



中华人民共和国国家标准

GB/T 29393—2012

柑桔黄龙病菌的检疫检测与鉴定

Detection and identification of *Candidatus liberobacter asiaticum*

2012-12-31 发布

2013-03-01 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。

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:全国农业技术推广服务中心、浙江省植物保护检疫局。

本标准主要起草人:吴立峰、严铁、林云彪、项宇、朱景全、朱莉。

柑桔黄龙病菌的检疫检测与鉴定

1 范围

本标准规定了柑桔黄龙病菌亚洲种 *Candidatus liberobacter asiaticum* jagoueix et al. 的检测与鉴定方法。

本标准适用于植物检疫过程中对柑桔黄龙病菌亚洲种的检测与鉴定。

2 病菌基本信息

中文名:柑桔黄龙病菌。

学名:*Candidatus liberobacter asiaticum* jagoueix et al.

病害英文名:Citrus Huanglongbing HLB。

属薄壁菌门 Gracilicutes、韧皮部杆菌属 *Liberobacter*。

3 方法原理

根据柑桔黄龙病菌侵染柑桔植株发病典型症状进行田间鉴定;经嫁接或经柑桔木虱(*Diaphorina citri*)传病后,可根据木本指示植物发病症状鉴定;聚合酶链反应(Polymerase Chain Reaction,PCR)检测技术对柑桔黄龙病菌 DNA 进行体外扩增,可得到快速、有效的鉴定结果。

4 仪器及用具

紫外线透射仪或凝胶成像系统,离心机,核酸电泳仪,pH 计,移液器:10 μ L、20 μ L、100 μ L、1 000 μ L,PCR 仪,水浴器、超纯水系统,电子天平。

5 试剂与材料

TAE 缓冲液,三(羟甲基)氨基甲烷-盐酸(Tris-HCl),乙二胺四乙酸(EDTA),十二烷基硫酸钠(SDS),乙酸钠(NaAc),*Taq* 酶,10 \times PCR 缓冲液,25 mmol/L 镁离子(Mg^{2+}),20 mmol/L 脱氧核苷三磷酸(dNTP),5 μ L DNA 荧光染料(GV),琼脂糖,溴酚蓝,高锰酸钾,三氯甲烷(氯仿),异戊醇,异丙醇,乙醇。

6 症状识别法

柑桔黄龙病主要鉴定依据是田间出现的“叶片斑驳型黄化”和“黄梢”。叶片斑驳型黄化即叶片转绿后从主、侧脉附近和叶片基部开始黄化,黄化部分扩展形成黄绿相间分布不均的斑驳,后来可以全叶黄化。黄梢即在发病初期,绿色树冠上少部分新梢枝叶片黄化。有些柑桔结果树果实呈“红鼻子果”。在柑桔黄龙病区符合上述典型症状的病苗、病树可直接鉴定为柑桔黄龙病。

对难以下结论的疑似病苗、病树,可根据具体情况选用以下一种或几种检测方法进行鉴定。