



中华人民共和国国家标准

GB/T 31808—2015

向日葵白锈病菌检疫鉴定方法

Detection and identification of *Albugo tragopogonis* (Pers.) S. F. Gray

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

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
向日葵白锈病菌检疫鉴定方法
GB/T 31808—2015

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址: www.gb168.cn

服务热线: 400-168-0010

010-68522006

2015年9月第一版

*

书号: 155066·1-49963

版权专有 侵权必究

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:中华人民共和国新疆出入境检验检疫局、新疆生产建设兵团农业技术推广总站。

本标准主要起草人:张祥林、王翀、赵冰梅、王文正、张江国、乾义柯。

向日葵白锈病菌检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了向日葵白锈病菌的检疫鉴定方法。

本标准适用于向日葵种子和植株中向日葵白锈病菌的检疫和鉴定。

2 仪器和用具

生物显微镜、体视显微镜、超净工作台、高压灭菌器、高速离心机、制冰机、全温水浴、PCR 扩增仪、电泳仪、凝胶成像仪、往复式振荡器、培养皿、烧杯、酒精灯、三角瓶、载玻片、盖玻片、镊子、剪刀、量筒、吸管。

3 试剂

乳酸、苯酚、甘油、棉蓝、藏红花、次氯酸钠(NaClO), 十二烷基硫酸钠(SDS), 三羟甲基氨基甲烷-盐酸(Tris-HCl), 氯化镁(MgCl₂), 乙二胺四乙酸四钠盐(EDTA), 氢氧化钠(NaOH), 醋酸钠(NaOAc), 氯化钾(KCl), 十六烷基三甲基溴化铵(CTAB), 无水乙醇(Ethanol), 苯酚(Phenol), 三氯甲烷(Chloroform), 异丙醇(Isopropanol), 异戊醇(Isoamyl alcohol), 核酸染料(SYBR Green I), 蛋白酶 K, *Taq* DNA 聚合酶(*Taq* DNA polymerase), 脱氧核糖核苷三磷酸(dNTP), DNA 分子量标记(DNA Marker), TAE 电泳缓冲液(TAE buffer)。

4 检疫鉴定方法

4.1 田间症状检查

在向日葵现蕾中期至盛花期, 到向日葵隔离种植区或大田进行调查, 观察向日葵植株发病情况。

4.2 种子带菌检查

选取 5 g 瘪小的向日葵种子, 置于干净三角瓶中, 加入 200 mL 清水和少量洗衣粉, 在往复式振荡器上振荡 10 min, 倒去洗涤液, 再加入等量的清水, 重复洗涤 3 次~5 次, 直至洗净向日葵种子上的种衣剂(如无种子包衣, 可省略此步), 晾干, 剥开向日葵种子, 将果皮和种仁一起放入装有乳酚油的烧杯中, 酒精灯下煮沸 3 min, 冷却后在解剖镜下用镊子剥取内果皮和种皮, 放入一干净培养皿中, 加入少量棉蓝-藏红花染色液, 静置 5 h 左右, 用 95% 乙醇清洗后, 用镊子夹取内果皮或种皮置于载玻片上, 加一滴乳酚油作浮载剂, 盖片镜检。

4.3 病原菌形态观察

用干净刀片刮取少量向日葵病叶背面(或叶柄、花盘等)的白色孢斑中的病菌, 置于载玻片上, 在生物显微镜下观察该病菌形态特征, 记录孢囊梗、孢子囊、卵孢子的形状及大小。

将制备的向日葵内果皮或种皮玻片, 置于生物显微镜下观察病菌形态特征, 记录孢囊梗、孢子囊、卵孢子的形状及大小。