



# 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4181—2015

## 甜菜叶斑病菌检疫鉴定方法

Detection and identification of *Ramularia beticola*

2015-02-09 发布

2015-09-01 实施



中 华 人 民 共 和 国  
国家质量监督检验检疫总局 发 布

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国黑龙江出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：杨立群、张洪祥、刘忠梅、程阳、严进、刘洪义、孟玉芹、聂文革。

# 甜菜叶斑病菌检疫鉴定方法

## 1 范围

本标准规定了甜菜叶斑病菌的检疫和鉴定方法。

本标准适用于甜菜种子、植株中甜菜叶斑病菌的检疫和鉴定。

## 2 基本信息

中文名称:甜菜叶斑病菌

拉丁学名:*Ramularia beticola* Fautr.et Lambotte

分类地位:真菌界(Fungi),子囊菌门(Ascomycota),座囊菌纲(Dothideomycetes),煤炱目(Capnoidiales),球腔菌科(Mycosphaerellaceae),柱隔孢属(*Ramularia*)。

传播途径:该病菌依靠风雨等近距离传播,以病株的组织尤其是叶片、种子远距离传播。

该病菌的其他信息参见附录 A。

## 3 方法原理

甜菜叶斑病菌具有分生孢子梗和分生孢子,其在寄主上危害的症状及形态特征是鉴定该病菌的主要依据。

## 4 仪器设备

### 4.1 仪器

实体显微镜、生物显微镜、超净工作台、高压灭菌锅、光照恒温培养箱、电子天平(1/1 000)、冰箱、振荡器、离心机等。

### 4.2 实验用具

三角瓶(250 mL、500 mL)、培养皿(9 cm)、烧杯、剪刀、解剖针、解剖刀、滤纸、离心管、透明胶带、白瓷盘等。

## 5 现场检查

检查种子中是否有可疑病粒(没有种衣剂的情况下)以及植物的病残体,并把可疑样品送到实验室做进一步鉴定。

## 6 实验室检验

### 6.1 非种衣剂种子检验

#### 6.1.1 洗涤检验

取 50 g 种子样品放入灭菌的三角瓶中,加入 300 mL 无菌水,在振荡器中震荡 5 min~10 min,然后

将震荡液在 1 500 r/min 下离心 5 min,倒掉上清液留下 1 mL 左右沉淀液,在显微镜下观察。

### 6.1.2 保湿培养

将种子样品倒入灭菌磁盘中,检查病残体和可疑的病粒、瘪粒,然后用灭菌的镊子在无菌的情况下将其放入已灭菌的、具三层滤纸的培养皿中(直径 9 cm),加 3 mL 的无菌水,每皿约 35 粒,放入 10 个培养皿。将培养皿封闭在透明塑料袋中或用透明胶条封口,在 16 °C~20 °C 条件下光暗交替培养 5 d 后用实体显微镜开始观察,也可肉眼观察,是否有真菌长出。将可疑病粒轻轻移放在另一个灭菌的培养皿中继续培养,3 d 后在显微镜下观察。

## 6.2 种衣剂种子检验

将带有种衣剂的种子直接放入灭过菌的培养皿中,进行保湿培养(方法同 6.1.2)。

## 6.3 植株检验

### 6.3.1 显微镜检查

采集的病叶,如果病部有霉层,可直接用灭菌解剖针挑取霉层,或者用透明胶带直接粘取霉层后镜检,观察病菌形态特征。

### 6.3.2 保湿培养

将病叶用无菌水冲洗 3 次后,在无菌条件下用灭菌解剖刀在病斑的病健交界处切取 4 cm 左右放入灭菌培养皿中,培养方法同 6.1.2。长出菌后,用显微镜检查。

## 7 隔离种植检验

种子经过实验室检疫后,必须进行田间隔离种植检疫,这是不可缺少的重要检疫手段。

甜菜叶斑病一般可选择 6 月份和 7 月份调查,甜菜褐斑病(*Cercospora beticola*)与甜菜叶斑病(*Ramularia beticola*)是甜菜叶片上最重要的两种病害,危害症状有些相近,但病原菌有明显的区别。可参见附录 A 和附录 B 根据所描述的症状,采集可疑病叶,带回实验室,检验方法同 6.3。

## 8 病原菌形态鉴定特征

菌丝无色有隔,分枝,分生孢子梗无色,常成簇从寄主气孔穿出,分生孢子梗短小不分枝,产孢梗顶端曲膝状,分生孢子卵形、长椭圆形、至圆柱状,单胞或双胞,单细胞孢子( $8\text{ }\mu\text{m}\sim 12\text{ }\mu\text{m}$ ) $\times$ ( $3\text{ }\mu\text{m}\sim 4\text{ }\mu\text{m}$ ),双细胞孢子( $15\text{ }\mu\text{m}\sim 25\text{ }\mu\text{m}$ ) $\times$ ( $2\text{ }\mu\text{m}\sim 4\text{ }\mu\text{m}$ )。参见图 A.2。

## 9 结果评定

### 9.1 种子检验

如果在种子及其病残体中检查到与第 8 章中所描述的形态鉴定特征相一致的病原菌,则判定为甜菜叶斑病菌。

### 9.2 植株检验

如果在病叶中观察到附录 A 中相类似的状况,且检查到与第 8 章中所描述的形态鉴定特征相一致

的病原菌,则判定为甜菜叶斑病菌。

## 10 结果记录

记录样品信息及各项检测数据,包括样品来源、采集时间、地点、方法、结果等信息,并保存病原菌显微摄影、叶片症状等相关照片。

## 11 样品保存

检出甜菜叶斑病菌的样品应保持在冷藏箱中;分离的甜菜叶斑病菌用 PDA 培养基培养保存,保存至少 1 年,以备复核。保存期满后,须经灭菌处理。



SN/T 4181—2015

附 录 A  
(资料性附录)  
甜菜叶斑病菌基本信息

A.1 分布

主要分布在欧洲和北美的一些地区,如比利时、丹麦、法国、德国、捷克、爱尔兰、俄罗斯、波兰、斯堪的纳维亚地区以及美国等。

A.2 寄主

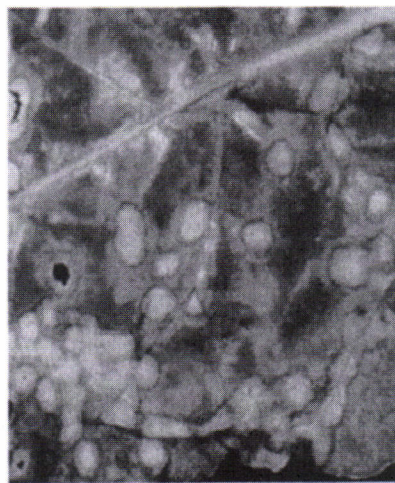
甜菜属 *Beta* L.。

A.3 田间危害症状

主要危害甜菜植株叶部、典型的叶部病害,最初叶片上产生褐色斑点,病害发展可产生多个斑点并连成片,通常产生灰褐色病斑,边缘浅黑或褐色,病斑圆形至卵形,病斑直径 4 mm~7 mm,病斑上产生白色霉层,被害严重的叶片变黄,然后坏死至完全干枯。



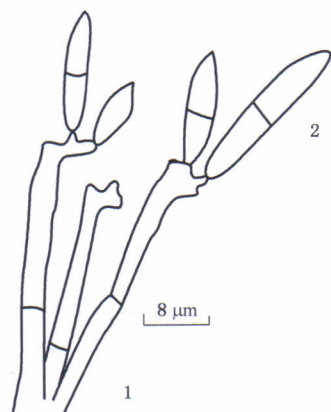
发病初期



发病后期

图 A.1 甜菜叶斑病菌在叶片上危害照片(马亚怀提供)

#### A.4 形态特征



说明：

1——分生孢子梗；

2——分生孢子。

图 A.2 *Ramularia beticola* 形态特征图(马亚怀提供)

## 附录 B

(资料性附录)

### *Cercospora beticola* 田间危害症状及病原菌形态图

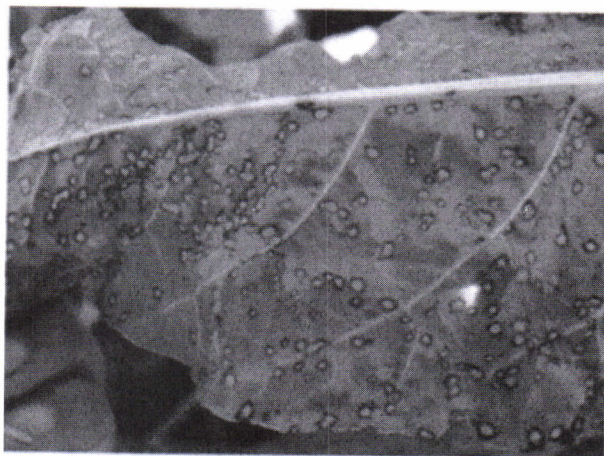
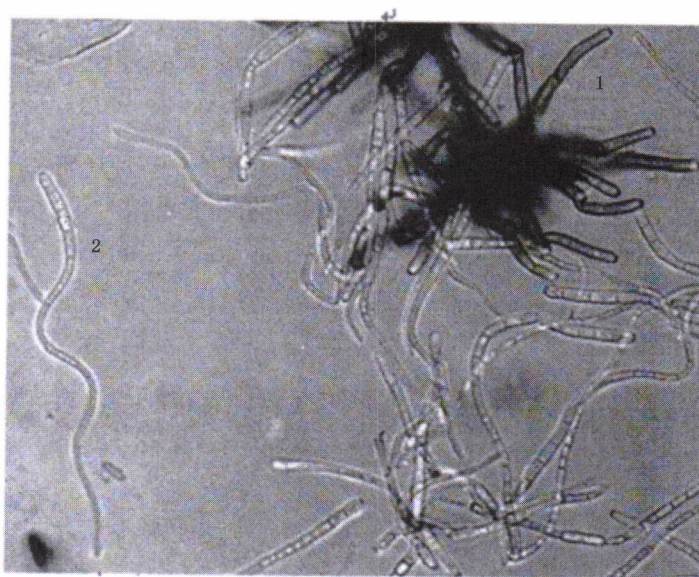


图 B.1 *Cercospora beticola* 在叶片上危害照片(杨立群,2008.8)



说明:

1——分生孢子梗;

2——分生孢子。

图 B.2 *Cercospora beticola* 形态特征图(杨立群,2008.8)