



中华人民共和国国家标准

GB/T 31798—2015

油菜黑胫病菌检疫鉴定方法

Detection and identification of *Plenodomus biglobosus*
(Shoemaker & H.Brun) Gruyter, Aveskamp & Verkley

2015-07-03 发布

2015-11-27 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

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。

本标准由全国植物检疫标准化技术委员会(SAC/TC 271)提出并归口。

本标准起草单位:中华人民共和国湖北出入境检验检疫局、中国检验检疫科学研究院、中华人民共和国上海出入境检验检疫局、中华人民共和国江苏出入境检验检疫局、华中农业大学。

本标准主要起草人:赵晖、王振华、曾宪东、易建平、李彬、李国庆、吴品珊、蔡翔。

油菜黑胫病菌检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了油菜黑胫病菌(*Plenodomus biglobosus*)的检疫鉴定方法。
本标准适用于油菜种子、植株及其产品中油菜黑胫病菌的检疫和鉴定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 仪器设备和主要试剂

3.1 仪器设备

生物显微镜、体视显微镜、高速冷冻离心机、纯水仪、超净工作台、灭菌锅、制冰机、PCR 仪、凝胶成像系统、电泳仪、培养箱、超低温冰箱、常规冰箱、涡旋振荡器。

3.2 主要试剂

除另有规定外,所有试剂均为分析纯或生化试剂,试验用水符合 GB/T 6682。

3.2.1 1%次氯酸钠

3.2.2 DNA 提取试剂:DNA 提取试剂盒,异丙醇,无水乙醇。尿素提取液(7 mol/L Urea、50 mmol/L Tris-HCl pH 8.0、62.5 mmol/L NaCl、1% SDS),蛋白酶 K(20 mg/mL),苯酚:三氯甲烷:异戊醇(25:24:1)溶液,3 mol/L NaAc(pH 5.2)。

3.2.3 PCR 试剂:10×PCR 缓冲液(含 25 mmol/L MgSO₄),Taq 酶,dNTPs。

3.2.4 凝胶电泳试剂:琼脂糖,TAE,Loading 缓冲液,EB。

3.2.5 20%V8 培养基:V8 蔬菜汁(Campbell Soup 公司)200 mL,CaCO₃ 0.75 g,琼脂粉 13.0 g,蒸馏水定容至 1 000 mL,调整 pH 至 5.8,121 °C 高压灭菌 20 min。

3.2.6 马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA):马铃薯浸粉 5.0 g,葡萄糖 20.0 g,氯霉素 0.1g,琼脂 13.0 g,蒸馏水定容至 1 000 mL,调整 pH 至 5.6,121 °C 高压灭菌 20 min。

4 病菌的鉴定

4.1 症状检查

4.1.1 种子症状检查

取样品量 1%~5%(若样品少可适量增大比例)的种子,在解剖镜下挑选皱缩、干瘪、变色、残缺的种子或有霉变的籽粒或病残体,每份种子样品挑选不少于 500 粒,用做病原菌的分离。另取 1 kg 种子,