



中华人民共和国国家标准

GB/T 28097—2011

苹果黑星病菌检疫鉴定方法

Detection and identification of *Venturia inaequalis* (Cooke) Wint.

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
中国国家标准化管理委员会 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:中华人民共和国安徽出入境检验检疫局、安徽农业大学、中华人民共和国云南出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:姚剑、檀根甲、温劲松、余晓峰、张萍、李刚、郑海松、李云飞、方元炜、张道环、李生贵、段禄华。

苹果黑星病菌检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了苹果黑星病菌的检疫鉴定方法。
本标准适用于苹果属果树、果实、种苗及其他材料的检疫和鉴定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

SN/T 2122 进出境植物及植物产品检疫抽样

3 苹果黑星病菌基本信息

中文名:苹果黑星病菌。

学名:

有性型:*Venturia inaequalis* (Cooke) Wint.

无性型:*Spilocaea pomi* Fr.。

病害英文名:apple scab, black spot。

异名:

有性型:*Sphaeria cinerascens* Fr.

Sphaerella cinerascens Fuck.

Sphaerella inaequalis Cooke.

Endostigme inaequalis (Cooke) Syd.

Spilosticta inaequalis (Cooke) Petr.

Endostigme cinerascens (Fleisch) Jorst.

无性型:*Fusicladium dendriticum* (Wallr.) Fuck.

Claporium dendriticum Wallr.

根据《真菌词典》第九版(2001),有性型属真菌界 Fungi,子囊菌门 Ascomycota,子囊菌纲 Ascomycetes,座囊菌亚纲 Dothideomycetidae,格孢腔菌目 Pleosporales,黑星菌科 Venturiaceae,黑星菌属 *Venturia*。

无性型属环黑星孢属 *Spilocaea*,仁果环黑星孢 *Spilocaea pomi* Fr. (= *Fusicladium dendriticum* (Wallr.) Fuck.)。

苹果黑星病菌的其他信息参见附录 A。

4 方法原理

经现场查验、取样后,实验室用显微镜等仪器设备进行检测,根据其危害症状、形态学特征进行结果判定。

5 仪器及用具

5.1 仪器

显微镜、超净工作台、高压灭菌锅、生物培养箱。

5.2 用具

解剖刀、镊子。

6 试剂和培养基

6.1 试剂

4%次氯酸钠,70%酒精。

6.2 培养基

PDA 培养基,pH 值调节至 5.5~6.5。

7 现场检验

7.1 抽样方法

按 SN/T 2122 进行抽样。

7.2 症状检查

逐一对抽检样品进行症状检查,并将疑似感病样品带回实验室作进一步检验。

7.2.1 叶片检查

叶片上病斑多先从叶片正面发生。病原菌从侵入点放射状扩展,形成病斑。叶片正面病斑初为淡黄绿色,色泽逐渐变深,后变为黑色,圆形、近圆形,直径 3 mm~6 mm 或更大,病斑周围有明显的边缘,老叶上尤甚。幼叶病斑多表面粗糙羽毛状,成叶病斑边缘明显而不整齐,有时表生白色棉絮状物。病斑多由叶片正面向上突起,其背面形成环状凹入,呈泡斑状,有时病斑脱落穿孔。叶背面侵染形成的病斑略成圆形,表生黑褐色霉状物,叶片正面对应部位褪绿,枯死。侵染较晚的,仅在叶片背面产生黑色多角形病斑。叶片上病斑可互相汇合,占据大部叶面,叶片扭曲、卷曲,进而干枯并早期落叶。

在叶柄和主叶脉上的病斑黑色,较小,小点状、梭形或长条形,往往导致叶片变黄脱落。

7.2.2 花器检查

发病花瓣褪色,萼片上生灰色病斑,但常被萼片绒毛覆盖,不易察觉。花梗上病斑还可环切花梗,造成落花。

7.2.3 果实检查

果实从幼果至成熟期均可被侵染,果面病斑初为黑色星状斑点,很小、微凸,上生有绒状菌丝体。随着果实膨大,病斑逐渐扩大并凹陷,表层木栓化,边缘开裂,有不规则细小裂纹,整体疮痂状。病果开裂、畸形。在秋季被侵染的果实,病面密生黑色或褐色小点,不表现典型症状,但在贮藏期病斑逐渐扩大。

7.2.4 苗木、接穗等繁殖材料检查

1年生枝条被侵染,常发生在离枝端大于10 cm的部位,病斑较小,枝条长大后,病斑消失,但在一些感病的品种上,病斑并不消失,使病枝呈泡肿状。另外,芽鳞内也有越冬存活的菌丝体或分生孢子。

8 实验室检测

8.1 切片检测

选取疑似感病植物组织病健交界处切片,移于载玻片中央的水滴中,镜检,观察子实体特征。

8.2 分离培养检测

选取疑似感病植物组织,剪取病健交界处组织若干小块,约2 mm×2 mm,在70%酒精中浸湿一下后立即移入4%次氯酸钠中消毒处理1 min,用无菌水洗3次,放于PDA平板培养基上,每皿5块,置于16℃~20℃,光照强度为600 lx、光周期为12 h条件下培养。观察病菌形态特征。

9 鉴定特征

9.1 病菌形态特征

苹果黑星病菌有性型 *Venturia inaequalis* (Cooke) Wint. 子囊座在落叶上形成,埋生或近表生叶肉组织中,黑褐色,球形、近球形,直径约90 μm~100 μm,孔口处稍有乳状突起,具刚毛,刚毛长25 μm~75 μm。子囊座内产生多数子囊,处于不同发育阶段。子囊长棍棒形,无色,大小(55 μm~75 μm)×(6 μm~12 μm),有短柄,壁薄。子囊内含8个子囊孢子,成熟子囊孢子卵圆形,暗褐色,双胞,顶细胞较小,基部细胞较大,大小(11 μm~15 μm)×(4 μm~8 μm)。无性型 *Fusicladium dendriticum* (Wallr.) Fuck. 分生孢子梗丛生、淡褐色至橄榄色,短棒状,直立或弯曲,不分枝,单胞,0个~2个隔膜,全壁芽生孢,环痕式延伸,大小(50 μm~60 μm)×(4 μm~6 μm)。分生孢子顶生,倒梨形或倒棍棒状,顶端略尖,初无色,淡褐色至橄榄色,初单胞,后生1个隔膜,隔膜处稍缢缩,孢基平截,表面光滑或具小疣突,大小(12.0 μm~26.0 μm)×(5.5 μm~11.5 μm)。分离培养的分生孢子比切片观察的略大(参见附录B)。

9.2 病菌培养性状

菌株在PDA培养基上培养4 d后,开始形成灰白色菌落。4周后,菌落呈不规则形或圆形,直径约20 mm,平铺状,橄榄色、灰色或黑色,有时被茸毛。菌丝初无色,后变为橄榄色。

9.3 与梨黑星病菌 *Venturia pirina* (Cooke) Adh. 的区别

梨黑星病菌有性型孢子囊棍棒形,子囊孢子顶细胞较大,基部细胞较小;无性型分生孢子梗罕见有隔膜,梗壁上有齿状或疣状突起,分生孢子单胞,两端略尖(参见附录C)。

10 结果判定

如有7.2.1~7.2.4描述中任一症状,且切片或分离培养观察的病菌形态特征与描述的病原有性型或无性型特征相符,可判定为苹果黑星病菌。

11 样品、菌种保藏

分离菌转接在 PDA 培养基斜面上,待斜面表面长满菌丝后,置于 4 ℃ 保存,定期转接。有条件可进行冷冻干燥保存。

检出病菌的样品妥善保存 6 个月。保存期满灭活处理。

附 录 A
(资料性附录)
苹果黑星病菌其他信息

A.1 地理分布

美洲：墨西哥、美国、加拿大、阿根廷、巴西、智利；欧洲：芬兰、英国、法国、奥地利、德国、前苏联、捷克、斯洛伐克、波兰、保加利亚、匈牙利、罗马尼亚、前南斯拉夫、比利时、意大利、丹麦、荷兰、挪威、瑞典、瑞士、土耳其；亚洲：印度、日本、朝鲜、阿富汗、叙利亚、塞浦路斯以及中国（吉林、黑龙江、新疆、四川、云南等）；非洲：南非、肯尼亚、利比亚；大洋洲：澳大利亚、新西兰等。

A.2 寄主范围

主要为苹果属果树(*Malus*)。

附录 B
(资料性附录)
苹果黑星病菌形态特征

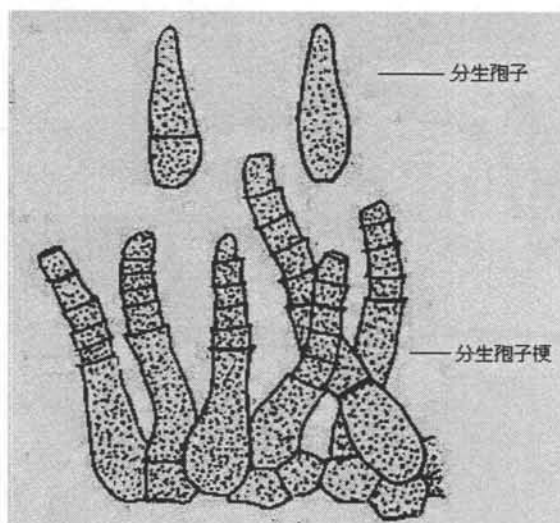


图 B.1 无性型分生孢子梗及分生孢子

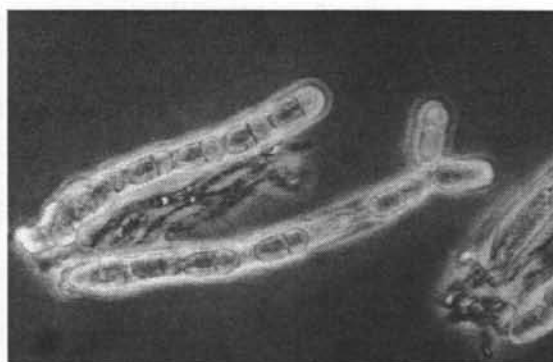


图 B.2 有性型子囊和子囊孢子

附 录 C
(资料性附录)
梨黑星病菌形态特征

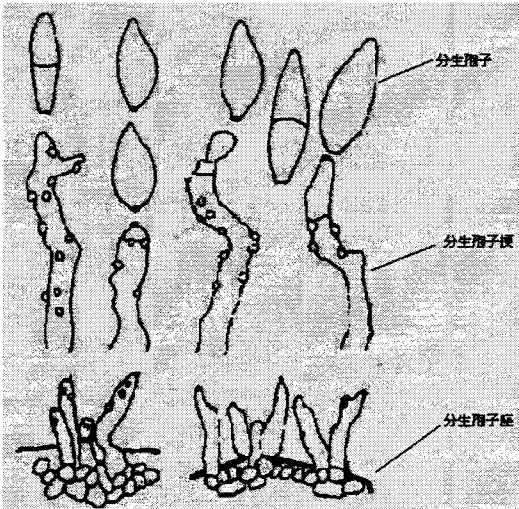


图 C.1 梨黑星病菌形态特征图