

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 2023—2011

农作物优异种质资源评价规范 葡萄

Evaluating standards for elite and rare germplasm resources—
Grape(*Vitis* L.)

2011-09-01 发布

2011-12-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准按照 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种植业管理司提出。

本标准由全国果品标准化研究委员会(SAC/TC 510)归口。

本标准起草单位:中国农业科学院茶叶研究所、中国农业科学院郑州果树研究所、中国农业科学院特产研究所、山西省农业科学院果树研究所。

本标准主要起草人:刘崇怀、樊秀彩、孙海生、江用文、沈育杰、陈俊、熊兴平。

农作物优异种质资源评价规范 葡萄

1 范围

本标准规定了葡萄属(*Vitis* L.)优异种质资源评价的术语定义、技术要求、鉴定方法和判定。
本标准适用于葡萄优异种质资源评价。

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。

GB/T 12456 食品中总酸的测定

NY/T 1322 农作物种质资源鉴定技术规程 葡萄

3 术语与定义

NY/T 1322 中界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

优良种质资源 elite germplasm resources

主要农艺性状表现好且具有重要价值的种质资源。

3.2

特异种质资源 rare germplasm resources

性状表现特殊、稀有的种质资源。

3.3

优异种质资源 elite and rare germplasm resources

优良种质资源和特异种质资源的总称。

4 技术要求

4.1 样本采集

按 NY/T 1322 的规定执行。

4.2 鉴定数据

每个性状至少应在同一地点进行 3 年的重复鉴定。性状观测值取其 3 年平均值进行判定。

4.3 指标

4.3.1 优良种质资源指标

优良种质资源指标见表 1。

表 1 优良种质资源指标

序号	性 状	指 标
1	全穗果粒大小整齐度	整齐(维多利亚)
2	全穗果粒成熟一致性	一致(维多利亚)
3	可溶性固形物含量	酿酒种质>21.0%(赤霞珠)
		鲜食种质>16.0%(巨峰)

表 1（续）

序号	性 状	指 标
4	果肉香型	玫瑰香味(玫瑰香)
		草莓香味(红富士)
5	果梗与果粒分离难易	难(红地球)
6	单穗重	450 g~650 g(维多利亚)
7	单粒重	有核种质>9.0 g(红富士)
		无核种质>4.0 g(克瑞森无核)
8	葡萄白腐病抗性	中抗及以上($DI\leq 30$)
9	葡萄霜霉病抗性	中抗及以上($DI\leq 30$)
10	葡萄黑痘病抗性	中抗及以上($DI\leq 30$)
11	葡萄炭疽病抗性	中抗及以上($DI\leq 30$)
注:指标中提供的参照种质是为了方便标准使用,不代表对该种质的认可和推荐,任何可以得到与参照种质相同结果的种质均可作为参照样品。		

4.3.2 特异种质资源指标

特异种质资源指标见表 2。

表 2 特异种质资源指标

序号	性 状	指 标
1	叶型	复叶(变叶葡萄 0958)
2	成龄叶形状	菱形(菱叶葡萄 0944)
		狭叶形(狭叶葡萄 1186)
3	枝条皮刺	有(塘尾葡萄)
4	花器类型	两性花(塘尾葡萄)
5	果实发育期	≤ 60 d(莎巴珍珠)
		> 140 d(圣诞玫瑰)
6	染色体倍数	非整倍体(高尾)
		四倍体(四倍体山葡萄)
7	单穗重	> 900 g(里扎马特)
8	果粒形状	卵圆形(黑鸡心)
		弯形(金手指)
		束腰形(瓶儿)
9	幼果颜色	红(谢花红)
10	果实颜色	白(白果刺葡萄)
11	果实可滴定酸含量	$\geq 3.0\%$ (山葡萄 76042)
12	果汁色泽	极深(烟 73)
13	葡萄白腐病抗性	高抗($DI\leq 5$)
14	葡萄霜霉病抗性	高抗($DI\leq 5$)
15	葡萄黑痘病抗性	高抗($DI\leq 5$)
16	葡萄炭疽病抗性	高抗($DI\leq 5$)
注 1:花器类型、染色体倍数中的四倍体、果实颜色的鉴定范围为野生种质;		
注 2:指标中提供的参照种质是为了方便标准使用,不代表对该种质的认可和推荐,任何可以得到与参照种质相同结果的种质均可作为参照样品。		

5 鉴定方法

5.1 全穗果粒大小整齐度

按 NY/T 1322 的规定执行。

5.2 全穗果粒成熟一致性

按 NY/T 1322 的规定执行。

5.3 可溶性固形物含量

按 NY/T 1322 的规定执行。

5.4 果肉香型

按 NY/T 1322 的规定执行。

5.5 果梗与果粒分离难易

浆果生理完熟期,选择 3 株正常结果的植株,每株随机选择 3 穗充分成熟的果穗,每穗取中部带果梗果粒 10 粒,混合后,随机选择 30 粒,用读数式拉力计测量果梗与果肉分离所需的力度,取其平均值,单位为 N 。力度小于参照种质玫瑰香的为易;力度介于参照种质玫瑰香和红地球之间的为中,力度等于大于参照种质红地球的为难。

5.6 单穗重

按 NY/T 1322 的规定执行。

5.7 单粒重

按 NY/T 1322 的规定执行。

5.8 葡萄白腐病抗性

参照附录 B 执行。

5.9 葡萄霜霉病抗性

参照附录 C 执行。

5.10 葡萄黑痘病抗性

参照附录 D 执行。

5.11 葡萄炭疽病抗性

参照附录 E 执行。

5.12 叶型

开花始期至浆果始熟期,选择 3 株正常生长的植株,每株随机选择 10 个新梢,每个新梢随机选择中部 1 个正常生长的成龄叶,按图 1 以最大相似原则,确定每个成龄叶叶型。全部鉴定叶片中存在 1 片以上(含 1 片)复叶的即为复叶型种质。

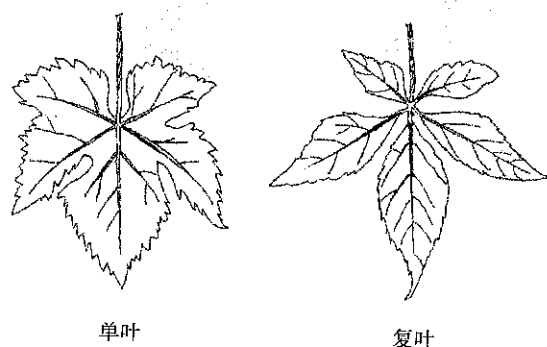


图 1 叶型

5.13 成龄叶形状

开花始期至浆果始熟期,选择 3 株正常生长的植株,每株随机选择 10 个新梢,每个新梢随机选择中部 1 个正常生长的成龄叶,按图 2 以最大相似原则,确定每个成龄叶片形状。以分布频率最高的指标判定该种质。

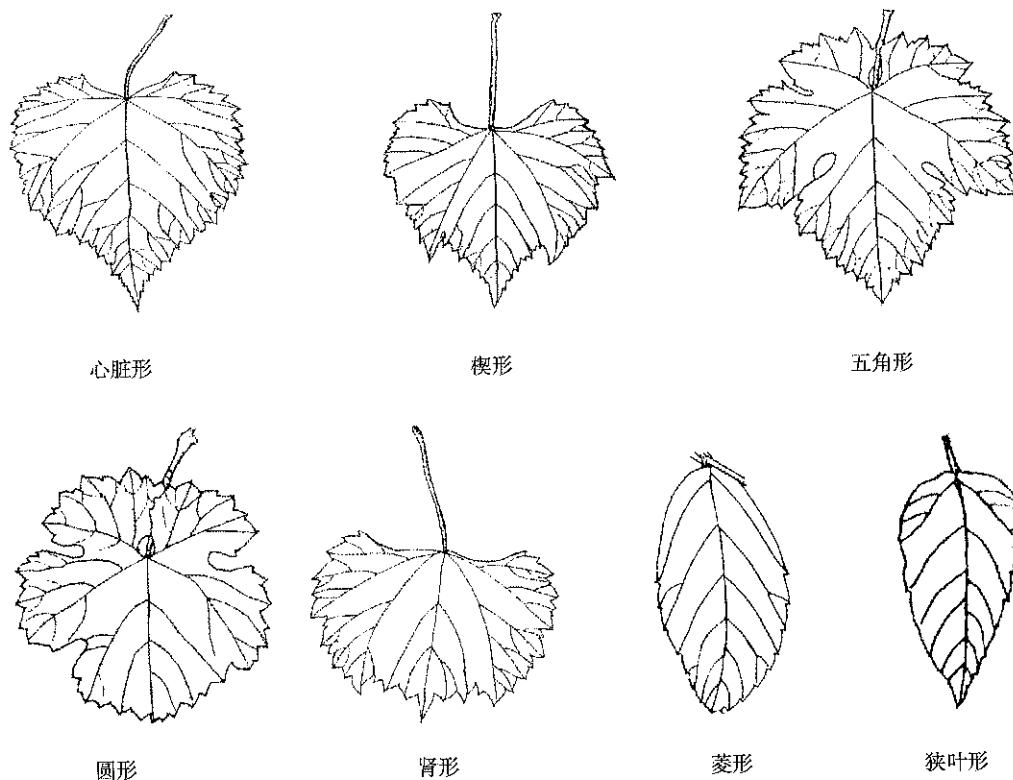


图2 成熟叶形状

5.14 枝条皮刺

开花始期至浆果始熟期,选择3株正常生长的植株,每株随机选择10个新梢,按图3以最大相似原则,肉眼观察新梢中部节间,确定每个新梢有无皮刺。全部鉴定新梢中存在1个以上(含1个)有皮刺新梢的即为有皮刺型种质。

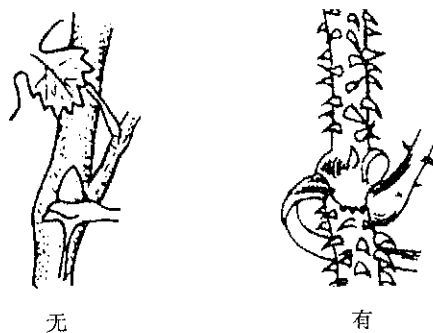


图3 枝条皮刺

5.15 花器类型

按 NY/T 1322 的规定执行。

5.16 果实发育期

选择3株正常结果的植株,观测开花始期至浆果生理完熟期的天数,单位为d。

5.17 染色体倍数

参照附录A执行。

5.18 果粒形状

按 NY/T 1322 的规定执行。

5.19 幼果颜色

生理落果后 15 d, 选择 3 株正常结果的植株, 每株随机选择 3 个果穗, 每穗取中部果粒 10 粒, 混合后, 随机选择 30 粒, 用标准比色卡观察每个幼果的果皮色泽, 分为绿、黄绿、红和其他。以分布频率最高的指标判定该种质。

5.20 果实颜色

按 NY/T 1322 的规定执行。

5.21 果实可滴定酸含量

按 GB/T 12456 的规定执行。

5.22 果汁色泽

按 NY/T 1322 的规定执行。

6 判定

6.1 优良种质资源

符合表 1 中全穗果粒整齐度、全穗果粒成熟一致性、可溶性固形物和其他任意 1 项以上(含 1 项)指标的种质资源为优良种质资源。

6.2 特异种质资源判定

符合表 2 中任何 1 项以上(含 1 项)指标的种质资源为特异种质资源。

附 录 A
(资料性附录)
葡萄染色体倍数鉴定

A.1 范围

本附录适用于葡萄种质资源染色体倍数的鉴定。

A.2 试剂与材料

A.2.1 试剂和溶液的配制

A.2.1.1 试剂

A.2.1.1.1 酶剂

纤维素酶、果胶酶。

A.2.1.1.2 化学试剂

无水乙酸、丙酸、氯化钾、甲醇、对二氯苯、水合三氯乙醛。

A.2.1.1.3 染色剂

苏木精、铁矾。

A.2.1.2 溶液的配制

A.2.1.2.1 混合酶液

3.5%混合酶液:称取纤维素酶、果胶酶各 0.7 g,加入 20 mL 蒸馏水,4℃冰箱内保存。

A.2.1.2.2 预处理液

称取 5 g 对二氯苯结晶放入棕色试剂瓶中,加入 40℃~45℃蒸馏水 100 mL,振荡 5 min,静置冷却后在 10℃~20℃条件下存放。

A.2.1.2.3 固定液

按照无水乙酸:甲醇=1:3 的体积比配制,现配现用。

A.2.1.2.4 染色液

A 液:称取 2 g 苏木精溶于 100 mL 50%丙酸中;

B 液:称取 0.5 g 铁矾溶于 100 mL 50%丙酸中。

将 A 液和 B 液按照 1:1 体积比混合,每 5 mL 混合液中加入 2 g 水合三氯乙醛,存放 1 d 后使用,用后放入冰箱内低温保存。

A.2.1.2.5 低渗液

称取 5.59 g 的氯化钾溶于 1 000 mL 的蒸馏水中。

A.2.2 材料

5 mm~10 mm 葡萄幼嫩根尖。

A.3 仪器

A.3.1 显微镜:100~1 000 倍数。

A.3.2 数码相机:1 000 万像素。

A.3.3 电子天平:精确到 0.01 g。

A.3.4 恒温培养箱。

A.3.5 普通冰箱。

A.4 采样

春季根系生长高峰期,挖取正在生长的白嫩、完整幼根,保湿带回实验室,冲洗干净后,截取前端 5 mm~10 mm 的根尖。

A.5 分析步骤

A.5.1 预处理

将采集的材料立即投入预处理液中,常温下处理 2 h~4 h。

A.5.2 前低渗

预处理结束后,将材料剪切成 1 mm 左右的薄片,用低渗液处理 30 min。

A.5.3 前固定

前低渗处理结束后,将材料用蒸馏水冲洗 3 次~5 次,用新配制的固定液固定 30 min 以上。

A.5.4 酶解

前固定结束后,用蒸馏水将材料冲洗干净,放入装有混合酶液的 1.5 mL 离心管中,在 25℃ 恒温下酶解 2 h~4 h。

A.5.5 后低渗

吸去酶液,用蒸馏水将材料冲洗干净,并在蒸馏水中停留 10 min。

A.5.6 再固定

吸去蒸馏水,注入固定液再固定 30 min。

A.5.7 染色

将材料用蒸馏水冲洗后在染色液中染色 2 h 以上。

A.5.8 压片和镜检

取一小块材料放在载玻片上,用镊子捣碎,滴少许染色液,盖上盖玻片,然后用木制小棒敲打盖玻片,将组织分散成雾状,用吸水纸吸去多余的染色液,酒精灯上干燥后,显微镜观测拍照。

A.6 结果表示

真葡萄亚属(*Euvitis* Planch.) 四倍体染色体条数为 $2n=4x=76$; 圆叶葡萄亚属(*Muscadinia* Planch.) 四倍体染色体条数为 $2n=4x=80$; 细胞染色体条数是一倍体的非整倍数为非整倍体。

附 录 B

(资料性附录)

葡萄白腐病[*Coniella diplodiella* (Speg.) Petrak & Sydow]抗性鉴定

B.1 范围

本附录适用于葡萄种质资源白腐病[*Coniella diplodiella* (Speg.) Petrak & Sydow]抗性的鉴定。

B.2 仪器

- B.2.1 显微镜:100~1 000 倍数。
- B.2.2 血球计数板。
- B.2.3 生化培养箱。
- B.2.4 普通冰箱。

B.3 菌种采集和保存

果实成熟期,采集严重发病果穗,用组织分离法分离病菌,马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)培养和扩繁,经致病性验证后,冰箱低温继代培养保存。

B.4 步骤

B.4.1 接种液制备

菌种转接到 PDA 培养基,在 22℃±1℃弱光培养 7 d~10 d,菌落上可见棕黄色黏液,即为分生孢子,用移液器吸取,血球计数板计数后,用蒸馏水制备成浓度为 2×10⁵ 个孢子/mL 的孢子悬浮液。

B.4.2 接种方法

果实始熟期后,选择生长正常的植株 6 株,每株选择无病害果穗 10 穗,采用针刺法对果穗中上部 1/3 果粒的果蒂部进行接种,接种深度不少于 2 mm,接种浓度为 2×10⁵ 个孢子/mL,接种后套袋。

B.5 结果计算

B.5.1 葡萄白腐病分级

接种 12 d 后调查结果,按表 B.1 对病情进行分级。

表 B.1 葡萄白腐病病情分级标准

病 级	0	1	2	3	4	5
每果穗的病果率, %	0	<10	10~25	26~50	51~75	>75

B.5.2 病情指数

病情指数以 *DI* 表示,按式(B.1)计算:

$$DI = \frac{\sum (s_i n_i)}{5N} \times 100 \dots\dots\dots (B.1)$$

式中:
s_i——发病级别;

n_i ——相应发病级别的果穗数,单位为个;
 N ——调查总果穗数,单位为个。
计算结果精确到小数点后 1 位。

B.6 评价标准

依据病情指数,按表 B.2 标准确定其抗性水平。

表 B.2 葡萄白腐病抗性鉴定评价标准

抗病级别	高抗(HR)	抗(R)	中抗(MR)	感(S)	高感(HS)
病情指数(DI)	$DI \leq 5$	$5 < DI \leq 15$	$15 < DI \leq 30$	$30 < DI \leq 50$	$50 < DI$

附 录 C

(资料性附录)

葡萄霜霉病[*Plasmopara viticola* (Berk. & Curtis.) Berlet de Toni]抗性鉴定

C.1 范围

本附录适用于葡萄种质资源霜霉病[*Plasmopara viticola* (Berk. & Curtis.) Berlet de Toni]的抗性鉴定。

C.2 仪器

C.2.1 显微镜:100~1 000 倍数。

C.2.2 血球计数板。

C.2.3 生化培养箱。

C.3 采样

秋季采集严重发病的葡萄叶片,保湿带回实验室。

C.4 步骤

C.4.1 接种液制备

用蒸馏水冲洗下发病叶片背面的白色霜状物,血球计数板计数后,用蒸馏水制备成浓度为 8×10^4 个游动孢子囊/mL 的孢子囊悬浮液。

C.4.2 接种方法

采集新梢顶端无病、成龄叶 20 片,用直径 1.5 cm 打孔器取 100 个叶盘,采用叶盘背面喷雾接种,在温度 20℃~24℃、相对湿度 85%以上、黑暗条件下培养。

C.5 结果计算

C.5.1 葡萄霜霉病分级

接种 9 d 后调查结果,按表 C.1 对病情进行分级。

表 C.1 葡萄霜霉病病情分级标准

病 级	0	1	2	3	4	5
病斑面积占叶盘面积的百分率, %	0	<10	10~30	31~60	61~80	>80

C.5.2 病情指数

病情指数以 DI 表示,按式(C.1)计算:

$$DI = \frac{\sum (s_i n_{i2})}{5N_2} \times 100 \dots\dots\dots (C.1)$$

式中:

s_i ——发病级别;

n_{i2} ——相应发病级别的叶盘数,单位为个;

N_2 ——调查总叶盘数,单位为个。

计算结果精确到小数点后1位。

C.6 评价标准

依据病情指数,按表 C.2 标准确定其抗性水平。

表 C.2 葡萄霜霉病抗性鉴定评价标准

抗病级别	高抗(HR)	抗(R)	中抗(MR)	感(S)	高感(HS)
病情指数(DI)	$DI \leq 5$	$5 < DI \leq 15$	$15 < DI \leq 30$	$30 < DI \leq 50$	$50 < DI$

附录 D

(资料性附录)

葡萄黑痘病(*Sphaceloma ampelimum* de Bary)抗性鉴定

D.1 范围

本附录适用于葡萄种质资源黑痘病(*Sphaceloma ampelimum* de Bary)的抗性鉴定。

D.2 仪器

D.2.1 显微镜:100~1 000 倍数。

D.2.2 血球计数板。

D.2.3 生化培养箱。

D.2.4 普通冰箱。

D.3 菌种采集和保存

春季采集严重发病的新梢和叶片,室内 24℃保湿 3 d~5 d,用组织分离法分离病菌,马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)培养和扩繁,经致病性验证后,冰箱低温继代培养保存。

D.4 步骤

D.4.1 接种液制备

菌种转接到 PDA 培养基,24℃保湿培养 15 d 后,显微镜观测,发现分生孢子后,用接种环轻轻摩擦菌落表面,再用蒸馏水冲洗接种环获取分生孢子,经血球计数板计数后,制备成浓度为 1×10^4 个/mL 的分生孢子悬浮液。

D.4.2 接种方法

春季选取 10 株生长健壮的容器苗,每株选择无病害新梢 2 个,于傍晚进行喷雾接种,接种后套袋保湿 3 d,20℃~28℃条件下培养。

D.5 结果计算

D.5.1 葡萄黑痘病分级

接种 12 d 后调查新梢所有叶片的病斑面积,按表 D.1 对病情进行分级。

表 D.1 葡萄黑痘病病情分级标准

病 级	0	1	2	3	4	5
病斑面积占叶片面积的百分率, %	0	<5	5~25	26~50	51~75	>75

D.5.2 病情指数

病情指数以 DI 表示,按式(D.1)计算:

$$DI = \frac{\sum (s_i n_{i3})}{5N_3} \times 100 \quad \dots\dots\dots (D.1)$$

式中:

s_i ——发病级别；
 n_{i3} ——相应发病级别的叶片数，单位为个；
 N_3 ——调查总叶片数，单位为个。
计算结果精确到小数点后 1 位。

D.6 评价标准

依据病情指数，按表 D.2 标准确定其抗性水平。

表 D.2 葡萄黑痘病抗性鉴定评价标准

抗病级别	高抗(HR)	抗(R)	中抗(MR)	感(S)	高感(HS)
病情指数(DI)	$DI \leq 5$	$5 < DI \leq 15$	$15 < DI \leq 30$	$30 < DI \leq 50$	$50 < DI$

附录 E (资料性附录)

葡萄炭疽病[*Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Penz. & Sacc.]抗性鉴定

E.1 范围

本附录适用于葡萄种质资源炭疽病[*Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Penz. & Sacc.]的抗性鉴定。

E.2 仪器

E.2.1 显微镜:100~1 000 倍数。

E.2.2 血球计数板。

E.3 材料

生理落果后,用防治炭疽病的药液浸蘸果穗,药液晾干后套袋。

E.4 采样

果实成熟期,采集发病葡萄果实。

E.5 步骤

E.5.1 接种液制备

发病果实在 28℃保湿遮阴培养 1 d~3 d,用蒸馏水冲洗下果实表面橘红色黏稠状物质,获取分生孢子,经血球计数板计数后,制备成浓度为 2×10^7 个孢子/mL 的分生孢子悬浮液。

E.5.2 接种方法

果实始熟期后,选择 6 株生长正常的植株,每株选择无病害果穗 10 穗,采用喷雾接种,接种后套袋。

E.6 结果计算

E.6.1 葡萄炭疽病分级

接种 10 d 后调查结果,按表 E.1 对病情进行分级。

表 E.1 葡萄炭疽病病情分级

病 级	0	1	2	3	4	5
每果穗的病果率, %	0	<5	5~15	16~30	31~50	>50

E.6.2 病情指数

病情指数以 DI 表示,按式(E.1)计算:

$$DI = \frac{\sum (s_i n_i)}{5N} \times 100 \dots\dots\dots (E.1)$$

式中:

s_i ——发病级别;

n_i ——相应发病级别的果穗数,单位为个;

N ——调查总果穗数,单位为个。

计算结果精确到小数点后 1 位。

E.7 评价标准

依据病情指数,按表 E.2 标准确定其抗性水平。

表 E.2 葡萄炭疽病抗性鉴定评价标准

抗病级别	高抗(HR)	抗(R)	中抗(MR)	感(S)	高感(HS)
病情指数(DI)	$DI \leq 5$	$5 < DI \leq 15$	$15 < DI \leq 30$	$30 < DI \leq 40$	$40 < DI$