



# 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 3676—2013

---

## 甘蔗凋萎病菌检疫鉴定方法

Detection and identification of *Gibberella sacchari* Summerell et Leslie

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：中华人民共和国天津出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：刘跃庭、崔铁军、罗加凤、刘鹏、廖芳、张裕君。

# 甘蔗凋萎病菌检疫鉴定方法

## 1 范围

本标准规定了甘蔗凋萎病菌的检疫鉴定方法。

本标准适用于甘蔗种子、植株中甘蔗凋萎病菌的检疫鉴定。

## 2 甘蔗凋萎病菌基本信息

中文名:甘蔗凋萎病菌

学名:*Gibberella sacchari* Summerell et Leslie

无性态:*Fusarium sacchari* (E.J.Butler) W.Gams

分类地位:甘蔗凋萎病菌属真菌界(Fungi),子囊菌门(Ascomycota),子囊菌纲(Ascomycetes),粪壳菌亚纲(Sordariomycetidae)、肉座菌目(Hypocreales),肉座菌科(Hypocreaceae),赤霉菌属(*Gibberella*)。无性态为 *Fusarium sacchari* (E. J. Butler) W. Gams, 属丝孢菌纲(Hyphomycetes),丛梗孢目(Monilales),瘤座孢科(Tuberculariaceae),镰刀菌属(*Fusarium*)。

传播途径:病菌依靠带菌种子、种苗和病残体进行远距离传播。

甘蔗凋萎病菌的其他信息参见附录 A。

## 3 方法原理

病原菌的为害症状、分离培养性状、形态特征作为甘蔗凋萎病菌的检疫鉴定依据。

## 4 仪器设备和主要试剂

### 4.1 仪器设备

培养皿(直径 90 mm~100 mm)、三角瓶、镊子、手术剪、手术刀、接种针、棉纱、脱脂棉、酒精灯。

体视显微镜、生物显微镜、超净工作台、生物培养箱、电子天平、高压灭菌锅、常规冰箱(−20 ℃)、超低温冰箱(−70 ℃)。

### 4.2 主要试剂

马铃薯、胡萝卜、番茄、葡萄糖、琼脂、青霉素、链霉素、乳酸、1.0%次氯酸钠(NaClO)。

## 5 鉴定方法

### 5.1 症状检查

#### 5.1.1 甘蔗种子

挑选畸形、瘦小等可疑种子进行分离培养。

### 5.1.2 甘蔗繁殖茎

将甘蔗繁殖茎横切和纵切,检查蔗茎是否变色(参见附录 A),对变色的可疑材料进行分离培养。

## 5.2 病原菌的分离培养

### 5.2.1 培养基的制备

马铃薯培养基(PDA)、胡萝卜培养基(CA)、麝香石竹叶培养基(CLA)、V8-汁培养基的制备参见附录 B。

### 5.2.2 病原菌的分离培养

#### 5.2.2.1 甘蔗种子中病原菌的分离培养

将甘蔗种子放入 1.0% 的次氯酸钠溶液中,消毒 5 min,灭菌水冲洗 3 次,用灭菌滤纸吸干水分后,置于 PDA 培养基平板上,每皿放置 20~30 粒,25℃~30℃,12 h 光照黑暗交替培养。培养 3 d 后开始观察,发现乳灰白色可疑菌落,转接到 CLA 培养基平板上诱导大型分生孢子产生,紫外线能促进大型分生孢子产生;可疑菌落转接到 CA 或 V8-汁培养基上诱导子囊壳的产生。培养 3 d 后开始观察,记录菌落培养性状,观察大、小分生孢子和子囊壳的产生,在显微镜下观察并测量大、小分生孢子、子囊壳和子囊孢子的形状及大小。

#### 5.2.2.2 甘蔗繁殖茎中病原菌的分离培养

挑选出的甘蔗材料剪成 0.4 cm×0.4 cm 小块,用纱布包好,放入 1.0% 的次氯酸钠溶液中,消毒 5 min,灭菌水冲洗 3 次,用灭菌滤纸吸干水分后,置于 PDA 培养基平板上,每皿放置 3~4 块,培养方法同 5.2.2.1。

## 6 鉴定特征

### 6.1 培养性状

在 PDA 培养基上菌丝大量生长,开始灰白色,随时间逐渐变为紫色,培养 6 d~10 d 后菌落中产生分生孢子。在 PDA 上菌落边缘不整齐,生长较缓慢,生长速度约 3.9 mm/d,气生菌丝纤细。(参见图 C.1)

### 6.2 形态特征

有性态:子囊壳表生,青紫色,倒卵形,有疣状突起,表面粗糙。子囊梭形,开裂,内有子囊孢子 8 个,直径 250 μm~390 μm(平均 310 μm),有侧丝。子囊壳在 3% 的氢氧化钾溶液中不变色,在 100% 的乳酸中变成红色。子囊壳由分区明显的内外两层构成,外层厚 18 μm~39 μm(平均 30.6 μm),内层厚 4.4 μm~5.9 μm(平均 4.9 μm),外层细胞大,内层细胞小。子囊孢子从孢子角溢出,光滑,透明,椭圆形或倒卵形,两端钝圆,0~1 个分隔,一般为 1 个分隔,分隔处稍缢缩,子囊孢子大小(28 μm~32 μm)×(3 μm~4.5 μm)(平均 30.4 μm×4.2 μm)。子囊壳和子囊孢子的大小是鉴定甘蔗凋萎病菌的重要特征(参见图 C.2),甘蔗凋萎病菌与近似种的区别参见附录 D。

无性态:大型分生孢子(38 μm~68 μm)×(4.0 μm~5.0 μm),细长,镰刀形,壁薄,3~4 个分隔,通常 3 个分隔,有时产生蓝色或黑色的菌核。小型分生孢子(9 μm~12 μm)×(3.0 μm~3.5 μm),卵形,无隔,单胞。小分生孢子在单分生孢子梗或聚分生孢子梗上假头状大量产生(参见图 C.3)。

## 7 结果判定

病原菌培养性状和形态特征符合 6.1 及 6.2 中描述,可鉴定为甘蔗凋萎病菌。

## 8 样品保存与处理

样品经登记和经手人签字后妥善保存。对检出甘蔗凋萎病菌的样品应保存于 4℃ 冰箱中,以备复核。该类样品保存期满后须经高压灭菌后方可处理。

## 9 菌株保存与处理

从检测样品中分离并鉴定为甘蔗凋萎病菌的菌株,应妥善保存。将菌株接种于 PDA 培养基斜面上,存活后置于 4℃~8℃ 黑暗条件下保存,定期(3 个月)转接,以防止病菌死亡,至少保存 6 个月,必要时用病菌分生孢子作冻干菌种保存。保存期满后高压灭活处理。

## 10 结果记录与资料保存

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,并有实验人员和审核人员签字。



SN/T 3676—2013

附 录 A  
(资料性附录)  
甘蔗凋萎病菌其他信息

A.1 病菌名称

中文名称:甘蔗凋萎病菌

英文名称:sugarcane top rot

pineapple eye rot

pine canker pitch

maize seedling blight

sugarcane top rot

maize wilt

pineapple fruit rot

flower malformation of mango

异名:*Gibberella fujikuroi* var.*subglutinans* Edwards

*Gibberella subglutinans* Nelson et al.

*Fusarium sacchari* var.*elongatum*

*Fusarium sacchari* var.*subglutinans* (Wollenw.&Reinking)Nirenberg

*Fusarium moniliforme* var.*subglutinans* Wollenw.&Reinking

*Fusarium subglutinans* Nelson et al.

*Cephalosporium sacchari* E.J.Butler et Hafiz Khan

*Gibberella moniliforme* var.*subglutinans* Woll.&Rei.

A.2 症状特征

甘蔗凋萎病菌在发病初期,通常发生在甘蔗下部,症状一般不明显,当甘蔗长至一半高度时,发病严重的甘蔗死亡才引起重视。病害造成甘蔗生长缓慢,植株矮化,不分蘖,产生大小不等的病斑,病害迅速在田间传播开来,到收获时,甘蔗枯萎,先是叶片如缺水般干枯,接着是蔗茎变空变轻。将枯萎的蔗茎剖开,发现内部有特征性的变色。弥漫性的紫色或暗红色代替了被白色区域横向扩展打破的亮红色斑块和条纹。在病害早期变色的特点是该病害区别于其他病害的显著特征。在老甘蔗中,红色几乎消失,取而代之的是土褐色。在甘蔗空腔内,经常发现蓬松的灰色霉层。

A.3 寄主范围

甘蔗 *Saccharum officinarum*、高粱 *Sorghum bicolor*、兰花 *Cymbidium* spp.、玉米 *Zea mays*、菠萝 *Ananas comosus*、芒果 *Mangifera indica*、松树 *Pinus* spp.等。

A.4 地理分布

欧洲:德国、波兰、奥地利、匈牙利、意大利。

美洲：墨西哥、美国、阿根廷、巴西、古巴、洪都拉斯。

非洲：马里、毛里求斯、南非。

亚洲：孟加拉国、印度、日本、阿拉伯联合酋长国、中国台湾。

大洋洲：澳大利亚、新西兰。

#### A.5 传播途径

病菌依靠带菌种子、种苗和病残体进行远距离传播。病菌产生的大量孢子是初侵染源。病菌通常通过伤口、蔗茎节上的芽眼或种植时的切口进行侵染，造成种植时大量嫩株在前3个月内枯萎。生长后期，病菌通过伤口侵染。

SN/T 3676—2013

**附 录 B**  
(资料性附录)  
培养基配制方法

**B.1 马铃薯培养基(PDA)**

马铃薯去皮后洗净,切成小块,称取 200 g,蒸馏水中煮 30 min,用 4 层纱布过滤,加入 10 g~20 g 蔗糖、17 g~20 g 琼脂,加热使之完全溶解,蒸馏水定容至 1 000 mL,121 °C 高压灭菌 15 min。

**B.2 胡萝卜培养基(CA)**

新鲜胡萝卜洗净,切碎,称取 200 g,加蒸馏水 500 mL,用组织捣碎机捣碎,用 4 层纱布过滤去渣,加入 15 g~20 g 琼脂,加热使之完全溶解,蒸馏水定容至 1 000 mL,121 °C 高压灭菌 15 min。

**B.3 麝香石竹叶片培养基(CLA)**

取新鲜的无杀真菌剂和杀虫剂污染的麝香石竹叶片,切成 5 mm<sup>2</sup>~8 mm<sup>2</sup>, -70 °C 冷冻干燥 3 h~4 h 直到叶片变脆,将干燥后的叶片放在铝制或聚碳酸酯的容器中,用伽马辐照进行灭菌。称取 20 g 琼脂,蒸馏水定容至 1 000 mL,加热使之完全溶解,121 °C 高压灭菌 15 min。按照每 2 mL 加一片干燥的叶片的标准将叶片加入培养基中,一般 90 cm 的培养皿中加叶片 9~10 片。

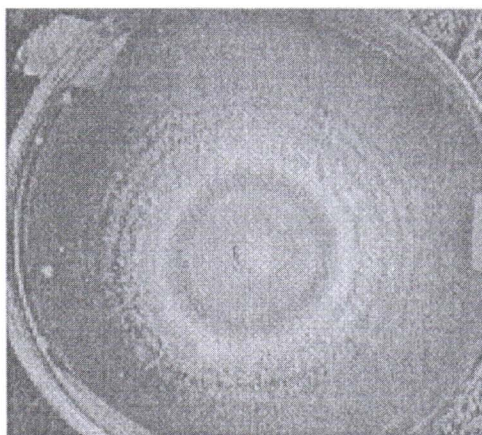
**B.4 V8-汁培养基**

5 mL V8-汁,碳酸钙 0.02 g,琼脂 2 g,蒸馏水定容至 100 mL,121 °C 高压灭菌 15 min。



附 录 C  
(资料性附录)

甘蔗凋萎病菌形态特征及症状表现



注：引自 Ishwar Das et al,2000。

图 C.1 PDA 培养基上菌落培养性状

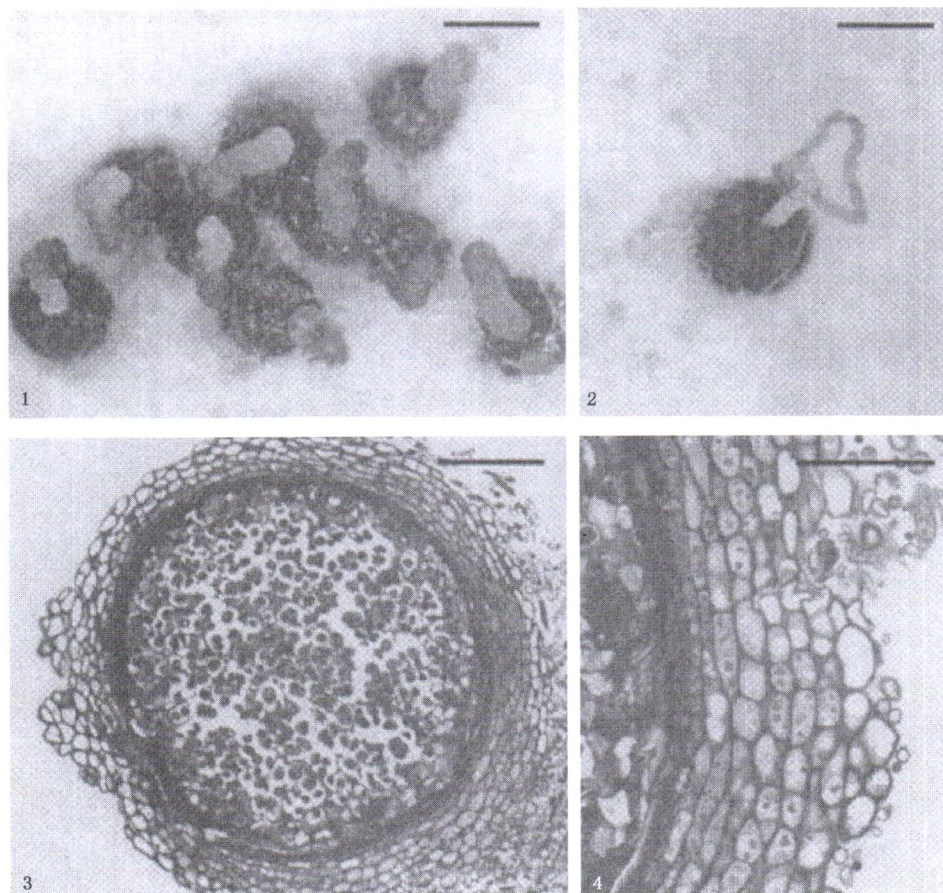
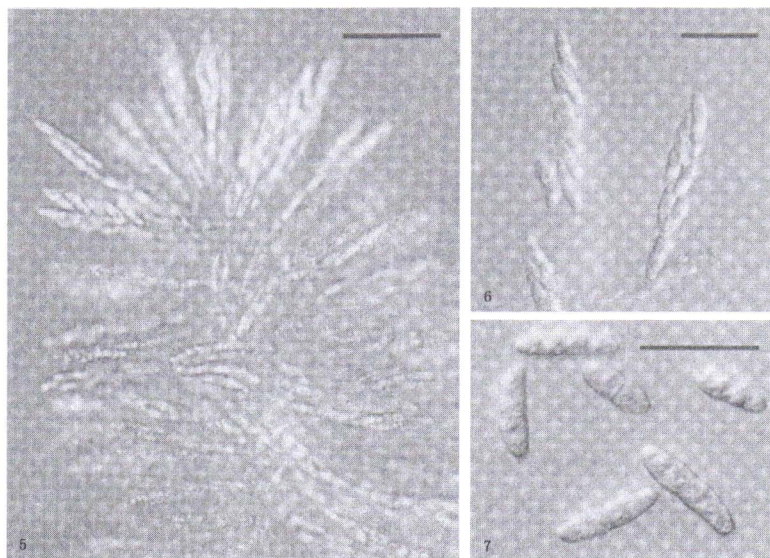


图 C.2 甘蔗凋萎病菌 *Gibberella sacchari* 子囊壳、子囊和子囊孢子在胡萝卜培养基上形态特征





说明:

1-2——子囊壳,标尺=200  $\mu\text{m}$ ;

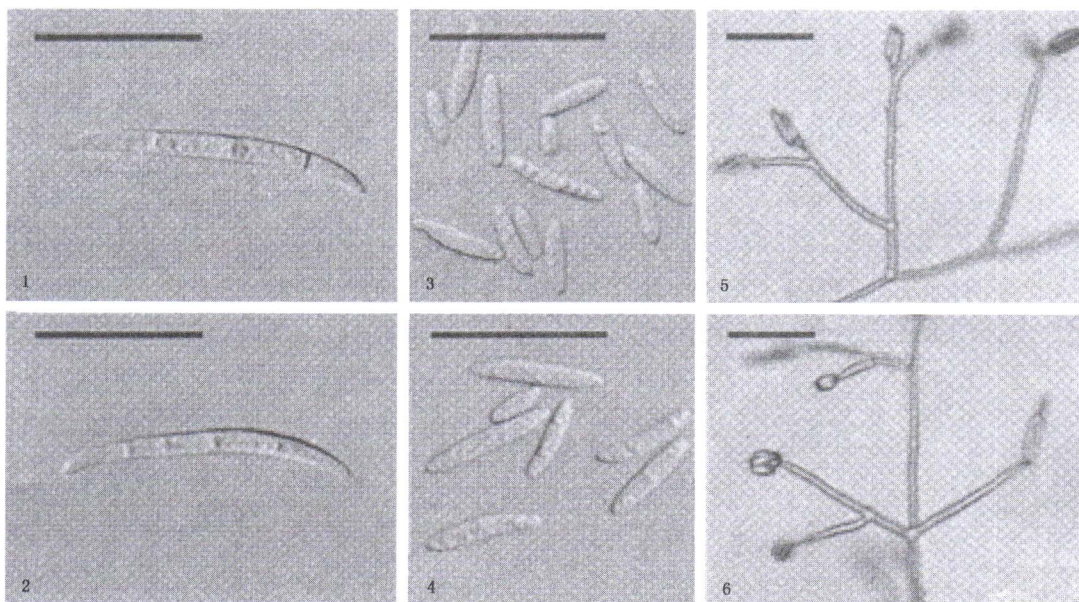
3-4——子囊壳横切面,3 标尺=50  $\mu\text{m}$ ,4 标尺=25  $\mu\text{m}$ ;

5-6——子囊,5 标尺=50  $\mu\text{m}$ ,6 标尺=25  $\mu\text{m}$ ;

7 ——子囊孢子,标尺=25  $\mu\text{m}$ 。

注:引自 J.F.Leslie, et al, 2005。

图 C.2 (续)



说明:

1-2——大分生孢子;

3-4——小分生孢子;

5-6——麝香石竹培养基上分生孢子梗上的小分生孢子,标尺=25  $\mu\text{m}$ 。

注:引自 J.F.Leslie, et al, 2005。

图 C.3 甘蔗凋萎病菌 *Fusarium sacchari* 形态特征

## 附 录 D

(资料性附录)

甘蔗凋萎病菌 *Gibberella sacchari* 与近似种子囊壳、子囊孢子的区别

表 D.1 甘蔗凋萎病菌与近似种子囊壳、子囊孢子的区别表

病原菌	子囊壳大小(直径平均值)/ $\mu\text{m}$	子囊孢子大小(平均值)/ $\mu\text{m}$
<i>Gibberella sacchari</i>	310	$30.4\ \mu\text{m} \times 4.2\ \mu\text{m}$
<i>Gibberella fujikuroi</i>	231	$12.5\ \mu\text{m} \times 4.7\ \mu\text{m}$
<i>Gibberella intermedia</i>	389	$14.6\ \mu\text{m} \times 4.8\ \mu\text{m}$
<i>Gibberella thapsina</i>	250	$17.0\ \mu\text{m} \times 6.0\ \mu\text{m}$
<i>Gibberella moniliformis</i>	321	$17.5\ \mu\text{m} \times 4.8\ \mu\text{m}$
<i>Gibberella subglutinans</i>	336	$19.6\ \mu\text{m} \times 5.9\ \mu\text{m}$
<i>Gibberella circinata</i>	337	$12.7\ \mu\text{m} \times 5.2\ \mu\text{m}$
<i>Gibberella nygamai</i>	309	$13.9\ \mu\text{m} \times 5.3\ \mu\text{m}$



# 参 考 文 献

- [1] Butler EJ, Khan AH. 1913. Some new sugarcane diseases. Mem Dept Ag in India, Bot Ser, 6: 185-190.
- [2] Egan BT, Magarey RC, Croft BJ. 1997. Sugarcane. In: Hillocks RJ, Walker JM, eds. Soilborne diseases of tropical crops. CAB International: Wallingford, Oxon, U.K. p277-302.
- [3] Huss MJ, Campbell CL, Jennings DB, Leslie JF. 1996. Isozyme variation among biological species in the *Gibberella fujikuroi* species complex (*Fusarium* section *Liseola*). Appl Environ Microbiol, 62: 3750-3756.
- [4] Marasas WFO, Rheeder JP, Lamprecht SC, Zeller KA, Leslie JF. 2001. *Fusarium andiyaze* sp. nov., a new species from sorghum. Mycologia, 93: 1203-110.
- [5] Yan K, Dickman MB, Xu J-R, Leslie JF. 1993. Sensitivity of field strains of *Gibberella fujikuroi* species complex (*Fusarium* section *Liseola*) to benomyl and hygromycin B. Mycologia, 85: 206-213.
- [6] Xu J-R, Yan K, Dickman MB, Leslie JE. 1995. Electrophoretic karyotypes distinguish the biological species of *Gibberella fujikuroi* species complex (*Fusarium* section *Liseola*). Molec Plant-Microbe Interact, 8: 74-84.
- [7] Wollenweber HW, Reinking AO. 1925. Aliquot *Fusaria tropicalia*, nova vel rexisa. Phytopathology, 15: 155-169.
- [8] The fusarium laboratory manual. John F. Leslie, Brett A. Summerell, Suzanne Bullock.
- [9] Leslie JE, BA. Summerell, S. Bullock, and F. J. Doe. 2005. *Gibberella sacchari*, the teleomorph of *Fusariums sacchari*. Mycologia, 97: 718-724.
- [10] Das Ishwar, Bajpai Alpana. 2000. Growth patterns and light induced kinetics of the fungi *Cephalosporium sacchari* on agar plates. Indian Journal of Chemistry, Section A: Inorganic, Bio-inorganic, Physical, Theoretical & Analytical Chemistry, 39A(7), 697-702.
- [11] Leslie JF, Summerell BA, Bullock Suzanne, Doe Frank J. 2005. Description of *Gibberella sacchari* and neotypification of its anamorph *Fusarium sacchari*. Mycologia, 97(3): 718-724.
- [12] Nirenberg, HI. and O'Donnell, K. 1998. New *Fusarium* species and combinations within the *Gibberella fujikuroi* species complex. Mycologia, 90: 434-458.
- [13] Matos, AP de, Mourichon, X. and Pinon, A. 1992. Occurrence of *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* on pineapple in Bolivia. Fruits, 47, 33.
- [14] Gams W. 1971. *Cephalosporium*-artige Schimmelpilze (Hyphomycetes). Stuttgart, Germany: Gutav Fischer Verlag.
- [15] CAB International, 2007. Crop Protection Compendium, 2007. Edition. Wallingford, UK.