



# 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 3892—2014

---

## 麦类壳多胞斑点病菌检疫鉴定方法

Detection and identification of *Stagonospora avenae* Bissett f.sp.*triticea*  
T.Johnson

2014-01-13 发布

2014-08-01 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。

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这些专利的责任。

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：中华人民共和国山东出入境检验检疫局、中华人民共和国江苏出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：王英超、封立平、李建勇、甘琴华、吴兴海、厉艳、纪瑛、魏晓棠、邵秀玲、张京萱、白桦、吴翠萍。

# 麦类壳多胞斑点病菌检疫鉴定方法

## 1 范围

本标准规定了麦类壳多胞斑点病菌鉴定方法。

本标准适用于进出境小麦、大麦和黑麦种子、组培苗中的麦类壳多胞斑点病菌的鉴定。

## 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 1809 进出境植物种子检疫规程

## 3 病菌基本信息

学名:*Stagonospora avenae* Bissett f.sp.*triticea* T.Johnson;*Phaeosphaeria avenaria* f.sp.*triticea* T.W.Johnson 1947(有性态)。

异名:*Septoria avenae* A.B.Frank f.sp.*Triticea*; *Leptosphaeria avenaria* G.F.Weber f.sp.*triticea* (有性态)。

分类地位:麦类壳多胞斑点病菌(*Stagonospora avenae* Bissett f.sp.*triticea* T.Johnson)无性态属于半知菌亚门(Deuteromycotina),腔菌纲(Coelomycetes),球壳孢目(Sphaeropsidales),壳多孢属(*Stagonospora*);有性态属于囊菌门(Ascomycota),座囊菌纲(Dothideomycetes),格孢菌目(Pleosporales),*Phaeosphaeria* 属。

传播途径:植物残体和种子是远距离传播的主要途径。

病菌的其他信息参见附录 A。

## 4 方法原理

麦类壳多胞斑点病菌的形态特征、生物学特性、寄主范围等是该检疫鉴定方法判定的主要依据。

## 5 仪器设备和主要试剂

### 5.1 仪器设备

生物显微镜(具油镜镜头)、具透射光源的体视显微镜(最大放大倍数不低于 50×)、超净工作台、电子天平、光照恒温培养箱、酒精灯、高压灭菌器、培养皿(直径 9 cm)、医用手术剪、镊子、烧杯(5 mL、10 mL)、试管(直径 12 mm)、载玻片、盖玻片、三角瓶(250 mL)、量筒(500 mL)。

### 5.2 主要试剂

蒸馏水、1%次氯酸钠、PDA 培养基、水琼脂培养基、啤酒麦芽琼脂培养基、酵母提取物琼脂培养基、小麦粉琼脂培养基,配方参见附录 B。

## 6 现场检疫

按 SN/T 1809 进行现场检疫,仔细检查寄主植物的叶等部位,是否有叶枯症状。对可疑植物和繁殖材料应取样送实验室做进一步检验,参见附录 A。

## 7 实验室检疫

### 7.1 病原菌检查

用解剖针挑取或刀片刮取病斑或病组织表皮下小黑点制片,在显微镜下观察病菌的分生孢子器和假囊壳,记录其形态特征,测量分生孢子、子囊和子囊孢子的大小。得到的孢子进行单胞分离纯化。

### 7.2 分离培养

#### 7.2.1 组织中病菌的分离

如果发现可疑症状,但不能按 7.1 获得分生孢子器和假囊壳,应采取下列分离培养的方法作进一步的鉴定。将病株在自来水流水下冲洗 10 min~30 min,在病斑边缘病健交接处切取 0.5 cm<sup>2</sup> 左右的小块,用 1%次氯酸钠表面消毒 3 min,再用灭菌水浸洗 3 次,每次 10 s~20 s,用灭菌滤纸吸干水分后移至 PDA 培养基或 2%水琼脂培养基,于 21℃~23℃下培养 7 d。12 h 日光灯/12 h 黑暗下无菌培养。注意在显微镜下观察叶片上的分生孢子器特征、分生孢子特征。得到的孢子进行单胞分离纯化。

#### 7.2.2 种子中病菌的分离

##### 7.2.2.1 吸水纸培养法

检查异常的种子,或随机挑取种子,每份样品至少检测 400 粒种子。用蒸馏水将吸水纸充分湿润(避免产生多余的水),种子均匀地置于吸水纸上(如直径 9 cm 的培养皿约 25 粒/皿),加盖后,在 20℃~22℃,12 h 紫外光/12 h 黑暗下无菌培养。5 d~7 d 后观察培养结果,可疑的菌落进行分离纯化。

##### 7.2.2.2 冷冻培养法

按 7.2.2.1 方法处理并播种的种子先在 20℃下培养 24 h,之后于-20℃冷冻 24 h,最后于 20℃~22℃,12 h 紫外光/12 h 黑暗下无菌培养。5 d~7 d 后观察培养结果,可疑的菌落进行分离纯化。

### 7.3 病菌孢子的培养和镜检

#### 7.3.1 分生孢子器的产生和制片镜检

从培养 4 d~6 d 的分离纯化菌株菌落边缘取 0.5 mm(直径),放在啤酒麦芽琼脂培养基中,24 h 连续光,21℃~23℃条件下培养 10 d 以上镜检。

进行分生孢子器的形态观察和测量时,将上述分生孢子取出制片。

注意观察分生孢子器的颜色、形状以及分生孢子的形状、大小。

#### 7.3.2 假囊壳的产生和制片镜检

从培养 4 d~6 d 的分离纯化菌株菌落边缘取 0.5 mm(直径),放在酵母提取物琼脂培养基中,24 h 连续光,21℃~23℃条件下培养 16 d~30 d 以上镜检。

注意观察假囊壳、子囊和子囊孢子的颜色、形状、大小。

## 8 鉴定特征

### 8.1 培养性状

麦类壳多胞斑点病菌在 PDA 培养基首先形成白色絮状菌丝,浅棕色至亮黄色,4 周后变为深褐色,基质浅棕色或浅黄色,然后变成深褐色或黄绿色。

### 8.2 形态特征

#### 8.2.1 无性生殖阶段特征(参见附录 C)

分生孢子器单腔,球形至椭圆形,黄褐色至黑褐色,厚壁,直径  $80\ \mu\text{m}\sim 210\ \mu\text{m}$ ,孔口乳突状,近圆形,直径  $13.8\ \mu\text{m}\sim 22.5\ \mu\text{m}$ 。分生孢子圆柱形,直或稍弯,两端钝圆,少数孢子上端稍细,大多具有 3 个隔膜,很少有 1,2,4 或 5 隔膜的,含有油球,分生孢子大小 $[(18)26\ \mu\text{m}\sim 42(53)\ \mu\text{m}]\times[(2.3)2.8\ \mu\text{m}\sim 3.5(4.2)\ \mu\text{m}]$ 。

#### 8.2.2 有性生殖阶段特征(参见附录 C)

假囊壳黑点状,汇聚成片,且多与分生孢子器相伴生。球形或亚球形,褐色至深褐色,直径  $100\ \mu\text{m}\sim 220\ \mu\text{m}$ 。子囊生于子囊腔内垫状的基物上,子囊棍棒状,直或一方稍弯曲,顶部圆,无足胞但基部稍细,无色,大小 $(40\ \mu\text{m}\sim 80\ \mu\text{m})\times(8\ \mu\text{m}\sim 11\ \mu\text{m})$ 。子囊孢子 8 个,淡黄色至浅黄褐色,双行交织排列,梭形,直或稍向一方弯曲,3 个横向隔膜,少数 2 个或 4 个,隔膜处明显缢缩,大小 $[(16)19\ \mu\text{m}\sim 25(28)\ \mu\text{m}]\times(4\ \mu\text{m}\sim 6\ \mu\text{m})$ 。

### 8.3 麦类壳多胞斑点病菌与其他近似种的主要区别

麦类壳多胞斑点病菌在麦类上的近似种主要是小麦叶斑病(*Stagonospora nodorum*),二者的主要区别包括菌落、分生孢子器和假囊壳的特征等方面,具体参见附录 D。

## 9 结果判定

以分离物的培养特征、无性及有性特征等作为鉴定依据,进行综合判定。若以上特征与 8.1、8.2 鉴定特征吻合,鉴定为麦类壳多胞斑点病菌。

## 10 样品保存与处理

保存样品经登记和经手人签字后置于阴凉干燥、防虫防鼠处妥善保存 3 个月。对检出麦类壳多胞斑点病菌的样品应至少保存 6 个月,以备复检、谈判和仲裁,该类样品保存期满后,应经灭菌后方可处理。

## 11 菌株保存与处理

分离并最终鉴定为麦类壳多胞斑点病菌的菌株应转接到试管斜面上,置于  $4\ ^\circ\text{C}$  左右冰箱中保存,并定期(30 d $\sim$ 60 d)转管。菌株至少应保存 6 个月,保存期满后,应经灭菌处理。

## 12 实验记录保存

实验记录包括:样品的来源、种类、时间,实验的时间、地点、方法和结果等,并要有实验人员和审核人员签字。

SN/T 3892—2014

## 附录 A

(资料性附录)

### 麦类壳多胞斑点病菌相关资料

#### A.1 学名

英文名: Stagonospora leaf blotch

中文名: 麦类壳多胞斑点病菌或小麦壳多孢叶枯病。

#### A.2 分布

广泛分布,在北美和欧洲春小麦产区发病较重。

欧洲: 波兰、德国、芬兰、奥地利。

北美洲: 加拿大、美国。

南美洲: 阿根廷、巴西。

#### A.3 寄主范围

该转化型侵染小麦、大麦、黑麦和多种禾草。

#### A.4 症状描述

田间症状初期主要发生在麦类底层叶片,若条件适宜传播蔓延至上层叶片,严重时整株麦叶干枯。

主要为害叶片,叶鞘和穗部也能发病。叶片初为褪绿色小点,后扩大生成纺锤形至椭圆形黄褐色至红褐色病斑,多数长约  $5\text{ }\mu\text{m}\sim 10\text{ }\mu\text{m}$ 。病斑外围颜色偏深,有黄色晕圈。多个病斑常汇合为不规则斑块,甚至沿叶脉扩展为大型条斑,使叶片提早枯死。高湿时,病斑上产生黑色小粒点,在叶脉间成行排列,病斑背面较多,小粒点为分生孢子器。叶片上病斑可由叶片基部延伸到叶鞘上,造成叶鞘发病枯死。病穗颖壳上形成褐色或黑褐色斑块,严重时穗腐。在寄主组织上,分生孢子器较易发现和产生,不同的寄主分生孢子器形成的多少有差别,黑麦最多,大麦次之,小麦最少。

在寄主组织上,假囊壳不易发现和产生。成行散生于活叶坏死老病斑的表皮下,黑点状,汇聚成片,孔口短,突出在叶片和叶鞘的表面,其外围多为分生孢子器生长区,且多与分生孢子器相伴生。

#### A.5 传播方式

在田间分生孢子随风雨传播扩散。在植物残体上,能够以孢子器和假囊壳的形式存活并传病,种子也可带菌传播。成熟或衰老叶片组织比幼组织更容易感病。当叶锈病在冬黑麦上发生时,该病害更容易流行。



## 附 录 B

(资料性附录)

### 麦类壳多胞斑点病菌常用的培养基配方

#### B.1 啤酒麦芽琼脂培养基

啤酒麦芽 1 000 mL,琼脂粉 20.0 g,121 ℃湿热灭菌 20 min。

#### B.2 酵母提取物琼脂培养基

酵母提取物 2.5 g,葡萄糖 5 g,琼脂粉 20.0 g,蒸馏水 1 000 mL,121 ℃湿热灭菌 20 min。

#### B.3 小麦粉琼脂培养基

小麦粉 20 g,琼脂粉 20.0 g,蒸馏水 960 mL,121 ℃湿热灭菌 20 min。

SN/T 3892—2014

附 录 C  
(资料性附录)  
麦类壳多胞斑点病菌形态特征图

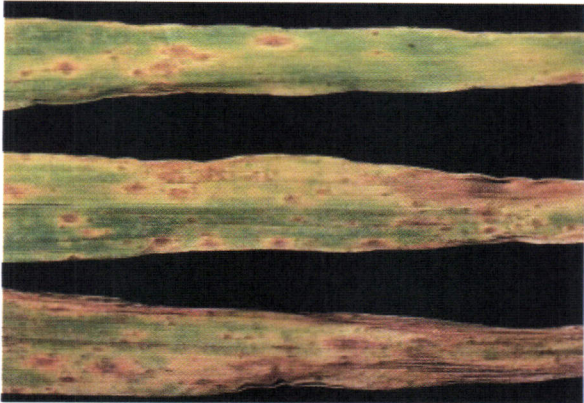
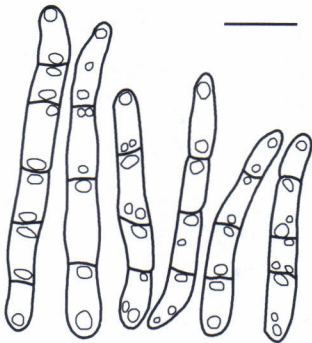


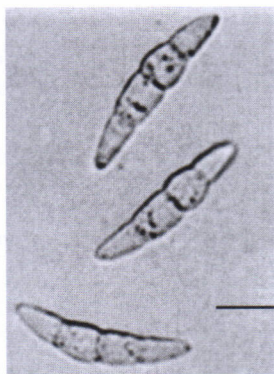
图 C.1 麦类壳多胞斑点病菌叶片症状



注：引自 Kiehr M,R Delhey,2007 年。

图 C.2 麦类壳多胞斑点病菌无性态(分生孢子)





注：引自 Kiehr M,R Delhey,2007 年。

图 C.3 麦类壳多胞斑点病菌有性态(子囊孢子)

注：图 C.2 和图 C.3 中黑色横线代表 10  $\mu\text{m}$ 。

## 附 录 D

(资料性附录)

## 麦类壳多胞斑点病菌与近似种的主要区别

表 D.1 麦类壳多胞斑点病菌与小麦叶斑病(*Stagonospora nodorum*)的主要区别

病害名称	麦类壳多胞斑点病菌	小麦叶斑病
菌落特征	在酵母提取物琼脂培养基产生明显的粉色气生菌丝	在酵母提取物琼脂培养基产生灰白色菌丝
分生孢子器	在酵母提取物琼脂培养基和小麦粉琼脂培养基上单胞培养不能够生成分生孢子器;在啤酒麦芽琼脂培养基上能够生成。分生孢子大小 $[(18)26\ \mu\text{m}\sim 42(53)\ \mu\text{m}]\times[(2.3)2.8\ \mu\text{m}\sim 3.5(4.2)\ \mu\text{m}]$	在酵母提取物琼脂培养基和小麦粉琼脂培养基上单胞培养能够生成分生孢子器;分生孢子器直径 $160\ \mu\text{m}\sim 210\ \mu\text{m}$ ,分生孢子大小 $(15\ \mu\text{m}\sim 32\ \mu\text{m})\times(2\ \mu\text{m}\sim 4\ \mu\text{m})$
假囊壳	同宗配合,在酵母提取物琼脂培养基上单胞培养能够生成假囊壳	异宗配合,在酵母提取物琼脂培养基上单胞培养不能够生成假囊壳。假囊壳直径 $120\ \mu\text{m}\sim 200\ \mu\text{m}$ ,子囊孢子大小 $(23\ \mu\text{m}\sim 32\ \mu\text{m})\times(4\ \mu\text{m}\sim 6\ \mu\text{m})$

## 参 考 文 献

- [1] 方中达.植物病害研究方法[M].北京:中国农业出版社,1998.
- [2] 许志刚.拉汉-汉拉植物病原生物名称[M].北京:中国农业出版社,2007.
- [3] 王春林.潜在的植物检疫性有害生物图鉴[M].北京:中国农业出版社,2005.
- [4] 贾菊生,俞炳骧.我国小麦一新病害——小麦褐色叶枯病的研究[J].八一农学院学报,1990,13(4).
- [5] Bissett,J.1982.*Stagonospora avenae*.Fungi Canadenses No.239.National Mycological Herbarium, Biosystematics Research Institute, Agriculture Canada, Ottawa.
- [6] Hogenson,R.O.,and Hosford,Jr.,R.M.1971.Sexual reproduction in *Leptosphaeria avenaria* f.sp. *triticea* by wave lengths of light greater than 560 mu..Mycologia,63:958-963.
- [7] Hosford,Jr.,R.M.,Hogenson,R.O.,Huguelet,J.E.,and Kiesling,R.L.1969.Studies of *Leptosphaeria avenaria* f.sp.*triticea* on wheat in North Dakota.Plant Dis.Rep.53:378-381.
- [8] Krüger, J., y G. M. Hoffmann. (1978b). Differenzierung von *Septoria nodorum* Berk. und *Septoria avenae* Frank f.sp.*triticea* T.Johnson.Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 85:645-650.
- [9] Scharen,A.L.,and Sanderson,F.R.1985.Identification,distribution and nomenclature of the *Septoria* species that attack cereals.In *Septoria of cereals*.Edited by A.L.Scharen.USDA Agricultural Research Service,Publication No.ARS-12,pp.37-41.
- [10] Shaw,D.E.1957a.Studies on *Leptosphaeria avenaria* f.sp.*triticea* on cereals and grasses.Can.J. Bot.35:113-118.
- [11] Shaw,D.E.1957b.Studies on *Leptosphaeria avenaria* f.sp.*avenaria*.Can.J.Bot.35:97-112.
- [12] Cunfer,B.M.,and Ueng,P.P.1999.Taxonomy and identification of *Septoria* and *Stagonospora* species on small grain cereals.Annu.Rev.Phytopathol.37:267-284.
- [13] Shoemaker,R.A.,and Babcock,C.E.1989.*Phaeosphaeria*.Can.J.Bot.67:1500-1599.
- [14] Kiehr M, R Delhey. 2007. *Phaeosphaeria avenaria* f.sp.*triticea* (anamorfo *Stagonospora avenae* f.sp.*triticea*) en trigo, en Argentina. 2007(76):85-94.