



中华人民共和国林业行业标准

LY/T 3107—2019

柳树品种微卫星标记鉴别技术规程

Technical regulation for willow varieties identification by SSR markers

2019-10-23 发布

2020-04-01 实施

国家林业和草原局 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由全国林木种子标准化技术委员会(SAC/TC 115)提出并归口。

本标准主要起草单位:南京林业大学、江苏省林业科学研究院、山东省林业科学研究院。

本标准主要起草人:李淑娴、戴晓港、尹佟明、陈赢男、刘德玺、何旭东。

柳树品种微卫星标记鉴别技术规程

1 范围

本标准规定了以柳属(*Salix*)植物 DNA 为材料,利用微卫星标记(microsatellite)对国家和省审(认)定的柳树品种进行分子鉴定的规范化操作技术。

本标准适用于附录 A 中所列柳树品种的鉴别。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

微卫星标记 **microsatellite**

短串联重复序列 short tandem repeats, STRs

简单重复序列 simple sequence repeats, SSR

基因组中由 2 个~6 个核苷酸组成的 DNA 串联重复序列。

2.2

基因型频率 **genotype frequency**

不同基因型在全部个体中所占的比率,全部基因型频率的总和为 1 或 100%。

3 操作程序

3.1 取样和保存

取柳树幼嫩叶片 5 片~10 片,用干燥硅胶密封保存,用于 DNA 提取。

3.2 DNA 提取所需试剂

3.2.1 1 mol/L Tris:称取 12.11 g Tris 溶解到 80 mL 超纯水中,调节 pH=8.0,定容到 100 mL。

3.2.2 0.5 mol/L EDTA:称取 18.61 g EDTA 溶解到 80 mL 超纯水中,调节 pH=8.0,定容到 100 mL。

3.2.3 5 mol/L 氯化钠:称取 23.38 g 氯化钠溶解到 80 mL 超纯水中,定容到 100 mL。

3.2.4 5 mol/L 醋酸钾:称取 25.54 g 醋酸钾,200 mL 超纯水溶解后定容到 250 mL。

3.2.5 2% SDS:称取 1.0 g 十二烷基硫酸钠(SDS),40 mL 超纯水溶解后定容到 50 mL。

3.2.6 10% CTAB:称取 10 g CTAB(十六烷基三甲基溴化铵)溶解到 80 mL 超纯水中,定容到 100 mL。

3.2.7 氯仿异戊醇:240 mL 氯仿,10 mL 异戊醇混合。

3.2.8 70%乙醇:70 mL 乙醇,加入 30 mL 超纯水。

3.2.9 CTAB 裂解液:1 mL 1 mol/L Tris(pH=8.0),4 mL 0.5 mol/L EDTA(pH=8.0),28 mL 5 mol/L 氯化钠,10 mL 10% CTAB,5 g 聚乙烯吡咯烷酮,定容到 100 mL。

3.2.10 TBE 缓冲液(10×):称取 108 g Tris 碱和 55 g 硼酸,加入 40 mL 0.5 mol/L EDTA 溶液(pH=8.0),用 800 mL 双蒸水溶解后定容到 1 L,高温灭菌。