



中华人民共和国国家标准

GB/T 19563—2004

大豆种子品种鉴定实验方法 简单重复序列间区法

Experimental identification method for variety of soybean seed—ISSR

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、郝兆军。

引 言

目前,我国农作物种子的鉴定多采用种植鉴定、快速测定法(苯酚染色法、大豆种皮愈创木酚染色法、高粱种子氢氧化钾-漂白粉测定法、燕麦种子荧光测定法、小麦种子氢氧化钾测定法)、聚丙烯酰胺凝胶电泳法测定大麦、小麦种子纯度等。这些方法所需的检验周期较长,虽然电泳法所需时间短,但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。

大豆种子品种鉴定实验方法

简单重复序列间区法

1 范围

本标准规定了大豆种子品种鉴定的实验方法。

本标准适用于利用简单重复序列间区(ISSR)法对大豆种子品种鉴定的实验过程。

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**

至少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

简单重复序列间区 **inter-simple sequence repeat**

是在 PCR 技术基础上发展起来的一种分子标记和检测方法,根据某个简单重复序列(微卫星位点)设计出一系列特异引物,通过 PCR 反应扩增微卫星位点间隔的碱基顺序,以检测其扩增片段长度的多态性。

2.1.3

微卫星 DNA **microsatellite DNA**

是一类由几个核苷酸(一般为 1 个~5 个)为重复单位的长达几十至几百个核苷酸的串联重复序列。

2.1.4

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。

2.1.5

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。

2.1.6

引物扩增多态性 **primer amplified 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。

ISSR 简单重复序列间区(Inter-Simple Sequence Repeat)

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

DNA 脱氧核糖核酸(Deoxyribonucleic Acid)