



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 1723.1—2006

马铃薯白线虫检疫鉴定方法

Inspection and identification of the white potato cyst nematode,
Globodera pallida (Stone) Behrens

2006-01-26 发布

2006-08-16 实施

中 华 人 民 共 和 国 发 布
国家质量监督检验检疫总局

前 言

SN/T 1723 分为两部分：

——马铃薯白线虫检疫鉴定方法；

——马铃薯金线虫检疫鉴定方法。

本部分为 SN/T 1723 的第 1 部分。

本部分的附录 A 为资料性附录。

本部分由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本部分负责起草单位：中国检验检疫科学研究院。

本部分参加起草单位：中华人民共和国辽宁出入境检验检疫局、中华人民共和国江苏出入境检验检疫局和中华人民共和国上海出入境检验检疫局。

本部分起草人：葛建军、姜丽、沈培垠、戚龙君。

本部分系首次发布的出入境检验检疫行业标准。

马铃薯白线虫检疫鉴定方法

1 范围

SN/T 1723 的本部分规定了进境植物检疫中马铃薯白线虫检疫的基本原则,以及对马铃薯白线虫的检疫鉴定方法。

本部分适用于输华的马铃薯种薯、食用马铃薯、带根、土的茄属植物及其他带根、土的植物繁殖材料中马铃薯白线虫的检疫鉴定。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 SN/T 1723 的本部分的引用而成为本部分的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本部分,然而,鼓励根据本部分达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本部分。

SN/T 1723.2—2006 马铃薯金线虫检疫鉴定方法

3 符号

下列符号适用于 SN/T 1723 的本部分。

n ——测计的线虫样本数目

L ——虫体体长(μm 或 mm)

S_i ——口针长度(μm)

S_p ——交合刺长度(μm)

4 原理

马铃薯白线虫 white potato cyst nematode

学名:*Globoderapallida* (Stone) Behrans 1975

异名:*Heterodera pallida* Stone 1973

英文名:white potato cyst nematode,pale potato cyst nematode

分类地位:线虫门(Nemata 或 Nematoda)、垫刃目(Tylenchida)、异皮线虫科(Heteroderidae)、球胞囊线虫属(*Globodera*)。

马铃薯白线虫的侵染循环、传播途径、寄主范围、生物学和形态学特征是该检疫鉴定方法的依据。马铃薯白线虫的寄主范围、分布、生活史和传播途径参见附录 A。

5 仪器、用具及药品

5.1 仪器、用具

光学显微镜、解剖镜、恒温箱、漂浮筒、20 目网筛、60 目网筛、100 目网筛、500 目网筛、酒精灯、烧杯、1 000 mL 三角瓶、毛笔、毛刷。

5.2 药品

酒精、丁香油、过氧化氢、中性树胶、福尔马林(40%)、冰乙酸、甘油、三乙醇胺、乳酚油、硫酸镁、蒸馏水。

6 现场检疫与抽样

6.1 现场检疫

检查马铃薯种薯、食用马铃薯薯块的带土情况,肉眼观察薯块基本不带土壤,则对进境的马铃薯薯块进行随机抽样,带回实验室检验;肉眼观察发现薯块带有土壤,应将带有土壤的所有薯块带回实验室进行检查。

查看带根、土的茄属植物及其他带根、土的植物繁殖材料的带土情况,收集上述植物繁殖材料和运输工具上可能携带的土壤,连同植物繁殖材料一并带回实验室检查。

6.2 抽样

6.2.1 抽样方法

棋盘式或五点式随机抽样。抽样时应注意上、中、下层的代表性。

6.2.2 抽样比例

以品种为单位,按总件数的10%抽样,每件按种薯总数的5%~10%抽样。

7 实验室检验

7.1 土壤的收集

使用毛刷将马铃薯等块茎和根上的土壤刷下来,尤其注意收集薯眼等内凹表面的土壤;若马铃薯种薯等繁殖材料的带土量少,应用水将马铃薯块茎上沾附的少量土洗刷下来。

7.2 线虫分离

7.2.1 Fenwick-Oostenbrink 漂浮法

此方法一般用于检验100 g以上的泥土。具体的分离步骤如下:

将现场采集到的土样铺于干净的浅瓷盘内,置于通风无阳光处风干,用手(或用小的圆木棍)将泥土轻轻压碎,用孔径为3 mm的标准筛过筛,除去泥土中混杂的植物组织和粗砂等杂物后备用;将漂浮筒和下筛淋湿;漂浮筒内灌满清水;在上筛中放置风干的土壤样品100 g左右,用强水流冲洗,使土样全部被淋洗至漂浮筒内;进入筒内的土粒因较重而逐渐下沉,而较轻的胞囊和一些有机杂物则陆续向上漂浮,经1 min~2 min后漂浮于筒口水面之上;再由上筛加水至漂浮筒内,使漂浮于筒口的胞囊和杂物沿水槽流到下筛(100目)上面;将下筛内含胞囊的残留物冲洗至1 000 mL的三角瓶内,往瓶内加清水,直至瓶口处;静置片刻,待漂浮物浮于液面时,将漂浮物倒入装有滤纸的漏斗中过滤,待滤纸晾干后即可镜检。

7.2.2 简易漂浮法分离线虫

收集的土壤数量在100 g以下时可采用此方法分离胞囊。

将上述泥土倒入2 000 mL的三角瓶中,加少量水(可用10%的硫酸镁溶液代替水作漂浮液使用效果更佳)后至水深5 cm左右后充分摇晃使之呈悬浮液,然后边加水边搅动,加水直至接近瓶口处。静置片刻,待三角瓶颈部的水变清时,将三角瓶瓶口的漂浮物通过20目和100目的套筛。彻底冲洗20目筛网,使所有的胞囊被冲到100目的筛网上。将100目筛网上的收集物轻轻地倒入装有滤纸的漏斗中过滤,待滤纸晾干后即可在解剖镜下检查是否有胞囊。

7.2.3 直接过筛分离胞囊

马铃薯薯块上马铃薯胞囊线虫的分离尽量使用该方法。

将洗涤马铃薯薯块的泥水洗涤液倒入20目—100目—500目的三层套筛中,然后用水喷淋冲洗,使杂质留在20目的粗筛内,而胞囊则会被冲到100目的筛网中,500目的网筛用于收集胞囊线虫的2龄幼虫、雄虫和其他蠕虫形线虫。将100目筛网上的胞囊和残余物冲洗入三角瓶内,一并倒入装有滤纸的漏斗中过滤,待滤纸晾干后镜检。将500目网筛上的收集物冲洗到小培养皿中镜检。

7.3 镜检

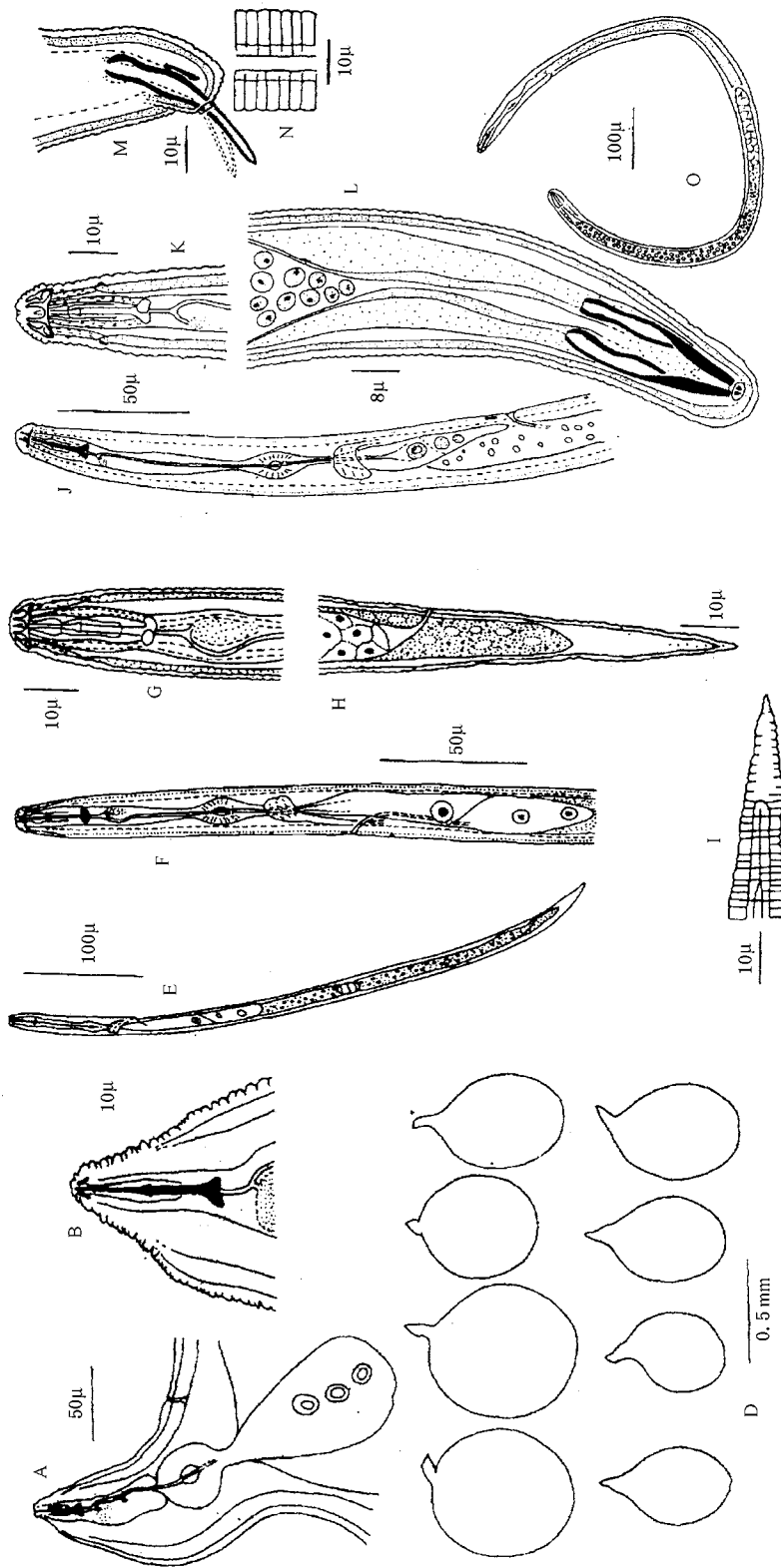
晾干后的滤纸可在解剖镜下检查,寻找胞囊。若发现胞囊,则用竹针或眉笔或 0 号狼毛笔将其挑至凹玻片上或装有白色滤纸的小培养皿中。并在显微镜下对胞囊的肛阴板进行鉴定。胞囊的肛阴板制作方法见 SN/T 1723.2—2006 的附录 B。

8 马铃薯白线虫的鉴定特征

8.1 形态特征

8.1.1 雌虫

虫体近球形,具突出的颈部。白色,一些群体经 4 周~6 周呈奶油色,当雌虫死亡时,变成亮褐色。头部具有融合的唇和 1 或 2 个明显的唇片。颈部环纹不规则,大多数体壁变成网纹型脊,头骨架发育弱。无刻线。口针锥部约为口针长的 50%,与针干部区别明显,口针基部球向后倾斜,口针套管约为口针长的 75%。中食道球大,几乎环形,瓣门新月形。排泄孔明显,位于颈基部。双卵巢充满整个体腔。阴门横裂,周围角质层轻微环形凹陷,形成阴门膜孔。阴门口位于两个细的唇突状新月形区域之间。肛门与阴门膜孔间角质层有 12 个平行的脊,少数交叉相联(见图 1)。



A——雌虫前端颈须部区域；
B——雌虫头部；
C——雌虫头部顶面观；
D——雌虫整体；
E——雌虫整体；
F——雌虫前端；
G——雌虫头部；

H——幼虫尾部；
I——幼虫侧区；
J——雄虫前端；
K——雄虫头部；
L——雄虫尾区腹面观；
M——雄虫尾区侧面观；
N——雄虫虫体中部侧区；
O——雄虫整体。

图 1 马铃薯白线虫 (*Globodera pallida*)

8.1.2 胞囊

新胞囊亮褐色,近球形具突出的颈。新胞囊的阴门区可能是完整的,但较老的胞囊标本的部分或全部阴门膜孔丢失,形成1个单环膜孔型(single circular fenestra)阴门膜孔。无阴门桥、下桥和其他内腺突,无泡状突,但在阴门区域有时有小突黑色的或变厚的阴门体。肛门明显。无亚晶层。

8.1.3 雄虫

蠕虫形,尾短、末端钝圆,热力杀死呈C或S形,后部卷曲 $90^{\circ}\sim 180^{\circ}$ 。角质层具明显的环纹,侧区四条刻线延伸至尾部末端,外刻线有时有网纹但内刻线无网纹。头部缢缩,6或7个环纹,头骨架严重骨化。口针发育良好,口针基部球向后倾斜,口针锥部约为口针长的45%,口针套管为口针长的70%。中食道球椭圆形,具有强壮的新月形瓣门。食道腺核3个,背食道腺核大多数明显,食道腺垂体延伸至排泄孔附近,约占到头部体长的15%。半月体2个环纹长,位于排泄孔后2个~3个环纹处。单精巢,顶端为单个帽状细胞,其位置位于40%~65%体长处。泄殖腔具小的环形唇,有2个强壮的交合刺,引带小(见图1)。

8.1.4 二龄幼虫

蠕虫形,但在卵内折叠成4折。角质层环纹规则,侧区四条侧线,偶尔有完整的网纹,角质层前7个~8个环纹较厚。头部圆形,轻微缢缩,4个~6个环纹。口针发育好,口针基部球侧面观前表面具有明显向前的突起,口针针锥部几乎为口针长的50%。食道腺体向后延伸,几乎占35%的体长。排泄孔位于20%体长处。半月体明显,2个体环长,位于排泄孔前1个环纹处;半月小体位于排泄孔后5个~6个环纹。尾部渐变细,末端圆指状,体腔延伸至尾长的一半,其余尾长形成一个透明尾区(见图1,SN/T 1723.2—2006的附录C中图C.1)。

8.2 测计值

8.2.1 雌虫

($n=25$): $L=27.4\ \mu\text{m}\pm 1.1\ \mu\text{m}$,头基部宽 $5.2\ \mu\text{m}\pm 0.5\ \mu\text{m}$,口针基部至背食道腺开口距离为 $5.4\ \mu\text{m}\pm 1.1\ \mu\text{m}$,头顶到中食道球瓣门距离 $67.2\ \mu\text{m}\pm 18.7\ \mu\text{m}$,中食道球瓣门至排泄孔的距离 $71.2\ \mu\text{m}\pm 21.9\ \mu\text{m}$,排泄孔到头顶距离 $139.7\ \mu\text{m}\pm 15.5\ \mu\text{m}$,中食道球平均直径 $32.5\ \mu\text{m}\pm 4.3\ \mu\text{m}$,阴门膜孔平均直径 $24.8\ \mu\text{m}\pm 3.7\ \mu\text{m}$,阴门裂长 $11.5\ \mu\text{m}\pm 1.3\ \mu\text{m}$,肛门至阴门膜孔 $44.6\ \mu\text{m}\pm 1.9\ \mu\text{m}$,阴门与肛门间角质层的脊数 $12.5\ \text{个}\pm 3.1\ \text{个}$ 。

8.2.2 胞囊

($n=25$): L (不包括颈) $=579\ \mu\text{m}\pm 70\ \mu\text{m}$,体宽 $534\ \mu\text{m}\pm 66\ \mu\text{m}$,颈长 $118\ \mu\text{m}\pm 20\ \mu\text{m}$,阴门膜孔直径 $24.5\ \mu\text{m}\pm 5.0\ \mu\text{m}$,肛门至阴门膜孔距离 $49.9\ \mu\text{m}\pm 13.4\ \mu\text{m}$,格氏比值(肛门至阴门盆近缘的距离/阴门盆直径) $=2.1\pm 0.9$ 。

8.2.3 雄虫

($n=50$): $L=1\ 198\ \mu\text{m}\pm 104\ \mu\text{m}$,排泄孔处体宽 $28.4\ \mu\text{m}\pm 1.3\ \mu\text{m}$,头基部宽 $12.3\ \mu\text{m}\pm 0.5\ \mu\text{m}$,头部高 $6.8\ \mu\text{m}\pm 0.3\ \mu\text{m}$, $S_i=27.5\ \mu\text{m}\pm 1.0\ \mu\text{m}$,口针基部球至背食道腺开口距离为 $3.4\ \mu\text{m}\pm 1.0\ \mu\text{m}$,头顶至中食道球瓣 $96.0\ \mu\text{m}\pm 7.1\ \mu\text{m}$,中食道球瓣至排泄孔距离 $81.0\ \mu\text{m}\pm 10.9\ \mu\text{m}$,排泄孔至头顶距离 $176.4\ \mu\text{m}\pm 14.5\ \mu\text{m}$,尾长 $5.2\ \mu\text{m}\pm 1.4\ \mu\text{m}$,泄殖腔处体宽 $13.5\ \mu\text{m}\pm 2.1\ \mu\text{m}$, $S_p=36.3\ \mu\text{m}\pm 4.1\ \mu\text{m}$,引带长 $11.3\ \mu\text{m}\pm 1.6\ \mu\text{m}$ 。

8.2.4 二龄幼虫

($n=50$): $L=486\ \mu\text{m}\pm 23\ \mu\text{m}$,排泄孔处体宽 $19.3\ \mu\text{m}\pm 0.6\ \mu\text{m}$,头基部宽 $10.6\ \mu\text{m}\pm 0.5\ \mu\text{m}$,头部高 $5.5\ \mu\text{m}\pm 0.1\ \mu\text{m}$, $S_i=23.8\ \mu\text{m}\pm 1.0\ \mu\text{m}$,口针基部球至背食道腺开口距离为 $2.7\ \mu\text{m}\pm 0.9\ \mu\text{m}$,头端至中食道球瓣门 $68.7\ \mu\text{m}\pm 2.7\ \mu\text{m}$,中食道球瓣至排泄孔至距离 $39.9\ \mu\text{m}\pm 3.3\ \mu\text{m}$,排泄孔至头端距离 $108.6\ \mu\text{m}\pm 4.1\ \mu\text{m}$,尾长 $51.1\ \mu\text{m}\pm 2.8\ \mu\text{m}$,肛门处体宽 $12.1\ \mu\text{m}\pm 0.4\ \mu\text{m}$,透明尾长 $26.6\ \mu\text{m}\pm 4.1\ \mu\text{m}$ 。

8.3 与相似种的区别

马铃薯白线虫与马铃薯金线虫在形态上极为相似,两个种的主要区别见 SN/T 1723.2—2006 的附录 C。

9 结果判定

以胞囊或雌虫的形态学作为该线虫鉴定的主要依据,2 龄幼虫和雄成虫作为鉴定的辅助依据。符合上述形态特征和测计值的可鉴定为马铃薯白线虫。

10 样品的保存

10.1 样品保存

样品经登记,经手人签字,妥善保存 2 个月。如发现马铃薯白线虫,该样品至少需保存 6 个月,以备复验、谈判和仲裁。保存期满后,发现马铃薯白线虫的,需作销毁处理。

10.2 线虫标本的保存

截获的马铃薯白线虫的胞囊、雌虫、雄虫和幼虫可制作成标本,永久保存。

附录 A

(资料性附录)

马铃薯白线虫的寄主、分布、生活史和传播途径

A.1 马铃薯白线虫的寄主

马铃薯白线虫的寄主范围较窄,最主要的农业寄主作物有马铃薯、茄子和番茄。

A.2 马铃薯白线虫的分布

马铃薯白线虫亦是世界性分布的重要病原线虫,在全世界五大洲 56 个国家有分布。

欧洲:比利时、奥地利、保加利亚、法罗群岛、白俄罗斯、斯洛伐克、丹麦、芬兰、法国、德国、希腊(仅克里特岛)、匈牙利、冰岛、爱尔兰、意大利、卢森堡、马耳他、荷兰、英国、挪威、波兰、葡萄牙(本土)、俄罗斯、英国(英格兰、苏格兰、海峡群岛)、西班牙(包括加那利群岛)、瑞典、瑞士和前南斯拉夫。

亚洲:塞浦路斯、印度(喜马偕尔邦、喀拉拉邦、泰米尔纳德邦)、巴基斯坦。

非洲:阿尔及利亚、南非、突尼斯和加那利群岛。

大洋洲:新西兰。

北美洲:加拿大(纽芬兰)。

中南美洲:整个安第斯高海拔地区:巴拿马、厄瓜多尔、阿根廷、玻利维亚、秘鲁、智利、哥伦比亚和委内瑞拉。

A.3 马铃薯白线虫的侵染循环和生活史

在寄主根部分泌物的刺激下,从土壤中线虫胞囊内孵化出的马铃薯白线虫的 2 龄幼虫侵入到寄主根内,在根的中柱鞘、皮层或内皮层的一组细胞中取食,将其转变成大的合胞体转移细胞,此后线虫在此营固定性内寄生生活,并完成其余的发育过程;经蜕皮,2 龄幼虫变为 3 龄幼虫、4 龄幼虫,而从 3 龄幼虫开始出现性别分化,雄性幼虫仍为蠕虫状,而雌性幼虫的身体开始膨大;4 龄雌性幼虫再蜕皮变为雌性成虫,虫体的后部不断膨大,撑破根表皮露出根外,仅头和颈部固着于根内;蠕虫状活泼运动的雄虫与雌虫交配后死亡,而雌虫继续留在根上,卵在其中发育。雌虫穿出根表层时呈白色,在雌虫完全成熟时,其表皮变硬、变褐色从而成为保护壳,这就是胞囊,内含大量的卵;至此,胞囊一般从根表面脱落掉入土中,其内的卵可以立即孵化,侵害作物或保持休眠成为未来作物的初侵染源;鞣革质的胞囊可抵抗化学物和干旱,使得该线虫在土壤内越冬、滞育及度过不良环境,在无寄主茄属植物存在的情况下,胞囊可在土壤中存活多年并仍有侵染能力。

A.4 马铃薯白线虫的传播途径

马铃薯白线虫以 2 龄幼虫在土壤内作短距离的移动,农事操作、农具和交通工具可将农田中的土壤带走,从而近距离传播马铃薯白线虫;马铃薯种薯、苗木、花卉鳞球茎、消费或加工用马铃薯块茎上沾附的土壤可将马铃薯白线虫的胞囊传播到新的马铃薯生产地区,因此,胞囊是马铃薯白线虫远距离传播的主要途径。