

刘照坤,张彦苹,王莹莹,等. 基于 RAPD 的 MCID 法快速鉴定不结球白菜品种和遗传多样性分析[J]. 江苏农业科学,2024,52(17):162-168.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.17.022

基于 RAPD 的 MCID 法快速鉴定不结球白菜品种和遗传多样性分析

刘照坤¹, 张彦苹², 王莹莹¹, 王欢¹, 韩建军¹, 刘同坤³, 杨雪梅¹

(1. 江苏太湖地区农业科学研究所/苏州市农业科学院, 江苏苏州 215155; 2. 苏州农业职业技术学院, 江苏苏州 215008;
3. 南京农业大学, 江苏南京 210095)

摘要:不结球白菜是长江中下游地区蔬菜周年供应的主栽品种,在种质资源保护和开发利用过程中,品种鉴定的难度随着市场上品种的增多而增加。利用基于 DNA 分子标记的人工绘制品种鉴别图(manual cultivar identification diagram, MCID)方法对笔者所在单位收集和保存的 34 份不结球白菜种质材料进行鉴定,同时进行 NTSYS-pc 遗传多样性分析。结果表明,利用筛选出的 5 对 RAPD 引物扩增出的多态性谱带即可构建 34 份不结球白菜的品种鉴定图,该图可以快速地筛选出某品种鉴定所需要的引物及需要参考的特征性谱带,具有较高的可操作性和实用性。聚类结果表明,34 份不结球白菜种质材料与品种的聚类模式基本符合其农艺性状表现和遗传背景。研究结果可为不结球白菜品种鉴定和种质创新提供了科学依据,对不结球白菜种质资源的保护、研究及品种的早期鉴定具有重要意义。

关键词:不结球白菜;RAPD;人工绘制植物品种鉴别图(MCID);品种鉴定

中图分类号:S634.303 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)17-0162-07

不结球白菜(*Brassica campestris* ssp. *chinensis*), 别称小白菜或青菜,为十字花科芸薹属一年或二年生蔬菜作物,原产于我国。生产中选用适宜品种的不结球白菜,可做到四季供应,在蔬菜周年供应中占有十分重要的地位^[1]。近年来,不结球白菜在日本、美国及欧洲一些国家被广泛引种,已逐渐成为世界性蔬菜。

不结球白菜栽培历史悠久,起源于我国长江中下游太湖地区一带,在长期自然选择和人工选择的演化过程中,形成丰富的遗传资源^[2]。伴随不结球白菜栽培面积的迅速扩大,品种日益增多,不结球白菜优良种质材料与市售品种在某些植物学特征特性、风味特征上表现出很高的相似性。传统的形态学鉴定方法难以有效鉴别品种类型,同时品种命名方式多样,往往存在同名异种或同种异名现象,这增加了种质资源保护和品种鉴定的难度。如市场上常把棵型直立、叶色深绿的不结球白菜种子作

为苏州青品种进行销售,但田间表现和品质与典型苏州青相差较大,扰乱了种业市场,影响不结球白菜种业健康发展。因此,本研究尝试建立不结球白菜不同品种材料的快速可靠鉴定技术体系,对于遗传资源的研究保护、苗期鉴定具有重要意义。

早期的品种鉴定方法如形态学鉴定和同工酶鉴定等易受外部环境、取材部位、人为因素等影响,而 DNA 分子标记技术建立在分子水平上,不受外界环境、作物发育阶段、取样部位等因素的影响,且检出的多态性位点是无限的,鉴定结果具有高度的可靠性和可重复性,鉴别力强。在众多分子标记技术中,基于聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)技术的随机扩增多态性 DNA(random amplified polymorphic DNA, RAPD)技术以分析程序简便快捷、周期性短、所需费用低等优势,已被普遍应用于指纹图谱构建、基因快速定位、遗传多样性分析和品种分类等研究^[3]。林建丽等利用 RAPD 技术分析 21 份白菜类蔬菜种质资源的基因组 DNA,通过系统聚类分析将其分为 2 类 10 组,结果表明,芜菁和白菜的亲缘关系较远^[4]。韩建明等对国内外不同类型的不结球白菜的遗传多样性进行 RAPD 分析,结果发现,普通白菜的遗传多样性最大,不同生态区域遗传多样性存在差异^[5]。但目前关于利用 RAPD 分子标记技术鉴定不结球白菜种质

收稿日期:2023-09-22

基金项目:苏州市科技局农业科技创新项目(编号:SNG2020065);江苏省省级种质资源库项目(编号:太湖地区特色作物 JS-ZW-K18);苏州市级种质资源保护项目。

作者简介:刘照坤(1988—),男,山东郓城人,硕士,高级农艺师,主要从事不结球白菜种质资源保护、新品种选育及栽培技术研究。
E-mail:saaslzk@qq.com。

资源与品种的研究较少。

人工绘制品种鉴别图 (manual cultivar identification diagram, MCID)法是近几年广泛应用的基于 RAPD 分子标记技术的人工绘制品种鉴别示意图的方法,该方法可根据 PCR 扩增后的多态性条带,实现品种间的区分鉴定。不同于利用计算机软件绘制数字化指纹图谱并用统计学软件进行聚类分析的方法,MCID 法更直观显现出区分品种的引物,且工作量小,实用性强。目前,该方法已成功在番茄、冬瓜、萝卜、青花菜、石榴、枇杷、茶树、苹果、梨、桃、葡萄等植物上被应用^[6-16],重复性极好,然而,该技术在 不结球白菜品种鉴定上仍未见报道。

本研究通过 MCID 法,对 34 个不结球白菜种质材料与品种进行鉴定,同时进行遗传多样性分析,旨在为不结球白菜的品种鉴定与种质资源利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为不结球白菜叶片,2022 年 11 月采集于苏州市农业科学院蔬菜研究所基地,选取每个品种的幼叶,置于冰盒内带回实验室用液氮进行速冻后,置于 -80 ℃ 冰箱中保存待用。34 个不结球白菜品种及来源见表 1。

表 1 供试不结球白菜材料名称和来源

编号	品种名称	类型	来源	编号	品种名称	类型	来源
1	A4 苏州青	普通白菜	苏州地方种质资源	18	M14 青梗菜	普通白菜	北京中农绿亨种子科技有限公司
2	AX02 苏州青	普通白菜	苏州地方种质资源	19	春绿 3 号	普通白菜	南京绿领农业科技有限公司
3	苏青 2 号	普通白菜	苏州市农业科学院	20	四月慢	普通白菜	苏州市农业科学院
4	KT 苏州青	普通白菜	苏州市农业科学院	21	五月慢	普通白菜	苏州市农业科学院
5	大叶苏州青	普通白菜	苏州地方种质资源	22	长征 3 号	普通白菜	上海申耕农业发展有限公司
6	四倍体苏州青	普通白菜	苏州地方种质资源	23	皇冠青梗菜	普通白菜	四川种都高科种业有限公司
7	黑矮青	普通白菜	山东德高种业有限公司	24	华王青梗菜	普通白菜	日本武藏野种苗园株式会社
8	黑美人	普通白菜	南京理想农业科技有限公司	25	夏冠青梗菜	普通白菜	北京爱德万斯种子有限公司
9	早薹苏州青	菜薹类	苏州地方种质资源	26	皇冠奶白菜	普通白菜	广州南蔬农业科技有限公司
10	四九菜心	菜薹类	广州南蔬农业科技有限公司	27	高梗白(腌菜)	普通白菜	南京嘉华农业发展有限公司
11	矮抗青	普通白菜	南京理想农业科技有限公司	28	紫色青菜	普通白菜	苏州市农业科学院
12	上海青	普通白菜	苏州市农业科学院	29	黑大头 F ₁	普通白菜	南京理想农业科技有限公司
13	矮脚黄	普通白菜	南京理想农业科技有限公司	30	B25 苏州青	普通白菜	苏州地方种质资源
14	黑心乌	塌菜类	南京理想农业科技有限公司	31	苏青 14 号	普通白菜	苏州市农业科学院
15	黄心乌	塌菜类	南京理想农业科技有限公司	32	黑叶香青菜	普通白菜	苏州地方种质资源
16	中八叶	塌菜类	北京绿东方农业技术研究所	33	黄叶香青菜	普通白菜	苏州地方种质资源
17	美味菘菜	普通白菜	青岛中茂诚信蔬菜研究所	34	绣花筋香青菜	普通白菜	苏州地方种质资源

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 利用天根生化科技(北京)有限公司植物基因组 DNA 提取试剂盒 (DP305) 提取 34 个不结球白菜叶片的 DNA,利用 NanoDropND - 2 000 超微量蛋白核酸测定仪 (Eppendorf 公司,德国)测定 DNA 样品浓度,用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 样品质量。

1.2.2 引物筛选 试验所用引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,采用退火温度梯度法对 35 个长度为 11 个碱基的随机引物进行筛选,从中得到 5 个引物(表 2)。引物筛选条件:进行连续 3 次梯度 PCR,选择谱带清晰、PCR 产物重复出现、质

表 2 RAPD 引物及其退火温度

引物编号	引物序列(5'→3')	退火温度(℃)
Y3	GTTTCGCTCCA	44.4
Y15	ACGGGCTCTTGA	43.7
Y18	ACGGGCTCTTGC	39.4
Y22	GGACCCAACCT	41.7
Y34	AAGCCTCGTCT	42.8

量好的谱带指纹。

1.2.3 PCR 扩增与检测 PCR 反应体系(25 μL): 2 × PCR Master Mix(上海莱枫生物科技有限公司) 12.5 μL, 10 μmol/L 引物各 1.0 μL, 90 ng 模板

DNA,最后用双蒸水补至 25 μ L。反应程序:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,35 ~ 45 $^{\circ}$ C 复性 70 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min,42 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min,4 $^{\circ}$ C 保存。扩增产物在 2% 琼脂糖凝胶中电泳 30 ~ 50 min,紫外灯下观察拍照。

1.2.4 DNA 指纹图谱统计分析以及品种鉴别的人工绘图法 采用 PCR 扩增产物清晰稳定的引物对 34 个不结球白菜品种进行鉴定,鉴定方法参考 Lin 等的 MCID 法^[14]。首先统计某一引物 PCR 扩增的 34 个品种的电泳图,在相同的分子量片段处统计特征性谱带的有无,将该处有扩增谱带的品种归类为一组,没有谱带的归类为另一组,根据该引物其他特征性谱带进行分组或利用更多的引物逐步进行鉴别;随后按此方式根据其他引物扩增的多态性谱带对各小组品种进行鉴别,直至所有品种被单独鉴别开为止;最后,根据鉴别结果人工绘制鉴别图,并在 MCID 中标记每一步所用的引物及多态性谱带大小(bp)。

1.2.5 数据统计与分析 对选中的每个引物进行 3 次 PCR 扩增检测,选取稳定的条带进行数据统计与分析。扩增分离结果采用 0、1 统计方法:同一分子量处,有条带记为 1,无条带记为 0,在 Excel 中统计扩增出的特异性条带数目,获得数据库。利用 NTSYS - pc 2. 10e 软件得到遗传相似系数矩阵,进行 UPGMA 聚类分析,构建聚类图,分析品种间的遗传多样性。

2 结果与分析

2.1 DNA 提取

提取 34 个不结球白菜叶片的 DNA,采用核酸蛋白测定仪测定 DNA 样品浓度,确定达到试验要求后,利用 1% 琼脂糖凝胶进行电泳检测,部分结果见图 1,可以看出,DNA 条带清晰,符合后续试验要求。

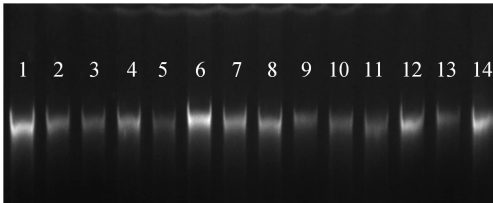
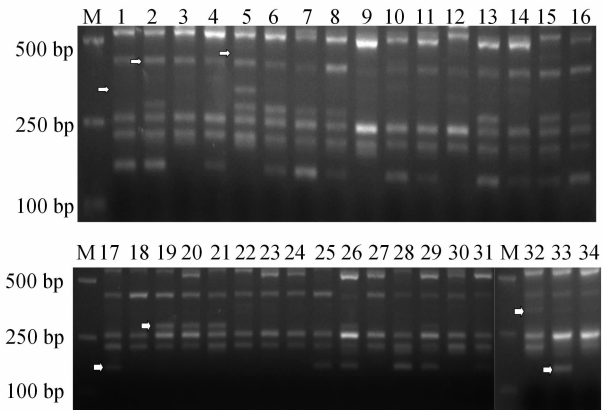


图1 部分不结球白菜 DNA 电泳检测结果

2.2 不结球白菜资源品种鉴定

本试验采用 5 条引物扩增出的特异条带成功地将 34 个不结球白菜品种逐一区分。首先依据引物

Y3 在 350、300、180 bp 处扩增出的 3 条特异条带的有无(图 2),将 34 个不结球白菜分为 7 组,特异性条带的有无分别用“+”和“-”表示(图 3)。其中品种 5 通过 180 bp(-)、300 bp(+)、350 bp(+) 直接从 34 个品种中被鉴别出来;品种 33 通过 180 bp(+)、300 bp(-)、350 bp(+) 也与其他品种区别开来;第 3 组为 180 bp(-)、300 bp(-)、350 bp(+),包括品种 12、32;第 4 组为 180 bp(+)、300 bp(+)、350 bp(-),包括编号为 2、6、7、8、13、15、16、26、28、29 的 10 个不结球白菜品种;第 5 组为 180 bp(-)、300 bp(+)、350 bp(-),包括品种 19、20、21;第 6 组为 180 bp(-)、300 bp(-)、350 bp(-),包括编号为 3、9、18、22、23、24、27、30、31、34 的 10 个品种;第 7 组为 180 bp(+)、300 bp(-)、350 bp(-),包括编号为 1、4、10、11、14、17、25 的 7 个品种。



M—DNA marker; 1~34—品种编号
图2 引物 Y3 在 34 个不结球白菜品种的电泳检测

继续利用更多稳定、特异的引物对未区分开的品种进行鉴定,其中第 3 组的 2 个品种可以通过引物 Y22 在 1 000 bp 处扩增出的特异片段的有无区别开来。第 4 组的 10 个品种可以利用引物 Y15 在 480、550、720 bp 处扩增出的 3 条特异条带的有无分为 4 个亚组,第 1 亚组为 480 bp(-)、550 bp(+)、720 bp(+),包括编号为 13、26 和 29 的 3 个品种,继续利用引物 Y34 在 270 bp 处扩增出的条带的有无把品种 26 鉴定出来,余下 2 个品种 13 和 29 可以通过引物 Y22 在 720 bp 处扩增出的条带的有无区分开;第 2 亚组为 480 bp(+)、550 bp(+)、720 bp(+),品种 2 被单独鉴别出来;第 3 亚组为 480 bp(-)、550 bp(-)、720 bp(+),包括编号 8、15、16 和 28 的品种,继续用 Y34 扩增出的 270 bp 条带分为 2 组,其中品种 8 利用 270 bp 条带被单独区分开,

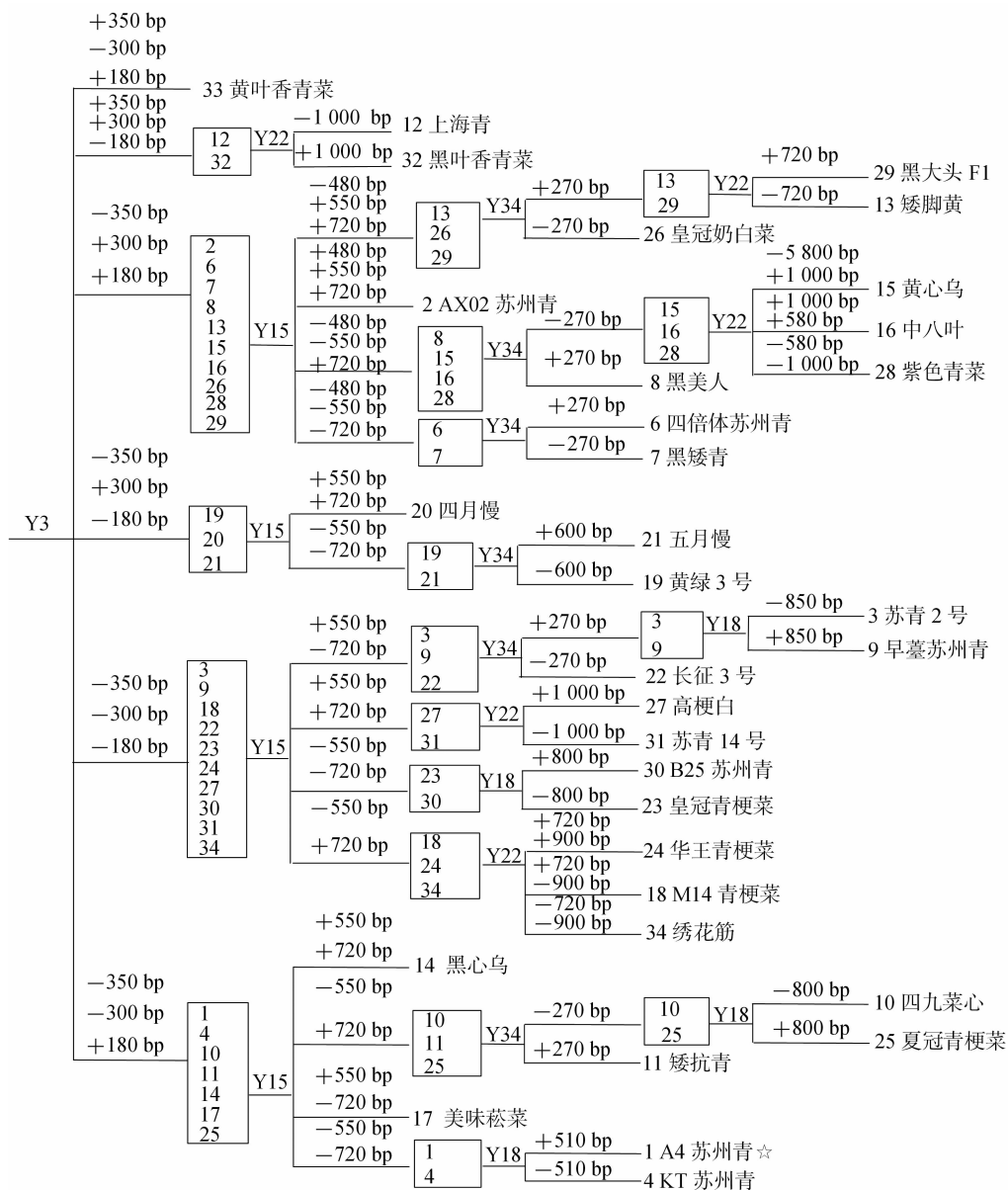


图3 34 个不结球白菜资源的 MCID

其余 3 个品种无 270 bp 条带被分为一组,继续用引物 Y22 扩增出的 2 个特异条带可将 3 个品种区分开来,通过大小为 580、1 000 bp 的 2 个片段条带的有无将 15、16、28 号品种分别区分开;第 4 亚组为 480 bp(-)、550 bp(-)、720 bp(-),包括品种 6、7 号,用引物 Y34 扩增出的 270 bp 条带进行区分,270 bp(+)为 6 号,无此条带为 7 号;同理,第 5、6、7 组分别用引物 Y15、Y22、Y34、Y18 等扩增出的特异条带依次进行鉴别,直至将每个品种都区分开。最后,根据每一步获得的鉴别结果人工绘制不结球白菜品种鉴定图,将每一步用到的引物及所利用的多态性谱带的大小同时标记到相应位置上,即

MCID 图。

2.3 品种鉴定结果的验证

为进一步验证 MCID 法鉴定不结球白菜品种的可靠性及可利用性,随机从不同组中选取编号为 2、5、8、15、16 的 5 个品种进行验证,从 MCID 中可以看到,通过引物 Y3、Y15、Y34 和 Y22 扩增的特异条带可以区别这 5 个品种。验证结果如图 4 所示,可以看出,通过 Y3 引物在 180 bp 和 350 bp 处扩增产生的特异条带的有无可将 5 号品种与其他 4 个品种区别出来,通过 Y15 引物扩增出的 480 bp 和 550 bp 特异条带的有无将 2 号品种区分出来,进一步用 Y34 引物扩增出的 270 bp 条带将 8 号品种分离出

来,最后利用 Y22 引物扩增出的 580 bp 条带将品种 15 和 16 区分开。以上随机验证结果证明,优化的

RAPD 技术体系具有稳定性和可靠性,且 MCID 具有较高的可行性与实用性。

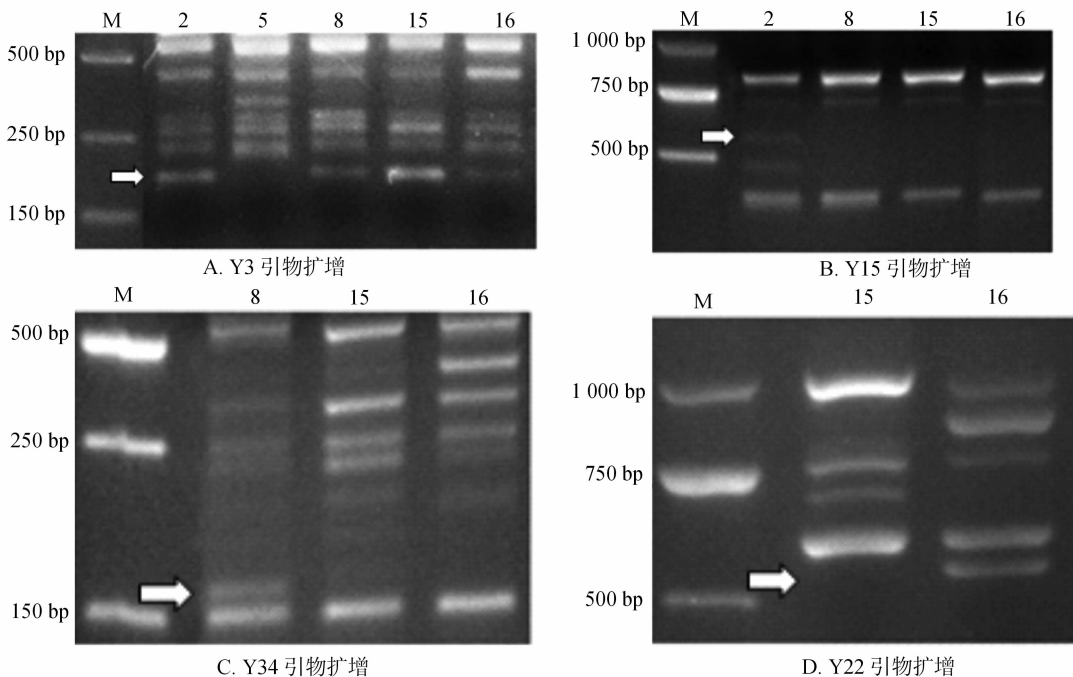


图4 随机选择的 5 个不结球白菜品种鉴定结果验证

2.4 聚类分析

对 34 份不结球白菜种质资源和品种的遗传多样性进行分析。由聚类结果(图 5)可知,各品种间遗传相似系数的变化范围是 0.71 ~ 1.00。在遗传距离 0.74 处,34 份不结球白菜种质资源和品种被分为 3 个类群,类群 I 包括苏州青、上海青、矮脚黄、耐热类青菜等 23 个品种,数量最多;类群 II 包括苏州地方特色品种黄叶香青菜和中八叶等 4 个品种;类群 III 包含黄心乌、五月慢、高梗白、紫色青菜等 7 个品种,分类结果大致符合品种自身的特征特性,表明各类群存在一定的亲缘关系,各品种间存在着遗传多样性。

早薹苏州青和四九菜心因其抽薹性早,遗传关系较近。苏州青类型中,A4 苏州青和 KT-1 苏州青由收集的苏州园区外跨塘地方品种提纯复壮而来,苏青 14 号是以苏青 2 号为母本选育而来的品种,亲缘关系较近,聚类在一起。AX02 苏州青棵型直立,叶柄稍扁,与上海青、黑矮青遗传距离较近。大叶苏州青是苏州青类型中较耐热的品种,叶色较其他苏州青稍浅,与上海青、华王青梗菜等聚类在一起,在今后育种中可作为耐热材料进行目标选育亲本。B25 苏州青为苏州青类型中抽薹稍晚的材料,M14 青梗菜与四月慢主要农艺性状表现相似,

应为近似品种,亲缘关系较近;但耐抽薹材料春绿 3 号、五月慢 2 个农艺性状相似的近缘品种却被聚合在类群 III,表明四月慢、五月慢可能来源不同,遗传关系稍远。类群 II 包括苏州地方特色品种香青菜中的 3 个类型,结果表明,黑叶香青菜虽与黄叶香青菜、绣花筋香青菜主要分布区域不同,但亲缘关系仍相近;中八叶棵型踏地、叶柄扁平、叶面皱缩呈泡状,聚类结果显示与香青菜可能有近缘关系。类群 III 中高梗白(腌菜)与紫色青菜田间表现均为叶片开展、叶柄细长、粗纤维较多;黄心乌和黑心乌来源于安徽,遗传关系较近。

3 讨论与结论

不结球白菜属异花授粉植物,在自然环境下通过天然杂交形成符合各地消费习惯的地方品种群,长江中下游地区作为我国不结球白菜重要的起源地和消费地区,在长期的繁育过程中形成了大量的优异地方种质资源和品种,品种鉴定是种质资源研究、利用的前提。形态学标记易受生长环境、田间观测期以及人为主观因素影响,难以对近似品种进行有效鉴定,因此,准确实用的植物品种鉴定成为农业生产中亟待解决的重要技术难题。分子标记技术因不受环境和人为主观因素影响,克服了传统

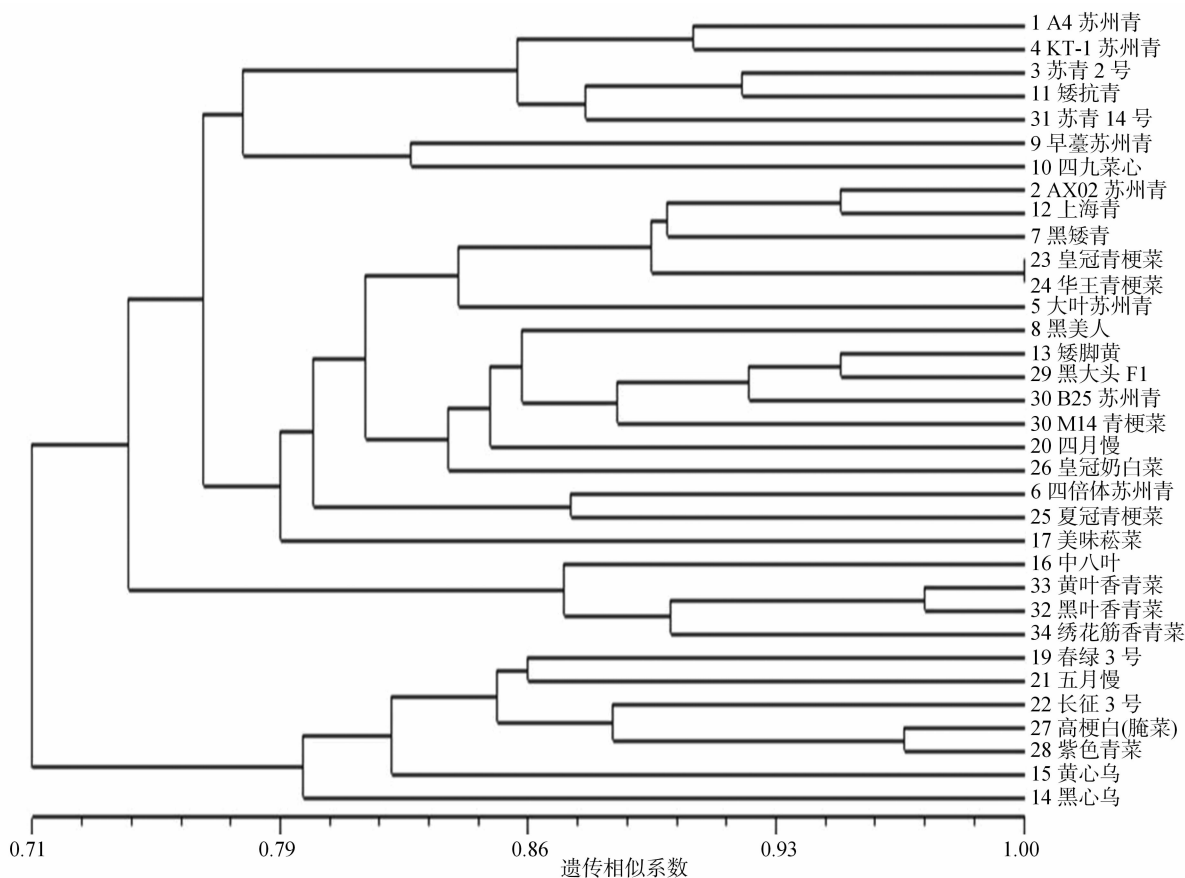


图5 34 个不结球白菜品种聚类分析

鉴定技术的缺点,而更加准确、可靠。目前,已有随机扩增多态性 DNA (random amplified polymorphic DNA, RAPD)^[5]、简单重复序列 (simple sequence repeats, SSR)^[17-18]、简单重复序列见扩增 (inter-simple sequence repeat, ISSR)^[19] 等多种 DNA 分子标记技术应用于不结球白菜品种间遗传多样性分析和品种鉴定,为不结球白菜的遗传进化、品种分类提供了重要的分子证据,但是利用 DNA 分子标记获得的指纹图谱只适用于少数品种的区分鉴定,用 NTSYS-pc 软件可计算遗传距离和遗传相似性系数,根据 UPGMA 方法可构建聚类树状图,但无法转化成鉴定品种的实用工具。本研究利用 MCID 方法将 RAPD 分子标记信息转化为可视化、实用性强的图表,可有效鉴定大量品种资源,且鉴定结果重复性好。

笔者利用基于 RAPD 分子标记的 MCID 法,用 5 对引物成功将 34 份已知的不结球白菜种质资源与品种进行鉴定,从 MCID 中可以明晰不同资源之间进行区分依据的引物和特异条带,表现出较强的实用性。该方法类似图书馆检索系统,便于查阅鉴定品种所需的相关信息,查找对应的那对引物扩增的

几个条带的有无,进而进行针对性的品种鉴定。MCID 法提高了引物的利用率,可以用少量的引物将大量的资源与品种区分开来。在已知品种的情况下,向前回溯查找相应引物,根据特征性条带的大小和有无等信息,可清晰完整地展现所有品种如何被区分开。当有新的不结球白菜品种或种质资源加入时,可直接利用现有的 5 对引物对该品种进行 PCR 扩增分析,如发现与现有 34 个不结球白菜有 1 个或多个差异性谱带,则可以把该品种补充到该 MCID 中去;若发现新的品种难以用 5 对引物与现有 34 个品种区分开,则需要添加新的引物对新添加品种进行区分鉴定,该方法工作量小、效率高且长期有效,且可以使不结球白菜 MCID 品种鉴定系统更加完善,鉴定范围进一步扩大,成为不结球白菜品种鉴定的工具之一。

统计 5 对引物在 34 个不结球白菜种质资源与品种上扩增的特异性条带,利用相关软件对其进行遗传多样性分析,从聚类分析图中发现,华王青梗菜与皇冠青梗菜的相似系数接近于 1,难以区分;苏州青类型的资源与品种聚类在类群 I 的第 1 亚组,遗传关系较近,且与上海青类型在同一类群;苏州

地方品种香青菜资源和中八叶被分在了类群Ⅱ,但在亲缘关系上,黄叶香青菜与黑叶香青菜的亲缘关系亦较近,绣花筋香青菜次之,中八叶较远。研究结果表明,基于 RAPD 的 MCID 法可预测不结球白菜品种间的亲缘关系或遗传距离,推测结果符合品种自身特征特性。

本研究利用 MCID 法对不结球白菜品种进行区分鉴定,该方法具有快速、简便、可重复的优点,可推测品种间亲缘关系远近和遗传多样性。研究结果表明,MCID 不仅能为植物品种或材料鉴定提供帮助,还能种为种质资源研究、品种权保护、实际生产提供帮助,为不结球白菜种质资源保护、鉴定和利用提供理论依据。

参考文献:

- [1]侯喜林,李英,刘同坤.不结球白菜遗传育种与分子生物学研究进展[J].南京农业大学学报,2022,45(5):864-873.
- [2]叶静渊.我国油菜的名实考订及其栽培起源[J].自然科学史研究,1989,8(2):158-165.
- [3]朱旭东,上官凌飞,孙欣,等. DNA 标记在植物品种鉴定上的应用现状[J].中国农学通报,2014(30):234-240.
- [4]林建丽,朱正歌,王建成,等.白菜类蔬菜种质资源亲缘关系的 RAPD 分析[J].华北农学报,2008,23(增刊2):183-189.
- [5]韩建明,侯喜林,徐海明,等.不结球白菜种质资源遗传多样性 RAPD 分析[J].南京农业大学学报,2008,31(3):31-36.
- [6]Cao X,Wu Z,Zhou R,et al. A novel random amplified polymorphic DNA-based strategy for genetic diversity analysis and identification of tomatoes[J]. Genetics and Molecular Research,2015,14(1):1650-1661.
- [7]叶新如,刘建汀,李永平,等.基于 EST-SSR 标记的 MCID 法鉴定冬瓜种质资源[J].核农学报,2021,35(4):780-788.
- [8]许园园,刘哲,娄丽娜,等.基于 MCID 法的萝卜品种快速鉴定[J].江苏农业学报,2016,32(6):1384-1389.

- [9]王叶群,袁金超,吴莎莎,等.基于 RAPD 的 MCID 法快速鉴定青花菜品种和遗传多样性分析[J].分子植物育种,2019,17(23):7778-7786.
- [10]Zhang Y P,Tan H H,Cao S Y,et al. A novel strategy for identification of 47 pomegranate (*Punica granatum*) cultivars using RAPD markers[J]. Genetics and Molecular Research,2012,11(3):3032-3041.
- [11]孙钧,李晓颖,徐红霞,等.基于 genic-SSR 标记的 MCID 法鉴定浙江白沙枇杷地方种质资源[J].果树学报,2018,35(5):539-547.
- [12]黄丹娟,马建强,马春雷,等.基于 SSR 荧光标记的 MCID 快速鉴定 13 个湖北茶树品种[J].南方农业学报,2018,49(6):1045-1052.
- [13]Wang W Y,Wang K,Liu F Z,et al. An efficient identification of 68 apple cultivars using a cultivar identification diagram (CID) strategy and RAPD markers[J]. Korean Journal of Horticultural Science and Technology,2012,30(5):549-556.
- [14]Lin J,Wang X C,Chang Y H,et al. Development of a novel and efficient strategy for practical identification of *Pyrus* spp. (Rosaceae) cultivars using RAPD fingerprints[J]. Genetics and Molecular Research,2011,10(2):932-942.
- [15]Yu M L,Wang W Y,Ma R J,et al. An improved strategy based on RAPD markers efficiently identified 95 peach cultivars[J]. Genetics and Molecular Research,2012,11(2):1158-1168.
- [16]张中海,张安世,高登涛,等.巨峰系葡萄主栽品种的 SRAP 遗传多样性分析与 MCID 法快速鉴定[J].东北农业科学,2022,47(4):38-42.
- [17]李瑞峰,高鹏,朱子成,等.基于形态学标记及 SSR 标记的甜瓜主栽品种分类鉴定研究[J].中国蔬菜,2014(6):20-27.
- [18]刘冬媛,王新华,刘杨,等.不结球白菜品种(系)遗传多样性与亲缘关系的 SSR 分析[J].分子植物育种,2014,12(3):499-508.
- [19]Wang A H,Zhou G L,Lin C F,et al. Genetic diversity study of *Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* Makino based on ISSR markers[J]. Caryologia,2017,70(1):48-54.