



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 31792—2015

---

## 向日葵茎溃疡病菌检疫鉴定方法

Detection and identification of *Diaporthe helianthi* Muntanola-Cvetkovic  
Mihaljcevic et Petrov

2015-07-03 发布

2015-11-27 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:中国检验检疫科学研究院、中国合格评定国家认可中心、中华人民共和国新疆出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:吴品珊、杜洪忠、蔡露敏、张祥林、严进。

# 向日葵茎溃疡病菌检疫鉴定方法

## 1 范围

本标准规定了向日葵茎溃疡病菌的检疫鉴定方法。

本标准适用于向日葵植株和种子中向日葵茎溃疡病菌的检疫和鉴定。

## 2 仪器和用具

### 2.1 仪器

体视显微镜、生物显微镜、超净工作台、光照培养箱、电子天平(1/1 000 g)、高压灭菌锅、冰箱、PCR 扩增仪、荧光 PCR 扩增仪、电泳仪、凝胶成像仪、高速冷冻离心机、恒温水浴锅。

### 2.2 用具

烧杯、三角瓶、量筒、试管、培养皿、酒精灯、镊子、剪刀、解剖刀、接种针、载玻片、盖玻片、塑料研杵、移液器、移液器吸头、离心管、液氮罐、样品筛(10 目,  $\phi$ 1.7 mm)。

## 3 试剂和培养基

### 3.1 试剂

葡萄糖,链霉素,乳酸,琼脂,1.0%次氯酸钠(NaClO),液氮,Tris-HCl,MgCl<sub>2</sub>,HCl,EDTA,NaOH,NaOAc,KCl,Tris,CTAB,TAE,无水乙醇(Ethanol),三氯甲烷(Chloroform),异丙醇(Isopropanol),异戊醇(Isoamyl alcohol),SYBR Green I 核酸染料,蛋白酶 K, *Taq* DNA 聚合酶,dNTP,通用引物 ITS5 和 ITS4,实时荧光 PCR 特异性引物 DH-F、DH-R 及探针 DH-Pr。

### 3.2 培养基

马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA),链霉素马铃薯葡萄糖琼脂培养基(SPDA)。具体配方参见附录 A。

## 4 检疫鉴定方法

### 4.1 症状检查

采集田间疑似症状的茎秆、病叶或葵盘,剪取病健交界处的组织材料备用。病害典型的症状是茎秆和叶柄处有淡褐色溃疡病斑,详见附录 A 病害症状描述。

在种子中挑选干瘪、变色、皱缩、残缺或霉变的种子,同时挑选其中夹带的向日葵残体,如叶柄、茎秆、花盘碎片等。

### 4.2 分离培养

将有疑似症状的叶片、叶柄、茎秆、花盘碎片等样品在病健交界处剪取 5 mm~10 mm 的小块,用