**《粳稻品种真实性和纯度SSR分子标记检测法》编制说明**

**一、目的意义**

DNA指纹鉴定是农作物品种真实性鉴定重要手段。通过对品种进行DNA鉴定进而构建DNA指纹库，有利于加强种子管理、保障种子市场公平竞争、保护农民合法权益以及保障品种审定的公平公正、提升品种创新能力。2015年4月，农业部从战略角度印发了《农作物品种DNA身份鉴定体系构建实施方案》（农办种[2015]18号），要求“各省级农业行政主管部门高度重视，积极支持，提前谋划并做好相关准备工作，加快推进品种DNA身份鉴定体系构建及推广应用”。《主要农作物品种审定办法》（中华人民共和国农业部令2016年 第4号）明确DNA指纹检测是区域试验必选项之一。

农业部先后于2007和2014年发布了《水稻品种鉴定技术规程SSR标记法》（NY/T 1433-2007，NY/T 1433-2014）农业行业标准，2021年发布了国家标准《主要农作物品种真实性和纯度SSR分子标记检测 稻》（GB/T39917-2021）。然而，由于江苏水稻大多数为粳稻，地域性明显，品种间的遗传基础相对狭窄，尤其是粳稻品种间的基因组差异明显不同于籼稻品种间的基因组差异，这预示上述标准可能不完全适用于江苏粳稻品种鉴定。在连续多年的检测实践中，我们确实发现，不少农艺表型明显不同的品种无法用《NY/T 1433-2014》和《GB/T39917-2021》标准中推荐的48对引物进行鉴别。这表明相关标准对江苏粳稻品种的鉴定效率不高，这将造成一些侵权套牌的违法违规品种在新品种试验或种子市场监管中得不到及时查处，影响了市场监督管理效率和从事品种原始创新的信心。为此，本项目依据江苏粳稻品种间的差异，在《GB/T39917-2021》48个SSR标记的基础上新增了28个对粳稻品种鉴别力强的SSR标记，并研究制定了基于76个SSR标记的“粳稻品种真实性和纯度SSR分子标记检测”标准，证实该标准可有效提高江苏粳稻品种的鉴定能力。该标准将为江苏水稻种子市场监管和新品种试验中的品种真实性或特异性鉴定提供更加可靠的检测依据，有利于打击种子市场和品种审定过程中的各种侵权套牌、徇私舞弊行为，保障江苏种业的健康有序发展，促进品种原始创新能力提升。

**二、任务来源**

本任务由江苏省农业农村厅提出，经省市场监督管理局立项批准（关于2022年度江苏省地方标准立项的公示[01400022-0/2022-00149]），立项文件名称为《水稻品种真实性鉴定SSR标记法》（项目序号：229），项目承担单位为扬州大学和江苏省种子管理站，经大量研究，起草了以《粳稻品种真实性和纯度SSR分子标记检测法》为项目名称的标准文件。

**三、编制过程**

**（1）成立起草小组。**2021年11月《省市场监管局关于组织申报2022年度江苏省地方标准项目的通知》（苏市监标函[2021]356号）标准编制任务下达后，扬州大学立即联合江苏省种子管理站，组建起草小组，组织相关技术人员对标准的格式、条款、涉及的内容等进行研讨、分工，组织编写标准草案及项目申报书，按时完成申报，并于2022年5月经省市场监督管理局立项批准。

**（2）编制草案。**扬州大学前期经过大量研究筛选，初步确定了适用于江苏水稻品种鉴定的79个SSR标记，成立起草小组后，为了进一步验证初步推荐的79对标记，于2022~2023年，进一步对江苏近30年审定的230个粳稻品种进行标记基因型检测分析，基于研究结果，最终确定了76对推荐标记，起草了《水稻品种真实性和纯度SSR分子标记检测》（草案）。

**（3）广泛征求意见**。在前期研究的基础上，起草小组形成《水稻品种真实性和纯度SSR分子标记检测》（征求意见稿）。2024年3月，编制单位广泛征求省内外从事水稻育种工作的企/事业单位意见，包括江苏省农业科学院、南京农业大学、江苏里下河地区农业科学研究所、苏州市农业科学院、江苏省农垦农业发展股份有限公司、中国水稻研究所等单位，并以省内从事育种工作的事业单位为主（12个）。共收到17个单位的共20位专家的反馈意见，共收到意见120条，其中采纳意见86条、部分采纳6条、不予采纳28条，部分采纳和不予采纳意见的理由也在标准征求意见汇总处理表中加以说明。编制单位对收集的有关建议和意见进行逐条分析与修改，进一步完善标准，于2024年4月形成了《水稻品种真实性和纯度SSR分子标记检测》（送审稿）。

**（4）标准送审完善。**2024年7月27日，省市场监督管理局委托江苏省农作物标准化技术委员会组织专家对《水稻品种真实性和纯度SSR分子标记检测》（送审稿）进行审查。专家组听取编制组关于标准编制情况的汇报，提出了修改建议。编制组严格按照专家的意见和建议，对标准送审稿进行了修改完善，形成《粳稻品种真实性和纯度SSR分子标记检测法》（报批稿）。

**四、主要内容技术指标确定**

（1）**用于江苏水稻品种真实性鉴定标记的初步筛选**

本项目立项前期利用12个代表性粳稻品种为材料，从714个SSR标记中筛选到121个多态性标记，连同《NY/T-1433-2014》中的32个多态性标记共计153个评价了江苏46个粳稻品种的遗传多样性，结合标记的多态性及其在染色体上的分布，初步确定了52个核心标记用于江苏水稻品种鉴定，利用计算机模拟发现，能够有效区分这46个品种的最少标记数为35个。由表1可知，《NY/T-1433-2014》中的48个标记在46个供试品种共检测到77个等位基因，平均为1.94个，各标记检测到的等位基因数在1~5之间，其中有16个标记在供试品种间没有多态性，均只有1个等位基因，PIC值超过0.3的标记有18个，超过0.5的标记只有5个。然而，筛出的52个核心标记累计检测到132个等位基因，明显高于2014行标中的48个标记检测到的等位基因数，各标记检测到的等位基因数为2~4个，平均为2.54，有32个标记PIC在0.3以上，其中13个在0.5以上（表2）。根据Botstein等的方法界定：当PIC>0.5时，该位点为高度多态性位点，0.25≤PIC≤0.5时为中度多态性位点，PIC<0.25时为低度多态性位点，因此，总体而言，相比于行标2014版中的绝大多数标记，本项目前期开发的52个标记位点在江苏粳稻品种间具有更高的变异性，有利于提高对江苏粳稻品种的鉴定能力（左示敏等，SSR标记在江苏粳稻品种鉴定中的应用研究，扬州大学学报，2014，35：46-51）。

考虑到上述鉴别样品品种数较少，而实际鉴定的样品数量较多、亲缘关系可能更近，同时考虑到检测结果与《NY/T-1433-2014》《GB/T39917-2021》接轨，以及考虑各标记在染色体上的分布均匀度、标记扩增等位基因数及PIC值，本项目选择了《NY/T-1433-2014》《GB/T39917-2021》中48个标记以及筛选到的52个核心标记中多态性较好、PIC值较高的31个标记，共计79个标记作为本标准初步推荐标记。

**表1 《NY/T-1433-2014》中的48个标记在46个粳稻品种中的等位基因数和PIC**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Chr. | 引物 | 等位基因数 | PIC | | Chr. | 引物 | 等位基因数 | PIC |
| 1 | RM1195\* | 2 | 0.48 | 6 | | RM253\* | 3 | 0.30 |
| 1 | RM490 | 3 | 0.23 | 6 | | RM176 | 2 | 0.08 |
| 1 | RM583 | 2 | 0.27 | 7 | | RM481 | 5 | 0.57 |
| 1 | RM493 | 2 | 0.29 | 7 | | RM542 | 3 | 0.48 |
| 1 | RM443 | 1 | 0.00 | 7 | | RM432 | 1 | 0.00 |
| 2 | RM423 | 1 | 0.00 | 7 | | RM336\* | 3 | 0.57 |
| 2 | RM71\* | 1 | 0.00 | 8 | | RM72\* | 2 | 0.50 |
| 2 | RM424 | 1 | 0.00 | 8 | | RM331 | 2 | 0.36 |
| 2 | RM561 | 3 | 0.41 | 8 | | RM339 | 1 | 0.00 |
| 2 | RM208\* | 2 | 0.47 | 9 | | RM316 | 2 | 0.50 |
| 3 | RM231 | 1 | 0.00 | 9 | | RM219\* | 2 | 0.04 |
| 3 | RM232\* | 2 | 0.38 | 9 | | RM278\* | 1 | 0.00 |
| 3 | RM8277 | 3 | 0.46 | 9 | | OSR28 | 2 | 0.08 |
| 3 | RM571 | 1 | 0.00 | 10 | | RM311\* | 2 | 0.14 |
| 3 | RM85\* | 1 | 0.00 | 10 | | RM258\* | 1 | 0.00 |
| 4 | RM551 | 2 | 0.08 | 10 | | RM590 | 1 | 0.00 |
| 4 | RM471 | 2 | 0.16 | 11 | | RM332 | 2 | 0.23 |
| 4 | RM119 | 1 | 0.00 | 11 | | RM209\* | 3 | 0.48 |
| 4 | RM567 | 2 | 0.27 | 11 | | RM21 | 2 | 0.50 |
| 5 | RM267\* | 1 | 0.00 | 11 | | RM224\* | 3 | 0.33 |
| 5 | RM289 | 2 | 0.04 | 12 | | RM19\* | 3 | 0.47 |
| 5 | RM598 | 1 | 0.00 | 12 | | RM7102 | 3 | 0.48 |
| 5 | RM274\* | 1 | 0.00 | 12 | | RM3331 | 2 | 0.47 |
| 6 | RM190\* | 2 | 0.04 | 12 | | RM17\* | 2 | 0.24 |

**表2 用于江苏粳稻品种鉴定的52个核心标记的等位基因数及PIC**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Chr. | 引物名称 | 等位基因数 | PIC | Chr. | 引物名称 | 等位基因数 | PIC |
| 1 | RM490 | 3 | 0.23 | 6 | RM412 | 3 | 0.27 |
| 1 | RM493 | 2 | 0.29 | 7 | RM5499 | 2 | 0.45 |
| 1 | RM3825 | 3 | 0.54 | 7 | RM5711 | 4 | 0.58 |
| 1 | RM9 | 2 | 0.34 | 7 | RM6872 | 2 | 0.49 |
| 1 | RM1331 | 3 | 0.36 | 7 | RM3799 | 2 | 0.04 |
| 1 | RM283 | 3 | 0.33 | 8 | RM5808 | 3 | 0.52 |
| 2 | RM3858 | 3 | 0.57 | 8 | RM547 | 4 | 0.75 |
| 2 | RM5472 | 3 | 0.62 | 8 | RM6948 | 2 | 0.04 |
| 2 | RM1358 | 2 | 0.44 | 8 | RM22825 | 2 | 0.29 |
| 2 | ZY24.5-2-6 | 3 | 0.50 | 8 | RM5485 | 2 | 0.48 |
| 2 | RM6378 | 3 | 0.63 | 9 | OSR28 | 2 | 0.08 |
| 3 | LG25.4-3-1 | 2 | 0.49 | 9 | ZY5.1-9-1 | 2 | 0.39 |
| 3 | RM5924 | 2 | 0.17 | 9 | WY13.3-9 | 2 | 0.50 |
| 3 | RM3297 | 2 | 0.45 | 10 | RM311 | 2 | 0.14 |
| 3 | RM218 | 3 | 0.23 | 10 | RM5689 | 3 | 0.25 |
| 4 | RM1388 | 3 | 0.08 | 10 | RM1375 | 3 | 0.59 |
| 4 | RM348 | 2 | 0.04 | 11 | RM1219 | 2 | 0.47 |
| 4 | RM1359 | 2 | 0.48 | 11 | RM5918 | 2 | 0.08 |
| 4 | XG16.6-4-1 | 2 | 0.24 | 11 | RM536 | 3 | 0.55 |
| 5 | RM289 | 2 | 0.04 | 11 | RM224 | 3 | 0.33 |
| 5 | RM31 | 3 | 0.56 | 12 | RM27808 | 2 | 0.47 |
| 5 | RM1115 | 2 | 0.04 | 12 | RM6973 | 2 | 0.42 |
| 5 | RM3796 | 3 | 0.55 | 12 | RM247 | 3 | 0.39 |
| 6 | RM585 | 3 | 0.48 | 12 | ZY15.1-12-4 | 3 | 0.47 |
| 6 | RM7193 | 4 | 0.20 | 12 | LG25.1-12-1 | 2 | 0.19 |
| 6 | RM3183 | 2 | 0.24 | 12 | RM7102 | 3 | 0.48 |

**（2）用于江苏水稻品种真实性鉴定标记的验证**

为了验证初步推荐的79对标记，本项目进一步对江苏近30年审定的230个粳稻品种进行标记基因型检测。由表3可知，总计79个标记在供试品种中共检测到599个等位基因，各标记检测到的等位基因数在3~19个之间，平均为8个；多态性标记的比例高达100%；79个SSR标记的PIC值变幅在0.009~0.813之间，平均为0.453，其中国标推荐的48个标记平均值为0.393，明显低于本项目筛选的31个标记的平均值0.545；PIC值大于0.25的标记有62个，大于0.50的有38个。本研究79个SSR位点中，高度多态性位点占比为48%，中度多态性位点占比为30%，这表明本项目采用的SSR标记在测试品种群体中具有丰富的多态性。

**表3 79个标记在233个粳稻品种中的等位基因，PIC值和Shannon指数\***

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Marker | Chr | Na | I | PIC |
| RM1331 | 1 | 6 | 0.726 | 0.347 |
| RM1195 | 1 | 5 | 1.006 | 0.591 |
| RM583 | 1 | 9 | 1.452 | 0.691 |
| RM9 | 1 | 14 | 1.742 | 0.746 |
| RM443 | 1 | 5 | 0.23 | 0.087 |
| RM3825 | 1 | 9 | 0.944 | 0.447 |
| RM490 | 1 | 9 | 1.108 | 0.539 |
| RM493 | 1 | 7 | 0.6 | 0.304 |
| RM6378 | 2 | 9 | 1.626 | 0.751 |
| RM71 | 2 | 6 | 0.426 | 0.173 |
| RM1358 | 2 | 7 | 0.826 | 0.419 |
| ZY24.5-2-6 | 2 | 13 | 1.895 | 0.807 |
| RM5472 | 2 | 7 | 1.114 | 0.588 |
| RM208 | 2 | 5 | 1.146 | 0.566 |
| RM423 | 2 | 5 | 0.19 | 0.071 |
| RM424 | 2 | 3 | 0.031 | 0.009 |
| RM561 | 2 | 4 | 0.623 | 0.321 |
| RM231 | 3 | 4 | 0.364 | 0.154 |
| RM218 | 3 | 10 | 0.79 | 0.321 |
| RM3297 | 3 | 4 | 0.655 | 0.433 |
| LG25.4-3-1 | 3 | 5 | 1.061 | 0.547 |
| RM8277 | 3 | 12 | 1.293 | 0.572 |
| RM232 | 3 | 8 | 0.882 | 0.415 |
| RM571 | 3 | 4 | 0.13 | 0.046 |
| RM85 | 3 | 8 | 1.261 | 0.608 |
| RM551 | 4 | 4 | 0.667 | 0.37 |
| XG16.6-4-1 | 4 | 6 | 0.743 | 0.373 |
| RM1359 | 4 | 8 | 1.549 | 0.721 |
| RM567 | 4 | 10 | 1.469 | 0.722 |
| RM119 | 4 | 7 | 0.586 | 0.234 |
| RM471 | 4 | 7 | 0.734 | 0.439 |
| RM3796 | 5 | 7 | 1.29 | 0.659 |
| RM1115 | 5 | 7 | 0.163 | 0.051 |
| RM598 | 5 | 4 | 0.463 | 0.212 |
| RM274 | 5 | 3 | 0.194 | 0.079 |
| RM267 | 5 | 4 | 0.201 | 0.086 |
| RM289 | 5 | 3 | 0.087 | 0.03 |
| RM190 | 6 | 5 | 0.609 | 0.319 |
| RM3183 | 6 | 6 | 1.117 | 0.638 |
| RM7193 | 6 | 11 | 1.183 | 0.536 |
| RM412 | 6 | 6 | 0.866 | 0.408 |
| RM176 | 6 | 6 | 0.627 | 0.289 |
| RM253 | 6 | 11 | 1.179 | 0.531 |
| RM5711 | 7 | 19 | 2.023 | 0.806 |
| RM6872 | 7 | 8 | 0.949 | 0.513 |
| RM542 | 7 | 8 | 1.149 | 0.591 |
| RM432 | 7 | 4 | 0.176 | 0.063 |
| RM3799N | 7 | 5 | 0.877 | 0.532 |
| RM336 | 7 | 14 | 1.511 | 0.675 |
| RM481 | 7 | 13 | 1.256 | 0.606 |
| RM547N | 8 | 16 | 1.822 | 0.781 |
| RM72 | 8 | 13 | 1.537 | 0.681 |
| RM22825 | 8 | 13 | 1.442 | 0.669 |
| RM339 | 8 | 6 | 0.746 | 0.399 |
| RM5485 | 8 | 3 | 0.72 | 0.499 |
| RM331 | 8 | 4 | 0.742 | 0.48 |
| RM316 | 9 | 5 | 0.868 | 0.467 |
| RM219 | 9 | 12 | 1.198 | 0.473 |
| WY13.3-9 | 9 | 4 | 0.945 | 0.55 |
| RM278 | 9 | 3 | 0.305 | 0.137 |
| OSR28 | 9 | 6 | 0.533 | 0.268 |
| RM311 | 10 | 9 | 1.363 | 0.631 |
| RM5689 | 10 | 16 | 1.713 | 0.742 |
| RM590 | 10 | 5 | 0.161 | 0.055 |
| RM258 | 10 | 4 | 0.35 | 0.179 |
| RM332 | 11 | 6 | 1.027 | 0.552 |
| RM5918N | 11 | 11 | 1.417 | 0.698 |
| RM536N | 11 | 9 | 0.689 | 0.283 |
| RM21 | 11 | 14 | 1.967 | 0.813 |
| RM224 | 11 | 6 | 0.873 | 0.453 |
| RM209 | 11 | 13 | 1.535 | 0.642 |
| RM6973 | 12 | 5 | 0.942 | 0.566 |
| RM19 | 12 | 8 | 1.522 | 0.757 |
| RM27808 | 12 | 10 | 1.41 | 0.686 |
| RM7102 | 12 | 8 | 1.028 | 0.574 |
| ZY15.1-12-4 | 12 | 9 | 1.252 | 0.611 |
| RM3331 | 12 | 5 | 0.842 | 0.488 |
| LG25.1-12-1N | 12 | 7 | 0.428 | 0.176 |
| RM17 | 12 | 5 | 0.818 | 0.436 |

\*Chr. 染色体; Na. 等位基因数；I. Shannon指数；PIC. 多态信息含量。

接着，分别比较统计了两类标记在粳稻和籼稻品种群体中的PIC值和扩增等位基因数（Na）值。表4显示：国标中48个SSR标记在粳稻品种群体中的PIC值变幅在0.009~0.813之间，平均为0.39；在籼稻中在0.344~0.835之间，平均为0.63。48个标记在粳稻中扩增的等位基因数在3~14个之间，平均每个标记扩增6.9个等位基因；在籼稻中扩增的等位基因范围在3~17个，平均每个标记扩增9个等位基因。表5显示：本项目开发的31个SSR标记在粳稻品种中扩增的PIC值范围在0.051~0.807之间，平均为0.545；在籼稻中的扩增的PIC范围在0.212~0.888之间，平均为0.614；31个标记在粳稻中扩增的等位基因数在3~19个之间，平均每个标记扩增出8.7个等位基因；在籼稻中扩增的等位基因数范围在2~18个，平均每个标记扩增9个等位基因。进一步对两套标记在江苏水稻品种中的PIC值和Na值进行比较，结果（表6）显示：本项目开发的31个标记在粳稻中的PIC值、Na值均显著高于48个标记，但在籼稻中，两者差异不显著。

对230份粳稻和89份籼稻品种间的遗传距离和遗传相似系数分别进行聚类分析，分别筛选出在三组相似度最高的品种，分别为：淮稻33与淮稻35，盐申稻83006与中盐稻83011，甬优6711与甬优7826。由表7可知，每组水稻的生态类型，审定年份均相同，除盐申稻83006与中盐稻83011外，其他两组均来自相同的育种单位。对三组品种间的差异标记情况进行分析（表8），发现在国标48个SSR标记中，品种淮稻33和淮稻35之间有4个位点差异，品种盐申稻83006和中盐稻83011之间有3个位点的差异，品种甬优6711与甬优7826仅存在2个位点差异。但是这三组品种在本实验室开发的31个标记位点上分别有3、5和3个位点差异。

2022年，我们在与江苏省种子站合作对江苏推广品种真实性进行鉴定中，发现一个抽检品种与标准品种“泗稻20”之间在国标48个SSR标记位点中仅存在1个位点差异（图1 A），按照国家标准推荐，这个抽检品种应该不存在真实性问题，然而，在增加我们开发的28个标记后，又发现了该抽样与标样间存在2个新的差异位点，这暗示该抽样可能不是“泗稻20”原品种（图1 A）；随后，在田间对该样品与标样进行了种植比较，发现彼此在抽穗期、穗型及株高上存在明显差异（图1 B、C）。同年，在与江苏省种子管理站合作对江苏水稻新品种特异性鉴定中，发现镇稻9049和镇稻9042两个参试品系间在国标中公布的48个SSR标记位点上仅存在1个位点差异，利用本标准检测后发现两者间还存在1个位点差异（图2 A）；在田间，我们发现这两个新品系在抽穗期上存在明显差异（图2 B），两者分属于中熟中粳和迟熟中粳两个完全熟期类型品种。这些实例表明，本标准可以有效提高江苏水稻尤其是粳稻品种的鉴定能力。

综上结果表明，进一步证明国标中推荐的48个SSR标记对江苏粳稻审定和推广品种的鉴别力是弱于本项目开发的31个标记，但在籼稻品种鉴定上彼此差异不明显。

**表4 48个标记在籼稻与粳稻中扩增的等位基因数与PIC值**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 引物名称 | Chr | Na | | PIC | |
| 粳稻 | 籼稻 | 粳稻 | 籼稻 |
| RM1195 | 1 | 5 | 6 | 0.591 | 0.558 |
| RM583 | 1 | 9 | 13 | 0.691 | 0.788 |
| RM443 | 1 | 5 | 6 | 0.087 | 0.493 |
| RM490 | 1 | 9 | 10 | 0.539 | 0.609 |
| RM493 | 1 | 7 | 16 | 0.304 | 0.769 |
| RM71 | 2 | 6 | 11 | 0.173 | 0.683 |
| RM208 | 2 | 5 | 8 | 0.566 | 0.673 |
| RM423 | 2 | 5 | 4 | 0.071 | 0.436 |
| RM424 | 2 | 3 | 8 | 0.009 | 0.722 |
| RM561 | 2 | 4 | 6 | 0.321 | 0.491 |
| RM231 | 3 | 4 | 6 | 0.154 | 0.653 |
| RM8277 | 3 | 12 | 13 | 0.572 | 0.832 |
| RM232 | 3 | 8 | 12 | 0.415 | 0.779 |
| RM571 | 3 | 4 | 6 | 0.046 | 0.592 |
| RM85 | 3 | 8 | 8 | 0.608 | 0.732 |
| RM551 | 4 | 4 | 5 | 0.37 | 0.514 |
| RM567 | 4 | 10 | 9 | 0.722 | 0.813 |
| RM119 | 4 | 7 | 10 | 0.234 | 0.653 |
| RM471 | 4 | 7 | 5 | 0.439 | 0.344 |
| RM598 | 5 | 4 | 8 | 0.212 | 0.517 |
| RM274 | 5 | 3 | 5 | 0.079 | 0.423 |
| RM267 | 5 | 4 | 4 | 0.086 | 0.586 |
| RM289 | 5 | 3 | 6 | 0.03 | 0.445 |
| RM190 | 6 | 5 | 5 | 0.319 | 0.450 |
| RM176 | 6 | 6 | 5 | 0.289 | 0.496 |
| RM253 | 6 | 11 | 8 | 0.531 | 0.691 |
| RM542 | 7 | 8 | 9 | 0.591 | 0.478 |
| RM432 | 7 | 4 | 3 | 0.063 | 0.559 |
| RM336 | 7 | 14 | 14 | 0.675 | 0.772 |
| RM481 | 7 | 13 | 13 | 0.606 | 0.835 |
| RM72 | 8 | 13 | 15 | 0.681 | 0.728 |
| RM339 | 8 | 6 | 10 | 0.399 | 0.595 |
| RM331 | 8 | 4 | 6 | 0.48 | 0.435 |
| RM316 | 9 | 5 | 5 | 0.467 | 0.604 |
| RM219 | 9 | 12 | 10 | 0.473 | 0.704 |
| RM278 | 9 | 3 | 9 | 0.137 | 0.714 |
| OSR28 | 9 | 6 | 8 | 0.268 | 0.593 |
| RM311 | 10 | 9 | 10 | 0.631 | 0.829 |
| RM590 | 10 | 5 | 7 | 0.055 | 0.567 |
| RM258 | 10 | 4 | 8 | 0.179 | 0.633 |
| RM332 | 11 | 6 | 8 | 0.552 | 0.592 |
| RM21 | 11 | 14 | 17 | 0.813 | 0.777 |
| RM224 | 11 | 6 | 9 | 0.453 | 0.741 |
| RM209 | 11 | 13 | 10 | 0.642 | 0.624 |
| RM19 | 12 | 8 | 12 | 0.757 | 0.733 |
| RM7102 | 12 | 8 | 7 | 0.574 | 0.714 |
| RM3331 | 12 | 5 | 10 | 0.488 | 0.707 |
| RM17 | 12 | 5 | 8 | 0.436 | 0.593 |

**表5 31个本项目开发标记在籼稻与粳稻中的等位基因数与PIC值情况**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 引物名称 | Chr | Na | | PIC | |
| 粳稻 | 籼稻 | 粳稻 | 籼稻 |
| RM1331 | 1 | 6 | 7 | 0.347 | 0.627 |
| RM9 | 1 | 14 | 16 | 0.746 | 0.802 |
| RM3825 | 1 | 9 | 9 | 0.447 | 0.768 |
| RM6378 | 2 | 9 | 13 | 0.751 | 0.605 |
| RM1358 | 2 | 7 | 13 | 0.419 | 0.799 |
| ZY24.5-2-6 | 2 | 13 | 12 | 0.807 | 0.787 |
| RM5472 | 2 | 7 | 11 | 0.588 | 0.499 |
| RM218 | 3 | 10 | 11 | 0.321 | 0.771 |
| RM3297 | 3 | 4 | 8 | 0.433 | 0.739 |
| LG25.4-3-1 | 3 | 5 | 5 | 0.547 | 0.573 |
| XG16.6-4-1 | 4 | 6 | 5 | 0.373 | 0.415 |
| RM1359 | 4 | 8 | 9 | 0.721 | 0.660 |
| RM3796 | 5 | 7 | 8 | 0.659 | 0.583 |
| RM1115 | 5 | 7 | 5 | 0.051 | 0.550 |
| RM3183 | 6 | 6 | 3 | 0.638 | 0.405 |
| RM7193 | 6 | 11 | 7 | 0.536 | 0.645 |
| RM412 | 6 | 6 | 6 | 0.408 | 0.558 |
| RM5711 | 7 | 19 | 13 | 0.806 | 0.722 |
| RM6872 | 7 | 8 | 6 | 0.513 | 0.365 |
| RM3799N | 7 | 5 | 6 | 0.532 | 0.430 |
| RM547N | 8 | 16 | 10 | 0.781 | 0.734 |
| RM22825 | 8 | 13 | 9 | 0.669 | 0.526 |
| RM5485 | 8 | 3 | 2 | 0.499 | 0.212 |
| WY13.3-9 | 9 | 4 | 3 | 0.55 | 0.407 |
| RM5689 | 10 | 16 | 18 | 0.742 | 0.888 |
| RM5918N | 11 | 11 | 11 | 0.698 | 0.839 |
| RM536N | 11 | 9 | 9 | 0.283 | 0.686 |
| RM6973 | 12 | 5 | 7 | 0.566 | 0.552 |
| RM27808 | 12 | 10 | 14 | 0.686 | 0.822 |
| ZY15.1-12-4 | 12 | 9 | 9 | 0.611 | 0.694 |
| LG25.1-12-1N | 12 | 7 | 4 | 0.176 | 0.380 |

**表6 两类标记分别在粳稻和籼稻中检测到的等位基因数，PIC值**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  | Na | | PIC | |
|  |  | 粳稻 | 籼稻 | 粳稻 | 籼稻 |
| 48标记 | 均值 | 6.85 | 9 | 0.39 | 0.63 |
| 范围 | 3~14 | 3~17 | 0.009~0.813 | 0.344~0.835 |
|  | 总数 | 329 | 411 | 18.878 | 30.273 |
| 31标记 | 均值 | 8.71 | 9 | 0.55 | 0.61 |
| 范围 | 3~19 | 2~18 | 0.051~0.807 | 0.212~0.888 |
|  | 总数 | 270 | 269 | 16.904 | 19.044 |
| F |  | 显著 |  | 极显著 |  |

**表7 最相似品种的品种审定信息**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 品种名称 | 生态类型 | 审定年份 | 审定编号 | 育种单位 |
| 1 | 淮稻33 | 中熟中粳 | 2021 | 苏审稻20210035 | 江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所 |
| 淮稻35 | 中熟中粳 | 2021 | 苏审稻20210036 | 江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所 |
| 2 | 盐申稻83006 | 迟熟中粳 | 2021 | 苏审稻20210045 | 江苏沿海地区农业科学研究所 |
| 中盐稻83011 | 迟熟中粳 | 2021 | 苏审稻20210060 | 中国水稻研究所 |
| 3 | 甬优6711 | 籼稻 | 2020 | 苏审稻20200021 | 宁波种业股份有限公司 |
| 甬优7826 | 籼稻 | 2020 | 苏审稻20200028 | 宁波种业股份有限公司 |

**表8 最相似品种在两类标记中的差异标记**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 品种名称 | 48标记 | 31标记 |
| 淮稻33 | RM443 | LG25.4-3-1 |
| 淮稻35 | RM311 | RM1359 |
|  | RM176 | RM6973 |
|  | RM253 |  |
| 盐申稻83006 | RM311 | RM6378 |
| 中盐稻83011 | RM19 | RM3796 |
|  | RM209 | RM3183 |
|  |  | WY13.3-9 |
|  |  | ZY15.1-12-4 |
| 甬优6711 | RM8277 | RM412 |
| 甬优7826 | RM7102 | RM547 |
|  |  | RM5918 |



**图1 泗稻20品种市场抽检样品与标准样品间的差异标记位点及田间种植比较**

注：标记检测中RM208为国标标记，RM5711和RM5918为本项目开发的标记。

B

A



**图2 抽穗期明显不同的新品系“镇稻9049和镇稻9042”差异标记位点及田间表型**

注：真实性标记对比中RM9为本项目开发的标记，RM219为国标标记。

**（3）用于江苏水稻品种真实性鉴定标记的最终确定**

鉴于上述结论，本项目认为在江苏水稻尤其是粳稻品种鉴定中，有必要在国标中的48个标记数量上增加一些新标记，以提高对江苏水稻品种真实性的鉴定效果。表9可知：本项目开发的31个标记在2号、7号、12号染色体上分布数量较多，位于2号染色体上的引物RM6378与引物ZY24.5-2-6位置接近，但引物ZY24.5-2-6在粳稻中扩增的等位基因数（13）大于引物RM6378（9）；引物ZY24.5-2-6在粳稻中扩增的PIC值为0.807，大于引物RM6378的0.751；位于7号染色体上的引物RM3799N与国标引物RM336位置接近，但引物RM3799N在粳稻与籼稻中扩增的等位基因数不及国标引物RM336的一半，引物RM3799N的PIC值也低于国标引物RM336；位于12号染色体上的引物ZY15.1-12-4与引物LG25.1-12-1N距离较接近，但引物ZY15.1-12-4在粳到与籼稻中扩增的等位基因数（9）大于引物LG25.1-12-1N在粳稻（7）与籼稻（4）中扩增的等位基因数，且引物ZY15.1-12-4在粳稻与籼稻中的PIC值均明显高于引物LG25.1-12-1N。最后，结合上述鉴定结果，以及考虑各标记在染色体上的分布均匀度、标记扩增等位基因数及PIC值，认为可去除RM6378、RM3799N和LG25.1-12-1N这3个标记，最终选用国标中的48个标记（R1~R48）与剩余28个标记（R49~R76）共同组成本标准最终推荐的76个SSR标记（表10），它们在多数染色体上的分布较为均匀（图3）。利用本标准推荐的76个标记可进一步提高江苏水稻品种真实性的鉴定效率，提升种子市场中侵权冒牌品种的鉴定准确度和效率。

**表9 79个SSR标记在染色体上的数量分布**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 标记位置 | 标记总数 | 48引物个数 | 31引物个数 |
| Chr1 | 8 | 5 | 3 |
| Chr2 | 9 | 5 | 4 |
| Chr3 | 8 | 5 | 3 |
| Chr4 | 6 | 4 | 2 |
| Chr5 | 6 | 4 | 2 |
| Chr6 | 6 | 3 | 3 |
| Chr7 | 7 | 4 | 3 |
| Chr8 | 6 | 3 | 3 |
| Chr9 | 5 | 4 | 1 |
| Chr10 | 4 | 3 | 1 |
| Chr11 | 6 | 4 | 2 |
| Chr12 | 8 | 4 | 4 |

**表10 本标准推荐的76个真实性鉴定SSR标记**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 编号 | 引物名称 | 染色体 （位置 bp） | 退火温度℃ | 引物序列（5'→3'） | 标记 荧光 |
|
| R1 | RM1195 | 1  （6154147） | 55 | 正向：ATGGACCACAAACGACCTTC | FAM |
| 反向：CGACTCCCTTGTTCTTCTGG |
| R2 | RM490 | 1  （6677229） | 55 | 正向：ATCTGCACACTGCAAACACC | FAM |
| 反向：AGCAAGCAGTGCTTTCAGAG |
| R3 | RM583 | 1  （8329859） | 55 | 正向：AGATCCATCCCTGTGGAGAG | FAM |
| 反向：GCGAACTCGCGTTGTAATC |
| R4 | RM493 | 1  （12281333） | 55 | 正向：TAGCTCCAACAGGATCGACC | VIC |
| 反向：GTACGTAAACGCGGAAGGTG |
| R5 | RM443 | 1  （28340457） | 55 | 正向：GATGGTTTTCATCGGCTACG | FAM |
| 反向：AGTCCCAGAATGTCGTTTCG |
| R6 | RM423 | 2  （3836868） | 55 | 正向：AGCACCCATGCCTTATGTTG | FAM |
| 反向：CCTTTTTCAGTAGCCCTCCC |
| R7 | RM71 | 2  （8760538） | 55 | 正向：CTAGAGGCGAAAACGAGATG | VIC |
| 反向：GGGTGGGCGAGGTAATAATG |
| R8 | RM424 | 2  （11389926） | 55 | 正向：TTTGTGGCTCACCAGTTGAG | NED |
| 反向：TGGCGCATTCATGTCATC |
| R9 | RM561 | 2  （18769990） | 55 | 正向：GAGCTGTTTTGGACTACGGC | FAM |
| 反向：GAGTAGCTTTCTCCCACCCC |
| R10 | RM208 | 2  （35141667） | 55 | 正向：TCTGCAAGCCTTGTCTGATG | PET |
| 反向：TAAGTCGATCATTGTGTGGACC |
| R11 | RM231 | 3  （2454259） | 55 | 正向：CCAGATTATTTCCTGAGGTC | PET |
| 反向：CACTTGCATAGTTCTGCATTG |
| R12 | RM232 | 3  （9755758） | 55 | 正向：CCGGTATCCTTCGATATTGC | PET |
| 反向：CCGACTTTTCCTCCTGACG |
| R13 | RM8277 | 3  （28811831） | 55 | 正向：AGCACAAGTAGGTGCATTTC | NED |
| 反向:ATTTGCCTGTGATGTAATAGC |
| R14 | RM571 | 3  （33157686） | 55 | 正向：GGAGGTGAAAGCGAATCATG | FAM |
| 反向：CCTGCTGCTCTTTCATCAGC |
| R15 | RM85 | 3  （36348225） | 55 | 正向：CCAAAGATGAAACCTGGATTG | FAM |
| 反向：GCACAAGGTGAGCAGTCC |
| R16 | RM551 | 4  （178251） | 55 | 正向：AGCCCAGACTAGCATGATTG | FAM |
| 反向GAAGGCGAGAAGGATCACAG |
| R17 | RM471 | 4  （18996871） | 55 | 正向：ACGCACAAGCAGATGATGAG | VIC |
| 反向：GGGAGAAGACGAATGTTTGC |
| R18 | RM119 | 4  （21414514） | 67 | 正向：CATCCCCCTGCTGCTGCTGCTG | PET |
| 反向：CGCCGGATGTGTGGGACTAGCG |
| R19 | RM567 | 4  （34718825） | 55 | 正向:ATCAGGGAAATCCTGAAGGG | FAM |
| 反向:GGAAGGAGCAATCACCACTG |
| R20 | RM267 | 5  （2881456） | 55 | 正向：TGCAGACATAGAGAAGGAAGTG | NED |
| 反向：AGCAACAGCACAACTTGATG |
| R21 | RM289 | 5  （7807871） | 55 | 正向：TTCCATGGCACACAAGCC | PET |
| 反向：CTGTGCACGAACTTCCAAAG |
| R22 | RM598 | 5  （16811549） | 55 | 正向：GAATCGCACACGTGATGAAC | PET |
| 反向：ATGCGACTGATCGGTACTCC |
| R23 | RM274 | 5  （26910926） | 55 | 正向：CCTCGCTTATGAGAGCTTCG | VIC |
| 反向：CTTCTCCATCACTCCCATGG |
| R24 | RM253 | 6  （5426496） | 55 | 正向：TCCTTCAAGAGTGCAAAACC | PET |
| 反向：GCATTGTCATGTCGAAGCC |
| R25 | RM190 | 6  （1765636） | 55 | 正向：CTTTGTCTATCTCAAGACAC | VIC |
| 反向：TTGCAGATGTTCTTCCTGATG |
| R26 | RM176 | 6  （30266435） | 67 | 正向：CGGCTCCCGCTACGACGTCTCC | NED |
| 反向：AGCGATGCGCTGGAAGAGGTGC |
| R27 | RM481 | 7  （2876164） | 55 | 正向：TAGCTAGCCGATTGAATGGC | FAM |
| 反向：CTCCACCTCCTATGTTGTTG |
| R28 | RM542 | 7  （12713066） | 55 | 正向：TGAATCAAGCCCCTCACTAC | FAM |
| 反向：CTGCAACGAGTAAGGCAGAG |
| R29 | RM432 | 7  （18959591） | 55 | 正向：TTCTGTCTCACGCTGGATTG | PET |
| 反向：AGCTGCGTACGTGATGAATG |
| R30 | RM336 | 7  （21872197） | 55 | 正向：CTTACAGAGAAACGGCATCG | VIC |
| 反向：GCTGGTTTGTTTCAGGTTCG |
| R31 | RM72 | 8  （6763704） | 55 | 正向：CCGGCGATAAAACAATGAG | NED |
| 反向：GCATCGGTCCTAACTAAGGG |
| R32 | RM331 | 8  （12295421） | 55 | 正向：GAACCAGAGGACAAAAATGC | NED |
| 反向：CATCATACATTTGCAGCCAG |
| R33 | RM339 | 8  （17945059） | 55 | 正向：GTAATCGATGCTGTGGGAAG | VIC |
| 反向：GAGTCATGTGATAGCCGATATG |
| R34 | RM316 | 9  （1072098） | 55 | 正向：CTAGTTGGGCATACGATGGC | VIC |
| 反向：ACGCTTATATGTTACGTCAAC |
| R35 | RM219 | 9  （7888399） | 55 | 正向：CGTCGGATGATGTAAAGCCT | FAM |
| 反向：CATATCGGCATTCGCCTG |
| R36 | RM278 | 9  （19320429） | 55 | 正向：GTAGTGAGCCTAACAATAATC | NED |
| 反向：TCAACTCAGCATCTCTGTCC |
| R37 | OSR28 | 9  （19788731） | 55 | 正向：AGCAGCTATAGCTTAGCTGG | NED |
| 反向：ACTGCACATGAGCAGAGACA |
| R38 | RM311 | 10  （9818761） | 50 | 正向：TGGTAGTATAGGTACTAAACAT | VIC |
| 反向：TCCTATACACATACAAACATAC |
| R39 | RM258 | 10  （18085610） | 55 | 正向：TGCTGTATGTAGCTCGCACC | VIC |
| 反向：TGGCCTTTAAAGCTGTCGC |
| R40 | RM590 | 10  （23114803) | 55 | 正向：CATCTCCGCTCTCCATGC | PET |
| 反向：GGAGTTGGGGTCTTGTTCG |
| R41 | RM209 | 11  （18274582） | 55 | 正向：ATATGAGTTGCTGTCGTGCG | VIC |
| 反向：CAACTTGCATCCTCCCCTCC |
| R42 | RM21 | 11  （19173027） | 55 | 正向：ACAGTATTCCGTAGGCACGG | PET |
| 反向：GCTCCATGAGGGTGGTAGAG |
| R43 | RM224 | 11  （27673250） | 55 | 正向：ATCGATCGATCTTCACGAGG | NED |
| 反向：TGCTATAAAAGGCATTCGGG |
| R44 | RM332 | 11  （2844306） | 55 | 正向：GCGAAGGCGAAGGTGAAG | FAM |
| 反向：CATGAGTGATCTCACTCACCC |
| R45 | RM19 | 12  （2433077） | 55 | 正向：CAAAAACAGAGCAGATGAC | FAM |
| 反向：CTCAAGATGGACGCCAAGA |
| R46 | RM7102 | 12  （13214146） | 55 | 正向：CGGCTTGAGAGCGTTTTTAG | FAM |
| 反向：TACTTGGTTACTCGGGTCGG |
| R47 | RM3331 | 12  （23494475） | 50 | 正向：CCTCCTCCATGAGCTAATGC | FAM |
| 反向：AGGAGGAGCGGATTTCTCTC |
| R48 | RM17 | 12  （26988413） | 55 | 正向：TGCCCTGTTATTTTCTTCTCTC | NED |
| 反向：GGTGATCCTTTCCCATTTCA |
| R49 | RM1331 | 1  （1670278） | 55 | 正向：CACCAGCTTCATGCATGC | FAM |
| 反向：AGCACTCAACTGATGCAGTG |
| R50 | RM9 | 1  （23326225） | 55 | 正向：GGTGCCATTGTCGTCCTC | VIC |
| 反向：ACGGCCCTCATCACCTTC |
| R51 | RM3825 | 1  （36471203） | 55 | 正向：AAAGCCCCCAAAAGCAGTAC | VIC |
| 反向：GTGAAACTCTGGGGTGTTCG |
| R52 | ZY24.5-2-6 | 2  （5126573） | 55 | 正向：CACTCCTACTTCCTCCGTT | FAM |
| 反向：AGGCGTGATGTTCTACTGTTA |
| R53 | RM1358 | 2  （10185685） | 55 | 正向：GATCGATGCAGCAGCATATG | NED |
| 反向：ACGTGTGGCTGCTTTTGC |
| R54 | RM5472 | 2  （30643072） | 55 | 正向：CACTCAAGACCAGACCTGTACG | PET |
| 反向：CGGCACGTCATTGTAGTGAC |
| R55 | RM218 | 3  （8406429） | 55 | 正向：TGGTCAAACCAAGGTCCTTC | FAM |
| 反向：GACATACATTCTACCCCCGG |
| R56 | RM3297 | 3  （13289444） | 55 | 正向：CTCGTACTCCTCTTCCACCG | VIC |
| 反向：GTAACCTAGCTGCCCCTTCC |
| R57 | LG25.4-3-1 | 3  （25378971） | 55 | 正向：AACTGAATAATAAGCCAACC | PET |
| 反向：AGAATGCTCTGAGGGATGT |
| R58 | XG16.6-4-1 | 4  （15247546） | 55 | 正向：AAAGTGTCCCAGTCCATT | FAM |
| 反向：CCTTTACTCGCCAGATGC |
| R59 | RM1359 | 4  （20032557） | 55 | 正向：CTCGCGAGGAAGAAGACAAC | PET |
| 反向：CGCCGGCTGGTTAATTAATC |
| R60 | RM3796 | 5  （488187） | 55 | 正向：ATTAGCCTTTAATTCCACTG | FAM |
| 反向：ATACAAACAAACAGCTTGTG |
| R61 | RM1115 | 5  （14816294） | 55 | 正向：GCTGCAATTTATACCGGAGG | PET |
| 反向：AGCCACCACCATCTATCTGC |
| R62 | RM3183 | 6  （12448177） | 55 | 正向：GCTCCACAGAAAAGCAAAGC | VIC |
| 反向：TGCAACAGTAGCTGTAGCCG |
| R63 | RM7193 | 6  （20258707） | 55 | 正向：ATGTGGGAATTTCTAGCCCC | NED |
| 反向：CCCTAGTTTTCCAAATGGCC |
| R64 | RM412 | 6  （30328850） | 55 | 正向：CACTTGAGAAAGTTAGTGCAGC | FAM |
| 反向：CCCAAACACACCCAAATAC |
| R65 | RM5711 | 7  （3142306） | 55 | 正向：GTCCATGCATCCATCTCTAG | FAM |
| 反向：ACGGAAGGAATACGTCTGTA |
| R66 | RM6872 | 7  （4660489） | 55 | 正向：GGATGAACACTGATGATGGC | FAM |
| 反向：ACCTCCACCACGATATCCAC |
| R67 | RM547N | 8  （5592401） | 55 | 正向：GTCAAGATCATCCTCGTAGC | NED |
| 反向：TGTCGATTGTATCAGTTTGG |
| R68 | RM22825 | 8  （11759304） | 55 | 正向：AGCACATCACAAACCTACCCTACC | VIC |
| 反向：CCTAATTAATCCCGCGGAACC |
| R69 | RM5485 | 8  （24072903） | 55 | 正向：CTTCCACAAGCTTGGCTAGG | PET |
| 反向：AATGCCATCCCCTACTCATG |
| R70 | WY13.3-9 | 9  （13265227） | 55 | 正向：CTGACTCCGACATCCGAAAC | FAM |
| 反向：AACCCTGGCAAGTAGTAAAG |
| R71 | RM5689 | 10  （13554862） | 55 | 正向：GCACATGGTGAGACGTCCTC | FAM |
| 反向AAGTCCTGTAGTAGGTCACACCG |
| R72 | RM5918N | 11  （3025975） | 55 | 正向：AAAGGAAAGCCACAGAAGTG | NED |
| 反向：TTGCAACCAGGTTGGTAAGA |
| R73 | RM536N | 11  （8990595） | 55 | 正向：ACATGCACCAGAGTTCATAAT | FAM |
| 反向：TTTCTTTGCTCAGACCTTACA |
| R74 | RM27808 | 12  （7358562） | 55 | 正向:GGAAGTGCCCGATTAGTATAGG | FAM |
| 反向:ATCACCTACTACCTCCATTTCAGG |
| R75 | ZY15.1-12-4 | 12  （24434567） | 55 | 正向：TAACGGTTGGATGTTTTGCT | FAM |
| 反向：AGAGTTTTCGATGCTTTGAT |
| R76 | RM6973 | 12  （694000） | 55 | 正向：CAACTCCAGCTTCGCCAAC | VIC |
| 反向：CGGCCACACCTAAATAAACG |

图片包含 图表

描述已自动生成

**图3 76个SSR标记在水稻12条染色体上的位置分布图（蓝色为国标推荐引物）**

**五、与相关法律法规和相关标准关系**

**（一）本标准制定符合相关法律法规**

本标准按照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，标准内容符合《中华人民共和国种子法》、农业农村部《主要农作物品种审定办法》和《江苏省种子条例》、《江苏省主要农作物品种审定规定》等法律法规的规定范畴。

**（二）与国家标准（GB/T39917-2021）间的相互关系**

**1、本标准为国家标准（GB/T39917-2021）的进一步发展**

《主要农作物品种真实性和纯度SSR分子标记检测 稻》（GB/T39917-2021）（以下简称“国标”）是当前用于我国水稻品种和纯度鉴定的国家标准，本标准是参照该标准制定的，采用该标准中规定的相同检测流程、仪器平台、数据分析和报告填写等方法和要求，两者间的主要差别是用于鉴定的引物数量不同。国标 “5.2.1 真实性鉴定”中明确指出“经比较后仍与已知品种存在没有位点差异而无法得出结论的，允许采用其他能够区分的SSR分子标记进行检测”。本标准即是针对该问题，研制出了对江苏粳稻品种具有较强鉴别力的额外28个SSR标记，进而利用其与国标中的48个标记共同组成了更适用于江苏粳稻品种真实性和纯度鉴定的SSR分子标记检测标准。

**2、在具体使用中本标准为国家标准（GB/T39917-2021）的进一步补充，检测结果间的衔接性好**

在品种真实性验证中，检测对引物的数量要求不高，但是本标准要求首先采用国标中的48对引物进行检测，如果检测无法判定“否定”结果，再采用本标准新提出的28对引物进行检测；如果达到判定“否定”结果的，即可终止检测。在品种真实性身份鉴定中，检测对引物的数量要求高，但是本标准要求所有76对引物均需检测，这包含了国标中的48对引物。在品种纯度检测中，检测的关键是要筛选到能鉴别异型个体的引物，本标准提供的引物数量相较于国标额外增加了28对，引物的筛选余地更大。因此，在三种具体使用场景中，本标准的检测结果均是国标检测结果的进一步补充，结果间不存在矛盾冲突，衔接性好。

**六、重大分歧意见处理情况**

无。

**七、推广实施建议**

本标准应用于江苏范围内粳稻品种真实性和纯度鉴定、江苏省粳稻新品种中间试验DNA指纹鉴定以及江苏审定水稻品种DNA指纹数据库构建等方面。

本标准适宜在江苏省范围内推广应用，计划从以下几个方面加快本标准的推广应用：

1. **宣传介绍**

在2024和2025年度的水稻新品种试验总结会上，标准起草单位扬州大学相关负责人将争取在总结会上，就本标准的研发缘由、研发过程、使用注意事项、与国标间的相互关系等方面，对江苏省内主要育种单位、种业企业、种子管理部门等参会人员进行汇报介绍，确保本标准尽快得到同行认可。

1. **技术培训**

标准起草单位扬州大学，拟向省内相关单位组织定期和不定期的检测技术培训和指导，确保本标准检测方法易懂、易操作。

1. **应用约束**

标准起草单位江苏省种子管理站，拟在江苏粳稻品种真实性和纯度的市场监管、新品种审定试验中指定要求增加本标准的使用，确保本标准得到快速推广应用。

1. **经费争取**

标准起草单位，拟向江苏省市场监督管理局、江苏省农业农村厅种业处等单位部门申请本标准扩大推广实施的相关经费，尤其是向农业农村厅种业处或科教处申请利用本标准构建江苏新审定和推广粳稻品种DNA指纹数据库的相关经费，解决本标准在进一步扩大推广实施过程中的经费问题，加速标准的推广实施。

**八、废止现行有关标准的建议**

无。

**九、其他应予说明的事项**

无。

**十、起草人员分工情况**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **序号** | **姓名** | **单位** | **项目分工** |
| 1 | 冯志明 | 扬州大学 | 组织协调、标准设计、标准撰写 |
| 2 | 左示敏 | 扬州大学 | 标准设计、标准优化、征求意见 |
| 3 | 陈宗祥 | 扬州大学 | 标准起草与修改完善 |
| 4 | 宋锦花 | 江苏省种子管理站 | 标准涉及的技术、指标确定 |
| 5 | 杨华 | 江苏省种子管理站 | 标准修改完善、粳稻品种搜集 |
| 6 | 方明奎 | 江苏省种子管理站 | 标准涉及的技术、指标确定 |
| 7 | 沈雨晴 | 扬州大学 | 分子标记开发和初步筛选 |
| 8 | 吕甜 | 扬州大学 | 分子标记的最终确定 |
| 9 | 高鹏 | 扬州大学 | 分子标记开发和初步筛选 |
| 10 | 纪萌萌 | 扬州大学 | 分子标记的验证 |
| 11 | 杜海波 | 扬州大学 | 分子标记的验证 |