



中华人民共和国国家标准

GB/T 31789—2015

冬生疫霉菌检疫鉴定方法

Detection and identification of *Phytophthora hibernalis* Carne

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。

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、中华人民共和国厦门出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:杜洪忠、吴品珊、王宏毅、严进、张秋娥。

冬生疫霉菌检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了冬生疫霉菌的检疫鉴定方法。

本标准适用于针对冬生疫霉菌寄主的苗木、枝条、枝叶、果实以及夹带土壤和介质中冬生疫霉菌的鉴定。

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

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), 碳酸钙(CaCO_3), β -谷甾醇(β -sitosterol), 色氨酸(tryptophan), 硫氨(thiamine), 氯化钙($\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 次氯酸钠(NaClO)。

琼脂糖, Tris-HCl, MgCl_2 , HCl, EDTA(乙二胺四乙酸四钠盐), NaOH, NaOAc, KCl, Tris, CTAB(十六烷基三甲基溴化铵), 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, dNTPs, DNA 相对分子质量标准物, PCR 引物 PHIB1 和 PHIB2, 实时荧光 PCR 引物 PH-F 和 PH-R 及 *TaqMan*-MGB 探针 PH-Pr。

3.2 材料

琼脂粉、V8 汁、雪松松针(*Cedrus deodara*)、柑橘叶片(*Citrus* spp.)、胡萝卜、玉米油。

3.3 培养基

V8 培养基、胡萝卜丝培养基 CPA、选择性培养基 PARP-V8 和卵孢子培养基, 具体配方参见附录 B。

4 检疫鉴定方法

4.1 症状检查

重点观察柑橘果实是否有褐色病变, 叶和小枝是否枯萎; 杜鹃属植物, 观察叶片是否有深褐色病斑,