sasamoto S, Watanabe A, Kato M, Kawa K, Kishi Y, Kohara M, Kurabayashi A, Takahashi C, Tsuruokai H, Wadaiaand T, Isobei S. In silico polymorphism analysis for the development of simple sequence repeat and transposon markers and construction of linkage map in cultivated peanut. BMC Plant Biology, 2012, doi: 10.1186/1471-2229-12-80
- [21] Kears M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, Cooper A, Markowitz S, Duran C, Thierer T, Ashton B, Meintjes P, Drummond A. Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. Bioinformatics, 2012, 28(12): 1647-1649
- [22] Liu K, Muse S V. PowerMarker: Integrated analysis environment for genetic marker data. Bioinformatics, 2005, 21(9): 2128-2129