



中华人民共和国国家标准

GB/T 19564—2004

落叶松种子鉴定实验方法 随机扩增多态性 DNA 法

Experimental identification method for species of larch seed—RAPD

2004-06-22 发布

2004-12-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准的附录 A 为规范性附录。

本标准由国家质量监督检验检疫总局提出。

本标准起草单位：国家农业标准化监测与研究中心（黑龙江）、黑龙江省质量技术监督局。

本标准主要起草人：王庆贵、徐晶、姜雯、李光宇、石绍业、王卫国。

引 言

目前,我国林木种子的鉴定多采用感官鉴定、理化水平鉴定等方法。这些方法所需的检验周期较长,不具备分子水平鉴定的诸多优点。

随着分子生物学的发展,特别是 20 世纪 90 年代以来,分子生物学的相关技术已被广泛应用,其检测对象为 DNA 大分子——生物的遗传基础。以 DNA 为检测对象,具有许多其他检测水平所不具备的优点:首先,可供探测 DNA 标记的数量可能是无限的,这是同工酶技术所无法比拟的;其二,DNA 分析技术不像其他技术那样随组织或发育阶段而异,植物体任何部位、任何时期提供的 DNA 均可用于分析,其检测结果都是一样的;第三,DNA 分析不受环境影响,其变异只源于等位基因 DNA 序列的变异,这种稳定性便于揭示品种间的遗传变异,从而排除了环境变异所造成的表型变异。

基于上述优点,DNA 分析技术是农、林、牧、渔等品种鉴定的先进方法。

落叶松种子鉴定实验方法

随机扩增多态性 DNA 法

1 范围

本标准规定了落叶松种子鉴定的具体实验方法。

本标准适用于利用随机扩增多态性 DNA(RAPD)法对落叶松种子鉴定的实验过程。

2 术语、定义和缩略语

2.1 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1.1

聚合酶链式反应 **polymerase chain reaction**

一种可以从少量至一个拷贝的特定碱基顺序的 DNA 片断在体外花费几个小时即可扩增出数百万个分子的酶催化反应,即 DNA 合成反应。

2.1.2

随机扩增多态性 DNA **random amplified polymorphic DNA**

是以聚合酶链式反应为基础,用随机排列的寡聚脱氧核苷酸单链作为引物扩增基因组中不同位点的 DNA,进而揭示多个位点等位基因间多态性的一种分子标记方法。

2.1.3

核苷酸 **nucleotide**

是构成核酸的基本单元,由三部分组成:五碳糖、磷酸和环状的含氮碱基。

2.1.4

引物 **primer**

一条互补结合在模板 DNA 链上的短的单链,提供 3'-OH 末端作为 DNA 合成的起点,延伸合成模板 DNA 的互补链。

2.1.5

多态性 **polymorphism**

一对引物在两个或两个以上不同材料基因组 DNA 之间扩增,得到数目不同或长度不同的 DNA 片断。

2.2 缩略语

下列缩略语适用于本标准。

RAPD 随机扩增多态性 DNA(Random Amplified Polymorphism DNA)

PCR 聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction)

DNA 脱氧核糖核酸(Deoxyribonucleic Acid)

OD 光密度(Optical Density)

RNA 核糖核酸(Ribonucleic Acid)

TBE 三羟基氨基甲烷-硼酸-乙二胺四乙酸二钠(Tris Boric-acid EDTA)