

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 3683—2013

松针褐枯病菌检疫鉴定方法

Detection and identification of *Mycosphaerella gibsonii* H. C. Evans

2013-08-30 发布

2014-03-01 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：中华人民共和国安徽出入境检验检疫局、中华人民共和国昆山出入境检验检疫局、中华人民共和国湖北出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：姚剑、纪睿、廖太林、张萍、陈雪娇、李云飞、李刚、王振华、李百胜。

松针褐枯病菌检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了进出境植物检疫中松针褐枯病菌 *Mycosphaerella gibsonii* H.C.Evans 的检疫鉴定方法。

本标准适用于来自松针褐枯病菌疫区的寄主植物苗木、切枝以及松针的检疫。

2 松针褐枯病菌基本信息

学名: *Mycosphaerella gibsonii* H.C.Evans 1984

异名: *Cercospora pini-densiflorae* Hori & Nambu, *Cercoseptoria pini-densiflorae* (Hori & Nambu) Deighton

英文名: Brown needle blight of pine, cercospora pine blight

分类地位: 松针褐枯病菌有性阶段为子囊菌门 (Ascomycota), 座囊菌纲 (Dothidemyces), 球腔菌科 (Mycosphaerellaceae), 球腔菌属 (*Mycosphaerella*); 其无性阶段为 *Pseudocercospora pini-densiflorae* (Hori & Nambu) Deighton 1987。

传播途径: 松针褐枯病菌通过风、雨水作近距离传播, 随带菌苗木、切枝的调运作远距离传播。

松针褐枯病菌的其他相关信息参见附录 A。

3 方法原理

本方法遵循以松针褐枯病菌的形态特征为主, 为害症状、寄主及地理分布为辅的鉴定原则。

4 仪器和用具

4.1 仪器

显微镜, 超净工作台, 电子天平, 光照培养箱, 高压灭菌锅。

4.2 用具

培养皿、烧杯、三角瓶、镊子、剪刀、移植环、载玻片、盖玻片、量筒、吸管、酒精灯。

5 试剂、材料和培养基

5.1 试剂和材料

V8 汁、葡萄糖、琼脂、无菌水、75% 酒精、马铃薯、松针。

5.2 培养基

V8 汁加松针煎汁培养基 (P-V)、马铃薯葡萄糖培养基 (PDA), 培养基配方见附录 B。

6 鉴定方法

6.1 症状检查

检查幼苗针叶是否坏死、脱落,是否有浅绿色、黄褐色至灰色的病斑,观察病斑上有无黑点。将疑似感病样品带回实验室作进一步检验。

6.2 切片检验

选取疑似感病样品,用剪刀剪取针叶组织(长约 5 mm)、切片,从中选择片薄而带有黑点部分的切片,用移植环移于载玻片中央的水滴中,在显微镜下观察子座、分生孢子梗以及分生孢子特征。如针叶病斑无子实体或子实体未成熟,可将感病针叶在 25℃~30℃条件下保湿培养,待子实体长出并成熟后再做切片镜检。时间约需 20 d。

6.3 分离培养

在典型病斑中切取小块病组织,在 75%酒精中浸 30 s,用无菌水冲洗 3 次后置于 P-V 培养基上,25℃光照培养 12 h 与 0℃~10℃黑暗培养 12 h 交替进行。经纯化培养后,观察菌落生长性状,12 d 后镜检。

7 鉴定特征

7.1 无性阶段

分生孢子梗密集,丛生,暗褐色,直或稍弯,极少分隔,不分枝;大小 $2.5\ \mu\text{m} \times (10\ \mu\text{m} \sim 45\ \mu\text{m})$ 。分生孢子产生部位不加厚,无疤痕而具细点。分生孢子单生,淡黄褐色,长棍棒形,直或微弯,3~7 分隔,基部平截或圆,不加厚,顶端钝圆;大小 $(20\ \mu\text{m} \sim 60\ \mu\text{m}) \times (2.5\ \mu\text{m} \sim 4.5\ \mu\text{m})$,大多数为 $(40\ \mu\text{m} \sim 50\ \mu\text{m}) \times (2.5\ \mu\text{m} \sim 4.5\ \mu\text{m})$ 。

7.2 有性阶段

子座暗褐色,具疣状突起,充满气孔空隙,直径 $60\ \mu\text{m} \sim 96\ \mu\text{m}$ 。子囊双囊壁,棍棒形至圆筒形, $(33\ \mu\text{m} \sim 38\ \mu\text{m}) \times (5.5\ \mu\text{m} \sim 7\ \mu\text{m})$;具加厚的钝圆的顶端,极少具气囊; $(32\ \mu\text{m} \sim 36\ \mu\text{m}) \times (6\ \mu\text{m} \sim 8\ \mu\text{m})$;8 个孢子,排成倾斜两列。子囊间组织有或无。子囊孢子无色,1 个分隔,椭圆形至楔形; $(7.5\ \mu\text{m} \sim 12.5\ \mu\text{m}) \times (1.8\ \mu\text{m} \sim 2.8\ \mu\text{m})$;具油滴。

7.3 松针褐枯病菌与同属近似种区别

松针褐枯病菌与近似种松针褐斑病菌 *Mycosphaerella dearnessii* Barr 及松针红斑病菌 *Mycosphaerella pini* E.Rostrup 的区别参见附录 C。

8 结果判定

如样品的切片和(或)分离培养的病菌形态特征与 7.1 和(或)7.2 相符,即鉴定为松针褐枯病菌。

9 样品、菌种保藏

分离菌转接在 P-V 培养基斜面上,待斜面表面长满菌丝后,置于 4℃保存,定期转接。有条件可进行冷冻干燥保存。检出病菌的样品妥善保存 6 个月,保存期满灭活处理。

附 录 A
(资料性附录)
松针褐枯病菌其他相关信息

A.1 寄主

加勒比松(*Pinus caribaea*)、地中海松(*P.halepensis*)、海岸松(*P.pinaster*)、辐射松(*P.radiata*)、加那利松(*P.canariensis*)、苏门答腊松(*P.merkusii*)、多脂松(*P.resinosa*)、北美乔松(*P.strobus*)、欧洲赤松(*P.sylvestris*)、五叶松(*P.pentaphylla*)、糖松(*P.lambertiana*)、杰弗里松(*P.jeffreyi*)、欧洲黑松(*P.nigra*)、意大利伞松(*P.pinca*)、粗糙松(*P.muricata*)、美国黄松(*P.ponderosa*)、短叶松(*P.contorta*)、柔松(*P.flexilis*)、山松(*P.montana*)、芒松(*P.aristata*)、瘤果松(*P.attenata*)、赤松(*P.densiflora*)、黑松(*P.thunbergii*)、琉球松(*P.luchuensis*)、马尾松(*P.Massoniana*)、美洲短叶松(*P.echinata*)。

A.2 分布

A.2.1 亚洲：孟加拉、韩国、尼泊尔、斯里兰卡、泰国、越南、印度、日本、朝鲜、马来西亚、菲律宾以及中国(台湾、香港)。

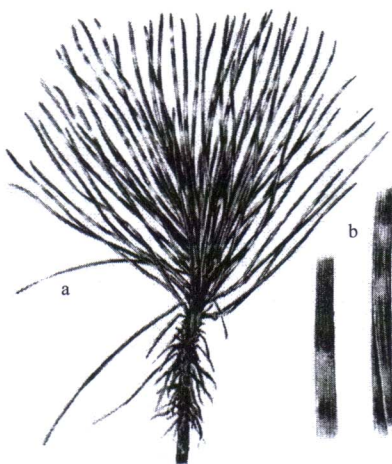
A.2.2 非洲：马拉维、坦桑尼亚、赞比亚、津巴布韦、肯尼亚、马达加斯加、斯威士兰。

A.2.3 美洲：尼加拉瓜、牙买加。

A.2.4 大洋洲：巴布亚新几内亚。

A.3 为害症状

为害症状见图 A.1。



说明：

a —— 松苗为害状；

b —— 松针为害状。

注：引自 Ito K. Bull. Gov. Exp. Sta. 1972, No. 246: 21-33。

图 A.1 松针褐枯病菌侵染黑松产生的为害症状

SN/T 3683—2013

A.4 无性阶段特征

无性阶段特征见图 A.2。

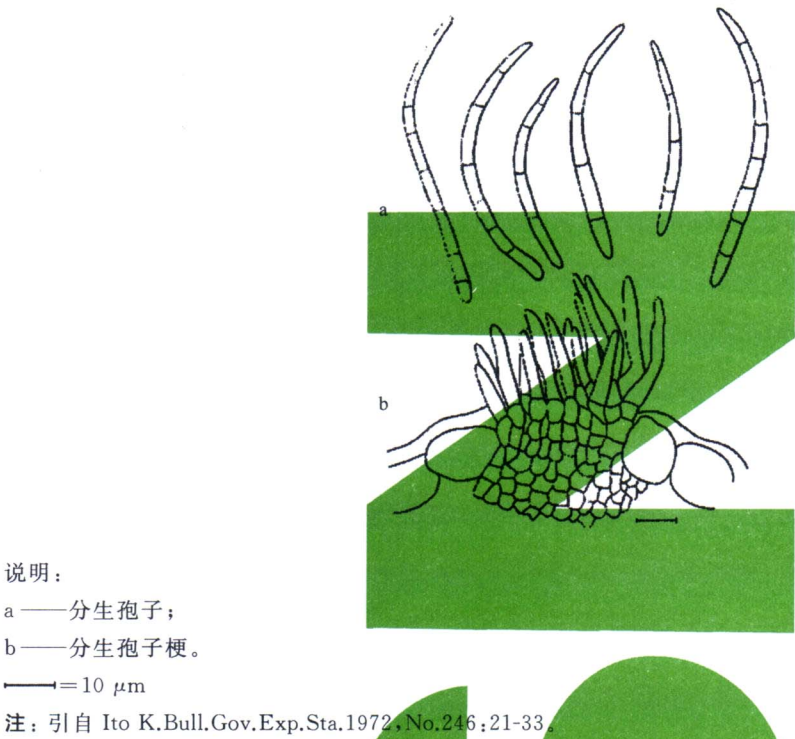


图 A.2 松针褐枯病菌无性阶段特征

A.5 有性阶段特征

有性阶段特征见图 A.3。

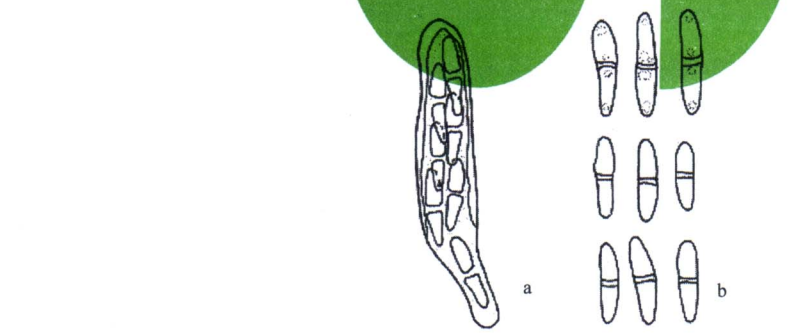


图 A.3 松针褐枯病菌有性阶段特征

附 录 B
(规范性附录)
培养基配方

B.1 V8 汁加松针煎汁培养基(P-V)

松针	200 g(用浸出汁)
10%V8 汁	10 mL
葡萄糖	10 g
琼脂	20 g
加水定容至	1 000 mL

B.2 马铃薯葡萄糖培养基(PDA)

马铃薯	200 g(用浸出汁)
葡萄糖	20 g
琼脂	20 g
加水定容至	1 000 mL

SN/T 3683—2013

附 录 C
(资料性附录)
松针褐枯病菌与近似种的区别

C.1 松针褐枯病菌与近似种的区别见表 C.1。

表 C.1 松针褐枯病菌与近似种的区别

种类	松针褐枯病菌 (<i>Mycosphaerella gibsonii</i>)	松针红斑病菌 (<i>Mycosphaerella pini</i>)	松针褐斑病菌 (<i>Mycosphaerella dearnessii</i>)
分生孢子	淡黄褐色,壁薄、光滑	无色,壁薄、光滑	茶褐色或烟褐色,壁厚、上布黑色疣状突起
培养性状	在 PDA 培养基上不产生红色素和红色晶体	在 PDA 培养基上培养产生红色素和红色晶体	在 PDA 培养基上不产生红色素和红色晶体
症状	松针上病斑浅绿色、黄褐色至灰色	松针上病斑红色	松针上病斑褐色

参 考 文 献

- [1] Ito K. *Cercospora* needle blight of pines in Japan. Bulletin of the Government Forestry Experimental Station Tokyo, 1972, 246: 21-33.
- [2] Evans H C. The genus *Mycosphaerella* and its anamorphs *Cercoseptoria*, *Dothistroma* and *Lecanosticta* on pines. Mycological Papers, CAB International, Wallingford, UK., 1984, 153.
- [3] EPPO/CABI. *Mycosphaerella dearnessii* and *Mycosphaerella pini*. In: Quarantine pests for Europe, 2nd edition, CAB International, Wallingford, UK., 1996.
- [4] 林际朗, 陈贻谋. 福建省主要林木病害名录. 福建林业科技. 1990, 59(1): 76-79.
-