

# 团体标准

## 普通菜豆地方资源指纹图谱构建 方法

### 编制说明

《普通菜豆地方资源指纹图谱构建方法》小组

二〇二六年三月

## 目录

一、工作简况 .....	1
二、标准编制原则和主要内容 .....	2
三、主要试验和情况分析 .....	9
四、标准中涉及专利的情况 .....	9
五、预期达到的效益（经济、效益、生态等），对产业发展的作用 .....	9
六、与有关的现行法律、法规和强制性国家标准的关系 .....	9
七、重大意见分歧的处理依据和结果 .....	9
八、标准性质的建议说明 .....	10
九、贯彻标准的要求和措施建议 .....	10
十、废止现行相关标准的建议 .....	10
十一、其他应予说明的事项 .....	10

# 《普通菜豆地方资源指纹图谱构建方法》团体标准编制说明

## 一、工作简况

### （一）任务来源

我国普通菜豆地方资源丰富、遗传多样性高，是育种与产业发展的核心种质基础。长期以来，因缺乏统一规范的指纹图谱构建技术标准，各机构在标记选择、实验流程、数据判定等环节差异显著，导致资源鉴定结果难以互认、亲缘关系分析偏差大、品种权保护与种子监管缺乏精准技术支撑；同时，传统形态鉴定易受环境影响、周期长、准确性低，分子标记应用混乱、数据碎片化，难以满足资源精准鉴定、遗传多样性评估及种质创新的迫切需求，亟需标准化方法规范技术体系。

《普通菜豆地方资源指纹图谱构建方法》旨在统一普通菜豆地方资源指纹图谱构建的技术流程、核心标记、操作规范与结果判定准则，解决技术应用碎片化、结果不可比问题；为资源精准鉴定、遗传多样性分析、品种真实性与纯度检测、品种权保护提供统一技术依据，提升种质资源管理效率与利用水平；推动地方资源保护、精准育种及产业高质量发展，保障菜豆种业安全与市场监管的科学性、权威性。

### （二）编制过程

为使本标准在普通菜豆地方资源指纹图谱构建应用工作中起到规范信息化管理作用，标准起草工作组力求科学性、可操作性，以科学、谨慎的态度，在对我国现有普通菜豆地方资源指纹图谱构建相关应用体系文件、模式基础上，经过综合分析、充分验证资料、反复讨论研究和修改，最终确定了本标准的主要内容。

标准起草工作组在标准起草期间主要开展工作情况如下：

#### 1、项目立项及理论研究阶段

标准起草组成立伊始就对国内外普通菜豆地方资源指纹图谱构建应用技术相关情况进行了深入的调查研究，同时广泛搜集相关标准和国外技术资料，进行了大量的研究分析、资料查证工作，确定了普通菜豆地方资源指纹图谱构建应用技术现存问题，结合现有实际应用经验，为标准起草奠定了基础。标准起草组进一步研究了普通菜豆地方资源指纹图谱构建应用技术需要具备的技术条件，明确了技术要求和指标，为标准的具体起草指明了方向。

## **2、标准起草阶段**

在理论研究基础上，起草组在标准编制过程中充分借鉴已有的理论研究和实践成果，基于我国市场行情，经过数次修订，形成了《普通菜豆地方资源指纹图谱构建方法》标准草案。

## **3、标准征求意见阶段**

形成标准草案之后，起草组召开了多次专家研讨会，从标准框架、标准起草等角度广泛征求多方意见，从理论完善和实践应用多方面提升标准的适用性和实用性。经过理论研究和方法验证，起草组形成了《普通菜豆地方资源指纹图谱构建方法》（征求意见稿）。

### **（三）主要起草单位及起草人所做的工作**

#### **1、主要起草单位**

中国长城绿化促进会、云南省农业科学院粮食作物研究所等多家单位的专家成立了规范起草小组，开展标准的编制工作。

经工作组的不懈努力，在 2026 年 03 月，完成了标准征求意见稿的编写工作。

#### **2、起草人所做工作**

广泛收集相关资料。在广泛调研、查阅和研究国际标准、国家标准、行业标准的基础之上，形成本标准草案稿。

## **二、标准编制原则和主要内容**

## （一）标准编制原则

本标准依据相关行业标准，标准编制遵循“前瞻性、实用性、统一性、规范性”的原则，注重标准的可操作性，本标准严格按照《标准化工作指南》和 GB/T 1.1《标准化工作导则第一部分：标准的结构和编写》的要求进行编制。标准文本的编排采用中国标准编写模板 TCS 2009 版进行排版，确保标准文本的规范性。

## （二）标准主要技术内容

本标准征求意见稿包括 14 个部分，主要内容如下：

### 1 范围

本文件规定了普通菜豆地方资源指纹图谱构建的原理、仪器设备、试剂耗材、样品处理、DNA提取、核心SNP标记筛选、基因分型、数据编码、图谱构建、质量控制及试验报告要求。

本文件适用于我国普通菜豆地方品种、农家种、种质资源的DNA指纹图谱构建、品种真实性鉴定、种质区分及遗传多样性分析。

### 2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

#### 3.1

##### 普通菜豆地方资源

在特定地域长期自然选择和人工培育形成，具有独特遗传特征和地方适应性的普通菜豆种质材料，包括农家品种、古老地方品种、野生近缘种及其遗传变异类型。

#### 3.2

##### 指纹图谱

基于 DNA 分子标记技术，反映普通菜豆地方资源基因组特异性的特征图谱，可作为资源身份识别的独特“遗传身份证”。

#### 3.3

##### SNP 标记

单核苷酸多态性，指基因组水平上由单个核苷酸变异引起的 DNA 序列多态性，是基因组上多态性最高的遗传变异之一，具有数量多、分布广、稳定性高、易于高通量检测的特点。

### 3.4

#### InDel 标记

插入/缺失多态性，指基因组中小片段核苷酸的插入或缺失导致的遗传变异，同样是基因组多态性的重要组成部分。

### 3.5

#### 多态性信息量 (PIC)

衡量分子标记位点多态性程度的指标，反映标记对遗传变异的鉴别能力，取值范围为  $0 \sim 1$ ，值越高鉴别能力越强。

### 3.6

#### 连锁不平衡 (LD)

不同基因位点上的等位基因非随机组合的现象，是分子标记筛选和群体遗传分析的重要参考指标。

### 3.7

#### 观测杂合度 ( $H_o$ )

随机抽取的一个样本的两个等位基因不相同的概率，反映群体中实际的遗传变异程度。

### 3.8

#### 期望杂合度 ( $H_e$ )

根据群体等位基因频率计算的理论杂合度，用于评估群体的遗传潜力。

### 3.9

#### 核苷酸多态性 ( $\pi$ )

两个序列间每个位点上核苷酸差异的平均值，反映群体在核苷酸水平上的多态性高低。

### 3.10

#### 近交系数 (FIS)

群体由于近交或群体结构等原因导致的观测杂合度相对期望杂合度的偏离程度，取值范围为  $[-1, 1]$ 。

## 4 原理

普通菜豆地方资源基因组存在丰富稳定的 SNP 变异，通过筛选核心 SNP 标记并进行标准化基因分型，对基因型进行统一编码，构建唯一对应每份资源的 DNA 指纹图谱，实现种质精准区分与真实性鉴定。

## 5 仪器与设备

### 5.1 基础实验仪器

基础实验仪器应满足以下要求：

- a) 高速冷冻离心机：转速  $\geq 12\ 000\ \text{r/min}$ ；
- b) 电子天平：精度  $0.001\ \text{g}$ ；
- c) 微量可调移液器： $1\ \mu\text{L} \sim 1\ 000\ \mu\text{L}$ ；
- d) 紫外分光光度计；
- e) PCR 扩增仪：96 孔/384 孔；
- f) 恒温金属浴；
- g) 超低温冰箱： $-80\ ^\circ\text{C}$ ；
- h) 普通冰箱： $-20\ ^\circ\text{C} \sim 4\ ^\circ\text{C}$ ；
- i) 琼脂糖凝胶电泳系统。

## 5.2 基因分型仪器

基因分型仪器应满足以下要求：

- a) 荧光定量 PCR 仪；
- b) KASP SNP 基因分型平台。

## 5.3 分析设备

分析设备应满足以下要求：

- a) 计算机；
- b) 基因分型与指纹分析软件。

## 6 试剂与耗材

### 6.1 试剂

试剂应满足以下要求：

- a) DNA 提取试剂：CTAB、Tris-HCl、EDTA、NaCl、SDS、氯仿、异戊醇、异丙醇、无水乙醇；
- b) PCR 试剂：dNTP、Taq 酶、PCR 缓冲液、 $\text{MgCl}_2$ ；
- c) 分型试剂：KASP Master Mix、荧光标记引物；
- d) 电泳试剂：琼脂糖、核酸染料、TAE 缓冲液；
- e) 所有试剂均为分析纯或分子生物学级。

### 6.2 耗材

耗材应满足以下要求：

- a) 无菌无酶离心管、PCR 管、96 孔 PCR 板、384 孔板；
- b) 无菌无酶吸头；
- c) 电泳梳、凝胶托盘、封板膜。

## 7 样品采集与制备

### 7.1 采样要求

采样应满足以下要求：

- a) 每份资源选取 3 株~ 5 株生长健壮、无病虫害、无机械损伤的植株;
- b) 采样部位为植株上部幼嫩叶片, 无病虫、无损伤;
- c) 避免高温、强光、阴雨天气采样。

## 7.2 试验设置

试验设置应满足以下要求:

- a) 每份样品设置 2 次生物学重复;
- b) 试验中必须加入参照种质作为对照。

## 7.3 样品保存

采集后立即放入液氮速冻, 转入 $-80^{\circ}\text{C}$ 长期保存或采用硅胶快速干燥, 常温避光密封保存, 保存期不超过 6 个月。

## 8 DNA 提取与质量检测

### 8.1 提取方法

DNA 提取应采用 CTAB 法或高通量植物 DNA 提取试剂盒提取。

### 8.2 DNA 质量要求

DNA 质量应符合下列要求:

- a) 浓度:  $50\text{ ng}/\mu\text{L} \sim 100\text{ ng}/\mu\text{L}$ ;
- b)  $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280} : 1.7 \sim 2.1$ ;
- c)  $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{230} : \geq 1.8$ ;
- d) 琼脂糖凝胶电泳检测: 条带清晰、无明显降解、无蛋白质与多糖污染。

### 8.3 DNA 保存

合格 DNA 样品于 $-20^{\circ}\text{C}$ 短期保存 (不超过 6 个月),  $-80^{\circ}\text{C}$ 长期保存。

## 9 核心 SNP 标记筛选

### 9.1 标记来源

基于普通菜豆全基因组重测序数据, 覆盖全部 11 条染色体, 分布均匀。

### 9.2 筛选条件

核心 SNP 标记筛选应符合下列条件:

- a) 二等位变异;
- b) 位点平均覆盖深度  $\geq 4\times$ ;
- c) 位点缺失率  $\leq 5\%$ ;
- d) 次要等位基因频率 (MAF)  $\geq 0.1$ ;

- e) 多态信息含量 (PIC)  $\geq 0.3$ ;
- f) 观测杂合度 ( $H_o$ )  $\leq 0.1$ ;
- g) 无强连锁不平衡 (LD)。

### 9.3 标记数量

最终筛选核心 SNP 标记不少于 30 个，确保可完全区分所有供试普通菜豆地方资源。

## 10 SNP 基因分型

### 10.1 分型方法

优先采用 KASP 基因分型技术。

### 10.2 PCR 扩增体系

PCR 扩增反应体系为 10  $\mu$ L，应包含：

- a) KASP Master Mix: 5  $\mu$ L;
- b) 引物混合液: 0.14  $\mu$ L;
- c) 模板 DNA: 2  $\mu$ L;
- d) 无菌去离子水: 补足至 10  $\mu$ L。

### 10.3 PCR 扩增程序

PCR 扩增程序应符合下列要求：

- a) 预变性: 94  $^{\circ}$ C, 15 min;
- b) 降落 PCR: 94  $^{\circ}$ C, 20 s; 61  $^{\circ}$ C ~ 55  $^{\circ}$ C, 60 s, 每循环降低 0.6  $^{\circ}$ C, 共 10 个循环;
- c) 常规扩增: 94  $^{\circ}$ C, 20 s; 55  $^{\circ}$ C, 60 s, 共 30 个循环;
- d) 荧光采集: 37  $^{\circ}$ C, 1 min。

### 10.4 分型结果判读

分型结果判读应符合下列要求：

- a) 采用配套软件读取荧光信号，确定基因型；
- b) 以参照种质为基准校正分型结果；
- c) 剔除无信号、杂峰严重、重复不一致的位点。

## 11 指纹数据编码

### 11.1 编码规则

指纹数据编码应符合下列规则：

- a) 纯合参考型: 编码为 0;
- b) 杂合型: 编码为 1;
- c) 纯合变异型: 编码为 2。

### 11.2 指纹生成

按固定位点顺序，将所有核心 SNP 编码串联，形成唯一字符串，即为该资源的 DNA 指纹编码。

### 11.3 可视化编码

将 DNA 指纹编码生成 QR 二维码与 Code93 条形码，用于种质快速识别与管理。

## 12 指纹图谱构建

### 12.1 图谱类型

指纹图谱类型应包含以下三类：

- a) 数字编码图谱：SNP 位点基因型编码表；
- b) 荧光分型图谱：SNP 分型峰图；
- c) 聚类区分图谱：基于指纹编码的种质聚类树。

### 12.2 构建流程

指纹图谱构建流程应符合下列要求：

- a) 基因型数据质控与过滤；
- b) 核心 SNP 位点基因型读取；
- c) 标准化编码；
- d) 聚类分析；
- e) 生成标准指纹图谱。

## 13 质量控制

### 13.1 实验质量控制

实验质量控制应符合下列要求：

- a) DNA 样品合格率  $\geq 95\%$ ；
- b) SNP 分型成功率  $\geq 95\%$ ；
- c) 生物学重复一致性  $\geq 99\%$ ；
- d) 参照种质分型结果稳定一致。

### 13.2 数据质量控制

数据质量控制应符合下列要求：

- a) 位点缺失率  $\leq 5\%$ ；
- b) 分型错误率  $\leq 1\%$ ；
- c) 数据可追溯、可重复、可比对。

### 13.3 结果验证

随机抽取不少于 5% 的样品进行盲测验证，种质区分准确率应为 100%。

## 14 试验报告

试验报告应包含以下内容：

- 样品信息：名称、编号、来源、采样时间、采样人；
- 试验条件：仪器、试剂、核心 SNP 标记信息；
- DNA 质量检测结果；
- SNP 分型数据与分型峰图；
- DNA 指纹编码、二维码、条形码；
- 指纹图谱与聚类分析图；
- 质量控制结果；
- 结论与评价；
- 试验单位、操作人员、审核人员、日期。

### **三、主要试验和情况分析**

结合国内外的普通菜豆地方资源指纹图谱构建应用技术进行要求规定和试验验证。

### **四、标准中涉及专利的情况**

无

### **五、预期达到的效益（经济、效益、生态等），对产业发展的作用的情况**

《普通菜豆地方资源指纹图谱构建方法》团体标准的实施，将通过统一普通菜豆地方资源指纹图谱构建技术，精准支撑种质资源鉴定、品种权保护与市场监管，有效减少假劣种子与品种侵权，降低育种盲目性、缩短育种周期、提升优良品种选育效率，直接带动菜豆种业与种植产业提质增效，产生显著经济效益；同时助力地方资源精准保护与遗传多样性维持，推动抗病、耐逆、优质专用品种选育，减少化肥农药施用、促进绿色生产，兼具生态效益与社会效益，并为菜豆产业全链条标准化、规范化发展提供核心技术支持，助力产业高质量升级与乡村振兴。

### **六、与有关的现行法律、法规和强制性国家标准的关系**

与现行法律、法规和强制性标准没有冲突。

### **七、重大意见分歧的处理依据和结果**

标准制定过程中，未出现重大意见分歧。

## **八、标准性质的建议说明**

本标准为团体标准，供社会各界自愿使用。

## **九、贯彻标准的要求和措施建议**

无。

## **十、废止现行相关标准的建议**

本标准为首次发布。

## **十一、其他应予说明的事项**

无。