

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2021.04170

低温胁迫对普通和高油酸花生种子萌发的影响

薛晓梦¹ 吴洁¹ 王欣¹ 白冬梅² 胡美玲¹ 晏立英¹ 陈玉宁¹
康彦平¹ 王志慧¹ 淮东欣^{1,*} 雷永¹ 廖伯寿^{1,*}

¹ 中国农业科学院油料作物研究所 / 农业农村部油料作物生物学与遗传育种重点实验室, 湖北武汉 430062; ² 山西省农业科学院经济作物研究所, 山西汾阳 032200

摘要: 高油酸花生以其营养价值高和耐储藏等特点深受广大消费者和加工企业的喜爱。近年来, 随着高油酸花生品种在我国的推广应用, 高油酸花生在高海拔、高纬度地区的发芽期耐寒性成为关注热点。为探究花生种子的油酸含量与其萌发期耐寒性的相关性, 本研究调查 6 组不同遗传背景的花生品种及其高油酸回交后代品系(BC₄F₈) 在低温条件下的发芽率和发芽指数发现, 在低温胁迫下花生的萌发期耐寒性与其油酸含量无显著相关性。在泉花 551 高油酸后代品系(Quanhua 551-HO) 低温发芽率显著低于其普通油酸含量亲本(Quanhua 551-NO) 的组合中, 追踪分析 8 种主要脂肪酸在低温胁迫萌发过程中含量的变化发现, 在低温胁迫下 Quanhua 551-NO 中油酸含量显著减少且亚油酸含量显著增加, 而 Quanhua 551-HO 中也表现出了油酸含量减少、亚油酸含量增加的趋势, 但是未达到显著水平。进而分析上述 2 种材料中低温胁迫下各脂肪酸脱氢酶(fatty acid desaturase 2, FAD2) 基因的表达模式发现, Quanhua 551-NO 中 *AhFAD2-1A/B* 受低温诱导显著上调表达, 而 *AhFAD2-4A/B* 显著下调表达; 在 Quanhua 551-HO 中 *AhFAD2-4A/B* 受低温诱导持续显著上调表达, 而 *AhFAD2-1A/B* 显著下调表达, 推测由于高油酸花生中 *AhFAD2-1A/B* 编码蛋白失活, *AhFAD2-4A/B* 在低温诱导下高量表达, 部分弥补了 *AhFAD2-1A/B* 缺失的功能。综上所述, 花生种子中油酸含量并不是决定其萌发期耐寒性的关键因素。

关键词: 高油酸花生; 低温胁迫; 发芽率; 脂肪酸脱氢酶(FAD2)

Effects of cold stress on germination in peanut cultivars with normal and high content of oleic acid

XUE Xiao-Meng¹, WU JIE¹, WANG Xin¹, BAI Dong-Mei², HU Mei-Ling¹, YAN Li-Ying¹, CHEN Yu-Ning¹,
KANG Yan-Ping¹, WANG Zhi-Hui¹, HUAI Dong-Xin^{1,*}, LEI Yong¹, and LIAO Bo-Shou^{1,*}

¹ Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Oil Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs / Oil Crops Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430062, Hubei, China; ² Industrial Crops Research Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Fenyang 032200, Shanxi, China

Abstract: High oleate (HO) peanut is highly popular for its improved nutrient value and strengthened storage stability among customers and peanut processing enterprises. In recent years, with the adoption of HO peanut in our country, the cold tolerance of peanut at germination stage in high altitude or high latitude area has become a major concern. To figure out the relationship between the seed oleic acid content and the cold tolerance at germination stage in peanut, the germination rate and germination index of seeds under cold stress were investigated among six peanut cultivars with normal content of oleic acid (NO) and their back-cross-derived HO lines, respectively. The results showed that the oleic acid content was not significantly correlated with the cold

本研究由国家重点研发计划项目“大田经济作物优质丰产的生理基础与调控”(2018YFD1000900)和广东省重点领域研发计划项目(2020B020219003)资助。

This study was supported by the National Key Research and Development Program of China “Physiological Basis and Agronomic Management for High-quality and High-yield of Field Cash Crops” (2018YFD1000900), and the Key Area Research and Development Program of Guangdong Province (2020B020219003).

* 通信作者(Corresponding authors): 淮东欣, E-mail: dxhuai@caas.cn; 廖伯寿, E-mail: lboshou@hotmail.com

第一作者联系方式: E-mail: xiaomengxue1991@163.com

Received (收稿日期): 2020-07-26; Accepted (接受日期): 2021-01-21; Published online (网络出版日期): 2021-02-23.

URL: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20210223.1559.004.html>

tolerance at germination stage. The contents of eight main fatty acids under cold stress at germination stage were tracked in Quanhua 551 (Quanhua 551-NO) and its HO offspring line (Quanhua 551-HO), and the germination rate of Quanhua 551-HO was significantly lower than that of Quanhua 551-NO under cold stress. The oleic acid content of Quanhua 551-NO was significantly decreased while the linoleic acid content was significantly increased under cold stress. However, the contents of oleic acid and linoleic acid exhibited the same trend in Quanhua 551-HO, and there was no significant difference. The expression profiles of *fatty acid desaturase 2 (AhFAD2)* genes in both Quanhua 551-NO and Quanhua 551-HO under cold stress revealed that the relative expression level of *AhFAD2-1A/B* was significantly up-regulated, while that of *AhFAD2-4A/B* was significantly down-regulated under cold stress in Quanhua 551-NO. Conversely, the relative expression level of *AhFAD2-1A/B* was significantly decreased, but the relative expression level of *AhFAD2-4A/B* was significantly increased under cold stress in Quanhua 551-HO. These results implied that the up-regulation of *AhFAD2-4A/B* in HO peanut may partly compensate for lost function of *AhFAD2-1A/B* in response to cold stress. In conclusion, the oleic acid content in seed was not the main factor to determinate the cold tolerance at germination stage.

Keywords: high oleate peanut; cold stress; germination rate; fatty acid desaturase 2 (FAD2)

花生(*Arachis hypogaea* L.)是全世界范围广泛种植的油料作物和经济作物之一。花生是我国重要的食用植物油和蛋白质来源,2018年我国花生总产量和产油量分别达到了1733万吨和294万吨^[1]。近年来,高油酸花生以其营养价值高、稳定性强、货架期长等优势,越来越受到消费者和加工企业的喜爱^[2-3]。高油酸花生是指油酸含量超过73%的花生品种^[4],与普通花生品种(油酸含量约35%~65%)相比,高油酸花生中油酸含量显著提高。油酸(C18:1)是一种单不饱和脂肪酸,能选择性降低人体血液中有毒的低密度胆固醇,而保持有益的高密度胆固醇,有助于预防心脑血管疾病^[5-6]。高油酸花生中亚油酸(C18:2)含量显著降低(约2%),亚油酸具有2个双键,在加工和储存过程中易被氧化变质,其含量的大幅降低提升了高油酸花生的加工和储藏品质。因此,高油酸花生已逐渐成为我国当前的主推品种。

低温是影响农作物生长和产量的重要非生物胁迫因素之一。花生是一种喜温作物,整个生育期都需要充足的光照和适宜的温度,花生种子萌发所需的最低温度为12~15℃^[7-8]。随着高油酸花生品种的种植面积不断扩大,高油酸花生品种对低温敏感,低温耐受能力较差,尤其在播种发芽期,易出现出苗不齐、冷害死苗等现象,低温成为了限制高油酸花生在我国北部以及一些高纬度、高海拔地区推广和种植的重要影响因素^[9-11]。花生高油酸性状是由2对 Δ^{12} 脂肪酸脱氢酶(fatty acid desaturase 2, FAD2)基因(*AhFAD2-1A*和*AhFAD2-1B*)发生隐性突变导致的^[12]。已有研究报道,*FAD2*基因功能与植物的耐寒性密切相关^[13-15],但是,高油酸花生的耐寒性是否有影响尚不明确。薛晓梦等^[16]比较普通油酸花生中

花16和高油酸花生中花413在15℃下的发芽率发现,中花413的发芽率未显著下降,而中花16的发芽率显著降低。花生基因组中共鉴定到7个*AhFAD2*基因,不同*AhFAD2*基因在花生不同发育阶段和不同组织中特异表达,行使其功能^[17]。特别是*AhFAD2-1A/B*和*AhFAD2-4A/B*都受到低温胁迫诱导表达,虽然在高油酸花生中*AhFAD2-1A/B*编码蛋白失活,但*AhFAD2-4A/B*的高量表达在一定程度上可以弥补这部分功能^[16]。但是,由于上述研究中使用材料较少,不具有普遍性,且高油酸花生和普通油酸花生间的遗传背景相差较大,*AhFAD2-1A/B*基因突变对花生耐寒性的影响有待进一步研究。

为明确花生中*AhFAD2-1A/B*基因突变对萌发期耐寒性的影响,本研究利用6组不同遗传背景的正常油酸花生品种及其高油酸回交后代BC₄F₈品系为试验材料,系统调查了其在低温胁迫下的发芽情况,并分析了泉花551及其高油酸后代品系中8种主要脂肪酸在低温发芽过程中的含量变化以及*AhFAD2*家族基因的表达模式,进一步探讨花生油酸含量与花生耐寒性的相关性,以期解析高油酸花生耐寒机制以及高油酸花生在高海拔、高纬度地区的推广提供理论和技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为6组普通油酸(normal oleate, NO)花生品种及其高油酸(high oleate, HO)回交后代(BC₄F₈)品系(表1)。上述材料种植于中国农业科学院油料作物研究所试验基地(湖北阳逻),2019年5月初播种,8月底收获。发芽试验在中国油料作物研究所温度梯度恒温箱(MTI-201, Tokyo Rikakikai, Co. Ltd)内完成。

表 1 供试材料及其油酸含量

Table 1 Oleic acid contents of peanut cultivars in this study

品种 Cultivar		油酸含量 Oleic acid content (%)	品种 Cultivars		油酸含量 Oleic acid content (%)
徐花 13 号 Xuhua 13	普通油酸 NO 高油酸 HO	45.58 81.14	中花 21 Zhonghua 21	普通油酸 NO 高油酸 HO	38.40 80.83
徐花 9 号 Xuhua 9	普通油酸 NO 高油酸 HO	49.73 81.60	泉花 551 Quanhua 551	普通油酸 NO 高油酸 HO	50.72 80.62
中花 16 Zhonghua 16	普通油酸 NO 高油酸 HO	50.56 80.70	漯花 9 号 Luohua 9	普通油酸 NO 高油酸 HO	47.90 80.50

NO: normal oleic acid; HO: high oleic acid.

1.2 试验方法

1.2.1 种子发芽情况调查 试验设置 15℃和 25℃两个温度梯度。每份材料选取籽粒饱满、种胚完整、无霉变的花生种子 120 粒, 用多菌灵(80% WP 可湿性粉剂, 天津市农丰农业科技有限公司)和卫福(总有效成分含量: 400 g L⁻¹, 爱利思达生物化学有限公司)的 1000 倍稀释液浸泡花生 5 min, 75%的酒精进行表面消毒 3 min, 再用去灭菌离子水冲洗 3~4 次后, 置于培养皿中, 每皿 20 粒, 分别置于 15℃和 25℃培养箱中暗培养, 培养 3 d 后, 将 15℃培养箱中种子移至 25℃培养箱, 继续培养 3 d。以上试验重复 3 次, 每天统计发芽种子数量, 并分别计算发芽率和发芽指数。

发芽率(%) = (发芽种子数/供试花生种子数)×100;

发芽指数(G_t) = $\sum G_t/D_t$

式中, G_t 表示第 t 天的种子发芽率, D_t 表示相对应的种子发芽天数^[18-19]。

1.2.2 种子发芽过程中脂肪酸含量测定 利用内标法^[20]定量测定花生种子在发芽过程中各脂肪酸含量, 内标物为混合脂肪酸甲酯标准品和十五烷酸甲酯标准品(上海安谱实验科技股份有限公司), 配成 10 mg mL⁻¹的十五烷酸甲酯/甲醇溶液, 分别取普通油酸(Quanhua 551-NO)和高油酸回交品系(Quanhua 551-HO)在不同处理条件下发芽第 1、3 和 6 天的种子各 5 粒, 液氮研磨, 放置冷冻干燥机(CHRIST Alpha 2-4 LD plus, 德国 CHRIST 公司)中冷冻干燥, 称取 50 mg 花生粉末至干净的玻璃试管中, 设置 3 个重复, 加入 3 mL 2.5%硫酸/甲醇溶液, 再加入 300 μL 十五烷酸甲酯/甲醇溶液(10 mg mL⁻¹)和 400 μL 甲苯溶液, 密封紧密, 放置 95℃水浴锅中水浴 40 min, 取出玻璃试管, 冷却至室温后加入 1 mL ddH₂O 和 1 mL 正己烷混匀, 2000 × g 离心 10 min, 取

1 mL 上清液装入进样瓶, 使用 Agilent7890B 气相色谱仪(美国 Agilent 公司)进行气相色谱分析。色谱柱为 DB-23 毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm, 美国 Agilent 公司), 检测器为氢火焰离子化检测器(FID), 进样口温度为 280℃, 进样口压力为 1.7×10⁵ Pa, 进样量为 1.0 μL, 分流比为 1:40。温度程序为 180℃保持 1 min, 再以 10℃ min⁻¹升至 220℃, 保持 9 min。对测试花生样品的色谱图进行解析, 通过内标法公式^[19]计算花生中 8 种主要脂肪酸(棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、花生酸、花生烯酸、山萘酸和木蜡酸)的含量, 公式如下:

$$X_{FAME_i} = F_i \frac{C_{C_{15}} \times V_{C_{15}}}{m} \times 100\%$$

$$F_i = \frac{C_{S_i} \times A_{C_{15}}}{A_{S_i} \times C_{C_{15}}}$$

$$F_{FA_i} = X_{FAME_i} \times \frac{M_{FA_i}}{M_{FAME_i}}$$

式中, F_{FA_i} 为脂肪酸 i 含量; M_{FA_i} 为脂肪酸 i 的分子质量; M_{FAME_i} 为脂肪酸甲酯 i 的分子质量; X_{FAME_i} 为样品中脂肪酸甲酯 i 含量; F_i 为脂肪酸甲酯 i 的响应因子; $C_{C_{15}}$ 为十五烷酸甲酯 i 的浓度(mg mL⁻¹); $V_{C_{15}}$ 为试样中加入十五烷酸甲酯的体积; m 为试样的质量(mg); C_{S_i} 为混标中各脂肪酸甲酯 i 的浓度(mg mL⁻¹); $A_{C_{15}}$ 为十五烷酸甲酯峰面积; A_{S_i} 为脂肪酸甲酯 i 的峰面积; $C_{C_{15}}$ 为混标中十五烷酸甲酯浓度(mg mL⁻¹)。

1.2.3 AhFAD2 家族基因的表达模式分析 利用在线工具 Integrated DNA Technologies (<http://sg.idtdna.com/scitools/Applications/RealtimePCR/>) 设计 AhFAD2 基因的荧光定量 PCR 引物(表 2), 分别取泉花 551 组合中普通油酸和高油酸花生在常温和低温条件下发芽第 1、3 和 6 天的种子, 利用 RNA 提取试剂盒(全式金, 武汉凯胜鸿生物科技有限公司)提取总 RNA。取 1 μg DNA-free RNA, 利用反转录试剂盒(赛

默飞世尔科技(中国)有限公司)合成 cDNA。利用上述设计的 AhFAD2 家族基因荧光定量 PCR 引物, 按照染料法定量 PCR 检测试剂盒 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix (南京诺唯赞生物科技股份有限公司)说明书进行 qRT-PCR。反应体系为 20 μL , 包含 SYBR Premix ExTaq (2 \times) 10 μL 、引物(F/R)各 0.4 μL 、

cDNA 模板 1 μL 、ddH₂O 8.2 μL 。反应程序为 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 3 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 测荧光值, 40 个循环; 最后计算溶解曲线以 0.1 $^{\circ}\text{C s}^{-1}$ 的速度从 60 $^{\circ}\text{C}$ 升至 90 $^{\circ}\text{C}$ 。设每个反应 3 个重复, 利用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算基因的相对表达量。利用 Graph Pad Prism 5 软件和 Microsoft Excel 软件处理和分析试验数据。

表 2 Real time PCR 引物及其碱基序列
Table 2 Primer sequences of qRT-PCR

基因 Gene	引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence (5'-3')
<i>AhFAD2-1A, AhFAD2-1B</i>	RT <i>AhFAD2-1-F</i>	ATCTGCTATATCACATAGCAACTCT
	RT <i>AhFAD2-1-R</i>	ACTGTTGCCAATGCTCCTCT
<i>AhFAD2-3A, AhFAD2-3B</i>	RT <i>AhFAD2-3-F</i>	GGTCTTATCCGTCCTTGTCATGG
	RT <i>AhFAD2-3-R</i>	AGATGAATCGTAATGTGGCAATG
<i>AhFAD2-4A, AhFAD2-4B</i>	RT <i>AhFAD2-4-F</i>	TCATTCTGCCGGGAAGAGG
	RT <i>AhFAD2-4-R</i>	ATGGCGACATAGGCGAAAAAT
<i>AhActin</i>	<i>Actin-F</i>	TAAGAACAATGTTGCCATACAGA
	<i>Actin-R</i>	GTTGCCTTGGATTATGAGC

2 结果与分析

2.1 低温胁迫对普通油酸和高油酸花生发芽率和发芽指数的影响

分别调查了 6 组遗传背景各异的花生品种徐花 13 号、徐花 9 号、中花 16、中花 21、泉花 551 和漯花 9 号及其高油酸回交后代品系在常温处理 (25 $^{\circ}\text{C}$ 培养 6 d) 和低温处理 (15 $^{\circ}\text{C}$ 培养 3 d, 再恢复到 25 $^{\circ}\text{C}$ 培养 3 d) 的发芽率和发芽指数 (图 1)。在常温处理条件下, 所有材料的发芽率在前 3 d 增速最快; 而在低温处理条件下, 所有材料的发芽率在 15 $^{\circ}\text{C}$ 条件下均增长缓慢, 当温度恢复至 25 $^{\circ}\text{C}$ 后, 在第 3~4 天发芽率迅速提高, 表明低温处理延缓了种子的萌发速率。

在常温处理条件下, 徐花 13 号、徐花 9 号、中花 16、泉花 551 和漯花 9 号组合中普通油酸花生和高油酸花生在第 6 天的发芽率无显著差异; 而中花 21 组合中普通油酸花生种子发芽率显著高于高油酸花生。在低温处理条件下, 徐花 13 号和徐花 9 号组合中普通油酸花生和高油酸花生的第 6 天发芽率无显著差异; 中花 16 和漯花 9 号组合中高油酸花生种子的第 6 天发芽率显著高于其对应的普通油酸花生; 中花 21 和泉花 551 的普通油酸花生种子的第 6 天发芽率显著高于其对应的高油酸花生。由此可见, 徐花 13 号和徐花 9 号的普通油酸花生和高油酸花生萌

发期耐寒性差异不显著, 而中花 16 和漯花 9 号的高油酸花生萌发期耐寒性优于其普通油酸花生, 仅泉花 551 的高油酸花生耐寒性显著低于其普通油酸花生。利用各材料种子中油酸含量与其低温处理 6 d 后的发芽率做相关性分析表明, 油酸含量与其低温处理发芽率无显著相关性 ($r = -0.031, P = 0.924$)。

低温胁迫对花生的发芽指数影响较大, 通过比较各组高油酸花生和普通油酸花生在常温和低温处理条件下的发芽指数发现, 除 Zhonghua 21-HO 以外, 其余材料在低温处理条件下发芽指数均显著低于其在常温条件下的发芽指数。在常温条件下, 徐花 9 号和泉花 551 的高油酸花生发芽指数显著低于其对应的普通油酸花生的发芽指数; 而在低温处理条件下, 各组中高油酸花生发芽指数与普通油酸花生的发芽指数无显著差异 (图 2)。低温胁迫显著降低了高油酸花生和普通油酸的发芽指数, 但是在低温胁迫条件下高油酸花生发芽指数并没有显著低于其普通油酸花生的发芽指数, 表明花生的油酸含量与其在低温胁迫下的发芽指数无显著相关性 ($r = 0.072, P = 0.823$)。

综合以上结果表明, 种子萌发初期进行低温处理会推迟种子萌发时间, 延缓种子萌发速率, 降低种子发芽指数。在低温处理条件下, 花生的发芽率和发芽指数均与自身的油酸含量无显著相关性。而不同遗传背景的花生的耐寒性各不相同, 无论高油

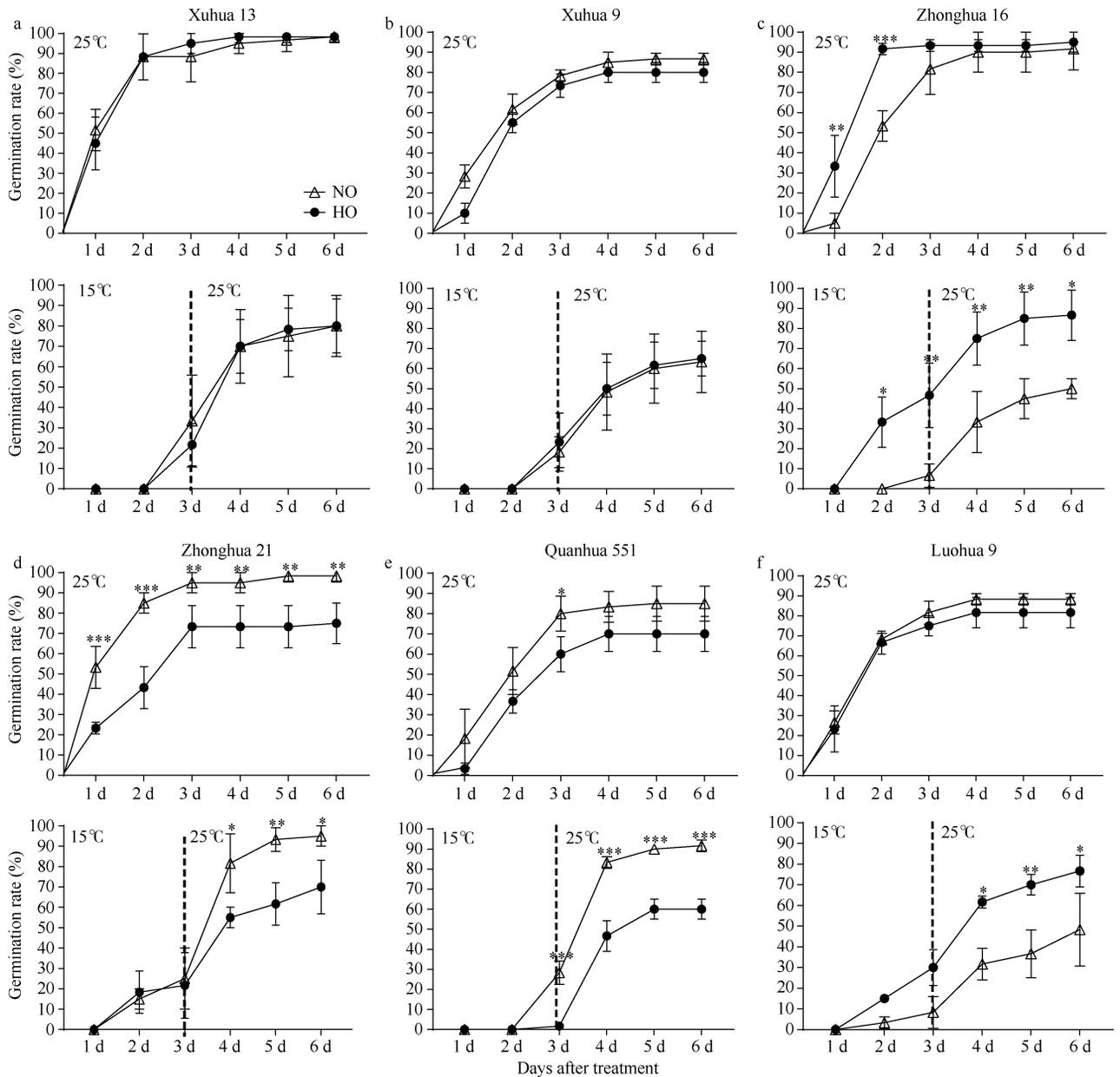


图 1 低温胁迫对不同品种花生的高油酸和普通油酸种子发芽率影响

Fig. 1 Effects of cold stress on germination rate and its corresponding normal oleate seeds in high oleate seeds

NO: 普通油酸花生; HO: 高油酸花生。*、**和***分别表示在 0.05、0.01 和 0.001 水平显著差异。

NO: normal oleate peanut; HO: high oleate peanut. *, **, and *** mean significant difference at the 0.05, 0.01, and 0.001 probability levels, respectively.

酸花生还是普通油酸花生均有对低温耐受和敏感的材料, 例如 Xuhua 13-NO 和 Xuhua 13-HO 的低温耐受性都较高, 而 Quanhua 551-HO 和 Xuhua 9-NO 都对低温较敏感, 表明花生的油酸含量不是影响其萌发期耐寒性的关键因素, 而花生自身的遗传背景对其耐寒性的影响更重要。

2.2 低温胁迫对普通油酸和高油酸花生种子萌发期脂肪酸含量的影响

为进一步探究花生的萌发期耐寒性与其脂肪酸含量变化的关系, 我们选择低温处理条件下发芽率显著降低的 Quanhua 551-HO 为研究对象, 发芽率未显著降低的 Quanhua 551-NO 为对照(图 1 和图 3),

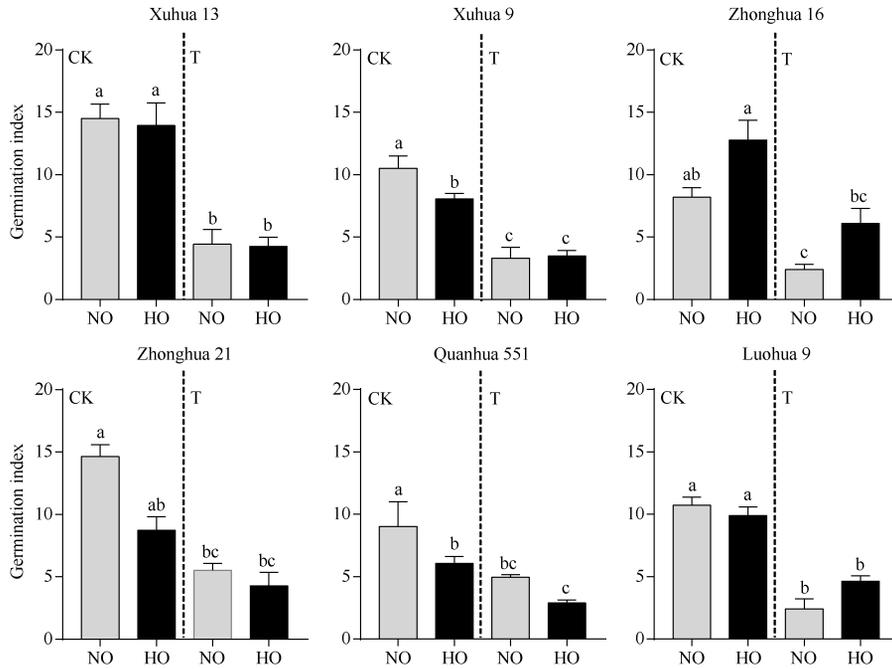


图 2 低温胁迫下不同品种花生高油酸和普通油酸种子的发芽指数

Fig. 2 Germination index of high oleate seeds and normal oleate seeds in different peanut varieties under cold stress

CK: 种子在 25℃ 条件下萌发 6 d; T: 种子第 1~3 天在 15℃ 条件下萌发, 第 4~6 天在 25℃ 条件下萌发; NO: 普通油酸花生; HO: 高油酸花生。经单因素方差分析差异达到显著水平, 标以不同小写字母的柱值表示经单因素方差分析和最小显著差异法(LSD)检验差异达到显著水平($P < 0.05$)。

CK: control group, germination of seed at 25℃ for six days; T: treatment group, germination of seed at 15℃ for 1–3 days, and then 25℃ for 4–6 days; NO: normal oleate peanut; HO: high oleate peanut. Bars superscripted by different lowercase letters are significantly different at $P < 0.05$ by one-way ANOVA and least significant difference (LSD) test.

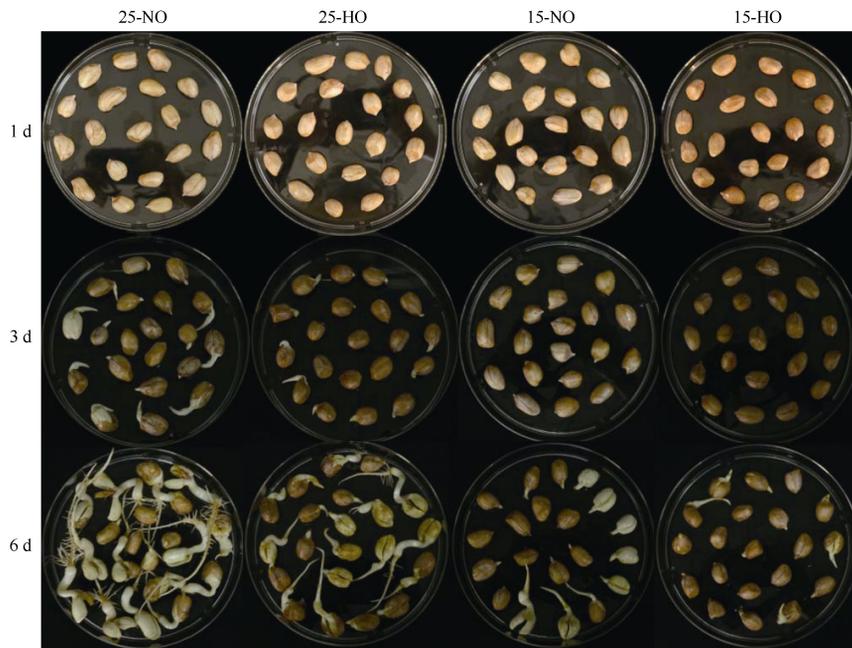


图 3 泉花 551 高油酸花生和普通油酸花生在不同温度处理下的发芽情况

Fig. 3 Seed germination of peanut with high oleate and normal oleate in Quanhua 551 at different temperatures

25-NO: 泉花 551 普通油酸花生在 25℃ 条件下萌发 6 d; 15-NO: 第 1~3 天泉花 551 普通油酸花生在 15℃ 条件下萌发, 第 4~6 天在 25℃ 条件下萌发; 25-HO: 泉花 551 高油酸花生在 25℃ 条件下萌发 6 d; 15-HO: 第 1~3 天泉花 551 高油酸花生在 15℃ 条件下萌发, 第 4~6 天在 25℃ 条件下萌发。

25-NO: the normal oleate peanut of Quanhua 551 germinated at 25℃ for six days; 15-NO: the normal oleate peanut of Quanhua 551 germinated at 15℃ from the 1st to 3rd day then at 25℃ for the last three days; 25-HO: the high oleate peanut of Quanhua 551 germinated at 25℃ for six days; 15-HO: the high oleate peanut of Quanhua 551 germinated at 15℃ from the 1st to 3rd day then at 25℃ from the 4th to 6th day.

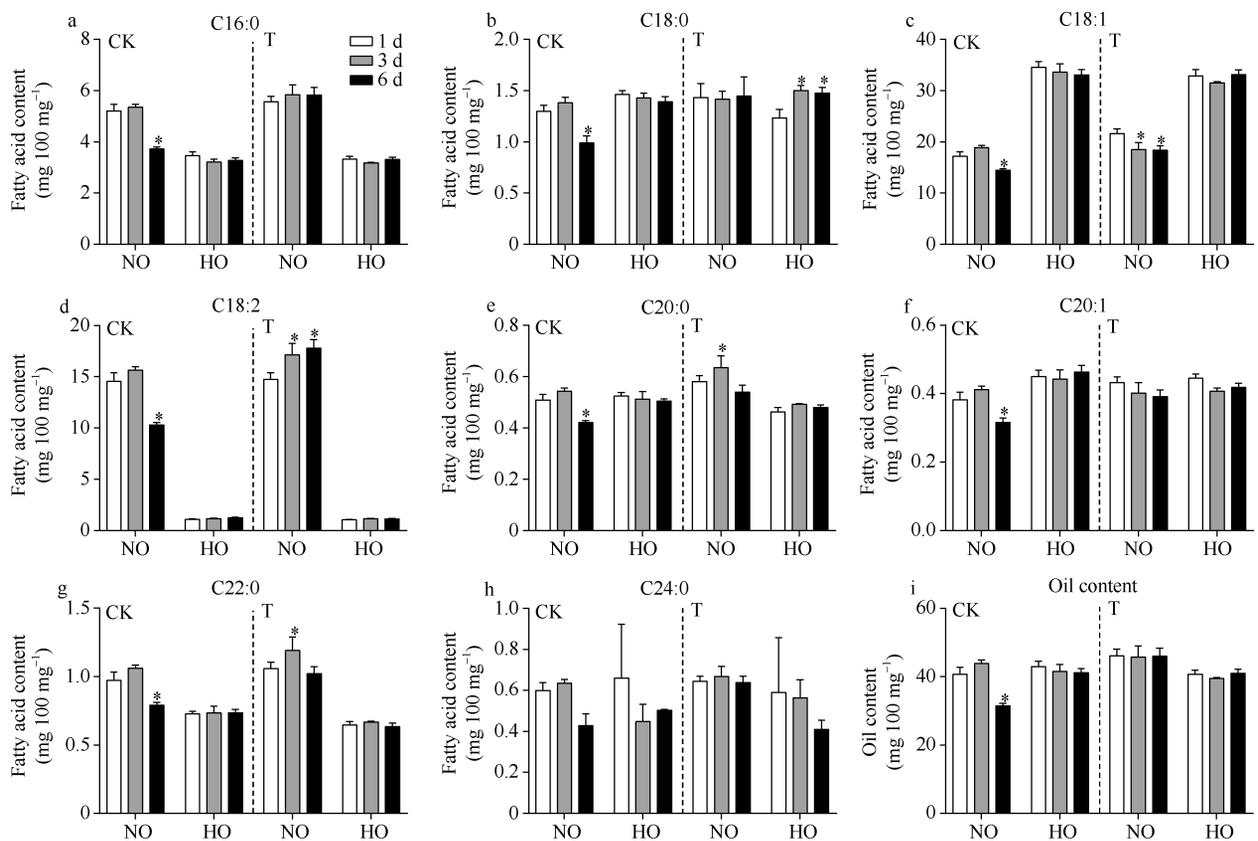


图 4 低温胁迫下 Quanhua 551 种子发芽过程中脂肪酸含量的变化情况

Fig. 4 Changes of fatty acid contents at seed germination stage of Quanhua 551 under cold stress

C16:0: 棕榈酸; C18:0: 硬脂酸; C18:1: 油酸; C18:2: 亚油酸; C20:0: 花生酸; C20:1: 花生烯酸; C22:0: 山萘酸; C24:0: 木蜡酸. CK: 种子在 25°C 条件下萌发 6 d; T: 种子第 1~3 天在 15°C 条件下萌发, 第 4~6 天在 25°C 条件下萌发; NO: 普通油酸花生; HO: 高油酸花生. *表示在 0.05 水平差异显著。

C16:0: palmitic acid; C18:0: stearic acid; C18:1: oleic acid; C18:2: linoleic acid; C20:0: arachidic acid; C20:1: gadoleic acid; C22:0: behenic acid; C24:0: lignoceric acid. CK: control group, germination of seed at 25°C for six days; T: treatment group, germination of seed at 15°C from the 1st to 3rd day, and then 25°C from 4th to 6th day; NO: normal oleate peanut; HO: high oleate peanut. * means significant difference at the 0.05 probability levels.

检测了 Quanhua 551-NO 和 Quanhua 551-HO 在低温处理萌发过程中 8 种脂肪的含量变化情况(图 4)。在常温条件下种子萌发过程中, Quanhua 551-NO 中各脂肪酸含量和含油量在第 1~3 天均无显著变化, 而在第 6 天均显著降低; 而 Quanhua 551-HO 中, 直至第 6 天, 8 种脂肪酸的含量以及含油量均无显著变化。在低温处理 3 d 的条件下, Quanhua 551-NO 中 C18:1 含量显著降低, 而 C18:2 的含量显著增加; 而在 Quanhua 551-HO 中 C18:1 和 C18:2 的含量表现出了相同的趋势, 但是变化未达到显著水平。在低温胁迫种子发芽的过程中, 普通油酸花生种子中 C18:1 含量降低, 向 C18:2 转化, 但在高油酸花生中变化幅度较小, 未达到显著水平。

2.3 低温胁迫对普通油酸和高油酸花生种子中 AhFAD2 家族基因表达模式的影响

已有研究表明 AhFAD2 基因参与了花生的低温

响应过程^[16], 但是 Quanhua 551-HO 在低温胁迫下 C18:2 的含量增加未达到显著水平, 因此我们利用荧光定量 PCR 分析了 Quanhua 551-NO 和 Quanhua 551-HO 在常温和低温处理萌发过程中 AhFAD2 家族基因的表达量(图 5)。AhFAD2-1A/B 的表达量在 Quanhua 551-NO 中 15°C 处理 1 d 与其在 25°C 处理 1 d 相比, 显著上调表达; 而在 Quanhua 551-HO 中 15°C 处理 1 d 与其在 25°C 处理 1 d 相比, 则显著下调表达(图 5-a, d)。当 Quanhua 551-NO 在 15°C 处理 3 d 与其在 25°C 处理 3 d 相比, AhFAD2-1A/B 的表达量无显著变化; 而且当 Quanhua 551-HO 在 15°C 处理 3 d 与其在 25°C 处理 3 d 相比, AhFAD2-1A/B 的表达量也无显著差异(图 5-a, d)。当 Quanhua 551-NO 恢复至 25°C 再处理 3 d 与其在 25°C 处理 6 d 相比, AhFAD2-1A/B 的表达量显著上调; 当 Quanhua 551-HO 恢复至 25°C 再处理 3 d 与其在 25°C 处理 6 d 相比,

AhFAD2-1A/B 的表达量也显著上调(图 5-a, d)。由此可见, *AhFAD2-1A/B* 在 Quanhua 551-NO 中受低温胁迫诱导始终上调表达, 而在 Quanhua 551-HO 中先下调、再上调表达。

AhFAD2-3A/B 的表达量在 Quanhua 551-NO 中 15℃处理 1 d 与其在 25℃处理 1 d 相比, 显著下调表达; 同样, 在 Quanhua 551-HO 中 15℃处理 1 天与其在 25℃处理 1 天相比, 也显著下调表达(图 5-b, e)。当 Quanhua 551-NO 在 15℃处理 3 d 与其在 25℃处理 3 d 相比, *AhFAD2-3A/B* 的表达量无显著变化; 而且当 Quanhua 551-HO 在 15℃处理 3 d 与其在 25℃处理 3 d 相比, *AhFAD2-3A/B* 的表达量也无显著差异(图 5-b, e)。当 Quanhua 551-NO 恢复至 25℃再处理 3 d 与其在 25℃处理 6 d 相比, *AhFAD2-3A/B* 的表达量仍然显著下调; 而 *AhFAD2-3A/B* 的表达量在 Quanhua 551-HO 恢复至 25℃再处理 3 d 与其在 25℃处理 6 d 相比, 则无显著差异(图 5-b, e)。表明, 在低温胁迫种

子萌发过程中, *AhFAD2-3A/B* 显著下调表达。

AhFAD2-4A/B 的表达量在 Quanhua 551-NO 中 15℃处理 1 d 与其在 25℃处理 1 d 相比, 显著下调表达; 而在 Quanhua 551-HO 中 15℃处理 1 d 与其在 25℃处理 1 d 相比, 则显著上调表达(图 5-c, f)。当 Quanhua 551-NO 在 15℃处理 3 d 与其在 25℃处理 3 d 相比, *AhFAD2-4A/B* 的表达量无显著变化; 而在 Quanhua 551-HO 中, *AhFAD2-4A/B* 的表达量在 15℃处理 3 d 比其在 25℃处理 3 d 依然显著上调表达, 且维持在较高水平(图 5-c, f)。当 Quanhua 551-NO 恢复至 25℃再处理 3 d 与其在 25℃处理 6 d 相比, *AhFAD2-4A/B* 的表达量无显著差异; 而在 Quanhua 551-HO 恢复至 25℃再处理 3 d 与其在 25℃处理 6 d 相比, *AhFAD2-4A/B* 的表达量仍然显著上调, 始终维持在较高水平(图 5-e, f)。由此可见, *AhFAD2-4A/B* 在 Quanhua 551-NO 中受低温胁迫诱导下调表达, 而在 Quanhua 551-HO 中显著上调表

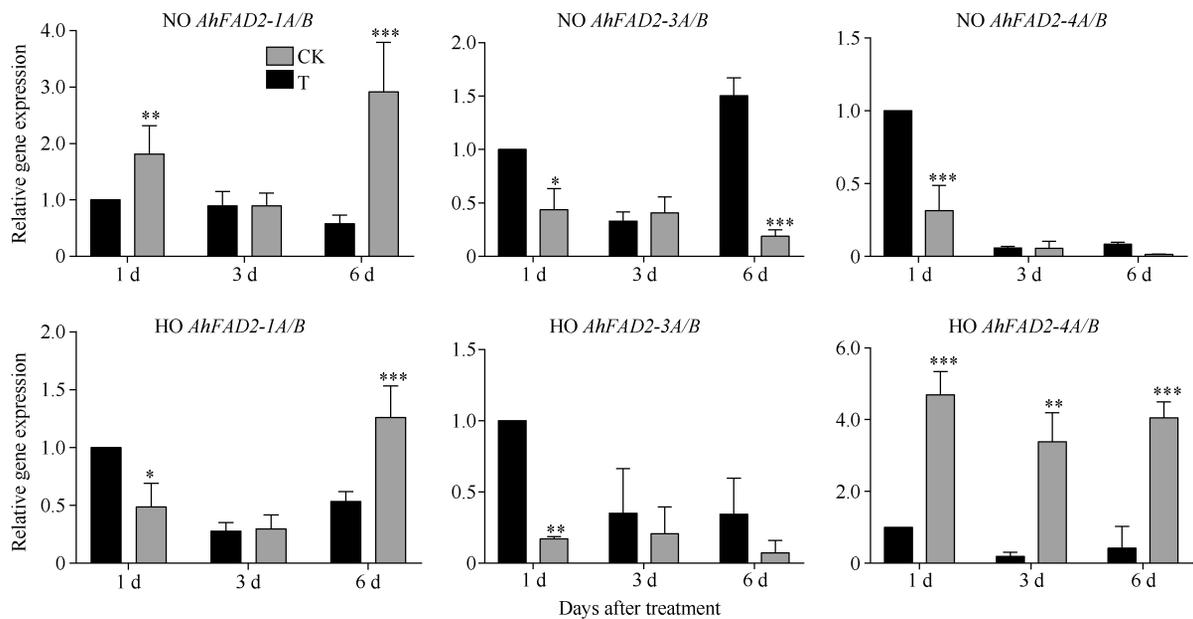


图 5 低温胁迫下各 *AhFAD2* 基因在泉花 551 高油酸花生和普通油酸花生中的表达模式

Fig. 5 Relative expression levels of *AhFAD2* genes in high oleate and normal oleate of Quanhua 551 under cold stress

a: 在不同温度处理条件下, *AhFAD2-1A/B* 在 Quanhua 551-NO 中的表达模式; b: 在不同温度处理条件下, *AhFAD2-3A/B* 在 Quanhua 551-NO 中的表达模式; c: 在不同温度处理条件下, *AhFAD2-4A/B* 在 Quanhua 551-NO 中的表达模式; d: 在不同温度处理条件下, *AhFAD2-1A/B* 在 Quanhua 551-HO 花生中的表达模式; e: 在不同温度处理条件下, *AhFAD2-3A/B* 在 Quanhua 551-HO 中的表达模式; f: 在不同温度处理条件下, *AhFAD2-4A/B* 在 Quanhua 551-HO 中的表达模式。CK: 种子在 25℃条件下萌发 6 d; T: 种子第 1~3 天在 15℃条件下萌发, 第 4~6 天在 25℃条件下萌发; NO: 普通油酸花生; HO: 高油酸花生。*, **和***分别表示在 0.05、0.01 和 0.001 水平显著差异。

a: the expression pattern of *AhFAD2-1A/B* in Quanhua 551-NO at different temperatures; b: the expression pattern of *AhFAD2-3A/B* in Quanhua 551-NO at different temperatures; c: the expression pattern of *AhFAD2-4A/B* in Quanhua 551-NO at different temperatures; d: the expression pattern of *AhFAD2-1A/B* in Quanhua 551-HO at different temperatures; e: the expression pattern of *AhFAD2-3A/B* in Quanhua 551-HO at different temperatures; f: the expression pattern of *AhFAD2-4A/B* in Quanhua 551-HO at different temperatures. CK: control group, germination of seed at 25℃ for six days; T: treatment group, germination of seed at 15℃ from 1st to 3rd day, and then 25℃ from the 4th to 6th day; NO: normal oleate peanut; HO: high oleate peanut. *, **, and *** mean significant difference at the 0.05, 0.01, and 0.001 probability levels, respectively.

达,表明高油酸花生中 *AhFAD2-1A/B* 功能的丧失,导致 *AhFAD2-4A/B* 基因表达模式发生改变,即在高油酸花生中 *AhFAD2-4A/B* 受低温胁迫诱导持续高水平上调表达。

综合以上结果表明,在低温胁迫种子萌发过程中, *AhFAD2-1A/B*、*AhFAD2-3A/B* 和 *AhFAD2-4A/B* 表达量都收到低温胁迫的影响,不同的是, *AhFAD2-1A/B* 在普通油酸花生中受低温胁迫诱导始终上调表达,而在高油酸花生中先下调、再上调表达; *AhFAD2-3A/B* 无论在普通油酸花生还是高油酸花生中都受低温诱导下调表达;而 *AhFAD2-4A/B* 在普通油酸花生中受低温胁迫诱导下调表达,而在高油酸花生中显著上调表达,且表达量一直维持在较高水平,推测高油酸花生在受到低温胁迫的过程中, *AhFAD2-4A/B* 高量表达可以部分弥补突变后的 *AhFAD2-1A/B* 基因的功能,保障高油酸花生的耐寒性。

3 讨论

随着人们对花生品质要求的不断提高,高油酸花生越来越受到消费者和加工企业的喜爱,在我国的种植面积也在不断扩大,但由于我国辽宁、吉林和黑龙江等东北地区春季播种温度较低,限制了高油酸花生在我国北部地区的全面推广。近年来,关于高油酸花生的耐寒性是否比普通油酸花生差以及高油酸花生是否适合在我国东北部地区推广的话题成为专家们关注和讨论的热点。本研究选用 6 组普通油酸花生品种以及该品种回交 BC₄F₈ 代高油酸品系为研究对象,比较各组合中普通油酸和高油酸花生在低温胁迫下种子的发芽率发芽指数,并分析种子在萌发过程中脂肪酸组分含量的变化,以及决定高油酸性状的 *AhFAD2* 家族基因的表达模式,来探究花生的油酸含量与耐寒性的相关性。

低温胁迫延长了花生种子的萌发时间,减缓了萌发速率,降低了所有材料的发芽指数(图 2)。通过对比种子萌发情况发现,徐花 13 号和徐花 9 号的高油酸花生和普通油酸花生在低温处理条件下发芽率无显著下降(图 1-a, b),中花 21 和泉花 551 的普通油酸花生在低温处理条件下种子发芽率显著高于高油酸花生种子(图 1-d, e),而漯花 9 号和中花 16 的高油酸花生在低温处理条件下的种子发芽率显著高于普通油酸花生种子(图 1-c, f)。不同遗传背景下的高油酸花生种子在低温处理条件下并没有表现出一致低

于其普通油酸亲本的现象,而且相关性分析也表明花生的低温发芽率与其中油酸含量无相关性($r = -0.031, P = 0.924$)。通过进一步分析各组中普通油酸和高油酸花生低温胁迫下的发芽指数发现,花生的低温发芽指数与其油酸含量无相关性($r = 0.072, P = 0.823$)。综上所述,花生的萌发期耐寒性与其种子中油酸含量无相关性,即油酸含量并不是决定其萌发期耐寒性的关键因素。不同品种的高油酸品系耐寒性也各不相同,表明高油酸花生种子的耐寒性与其自身的遗传背景更为相关。钟鹏等^[20]通过比较黑龙江省种植面积较大的多粒型吉花 3 号和四粒红以及珍珠型白沙 1016 和宏花 1 号在低温胁迫下的发芽情况发现,多粒型四粒红和吉花 3 号的抗寒性比珍珠豆型白沙 1016 和宏花 1 号强,上述研究也表明遗传背景对花生的耐寒性影响更重要。

通过分析泉花 551 的高油酸花生和普通油酸花生在低温胁迫种子发芽过程中籽仁中脂肪酸含量的变化发现,在常温条件下种子发芽过程中,各种脂肪酸含量在种子萌发前 3 d 并未发生显著变化,至第 6 天才显著降低(图 4),表明在种子萌发过程中脂肪酸的利用发生在种子萌发后期。有研究表明,黄芪种子萌发过程中,优先利用子叶中储藏的淀粉类物质,脂质则主要在萌发后生长阶段被动员^[23]。王允等^[24]通过分别测定萌发后第 5、10、15、20、25 和 30 天后花生中粗脂肪含量发现,在种子萌发后的 5~30 d 内,粗脂肪不断降解,为植物生长提供能量。而本研究中种子萌发过程中高油酸花生脂肪酸含量未见明显改变,可能是由于低温胁迫导致种子萌发缓慢,种子仍然处于萌发初期,还未启动消耗子叶中储存脂质的能量。在低温胁迫种子发芽过程中,普通油酸花生中 C18:1 含量降低,而 C18:2 含量增高,表明花生种子中部分 C18:1 受低温诱导转化为 C18:2 (图 4-c, d)。高油酸花生中脂肪酸存在同样的变化趋势,但变化幅度较小,未达到显著水平(图 4-c, d)。

FAD2 基因的功能是催化 C18:1 去饱和生成 C18:2^[23], *AhFAD2-4A/B* 与 *AhFAD2-1A/B* 的 DNA 序列同源性为 83.01%,氨基酸序列的同源性为 83.25%,其蛋白二级结构相似,且都具有 3 个高度保守的组氨酸富集区,可以与铁原子组成酶活性中心,该保守结构域是脂肪酸脱氢酶的关键活性域^[16-17]。高油酸花生中 *AhFAD2-1A/B* 基因功能的失活,使得种子中 C18:1 转化为 C18:2 的能力大幅下降,但是

AhFAD2-4A/B 在受到低温诱导持续显著上调表达部分弥补了 *AhFAD2-1A/B* 基因的功能, 因此, 我们观察到在低温胁迫第3天高油酸花生中 C18:1 的含量比第1天低, 且 C18:2 的含量也比第1天高(图 4-c, d), 但是变化的幅度都没有达到显著水平。薛晓梦等^[16]以普通油酸花生中花 16 和高油酸花生中花 413 为试验材料, 同样发现在低温胁迫下高油酸花生种子萌发过程中, *AhFAD2-4A/B* 的上调表达部分弥补了 *AhFAD2-1A/B* 缺失的功能, 而且由于中花 413 在低温胁迫下发芽率未发生显著下降, 检测到其 *AhFAD2-4A/B* 基因表达量的上调倍数达到了 20 倍以上。而在本研究中, 由于选取的研究材料 Quanhua 551-HO 在低温胁迫下发芽率是显著下降的, 而 Quanhua 551-NO 的低温发芽率并没有显著下降, *AhFAD2-4A/B* 在 Quanhua 551-HO 中的上调倍数仅为 5 倍, 因此观察到的弥补效应较小; 如果本研究选择在低温胁迫下发芽率并未发生显著下降的材料为研究对象, 也许可以观察到更显著的 *AhFAD2-4A/B* 基因的弥补效应。

综上所述, 花生种子油酸含量并不是影响其耐寒性的决定因素, 而遗传背景对花生耐寒性的影响更大。于树涛等^[26]以高产和抗叶斑病强的辽宁省沙地改良品系 01-2 为母本, 以山东高油酸小花生品系 9506 为父本, 在 2018 年成功选育出适应于东北地区的高油酸花生新品种阜花 22 号, 为辽宁高油酸花生品种填补了空白; 于树涛等^[27]通过以抗逆性强阜 12E3-1 为父本, 以山东省农科院创制的高油酸辐射突变体 FB4 为母本, 成功培育出适合北方地区种植的高油酸花生阜花 27。潘丽娟等^[28]也成功培育出适合东北地区种植的花育 32 和花育 917 等高油酸花生新品种。因此, 利用抗寒能力强花生品种为亲本培育耐寒的高油酸花生新品种是促进高油酸花生在高纬度、高海拔地区推广的重要途径。

4 结论

本研究通过分析 6 组不同遗传背景的花生品种及其高油酸回交后代品系(BC₄F₈)在低温条件下的发芽率和发芽指数表明, 在低温胁迫下花生萌发期的耐寒性与其油酸含量无显著相关性。低温处理高油酸花生种子萌发时, *AhFAD2-4A/B* 受低温诱导显著上调表达, 而非决定花生高油酸性状的 *AhFAD2-1A/B*, 表明高油酸花生中 *AhFAD2-1A/B* 功能的缺失, 并不是决定高油酸花生耐寒性的关键因素。本研究

为培育耐寒能力强的高油酸花生品种以及在我国高纬度、高海拔地区推广应用提供了理论依据。

References

- [1] 廖伯寿. 我国花生生产发展现状与潜力分析. 中国油料作物学报, 2020, 42: 1-6.
Liao B S. A review on progress and prospects of peanut industry in China. *Chin J Oil Crop Sci*, 2020, 42: 1-6 (in Chinese with English abstract).
- [2] Barkley N A, Isleib T G, Wang M L, Pittman R N. Genotypic effect of *ahFAD2* on fatty acid profiles in six segregating peanut (*Arachis hypogaea* L.) populations. *BMC Genet*, 2013, 14: 62.
- [3] 宋江春, 李拴柱, 王建玉, 张秀阁, 朱雪峰, 乔建礼, 向臻. 我国高油花生育种研究进展. 作物杂志, 2018, (3): 25-31.
Song J C, Li S Z, Wang J Y, Zhang X G, Zhu X F, Qiao J L, Xiang Z. Advances in breeding of high oil peanut in China. *Crops*, 2018, (3): 25-31 (in Chinese with English abstract).
- [4] Moore K M, Knauff D A. The inheritance of high oleic acid in peanut. *Heredity*, 1989, 80: 8-10.
- [5] Nawade B, Mishra G P, Radhakrishnan T, Dodia S M, Ahmad S, Kumar A, Kundu R. High oleic peanut breeding: Achievements, perspectives, and prospects. *Trends Food Sci Technol*, 2018, 78: 107-119.
- [6] Sales-Campos H, Reis de Souza P, Crema-Peghini B, Santana da Silva J, Ribeiro-Cardoso C. An overview of the modulatory effects of oleic acid in health and disease. *Min Rev Med Chem*, 2013, 13: 201-210.
- [7] 颜启传. 种子学. 北京: 中国农业出版社, 2001. pp 91-102.
Yan Q C. Seed Science. Beijing: China Agriculture Press, 2001. pp 91-102 (in Chinese).
- [8] Bell M J, Gillespie T J, Roy R C, Michaels T E, Tollenaar M. Peanut leaf photosynthetic activity in cool field environments. *Crop Sci*, 1994, 34, 1023-1029.
- [9] 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 Agric Sci*, 2018, 50(6): 171-176 (in Chinese with English abstract).
- [10] Wang C T, Tang Y Y, Wang X Z, Wu Q, Guan S Y, Yang W Q, Wang P W. Development and characterization of four new high oleate peanut lines. *Res Crops*, 2013, 14: 845-849.
- [11] 王传堂, 唐月异, 王秀贞, 吴琪, 王志伟, 宫清轩, 冯昊, 杜祖波, 李秋. 高油酸花生新品种丰产性与播种出苗期耐低温高湿田间评价. 山东农业科学, 2019, 51(9): 110-114.
Wang C T, Tang Y Y, Wang X Z, Wu Q, Wang Z W, Gong Q X, Feng H, Du Z Q, Li Q. Evaluation on productivity of new high oleic peanut lines and field tolerance to low temperature and high moisture during sowing to emergence period. *Shandong Agric Sci*, 2019, 51(9): 110-114 (in Chinese with English abstract).
- [12] 张照华, 王志慧, 淮东欣, 谭家壮, 陈剑洪, 晏立英, 王晓军, 万丽云, 陈傲, 康彦平, 姜慧芳, 雷永, 廖伯寿. 利用回交和标记辅助选择快速培育高油酸花生品种及其评价. 中国农业

- 科学, 2018, 51: 1641–1652.
Zhang Z H, Wang Z H, Huai D X, Tan J Z, Chen J H, Yan L Y, Wang X J, Wan L Y, Chen A, Kang Y P, Jiang H F, Lei Y, Liao B S. Fast development of high oleate peanut cultivars by using maker-assisted backcrossing and their evaluation. *Sci Agric Sin*, 2018, 51: 1641–1652 (in Chinese with English abstract).
- [13] Matos A R, Hourton-Cabassa C, Cicek D, Arrabaca J D, Zachowski A, Moreau F. Alternative oxidase involvement in cold stress response of *Arabidopsis thaliana* fad2 and fad3+ cell suspensions altered in membrane lipid composition. *Plant Cell Physiol*, 2007, 48: 856–865.
- [14] Kargiotidou A, Deli D, Galanopoulou D, Tsaftaris A, Farmaki T. Low temperature and light regulate delta 12 fatty acid desaturases (FAD2) at a transcriptional level in cotton (*Gossypium hirsutum*). *J Exp Bot*, 2008, 59: 2043–2056.
- [15] Watanabe K, Oura T, Sakai H, Kajiwara S. Yeast Δ^{12} fatty acid desaturase: gene cloning, expression, and function. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2004, 68: 721–727.
- [16] 薛晓梦, 李建国, 白冬梅, 晏立英, 万丽云, 康彦平, 淮东欣, 雷永, 廖伯寿. 花生 FAD2 基因家族表达分析及其低温胁迫的响应. 作物学报, 2019, 45: 1586–1594.
Xue X M, Li J G, Bai D M, Yan L Y, Wan L Y, Kang Y P, Huai D X, Lei Y, Liao B S. Expression profiles of FAD2 genes and their responses to cold stress in peanut. *Acta Agron Sin*, 2019, 45: 1586–1594 (in Chinese with English abstract).
- [17] 阮建, 单雷, 李新国, 郭峰, 孟静静, 万书波, 彭振英. 花生 FAD 基因家族的全基因组鉴定与表达模式分析. 山东农业科学, 2018, 50(6): 1–9.
Ruan J, Shan L, Li X G, Guo F, Meng J J, Wan S B, Peng Z Y. Genome-wide identification and expression pattern analysis of peanut FAD gene family. *Shandong Agric Sci*, 2018, 50(6): 1–9 (in Chinese with English abstract).
- [18] 李春娟, 闫彩霞, 张廷婷, 马超, 单世华. 温度对不同花生品种种子活力的影响. 花生学报, 2012, 41(1): 21–25.
Li C J, Yan C X, Zhang Y T, Ma C, Shan S H. Effect of temperature on vigor of peanut seed and quality components. *J Peanut Sci*, 2012, 41(1): 21–25 (in Chinese with English abstract).
- [19] 黄金堂, 陈海玲, 李清华, 李淑萍, 谢志琼. 春花生与秋花生种子活力比较研究. 花生学报, 2007, 36(3): 30–33.
Huang J T, Chen H L, Li Q H, Li S P, Xie Z Q. The comparative study of seed vigor between spring planted and autumn planted peanuts. *J Peanut Sci*, 2007, 36(3): 30–33 (in Chinese with English abstract).
- [20] 钱宗耀, 刘河疆, 张维维, 帕尔哈提. 气质联用-内标法测定豆类中脂肪酸含量及因子分析. 中国粮油学报, 2017, 32(2): 130–134.
Qian Z Y, Liu H J, Zhang W W, Pa'erhati. Determination of fatty acids and factor analysis from beans by gas chromatography mass spectrometry using internal standard method. *J Chin Cereal Oil Assoc*, 2017, 32(2): 130–134 (in Chinese with English abstract).
- [21] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. GB 5009.168-2016 食品安全国家标准食品中脂肪酸的测定, 2016
National Health Commission of the People's Republic of China. GB 5009.168-2016 National Food Safety Standard—Determination of Fatty Acid in Foods. 2016 (in Chinese).
- [22] 钟鹏, 刘杰, 王建丽, 常博文. 花生对低温胁迫的生理响应及抗寒性评价. 核农学报, 2018, 32: 1195–1202.
Zhong P, Liu J, Wang J L, Chang B W. Physiological responses and cold resistance evaluation of peanut under low-temperature stress. *J Nucl Agric Sci*, 2018, 32: 1195–1202 (in Chinese with English abstract).
- [23] 杨楠. 黄芪种子脂肪酸在幼苗形态建成中的代谢研究. 东北林业大学硕士学位论文, 黑龙江哈尔滨 2019.
Yang N. The Study on Metabolism of Fatty Acids of *Astragalus membranaceus* Seeds during Seedling Morphology. MS Thesis of Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang, China, 2019 (in Chinese with English abstract).
- [24] 王允, 刘婷, 张建航, 和小燕, 张幸果, 马立兴, 殷冬梅. 花生种子发育时期脂肪酸积累与降解模式. 中国油料作物学报, 2017, 39: 366–371.
Wang Y, Liu T, Zhang J H, He X Y, Zhang X G, Ma L X, Yin D W. Accumulation and degradation pattern of fatty acids during seed development and germination of peanut. *Chin J Oil Crop Sci*, 2017, 39: 366–371 (in Chinese with English abstract).
- [25] 王雯怡. FAD2 基因家族影响植物油含量差异的分子机制研究. 浙江工业大学硕士学位论文, 浙江杭州 2019.
Wang W Y. Understanding the Correlation between FAD2 Gene Family and the Divergence of Vegetable Oil Content in Plants. MS Thesis of Zhejiang University of Technology, Hangzhou, Zhejiang, China, 2019 (in Chinese with English abstract).
- [26] 于树涛, 于国庆, 孙泓希, 王虹, 史普想, 于洪波, 王传堂. 气相色谱与近红外技术辅助选育高油酸花生新品种阜花 27. 农业科技通讯, 2018, (12): 140–141.
Yu S T, Yu G Q, Sun H X, Wang H, Shi P X, Yu H B, Wang C T. Breeding of Fuhua 27, a high peanut variety with high oleic acid content by gas chromatography and near-infrared spectroscopy. *Bull Agric Sci Technol*, 2018, (12): 140–141 (in Chinese).
- [27] 于树涛, 于国庆, 于洪波, 王传堂. 高油酸花生新品种阜花 22 的选育. 辽宁农业科学, 2018, (5): 87–88.
Yu S T, Yu G Q, Yu H B, Wang C T. Breeding of Fuhua 22, a peanut variety with high oleic acid content. *Liaoning Agric Sci*, 2018, (5): 87–88 (in Chinese).
- [28] 潘丽娟, 王通, 韩鹏, 陈明娜, 陈娜, 王冕, 杨珍, 禹山林, 迟晓元. 高油酸新品种花育 917 在花生主产区的展示试验. 花生学报, 2019, 48(1): 62–65.
Pan L J, Wang T, Han P, Chen M N, Chen N, Wang M, Yang Z, Yu S L, Chi X Y. Experiment performance of high-oleic peanut variety Huayu 917 in the main producing areas of peanut in China. *J Peanut Sci*, 2019, 48(1): 62–65 (in Chinese with English abstract).