

中华人民共和国林业行业标准

LY/T XXXXX—XXXX

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

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

(报批稿)

2019-11

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

国家林业和草原局 发布

## 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这些专利的责任。

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。

行业标准信息平台

# 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

基因组中由 1 个至 6 个核苷酸组成的 DNA 串联重复序列, 简称 SSR。

### 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。

- 将配制好的CTAB提取缓冲液置于65℃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℃冰箱预冷备用, 研钵需提前预冷, 使用前再用少量液氮预冷。
- 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  $\mu$ L 2%的CTAB提取液(含2%  $\beta$ -巯基乙醇), 充分混匀。在65℃的水浴锅中水浴30 min, 其间轻轻颠倒3~4次。
- 冷至室温后加入600  $\mu$ 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12 000 r/min离心10 min。
- 将上清液(约500  $\mu$ 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)。
- 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℃放置1 h, 观察沉淀生成。
- 8000 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。
- 待DNA风干后(DNA不宜过分干燥, 否则极难溶解), 用50  $\mu$ L的TE pH 8.0或超纯水溶解, 4℃放置6 h~12 h使其充分溶解。
- 加入2  $\mu$ L RNA酶10 mg/mL, 37℃水浴1 h。
- 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℃放置1到2 h, 离心, 干燥DNA, 溶于30  $\mu$ L TE中; -80℃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。

- 取2  $\mu$ 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。
- 另取3  $\mu$ 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×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。
- 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。
- 将样品DNA用TE稀释成浓度为20 ng/ $\mu$ L临时保存-20℃保存备用, 干燥DNA长期保存在-80℃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  $\mu$ 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<br>$\mu$ L |
|------------------|----------------|---------------------|
| Mix              | 2 倍            | 5                   |
| Primer (F/R)     | 10 $\mu$ M     | 0.1/0.1             |
| DNA              | 20 ng/ $\mu$ L | 1                   |
| H <sub>2</sub> O | ——             | 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℃预变性5 min。
- 95℃变性30 s，52℃退火30 s，72℃延伸30 s，95℃变性30 s，50℃退火30 s，72℃延伸30 s，共20个循环。
- 最后72℃延伸10 min，4℃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  $\mu$ L、分子量内标0.5  $\mu$ L和去离子甲酰胺9.5  $\mu$ L混匀加入PCR板。
- 在PCR仪上运行变性程序：95℃变性5 min，4℃冷却后离心，1×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  $\mu$ L Multi-Capillary DS-30加入195  $\mu$ L高纯度甲酰胺，混匀后分装到96孔板A1-H1和A2-H2孔，95℃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。

- 随机选取一引物，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）。

行业标准信息平台

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/ $\mu$ L~75 000 ng/ $\mu$ L);
- 微量可调移液器1套 (2.5 L、10  $\mu$ L、100  $\mu$ L、1 000  $\mu$ 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  $\mu$ L/min, 分离毛细管: 内径50  $\mu$ 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%)。

行业标准信息服务平台

**附 录 B**  
**(资料性)**  
**主要试剂与溶液配制**

**B.1 0.5 mol/L EDTA- $\text{Na}_2$  (pH 8.0) 溶液**

称取186.1 g 乙二胺四乙酸二钠 ( $\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 溶于800 mL 超纯水, 加入氢氧化钠 ( $\text{NaOH}$ ) 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 ( $\text{HCl}$ ) 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 ( $\text{NaCl}$ ) 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  $\beta$ -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  $\beta$ -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 °C 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 (pH8.0), 用800 mL双蒸水定容至1 L, 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)  
本文件选用的白蜡品种

本文件选用的白蜡品种见表 C.1。

表 C.1 本标准选用的白蜡品种表

| 编号  | 品种名称                                                  | 编号  | 品种名称                                             |
|-----|-------------------------------------------------------|-----|--------------------------------------------------|
| B1  | 鲁蜡 6 号, <i>Fraxinus pennsylvanica</i> ‘Lu la Liu hao’ | B11 | 地图白蜡, <i>Fraxinus excelsior</i> ‘Atlas’          |
| B2  | 金箭, <i>Fraxinus velutina</i> ‘JinJian’                | B12 | 秋欢白蜡, <i>Fraxinus americana</i> ‘Autumn Appause’ |
| B3  | 鲁蜡 1 号, <i>Fraxinus velutina</i> ‘LulaYi hao’         | B13 | 垂枝白蜡, <i>Fraxinus excelsior</i> ‘Aurea Pendula’  |
| B4  | 冬红白蜡, <i>Fraxinus angustifolia</i> ‘Dong hong’        | B14 | 柱形白蜡, <i>Fraxinus excelsior</i> ‘Skyline’        |
| B5  | 鲁蜡 2 号, <i>Fraxinus velutina</i> ‘Lula Er hao’        | B15 | 秋火白蜡, <i>Fraxinus americana</i> ‘Autumn Fire ’   |
| B6  | 红叶白蜡, <i>Fraxinus americana</i> ‘Hong Ye’             | B16 | 青碧, <i>Fraxinus velutina</i> ‘Qing Bi ’          |
| B7  | 鲁蜡 5 号, <i>Fraxinus pennsylvanica</i> ‘Lu la Wu hao’  | B17 | 华雄, <i>Fraxinus velutina</i> ‘Hua Xiong’         |
| B8  | 欧洲金叶白蜡, <i>Fraxinus excelsior</i> ‘Aurea’             | B18 | 鲁蜡 3 号, <i>Fraxinus velutina</i> ‘Lula San hao’  |
| B9  | 贾斯白蜡, <i>Fraxinus excelsior</i> ‘Jaspidea’            | B19 | 鲁蜡 4 号, <i>Fraxinus velutina</i> ‘Lu la Si hao’  |
| B10 | 秋紫白蜡, <i>Fraxinus americana</i> ‘Autumn Purple’       | 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: GATTCTCCATACATGTGCTCTCC | R: TAAAAAGTGAAACCCTTTTCGTTG | 5-FAM   | 138     | ACCGGC(6*4)  |
| U93  | F: FGAAAAGGAGGAGAGTGGAATAC | R: GCTCCATTTCACTTCAACTCTTC  | 5-FAM   | 142     | GAA(3*5)     |
| U95  | F: AGAATAGATGAGGATGAAGGGGA | R: CTAATCATCCCTCTGCGAAAC    | 5-TAMRA | 150     | GAA(3*6)     |
| U112 | F: CCATTGTCAATTTGCAGATTCTT | R: GTCTGGAATGTTGATCCTGAAA   | 5-FAM   | 141     | ATT(3*5)     |
| U120 | F: GAATGATCTGGTTGCTGAATACC | R: AGAGATTTGGACATCTGATGGAA  | 5-FAM   | 136     | GAG(3*6)     |
| U123 | F: GGACAAAATGGTTCAGAATTTCA | R: AAAGAAAGAATCAAATTCGTCGTC | 5-TAMRA | 151     | CGG(3*5)     |
| U144 | F: GATAGTGGGGGAAGAATAAGTCC | R: TCATTCCAACCTCAATGAACTCCT | 5-HEX   | 104     | AGC(3*5)     |
| U147 | F: GGATAGTGGGGGAAGAATAAGTC | R: CTCATTCCAACCTCAATGAACTCC | 5-HEX   | 106     | AGC(3*5)     |
| U167 | F: TGAGCAAATGTGAAGACCGTAG  | R: TAATTTTCATCCACCAGTTTCCAC | 5-TAMRA | 156     | TGG(3*5)     |
| U186 | F: TCTTCACGTCTTCTGTTTGTCA  | R: GAAAACGTGTGAATGAGTTTGGT  | 5-HEX   | 114     | GTAAGAA(6*4) |
| U187 | F: TCGATCTTTCCATCTAAACAAGC | R: AACGTGTGAATGAGTTTGGTTTT  | 5-TAMRA | 151     | GTAAGAA(6*4) |
| U202 | F: AGTTTTACCGCTTTTCAGTGTTA | R: GGGAATGAACATGAGTTTCAGTA  | 5-HEX   | 113     | GTG(3*5)     |
| U203 | F: GTTATCAGTAGATGCAACCGCAC | R: AACACCGGTTTTCAACATTTCT   | 5-TAMRA | 154     | GTG(3*5)     |
| U208 | F: CCTCCTATTGAATCATTCGCTTA | R: ATTTTGATTTCCCTCCTCTGAAG  | 5-FAM   | 141     | CAA(3*5)     |
| U213 | F: GACAACATGCCTAAATTGGACTC | R: AATTCTGAACTTCAAGGTGGGAT  | 5-HEX   | 92      | CGG(3*5)     |
| U217 | F: TTATGATAGAATGGTCCTCCCT  | R: TTGTTTTGGCATTCTTTTTGTT   | 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。

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 | 0.1225 | 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  | 0.0225 | 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 | 0.1225 | 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 | 0.0025 | 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    | 0.1225 | 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    | 0.1225 | 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  | 0.0225 | 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  | 0.1225 | 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  | 0.0025 | 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  | 0.1225 | 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  | 0.0025 | 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 | 0.1225 | 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 | 0.0025 | 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  | 0.0225 | 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        |  |        |  |

制表人：审核人：批准人：