



中华人民共和国国家标准

GB/T 29578—2013

GB/T 29578—2013

甘蔗白色条纹病菌检疫鉴定方法

Detection and identification of *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson

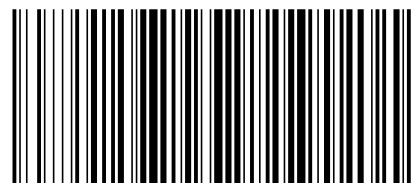
中华人民共和国
国家标准
甘蔗白色条纹病菌检疫鉴定方法
GB/T 29578—2013

*
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 0.75 字数 16 千字
2013年9月第一版 2013年9月第一次印刷

*
书号: 155066·1-47513 定价 16.00 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 29578-2013

2013-07-19 发布

2013-12-06 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

附录 B
(规范性附录)
培养基配制和 PCR 检测方法

B.1 培养基配制**B.1.1 YSP 培养基**

酵母膏 5 g, 蛋白胨 10 g, 蔗糖 20 g, 琼脂粉 15 g, 蒸馏水 1 000 mL。121 °C 湿热灭菌 20 min。

B.1.2 523 培养基

蛋白胨 8 g, 酵母膏 4 g, 硫酸镁($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) 0.3 g, 蔗糖 10 g, 磷酸氢二钾(K_2HPO_4) 2 g, 琼脂粉 18 g, 蒸馏水 1 000 mL。调整 pH 值至 7.0~7.1, 121 °C 湿热灭菌 20 min。

B.2 试剂配制**B.2.1 TAE 电泳缓冲液(50×储存液, pH 值约 8.5)**

242 g Tris 碱, 57.1 mL 冰乙酸, 37.5 g $Na_2EDTA \cdot 2H_2O$, 加水至 1 L。

B.2.2 TE 缓冲液

10 mmol/L Tris · Cl, pH8.0; 1 mmol/L EDTA, pH8.0。

B.3 PCR 反应模板制备

可直接用培养的菌株稀释成菌悬液($>10^7$ CFU/mL)作为 PCR 反应模板;也可按《精编分子生物学实验指南》中的方法提取细菌基因组 DNA, 提取后可用 TE 缓冲液溶解, -20 °C 保存。

B.4 定性 PCR 检测**B.4.1 PCR 检测引物序列**

XAF1: 5'-CCTGGTGATGACGTGGGTT-3'
XAR1: 5'-CGATCAGCGATGCACGCAGT-3'
(扩增产物 600 bp)

B.4.2 PCR 反应体系(30 μL)

10×PCR 缓冲液	3 μL
dNTP(2.5 mmol/L)	1.2 μL
引物 P1(10 mmol/L)	1 μL
引物 P2(10 mmol/L)	1 μL
Taq(5 U/μL)	0.2 μL
双蒸水	22.6 μL

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: 中华人民共和国天津出入境检验检疫局、重庆大学。

本标准主要起草人: 刘鹏、刘跃庭、崔铁军、王中康、廖芳、张裕君、冯洁、黄国明。

附录 A (资料性附录)

甘蔗白色条纹病菌的其他信息

A.1 分布

贝宁、布基纳法索、喀麦隆、加纳、肯尼亚、象牙海岸、马达加斯加、马拉维、毛里求斯、摩洛哥、莫桑比克、多米尼加、尼日利亚、留尼汪、南非、斯威士兰、多宁、坦桑尼亚、刚果、津巴布韦、扎伊尔、缅甸、柬埔寨、印度、印度尼西亚、日本、巴基斯坦、菲律宾、伊拉克、斯里兰卡、泰国、越南、澳大利亚、斐济、夏威夷、墨西哥、美国、巴巴多斯、古巴、格林纳达、瓜德罗普、危地马拉、牙买加、马提尼克、巴拿马、波多黎各、圣基茨、圣卢西亚、圣文森特、特立尼达和多巴哥、阿根廷、巴西、乌拉圭、圭亚那、苏里南、巴拉圭、委内瑞拉、中国(台湾、江西、广东、福建)。

A.2 寄主范围

甘蔗(*Sacchaeru officinarum*)、玉米(*Zea mays*)、象草(*Pennisetum purpureum*)等。

A.3 危害

甘蔗白色条纹病也称甘蔗叶灼病,属系统性病害,由于蔗茎维管束被病菌粘液淤塞,影响水分运输,致使甘蔗叶片的条纹坏死,在干旱季节会发生整株的突然枯萎死亡。该病害常为潜伏侵染,细菌获得机会活跃时,才呈现外表病征,有慢性型和急性型,潜伏期不表现症状。

急性型症状:典型特征是茎秆突然萎缩枯死,而不表现其他的任何症状。有时从茎秆基部或节间侧生叶片具有典型的细长条斑的边鞘。

慢性型症状:病初叶片出现 1 mm~2 mm 宽的与叶脉平行的白色细长条纹,其数目、长度不一,或细小,或整片叶变白,变白程度亦不尽相同,有的白中略带浅黄,有些在白色组织中有很小的红褐色斑点或很浅的红线,后期部分条纹变成红色坏死。条纹常常沿中脉背面延伸或扩展至叶鞘周围呈现紫色色调,蔗株生长点受抑制,易抽侧芽。此外,慢性期的症状还包括尖端焦枯内卷成直立的枯鞘,叶缘部分或全部坏死,并丛生出典型叶片症状的再生蔗苗。白条病诱发的褪绿症状和白化苗容易混淆影响诊断。然而白条病往往部分变色,存在红色坏死点,症状交界处不规则、波纹状,部分褪绿区域常常位于叶片中段。白化症常常在栽植 3 月~6 月后叶片呈现白化。

A.4 生物学特性

甘蔗白色条纹病(sugarcane leaf scald disease)是甘蔗上重要的检疫性细菌病害,主要危害甘蔗的维管束组织,属系统性病害,由于蔗茎维管束被病菌粘液淤塞,影响水分运输,致使甘蔗叶片的条纹坏死,严重时可造成整株枯萎死亡。干旱、水浸和低温等环境因素能提高该病严重度。菌体杆状,(0.3~0.4) μm ×(0.8~1.4) μm ;单生或成链,极生单鞭毛,革兰氏染色阴性,最适生长温度为 25 ℃,最高为 35 ℃。在营养琼脂上不能生长;在 2%蔗糖、1%蛋白胨琼脂或类似的培养基上生长缓慢,YSP 琼脂上 3 d 出现菌落。菌落黄色或浅黄色,光亮,平滑,圆整;过氧化氢酶阳性,精氨酸水解酶阳性,VP 试验阳性,磷酸盐还原反应阴性;只能在氯化钠浓度低于 0.5%的培养基中生长,生长需要谷氨酸和维生素 B₁,

甘蔗白色条纹病菌检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了甘蔗白色条纹病菌的检疫鉴定方法。
本标准适用于甘蔗蔗苗、茎秆等植物材料中甘蔗白色条纹病的检疫和鉴定。

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 食品卫生微生物学检验 染色法、培养基和试剂
SN/T 1193 基因检验实验室技术要求
SN/T 2122 进出境植物及植物产品检疫抽样

3 甘蔗白色条纹病菌基本信息

中文名:甘蔗白色条纹病菌。
学名:*Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson。
病害英文名:sugarcane leaf scald disease。
属细菌界 Bacteria,变形细菌门 Proteobacteria, γ -变形细菌纲 Gammaproteobacteria,黄单胞菌目 Xanthomonadales,黄单胞菌科 Xanthomonadaceae,黄单胞菌属 *Xanthomonas*。
主要靠感病株和机械传播;被感染的种蔗是该病传播的主要方式,削刀(包括装载机械化切刀)也是一个重要的传播源。夹风雨、啮齿动物以及甲虫、蝗虫、叶蝉和甘蔗螟虫等害虫也是甘蔗白色条纹病的传播途径。
甘蔗白色条纹病菌的其他基本信息参见附录 A。

4 方法原理

依据甘蔗白色条纹病菌在寄主植物上造成的病害症状特征,以及该病原菌的生物学特性、生理生化特性、分子生物学特性和致病性特征等进行检测鉴定。

5 仪器用具

电子天平(感量 0.000 1 g)、恒温培养箱、恒温振荡培养箱、高压灭菌器、超净工作台、生物显微镜、高速冷冻离心机(12 000 r/min)、掌上离心机、纯水仪、恒温水浴锅、BIOLÓG 细菌自动鉴定系统、细菌微量生化鉴定管、低温冰箱、PCR 仪、电泳仪、凝胶成像仪、真空冷冻干燥机、培养皿(直径 90 mm)、可调式微量进样器(10 μL 、100 μL 、200 μL 、1 000 μL)、研钵、离心管(1.5 mL)、PCR 管(0.2 μL)、一次性注射器(2 mL)等。