

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 1822—2006

香蕉黑条叶斑病菌检疫鉴定方法

Identification of black leaf streak disease
(*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) of banana

2006-11-10 发布

2007-05-16 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

本标准的附录 A、附录 B、附录 C 均为资料性附录。

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：中华人民共和国珠海出入境检验检疫局、中华人民共和国河北出入境检验检疫局、华南热带农业大学。

本标准主要起草人：李捷、李冠雄、黄朝豪、张建军、赵玉平、彭仁。

本标准系首次发布的出入境检验检疫行业标准。

香蕉黑条叶斑病菌检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了进境植物检疫中香蕉黑条叶斑病菌的检疫鉴定方法。

本标准适用于进境芭蕉属植物的芽苗、球茎等繁殖材料,香蕉叶片、苞片等包装、填充材料,以及香蕉果实等携带的香蕉黑条叶斑病菌的检疫鉴定。

2 原理

香蕉黑条叶斑病菌 [*Mycosphaerella fijiensis* Morelet (*Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*)], 属于囊菌亚门(Ascomycotina), 腔菌纲(Loculoascomycetes), 座囊菌目(Dothideales), 座囊菌科(Dothideaceae), 球腔菌属(*Mycosphaerella*), 无性态为斐济假尾孢属(*Pseudocercospora fijiensis*)。该病与香蕉褐缘灰斑病在病症、病原上既相近又有所不同, 鉴定时注意区分(参见附录 A)。该病菌可以侵染芭蕉属植物, 特别是香蕉和大蕉, 主要为害叶片、苞片、吸芽苗、球茎和果实, 造成植株叶片早枯, 降低果实的品质。该病菌可依据其有性态的子囊座、子囊、子囊孢子以及无性态的分生孢子梗和分生孢子等形态特征, 以及受侵染植物的症状特征进行鉴定。

3 仪器、试剂

手持式放大镜、双目解剖镜(10×~50×)、显微镜(100×~1 000×)、切片机、刀片、解剖刀、解剖剪、镊子、记号笔、酒精灯、纱布、烧杯、搪瓷杯、移植接种针、移植环、培养皿、三角瓶、棉花塞、玻片、盖玻片、铝铂纸、Parafilm 膜、超净工作台、乳酚油(由苯酚 20 mL、甘油 40 mL、乳酸 20 mL、蒸馏水 20 mL 混合配制而成)、次氯酸钠(NaClO)、酒精、V₈ 蔬菜汁、琼脂粉、碳酸钙(CaCO₃)。

4 症状检查

现场检疫时, 应认真核查待检货物产地、包装、标记、品名及数量是否与有关单证相符。仔细检查香蕉的吸芽苗、球茎、叶片、苞片和果实, 尤其是新叶是否有香蕉黑条叶斑病症状。该病主要为害叶片, 初期病状通常在第 3 或第 4 张新叶的背面产生直径 0.25 mm 的褪绿斑, 随后扩展为 3 mm×1 mm 条状的褐黑色条纹, 与叶脉平行。中期条纹扩展形成褐色椭圆形病斑, 病健交界明显, 外圈有窄的黄色晕圈。病斑后期呈黑褐色或黑色, 中央组织逐渐干枯变为灰白色; 多个病斑相互联合后, 叶组织大面积坏死, 叶柄变干, 整张叶子下垂, 提早枯死。

对于来自疫区的货物, 还应仔细检查装载交通工具和包装材料。然后, 直接扞取有可疑症状的部位送实验室检验。

5 检验方法

5.1 病原菌检查

用解剖针挑取或刀片刮取病斑背面的霉状物或病组织表皮下小黑点制片, 在显微镜下直接检查有病菌的子实体, 记录其形态特征, 测量分生孢子梗、分生孢子和子囊果及子囊孢子的大小。

5.2 分离培养

如果发现可疑症状, 但不能从病部获得病原菌按 5.1 检查, 应采取分离、培养的方法作进一步鉴定。选择新鲜病组织(吸芽苗、球茎、叶片、苞片或果实的表皮组织), 冲洗干净表面泥土等杂物后, 在病健交界处切取 0.5 cm² 左右的小块, 用 70% 酒精消毒 2 s~3 s 后, 置于 3% 次氯酸钠水溶液中消毒 3 min~

5 min,再用灭菌水浸洗3次,用灭菌滤纸吸干水分后移置在V₈蔬菜汁培养基(参见附录B)平板上,于25℃~28℃下培养7 d~10 d。

6 鉴定特征

6.1 培养特征

本菌在V₈蔬菜汁培养基上生长,菌落形态常有两种,一种菌落墨绿色至黑色,生长速度较慢,气生菌丝很少;另一种菌落呈淡灰色,生长速度较快,气生菌丝很茂密。菌丝生长最适温度为25℃~28℃,培养基上的菌落表面淡灰色,基底墨绿色至黑色,分生孢子在菌落边缘呈圈状排列。

6.2 形态特征

6.2.1 有性态

子囊座散生在寄主叶、球茎、果实等的表皮层下,黑褐色,球形至扁球形,有乳头状孔口,直径50 μm~80 μm,平均63 μm;子囊圆柱形至棍棒形,每个子囊内含8个子囊孢子,双列;子囊间拟侧丝早期消解,子囊双层壁大小为(28.0 μm~34.5 μm)×(6.5 μm~8.0 μm);子囊孢子双胞,无色,梭形或棍棒状,在分隔处稍缢缩,大小为(11.5 μm~16.5 μm)×(2.5 μm~5 μm),平均13.7 μm×3.7 μm。参见附录C。

6.2.2 无性态

菌丝体内生,分生孢子梗2~8根簇生于子座上,顶端曲膝状,灰白色至浅褐色,0~5个分隔,不分枝,有1个~4个稍变厚的孢痕,大小(16.5 μm~62.5 μm)×(4 μm~7 μm)。分生孢子直立或稍弯曲,倒棍棒状至圆柱棍棒状,有1个~10个分隔,有明显的基脐,从脐端到顶部逐渐狭窄,淡色至橄榄色,大小为(30 μm~132 μm)×(2.5 μm~5 μm),平均72.5 μm×4 μm。参见附录C。

6.3 生物学特征

分生孢子发育最适温度为23℃~25℃,相对湿度为100%。子囊孢子发育最适温度为26℃,相对湿度为95%。

病菌远距离主要通过种植材料进行传播,分生孢子和子囊孢子在有雨露的高湿条件下,便可萌发,由气孔侵入寄主组织引起发病。由子囊果释放出的子囊孢子与叶面的水膜接触3 h后便可发芽侵入寄主,病害的潜育期一般为16 d~24 d。高湿温暖的天气条件适宜此病发生,尤其是在高湿和25℃~30℃时病斑扩展最快,气温低于20℃时病菌虽能侵染,但病斑不扩展,不能形成褐色斑。

7 结果判定

以香蕉黑条叶斑病菌在芭蕉属植物上产生的症状,有性态的子囊座、子囊、子囊孢子以及无性态的分生孢子梗和分生孢子的形态特征等作为鉴定依据,进行综合判定。若发现在芭蕉属植物上产生的病症与第4章中所描述症状一致,且形态特征与第6章相符,即判定为香蕉黑条叶斑病菌。未发现符合第4章和第6章症状特征的,判定为不带香蕉黑条叶斑病菌。

8 样品保存

发病的繁殖材料应及时销毁。同时应选择适当的材料制成永久玻片。必要时,可将分离获得的菌种转接种于V₈蔬菜汁斜面培养基置4℃~8℃冰箱保存,并严格防止扩散。

附录 A

(资料性附录)

香蕉黑条叶斑病与褐缘灰斑病区别

病害	黑条叶斑病		褐缘灰斑病
国内分布	局部发生		广泛发生
病原	有性态	<i>Mycosphaerella fijiensis</i> Morelet	<i>Mycosphaerella musicola</i> Leach
	无性态	<i>Pseudocercospora fijiensis</i> (Morelet) Deighton	<i>Pseudocercospora musae</i> (Zimm.) Deighton
分生孢子梗	着生叶背面,多2根~8根簇生,灰白色至浅褐色,0个~5个分隔,不分支,具膝状节,有1个~4个稍加厚的孢痕。		着生叶表面,3根~10根簇生,无色,多数无隔膜,直立或膝状弯曲,无明显孢痕。
分生孢子	直立或稍弯曲,棍棒状,有1个~10个分隔,有明显的基脐,从脐端到顶部逐渐狭窄,淡色至橄榄色, [30 μm~132(72.5 μm)]×[2.5 μm~5(4) μm]。		圆柱形至倒棍棒形,1个~5个隔膜,(10 μm~80 μm)×(2 μm~4 μm)。鼠尾状,无色有分隔。

附录 B

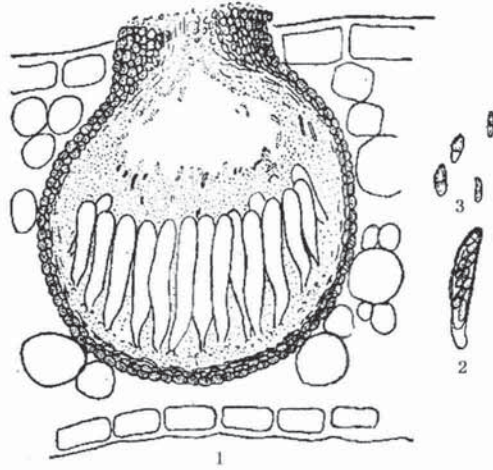
(资料性附录)

10% V₈ 蔬菜汁培养基

10 mL V₈ 蔬菜汁,加蒸馏水 90 mL,碳酸钙(CaCO₃)0.02 g,琼脂粉 2 g,充分混合后分装置于 121℃下高压蒸汽灭菌 15 min~20 min。

附录 C
(资料性附录)

香蕉黑条叶斑病菌的形态特征图



- 1——子囊腔(示子囊及拟侧丝)；
- 2——子囊；
- 3——子囊孢子。

图 C.1 香蕉黑条叶斑病菌有性态(引自《植物病害诊断》)

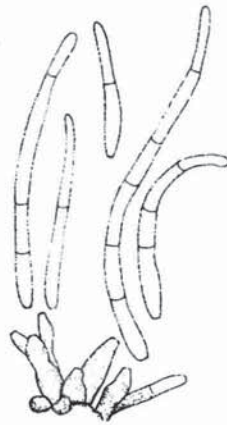


图 C.2 香蕉黑条叶斑病菌无性态(分生孢子梗和分生孢子)(仿 Deighton)