 DOI：10.13430/j.cnki.jpgr.20250828002

基于多重 PCR 的 SNP 基因分型及其在辣椒种质遗传多样性及关联分析中的应用

黄月琴，陈学军，方　荣，周坤华，雷　刚，李歌歌，方　钰，袁欣捷
（江西省农业科学院蔬菜花卉研究所/园艺作物（果蔬茶）育种江西省重点实验室/江西省生物育种创新中心，南昌 330200）

摘要：本研究利用简化基因组测序数据，开发了一套基于多重 PCR 的 SNP 基因分型 panel，包含了 170 个核心 SNP 标记。利用该 SNP panel 及 30 个表型性状对 202 份辣椒种质进行分析，解析其遗传多样性，发掘辣椒优良表型性状的关联位点。结果表明，170 对核心 SNP 标记分布于 12 条染色体上，香农指数（*I*）平均为 0.616，多态性信息含量平均为 0.334，基因多样性（*H'*）平均值 0.428，说明供试材料遗传多样性较好。基于 SNP 标记的聚类分析、群体结构分析和主成分分析结果较为一致：均将供试材料划分为 5 个类群，各类群与地理来源和果实形态有一定相关性。30 个表型性状变异系数在 7.00%~87.88%之间、平均为 34.85%，Shannon-Wiener 多样性指数在 0.03~2.07 之间、平均为 1.19，其中单果重的变异系数最大，商品果纵径的 Shannon-Wiener 多样性指数最大，花冠颜色变异系数和 Shannon-Wiener 多样性指数均最小；表型性状间大部分存在显著或极显著相关性；进一步对表型性状、SNP 标记进行关联分析，结果表明，GLM 和 MLM 两种方法共检测到 53 个 SNP 关联位点，与 12 个表型性状显著关联；GLM 和 MLM 分别可以解释 4.83%~48.41%和 10.86%~19.19%的表型变异，其中位于 4 号染色体的 *980-003* 标记对花冠颜色的表型变异解释率最高；53 个关联位点里有 4 个位点被两种方法同时检测到。本研究所开发的 SNP 基因分型 panel 是一种通量高、准确性好且成本低的基因型鉴定方法，可应用于辣椒遗传结构分析、分子标记辅助育种、品种鉴定等研究中。此外，本研究还建立了 202 份辣椒种质表型性状和基因型数据库，有效地建立表型与基因型的对应关系，为辣椒优异基因发掘、种质创新和品种遗传改良提供理论指导和材料基础。

关键词：辣椒；SNP 基因分型；多重 PCR；遗传多样性；关联分析

SNP Genotyping Based on Multiplex PCR and Its Application in Genetic Diversity and Association Analysis of Pepper Germplasm

HUANG Yueqin, CHEN Xuejun, FANG Rong, ZHOU Kunhua, LEI Gang, LI Gege, FANG Yu, YUAN Xinjie
（*Institute of Vegetables and Flowers*, *Jiangxi Academy of Agricultural Sciences*/*Jiangxi Provincial Key Laboratory of Horticultural Crops (Fruit, Vegetable & Tea) Breeding/Biological Breeding Innovation Center of Jiangxi Province*, *Nanchang 330200*）

Abstract：In this study, a multiplex PCR-based SNP genotyping panel was developed using genotyping-by-sequencing (GBS) data, which includes 170 core SNP markers. Based on this SNP panel and 30 phenotypic traits, analysis was conducted on 202 pepper germplasms to resove their genetic diversity and explore the associated loci for excellent phenotypic traits of pepper. Research showed that a total of 170 core SNP markers distributed across 12 chromosomes, with the average Shannon's Information index (*I*), polymorphic information content (*PIC*) and Nei's gene diversity (*H'*) being 0.616, 0.334 and 0.428, respectively. This indicates high genetic diversity among the tested materials. Results from cluster analysis, population structure analysis, and principal coordinate analysis were consistent: all divided the tested materials into five groups, and each group showed a certain correlation with geographical origin and fruit characteristics. The coefficient of variation (*CV*) for the 30 phenotypic traits ranged from 7.00% to

收稿日期：2025-08-28　　**网络出版日期**：2025-11-21
URL：https: //doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20250828002
第一作者研究方向为茄果类蔬菜遗传育种与分子生物技术，E-mail: hyq1267@163.com
通信作者：袁欣捷，研究方向为辣椒遗传育种与分子生物技术，E-mail: yxinjie1115@163.com
基金项目：江西省重点研发计划揭榜挂帅项目（20223BBF61003）；国家自然科学基金（32160712）；江西省主要学科学术和技术带头人培养计划（20225BCJ23010）；江西省农业科学院基础研究与人才培养专项（JXSNKYJCRC202341）；江西省重点研发计划青年科学家项目（20232BBF60002）
Foundation projects：Jiangxi Provincial Key R&D Program Tender and Lead Project (20223BBF61003); National Natural Science Foundation of China (32160712); Academic and Technical Leader Projects of Major Disciplines in Jiangxi Province (20225BCJ23010); Project on Fundamental Research and Talent Cultivation at Jiangxi Academy of Agricultural Sciences (JXSNKYJCRC202341); Jiangxi Provincial Key R&D Program for Young Scientists (20232BBF60002)

87.88%, with an average of 34.85%. The Shannon-Wiener diversity index varied from 0.03 to 2.07, with an average of 1.19. Among these traits, single fruit weight showed the highest *CV* (87.88%), while fruit length had the highest Shannon-Wiener diversity index (2.07). Corolla color exhibited the lowest values for both *CV* (7.00%) and Shannon-Wiener diversity index (0.03). Most of the 30 phenotypic traits showed significant or highly significant correlations. Furthermore, association analysis was performed between phenotypic traits and SNP markers. The results showed that a total of 53 SNPs were detected by two methods (GLM and MLM), which were significantly associated with 12 phenotypic traits. GLM and MLM could explain 4.83%–48.41% and 10.86%–19.19% of the phenotypic variance, respectively. Marker *980-003* located on chromosome 4 explains the highest phenotypic variance for corolla color. Four of the 53 SNPs were simultaneously detected by both methods. The SNP genotyping panel developed in this study is a genotyping method with high throughput, good accuracy, and low cost, which can be applied to genetic structure analysis, molecular marker-assisted breeding, and variety identification of peppers. In addition, this study established a database of phenotypic traits and genotypes for 202 pepper germplasms, effectively establishing the correspondence between phenotypes and genotypes, and providing theoretical guidance and a material basis for the exploration of excellent pepper genes, germplasm innovation and the genetic improvement of varieties.

Key words: pepper; SNP genotyping; multiplex PCR; genetic diversity; association analysis

辣椒（*Capsicum* spp.）为茄科辣椒属植物，原产于中南美洲，是我国种植面积最大的蔬菜作物，2017年以来，辣椒栽培面积基本稳定在210万 hm^2 以上，年产量6400多万t，产值700多亿元，是江西、贵州和湖南等地脱贫攻坚和乡村振兴的支柱产业之一[1-2]。我国辣椒栽培历史悠久，遗传多样性丰富，但随着商业化辣椒品种的大面积推广，品种的遗传多样性不断降低，育种材料的同质化问题日趋严重，远远不能满足多样化的育种需求[3]。种质资源是保障粮食安全和绿色发展的基础资源，是作物遗传改良和种质创新的重要物质基础，开展辣椒种质资源遗传多样性、群体结构分析和关联分析研究，对于辣椒种质资源鉴定、高效利用和遗传育种具有重要意义[4-5]。前人多从表型和SSR、SRAP等标记开展辣椒种质资源多样性研究，并且随着全基因组测序技术的发展，基于全基因组水平的SNP标记凭借高密度、高稳定性、与性状关联紧密等优势，在该领域逐步展开应用。郭赛赛等[6]采用22个表型性状及SRAP分子标记技术对37份辣椒种质进行遗传多样性分析，结果表明，供试辣椒种质资源具有丰富的遗传多样性，但从SRAP分子标记层面发现供试种质资源同质化严重。杨志刚等[7]分析了146份辣椒种质资源的形态学性状，并利用SSR标记对其遗传多样性和群体遗传结构进行了分析，结果表明，供试辣椒种质资源多样性丰富，群体遗传结构分析将146份辣椒种质分为界限明显的两组。宋拉拉等[8]选用89对KASP-SNP分子标记，对285份辣椒种质资源进行多态性分析，筛选出64个多态性较高的SNP标记，并将285份辣椒种质划分为果实形态、颜色、植株特性差异明显的3个类群，聚类结果与表型特征一致。Lozada等[9]通过测序进行基因分型（GBS，genotyping-by-sequenceing）技术鉴定出66750个高质量SNP标记，并利用这些标记将165份辣椒划分为两个类群，其中一年生辣椒（*Capsicum annuum* L.）基因型依据果实类型聚为一类。

基于多重PCR的靶向测序基因分型（GBTS，genotyping by target sequencing）技术是采用两轮PCR进行靶向定点扩增，在确保扩增均一化的前提下，对SSR、InDel和SNP等数以千百计的靶向引物进行快速富集扩增，并通过大规模并行测序分析，揭示目标位点的标记基因型，该技术具有高通量、低成本、周期短、

灵活性高、特异性强、重复性好等特点[10-11]。相较于 SSR 和 InDel 等分子标记，基于多重 PCR 的 SNP 基因分型技术覆盖面更广、灵活性更高和精准性更强，能快速做到样本及目标位点的基因分型，正逐步应用于各个作物种质的遗传研究中。刘彬等[12]利用 MultipSeq 多重 PCR 靶向捕获技术获得 656 个 SNP，将 251 份藜麦种质资源划分为两个亚群，并构建了每份种质资源的 DNA 指纹图谱及个体分子身份证；Zhang 等[13]采用多重 PCR 扩增子捕获技术对 261 份黄瓜种质资源进行指纹图谱构建，其中 24 个核心 SNP 可将 99%的种质资源区分开；Guo 等[14]利用多重 PCR 靶标测序基因分型平台开发了 4 个 SNP 标记组合，可有效区分供试玉米的亲缘关系。在辣椒上，Jo 等[15]基于 GBS 技术开发了一套含 322 个标记的 GT-seq panel，并应用于 88 份辣椒的主成分分析，结果显示，该套标记较 Fluidigm 标记更有优势，其主成分解释率更高、可将供试辣椒属材料区分开。Du 等[16]利用 35 个不同辣椒品系的重测序数据，基于多重 PCR 的靶向测序基因分型方法，获得 35 个核心 SNP 标记，利用这些核心标记将 271 个商品椒分为 5 个亚群。Wang 等[17]采用靶向 SNP 测序技术，筛选出 425 个 SNP，将 484 份一年生辣椒品系分为 4 个亚群。

对表型性状与基因型进行关联分析，能够为辣椒种质资源利用、优异基因挖掘和优良品种选育提供理论依据与关键基因和材料资源。以连锁不平衡（LD，linkage disequilibrium）为基础的关联分析是通过对自然群体表型性状和基因型进行数据统计分析，将目标性状可遗传变异和标记多态性之间进行关联，以其无需构建专门的作图群体、可以检测同一基因座位上的多个等位基因、充分发掘优异基因等优势[18-20]，已被广泛应用于辣椒众多表型性状的研究中。袁欣捷等[21]利用 GLM 和 MLM 对辣椒 7 个重要农艺性状与 58 个 SSR 标记进行关联分析，共检测到 25 个显著关联位点。王蜜蜜[22]对 98 份辣椒种质的 290 个 SSR 标记进行 GLM 分析，结果检测到 20 个 SSR 位点与果长、单果重等 6 个农艺性状相关联。赵红[23]对 312 份一年生辣椒种质的 48 个园艺性状进行全基因组关联分析（GWAS，genome-wide association study）表明，有 20 个性状显著关联到 94 个 SNP 位点。张小微等[24]以 195 份一年生辣椒构成的自然群体为试验材料，利用 GWAS 挖掘辣椒果色显著关联的 SNP 位点及候选基因，结果表明，辣椒果色性状遗传稳定，筛选出 8 个与辣椒果色相关的 SNP 位点，进一步 LD block 分析共注释到 31 个基因。段敏杰等[25]对 57 份辣椒种质的 7 个果实颜色性状与 20 个 SSR 标记进行遗传多样性分析，并利用 GLM 和 MLM 进行关联分析，结果表明，两种模型共检测到与辣椒果实颜色性状相关联的 16 个标记。

本研究基于前期 GBS 数据，利用开发的 SNP 基因分型 panel 和 30 个表型性状对 202 份辣椒种质进行遗传多样性和关联分析研究，验证该 SNP 基因分型方法在辣椒遗传研究中的有效性，并筛选优良性状的关联位点，发掘具有潜在育种价值的优异等位变异及其载体材料，为辣椒遗传研究和分子标记辅助育种提供新途径和理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试 202 份辣椒种质由江西省农业科学院蔬菜花卉研究所提供，包含一年生辣椒 4 个变种，即圆锥椒（*C. annuum* var. conoides）、簇生椒（*C. annuum* var. fascicutatum）、灯笼椒（*C. annuum* var. grossum）和长椒（*C. annuum* var. longum）。其中，我国地方资源共 190 份，来自全国 23 个省、市、县（自治区）；国外材料共 12 份，引自美国、泰国、罗马尼亚和保加利亚，详细信息见表 1。

表 1 供试辣椒种质材料

Table 1 Test pepper (*Capsicum annuum*) germplasm materials

编号 No.	分类 Classification	来源地 Origin	果形 Fruit shape	编号 No.	分类 Classification	来源地 Origin	果形 Fruit shape	编号 No.	分类 Classification	来源地 Origin	果形 Fruit shape
N001	长椒	中国安徽	牛角	N069	长椒	中国湖南	牛角	N137	圆锥椒	中国湖南	长锥形
N002	簇生椒	中国安徽	指形	N070	长椒	中国湖南	羊角	N138	长椒	中国湖南	短牛角
N003	长椒	中国安徽	牛角	N071	长椒	中国湖南	羊角	N139	长椒	中国湖南	短牛角
N004	灯笼椒	中国安徽	长灯笼	N072	簇生椒	中国湖南	指形	N140	灯笼椒	中国湖南	长灯笼
N005	长椒	中国安徽	牛角	N073	长椒	中国江苏	羊角	N141	长椒	中国湖南	短羊角
N006	簇生椒	中国四川	指形	N074	簇生椒	中国江苏	指形	N142	长椒	中国湖南	牛角
N007	簇生椒	中国四川	指形	N075	长椒	中国江苏	牛角	N143	长椒	中国湖南	羊角
N008	长椒	中国四川	细羊角	N076	长椒	中国江苏	羊角	N144	长椒	中国吉林	短羊角
N009	长椒	中国四川	牛角	N077	长椒	中国江苏	羊角	N145	灯笼椒	中国吉林	扁灯笼
N010	长椒	中国四川	牛角	N078	长椒	中国江苏	短牛角	N146	圆锥椒	中国吉林	短锥形
N011	长椒	中国四川	短牛角	N079	长椒	中国江苏	牛角	N147	灯笼椒	中国吉林	方灯笼
N012	长椒	中国福建	牛角	N080	灯笼椒	中国江苏	小灯笼	N148	灯笼椒	中国吉林	方灯笼
N013	长椒	中国福建	羊角	N081	簇生椒	中国江苏	指形	N149	灯笼椒	中国吉林	长灯笼
N014	簇生椒	中国福建	粗指形	N082	灯笼椒	中国云南	小灯笼	N150	长椒	保加利亚	羊角
N015	簇生椒	中国福建	粗指形	N083	簇生椒	中国云南	短指形	N151	长椒	中国辽宁	短牛角
N016	长椒	中国福建	羊角	N084	长椒	中国云南	长羊角	N152	长椒	中国江西	牛角
N017	长椒	中国福建	长牛角	N085	灯笼椒	中国云南	小灯笼	N153	长椒	中国江西	短牛角
N018	簇生椒	中国福建	小指形	N086	灯笼椒	中国云南	小灯笼	N154	圆锥椒	中国江西	锥形
N019	长椒	中国福建	牛角	N087	灯笼椒	中国云南	小灯笼	N155	长椒	中国山东	短牛角
N020	长椒	中国福建	牛角	N088	灯笼椒	中国云南	小灯笼	N156	灯笼椒	中国山西	方灯笼
N021	灯笼椒	中国福建	小灯笼	N089	簇生椒	中国云南	指形	N157	圆锥椒	中国山西	锥形
N022	长椒	中国广东	羊角	N090	长椒	中国云南	长羊角	N158	长椒	美国	中牛角
N023	长椒	中国广东	羊角	N091	长椒	中国云南	羊角	N159	灯笼椒	中国云南	扁灯笼
N024	簇生椒	中国广西	小指形	N092	灯笼椒	中国云南	小灯笼	N160	圆锥椒	中国云南	锥形
N025	长椒	中国广西	羊角	N093	长椒	中国云南	羊角	N161	长椒	中国浙江	粗羊角
N026	长椒	中国广西	牛角	N094	长椒	中国福建	羊角	N162	长椒	中国浙江	小牛角
N027	长椒	中国广西	牛角	N095	长椒	泰国	牛角	N163	灯笼椒	中国安徽	方灯笼
N028	簇生椒	中国贵州	长指形	N096	长椒	中国广西	牛角	N164	长椒	中国台湾	羊角
N029	簇生椒	中国贵州	小指形	N097	长椒	中国广西	小羊角	N165	长椒	中国甘肃	长牛角
N030	长椒	中国贵州	线椒	N098	长椒	中国贵州	牛角	N166	灯笼椒	中国广东	方灯笼

N031	长椒	中国贵州	羊角	N099	长椒	中国贵州	牛角	N167	长椒	中国广西	小牛角
N032	长椒	中国贵州	羊角	N100	长椒	中国湖南	长牛角	N168	长椒	中国广西	长牛角
N033	长椒	中国贵州	羊角	N101	长椒	中国湖北	羊角	N169	簇生椒	中国贵州	指形
N034	长椒	中国贵州	羊角	N102	长椒	中国湖北	羊角	N170	长椒	中国贵州	羊角
N035	灯笼椒	中国贵州	小灯笼	N103	灯笼椒	中国湖北	灯笼	N171	长椒	中国贵州	羊角
N036	长椒	中国贵州	羊角	N104	灯笼椒	中国湖北	灯笼	N172	圆锥椒	中国河北	短锥形
N037	长椒	中国贵州	长羊角	N105	长椒	中国湖北	牛角	N173	长椒	中国河南	牛角
N038	长椒	中国贵州	长羊角	N106	长椒	中国四川	羊角	N174	长椒	中国黑龙江	小牛角
N039	长椒	中国贵州	牛角	N107	长椒	中国湖北	长牛角	N175	长椒	中国湖北	小牛角
N040	长椒	中国贵州	线椒	N108	长椒	中国湖北	短牛角	N176	长椒	中国湖北	牛角
N041	圆锥椒	中国贵州	长锥形	N109	长椒	中国云南	羊角	N177	长椒	中国湖南	羊角
N042	长椒	中国贵州	长牛角	N110	长椒	中国湖北	牛角	N178	长椒	中国湖北	羊角
N043	长椒	中国四川	牛角	N111	长椒	中国四川	羊角	N179	长椒	中国湖北	牛角
N044	长椒	中国湖北	牛角	N112	圆锥椒	中国四川	锥形	N180	圆锥椒	中国湖北	短锥形
N045	圆锥椒	中国湖北	长锥形	N113	圆锥椒	中国四川	粗锥形	N181	灯笼椒	中国湖北	扁灯笼
N046	灯笼椒	中国湖北	小灯笼	N114	灯笼椒	中国四川	扁灯笼	N182	长椒	中国湖北	羊角
N047	长椒	中国湖北	牛角	N115	簇生椒	中国福建	细指形	N183	灯笼椒	中国湖北	灯笼
N048	长椒	保加利亚	长牛角	N116	长椒	中国福建	羊角	N184	长椒	中国湖北	羊角
N049	长椒	中国湖北	羊角	N117	簇生椒	中国福建	指形	N185	长椒	中国湖北	牛角
N050	长椒	中国湖南	牛角	N118	簇生椒	中国福建	指形	N186	长椒	中国湖北	牛角
N051	长椒	中国湖南	长羊角	N119	长椒	中国福建	短羊角	N187	长椒	美国	牛角
N052	长椒	中国湖南	牛角	N120	灯笼椒	中国福建	灯笼	N188	圆锥椒	美国	短锥形
N053	长椒	中国湖南	牛角	N121	长椒	中国甘肃	长羊角	N189	长椒	美国	牛角
N054	长椒	中国湖南	牛角	N122	长椒	中国广西	细羊角	N190	圆锥椒	美国	短锥形
N055	长椒	中国湖南	长羊角	N123	长椒	中国贵州	短羊角	N191	灯笼椒	美国	灯笼
N056	长椒	中国湖南	长牛角	N124	长椒	中国贵州	小牛角	N192	圆锥椒	美国	短锥形
N057	长椒	中国湖南	牛角	N125	长椒	中国河北	粗牛角	N193	长椒	美国	小牛角
N058	圆锥椒	中国湖南	长圆锥	N126	灯笼椒	中国河南	灯笼	N194	灯笼椒	中国宁夏	长灯笼
N059	长椒	中国湖南	羊角	N127	簇生椒	中国河南	指形	N195	簇生椒	中国山东	细指形
N060	长椒	中国湖南	牛角	N128	长椒	中国河南	羊角	N196	长椒	中国山西	牛角
N061	长椒	中国湖南	牛角	N129	长椒	中国河南	短羊角	N197	灯笼椒	中国天津	灯笼
N062	簇生椒	中国湖南	长指形	N130	长椒	中国河南	短牛角	N198	长椒	中国甘肃	长羊角
N063	长椒	中国湖南	牛角	N131	灯笼椒	中国河南	灯笼	N199	长椒	罗马尼亚	长牛角
N064	长椒	中国湖南	羊角	N132	长椒	中国黑龙江	短牛角	N200	长椒	中国云南	长羊角
N065	长椒	中国湖南	牛角	N133	圆锥椒	中国黑龙江	长锥形	N201	长椒	中国浙江	牛角
N066	长椒	中国湖南	长牛角	N134	灯笼椒	中国黑龙江	方灯笼	N202	长椒	中国湖北	牛角
N067	长椒	中国湖南	长牛角	N135	灯笼椒	中国黑龙江	扁灯笼				
N068	长椒	中国湖南	牛角	N136	灯笼椒	中国黑龙江	方灯笼				

1.2 田间试验及性状调查

供试材料于 2022–2023 年种植在江西省农业科学院海南南繁基地，每份材料定植 8 株，行距为 65 cm，株距为 40 cm，随机区组试验，3 次重复，四周设保护行，田间管理与常规相同。随机取 3 株进行定株、定时表型性状观测记载，取其平均值。分枝性、株型、主茎色、叶形、叶色、茎表茸毛密度、花冠颜色、花

柱颜色、果形、青熟果皮色、果肩形状、果顶形状、果基部宿存花萼、果面棱沟、果面光泽、果面特征、辣味程度、果实着生状态、株高、主茎高、株幅、始花节位、单果重、商品果纵径、商品果横径、果梗长度、果肉厚、心室数、疫病病情指数、疫病病株率共 30 个表型性状调查统计参考《辣椒种质资源描述规范和数据标准》[26]并略作修改，其中 18 个表型性状的分级标准及赋值见表 2，疫病抗性鉴定参考团队前期研究[27]。

表 2 18 个表型性状分级标准及赋值

Table 2 Grading criteria and assignment of 18 phenotypic traits

性状 Traits	分级标准及赋值 Grading criteria and assignment													
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
分枝性 BH				强		中		弱						
株型 Plant-T		开展	半直立	直立										
主茎色 MSC		黄绿	浅绿	绿	深绿	绿带/紫条纹	紫							
叶形 LS		卵圆	长卵圆	批针										
叶色 LC		黄绿	浅绿	绿	深绿	紫								
茎表茸毛密度 ST	无	稀	中	密										
花冠颜色 FC		白	浅绿	紫										
花柱颜色 FCC		白	蓝	紫										
果实着生状态 FO		下垂	侧生	朝上										
青熟果皮色 IFC		黄白	乳黄	黄绿	浅绿	绿	深绿	墨绿	紫	紫黑				
果肩形状 FSS	无	凸	微凹近平	凹										
果顶形状 FAS		细尖	钝圆	凹	凹陷带尖									
果基部宿存花萼 PCFB		平展	浅下包	下包										
果面特征 FSC		光滑	微皱	皱										
果面棱沟 FSRF	无	浅	中	深										
果面光泽 FSL	无	有												
果形 FS		扁灯笼形	方灯笼形	长灯笼形	短锥形	长锥形	短牛角形	长牛角形	短羊角形	长羊角形	短指形	长指形	线形	圆球形
辣味程度 PL	无	微辣	中辣	辣	极辣									

BH: Branching habit; Plant-T: Plant type; MSC: Main stem colour; LS: Leaf shape; LC: Leaf colour; ST: Stem trichomes; CC: Corolla colour; FCC: Flower column colour; FO: Fruit orientation; IFC: Immature fruit colour; FSS: Fruit shoulder shape; FAS: Fruit apex shape; PCFB: Persistent calyx of the fruit base; FSC: Fruit surface characteristics; FSRF: Fruit surface ridges and furrows; FSL: Fruit surface luster; FS: Fruit shape; PL: Pungency level; The same as below

1.3 靶向测序 SNP 基因分型 panel 开发

1.3.1 SNP 基因分型 panel 设计及优化 根据团队前期对 220 份辣椒种质进行简化基因组测序，使用限制性内切酶 *Eco*RI 和 *Nla*III 对基因组 DNA 进行酶切，将酶切片段加上带标签的测序接头后构建小片段文库，进行 PE125 双末端测序，经质量控制后得到 2887920 个 SNP 和 InDel[28]，作为辣椒多重 PCR 靶向测序 panel 的候选 SNP。接着，依据最小等位基因频率（MAF，minor allele frequency）>0.2、多态信息含量（PIC，polymorphism information content）>0.3、连锁不平衡值>0.2、缺失率<0.1、杂合度<0.05 的标准进行初步筛选[29]。然后，在辣椒参考基因组 Annuum.v.1.6（http://peppergenome.snu.ac.kr/download.php）上对候选 SNP 序列进行分析，根据序列在参考基因组上的拷贝数、染色体分布等，筛选序列进行 panel 设计。根据最终确认的序列，利用 EasyMultiplex 软件进行引物设计和 panel 评估，并利用对照样品 A198 和 A204[28]对 panel 进行测试和优化。

1.3.2 多重 PCR 采用 CTAB 法提取 202 份待测辣椒种质（N001~N202）和对照种质 A198、A204（已完成 GBS 测序的种质）的基因组 DNA。以待测辣椒的基因组 DNA 为模板，分两轮进行多重 PCR 扩增反应。第 1 轮 PCR 扩增：将筛选得到的引物等量混合配制成每条引物浓度为 0.05~0.4 μmol/L 的引物混合液；使用诺唯赞的 Taq Pro Multiplex DNA Polymerase（High specificity）PM202 Index 进行 PCR 反应，反应体系为 2×Multiplex Buffer 15 μL，Multiplex DNA Polymerase（10 U/μl）1.2 μL，0.25 μmol/L 的引物混合液 6 μL，50 ng/μL 的模板 DNA 1 μL，加 ddH_2O 定容至 30 μL；PCR 反应程序为 95℃预变性 3 min；95℃变性 30 s，60℃退火 3 min，72℃延伸 60 s，22~28 个循环；72℃延伸 15 min。PCR 产物用磁珠纯化。第 2 轮 PCR 扩增：反应体系为 Illumina I5 index（10um）1 μL，Illumina I7 index（10um）1 μL，2×Hieff Canace PCR Master Mix（上海翊圣生物科技有限公司）15 μL，第 1 轮 PCR 反应产物 1 μL，第 1 轮 PCR 产物纯化后的磁珠（含纯化后的 PCR 产物做为此轮 PCR 的模板），加 ddH_2O 定容至 30 μL；PCR 反应程序为 98℃预变性 3 min；98℃变性 15 s，58℃退火 30 s，72℃延伸 30 s，7~13 个循环；72℃延伸 5 min。PCR 产物用磁珠纯化。对 PCR 产物进行 NGS 测序，测序结果与参考基因组比对后进行多态性过滤，并对 SNP panel 所在位置的序列拷贝数和染色体分布等进行分析，筛选获得检出率高的目标 SNP 基因型位点。

1.4 数据统计与分析

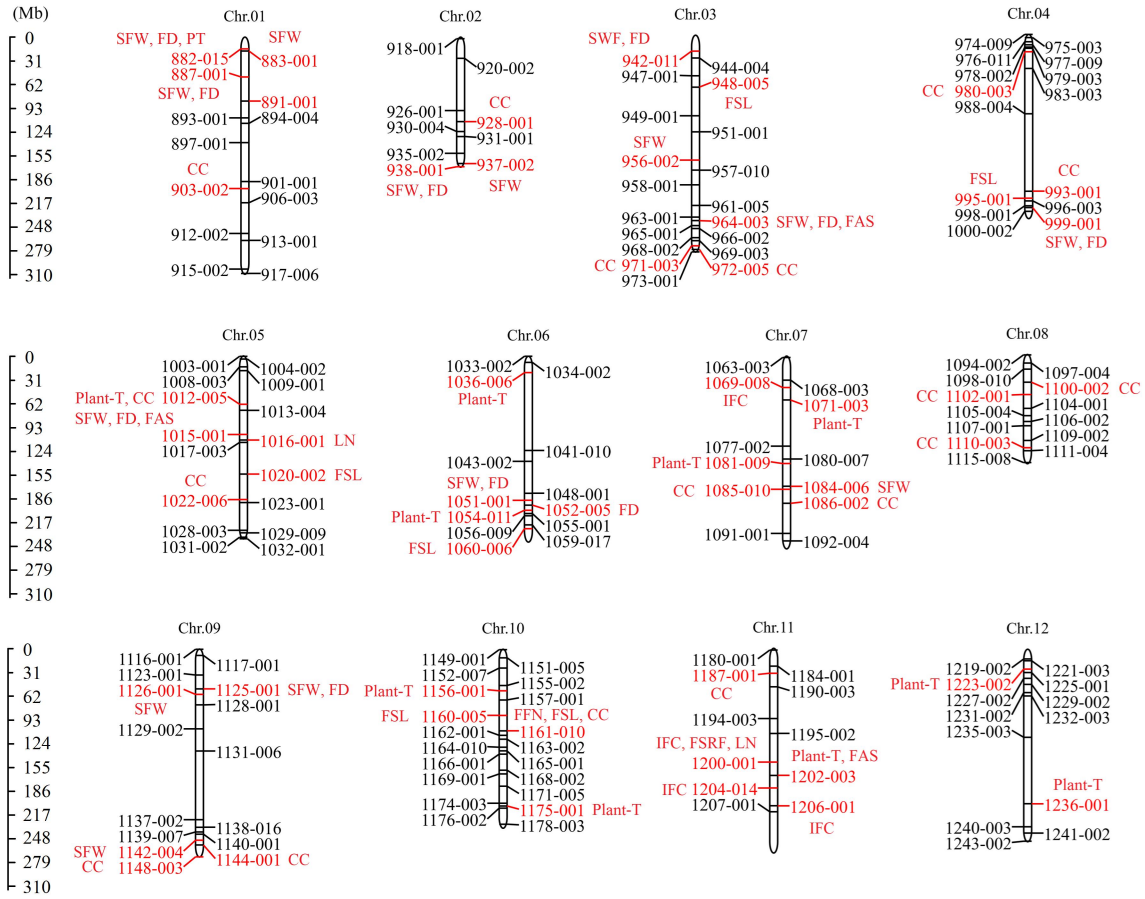
采用 Microsoft Office Excel 对表型性状进行统计分析，计算极大值、极小值、均值、标准差、变异系数和 Shannon-Wiener 多样性指数（Shannon-wiener diversity index）；其中，对数量性状的分级依据 10 级分类进行[30]，即从第 1 级 Xi<（M－2S）到第 10 级 Xi≥（M＋2S），每 0.5 S 为一级，M 为平均值，S 为标准差，每级的相对频率用于计算 Shannon-Wiener 多样性指数，其计算公式为 Shannon-Wiener 多样性指数 =–∑PilnPi（Pi 表示某性状第 i 级样品频率）。利用 OriginPro 2024 软件进行表型性状相关性分析。将 SNP 分子标记检测的 202 份辣椒种质基因型数据根据各软件要求整理成相应格式，在 Popgen 32 中计算观测等位

基因 *Na*（Observed number of alleles）、有效等位基因 *Ne*（Effective number of alleles）、香农指数 *I*（Shannon′s information index）和基因多样性 *H′*（Nei′s gene diversity），参照 Botstein 等[31]的方法计算 SNP 位点的多态性信息含量（*PIC*，polymorphism information content）。根据 Nei′s 遗传距离，利用 MEGA[32]进行 NJ（Neighbor-joining）聚类；采用 Structure2.3.4 软件[33]进行群体结构分析，*K* 值设为 2~10，设定 MCMC（Markov chain monte carlo）开始时的不做迭代数为 10000，不做迭代数的 MCMC 为 100000，重复运行 10 次，根据 Evanno 等[34]的方法确定合适的 *K* 值，绘制群体遗传结构图。运用 Rstudio 对供试材料进行主成分分析（PCoA，principal co-ordinates analysis）。将 Structure2.3.4 软件计算得到的 *Q* 值作为协变量，利用 TASSEL3.0 中的的一般线性模型（GLM，general linear model）和混合线性模型（MLM，mixed linear model）将表型性状数据分别对标记数据进行回归分析，将－$\log_{10}$（0.05/有效标记）值设为显著性阈值，筛选得到与表型性状显著关联的 SNP 位点[28]。利用 MG2C_v2.1（http://mg2c.iask.in/mg2c_v2.1/index.html）绘制关联位点在染色体上的位置图。

2 结果与分析

2.1 SNP 基因分型 panel 标记

从 2887920 个 SNP 和 InDel 中初步过滤到 2374 个高质量 SNP 位点，对这些 SNP 所在位置的序列的拷贝数和染色体分布等进行分析，筛选出均匀分布在 12 条染色体且所在位置序列为单拷贝的 365 个 SNP 位点，对这些位点初步设计引物 2351 对，平均每条序列设计 6.4 对引物。根据初步测试的试验流程和数据，对各组份引物浓度和 PCR 程序进行优化，确定最佳引物终浓度为 0.25 μmol/L，第一轮 PCR 扩增反应最佳循环数为 25 个，第二轮 PCR 扩增反应最佳循环数为 10 个；按照优化后的多重 PCR 进行扩增，对 PCR 产物进行 NGS 测序，经变异检测等生信分析及与测序结果比对后获得 243 个位点，再根据各 SNP 位点的检出率和读数最终筛选出表现最优的 170 个核心 SNP panel 标记，以及相应的 170 对引物，（图 1、具体结果详见 https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20250828002，附表 1）。



标红为与性状显著关联的位点及相关性状名称缩写；SFW：单果重；FD：商品果横径；PT：果肉厚；LN：心室数；FFN：始花节位；下同

Standard red is the abbreviation of the loci and related traits that are significantly associated with the traits; SFW: Single fruit weight; FD: Fruit diameter; PT: Pericarp thickness; LN: Locule number; FFN: First flower node; The same as below

图 1 开发的 SNP 标记在染色体上的位置

Fig. 1 The chromosomal locations of the developed SNP markers

2.2 SNP 引物多态性分析

利用 170 对特异性引物在 202 份辣椒种质材料中共检测到 170 个 SNP 等位变异位点，分布于 12 条染色体上（详见 https：//doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20250828002，附表 2），有效等位基因 *Ne* 平均为 1.77 个；基因多样性 *H'*变幅为 0.157~0.500，平均值为 0.428；香农指数 *I* 变幅为 0.293~0.693，平均值为 0.616；多态性信息含量 *PIC* 变幅为 0.085~0.500，平均值为 0.334。以 *PIC*≥0.5 属于高度多态，0.25≤*PIC*<0.50 属于中度多态，*PIC*<0.25 属于低度多态[31]为标准，170 个 SNP 标记多为中度多态性标记。

2.3 聚类分析

202 份辣椒种质材料的 Nei's 遗传距离为 0.057~0.693，平均遗传距离为 0.357。贵州种质 N034 与 N035 之间，以及湖南种质 N050 和 N065 之间遗传距离最小，均为 0.057；四川种质 N113 与美国种质 N189 间遗传距离最大，为 0.693。基于 Nei's 遗传距离构建 NJ 聚类图（图 2），在遗传距离 0.219 处，202 份材料可分成 5 个类群。其中，类群 I 包含 34 份材料，主要为北方大果牛角灯笼椒，多属灯笼椒和长椒变种，单果重均值为 54.6 g，辣味主要为无辣、微辣或中辣，疫病抗性鉴定为多为感病，包含来自黑龙江、吉林、辽宁、

山东、甘肃、河北、山西和河南等北方的 22 份材料，福建、广西、云南、安徽、广东和湖北等南方的 6 份材料，以及引自美国和保加利亚的 6 份材料。类群 II 为 3 份材料，包括 2 份福建的朝天椒和 1 份湖北的羊角椒，为簇生椒和长椒变种，单果重均值为 9.23 g，疫病抗性为中抗，始花节位均值较高（15 节），熟性较晚，辣味属辣。类群III为 4 份材料，主要为羊角椒，多属长椒变种，辣味为中辣，疫病抗性鉴定为中抗。类群Ⅳ为 19 份材料，多为南方中果牛角椒，主要是长椒变种，单果重均值为 30.9 g，主要来自湖南、湖北，始花节位均值为 9.11，辣味多属中辣到辣，疫病抗性鉴定为中抗。类群Ⅴ包含 142 份材料，主要为小果型辣椒，多为羊角椒、小灯笼椒或小朝天椒，主要为长椒、灯笼椒和簇生椒变种，单果重均值为 18.6 g，疫病抗性为中抗；在遗传距离 0.437 处可进一步分为 5 组（V1~V5），每组包含的种质从 4~117 份不等，V1 组主要来自湖北的小牛角椒，单果重均值 30.5 g；V2 组为来自湖北和湖南的羊角椒，单果重均值 21.8 g；V3 组为来自福建、湖南和湖北的小牛角椒，单果重均值 24.6 g；V4 组主要来自福建、河南和引自美国等地的朝天椒和锥形椒，单果重均值为 14.4 g；V5 组主要来自云南、四川、广西、江苏、湖北和湖南等地的 117 份种质，多为小灯笼椒、朝天椒和小牛角椒，单果重均值为 16.6 g。各组的划分与辣椒果实类型和地理来源有一定关系，但存在交叉和混杂的现象，这可能与长期人工选择和相互引种产生的基因交流等因素有关。

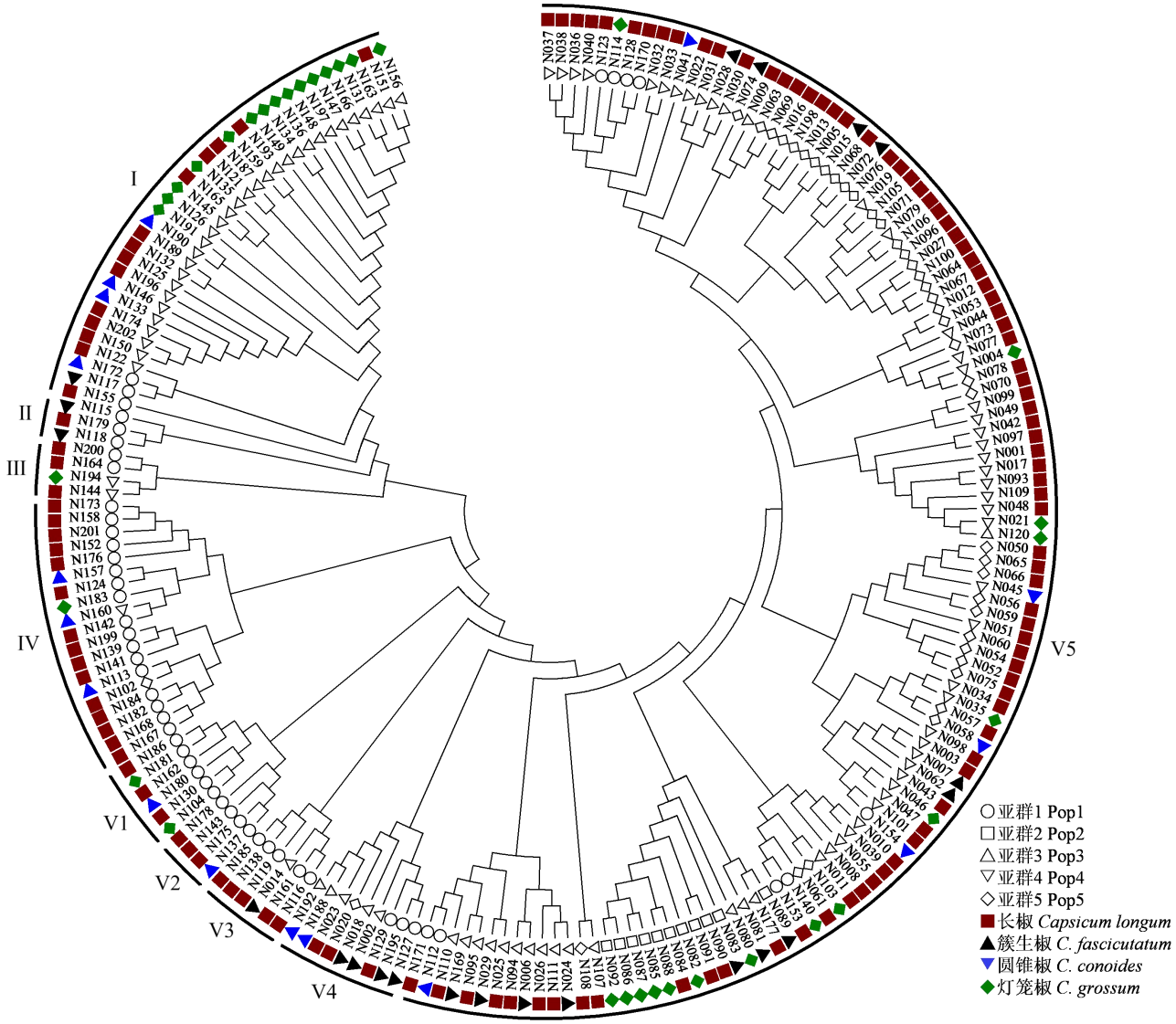


图 2 202 份辣椒种质基于 Nei's 遗传距离的 NJ 聚类

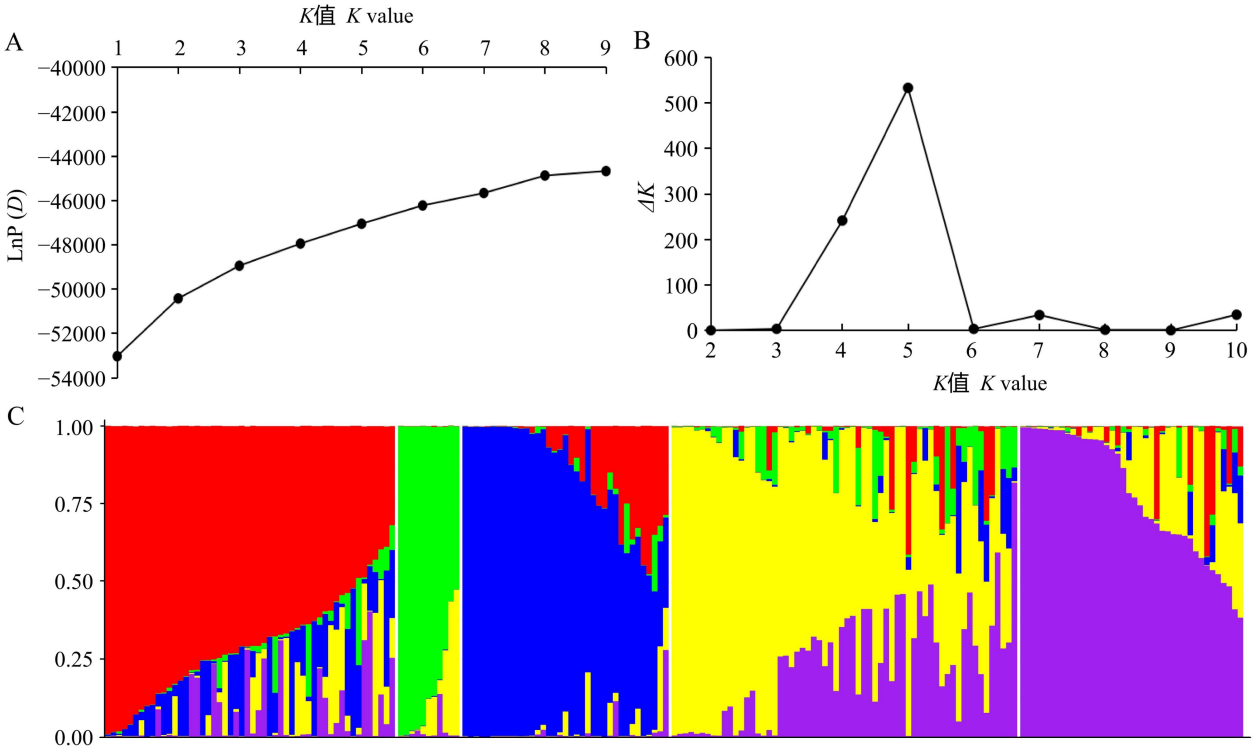
Fig. 2 Cluster of 202 pepper germplasm based on Nei's Neighbor-Joining clustering method

2.4 群体结构分析

采用 Structure 2.3.4 软件对 202 份辣椒种质进行群体遗传结构分析，计算每份材料的 *Q* 值（个体基因组中源自各亚群的遗传成分比例）。结果显示，随着 *K* 值增加，LnP（*D*）值也随之增加，无明显拐点，因此无法准确判断 *K* 值（图 3A）。参照 Evanno 等[34]的方法，根据*ΔK* 值确定亚群数。当 *K*=5 时，*ΔK* 值最大（图 3B），因此该群体可被划分为 Pop1~Pop5 五个亚群（图 3C），分别包含 52 份、11 份、37 份、62 份和 40 份材料。当某材料在一个亚群中的 $Q \geq 0.6$ 时，则认为该材料血缘相对较纯；如果某材料在亚群中的 $Q<0.6$，则说明该材料具有混合来源，融合了多个亚群的遗传成分[35]。Structure 软件分析结果显示，59 份种质材料 $Q<0.6$，血缘不纯，遗传背景较为复杂，如引自保加利亚、泰国和罗马尼亚的 N048、N095 和 N199 以及引自美国的 N188 和 N193；143 份种质材料 $Q \geq 0.6$，血缘较纯，遗传背景较为单纯。对 5 个亚群种质材料的地理来源和变种分类信息进行分析发现，Pop1 种质地理来源较杂，主要包括中国福建、江西、浙江、广东、

四川、广西、贵州、湖北、湖南、河南等中部、西南及南方地区，以中果型牛羊角椒为主，多属长椒变种，其疫病抗性鉴定为中抗；Pop2 的 11 份种质全部来自云南，主要为中小灯笼椒，多属灯笼椒变种，疫病抗性多为感病；Pop3 主要来自中国河北、甘肃、黑吉辽、宁夏等北方地区以及美国，以大果形牛角椒和灯笼椒为主，在分类上多属于长椒和灯笼椒变种、少部分圆锥椒变种，疫病抗性鉴定多为感病；Pop4 种质主要来自中国安徽、湖北、四川、广西等中国中西部地区，多为小牛角椒、羊角椒或朝天椒，在分类上多属于长椒和簇生椒变种，疫病抗性鉴定为中抗；Pop5 种质主要来自湖南、湖北、江苏、安徽和福建等中国中部地区，为小牛角和羊角椒，在分类上多属于长椒变种，疫病抗性鉴定多为感病。

群体结构分析与聚类分析的类群划分结果整体较为一致（图 2），如 Pop2 所有种质与 Pop4、Pop5 的大部分种质聚类在类群Ⅴ中，Pop3 大部分种质归属于类群Ⅰ中，类群Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ主要为 Pop1 种质。



A：*K* 值与 LnP（*D*）值的关系趋势图；B：*ΔK* 值随 *K* 值变化的趋势图；C：群体结构图，红色、绿色、蓝色、黄色和紫色依次分别表示亚群 1~亚群 5

A: Trend plot of *K* and LnP（*D*）, B: Trend chart of *ΔK* with the change of *K* values, C: Population structure, red, green, blue, yellow, and purple represented Pop1 to Pop5, respectively

图 3 基于 SNP 分子标记的 202 份辣椒种质群体结构分析

Fig. 3 Population structure analysis of 202 pepper germplasms based on SNP molecular markers

2.5 主成分分析

利用 Rstudio 对供试材料进行主成分分析，如图 4 所示，前两个主坐标的方差贡献率分别为 29.58%和 11.71%。根据前两个主成分，202 份辣椒种质可分为 5 个类群，其中类群 1、类群 3 与类群 2、类群 4 和类群 5 距离较远，分界较为明显；而类群 2、类群 4 和类群 5 并未明显的区分，存在交叉，其遗传背景较为接近。右箱线图展示不同类群在第 1 主成分上的得分分布，其中类群 3（蓝色）在第 1 主成分负向得分集中，

类群 1（红色）在第 1 主成分正向得分集中，这也进一步验证了主成分图的分类结果；PERMANOVA 统计检验也表明，*P* 小于 0.05，各类群间存在显著性差异，但类群的划分仅解释了 4%（R^2=0.04）的遗传变异，对遗传结构的解释力较弱。主成分绝大部分种质材料的划分与群体结构亚群的划分相一致，其中部分材料如 N120、N122、N160 在群体结构分析中，其 *Q* 值显示分别含有亚群 1 的 28.6%、32.1%和 47.8%的遗传成分，在主成分分析中划分为或接近类群 1；N048、N199 的 *Q* 值显示其分别含有亚群 3 的 22.7%和 37.4%的遗传成分，在主成分分析中划分到类群 3 中。综上可见，主成分分析与群体结构分析结果具有较高的一致性。

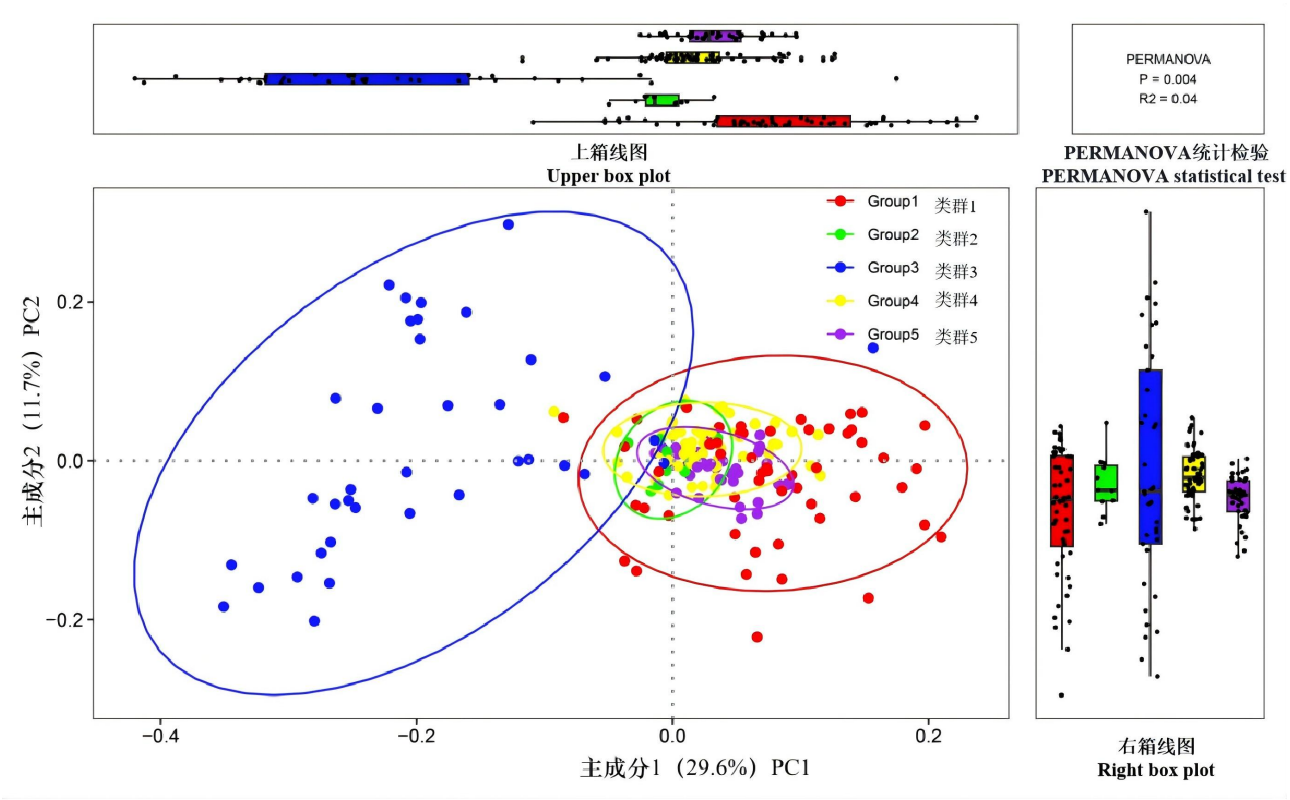


图 4 202 份辣椒种质的主成分分析

Fig. 4 The principle co-ordinates analysis（PCoA）of 202 pepper germplasms

2.6 供试辣椒材料的表型性状遗传多样性及相关性分析

如表 3 所示，30 个表型性状遗传多样性的变异系数在 7.00%~87.88%之间，平均为 34.85%，其中单果重的变异系数最大，其变幅为 1.00 g~169.4 g；花冠颜色变异系数最小，绝大部分种质为白色花冠。花柱颜色、果顶形状、果面棱沟、果实着生姿态和疫病病情指数等性状变异系数均大于 50.00%，而叶色、青熟果皮色和果面光泽等性状变异系数均较小。Shannon-Wiener 多样性指数在 0.03~2.07 之间，平均为 1.19，其中商品果纵径的遗传多样性指数最大，花冠颜色遗传多样性指标最小；果形、株高、株幅、始花节位、主茎高、果肉厚、单果重、果梗长度、商品果横径、疫病病情指数和疫病病株率等性状指标 Shannon-Wiener 多样性指数均较大，超过 1.50；而株型、主茎色、叶色、果面光泽和果实着生姿态等表型性状指标 Shannon-Wiener

多样性指数均较小，小于 1.00。各性状的变异系数及遗传多样性指数表现出不同程度差异，供试的 202 份辣椒种质材料具有较为丰富的遗传多样性。

表 3 202 份辣椒种质表型性状遗传多样性分析

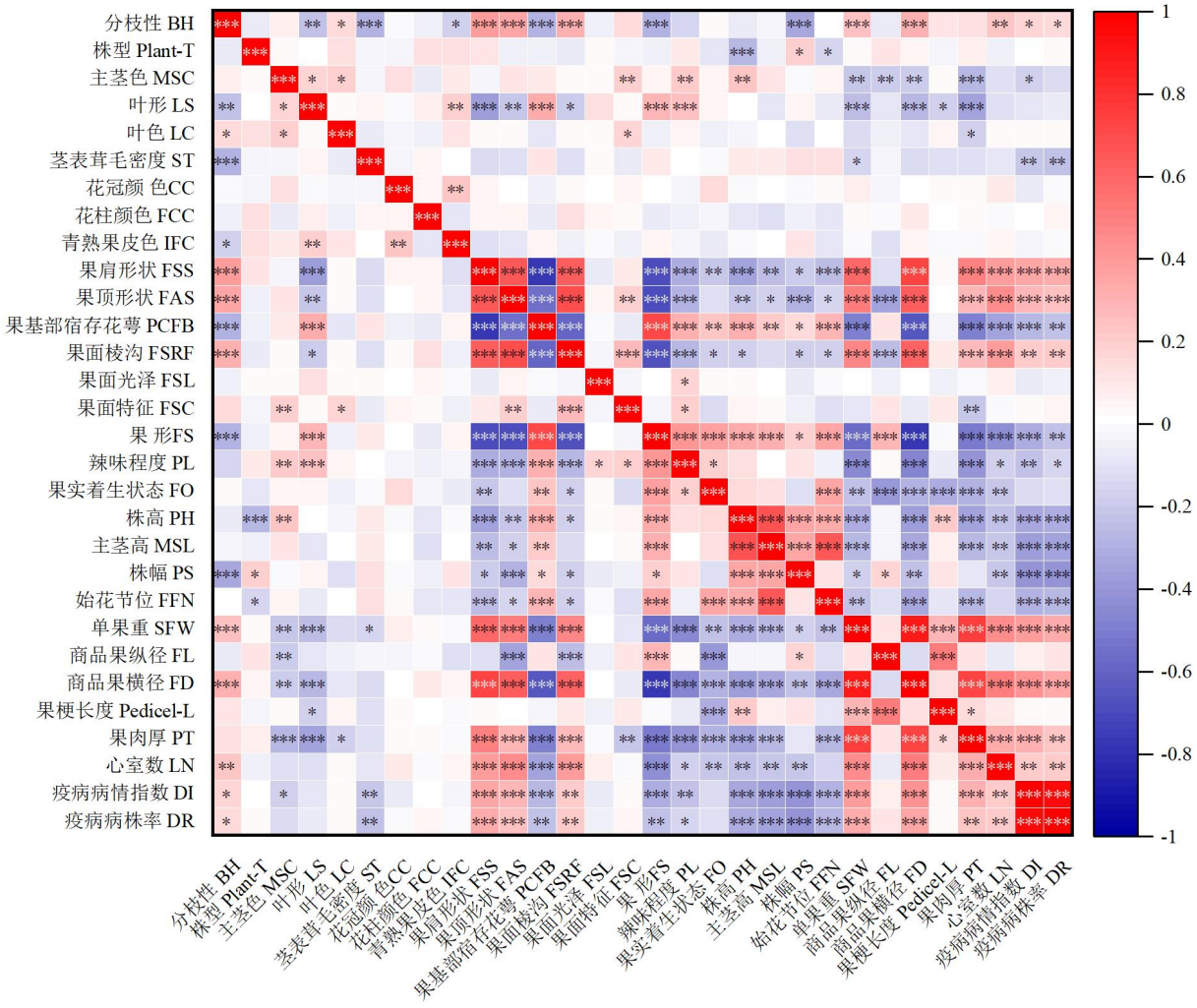
Table 3 Analysis of genetic diversity of phenotypic traits of 202 pepper germplasm

性状 Traits	最大值 Max.	最小值 Min.	平均值 Mean	标准差 *SD*	变异系数（%） *CV*	Shannon-Wiener 多样性指数 Shannon-Wiener diversity index
分枝性 BH	7.00	3.00	4.59	1.18	27.73	0.86
株型 Plant-T	3.00	1.00	1.29	0.37	33.97	0.31
主茎色 MSC	5.00	2.00	3.24	0.72	21.84	0.48
叶形 LS	3.00	1.00	1.71	0.69	32.09	1.01
叶色 LC	4.00	2.00	3.08	0.33	10.55	0.39
茎表茸毛密度 ST	3.00	0.00	2.09	0.45	21.66	0.51
花冠颜色 CC	3.00	1.00	1.00	0.07	7.00	0.03
花柱颜色 FCC	3.00	1.00	1.42	0.87	57.88	0.56
果形 FS	9.00	2.00	5.56	2.52	39.91	1.94
青熟果皮色 IFC	3.00	0.00	4.92	0.72	14.58	0.77
果肩形状 FSS	3.00	1.00	2.6	0.93	35.74	1.26
果顶形状 FAS	3.00	1.00	1.66	0.78	55.19	0.67
果基部宿存花萼 PCFB	3.00	0.00	1.53	0.84	44.68	1.08
果面棱沟 FSRF	1.00	0.00	1.91	0.97	50.61	1.10
果面光泽 FSL	3.00	1.00	0.97	0.10	10.34	0.06
果面特征 FSC	12.00	1.00	1.63	0.75	44.69	1.02
辣味程度 PL	4.00	0.00	2.94	0.95	32.14	1.22
果实着生姿态 FO	3.00	1.00	1.13	0.61	50.34	0.33
株高（cm）PH	115.00	35.00	55.03	14.4	22.19	2.05
主茎高（cm）MSL	52.00	11.00	23.05	7.04	28.27	1.92
株幅（cm）PS	110.00	20.00	54.05	13.3	24.03	1.97
始花节位 FFN	23.00	4.60	9.42	2.54	25.87	1.88
单果重（g）SFW	169.40	1.00	37.05	23.46	87.88	1.59
商品果纵径（cm）FL	20.50	2.40	11.7	3.61	33.01	2.07
商品果横径（cm）FD	7.80	0.90	3.7	1.50	49.19	1.79
果梗长度（cm）Pedicel-L	7.60	2.30	4.39	0.96	22.28	2.05
果肉厚（cm）PT	0.54	0.06	0.27	0.08	34.70	2.03
心室数 LN	4.00	2.00	2.65	0.63	24.99	0.87
疫病病情指数 DI	100.00	0.00	57.62	26.4	53.47	2.03
疫病病株率 DR	100.00	0.00	71.62	30.00	48.79	1.97
平均值 Mean					34.85	1.19

PH: Plant height; MSL: Main stem length; PS: Plant spread; FL: Fruit length; Pedicel-L: Pedicel length; DI: Disease index; DR: Diseased plant rate; The same as below

进一步对 30 个表型性状进行相关性分析，如图 5 所示，除花柱颜色外，其他表型性状间均表现出一定的相关性。其中，分枝性与叶形、叶色、茎表茸毛密度、青熟果皮色、果肩形状、果顶形状、果基部宿存花萼、果面棱沟、果形、株幅、单果重、商品果横径、心室数及疫病病情指数、病株率等性状呈显著或极

显著相关；株型与株高、株幅、始花节位呈显著或极显著相关；主茎色与叶形、叶色、果面特征、辣味程度、株高、单果重、商品果纵径、商品果横径、果肉厚和疫病病情指数呈显著或极显著相关；青熟果皮色与分枝性呈显著相关外，与花冠颜色和叶形呈极显著相关；果肩形状、果顶形状、果基部宿存花萼、果面棱沟、果形、单果重、商品果横径、果肉厚、心室数间相互呈显著或极显著相关，且与疫病病情指数和病株率也呈显著或极显著相关；果实着生姿态与果肩形状、果基部宿存花萼、果面棱沟、果形、辣味程度、始花节位、单果重、商品果纵径、商品果横径、果梗长度、果肉厚和心室数显著或极显著相关；商品果纵径与果顶形状、果面棱沟、果形、果实着生姿态、果梗长度显著或极显著相关；疫病病情指数与病株率呈极显著正相关。



*表示在 $P<0.05$ 水平显著相关；**、***分别表示在 $P<0.01$、$P<0.001$ 极显著相关

* indicates significant correlation at $P<0.05$ level; **, *** indicate extremely significant correlation at $P<0.01$ and $P<0.001$ levels, respectively

图 5 30 个表型性状的相关性分析

Fig. 5 Correlation analysis for 30 phenotypic traits

2.7 SNP 标记与辣椒表型性状关联分析

在 TASSEL3.0 的 GLM 和 MLM 模型下，以各材料的 *Q* 值为协变量，将辣椒表型性状分别对标记变异

进行回归分析（表 4），结果显示，30 个表型性状中有 12 个性状检测到显著关联，另外 18 个性状关联不显著。GLM 方法共检测到 53 个 SNP 标记位点与 12 个性状显著关联（$P<0.05$，下同），其中 32 个 SNP 标记位点与 10 个性状极显著关联（$P<0.01$，下同）；所有显著关联位点中，各位点对表型变异解释率变幅为 4.83%~48.41%，其中位于 4 号染色体的 *980-003* 标记对花冠颜色的表型变异解释率最高，位于 1 号染色体的 *883-001* 标记对单果重的表型变异解释率最小。MLM 方法共检测到 5 个 SNP 标记位点与 4 个性状显著关联，其中 2 个 SNP 标记位点与 2 个性状极显著关联；显著关联的位点中，各位点对表型变异的表型变异解释率为 10.86%~19.19%，其中位于 10 号染色体的 *1161-010* 标记对果面光泽的表型变异解释率最高，位于 5 号染色体的 *1015-001* 对单果重的表型变异解释率最小。共有 4 个 SNP 标记位点可同时被两种方法检测到。

表 4 表型性状显著相关的 SNP 位点及其表型变异解释率

Table 4 SNP loci significantly associated with phenotypic trait and their phenotypic variation explained

性状 Traits	标记 Marker	染色体 Chr.	物理位置（Mb） Physical location	GLM		MLM	
				P 值 *P* value	表型变异解释率（%） PVE	*P* 值 *P* value	表型变异解释率（%） PVE
果顶形状 FAS	*964-003*	3	241.658	1.02E-06	12.60	–	–
	1015-001	5	102.348	0.00001	9.72	–	–
	1202-003	11	165.754	0.00001	7.68	–	–
花冠颜色 CC	*903-002*	1	197.485	1.73E-06	13.37	–	–
	928-001	2	110.138	0.00002	11.48	–	–
	971-003	3	274.56	8.99E-11	22.50	–	–
	972-005	3	279.329	5.74E-16	31.14	–	–
	980-003	4	22.604	1.37E-28	48.41	–	–
	993-001	4	204.446	1.32E-11	23.62	–	–
	1012-005	5	63.048	0.0002	9.55	–	–
	1022-006	5	187.232	3.89E-08	17.71	–	–
	1085-010	7	173.678	9.09E-09	18.42	–	–
	1086-002	7	191.879	4.15E-17	33.32	–	–
	1100-002	8	36.115	6.39E-10	22.29	–	–
	1102-001	8	52.207	0.0001	10.49	–	–
	1110-003	8	121.538	3.74E-08	17.45	–	–
	1144-001	9	255.346	1.15E-07	17.44	–	–
	1148-003	9	270.866	1.56E-10	22.83	–	–
	1161-010	10	106.383	9.10E-16	31.24	–	–
	1187-001	11	32.613	0.00006	10.55	–	–
青熟果皮色 IFC	*993-001*	4	204.446	9.18E-06	12.40	–	–
	1069-008	7	40.956	0.00008	10.87	–	–
	1204-014	11	182.088	0.00002	11.58	–	–
	1206-001	11	205.261	2.07E-06	13.76	–	–

始花节位 FFN	*1161-010*	10	106.383	3.65E-07	14.2	–	–
果形 FS	*1200-001*	11	148.347	0.00015	7.62	–	–
果肉厚度 PT	*882-015*	1	15.316	0.00005	5.89	–	–
商品果横径 FD	*882-015*	1	15.316	0.00001	5.71	–	–
	887-001	1	51.945	2.75E-07	7.71	–	–
	891-001	1	83.341	0.00003	5.15	–	–
	938-001	2	168.926	0.00002	7.11	–	–
	942-011	3	20.749	0.00018	5.87	–	–
	964-003	3	241.658	0.00007	6.59	–	–
	999-001	4	225.749	0.00013	6.07	–	–
	1015-001	5	102.348	1.46E-08	11.05	6.26E-05	11.05
	1051-001	6	187.727	0.0002	5.79	–	–
	1052-005	6	194.102	0.0001	6.19	–	–
	1125-001	9	51.894	2.53E-06	8.31	–	–
心室数 LN	*1016-001*	5	109.593	0.00019	9.91	–	–
	1200-001	11	148.347	0.00022	9.45	–	–
株型 Plant-T	*1012-005*	5	63.048	–	–	3.68E-06	15.40
	1036-006	6	21.318	0.00013	8.52	–	–
	1054-011	6	200.784	0.00009	8.50	9.86E-05	11.44
	1071-003	7	57.161	0.00004	9.75	–	–
	1081-009	7	140.015	7.06E-09	16.09	–	–
	1156-001	10	54.16	0.00012	8.67	–	–
	1175-001	10	204.349	1.78E-06	12.39	–	–
	1202-003	11	165.754	0.00009	8.50	–	–
	1223-002	12	25.905	0.00009	10.42	–	–
	1236-001	12	201.38	–	–	0.00009	12.13
果面棱沟 FSRF	*1200-001*	11	148.347	5.86E-05	8.17	–	–
单果重 SFW	*882-015*	1	15.316	4.66E-07	7.42	–	–
	883-001	1	18.091	0.00006	4.83	–	–
	887-001	1	51.945	3.25E-12	13.48	–	–
	891-001	1	83.341	0.000001	6.78	–	–
	937-002	2	164.766	5.95E-06	7.88	–	–
	938-001	2	168.926	9.41E-08	10.18	–	–
	942-011	3	20.749	1.22E-07	10.02	–	–
	956-002	3	162.8	0.00011	6.19	–	–
	964-003	3	241.658	2.19E-07	10.35	–	–
	999-001	4	225.749	0.00012	6.18	–	–
	1015-001	5	102.348	3.79E-12	15.19	0.00008	10.86

	1051-001	6	187.727	0.00008	6.41	–	–
	1084-006	7	169.641	0.000203	5.96	–	–
	1125-001	9	51.894	3.21E-08	10.80	–	–
	1126-001	9	59.032	0.00008	6.35	–	–
	1142-004	9	249.159	0.00023	6.12	–	–
果面光泽 FSL	*948-005*	3	67.725	0.00012	10.61	–	–
	995-001	4	213.512	0.00008	10.79	–	–
	1020-002	5	154.033	3.63E-09	20.72	–	–
	1060-006	6	224.797	0.00016	10.19	–	–
	1160-005	10	86.258	1.11E-06	15.21	–	–
	1161-010	10	106.383	3.83E-11	24.25	6.11E-07	19.19

–：无显著关联的位点

PVE: Phenotypic variance explained; -: No significantly associated loci

有 3 个位点与果顶形状相关联，分别位于 3、5 和 11 号染色体，表型变异解释率为 7.68%~12.60%（GLM 方法），位于 3 号染色体的 *964-003* 位点解释率最高。有 17 个位点与花冠颜色相关联，分别位于 1、2、3、4、5、7、8、9、10 和 11 号染色体，表型变异解释率为 9.55%~48.41%（GLM 方法），解释率最高的位点为位于 4 号染色体的 *980-003*。有 4 个位点与青熟果皮色相关联，分别位于 4、7 和 11 号染色体，表型变异解释率为 10.87%~13.76%（GLM 方法），其中，11 号染色体 *1206-001* 位点解释率最高。GLM 检测到有 1 个位点与始花节位相关联，位于 10 号染色体，表型变异解释率为 14.20%；有 1 个位点与果形相关联，位于 11 号染色体，表型变异解释率为 7.62%；有 1 个位点与果肉厚相关联，位于 1 号染色体，表型变异解释率为 5.89%。

两种方法共检测到 11 个位点与商品果横径相关联，分别位于 1、2、3、4、5、6 和 9 号染色体，表型变异解释率为 5.15%~11.05%（GLM 方法）和 11.05%（MLM 方法），5 号染色体 *1015-001* 位点解释率最高，且该位点用两种方法均能检测到。有 2 个位点与心室数相关联，分别位于 5 和 11 号染色体，表型变异解释率为 9.45%~9.91%，解释率最高的位点为位于 5 号染色体 *1016-001*。

两种方法共检测到 10 个位点与株型相关联，分别位于 5、6、7、10、11 和 12 号染色体，表型变异解释率为 8.50%~16.09%（GLM 方法）和 11.44~15.40%（MLM 方法），其中，7 号染色体 *1081-009* 位点解释率最高。有 1 个位点与果面棱沟相关联，位于 11 号染色体，表型变异解释率为 8.17%（GLM 方法）。有 16 个位点与单果重相关联，分别位于 1、2、3、4、5、6、7 和 9 号染色体，表型变异解释率为 4.83%~15.19%（GLM 方法）和 10.86%（MLM 方法），解释率最高的位点为位于 5 号染色体 *1015-001*，为 15.19%，且该位点用两种方法均能检测到。有 6 个位点与果面光泽相关联，分别位于 3、4、5、6 和 10 号染色体，表型变异解释率为 10.19%~24.25%（GLM 方法）和 19.19%（MLM 方法），其中，10 号染色体 *1161-010* 位点解释率最高，该位点用两种方法均能检测到。

由表 4 和图 1 标红可知，两种方法共检测到 53 个 SNP 关联位点，12 条染色体上均有分布，每个标记关联性状数量 1~3 个不等，其中有 *882-015*、*883-001*、*887-001* 等 30 个位点与果实性状相关联。

3 讨论

随着测序技术的精进，测序成本的下降，当前基于全基因组重测序的 SNP 分型已在辣椒的基因型鉴定和重要性状分析中发挥重要作用。基于全基因组重测序的 SNP 分型是指对已有参考基因组的物种，在全基因组测序（WGS, whole-genome sequencing）基础上，通过再次测定个体基因组序列，对比参考基因组后识别出的 SNP 位点，再进行后续分析。该方法具有覆盖度高、精度高、信息量丰富和分辨率高等较强优势，但在面对高通量基因分型时成本仍然较高，对计算资源、存储资源和生物信息分析能力要求也较高[36]。靶向测序基因分型是一种靶向序列捕获策略，利用高通量技术对成千上万个 SSR 和 SNP 等进行基因分型，基于多重 PCR 的 SNP 基因分型是其中一种[10]。较之全基因组重测序，基于靶向测序的 SNP 分型聚焦于基因组中特定目标区域，通过富集目标片段进行高通量测序，靶向检测具有代表性的高质量核心 SNP 位点。虽然基于靶向测序的 SNP 分型存在覆盖度较低，需预先获取 SNP 信息，开发难度较大等缺陷。但因其适合应用于大规模的种质材料基因型检测与种质身份鉴定，相较全基因组重测序可大幅降低成本；数据分析简便，灵活度高；可根据研究目标定制捕获区域，精准性好等优点[10, 37]。目前已应用于黄瓜、茄子和玉米等多种农作物种质的遗传分析、指纹图谱构建和品种鉴定等研究中[38-40]。本研究通过对 202 份辣椒种质遗传多样性的研究，验证了开发的这套包含 170 对标记的 SNP 基因分型 panel 的可行性和实用性，可应用于今后大批量辣椒基因分型。本研究结果表明，香农信息指数变幅为 0.293~0.693、平均值为 0.616，基因多样性变幅为 0.157~0.500、平均值为 0.428，多态信息指数变幅为 0.085~0.500、平均值为 0.334，与利用 SNP 进行辣椒遗传多样性研究的报道相近[16-17]，低于使用 SSR、SRAP 等标记的研究结果[41-43]，这种差异可能与选用的标记类型不同有关，如 SSR 标记为多等位基因标记，而 SNP 标记为二等位基因标记，比较而言，SSR 标记的多态性更丰富[44]，并且所选用的辣椒种质驯化过程中受人工选择的影响及对农业气候的适应不同也会造成差异。

NJ 聚类分析结果将 202 份材料可分成 5 个类群，果实性状相似或地理来源相近的材料聚在一起，这与曾绍贵等[44]、Taranto 等[45]的研究结果相似。Structure 群体结构分析亦将供试辣椒份种质分为 5 个亚群，Pop1、Pop2、Pop4 和 Pop5 主要为来自中国中部、西南部、南部地区的小中果型长椒、簇生椒或小灯笼辣椒种质，而 Pop3 主要为来自中国北方地区的大果型牛角椒、大灯笼椒辣椒种质。与聚类分析结果比较，其类群划分较为一致。同时，主成分分析结果也支持群体结构分析结果，除部分遗传成分较为复杂的种质，其余种质的主成分类群划分与群体结构划分重叠度较高，这与袁欣捷等[46]研究结果一致。此外，Structure 分析的 Q 值可以反映各材料所含不同亚群遗传成分的比例，202 份辣椒种质中有 143 份 $Q \geqslant 0.6$，占总材料的 70.8%，

说明大部分材料遗传成分来源相对单一；59 份种质材料 Q<0.6，说明这些材料融合了多个亚群的遗传成分，遗传成分复杂。遗传结构的研究结果表明，SNP 基因分型 panel 可以有效区分辣椒种质，为辣椒种质资源的遗传分析提供了重要方法，可用于辣椒种质资源遗传多样性及群体结构评价中。

将目标性状与标记位点结合的关联分析，是挖掘作物优异候选基因的有效方法，对作物分子辅助育种具有重要意义[21]。对 30 个表型性状进行测定，其变异系数平均为 34.85%，遗传多样性指数平均为 1.19，高于前人报道[47-49]，说明供试 202 份辣椒种质表型多样性丰富，适合开展群体结构和关联分析。本研究利用 GLM 和 MLM 两种方法，共检测到与 12 个性状显著关联的 53 个 SNP 标记，12 条染色体上均有分布，其中花冠颜色关联位点最多、单果重次之。果实性状是辣椒品种面向市场需求和选择时的重要商品性状，是优良品种选育和遗传改良的重要性状指标，本研究中共检测到 30 个 SNP 标记与 9 个果实性状显著关联，除 12 号染色体，1~11 号染色体均有分布，其分布位点大部分与前人已报道的位点相同或相近[21, 50-55]，经比较，本研究发现与商品果横径关联的位于 1、3、5、6、9 号染色体上的 *882-015*、*964-003*、*1015-001*、*1052-005*、*1125-001* 位点分别与 McLeod 等[50]报道的 *Fwi-P1.1*、*Fwi-P3.2*、*FwiP5.1*、*FwiP6.1* 和 *FwiP9.1* 位置相近；位于 2 号染色体上的 *938-011* 位点与袁欣捷等[21]报道的 *CAMS-327* 位置相近，位于 6 号染色体的 *1052-005* 位点与袁雷等[51]报道的 fd6.1 位置相近。与单果重关联的位于 2、9 号染色体上的 *891-011* 和 *1142-004* 位点分别与 *Fwe-P2.4* 和 *Fwe-P9.4* 位置相近[50]；位于 2、3 号染色体上的 *937-002*、*942-011* 和 *964-003* 位点分别与 Guan 等[52]报道的 *qFW2.1*、*qFW3.1*、*qFW3.2* 位置相近；位于 3 号染色体的 *942-011* 与乔一鸣[53]报道的 *pfw3.1* 位置相近；位于 1、2、7 号染色体的 *887-001*、*937-022* 和 *1084-006* 位点分别与袁欣捷等[21]报道的 *CAMS-324*、*CAMS327* 和 *C0911525S* 位置相近。此外，与花冠颜色相关联的位于 4、7、8、11 号染色体上的 *993-001*、*1086-002*、*1110-003*、*1187-001* 等位点与 Wu 等[54]报道的关联位点位置相近；位于 5、9、10 号染色体上的 *1022-006*、*1144-001*、*1161-010* 与 Meng 等[55]报道的关联位点位置相近。本研究还检测到一些鲜见报道的关联位点，如与果顶形状关联的位于 3、5、11 号染色体上的 *964-033*、*1015-001*、*1202-002* 位点，与果面棱沟关联的位于 11 号染色体上的 *1200-001* 位点，与果面光泽关联的位于 3、4、5、6、10 号染色体上的 *948-005*、*995-001*、*1020-002*、*1060-006*、*1160-005* 和 *1161-010* 位点等；而其中 *964-033*、*980-003*、*971-003*、*972-005*、*1085-010*、*1204-014*、*1206-001*、*1175-001*、*1081-009*、*1223-002* 等位点的表型变异解释率≥10.0%、为新的潜在主效调控位点。本研究还发现，单果重与商品果横径的多个位点重叠关联，并与果顶形状、果肉厚度大部分位点重叠，这与其性状间彼此显著或极显著正相关相一致，说明这些性状间可能存在一因多效或连锁关系，这与前人研究结果一致[56-57]。

SNP 基因分型技术为辣椒遗传研究提供了高效、精准的分型方案，尤其在大规模种质资源评估中具有不可替代的优势，已成为辣椒遗传研究和育种应用的重要工具。通过与优良性状（如产量、品质、抗病性）关联的 SNP 标记纳入分型 panel，加速优良基因的挖掘，快速筛选携带目标基因的育种材料，为分子标记辅

助育种、基因克隆及品种改良提供精准的靶点，推动辣椒育种从传统经验型向分子设计型转变，加快辣椒种质资源的高效利用和育种进程，促进辣椒产业发展。

参考文献

[1] 邹学校, 朱凡. 辣椒的起源、进化与栽培历史. 园艺学报, 2022, 49(6): 1371-1381

Zou X X, Zhu F. Origin, evolution and cultivation history of the pepper. Acta Horticulturae Sinica, 2022, 49(6): 1371-1381

[2] Zhang Z H, Jin J H, Sheng G L, Xing Y P, Liu W, Zhou X, Liu Y Q, Chen X R. A small cysteine-rich phytotoxic protein of *Phytophthora capsici* functions as both plant defense elicitor and virulence factor. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2021, 34(8): 891-903

[3] 张宝玺, 王立浩, 毛胜利, 张正海. “十一五”我国辣椒遗传育种研究进展. 中国蔬菜, 2010(24): 1-9

Zhang B X, Wang L H, Mao S L, Zhang Z H. Research progress on pepper genetic breeding during China's ‘Eleventh Five-year Plan’. China Vegetables, 2010(24): 1-9

[4] 吕伟, 韩俊梅, 任果香, 文飞, 王若鹏, 刘文萍. 山西芝麻种质资源 SSR 遗传多样性及群体结构分析. 核农学报, 2021, 35(7): 1495-1506

Lyu W, Han J M, Ren G X, Wen F, Wang R P, Liu W P. Genetic diversity analysis of sesame germplasm resources in Shanxi with SSR markers. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2021, 35(7): 1495-1506

[5] 雷刚, 陈学军, 周坤华, 黄月琴, 袁欣捷, 李歌歌, 方钰, 方荣. 60 份辣椒骨干亲本的 SSR 遗传多样性分析及指纹图谱构建. 植物遗传资源学报, 2024, 25(8): 1321-1335

Lei G, Chen X J, Zhou K H, Huang Y Q, Yuan X J, Li G G, Fang Y, Fang R. Genetic diversity and fingerprint analysis in 60 founder parents of pepper based on SSR markers. Journal of Plant Genetic Resources, 2024, 25(8): 1321-1335

[6] 郭赛赛, 聂智星, 傅鸿妃, 王同林, 邵志勇, 王宏, 郑积荣. 37 份辣椒种质资源的表型性状及 SRAP 遗传多样性分析. 浙江农业学报, 2025, 37(2): 300-310

Guo S S, Nie Z X, Fu H F, Wang T L, Shao Z Y, Wang H, Zheng J R. Phenotypic characters and SRAP genetic diversity analysis of 37 pepper germplasm resources. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2025, 37(2): 300-310

[7] 杨志刚, 张鹏程, 常海文, 康立茹, 左毅, 向浩鑫, 韩凤英. 基于形态学性状和 SSR 标记的辣椒种质资源遗传多样性分析. 植物学报, 2025, 60(2): 218-234

Yang Z G, Zhang P C, Chang H W, Kang L R, Zuo Y, Xiang H X, Han F Y. Genetic diversity analysis of pepper germplasms based on morphological traits and SSR markers. Chinese Bulletin of Botany, 2025, 60(2) :218-234

[8] 宋拉拉, 朱文超, 白立伟, 苏丹, 彭泽, 廖芳芳, 胡明文. 基于 KASP 标记的 285 份辣椒种质资源多样性分析. 贵州农业科学, 2025, 53(8): 19-30

Song L L, Zhu W C, Bai L W, Su D, Peng Z, Liao F F, Hu M W. Diversity analysis of 285 pepper germplasm resources based on KASP markers. Guizhou Agricultural Sciences, 2025, 53(8): 19-30

[9] Lozada D N, Bhatta M, Coon D, Bosland P W. Single nucleotide polymorphisms reveal genetic diversity in New Mexican chile peppers (*Capsicum* spp.). BMC Genomics, 2021, 22(1): 356

[10] 徐云碧, 杨泉女, 郑洪建, 许彦芬, 桑志勤, 郭子锋, 彭海, 张丛, 蓝昊发, 王蕴波, 吴坤生, 陶家军, 张嘉楠. 靶向测序基因型检测（GBTS）技术及其应用. 中国农业科学, 2020, 53(15): 2983-3004

Xu Y B, Yang Q N, Zheng H J, Xu Y F, Sang Z Q, Guo Z F, Peng H, Zhang C, Lan H F, Wang Y B, Wu K S, Tao J J, Zhang J N. Genotyping by target sequencing (GBTS) and its applications. Scientia Agricultura Sinica, 2020, 53(15): 2983-3004

[11] 路萌. NGS 扩增子靶向捕获新策略及其应用研究. 上海: 东华大学, 2025

Lu M. Research of novel strategy for target capture of next generation sequencing amplicons and its application. Shanghai: Donghua University, 2025

[12] 刘彬, 赵雨露, 杨鑫雷, 张建恒, 孙鑫博, 刘晓清, 温晓敏, 耿艳楼, 李悦有, 穆国俊, 吕玮. 251 份藜麦种质资源遗传多样性及分子身份证构建. 植

物遗传资源学报, 2022, 23(3): 706-721

Liu B, Zhao Y L, Yang X L, Zhang J H, Sun X B, Liu X Q, Wen X M, Geng Y L, Li Y Y, Mu G J, Lyu W. Genetic diversity of 251 germplasm accessions and construction of molecular ID in Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Journal of Plant Genetic Resources, 2022, 23(3): 706-721

[13] Zhang J, Yang J J, Zhang L K, Luo J, Zhao H, Zhang J N, Wen C L. A new SNP genotyping technology target SNP-seq and its application in genetic analysis of cucumber varieties. Scientific Reports, 2020, 10(1): 5623

[14] Guo Z F, Wang H W, Tao J J, Ren YH, Xu C, Wu K S, Zou C, Zhang J N, Xu Y B. Development of multiple SNP marker panels affordable to breeders through genotyping by target sequencing (GBTS) in maize. Molecular Breed, 2019, 39: 37

[15] Jo J, Kim Y, Kim G W, Kwon J K, Kang B C. Development of a panel of genotyping-in-thousands by sequencing in *capsicum*. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 769473

[16] Du H S, Yang J J, Chen B, Zhang X F, Zhang J, Yang K, Geng S S, Wen C L. Target sequencing reveals genetic diversity, population structure, core-SNP markers, and fruit shape-associated loci in pepper varieties. BMC Plant Biology, 2019, 19(1): 578

[17] Wang Y H, Zhang X F, Yang J J, Chen B, Zhang J, Li W Y, Du H H, Geng S S. Optimized pepper target SNP-Seq applied in population structure and genetic diversity analysis of 496 pepper (*Capsicum* spp.) lines. Genes, 2024, 15(2): 214

[18] 王荣焕, 王天宇, 黎裕. 关联分析在作物种质资源分子评价中的应用. 植物遗传资源学报, 2007, 8(3): 366-372

Wang R H, Wang T Y, Li Y. Application of association analysis in molecular evaluation of crop germplasm resources. Journal of Plant Genetic Resources, 2007, 8(3): 366-372

[19] 杨小红, 严建兵, 郑艳萍, 余建明, 李建生. 植物数量性状关联分析研究进展. 作物学报, 2007, 33(4): 523-530

Yang X H, Yan J B, Zheng Y P, Yu J M, Li J S. Reviews of association analysis for quantitative traits in plants. Acta Agronomica Sinica, 2007, 33(4): 523-530

[20] 冯建英, 温阳俊, 张瑾, 章元明. 植物关联分析方法的研究进展. 作物学报, 2016, 42(7): 945-956

Feng J Y, Wen Y J, Zhang J, Zhang Y M. Advances on methodologies for genome-wide association studies in plants. Acta Agronomica Sinica, 2016, 42(7): 945-956

[21] 袁欣捷, 方荣, 周坤华, 雷刚, 黄月琴, 陈学军. 辣椒重要农艺性状关联分析与优异等位变异发掘. 核农学报, 2020, 34(12): 2658-2672

Yuan X J, Fang R, Zhou K H, Lei G, Huang Y Q, Chen X J. Association analysis of important agronomic traits in pepper (*Capsicum annuum* L.) and mining of elite alleles. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2020, 34(12): 2658-2672

[22] 王蜜蜜. 基于果实重要性状的辣椒优良种质筛选及分子标记关联分析. 滁州: 安徽科技学院, 2020

Wang M M. Selection and molecular marker association on analysis of pepper germplasm based on important fruit traits. Chuzhou: Anhui Science and Technology University, 2020

[23] 赵红. 我国辣椒核心种质评价及其主要园艺性状的全基因组关联分析. 北京: 中国农业科学院, 2018

Zhao H. Evaluation and genome-wide association study on the main agronomic traits of core collections of Chinese pepper (*Capsicum* spp.) germplasm. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2018

[24] 张小微, 陈小翠, 陈仕泽, 覃成, 杨红, 唐相群, 邱化荣, 罗希榕. 辣椒果色全基因组关联分析. 植物遗传资源学报, 2023, 24(3): 843-853

Zhang X W, Chen X C, Chen S Z, Qin C, Yang H, Tang X Q, Qiu H R, Luo X R. Genome-wide association study for fruit color in pepper. Journal of Plant Genetic Resources, 2023, 24(3): 843-853

[25] 段敏杰, 李怡斐, 王春萍, 黄任中, 黄启中, 张世才. 辣椒果实颜色性状与 SSR 分子标记的关联分析及指纹图谱构建. 生物技术通报, 2025, 41(7): 81-94

Duan M J, Li Y F, Wang C P, Huang R Z, Huang Q Z, Zhang S C. Association analysis and fingerprint map construction of fruit color traits in pepper via

SSR Markers. Biotechnology Bulletin, 2025, 41(7): 81-94

[26] 李锡香, 张宝玺. 辣椒种质资源描述规范和数据标准. 北京: 中国农业出版社, 2006: 66-75

Li X X, Zhang B X. Descriptors and data standard for *Capsicum*. Beijing: China Agriculture Press, 2006: 66-75

[27] 袁欣捷, 方荣, 周坤华, 马辉刚, 何烈干, 陈学军. 辣椒疫病抗性关联分析及优异等位变异挖掘. 植物遗传资源学报, 2019, 20(4): 1026-1040

Yuan X J, Fang R, Zhou K H, Ma H G, He L G, Chen X J. Association analysis of resistance to *Phytophthora capsici* leonian in pepper（*Capsicum annuum* L.）and exploration of elite alleles. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20(4): 1026-1040

[28] Yuan X J, Zhou K H, Huang Y Q, Lei G, Li G G, Fang Y, Xie Y Y, Chen X J, Fang R. Genetic dissection of *Phytophthora capsici* resistance in *Capsicum annuum* by genome-wide association mapping and fine mapping. Horticultural Plant Journal, 2025, https://doi.org/10.1016/j.hpj.2024.09.003

[29] Chang C C, Chow C C, Tellier L C, Vattikuti S, Purcell S M, Lee J J. Second-generation PLINK: Rising to the challenge of larger and richer datasets. Giga Science, 2015, 4: 7

[30] 陈雪燕, 王亚娟, 雒景吾, 吉万全. 陕西省小麦地方品种主要性状的遗传多样性研究. 麦类作物学报, 2007, 27(3): 456-460

Chen X Y, Wang Y J, Luo J W, Ji W Q. Genetic diversity in main characters of wheat land races in Shanxi province. Journal of Triticeae Crops, 2007, 27(3): 456-460

[31] Botstein D, White R L, Skolnick M, Davis R W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisom. Amercian Society of Human Genetics, 1980, 32(3): 314-331

[32] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. Molecular Biology and Evolution, 2016, 33: 1870-1874

[33] Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics, 2000, 155: 945-959

[34] Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. Molecular Ecology, 2005, 14(8): 2611-2620

[35] 刘丽华, 王立新, 赵昌平, 姚骥, 张风廷, 张华, 叶志杰, 秦志列, 郑用琏. 光温敏二系杂交小麦恢复系遗传多样性和群体结构分析. 中国生物化学与分子生物学报, 2009, 25(9): 867-875

Liu L H, Wang L X, Zhao C P, Yao J, Zhang F T, Zhang H, Ye Z J, Qin Z L, Zheng Y L. Genetic diversity and alterations of population structure in restorers of dual cross-line hybrid wheat with thermo-photoperiod sensitive male sterile. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2009, 25(9): 867-875

[36] 袁金红, 李俊华, 黄小城, 李莎, 高武军. 基于全基因组重测序的 SNP 分析在作物基因定位中的研究进展. 植物生理学报, 2015, 51(9): 1400-1404

Yuan J H, Li J H, Huang X C, Li S, Gao W J. Advance of SNP analysis based on whole genome resequencing in crop gene mapping. Plant Physiology Journal, 2015, 51(9): 1400-1404

[37] 周健, 师永霞, 张璐, 戴俊, 黄吉城. 靶向二代测序研究进展. 中国口岸科学技术, 2024, 6(4): 4-8

Zhou J, Shi Y X, Zhang L, Dai J, Huang J C. Research progress of targeted next-generation sequencing. China Port Science and Technology, 2024, 6(4): 4-8

[38] Yang J J, Zhang J, Han R X, Zhang F, Mao A J, Luo J, Dong B B, Liu H, Tang H, Zhang J A, Wen C L. Target SSR-seq: A novel SSR genotyping technology associate with perfect SSRs in genetic analysis of cucumber varieties. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: 531

[39] Liu W L, Qian Z W, Zhang J, Yang J J, Wu M S, Barchi L, Zhao H Y, Sun H H, Cui Y L, Wen C L. Impact of fruit shap selection on genetic structure and diversity uncovered from genome-wide perfect SNPs genotyping in eggplant. Molecular Breeding, 2019, 39(11): 140

[40] Yang J J, Zhang J, Du H S, Zhao H, Mao A J, Zhang X F, Jiang L, Zhang H Y, Wen C L, Xu Y. Genetic relationship and pedigree of Chinese watermelon varieties based on diversity of perfect SNPs. Horticultural Plant Journal, 2022, 8(4): 489-498

[41] 傅鸿妃, 吕晓菡, 陈建瑛, 李国景. 辣椒种质表型性状与 SSR 分子标记的遗传多样性分析. 核农学报, 2018, 32(7): 1309-1319

Fu H F, Lyu X H, Chen J Y, Li G J. Genetic diversity analysis of *Capsicum* germplasm based on phenotypic traits with SSR markers. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2018, 32(7): 1309-1319

[42] 冯鹏龙, 韩睿, 王亚艺, 邵登魁, 李全辉, 钟启文. 基于 SSR 标记辣椒品种 DNA 指纹图谱的构建. 西北农业学报, 2022, 31(3): 320-327

Feng P L, Han R, Wang Y Y, Shao D K, Li Q H, Zhong Q W. Construction of DNA fingerprints of pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties based on SSR markers. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinia, 2022, 31(3): 320-327

[43] 裴红霞, 汪露瑶, 李生梅, 高晶霞. 基于 SCoT、SRAP 和 SSR 分子标记的 220 份辣椒种质资源遗传多样性分析. 生物技术通报, 2025, 41(8): 165-174

Pei H X, Wang L Y, Li S M, Gao J X. Genetic diversity of 220 pepper germplasm resources using SCoT, SRAP, and SSR molecular markers. Biotechnology Bulletin, 2025, 41(8): 165-174

[44] 曾绍贵, 朱邦彤, 罗木旺, 邱胤晖, 罗英, 林淑婷. 100 份朝天椒的农艺性状和 SRAP 标记遗传多样性分析. 江苏农业学报, 2018, 34(4): 871-879

Zeng S G, Zhu B T, Luo M W, Qiu Y H, Luo Y, Lin S T. Agronomic characters and genetic diversity analysis of 100 pot pepper with SRAP markers. Jiangsu Journal of Agriculture Sciences, 2018, 34(4): 871-879

[45] Taranto F, D′Agostino N, Greco B, Cardi T, Tripodi P. Genome-wide SNP discovery and population structure analysis in pepper (*Capsicum annuum*) using genotyping by sequencing. BMC Genomics, 2016, 17: 943

[46] 袁欣捷, 周坤华, 吴茵, 方荣, 陈学军. 辣椒核心种质遗传多样性及群体结构分析. 分子植物育种, 2019, 17(9): 3090-3104

Yuan X J, Zhou K H, Wu Y, Fang R, Chen X J. Genetic diversity and population structure analysis of pepper core collections. Molecular Plant Breeding, 2019, 17(9): 3090-3104

[47] 张强强, 梁赛, 王艳, 贾利, 方凌, 张其安, 江海坤, 隋益虎, 董言香. 基于表型性状和SSR标记的57份辣椒种质遗传多样性分析. 热带亚热带植物学报, 2020, 28(4): 356-366

Zhang Q Q, Liang S, Wang Y, Jia L, Fang L, Zhang Q A, Jiang H K, Sui Y H, Dong Y X. Genetic diversity analysis of 57 germplasms of *Capsicum annuum* based on phenotypic traits and SSR markers. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 2020, 28(4): 356-366

[48] 王童童, 郭志伟, 任广乾, 孙强, 刘贺娟, 张蓓, 程相杰, 靳正雅, 任福森, 甄俊琦, 吴涛, 李仪. 40 份辣椒种质资源表型性状的遗传多样性分析. 中国瓜菜, 2025, 38(8): 67-76

Wang T T, Guo Z W, Ren G Q, Sun Q, Liu H J, Zhang B, Cheng X J, Jin Z Y, Ren F S, Zhen J Q, Wu T, Li Y. Genetic diversity analysis of phenotypic traits in 40 *Capsicum annuum* L. germplasm resources. China Cucurbits and Vegetables, 2025, 38(8): 67-76

[49] 朱珍花, 濮丹, 杨洋, 赵官涛, 牛童. 干制辣椒种质资源表型性状遗传多样性分析. 北方园艺, 2024(6): 1-8

Zhu Z H, Pu D, Yang Y, Zhao G T, Niu T. Analysis of genetic diversity of phenotypic traits of dry pepper germplasm resources. Northern Horticulture, 2024(6): 1-8

[50] McLeod L, Barchi L, Tumino G, Tripodi P, Salinier J, Gros C, Boyaci H F, Ozalp R, Borovsky Y, Schafleitner R, Barchenger D, Finkers R, Brouwer M, Stein N, Rabanus-Wallace M T, Giuliano G, Voorrips R, Paran I, Lefebvre V. Multi-environment association study highlights candidate genes for robust agronomic quantitative trait loci in a novel worldwide *Capsicum* core collection. Plant Journal, 2023, 116: 1508-1528

[51] 袁雷, 唐亚萍, 张国儒, 吉雪花, 杨生保. 基于辣椒种间杂交 F_2 群体的遗传连锁图谱构建及主要果实性状 QTL 定位. 新疆农业科学, 2023, 60(5): 1150-1161

Yuan L, Tang Y P, Zhang G R, Ji X H, Yang S B. Construction of genetic linkage map and QTL localization of fruit major traits based on interspecific hybrid F_2 population of pepper. Xinjiang Agricultural Sciences, 2023, 60(5): 1150-1161

[52] Guan C C, Jin Y, Zhang Z H, Cao Y C, Wu H M, Zhou D Y, Shao W Q, Yang C C, Ban G L, Ma L L, Wen X, Chen L, Cheng S S, Deng Q, Yu H L, Wang L H. Fine mapping and candidate gene analysis of two major quantitative trait loci, *qFW2.1* and *qFW3.1*, controlling fruit weight in pepper (*Capsicum annuum*). Genes, 2024, 15(8): 1097

[53] 乔一鸣. 辣椒遗传图谱构建与单果重相关性状 QTL 定位. 杨凌: 西北农林科技大学, 2020

Qiao Y M. Construction of genetic map and QTL mapping of per fruit weight-related traits in pepper(*Capsicum annuum* L.). Yangling: Northwest A&F University, 2020

[54] Wu L, Wang P, Wang Y H, Cheng Q, Lu Q H, Liu J Q, Li T, Ai Y X, Yang W C, Sun L, Shen H L. Genome-wide correlation of 36 agronomic traits in the 287 pepper (*Capsicum*) accessions obtained from the SLAF-seq-Based GWAS. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20: 5675

[55] Meng Y N, Zhang H X, Zhang Z, Li X X, Yu Z H, Fan Y Q, Yan L B. SLAF-seq technology-based genome-wide association and population structure analyses of hot pepper and sweet pepper. BMC genomics, 2025, 26(1): 258

[56] Lee H Y, Ro N Y, Patil A, Lee J H, Kwon J K, Kang B C. Uncovering candidate genes controlling major fruit-related traits in pepper *via* genotype-by-sequencing based QTL mapping and genome-wide association study. Front Plant Sciences, 2020, 11: 1100

[57] Cao Y C, Zhang K, Yu H L, Chen S M, Xu D H, Zhao H, Zhang Z H, Yang Y Q, Gu X Z, Liu X Y, Wang H P, Jing Y X, Mei Y J, Wang X, Lefebvre V, Zhang W L, Jin Y, An D L, Wang R S, Bosland P, Li X X, Paran I, Zhang B X, Giuliano G, Wang L H, Cheng F. Pepper variome reveals the history and key loci associated with fruit domestication and diversification. Molecular Plant, 2022, 15: 1744-1758