

ICS 65.020.01
CCS B 15

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 4511—2025

香石竹枯萎病抗性鉴定技术规程

Technical code of practice for identification of carnation resistance
to fusarium wilt

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检验检测中心(昆明)、云南省花卉育种重点实验室、全国农业技术推广服务中心、云南省花卉标准化技术委员会、云南中医药大学。

本文件主要起草人：杨秀梅、瞿素萍、王丽花、王继华、代月星、张艺萍、苏艳、张丽芳、许凤、刘霞婷、周旭红。



香石竹枯萎病抗性鉴定技术规程

1 范围

本文件确立了香石竹枯萎病抗性鉴定程序,规定了鉴定前准备、接种体制备、抗性测定、抗性评价和鉴定后材料处理的操作指示以及转换条件,描述了相应的追溯方法。

本文件适用于香石竹(*Dianthus caryophyllus* L.)种质对枯萎病的抗性鉴定与评价。

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 1589 香石竹切花种苗等级规格

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

香石竹枯萎病 **carnation fusarium wilt**

由尖孢镰刀菌石竹专化型(*Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* Snyder & Hans.)侵染香石竹引起的流行性病害。

3.2

接种体 **inoculum**

用于人工接种,能侵染香石竹的尖孢镰刀菌石竹专化型分生孢子悬浮液。

4 鉴定程序

包括鉴定前准备、接种体制备、抗性测定、抗性评价和鉴定后材料处理 5 个阶段,见图 1 所示。

5 鉴定

5.1 鉴定前准备

5.1.1 仪器设备

超净工作台、高压灭菌锅、恒温培养箱、恒温摇床、生物显微镜、血球计数板等。

5.1.2 培养基制备

5.1.2.1 马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)

马铃薯去皮、洗净切片,称取 200 g 后加去离子水煮沸 15 min~20 min,两层纱布过滤。在滤液中加入葡萄糖 20 g、琼脂 20 g,加去离子水至 1 000 mL,于 121 °C 高压灭菌 20 min。

5.1.2.2 牛肉酵母膏液体培养基(PDBY)

马铃薯去皮、洗净切片,称取 200 g 后加去离子水煮沸 15 min~20 min,两层纱布过滤。在滤液中加入葡萄糖 20 g、牛肉浸膏 24 g、酵母浸膏 5 g,加去离子水至 1 000 mL,于 121 °C 高压灭菌 20 min。

5.2 接种体制备

5.2.1 病原物分离和纯化

5.2.1.1 病样采集

采集具有典型香石竹枯萎病症状(见附录 A 中的图 A.1)的病株样品,放入自封袋密封,编号后置于

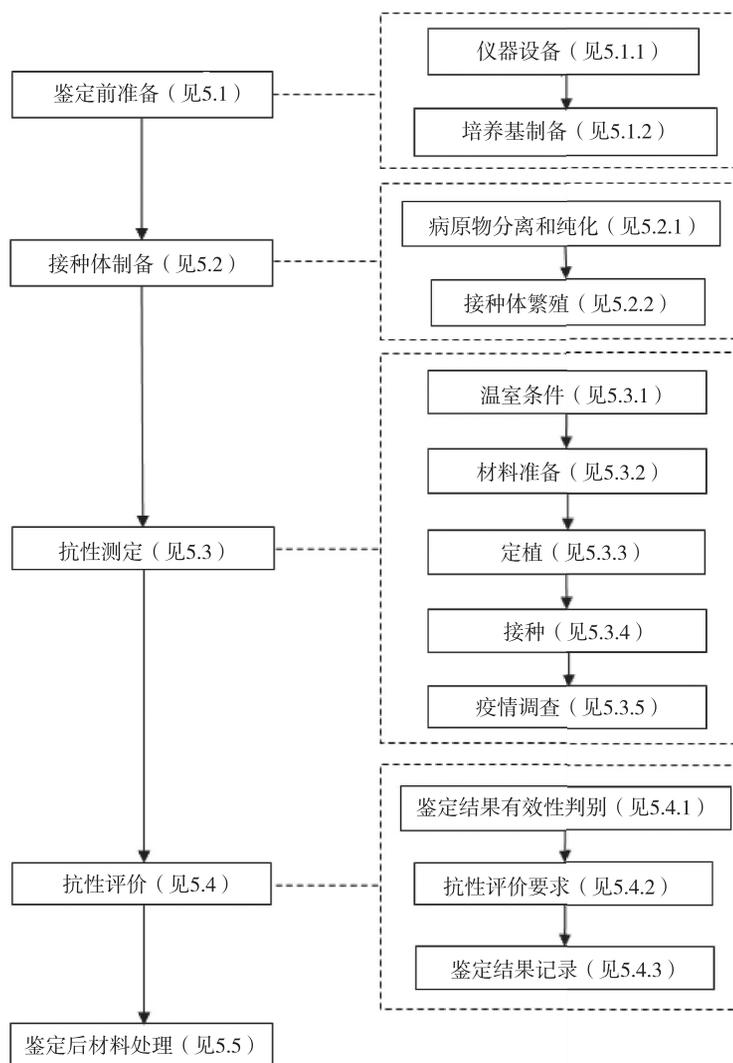


图 1 香石竹枯萎病抗性鉴定技术流程

(4±1)℃冰箱保存备用。

5.2.1.2 病样表面消毒

取病株染病茎段,用自来水冲洗干净、晾干。病健交界部位宜切成 0.5 cm×0.5 cm 的小块,用 75% 酒精浸 2 s~3 s,再用 2% 次氯酸钠溶液浸泡 3 min 后取出,用灭菌水清洗 3 次。

5.2.1.3 病原物分离培养

在超净工作台上,将消毒好的茎段接种至 PDA 平板培养基上,每皿宜接种 3 块,用封口膜密封后放至 25℃~28℃ 的恒温培养箱中培养 5 d。

5.2.1.4 分离物纯化及鉴定

分离物的形态学特征见图 A.2 和图 A.3。采用单孢分离法获得纯化菌株,确认为尖孢镰刀菌石竹专化型后,科赫法则验证菌株的致病性。将菌株接种于 PDA 斜面培养基上,于 25℃~28℃ 恒温培养箱中培养 7 d,置于(4±1)℃冰箱保存备用。

5.2.2 接种体繁殖

取出菌株接种至 PDA 平板培养基上,于 25℃~28℃ 恒温培养箱中活化培养 7 d。从菌落边缘切取大小宜为 0.5 cm×0.5 cm 的菌丝块,接种于装有灭菌 PDBY 培养液的三角瓶中,每 100 mL 培养液宜接种 3 块,置于 25℃~28℃、120 r/min 摇床上培养 7 d。培养液经两层纱布过滤,取滤液加适量灭菌去离子水稀释,采用血球计数板计数,将分生孢子悬浮液浓度调至(1.0~1.5)×10⁶ 个/mL。

5.3 抗性测定

5.3.1 温室条件

温度 15℃~30℃、光照 20 klx~50 klx。

5.3.2 材料准备

5.3.2.1 对照材料

以病情指数 $DI \leq 10$ 的品种为抗病对照品种,以病情指数 $DI > 50$ 的品种为感病对照品种。病情指数按照附录 B 中的 B.1 计算。

5.3.2.2 待测材料

应符合 NY/T 1589 优级苗的要求。每份材料设 3 个重复,每重复不低于 30 株,随机排列。

5.3.3 定植

参照 LY/T 2066,按以下操作:

- 栽培基质宜选用泥炭和园土,按 1:3(V/V)混合;
- 基质宜采用蒸汽高温消毒,90℃~105℃保持 30 min;
- 定植株行距为(12~15) cm × (15~20) cm,栽植深度为 2 cm~3 cm,定植后浇一次透水;
- 白天为 20℃~25℃,夜间为 15℃~20℃。

5.3.4 接种

5.3.4.1 接种时期

定植后第 11 d~15 d 接种。

5.3.4.2 接种方法

接种前 1 d 植株浇透水。用移液器吸取 5.2.2 制备的分生孢子悬浮液,沿茎基部灌注至根际土壤中,每株 5 mL。接种后用塑料薄膜覆盖植株,保湿 48 h。

5.3.4.3 接种后管理

置于 25℃~30℃,光照 12 h~14 h、强度 30 klx~40 klx 的温室中,保持土壤最大持水量的 60%~70%。

5.3.5 病情调查

5.3.5.1 调查时间

接种后 60 d~65 d 调查病情。当感病对照品种的病情指数 $DI > 50$ 时,调查时间可适当调整。

5.3.5.2 病情级别划分

按照附录 B 中的 B.2 和 B.3 划分病情级别。

5.3.5.3 调查方法

根据病情级别划分调查每份鉴定材料的发病情况,记载单株病情级别。

5.3.5.4 病情指数计算

计算每份鉴定材料的病情指数,结果取 3 次重复的平均值。

5.4 抗性评价

5.4.1 鉴定结果有效性判别

当对照材料达到相应的病情指数,且与实际抗性程度相符,判定该批次抗性鉴定有效。

5.4.2 抗性评价要求

依据鉴定材料病情指数的平均值确定其抗性水平,评价要求见表 1。

表 1 香石竹枯萎病抗性评价要求

病情指数(DI)	抗性评价(级别)
$DI = 0$	免疫(I)
$0 < DI \leq 10$	高抗(HR)

表 1 (续)

病情指数(DI)	抗性评价(级别)
$10 < DI \leq 25$	抗病 (R)
$25 < DI \leq 50$	中抗 (MR)
$50 < DI \leq 75$	感病 (S)
$DI > 75$	高感 (HS)

5.4.3 鉴定结果记录

按照附录 C 记录。

5.5 鉴定后材料处理

处理方式如下：

- a) 鉴定完毕后集中焚烧所有植物材料；
- b) 基质宜采用蒸汽高温消毒处理,90℃~105℃保持 30 min；
- c) 病原培养物、接种体宜采用高压蒸汽灭菌,121℃保持 60 min。

6 追溯方法

应记录培养基及试剂制备、接种体制备、抗性测定等阶段的具体方法和过程内容,保留病情调查、抗性评价等数据,保存时间不少于 24 个月。宜采用信息化技术手段管理相关记录和档案,以便于追溯。具体包括：

- a) 病样采集时间、地点、品种、症状记录及照片；
- b) 培养基制备方法和过程记录；
- c) 病原物分离纯化、接种体繁殖方法和过程记录；
- d) 植物材料定植、接种方法和过程记录；
- e) 病情调查、抗性评价数据记录和存档等。

附录 A

(资料性)

香石竹枯萎病症状、病原菌分类地位、形态特征及传播途径

A.1 症状

发病初期植株下部叶片由深绿色变为枯黄色,最终呈苍白的稻草色。植株一侧枝叶受侵染,表现为枝叶扭曲、枯萎(见图 A.1)。纵切病茎,可看到维管束中有暗褐色条纹。根部受侵染后迅速向茎部蔓延,植株最终枯萎死亡。



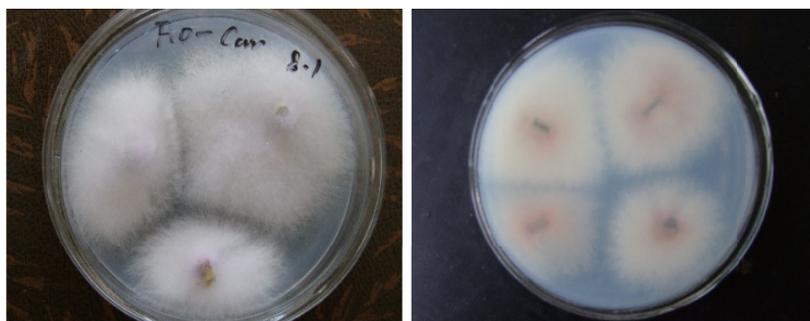
图 A.1 香石竹枯萎病症状

A.2 病原菌分类地位

尖孢镰刀菌石竹专化型(*F. oxysporum* f. sp. *dianthi* Snyder & Hans.)属真菌界(Fungi)子囊菌门(Ascomycota)盘菌亚门(Pezizomycotina)粪壳菌纲(Sordariomycetes)肉座菌亚纲(Hypocreomycetidae)肉座菌目(Hypocreales)丛赤壳科(Nectriaceae)镰刀菌属(*Fusarium*)病原菌。

A.3 病原菌形态特征

PDA 培养基上菌丝白色,菌落中央浅粉色(见图 A.2)。菌丝分枝上产生小型分生孢子,卵圆形或长椭圆形,大小为 $(5.3\sim 10.0)\mu\text{m}\times(2.5\sim 3.5)\mu\text{m}$ 。大型分生孢子镰刀形,顶端略尖,孢壁较薄,大小为 $(18.0\sim 41.0)\mu\text{m}\times(3.5\sim 5.0)\mu\text{m}$,具有2个~5个分隔(见图 A.3)。厚垣孢子丰富,球形,大小为 $(5.6\sim 8.4)\mu\text{m}\times(4.8\sim 7.4)\mu\text{m}$,表面具斑纹。



a) 培养基正面的菌落形态

b) 培养基背面的菌落形态

图 A.2 香石竹枯萎病病原培养物

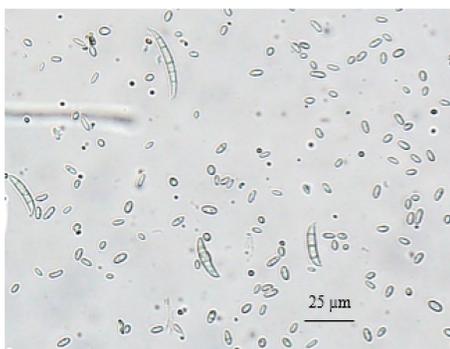


图 A.3 香石竹枯萎病病原分生孢子

A.4 病害传播途径

病原菌随病株或病残体在土壤中存活。病原菌通过根、茎基部或插条的伤口侵入,进入维管束后向上蔓延扩展。病株根、茎的腐烂处在潮湿环境中产生子实体,借气流或雨水、灌溉水传播。带病繁殖材料是病害传播的重要来源,也是远距离传播的载体。

附录 B

(规范性)

病情指数计算、病情级别及代表性症状、病情级别判定

B.5 病情指数计算

按公式(1)计算。

$$DI = \frac{\sum (s \times n)}{N \times S} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中：

DI ——病情指数；

s ——各病情级别的代表数值；

n ——各病情级别的植株数；

N ——调查总植株数；

S ——最高病情级别的代表数值。

B.2 病情级别及代表性症状

如图 B.1 所示。

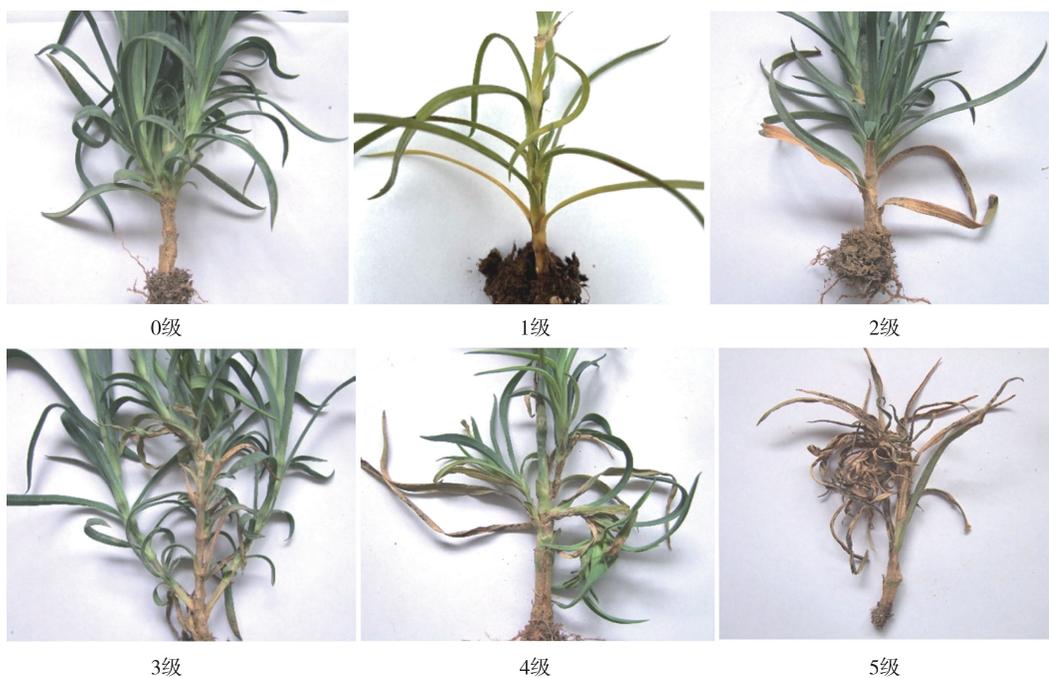


图 B.1 香石竹枯萎病病情级别及代表性症状

B.3 病情级别判定

见表 B.1。

表 B.1 香石竹枯萎病病情级别判定

病情级别/代表数值	症状描述
0	无症状
1	基部叶片轻微发黄
2	基部叶片发黄、干枯
3	一侧枝条弯曲或枯死
4	所有枝条表现弯曲、枯萎症状
5	植株枯萎、死亡

附 录 C

(资料性)

香石竹枯萎病抗性鉴定结果记录表

抗性鉴定结果记录表见表 C.1。

表 C.1 香石竹枯萎病抗性鉴定结果记录表

编号	种质名称	来源	重复	各病级植株数/株					病情指数	平均病情指数	抗性评价 (级别)
				0级	1级	2级	3级	4级			
			I								
			II								
			III								
定植日期							接种日期				
调查日期											

鉴定人(签字): _____

参 考 文 献

- [1] LY/T 2066—2012 香石竹鲜切花设施栽培技术规程
 - [2] 王继华,熊丽,瞿素萍,等. 香石竹不同品种对镰刀菌枯萎病的抗性评价[J]. 植物保护,2005,31(1):34-37
 - [3] P. M. Kirk,P. F. Cannon,D. W. Minter, et al. Dictionary of the Fungi[M]. 10th Edition. CABI Europe—UK,2008,268-644
-