

ICS 65.020.01
CCS B 16



中华人民共和国国家标准

GB/T 40472—2021

柱锈菌科实时荧光 PCR 检疫鉴定方法

Detection and identification of Cronartiaceae using real-time PCR

2021-08-20 发布

2022-03-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

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：中华人民共和国宁波海关、中国科学院微生物研究所、中国检验检疫科学研究院、中华人民共和国乌鲁木齐海关。

本文件主要起草人：段维军、蔡磊、赵鹏、郭立新、刘芳、李雪莲、张永江、张慧丽、王翀、陈先锋。

柱锈菌科实时荧光 PCR 检疫鉴定方法

1 范围

本文件描述了植物病原真菌柱锈菌科的实时荧光聚合酶链式反应(以下简称实时荧光 PCR)检疫鉴定方法。

本文件适用于携带柱锈菌科病菌的植物及其产品中柱锈菌科病菌的检测筛查。

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 基本信息

学名:Cronartiaceae

中文学名:柱锈菌科

分类地位:隶属于真菌界(Fungi),担子菌门(Basidiomycota),柄锈菌纲(Pucciniomycetes),柄锈菌目(Pucciniales)。

传播途径:柱锈菌科主要由种苗或病残体等传播,也可经风、雨水和昆虫传播。

柱锈菌科基本信息参见附录 A。

5 鉴定原理

根据柱锈菌科病菌的 DNA 序列特征,采用实时荧光 PCR 方法,应用所设计引物和探针对柱锈菌科病菌进行检测鉴定。

6 仪器和试剂

6.1 仪器设备、实验用具

天平、研钵、水浴锅、纯水仪、旋涡振荡器、台式离心机、紫外分光光度计、高速冷冻离心机、冰箱、实时荧光 PCR 仪、微量移液器(0.1 μL ~2.5 μL , 1 μL ~10 μL , 10 μL ~50 μL , 20 μL ~200 μL , 100 μL ~1 000 μL)。

6.2 试剂

十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)提取液(2% CTAB, 1.4 mol/L NaCl, 20 mmol/L EDTA, 100 mmol/L Tris·HCl pH 8.0)、三羟甲基氨基甲烷(Tris)饱和酚、三氯甲烷、异戊醇、异丙醇、无水乙