

# SN

## 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 2602—2010

---

### 根癌土壤杆菌的检测鉴定方法

Detection and identification of *Agrobacterium tumefaciens*

(Smith et townsend 1907) Conn 1942

2010-05-27 发布

2010-12-01 实施

---

中华人民共和国  
国家质量监督检验检疫总局 发布

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国山东出入境检验检疫局，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：厉艳、王英超、吴兴海、邵秀玲、甘琴华、刘鹏。

# 根癌土壤杆菌的检测鉴定方法

## 1 范围

本标准规定了进出境植物检疫中根癌土壤杆菌检测鉴定方法。

本标准适用于进出境植物及其产品上根癌土壤杆菌的检测鉴定。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件,凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 4789.28—2003 食品卫生微生物学检验 染色法、培养基和试剂

## 3 原理

根癌土壤杆菌 *Agrobacterium tumefaciens* (Smith et townsend 1907) Conn 1942, 属原核生物界 (Prokaryotes), 薄壁菌门 (Gracilicutes), 根瘤菌科 (Rhizobiaceae), 土壤杆菌属 (*Agrobacterium*)。该病菌的形态特征、生物学特性、生化特性、致病性以及 PCR 特异性反应等是本标准检疫鉴定的依据。

## 4 仪器和用具

生物显微镜、体视显微镜、超净工作台、电子天平、光照恒温培养箱、恒温振荡培养箱、高压灭菌器、培养皿(直径:7.5 cm)、恒温水浴锅(30℃~95℃)、高速冷冻离心机(18 000 r/min 以上)、BIOLÓG 鉴定仪、PCR 仪、电泳装置(电泳仪、水平电泳槽)、凝胶成像分析仪、微量可调加样器(2 μL、10 μL、20 μL、100 μL、200 μL、1 000 μL)。

## 5 主要试剂

蛋白胨、双氧水(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)、甘露醇、酵母膏、硫酸镁(MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O)、琼脂粉、甘油、升汞、盐酸、次氯酸钠、乙二胺四乙酸(EDTA)、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、十二烷基硫酸钠(SDS)、液氮、三氯甲烷、异戊醇、异丙醇、琼脂糖(电泳用)、溴化乙锭、TaqDNA 聚合酶、磷酸氢二钾(K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)、磷酸二氢钾(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)、磷酸氢二钠(Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O)、磷酸二氢铵(NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)、氯化钙(CaCl<sub>2</sub>)、氯化钠(NaCl)、氯化钾(KCl)、10×PCR 缓冲液、10×dNTP 液、蒸馏水、牛肉浸膏、盐酸二甲基对苯撑二胺、95%乙醇等。

## 6 检测鉴定方法

### 6.1 病原菌的分离

#### 6.1.1 植株中病原菌的分离

对植株进行分离时应选用瘿瘤或疑似瘿瘤,尽量选用白色幼嫩瘿瘤。先将瘿瘤或疑似瘿瘤洗净,去