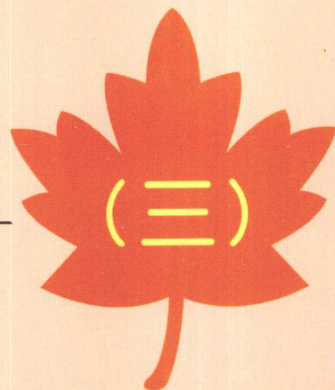
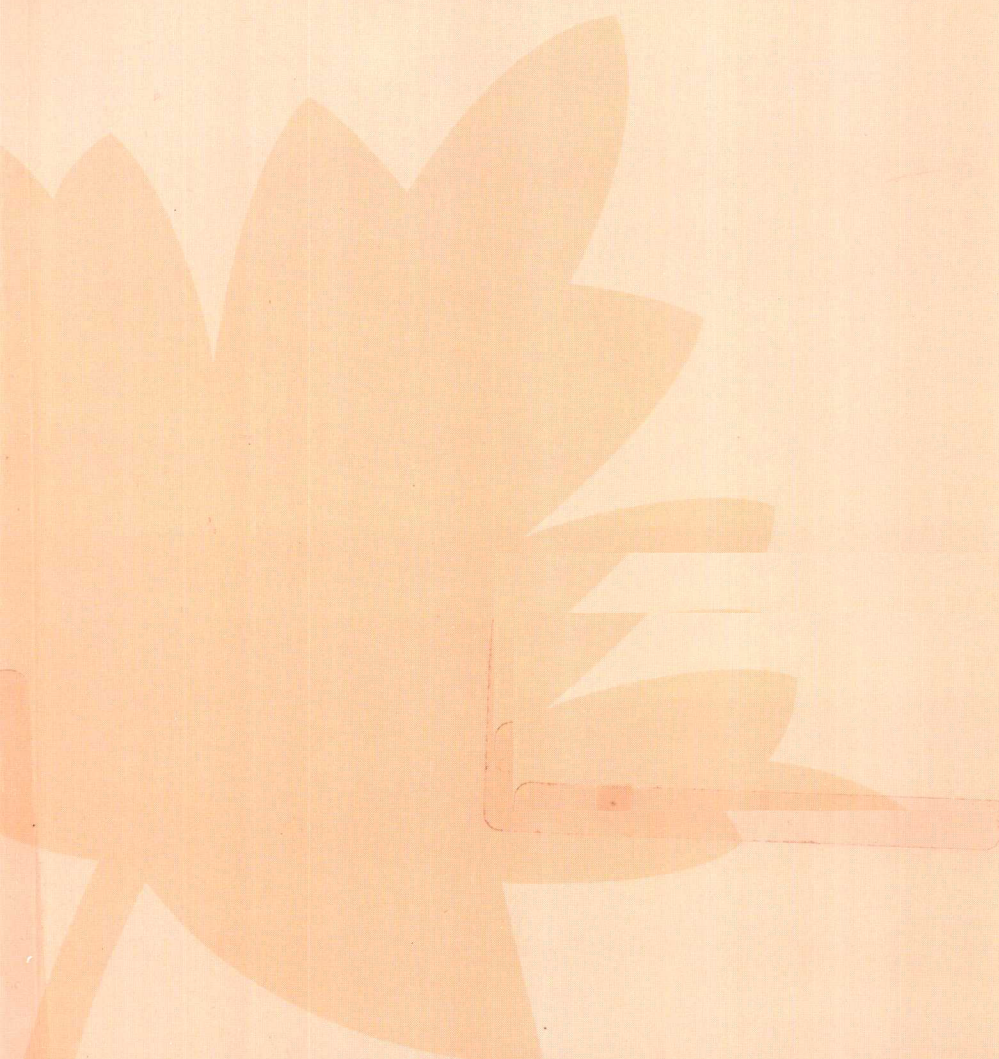


# 进出境植物检疫 标准汇编



全国植物检疫标准化技术委员会  
国家认证认可监督管理委员会科技与标准管理部 编  
中国标准出版社第一编辑室



 中国标准出版社

# 进出境植物检疫标准汇编

(三)

全国植物检疫标准化技术委员会  
国家认证认可监督管理委员会科技与标准管理部 编  
中国标准出版社第一编辑室

中国标准出版社

北京

**图书在版编目(CIP)数据**

进出境植物检疫标准汇编. 3/全国植物检疫标准化技术委员会, 国家认证认可监督管理委员会科技与标准管理部, 中国标准出版社第一编辑室编. —北京: 中国标准出版社, 2011

ISBN 978-7-5066-6200-0

I. ①进… II. ①全…②国…③中… III. ①植物检疫: 国境检疫-标准-汇编-中国 IV. ①S41-65

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 004827 号

中国标准出版社出版发行  
北京复兴门外三里河北街 16 号

邮政编码: 100045

网址 [www.spc.net.cn](http://www.spc.net.cn)

电话: 68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

\*

开本 880×1230 1/16 印张 59.75 字数 1 723 千字

2011 年 2 月第一版 2011 年 2 月第一次印刷

\*

定价 280.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话: (010)68533533

# 前 言

进出境植物检疫工作的主要目的是防范检疫性有害生物传入、传出国境,保护农林业、人类健康和生态安全。随着全球贸易自由化的发展,我国的国民经济和世界各地的联系越来越密切,口岸面临防范有害生物入侵的严峻形势,标准作为技术执法的主要依据,其技术支撑能力进一步增强,作用更加重要。近年来,进出境植物检疫标准已进入稳步发展时期,每年都有几十项新标准发布,为了方便口岸植物检疫人员查询、使用标准,我们精心组织编辑了《进出境植物检疫标准汇编》一书。

《进出境植物检疫标准汇编》收录了截至2010年11月底批准发布且现行有效的植物检疫国家标准和出入境检验检疫行业标准共318项,其中国家标准50项、出入境检验检疫行业标准268项。《进出境植物检疫标准汇编》共分三卷,第一卷内容包括综合类、风险分析类、调查监测类和检疫规程类标准,第二卷内容包括昆虫检疫鉴定类、线虫检疫鉴定类、杂草检疫鉴定类、转基因检测类和物种资源鉴定类标准,第三卷内容包括真菌检测鉴定类、细菌检测鉴定类、病毒检测鉴定类和检疫处理类标准。

本卷为《进出境植物检疫标准汇编》的第三卷,收录了真菌检测鉴定类、细菌检测鉴定类、病毒检测鉴定类和检疫处理类四部分标准共102项,其中国家标准5项、出入境检验检疫行业标准97项。

本书的编辑出版对我国植物检疫系统的管理和检疫人员、植物和植物产品相关的进出口企业,以及其他关注植物和植物产品进出口贸易的相关人士有所借鉴和帮助。

编 者

2010年12月

# 目 录

## 一、真菌检测鉴定类

GB/T 18085—2000	植物检疫 小麦矮化腥黑穗病菌检疫鉴定方法	3
GB/T 18086—2000	植物检疫 烟霜霉病菌检疫鉴定方法	10
SN/T 1106—2002	橡胶南美叶疫病病菌检疫鉴定方法	15
SN/T 1127—2002	小麦印度腥黑穗病菌检疫鉴定方法	23
SN/T 1131—2002	大豆疫霉病菌检疫鉴定方法	34
SN/T 1135.1—2002	马铃薯癌肿病病菌检疫鉴定方法	43
SN/T 1135.4—2006	马铃薯黑粉病菌检疫鉴定方法	51
SN/T 1135.5—2007	马铃薯环腐病菌检疫鉴定方法	57
SN/T 1135.6—2008	马铃薯维腐病菌检疫鉴定方法	65
SN/T 1135.8—2009	马铃薯坏疽病菌检疫鉴定方法	73
SN/T 1145—2002	植物检疫 苜蓿黄萎病菌检疫鉴定方法	79
SN/T 1155—2002	植物检疫 玉米霜霉病菌检疫鉴定方法	87
SN/T 1271—2003	栎枯萎病菌检疫鉴定方法	99
SN/T 1272—2003	榆枯萎病菌检疫鉴定方法	111
SN/T 1356—2004	棉花根腐病菌检疫鉴定方法	124
SN/T 1400—2004	甘蔗流胶病菌检疫鉴定方法	135
SN/T 1812—2006	禾草腥黑粉菌、剪股颖腥黑粉菌、黑麦草腥黑粉菌检疫鉴定方法	143
SN/T 1820—2006	隐地疫霉菌检疫鉴定方法	151
SN/T 1822—2006	香蕉黑条叶斑病菌检疫鉴定方法	161
SN/T 1871—2007	美澳型核果褐腐病菌检疫鉴定方法	167
SN/T 1899—2007	大豆茎溃疡病菌检疫鉴定方法	175
SN/T 1900—2007	玉米晚枯病菌检疫鉴定方法	183
SN/T 2035—2007	甜菜霜霉病菌检疫鉴定方法	189
SN/T 2080—2008	栎树猝死病菌检疫鉴定方法	197
SN/T 2126—2008	黑麦草腥黑穗病菌检疫鉴定方法	209
SN/T 2341—2009	松疱锈病菌检疫鉴定方法	219
SN/T 2345—2009	松树脂溃疡病菌检疫鉴定方法	229
SN/T 2464—2010	洋葱条黑粉病菌检疫鉴定方法	241
SN/T 2473—2010	芦笋枯萎病菌检疫鉴定方法	247
SN/T 2474—2010	大豆疫霉病菌实时荧光 PCR 检测方法	255
SN/T 2589—2010	植物病原真菌检测规范	261
SN/T 2602—2010	根癌土壤杆菌的检测鉴定方法	275
SN/T 2605—2010	油棕猝倒病菌检疫鉴定方法	285
SN/T 2614—2010	葡萄苦腐病菌检疫鉴定方法	297
SN/T 2615—2010	苹果边腐病菌检疫鉴定方法	305

SN/T 2617—2010	冬生疫霉病菌检疫鉴定方法	313
SN/T 2618—2010	桉树溃疡病菌检疫鉴定方法	325
SN/T 2622—2010	柑桔溃疡病菌检疫鉴定方法	333

## 二、细菌检测鉴定类

SN/T 1375—2004	玉米细菌性枯萎病菌检疫鉴定方法	347
SN/T 1390—2004	香蕉细菌性枯萎病菌检疫鉴定方法	357
SN/T 1465—2004	西瓜细菌性果斑病菌检疫鉴定方法	363
SN/T 1579—2005	椰子致死黄化植原体检测方法	373
SN/T 1586.1—2005	菜豆细菌性萎蔫病菌检测方法	383
SN/T 1586.2—2008	菜豆晕疫病菌检疫鉴定方法	391
SN/T 1813—2006	蝴蝶兰细菌性软腐病菌检疫鉴定方法	399
SN/T 2372—2009	水稻白叶枯病菌、水稻细菌性条斑病菌的检测方法	409
SN/T 2398—2010	苹果丛生植原体检疫鉴定方法	421
SN/T 2482—2010	马铃薯丛枝植原体检疫鉴定方法	431
SN/T 2568—2010	番茄细菌性溃疡病菌检疫鉴定方法	439
SN/T 2596—2010	番茄细菌性叶斑病菌检疫鉴定方法	451
SN/T 2601—2010	植物病原细菌常规检测规范	461

## 三、病毒检测鉴定类

SN/T 1135.2—2003	马铃薯黄化矮缩病毒检疫鉴定方法	475
SN/T 1135.3—2003	马铃薯帚顶病毒检疫鉴定方法	492
SN/T 1135.7—2009	马铃薯 A 病毒检疫鉴定方法	507
SN/T 1139—2002	蚕豆染色病毒血清学检测方法	517
SN/T 1146—2010	烟草环斑病毒检疫鉴定方法	523
SN/T 1146.2—2009	烟草环斑病毒分子生物学检测方法	531
SN/T 1150—2002	植物检疫 南芥菜花叶病毒检疫鉴定方法	543
SN/T 1580—2005	椰子死亡类病毒检测方法	553
SN/T 1611—2005	南方菜豆花叶病毒血清学检测方法	561
SN/T 1612—2005	香石竹环斑病毒血清学检测方法	567
SN/T 1616—2005	非洲木薯花叶病毒检测方法	573
SN/T 1617—2005	可可肿枝病毒检测方法	581
SN/T 1618—2005	李属坏死环斑病毒检测方法	591
SN/T 1666—2005	水稻条纹病毒、水稻矮缩病毒、水稻黑条矮缩病毒的检测方法 普通 RT-PCR 方法和实时荧光 RT-PCR 方法	601
SN/T 1840—2006	植物病毒免疫电镜检测方法	609
SN/T 2014—2007	番茄黑环病毒检疫鉴定方法	615
SN/T 2055—2008	豇豆重花叶病毒检疫鉴定方法	627
SN/T 2125—2008	李痘病毒检疫鉴定方法	635
SN/T 2155—2008	建兰花叶病毒检测方法	643
SN/T 2342—2009	苹果茎沟病毒检疫鉴定方法	653
SN/T 2343—2009	菜豆荚斑驳病毒检疫鉴定方法	665
SN/T 2344—2009	黄瓜绿斑驳花叶病毒检疫鉴定方法	677

SN/T 2368—2009	番茄斑萎病毒检疫鉴定方法	687
SN/T 2462—2010	棉花曲叶病毒检疫鉴定方法	699
SN/T 2627—2010	马铃薯卷叶病毒检疫鉴定方法	707
SN/T 2635—2010	水稻瘤矮病毒的检疫鉴定方法	717

#### 四、检疫处理类

GB/T 20476—2006	松材线虫病发生区 松木包装材料 处理和管理	727
GB/T 21659—2008	植物检疫措施准则 辐照处理	741
GB/T 23477—2009	松材线虫病疫木处理技术规范	753
SN/T 1123—2010	帐幕熏蒸处理操作规程	767
SN/T 1124—2002	集装箱熏蒸规程	775
SN/T 1143—2002	植物检疫 简易熏蒸库熏蒸操作规程	783
SN/T 1275—2003	人出境船舶除虫规程	789
SN/T 1425—2004	二硫化碳熏蒸香梨中苹果蠹蛾的操作规程	795
SN/T 1456—2004	磷化铝随航熏蒸操作规程	801
SN/T 1484—2004	进境原木火车熏蒸操作规程	809
SN/T 1583—2005	输日稻草热处理操作规程	817
SN/T 1587—2005	林木蛀干害虫真空熏蒸处理规程	823
SN/T 1592—2005	输韩饲草福尔马林熏蒸处理操作规程	831
SN/T 2010—2007	植原体脱除方法	837
SN/T 2015—2007	出境林木种子有害生物检疫除害处理方法	849
SN/T 2016—2007	TCK 疫麦环氧乙烷熏蒸处理方法	857
SN/T 2020—2007	进出境栽培介质检疫和除害处理规程	865
SN/T 2370—2009	木制品家具检疫除害处理方法	875
SN/T 2371—2009	木质包装热处理操作规程	885
SN/T 2475—2010	植物类病毒脱除处理规程	897
SN/T 2485—2010	植物病毒脱除处理规程	903
SN/T 2526—2010	鲜切花溴甲烷库房熏蒸除害处理规程	911
SN/T 2556—2010	出口荔枝蒸热处理检疫操作规程	921
SN/T 2587—2010	刺桐姬小蜂检疫处理技术标准	931
SN/T 2590—2010	按实蝇属除害处理技术指标	937



## 一、真菌检测鉴定类

---







## 前 言

小麦矮化腥黑穗病菌(*Tilletia controversa* Kühn)是我国进境植物检疫危险性病害。为了防止该植物病原菌随小麦、大麦、黑麦和其他寄主植物种子传入我国,在进境植物检疫时,需正确掌握小麦矮化腥黑穗病菌的检疫和鉴定方法。

本标准在制定过程中,总结了多年植物检疫的实践经验,吸收了国际和国内的最新研究成果,根据小麦矮化腥黑穗病菌的形态学特征、自发荧光显微学特征和萌发生理学特征,确定了检疫和鉴定小麦矮化腥黑穗病菌的各项技术要求。

本标准的附录 A 是标准的附录。

本标准由农业部提出。

本标准负责起草单位:中华人民共和国大连出入境检验检疫局。

本标准参加起草单位:中华人民共和国国家出入境检验检疫局、中华人民共和国上海出入境检验检疫局。

本标准起草人:彭金火、章正、周国梁、毛志农、黄冠胜。



# 中华人民共和国国家标准

## 植物检疫

### 小麦矮化腥黑穗病菌检疫鉴定方法

GB/T 18085—2000

Plant quarantine—Methods for inspection and identification  
of *Tilletia controversa* Kühn

#### 1 范围

本标准规定了进境植物检疫中小麦矮化腥黑穗病菌的检疫和鉴定方法。  
本标准适用于进口小麦、大麦和黑麦中小麦矮化腥黑穗病菌的检疫和鉴定。

#### 2 定义

本标准采用下列定义。

##### 2.1 样品 sample

##### 2.1.1 原始样品 original sample

在现场各点扦取的样品。每份原始样品的质量应不少于 50 g。

##### 2.1.2 复合样品 composite sample

未经充分混匀的原始样品的总和。每份复合样品的质量应不少于 1 500 g。

##### 2.1.3 平均样品 average sample

复合样品经充分混合均匀后的样品。

##### 2.1.4 试验样品 test sample

从平均样品中称取的、用于洗涤离心的样品。每份试验样品的质量为 50 g。

##### 2.1.5 保存样品 keep sample

取走试验样品后用来保存以备复检和仲裁的剩余平均样品。保存样品的质量应不少于 1 000 g。

##### 2.2 网脊高度值 reticulum height

冬孢子外胞壁的垂直高度值,在光学显微镜下表现为冬孢子外胞壁的刺状或齿状突起的垂直高度值。

##### 2.3 临界网脊高度指数值 threshold of reticulum height

用来确定单个冬孢子属性的网脊高度值,其数值为 0.95  $\mu\text{m}$ 。

#### 3 原理

小麦矮化腥黑穗病菌是危害麦类作物的一种担子菌,属担子菌亚门(Basidiomycotina),冬孢菌纲(Teliomycetes),黑粉菌目(Ustilaginales),腥黑粉菌科(Tilletiaceae),腥黑粉菌属(*Tilletia*)。病原菌在麦类作物苗期形成系统侵染。被侵染作物结实时,籽粒被病菌的繁殖体——冬孢子侵占,成为菌癭。该病原菌的冬孢子形态学特征、自发荧光显微学特征和萌发生理学特征与其他腥黑粉病菌不同,是鉴定该病原菌的依据。

##### 3.1 冬孢子形态特征

国家质量技术监督局 2000-04-26 批准

2000-10-01 实施

### 3.1.1 冬孢子

小麦矮化腥黑穗病菌的冬孢子球形、椭圆形或不规则形,具网状饰纹和无色到淡色的胶质鞘,直径(含胶质鞘)为  $16.80\ \mu\text{m}\sim 32.19\ \mu\text{m}$ ,通常为  $18\ \mu\text{m}\sim 24\ \mu\text{m}$ ;冬孢子萌发适宜温度为  $2\text{C}\sim 8\text{C}$ ,萌发时形成先菌丝(担子),在其顶端产生初生小孢子(担孢子),初生小孢子经“H”形交配后产生新月形次生小孢子。

### 3.1.2 网脊高度值

该特征是小麦矮化腥黑穗病菌和其近似种——小麦网腥黑穗病菌(*Tilletia caries* Tul.)冬孢子最重要的区别特征,前者的网脊高度值(平均值±标准差)为  $1.43\ \mu\text{m}\pm 0.14\ \mu\text{m}$ ,后者为  $0.53\ \mu\text{m}\pm 0.19\ \mu\text{m}$ 。

### 3.1.3 临界网脊高度指数值

当某个冬孢子的网脊高度值大于  $0.95\ \mu\text{m}$ 时,视为小麦矮化腥黑穗病菌冬孢子,小于或等于  $0.95\ \mu\text{m}$ 时,视为小麦网腥黑穗病菌冬孢子。

### 3.2 冬孢子自发荧光显微学特征

在激发滤光片  $485\ \text{nm}$ 、屏障滤光片  $520\ \text{nm}$  的激发下,小麦矮化腥黑穗病菌冬孢子在  $3\ \text{min}$  内可产生自发荧光,其近似种小麦网腥黑穗病菌则不具备该能力。

### 3.3 冬孢子萌发

小麦矮化腥黑穗病菌冬孢子在  $5\text{C}$  萌发、 $17\text{C}$  不能萌发,而小麦网腥黑穗病菌冬孢子在  $5\text{C}$  和  $17\text{C}$  均可萌发。

## 4 仪器设备

- 4.1 万能显微镜:具落射汞灯装置、摄像转换器及监视器。
- 4.2 滤光片组: $450\sim 490\ \text{nm}$  激发, $520\ \text{nm}$  屏障。
- 4.3 目镜和镜台测微尺。
- 4.4 往复式震荡器。
- 4.5 低速离心机。
- 4.6 干热灭菌器。
- 4.7 高压灭菌器。
- 4.8 普通天平:感量  $1/100$ 。
- 4.9 超净工作台。
- 4.10 生物培养箱:具光照,低温可调至  $5\text{C}$ 。
- 4.11 可调微量加样器: $5\ \mu\text{L}\sim 200\ \mu\text{L}$ 。
- 4.12 三角烧瓶: $250\ \text{mL}$ 。
- 4.13 刻度离心管: $10\ \text{mL}$  或  $20\ \text{mL}$ 。
- 4.14 培养皿:直径  $9\ \text{cm}$ 。
- 4.15 载玻片:长×宽为  $25.4\ \text{mm}\times 76.2\ \text{mm}$ ,厚  $0.8\ \text{mm}$ 。
- 4.16 盖玻片: $18\ \text{mm}\times 18\ \text{mm}$ 。
- 4.17 孔筛:长孔筛直径  $20\ \text{cm}$ ,孔径  $1.7\ \text{mm}\times 20\ \text{mm}$ ;圆孔筛直径  $20\ \text{cm}$ ,孔径  $2.5\ \text{mm}$ 。
- 4.18 Parafilm 膜或铝铂纸。

## 5 药品

除非另作说明,以下药品的纯度均为化学纯。

- 5.1 次氯酸钠溶液或漂白粉精片。
- 5.2 吐温-20(Tween-20)。

5.3 席尔氏浮载剂,也可由下述药品配制(见附录 A)。

5.3.1 乙酸钾( $\text{CH}_3\text{COOK}$ )。

5.3.2 甘油 $[\text{CH}_2(\text{OH})\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2(\text{OH})]$ 。

5.3.3 乙醇( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ )。

5.3.4 柠檬酸( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ )。

5.3.5 甲醇( $\text{CH}_3\text{OH}$ )。

5.3.6 磷酸氢二钠( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )。

5.4 青霉素、链霉素(医用注射粉剂)。

5.5 琼脂粉。

5.6 无荧光显微镜物镜镜头油( $\text{Nd}=1.516$ )。

5.7 永久封片剂。

## 6 现场检疫

### 6.1 船运散装货物的原始样品的扦取和复合样品的制备

船运散装小麦、大麦、黑麦和其他小麦矮化腥黑穗病菌的寄主植物籽粒分舱别、分层次、分品种、分等级按棋盘式选 30 点~50 点扦取原始样品并制成复合样品。必要时,取样点可增至 90 个,复合样品的质量可增至 4 500 g。使用一次性塑料袋盛放样品。

以其他方式进口的小麦、大麦、黑麦和其他小麦矮化腥黑穗病菌的寄主植物籽粒(含种质资源)以车、车皮或其包装为单位,扦取 1 份复合样品。其余按照本标准执行。

#### 6.1.1 第一次取样

卸货前在表层进行。

#### 6.1.2 卸货期间取样

每 1 000 t 货物扦取、制备一份复合样品。

#### 6.1.3 样品登记

扦取的样品必须登记。登记项目包括船名、发货港、原产地、品种及等级、舱别和层次、扦样时间、样品编号、扦样员姓名等。

## 6.2 菌瘿检查

在虫害和杂草检验时同时进行。

### 6.2.1 获取筛下物

在扦取原始样品的同时,每点至少另取 2 000 g 样品至孔筛进行筛检。每筛旋转(10~20)次,弃筛上物,留筛下物。

### 6.2.2 挑取菌瘿

仔细检查筛下物中有无可疑菌瘿碎块。如有,编号装管,带回实验室制片镜检。必要时,将筛下物携回实验室作进一步检查。

## 7 实验室检验

### 7.1 制备平均样品

在样品预处理室内将按 6.1 条获取的各个复合样品在原扦样袋中分别充分混匀,制成平均样品。

### 7.2 样品检验

#### 7.2.1 称样

从按 7.1 条制成的各平均样品中称取 50 g 作为试验样品。

#### 7.2.2 洗涤和离心。

##### 7.2.2.1 加水

将试验样品倒入经干热灭菌(165℃, 1.5 h)后的 250 mL 三角烧瓶内,加蒸馏水 100 mL,再加表面活性剂吐温-20 1~2 滴。

#### 7.2.2.2 封口

用铝铂纸或 Parafilm 膜将三角烧瓶封口。

#### 7.2.2.3 震荡洗涤

将三角烧瓶放在往复式震荡器上震荡洗涤 5 min。

#### 7.2.2.4 离心

立即取下三角烧瓶,将洗涤悬浮液注入经干热灭菌的 10 mL~20 mL 刻度离心管内,1 000 r/min 离心 3 min。

#### 7.2.2.5 混合离心

取出离心管,倾去上清液,再加剩余洗涤悬浮液,混合离心,直至所有洗涤悬浮液离心完毕,留沉淀物。

#### 7.2.3 定溶

在沉淀物中加入席尔氏浮载剂使之悬浮,视沉淀物多少定溶至 1 mL~3 mL。

#### 7.2.4 制片

用可调微量加样器吸取 5  $\mu$ L~20  $\mu$ L 沉淀物悬浮液至载玻片上,加盖玻片。制片用沉淀物悬浮液的体积以加盖玻片后悬浮液不外溢为宜。

#### 7.2.5 镜检

每份试验样品的沉淀物悬浮液至少镜检 5 张玻片,每片按视野依次全部检查。

#### 7.2.6 测量

如发现可疑小麦矮化腥黑穗病菌冬孢子,随机测量 30 个成熟冬孢子的网脊高度值。测量应在油镜(100 $\times$ )下进行(见 8.1 条)。如测量 5 张玻片后仍不足 30 个冬孢子,增加玻片检查数量,直至所有沉淀物悬浮液用毕。

#### 7.3 菌瘿检查

如发现腥黑粉菌菌瘿,刮取少许冬孢子粉加适量席尔氏液镜检,作初步鉴定。如怀疑是小麦矮化腥黑穗病菌,按 7.2.6 条对冬孢子进行测量。鉴定方法见第 8 章,结果评定见 9.3 条。

### 8 鉴定方法

#### 8.1 冬孢子形态学鉴定方法(见 3.1 条和 7.2.6 条)

通过油镜在监视器屏幕上(或用目镜测微尺)对每个冬孢子按上下左右随机地测量 4 个网脊高度,并求出平均网脊高度值,用该平均网脊高度值代表该冬孢子的网脊高度值进行鉴定。

如发现菌瘿,还需求出随机测量的 30 个成熟冬孢子的平均网脊高度值。

#### 8.2 冬孢子自发荧光显微学鉴定方法(见 3.2)

发现菌瘿时使用本方法。

##### 8.2.1 制片

从菌瘿上刮取少许冬孢子粉至洁净的载玻片上,加适量蒸馏水制成冬孢子悬浮液(浓度以 10 $\times$ 100 倍下每视野不超过 40 个冬孢子为宜),置于防尘处任其自然干燥。然后在干燥并附着于载玻片的冬孢子上加一滴无荧光显微镜物镜头油,加盖玻片,再加上上述镜头油。

##### 8.2.2 选择滤光片组

将制好的玻片置于激发滤光片 485 nm,屏障滤光片 520 nm 的落射荧光万能显微镜上。

##### 8.2.3 计时和计数

确定观察视野,同时开始计时。每视野照射 2.5 min 后开始检查视野中呈自发荧光正反应和负反应的冬孢子数。全过程不得超过 3 min。

#### 8.2.4 计算自发荧光百分率

每份菌瘿样品至少观察 5 个视野、200 个冬孢子,然后计算呈自发荧光正反应冬孢子的百分率,以该百分率代表该菌瘿的自发荧光率进行鉴定。

#### 8.3 冬孢子萌发生理学鉴定方法

当发现菌瘿,但形态学和自发荧光显微学均不能正确鉴定时,可根据这两种腥黑穗病菌冬孢子在 5℃、17℃ 温度下不同的萌发特性作鉴定。

##### 8.3.1 制平板

3%的水琼脂经常规高压湿热灭菌后冷却至 50℃ 左右,倒入直径 9 cm 的培养皿内,每皿 20 mL。制平板时需防止形成表面流动水。

##### 8.3.2 涂平板

取部分菌瘿加适量灭菌蒸馏水制成冬孢子悬浮液,均匀地涂在水琼脂平板上。冬孢子悬浮液的浓度以低倍(10×10)下每视野 40 个~60 个冬孢子为宜。

##### 8.3.3 培养

将涂有冬孢子的平板置于 5℃±1℃ 和 17℃±1℃、有连续(或与 12 h 黑暗交替)光照的条件下进行培养。

##### 8.3.4 观察和观察时间

在显微镜(10×10)下观察冬孢子的萌发。第 1 次观察可在培养 10 天时进行,以后每隔 3 天~7 天观察一次,记录萌发情况并计算萌发率。

### 9 结果评定

#### 9.1 未发现菌瘿

9.1.1 未发现网脊高度值大于临界网脊高度指数值(0.95 μm)的冬孢子,视为不带小麦矮化腥黑穗病菌。

9.1.2 在该货物的任一试验样品的沉淀物悬浮液中,随机测量的 30 个成熟冬孢子中有网脊高度值大于临界网脊高度指数值的可疑小麦矮化腥黑穗病菌冬孢子时,应进一步检查。

#### 9.2 发现菌瘿

9.2.1 菌瘿的 30 个成熟冬孢子的网脊高度平均值大于或等于 1.43 μm 时,菌瘿定为小麦矮化腥黑穗病菌。

9.2.2 菌瘿的 30 个成熟冬孢子的平均网脊高度值小于或等于 0.70 μm 时,菌瘿不是小麦矮化腥黑穗病菌。

9.2.3 菌瘿的 30 个成熟冬孢子的网脊高度平均值为 0.71 μm~1.42 μm:

9.2.3.1 菌瘿冬孢子自发荧光率大于或等于 80% 时,菌瘿定为小麦矮化腥黑穗病菌。

9.2.3.2 菌瘿冬孢子自发荧光率小于或等于 30% 时,菌瘿不是小麦矮化腥黑穗病菌。

9.2.3.3 菌瘿冬孢子自发荧光率为 31%~79%:

9.2.3.3.1 5℃ 下萌发,17℃ 下不萌发,菌瘿定为小麦矮化腥黑穗病菌。

9.2.3.3.2 5℃ 和 17℃ 下均可萌发,菌瘿不是小麦矮化腥黑穗病菌。

### 10 样品的保存

保存样品应按舱别、层次、品种、等级分别存放。保存样品经登记和经手人签字后置低温干燥、防虫防鼠处妥善保存 2 个月。如发现小麦矮化腥黑穗病菌,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,需经灭菌处理。

附 录 A

(标准的附录)

席尔氏浮载剂的配制方法

A1 麦克凡氏缓冲液

A1.1 配制 0.1 mol/L 的柠檬酸溶液

称取 19.21 g 无水柠檬酸溶于 500 mL 蒸馏水中,加甲醇至 1 000 mL。甲醇可用蒸馏水代替。

A1.2 配制 0.2 mol/L 的磷酸氢二钠溶液

称取 28.40 g 无水磷酸氢二钠溶于 500 mL 蒸馏水中,加甲醇至 1 000 mL。甲醇可用蒸馏水代替。

A1.3 混合

取 0.1 mol/L 的柠檬酸溶液 5.5 mL 和 0.2 mol/L 的磷酸氢二钠溶液 194.5 mL 混合,即可得 pH 为 8 的麦克凡氏缓冲液。

A2 席尔氏浮载剂的配制

称取 6 g 无水乙酸钾溶于 300 mL 麦克凡氏缓冲液中,加甘油 120 mL 和乙醇 180 mL 混匀,即成席尔氏浮载剂。

---



## 前 言

烟霜霉病是我国进境植物检疫危险性病害,为了防止该病菌随寄主传入我国,在进境检疫时,需正确掌握烟霜霉病菌的检疫鉴定方法。

本标准在制定过程中,经过调查研究,分析有关资料和总结多年的实践经验,以及根据烟霜霉病菌的生物学特性、病理学原理,确定各项技术指标。

本标准给出烟霜霉病病原菌的孢囊梗和孢囊及卵孢子的形态特征,两者可同时或单独作为烟霜霉病菌的鉴定依据。

本标准的附录 A 是提示的附录,附录中的“冰冻匀浆法”是检验烟霜霉病菌卵孢子的一种较先进的方法,但目前在国内尚未普及,故在检验烟霜霉病菌时,若条件允许,也可采用此法检验该病原产生的卵孢子。

本标准由农业部提出。

本标准负责起草单位:中华人民共和国广东出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:李怡珍、章正、钟国强、张传飞。