

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4081—2014

伤残短体线虫检疫鉴定方法

Detection and identification of *Pratylenchus vulnus* Allen & Jesen

2014-11-19 发布

2015-05-01 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：中华人民共和国深圳出入境检验检疫局、深圳市检验检疫科学研究院、中华人民共和国天津出入境检验检疫局、中华人民共和国宁波出入境检验检疫局、中华人民共和国伊犁出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：龙海、李一农、王金成、李芳荣、顾建峰、乾义柯。

伤残短体线虫检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了进出境植物检疫中伤残短体线虫的检疫鉴定方法。

本标准适用于进出境植物及植物产品、土壤等传带的伤残短体线虫的检疫鉴定。

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 2757 植物线虫检测规范

3 符号

下列符号适用于本文件。

- n ——测计的线虫样本数目;
- L ——虫体体长(μm 或 mm);
- a ——体长/最大体宽;
- b ——体长/虫体前端至食道与肠连接处的距离;
- b' ——体长/体前端至食道腺末端的距离;
- c ——体长/尾长;
- c' ——尾长/肛门处体宽;
- gubernaculum——引带长度;
- St ——口针长度(μm);
- spicule——交合刺长度;
- T ——泄殖腔开口至精巢末端的距离 $\times 100$ /体长;
- V ——虫体前端至阴门的距离 $\times 100$ /体长。

4 方法原理

中文名称:伤残短体线虫

学名:*Pratylenchus vulnus* Allen & Jesen, 1951

异名:*Anguillulina pratensis* Thorne, 1934

Pratylenchus musicola Condit & Horne, 1938

Pratylenchus pratensis Allen, 1949; Serr & Day, 1949

英文名:Walnut meadow nematode; Walnut root-lesion nematode

分类地位:线虫门(Nematoda)、侧尾腺纲(Secernentea)、垫刃目(Tylenchida)、短体科(Pratylenchidae)、短体亚科(Pratylenchinae)、短体属(*Pratylenchus*)。

伤残短体线虫是内寄生性线虫,通常破坏寄主植物根系的外层组织,随着线虫的取食,根系细胞大

量受损,从出现大面积病变的根系中可分离到线虫。受害植株须根减少,根系不发达,若有其他病原物,将导致根系腐烂。伤残短体线虫危害 80 余种植物。根据寄主范围、传播途径、生物学和形态学特征进行该线虫的检疫鉴定。伤残短体线虫的寄主范围、地理分布和传播途径参见附录 A。

5 仪器、用具和药品

5.1 仪器与用具

光学显微镜、体式显微镜、冰箱、加热板、打孔器、载玻片、盖玻片、标准套筛(60 目~500 目)、烧杯(500 mL、1 000 mL)、漏斗、漏斗架、乳胶管、止水夹、凹玻片、剪刀、挑针、浅盘、玻璃纤维丝、酒精灯、培养皿、试管、纱布、干燥器、记号笔。

5.2 药品

指甲油、4%甲醛、乳酚油(苯酚 20 mL、乳酸 20 mL、甘油 40 mL 和蒸馏水 20 mL 混合而成)、石蜡、冰乙酸。

6 检疫与鉴定

6.1 现场检疫与取样

对植物及其产品的根、鳞球茎、块茎、根状茎等地下部分进行检查,是否有根腐症状。收集上述可疑植物材料及所附带的土壤,送实验室检验。

6.2 实验室检验

对于抽取的样品,可用浅盘分离法或漏斗法分离线虫,具体操作过程见 SN/T 2757。对于少量的植物样品,直接在体视显微镜下用解剖针对样品进行解剖。将线虫分离液在体视显微镜下检查,挑取或吸取疑似线虫若干条,制成临时玻片在显微镜下镜检,观察线虫的形态。线虫临时玻片标本制作方法见 SN/T 2757。

7 伤残短体线虫的形态学鉴定特征

7.1 形态特征图

形态特征见附录 B。

7.2 形态特征描述

雌虫:虫体细长,温和热杀死后虫体直伸,头区高连续,唇区有 3~4 条环纹。口针发达,基部球圆形,有时前端呈杯状;中食道球椭圆形,较窄;排泄孔位于食道与肠交界处;食道腺从腹面以长叶状覆盖肠的前端。受精囊充满精子时呈长椭圆形,具长的和分化的后阴子宫囊,长度为阴门处体宽的 2 倍,侧区具 4 条侧线,外侧的侧线光滑或略呈锯齿状,中间 2 条侧线距离较近。尾圆锥形,尾尖细圆或亚锐尖、光滑,偶尔具 1~2 条环纹。

雄虫:常见,头区和食道的构造与雌虫相似。侧区在交合伞处终止,交合伞延伸到尾尖。交合刺弯曲,引带简单。

7.3 测量值

7.3.1 雌虫

$L=0.46\text{ mm}\sim0.91\text{ mm}$; $a=26.6\sim39.5$; $b=5.3\sim7.7$; $c=14.2\sim27.7$; $V=78\sim84$; $St=16\text{ }\mu\text{m}\sim18\text{ }\mu\text{m}$ (Allen & Jensen,1951)。

$n=14$: $L=0.47\text{ mm}\sim0.72\text{ mm}$; $a=27.8\sim37.6$; $b=5.7\sim7.7$; $c=18.4\sim24.7$; $V=77\sim82$; $St=13\text{ }\mu\text{m}\sim16\text{ }\mu\text{m}$ (Loof,1960)。

$n=10$: $L=0.62(0.46\sim0.80)\text{ mm}$; $a=33(27\sim37)$; $b=6.4(5.3\sim7.5)$; $c=21(14\sim28)$; $c'=2.7(2.3\sim3.0)$; $V=80(78\sim83)$; $St=17(16\sim18)\mu\text{m}$ (Ryss,1988)。

$n=80$: $L=0.49(0.43\sim0.61)\text{ mm}$; $a=30.5(24.9\sim37.3)$; $b=5.5(4.7\sim7.0)$; $b'=4.1(3.2\sim5.2)$; $c=20.2(16.2\sim25.1)$; $c'=2.4(2.0\sim3.0)$; $V=80(77\sim84)$; $St=15(14\sim16)\mu\text{m}$ (Doucet & Lax,1997)。

$n=39$: $L=0.65(0.50\sim0.81)\text{ mm}$; $a=26.7(20.8\sim30.7)$; $b=6.8(4.8\sim9.0)$; $b'=4.7(3.4\sim7.1)$; $c=21.0(17.5\sim30.4)$; $V=80(73\sim83)$; $St=16.7(15\sim18)\mu\text{m}$ (Gao et al.,1999)。

7.3.2 雄虫

$L=0.46\text{ mm}\sim0.73\text{ mm}$; $a=28.3\sim39.2$; $b=5.3\sim7.4$; $c=17.5\sim29.4$; $T=36\sim66$; gubernaculums $=4\text{ }\mu\text{m}\sim6\text{ }\mu\text{m}$; spicule $=14\text{ }\mu\text{m}\sim20\text{ }\mu\text{m}$; $St=15\text{ }\mu\text{m}\sim18\text{ }\mu\text{m}$ (Allen & Jensen,1951)。

$n=9$: $L=0.49\text{ mm}\sim0.61\text{ mm}$; $a=32.1\sim38.5$; $b=6.3\sim7.2$; $c=20.5\sim23.6$; $T=34\sim53$; $St=13\text{ }\mu\text{m}\sim15\text{ }\mu\text{m}$ (Loof,1960)。

$n=7$: $L=0.57(0.46\sim0.71)\text{ mm}$; $a=33(28\sim35)$; $b=6.0(5.3\sim7.2)$; $c=21(18\sim26)$; $c'=2.7(2.1\sim3.1)$; $St=16(15\sim18)\mu\text{m}$; spicules $=17(14\sim20)\mu\text{m}$; gubernaculum $=5(4\sim6)\mu\text{m}$ (Ryss,1988)。

$n=80$: $L=0.46(0.41\sim0.53)\text{ mm}$; $a=31.0(27.6\sim37.4)$; $b=5.3(4.6\sim6.0)$; $b'=4.1(3.5\sim4.6)$; $c=20.4(15.9\sim23.8)$; $c'=2.0(1.9\sim2.4)$; $St=14.5(13\sim16)\text{ }\mu\text{m}$; spicules $=18(15\sim21)\text{ }\mu\text{m}$; gubernaculum $=6.5(5.0\sim7.0)\mu\text{m}$ (Doucet & Lax,1997)。

$n=20$: $L=0.53(0.43\sim0.61)\text{ mm}$; $a=30.7(21.7\sim38.4)$; $b=6.2(5.2\sim7.2)$; $b'=4.4(3.7\sim5.7)$; $c=19.8(17.9\sim25.8)$; $T=43(31\sim55)$; $St=15(14.5\sim17)\mu\text{m}$ (Gao et al.,1999)。

7.3.3 与近似种的区别

与近似种的形态区别见表 1。

表 1 五种短体线虫的形态区别

短体线虫种	唇环数	口针长度/ μm	侧区刻线	受精囊形状	雌虫尾形	后阴子宫囊长度/ μm
伤残短体线虫 <i>P.vulnus</i>	3~4	13~19	4 条	长椭圆形	锥形、尾尖细圆、偶尔具 1~2 条环纹	21~64
穿刺短体线虫 <i>P.penetrans</i>	3	15~17	4 条	近圆形	锥形、末端钝圆、无环纹	1 倍~1.5 倍阴门处体宽
咖啡短体线虫 <i>P.coffeae</i>	2	15~18	4(少数 4~6)条	长卵圆形	亚圆柱形、末端无环纹	17~50

表 1（续）

短体线虫种	唇环数	口针长度/ μm	侧区刻线	受精囊形状	雌虫尾形	后阴子宫囊长度/ μm
卢斯短体线虫 <i>P.loosi</i>	2	14~18	4(少数 5~6)条	长卵形	锥形、尾端无环纹、钝尖	18~26
草地短体线虫 <i>P.praetensis</i>	3	12~15	4 条	长椭圆形	锥形、尾端具环纹	14~28

8 结果判定

以雌虫和雄虫的形态学作为该线虫的鉴定依据,符合第 7 章形态特征和测量值的可鉴定为伤残短体线虫。

9 样本保存和复核

9.1 样品保存

样品登记后,经手人签字,妥善保存。如果发现伤残短体线虫,该样品至少在 4℃保存 3 个月,以备复验、谈判和仲裁。保存期满后,发现伤残短体线虫的样品需做销毁处理。

9.2 线虫标本的保存

若鉴定为伤残短体线虫,则将剩余的线虫杀死、固定制成永久玻片保存;也可以固定后放入含 4% 甲醛溶液的指形管中长期保存。线虫永久玻片标本制作方法见 SN/T 2757。

附 录 A

(资料性附录)

伤残短体线虫的分布、寄主范围和传播途径

A.1 地理分布

美国、加拿大、墨西哥、阿根廷、巴西、乌拉圭、肯尼亚、南非、比利时、保加利亚、丹麦、英格兰、芬兰、法国、德国、挪威、希腊、意大利、俄罗斯、西班牙、中国、伊朗、以色列、日本、韩国、巴基斯坦、斯里兰卡、澳大利亚。

A.2 寄主植物

可寄生 80 余种植物,大多数为木本植物、落叶果树、坚果类植物等,比较重要的经济作物和农作物有苹果(*Malus pumila*)、葡萄(*Vitis vinifera*)、杏(*Prunus armeniaca*)、桃(*Prunus persica*)、樱桃(*Cerasus pseudocerasus*)、黑莓(*Rubus corchorifolius*)、覆盆子(*Fructus Rubi*)、草莓(*Fragaria ananassa*)、酸橙(*Citrus aurantium*)、芒果(*Mangifera indica*)、红薯(*Dioscorea esculenta*)、玫瑰(*Rosa rugosa*)、烟草(*Nicotiana tabacum*)、棉花(*Gossypium hirsutum*)、橄榄(*Canavium album*)、核桃(*Juglans regia*)、大豆(*Glycine max*)、芭蕉(*Musa basjoo*)、红杉(*Larix potaninii*)、黄杨木(*Buxus Sinica*)等。

A.3 传播途径

自然界线虫的传播除线虫本身的运动外,主要靠农事操作、病苗、病土的转移、搬运和流水传带,远距离传播由病苗或病砧木调运引起。

附 录 B

(规范性附录)

伤残短体线虫主要形态鉴定特征图

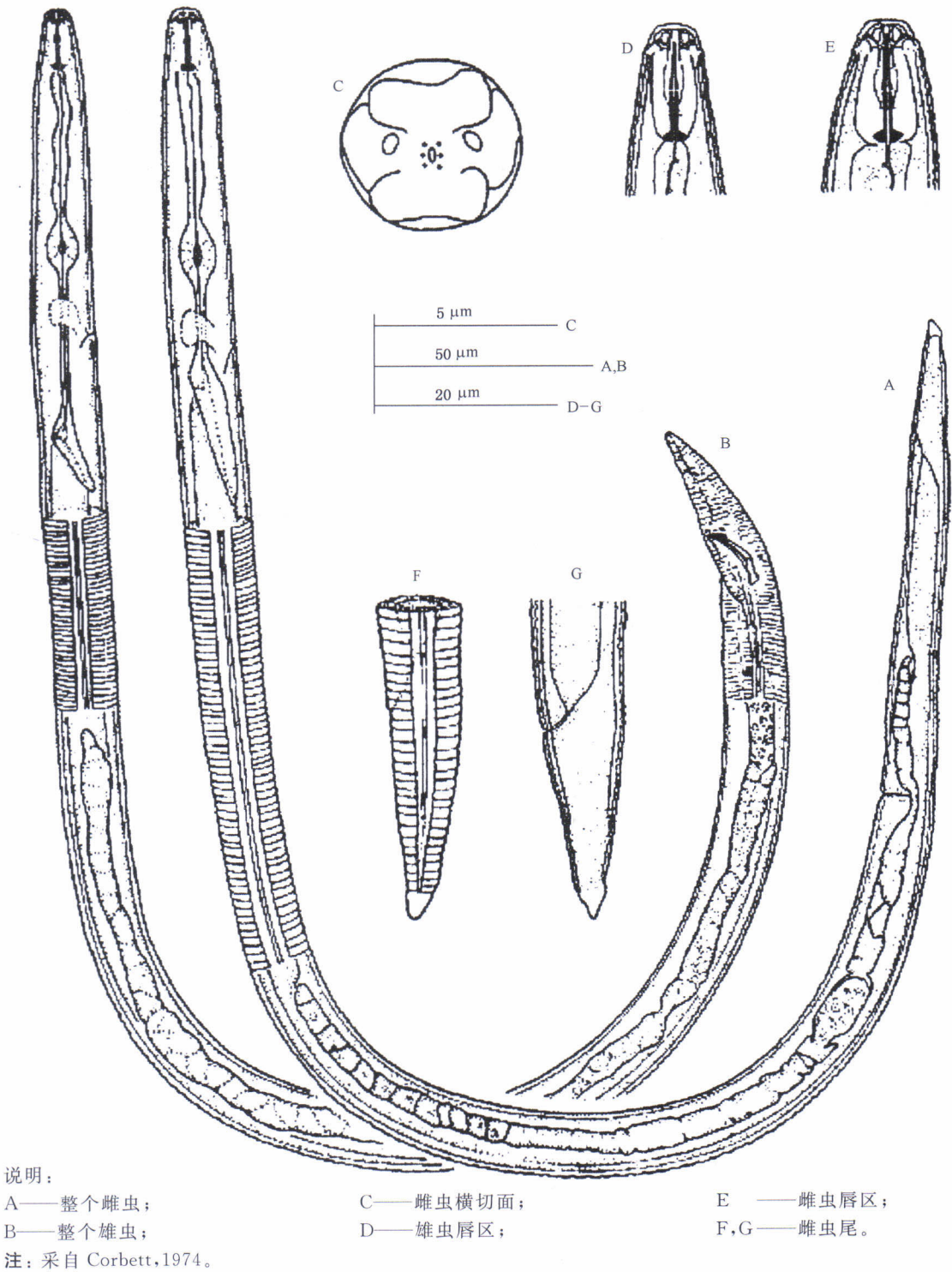


图 B.1 伤残短体线虫主要形态鉴定特征图

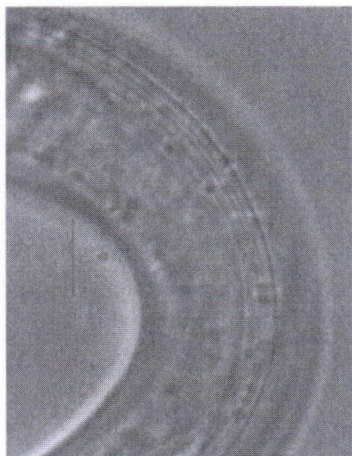


图 B.2 雌虫侧区(100×)



图 B.3 雌虫前体部(100×)



图 B.4 雄虫前体部(100×)

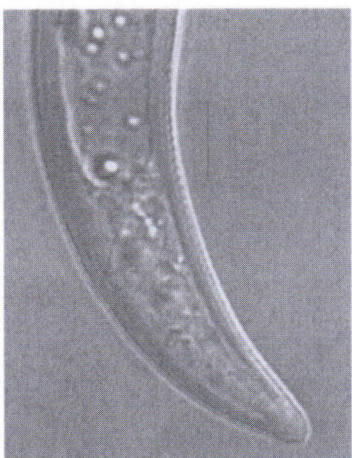


图 B.5 雌虫尾部(100×)



图 B.6 雄虫交合伞(100×)

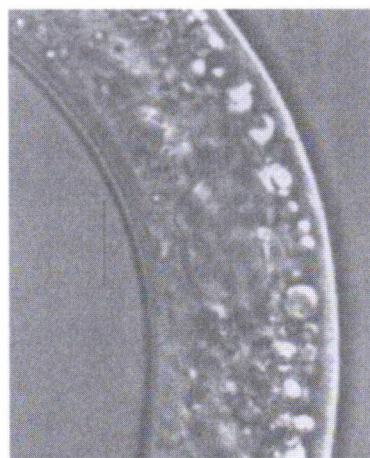


图 B.7 雌虫受精囊(100×)



图 B.8 雌虫阴门(100×)