



中华人民共和国国家标准

GB/T 28099—2011

GB/T 28099—2011

水稻细菌性条斑病菌的检疫鉴定方法

Detection and identification of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (Fang et al.)
Swings et al.

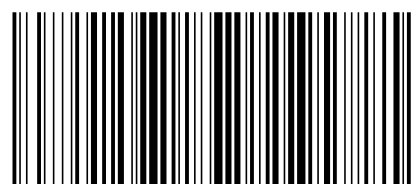
中华人民共和国
国家标准
水稻细菌性条斑病菌的检疫鉴定方法
GB/T 28099—2011

*
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 0.75 字数 15 千字
2012年5月第一版 2012年5月第一次印刷

*
书号: 155066·1-44653 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 28099-2011

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

附录 B
(规范性附录)
培养基和试剂配方

B.1 NA 培养基

蛋白胨 5 g, 牛肉浸膏 3 g, 琼脂 18 g, 加蒸馏水至 1 000 mL, pH 6.8~7.0, 121 °C 湿热灭菌 15 min。

B.2 NBY(Nutrient Broth Yeast Extract Agar Medium)培养基

Sol. 1: 营养肉汤 8 g; 酵母粉 2 g; K_2HPO_4 2 g; KH_2PO_4 0.5 g; 琼脂 18 g; 蒸馏水 950 mL。

Sol. 2: 葡萄糖 5.0 g 溶解于蒸馏水 50.0 mL 中。

Sol. 3: 1 mol/L 的 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1 mL (2.46 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 溶解于 10 mL 蒸馏水)。三种溶液单独 121 °C 湿热灭菌 15 min, 待温度降到 45 °C~50 °C 时混匀后倒制平板。

B.3 PSA 培养基

蔗糖 10 g, 蛋白胨 10 g, 谷氨酸钠 1 g, 琼脂 17 g, 加蒸馏水至 1 000 mL, 调节 pH 至 6.8~7.0, 加热溶解后 121 °C 湿热灭菌 15 min。

B.4 TE-缓冲液

用 1 mol/L Tris-HCl, pH 8 和 0.5 mol/L EDTA 母液配制, 1 mol/L Tris-HCl, 10 mL; 0.5 mol/L EDTA, 2 mL; 加水至 1 000 mL。

B.5 10% SDS(十二烷基硫酸钠)

10 g 溶于 100 mL 水。

B.6 CTAB(十六烷基三甲基溴化胺)

10 g CTAB 溶于 100 mL 0.7 mol/L NaCl 溶液中 (0.7 mol/L NaCl: 4.1 g NaCl 溶于 10 mL 水)。

B.7 5×TAE 缓冲液

54 g Tris; 27.5 g 硼酸; 0.5 mol/L EDTA, pH 8, 20 mL; 加水至 1 L。配制琼脂糖凝胶用 0.5×TAE 缓冲液。

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: 中华人民共和国上海出入境检验检疫局、中华人民共和国厦门出入境检验检疫局、中华人民共和国江苏出入境检验检疫局、中华人民共和国重庆出入境检验检疫局、南京农业大学。

本标准主要起草人: 易建平、林石明、周国梁、粟寒、印丽萍、孔德英、许志刚、胡白石。

附 录 A
(资料性附录)
水稻细菌性条斑病菌其他信息

A.1 检疫重要性

《中华人民共和国进境植物检疫性有害生物名录》(2007年)中的检疫性有害生物之一,目前国内受害病区已超过11个省。欧洲和地中海国家植物保护组织(EPPO)的A1类检疫性有害生物。目前分布于热带亚洲地区、西非和澳大利亚等地。

A.2 寄主植物

主要寄主是水稻 *Oryza sativa*;其他寄主包括:稻属 *Oryza* spp.,李氏禾属 *Leersia* spp.,丝千金子 *Leptochloa filiformis*,圆果雀稗 *Paspalum orbiculare*,茭白 *Zizania aquatica*,沼生荻 *Z. palustris* 和结缕草 *Zoysia japonica*。

A.3 形态特征

病菌为革兰氏染色阴性,短杆状,大小(0.4 μm~0.6 μm)×(1.1 μm~2.0 μm);无芽孢和荚膜,菌体外具粘质的胞外多糖包围;单生,很少成对,不呈链状;极生鞭毛一根。最适生长温度 25℃~28℃,生长温限 8℃~38℃。

A.4 症状特征

整个水稻生育期的叶片均可受害。病菌进入气孔在叶片薄壁组织内繁殖,主要感染叶片薄壁组织细胞,局部侵染。病斑初呈暗绿色水渍状半透明的小点,渐形成叶脉间透明条斑,限在叶脉之间延伸,颜色由黄褐转橙褐色,这种透明条斑与白叶枯病的不透明症状差异明显。病斑上常泌出许多露珠状的蜜黄色菌脓(参见图 A.1)。病情严重时,许多条斑融合、连接在一起,成为不规则的黄褐色至枯黄色斑块,此时病叶枯萎,变褐,最后死亡,后期的症状与白叶枯病有些相似(参见图 A.2)。

水稻细菌性条斑病菌的检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了水稻细菌性条斑病菌的检测和鉴定方法。
本标准适用于水稻种子及植株上水稻细菌性条斑病菌的检测与鉴定。

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。

SN/T 0800.1 进出口粮油、饲料检验 抽样和制样方法
SN/T 2122 进出境植物及植物产品检疫抽样

3 水稻细菌性条斑病菌基本信息

中文名:水稻细菌性条斑病菌(稻黄单胞菌稻生致病变种)。

学名:*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*(Fang et al.,1956)Swings et al.,1990,简称 Xoc。

异名:*Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola* (Fang et al.,1956) Dye 1978; *Xanthomonas oryzicola* (Fang et al.,1956) Dowson 1943; *Xanthomonas translucens* f. sp. *oryzicola* (Fang et al.,1956)Bradbury 1971。

病害英文名:bacterial leaf streak of rice。

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*(Dowson,1939)。

病菌主要在病种子和病草上越冬,其次在水稻再生苗或李氏禾等杂草上越冬。病菌主要借雨水、流水等传播,带菌种子是远距离传播的主要途径之一。

水稻细菌性条斑病菌的其他信息参见附录 A。

4 方法原理

根据症状特征、菌落形态特征、生理生化特征、PCR 反应和致病性测试结果等进行检测鉴定。

5 主要试剂

除另有规定外,所有试剂均为分析纯或生化试剂。

三羟甲基氨基甲烷盐酸盐(Tris-HCl)、乙二胺四乙酸(EDTA)、十二烷基硫酸钠(SDS)、十六烷基三甲基溴化胺(CTAB)、三氯甲烷、异戊醇、乙醇、蛋白酶、溴化乙锭、酵母粉、琼脂、蛋白胨、牛肉浸膏、营养肉汤、葡萄糖、蔗糖、谷氨酸钠。

培养基和试剂配方见附录 B。