

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 2050—2011

玉米霜霉病菌检疫检测与鉴定方法

Detection and identification of *Peronosclerospora* spp.

2011-09-01 发布

2011-12-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国农业部种植业管理司提出。

本标准由全国植物检疫标准化技术委员会(SAC/TC 271)归口。

本标准起草单位:全国农业技术推广服务中心、广西壮族自治区植保总站。

本标准主要起草人:王福祥、王凯学、覃贵亮、吴志红、邓铁军、李潇楠、李菁、沈昆、朱莉。

玉米霜霉病菌检疫检测与鉴定方法

1 范围

本标准规定了玉米霜霉病菌的现场检验及室内鉴定的方法。

本标准适用于玉米、甘蔗、高粱等禾本科植物上玉米霜霉病菌的检疫检测与鉴定。

2 原理

玉米霜霉病主要由玉蜀黍霜指霉(*Peronosclerospora maydis*)、高粱霜指霉(*P. sorghi*)、菲律宾霜指霉(*P. philippinensis*)和甘蔗霜指霉(*P. sacchari*)引起,该类菌(以下简称玉米霜霉病菌 *Peronosclerospora* spp.)属于卵菌纲(Oomycetes),指梗霉目(Sclerosporales),指梗霉科(Sclerosporaceae),霜指霉属(*Peronosclerospora*)。该病菌都是专性寄生在禾本科植物上(参见附录 A),可侵染玉米的叶片和茎秆造成系统和局部症状。这4种病菌引起的玉米霜霉病有明显的症状,病原菌有其独特的形态特征,用特异引物对病菌DNA进行PCR扩增时可获得特异的DNA片段。病害的症状、病原菌的形态特性以及PCR特异反应特征是鉴定玉米霜霉病菌的主要依据。

3 试剂与材料

棉蓝乳酚油、吐温-20、乙醇、11.5%NaOH、0.015%Trypane Blue、乳酸、甘油、10倍PCR缓冲液、玉米霜霉病菌DNA的特异性引物、dNTP、Taq酶、5倍TBE电泳缓冲液、琼脂糖凝胶(0.8%)、吸水纸、无菌水、蒸馏水、1000 bp DNA ladder等。

4 仪器及用具

盖玻片、载玻片、生物显微镜、高速台式离心机、PCR扩增仪、天平、高压灭菌锅、恒温培养箱、水平电泳仪、凝胶成像系统、PCR反应管、微量移液器、移液器、解剖刀、培养皿、烧杯、漏斗、镊子、分样筛(5 mm、4 mm、3 mm)、吸管等。

5 现场检测

5.1 产地检测

在寄主大田作物生长期逐行进行田间症状目测踏查。按要求采集有典型症状和疑似症状的玉米霜霉病样本进行室内检验鉴定。玉米霜霉病典型症状参见附录B。

5.2 调运检测

现场核实货物有关单证,核实产地。重点检查来自玉米霜霉病菌发生区的其寄主种子或原粮中是否夹带玉米、高粱、甘蔗等叶片病残体,是否夹带颖壳的高粱种子;带玉米、高粱植株残体的包装、铺垫材料,以及甘蔗插条和其他玉米霜霉病菌寄主种苗叶片是否有可疑病斑,将检获物带回实验室作进一步检验。

6 室内检测

6.1 寄主叶片等病残体检测

6.1.1 直接镜检检测

如果寄主叶片上有白色霜霉状物,可直接挑取白色霜霉或撕取带有白色霜霉的病组织制成玻片样品在显微镜下观察病原菌的孢囊梗和孢子囊形态。如果染色观察,加1滴棉蓝乳酚油染色后立即用无