

ICS 65.020.20
B 05



中华人民共和国国家标准

GB/T 20496—2006

GB/T 20496—2006

进口葡萄苗木疫情监测规程

Guidelines for quarantine surveillance
on imported grape seedlings

中华人民共和国
国家标准
进口葡萄苗木疫情监测规程
GB/T 20496—2006

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 1.75 字数 43 千字

2007年4月第一版 2007年4月第一次印刷

*

书号:155066·1-29180 定价 22.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533



GB/T 20496—2006

2006-09-19 发布

2007-03-01 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

附录 D
(资料性附录)

大田有害生物的处理

- D.1** 检疫机构视有害生物风险情况,将发现的病株拔除或将发现病株同批进口葡萄种苗全部拔除,集中销毁。
- D.2** 对病株周围或整个种植地块的土壤进行消毒,每立方米用 40% 毒死蜱乳油 0.3 g 和每立方米 15 g~20 g 五氯硝基苯或 70% 甲基托布津混匀进行杀虫和灭菌。
- D.3** 病株周围 5 m~6 m 见方的所有植株喷施 800 倍~1 000 倍 70% 甲基托布津或 40% 多菌灵和喷施杀虫剂。
-

前 言

本标准的附录 A、附录 B、附录 C、附录 D 均为资料性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由农业部种植业管理司归口。

本标准主要起草单位:全国农业技术推广服务中心。

本标准参加起草单位:国家质检总局动植物检疫实验所、河北省植保总站、山西省植保站、宁夏回族自治区植保站。

本标准主要起草人:王福祥、朱水芳、柯汉英、李俊林、张增福、李先誉。

进口葡萄苗木疫情监测规程

KH ₂ PO ₄ (无水)	0.2 g
KCl	0.2 g
Tween-20	0.5 mL
pH 7.4	

B.5.3.2.1.4 ECI buffer:溶于1 000 mL 1×PBST

牛血清白蛋白(BSA)	2.0 g
聚乙烯吡咯烷酮(PVP)	20.0 g
叠氮化钠	0.2 g
pH7.4	

4℃保存

B.5.3.2.1.5 底物缓冲液:溶于800 mL 蒸馏水中

MgCl ₂	0.1 g
叠氮化钠	0.2 g
二乙醇胺	97.0 mL

用盐酸调节 pH9.8,用蒸馏水定容到1 000 mL,4℃保存。

B.5.3.2.2 具体步骤

B.5.3.2.2.1 包被板:按照标签上的稀释倍数,用1倍包被缓冲稀释浓缩的包被抗体。混合均匀。一般8个孔配1 mL或96孔的板准备10 mL。每孔加100 μL,置湿盒中,室温下放置4 h,或普通冰箱中(4℃)过夜。

B.5.3.2.2.2 洗板:把孔中的包被抗体倒出,用1倍PBST装满每个孔,然后快速把板倒空,重复4次~8次。洗完以后,拿着板在折叠的毛巾上拍几次,使孔中不留液体。

B.5.3.2.2.3 加入样品:称量(种子需浸泡,待吸足水)后加1:(5~10)样品抽提缓冲液(植物组织重量:缓冲液体积),研碎,对照同法处理备用。

B.5.3.2.2.4 按照设计的加样表格,加入100 μL样品到每个孔中,加入100 μL阳性汁液至阳性孔中,加100 μL抽提缓冲液到缓冲液空白对照孔中。把板放入湿盒中,室温培育2 h,或普通冰箱中过度。

B.5.3.2.2.5 洗板:把孔中的包被抗体倒出,用1倍PBST装满每个孔,然后快速把板倒空,重复4次~8次。洗完以后,拿着板在折叠的毛巾上拍几次,使孔中不留液体。

B.5.3.2.2.6 加入酶标物:临用之前10 min,配制酶标物,一般8个孔配1 mL或96个孔的板准备10 mL。每个孔中加入100 μL,放在一个湿盒中,室温培育2 h。

B.5.3.2.2.7 洗板:同上次一样,用1倍PBST洗4次~8次。

B.5.3.2.2.8 加入底物 PNP 溶液:配制浓度为1 mg/mL的PNP溶液:在上一步培育结束大约15 min之前,取5 mL室温下的PNP缓冲液,然后加入一片PNP(每片PNP可以配制5 mL PNP溶液,浓度为1 mg/mL。注意:不能接触PNP药片或把PNP溶液暴露于强光下,光线或污染物能够引阴性孔呈现背景颜色)。

每孔加入100 μL PNP溶液。在一湿盒中培育30 min~60 min。

B.5.3.2.2.9 终止反应:加入50 μL 3 mol/L氢氧化钠,终止显颜色反应。

B.5.3.2.3 结果分析

通过眼睛观察,或用酶联仪在405 nm下读数来判断结果。有颜色出现的孔表明结果为阳性,没有明显的颜色形成表明结果为阴性。只有当阳性对照孔是阳性,缓冲液对照孔保持没有颜色,检测的结果才有效。若培育的时间超过60 min,只要阴性对照孔保持没有颜色,结果可以接受。

1 范围

本标准适用于所有国(境)外进口葡萄苗木进境检疫放行后种植期间的疫情监测。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

葡萄苗木 grape seedlings

可供繁殖用的葡萄苗(含试管苗)、接穗、插条、叶片、芽体等。

2.2

疫情监测 pest surveillance

通过调查、检测或其他程序确定有害生物发生或不存在的官方过程。

3 监测的有害生物

3.1 昆虫类

3.1.1 南美按实蝇 *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann)

3.1.2 昆士兰果实蝇 *Bactrocera (Bactrocera) tryoni* (Froggatt)

3.1.3 美国白蛾 *Hyphantria cunea* (Drury)

3.1.4 柳扁蛾 *Phassus excrescens* Butler

3.1.5 柑橘粉蚧 *Planococcus citri* (Rissd)

3.1.6 日本金龟子 *Popillia japonica* Newman

3.1.7 梨圆盾蚧 *Quadraspidiotus perniciosus* (Comst.)

3.1.8 葡萄根瘤蚜 *Daktulosphaira vitifoliae* (Fitch)

3.2 线虫类

3.2.1 长针线虫属 *Longidorus* spp.

3.2.2 根结线虫属 *Meloidogyne* spp.

3.2.3 拟毛刺线虫属 *Paratrichodorus* spp.

3.2.4 短体线虫属 *Pratylenchus* spp.

3.2.5 毛刺线虫属 *Trichodorus* spp.

3.2.6 柑桔半穿刺线虫 *Tylenchulus semi penetrans* Cobb

3.2.7 剑线虫属 *Xiphinema* spp.

3.3 真菌类

3.3.1 蔓枯病菌 *Cryptosporella viticola* (Reddick) Shear

3.3.2 炭疽病菌 *Glomerella cingulata* (Stoneman) Sqaulling et Schrenk

3.3.3 黑腐病菌 *Guignardia bidwellii* (Ell) Viala et Ravaz

3.3.4 咖啡美洲叶斑病菌 *Mycena citricolor* Sacc.

3.3.5 霜霉病菌 *Plasmopora viticola* (Bark. et Curt.) Berl. et de Toni