

ICS 65.020.20

B 21

备案号: 21532-2007

DB

北京市地方标准

DB11/T 507—2007

玉米品种纯度及真实性 SSR 分子检测方法

SSR-based Method to Assay Purity and Genuineness in *Zea mays* L.

2007-11-22 发布

2008-02-01 实施

北京市质量技术监督局 发布

前 言

本标准的附录 A 为规范性附录，附录 B 为资料性附录。

本标准由北京市农业局提出。

本标准由北京市农业标准化技术委员会种植业分会归口。

本标准起草单位：北京市种子管理站、北京市农林科学院玉米研究中心、全国农业技术推广服务中心。

本标准主要起草人：贾希海、郭景伦、辛景树、律宝春、田雷、吴明生、赵久然、王凤格、云晓敏、郭慧杰。

玉米品种纯度及真实性 SSR 分子检测方法

1 范围

本标准依据 SSR 分子标记原理，规定了进行玉米单交种和亲本自交系的品种纯度及真实性检测方法的仪器设备及试剂、引物筛选、试验步骤、纯度检测和真实性鉴定。

本标准适用于玉米单交种及亲本自交系的纯度及真实性检测。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

品种纯度 *varietal purity*

品种在 DNA 分子标记带型方面典型一致的程度，用供检样品中本品种的种子数占样品种子总数的百分率表示。

2.2

品种真实性 *varietal genuineness*

供检品种与标准品种的符合程度。

2.3

SSR分子标记 *simple sequence repeat marker*

由寡核苷酸为单位的简单串联重复序列。

2.4

引物 *primer*

结合在模板 DNA 上的互补短链，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。

3 原理

在玉米基因组中普遍存在着由寡核苷酸为基本单位的简单串联重复序列，品种间因其重复次数不同而存在多态性，据此可以利用适宜引物进行 PCR 扩增，从而检测出特定 SSR 位点的多态性，以鉴别品种纯度及真实性。

4 仪器设备及试剂

4.1 仪器设备

PCR 扩增仪；DNA 序列分析电泳槽；高压电泳仪（3000V，400mA，400W）；电子天平（感量 0.01g，0.001g）；冰箱；微量加样器（0.5 μ L~10 μ L，20 μ L~200 μ L，100 μ L~1000 μ L）；磁力搅拌器；胶片观察灯；水平摇床；高压灭菌锅；酸度计等。

烧杯；镊子；刻刀；量筒；容量瓶（500mL，1000mL）；离心管（0.5mL，1.5mL）；吸头（10 μ L，200 μ L，1000 μ L）；注射器（100mL）；96 孔深孔板；96 孔 PCR 板；封板膜；一次性手套；离心管架；染色盒（55cm \times 38cm \times 8cm）；水平仪；夹子等。

4.2 试剂

乙二胺四乙酸二钠（EDTA-Na₂）；三羟甲基氨基甲烷（Tris）；盐酸（HCl，36%）；氢氧化钠（NaOH）；10 倍 PCR 缓冲液（不含 Mg²⁺），保存条件为-20 $^{\circ}$ C；氯化镁（MgCl₂）；四种脱氧核糖核苷酸（dNTPs），保存条件为-20 $^{\circ}$ C；TaqDNA 聚合酶（5U/ μ L），保存条件为-20 $^{\circ}$ C；SSR 引物，保存条件为-20 $^{\circ}$ C；矿物油；