

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 4510—2025

月季霜霉病抗性鉴定技术规程

Technical code of practice for identification of resistance to rose downy mildew
(*Peronospora sparsa* Berk.)

2025-01-09 发布

中华人民共和国农业农村部 发布



前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由农业农村部种植业管理司提出并归口。

本文件起草单位：云南省农业科学院花卉研究所、国家观赏园艺工程技术研究中心、农业农村部花卉产品质量监督检验测试中心（昆明）、云南省花卉工程技术研究中心、云南省花卉育种重点实验室、全国农业技术推广服务中心、云南大学、中国农业大学。

本文件主要起草人：王丽花、杨秀梅、瞿素萍、王继华、刘哲、张艺萍、张钊、许凤、王其刚、吴学尉、张丽芳、苏艳、蒋亚莲、单芹丽。



月季霜霉病抗性鉴定技术规程

1 范围

本文件规定了月季(*Rosa* spp.)种质对霜霉病(病原菌 *Peronospora sparsa* Berk.)抗性鉴定的技术方法和程序,包括设施设备及耗材、病原物接种体制备、鉴定方法、病情调查、抗性评价和鉴定完成后材料的处理。

本文件适用于室内人工接种鉴定和评价月季种质对霜霉病的抗性。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;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。

NY/T 3114.3—2017 大豆抗病虫害性鉴定技术规范 第3部分:大豆抗霜霉病鉴定技术规范

3 术语和定义

NY/T 3114.3—2017界定的以及下列术语和定义适用于本文件。为了便于使用,以下重复列出了NY/T 3114.3—2017中界定的术语和定义。

3.1

月季霜霉病 *rose downy mildew*

月季霜霉病是一种卵菌病害,其病原物为蔷薇霜霉菌(*Peronospora sparsa* Berk.),属藻界卵菌门卵菌纲霜霉目霜霉科霜霉属专性寄生菌。主要危害叶片、嫩梢、花梗及花,病斑黄褐色或灰褐色,空气潮湿时在叶背病斑处可见灰白色霜状霉层,病斑呈多角形渐变为灼烧状,初期直径2 mm~6 mm,严重时整株叶片脱落,新梢枯死。

3.2

抗病性鉴定 *identification of disease resistance*

通过适宜技术方法鉴定植株对特定病害的抵抗能力。

[来源:NY/T 3114.3—2017,2.3]

3.3

抗性评价 *evaluation of resistance*

根据采用的技术标准判别植物对特定病害侵染后的发病程度和抵抗水平。

[来源:NY/T 3114.3—2017,2.4,有修改]

3.4

病情指数 *disease index*

衡量植株发病率和严重度的综合指标。通过对植株个体发病程度(病情级别)数值的综合计算所获得的群体发病程度的数值化描述形式,记作 *DI*。

3.5

病原物接种体 *pathogenic inoculum*

用于接种以引起特定病害的病原物或病原物的繁殖体。

3.6

孢子悬浮液 *inoculum suspension*

特定病原菌用无菌水洗脱后用于接种的定量接种体稀释液。

[来源:NY/T 3114.3—2017,2.9,有修改]

4 设施设备及耗材

4.1 设施设备

隔离温室、鉴定室、恒温培养箱、冰箱、灭菌锅、超净工作台、显微镜、移液器、血球计数板等。

4.2 耗材

接种盘、培养皿、锥形瓶、纱布、酒精灯、穴盘、保鲜膜、滤纸等。

5 病原物接种体制备

5.1 病原物采集和鉴定

田间采集具有典型病症的月季霜霉病叶片,放入封口袋密封并登记编号带回实验室。挑取叶背面霉层制作分离物显微观察玻片,在生物显微镜下开展病原菌形态学鉴定,确认为月季霜霉病病原物后,经科赫氏法则(Koch's postulates)验证保存备用。月季霜霉病病原菌相关资料见附录 A。

5.2 接种病原物纯化

鉴定为携带月季霜霉病菌的叶片用灭菌蒸馏水冲洗,应着重冲洗叶片病斑处的老霉层,然后叶背朝上平铺于经灭菌水湿润过的滤纸上,黑暗保湿培养,培养条件为温度 $(18\pm 2)^{\circ}\text{C}$,空气相对湿度100%。3 d~5 d后置于1 800 lx~3 200 lx的光照条件下,待病斑长出大量灰白色霉层时,用灭菌毛笔蘸无菌水,将病斑上新形成的霉层(孢子囊)刷于无菌培养皿中,获得纯化的病原物接种体分离物。

5.3 病原物繁殖

在分离物少的情况下,应进行病原物接种体的繁殖。选择感病品种中度成熟叶片,自来水冲洗后无菌水冲洗1次~2次,75%酒精表面消毒20 s~30 s。将叶片背面朝上置于灭菌瓷盘或塑料盘中,盘底部附有浸透无菌水的滤纸,并用无菌细针对每片叶集中针刺2次~3次,造成细小伤口。用无菌移液器吸取接种液,滴于针刺部位1滴~2滴,每滴15 μL ~20 μL ,用保鲜膜封严繁殖接种盘,置于温度为 $(18\pm 2)^{\circ}\text{C}$,空气相对湿度为85%~90%的培养室,5 d~7 d可获得布满月季霜霉病孢子囊的大量病叶。孢子囊收集同5.2。

5.4 病原物保存

可活体保存或病叶冷冻保存。中短期菌种保存时宜采用活体保存,即在适宜环境条件下,定期将月季霜霉菌人工接种于感病寄主上保存。长期菌种保存时宜采用病叶冷冻保存,即将病叶放入有10%甘油的冻存管储藏于液氮中,并定期更换或补充液氮。

6 鉴定方法

6.1 鉴定室

人工接种鉴定室应具备人工调节温度、湿度及光照条件,使人工接种后具备良好的发病环境。温度可调范围为 1°C ~ 35°C ,湿度可调范围为60%~100%,光照可调范围为2 000 lx~6 000 lx或黑暗。

6.2 鉴定材料的数量

每份鉴定材料重复3次,每一次重复10株苗或20片生长状态较一致的叶片。

6.3 鉴定对照材料要求

应分别设1个~2个高抗月季种质为抗病对照,1个~2个高感月季种质为感病对照,同时设置空白对照。推荐性抗、感月季种质材料见附录 B。

6.4 鉴定材料准备

6.4.1 驯化组育苗

对照品种、待鉴定品种取茎段为外植体,经组培技术手段获得生根苗,移栽至隔离温室中专门划定的区域进行炼苗驯化。驯化基质为经消毒的泥炭(规格0 mm~10 mm)、蛭石(规格1 mm~6 mm)、珍珠岩(规格3 mm~6 mm)、细河沙等组成的混合基质,推荐配方泥炭:蛭石:珍珠岩按4:3:3配比,或河

沙：泥炭：珍珠岩=1：1：1(体积比),调整为 pH 5.5~6.5,EC<0.3 mS/cm⁻¹。移栽后 5 d~7 d 为缓苗期,空气相对湿度控制为 85%~95%,缓苗期后湿度控制为 70%~80%;温度白天控制在 23℃~26℃,夜间控制在 15℃~18℃;光照 2 000 lx~6 000 lx。炼苗 80 d~90 d 后选择苗高≥20 cm,接枝茎节数≥5 个,具有 4 片以上展开五小叶复叶,生长健壮、一致的种苗备用。

6.4.2 扦插苗

选用无病虫害、生长健壮、苗龄一致、无混杂的市售或自培扦插种苗,每株种苗苗高≥25 cm,接枝茎节数≥5 个,具有 4 片以上展开五小叶复叶。

6.4.3 离体叶片

选择植株中上部生长状态较一致的健康展开叶,用自来水冲洗后,75%酒精表面消毒叶片 20 s~30 s,再用无菌水冲洗干净后置于无菌滤纸,背面朝上,晾干待用。

6.5 接种

6.5.1 接种时期

达到 6.4 接种材料要求后即可进行接种,接种时间宜在傍晚进行。

6.5.2 接种浓度

接种体悬浮液的游动孢子数为(1~1.5)×10⁴ 个/mL,4℃~6℃放置 2 h,现用现配,悬浮液载体为无菌水。

6.5.3 接种方法

6.5.3.1 喷雾接种法

月季组培苗或扦插苗植株采用喷雾接种法。将制成的接种体悬浮液用喷雾器喷雾接种于鉴定材料植株叶片的正面和背面,重点喷叶片背面,接种量控制为喷施至叶尖有水滴溢出为宜。接种后套袋保湿,3 d~6 d 后揭去袋子。

6.5.3.2 液滴接种法

叶片采用液滴接种法。将 6.4.3 准备好的叶片背面朝上置于灭菌瓷盘或塑料盘中,盘底部附有浸透无菌水的滤纸,用无菌移液器吸取接种体悬浮液,每片叶滴 1 滴~2 滴,每滴 15 μL~20 μL,接种完成后接种盘用保鲜膜封严。

6.5.3.3 空白对照采用无菌水代替游动孢子悬浮液进行接种。

6.5.4 接种后管理

6.5.4.1 接种植株置于隔离鉴定温室内,温度保持为 14℃~20℃,空气相对湿度≥80%,每天植株套袋表面喷雾无菌水 1 次保湿,正常水肥管理。

6.5.4.2 离体叶片接种盘置于光照培养箱或鉴定培养室内,黑暗 24 h 后每天光照 14 h,空气相对湿度≥80%,温度 14℃~20℃。

7 病情调查

7.1 调查时间

月季组培苗或扦插苗植株接种 4 d~6 d 后调查病情,叶片接种 3 d~4 d 后调查病情。根据接种后感病对照品种病情发展到病情级别的时间,可将调查病情的时间作适当调整。

7.2 病情级别划分

幼苗病情级别及相应症状描述见表 1,叶片病情级别及相应症状描述见表 2。

表 1 月季幼苗霜霉病病情级别划分

病情级别	症状描述
0	整株叶片无症状
1	病叶占全株展开叶 1%~10%,霜霉病症不明显
3	病叶占全株展开叶 11%~25%,霜霉病症较明显

表 1 (续)

病情级别	症状描述
5	病叶占全株展开叶 26%~50%，霜霉病症明显
7	病叶占全株展开叶 51%~75%，病叶部分枯萎、脱落
9	病叶占全株展开叶 75%以上，叶片大部分发黄枯萎、脱落

表 2 月季叶片霜霉病病情级别划分

病情级别	症状描述
0	无症状
1	病斑面积占单片叶面积 1%~10%，霜霉病症不明显
3	病斑面积占单片叶面积 11%~25%，霜霉病症较明显
5	病斑面积占单片叶面积 26%~40%，霜霉病症明显，病斑灰褐色
7	病斑面积占单片叶面积 41%~60%，病斑呈现焦枯状
9	病斑面积占单片叶面积 60%以上或病叶枯死，病斑呈现灼烧状

7.3 调查方法

按 7.2 病情级别划分调查、记录每份鉴定材料发病情况，根据病害症状描述，逐份材料记载单株/单片叶片病情级别。

7.4 病情指数统计方法

计算每份鉴定材料的病情指数(DI)，计算结果取 3 次重复平均值，保留小数点后 2 位。

病情指数(DI)按公式(1)计算。

$$DI = \frac{\sum(F_i \times U_i)}{U \times S} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- DI —— 病情指数；
- F_i —— 第 i 级病情级别(i=0,1,3,5,7,9)；
- U_i —— 第 i 级病情级别对应植株数/叶片数；
- U —— 调查总植株数/叶片数；
- S —— 最高级病情级值。

8 抗性评价

8.1 鉴定有效性判别

8.1.1 当感病对照材料达到其相应感病程度(DI>20.00)，抗病对照材料与实际抗性程度相符，该批次抗性鉴定视为有效。

8.1.2 以对照品种发病程度明显异常时判定该批次鉴定无效。

8.2 抗病性评价

依据鉴定材料的病情指数(DI)平均值确定其抗性水平，划分标准见表 3。

表 3 月季对霜霉病抗性水平评价要求

病情指数(DI)	抗性评价(级别)
DI=0.00	免疫 Immune(I)
0<DI≤5.00	高抗 Highly resistant(HR)
5.00<DI≤10.00	抗病 Resistant(R)
10.00<DI≤20.00	中抗 Moderately resistant(MR)
20.00<DI≤40.00	中感 Moderately susceptible(MS)
>40.00	高感 Highly susceptible(HS)

8.3 重复鉴定

鉴定材料若初次表现为抗病、中抗的品种,应进行重复鉴定。当2次鉴定结果一致时鉴定完成,当2次鉴定结果不一致时,应进行第三次鉴定。批次间鉴定结果不一致时,以最高病情指数为准。

8.4 抗性判断

重复鉴定时,鉴定2次的以抗性水平最低的评价结果作为供试材料最终抗性评价结果;鉴定次数为2次以上的,以出现频率最多的抗性水平评价结果作为供试材料最终抗性评价结果。平均病情指数(DI) \leq 20.00的材料才能定为抗病材料。根据8.1与8.2,将不同病情级别的株数/叶片数、病情指数、3个重复的平均病情指数、抗性评价(抗感水平)等鉴定结果填入附录C。

9 鉴定完成后材料的处理

鉴定完毕后,集中所有病株、叶片材料作无害化处理,带有病菌的基质应彻底灭菌,宜采用蒸汽高温消毒处理,温度达到130℃以上并保持30 min。

附录 A

(资料性)

月季霜霉菌病原特征及传播途径

A.1 病原菌分类地位

月季霜霉菌(*Peronospora sparsa* Berk.)属藻界(Chromistan)卵菌门(Oomycota)卵菌纲(Oomycetes)霜霉目(Peronosporales)霜霉科(Peronosporaceae)霜霉属(*Peronospora*)。

A.2 病原特征及病害传播途径

月季霜霉病由蔷薇霜霉菌(图 A.1)侵染所致,孢子囊梗大小 $(267.3\sim 727.3)\mu\text{m}\times(9\sim 14)\mu\text{m}$,垂直生出,基部膨大,梗顶端有分枝4次~9次。孢子囊椭圆形至圆形,菌丝灰黄色,大小 $(12.9\sim 24.7)\mu\text{m}\times(11.6\sim 19.3)\mu\text{m}$ 。该病原菌以卵孢子或菌丝体在病组织内越冬并侵染植物。孢子囊萌发最适温度为 $10\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$,侵入和扩展最适温度为 $15\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 20\text{ }^{\circ}\text{C}$,雨露或雾滴条件下孢囊梗和孢子囊产生快,游动孢子迅速萌发。游动孢子萌发温度为 $1\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$,最适萌发温度为 $18\text{ }^{\circ}\text{C}$,高于 $21\text{ }^{\circ}\text{C}$ 萌发率降低, $26\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以上完全不萌发,保持 $26\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以上24 h孢子即死亡。在气温低、空气相对湿度较高、植株表面存有水滴的情况下,病害易发生和蔓延。温室通风不良、植株过密、湿度高和氮肥过多时,病害较严重。主要危害叶片、嫩梢、花梗及花,病斑黄褐色或灰褐色,似水浸状,边缘色较深,与健康组织无明显界限,空气潮湿时在叶背病斑处可见灰白色霜状霉层,病斑呈多角形渐变为灼烧状,初期直径 $2\text{ mm}\sim 6\text{ mm}$,严重时整株叶片脱落,新梢枯死。该病特征明显(图 A.2),发病速度、传播快,是温室月季设施生产中的一种毁灭性病害。

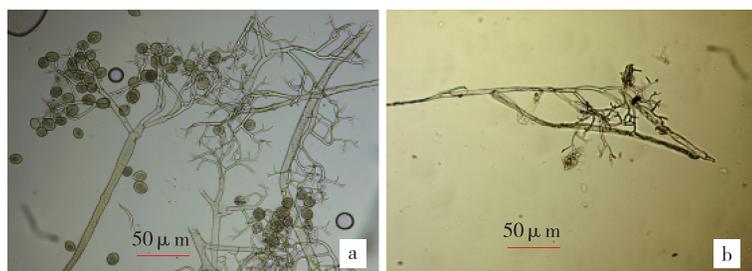


图 A.1 月季霜霉菌形态特征(a. 孢子囊;b. 孢囊梗)

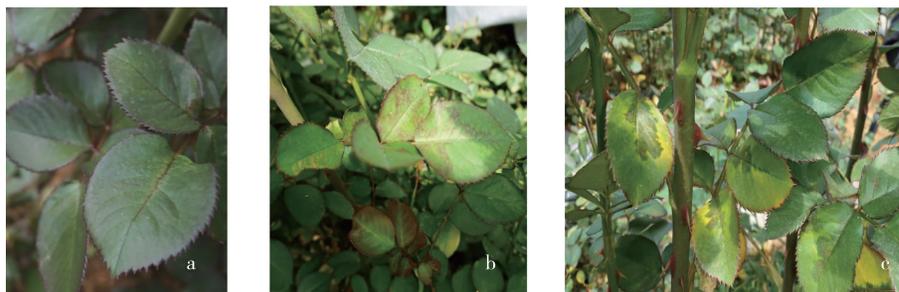


图 A.2 月季霜霉病症状(a. 发病初期;b. 发病中期;c. 发病晚期)

附录 B

(资料性)

推荐性抗、感月季霜霉病对照材料

推荐性抗、感月季霜霉病对照材料见表 B.1。

表 B.1 推荐性抗、感月季霜霉病对照材料

项目	抗病材料	感病材料
品种/种质名称	安吉拉、卡罗拉等	心相印、梦露、玛利亚、红唇等

附 录 C

(资料性)

月季霜霉病抗性鉴定结果原始记录表

C.1 月季种质材料对月季霜霉病抗性评价调查表(第 次重复)

见表 C.1。

表 C.1 月季种质材料对月季霜霉病抗性评价调查表(第 次重复)

品种(种质)名称	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
病情级别											
品种(种质)名称	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
病情级别											

C.2 鉴定结果原始记录

见表 C.2。

表 C.2 月季霜霉病抗性鉴定结果原始记录表

编号	品种/种质名称	来源	重复	病情级别(株/叶片)						病情指数	平均病情指数	抗性评价(级别)
				0级	1级	3级	5级	7级	9级			
			I									
			II									
			III									
定植日期				接种日期								
接种材料类型				接种病原菌分离物编号								
调查日期												

鉴定人(签字): _____

参 考 文 献

- [1] P. M. Kirk, P. F. Cannon, D. W. Minter, et al. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi[M]. 10th Edition. CABI Europe-UK, 2008, 748-753
-