



中华人民共和国国家标准

GB/T 28070—2011

GB/T 28070—2011

黑麦草腥黑粉菌检疫鉴定方法

Detection and identification of *Tilletia walkeri* Castlebury & Carris

中华人民共和国
国家标准
黑麦草腥黑粉菌检疫鉴定方法
GB/T 28070—2011

*

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(100013)
北京市西城区三里河北街16号(100045)
网址 www.spc.net.cn
总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235
读者服务部:(010)68523946
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 1.5 字数 30 千字
2012年5月第一版 2012年5月第一次印刷

*

书号: 155066·1-44626 定价 24.00 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)68510107



GB/T 28070-2011

2011-12-30 发布

2012-06-01 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

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:中华人民共和国深圳出入境检验检疫局,深圳市检验检疫科学研究院。

本标准主要起草人:章桂明、程颖慧、王颖、陆清、凌杏元、龙海、陈枝楠、刘新娇、仲建忠、杨伟东、
缪建锟。

也可采用 D. 2. 2. 1 中的引物和探针进行检测。

F. 5. 2 反应体系及条件

反应体系总体积为 5 μL ，各成分分别为：实时荧光反应混合液 2. 5 μL TaqMan Universal PCR Master Mix, 0. 45 μL 各引物(10 $\mu\text{mol/L}$)，0. 1 μL 探针(10 $\mu\text{mol/L}$)，1 μL DNA(10 $\text{ng}/\mu\text{L}$)，无菌双蒸水 0. 5 μL 。将反应体系混匀，离心后置于实时荧光 PCR 仪中进行反应，每个反应重复 2 次。用无菌双蒸水作空白对照，阳性对照采用含有黑麦草腥黑粉菌的 DNA 作为模板，阴性对照以其他腥黑穗病菌 DNA 作为模板。

反应条件为 50 $^{\circ}\text{C}$ 预热 2 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 min, 然后进入循环反应: 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 共 40 次循环。

对实时荧光 PCR 仪的程序进行设置, 使该仪器能进行 FAM 荧光的检测。

F. 6 结果判定和表述

结果判定和表述见 9. 3. 2。

黑麦草腥黑粉菌检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了黑麦草腥黑粉菌的检疫鉴定方法和检疫鉴定流程, 明确了取样和样品保存方法。本标准适用于黑麦草传带黑麦草腥黑粉菌的检测以及小麦中污染的黑麦草腥黑粉菌的检测。

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/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 18085 植物检疫 小麦矮化腥黑穗病菌检疫鉴定方法

GB/T 19495. 2 转基因产品检测 实验室技术要求

SN/T 2122 进出境植物及植物产品检疫抽样

3 黑麦草腥黑粉菌基本信息

中文名: 黑麦草腥黑粉菌。

学名: *Tilletia walkeri* Castlebury & Carris(简称 TW)。

英文名: ryegrass bunt。

属真菌界 Fungi、担子菌门 Basidiomycota、黑粉菌纲 Ustomycetes、黑粉菌目 Ustilaginales、腥黑粉菌科 Tilletiaceae、腥黑粉菌属 *Tilletia*。

病粒及附着于健康种子表面的冬孢子是病原菌进行远距离传播的主要途径, 由于该病局部侵染的特性, 在收获期间很难有效的清除混杂于健康种子中的病粒, 因而病粒可随同小麦或黑麦草的资源性引种或科研性引种而进行远距离传播。

黑麦草腥黑粉菌的其他信息参见附录 A。

4 方法原理

根据黑麦草腥黑粉菌的生物学和形态学特征以及分子生物学特征, 应用相关仪器, 包括显微镜和 PCR 仪等对小麦印度腥黑穗病菌进行鉴定。

5 检疫鉴定流程

检疫鉴定流程见图 1。