

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 4512—2025

非洲菊疫病抗性鉴定技术规程

Technical code of practice for identification of gerbera resistance to
phytophthora blight

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。

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



非洲菊疫病抗性鉴定技术规程

1 范围

本文件确立了非洲菊疫病抗性鉴定程序,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。

本文件适用于非洲菊(*Gerbera jamesonii* Bolus)种质对疫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 1592 非洲菊切花种苗等级规格

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

非洲菊疫病 gerbera phytophthora blight

由隐地疫霉(*Phytophthora cryptogea* Pethybr. & Laff.)侵染非洲菊引起的流行性病害。

3.2

接种体 inoculum

用于人工接种,能侵染非洲菊的隐地疫霉游动孢子悬浮液。

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、生物显微镜、血球计数板等。

5.1.2 培养基及试剂制备

5.1.2.1 10% V₈培养基

V₈蔬菜汁 100 mL、CaCO₃ 0.2 g、琼脂 20 g、去离子水 900 mL,121 °C 高压灭菌 20 min。

5.1.2.2 10% V₈培养液

V₈蔬菜汁 100 mL、CaCO₃ 1 g,混匀后 1 500 r/min 离心 10 min,取上清液与去离子水按 1:9 的比例稀释,121 °C 高压灭菌 20 min。

5.1.2.3 土壤浸出液制备

取园土 500 g,加入去离子水 500 mL,充分搅匀后静置 3 h,取上清液用滤纸过滤,再经孔径 0.22 μm 的滤膜过滤除菌 2 次,滤液置于(4±1)°C 冰箱保存备用。

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

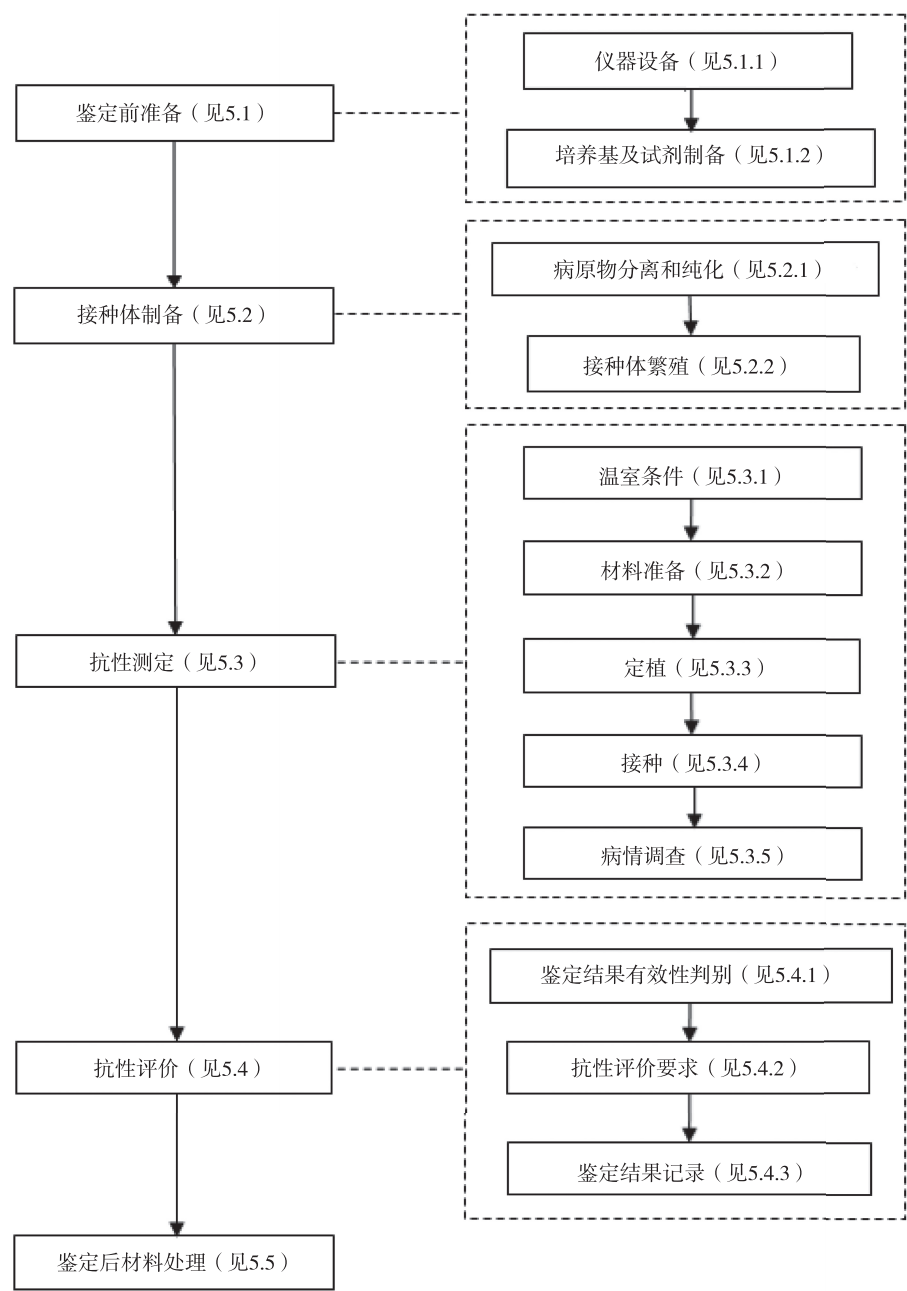


图 1 非洲菊疫病抗性鉴定技术流程

采集具有典型非洲菊疫病症状(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(4±1)℃冰箱保存备用。

5.2.1.2 病样表面消毒

取病株染病叶柄基部,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,将消毒好的病样接种至 10% V₈ 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,确认为隐地疫霉后,科赫法则验证菌株的致病性。将菌株接种于 10% V₈ 平板培养基上,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

5.2.2.1 菌丝丛培养

取出菌株接种至 10% V_8 平板培养基上,于 25℃~28℃ 恒温培养箱中活化培养 5 d。从菌落边缘切取大小宜为 2 mm×2 mm 的菌丝块,接种于盛有 15 mL~20 mL 10% V_8 培养液的培养皿中,每皿接种 8 块~10 块,置于 25℃~28℃、黑暗条件下培养 3 d。

5.2.2.2 孢子囊诱导

菌丝丛形成后,去除培养液,加入 15 mL~20 mL 灭菌自来水重新悬浮培养菌丝丛。每皿滴加土壤浸出液 3 滴~5 滴,置于 25℃~28℃、黑暗条件下培养 3 d~5 d,每隔 12 h~24 h 换一次水并滴加土壤浸出液。

5.2.2.3 游动孢子悬浮液制备

将产生大量孢子囊的菌丝丛挑入盛有 10 mL 灭菌自来水的培养皿中,置于 5℃~10℃ 冰箱中 15 min,取出于 20℃~26℃ 下放置 30 min,待大量游动孢子释放时,采用血球计数板计数,将游动孢子悬浮液的浓度调至 $(1.0\sim1.5)\times10^4$ 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 $DI\leq10$ 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 1592 优级苗的规定。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

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;
- 选用口径 10 cm~15 cm 的花盆,种植 1 株/盆,栽植深度 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。

5.3.4.2 接种方法

接种前 1 d 植株浇透水。用移液器吸取 5.2.2.3 制备的游动孢子悬浮液,沿茎基部灌注至根际土壤中,每株 4 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 15 d~20 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

根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 非洲菊疫病抗性评价要求

病情指数(DI)	抗性评价(级别)
$0 < DI \leq 10$	高抗(HR)
$10 < DI \leq 25$	抗病(R)
$25 < DI \leq 50$	中抗(MR)
$50 < DI \leq 80$	感病(S)
$DI > 80$	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)

非洲菊疫病症状、病原菌分类地位、形态特征及传播途径

A.1 症状

病原菌从近地面茎基部侵染,向下延伸到根部。发病初期地上部分失水卷曲、萎蔫,易拔起。受害植株根部或叶柄基部变软、水浸状,严重时呈黑褐色、皮层脱落(见图 A.1)。湿度大时,病部表面长出稀疏的白色霉状物,即病原菌的菌丝体、孢囊梗和孢子囊。



图 A.1 非洲菊疫病症状

A.2 病原菌分类地位

隐地疫霉(*P. cryptogea* Pethybr. & Laff.)属藻界(Chromistan)卵菌门(Oomycota)卵菌纲(Oomycetes)霜霉目(Peronosporales)霜霉科(Peronosporaceae)疫霉属(*Phytophthora*)病原菌。

A.3 病原菌形态特征

10% V₈平板培养基上气生菌丝白色、棉絮状(见图 A.2)。菌丝无隔,孢囊梗直接来源于菌丝,不分枝,粗 3 μm~6 μm。孢子囊椭圆形,罕卵形,有时中部缢缩,大小(34~64)μm×(17~36)μm,顶部平展,无乳突(见图 A.3);排孢孔宽 10 μm~17 μm,不脱落,内部层出 3 次~6 次。游动孢子肾形,(10~13)μm×(8~10)μm,鞭毛长 21 μm~34 μm。雄器底位,藏卵器穿雄生。卵孢子球形,直径 17 μm~27 μm,壁薄,平滑,不满器。

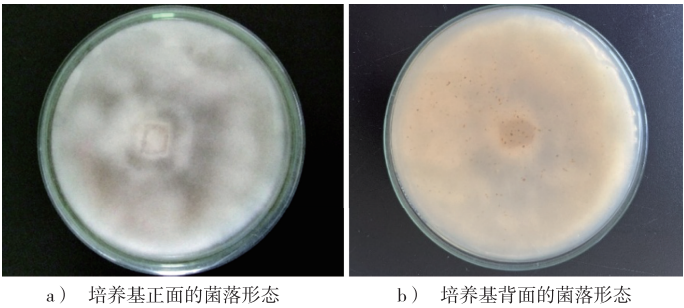


图 A.2 非洲菊疫病病原培养物



图 A.3 非洲菊疫病病原菌丝及孢子囊

A.4 病害传播途径

病菌以卵孢子、游动孢子随病残体在土壤中越冬,翌年借雨水飞溅到寄主上,从近地面的茎基部侵染,向下延伸到根部。在梅雨季节或排水不良的低洼处形成大量菌丝和孢子囊,借雨水或灌溉水传播。

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 非洲菊疫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 非洲菊疫病病情级别判定

病情级别/代表数值	症状描述
0	无症状
1	植株 50% 以下叶片萎蔫
2	植株 50% 以上叶片萎蔫, 但未全部萎蔫
3	全部叶片萎蔫, 部分叶片开始干枯
4	植株枯死

附 录 C
(资料性)
非洲菊疫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 非洲菊疫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	5 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] 郑小波. 疫霉菌及其研究技术[M]. 北京:中国农业出版社,1997
 - [2] P. M. Kirk,P. F. Cannon,D. W. Minter,et al. Dictionary of the Fungi[M],10th Edition. CABI Europe-UK,2008,752-754
-