

小麦产毒镰刀菌种群分子分型技术 □ 规范

Technical specification for molecular typing of toxin-producing fusarium species in
wheat

地方标准信息服务平台

2019 - 12 - 04 发布

2019 - 12 - 25 实施

前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本标准由江苏省农业科学院提出并归口。

本标准起草单位：江苏省农业科学院。

本标准主要起草人：邢宇俊、仇剑波、董飞、徐剑宏、史建荣、吴季荣、陆丹丹。

地方标准信息服务平台

小麦产毒镰刀菌种群分子分型技术规范

1 范围

本标准规定了小麦产毒镰刀菌种群以及产毒素化学型区分中镰刀菌DNA的提取、PCR扩增、电泳检测及结果判定方法和操作规范。

本标准适用于产毒镰刀菌种群及产毒化学类型的定性PCR检测。

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 4789.15 食品安全国家标准 食品微生物检验 霉菌和酵母计数

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

产毒镰刀菌经过提取 DNA 后，利用特异性区分引物，通过普通 PCR 判断该样品是否为禾谷镰刀菌或亚洲镰刀菌。根据关键特异基因 Tri11 来区分该样品是否产生 3ADON、15ADON 或者雪腐镰刀烯醇 NIV 化学型。

4 试剂和材料

4.1 水：应符合 GB/T 6682 中一级水的规格。

4.2 PDA 培养基：按 GB4789.15 规定。

4.3 CTAB 缓冲液:55 mmol/L CTAB、1400 mmol/L 氯化钠 (NaCl)、20 mmol/LEDTA、100 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0)，121℃高压灭菌 20 min，储存于 2℃~8℃。

4.4 TE 缓冲液。

4.5 RNA 酶溶液 (5μg/μL)。

4.6 蛋白酶 K (20mg/mL)。

4.7 Tri 饱和酚。

4.8 酚：三氯甲烷：异丙醇 (25：24：1)；三氯甲烷：异戊醇 (24：1)。

4.9 异丙醇。

4.10 区分禾谷镰刀菌和亚洲镰刀菌引物

Fg16F: 5'-CTCCGGATATGTTGCGTCAA-3'

Fg16R: 5'-GGTAGGTATCCGACATGGCAA-3'

预期亚洲镰刀菌扩增片段大小为 497 bp；预期禾谷镰刀菌扩增片段大小为 410 bp。

4.11 区分 3A-DON、5A-DON 和 NIV 化学型引物