

中华人民共和国林业行业标准

LY/T 3267—2021

白蜡属品种鉴定技术规程 SSR 分子标记法

Technical regulations for the identification of *Fraxinus cultivars*—
SSR marker method

2021-06-30 发布

2022-01-01 实施

国家林业和草原局 发布

中国标准出版社

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由全国林木种子标准化技术委员会(SAC/TC 115)归口。

本文件起草单位：山东省林业科学研究院、山东省林木种苗和花卉站、山东农业大学、山东华博基因工程有限公司。

本文件主要起草人：燕丽萍、吴德军、王因花、刘翠兰、李丽、臧真荣、李善文、王开芳、姚俊修、任飞、李庆华、周继磊、李际红。

中国标准出版社

中国标准出版社

白蜡属品种鉴定技术规程

SSR 分子标记法

1 范围

本文件确立了利用 SSR 指纹图谱对白蜡属品种鉴定的程序。

本文件适用于以白蜡属(*Fraxinus*)品种幼嫩组织(叶片、芽等)为材料,利用 SSR 指纹图谱对白蜡属品种的鉴定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;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。

LY/T 2745 仁用杏品种鉴定技术规程 SSR 分子标记法

3 术语和定义

LY/T 2745 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

待检品种 test cultivar

待鉴定的白蜡属品种,由送检人提供。

3.2

简单重复序列 simple sequence repeats; SSR

基因组中由 1 个至 6 个核苷酸组成的 DNA 串联重复序列。

3.3

基因型频率 genotype frequency

群体中某一位点特定基因型个体数占全部个体数的百分比。

4 原理

本文件选用通过转录组测序获得的 17 对高度多态性的 EST-SSR 引物,用于白蜡属品种的遗传鉴定。在检测过程中,采用真实品种的 DNA 模板做为对照品种,从待检苗木中抽样做为待检品种。利用 SSR 引物进行扩增,将待测品种与对照品种的 SSR 指纹对比结果进行分析,若待检品种与对照品种在任一引物扩增位点上基因型不同,则可判定待检品种与标准品种不是同一品种。当不同引物扩增位点上基因型都相同时,可根据标准样品在不同位点上的基因型频率乘积,计算出待检品种与对照品种是同一品种的概率。

5 主要仪器和设备

仪器设备见附录 A。

6 试剂与溶液

主要试剂与溶液配置方法见附录 B。

7 操作程序

7.1 样品

选用白蜡属不同品种幼嫩叶片、嫩芽等组织 0.2 g, 提取基因组 DNA。本文件选用已通过国外和国内审(认)定的白蜡优良品种, 见附录 C。

7.2 DNA 的提取、纯化及定量

7.2.1 CTAB 法提取 DNA

CTAB 法提取 DNA 的步骤如下:

- a) 将配制好的 CTAB 提取缓冲液置于 65 °C 的水浴锅中预热 30 min, 氯仿: 异戊醇 (24: 1)、无水乙醇、70% 乙醇置于 -20 °C 冰箱预冷备用, 研钵需提前预冷, 使用前再用少量液氮预冷;
- b) 取 0.4 g~0.5 g 白蜡幼叶, 搁置于研钵中, 加入约 30 mL 的液氮研磨至粉末状, 迅速转入 2 mL 离心管中, 加入 600 μ L 2% 的 CTAB 提取液(含 2% β -巯基乙醇), 充分混匀。在 65 °C 的水浴锅中水浴 30 min, 其间轻轻颠倒 3~4 次;
- c) 冷至室温后加入 600 μ L 的氯仿: 异戊醇(24: 1)抽提 10 min, 其间不停地轻轻地摇动, 冷却至室温, 在 12 000r/min 离心 10 min;
- d) 将上清液(约 500 μ L)转入另一离心管中, 加等体积氯仿: 异戊醇 (24: 1)重复步骤 c);
- e) 取出上清液并移到另一个干净的 1.5 mL 的离心管中, 再加 0.7 体积的异丙醇并颠倒混匀沉淀 DNA, 出现絮状 DNA, -20 °C 放置 1 h, 观察沉淀生成;
- f) 8 000 rpm 室温离心 5 min, 倒掉上清液, 沉淀用 1 mL 75% 的酒精洗涤两次, 超净工作台静置乙醇挥发干净;
- g) 待 DNA 风干后(DNA 不宜过分干燥, 否则极难溶解), 用 50 μ L 的 TE pH 8.0 或超纯水溶解, 4 °C 放置 6 h~12 h 使其充分溶解;
- h) 加入 2 μ L RNA 酶 10 mg/mL, 37 °C 水浴 1 h;
- i) 等体积苯酚-氯仿-异戊醇去蛋白一次, 氯仿-异戊醇去蛋白一次, 上层水相中加入 1/10 体积的 3 M NaAc, 两倍体积的无水乙醇, 混匀 -20 °C 放置 1 h 到 2 h, 离心, 干燥 DNA, 溶于 30 μ L TE 中; -80 °C 保存备用。

7.2.2 DNA 定量和质量检测

DNA 定量和质量检测的步骤如下:

- a) 取 2 μ L DNA 用微量核酸蛋白检测仪检测, 可以直接读出 DNA 浓度和 A260/A280 的比值, 比值在 1.8~2.0 之间符合要求;
- b) 另取 3 μ L DNA 加等体积 0.2% 的溴酚蓝, 在 0.8% 琼脂糖凝胶上电泳 15 min~20 min, 稳压 100 V, 电泳缓冲液为 1 \times TBE, 325 nm 紫外灯下观察, 照相, 通过与标准溶液的荧光进行比较估测未知 DNA 的浓度;
- c) 植物总 DNA 样品呈现一条相对分子量较大而迁移速率很小的清晰条带;
- d) 将样品 DNA 用 TE 稀释成浓度为 20 ng/ μ L 临时保存 -20 °C 保存备用, 干燥 DNA 长期保存

在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

7.3 SSR 分析步骤

7.3.1 SSR 引物序列表见附录 D。

7.3.2 PCR 反应体系为 $10\text{ }\mu\text{L}$ ，具体见表 1。

表 1 PCR 扩增体系

试剂	浓度	一个反应所需用量 μL
Mix	2 倍	5
Primer (F/R)	$10\text{ }\mu\text{mol/L}$	0.1/0.1
DNA	$20\text{ ng}/\mu\text{L}$	1
H_2O	—	3.8

7.3.3 反应液加入到 PCR 板后，将 PCR 板用乳胶盖盖好后放入 PCR 仪中，PCR 的反应程序如下：

- $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min ；
- $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s ， $52\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s ， $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s ， $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s ， $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s ， $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s ，共 20 个循环；
- 最后 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min ， $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时 10 min 终止反应。

7.3.4 PCR 产物变性步骤：

- PCR 产物用双蒸水稀释 10~20 倍；
- 取 PCR 产物 $0.3\text{ }\mu\text{L}$ 、分子量内标 $0.5\text{ }\mu\text{L}$ 和去离子甲酰胺 $9.5\text{ }\mu\text{L}$ 混匀加入 PCR 板；
- 在 PCR 仪上运行变性程序： $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 5 min ， $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷却后离心， $1\times\text{Buffer}$ 缓冲液上机检测。

7.3.5 PCR 产物检测步骤：

- PCR 产物检测采用 DNA 基因分析仪；
- 毛细管的空间校正（新安装的毛细管只要进行一次校正即可）。选择空间校正程序，根据毛细管是否已经灌胶，选择相应的程序，然后点击开始。空间校正后每个毛细管会有一个峰图，如果每个毛细管峰值大小基本一致，且每个峰上都有一个“十”，则代表校正通过；
- 仪器的光谱校正（新安装的毛细管只要进行一次校正即可）。取 $5\text{ }\mu\text{L}$ Multi-Capillary DS-30 加入 $195\text{ }\mu\text{L}$ 高纯度甲酰胺，混匀后分装到 96 孔板 A1-H1 和 A2-H2 孔， $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 5 min ，放冰上迅速冷却。利用光谱校正程序进行光谱校正，选择校正所用的样品型号，然后点击开始校正结束后通过校正文件图来判断是否正确。根据 DS-30 中的标样，如果峰图颜色的顺序是蓝、绿、黄、红，并且峰图清晰、峰型一致则代表光谱校正通过；
- 采用片段分析程序，选择片段分析模式以及光谱校正所用试剂盒的类型。创建一个自动分析模板，填写分析样品的名称，选择样品的类型、内标类别、分析方法等。将变性好的 PCR 产物盖上仪器自带的 PCR 板盖后，放入仪器中，用软件中将 PCR 板链接到仪器，点击开始进行基因型分型。

8 待检样品检测的一般程序

对待检品种和对照品种以附录 D 中的引物进行标记检测，获得待检品种和对照品种在这些位点的等位变异数据，利用这些数据进行比较，判定方法如下：

- a) 随机选取一个引物,对待检品种进行 PCR 扩增;
- b) 将扩增得到的条带和附录 E 中的标准谱带相比较,若待检品种与对照品种在任一引物扩增位点上基因型不同,则可判定待检样品与标准样品不是同一品种;当待检样品与标准样在不同引物扩增位点基因型都相同时,即可认定该待检样品和标准样品为同一品种;
- c) 根据基因型频率判定所鉴定品种真实性的准确率,参见附录 F;
- d) 根据判定结果,填写白蜡样品 DNA 指纹图谱鉴定报告书(报告书格式见附录 G)。

中国标准出版社

附录 A
(资料性)
主要仪器设备

主要仪器设备包括：

- PCR 扩增仪；
- 离心机(14 000 r/min)；
- 微量核酸蛋白检测仪(波长范围:190 nm~840 nm,波长精度 1 nm,检测范围 2 ng/ μ L~75 000 ng/ μ L)；
- 微量可调移液器 1 套(2.5 L、10 μ L、100 μ L、1 000 μ L)；
- 电泳仪(3 000 V 连续可调,0 mA~400 mA)；
- 紫外分析仪(反射紫外光源波长:254 nm、365 nm,透射紫外光源波长:312 nm)；
- 毛细管电泳仪(紫外检测波长:220 nm,加电电压:12 kV,注射泵流速:2 μ L/min,分离毛细管:内径 50 μ m,总长 70 cm,有效长度 40 cm)；
- 涡旋仪；
- 混合型研磨仪；
- 基因分析仪(测序速度 35 min,读长范围 800 bp,检测准确性 99.99%)。

附 录 B
(资料性)
主要试剂与溶液配制

B.1 0.5 mol/L EDTA-Na₂ (pH 8.0) 溶液

称取 186.1 g 乙二胺四乙酸二钠(Na₂EDTA·2H₂O)溶于 800 mL 超纯水,加入氢氧化钠(NaOH)调节 pH 至 8.0,用超纯水定容至 1 L,分装后高压灭菌,室温保存。

B.2 1 mol/L Tris-HCl(pH 8.0) 溶液

称取 121.1 g 三羟甲基氨基甲烷(Tris)溶解于 800 mL 水中,用 30%(体积分数)的盐酸(HCl)将 pH 调至 8.0,用超纯水定容至 1 L,分装后高压灭菌,室温保存。

B.3 5 mol/L NaCl 溶液

称取 58.44 g 氯化钠(NaCl)溶于 150 mL 水中,定容至 200 mL,高压灭菌,室温保存。

B.4 三氯甲烷/异戊醇(24 : 1)

240 mL 三氯甲烷和 10 mL 异戊醇,混匀后在棕色瓶中室温保存。

B.5 CTAB 提取缓冲液

缓冲液成分为 2%(质量浓度)溴代十六烷基三甲胺(CTAB)、100 mmol/L Tris-HCl(1 mol/L pH8.0)、20 mmol/L EDTA(0.5 mol/L pH8.0)、1.4 mol/L NaCl(5 mol/L)、5%PVP、300 mmol/L β-巯基乙醇。在 50 mL 超纯水中加入 2 g CTAB,搅动溶解后,加入 10 mL 1 mol/L Tris-HCl(pH 8.0)、4 mL 0.5 mol/L EDTA(pH 8.0)、28 mL 5 mol/L NaCl、5 g PVP-40 粉末、2 mL β-巯基乙醇(用前加入),定容至 100 mL,室温保存。

B.6 TE(pH 8.0)缓冲液

取 1 mol/L Tris-HCl(pH 8.0)1 mL、0.5 mol/L EDTA(pH 8.0)0.2 mL,用双蒸水定容至 100 mL,高压灭菌,4℃保存。

B.7 TBE 缓冲液(10×)

称取 108 Tris 碱和 55 g 硼酸,加入 40 mL 0.5 mol/L EDTA(pH 8.0),用 800 mL 双蒸水定容至 1 mL,高压灭菌。

B.8 EB(1 mg/mL)溶液

取 0.05 g 溴化乙锭(EB)用 50 mL 双蒸水溶解,用铝箔或黑纸包裹容器,室温保存,工作浓度为 1 mg/mL。

附录 C
(资料性)
白蜡品种

本文件选用的白蜡品种见表 C.1。

表 C.1 白蜡品种表

编号	品种名称	品种名称	编号	品种名称
B1	鲁蜡 6 号, <i>Fraxinus pennsylvanica</i> 'Lu la Liu hao'	地图白蜡, <i>Fraxinus excelsior</i> 'Atlas'	B11	地图白蜡, <i>Fraxinus excelsior</i> 'Atlas'
B2	金箭, <i>Fraxinus velutina</i> 'JinJian'	秋欢白蜡, <i>Fraxinus americana</i> 'Autumn Appause'	B12	秋欢白蜡, <i>Fraxinus americana</i> 'Autumn Appause'
B3	鲁蜡 1 号, <i>Fraxinus velutina</i> 'LulaYihao'	垂枝白蜡, <i>Fraxinus excelsior</i> 'Aurea Pendula'	B13	垂枝白蜡, <i>Fraxinus excelsior</i> 'Aurea Pendula'
B4	冬红白蜡, <i>Fraxinus angustifolia</i> 'Dong hong'	柱形白蜡, <i>Fraxinus excelsior</i> 'Skyline'	B14	柱形白蜡, <i>Fraxinus excelsior</i> 'Skyline'
B5	鲁蜡 2 号, <i>Fraxinus velutina</i> 'Lula Er hao'	秋火白蜡, <i>Fraxinus americana</i> 'Autumn Fire'	B15	秋火白蜡, <i>Fraxinus americana</i> 'Autumn Fire'
B6	红叶白蜡, <i>Fraxinus americana</i> 'Hong Ye'	青碧, <i>Fraxinus velutina</i> 'Qing Bi'	B16	青碧, <i>Fraxinus velutina</i> 'Qing Bi'
B7	鲁蜡 5 号, <i>Fraxinus pennsylvanica</i> 'Lu la Wu hao'	华蜡, <i>Fraxinus velutina</i> 'Hua Xiong'	B17	华蜡, <i>Fraxinus velutina</i> 'Hua Xiong'
B8	欧洲金叶白蜡, <i>Fraxinus excelsior</i> 'Aurea'	鲁蜡 3 号, <i>Fraxinus velutina</i> 'Lula San hao'	B18	鲁蜡 3 号, <i>Fraxinus velutina</i> 'Lula San hao'
B9	贾斯白蜡, <i>Fraxinus excelsior</i> 'Jaspidea'	鲁蜡 4 号, <i>Fraxinus velutina</i> 'Lu la Si hao'	B19	鲁蜡 4 号, <i>Fraxinus velutina</i> 'Lu la Si hao'
B10	秋紫白蜡, <i>Fraxinus americana</i> 'Autumn Purple'	金枝白蜡, <i>Fraxinus excelsior</i> 'Aurea'	B20	金枝白蜡, <i>Fraxinus excelsior</i> 'Aurea'

附录 D

(资料性)

白蜡品种鉴定的标准 SSR 引物表

白蜡品种鉴定的标准 SSR 引物表见表 D.1。

表 D.1 白蜡品种鉴定的标准 SSR 引物表

引物名称	正向引物序列(5'→3')	反向引物序列(5'→3')	银光	片段大小/bp	重复基序
U82	F: TTGACTCGTGTTTAGGGATGAAT	R: AGCTCTTGAAGGGAAAATTTGAA	5-TAMRA	154	CAG(3*5)
U92	F: GATTCTCCA TACATGTGCTCTCC	R: TAAAAAAGTGAAAACCCCTTTCGTTG	5-FAM	138	ACCGGC(6*4)
U93	F: FGAAAAGGAGGAGAGTGGGAATAC	R: GCTCCATTTCACTTCAACTCTTC	5-FAM	142	GAA(3*5)
U95	F: AGAAATAGATGAGGATGAAGGGGA	R: CTAACCTCATCCCTCTGGGAAAC	5-TAMRA	150	GAA(3*6)
U112	F: CCATTGTCAAATTTGCAGATTCTTT	R: GTCTGGAAAATGTTGATCCTGAAA	5-FAM	141	ATT(3*5)
U120	F: GAAATGATCTGGTTGCTGAAATACC	R: AGAGATTTGGACATCTGATGGAA	5-FAM	136	GAG(3*6)
U123	F: GGACAAAATGGTTCAGAAATTCA	R: AAAGAAAAGAAACAATTCGTCGTC	5-TAMRA	151	CGG(3*5)
U144	F: GATAGTGGGGAGAATAAAGTCC	R: TCATTCCAAATCAATGAACCTCT	5-HEX	104	AGC(3*5)
U147	F: GGATAGTGGGGAGAATAAAGTC	R: CTCATTCCAAATCAATGAACCTCC	5-HEX	106	AGC(3*5)
U167	F: TGAGCAAATGTGAAGACCGTAG	R: TAAATTCATCCACCAGTTTCCAC	5-TAMRA	156	TGG(3*5)
U186	F: TCTTCACGTCTTCTGTGTTGTTCA	R: GAAAACGTTGTAATGAGTTTGGT	5-HEX	114	GTAGAA(6*4)
U187	F: TCGATCTTTCCA TCTAAAACAAGC	R: AACGTTGTAATGAGTTTGGTTTT	5-TAMRA	151	GTAGAA(6*4)
U202	F: AGTTTTCACCGCTTTCAGTGTTA	R: GGGAAATGAACATGAGTTTCAGTA	5-HEX	113	GTG(3*5)
U203	F: GTTATCAGTAGATGCAACCGCAC	R: AACACCGGTTTTCAACAATTCT	5-TAMRA	154	GTG(3*5)
U208	F: CCTCCTATTGAATCATTCGCTTA	R: ATTTTGATTTCCCTCCTCTGAAG	5-FAM	141	CAA(3*5)
U213	F: GACAACATGCCTAAAATTGGACTC	R: AATTCTGAACCTCAAGGTGGGAT	5-HEX	92	CGG(3*5)
U217	F: TTATGATAGAAATGGTCCCTCCCT	R: TTGTTTGGCAATTTCTTTTGT	5-HEX	93	GAA(3*5)

附录 E
(资料性)
各引物鉴定白蜡品种指纹图谱表

各引物鉴定白蜡品种指纹图谱表见表 E.1。

表 E.1 各引物鉴定白蜡品种指纹图谱表

品种	U82	U92	U93	U95	U112	U120	U123	U144	U147	U167	U186	U187	U202	U203	U208	U213	U217
B1	250	122/128/134	141	153	137	125/134	142/148	97/100/103	105	168	93/105/111	134/146/152	112/118	157/163	139	90	91/97
B2	247/250	122/128	141/144	153/156	137	125/134	142/148	97/100/103	105	168/171	93/99	134/140	109/112	157	139/145	81/90/96	91/94
B3	247/250	128	141/144	144	137	125/134	142/151	100/103	105	168/171	87/99	128/134/140	109/112	157	136	81/96	88
B4	250	122/134	141/147	141/150	137	134	142/151	97/100/103	105	168	93/99/105	128/134/140/146	109/112/121/127	157	133	81/90	91
B5	250/277	122/128/134	144	153/156	137	125/134	142/148	97/100/103	105	168/171	99/105	134/140/146	103/112/118/127	157	139	90	91/97
B6	277/286	122/128	141	153	137/140	134	142/148	97/103	105	165/168	93/111	134/152	109/112/115	157	139/142	81/87/90	91
B7	250	124/130	141/147	153/156	137	125/134	142/148	97/100/103	99/102/105	168/171	99/105	128/134/140/146	109/118/127	154/157	139/145	81/90	91/94
B8	247/250	122/128	135/138	147/150	137/146	134	142/151	94/100	96/102	165	93	134	103	144/156	133	93/105	91
B9	250	122/128	135/138	153	137/146	134	142/145	94/100	96/102	165	93	134	103	148	139/148	93/105	91
B10	277/286	122/128	141	147	137/140	134	142/151	97/103	105	168	93/111	134/152	109/112/115	157	133	81/87/90	91
B11	247/250	122/128	135/165	150/153	137/143	134	142/145	94/100	96/102	165	93	134	103	169	139/142	81/105	91
B12	250/277	122/128	141	147	137/140	134	142/151	97/100/103	102/105	168	105	134/146	109/112	157	133	81/87/90	97
B13	247/250	122/128	135/219	153/156	137/152	134	142/148	94/100	96/102	165	93/99	134	103	148	139	81	91
B14	247/250	122/128	135	153/159	137/143/146	134	142/145	94/100	96/102	165	93	134	103	148	139/145	96/105	91
B15	250	128/134	141/147	144	137/140	134/140	142/151	103	105	168	105/111	134/146/152	109/112	157	142	87/90	88
B16	250	122/134	144/147	150	137	125	142/151	97/100/103	99/102/105	171	87/111	128/134/152	103/109/112	157	133	81/90/96	91
B17	250/250	122/134	144/147	156/159	137	125/134	142/148	97/100/103	99/102/105	168	87/93/99	128/134/140	103/109/127/133	148	139	90	91
B18	250/277	122/128	141/144	153/159	137	134	142/148	100/103	105	168/171	99/105	134/140/146	103/112	157	139	90	91
B19	247/277	122/134	141/147	153/156	137	125	142/148	97/100/103	105	168/171	93/99	134/140	109/118	163	139/142	90	91/94
B20	250	122/134	135/165	153	137	131/134	142/148	94/100	96/102	165	93	134	103/136	160	139	81/87	91/94

附录 F
(资料性)

各引物鉴定白蜡品种基因型频率表

各引物鉴定白蜡品种基因型频率表见表 F.1。

表 F.1 各引物鉴定白蜡品种基因型频率表

样品	U82	U92	U93	U95	U112	U120	U123	U144	U147	U167	U186	U187	U202	U203	U208	U213	U217
B1	0.06	0.02	0.122 5	0.02	0.3	0.1	0.3	0.1	0.3	0.12	0	0.01	0.01	0.003	0.09	0.09	0.01
B2	0.12	0.3	0.04	0.02	0.3	0.1	0.3	0.1	0.3	0.09	0	0.01	0.023	0.16	0.02	0	0.023
B3	0.12	0.3	0.022 5	0.02	0.02	0.4	0.3	0	0	0.09	0	0.02	0.003	0.16	0.01	0.01	0.303
B4	0	0.02	0.122 5	0.04	0.3	0.1	0.3	0.1	0.3	0.12	0	0	0.003	0.16	0.09	0.02	0.023
B5	0.06	0.02	0.002 5	0	0.3	0.1	0.3	0	0	0.09	0	0	0.003	0.023	0.02	0.09	0.01
B6	0.01	0	0.122 5	0.02	0.3	0.4	0	0	0.3	0.09	0	0.02	0.01	0.16	0	0.02	0.303
B7	0.01	0	0.122 5	0.04	0.3	0.4	0.3	0.1	0.3	0.09	0	0.01	0.003	0.003	0.02	0.02	0.303
B8	0.02	0.3	0.022 5	0.01	0	0.4	0.1	0	0	0.09	0.1	0.06	0.003	0.023	0.06	0.01	0.01
B9	0.12	0.3	0.01	0.01	0.01	0.4	0.1	0	0	0.09	0.1	0.06	0.04	0.003	0.06	0.01	0.303
B10	0.12	0.3	0.01	0.02	0.01	0.4	0	0	0	0.09	0.1	0.06	0.04	0.023	0.06	0.01	0.303
B11	0	0.3	0.122 5	0.02	0.01	0.4	0.1	0	0.3	0.12	0	0	0.003	0.16	0	0.01	0.303
B12	0.12	0.3	0.002 5	0	0.02	0.4	0	0	0	0.09	0.1	0.06	0.04	0.003	0.06	0	0.303
B13	0.02	0.3	0.122 5	0.02	0.01	0.4	0.1	0.1	0	0.12	0	0	0.023	0.16	0.01	0.01	0.01
B14	0.06	0	0.04	0	0.3	0.1	0.1	0	0.3	0.09	0	0	0.003	0.003	0.09	0	0.01
B15	0.12	0.3	0.002 5	0.04	0	0.4	0	0	0	0.09	0.1	0.06	0.04	0.023	0.06	0	0.303
B16	0.06	0.02	0.122 5	0.01	0.3	0	0.3	0.1	0.3	0.12	0	0	0.023	0.16	0.01	0.09	0.01
B17	0.06	0.02	0.002 5	0.01	0.3	0.1	0.3	0.1	0	0.12	0	0.02	0.023	0.023	0.09	0.09	0.303
B18	0.12	0.02	0.04	0.02	0.3	0.1	0.3	0	0.3	0.12	0	0	0.023	0.003	0.09	0.09	0.023
B19	0.02	0.3	0.04	0.04	0.3	0.4	0.3	0	0.3	0.09	0	0	0.023	0.16	0.09	0.09	0.303
B20	0	0.3	0.022 5	0.02	0	0.4	0.1	0	0	0	0	0.01	0.023	0.023	0.01	0	0.303

附录 G
(资料性)

白蜡样品 DNA 指纹图谱鉴定报告书

白蜡样品 DNA 指纹图谱鉴定报告书见表 G.1。

表 G.1 白蜡样品 DNA 指纹图谱鉴定报告书

待检样品编号		待检样品名称	
标准样品编号		标准样品名称	
送检单位			
测试单位	依据标准		
检测引物数量：			
检测引物编号：			
DNA 指纹图谱检测结果：			
检测差异引物和谱带：			
结论：			
评语：			

测试单位(公章)
年 月 日

批准人：

审核人：

制表人：

中国标准出版社

中华人民共和国林业
行业标准
白蜡属品种鉴定技术规程
SSR 分子标记法
LY/T 3267—2021

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238
读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

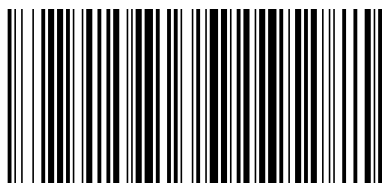
*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 27 千字
2021年12月第一版 2021年12月第一次印刷

*

书号: 155066·2-36292 定价 18.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



LY/T 3267-2021



码上扫一扫 正版服务到