



中华人民共和国国家标准

GB/T 36815—2018

蓝莓果腐病菌检疫鉴定方法

Detection and identification of *Diaporthe vaccinii* Shear

2018-09-17 发布

2019-04-01 实施

国家市场监督管理总局
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:中华人民共和国天津出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:罗加凤、崔铁军、刘跃庭、张莹、黄国明、廖芳。

蓝莓果腐病菌检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了蓝莓果腐病菌的分离培养、致病性测定及分子生物学检测方法。
本标准适用于蓝莓果腐病菌寄主种苗、植株和果实中蓝莓果腐病菌的检疫鉴定。

2 蓝莓果腐病菌的基本信息

中文名:蓝莓果腐病菌

学名:*Diaporthe vaccinii* Shear

无性学名:*Phomopsis vaccinii* Shear N.E. Stevens & H.F. Bain

英文名:fruit rot of blueberry, Phomopsis canker of blueberry, upright dieback of cranberry

分类地位:蓝莓果腐病菌(*Diaporthe vaccinii* Shear)属真菌界(Fungi),子囊菌门(Ascomycota),子囊菌纲(Ascomycetes),间座壳目(Diaporthales),间座壳科(Diaporthaceae),间座壳属(*Diaporthe*)。

传播途径:病菌依靠带菌种苗和果实进行远距离传播。

蓝莓果腐病菌的其他信息参见附录 A。

3 方法原理

病原菌的为害症状、分离培养性状、形态特征、致病性测定(参见附录 A、附录 B、附录 C)及 ITS1/ITS4 核酸序列比对结果作为蓝莓果腐病菌的检疫鉴定依据。

4 仪器用具和主要试剂

4.1 仪器用具

4.1.1 仪器

体视显微镜、生物显微镜、超净工作台、生物培养箱、电子天平、高压灭菌锅、常规冰箱(−20 ℃),PCR 扩增仪、电泳仪、凝胶成像仪、高速冷冻离心机、恒温水浴锅。

4.1.2 用具

灭菌培养皿(直径 90 mm~100 mm)、三角瓶、镊子、手术剪、手术刀、接种针、一次性注射器(1 mL)、棉纱、脱脂棉、酒精灯、塑料研杵、可调微量加样器。

4.2 主要试剂

乙二胺四乙酸(EDTA)、十二烷基磺酸钠(SDS)、Tris-HCl、氯仿、异戊醇、三氯甲烷、乙醇、氯化钾、氯化镁、蛋白酶 K、引物 ITS1/ITS4、*Taq* 聚合酶等分子生物学试剂,或用植物组织及真菌基因组提取试剂盒提取 DNA。葡萄糖、琼脂、青霉素、链霉素、乳酸、2.0%次氯酸钠(NaClO)。

酸性马铃薯葡萄糖培养基(APDA, pH 5.0~6.0)、APDA 选择性培养基(制备方法参见附录 D)。