

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1743—2009

食用菌菌种真实性鉴定 RAPD法

Verification of genuineness for edible
mushroom spawn—RAPD

2009-04-23 发布

2009-05-20 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准的附录 A、附录 C 为规范性附录,附录 B 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国农业部种植业管理司提出并归口。

本标准起草单位:中国农业科学院农业资源与农业区划研究所、农业部微生物肥料和食用菌菌种质量监督检验测试中心。

本标准主要起草人:黄晨阳、张金霞、陈强。

食用菌菌种真实性鉴定 RAPD 法

1 范围

本标准规定了利用 RAPD 技术鉴定食用菌菌种真实性的方法。

本标准适用于糙皮侧耳(*Pleurotus ostreatus*)、白黄侧耳(*Pleurotus cornucopiae*)、肺形侧耳(*Pleurotus pulmonarius*)、佛州侧耳(*Pleurotus floridanus*)、杏鲍菇(*Pleurotus eryngii*)、白灵菇(*Pleurotus nebrodensis*)、香菇(*Lentinula edodes*)、双孢蘑菇(*Agaricus bisporus*)、黑木耳(*Auricularia auricula*)、茶树菇(*Agrocybe cylindrica*)、鸡腿菇(*Coprinus comatus*)、金针菇(*Flammulina velutipes*)、灰树花(*Grifola frondosa*)等食用菌菌种真实性的鉴定,包括母种(一级种)、原种(二级种)和栽培种(三级种)。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

NY/T 1097 2006 食用菌菌种真实性鉴定 酯酶同工酶电泳法

3 原理

RAPD 方法是以一系列不同的随机排列的寡聚核苷酸单链(通常为十聚体)为引物,对所研究的基因组 DNA 进行 PCR 扩增,RAPD 所用的一系列引物的 DNA 序列各不相同,但对于任一特定引物,它同基因组 DNA 序列有其特定的结合位点。这些特定的结合位点在基因组某些区域内的分布如符合 PCR 扩增的反应条件,即在一定范围内模板 DNA 上有与引物互补的反相重复序列时,就可扩增出此范围内的 DNA 片段。不同物种基因组 DNA 中的这种反相重复序列的数目和间隔的长短不同,就可导致这些特定结合位点分布发生相应的变化,而使 PCR 产物增加、减少或发生分子量的改变。通过对 PCR 产物的检测和比较,即可识别这些物种基因组 DNA 的多态片段。

4 试剂与材料

除非另有说明,在分析中仅使用分析纯试剂,水为 GB/T 6682 规定的二级水。

- 4.1 70%乙醇溶液:见附录 A.1。
- 4.2 1 mol/L Tris-HCl(pH 8.0):见附录 A.2。
- 4.3 0.5 mol/L 乙二胺四乙酸二钠盐(EDTA)溶液:见附录 A.3。
- 4.4 CTAB 提取缓冲液:见附录 A.4。
- 4.5 TE 缓冲液:见附录 A.5。
- 4.6 50×TAE 缓冲液:见附录 A.6。
- 4.7 加样缓冲液:见附录 A.7。
- 4.8 核酸染料:按使用说明操作。
- 4.9 苯酚—三氯甲烷—异戊醇溶液=25+24+1。
- 4.10 三氯甲烷—异戊醇溶液=24+1。