



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 1135.8—2009

马铃薯坏疽病菌检疫鉴定方法

Quarantine identification of *Phoma exigua* var. *foveata*

2009-09-02 发布

2010-03-16 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 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。

本标准由中华人民共和国辽宁出入境检验检疫局、中华人民共和国黑龙江出入境检验检疫局负责起草。

本标准主要起草人：刘伟、王秀芬、于恒纯、王有福、姜丽、彭金火。

本标准系首次发布的出入境检验检疫行业标准。

马铃薯坏疽病菌检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了马铃薯坏疽病菌的检疫鉴定方法。

本标准适用于所有进境马铃薯薯块携带的马铃薯坏疽病菌的检疫鉴定。

2 原理

2.1 分类地位

马铃薯坏疽病菌(*Phoma exigua* var. *foveata*)的分类为真菌界 Fungi, 无性型真菌 *Anamorphic fungi*, 孔穴茎点霉。

2.2 寄主

主要寄主为马铃薯。在安第斯山地区还危害昆诺藜(*Chenopodium quinoa*)和野生马铃薯。

2.3 鉴定原理

该病原菌的危害症状、分离培养特性以及形态特征是检疫鉴定的主要依据。

3 仪器设备、用具及试剂

3.1 仪器设备用具

电子天平(感量 1/10 000 g)、解剖镜、显微镜、超净工作台、温控培养箱、高压灭菌锅、低温冰箱、普通冰箱、镊子、量筒、培养皿等。

3.2 试剂

无水乙醇、次氯酸钠、氨水、麦芽糖琼脂培养基(参见附录 A)等。

4 检验方法

4.1 症状观察

观察马铃薯薯块是否有病斑及菌丝线、分生孢子器等。

4.2 分离培养

取有马铃薯坏疽病可疑症状的薯块, 切开并在其病健交界处取样, 切成 4 mm×4 mm 小块, 0.5% 的次氯酸钠表面消毒 5 min, 无菌水冲洗三遍, 置于 2% (质量浓度) 麦芽琼脂培养基(MA)平板上, 每皿放置 5 块~6 块; 或在无菌状态下直接挑取菌丝置于 2% 麦芽琼脂培养基上, 20℃~22℃ 黑暗条件下培养。

4.3 病原菌形态及特性观察

观察马铃薯坏疽病菌的孢子大小、形态及菌落特性。

5 鉴定特征

5.1 症状

马铃薯坏疽病菌在马铃薯块茎上的症状为暗色凹陷小病斑, 常不超过拇指大小。病斑皱缩容易剥离, 留下一个干空腔。干空腔常扩展, 产生带有灰色或暗褐色到紫色的菌丝线, 并产生分生孢子器。

小茎点霉变种(*P. exigua* var. *exigua*)在马铃薯薯块上可产生与马铃薯坏疽病菌相同的症状, 该菌为弱寄生菌, 可以用培养特征进行区别。

由 *Fusarium* spp. 引起的干腐病通常产生比较平整的同心轮纹病斑, 病斑表面经常可见白色、粉白

色或蓝紫色的真菌垫。

5.2 形态特征

马铃薯坏疽病菌的孢子在大小和形态上是变化的,但通常是单胞、卵形、透明;大小为 $4\ \mu\text{m}\sim 6.5\ \mu\text{m}\times 2\ \mu\text{m}\sim 3\ \mu\text{m}$ 。

5.3 培养特征

用 2% 麦芽琼脂培养基 $20\ ^\circ\text{C}\sim 22\ ^\circ\text{C}$ 黑暗恒温培养。3 d 后,马铃薯坏疽病菌(*P. exigua* var. *foveata*)产生灰白色的垫状菌落,此后多数菌落的中心从苍白色变为微黄褐色,菌落边缘规则。10 d 后产生特有的、可扩散的蒽醌色素。在酸性条件下,蒽醌色素呈黄色,在碱性条件下呈红色(如将培养物暴露在挥发性的氨水上部,几秒钟后培养物即可变成红色)。

在 2% 麦芽琼脂培养基上培养时,小茎点霉变种(*P. exigua* var. *exigua*)与马铃薯坏疽病菌易于区别:*P. exigua* var. *foveata* 的菌落呈放射状,色苍白至微黄,有可扩散性的蒽醌色素产生;*P. exigua* var. *exigua* 的菌落呈同心轮纹(参见附录 B),颜色为橄榄灰色到白色,不产生可扩散性的蒽醌色素。

当小茎点霉变种 *P. exigua* var. *exigua* 和马铃薯坏疽病菌接种于同一平板麦芽培养基时,在菌落的交界处会产生一个紫罗兰线。在生长于麦芽培养基中心的 *P. exigua* var. *exigua* 周围接种待鉴定菌,经培养后如果在两菌交界处产生紫罗兰线,可判定马铃薯坏疽病菌的存在。

6 结果判定

符合 5.1 的症状、5.2 形态以及 5.3 培养鉴定特性则判定该病菌为马铃薯坏疽病菌。

7 样品保存

7.1 菌种保存

制作 2% 麦芽琼脂斜面培养基,把纯化的菌落接种到斜面培养基上,置于冰箱中 $4\ ^\circ\text{C}$ 保存,以备谈判、仲裁使用。

7.2 样品保存

保存样品应按品种分别存放,经登记和经手人签字后置冰箱冷藏保存 2 个月。马铃薯坏疽病菌样品至少需保存 6 个月,同时保留电子图片,以备复验、谈判和仲裁。保存期满后,灭菌处理。

附 录 A
(资料性附录)
麦芽琼脂培养基配制

麦芽琼脂培养基(MA)组分(或采用市售麦芽琼脂培养基):

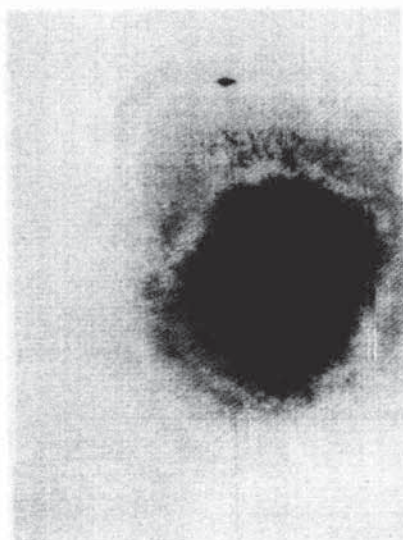
麦芽抽提物(Malt extract)20.0 g

真菌蛋白胨(Mycological Peptone)5.0 g

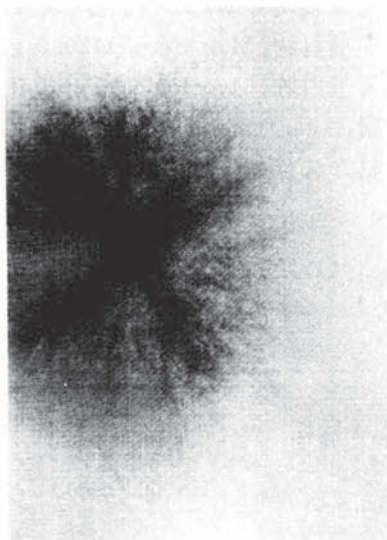
琼脂(Agar)15.0 g

配制方法:溶解煮沸各种成分,蒸馏水定容至 1 L,121 °C 高压灭菌 15 min。

附 录 B
(资料性附录)
菌落形态图



a) *phoma exigua* var. *exigua*, 菌落带有环层



b) *phoma exigua* var. *foveata*, 培养物没有环层

图 B.1 马铃薯坏疽病菌在麦芽琼脂培养基上的菌落区别特征 (photographs by G. Little)