



中华人民共和国国家标准

GB/T 44342—2024

苏铁叶枯病菌检疫鉴定方法

Detection and identification of
Didymella glomerata (Corda) Qian Chen & L. Cai

2024-08-23 发布

2025-03-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

目 次

前言	III
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 苏铁叶枯病菌基本信息	1
5 方法原理	1
6 试剂、材料和培养基	1
6.1 试剂和材料	1
6.2 培养基	2
7 仪器和用具	2
7.1 仪器	2
7.2 用具	2
8 检疫鉴定方法	2
8.1 病害症状	2
8.2 病原菌分离培养和形态鉴定	2
8.3 分子生物学鉴定	3
9 结果判定	3
10 样品和档案保存	3
10.1 样品保存与处理	3
10.2 菌株保存与处理	3
10.3 结果记录与资料保存	3
附录 A (资料性) 苏铁叶枯病菌的其他信息	4
A.1 病害情况	4
A.2 寄主范围	4
A.3 分布范围	4
A.4 传播方式	4
A.5 病害症状	4
A.6 病原菌形态特征	7
附录 B (资料性) 苏铁叶枯病菌培养基配制方法	10
B.1 马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA) 培养基	10
B.2 燕麦片琼胶 (OA) 培养基	10
附录 C (资料性) 苏铁叶枯病菌 DNA 提取	11
C.1 DNA 提取方法 (改良 CTAB 提取法)	11
C.2 DNA 纯度与浓度的测定	11

附录 D（规范性） 苏铁叶枯病菌实时荧光 PCR 检测方法	12
D.1 引物和探针序列	12
D.2 实时荧光 PCR 反应体系	12
D.3 结果判定	12
附录 E（规范性） 苏铁叶枯病菌 β 微管蛋白 <i>tub2</i> 片段 PCR 扩增方法	13
E.1 引物序列	13
E.2 PCR 反应体系及参数	13
参考文献	15

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：中国检验检疫科学研究院、中国科学院微生物研究所、深圳仙湖植物园、宁波海关技术中心、福建省热带作物科学研究所、西藏自治区高原生物研究所。

本文件主要起草人：刘芳、黄英、程颖慧、蔡磊、徐晗、段维军、蔡江桥、罗金水、王聪、严进、普布多吉。

苏铁叶枯病菌检疫鉴定方法

1 范围

本文件描述了苏铁叶枯病菌 (*Didymella glomerata*) 的分离培养、形态学鉴定、分子生物学鉴定方法。

本文件适用于植物及其产品中苏铁叶枯病菌的筛查鉴定。

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

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 苏铁叶枯病菌基本信息

学名: *Didymella glomerata* (Corda) Qian Chen & L. Cai

异名: *Coniothyrium glomeratum* Corda, Icon. Fungorum (Prague) 4: 39. 1840.

Aposphaeria glomerata (Corda) Sacc., Syll. Fung. (Abellini) 3: 175. 1884.

Phoma glomerata (Corda) Wollenw. & Hochapfel, Z. Parasitenk. 3 (5): 592. 1936.

Peyronella glomerata (Corda) Goid. ex Togliani, Ann. Sperim. Agrar. III 6: 93. 1952.

中文学名: 团集亚隔孢壳

中文异名: 葡萄茎枯病菌

分类地位: 真菌界 Fungi, 子囊菌门 Ascomycota, 座囊菌纲 Dothideomycetes, 格孢腔菌目 Pleosporales, 亚隔孢壳科 Didymellaceae, 亚隔孢壳属 *Didymella*。

苏铁叶枯病菌与亚隔孢壳属中其他物种的形态特征相似, 难以单纯依靠形态特征进行区分。近缘种包括 *D. anserina*、*D. aurea*、*D. musae* 等。

苏铁叶枯病菌的其他信息见附录 A。

5 方法原理

根据病害症状、分离菌的形态特征 (见附录 A), 以及实时荧光聚合酶链式反应 (PCR) 检测方法或 β 微管蛋白 *tub2* 序列特征对苏铁叶枯病菌进行检测鉴定。

6 试剂、材料和培养基

6.1 试剂和材料

除有特殊说明外, 所有试验用试剂均为分析纯或生化试剂。

分离培养所需试剂和材料: 马铃薯、燕麦片、蒸馏水、葡萄糖、琼脂粉、次氯酸钠、75% 乙醇、无菌水。