



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 3292—2012

嗜松枝干溃疡病菌检疫鉴定方法

Detection and identification of *Atropellis piniphila* (Weir) Lohman et Cash

2012-10-23 发布

2013-05-01 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。

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：中华人民共和国江苏出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：李百胜、纪睿、廖太林、安榆林、吴翠萍。

嗜松枝干溃疡病菌检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了植物检疫中嗜松枝干溃疡病菌 *Atropellis piniphila* (Weir) Lohman et Cash 的检疫鉴定方法。

本标准适用于来自嗜松枝干溃疡病菌发生国家和地区的松属寄主植物(参见附录 A)的苗木、木材及木质包装的检疫鉴定。

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 2122 进出境植物及植物产品检疫抽样

3 原理

3.1 分类地位

英文名: Branch and trunk canker of pine, Twig blight

学名: *Atropellis piniphila* (Weir) Lohman et Cash

异名: *Cenangium piniphilum* Weir, *Atropellis arizonica* Lohman & Cash

嗜松枝干溃疡病菌隶属真菌界(Fungi),子囊菌亚门(Ascomycotina),柔膜菌目(Helotiales),黑皮柔膜菌属(*Atropellis*)。

3.2 传播途径

嗜松枝干溃疡病菌近距离主要通过子囊孢子随气流进行传播,远距离主要通过携带该病菌的苗木、木材及木质包装进行传播。

3.3 鉴定原理

嗜松枝干溃疡病菌的形态特征(参见附录 B)是其检疫鉴定的主要依据,同时参考该病菌的发生国家和地区、寄主范围、传播途径以及危害症状。

4 仪器和用具

4.1 仪器

光学显微镜(具油镜和测微尺)、电子天平、超净工作台、光照培养箱、高压灭菌锅。

4.2 用具

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

5 试剂和培养基

5.1 试剂

麦芽糖、蛋白胨、琼脂、无菌水、75%酒精、1.25%次氯酸钠、氢氧化钾。

5.2 培养基

麦芽糖琼脂培养基(参见附录 C)。

6 检疫鉴定方法

6.1 抽样

按 SN/T 2122 规定进行抽样。

6.2 现场查验

抽取的苗木、木材、木质包装,仔细观察针叶是否褪色,表面有无流脂、溃疡斑,溃疡斑内有无黑褐色的子实体(子囊盘),用斧子、锯子或刀片分别横向、纵向切开,仔细观察溃疡斑下面的木质部上是否有特征性的蓝黑色污渍(在蓝黑色区域的边缘,木质部通常呈红色或褐色),将可疑症状样本带回实验室作进一步检验。

6.3 实验室检验

6.3.1 切片检验

将疑似发病样品选取病健交界处或带有黑点部分的组织切片,置于载玻片上,以无菌水作为浮载剂,在显微镜下进行观察,或进行保湿培养后再做镜检。

6.3.2 保湿培养

6.3.2.1 苗木

取发病苗木的主根和侧根,用 75%酒精消毒 1 min,用无菌水冲洗 3 次,切取根部病健交界处 3 mm~5 mm 大小的组织置于垫三层灭菌湿滤纸的培养皿中,在 20℃培养箱中培养,黑暗和光照各 12 h 交替,培养 7 d~10 d。

6.3.2.2 木材、木质包装

取发病树枝、干或具溃疡斑木质部的病健交界处,用 75%酒精消毒 1 min,无菌水冲洗 3 次,切取 3 mm~5 mm 大小的组织置于垫三层灭菌湿滤纸的培养皿中,在 20℃培养箱中培养,黑暗和光照各 12 h 交替,培养 7 d~10 d。

6.3.3 分离培养

培养 7 d~10 d 后,观察种子表面或植物组织表面是否有菌丝生长,如有,挑取少量菌丝转到麦芽糖琼脂培养基,在 20℃培养箱中,黑暗和光照各 12 h 交替培养,直至产生病菌繁殖器官。在显微镜下观察有性繁殖器官,如子囊盘、子囊和子囊孢子等。

7 鉴定特征

嗜松枝干溃疡病菌侵染寄主植物,使寄主植物针叶褪色、表面流脂、产生溃疡斑,溃疡斑内常产生黑褐色的子实体,溃疡斑下面的木质部上具有特征性的蓝黑色污渍,在蓝黑色区域的边缘,木质部通常呈红色或褐色。病菌子囊盘突出,黑褐色,不规则圆盘形,具短中轴,直径 2 mm~5 mm、子囊(85 μm ~90 μm) \times 160 μm 。子囊孢子透明,椭圆形至拟纺锤形,无隔或具单隔膜(极少数具 3 个隔膜),大小(14 μm ~32 μm) \times (4 μm ~8 μm)。分生孢子壁极薄,透明,无隔膜,圆柱形,端部圆形,具粘性外壳,大小(3.5 μm ~8.3 μm) \times (0.7 μm ~1.7 μm)。嗜松枝干溃疡病菌与近似种的区别参见附录 D。

8 结果判定

如病菌在寄主上的症状和形态特征与第 7 章描述的相符,即可判定为检出嗜松枝干溃疡病菌 *Atropellis piniphila* (Weir) Lohman et Cash。

9 样品、菌种保存

分离菌转接在培养基斜面上,待斜面表面长满菌丝后,置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存,定期(每隔 6~12 个月)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,保存期限为不少于 12 个月。保存期满灭活处理。

SN/T 3292—2012

附 录 A

(资料性附录)

嗜松枝干溃疡病菌分布和寄主

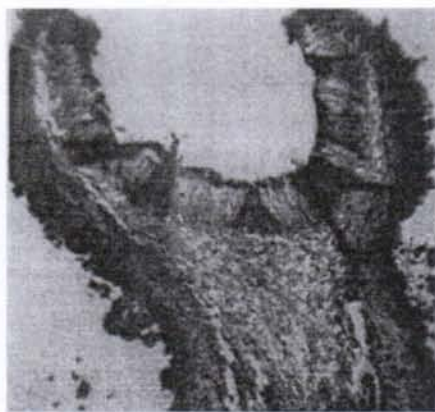
A.1 分布

美国、加拿大。

A.2 寄主

扭叶松 (*Pinus contorta*)、美国白皮松 (*P. albicaulis*)、北美短叶松 (*P. banksiana*)、黑材松 (*P. jeffreyi*)、加州山松 (*P. monticola*)、西黄松 (*P. ponderosa*)、火炬松 (*P. taeda*)、矮松 (*P. virginiana*)。

附 录 B
(资料性附录)
嗜松枝干溃疡病菌形态特征



a) 成熟的子囊盘



b) 未开放的子囊盘

图 B.1 嗜松枝干溃疡病菌形态特征(引自 Reid J & Funk A. Mycologia 1966, 58: 417-439)

附 录 C
(资料性附录)
麦芽糖琼脂培养基

麦芽糖	40 g
蛋白胨	10 g
琼脂	20 g
无菌水	1 000 mL

将上述成分加热溶解,分装在三角瓶或试管中,121 ℃高压蒸汽灭菌 15 min~20 min。

附 录 D

(资料性附录)

嗜松枝干溃疡病菌与近似种的区别

表 D.1 嗜松枝干溃疡病菌与近似种的区别

区别	<i>Atropellis. piniphila</i>	<i>A. pinicola</i>	<i>A. tingens</i>	<i>A. apiculata</i>
颜色反应	子囊盘浸入 5% 的 KOH 溶液中, KOH 溶液变为蓝绿色	子囊盘浸入 5% 的 KOH 溶液中, KOH 溶液变为蓝绿色	子囊盘浸入 5% 的 KOH 溶液中, KOH 溶液变为蓝绿色	子囊盘浸入 5% 的 KOH 溶液中, KOH 溶液变为巧克力褐色
子囊孢子	子囊孢子不具细尖, 子囊孢子椭圆形至拟纺锤形, 无隔膜或具 1 个隔膜(极少数具 3 个隔膜), ($14\ \mu\text{m} \sim 32\ \mu\text{m}$) \times ($4\ \mu\text{m} \sim 8\ \mu\text{m}$); 子囊 ($85\ \mu\text{m} \sim 90\ \mu\text{m}$) \times $160\ \mu\text{m}$	子囊孢子不具细尖, 子囊孢子丝状、针状至棒状, 透明, 1 至 6 个细胞, 大小 ($32\ \mu\text{m} \sim 63\ \mu\text{m}$) \times ($1.5\ \mu\text{m} \sim 3.5\ \mu\text{m}$); 子囊 ($74\ \mu\text{m} \sim 178\ \mu\text{m}$) \times ($8\ \mu\text{m} \sim 13\ \mu\text{m}$)	子囊孢子不具细尖, 子囊孢子细长纺锤形, 透明, 1 至 4 个细胞(少数 5 或 6 个细胞), ($20\ \mu\text{m} \sim 46\ \mu\text{m}$) \times ($2\ \mu\text{m} \sim 4.0\ \mu\text{m}$); 子囊 ($70\ \mu\text{m} \sim 130\ \mu\text{m}$) \times ($8\ \mu\text{m} \sim 14\ \mu\text{m}$)	子囊孢子具明显的细尖, 子囊孢子拟纺锤形, 1~2 个细胞, 少数 3 个细胞, ($20\ \mu\text{m} \sim 24\ \mu\text{m}$) \times ($4.8\ \mu\text{m} \sim 6.5\ \mu\text{m}$)
生长温度	在麦芽琼脂培养基上培养, $30\ ^\circ\text{C}$, 病菌生长微弱	在麦芽琼脂培养基上培养, $25\ ^\circ\text{C}$, 病菌生长即受抑制	在麦芽琼脂培养基上培养, $30\ ^\circ\text{C}$, 病菌生长受抑制	

参 考 文 献

- [1] Anon, Atropellis canker of pine. In: Internationally dangerous forest tree diseases. Miscellaneous Publication of the Forest Service, US Department of Agriculture, 1963, No. 939:84-85.
 - [2] Baranyay J A, Szabo T, Hunt K. Effect of Atropellis canker on growth and utilization of lodgepole pine. Information Report-Forestry Service, 1973, Canada No. BC-X-86.
 - [3] Diller J D. Differentiation of three Atropellis species, based on gross cultural characteristics. Phytopathology, 1962, 52:1217-1218.
 - [4] Hopkins J C. Atropellis canker of lodgepole pine. Etiology, symptoms and canker growth rate. Canadian Journal of Botany, 1963, 41, 1535-1545.
 - [5] Reid J, Funk A. The genus Atropellis, and a new genus of the Helotiales associated with branch cankers of western Hemlock. Mycologia 1966, 58:417-439.
 - [6] EPPO. *Atropellis* spp. http://www.eppo.org/QUARANTINE/fungi/Atropellis_pinicola/ATRPSP_ds.pdf, 2009.
 - [7] 游应天等. 中国主要外来树种引进栽培. 北京科技出版社, 1994.
 - [8] 中国森林编辑委员会. 中国森林(第1卷). 中国林业出版社, 1997.
 - [9] 中国森林编辑委员会. 中国森林(第2卷). 中国林业出版社, 1997.
 - [10] 廖太林, 李百胜, 叶建仁等. 进境木质材料携带松树脂溃疡病的可能性及风险分析. 南京林业大学学报(自然科学版), 2004, 28(6):10-14.
-