

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1942—2010

龙舌兰麻抗病性鉴定技术规程

Technical code for evaluating resistance of agave diseases

2010-09-21 发布

2010-12-01 实施



中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准遵照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由农业部热带作物及制品标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：中国热带农业科学院南亚热带作物研究所。

本标准主要起草人：赵艳龙、詹儒林、周文钊、何衍彪、常金梅、柳凤、陆军迎。

龙舌兰麻抗病性鉴定技术规程

1 范围

本标准规定了龙舌兰麻(Agave)抗病性鉴定方法。

本标准适用于龙舌兰麻(Agave)对剑麻斑马纹病和剑麻茎腐病的抗性鉴定。

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。

NY/T 222—2004 剑麻栽培技术规程

3 术语和定义

NY/T 1248.1—2006 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 1248.1—2006 中的某些术语和定义。

3.1

抗病性 disease resistance

植物体所具有的能够减轻或克服病原体致病作用的可遗传的性状。

[NY/T 1248.1—2006,定义 2.1]

3.2

抗病性鉴定 screening for disease resistance

通过适宜技术方法鉴别植物对其特定侵染性病害的抵抗水平。

[NY/T 1248.1—2006,定义 2.2]

3.3

接种体 inoculum

用于接种以引起病害的病原体或病原体的一部分。

[NY/T 1248.1—2006,定义 2.9]

3.4

人工接种 artificial inoculation

在适宜条件下,通过人工操作将接种体接于植物体适当部位。

[NY/T 1248.1—2006,定义 2.4]

3.5

培养基 medium

自然或人工配制的、可以使病原体在其上生长的基质。

[NY/T 1248.1—2006,定义 2.8]

3.6

剑麻斑马纹病 zebra disease

由烟草疫霉菌(*Phytophthora nicotianae*)引起的以叶片产生斑马纹症状为主,甚至发生茎腐和轴腐的龙舌兰麻病害。

3.7

剑麻茎腐病 *bole rot disease*

由黑曲霉菌(*Aspergillus niger*)引起的在茎部和割叶后叶片基部产生病斑和腐烂为主,也可能引起轴部腐烂的龙舌兰麻病害。

4 鉴定方法

4.1 剑麻斑马纹病

4.1.1 大田鉴定

4.1.1.1 鉴定圃设置

鉴定圃应设置在重病区,具备良好的自然发病环境(主要是地势较低洼、易积水)条件。

4.1.1.2 鉴定材料

选存叶数 20 片以上、生长健壮且无病虫害的龙舌兰麻苗,同一种质要求各株形及大小比较整齐。各参鉴种质麻苗数为 100 株。

4.1.1.3 鉴定设计

设置已知感病品种(H. 11648,下同)一份作为对照材料,按随机区组设计,重复 4 次,将鉴定材料和对照材料种植于鉴定圃内。

4.1.1.4 病情调查与分级

每年高温多雨季节对所有种植麻苗的剑麻斑马纹病病害发生情况进行调查并分级,分级按 NY/T 222—2004 中附录 C 的规定执行。

4.1.1.5 病情指数计算

按式(1)计算病情指数(DI):

$$DI = \frac{\sum (N_i \times i)}{3M} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中:

N_i ——第 i 病害级的麻苗数;

i ——病害级别;

M ——调查总麻苗数。

4.1.1.6 抗性评价

当设置的感病对照材料病情指数达到 75 以上时,判定该批次鉴定有效。根据鉴定材料病情指数对各种质资源的抗病性进行评价,评价标准见表 1。

表 1 龙舌兰麻抗病性评价标准

抗性	病情指数
免疫	0
高抗	$0 < DI \leq 25$
中抗	$25 < DI \leq 50$
中感	$50 < DI \leq 75$
高感	$DI > 75$

4.1.1.7 重复鉴定

用大田鉴定方法进行鉴定,需进行至少三年的重复鉴定。

4.1.2 活体接种鉴定

4.1.2.1 病原菌分离与纯化

以常规组织分离法从龙舌兰麻病株上分离斑马纹病菌并纯化。按柯赫氏法则(附录 A)并经鉴定确认为烟草疫霉菌后,在室温下保存备用。

4.1.2.2 接种体的准备

供试菌株在胡萝卜培养基上培养 4 d,温度 28℃,用直径为 8 mm 的灭菌打孔器,在距离中心 3 cm 处打下菌饼作为接种体。

4.1.2.3 鉴定材料

用盆栽法培育龙舌兰麻种苗至存叶 20 片以上,选生长健壮、无病虫害的苗用于人工接种。

4.1.2.4 接种方法

采用叶面针刺法接种,每份种质 5 株,并设已知感病品种一份作为对照材料,重复 4 次。每株于不同方向选取种苗中下部的叶片 3 片,先用 70%酒精棉球擦拭叶片表面进行消毒后,再用灼烧灭菌后冷凉的大头针在距离叶基部 10 cm 处将叶片正面的表皮刺破,将菌饼的菌丝生长面贴在针刺的位置,用无菌湿棉花覆盖菌饼保湿,48 h 后除去棉花及菌饼,继续在温度为 25℃~30℃、湿度 80%以上的条件下培养。

4.1.2.5 病情调查与分级

接种后 10 d 进行病情调查与分级,分级标准见表 2。

表 2 斑马纹病活体接种病害分级标准

病害级别	症状表现
0	叶片无病斑
1	叶片出现病斑,但不扩展
2	叶片出现病斑并向外扩展
3	叶片病斑向叶基部扩展达 5 cm 以上
4	病斑扩展到叶基部或茎部

4.1.2.6 病情指数计算

按式(2)计算病情指数(DI):

$$DI = \frac{\sum (N_i \times i)}{4M} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

式中:
N_i——第 i 病害级的叶片数;
i——病害级别;
M——调查总叶片数。

4.1.2.7 抗性评价

按 4.1.1.6 的规定执行。

4.1.2.8 重复鉴定

经活体接种鉴定方法鉴定为免疫、高抗、中抗的种质资源,需按照大田鉴定方法对其抗病性进行至少一年的重复鉴定。

4.2 剑麻茎腐病

4.2.1 大田鉴定

4.2.1.1 鉴定圃设置

鉴定圃应设置在重病区,具备良好的自然发病环境(主要是土壤缺钙致麻株叶片含钙量低于 2.5%)条件。

4.2.1.2 鉴定材料

选存叶数 20 片以上、生长健壮且无病虫害的龙舌兰麻苗,同一种质要求各株形及大小比较整齐。各参鉴种质麻苗数为 100 株。

4.2.1.3 鉴定设计

设置已知感病品种一份作为对照材料,按随机区组设计,重复 4 次,将鉴定材料和对照材料种植于鉴定圃内。在植株恢复生长后,于高温多雨季节,每株用表面消毒过的锋利刀具在离叶基部 2 cm~3 cm 处割除中下部的全部叶片(应保证割叶 11 片以上)。

4.2.1.4 病情调查与分级

每年高温多雨季节对所有种植麻苗的剑麻茎腐病病害发生情况进行调查并分级,分级按 NY/T 222—2004 中附录 D 的规定执行。

4.2.1.5 病情指数计算

按式(3)计算病情指数(DI):

$$DI = \frac{\sum (N_i \times i)}{4M} \times 100 \dots\dots\dots (3)$$

式中:

N_i ——第 i 病害级的麻苗数;

i ——病害级别;

M ——调查总麻苗数。

4.2.1.6 抗性评价

当设置的感病对照材料病情指数达到 50 以上时,判定该批次鉴定有效。根据病情指数对各种质的抗性进行评价,评价标准见表 1。

4.2.1.7 重复鉴定

用大田鉴定方法进行鉴定,需进行至少三年的重复鉴定。

4.2.2 活体接种鉴定

4.2.2.1 病原物分离与纯化

以常规组织分离法从龙舌兰麻病株上分离茎腐病病菌并纯化。按柯赫氏法则(附录 A)并经鉴定确认为黑曲霉菌后,在室温下保存备用。

4.2.2.2 接种体准备

供试菌株在 PDA 培养基上培养 7 d,温度 30℃,用无菌水将产生的分生孢子洗下,用血球计数板测定浓度,配成浓度为 10^7 个/mL 的分生孢子悬浮液。随配随用。

4.2.2.3 鉴定材料

用盆栽法培育龙舌兰麻种苗至存叶 20 片以上,选生长健壮、无病虫害的苗用于人工接种。

4.2.2.4 接种

采用割口接种法,每份种质 5 株,并设已知感病品种一份作为对照材料,重复 4 次。每株用表面消毒过的锋利刀具在离叶基部约 5 cm 处割除中下部的全部叶片,然后在割口上滴 0.1 mL 分生孢子悬浮液,在温度 25℃~30℃、湿度 80%以上的条件下培养。

4.2.2.5 病情调查与分级

接种后 11 d,用直尺测量病斑的纵向长度(割口的中央至病斑最下端的距离),根据病斑的长度对病害进行分级,分级标准见表 3。

表 3 茎腐病活体接种病害分级标准

病害级别	病斑长度(r) mm
0	0
1	$0 < r \leq 10.0$
2	$10 < r \leq 30.0$
3	$30 < r \leq 50.0$
4	50

4.2.2.6 病情指数计算

按式(4)计算病情指数(DI):

$$DI = \frac{\sum (N_i \times i)}{4M} \times 100 \dots\dots\dots (4)$$

式中:

N_i ——第 i 病害级的病斑数;

i ——病害级别;

M ——调查总病斑数。

4.2.2.7 抗性评价

按 4.2.1.6 的规定执行。

4.2.2.8 重复鉴定

经活体接种鉴定方法鉴定为免疫、高抗、中抗的种质资源,需按照大田鉴定方法对其抗病性进行至少一年的重复鉴定。

附 录 A
(资料性附录)
柯赫氏法则

A.1 范围

该附录适用于植物病原物分离及确定的方法。

A.2 共存性观察

被疑为病原物的生物必须经常被发现于病植物体上。

A.3 分离

应把该生物从病植物体分离出来,在培养基上养成纯培养。纯培养即只有该种生物而无其他生物的培养物。

A.4 接种

用上述纯培养接种于健康植物上,又引起与原样本相同的病害。

A.5 再分离

从上述接种引起的病植物再度进行分离而得纯培养。此纯培养与接种所用纯培养完全一致。
