



中华人民共和国国家标准

GB/T 40627—2021

油菜茎基溃疡病菌活性检测方法

Viability test of *Leptosphaeria maculans* (Desm) Ces. et De Not.

2021-10-11 发布

2022-05-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由全国植物检疫标准化技术委员会(SAC/TC 271)提出并归口。

本文件起草单位：中华人民共和国深圳海关、深圳市检验检疫科学研究院。

本文件主要起草人：高瑞芳、章桂明、王颖、黄河清、向才玉、李娜。

油菜茎基溃疡病菌活性检测方法

1 范围

本文件描述了应用普通荧光显微镜或激光扫描共聚焦显微镜对油菜茎基溃疡病菌[*Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. et De Not.]分生孢子进行活性检测的方法。

本文件适用于油菜茎基溃疡病菌相关寄主中携带的油菜茎基溃疡病菌分生孢子的活性检测鉴定。

2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

应用荧光染料对油菜茎基溃疡病菌分生孢子进行染色处理,根据碘化丙啶(Propidium Iodide, PI)能够穿透正在死亡或者已经死亡的细胞膜,不能透过具有活力的细胞膜,使不具活性的孢子发出红色荧光、具有活性的孢子不发出荧光的特点,运用普通荧光显微镜或激光扫描共聚焦显微镜对荧光染料处理的分生孢子进行检测,分析其活性情况。油菜茎基溃疡病菌基本信息见附录 A。

5 仪器和试剂

5.1 试剂

碘化丙啶(PI)溶液配置方法:称取 0.01 g PI 粉末,加入 10 mL 无菌水,配制成浓度为 1 mg/mL 的母液,置于棕色瓶 4 °C 避光保存,使用前配制所需浓度。

马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA):200 g 去皮土豆切成小方块,加入 1 000 mL 自来水,煮沸 15 min, 四层纱布过滤得到滤液,滤液中加入 18 g 葡萄糖、18 g 琼脂粉,加热溶解后将溶液定容至 1 000 mL, 分装到三角瓶中,121 °C 高压蒸汽灭菌 20 min。

5.2 设备

激光扫描共聚焦显微镜或普通荧光显微镜、高压灭菌锅、生物安全柜、生化培养箱、冰箱、离心机。

6 活性检测方法

6.1 检测样品制备

在超净工作台中,用解剖针将油菜茎基溃疡病菌分生孢子挑到灭菌水中,充分振荡 3 min,在显微