



中华人民共和国国家标准

GB/T 31807—2015

棉花根腐病菌检疫鉴定方法

Detection and identification of *Phymatotrichopsis omnivora* (Duggar) Hennebert

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

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
棉花根腐病菌检疫鉴定方法
GB/T 31807—2015

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址: www.gb168.cn

服务热线: 400-168-0010

010-68522006

2015年9月第一版

*

书号: 155066·1-49877

版权专有 侵权必究

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

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:中华人民共和国宁波出入境检验检疫局、中华人民共和国珠海出入境检验检疫局、中国检验检疫科学研究院。

本标准主要起草人:张慧丽、张卫东、段维军、徐瑛、陈先锋、崔俊霞、杜洪忠、吴品珊。

棉花根腐病菌检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了棉花根腐病菌的检疫鉴定方法。

本标准适用于棉花根腐病寄主植物的植株、种子及介质的检疫鉴定。

2 仪器设备和主要试剂

2.1 仪器设备

显微镜、解剖镜、天平(感量 1/100 g, 1/10 000 g)、pH 计、制冰机、纯水仪、涡旋振荡器、台式离心机、高速冷冻离心机、低温冰箱、冷藏冷冻冰箱、超净工作台、PCR 仪、电泳仪、水平电泳槽、凝胶成像仪、微量移液器(2 μ L、20 μ L、100 μ L、200 μ L、1 000 μ L)。

2.2 主要试剂

除另有规定外,所有试剂均采用分析纯。包括无菌双蒸水、次氯酸钠、液氮、蛋白酶 K、氯化镁、氢氧化钠、醋酸铵、氯化钾、无水乙醇、溴化乙锭、三氯甲烷、异丙醇、异戊醇、*Taq* DNA 聚合酶、dNTP 混合物、10 \times PCR 缓冲液、琼脂糖、DNA 相对分子质量标准物、CTAB、Tris/EDTA/SDS 提取缓冲液(TES)、Tris 硼酸盐 EDTA 缓冲液(TBE)、Tris/EDTA 缓冲液(TE)等。分离培养基、产孢培养基、马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)配制方法及步骤见附录 C。

3 病菌的鉴定

3.1 症状检查

将可疑植株的根部在解剖镜下镜检,将带有菌丝索或菌核的病根挑出。种子类样品,从中挑选夹带的植株残体,尤其是根部病残体。介质土借助湿筛挑出其中的菌核(参见附录 B)。

3.2 病原菌的分离培养

3.2.1 病根上菌丝索的分离培养

在解剖镜下,将病根上覆盖的菌丝索挑下,用无菌水洗涤菌丝片段,洗净后置于分离培养基上,28 $^{\circ}$ C 黑暗培养,每天观察,待长出菌丝后,挑取菌丝尖端转移到 PDA 平板上纯化。

3.2.2 病残体上病原菌的分离培养

在自来水下将病残体洗净,切取病健交界处组织,用 1%次氯酸钠进行表面消毒 3 min,无菌水冲洗 3 次,灭菌滤纸吸干表面水分后,置于分离培养基上,28 $^{\circ}$ C 黑暗培养,每天观察,待长出菌丝后,挑取菌丝尖端转移到 PDA 平板上纯化。

3.2.3 菌核上病原菌的分离培养

菌核上病原菌的分离培养方法同 3.2.2。