



中华人民共和国国家标准

GB/T 28093—2011

马铃薯银屑病菌检疫鉴定方法

Detection and identification of *Helminthosporium solani* Dur. & Mont.

2011-12-30 发布

2012-06-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由全国植物检疫标准化技术委员会(SAC/TC 271)提出并归口。

本标准起草单位:中华人民共和国辽宁出入境检验检疫局、中国检验检疫科学研究院。

本标准主要起草人:刘伟、严进、王秀芬、董薇、姜丽、王有福、丘驰、陈嵘、赵文军、朱水芳、张秋娥。

马铃薯银屑病菌检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了马铃薯银屑病菌的检疫和鉴定方法。

本标准适用于马铃薯块茎上马铃薯银屑病菌的检疫和鉴定。

2 马铃薯银屑病菌基本信息

学名: *Helminthosporium solani* Dur. & Mont.

中文名: 马铃薯银屑病菌(茄长蠕孢菌)。

英文名: potato silver scurf。

根据《Dictionary of Fungi》第 9 版,马铃薯银屑病菌(*Helminthosporium solani* Dur. & Mont.)的分类地位为:真菌界(Fungi),有丝分裂孢子真菌(Mitosporic fungi)的长蠕孢属,茄长蠕孢菌。

3 方法原理

马铃薯银屑病菌在马铃薯块茎上具有银色光泽的病斑及经过保湿培养后形成独有的“圣诞树”状孢子梗和分生孢子是马铃薯银屑病菌鉴定的依据。

4 主要仪器设备、用具和试剂

4.1 仪器设备:体视显微镜、生物显微镜、超净工作台、生物培养箱、光照培养箱、电子天平、高压灭菌锅等。

4.2 用具:培养皿、烧杯、白瓷盘、尖头镊子、载玻片、盖玻片、量筒、酒精灯等。

4.3 试剂:PDA 培养基(可选用市售 PDA 培养基)、次氯酸钠、无水乙醇等。

5 现场检疫

5.1 抽样

5.1.1 抽样方法

以批号为抽样单位,无批号的以品种为抽样单位随机抽取。每份样品的抽样点不少于 5 个(对于散装的马铃薯,应在表层以下 0.3 m 取样更为适宜)。单位包装只能有一个抽样点。

5.1.2 抽样数量

500 粒以下取 1 份;501 粒~2 000 粒取 2 份;2 001 粒~5 000 粒取 3 份;5 001 粒~10 000 粒取 4 份;10 001 粒以上,每增加 10 000 粒增取 1 份,不足 10 000 粒的余量,计取 1 份。

每份样品 20 粒块茎。

5.2 现场查验

按进出境马铃薯种薯总件数的 5%~20% 随机抽检,最低抽检数量不少于 10 件,且不少于 1 000 粒。

现场检查马铃薯块茎是否有马铃薯银屑病菌侵染后的典型症状(见 7.1)。将现场查验发现的有马铃薯银屑病菌的典型症状块茎用塑料袋装好,连同现场抽取的样品分别加贴标识后送实验室进行进一步的分离和病原鉴定,并做好现场查验记录。

6 实验室检验

6.1 马铃薯块茎症状检验

将现场抽取的马铃薯块茎样品混匀,从中随机抽取 100 个块茎进行检查。检查是否有马铃薯银屑病菌侵染的症状,如果发现可疑症状连同现场查验的可疑块茎按 6.2 和 6.3 进行分离培养。

6.2 马铃薯块茎保湿培养

取 25 个~50 个典型症状的块茎样品,先用自来水冲洗,再用灭菌水冲洗后放入装有湿纸巾的塑料袋中,封口后,在塑料袋上打几个 0.16 cm 直径的小孔,在黑暗中保持在 $22\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$,培养 2 周~3 周。周期性地湿润纸巾,避免马铃薯块茎干燥。

6.3 PDA 培养

在马铃薯块茎表面的病斑处,切取 7 mm 直径的小块,用 1.0% 次氯酸钠消毒 30 s,用灭菌的蒸馏水冲洗两次,灭菌滤纸吸干水分,放置在 PDA 培养基(见附录 A)上,在 $22\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 2 周~3 周。

7 鉴定特征

7.1 马铃薯块茎症状特征

7.1.1 块茎上病斑症状

马铃薯银屑病菌主要侵染马铃薯块茎,在马铃薯周皮上形成圆形的病斑,病斑褐色至灰色。病斑深度多局限在周皮,不扩展到块茎内部,病斑最终表现为银色(参见图 B.1、图 B.2)。在储藏期,被侵染的薯块表皮最终表现为皱缩的特征,由于受伤表皮过度水分蒸发,使病斑最终表现为褐色,部分周皮可能脱落。

7.1.2 块茎上病原菌特征

病斑上子实体(分生孢子梗和分生孢子)多发生在病斑的边缘,新侵染的病斑更为明显,可见黑色的霉层(分生孢子)。在病斑上并不总产生分生孢子,这主要取决于湿度条件。

7.2 保湿培养后病原菌特征

马铃薯银屑病菌产生透明的菌丝,菌丝分隔并分枝;分生孢子无分枝,具分隔。分生孢子轮生在分生孢子梗末梢,状似“圣诞树”(参见图 B.3)。分生孢子梗直立,两壁平行生长。分生孢子宽 $(7\text{ }\mu\text{m}\sim 8\text{ }\mu\text{m})$ 、长 $(18\text{ }\mu\text{m}\sim 64\text{ }\mu\text{m})$ 。分生孢子最多 8 个分隔、暗褐色、基部圆、尾端细(参见图 B.4)。

7.3 PDA 培养病原菌特征

分离物在 PDA 培养基上形成暗褐色至黑色菌落,浅棕色的分生孢子群分布在培养基表面。菌丝在 PDA 上的生长速度为 1.15 mm/d~1.78 mm/d。20 ℃下光照培养比黑暗培养的生长速度快。分生孢子梗随培养时间的增加,颜色从浅灰色变为褐色,无分枝,1 根~6 根丛状生长,基部球形,7 个~19 个隔膜,(150 μm ~550 μm) $\times$ (7.0 μm ~10.0 μm)。分生孢子近无色至褐色,单个或成簇地自分生孢子梗基端往上呈轮状排列,直或稍弯,顶端渐尖,略呈锥形,3 个~8 个隔膜,(20 μm ~80 μm) $\times$ (7.5 μm ~10 μm),与自然薯块上产生的分生孢子大小基本相同。

8 结果判断

马铃薯块茎症状符合 7.1,且经保湿培养和 PDA 培养后,符合 7.2、7.3 的鉴定特征可以判断为马铃薯银屑病菌。

9 样品、菌种保藏

分离并鉴定为马铃薯银屑病菌的菌株要转移到斜面培养基上,于 4 ℃冰箱中保存至少 6 个月。带有马铃薯银屑病菌的块茎也于 4 ℃冰箱中保存,其时间视薯块的情况,尽量保存。以备复检、谈判和仲裁,保存期满后,进行灭活处理。

附 录 A
(规范性附录)

PDA 培养基的制作方法

PDA 培养基的制作(或选用市售 PDA):马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g。马铃薯切块煮沸 10 min,纱布过滤,加入葡萄糖,琼脂,加水定容至 1 000 mL,121 ℃,高压灭菌 20 min,分装备用。

附 录 B
(资料性附录)

马铃薯银屑病菌症状及形态特征

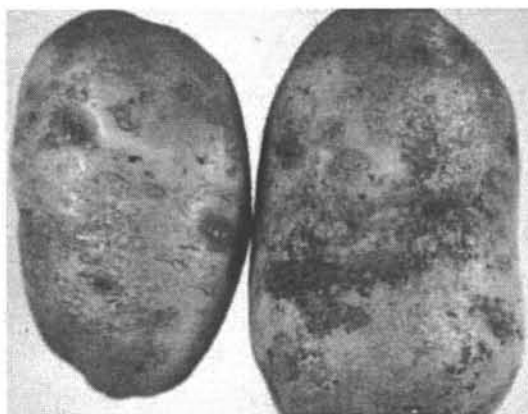


图 B.1 马铃薯银屑病菌在马铃薯块茎上的症状

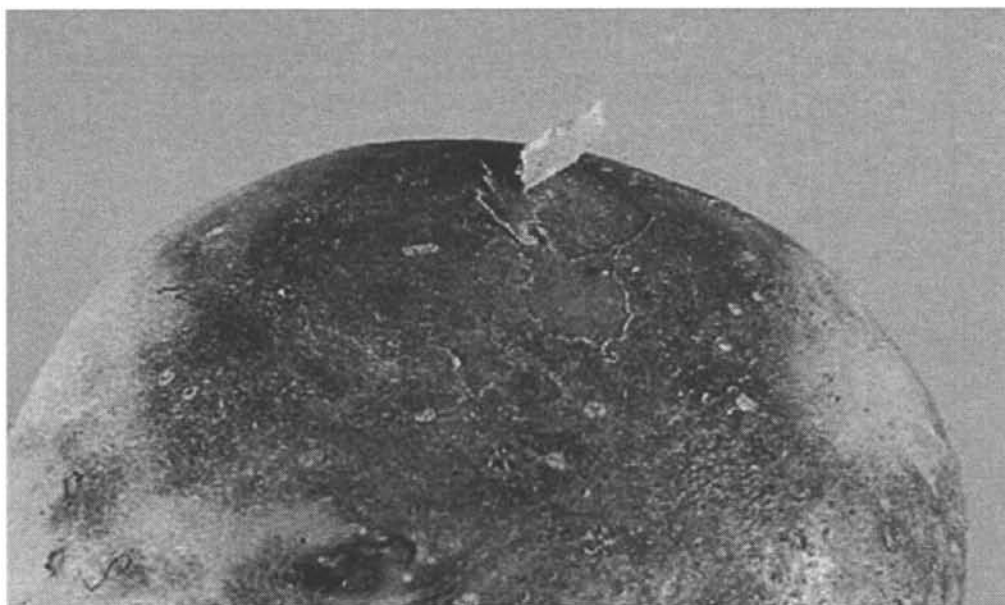


图 B.2 马铃薯银屑病菌在块茎上发展以后形成的圆形、从褐色到暗灰色的病斑,最后发展为银灰色



图 B.3 马铃薯银屑病菌保湿培养的微型“圣诞树”一样的分生孢子梗及分生孢子

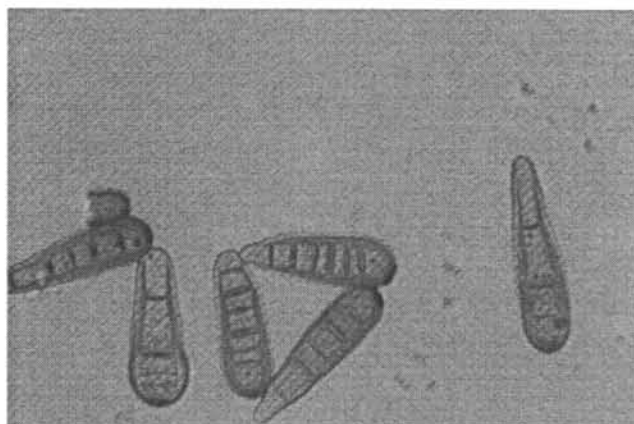


图 B.4 马铃薯银屑病的分生孢子