

ICS 67.080
B 23

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1963—2010

马铃薯品种鉴定

Cultivar identification of potato

2010-12-23 发布

2011-02-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准遵照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

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：农业部脱毒马铃薯种薯质量监督检验测试中心(哈尔滨)。

本标准主要起草人：吕典秋、王绍鹏、刘尚武、邱彩玲、宿飞飞、李勇、高云飞、王文重、张抒、王亚洲、李学湛。

马铃薯品种鉴定

1 范围

本标准规定了马铃薯品种鉴定 SSR 分子标记方法。
本标准适用于马铃薯品种及种质资源鉴定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB 7331 马铃薯种薯产地检疫规程

GB 18133 马铃薯脱毒种薯

3 试剂

DNA 的提取及 PCR 扩增所使用的实验室独立,微量移液器为分子检测专用。试验中,溴化乙锭染色剂可诱发基因突变,丙烯酰胺水溶液具有神经毒性,操作人员在操作过程中需佩戴手套和口罩。电泳后的凝胶以及被溴化乙锭污染的物品要有专用收集处,集中进行无害化处理。

以下所用试剂,除特别注明者外均为分析纯试剂,水为符合 GB/T 6682 中规定的一级水。

3.1 1 mol/L 三羟甲基氨基甲烷—盐酸(Tris-HCl)溶液(pH 8.0)

称取 Tris 碱 121.1 g,溶解于 800 mL 水中,用浓盐酸调 pH 至 8.0,加水定容至 1 000 mL,121℃ 高压灭菌 20 min。

3.2 0.5 mol/L 乙二铵四乙酸二钠溶液(pH 8.0)

称取乙二铵四乙酸二钠 186.1 g,溶于 700 mL 水中,用氢氧化钠调 pH 至 8.0,加水定容至 1 000 mL。

3.3 TE 缓冲液(pH 8.0)

量取 1 mol/L 三羟甲基氨基甲烷—盐酸(Tris-HCl)溶液(3.1)2 mL、0.5 mol/L 乙二铵四乙酸二钠溶液(3.2)0.4 mL,加水溶解,定容至 200 mL,121℃ 高压灭菌 20 min 后,室温保存。

3.4 5×Tris-硼酸(TBE)电泳缓冲液

称取 Tris 碱 27 g、硼酸 13.75 g,量取 0.5 mol/L 乙二铵四乙酸二钠溶液(3.2)10 mL,加灭菌双蒸水 400 mL 溶解,定容至 500 mL。

3.5 1×Tris-硼酸(TBE)电泳缓冲液

量取 5×Tris-硼酸(TBE)电泳缓冲液(3.4)200 mL,加水定容至 1 000 mL。

3.6 样品提取缓冲液

称取氯化钠 15.2 g、十二烷基磺酸钠(SDS)0.4 g、聚乙烯基吡咯烷酮(PVP)2 g、二硫苏糖醇(DTT)0.309 g,溶于 100 mL 双蒸水中,再加入 0.5 mol/L 乙二铵四乙酸二钠溶液(3.2)20 mL、1 mol/L 三羟甲基氨基甲烷—盐酸(Tris-HCl)溶液(3.1)20 mL、Tritron X100 1 mL、β-巯基乙醇 0.8 mL,混合均匀,加水定容至 200 mL,4℃ 贮存待用。

3.7 Tris 饱和酚+三氯甲烷+异戊醇混合液(现用现配)

量取 Tris 饱和酚 25 mL、三氯甲烷 24 mL、异戊醇 1 mL,混合均匀待用。