

ICS 65.020
B 61

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1730—2009

食用菌菌种真实性鉴定 ISSR法

Verification of genuineness for edible mushroom spawn—ISSR

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、李辉平、张金霞、陈强。

食用菌菌种真实性鉴定 ISSR 法

1 范围

本标准规定了 ISSR 技术鉴定食用菌菌种真实性的方法。

本标准适用于对糙皮侧耳(*Pleurotus ostreatus*)、香菇(*Lentinula edodes*)、黑木耳(*Auicularia auricula*)、白灵菇(*Pleurotus nebrodensis*)、杏鲍菇(*Pleurotus eryngii*)、白黄侧耳(*Pleurotus cornucopiae*)、肺形侧耳(*Pleurotus pulmonarius*)、佛州侧耳(*Pleurotus floridanus*)、灰树花(*Gri fola frondosa*)、金针菇(*Flammulina velutipes*)、滑菇(*Pholiota nameko*)、茶树菇(*Agrocybe cylindracea*)、鸡腿菇(*Coprinus comatus*)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。

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

ISSR 方法是以锚定微卫星 DNA 为引物,即在微卫星 DNA 序列的 3'端或 5'端加上 2 个~4 个随机核苷酸,对基因组 DNA 进行 PCR 扩增,得到与锚定引物互补的重复序列的区间 DNA 片段。不同物种基因组 DNA 中的这种反相重复的微卫星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,从而使 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,即可识别样本基因组 DNA 的多态片段,从而鉴定样本的真伪。

4 试剂与材料

除非另有说明,在分析中仅使用分析纯试剂和去离子水或相当纯度的水。

- 4.1 70%乙醇溶液:见附录 A. 1。
- 4.2 1 mol/L Tris-HCl(pH8.0):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。
- 4.11 无水乙醇
- 4.12 四种脱氧核糖核苷酸(dATP、dCTP、dGTP、dTTP)混合溶液。
- 4.13 *Taq* DNA 聚合酶。
- 4.14 10×PCR 反应缓冲液。