



中华人民共和国国家标准

GB/T 31796—2015

南美大豆猝死综合症病菌和北美大豆 猝死综合症病菌检疫鉴定方法

Detection and identification of *Fusarium tucumaniae* and
Fusarium virguliforme

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。

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:中国检验检疫科学研究院、中华人民共和国深圳出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:吴品珊、王颖、章桂明、陈枝楠。

南美大豆猝死综合症病菌和北美大豆 猝死综合症病菌检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了南美大豆猝死综合症病菌和北美大豆猝死综合症病菌的检疫鉴定方法。
本标准适用于田间大豆和大豆粒携带的土壤和病残体中南、北美大豆猝死综合症病菌的鉴定。

2 仪器和用具

2.1 仪器

生物显微镜、超净工作台、光照培养箱、电子天平(1/1 000 g)、高压灭菌锅、冰箱、PCR 扩增仪、荧光 PCR 扩增仪、电泳仪、凝胶成像仪、高速冷冻离心机、恒温水浴锅、摇床。

2.2 用具

烧杯、三角瓶、量筒、试管、培养皿、酒精灯、镊子、剪刀、解剖刀、接种针、载玻片、盖玻片、塑料研杵、移液器、移液器吸头、离心管、液氮罐。

3 试剂和培养基

3.1 试剂

琼脂粉,马铃薯,葡萄糖,乳酸,琼脂糖,无菌双蒸水,液氮,蛋白胨,磷酸二氢钾,硫酸镁,链霉素,新霉素,五氯硝基苯,氯四环素,利福平, Tris-HCl, MgCl₂, HCl, EDTA, NaOH, NaOAc, KCl, Tris, CTAB, TAE, 无水乙醇(Ethanol), 苯酚(Phenol), 溴化乙锭(EB), 三氯甲烷(Chloroform), 异丙醇(Isopropanol), 异戊醇(Isoamyl alcohol), 蛋白酶 K, *Taq* DNA 聚合酶, dNTP, DNA 相对分子质量标准物, 双重 PCR 特异性引物 Fu1/2 和 Fsg- α -1/2, 实时荧光 PCR 特异性引物及探针 16-FP/16-RP 和 16-AG, *Taq*Man Universal PCR Master Mix。

3.2 培养基

0.2% 水琼脂培养液, 选择性培养基 PCNB, 马铃薯葡萄糖培养基(PDA), 低营养合成培养基(SNA)。具体配方参见附录 A。

4 检疫鉴定方法

4.1 症状检查

南、北美大豆猝死综合症在症状上区别不大, 病害典型的症状是叶片的叶肉枯黄坏死, 叶脉有时保持绿色, 根部维管束组织有褐色病变, 髓部白色。参见附录 A 病害症状描述。

采集田间疑似症状大豆植株的根部、植株周围的土壤, 备用。在大豆粒中筛选其携带的土壤, 并挑选其中混杂的病残体, 尤其是大豆的地下部分根, 备用。