



中华人民共和国国家标准

GB/T 43163—2023

苜蓿黄萎病菌溯源检测方法

Traceability detection of *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berthold

2023-09-07 发布

2024-04-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

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。

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专利的责任。

本文件由全国植物检疫标准化技术委员会(SAC/TC 271)提出并归口。

本文件起草单位：中华人民共和国深圳海关、深圳市检验检疫科学研究院。

本文件主要起草人：高瑞芳、章桂明、王颖、黄河清、向才玉。

苜蓿黄萎病菌溯源检测方法

1 范围

本文件描述了应用基因片段和生物信息学分析方法对苜蓿黄萎病菌进行溯源检测的方法。
本文件适用于苜蓿黄萎病菌相关寄主植物材料中携带的苜蓿黄萎病菌的溯源检测。

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

邻接法 neighbor-joining

基于最小演化准则的迭代聚类方法。

4 方法原理

苜蓿黄萎病菌,拉丁名 *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berthold, 基本信息见附录 A。溯源是利用对物种有进化和溯源价值的基因片段将核酸序列信息与来源地、寄主等来源信息进行相关性归类。检测过程是应用生物信息学的分析手段筛选有效区分种内差异并且有效归类的基因片段或分子标记,获得这些基因片段或分子标记的核酸序列,应用统计学手段完成核酸序列与来源地、寄主信息的主成分分析,完成不同来源地、寄主个体的群体分子系统进化关系和群体结构分析,基于基因序列的相似度和重复率等,构建网络进化图。

5 仪器和试剂

5.1 仪器与试验用具

仪器:恒温恒湿培养箱、超净工作台、-20℃低温冰箱、PCR 扩增仪、冷冻离心机、核酸蛋白分析仪、电泳仪、凝胶成像系统、高压灭菌锅。

试验用具:解剖刀、离心管、镊子、移液器、冻存管、培养皿、酒精灯、接种针。

5.2 试剂

试剂:70%酒精、十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)、PCR *Taq* 酶、PCR *Taq* 缓冲液、dNTP、DNA 标记、无菌超纯水。

马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA):200 g 去皮土豆切成小方块,加入 1 000 mL 无菌水,煮沸 15 min,四层纱布过滤得到滤液,滤液中加入 18 g 葡萄糖、18 g 琼脂粉,加热溶解后将溶液定容至 1 000 mL,分装至三角瓶中,121℃高压蒸汽灭菌 20 min。