



中华人民共和国国家标准

GB/T 41689—2022/ISO 11063:2020

土壤质量 土壤样品直接提取 DNA 的方法

Soil quality—Direct extraction of soil DNA

(ISO 11063:2020, IDT)

2022-10-12 发布

2023-05-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

目 次

前言	III
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 原理	1
5 测试材料	2
5.1 土壤样品	2
5.2 化学品	2
5.3 缓冲液及试剂	3
6 仪器	3
7 DNA 提取步骤	4
7.1 土壤样品的准备	4
7.2 机械与化学裂解	4
7.3 蛋白质沉淀	4
7.4 核酸沉淀与洗涤	4
7.5 核酸储存	4
8 土壤 DNA 的质量和含量评估	4
8.1 土壤 DNA 的质量与纯度	4
8.2 土壤 DNA 的含量	5
9 提取程序的验证	5
10 测试报告	5
附录 A (资料性) 本文件与 ISO 11063:2012 中土壤样品直接提取 DNA 方法之间的差异	6
附录 B (资料性) 纯化土壤 DNA 提取物的可用方法	7
参考文献	8

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。

本文件等同采用 ISO 11063:2020《土壤质量 土壤样品直接提取 DNA 的方法》。

本文件做了下列最小限度的编辑性改动：

——ISO 11063:2020 的 5.3.7 中乙酸钾的质量计算错误，数值由 176.5 修正为 294.4。

请注意本文件的内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中华人民共和国农业农村部提出。

本文件由全国土壤质量标准化技术委员会(SAC/TC 404)归口。

本文件起草单位：中国科学院南京土壤研究所、中国科学院亚热带农业生态研究所、江苏省质量和标准化研究院等。

本文件主要起草人：潘贤章、郭志英、林先贵、魏文学、肖婷婷。

土壤质量 土壤样品直接提取 DNA 的方法

1 范围

本文件描述了一种从土壤样品直接提取 DNA 的方法,这些提取的 DNA 被用来开展基于各种分子生物学技术[包括实时定量 PCR(qPCR)]的土壤细菌群落丰度和组成分析。该方法主要适用于农业及森林土壤。该方法可能不适用于富含有机质的土壤(如泥炭土)、有机污染物或重金属严重污染的土壤。

土壤样品直接提取 DNA 为研究微生物群落 α 多样性和 β 多样性提供了独特视角。通过土壤 DNA PCR 扩增获得扩增子的下一代测序,将有助于开发土壤环境中微生物群落监测的常规工具。

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。

ISO 18400-206 土壤质量 采样 第 206 部分:实验室测定微生物过程、生物量与多样性用土壤的好氧采集、处理及贮存指南 (Soil quality—Sampling—Part 206: Collection, handling and storage of soil under aerobic conditions for the assessment of microbiological processes, biomass and diversity in the laboratory)

注: GB/T 32725—2016 实验室测定微生物过程、生物量与多样性用土壤的好氧采集、处理及贮存指南(ISO 10381-6: 2009)¹⁾, IDT)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

ISO 和 IEC 在以下地址维护用于标准化的术语数据库:

——ISO 在线浏览平台: <https://www.iso.org/obp>;

——IEC 电子百科: <http://www.electropedia.org/>。

3.1

土壤 DNA soil DNA

从土壤活体微生物提取的 DNA 和死亡微生物的残留 DNA。

4 原理

按以下提取步骤,从 1 g 土壤样品(等量干重)直接提取 DNA。将添加了提取缓冲液和玻璃珠的土壤样品进行机械与化学裂解。裂解步骤,例如微珠振荡,对于从难裂解的微生物中提取 DNA 也是非常关键的一步。然后,将样品置于 70 °C 下孵育 30 min 进行化学裂解。短暂离心去除土壤碎片,收集上清液。在上清液部分加入乙酸钾沉淀蛋白质。离心后再次收集上清液,加入冷异丙醇沉淀核酸。离心,所得核酸沉淀用 70% 乙醇洗涤后,并溶解在分子生物学级超纯水或者 TE 缓冲液中。通过琼脂糖凝胶电

1) ISO 10381-6:2009 已被 ISO 18400-206:2018 代替。