

基于SV标记的杂柑遗传多样性分析及分子身份证构建

向芝菲¹, 何淙¹, 耿远来¹, 邱婷¹, 余蔷¹, 张颖梓^{1,2},
杨星星³, 贺邓敏⁴, 戴素明^{1,2}, 李大志^{1,2}, 李娜^{1,2*}

(¹湖南农业大学园艺学院, 长沙 410128; ²岳麓山实验室果树品种创制中心, 长沙 410128; ³湖南省农作物种质资源保护与良种繁育中心, 长沙 410219; ⁴安化县无病虫柑橘良种繁殖场, 湖南安化 413599)

摘要:【目的】探究杂柑品种遗传多样性并构建身份证, 为杂柑的品种鉴定与保护提供技术支撑。【方法】选用16个杂柑品种为材料, 基于7个农艺性状和34对SV标记引物进行遗传多样性分析与分子身份证构建, 并采用UPGMA法构建聚类图。【结果】7个农艺性状存在16种变异类型, 平均多样性指数为0.518; 从34对SV标记引物中筛选出8对SV标记引物, 利用这8对SV标记引物可区分14个杂柑品种, 并构建了其分子身份证; 8对SV标记引物共检测到19个等位基因, 多态性信息含量指数为0.393, Nei's基因多样性为0.492, 期望杂合度为0.508, 表明16个杂柑品种遗传多样性较丰富; 聚类分析将16个杂柑品种划分为5类。【结论】构建14个杂柑品种的DNA分子身份证, 为杂柑苗期的鉴定提供技术支撑。

关键词: 杂柑; 结构变异; DNA分子标记; 遗传多样性; 分子身份证

中图分类号: S666.1

文献标志码: A

文章编号: 1009-9980(2026)05-1084-15

Genetic diversity analysis and fingerprinting of citrus hybrid varieties based on SV markers

XIANG Zhifei¹, HE Cong¹, GENG Yuanlai¹, QIU Ting¹, YU Qiang¹, ZHANG Yingzi^{1,2}, YANG Xingxing³, HE Dengmin⁴, DAI Suming^{1,2}, LI Dazhi^{1,2}, LI Na^{1,2*}

(¹College of Horticulture, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, Hunan, China; ²Yuelushan Laboratory, Pomology Variety Innovation Center, Changsha 410128, Hunan, China; ³Hunan Provincial Crop Germplasm Resources Protection and Improved Seed Breeding Center, Changsha 410219, Hunan, China; ⁴Anhua County Pest-Free Citrus Breeding Farm, Anhua 413599, Hunan, China)

Abstract: 【Objective】 Citrus hybrids have gained significant popularity among consumers and hold broad market prospects due to their desirable characteristics, including juiciness, easy-to-separate segments, rich flavor, low-seed or seedless flesh, and easy peeling. However, with the increasing number of commercial varieties and the expansion of planting areas, issues such as variety mixing and counterfeit labeling have become increasingly prominent. These problems are particularly difficult to identify at the seedling stage, which severely restricts the healthy development of the citrus industry. Therefore, it is urgent to establish rapid and accurate variety identification techniques to protect breeders' rights. To address this need, the present study utilized structural variation (SV) molecular markers to analyze the genetic diversity of 16 citrus hybrids and constructed their corresponding molecular identification profiles. This research aims to provide technical support for the identification and protection of citrus hybrids germplasm resources, while also offering data references for further exploration of their genetic background. 【Methods】 This study selected 16 popular citrus hybrids as materials. Genetic diversity

收稿日期: 2025-10-10 接受日期: 2025-12-11

基金项目: 国家柑橘产业技术体系项目(CARS-26); 湖南省水果产业技术体系专项(HARS-09)

作者简介: 向芝菲, 女, 在读硕士研究生, 研究方向为柑橘育种。E-mail: 1515426295@qq.com

*通信作者 Author for correspondence. E-mail: 1112lina@hunau.edu.cn

analysis and molecular fingerprint construction were based on 7 qualitative traits and 34 pairs of SV marker primers. Data for qualitative traits were processed using Microsoft Excel 2016, and the genetic diversity index (H) was calculated using SPSS 25 following the Shannon-Weaver method. PCR products amplified by the 34 SV marker primer pairs were detected via agarose gel electrophoresis, and banding patterns were scored as “0” and “1”. The Data Formatter software was used to convert the binary (0/1) data into fragment size (bp) data. Popgene 32 software was used to calculate the number of alleles (Na), the effective number of alleles (Ne), the Shannon's information (I), the observed heterozygosity (Ho), the expected heterozygosity (He) and the Nei's gene diversity (H). The Power Marker V3.25 was used to calculate the major allele frequency (MAF) and polymorphism information content (PIC). Cluster analysis was performed using NTSYSpc2.10e software to calculate genetic similarity coefficients, and a dendrogram was constructed using the UPGMA method. **【Results】** The results showed that the 7 qualitative traits across the 16 citrus hybrids exhibited 16 variation types, with an average diversity index of 0.517 5. While there was some variation among the 16 citrus hybrids accessions in traits such as leaf blade shape, leaf base shape, wing leaf shape, and leaf margin, these traits were insufficient to fully distinguishing the tangor varieties at the seedling stage. Furthermore, seedling phenotypic traits are easily influenced by environment and cultivation conditions, indicating that morphological identification can only serve as an auxiliary method for variety identification. Eight SV marker primers exhibiting good polymorphism were selected from the successfully 34 amplified primers; these eight primers could collectively distinguish 14 citrus hybrids. Among them, the varieties Nishinoka, Asumi, and Yangguang No. 1 possessed unique genotypes distinguishable using just one primer pair. A total of 19 alleles were detected by the eight SV marker primers. The number of alleles (Na) was 2.375, the effective number of alleles (Ne) was 2.062, the major allele frequency (MAF) was 0.582, the polymorphism information content (PIC) was 0.393, the Nei's gene diversity (H) was 0.492, the average Shannon's information (I) was 0.742, the observed heterozygosity (Ho) was 0.625, and the expected heterozygosity (He) was 0.508. These results indicate that the eight SV marker primers possess good polymorphism and that the tested 16 citrus hybrids have a high degree of heterozygosity and relatively rich genetic diversity. Cluster analysis revealed that at a genetic similarity coefficient of 0.64, the 16 citrus hybrids could be divided into five groups. Varieties bred using Kiyomi (a monoembryonic trait) as a female parent or its descendants as parents, were mainly clustered into the first group. Varieties without Kiyomi ancestry were primarily clustered into the second group. Yangguang No.1, Haruka, and Jinqiu Shatangju each formed separate groups, indicating significant differences in their genetic backgrounds compared to the other 13 citrus hybrids accessions. Using the amplification results from the eight selected SV marker primers, unique molecular fingerprints were constructed for 14 citrus hybrids. Subsequently, six samples with established molecular fingerprint information provided by an external institution were tested, verifying that the established citrus hybrids molecular fingerprints can be used for authenticity identification of citrus hybrids at the seedling stage. **【Conclusion】** This study statistically analyzed the seedling phenotypic traits of 16 citrus hybrids and found them to be relatively consistent, making it difficult to directly identify varieties based on morphological characteristics at the seedling stage. Based on citrus whole-genome sequencing data, eight SV markers were developed and screened. 14 citrus hybrids could be distinguished combinations of these eight SV marker primers. Furthermore, the amplification results of the eight SV markers were converted into character strings and combined to successfully construct the unique DNA molecular fingerprints for 14 citrus hybrids. Corresponding barcode and QR code molecular fingerprints were generated using a QR code generator. Additionally, the results

of genetic diversity and cluster analysis of the 16 citrus hybrids indicated that the tested varieties have complex genetic backgrounds and rich genetic diversity. In summary, the above research findings provide effective technical support for the identification and protection of citrus hybrids at the seedling stage.

Key words: Citrus hybrids; Structural variation; Molecular markers of DNA; Genetic diversity; Molecular ID card

中国柑橘产业规模位居世界之首,产量约占全球1/3^[1]。现有栽培柑橘品种主要由柚、宽皮橘和枸橼三个原始种杂交而来。由于柑橘种(属)间存在广泛的杂交亲和性,其遗传背景高度复杂,进而演化出极为丰富的栽培品种多样性^[2]。由人工或自然杂交培育而成的柑橘类水果统称为杂柑,数量繁杂众多,兼具多种亲本种质的复合特性。杂柑以鲜食为主,其易剥皮、多汁、化渣、风味浓郁、少籽或无籽的特点深受消费者喜爱。近年来,受杂柑销售价格持续上涨的驱动,苗木市场呈现爆发式增长态势。然而,市场繁荣背后衍生出品种混杂、套牌经营及假冒伪劣等乱象,严重制约了杂柑良种的有序发展,亟须建立高效、精准的品种鉴定技术体系。

形态学鉴定与分子标记相结合的方法常应用于鉴定植物品种^[3-5]。但柑橘属易发生自然杂交和体细胞突变,遗传背景极为复杂,难以区分同类或近似品种^[6]。分子标记具有不受环境影响、操作简便快速准确等特点,在柑橘品种鉴定和遗传多样性分析等方面发挥着关键作用^[7-9]。简单序列重复(simple sequence repeats, SSR)因多态性高、共显性遗传等特点,成为了品种鉴定的主流标记^[10-11]。冯意斯等^[12]筛选出2对SSR标记用于沃柑实生后代三倍体的遗传鉴定。宋放等^[13]筛选出3对SSR引物用于清见×鄂柑一号杂交后代的鉴定。SSR标记的多态性水平为10%~30%,其带型复杂且难以判读,需通过聚丙烯酰胺凝胶电泳或高成本的毛细管电泳技术进行基因分型检测^[4,14]。

引入DNA测序(next-generation sequencing, NGS)技术后,单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)已成为分子遗传学研究的主导^[15]。然而,SNP无法完全捕获表型相关差异,相比之下,大片段结构变异(structural variation, SV, > 50 bp的插入、缺失、倒置和易位变异)比SNP更容易引起基因表达的变化。因此,在表型多样性研究中具有不可忽视的重要性^[16]。SV开发的分子标记对

基因表达和蛋白质功能的影响大于SNP标记^[17],导致健康个体之间出现表型差异^[18]。目前,SV标记主要用于人类的群体遗传学及水稻、高粱等作物研究,在果树中报道较少^[19-21]。

在柑橘中,SV标记已应用于冰糖橙与瓯柑芽变品种的鉴定^[22-23]。此外,Wang等^[24]也曾基于234个柑橘种质的全基因组变异图谱(包括SV)组装了山金柑的染色体水平基因组,探究了柑橘中无融合生殖的遗传学和进化问题。本研究基于表型性状及柑橘基因组测序数据开发SV标记,并应用于16个杂柑品种遗传多样性评估及品种鉴别研究,通过筛选、开发并验证兼具高有效性和显著多态性的SV分子标记,分析供试杂柑种质资源的遗传多样性,进而构建杂柑种质的DNA分子身份证体系。本研究成果将为深入解析杂柑资源遗传多样性机制以及建立品种鉴别技术提供重要的理论依据与数据支撑。

1 材料和方法

1.1 植物材料

16份杂柑试验材料由国家柑橘改良中心长沙分中心、湖南省农作物种质资源保护与良种繁育中心和安化县无病虫柑橘良种繁殖场等地提供(表1)。将采集的各地幼嫩杂柑叶片标记后放入自封袋中,置于-80℃冰箱备用。

1.2 农艺性状调查

参照《柑橘种质资源描述规范和数据标准》^[25],对16个杂柑品种的2年生苗期植株进行农艺性状调查,观察记录树姿、叶型、叶身形状、叶尖形状、叶基形状、翼叶形状、叶缘等质量性状并进行赋值编码(表2)。

1.3 SV位点筛选及引物的设计与筛选

从NCBI中下载已发布的21个柑橘基因组数据,以甜橙基因组(ASM1810577v1//GCA_018105775.1)为参考基因组,与其余20个柑橘基因组数据进行比对,生成比对文件;利用SVIM-asm软件搜索比对文

表1 供试杂柑品种信息

Table 1 Information on citrus hybrids

序号 No.	品种名称 Variety name	选育国家 Breeding countries	采样地 Sampling sites	序号 No.	品种名称 Variety name	选育国家 Breeding countries	采样地 Sampling sites
1	清见 Kiyomi	日本 Japan	湖南安化 Anhua, Hunan	9	春香 Haruka	日本 Japan	湖南长沙 Changsha, Hunan
2	天草 Amakusa	日本 Japan	湖南安化 Anhua, Hunan	10	春见 Harumi	日本 Japan	湖南长沙 Changsha, Hunan
3	南香 Nankou	日本 Japan	湖南安化 Anhua, Hunan	11	甘平 Kanpei	日本 Japan	湖南常德 Changde, Hunan
4	西之香 Nishinoka	日本 Japan	湖南安化 Anhua, Hunan	12	红美人 Ehime	日本 Japan	湖南长沙 Changsha, Hunan
5	W.默科特 W.Murcott	美国 America	湖南安化 Anhua, Hunan	13	不知火 Shiranuhi	日本 Japan	湖南长沙 Changsha, Hunan
6	默科特 Murcott	美国 America	湖南安化 Anhua, Hunan	14	金秋砂糖橘 Jinqiu Shatangju	中国 China	湖南长沙 Changsha, Hunan
7	沃柑 Orah	以色列 Israel	湖南长沙 Changsha, Hunan	15	明日见 Asumi	日本 Japan	湖南长沙 Changsha, Hunan
8	大雅柑 Dayagan	中国 China	湖南长沙 Changsha, Hunan	16	阳光1号 Yangguang No.1	中国 China	湖南长沙 Changsha, Hunan

表2 杂柑农艺性状赋值

Table 2 Assignment of quality traits of citrus hybrids

性状 Trait	赋值 Assignment of values
树姿 Tree habit	直立=1, 开张=2, 披垂=3 Upright=1, Spreading=2, Weeping=3
叶型 Leaf type	单叶=1, 单身复叶=2, 三出复叶=3 Simple=1, Unifoliate=2, Trifoliate=3
叶身形状 Leaf blade shape	椭圆形=1, 卵圆形=2, 倒卵圆形=3, 披针形=4, 菱形=5, 圆形=6 Elliptic=1, Ovate=2, Obovate=3, Lanceolate=4, Rhombic=5, Orbicular=6
叶尖形状 Leaf apex shape	钝圆=1, 渐尖=2, 急尖=3, 短尖=4, 长尾状=5 Obtuse=1, Acuminate=2, Acute=3, Mucronate=4, Caudate=5
叶基形状 Leaf base shape	狭楔形=1, 楔形=2, 广楔形=3, 圆形=4 Narrowly cuneate=1, Cuneate=2, Broadly Cuneate=3, Rounded=4
翼叶形状 Winged leaf shape	心形=1, 倒三角形=2, 倒卵圆形=3, 倒披针形=4, 线形=5 Cordate=1, Obdeltoid=2, Obovate=3, Oblanceolate=4, Linear=5
叶缘 Leaf margin	全缘=1, 浅波缘=2, 锯齿缘=3 Entire=1, Undulate=2, Serrate=3

件,去除冗余后获得252 629个SV变异位点(插入、缺失>50 bp)。合并后的252 629个核心SV在柑橘染色体上整体分布较为均匀,但单个品种经SVIM-asm软件鉴定出的原始SV在染色体上的分布则不均匀。根据215 524个SV位点,并利用Primer3 Input工具、UCSC的In-Silico PCR工具进行引物设计与筛选。引物设计区域限制在变异位点上下游200 bp序列,结合电子PCR扩增结果,以不同品种间变异较大的位点作为候选位点。候选位点的扩增片段长

度变化范围为100~1000 bp,将各扩增条带大小进行排序,长度相差小于50 bp视为同一大小条带,并进行合并处理,长度相差大于50 bp则为不同条带,最终筛选出多态性高、品种间条带差异大的34对引物。引物长度为18~24 bp,退火温度为56~61 °C。将PCR电泳扩增条带符合预期的34对SV标记引物送至擎科生物技术有限公司(长沙合成部)合成。

1.4 DNA的提取及PCR扩增、电泳分析

采用CTAB法提取柑橘叶片总DNA,并使用1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA质量,同时使用酶标仪测定DNA浓度以及OD_{260/280},筛选合格的总DNA质量浓度稀释至约100 ng·μL⁻¹,置于-20 °C冰箱保存待用。

PCR扩增体系(20 μL):2×Taq MasterMix(诺唯赞)10 μL,10 nmol·L⁻¹正、反向引物各0.5 μL,基因组DNA(100 ng·μL⁻¹)1 μL,ddH₂O补足至20 μL。

PCR扩增程序:94 °C预变性5 min;94 °C变性30 s,56.0~60.5 °C退火40 s,72 °C延伸40 s,循环35次;72 °C延伸10 min。

根据预期扩增条带大小,使用2%琼脂糖凝胶电泳对PCR产物进行检测,电压110 V,时间1~2 h,扩增产物采用紫外凝胶成像系统观察并拍照。

1.5 DNA分子身份证的构建

利用柑橘染色体上均匀分布的8个SV标记,获得16份杂柑品种的扩增条带信息,按照标记位点染色体信息的排布顺序依次串联,将数据转换为二元

矩阵;对应位置无条带记为0,有条带则记为1,获得每个杂柑品种的扩增条带组合信息;利用草料二维码生成器将每个杂柑对应的0、1数据字符串转化为直观的条形码和二维码分子身份证。二维码分子身份证需通过草料二维码生成器进行识别。

1.6 杂柑DNA分子身份证的应用

供试样品为前期已建立DNA分子身份证的杂柑品种,由外单位送样并随机编号,委托课题组外志愿者对检测样品随机给出盲检号,封存样品信息。利用筛选的8对引物进行盲测,通过比较供试样品与标准样品扩增图谱间位点的差异性和一致性,判断供试品种的真实身份。参考NY/T 3436—2019标准《柑橘属品种鉴定SSR分子标记法》^[26],以标准品种的电泳图谱作为对照,杂柑品种真实性判定标准如下:

不同品种判定:供试样品与标准样品间存在 ≥ 2 个差异位点。

近似品种判定:供试样品与标准样品间存在1个差异位点。

极近似或相同品种判定:供试样品与标准样品间无差异位点。

1.7 数据处理与分析

利用Microsoft Excel 2016、SPSS 25软件计算杂柑农艺性状的遗传多样性指数 H' (Shannon-Weaver法)^[27];利用DataFormater软件将0、1数据转换成bp数据;使用Popgene32软件计算等位基因数(N_a),有效等位基因数(N_e),Shannon's信息指数(I),观测杂合度(H_o),期望杂合度(H_e)和Nei's基因多样性指数(H)。用PowerMarkerV3.25软件计算主要等位基因频率(major allele frequency, MAF)和引物多态性信息含量(polymorphism information content, PIC);使用NTSYSpc2.10e软件计算遗传相似系数,利用其中的SAHN程序和算术平均数不加权对组法(unweighted pairgroup method arithmetic averages, UPGMA)进行聚类分析,绘制16个杂柑品种的UPGMA聚类图^[28];参考《中国柑橘品种》第二版^[29],对16个杂柑品种进行溯源,利用Microsoft Visio2010绘制系谱图。

2 结果与分析

2.1 16个杂柑品种苗期农艺性状多样性分析

对16个杂柑品种的7个农艺性状进行统计分

析,结果表明16个杂柑品种存在16种变异类型,平均多样性指数为0.518,整体存在一定变异(表3和表4)。16个杂柑品种均为直立型树姿、单叶叶型,其多样性指数均为0,表明16份杂柑种质在树姿、叶型上完全一致,多样性极低;叶身形状以卵圆形为主,占比56.25%,其多样性指数为0.865,表明该性状存在较大的遗传变异,多样性中等;叶尖形状以渐尖为主,占比87.5%,其多样性指数较低,仅0.463,表明该性状变异较小;叶基形状以楔形为主,占比68.75%,其多样性指数较高,为0.831,表明该性状具有较大的遗传变异;翼叶形状以倒披针形为主,占比62.5%,其多样性指数最高,为0.900,表明该性状的遗传多样性较丰富,各类别分布较均匀;叶缘以波状为主,占比75%,其多样性指数中等,为0.562,表明该性状存在一定的遗传变异。综上所述,16份杂柑在叶身形状、叶基形状、翼叶形状和叶缘等性状上虽存在一定变异,但无法在苗期阶段对杂柑进行完全鉴别,且苗期表型性状易受环境和栽培条件影响,形态学鉴定只能作为鉴定品种的辅助方式。

2.2 SV标记引物的筛选结果

基于34个SV位点开发的标记引物均能扩增出条带目的片段,其中24对引物的扩增产物经电泳检测显示主带清晰、多态性高、条带重复性好。进一步从24对引物中筛选出分布于8对染色体中的8对引物(7号染色体除外)(表5),8对引物扩增产物长度均为200~500 bp,用于杂柑分子身份证的构建(图1)。

2.3 基于SV标记的16个杂柑品种区分情况

8对SV标记引物的扩增结果(图1)显示,西之香、明日见和阳光1号均表现出特异性扩增带型,可通过单对引物实现有效区分,其中阳光1号可同时被2个SV标记(chr1:29803181、chr8:3205311)鉴别(表6)。基于8个标记组合,除大雅柑和春见外,可有效区分14个品种(表7和表8),区分率达87.5%。在柑橘属品种鉴定标准中,当供试样品与标准样品差异位点数 ≥ 2 时,可判定为不同品种。在本研究采用的8个标记组合中,14个品种与标准样品均有2个及以上的差异位点,符合品种鉴定标准。因此,后续杂柑品种真实性分析仍采用该8个标记。

利用8个SV标记对16个杂柑品种进行遗传多样性分析。由表8可知,8个SV标记共检测到19个等位基因,平均每对引物扩增出2.375个等位基因。

表3 16个杂柑品种苗期农艺性状调查结果

Table 3 Survey results of quality traits of 16 citrus hybrids at seedling stage

品种名称 Variety name	树姿 Tree habit	叶型 Leaf type	叶身形状 Leaf blade shape	叶尖形状 Leaf apex shape	叶基形状 Leaf base shape	翼叶形状 Winged leaf shape	叶缘 Leaf margin
清见 Kiyomi	直立 Upright	单叶 Simple	卵圆形 Ovate	渐尖 Acuminate	楔形 Cuneate	线形 Linear	波状 Undulate
天草 Amakusa	直立 Upright	单叶 Simple	椭圆形 Elliptic	渐尖 Acuminate	楔形 Cuneate	倒披针形 Oblanceolate	波状 Undulate
南香 Nankou	直立 Upright	单叶 Simple	卵圆形 Ovate	渐尖 Acuminate	楔形 Cuneate	倒披针形 Oblanceolate	波状 Undulate
西之香 Nishinoka	直立 Upright	单叶 Simple	披针形 Lanceolate	渐尖 Acuminate	楔形 Cuneate	倒披针形 Oblanceolate	波状 Undulate
W.默科特 W.Murcott	直立 Upright	单叶 Simple	卵圆形 Ovate	渐尖 Acuminate	广楔形 Broadly Cuneate	线形 Linear	波状 Undulate
默科特 Murcott	直立 Upright	单叶 Simple	披针形 Lanceolate	渐尖 Acuminate	广楔形 Broadly Cuneate	倒披针形 Oblanceolate	波状 Undulate
沃柑 Orah	直立 Upright	单叶 Simple	披针形 Lanceolate	渐尖 Acuminate	楔形 Cuneate	倒披针形 Oblanceolate	锯齿 Serrate
大雅柑 Dayagan	直立 Upright	单叶 Simple	卵圆形 Ovate	渐尖 Acuminate	楔形 Cuneate	倒三角形 Obdeltoid	锯齿 Serrate
春香 Haruka	直立 Upright	单叶 Simple	卵圆形 Ovate	短尖 Mucronate	狭楔形 Narrowly Cuneate	倒披针形 Oblanceolate	波状 Undulate
春见 Harumi	直立 Upright	单叶 Simple	卵圆形 Ovate	渐尖 Acuminate	楔形 Cuneate	倒披针形 Oblanceolate	波状 Undulate
甘平 Kanpei	直立 Upright	单叶 Simple	披针形 Lanceolate	渐尖 Acuminate	狭楔形 Narrowly Cuneate	线形 Linear	波状 Undulate
红美人 Ehime	直立 Upright	单叶 Simple	卵圆形 Ovate	渐尖 Acuminate	楔形 Cuneate	倒披针形 Oblanceolate	波状 Undulate
不知火 Shiranuhi	直立 Upright	单叶 Simple	卵圆形 Ovate	渐尖 Acuminate	广楔形 Broadly Cuneate	倒三角形 Obdeltoid	波状 Undulate
金秋砂糖橘 Jinqiu Shatangju	直立 Upright	单叶 Simple	卵圆形 Ovate	钝圆 Obtuse	楔形 Cuneate	倒披针形 Oblanceolate	锯齿 Serrate
明日见 Asumi	直立 Upright	单叶 Simple	披针形 Lanceolate	渐尖 Acuminate	楔形 Cuneate	线形 Linear	波状 Undulate
阳光1号 Yangguang No.1	直立 Upright	单叶 Simple	披针形 Lanceolate	渐尖 Acuminate	楔形 Cuneate	倒披针形 Oblanceolate	锯齿 Serrate

表4 16个杂柑品种苗期农艺性状遗传多样性分析

Table 4 Analysis of genetic diversity of quality traits at seedling stage of 16 citrus hybrids

性状 Trait	符合赋值性状的品种数 Number of germplasms with assigned trait values						分布频次 Distribution frequency						多样性指数 Shannon-Wiener diversity index (H')
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	
树姿 Tree habit	16	-	-	/	/	/	1	-	-	/	/	/	0
叶型 Leaf type		16	-	-	/	/	1	-	-	/	/	/	0
叶身形状 Leaf blade shape		1	9	-	6	/	0.062 5	0.562 5	-	0.375 0	/	/	0.864 9
叶尖形状 Leaf apex shape		1	14	-	1	-	0.062 5	0.875 0	-	0.062 5	-	/	0.463 4
叶基形状 Leaf base shape		2	11	3	-	/	0.125 0	0.687 5	0.187 5	-	/	/	0.831 3
翼叶形状 Winged leaf shape		-	2	-	10	4	-	0.125 0	-	0.625 0	0.250 0	/	0.900 3
叶缘 Leaf margin		-	12	4	/	/	-	0.750 0	0.250 0	/	/	/	0.562 4

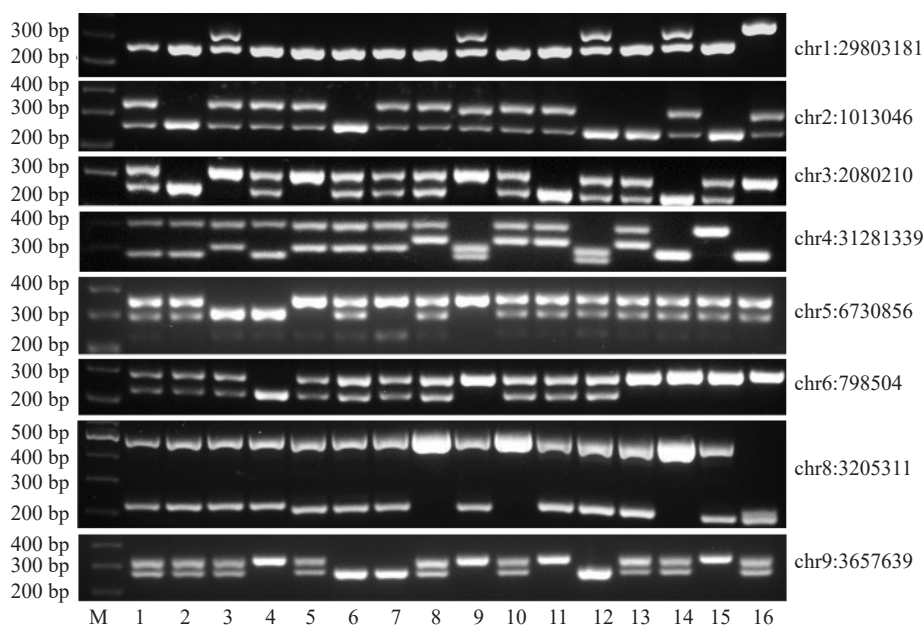
注:“-”代表16个杂柑品种无该类型,“/”代表该指标无该类型。

Note: “-” indicates that the corresponding quality type was not present in the 16 hybrid citrus varieties, while “/” indicates that the indicator did not possess this specific type.

表 5 8 个 SV 标记信息

Table 5 Data for 8 SV Markers

编号 No.	标记名称 Label name	正向引物(5'→3') Forward primers (5'→3')	反向引物(5'→3') Reverse primers (5'→3')
1	chr1:29803181	AGTGGGATCGAATGTCACCTCT	ACAGAATTCACCAACGAGCTG
2	chr2:1013046	AACAGCCAGCACAGACCT	TCACACCTGACGCCTCCT
3	chr3:2080210	TCTGCAGGAGCTTGGCAC	ACCACAAACATGCCAGGAA
4	chr4:31281339	ACAGAACAGGCACGGAAAC	AGGAGAGTTGACCACGTGG
5	chr5:6730856	TGCCTCTTTCGCCACCTG	TACCGGTACCGCTCTCCC
6	chr6:798504	TGGTATGAGGCTTAGCAGGC	GCTACTGGCTTGGCATGGA
7	chr8:3205311	CGCCATTCCCTGTGCT	AGCAGAGGACTTGTTAGGGT
8	chr9:3657639	TGCATTCAATCGGCATTACG	GTGAAACCGGCACAAGGT



M. 100 bp DNA Marker; 1. 清见; 2. 天草; 3. 南香; 4. 西之香; 5. W. 默科特; 6. 默科特; 7. 沃柑; 8. 大雅柑; 9. 春香; 10. 春见; 11. 甘平; 12. 红美人; 13. 不知火; 14. 金秋砂糖橘; 15. 明日见; 16. 阳光 1 号。

M. 100 bp DNA Marker; 1. Kiyomi 2; Amakusa; 3. Nankou; 4. Nishinoka; 5. W. Murcott; 6. Murcott; 7. Orah; 8. Dayagan; 9. Haruka; 10. Harumi; 11. Kanpei; 12. Ehime 28; 13. Shiranuhi; 14. Jinqiu Shatangju; 15. Asumi; 16. Yangguang No.1.

图 1 基于 8 对 SV 标记引物的标准样品琼脂糖凝胶扩增结果

Fig. 1 Agarose gel amplification results based on 8 pairs of SV-labeled primer amplification standard samples

表 6 杂柑品种鉴别的单一标记

Table 6 Single-marker identification of citrus hybrids

杂柑品种名称 Name of citrus hybrids	标记 Marker
阳光 1 号 Yangguang No.1	chr1:29803181、chr8:3205311
明日见 Asumi	chr4:31281339
西之香 Nishinoka	chr6:798504

不同标记间的等位基因数目存在差异,6 个 SV 标记为二等位基因,1 个 SV 标记为三等位基因,1 个 SV 标记为四等位基因。有效等位基因数(N_e)平均为 2.062,主要等位基因频率(MAF)平均为 0.582,表明

各位点均检测到一定程度的等位变异。观测杂合度(H_o)平均值为 0.625,高于期望杂合度(H_e)平均值 0.508,说明供试材料具有较高的杂合水平,遗传背景较为复杂。Shannon's 信息指数(I)、Nei's 基因多样性指数(H)和多态性信息含量(PIC)平均值分别为 0.742、0.492 和 0.393,说明供试引物整体具有较好的多态性,有效地揭示了材料间的遗传差异。其中,chr4:31281339 位点的 I 、PIC 和 H 值均为最高,分别达到 1.279、0.643 和 0.697,表明该位点多态性丰富,为高多态性引物;而 chr1:29803181 位点的 I 、PIC 和 H 值较低,分别为 0.483、0.258 和 0.305,多态性相

表7 杂柑品种鉴别的组合标记

Table 7 Identification of citrus hybrids by marker combinations

品种名称 Variety name	引物组合一 Primer combination 1	引物组合二 Primer combination 2
红美人 Ehime	chr1:29803181 + chr2:1013046	/
阳光1号 Yanguang No.1	chr1:29803181 + chr2:1013046	/
天草 Amakusa	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr4:31281339	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr3:2080210
南香 Nankou	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr4:31281339	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr3:2080210 + chr5:6730856
默科特 Murcott	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr4:31281339	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr3:2080210 + chr5:6730856 + chr6:798504
春香 Haruka	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr4:31281339	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr3:2080210 + chr5:6730856
不知火 Shiranuhi	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr4:31281339	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr3:2080210 + chr5:6730856 + chr6:798504 + chr8:3205311 + chr9:3657639
金秋砂糖橘 Jinqiu Shatangju	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr4:31281339	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr3:2080210
明日见 Asumi	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr4:31281339	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr3:2080210 + chr5:6730856 + chr6:798504 + chr8:3205311 + chr9:3657639
清见 Kiyomi	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr4:31281339 + chr9:3657639	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr3:2080210 + chr5:6730856 + chr6:798504 + chr8:3205311
西之香 Nishinoka	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr4:31281339 + chr9:3657639	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr3:2080210 + chr5:6730856
W.默科特 W.Murcott	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr4:31281339 + chr9:3657639	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr3:2080210
沃柑 Orah	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr4:31281339 + chr9:3657639	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr3:2080210 + chr5:6730856
甘平 Kanpei	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr4:31281339 + chr9:3657639	chr1:29803181 + chr2:1013046 + chr3:2080210

表8 8个标记扩增条带的多态性及16个杂柑品种的遗传多样性

Table 8 Polymorphisms of 8 pairs of primer amplification bands and the genetic diversity of 16 citrus hybrids

引物名称 Primer name	等位基因数 Number of alleles, <i>Na</i>	有效等位基因数 Effective number of alleles, <i>Ne</i>	主要等位基因频率 Major allele frequency, MAF	Shannon's 多态性信息指数 Shannon's information index, <i>I</i>	观测杂合度 Observed heterozygosity, <i>Ho</i>	期望杂合度 Expected heterozygosity, <i>He</i>	多态性信息含量指数 Polymorphism information content, PIC	Nei's 基因多样性指数 Nei's gene diversity index, <i>H</i>
chr1:29803181	2	1.438	0.813	0.483	0.250	0.315	0.258	0.305
chr2:1013046	2	1.822	0.656	0.644	0.688	0.466	0.349	0.451
chr3:2080210	2	1.992	0.531	0.691	0.563	0.514	0.374	0.498
chr4:31281339	4	3.303	0.406	1.279	0.813	0.720	0.643	0.697
chr5:6730856	2	1.992	0.531	0.691	0.688	0.514	0.374	0.498
chr6:798504	2	1.882	0.625	0.662	0.625	0.484	0.359	0.469
chr8:3205311	3	2.073	0.563	0.798	0.813	0.534	0.412	0.518
chr9:3657639	2	1.992	0.531	0.691	0.563	0.514	0.374	0.498
总计 Total	19							
平均值 Average	2.375	2.062	0.582	0.742	0.625	0.508	0.393	0.492

对较弱。

2.4 16个杂柑品种的聚类分析

利用8个SV标记对16份杂柑种质进行聚类分析,结果(图2)表明,在遗传相似系数为0.52处,16份杂柑种质可分为两大类,第一类为清见等13份种

质,第二类为春香、金秋砂糖橘和阳光1号;当遗传相似系数为0.60时,第二类中的3份种质完全区分,即春香、金秋砂糖橘和阳光1号单独为一类;在遗传相似系数为0.64处,第一类中的13份杂柑可进一步分为两类,清见等8份种质为一类,南香等5份种质

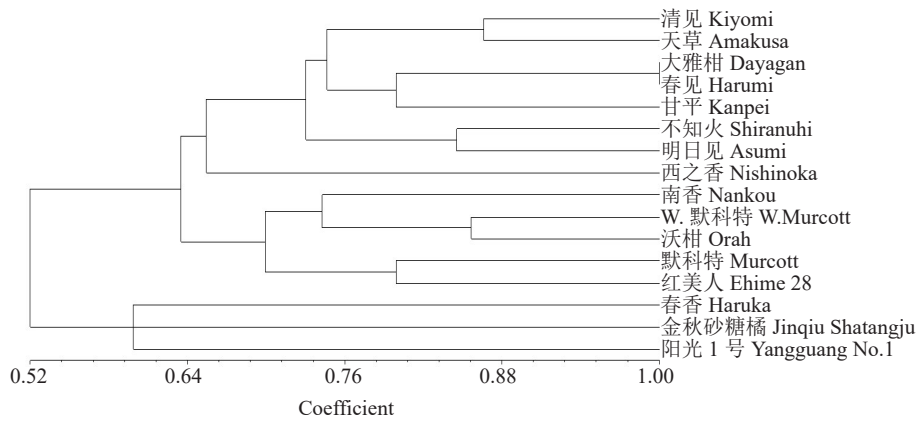


图 2 基于 SV 标记的 16 个杂柑品种 UPGMA 聚类分析

Fig. 2 UPGMA analysis of 16 hybrid citrus cultivars based on SV markers

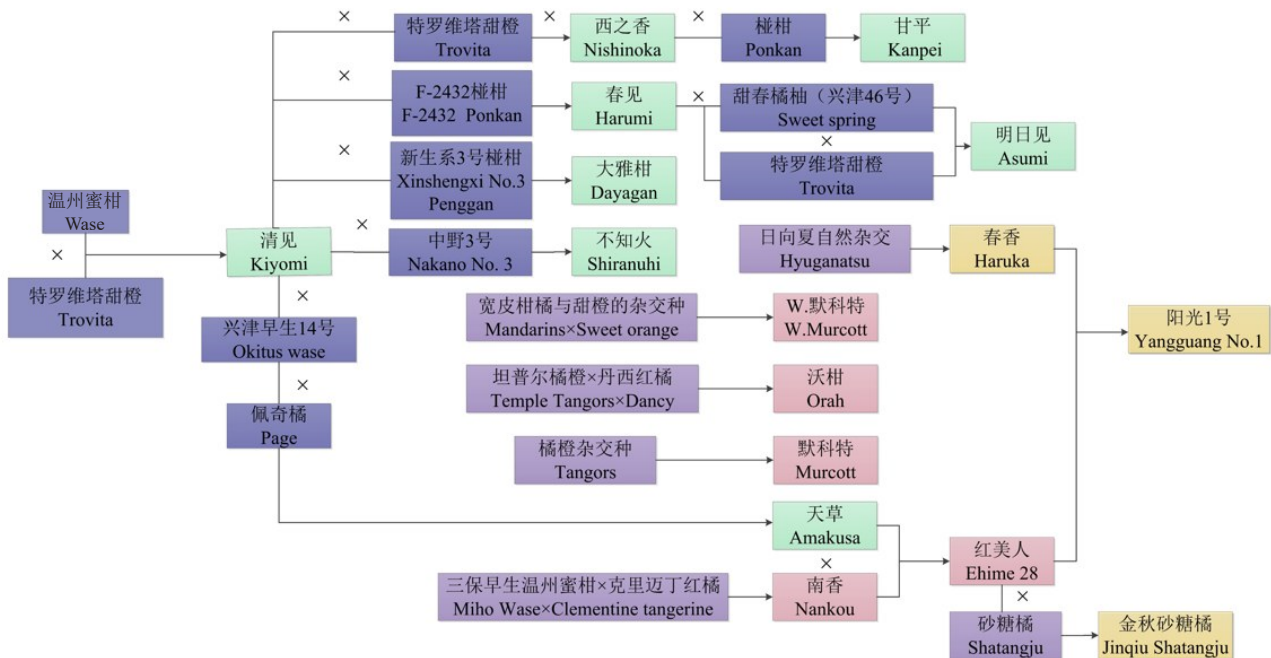
为另一类。

参考《中国柑橘品种》^[29], 查阅 16 个杂柑品种的遗传背景并构建系谱图(图 3)。从遗传背景分析聚类结果, 以具有单胚性状的清见为母本或其后代为亲本选育的 7 个日本品种及中国选育的大雅柑聚为第一类; 无清见血统的美国 W. 默科特和默科特、以色列沃柑、日本的红美人和南香为第二类; 中国的阳光 1 号、金秋砂糖橘和无清见血统的日本品种春香则单独为 1 类。在 16 个杂柑品种中, 仅大雅柑和春

见因亲缘关系极近难以区分, 其余 14 份均可鉴别。这一结果印证以分子标记为基础的聚类分析倾向聚集亲缘关系近的品种。

2.5 14 个杂柑品种的 DNA 分子身份证构建

基于 8 对 SV 特征引物的扩增结果, 将扩增图谱上同一位置条带的有和无, 转化为 0、1 组成的数字信息。按照引物在 1 号到 9 号染色体上的排列顺序, 以及扩增片段由小到大的顺序将各位点赋值的 0、1 数字串联排序, 获得每个杂柑品种的数据信息组合,



蓝色、紫色方块代表 16 个杂柑父母本与起源品种, 绿色、红色、黄色方块代表 16 个杂柑品种。

The blue and purple squares represent the 16 citrus parent and origin varieties, and the green, red, and yellow squares represent the 16 citrus hybrids.

图 3 16 个杂柑品种的系谱图

Fig. 3 Pedigree of 16 citrus hybrids





























构建每个品种唯一的19位0、1数据字符串。利用在线条形码和二维码生成技术将每个杂柑对应的0、1数据字符串转化为直观的条形码和二维码分子身份证,14个杂柑品种的DNA分子身份证信息如表9所示。以品种清见为例,通过草料二维码生成器扫码后,分子身份证信息如图4所示。

2.6 杂柑DNA分子身份证的验证

为了验证构建的杂柑分子身份证的可行性,由

外单位送检了12份已知分子身份证信息的样品,将12份样品随机编号后进行盲检。利用8个SV标记对供试样品进行扩增,扩增结果见图5,将供试样品扩增图谱与已建立杂柑分子身份证信息进行逐一比对。结果(表10)显示,12份供试样品的鉴定结果与真实品种名称完全匹配。由此证明,已构建的杂柑分子身份证可用于杂柑品种的苗期真实性鉴定。

表9 杂柑品种的DNA分子身份证信息
Table 9 DNA molecular ID information of citrus hybrids

序号 No.	品种名称 Variety name	字符串和条形码 Strings and barcodes	品种二维码 QR code of cultivars
1	清见 Kiyomi	 101111001111110111	
2	天草 Amakusa	 101010100111110111	
3	南香 Nankou	 111101010110111011	
4	西之香 Nishinoka	 101111001101010101	
5	W.默科特 W.Murcott	 101101010101111011	
6	默科特 Murcott	 101011010111110110	
7	沃柑 Orah	 1011110101011110110	
8	春香 Haruka	 1111011100010110101	
9	甘平 Kanpei	 101110001111110101	
10	红美人 Ehime	 1110111100111110110	
11	不知火 Shiranuhi	 101011001111011011	
12	金秋砂糖橘 Jinqiu Shatangju	 111110010011011011	
13	明日见 Asumi	 1010110001110110101	
14	阳光1号 Yangguang No.1	 011101010011010101	

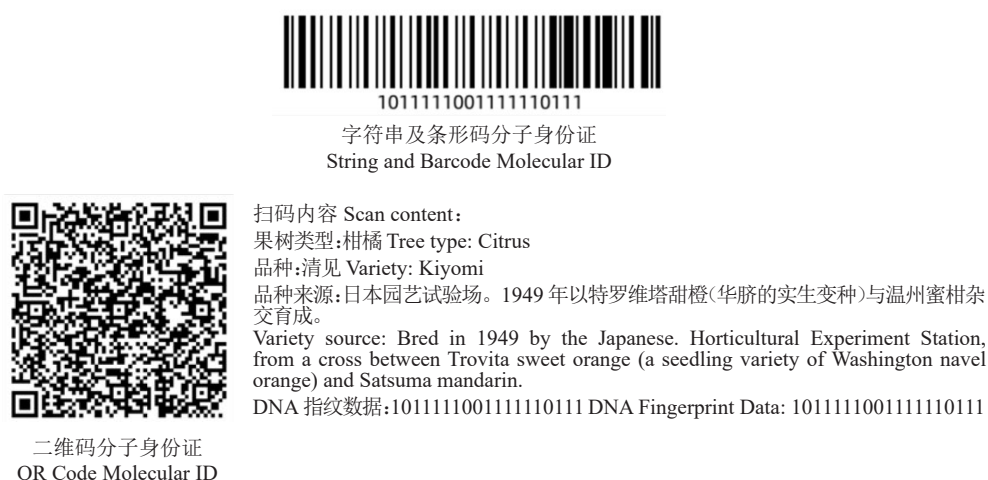
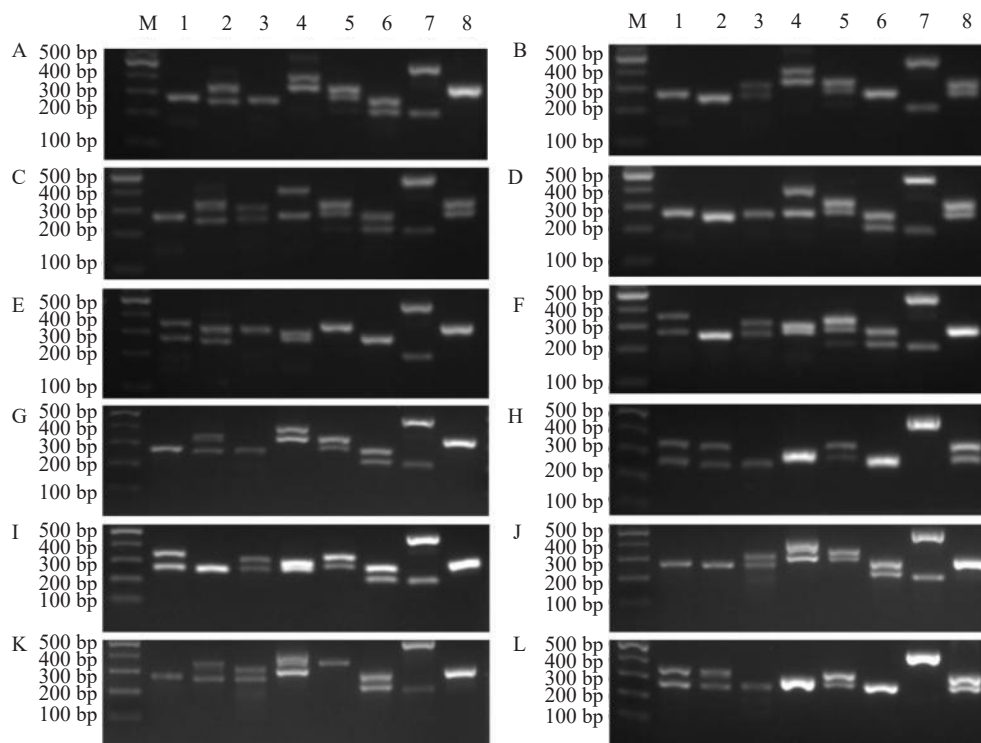


图 4 杂柑品种清见的字符串、条形码和二维码分子身份证及扫码内容示例

Fig. 4 Examples of the character string, barcode and QR code molecular ID card and scan code content of the Kiyomi citrus hybrids



M. 100 bp DNA Maker; 1. chr1:29803181; 2. chr2:1013046; 3. chr3:2080210; 4. chr4:31281339; 5. chr5:6730856; 6. chr6:798504; 7. chr8:3205311; 8. chr9:3657639; A~L. 1~12 号供试样品。

M. 100 bp DNA Maker; 1. chr1:29803181; 2. chr2:1013046; 3. chr3:2080210; 4. chr4:31281339; 5. chr5:6730856; 6. chr6:798504; 7. chr8:3205311; 8. chr9:3657639; A-L. Test samples 1 to 12.

图 5 8 个 SV 标记用于 12 份杂柑样品真实性验证结果

Fig. 5 The authenticity verification results of 8 SV marks used for 12 citrus hybrids samples

3 讨 论

3.1 16 个杂柑品种的遗传多样性分析

本研究统计了 16 份杂柑种质的苗期农艺性状，

并基于柑橘基因组测序数据筛选出 8 个高多态性的 SV 标记进行遗传多样性分析。农艺性状差异小则难以从表型性状上直接对品种进行区分。8 个分子标记 PIC 变化范围为 0.258~0.643, 平均值为 0.393。

表 10 12 份杂柑样品真实性鉴定结果

Table 10 Authenticity identification results of 12 citrus hybrids samples

送样号 Sample submission No.	盲检号 Blind No.	品种名称 Variety name	转换0,1字符 Convert 0,1 characters	匹配品种 Matching variety	真实品种信息 Real variety information	差异位点 Differential sites
1-1	1号 No. 1	未知 Unknown	101110001111110101	甘平 Kanpei	甘平 Kanpei	0
2-1	2号 No. 2	未知 Unknown	101011001111011011	不知火 Shiranuhi	不知火 Shiranuhi	0
3-1	3号 No. 3	未知 Unknown	101111100111110111	清见 Kiyomi	清见 Kiyomi	0
4-1	4号 No. 4	未知 Unknown	101010100111110111	天草 Amakusa	天草 Amakusa	0
5-1	5号 No. 5	未知 Unknown	1111011100010110101	春香 Haruka	春香 Haruka	0
6-1	6号 No. 6	未知 Unknown	111011110011110110	红美人 Ehime	红美人 Ehime	0
7-1	7号 No. 1	未知 Unknown	101110001111110101	甘平 Kanpei	甘平 Kanpei	0
8-1	8号 No. 2	未知 Unknown	111110010011011011	金秋砂糖橘 Jinjiu Shatangju	金秋砂糖橘 Jinjiu Shatangju	0
9-1	9号 No. 3	未知 Unknown	111011110011110110	红美人 Ehime	红美人 Ehime	0
10-1	10号 No. 4	未知 Unknown	101011010111110110	默科特 Murcott	默科特 Murcott	0
11-1	11号 No. 5	未知 Unknown	101111010101110110	沃柑 Orah	沃柑 Orah	0
12-1	12号 No. 6	未知 Unknown	111110010011011011	金秋砂糖橘 Jinjiu Shatangju	金秋砂糖橘 Jinjiu Shatangju	0

通常认为 $PIC > 0.5$ 的标记为高多态性,而 $PIC < 0.25$ 则被视为低多态性^[3]。本研究除chr1:29803181($PIC=0.258$)外,其余7个位点的 $PIC > 0.3$,多数引物多态性良好,其中chr4:31281339($PIC=0.643$)为高多态性引物。与余歆等^[30]利用Indel标记对橘柚杂种进行遗传多样性分析结果相比($PIC=0.055\sim 0.450$,平均值为0.281),本研究的SV标记多态性更高。此外,Nei's基因多样性(0.492)与PIC全基因组平均值(0.393)表明16个杂柑品种具有高度遗传多样性;观测杂合度的平均值(0.625)高于期望杂合度(0.508),表明品种杂合度高,证实了长期杂交育种导致了遗传背景的高度复杂。

3.2 16个杂柑品种的聚类分析

通常基于基因组数据、分子标记与形态学对柑橘的遗传背景进行分析^[31]。遗传相似系数可以反映不同品种间亲缘关系的远近^[32]。李沛等^[33]基于柑橘重测序与表型数据对宽皮柑橘进行聚类分析,将供试材料分为七大亚群,其中具有爱媛系列遗传背景的杂柑聚为一类,橘柚杂种聚为一类,沙糖橘系列杂种则聚为另一类。本研究基于柑橘基因组数据与

开发的SV标记,在遗传相似系数0.52处,将16个杂柑品种分为了两大类,以清见或其后代为亲本选育的7个日本品种、以色列选育的沃柑、美国选育的W.默科特和默科特等聚为一类,这类品种均为直立树姿、单叶叶型,叶身形状以卵圆形、披针形为主,叶尖多为渐尖,叶缘多呈波状。中国选育的金秋砂糖橘、阳光1号和日本选育的春香聚为一类。其中,金秋砂糖橘叶尖为钝圆、叶缘呈锯齿状;阳光1号叶身为披针形、叶缘呈锯齿状;春香叶尖为短尖、叶缘呈波状,三者与第一类杂柑品种的农艺性状差异明显。此外,金秋砂糖橘与阳光1号是清见的第3或4代杂交种,亲缘关系较远;而春香则无清见血缘;春香与阳光1号均是橘柚杂种^[30]。因此,金秋砂糖橘、阳光1号、春香划为第二类的可信度较高。

3.3 分子身份证构建

传统的品种鉴定方法主要依赖叶片和果实形态特征,而苗期则主要依赖叶片形态特征。本研究统计分析了16份杂柑品种的苗期农艺性状,其树姿均为直立,叶型均为单叶,叶身形状集中于卵圆形、披针形,叶尖多为渐尖,多数品种的叶缘呈波状。苗期

叶片性状高度相似,且易受环境因素干扰,难以区分亲缘关系较近的品种。分子标记是种质鉴定与新品种保护的重要分子手段,突破了传统鉴定方法的限制^[34]。该技术基于PCR扩增特定基因组序列,其分子指纹图谱在DNA水平上直观呈现个体差异,具有环境稳定性和个体特异性两大优势^[35]。从本研究开发的SV标记中筛选出8对高多态性引物,应用于16个杂柑品种的鉴定。利用琼脂糖凝胶电泳平台显示SV标记扩增条带的信息,通过人工读带的方式将条带信息转换为0、1字符矩阵,再转化成条形码与二维码,构建了14个杂柑品种的分子身份证,可应用于杂柑品种的鉴定。在16个杂柑品种中,仅大雅柑与春见无法利用所筛选的8个SV标记进行有效区分。8个SV标记位点在大雅柑和春见中完全一致,且两者的叶身形状(卵圆形)、叶尖形状(渐尖)、叶基形状(楔形)等农艺性状高度重合,从表型层面和分子层面皆证实了两者具有高度接近的亲缘关系,遗传背景显著重叠。遗传背景分析表明,两者具有相同母本,大雅柑为清见与新生系3号椪柑的杂交后代,春见则是清见与F-2432椪柑的杂交后代。鉴于父本属于近缘椪柑品系,两者实际亲缘关系比普通半同胞更近^[36],需采用更高分辨率的分子标记加以区分。

4 结 论

本研究对16个杂柑品种的苗期表型性状进行了系统分析,并基于柑橘全基因组测序数据筛选获得8个SV标记。结果表明,苗期表型性状差异小,难以作为品种鉴别的有效依据;而8对SV标记引物组合可实现14个杂柑品种的有效区分。进一步的遗传多样性及聚类分析结果表明供试品种遗传背景复杂、遗传多样性丰富。在此基础上,将8对SV标记的扩增结果转化为字符串编码并进行组合,成功构建了14个杂柑品种独一无二的DNA分子身份证。研究结果为杂柑品种苗期鉴定与品种保护提供了有力的技术支撑。

参考文献 References:

- [1] 邓秀新. 中国柑橘育种60年回顾与展望[J]. 园艺学报, 2022, 49(10):2063-2074.
DENG Xiuxin. A review and perspective for citrus breeding in China during the last six decades[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2022, 49(10):2063-2074.
- [2] NICOLOSI E, DENG Z N, GENTILE A, LA MALFA S, CONTINELLA G, TRIBULATO E. Citrus phylogeny and genetic origin of important species as investigated by molecular markers[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2000, 100(8):1155-1166.
- [3] 李清华, 颜墩炜, 刘雨杭, 陈盈妹, 顾智炜, 陈子琳, 林海峰, 柯庆明, 贾琪. 福建菜用大豆审定品种遗传多样性分析和SSR标记指纹图谱构建[J]. 植物遗传资源学报, 2025, 26(11):2145-2163.
LI Qinghua, YAN Dunwei, LIU Yuhang, CHEN Yingmei, GU Zhiwei, CHEN Zilin, LIN Haifeng, KE Qingming, JIA Qi. Genetic diversity analysis and SSR markers fingerprint construction of vegetable soybean varieties in Fujian Province[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2025, 26(11):2145-2163.
- [4] 张雪姣, 季木灯, 王丽媛, 李启彪, 徐磊, 江日东, 徐志军. 花生全基因组变异的鉴定和InDel标记的开发及应用[J]. 植物遗传资源学报, 2024, 25(12):2136-2148.
ZHANG Xuejiao, JI Mudeng, WANG Liyuan, LI Qibiao, XU Lei, JIANG Ridong, XU Zhijun. Genome-wide variation identification in peanut and development of InDel markers for genetic research[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2024, 25(12):2136-2148.
- [5] 冯一了, 陈文迪, 张斌, 任文静, 韩风庆, 陈立, 方智远, 杨丽梅, 庄木, 吕红豪, 王勇, 季家磊, 张扬勇. 羽衣甘蓝SSR指纹图谱构建及不同遗传类群的SRK单元型分布[J]. 植物遗传资源学报, 2024, 25(11):1895-1906.
FENG Yiliao, CHEN Wendi, ZHANG Bin, REN Wenjing, HAN Fengqing, CHEN Li, FANG Zhiyuan, YANG Limei, ZHUANG Mu, LÜ Honghao, WANG Yong, JI Jialei, ZHANG Yangyong. Construction of SSR fingerprint and SRK haplotype distribution of different genetic groups in Ornamental Kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*)[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2024, 25(11):1895-1906.
- [6] 李益, 马先锋, 唐浩, 李娜, 江东, 龙桂友, 李大志, 牛英, 韩瑞玺, 邓子牛. 柑橘品种鉴定的SSR标记开发和指纹图谱库构建[J]. 中国农业科学, 2018, 51(15):2969-2979.
LI Yi, MA Xianfeng, TANG Hao, LI Na, JIANG Dong, LONG Guiyou, LI Dazhi, NIU Ying, HAN Ruixi, DENG Ziniu. SSR markers screening for identification of citrus cultivar and construction of DNA fingerprinting library[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2018, 51(15):2969-2979.
- [7] 谢倩, 张诗艳, 江来, 丁明月, 刘玲玲, 吴如健, 陈清西. 橄榄转录组SSR信息分析及分子标记开发与应用[J]. 园艺学报, 2023, 50(11):2350-2364.
XIE Qian, ZHANG Shiyao, JIANG Lai, DING Mingyue, LIU Lingling, WU Rujian, CHEN Qingxi. Analysis of *Canarium album* transcriptome SSR information and molecular marker development and application[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2023, 50(11):2350-2364.
- [8] LI Q, QI J J, QIN X J, DOU W F, LEI T G, HU A H, JIA R R, JIANG G J, ZOU X P, LONG Q, XU L Z, PENG A H, YAO L X,

- CHEN S C, HE Y R. CitGVD: A comprehensive database of citrus genomic variations[J]. Horticulture Research, 2020, 7: 12.
- [9] ANGGRAHENI Y D, MULYANINGSIH E S, PRIADI D. Genetic variability of *Citrus* spp. in Cibinong Germplasm Garden using random amplified polymorphic DNA[J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2021, 741(1): 012018.
- [10] 李志强, 吴超, 贺熙勇, 陶亮, 耿建建, 马静, 宫丽丹. 基于 SSR 标记的澳洲坚果种质资源 DNA 指纹图谱的构建[J]. 果树学报, 2022, 39(11): 2028-2035.
- LI Zhiqiang, WU Chao, HE Xiyong, TAO Liang, GENG Jianjian, MA Jing, GONG Lidan. Construction of DNA fingerprint of macadamia germplasm based on SRR markers[J]. Journal of Fruit Science, 2022, 39(11): 2028-2035.
- [11] 王建超, 张小艳, 张立杰, 李韬, 谢丽雪. 基于 SSR 标记的余甘子遗传多样性分析与核心种质构建[J]. 果树学报, 2025, 42(8): 1672-1686.
- WANG Jianchao, ZHANG Xiaoyan, ZHANG Lijie, LI Tao, XIE Lixue. Genetic diversity analysis and core collection construction of *Phyllanthus emblica* based on SSR markers[J]. Journal of Fruit Science, 2025, 42(8): 1672-1686.
- [12] 冯意斯, 田啸宇, 杨崇山, 陈香玲, 邓秀新, 解凯东, 郭文武, 谢宗周, 柴利军, 叶俊丽. 沃柑实生后代三倍体发掘及遗传鉴定[J]. 园艺学报, 2024, 51(10): 2231-2242.
- FENG Yisi, TIAN Xiaoyu, YANG Chongshan, CHEN Xiangling, DENG Xiuxin, XIE Kaidong, GUO Wenwu, XIE Zongzhou, CHAI Lijun, YE Junli. Exploitation and genetic identification of triploid plants from seedling populations of orah mandarin (*Citrus reticulata*) [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2024, 51(10): 2231-2242.
- [13] 宋放, 羊林鑫, 王策, 蒋迎春, 何利刚, 王志静, 马小方, 张豫, 宋鑫, 吴黎明. 清见×鄂柑一号杂交 F₁ 代亲缘关系及单多胚性鉴定[J]. 果树学报, 2025, 42(5): 957-968.
- SONG Fang, YANG Linxin, WANG Ce, JIANG Yingchun, HE Ligang, WANG Zhijing, MA Xiaofang, ZHANG Yu, SONG Xin, WU Liming. Identification of phylogenetic relationship and polyembryony trait in F₁ hybrid offspring of Kiyomi and Egan No. 1[J]. Journal of Fruit Science, 2025, 42(5): 957-968.
- [14] 肖玉珍, 张瑞青, 张跃星, 代雪, 张勇, 王中元, 于蓉, 侯尹婕, 张显, 魏春华. 甜瓜 KASP 标记开发及指纹图谱构建[J]. 中国瓜菜, 2024, 37(9): 9-17.
- XIAO Yuzhen, ZHANG Ruiqing, ZHANG Yuexing, DAI Xue, ZHANG Yong, WANG Zhongyuan, YU Rong, HOU Yinjie, ZHANG Xian, WEI Chunhua. Development of melon KASP markers and construction of fingerprints[J]. China Cucurbits and Vegetables, 2024, 37(9): 9-17.
- [15] 胡宗伟, 宗琛, 戴蕾, 魏周颖, 戴祖云, 杨中周. 基于 KASP-SNP 的辣椒品种辣美 11 号 DNA 指纹图谱构建和种子纯度检测[J]. 中国瓜菜, 2025, 38(4): 45-52.
- HU Zongwei, ZONG Chen, DAI Lei, WEI Zhouying, DAI Zuyun, YANG Zhongzhou. Application of KASP-SNP technology in fingerprint construction and seed purity detection of pepper seeds of Lamei No. 11[J]. China Cucurbits and Vegetables, 2025, 38(4): 45-52.
- [16] SAXENA R K, EDWARDS D, VARSHNEY R K. Structural variations in plant genomes[J]. Briefings in Functional Genomics, 2014, 13(4): 296-307.
- [17] YUAN Y X, BAYER P E, BATLEY J, EDWARDS D. Current status of structural variation studies in plants[J]. Plant Biotechnology Journal, 2021, 19(11): 2153-2163.
- [18] GUAN P Y, SUNG W K. Structural variation detection using next-generation sequencing data: A comparative technical review[J]. Methods, 2016, 102: 36-49.
- [19] AN Y L, XIA X B, ZHENG H Y, YU S R, JING T T, ZHANG F. Multi-genome comprehensive identification of SSR/SV and development of molecular markers database to serve *Sorghum bicolor* (L.) breeding[J]. BMC Genomic Data, 2023, 24(1): 62.
- [20] ZHANG F T, LUO Y, AI B, CHEN Y, QI W D, XIE J K. Application of SV markers developed from Dongxiang common wild rice in analysis of cultivated rice[J]. Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization, 2019, 17(5): 448-451.
- [21] HO S S, URBAN A E, MILLS R E. Structural variation in the sequencing era[J]. Nature Reviews Genetics, 2020, 21(3): 171-189.
- [22] 郭紫晶. 鉴定冰糖橙芽变系列品种遗传变异的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2022.
- GUO Zijing. Research on genetic variation identification of Bingtang sweet orange sprout variety series[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2022.
- [23] 常爱玲. ‘无子瓠柑’ InDel 和 SV 标记开发[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2017.
- CHANG Ailing. Development of InDel and SV markers for *Citrus suavisissima* ‘Wuzi Ougan’ [D]. Hangzhou: Zhejiang A & F University, 2017.
- [24] WANG N, SONG X T, YE J L, ZHANG S Q, CAO Z, ZHU C Q, HU J B, ZHOU Y, HUANG Y, CAO S, LIU Z J, WU X M, CHAI L J, GUO W W, XU Q, GAUT B S, KOLTUNOW A M G, ZHOU Y F, DENG X X. Structural variation and parallel evolution of apomixis in citrus during domestication and diversification[J]. National Science Review, 2022, 9(10): nwac114.
- [25] 江东, 龚桂芝. 柑橘种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
- JIANG Dong, GONG Guizhi. Descriptors and data standard for citrus (*Citrus* spp.) [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2006.
- [26] 中华人民共和国农业农村部. 柑橘属品种鉴定 SSR 分子标记法: NY/T 3436—2019[S]. 北京: 中国农业出版社, 2019.
- Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China. SSR molecular marker method for citrus variety identification: NY/T 3436—2019[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2019.
- [27] 李玉姗, 肖菁, 马越, 田超, 赵连佳, 王帆, 宋羽, 蒋程瑶. 169 份

- 番茄种质资源表型性状遗传多样性分析及综合评价[J]. 中国农业科学, 2024, 57(18):3671-3687.
- LI Yushan, XIAO Jing, MA Yue, TIAN Chao, ZHAO Lianjia, WANG Fan, SONG Yu, JIANG Chengyao. Identification and evaluation of phenotypic characters and genetic diversity analysis of 169 tomato germplasm resources[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2024, 57(18):3671-3687.
- [28] 白晓倩, 陈于, 张仕杰, 赵玉强, 王武, 朱灿灿. 基于表型性状和 SSR 标记的板栗品种遗传多样性分析及分子身份证构建[J]. 植物遗传资源学报, 2022, 23(4):972-984.
- BAI Xiaoqian, CHEN Yu, ZHANG Shijie, ZHAO Yuqiang, WANG Wu, ZHU Cancan. Genetic diversity analysis and fingerprinting of chestnut varieties based on phenotypic traits and SSR markers[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2022, 23(4):972-984.
- [29] 邓秀新. 中国柑橘品种[M]. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 2023.
- DENG Xiuxin. *Citrus varieties in China*[M]. 2nd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2023.
- [30] 余歆, 郭意, 刘小丰, 万润楚, 江东, 曹立. 利用 InDel 标记鉴定不同橘柚品种[J]. 果树学报, 2024, 41(8):1477-1489.
- YU Xin, GUO Yi, LIU Xiaofeng, WAN Runchu, JIANG Dong, CAO Li. Identification of tangelo varieties with InDel markers[J]. *Journal of Fruit Science*, 2024, 41(8):1477-1489.
- [31] 孔维政, 章翼, 易自力, 黄红梅. 基于花粉形态与叶片形态的金柑属种质资源亲缘关系分析[J]. 分子植物育种, 2020, 18(12):4083-4096.
- KONG Weizheng, ZHANG Yi, YI Zili, HUANG Hongmei. Genetic relationship analysis of *Fortunella* germplasm resources based on pollen and leaf morphology[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(12):4083-4096.
- [32] 唐玉娟, 罗世杏, 黄国弟, 宋恩亮, 李日旺, 赵英, 张宇, 莫永龙, 唐莹莹. 基于 SSR 荧光标记的杧果种质资源遗传多样性分析及分子身份证构建[J]. 热带作物学报, 2023, 44(11):2292-2304.
- TANG Yujuan, LUO Shixing, HUANG Guodi, SONG Enliang, LI Riwang, ZHAO Ying, ZHANG Yu, MO Yonglong, TANG Yingying. Genetic diversity analysis and molecular ID construction of mango germplasm based on SSR fluorescence markers[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2023, 44(11):2292-2304.
- [33] 李沛, 何治霖, 谈月霞, 赵婉彤, 冯锦英, 陈贵虎, 严池, 王子豪, 黄平, 江东. 基于重测序数据与表型性状的宽皮柑橘遗传多样性分析与优异种质筛选[J]. 中国农业科学, 2024, 57(23):4761-4795.
- LI Pei, HE Zhilin, TAN Yuexia, ZHAO Wantong, FENG Jinying, CHEN Guihu, YAN Chi, WANG Zihao, HUANG Ping, JIANG Dong. Genetic diversity analysis of mandarin and excellent germplasm screening based on whole-genome resequencing data and phenotypic traits[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2024, 57(23):4761-4795.
- [34] 郑栋, 周仙莉, 滕长才, 侯万伟, 张红岩, 刘玉皎. 基于 SSR 标记的青海蚕豆品种亲缘关系分析与指纹图谱构建[J]. 作物学报, 2025, 51(1):79-90.
- ZHENG Dong, ZHOU Xianli, TENG Changcai, HOU Wanwei, ZHANG Hongyan, LIU Yujiao. Genetic relationship analysis and fingerprints construction of faba bean varieties in Qinghai province based on SSR markers[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2025, 51(1):79-90.
- [35] 李志强, 马静, 吴超, 耿建建, 贺熙勇, 宫丽丹, 陶亮. 基于全基因组 SNP 构建澳洲坚果指纹图谱[J]. 核农学报, 2025, 39(4):678-685.
- LI Zhiqiang, MA Jing, WU Chao, GENG Jianjian, HE Xiyong, GONG Lidan, TAO Liang. Construction of fingerprint of *Macadamia* based on whole-genome SNPs[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2025, 39(4):678-685.
- [36] 高丽, 龙勇, 李红章, 陈德勇, 贺红宇, 乐梨庆, 李华佳, 朱永清, 祝进, 曾晓丹. 采收成熟度对晚熟大雅柑橘品质特性及其风味的影响[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(22):140-148.
- GAO Li, LONG Yong, LI Hongzhang, CHEN Deyong, HE Hongyu, LE Liqing, LI Huajia, ZHU Yongqing, ZHU Jin, ZENG Xiaodan. Effects of harvest maturity on quality and flavor of late-maturing Daya citrus[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2023, 49(22):140-148.