

T/ZJSIA

浙江省种子产业协会团体标准

T/ZJSIA 0002—2024

番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程

第1部分：番茄枯萎病、番茄根腐病抗性鉴定与 评价技术规程

Technical code of practice for evaluation of tomato resistance to diseases

Part 1: Technical code of practice for evaluation of tomato resistance to fusarium wilt and
root rot

2024-12-11 发布

2024-12-30 实施

浙江省种子产业协会 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。

T/ZJSIA 0002—2024《番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程》为系列标准，共6部分：

- 第1部分：番茄枯萎病、番茄根腐病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第2部分：番茄青枯病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第3部分：番茄晚疫病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第4部分：番茄叶霉病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第5部分：番茄早疫病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第6部分：番茄灰叶斑病抗性鉴定与评价技术规程；

本文件是T/ZJSIA 0002—2024《番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程》的第1部分。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由浙江省种子产业协会提出并归口。

本文件主要起草单位：浙江省农业科学院植物保护与微生物研究所、浙江省种子管理总站、杭州市农业科学研究、杭州市富阳区农业技术推广中心、浙江省苍南县农业技术推广站。

本文件主要起草人：王汉荣、武军、陈小央、吴早贵、李燕、祝玮、郑积荣、胡敏骏、董代幸、沈年桥。

番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程

第 1 部分：番茄枯萎病、番茄根腐病抗性鉴定与评价技术规程

1 范围

本文件规定了番茄枯萎病、番茄根腐病抗性鉴定与评价的术语和定义、接种体制备、鉴定用苗培育、鉴定方法、病情调查、结果统计和结果评价。

本文件适用于所有种类的番茄品种、品系及种质资源的番茄枯萎病、番茄根腐病的抗性鉴定与抗性评价。

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 16715 瓜菜作物种子 第3部分：茄果类
NY/T 2118 蔬菜育苗基质

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

植物所具有的能够克服或减轻病原物致病作用的可遗传性状。

3.2

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。

3.3

致病性 pathogenicity

病原物所具有的破坏寄主和引起病变的能力。

3.4

病情级别 disease rating

人为定量植物个体或群体发病程度的数值化描述。

3.5

病原分离物 pathogen isolate

采用人工方法从植物发病部位分离获得的、在特定环境条件下培养的病原物。

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。

3.7

接种液 inoculum suspension

用于接种的、含有接种体的悬浮液。

3.8

发病率 incidence of disease

发病植株数占总植株数的百分率。

3.9

病情指数 disease index (DI)

通过对植物个体发病程度（病情级别）数值的计算获得的群体发病程度的数值化描述形式，是描述发病严重度的综合指标。

4 接种体制备

4.1 基本设备

无菌室、恒温培养箱、恒温振荡培养箱、超净工作台、高压灭菌锅、冰箱、可控温的温室（温度保持在20℃~30℃）、塑料盆、铝锅、电炉、培养皿、试管、剪刀、镊子、广口瓶、酒精灯、滤纸、三角瓶、各种培养基等。

4.2 接种体分离

采用常规组织分离法进行单孢分离纯化。从番茄枯萎病、番茄根腐病的发病植株的病健交界处获取病组织，接种于PDA培养基分离纯化病原物。分离物经形态学和分子生物学鉴定，以及致病性测定确认为番茄枯萎病菌（*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Synder & Hensen），番茄根腐病病菌（*Fusarium solani* (Mart.) Sacc.），见附录B。

4.3 接种体确定

分别选择分布较广、致病力较强的番茄枯萎病菌、番茄根腐病菌的优势菌株作为用于人工接种鉴定的接种体。

4.4 接种体保存

将番茄枯萎病菌、番茄根腐病菌接种于PDA平板培养基，并在接种点周围放置一定数量的灭菌滤纸片，在25℃~28℃培养7 d后，取出滤纸片，经真空干燥后于-20℃~-30℃的低温冰箱中保存。或将番茄枯萎病菌、番茄根腐病菌接种于PDA斜面培养基，在25℃~28℃培养7 d后，置于冰箱中4℃~8℃下保存。

4.5 接种体悬浮液制备

将保存的用于人工接种鉴定的番茄枯萎病菌、番茄根腐病菌接种体移植于PDA平板培养基，25℃~28℃下培养7 d。在无菌操作下，将番茄枯萎病菌和番茄根腐病菌接种体接种于装有PL液体培养基或绿豆液体培养基的三角瓶中（液体培养基的体积是三角瓶容量的30%~40%），置于25℃~28℃下恒温振荡培养箱中，160 r/min~180 r/min振荡培养7 d~10 d。培养液经双层纱布过滤，滤液以4000 r/min离心10 min，去除上清液，加适量的无菌水稀释，制成接种体悬浮液。

5 鉴定用苗培育

5.1 种子质量

应符合GB 16715的要求。

5.2 浸种催芽

将番茄种子置于5%次氯酸钠溶液中浸种10 min，再用清水冲洗3次，然后用清水浸泡5 h，沥干水，置于28℃恒温箱中保湿催芽。

5.3 播种

采用营养钵盆栽法育苗，营养钵直径11 cm~13 cm、高10 cm~13 cm，基质应符合NY/T 2118的要求。将番茄种子露白后播种，每钵1粒种子，重复3次，每重复30钵，共90钵，待用。

5.4 接种前管理

播种后将营养钵置于温室中进行培育，出苗前温度保持在25℃~30℃，保持基质湿润；出苗后温度保持在23℃~28℃，基质湿度保持在60%~80%，正常栽培管理，不施用杀菌剂。

6 鉴定方法

6.1 对照品种设置

抗病性鉴定时，设置一个感病对照品种和一个抗病对照品种，感病对照不得缺省，抗病对照品种可缺省。感病对照品种宜选用本地区的常规感病品种，选择标准为在常规接菌量下病情指数大于60。抗病对照品种宜选用本地区的常规抗病品种，选择标准为在 1.0×10^6 个孢子/mL~ 4.0×10^6 个孢子/mL接菌量下病情指数小于20。

6.2 鉴定时间

每年4月~6月和9月~11月为番茄对枯萎病和根腐病抗性鉴定与抗性评价的最佳时间。

6.3 接种时期

在番茄苗三叶一心至五叶一心时进行。

6.4 接种液制备

用无菌水稀释接种体悬浮液，配制成浓度为 1.0×10^6 个孢子/mL~ 4.0×10^6 个孢子/mL的接种液。

6.5 接种方法

6.5.1 伤根接种

在距离番茄苗茎基部周围2.0 cm～3.0 cm范围内，定点六个方向，用宽度为1.5 cm～2.0 cm的无菌竹片垂直向下损伤根系后，每株用200 mL～250 mL接种液浇根，采用小拱棚保湿24 h～48 h。

6.5.2 浸根接种

取出番茄幼苗，清洗去除根部基质，在距幼苗根尖端1 cm处用剪刀断根，然后将幼苗根部浸泡在接种液中，20 min后移植于营养钵，采用小拱棚保湿24 h～48 h。

6.6 接种后管理

接种后的番茄苗置于23℃～28℃设施中，黑暗保湿（RH 85%～100%）24 h；之后保持正常光照，适时浇水，保持正常栽培管理，不施用杀菌剂。

7 病情调查

7.1 调查时间

接种后15 d～20 d时进行调查。也可根据感病的对照品种病级扩展到最高病级的时间作适当调整。

7.2 病情分级

病情调查的分级采用0级、1级、3级、5级、7级、9级的6级分级法。病情分级划分参见表1。

表1 番茄枯萎病和根腐病的病情分级划分

病级	症状描述
0级	番茄植株健康，无病症。
1级	番茄植株茎杆出现轻微病斑，但生长正常。
3级	番茄植株茎杆病斑较明显，5%～20%病变，植株叶片出现萎缩或轻微萎蔫现象；
5级	番茄植株茎杆病斑明显，20%～50%病变，植株叶片明显出现枯萎现象；
7级	番茄植株茎杆病斑明显，50%～75%病变，植株叶片萎蔫或枯萎；
9级	番茄植株茎杆病斑明显，75%以上病变，植株叶片枯萎或枯死。

7.3 调查方法

根据病害症状描述，调查每份鉴定品种（系）的发病情况，逐份材料进行分株调查，分别记载病情的分级。

8 结果统计

根据调查的结果计算各品种的株发病率和病情指数。

株发病率以“Ri”计，数值以“%”表示，按式（1）计算：

$$Ri = \frac{n_i}{n_t} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

式中：
 n_i ——发病株数；
 n_t ——总株数。
计算结果精确到小数点后两位。
病情指数以“DI”计，按式（2）计算：

$$DI = \frac{\sum (d_c \times n_c)}{n_t \times 9} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

式中：
 d_c —— 相应病级；
 n_c —— 各病级病株数；
 n_t —— 总株数。
计算结果精确到小数点后两位。

9 结果评价

9.1 鉴定有效性判别

感病对照品种达到其相应感病程度（ $DI \geq 50.0$ ），该批次抗病性鉴定视为有效。

9.2 抗病性划分

根据被鉴定品种的病情指数的大小评定品种的抗性级别，评定标准如表2。

表2 番茄枯萎病和根腐病抗性评价划分

序号	抗感级别（Q）		病情指数区间
	中文	英文缩写	
1	高抗	HR	$0 \leq DI \leq 10.00$
2	抗病	R	$10.00 < DI \leq 20.00$
3	中抗	MR	$20.00 < DI \leq 40.00$
4	中感	MS	$40.00 < DI \leq 60.00$
5	感病	S	$60.00 < DI \leq 70.00$
6	高感	HS	$70.00 < DI \leq 100.00$

9.3 结果记录

将番茄枯萎病、番茄根腐病的抗性鉴定与评价结果记录于表3。

表3 番茄枯萎病、番茄根腐病抗性鉴定与评价结果记载表

编号	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									
.....												
播种日期			接种日期							接种生育期		
接种病原物分离编号			接种病原物株系类型							调查时间		
鉴定人（签字）： 年 月 日						校核人（签字）： 年 月 日						
鉴定技术负责人（签字）： 鉴定单位：（盖章） 年 月 日												

附录 A

（资料性附录）

PDA培养基、PL液体培养基、绿豆液体培养基制作

A.1 PDA 培养基

配方为马铃薯200 g、葡萄糖20 g、琼脂17 g，加蒸馏水至1 000 mL。按培养基配方称取去皮马铃薯200 g，切成小块放入锅中，加水1 000 mL，在加热器上加热至沸腾，维持30 min，用2层纱布趁热在量杯上过滤，弃滤渣，取滤液补充水分到1 000 mL；把滤液放入锅中，加入葡萄糖20 g，琼脂17 g，然后放在石棉网上，小火加热，并用玻璃棒不断搅拌，待琼脂完全溶解后，再补充水分至1 000 mL，调pH值至6.8~7.0。将配制的培养基分装入试管或500 mL三角瓶内，在试管口或三角烧瓶口上塞上棉塞或泡沫塑料塞后，再在塞子外包一层牛皮纸，用记号笔注明培养基名称、组别、配制日期。试管的分装量为高度的1/5，灭菌后制成斜面；三角瓶的分装量以不超过其容积的一半为宜，灭菌后倒入灭菌培养皿，制成平板培养基。

A.2 PL 液体培养基

配方为马铃薯200 g、乳糖20 g、加蒸馏水至1 000 mL。按培养基配方称取去皮马铃薯200 g，切成小块放入锅中，加水1 000 mL，在加热器上加热至沸腾，维持30 min，用2层纱布趁热在量杯上过滤，弃滤渣，取滤液补充水分到1 000 mL；把滤液放入锅中，加入乳糖20 g，用玻璃棒搅拌后放在石棉网上，小火加热至沸腾，再补充水分至1 000 mL。将配制的培养基分装入500 mL三角瓶内，在三角烧瓶口上塞上棉塞或泡沫塑料塞后，再在塞子外包一层牛皮纸，用记号笔注明培养基名称、组别、配制日期后湿热灭菌。三角瓶的分装量以不超过其容积的一半为宜。

A.3 绿豆液体培养基

配方为绿豆40 g、氯化钠8 g，加蒸馏水至1 000 mL。按培养基配方称取绿豆40 g，放入锅中，加蒸馏水1 000 mL，在加热器上加热至沸腾，维持30 min，用2层纱布趁热在量杯上过滤，弃滤渣，取滤液补充水分到1000 mL；把滤液放入锅中，加入氯化钠8 g，用玻璃棒搅拌后放在石棉网上，小火加热至沸腾，再补充水分至1 000 mL。将配制的培养基分装入500 mL三角瓶内，在三角烧瓶口上塞上棉塞或泡沫塑料塞后，再在塞子外包一层牛皮纸，用记号笔注明培养基名称、组别、配制日期后湿热灭菌。三角瓶的分装量以不超过其容积的一半为宜。

附 录 B
(资料性附录)
番茄枯萎病菌、番茄根腐病菌

B.1 番茄枯萎病菌

Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici* Synder & Hensen; 在PDA培养基上, 菌丝为白色, 培养时间稍长培养基经常出现紫色, 菌丝体透明, 有分隔。孢子分为大型分生孢子、小型分生孢子和厚垣孢子。大型分生孢子着生在复杂而又有分枝的分生孢子梗或瘤状的孢子座上, 呈镰刀形至纺锤形, 椭圆型弯曲基部有小柄, 两端尖, 顶端呈钩状, 有的呈喙状弯曲, 壁薄。通常具有3个~5个分隔, 以3个分隔的常见, 大小为 $(22.8 \sim 38.4) \mu\text{m} \times (2.6 \sim 4.1) \mu\text{m}$, 黄褐色至橙色。大型分生孢子通常有3种培养型, I型为匀称镰刀形或纺锤形, 顶细胞较长, 足细胞明显或不明显, 多为3个分隔, 属典型的尖孢类型; II型较宽短或细长, 多为3个分隔, 有的可多达4个~5个分隔, 有时可达8个分隔; III型宽短, 顶端呈钩状, 有的呈喙状弯曲, 上端1/3处变宽, 基部细胞逐渐变窄, 足细胞有或不明显, 多为3个分隔, 近于马特型。多数为单胞, 少数有1个分隔, 通常为卵形, 有时为椭圆形、倒卵形、肾形、柱形, 大小为 $(5 \sim 12) \mu\text{m} \times (2.2 \sim 3.5) \mu\text{m}$, 通常着生于菌丝侧面的分生孢子梗, 聚集成假头状。厚垣孢子通常单生, 有时双生, 多数在老熟的菌丝顶端和中间形成, 有时亦可生于大型分生孢子上, 表面光滑, 偶有粗糙, 球形至卵圆形, 浅黄至黄褐色。

B.2 番茄根腐病菌

Fusarium solani (Mart.) Sacc., 病菌产生2种类型的分生孢子, 大型分生孢子镰刀型, 多细胞, 有3个隔膜, 具明显脚胞, 大小 $(28.9 \sim 42.1) \mu\text{m} \times (4.6 \sim 6.2) \mu\text{m}$, 可产生厚垣孢子; 小型分生孢子单胞, 无色, 椭圆形至纺锤形, 偶有1分隔, 大小 $(9.2 \sim 14.5) \mu\text{m} \times (5.2 \sim 5.9) \mu\text{m}$ 。此病主要侵染根部, 发病初期根部产生水渍状褐色坏死斑, 严重时整个根内部腐烂, 仅残留纤维状维管束, 病部呈褐色或红褐色。湿度大时, 根茎表面产生白色霉层(即为分生孢子)。由于根部腐烂病株易从土中拔起。发病植株随病害发展, 地上部生长不良, 叶片由外向里逐渐变黄, 最后整株枯死。

T/ZJSIA

浙江省种子产业协会团体标准

T/ZJSIA 0002—2024

番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程

第2部分：番茄青枯病抗性鉴定与评价技术规程

Technical code of practice for evaluation of tomato resistance to diseases
Part 2: Technical code of practice for evaluation of tomato resistance to bacterial wilt

2024 - 12 - 11 发布

2024 - 12 - 30 实施

浙江省种子产业协会 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。

T/ZJSIA 0002—2024《番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程》为系列标准，共6部分：

- 第1部分：番茄枯萎病、番茄根腐病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第2部分：番茄青枯病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第3部分：番茄晚疫病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第4部分：番茄叶霉病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第5部分：番茄早疫病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第6部分：番茄灰叶斑病抗性鉴定与评价技术规程；

本文件是T/ZJSIA 0002—2024《番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程》的第2部分。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由浙江省种子产业协会提出并归口。

本文件主要起草单位：浙江省农业科学院植物保护与微生物研究所、浙江省种子管理总站、杭州市农业科学研究、杭州市富阳区农业技术推广中心、浙江省苍南县农业技术推广站。

本文件主要起草人：王汉荣、武军、陈小央、吴早贵、李燕、祝玮、郑积荣、胡敏骏、董代幸、沈年桥。

番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程

第2部分：番茄青枯病抗性鉴定与评价技术规程

1 范围

本文件规定了番茄青枯病抗性鉴定与评价的术语和定义、接种体制备、鉴定用苗培育、鉴定方法、病情调查、结果统计和结果评价。

本文件适用于所有种类的番茄品种、品系及种质资源的番茄青枯病的抗性鉴定与抗性评价。

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 16715 瓜菜作物种子 第3部分：茄果类

NY/T 2118 蔬菜育苗基质

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本规程。

3.1

抗病性 disease resistance

植物所具有的能够克服或减轻病原物致病作用的可遗传性状。

3.2

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。

3.3

致病性 pathogenicity

病原物所具有的破坏寄主和引起病变的能力。

3.4

病情级别 disease rating

人为定量植物个体或群体发病程度的数值化描述。

3.5

病原分离物 pathogen isolate

采用人工方法从植物发病部位分离获得的、在特定环境条件下培养的病原物。

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。

3.7

接种液 inoculum suspension

用于接种的、含有接种体的悬浮液。

3.8

发病率 incidence of disease

发病植株数占总植株数的百分率。

3.9

病情指数 disease index (DI)

通过对植物个体发病程度（病情级别）数值的计算获得的群体发病程度的数值化描述形式，是描述发病严重度的综合指标。

4 接种体制备

4.1 基本设备

无菌室、恒温培养箱、恒温振荡培养箱、超净工作台、高压灭菌锅、冰箱、可控温的温室（温度保持在20℃~30℃）、塑料盆、铝锅、电炉、培养皿、试管、剪刀、镊子、广口瓶、酒精灯、滤纸、三角瓶、各种培养基等。

4.2 接种体分离

采用常规组织分离法进行单菌落分离纯化。从番茄青枯病的发病植株的病健交界部位获取病组织，接种于TTC培养基，在TTC培养基上挑选乳白色中心部位淡红色的单菌落分离纯化病原物。分离物经菌落形态学和分子生物学鉴定，以及致病性测定，确认为番茄青枯病菌（*Ralstonia solanacearum* (Smith) comb. cov），见附录B。

4.3 接种体确定

选择分布较广、致病力较强的番茄青枯病菌的优势菌株作为用于人工接种鉴定的接种体。

4.4 接种体保存

番茄青枯病菌在20℃下保存于无菌水中。

4.5 接种体悬浮液制备

用移植环沾取番茄青枯病菌接种体，在TTC培养基上画蛇形线，在32℃下恒温培养36 h~48 h，挑选乳白色中心部位淡红色的病原菌落，移入Wokimoto液体培养基，250 mL三角瓶接种1移植环菌液，放置摇床上，30℃恒温下振动培养48 h，制成接种体悬浮液。

5 鉴定用苗培育

5.1 种子质量

应符合GB 16715的要求。

5.2 浸种催芽

将番茄种子置于5%次氯酸钠溶液中浸种10 min，再用清水冲洗3次，然后用清水浸泡5 h，沥干水，置于28℃恒温箱中保湿催芽。

5.3 播种

采用营养钵盆栽法育苗，营养钵直径11 cm~13 cm、高10cm~13 cm，基质应符合NY/T 2118的要求。将番茄种子露白后播种，每钵1粒种子，重复3次，每重复30钵，共90钵，待用。

5.4 接种前管理

播种后将营养钵置于温室中进行培育，出苗前温度保持在25℃~30℃，保持基质湿润；出苗后温度保持在23℃~28℃，基质湿度保持在60%~80%，正常栽培管理，不施用杀菌剂。

6 鉴定方法

6.1 对照品种设置

抗病性鉴定时，设置一个感病对照品种和一个抗病对照品种，感病对照不得缺省，抗病对照品种可缺省。感病对照品种宜选用本地区的常规感病品种，选择标准为在常规接菌量下病情指数大于60。抗病对照品种宜选用本地区的常规抗病品种，选择标准为在 1.0×10^6 个孢子/mL~ 4.0×10^6 个孢子/mL接菌量下病情指数小于20。

6.2 鉴定时间

每年5月~6月和9月~11月为番茄对枯萎病和根腐病抗性鉴定与抗性评价的最佳时间。

6.3 接种时期

在番茄苗三叶一心至五叶一心时进行。

6.4 接种液制备

用无菌水稀释接种体悬浮液，配制成浓度为 1.0×10^6 个孢子/mL~ 4.0×10^6 个孢子/mL的接种液。

6.5 接种方法

6.5.1 伤根接种

在距离番茄苗茎基部周围2.0 cm~3.0 cm范围内，定点六个方向，用宽度为1.5 cm~2.0 cm的无菌竹片垂直向下损伤根系后，每株用200 mL~250 mL接种液浇根，采用小拱棚保湿24 h~48 h。

6.5.2 浸根接种

取出番茄幼苗，清洗去除根部基质，在距幼苗根尖端1 cm处用剪刀断根，然后将幼苗根部浸泡在接种液中，20 min后移植于营养钵，采用小拱棚保湿24 h~48 h。

6.6 接种后管理

接种后的番茄苗置于23℃~28℃设施中，黑暗保湿（RH 85%~100%）24 h；之后保持正常光照，适时浇水，保持正常栽培管理，不施用杀菌剂。

7 病情调查

7.1 调查时间

在接种后第15 d~20 d，逐株调查各鉴定品种（系）每个植株的发病情况，调查时间也可根据感病对照品种的病情分级扩展到最高病情分级的时间作适当调整。

7.2 病情分级划分

病情调查的分级采用0级、1级、3级、5级、7级、9级的6级分级法。病情分级划分参见表1。

表1 番茄青枯病病情分级划分

病级	症状描述
0级	番茄植株健康，无病症。
1级	番茄植株1片~2片叶片萎焉；
3级	番茄植株20%以下叶片萎焉；
5级	番茄植株20%~40%叶片萎焉；
7级	番茄植株40%~75%叶片萎焉；
9级	番茄植株75%~100%叶片萎焉植株所有叶片发病，番茄株枯死或即将枯死。

7.3 调查方法

根据病害症状描述，调查每份鉴定品种（系）的发病情况，逐份材料进行分株调查，分别记载病情的分级。

8 结果统计

根据调查的结果计算各品种的株发病率和病情指数。
株发病率以“Ri”计，数值以“%”表示，按式（1）计算：

$$Ri = \frac{n_i}{n_t} \times 100 \% \dots\dots\dots (1)$$

式中：
n_i ——发病株数；
n_t ——总株数。
计算结果精确到小数点后两位。
病情指数以“DI”计，按式（2）计算：

$$DI = \frac{\sum (d_c \times n_c)}{n_t \times 9} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

式中：
d_c —— 相应病级；
n_c —— 各病级病株数；
n_t —— 总株数。

计算结果精确到小数点后两位。

9 结果评价

9.1 鉴定有效性判别

当感病对照品种达到其相应感病程度（DI≥50.0），该批次抗病性鉴定视为有效。

9.2 抗病性划分

根据被鉴定品种的病情指数的大小评定品种的抗性级别，各级别评定标准如表 2。

表2 番茄青枯病抗性评价划分

序号	抗感级别（Q）		病情指数区间
	中文	英文缩写	
1	高抗	HR	0≤DI≤12.5
2	抗病	R	12.5<DI≤25.00
3	中抗	MR	25.0<DI≤50.00
4	中感	MS	50.00<DI≤60.00
5	感病	S	60.00<DI≤70.00
6	高感	HS	70.00<DI≤100.00

9.3 结果记录

将番茄青枯病的抗性鉴定与评价结果记录于表3。

表3 番茄青枯病鉴定与评价结果记载表

编号	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									
.....												
播种日期			接种日期			接种生育期						
接种病原物分离编号			接种病原物株系类型			调查时间						

鉴定人（签字）： 年 月 日	校核人（签字）： 年 月 日
鉴定技术负责人（签字）： 鉴定单位：（盖章） 年 月 日	

附录 A (资料性附录)

TTC 培养基、Wokimoto 液体培养基

A.1 TTC 培养基

配方为水解干酪素1 g、蛋白胨10 g、甘油5 mL，加蒸馏水至1 000 mL。按培养基配方称取上述成分，加蒸馏水，充分溶解后，加蒸馏水定容至1 L。将配制的培养基分装入500 mL三角瓶内，在三角烧瓶口上塞上棉塞或泡沫塑料塞后，再在塞子外包一层牛皮纸，用记号笔注明培养基名称、组别、配制日期后湿热灭菌。三角瓶的分装量以不超过其容积的一半为宜。使用前，每1 L培养基加5 mL质量浓度为10 g/L的TTC溶液。

A.3 Wokimoto 液体培养基

配方为马铃薯300 g、硝酸钙0.5 g、磷酸氢二钠2 g、蛋白胨5 g、蔗糖15 g，加蒸馏水至1 000 mL。加蒸馏水至1 000 mL。按培养基配方称取上述成分，加蒸馏水，充分溶解后，加蒸馏水定容至1 L，用0.1 mol/L氢氧化钠溶液，将pH调整为6.8-7.0。将配制的培养基分装入500 mL三角瓶内，在三角烧瓶口上塞上棉塞或泡沫塑料塞后，再在塞子外包一层牛皮纸，用记号笔注明培养基名称、组别、配制日期后湿热灭菌。三角瓶的分装量以不超过其容积的一半为宜。

附录 B
(资料性附录)
番茄青枯病病菌

B.1 病害症状

症状主要表现在成株期叶片和茎。叶片表现为，初始顶部新叶萎蔫下垂，后下部叶片发展产生凋萎，接下来才是中部叶片产生凋萎；发病后叶片色泽较淡，呈青枯状。发病初始植株叶片白天出现萎蔫，傍晚以后恢复正常，后很快扩展至整株萎蔫，并不再恢复而死亡。茎表现为，产生初为水浸状斑点，扩大后呈褐色1-2厘米斑块，病茎中下部表皮粗糙，常产生不定根。剖开病茎，病茎维管束变褐，横切后用手挤压可见乳白色黏液渗出。

B.2 病原菌分类地位

番茄青枯病菌: *Ralstonia solanacearum* (Smith) comb.cov

B.3 病原菌形态描述

番茄青枯病菌 (*Ralstonia solanacearum* (Smith) comb.cov) 在马铃薯蔗糖培养基上，菌落为乳白色光滑湿润菌落，在TTC培养基上，菌落为流动、平滑、带白色晕圈的红色菌落。菌体杆状，极生多根鞭毛 (2~4根)，菌落有两种类型，一是光滑、湿润、隆起，另一种是粗糙，干燥而低平，有些菌株能产生褐色素，菌体大小约 (0.5-0.7) μm $\times$ (1.5-2.5) μm 。

T/ZJSIA

浙江省种子产业协会团体标准

T/ZJSIA 0002—2024

番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程

第3部分：番茄晚疫病抗性鉴定与评价技术规程

Technical code of practice for evaluation of tomato resistance to diseases
Part 1: Technical code of practice for evaluation of tomato resistance to late blight

2024 - 12 - 11 发布

2024 - 12 - 30 实施

浙江省种子产业协会 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。

T/ZJSIA 0002—2024《番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程》为系列标准，共6部分：

- 第1部分：番茄枯萎病、番茄根腐病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第2部分：番茄青枯病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第3部分：番茄晚疫病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第4部分：番茄叶霉病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第5部分：番茄早疫病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第6部分：番茄灰叶斑病抗性鉴定与评价技术规程；

本文件是T/ZJSIA 0002—2024《番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程》的第3部分。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由浙江省种子产业协会提出并归口。

本文件主要起草单位：浙江省农业科学院植物保护与微生物研究所、浙江省种子管理总站、杭州市农业科学研究、杭州市富阳区农业技术推广中心、浙江省苍南县农业技术推广站。

本文件主要起草人：王汉荣、武军、陈小央、吴早贵、李燕、祝玮、郑积荣、胡敏骏、董代幸、沈年桥。

番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程

第3部分：番茄晚疫病抗性鉴定与评价技术规程

1 范围

本文件规定了番茄晚疫病抗性鉴定与评价的术语和定义、接种体制备、鉴定用苗培育、鉴定方法、病情调查、结果统计和结果评价。

本文件适用于所有种类的番茄品种、品系及种质资源的番茄晚疫病的抗性鉴定与抗性评价。

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 16715 瓜菜作物种子 第3部分：茄果类
NY/T 2118 蔬菜育苗基质

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本规程。

3.1

抗病性 disease resistance

植物所具有的能够克服或减轻病原物致病作用的可遗传性状。

3.2

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。

3.3

致病性 pathogenicity

病原物所具有的破坏寄主和引起病变的能力。

3.4

病情级别 disease rating

人为定量植物个体或群体发病程度的数值化描述。

3.5

病原分离物 pathogen isolate

采用人工方法从植物发病部位分离获得的、在特定环境条件下培养的病原物。

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。

3.7

接种液 inoculum suspension

用于接种的、含有接种体的悬浮液。

3.8

发病率 incidence of disease

发病植株数占总植株数的百分率。

3.9

病情指数 disease index (DI)

通过对植物个体发病程度（病情级别）数值的计算获得的群体发病程度的数值化描述形式，是描述发病严重度的综合指标。

4 接种体制备

4.1 基本设备

无菌室、恒温培养箱、恒温振荡培养箱、超净工作台、高压灭菌锅、冰箱、可控温的温室（温度保持在20℃~30℃）、塑料盆、铝锅、电炉、培养皿、试管、剪刀、镊子、广口瓶、酒精灯、滤纸、三角瓶、各种培养基等。

4.2 接种体分离

采用常规组织分离法进行单孢分离纯化。从番茄晚疫病的发病植株的病健交界部位获取病组织，接种于OA培养基分离纯化病原物。分离物经形态学和分子生物学鉴定，以及致病性测定确认为番茄晚疫病菌（*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary），见附录B。

4.3 接种体确定

分别选择分布较广、致病力较强的番茄晚疫病菌的优势菌株作为用于人工接种鉴定的接种体。

4.4 接种体保存

番茄晚疫病菌保存于黑麦粒培养基。每一试管中加入3 g黑麦粒和15 mL蒸馏水，高压湿热灭菌（121℃，20 min）后接种晚疫病菌，培养10d~14 d，置黑暗、18℃下培养保存。

4.5 接种体悬浮液制备

将保存在黑麦粒培养基上的晚疫病菌，在无菌操作下，移植于平皿OA，或黑麦平板培养基上，置于18℃~20℃培养12 d~20 d，待产生孢子囊后，再向每个平皿内加入无菌蒸馏水至淹没菌面，采用两层纱布过滤，连续两次收集孢子囊悬浮液，制成接种体悬浮液。

5 鉴定用苗培育

5.1 种子质量

应符合GB 16715的要求。

5.2 浸种催芽

将番茄种子置于5%次氯酸钠溶液中浸种10 min，再用清水冲洗3次，然后用清水浸泡5 h，沥干水，置于28℃恒温箱中保湿催芽。

5.3 播种

采用营养钵盆栽法育苗，营养钵直径11 cm~13 cm、高10 cm~13 cm，基质应符合NY/T 2118的要求。将番茄种子露白后播种，每钵1粒种子，重复3次，每重复30钵，共90钵，待用。

5.4 接种前管理

播种后将营养钵置于温室中进行培育，出苗前温度保持在25℃~30℃，保持基质湿润；出苗后温度保持在23℃~28℃，基质湿度保持在60%~80%，正常栽培管理，不施用杀菌剂。

6 鉴定方法

6.1 对照品种设置

抗病性鉴定时，设置一个感病对照品种和一个抗病对照品种，感病对照不得缺省，抗病对照品种可缺省。感病对照品种宜选用本地区的常规感病品种，选择标准为在常规接菌量下病情指数大于60。抗病对照品种宜选用本地区的常规抗病品种，选择标准为在 1.0×10^6 个孢子/mL~ 4.0×10^6 个孢子/mL接菌量下病情指数小于20。

6.2 鉴定时间

每年4月~6月和10月~12月为番茄对晚疫病抗性鉴定与抗性评价的最佳时间。

6.3 接种时期

在番茄苗七叶一心至八叶一心时进行。

6.4 接种液制备

用无菌水稀释接种体悬浮液，配制成浓度为 1.0×10^6 个孢子/mL~ 4.0×10^6 个孢子/mL的接种液，并置4℃下2 h后，立即用于接种。

6.5 接种方法

采用喷雾法接种。将已配制的接种液用小型喷雾器均匀喷雾到番茄苗的叶片表面及茎干等部位，以不滴水为度。

6.6 接种后管理

接种后的番茄苗置于23℃~28℃设施中，黑暗保湿（RH 85%~100%）24 h；之后保持正常光照，适时浇水，保持正常栽培管理，不施用杀菌剂。

7 病情调查

7.1 调查时间

接种后10 d~15 d时进行调查。也可根据感病的对照品种病级扩展到最高病级的时间作适当调整。

7.2 病情分级

病情调查的分级采用0级、1级、3级、5级、7级、9级的6级分级法。病情分级划分参见表1。

表1 番茄晚疫病的病情分级划分

病级	症状描述
0级	番茄植株健康，无病斑；
1级	0<病斑面积占整个叶面积≤5.0%；
3级	5.0%<病斑面积占整个叶面积≤30.0%；
5级	30.0%<病斑面积占整个叶面积≤50.0%；
7级	50.0%<病斑面积占整个叶面积≤70.0%；
9级	70.0%<病斑面积占整个叶面积≤100.0%。

7.3 调查方法

根据病害症状描述，调查每份鉴定种质的发病情况，逐份材料进行分株调查，分别记载病情的分级。

8 结果统计

根据调查的结果计算各品种的株发病率和病情指数。

株发病率以“Ri”计，数值以“%”表示，按式（1）计算：

$$Ri = \frac{n_i}{n_t} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

式中：

n_i ——发病株数；

n_t ——总株数。

计算结果精确到小数点后两位。

病情指数以“DI”计，按式（2）计算：

$$DI = \frac{\sum (d_c \times n_c)}{n_t \times 9} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

式中：

d_c —— 相应病级；

n_c —— 各病级病株数；
 n_t —— 总株数。
计算结果精确到小数点后两位。

9 结果评价

9.1 鉴定有效性判别

当感病对照品种达到其相应感病程度（ $DI \geq 50.0$ ），该批次抗病性鉴定视为有效。

9.2 抗病性划分

根据被鉴定品种的病情指数的大小评定品种的抗性级别，各级别评定标准如表2。

表2 番茄晚疫病抗性评价划分

序号	抗感级别（Q）		病情指数区间
	中文	英文缩写	
1	高抗	HR	$0 \leq DI \leq 10.00$
2	抗病	R	$10.00 < DI \leq 20.00$
3	中抗	MR	$20.00 < DI \leq 40.00$
4	中感	MS	$40.00 < DI \leq 60.00$
5	感病	S	$60.00 < DI \leq 70.00$
6	高感	HS	$70.00 < DI \leq 100.00$

9.3 结果记录

将番茄晚疫病的抗性鉴定与评价结果记录于表3。

表3 番茄晚疫病抗性鉴定与评价结果记载表

编号	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																			
.....																						
播种日期				接种日期				接种生育期														
接种病原物分离编号				接种病原物株系类型				调查时间														
鉴定人（签字）：								校核人（签字）：														
年 月 日								年 月 日														
鉴定技术负责人（签字）：																						
鉴定单位：（盖章）																						
年 月 日																						

附录 A
(资料性附录)
OA培养基、黑麦培养基制作

A.1 OA 培养基

燕麦片30 g加水1 000 mL，煮沸1 h，用纱布过滤后补足水至1 000 mL，加琼脂粉10~12融化后分装灭菌。琼脂加到15 g，可用于较长时期的培养，可促使孢子产生。分装后培养基应在1 h内灭菌，采用高压蒸汽湿热灭菌，在0.1 MPa蒸汽压下，温度达121℃，维持20 min。分装方法：（1）三角瓶（锥形瓶）分装。采用250 mL容积的三角瓶分装，每瓶分装约200 mL培养基，瓶口覆透气灭菌封口膜，以棉线扎紧。（2）试管分装。试管分装制作斜面培养基，主要用于菌种的转接和保存。取20 mL的干净试管，加入培养基约5 mL（1/4试管高度），试管口用脱脂棉制作的棉花塞塞口，7根试管为组，管口部分用报纸包裹，棉线扎紧。灭菌后应趁热取出，斜放在桌面制成斜面。注意：试管分装时尽量避免培养基粘在管口部分，否则培养基可能粘住棉花塞或引起微生物污染，影响后续试验操作。

A.2 黑麦培养基

配方为黑麦粒60g，蔗糖20 g、琼脂12 g，加蒸馏水至1 000 mL。按培养基配方称取黑麦粒60g，在300mL蒸馏水中浸泡 36h（15℃~18℃），然后倒出一部分浸泡水备用，留下的浸泡水要能淹没黑麦粒；捣碎黑麦粒1min~2min，黑麦悬浮液在50℃水浴3h，经3~4层纱布过滤，保留滤液。向浸泡水和滤液的混合液中加入蔗糖20g，再加蒸馏水至1000mL，最后加入琼脂12 g，加热融化。将配制的培养基分装入500 mL三角瓶内，在三角烧瓶口上塞上棉塞或乳胶塑料塞后，再在塞子外包一层牛皮纸，用记号笔注明培养基名称、组别、配制日期。三角瓶的分装量以不超过其容积的一半为宜，高压灭菌（121℃，20 min）。灭菌后倒入灭菌培养皿，制成平板培养基。

附录 B
(资料性附录)
番茄晚疫病菌菌

B.1 病原菌分类地位

番茄晚疫病菌 *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary

B.2 病害症状

幼苗发病：初期叶片产生暗绿色水浸状病斑，并逐渐向主茎蔓延，使茎基部变细，呈水渍状缢缩，最后整株萎蔫或折倒，湿度大时病部表面着生白色霉层；叶片发病：多从植株中下部叶尖或叶缘开始，逐渐向上部叶片和果实蔓延，初期为暗绿色，不规则水渍状病斑，病健交界处无明显界限。空气湿度较大时，病斑会迅速扩展，叶背边缘可见一层白色霉层。空气干燥时病斑呈浅褐色，继而变为暗褐色后干枯；茎秆发病，初呈水渍状，渐呈暗褐色或黑褐色腐败状，病茎部组织变软，水分供应受阻，严重的病部折断，植株萎蔫；果实发病：多从青果近果柄处发病，病斑呈不明显的油渍状大斑，逐渐向四周发展呈云状不规则斑，病斑边缘没有明显界限，后期逐渐变为深褐色，病斑稍凹陷，病果质硬不软腐，周缘不变红，潮湿时病斑表面产生一层白色霉状物，发病严重时果实病部出现条状裂纹。

B.3 病原菌形态描述

菌丝无色，无隔膜，在寄主细胞间隙生长，以很少的丝状吸器伸入寄主细胞内吸取营养。病斑上的白霉是病菌的孢隔梗和孢子囊。孢囊梗3~5根成丛，由叶背气孔伸出；孢囊梗纤细，上部常有3~4个分枝，其顶端膨大形成孢子囊。当一个孢子囊形成后孢囊梗又继续生长，把第一个孢子囊推向一旁，呈侧生状，其顶端再生第二个孢子囊。这样每一分枝在短时间内可以陆续产生好几个孢子囊。凡曾着生过孢子囊的部分均肿胀，因此使孢囊梗的主梗和分枝先端普成粗细不匀的状态。孢子囊长可达1 mm，基部宽约10 μm。孢子囊无色单胞，卵圆形，大小为(22~32) μm × (16~24) μm，顶端有乳头状突起，在低温高湿投机条件下能产生6~12个游动孢子，从孢子囊顶端乳头状突起处释放出来。游动孢子肾状，在凹入部位侧生两根鞭毛。卵孢子膜厚，黄色，直径24~35 μm。此外，本菌也能在土壤中形成薄壁圆孢子和厚垣孢子。薄壁圆孢子直径为(15~24) μm，褐色，均具有致病能力。番茄晚疫病菌的致病力很强，有生理分化现象。

T/ZJSIA

浙江省种子产业协会团体标准

T/ZJSIA 0002—2024

番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程 第4部分：番茄叶霉病抗性鉴定与评价技术规程

Technical code of practice for evaluation of tomato resistance to diseases

Part 1: Technical code of practice for evaluation of tomato resistance to leaf mold

2024 - 12 - 11 发布

2024 - 12 - 30 实施

浙江省种子产业协会 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。

T/ZJSIA 0002—2024《番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程》为系列标准，共6部分：

- 第1部分：番茄枯萎病、番茄根腐病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第2部分：番茄青枯病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第3部分：番茄晚疫病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第4部分：番茄叶霉病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第5部分：番茄早疫病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第6部分：番茄灰叶斑病抗性鉴定与评价技术规程；

本文件是T/ZJSIA 0002—2024《番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程》的第4部分。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由浙江省种子产业协会提出并归口。

本文件主要起草单位：浙江省农业科学院植物保护与微生物研究所、浙江省种子管理总站、杭州市农业科学研究、杭州市富阳区农业技术推广中心、浙江省苍南县农业技术推广站。

本文件主要起草人：王汉荣、武军、陈小央、吴早贵、李燕、祝玮、郑积荣、胡敏骏、董代幸、沈年桥。

番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程

第4部分：番茄叶霉病抗性鉴定与评价技术规程

1 范围

本文件规定了番茄叶霉病抗性鉴定与评价的术语和定义、接种体制备、鉴定用苗培育、鉴定方法、病情调查、结果统计和结果评价。

本文件适用于所有种类的番茄品种、品系及种质资源的番茄叶霉病的抗性鉴定与抗性评价。

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 16715 瓜菜作物种子 第3部分：茄果类

NY/T 2118 蔬菜育苗基质

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本规程。

3.1

抗病性 disease resistance

植物所具有的能够克服或减轻病原物致病作用的可遗传性状。

3.2

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。

3.3

致病性 pathogenicity

病原物所具有的破坏寄主和引起病变的能力。

3.4

病情级别 disease rating

人为定量植物个体或群体发病程度的数值化描述。

3.5

病原分离物 pathogen isolate

采用人工方法从植物发病部位分离获得的、在特定环境条件下培养的病原物。

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。

3.7

接种液 inoculum suspension

用于接种的、含有接种体的悬浮液。

3.8

发病率 incidence of disease

发病植株数占总植株数的百分率。

3.9

病情指数 disease index (DI)

通过对植物个体发病程度（病情级别）数值的计算获得的群体发病程度的数值化描述形式，是描述发病严重度的综合指标。

4 接种体制备

4.1 基本设备

无菌室、恒温培养箱、恒温振荡培养箱、超净工作台、高压灭菌锅、冰箱、可控温的温室（温度保持在20℃~30℃）、塑料盆、铝锅、电炉、培养皿、试管、剪刀、镊子、广口瓶、酒精灯、滤纸、三角瓶、各种培养基等。

4.2 接种体分离

采用常规组织分离法进行单孢分离纯化。从番茄叶霉病的发病植株的病健交界部位获取病组织，接种于PDA培养基分离纯化病原物。分离物经形态学和分子生物学鉴定，以及致病性测定确认为番茄叶霉病菌（*Fulvia fulva* (Cooke) Ciferri），见附录B。

4.3 接种体确定

分别选择分布较广、致病力较强的番茄叶霉病菌的优势菌株作为用于人工接种鉴定的接种体。

4.4 接种体保存

将番茄叶霉病菌接种于PDA平板培养基，并在接种点周围放置一定数量的灭菌滤纸片，在25℃~28℃培养7 d后，取出滤纸片，经真空干燥后于-20℃~-80℃的低温冰箱中保存。或将番茄叶霉

病菌接种于PDA斜面培养基，在25℃~28℃培养7 d后，置于冰箱中4℃~8℃下保存。

4.5 接种体悬浮液制备

将保存于PDA培养基的番茄叶霉病菌，在无菌操作下，移植于PDA平板培养基上，置于22℃~24℃培养15 d~20 d，待产生分生孢子后，再向每个平皿内加入无菌蒸馏水至淹没菌面，用玻璃棒洗下分生孢子，连续两次收集孢子悬浮液，制成接种体悬浮液。

5 鉴定用苗培育

5.1 种子质量

应符合GB 16715的要求。

5.2 浸种催芽

将番茄种子置于5%次氯酸钠溶液中浸种10 min，再用清水冲洗3次，然后用清水浸泡5 h，沥干水，置于28℃恒温箱中保湿催芽。

5.3 播种

采用营养钵盆栽法育苗，营养钵直径11 cm~13 cm、高10 cm~13 cm，基质应符合NY/T 2118的要求。将番茄种子露白后播种，每钵1粒种子，重复3次，每重复30钵，共90钵，待用。

5.4 接种前管理

播种后将营养钵置于温室中进行培育，出苗前温度保持在25℃~30℃，保持基质湿润；出苗后温度保持在23℃~28℃，基质湿度保持在60%~80%，正常栽培管理，不施用杀菌剂。

6 鉴定方法

6.1 对照品种设置

抗病性鉴定时，设置一个感病对照品种和一个抗病对照品种，感病对照不得缺省，抗病对照品种可缺省。感病对照品种宜选用本地区的常规感病品种，选择标准为在常规接菌量下病情指数大于60。抗病对照品种宜选用本地区的常规抗病品种，选择标准为在 1.0×10^6 个孢子/mL~ 4.0×10^6 个孢子/mL接菌量下病情指数小于20。

6.2 鉴定时间

每年4月~6月为番茄对叶霉病抗性鉴定与抗性评价的最佳时间。

6.3 接种时间

在番茄苗三叶一心至五叶一心时进行。

6.4 接种液制备

用无菌水稀释接种体悬浮液，配制成浓度为 1.0×10^6 个孢子/mL~ 4.0×10^6 个孢子/mL的接种液。

6.5 接种方法

采用喷雾法接种。将已配制的接种液用小型喷雾器均匀喷雾到番茄苗的叶片表面及茎干等部位，以不滴水为度。

6.6 接种后管理

接种后的番茄苗置于23℃~28℃设施中，黑暗保湿（RH 85%~100%）24 h；之后保持正常光照，适时浇水，保持正常栽培管理，不施用杀菌剂。

7 病情调查

7.1 调查时间

接种后15d~20 d时进行调查。也可根据感病的对照品种病级扩展到最高病级的时间作适当调整。

7.2 病情分级

病情调查的分级采用0级、1级、3级、5级、7级、9级的6级分级法。病情分级划分参见表1。

表1 番茄叶霉病的病情分级划分

病级	症状描述
0级	番茄植株健康，无病斑。
1级	0<病斑面积占整个叶面积≤5.0%。
3级	5.0%<病斑面积占整个叶面积≤10.0%
5级	10.0%<病斑面积占整个叶面积≤20.0%；
7级	20.0%<病斑面积占整个叶面积≤50.0%；
9级	50.0%<病斑面积占整个叶面积≤100.0%。

7.3 调查方法

根据病害症状描述，调查每份鉴定品种（系）的发病情况，逐份材料进行分株调查，分别记载病情的分级。

8 结果统计

根据调查的结果计算各品种的株发病率和病情指数。

株发病率以“R_i”计，数值以“%”表示，按式（1）计算：

$$Ri = \frac{n_i}{n_t} \times 100 \% \dots\dots\dots (1)$$

式中：

n_i ——发病株数；

n_t ——总株数。

计算结果精确到小数点后两位。

病情指数以“DI”计，按式（2）计算：

$$DI = \frac{\sum (d_c \times n_c)}{n_t \times 9} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

式中：
d_c —— 相应病级；
n_c —— 各病级病株数；
n_t —— 总株数。
计算结果精确到小数点后两位。

9 结果评价

9.1 鉴定有效性判别

当感病对照品种达到其相应感病程度（DI≥50.0），该批次抗病性鉴定视为有效。

9.2 抗病性划分

根据被鉴定品种的病情指数的大小评定品种的抗性级别，各级别评定标准如表2。

表2 番茄叶霉病抗性评价划分

序号	抗感级别（Q）		病情指数区间
	中文	英文缩写	
1	高抗	HR	0≤DI≤10.00
2	抗病	R	10.00<DI≤20.00
3	中抗	MR	20.00<DI≤30.00
4	中感	MS	30.00<DI≤50.00
5	感病	S	50.00<DI≤70.00
6	高感	HS	70.00<DI≤100.00

9.3 结果记录

将番茄叶霉病的抗性鉴定与评价结果记录于表3。

表3 番茄抗叶霉病鉴定与评价结果记载表

编号	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									
.....												
播种日期			接种日期			接种生育期						

接种病原物分离编号		接种病原物株系类型		调查时间	
鉴定人（签字）：		校核人（签字）：			
年 月 日		年 月 日			
鉴定技术负责人（签字）：					
鉴定单位：（盖章）					
年 月 日					

附录 A
(资料性附录)
PDA培养基制作

A.1 PDA 培养基

配方为马铃薯200 g、葡萄糖20 g、琼脂17 g，加蒸馏水至1 000 mL。按培养基配方称取去皮马铃薯200 g，切成小块放入锅中，加水1 000 mL，在加热器上加热至沸腾，维持30 min，用2层纱布趁热在量杯上过滤，弃滤渣，取滤液补充水分到1 000 mL；把滤液放入锅中，加入葡萄糖20 g，琼脂17 g，然后放在石棉网上，小火加热，并用玻璃棒不断搅拌，待琼脂完全溶解后，再补充水分至1 000 mL，调pH值至6.8~7.0。将配制的培养基分装入试管或500 mL三角瓶内，在试管口或三角烧瓶口上塞上棉塞或泡沫塑料塞后，再在塞子外包一层牛皮纸，用记号笔注明培养基名称、组别、配制日期。试管的分装量为高度的1/5，灭菌后制成斜面；三角瓶的分装量以不超过其容积的一半为宜，灭菌后倒入灭菌培养皿，制成平板培养基。

附录 B
(资料性附录)
番茄叶霉病菌

B.1 病害症状

主要为害叶片，严重时也为害茎、花、果实等。叶片染病，叶面出现椭圆形或不规则形淡黄色病斑，叶背面病斑上长出灰褐色至黑褐色的绒状霉层，是病菌的分生孢子梗和分生孢子。条件适宜时，病叶正面也长出霉层。病害严重时可引起全叶卷曲，植株呈现黄褐色干枯。果实染病，果蒂附近形成圆形黑色病斑，硬化稍凹陷，不能食用。嫩茎及果柄上的症状与叶上相似。

B.2 病原菌分类地位

番茄叶霉病菌：*Fulvia fulva* (Cooke) Ciferri

B.3 病原菌形态描述

病菌分生孢子梗暗橄榄色，成束从气孔伸出，稍具分枝，具1~10个隔膜。产孢细胞多芽生或单芽生，合轴式分支，上端膨大产生分生孢子。分生孢子串生，孢子为椭圆形或圆柱形，淡棕色至橄榄色，具0~3个隔膜，孢子大小为 $(14\ \mu\text{m}\sim 38\ \mu\text{m}) \times (5\ \mu\text{m}\sim 9\ \mu\text{m})$ 。

T/ ZJSIA

浙江省种子产业协会团体标准

T/ZJSIA 0002—2024

番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程

第5部分：番茄早疫病抗性鉴定与评价技术规程

Technical code of practice for evaluation of tomato resistance to diseases
Part 1: Technical code of practice for evaluation of tomato resistance to early blight

2024 - 12 - 11 发布

2024 - 12 - 30 实施

浙江省种子产业协会 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。

T/ZJSIA 0002—2024《番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程》为系列标准，共6部分：

- 第1部分：番茄枯萎病、番茄根腐病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第2部分：番茄青枯病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第3部分：番茄晚疫病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第4部分：番茄叶霉病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第5部分：番茄早疫病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第6部分：番茄灰叶斑病抗性鉴定与评价技术规程；

本文件是T/ZJSIA 0002—2024《番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程》的第5部分。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由浙江省种子产业协会提出并归口。

本文件主要起草单位：浙江省农业科学院植物保护与微生物研究所、浙江省种子管理总站、杭州市农业科学研究、杭州市富阳区农业技术推广中心、浙江省苍南县农业技术推广站。

本文件主要起草人：王汉荣、武军、陈小央、吴早贵、李燕、祝玮、郑积荣、胡敏骏、董代幸、沈年桥。

番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程

第 5 部分：番茄早疫病抗性鉴定与评价技术规程

1 范围

本文件规定了番茄早疫病抗性鉴定与评价的术语和定义、接种体制备、鉴定用苗培育、鉴定方法、病情调查、结果统计和结果评价。

本文件适用于所有种类的番茄品种、品系及种质资源的番茄早疫病的抗性鉴定与抗性评价。

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 16715 瓜菜作物种子 第3部分：茄果类

NY/T 2118 蔬菜育苗基质

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本规程。

3.1

抗病性 disease resistance

植物所具有的能够克服或减轻病原物致病作用的可遗传性状。

3.2

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。

3.3

致病性 pathogenicity

病原物所具有的破坏寄主和引起病变的能力。

3.4

病情级别 disease rating

人为定量植物个体或群体发病程度的数值化描述。

3.5

病原分离物 pathogen isolate

采用人工方法从植物发病部位分离获得的、在特定环境条件下培养的病原物。

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。

3.7

接种液 inoculum suspension

用于接种的、含有接种体的悬浮液。

3.8

发病率 incidence of disease

发病植株数占总植株数的百分率。

3.9

病情指数 disease index (DI)

通过对植物个体发病程度（病情级别）数值的计算获得的群体发病程度的数值化描述形式，是描述发病严重度的综合指标。

4 接种体制备

4.1 基本设备

无菌室、恒温培养箱、恒温振荡培养箱、超净工作台、高压灭菌锅、冰箱、可控温的温室（温度保持在20℃~30℃）、塑料盆、铝锅、电炉、培养皿、试管、剪刀、镊子、广口瓶、酒精灯、滤纸、三角瓶、各种培养基等。

4.2 接种体分离

采用常规组织分离法进行单孢分离纯化。从番茄早疫病的发病植株的病健交界部位获取病组织，接种于PDA培养基分离纯化病原物。分离物经形态学和分子生物学鉴定，以及致病性测定确认为番茄早疫病病菌 *Alternaria solani* (Ell.et Mart.) Jones et Grout., 见附录B。

4.3 接种体确定

分别选择分布较广、致病力较强的番茄早疫病病菌的优势菌株作为用于人工接种鉴定的接种体。

4.4 接种体保存

将番茄早疫病病菌接种于PDA平板培养基，并在接种点周围放置一定数量的灭菌滤纸片，在25℃~28℃培养7 d后，取出滤纸片，经真空干燥后于-20℃~-80℃的低温冰箱中保存。或将番茄早疫病病菌接种于

PDA斜面培养基，在25℃~28℃培养7 d后，置于冰箱中4℃~8℃下保存。

4.5 接种体悬浮液制备

将保存于PDA培养基的番茄早疫病病菌，在无菌操作下，移植于PDA平板培养基上，置于25℃~26℃培养7 d，再向每个平皿内加入无菌蒸馏水至淹没菌面，用玻棒洗除气生菌丝，紫外线照射2min，置于25℃~26℃36小时皿内形成大量分生孢子，用无菌蒸馏水洗下并收集分生孢子悬浮液，制成接种体悬浮液。

5 鉴定用苗培育

5.1 种子质量

应符合GB 16715的要求。

5.2 浸种催芽

将番茄种子置于5%次氯酸钠溶液中浸种10 min，再用清水冲洗3次，然后用清水浸泡5 h，沥干水，置于28℃恒温箱中保湿催芽。

5.3 播种

采用营养钵盆栽法育苗，营养钵直径11 cm~13 cm、高10cm~13 cm，基质应符合NY/T 2118的要求。将番茄种子露白后播种，每钵1粒种子，重复3次，每重复30钵，共90钵，待用。

5.4 接种前管理

播种后将营养钵置于温室中进行培育，出苗前温度保持在25℃~30℃，保持基质湿润；出苗后温度保持在23℃~28℃，基质湿度保持在60%~80%，正常栽培管理，不施用杀菌剂。

6 鉴定方法

6.1 对照品种设置

抗病性鉴定时，设置一个感病对照品种和一个抗病对照品种，感病对照不得缺省，抗病对照品种可缺省。感病对照品种宜选用本地区的常规感病品种，选择标准为在常规接菌量下病情指数大于60。抗病对照品种宜选用本地区的常规抗病品种，选择标准为在 1.0×10^6 个孢子/mL~ 4.0×10^6 个孢子/mL接菌量下病情指数小于20。

6.2 鉴定时间

每年4月~6月和10月~12月为番茄对早疫病抗性鉴定与抗性评价的最佳时间。

6.3 接种时间

在番茄苗四叶一心至六叶一心时进行。

6.4 接种液制备

用无菌水稀释接种体悬浮液，配制成浓度为 1.0×10^6 个孢子/mL~ 4.0×10^6 个孢子/mL的接种液。

6.5 接种方法

采用喷雾法接种。将已配制的接种液用小型喷雾器均匀喷雾到番茄苗的叶片表面及茎干等部位，以不滴水为度。

6.6 接种后管理

接种后的番茄苗置于23℃~28℃设施中，黑暗保湿（RH 85%~100%）24 h；之后保持正常光照，适时浇水，保持正常栽培管理，不施用杀菌剂。

7 病情调查

7.1 调查时间

接种后7d~10d 时进行调查。也可根据感病的对照品种病级扩展到最高病级的时间作适当调整。

7.2 病情分级

病情调查的分级采用0级、1级、3级、5级、7级、9级的6级分级法。病情分级划分参见表1。

表1 番茄早疫病的病情分级划分

病级	症状描述
0级	番茄植株健康，无病斑。
1级	0<病斑面积占整个叶面积≤ 5.0%。
3级	5.0%<病斑面积占整个叶面积≤10.0%
5级	10.0%<病斑面积占整个叶面积≤20.0%；
7级	20.0%<病斑面积占整个叶面积≤50.0%；
9级	50.0%<病斑面积占整个叶面积≤100.0%。

7.3 调查方法

根据病害症状描述，调查每份鉴定品种（系）的发病情况，逐份材料进行分株调查，分别记载病情的分级。

8 结果统计

根据调查的结果计算各品种的株发病率和病情指数。

株发病率以 “Ri” 计，数值以 “%” 表示，按式（1）计算：

$$Ri = \frac{n_i}{n_t} \times 100 \% \dots\dots\dots (1)$$

式中：

n_i ——发病株数；

n_t ——总株数。

计算结果精确到小数点后两位。

病情指数以 “DI” 计，按式（2）计算：

$$DI = \frac{\sum (d_c \times n_c)}{n_t \times 9} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

式中：
d_c —— 相应病级；
n_c —— 各病级病株数；
n_t —— 总株数。
计算结果精确到小数点后两位。

9 结果评价

9.1 鉴定有效性判别

当感病对照品种达到其相应感病程度（DI≥50.0），该批次抗病性鉴定视为有效。

9.2 抗病性划分

根据被鉴定品种的病情指数的大小评定品种的抗性级别，各级别评定标准如表2。

表2 番茄早疫病抗性评价划分

序号	抗感级别（Q）		病情指数区间
	中文	英文缩写	
1	高抗	HR	0≤DI≤10.00
2	抗病	R	10.00<DI≤20.00
3	中抗	MR	20.00<DI≤40.00
4	中感	MS	40.00<DI≤50.00
5	感病	S	50.00<DI≤70.00
6	高感	HS	70.00<DI≤100.00

9.3 结果记录

将番茄早疫病的抗性鉴定与评价结果记录于表3。

表3 番茄早疫病性鉴定与评价结果记载表

编号	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									
.....												
播种日期				接种日期						接种生育期		

接种病原物分离编号		接种病原物株系类型		调查时间	
鉴定人（签字）： 年 月 日		校核人（签字）： 年 月 日			
鉴定技术负责人（签字）： 鉴定单位：（盖章） 年 月 日					

附录 A
(资料性附录)
PDA培养基制作

A.1 PDA 培养基

配方为马铃薯200 g、葡萄糖20 g、琼脂17 g，加蒸馏水至1 000 mL。按培养基配方称取去皮马铃薯200 g，切成小块放入锅中，加水1 000 mL，在加热器上加热至沸腾，维持30 min，用2层纱布趁热在量杯上过滤，弃滤渣，取滤液补充水分到1 000 mL；把滤液放入锅中，加入葡萄糖20 g，琼脂17 g，然后放在石棉网上，小火加热，并用玻璃棒不断搅拌，待琼脂完全溶解后，再补充水分至1 000 mL，调pH值至6.8~7.0。将配制的培养基分装入试管或500 mL三角瓶内，在试管口或三角烧瓶口上塞上棉塞或泡沫塑料塞后，再在塞子外包一层牛皮纸，用记号笔注明培养基名称、组别、配制日期。试管的分装量为高度的1/5，灭菌后制成斜面；三角瓶的分装量以不超过其容积的一半为宜，灭菌后倒入灭菌培养皿，制成平板培养基。

附录 B

（资料性附录）

番茄早疫病菌

B.1 病害症状

茄链格孢菌即番茄早疫病菌侵染番茄叶、茎和果实引起番茄早疫病。叶片被害，初呈深褐色或黑色圆形或椭圆形的小斑点，渐状扩大，达 1 cm~3 cm，边缘深褐色，中央灰褐色，有同心轮纹。天气潮湿时，病斑上长有黑色霉，即分生孢子梗和分生孢子。病害常从植株下部叶片开始，渐次向上蔓延。发病严重时，植株下部叶片完全枯死。茎部病斑多数在分枝处发生，灰褐色，椭圆形，稍凹陷，也有同心轮纹。发病严重时，可造成断枝。幼苗常在接近地面的茎部发病，病斑黑褐色。病株后期茎杆部常布满黑褐色的病斑，因此有“乌脚膀”之称。果实上病斑多发生在蒂部附近和有裂缝的地方，形或近圆形，褐色或黑褐色，稍凹陷，也有同心轮纹，其上长有黑色霉。病果常提早脱落。该病的病斑轮纹表面有毛刺不平坦物。

B.2 病原菌分类地位

番茄早疫病菌：茄链格孢（*Alternaria solani* (Ell.et Mart.) Jones et Grout.），属半知菌亚门、链格孢属真菌。

B.3 病原菌形态描述

茄链格孢菌丝有隔膜和分枝，较老的颜色较深。分生孢子梗从病斑坏死组织的气孔中抽出，直立或稍弯曲，色深而短，单生或丛生，有 1~7 个隔膜，大小为（50 μm~90 μm）×（6 μm~9 μm）。分生孢子自分生孢子梗顶端产生，其形状差异很大。大多为棍棒形，顶端有细长的无色嘴胞，与分生孢子本体等长或更长，黄褐色，有纵横隔膜，大小为（130 μm~300 μm）×（12 μm~20 μm）。

T/ZJSIA

浙江省种子产业协会团体标准

T / ZJSIA 0002—2024

番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程

第6部分：番茄灰叶斑病抗性鉴定与评价技术规程

Technical code of practice for evaluation of tomato resistance to diseases

Part 1: Technical code of practice for evaluation of tomato resistance to gray leaf spot

20024 - 12 - 11 发布

20024 - 12 - 30 实施

浙江省种子产业协会 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。

T/ZJSIA 0002—2024《番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程》为系列标准，共6部分：

- 第1部分：番茄枯萎病、番茄根腐病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第2部分：番茄青枯病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第3部分：番茄晚疫病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第4部分：番茄叶霉病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第5部分：番茄早疫病抗性鉴定与评价技术规程；
- 第6部分：番茄灰叶斑病抗性鉴定与评价技术规程；

本文件是T/ZJSIA 0002—2024《番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程》的第6部分。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由浙江省种子产业协会提出并归口。

本文件主要起草单位：浙江省农业科学院植物保护与微生物研究所、浙江省种子管理总站、杭州市农业科学研究、杭州市富阳区农业技术推广中心、浙江省苍南县农业技术推广站。

本文件主要起草人：王汉荣、武军、陈小央、吴早贵、李燕、祝玮、郑积荣、胡敏骏、董代幸、沈年桥。

番茄主要病害抗性鉴定与评价技术规程

第 6 部分：番茄灰叶斑病抗性鉴定与评价技术规程

1 范围

本文件规定了番茄灰叶斑病抗性鉴定与评价的术语和定义、接种体制备、鉴定用苗培育、鉴定方法、病情调查、结果统计和结果评价。

本文件适用于所有种类的番茄品种、品系及种质资源的番茄灰叶斑病的抗性鉴定与抗性评价。

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 16715 瓜菜作物种子 第3部分：茄果类

NY/T 2118 蔬菜育苗基质

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本规程。

3.1

抗病性 disease resistance

植物所具有的能够克服或减轻病原物致病作用的可遗传性状。

3.2

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。

3.3

致病性 pathogenicity

病原物所具有的破坏寄主和引起病变的能力。

3.4

病情级别 disease rating

人为定量植物个体或群体发病程度的数值化描述。

3.5

病原分离物 pathogen isolate

采用人工方法从植物发病部位分离获得的、在特定环境条件下培养的病原物。

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。

3.7

接种液 inoculum suspension

用于接种的、含有接种体的悬浮液。

3.8

发病率 incidence of disease

发病植株数占总植株数的百分率。

3.9

病情指数 disease index (DI)

通过对植物个体发病程度（病情级别）数值的计算获得的群体发病程度的数值化描述形式，是描述发病严重度的综合指标。

4 接种体制备

4.1 基本设备

无菌室、恒温培养箱、恒温振荡培养箱、超净工作台、高压灭菌锅、冰箱、可控温的温室（温度保持在20℃~30℃）、塑料盆、铝锅、电炉、培养皿、试管、剪刀、镊子、广口瓶、酒精灯、滤纸、三角瓶、各种培养基等。

4.2 接种体分离

采用常规组织分离法进行单孢分离纯化。从番茄灰叶斑病的发病植株的病健交界部位获取病组织，接种于PDA培养基分离纯化病原物。分离物经形态学和分子生物学鉴定，以及致病性测定确认为番茄灰叶斑病菌（*Pleospora lycopersici* El. & Em.Marchal），见附录B。

4.3 接种体确定

分别选择分布较广、致病力较强的番茄灰叶斑病菌的优势菌株作为用于人工接种鉴定的接种体。

4.4 接种体保存

将番茄灰叶斑病菌接种于PDA平板培养基，并在接种点周围放置一定数量的灭菌滤纸片，在25℃~28℃培养7 d后，取出滤纸片，经真空干燥后于-20℃~-80℃的低温冰箱中保存。或将番茄灰叶斑菌接种

于PDA斜面培养基，在25℃~28℃培养7 d后，置于冰箱中4℃~8℃下保存。

4.5 接种体悬浮液制备

将保存于PDA培养基的番茄灰叶斑病菌，在无菌操作下，移植于PDA平板培养基上，置于25℃~26℃培养7 d，再向每个平皿内加入4℃无菌蒸馏水至淹没菌面，用玻棒洗除气生菌丝，紫外线照射和黑暗交替，置于25℃~26℃条件下形成大量分生孢子，在用无菌蒸馏水洗下并收集分生孢子悬浮液，制成接种体悬浮液。

5 鉴定用苗培育

5.1 种子质量

应符合GB 16715的要求。

5.2 浸种催芽

将番茄种子置于5%次氯酸钠溶液中浸种10 min，再用清水冲洗3次，然后用清水浸泡5 h，沥干水，置于28℃恒温箱中保湿催芽。

5.3 播种

采用营养钵盆栽法育苗，营养钵直径11 cm~13 cm、高10 cm~13 cm，基质应符合NY/T 2118的要求。将番茄种子露白后播种，每钵1粒种子，重复3次，每重复30钵，共90钵，待用。

5.4 接种前管理

播种后将营养钵置于温室中进行培育，出苗前温度保持在25℃~30℃，保持基质湿润；出苗后温度保持在23℃~28℃，基质湿度保持在60%~80%，正常栽培管理，不施用杀菌剂。

6 鉴定方法

6.1 对照品种设置

抗病性鉴定时，设置一个感病对照品种和一个抗病对照品种，感病对照不得缺省，抗病对照品种可缺省。感病对照品种宜选用本地区的常规感病品种，选择标准为在常规接菌量下病情指数大于60。抗病对照品种宜选用本地区的常规抗病品种，选择标准为在 1.0×10^6 个孢子/mL~ 4.0×10^6 个孢子/mL接菌量下病情指数小于20。

6.2 鉴定时间

每年4月~6月和10月~12月为番茄对灰叶斑病抗性鉴定与抗性评价的最佳时间。

6.3 接种时间

在番茄苗四叶一心至六叶一心时进行。

6.4 接种液制备

用无菌水稀释接种体悬浮液，配制成浓度为 1.0×10^6 个孢子/mL~ 4.0×10^6 个孢子/mL的接种液。

6.5 接种方法

采用喷雾法接种。将已配制的接种液用小型喷雾器均匀喷雾到番茄苗的叶片表面及茎干等部位，以不滴水为度。

6.6 接种后管理

接种后的番茄苗置于23℃~28℃设施中，黑暗保湿（RH 85%~100%）24 h；之后保持正常光照，适时浇水，保持正常栽培管理，不施用杀菌剂。

7 病情调查

7.1 调查时间

接种后7d~10d 时进行调查。也可根据感病的对照品种病级扩展到最高病级的时间作适当调整。

7.2 病情分级

病情调查的分级采用0级、1级、3级、5级、7级、9级的6级分级法。病情分级划分参见表1。

表1 番茄灰叶斑病的病情分级划分

病级	症状描述
0级	番茄植株健康，无病斑。
1级	0<病斑面积占整个叶面积≤ 5.0%。
3级	5.0%<病斑面积占整个叶面积≤10.0%
5级	10.0%<病斑面积占整个叶面积≤20.0%；
7级	20.0%<病斑面积占整个叶面积≤50.0%；
9级	50.0%<病斑面积占整个叶面积≤100.0%。

7.3 调查方法

根据病害症状描述，调查每份鉴定品种（系）的发病情况，逐份材料进行分株调查，分别记载病情的分级。

8 结果统计

根据调查的结果计算各品种的株发病率和病情指数。

株发病率以“Ri”计，数值以“%”表示，按式（1）计算：

$$Ri = \frac{n_i}{n_t} \times 100 \% \dots\dots\dots (1)$$

式中：

n_i ——发病株数；

n_t ——总株数。

计算结果精确到小数点后两位。

病情指数以“DI”计，按式（2）计算：

$$DI = \frac{\sum (d_c \times n_c)}{n_t \times 9} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

式中：
d_c —— 相应病级；
n_c —— 各病级病株数；
n_t —— 总株数。
计算结果精确到小数点后两位。

9 结果评价

9.1 鉴定有效性判别

当感病对照品种达到其相应感病程度（DI≥50.0），该批次抗病性鉴定视为有效。

9.2 抗病性划分

根据被鉴定品种的病情指数的大小评定品种的抗性级别，各级别评定标准如表2。

表2 番茄灰叶斑病抗性评价划分

序号	抗感级别（Q）		病情指数区间
	中文	英文缩写	
1	高抗	HR	0≤DI≤10.00
2	抗病	R	10.00<DI≤20.00
3	中抗	MR	20.00<DI≤40.00
4	中感	MS	40.00<DI≤50.00
5	感病	S	50.00<DI≤70.00
6	高感	HS	70.00<DI≤100.00

9.3 结果记录

将番茄灰叶斑病的抗性鉴定与评价结果记录于表3。

表3 番茄抗灰叶斑病鉴定与评价结果记载表

编号	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									
.....												

播种日期		接种日期		接种生育期	
接种病原物分离编号		接种病原物株系类型		调查时间	
鉴定人（签字）： 年 月 日		校核人（签字）： 年 月 日			
鉴定技术负责人（签字）： 鉴定单位：（盖章） 年 月 日					

附录 A
(资料性附录)
PDA培养基制作

A.1 PDA 培养基

配方为马铃薯200 g、葡萄糖20 g、琼脂17 g，加蒸馏水至1 000 ml。按培养基配方称取去皮马铃薯200 g，切成小块放入锅中，加水1 000 ml，在加热器上加热至沸腾，维持30 min，用2层纱布趁热在量杯上过滤，弃滤渣，取滤液补充水分到1 000 ml；把滤液放入锅中，加入葡萄糖20 g，琼脂17 g，然后放在石棉网上，小火加热，并用玻璃棒不断搅拌，待琼脂完全溶解后，再补充水分至1 000 ml，调pH值至6.8~7.0。将配制的培养基分装入试管或500 ml三角瓶内，在试管口或三角烧瓶口上塞上棉塞或泡沫塑料塞后，再在塞子外包一层牛皮纸，用记号笔注明培养基名称、组别、配制日期。试管的分装量为高度的1/5，灭菌后制成斜面；三角瓶的分装量以不超过其容积的一半为宜，灭菌后倒入灭菌培养皿，制成平板培养基。

附录 B
(资料性附录)
番茄灰叶斑病菌

B.1 病害症状

番茄灰叶斑病菌侵染引起番茄灰叶斑病，其只害叶片，发病初期叶面布满暗色圆形或不正圆形小斑点，后沿叶脉向四周扩大，呈不规则形，中部渐褪为灰白至灰褐色。病斑稍凹陷，多较小，直径3 mm~8 mm，极薄，后期易破裂、穿孔导致叶片破碎甚至脱落。

B.2 病原菌分类地位

番茄灰叶斑病菌：茄匐柄霉 *Stemphylium solani* Weber

B.3 病原菌形态描述

茄匐柄霉 *Stemphylium solani* Weber分生孢子梗暗色，多隔、单生或1~5根束生，大小（71.47 μm ~198.88 μm ） $\times$ （3 μm ~5 μm ）；分生孢子暗色，砖格形，无喙，生于梗顶，纵横隔较多近乎网状，有的孢子表面生极短毛刺状物，大小（24.86 μm ~52.83 μm ） $\times$ （13.76 μm ~23.62 μm ）。有性阶段少见。
