

### 大豆抗灰斑病鉴定技术规程

Rule for evaluation of soybean resistance to gray leaf spot

地方标准信息服务平台

2015 - 02 - 01 发布

2015 - 03 - 01 实施

---



## 前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009 给出的规则起草。

本标准由吉林省农业委员会提出并归口。

本标准起草单位：吉林省农业科学院。

本标准主要起草人：董志敏、刘佳、张伟、王丽、陈亮、衣志刚。

地方标准信息服务平台



# 大豆抗灰斑病鉴定技术规程

## 1 范围

本标准规定了人工控制条件下，大豆抗灰斑病鉴定活体接种法技术中涉及的病原物接种体制备、基础设施、人工接种、田间管理和抗性调查与评价。

本标准适用于大豆灰斑病抗性鉴定。

## 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，仅所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 1248 玉米抗病虫性鉴定技术规范

NY/T 1857 黄瓜主要病害抗病性鉴定技术规程

NY/T 1858 番茄主要病害抗病性鉴定技术规程

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**抗病性** *disease resistance*

植物避免、中止或阻滞病原物侵入与拓展，减轻发病和损失程度的一类特性。

### 3.2

**抗病性鉴定** *identification of disease resistance*

通过适宜技术或方法鉴别植物对特定病害的抵抗水平。

### 3.3

**抗性评价** *evaluation of resistance*

根据采用的技术标准判别植物寄主对特定病虫害反应程度和抵抗水平的描述。

[NY/T 1248.1-2006, 定义2.6]

### 3.4

**致病性** *pathogenicity*

病原物侵染寄主植物引起发病的能力。

[NY/T 1248.1-2006, 定义2.3]

### 3.5

**培养基 medium**

自然或人工配制的、可以使病原体在其生长和繁殖的基质。

3.6

**接种体 inoculum**

用于接种以引起病害的病原物或病原物的一部分。

[NY/T 1857.1-2010, 定义2.7]

3.7

**人工接种 artificial inoculation**

在人工控制条件下, 将接种体置于植物体适当部位并使之发病的过程。

3.8

**接种悬浮液 inoculum suspension**

用于接种的含有定量接种体的液体

[NY/T 1857.3-2010, 定义2.10]

3.9

**病情级别 disease rating scale**

定量植物个体或群体发病程度的数值化描述。

[NY/T 1248.1-2006, 定义2.5]

3.10

**生理小种 physiological race**

病原物种内在形态上无差异, 但在不同种植物和品种上具有显著致病性差异的类群。

[NY/T 1857.3-2010, 定义2.11]

3.11

**鉴别寄主 identification host**

用于鉴定和区分特定病原物的生理小种/致病型/株系的一套带有不同抗性基因的寄主品种、品系或材料。

3.12

**大豆灰斑病 gray leaf spot in soybean**

大豆灰斑病由大豆尾孢菌 *Cercospora sojina* Hara 所引起大豆真菌性病害, 又称斑点病、斑疹病、蛙眼病。

3.13

**病斑系数 disease spot coefficient**

衡量植物病斑大小和多少的数值。

4 病原物接种体制备

#### 4.1 病原物生理小种的选择

选择经权威部门纯化和鉴定的大豆尾孢菌单个或多个生理小种。

#### 4.2 培养基的制备

##### 4.2.1 马铃薯葡萄糖琼脂培养基（PDA）

将200 g马铃薯去皮切碎，文火煮30 min，滤出残渣，加入20 g琼脂粉和20 g葡萄糖，溶解后，补水至1000 mL，每管分装5 mL，121 °C高压灭菌40 min，摆斜面，冷却备用。

##### 4.2.2 高粱粒培养基

挑选大小均匀、饱满的高粱粒，清洗后浸泡一夜，文火煮40 min~60 min后，达到透而不烂，沥净水，装入250 mL三角瓶中，装入量150 mL左右，121 °C高压灭菌60 min，冷却备用。

#### 4.3 病原菌的繁殖

##### 4.3.1 一级菌

大豆灰斑病菌接种于马铃薯葡萄糖琼脂试管斜面培养基，22°C~25°C暗培养7 d~10 d，待菌丝布满斜面培养基，停止培养，选取无杂菌的试管作为一级菌。在扩繁二级菌前，将之短暂保存于4°C冰箱，时间不可过长，以7 d内为宜。同时，将生长较均匀铺满斜面培养基的试管，置4°C冰箱保存，作为以后接种的初级菌源。每3个月至6个月转管培养1次，保持菌的活性。

##### 4.3.2 二级菌

一级菌接种于高粱粒三角瓶培养基，22 °C~25 °C暗培养30 d~40 d。待菌丝浸透高粱粒，高粱粒变黑时，停止培养。在发泡前，将之短暂保存于4 °C冰箱，时间不可过长，以7 d内为宜。

#### 4.4 产孢及接种悬浮液制备

##### 4.4.1 产孢

将高粱粒二级菌摊铺于无菌的洁净瓷盘中，用灭过菌的潮湿纱布铺盖高粱粒表面，保持相对湿度60%~90%，或在80%相对湿度的人工培养箱内培养，22 °C~25 °C暗培养30 h~48 h，镜检确认产生大量分生孢子。

##### 4.4.2 接种悬浮液制备

清水淘洗高粱粒，分生孢子浓度调至 $1 \times 10^5$  个/mL~ $1 \times 10^6$  个/mL，即10（目镜）×10（物镜）视野内有10 个~15 个孢子，孢子悬浮液中加入蔗糖30 g/L。

### 5 基础设施

在抗性鉴定池或抗性鉴定圃中进行抗性鉴定：

- 抗性鉴定池，选择地势较高地块，建设半地下式鉴定池。鉴定池深1 m，宽4 m、长6 m，有排水设施，有条件的可以设置喷灌设施；
- 抗性鉴定圃，选择距离水源较近的田间地块，最好有一定遮阴条件。设置高1 m左右的钢筋架，用于接种时覆盖塑料布保湿。

## 6 人工接种

### 6.1 试验设计

根据试验设施，采用相应的试验设计：

- 抗性鉴定池，盆栽所用容器内直径不小于 0.25 m，高度不低于 0.20 m，每盆 5 株~6 株。参鉴材料随机排列，每个鉴定池设抗病和感病对照材料各 1 份，抗病对照为黑农 55，感病对照为公交 9723-6；
- 抗性鉴定圃，行长 3.00 m，垄宽 0.55 m，株距 0.10 m~0.12 m。参鉴材料随机排列，每 30 份材料设抗病和感病对照各 1 份，抗病对照为黑农 55，感病对照为公交 9723-6。

### 6.2 播种

5月末~6月上旬播种，每份参鉴材料接种前保留大小均匀一致的植株25株~30株。

### 6.3 接种方法

#### 6.3.1 时间

待参鉴材料生长至第4个或第5个三出复叶完全展开时，选择未来48 h内无较大降雨且相对凉爽的傍晚进行人工接种。

#### 6.3.2 方法

采用2 L超低量喷雾器均匀喷雾接种，平均每株接种菌液3 mL。接种7 d后，重复接种一次。

#### 6.3.3 诱发条件

根据试验设施，采用相应的诱发条件，将温度控制在30℃以下，相对湿度控制在60%~90%：

- 抗性鉴定池，接种后，立即将池底灌水约 10 cm，并用浸湿的布和遮阴网覆盖遮光保湿 48 h。温度高的时候，在上午 11 点至下午 16 点，掀开一面塑料布，通风降温；
- 抗性鉴定圃，接种后，立即在垄沟灌满水，用遮阴网和塑料布覆盖 48 h。温度高的时候，在上午 11 点至下午 16 点，掀开一面塑料布，通风降温。

## 7 田间管理

### 7.1 防虫除草

及时除草和防治害虫。

### 7.2 水分管理

接种48 h后，根据气候条件，不定期地给予喷水或池底或垄沟灌水，尽量保持接种环境具备较高湿度。

## 8 抗性调查与评价

### 8.1 调查方法



接种30 d~40 d, 调查发病情况。每份材料调查20株~25株, 每株调查2个完全接种三出复叶的每片小叶的病斑大小和病斑数量, 记载其权重系数(具体见表1), 计算病斑系数, 计算公式如下。

$$DSC = \frac{\sum(S \times N)}{n} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

$DSC$ ——病斑系数

$S$ ——病斑大小权重系数

$N$ ——病斑数量权重系数

$n$ ——调查总株数

表1 大豆灰斑病抗性鉴定权重系数划分标准

权重系数	0	1	2	3	4
病斑大小(直径)	无	<1 mm	1 mm~2 mm	2 mm~3 mm	>3 mm
病斑数量	无	1个~4个	5个~10个	11个~19个	多于20个, 或较大面积连片

## 8.2 抗性分级标准

根据鉴定材料的病斑系数评价抗性, 抗性评价标准见表2。

表2 大豆对灰斑病抗性评价标准

病斑系数	抗性评价
0	免疫 Immune (I)
$0.1 < DSC \leq 1.0$	高抗 Highly Resistant (HR)
$1.1 < DSC \leq 3.0$	抗病 Resistant (R)
$3.1 < DSC \leq 7.0$	中抗 Moderately resistant (MR)
$7.1 < DSC \leq 10.0$	中感 Moderately susceptible (MS)
$10.1 < DSC \leq 15.0$	感病 Susceptible (S)
$15.1 < DSC \leq 16.0$	高感 Highly susceptible (HS)

## 8.3 鉴定有效性判断

设置的感病对照品种表现为感病(病斑系数>10.0)时, 该批次鉴定视为有效。

## 8.4 重复鉴定

鉴定材料初次鉴定为免疫、高抗、抗和中抗, 需要进行重复鉴定, 以病斑系数最大的作为抗性评价结果。

## 8.5 调查记载表格

大豆抗灰斑病鉴定结果记载表格, 如表3所示。

表3 大豆抗灰斑病鉴定结果记载表

序号	鉴定材料	病斑大小权重系数×病斑多少权重系数																		病斑系数	抗性评价
		第1株						.....						第20株							
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6		
鉴定地点:										接种生理小种:											
接种日期:										调查日期:											
调查人:										鉴定技术负责人:											

地方标准信息服务平台

附 录 A  
(资料性附录)  
大豆灰斑病病原物及症状描述

### A.1 大豆灰斑病病原菌

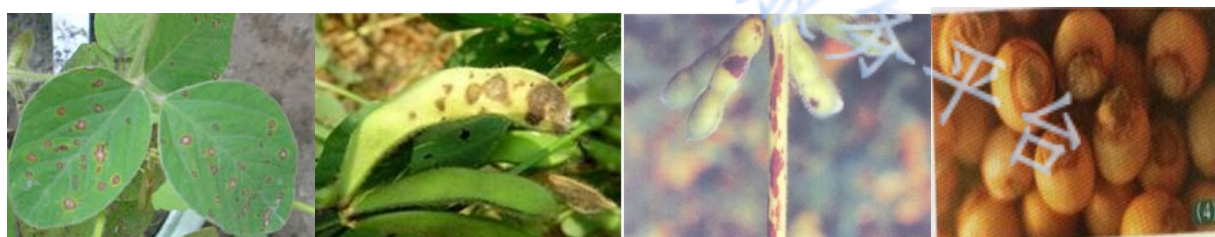
半知菌类尾孢属大豆尾孢菌，学名：*Cercospora sojina* Hara。分生孢子梗5根~12根成束从气孔伸出，不分枝，褐色。分生孢子倒棒状，具隔膜1个~11个，无色透明，大小(24 μm~108 μm) × (3 μm~9 μm)，孢子形状、大小因培养条件不同略有差异。



图A.1 大豆灰斑病病原菌图

### A.2 大豆灰斑病危害症状

成株叶片染病初现褪绿小圆斑，逐渐形成中间灰色至灰褐色，四周褐色的蛙眼斑，大小2 mm~5 mm，有的病斑呈椭圆或不规则形，湿度大时，叶背面病斑中间生出密集的灰色霉层，发病重的病斑布满整个叶片，融合或致病叶干枯。茎部染病产生椭圆形病斑，中央褐色，边缘红褐色，密布微细黑点。荚上病斑圆形或椭圆形，中央灰色，边缘红褐色。豆粒上病斑圆形或不规则形，边缘暗褐色，中央灰白，病斑上霉层不明显。



图A.2 大豆叶、荚、茎及籽粒灰斑病病症

附 录 B  
(资料性附录)  
大豆灰斑病菌已鉴定生理小种

根据在鉴别寄主上接种后致病性表现,目前北方已确定大豆灰斑病有16个生理小种,鉴别寄主对不同生理小种的表现如表B.1,吉林省优势生理小种为1号和7号,其次是10号和15号,5号为吉林省特有生理小种。

表B.1 大豆灰斑病病原菌生理小种鉴别

鉴别寄主	生理小种															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
九农 1 号	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
双跃 4 号	R	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R
合交 69-231	R	S	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R
ogden	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	S
钢 5151	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S
合丰 22	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	R	R

地方标准信息服务平台

附 录 C  
(资料性附录)  
吉林省大豆灰斑病发生规律

### C.1 病害循环

在田间，大豆灰斑病病菌以菌丝体或分生孢子在病残体或种子上越冬，成为翌年初侵染源。病残体上产生的分生孢子比种子上的数量大，是主要初侵染源。种子带菌后长出幼苗的子叶即见病斑，温湿度条件适宜病斑上产生大量分生孢子，借风雨传播进行再侵染。但风雨传播距离较近，主要侵染四周邻近植株，形成发病中心，后通过发病中心再向全田扩展。温度高低与潜育期直接相关，当气温15℃~30℃，有水滴或露水存在适于病菌侵入，气温25℃~28℃有两小时结露很易流行。气温15℃时潜育期16 d、20℃时13 d、25℃时8 d、28℃~30℃时7 d。分生孢子2天后侵染率降低26%，6 d后失去侵染力。

### C.2 气候条件

气候条件是决定大豆灰斑病流行的关键因素。适宜的湿度适合病斑产孢和病斑的侵染及扩散。在冠层相对湿度80%时病斑产孢最多，平均产孢量为10.0个/mm；冠层相对湿度低于60%或高于90%不利于病斑上分生孢子的形成。叶面温度对病斑产孢有较为重要的影响。叶面温度22℃时病斑产孢最多，平均产孢量为5.6个/mm，叶面温度低于14℃或高于30℃不利于病斑上的分生孢子形成。因此6月、7月，甚至是8月初，冷凉温度适宜大豆灰斑病产孢。

地方标准信息服务平台