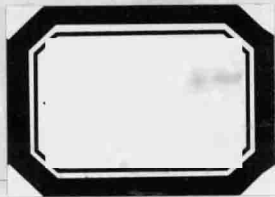




玉米品种DNA指纹 鉴定技术100问

王凤格 赵久然 田红丽 主编

中国农业科学技术出版社



玉米品种DNA指纹 鉴定技术100问

王风格 赵久然 田红丽 主编

中国农业科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

玉米品种 DNA 指纹鉴定技术 100 问 / 王凤格, 赵久然, 田红丽主编. —北京: 中国农业科学技术出版社, 2013. 12

ISBN 978-7-5116-1512-1

I. ①玉… II. ①王… ②赵… ③田… III. ①玉米—品种—脱氧核糖核酸—鉴定—问题解答 IV. ①S513.035.1-44

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 008068 号

责任编辑 贺可香

责任校对 贾晓红

出版者 中国农业科学技术出版社

北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081

电 话 (010)82106638(编辑室) (010)82109704(发行部)

(010)82109709(读者服务部)

传 真 (010)82106650

网 址 <http://www.castp.cn>

经 销 者 各地新华书店

印 刷 者 北京富泰印刷有限责任公司

开 本 850mm × 1230mm 1/32

印 张 4.625

字 数 110 千字

版 次 2013 年 12 月第 1 版 2014 年 2 月第 2 次印刷

定 价 30.00 元

— 版权所有 · 翻印必究 —

《玉米品种 DNA 指纹鉴定技术 100 问》编委会

主 编:王风格 赵久然 田红丽

副主编:易红梅 葛建镭 杨 扬 张冬晓
孙世贤 支巨振

参与编写人员:

江 彬 任 洁 宋 伟 李春辉
张静梅 侯振华

前 言

根据《玉米品种 DNA 指纹鉴定技术》编辑委员会的总体出书计划,基于 DNA 指纹技术的研究应用将分 3 个阶段总结成书:第一阶段是总结 SSR 标记在玉米品种鉴定中的研究及应用;第二阶段是从 SSR 标记推进到 SNP 标记,总结 SNP 和 SSR 标记在玉米品种鉴定中的研究及应用,并对这两种标记进行系统比较;第三阶段是从品种鉴定推进到分子育种,总结 DNA 指纹技术在品种鉴定和分子育种中的研究及应用。该系列丛书将紧密跟踪玉米 DNA 指纹技术方面的研究进展,及时汇总玉米 DNA 指纹技术研究与应用的最新成果。总结第一个阶段的研究工作,已出版了《玉米品种 DNA 指纹鉴定技术—SSR 标记的研究与应用》,为了更好的推进 DNA 指纹技术的应用,配套编写了科普图书《玉米品种 DNA 指纹鉴定技术 100 问》。

自 20 世纪 90 年代以来,DNA 指纹技术逐步成为熟悉而陌生的词汇,上到政府官员,下到普通农民,提到

DNA 指纹都不再陌生,但即使从事分子检测的专业技术人员,仍有许多问题需要释疑和澄清。DNA 指纹技术在应用于玉米品种检测领域时,虽然可以借鉴人类个体鉴定和作物分子育种的研究成果,但其需要解决的问题既不同于人类个体鉴定,也不同于分子育种。鉴于此,北京市农林科学院玉米研究中心在总结十几年 DNA 指纹技术在玉米品种鉴定中的研究和应用基础上,组织专业技术人员针对经常遇到的一些困惑和问题进行解答,以推动玉米品种 DNA 指纹鉴定技术更大范围的推广应用。

本书编写过程中得到农业部种子管理局、全国农业技术推广服务中心以及农业部科技发展中心等合作单位的支持,在此表示诚挚的感谢。

本书可作为玉米种子质量检测、品种管理、品种权保护、侵权案司法鉴定、企业维权、农业科研教学等从业人员的参考书籍。由于时间仓促,难免有遗漏和不足之处,敬请专家和读者批评指正。

编 者

2013 年 12 月

目 录

第一章 品种鉴定技术的发展历程及展望	1
1. 为什么将品种分子鉴定技术也称为 DNA 指纹鉴定技术?	1
2. DNA 指纹鉴定技术的发展历程?	2
3. 适于品种鉴定的分子标记技术的特点?	5
4. 与其他标记相比,SSR 标记为什么能广泛应用于 品种 DNA 指纹鉴定中?	5
5. RAPD、AFLP 等标记技术为什么在玉米品种鉴 定中没有得到广泛应用?	6
6. SSR 技术用于 DNA 指纹鉴定过时了吗,是否会 被 SNP 技术取代?	7
7. SNP 检测平台有哪些? 有发展潜力的有 哪些?	9
8. 测序技术能否应用于品种鉴定中?	11

第二章 基础知识 13

9. 种子检验中常用的检测方法有哪些? 什么是生化标记? 什么是分子标记? 13
10. 分子标记的种类及其主要优缺点 14
11. 什么是 SSR? SSR、STR、微卫星三者的区别和联系是什么? 15
12. 什么是核心引物? 16
13. 什么是核心引物组合法? 与特征谱带法、引物组合法相比有什么区别? 16
14. 单个核心引物和一套核心引物组合筛选的原则有什么异同? 为什么有的单个引物评价较好, 但没有入选到核心引物组合中? 17
15. 引物位点的等位变异个数与多态性的关系? 19
16. 什么是共显性? 与双亲互补型标记的关系 20
17. 在农作物种子检验中经常出现的几个概念, 如参照样品、对照样品、内控样品有何区别? ... 21
18. 种子检验中的标准样品和植物新品种 DUS 测试中的标准品种是否相同? 22
19. 在分子技术领域经常出现 BIN 这个概念, 如何

理解 BIN 的含义?	22
20. 中性标记适合用于品种鉴定吗?	23
第三章 SSR 指纹鉴定技术程序	25
21. 采用玉米不同器官组织提取 DNA 对品种鉴定 有无影响?	25
22. 在玉米品种 DNA 指纹鉴定中如何选用合适的 DNA 提取方法?	26
23. 荧光毛细管电泳检测平台与普通变性聚丙烯 酰胺凝胶电泳(PAGE)检测平台相比有何 优势?	27
24. 荧光毛细管电泳和普通 PAGE 电泳检测平 台上对适合于在一起电泳的引物的选择是否 相同?	28
25. 在核心引物筛选阶段,不同的电泳检测平台对 引物评价是否存在差异?	31
26. 为什么普通 PAGE 电泳试验在夏季高温和冬季 低温季节容易出现异常?	33
27. 不同的示踪染料在不同浓度聚丙烯酰胺凝胶电 泳及琼脂糖凝胶电泳中迁移时分别代表片段 长度是多少?	34
28. 为保证分子实验结果的准确无误,	

有哪些具体措施？	35
29. 荧光毛细管电泳检测平台上特异峰与非特异峰 如何甄别？	36
30. 荧光毛细管电泳检测平台上出现的各种类型电 泳峰有哪些？	37
31. SSR 指纹数据的记录方式主要有哪几种？ ...	39
32. 如何实现普通 PAGE 电泳和荧光毛细管电泳数 据的有效整合？	42
33. 品种分子检测(主要指基于 SSR 技术的)与转 基因检测有何异同？	43
第四章 种子真实性分子鉴定	45
34. 种子真实性与品种特异性的区别和联系？ ...	45
35. 种子真实性鉴定中涉及的已知品种、临时品种 和淘汰品种各自包括哪些材料？	46
36. 目前玉米种子真实性鉴定具体需求及鉴定方式 有哪些？	47
37. 玉米品种鉴定与人类个体鉴定相比有何 特殊性？	50
38. 已进入商业化应用的人类个体识别(含亲子鉴 定)试剂盒有哪些？	52
39. 与人类个体识别试剂盒相比,玉米种子真实性	

鉴定试剂盒有何特点？	52
40. 如何借鉴人类亲子鉴定的经验开展玉米 亲子鉴定？	53
41. 真实性检测与转基因检测在控制污染方面 有何异同？	54
42. 送检样品种子纯度对真实性鉴定有何 影响？	56
43. 在差异位点判定上,所检玉米材料是杂交种还 是自交系有区别吗？	56
44. 玉米真实性检测样品制备时,有几种取样方式, 如何选择合适的取样方案？	57
45. 采用混合样品 DNA 进行品种比较时,什么情况 下需进一步放大单株检测？	59
46. 有人认为进行种子真实性鉴定时需要先剔杂再 进行检测,这种做法是否合理？	60
47. 大规模开展玉米种子真实性鉴定需具备 哪些条件？	60
48. 真实性鉴定在我国种子质量管理工作中的 应用历程？	61
49. 农业部已认定了哪些具有真实性检测能力的种 子检测机构？	61

第五章 品种纯度分子鉴定..... 63

50. 纯度鉴定与一致性鉴定的区别和联系? ... 63
51. 玉米品种(主要指单交种)一致性对种子纯度鉴定有何影响? 65
52. 适于玉米杂交种纯度鉴定的引物筛选与适于真实性鉴定的引物筛选有何异同? 66
53. 如何设计玉米单交种种子纯度鉴定的具体方案? 66
54. 适于种子纯度鉴定的引物筛选确定是针对品种还是针对特定样品? 68
55. 纯度鉴定中,固定鉴定引物组合和针对特定品种筛选特异引物哪种方案更好? 69
56. 如何保证不同检验员针对同一样品的纯度鉴定均能获得客观真实的结果? 71
57. 影响田间小区种植纯度鉴定结果的因素有哪些? 72
58. 种子发芽率对田间小区种植鉴定和室内 DNA 指纹鉴定的纯度检测结果的影响一样吗? 74
59. 玉米杂交种种子纯度鉴定时,一般要求提供制种双亲。如果出现未提供双亲,或只提供一个

亲本,或提供的亲本并非待测杂交种制种时所用亲本种子,这些情况对玉米杂交种纯度 DNA 指纹鉴定有无影响?	75
60. 玉米已知品种标准 DNA 指纹库在玉米种子纯度鉴定工作中发挥了什么作用?	76
第六章 玉米品种标准 DNA 指纹库	77
61. 玉米品种标准 DNA 指纹数据库在品种鉴定中有哪些用途?	77
62. 如何保证玉米品种标准 DNA 指纹库建库数据的准确性和完整性?	80
63. 玉米标准 DNA 指纹库采用了哪些先进技术手段保证建库工作的高效性?	81
64. 玉米品种标准 DNA 指纹库中的核心信息包括哪些?	83
65. 玉米品种标准 DNA 指纹库在数据存储内容的设计方面如何保证其实用性?	83
66. 玉米品种标准 DNA 指纹库构建中所用的数据分析软件 SSR analyser 有什么优点?	85
67. 玉米品种标准 DNA 指纹库解决了哪些以往常规检测中不易解决的问题?	86
68. 玉米 DNA 指纹数据库构建的技术难点体现在	

什么地方？	87
69. 为什么玉米品种标准 DNA 指纹数据库采集的数据是 Allele(等位变异)而不是 Size(片段大小),二者在数据统计上孰优孰劣?	88
70. 玉米品种标准 DNA 指纹库建成后在玉米真实性鉴定中发挥了什么作用?	89
71. 玉米品种标准 DNA 指纹数据库结构设计可否推广于不同作物类型和不同标记类型? ...	90
第七章 DNA 指纹分子检测标准	91
72. 我国已制定或列入制定计划的分子检测标准有哪些?	91
73. 在现行的玉米品种 DNA 指纹鉴定标准中,为什么将差异位点数作为鉴定品种之间关系的依据?	92
74. 行业标准《植物品种鉴定 DNA 指纹方法 总则》与 BMT 分子测试指南的关系?	93
75. 在总则中为什么没有推荐具体的 DNA 提取方法,但推荐了具体的电泳检测平台?	94
76. 在总则中品种鉴定所需样品分析数量是如何确定的?	95
77. 总则中差异位点是如何判定的? 与不同物种有	

关还是与不同繁殖方式有关?	97
78. 为什么要对农业行业标准《玉米品种鉴定 DNA 指纹方法》进行修订?	97
79. 我国制定的玉米品种鉴定 DNA 指纹方法标准与国际上同类标准的关系?	99
80. 在修订后的农业行业标准《玉米品种鉴定 SSR 标记法》中提供的参照品种名单是如何选取的?	100
第八章 DNA 指纹与品种权保护	103
81. UPOV 的 BMT 会议上提出的分子技术在 DUS 测试中应用的可能方案有哪些?	103
82. DNA 指纹数据库如何在品种 DUS 测试中发挥作用?	104
83. DNA 指纹数据库如何在品种侵权鉴定中发挥作用?	105
84. DNA 指纹鉴定在我国玉米品种侵权案司法鉴定实践中的应用情况?	106
85. 按照与表型的相关程度,可将分子标记分为几类?	107
86. 什么是依赖性派生品种?	108
87. 仿冒雷同品种与依赖性派生品种的	

含义一样吗?	109
88. 玉米品种权保护标准样品 DNA 指纹库 构建的历程?	109
89. UPOV 公约 1978 年文本与 1991 年文本的 主要区别?	110
90. 农业部种子执法年行动从哪年开始? 发挥了 什么作用?	111
第九章 DNA 指纹与品种区试审定	113
91. 我国将 DNA 指纹技术应用于玉米区试种子 真实性及一致性检测中的历程?	113
92. 承担国家玉米区试品种 DNA 指纹检测的 单位有哪些,具体分工如何?	115
93. DNA 指纹技术在玉米区试中应用为什么采取 了逐步推进的方式?	116
94. 国家玉米区试样品从哪年开始入库保藏? 保藏区试样品具有什么价值?	117
95. 为什么国家玉米区试中仿冒雷同品种的检出 量自 2006 年以后明显增多?	118
96. 国家玉米区试中仿冒雷同品种的主要类型 有哪些?	119
97. DNA 指纹技术引入后,国家玉米区试中同名	

更换现象是否得到有效控制?	119
98. DNA 指纹技术引入后,国家玉米区试中品种 一致性情况是否得到显著改善?	120
99. DNA 指纹技术在应用于国家玉米区试 种子真实性检测过程中是如何避免结果误 判的?	121
100. 国家玉米区试中对真实性或一致性有问题 的品种是如何处理的?	122
主要参考文献	124