

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 3858—2021

番茄抗匍柄霉叶斑病鉴定 技术规程

Technical code of practice for identification of tomato to
stemphylium leaf spot

2021-05-07 发布

2021-11-01 实施



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。

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：中国农业科学院蔬菜花卉研究所、宁夏大学、浙江省农业科学院植物保护与微生物研究所。

本文件主要起草人：谢学文、李宝聚、石延霞、柴阿丽、张雪艳、武军。

番茄抗匍柄霉叶斑病鉴定技术规程

1 范围

本文件规定了番茄匍柄霉叶斑病抗病性鉴定术语和定义、接种体制备、抗病性鉴定、病情调查、抗病性鉴定记录表格。

本文件适用于各种类型番茄品种及资源对匍柄霉叶斑病的室内抗性鉴定。

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。

GB/T 17980.31—2000 农药田间药效试验准则(一) 杀菌剂防治番茄早疫病和晚疫病

NY/T 1958.1—2010 番茄主要病害抗病性鉴定技术规程 第1部分:番茄抗晚疫病鉴定技术规程

NY/T 1958.2—2010 番茄主要病害抗病性鉴定技术规程 第2部分:番茄抗叶霉病鉴定技术规程

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

番茄匍柄霉叶斑病 **tomato stemphylium leaf spot**

由匍柄霉(*Stemphylium solani*)和番茄匍柄霉(*Stemphylium lycopersici*)引起的叶斑病。

3.2

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。

3.3

抗病性鉴定 **identification of 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。

3.4

抗性评价 **resistance evaluation**

根据采用的技术标准判别植物对特定病害反应程度和抵抗水平的描述。

3.5

致病性 **pathogenicity**

病原物所具有的破坏寄主和引起病变的能力。

3.6

人工接种 **artificial inoculation**

在适宜条件下,通过人工操作将接种体置于植物体适当部位并使之发病的过程。

3.7

病情级别 **disease rating scale**

植物个体或群体发病程度的数字化描述。

3.8

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。

3.9

接种悬浮液 inoculum suspension

用于接种的含有定量接种体的液体

3.10

病情指数 disease index(DI)

全面评价发病率和严重程度的综合指标数值。

4 接种体制备

4.1 接种体分离

采用常规组织分离法,从番茄植株发病组织病健交界处分离病原物。

4.2 接种体鉴定

菌饼法诱导产孢鉴定:选择感病番茄品种,匍柄霉菌在马铃薯葡萄糖琼脂培养基(Potato Dextrose Agar,简称PDA)上培养3 d后,用5 mm打孔器打取菌饼,将带有菌丝面贴到番茄叶片上,接种后置25℃~30℃条件下保湿培养,3 d后菌饼背面产孢,可参考附录A进行鉴定。

4.3 接种体保存

4.3.1 短期保存方法

将单孢分离到的匍柄霉菌株接种在PDA试管斜面内,在26℃~28℃下培养,10 d后置4℃冰箱内保存,保存期1个月~2个月。

4.3.2 长期保存方法

采用液体石蜡油低温保存法,即在斜面菌种上加一层灭菌的优质液体石蜡(高出斜面顶部1 cm),液体石蜡在使用前需要经过121℃高压蒸汽灭菌20 min,置-4℃~4℃下保存2年。

4.4 接种体繁殖与悬浮液制备

将供试菌株从试管中转入PDA平板,25℃黑暗条件下活化两次后,转接到PDA平板培养5 d~7 d,挑取菌丝块转接至PD培养液中,在28℃,120 r/min的恒温摇床上震荡培养7 d。将在PD液体培养基中培养好的菌丝球用双层纱布过滤,然后用组织捣碎机将菌丝打碎。再将打碎后的菌丝用离心机以4 000 r/min的速度离心10 min,弃上清液,取沉淀物加入适量的含1%吐温-40的蒸馏水稀释,用分光光度计(波长600 nm)检测,菌丝菌悬液的浓度稀释到吸光度值1.55~1.65。

5 鉴定条件和试验设计

5.1 鉴定环境

人工接种鉴定室应温度、湿度及光照条件可控,使植物(番茄)人工接种后具备良好的发病环境。

5.2 鉴定设计

鉴定材料随机排列或顺序排列,每份鉴定材料重复至少3次,每一重复10株苗。

5.3 鉴定对照材料

选择1个感病对照和1个抗病对照,如果生产中无抗性品种,抗性对照可不选。感病对照要求高度感病,选择标准为规定接种量及适宜环境条件下病情指数达到高感程度,且感病性稳定;抗病对照品种选用在规定的接种量及适宜环境条件下病情指数低于10,且抗病性稳定。

6 接种

6.1 鉴定材料育苗

鉴定材料种子在1%次氯酸钠中浸种10 min,无菌水冲洗后置于恒温培养箱中28℃催芽,芽长1 mm~3 mm时播种于50孔育苗钵中,覆土厚度1 cm~2 cm。育苗基质为草炭、蛭石和珍珠岩(3:1:1),经高温蒸汽灭菌(121℃,30 min)。在日光温室内育苗,室内温度为20℃~25℃,每钵一苗,所有幼苗应生长健壮、一致。

6.2 接种时期

幼苗长至 2 叶 1 心时进行接种。

6.3 接种方法

采用喷雾法接种,取制备好的接种悬浮液用小型喷雾器均匀喷布于番茄叶片的正反两面,接种量以叶片不滴落为宜。

6.4 接种后的管理

6.4.1 接种后 24 h 的管理

接种后置于 25℃~30℃ 接种室内,黑暗保湿 24 h,保湿棚内相对湿度(Relative Humidity, RH)在 85%~100%。

6.4.2 接种保湿 24 h 后的管理

24 h 保湿后,每天光照 12 h~14 h,保证 RH 80%~90%,培养温度 25℃~30℃,正常栽培管理。

7 病情调查

7.1 病情级别划分

苗期病情级别及其相对应的症状描述见表 1。

表 1 番茄匍柄霉叶斑病病情分级标准

病害级别	症状描述
0	无病斑
1	病斑面积占整个叶面积的 5%以下
3	病斑面积占整个叶面积的 5%~25%
5	病斑面积占整个叶面积的 26%~50%
7	病斑面积占整个叶面积的 51%~75%
9	病斑面积占整个叶面积的 75%以上

7.2 病情调查

接种 10 d 左右,感病对照充分发病且病情稳定时进行。

7.3 病情记载

参照附录 B 调查记载每一鉴定植株的病情级别,并计算病情指数。

病情指数按公式(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 ——各病情级别代表数值;

n ——各病情级别的叶片数;

N ——调查总叶片数;

S ——最高病情级别的代表数值。

8 抗病性鉴定

8.1 抗病性鉴定标准

依据鉴定材料 3 次重复的病情指数(DI)平均值确定其抗性水平,划分标准见表 2。

表 2 番茄匍柄霉叶斑病抗性评价标准

病情指数(DI)	抗性鉴定
0	免疫(I)
$0 < DI < 10$	高抗(HR)
$10 \leq DI < 30$	抗病(R)
$30 \leq DI < 50$	中抗(MR)
$50 \leq DI < 75$	感病(S)
$DI \geq 75$	高感(HS)

8.2 抗病性鉴定有效性判别

感病对照材料达到其相应感病程度,当番茄匍柄霉叶斑病发生(DI)≥50,该批次抗病性鉴定视为有效。



附 录 A
(资料性)
番茄匍柄霉叶斑病菌

A.1 学名

茄匍柄霉(*Stemphylium solani*)

番茄匍柄霉(*Stemphylium lycopersici*)

A.2 形态描述

茄匍柄霉(*Stemphylium solani*)在 PDA 培养上,25℃~28℃ 条件下进行匍柄霉培养,菌落匍匐生长,颜色为淡褐色或褐色。菌丝体表生或部分埋生,密集丛生。菌丝直径 2.5 μm~3 μm。分生孢子梗直立,单生,偶尔有 1 个分枝,圆柱形,直或弯曲,顶端产孢细胞囊状膨大,淡褐色至青褐色,产孢孔颜色相对较深,囊状产孢节处具有小刺突或呈不规则粗糙状,其他部位一般光滑,具有 1 个~5 个隔膜,(90~103) μm×(4~6) μm,产孢节囊状膨大部位直径 7.5 μm~8 μm,产孢孔直径 6 μm~7 μm。分生孢子阔卵圆形至近桶形,淡青褐色到深青褐色,具有 1 个~3 个横隔膜,1 个~4 纵隔膜,中横隔膜处明显缢缩,其他横隔膜处轻微至明显的缢缩,表面具微疣,至明显疣突或小刺。(28~32.5) μm×(19~25) μm,平均 31 μm×21.3 μm,长/宽=1.5~1.7,平均 1.6。

番茄匍柄霉(*Stemphylium lycopersici*)在平板计数琼脂培养基(Plate Count Agar,简称 PCA)25℃ 条件下,培养 2 周~3 周,菌落匍匐生长,初淡褐色,后逐渐中褐色或褐色,绒毛状,菌落直径 5 cm~7 cm,背面观黑褐色。菌丝体表生或者埋生。菌丝淡褐色至中褐色,光滑,有分隔,叉状分支,直径 1.7 μm~2.5 μm。分生孢子梗单生,圆柱状,侧生于菌丝上或直接着生于菌丝顶端,不分枝,分隔,3 个~6 个隔膜,(80~117) μm×(4.5~5) μm。分生孢子以内壁芽生式产生于分生孢子梗顶端囊状膨大部位的产孢孔处,囊状体直径 8.9 μm~9.5 μm,产孢孔直径 4 μm~5.3 μm,节囊状膨大部位淡褐色,其余部位淡褐色光滑。分生孢子单生,顶生,长方形或棍棒型,分生孢子的顶端假喙状尖细,自顶部至基部细胞渐变窄细,直立或略弯曲,淡褐色至深褐色,具 2 个~3 个横隔膜,没有纵隔膜,有 1 个~2 个明显的缢缩现象,分生孢子表面光滑,成熟分生孢子(50~68) μm×(13~18) μm,长/宽=2.6~3.1。

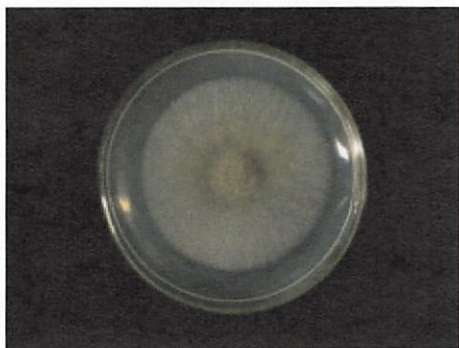


图 1 茄匍柄霉在 PDA 上菌落正面

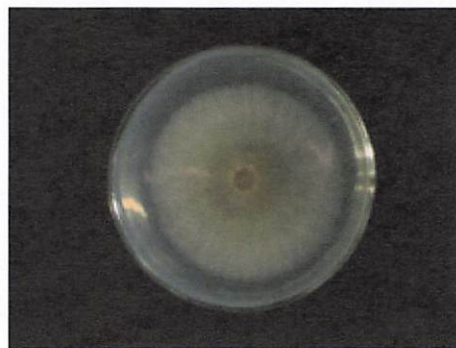


图 2 茄匍柄霉菌在 PCA 上菌落背面

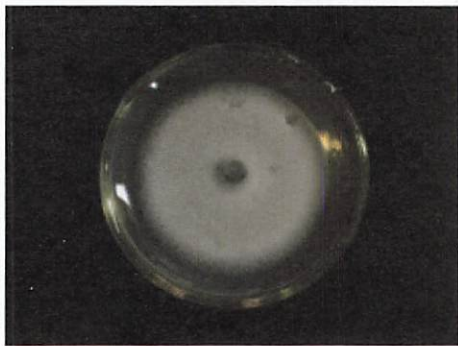


图3 番茄萎蔫霉在 PDA 上菌落正面

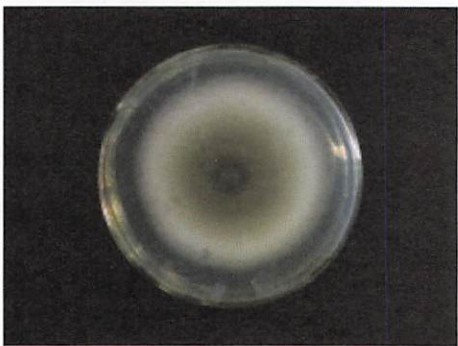


图4 番茄萎蔫霉在 PCA 上菌落背面



图5 茄萎蔫霉分生孢子



图6 番茄萎蔫霉分生孢子

A.3 发病症状描述

番茄萎蔫霉叶斑病主要危害叶片,发病早期叶面布满暗绿色或暗褐色圆形小斑点,后沿叶脉向四周逐渐扩展为直径 2 mm~5 mm 的不整齐的病斑,中部褪绿变为灰白至灰褐色。病斑中部凹陷逐渐变薄,后期病斑中部破裂、穿孔或者脱落。

附 录 B
(资料性)
鉴定记录表格

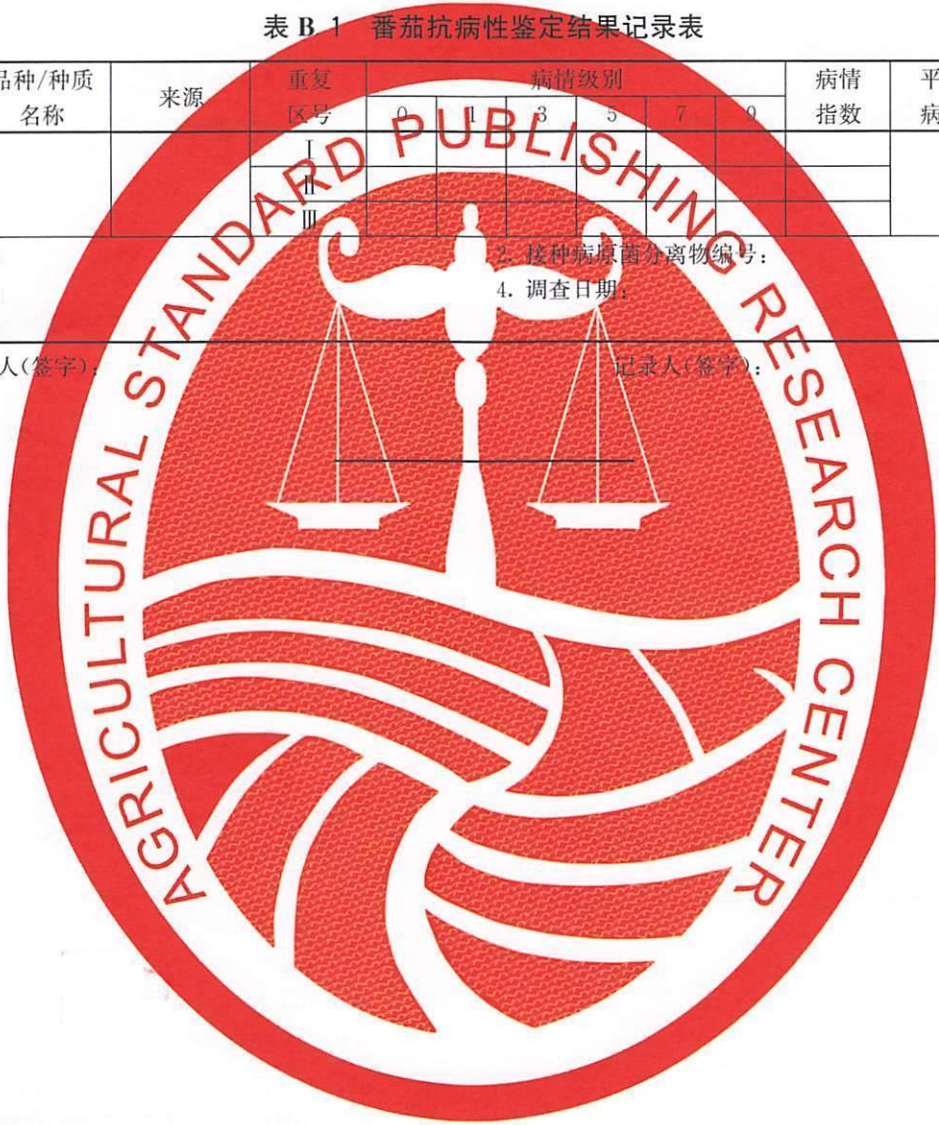
番茄抗病性鉴定结果记录表格见表 B.1。

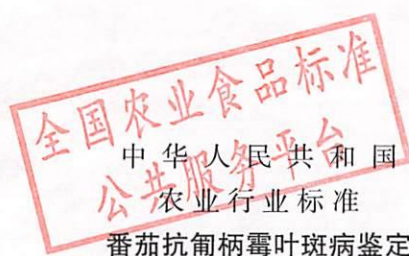
表 B.1 番茄抗病性鉴定结果记录表

编号	品种/种质 名称	来源	重复 区号	病情级别						病情 指数	平均 病指	抗性 评价
				0	1	3	5	7	9			
			I									
			II									
			III									
1. 鉴定地点:				2. 接种病原菌分离物编号:								
3. 接种日期:				4. 调查日期:								
5. 播种日期:												

鉴定技术负责人(签字):

记录人(签字):





中华人民共和国
农业行业标准
番茄抗匍柄霉叶斑病鉴定
技术规程

NY/T 3858—2021

* * *

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区麦子店街18号楼)

(邮政编码:100125 网址:www.ccap.com.cn)

北京科印技术咨询服务股份有限公司印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经销

* * *

开本 880mm×1230mm 1/16 印张 0.75 字数 15 千字

2021 年 10 月第 1 版 2021 年 10 月北京第 1 次印刷

书号: 16109 · 8715

定价: 26.00 元



NY/T 3858—2021

版权专有 侵权必究

举报电话: (010) 59194261