

ICS 65.020
B16

DB35

福 建 省 地 方 标 准

DB 35/T 1220—2011

大豆疫霉菌致病性测定

Technical standard for pathogenicity test of *Phytophthora sojae*

2011 - 12 - 31 发布

2012 - 03 - 15 实施

福建省质量技术监督局 发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 术语与定义	1
3 致病性测定方法	1
3.1 育苗	1
3.2 接种体制备	1
3.3 接种时间	2
3.4 接种方法	2
3.5 接种后管理	2
3.6 调查部位	2
3.7 调查时间	2
3.8 病情调查与记载	2
4 病情指数计算	2
5 测定材料的灭活处理	2
附录 A (规范性附录) 胡萝卜培养基制备	3
附录 B (规范性附录) 大豆疫病病情分级标准	4

前 言

为规范大豆疫霉菌致病性测定技术，确保大豆疫霉菌致病性测定结果的准确性，有效地应用于大豆疫病抗病种质资源筛选和育种工作，特制定本规范。

本标准按 GB/T 1.1-2009 《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》给出的规则进行编写。

本标准由福建省农业科学院提出。

本标准由福建省农业厅归口。

本标准起草单位：福建省农业科学院植物保护研究所。

本标准主要起草人：兰成忠、陈庆河、翁启勇、李本金、赵健、邱荣洲。

大豆疫霉菌致病性测定

1 范围

本标准规定了大豆疫霉菌致病性测定过程的致病性测定、结果计算、测定材料灭活处理的方法。
本标准适用于大豆疫霉菌致病性的测定。

2 术语与定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

人工接种 Artificial inoculation

用人工培养的病原物，在人工控制的条件下，接种大豆植株诱发病害，根据大豆植株的发病程度判断病原菌的致病性强弱。

2.2

接种体 Inoculant

用于人工接种致病性鉴定用的大豆疫霉菌 (*Phytophthora sojae*) 卵孢子悬浮液。

2.3

下胚轴伤口接种 Hypocotyls inoculation technique

供试品种生长至2叶~3叶真叶时，用带7号针头的接种用注射器（2 mL），以针尖在大豆苗子叶下茎0.5 cm处向下划1 cm长的伤口，将接种体0.5 mL喷于伤口处。

2.4

对照品种 Contrast cultivar

在致病性测定时选定的感病品种Williams和当地主栽品种。

3 致病性测定方法

3.1 育苗

用于致病性测定的供试大豆品种(品系)和对照品种分别播于以新蛭石为基质的大小适宜的容器中，株距(1~2)×(1~2)cm，育苗期温度控制在20℃~30℃。每处理应不少于15株，设置3个重复。

3.2 接种体制备

将供试菌株的菌丝块移至胡萝卜培养基（参见附录A）上，25℃~28℃恒温下黑暗培养8 d~10 d，刮取培养基表面的培养物，用组织捣碎机配以适量无菌水将培养物捣碎成匀浆。在光学显微镜下观察培养物匀浆中大豆疫霉菌卵孢子的数量，用血球计数板将孢子悬浮液的终浓度调配至每毫升约含 2×10^4 个孢子。接种体应在使用当天制备。

3.3 接种时间

测定的大豆苗长至2叶~3叶真叶期。

3.4 接种方法

采用下胚轴接种方法。

3.5 接种后管理

接种后的大豆苗在20℃~25℃、相对湿度90%以上保湿48 h，转入20℃~30℃的温室培养，保持土壤含水量70%~80%。

3.6 调查部位

大豆苗下胚轴。

3.7 调查时间

接种4d后，当感病对照品种的株发病率75%以上、发病程度达到7级（参见附录B）以上方可进行病情调查。每隔1d调查一次病情，至少连续调查5次。

3.8 病情调查与记载

按调查标准（参见附录B）逐株调查，记载病级。

4 病情指数计算

将供试大豆品种的病情指数按计算公式（1）计算。

$$\text{病情指数} = \frac{\sum \text{病级株数} \times \text{相应病级代表值}}{\text{调查总株数} \times \text{最高病级代表值}} \times 100 \dots \dots \dots (1)$$

5 测定材料的灭活处理

- 5.1 剩余接种体带回实验室经灭菌处理。
- 5.2 将致病性测定后的大豆病株集中焚烧处理。
- 5.3 用于栽培大豆苗的基质带回实验室进行160℃干热灭菌处理。
- 5.4 用于栽培大豆苗的盆钵带回实验室，80℃水浴处理2h以上。

附 录 A
(规范性附录)
胡萝卜培养基制备

称取200g新鲜胡萝卜，切成小片后置于组织打碎机腔中，加入去离子水500mL，启动组织打碎机捣碎约40s，倾出组织捣碎液，用4层纱布过滤，滤过液置于1000mL量杯中，补足去离子水到1000mL，倾入可加热的容器中，加入琼脂16g，加热至琼脂完全融化，立即分装于带棉花或硅胶塞的三角瓶中，在121℃下蒸汽灭菌20min后，冷却，取出，备用。

附 录 B
(规范性附录)
大豆疫病病情分级标准

- 0级：接种部位无变化或稍变褐；
1级：接种部位产生病斑，病斑面积占茎部面积的1/4以下；
3级：接种部位病斑面积占茎部总面积的1/4~1/2；
5级：接种部位病斑占茎部面积的1/2以上；
7级：接种部位病斑连片，已形成绕茎现象，但植株并没萎蔫或枯死；
9级：植株萎蔫或枯死。
-