

芒果品种鉴定 SSR 分子标记法

Identification of mango (*Mangifera Indica* L.) cultivars—SSR markers method

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

(征求意见稿)

(本草案完成时间: 2023 年 9 月 26 日)

在提交反馈意见时, 请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由农业农村部种业管理司提出。

本文件由全国植物新品种测试标准化技术委员会（SAC/TC 277）归口。

本文件起草单位：中国热带农业科学院亚热带作物研究所

本文件主要起草人：武红霞、马小卫、王松标、郑斌、许文天、闫锦源、詹儒林、何小龙。

芒果品种鉴定 SSR 分子标记法

1 范围

本文件规定了利用简单重复序列（Simple Sequence Repeats, SSR）分子标记进行芒果（*Mangifera Indica* L.）品种鉴定的操作程序、数据采集和判定方法。

本文件适用于芒果品种的SSR分子标记鉴定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

下列文件对于本标准的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

NY/T 2440 植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南 芒果

NY/T 2594 植物品种鉴定 DNA分子标记法 总则

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

核心引物 core primer

品种鉴定中优先选用的一套SSR引物，具有多态性高、重复性好等综合特性。

3.2

参照品种 reference variety

对应于特定位点不同等位变异的一组品种，用于辅助确定待测样品在某个位点上等位变异扩增片段的大小，校正仪器设备的系统误差。

4 原理

SSR广泛分布于芒果基因组中，不同品种间每个SSR位点重复单位的数量可能不同。针对重复序列两侧序列高度保守的特点，设计一对特异引物，利用聚合酶链式反应（Polymerase Chain Reaction, PCR）技术对重复序列进行扩增。在电泳过程中，由于SSR位点重复单位的数量不同引起的不同长度的PCR扩增片段，在电场作用下得到分离，经硝酸银染色或者荧光染料标记加以区分。因此，根据SSR位点的多态性，利用PCR扩增和电泳技术可以鉴定芒果品种。

5 仪器设备及试剂

见附录A。

6 溶液配制

见附录B。

7 引物相关信息及使用

引物名单及序列见附录C，引物等位变异等相关信息见附录D。

8 参照品种及其使用

参照品种的名称及其相关信息参见附录E。在进行待测样品的等位变异检测时，应同时包括相应参照品种的PCR扩增产物的检测。

9 操作程序

9.1 样品准备

每份样品中至少随机抽取3个单株，混合后用于鉴定分析。当一致性结果较差时，进行单独取样分析。

9.2 DNA 提取与检测

采用CTAB法。

- 称取芒果幼嫩叶片约 50 mg~60 mg，放入-20℃预冷的研钵中，加入液氮迅速研磨多次，至粉末状后，立即装入 2mL 离心管中，依次加入 600 μL 65℃预热的 CTAB 裂解缓冲液充分，60 μL β-巯基乙醇，充分摇匀；
- 65℃恒温水浴 45 min~60 min，期间每间隔 10 min 轻轻颠倒混匀一次；每管加入等体积的氯仿-异戊醇（24:1，V:V），轻轻颠倒混匀后，静置 10 min；12 000 r/min 离心 15 min。
- 取上清液至新的 2 mL 离心管，再加入等体积的氯仿-异戊醇，颠倒混匀，12 000 r/min 离心 15 min。
- 取上清液到新的 2 mL 离心管中，加入 1mL 预冷的异丙醇，颠倒混匀沉淀 DNA，在-20℃放置 30 min 以上；4℃，12,000 g 离心 10 min，弃上清液。
- 用 70%乙醇洗涤 DNA 沉淀 2 次，弃乙醇，离心管置于通风橱中风干，将沉淀物溶解于 100 μL 无菌水或 TE 缓冲液中，加 1 μL 10 g/L 的 RNAase A，37℃温浴 30min。
- 用 70%乙醇洗涤浸泡清洗沉淀 2 次，风干，将沉淀物溶解于 100 μL 无菌水或 TE 缓冲液中，检测 DNA 浓度和质量，将 DNA 浓度稀释到 20ng/ml，0-20℃保存备用。

注：以上为推荐的DNA提取方法。所获DNA质量能够满足PCR扩增需要的DNA提取方法均适用于本标准。

9.3 PCR 扩增

9.3.1 反应体系

普通PCR反应体系为20 μL：10×PCR buffer 2 μL，dNTPs (2.5mmol/L) 2 μL，DNA样品 (20~30 ng/μL) 1 μL，正反向引物各0.5 μL (10 μmol/L) Taq酶0.4 μL (5U/μL)，ddH₂O 13.6 μL，或：DNA样品 (20~30 ng/μL) 2 μL，2×Taq PCR Mix 10 μL，正反向引物各0.5 μL (10 μmol/L)，ddH₂O 7 μL，在PCR扩增仪上进行扩增。

利用毛细管电泳荧光检测时使用荧光标记引物，荧光标记位于上游引物5'端，合成荧光引物时，在上游引物的5'端增加了一段序列 (TGTAACGACGGCCAGT)，对于每对荧光引物，均在5'端用荧光染料PET、HEX、NED等标记，引物的荧光染料种类参见附录D。

荧光引物的PCR反应体系为20 μL：DNA样品 (20~30 ng/μL) 2 μL，2×Taq PCR Mix 10 μL，正向引物0.5 μL (10 μmol/L，其中0.1 μL正向引物，0.4 μL荧光染料)，反向引物0.5 μL，ddH₂O 7 μL。在PCR扩增仪上进行扩增。

注：反应体系的体积可根据具体情况进行调整。

9.3.2 反应程序

普通PCR反应程序：94℃预变性5 min；94℃变性30 s，按附录C推荐的引物退火温度退火30s，72℃延伸30 s，共35个循环；72℃延伸10 min，4℃保存。

荧光PCR反应程序：94℃预变性5 min；94℃ (30 s) /引物退火温度 (30 s) /72℃ (30 s)，32个循环；之后94℃ (30 s) /53℃ (30 s) 72℃ (30 s) 8个循环；最后72℃延伸8 min；4℃保存待用。

9.4 PCR产物检测

9.4.1 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳 (Polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE)

9.4.1.1 清洗玻璃板

清洗玻璃板, 用去离子水冲净后晾干备用。用之前再用95%乙醇分别擦洗2遍, 吸水纸擦干。在长板上涂上0.5mL亲和硅烷工作液, 带凹槽的短板上涂0.5mL剥离硅烷工作液。操作过程中防止2块玻璃板互相污染。

9.4.1.2 组装电泳板

待玻璃板彻底干燥后, 在两侧放好衬条对齐, 用固定夹加紧两块玻璃板, 并用水平仪调平。

9.4.1.3 制胶

在60 mL 6% PAGE胶溶液中分别加入加入60 μL TEMED和600 μL 10%的过硫酸铵, 轻轻混匀后, 用注射器吸取胶液缓慢注入两玻璃板之间的空隙, 灌胶过程防止气泡产生。待胶液充满玻璃板夹层后, 将0.4 mm厚鲨鱼梳齿的平齐端向里轻轻插入胶液约0.4 cm。胶液在室温下聚合2 h以上。胶聚合后, 放入电泳槽, 凹形玻璃板紧贴电泳缓冲液槽, 用大号固定夹固定住两侧。在上下电泳槽内灌入1 \times TBE电泳缓冲液, 清理胶板表面溢出的胶液, 轻轻拔出梳子, 用槽内的缓冲液反复冲洗点样孔, 以除去可能存在的未聚后的聚丙烯酰胺和气泡。

9.4.1.4 电泳

每一个加样孔点入变性后的2 μL ~4 μL 扩增产物和1 μL 6 \times Loading Buffer混合液, 在胶板两侧点入DNA Marker。除待测样品外, 还应同时加入参照品种的扩增产物。在50 W~60 W恒功率下电泳, 使凝胶温度保持在50 $^{\circ}\text{C}$ 。电泳2.0~3.0 h(电泳时间取决于扩增片段的大小范围), 同时观察溴酚蓝电泳至胶板底部位置即可。

注: 具体功率大小根据电泳槽的规格型号和实验室室温设定。

9.4.1.5 银染

- 漂洗: 取出胶板, 小心剥下带凹槽的玻璃板, 放入水洗框中, 首先用固定液固定 20min, 然后用蒸馏水漂洗 2 次, 每次漂洗 30 s;
- 染色: 从水洗框中取出胶板, 放入染色液中, 在摇床上 30r/min 染色 20 min;
- 漂洗: 取出胶板, 放入水洗框中, 用蒸馏水漂洗 1 次, 时间不超过 10 s;
- 显影: 将胶板放入显影液中, 在摇床上 30r/min 显影;
- 定影: 待条带清晰后, 将胶板放入固定液定影 5 min;
- 漂洗: 用蒸馏水漂胶板 10 s。

9.4.1.6 银染检测与结果记录

将不同待测样品的每个位点的扩增带型进行逐一比较, 比较样品间每个位点的异同。当条带类型完全一致时, 记录为相同位点, 当条带类型不完全一致时, 记录为差异位点。

9.4.2 荧光标记毛细管电泳

9.4.2.1 PCR产物样品制备

等体积混合不同荧光标记扩增产物, 混合后从混合液中吸取1 μL 加入DNA分析仪专用的 96孔板中, 每孔另外加入8.5 μL 去离子甲酰胺和0.5 μL ROX500分子量内标。将样品在PCR仪上94 $^{\circ}\text{C}$ 变性3 min, 将双链变性成单链, 迅速取出置于冰上冷却10 min, 瞬时离心10 s后上机检测。

注: 荧光标记的扩增产物的稀释倍数通过荧光毛细管电泳预实验确定。

9.4.2.2 上机检测

参考机器参考标准, 打开DNA分析仪, 检查仪器工作状态, 更换缓冲液, 灌胶。将装有样品的96孔板放置于样品架基座上, 打开数据收集软件。按照仪器操作程序, 制作板标, 输入样本编号或名称。启动程序, DNA分析仪自动收集记录毛细管电泳数据。

10 结果统计

10.1 数据表示

样品每个SSR位点的等位变异采用扩增片段大小的形式表示。

10.2 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳

根据参照品种的迁移位置，确定待测样品该位点的等位变异命名。

10.3 毛细管电泳荧光检测

使用DNA分析仪的片段分析软件，读出每具位点每个样品的等位变异大小数据。通过使用参照品种，消除同型号不同批次间或不同型号DNA分析仪间可能存在的系统误差。比较参照品种中的等位变异片段大小与附录C中的相应数据，两者的差数为系统误差的大小。从待测样品的等位变异数据中去除该系统误差，获得的数据即为待测样品的等位变异大小。

10.4 结果记录

数据的记录和统计，应符合NY/T2594的规定。

纯合位点的基因型数据记为X/X，其中X为该位点等位变异的大小；杂合位点的基因型数据记录为X/Y，其中X、Y为该位点上两个不同的等位变异，小片段在前，大片段在后。缺失位点等位基因变异数据记录为0/0。

示例1：样品在某个位点上扩增出一条 160 bp 的片段，则该品种在该位点上的基因型记录为 160/160。

示例2：样品在某个位点上有两个等位变异，大小分别为 160 bp、165 bp，则该品种在该位点上的基因型记录为 160/165。

11 判定方法

11.1 结果判定

用附录C中的核心引物进行检测，获得的待测样品和参照品种在这些位点的等位变异记录数据，利用这些数据 and 数据库中品种进行比较：

- a) 品种间差异位点数 ≥ 2 ，判定为“不同品种”；
- b) 品种间差异位点数=1，判定为“近似品种”；
- c) 品种间差异位点数=0，判定为“相同品种或极近似品种”。

注：差异位点小于两个位点时，应按照NY/T 2440的规定进行田间鉴定，确定品种间在形态性状上是否存在明显差异。

11.2 结果表述

待测样品_____与对照样品_____利用_____分子标记类型，采用_____检测平台，采用位点组合进行检测，结果显示：检测位点数为_____，差异位点数为_____，判定为_____（相同或极近似、近似、不同）。

附录 A
(规范性附录)
仪器设备及试剂

A.1 主要仪器设备

- A.1.1 高压灭菌锅
- A.1.2 PCR扩增仪
- A.1.3 电泳槽及配套的制胶附件
- A.1.4 高压电泳仪
- A.1.5 DNA分析仪
- A.1.6 台式高速离心机
- A.1.7 凝胶成像系统或紫外透射仪
- A.1.8 水浴锅
- A.1.9 制冰机
- A.1.10 紫外分光光度计
- A.1.11 微量移液器
- A.1.12 水平摇床
- A.1.13 胶片观察灯
- A.1.14 电子天平(精确到0.01 g)
- A.1.15 酸度计
- A.1.16 冰箱
- A.1.17 其他相关仪器和设备

A.2 主要试剂

除非另有说明,在分析中均使用分析纯试剂。

- A.2.1 十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)
- A.2.2 聚乙烯吡咯烷酮(PVP)
- A.2.3 三羟甲基氨基甲烷(Tris) 氯仿。
- A.2.4 异戊醇
- A.2.5 异丙醇
- A.2.6 乙二胺四乙酸二钠(EDTA)
- A.2.7 浓盐酸
- A.2.8 氢氧化钠
- A.2.9 10×PCR缓冲液(含Mg²⁺)
- A.2.10 4种脱氧核糖核苷酸:dNTP氯化钠

- A. 2. 11 Taq DNA聚合酶
- A. 2. 12 琼脂糖
- A. 2. 13 DNA Marker (50 bp~500 bp)
- A. 2. 14 溴酚蓝
- A. 2. 15 甲叉双丙烯酰胺
- A. 2. 16 丙烯酰胺
- A. 2. 17 硼酸
- A. 2. 18 亲和硅烷
- A. 2. 19 剥离硅烷
- A. 2. 20 无水乙醇
- A. 2. 21 四甲基乙二胺
- A. 2. 22 过硫酸铵
- A. 2. 23 冰醋酸
- A. 2. 24 硝酸银
- A. 2. 25 甲醛
- A. 2. 26 DNA分析仪用丙烯酰胺胶液
- A. 2. 27 DNA分析仪用光谱校准基质(包括6-FAM、TAMRA、HEX和ROX等四种荧光标记的DNA片段)
- A. 2. 28 DNA分析仪专用电泳缓冲液。

附录 B (规范性附录) 溶液配置

B.1 DNA 提取溶液的配制

DNA提取溶液的配制使用双蒸水。

B.1.1 0.5 mol/L 乙二胺四乙酸二钠 (EDTA) 溶液

称取186.1 g EDTA, 溶于800 mL水中, 再加入20 g氢氧化钠, 搅拌。待EDTA完全溶解后, 冷却至室温。再用氢氧化钠溶液 (1 mol/L) 调pH至8.0, 定容至1 000 mL, 在103.4 kPa (121°C) 条件下灭菌20 min。

B.1.2 0.5 mol/L 盐酸 (HCl) 溶液

称取25 mL浓盐酸 (36%~38%) 于容量瓶中, 加水定容至500 mL。

B.1.3 1 mol/L 氢氧化钠 (NaOH) 溶液

称取40.0 g氢氧化钠, 先溶于800 mL去离子水中, 再加水定容至1 L。

B.1.4 1 mol/L Tris-HCl (pH8.0) 溶液

称取121.1 g Tris碱溶于800 mL水中, 加HCl盐酸溶液 (0.5 mol/L) 调pH至8.0, 定容至1000 mL, 高压灭菌。

B.1.5 2% (CTAB) 溶液

分别称取CTAB 20 g, NaCl 81.816 g, PVP 20 g, 分别量取1 mol/L Tris-HCl溶液 (, pH 8.0) 100 mL, 0.5 mol/L EDTA溶液 (, pH 8.0) 40 mL, 加水定容至1 000 mL, 高温灭菌。

B.1.6 氯仿-异戊醇 (24:1)

分别量取240 mL 氯仿和100 mL 异戊醇, 将两者混匀。

B.1.7 TE缓冲液

分别量取5 mL Tris-HCl溶液 (1 mol/L, pH 8.0) 和1 mL EDTA溶液 (0.5 mol/L, pH 8.0), 定容至500 mL, 在103.4 kPa (121°C) 条件下灭菌20 min, 于4°C保存。

B.2 PCR 扩增溶液的配制

PCR扩增相关溶液的配制使用超纯水。

B.2.1 SSR引物稀释

开盖前瞬时离心10 s, 按说明书分别配制正向引物和反向引物终浓度均为100 $\mu\text{mol/L}$ 的储存液, 取10 μL 加90 μL 双蒸水至终浓度10 $\mu\text{mol/L}$ 的工作液。

B.2.2 6 \times 加样缓冲液

分别称取0.125 g溴酚蓝和0.125 g二甲苯青, 加入49 mL去离子甲酰胺和1 mL EDTA (0.5 mol/L, pH 8.0), 搅拌混匀。

B.3 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳相关溶液的配制

B.3.1 30% 丙烯酰胺溶液 (W/V)

分别称取290 g 丙烯酰胺和10 g 甲叉双丙烯酰胺溶于约800 mL水中, 加水定容至1000 mL, 置于棕色瓶中于4°C储存。

B. 3.2 6.0%变性PAGE胶 (W/V)

量取16 mL 30%丙烯酰胺溶液, 12 mL 5×TBE缓冲液, 600 μL 10%过硫酸铵 (新鲜配制) 和60 mL 四甲基乙二胺, 加水定容至60 mL。

B. 3.3 亲和硅烷缓冲液

1 mL 无水乙醇和250 μL 冰醋酸, 加水定容至50 mL。

B. 3.4 亲和硅烷工作液

在1 mL 亲和硅烷缓冲液中加入5 μL 亲和硅烷原液, 混匀。

B. 3.5 剥离硅烷工作液

在98 mL 氯仿溶液中加入2 mL 二甲基二氯硅烷溶液, 混匀。

B. 3.6 10%过硫酸铵溶液 (W/V)

称取1.0 g 过硫酸铵加水定容至10 mL, 分装到2 mL 离心管中, 现配现用, 在4°C 最多保存2~3周。

B. 3.7 10×TBE缓冲液

分别称取三羟甲基氨基甲烷 (Tris碱) 108 g, 硼酸55 g, 溶于800 mL ddH₂O 中, 加入37 mL EDTA 溶液 (0.5 mol/L, pH 8.0), 定容至1000 mL。

B. 3.8 1×TBE缓冲液

量取10×TBE 缓冲液100 mL, 加水定容至1000 mL。

B. 4 银染溶液的配制**B. 4.1 固定液**

100 mL 冰醋酸, 加水定容至1000 mL。

B. 4.2 染色液

称取2 g 硝酸银, 溶于1000 mL 水中。

B. 4.3 显影液

称取30 g 氢氧化钠溶于1000 mL 水中, 用前加5 mL 甲醛, 混匀。

附 录 C
(规范性附录)
核心引物及序列

核心引物名单及序列见C.1。

表C.1 核心引物名单及序列

编号	引物名称	染色体	正向引物序列 (5'→3')	反向引物序列 (5'→3')
1	G133	chr1	TGAACGGGTTTCAGGAGTTGG	TTGTCCCATTCCCATTCCGC
2	G216	chr2	AGATCCCTGCCAAAAGCTCC	CAGCATGGAGGAGAATGTTAACG
3	G269	chr2	TTAGCATCCTCCTCAGCAGC	TGATGTTGTTGAAAGCCCCG
4	G259	chr2	TTCGCACCAGTATGCATTGC	AGAAGACAGTGCTGAAGCCG
5	G255	chr2	GTTCAGAGTTCTGTGATAGAATGGC	ACCATTCCGCATCCTCTACG
6	G744	chr7	AGATGGACGGTTGAGGTTGC	TTCCCCCTTAAATGGCCACC
7	G824	chr8	GCAAGCGCATGAAGTATGACC	TGCTCCCCAATTTCCATTTTGC
8	G833	chr8	ACCATCATCACCATTCCCCC	ACTGCCACTCTGTTCCCTTCG
9	G1134	chr11	CACATTGTCCCAACATGCCC	GAGCAGCACACAACCTTGAGG
10	G1198	chr12	AGGGAATGGACAAGAGTTCAGG	CCTATTGGCAGGCATTCTCC
11	G1234	chr13	TCGTTTTTCCCTTCCTTCCCC	AGGGGAAGCACAGAGAATCG
12	ES83	Chr9	TCCAAATGTTGCAGCCTATTTAC	ATTATGTCCAGATTCACCATTCCG
注：品种权人可提供特异性位点。				

附录 D
(规范性附录)
核心引物相关信息

引物名称	推荐荧光	退火温度, °C	等位变异, bp	参照品种名称	参照品种基因型数据
G1134	HEX	58	124	台农1号	124/143
			130	热农1号	130/130
			136	Keitt	130/136
				桂热芒82号	136/136
			138	Neelum	138/138
			143	红芒6号	130/143
				金煌	130/143
				Haden	130/143
		椰香	136/143		
G133	HEX	58	153	台农1号	153/171
			159	桂热芒82号	159/171
			165	Haden	165/165
				Keitt	165/165
				金煌	165/165
				热农1号	165/165
				红芒6号	165/165
				椰香	165/165
			171	金白花	165/171
	811	165/171			
	Neelum	165/171			
G216	HEX	58	137	金煌	137/140
			140	红芒6号	140/146
			146	热农1号	146/150
				椰香	146/150
				811	146/146
				Keitt	146/146
				桂热芒82号	140/146
				Haden	146/146
				Neelum	140/146
			150	金白花	140/150
156	台农1号	150/156			
G824	HEX	58	110	Haden	110/110
			119	热农1号	119/119
			122	红芒6号	119/122
				Keitt	119/122
			125	桂热芒82号	119/125
				金煌	119/125
				台农1号	119/125
				椰香	119/125
	Neelum	119/125			
G1198	HEX	58	147	桂热芒82号	147/159
			150	红芒6号	150/156
			153	Keitt	150/153
			156	Haden	153/156
				热农1号	156/156
				台农1号	156/159
				椰香	156/159
			159	Neelum	159/159
	金煌	159/159			

引物名称	推荐荧光	退火温度, °C	等位变异, bp	参照品种名称	参照品种基因型数据
G1234	NED	58	106	金白花	106/118
			112	金煌	112/118
			118	桂热芒82号	112/118
			124	台农1号	118/124
				椰香	118/124
				红芒6号	118/124
				Haden	118/124
				Neelum	118/124
				Keitt	118/124
G833	FAM	58	130	GeDong	118/130
			112	台农1号	112/117
			117	红芒6号	112/117
			124	Haden	112/117
				Keitt	112/117
				热农1号	117/135
				金煌	117/131
			128	金白花	124/128
				811	124/128
				Neelum	128/128
			130	桂热芒82号	128/130
			135	椰香	130/135
			G255	FAM	58
	红芒6号	149/149			
152	椰香	152/176			
158	Haden	149/158			
167	Keitt	158/167			
170	金煌	158/170			
173	桂热芒82号	173/173			
	金白花	173/173			
	Neelum	173/173			
176	热农1号	149/176			
G269	FAM	58	129	GeDong	129/129
			132	椰香	132/135
			135	热农1号	132/135
				Keitt	135/135
				Haden	135/135
				金煌	135/135
				红芒6号	135/135
			138	桂热芒82号	135/138
				Neelum	135/138
				台农1号	135/138
				金白花	138/138
G259	FAM	58	141	811	135/141
			144	Neelum	144/144
			154	桂热芒82号	154/160
			157	金白花	157/163
			160	Keitt	160/163
			163	台农1号	160/163
			166	椰香	163/166
			169	金煌	163/169
				红芒6号	163/169
				Haden	163/169
	热农1号	163/169			
	811	163/169			
			163	金煌	163/171
			171	811	171/180

引物名称	推荐荧光	退火温度, °C	等位变异, bp	参照品种名称	参照品种基因型数据
G744	HEX	58	180	Haden	171/183
			183	Keitt	171/183
				红芒6号	163/183
				桂热芒82号	183/183
				Neelum	183/183
				热农1号	183/183
ES83	FAM	58	192	椰香	183/192
			157	椰香	157/157
			160	金煌	160/166
			163	Keitt	160/163
			166	金白花	163/166
<p>注1: 可以采用本标准推荐的荧光, 为保持检测数据的一致性, 无论采用何种荧光, 检测数据都需要用参照品种校正。</p> <p>注2: 对于附录D中未包含的等位变异, 应按本标准方法, 确定其大小和对应参考品种。</p>					

附 录 E
(规范性附录)
参照品种名单及来源

参照品种名单见表E.1。

表E.1 参照品种名单及相关信息

编号	参照品种	来源
1	金煌	国家热带果树种质资源圃（湛江）
2	热农1号	国家热带果树种质资源圃（湛江）
3	Keitt	国家热带果树种质资源圃（湛江）
4	桂热芒82号	国家热带果树种质资源圃（湛江）
5	金白花	国家热带果树种质资源圃（湛江）
6	台农1号	国家热带果树种质资源圃（湛江）
7	GeDong	国家热带果树种质资源圃（湛江）
8	811	国家热带果树种质资源圃（湛江）
9	椰香	国家热带果树种质资源圃（湛江）
10	红芒6号	国家热带果树种质资源圃（湛江）
11	Haden	国家热带果树种质资源圃（湛江）
12	Neelum	国家热带果树种质资源圃（湛江）