



中华人民共和国国家标准

GB/T 31801—2015

丁香疫霉菌检疫鉴定方法

Detection and identification of *Phytophthora syringae* Kleb.

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

丁香疫霉菌检疫鉴定方法

GB/T 31801—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: 155066·1-49875

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。

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:中国检验检疫科学研究院、中华人民共和国天津出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:杜洪忠、罗加凤、吴品珊、严进。

丁香疫霉菌检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了丁香疫霉菌的检疫鉴定方法。

本标准适用于针对丁香疫霉菌寄主的苗木、枝条、枝叶、果实及其夹带土壤和介质中丁香疫霉菌的鉴定。

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。

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、材料和培养基

3.1 试剂

β -谷甾醇,匹马霉素(pimaricin),氨苄青霉素钠盐(ampicillin),利福平钠盐(rifampicin),五氯硝基苯(pentachloronitrobenzene),恶霉灵(hymexazol), CaCO_3 ,琼脂糖,Tris-HCl, MgCl_2 ,HCl,乙二胺四乙酸四钠盐(EDTA),NaOH,NaOAc,KCl,Tris,十六烷基三甲基溴化铵(CTAB),TAE,无水乙醇(ethanol),三氯甲烷(chloroform),异丙醇(isopropanol),异戊醇(isoamyl alcohol),SYBR Green I 核酸染料,蛋白酶 K,*Taq* DNA 聚合酶,dNTP,通用引物 ITS5 和 ITS4,实时荧光 PCR 引物 PS-F 和 PS-R 及 *Taq*-Man-MGB 探针 PS-Pr。

3.2 材料

琼脂粉,V8 汁,夏栎叶片或苹果或梨,鲜橙皮或杜鹃叶片。

3.3 培养基

PDA 培养基,V8 培养基,V8 鲜橙皮培养基,V8 杜鹃叶片培养基,选择性培养基 PARPH-V8。具体配方参见附录 A。

4 检疫鉴定方法

4.1 症状检查

检查寄主植物的根、茎、叶、果实等部位,对有枯萎、果腐、根腐、颈腐和流胶症状的植物,以及根周围