T/ZJSIA

浙江省种子产业协会团体标准

T/ZJSIA 0003-2024

西瓜主要病害抗性鉴定与评价技术规程 第1部分:西瓜枯萎病、西瓜根腐病抗性鉴定与评价 技术规程

Technical code of practice for evaluation of watermelon resistance to diseases

Part 1:Technical code of practice for evaluation of watermelon resistance to fusarium wilt

and root rot

2024 - 12 - 11 发布

2024 - 12 - 30 实施



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 0003—2024《西瓜主要病害抗性鉴定与评价技术规程》为系列标准,共5部分:

- ——第1部分: 西瓜枯萎病、西瓜根腐病抗性鉴定与评价技术规程;
- ——第2部分: 西瓜蔓枯病抗性鉴定与评价技术规程;
- ——第3部分:西瓜炭疽病抗性鉴定与评价技术规程;
- ——第4部分: 西瓜白粉病抗性鉴定与评价技术规程;
- ——第5部分: 西瓜霜霉病抗性鉴定与评价技术规程;

本文件是T/ZJSIA 0003—2024《西瓜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 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: 吴早贵、陈小央、王汉荣、武军、李燕、祝玮、胡敏骏、金立新、沈年桥。



西瓜主要病害抗性鉴定与评价技术规程 第1部分:西瓜枯萎病、西瓜根腐病抗性鉴定与评价技术规程

1 范围

本文件规定了西瓜枯萎病、西瓜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西瓜品种、品系及种质资源的西瓜枯萎病、西瓜根腐病的抗性鉴定与评价。

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1部分: 瓜类

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。从西瓜枯萎病、西瓜根腐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西瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* Sehl. f. sp. *niveum* (E. F. Smith) Synder & Hensen)、西瓜根腐病菌(*Fusarium solani*),见附录B。

4.3 接种体确定

选择分布较广、致病力较强的西瓜枯萎病菌、西瓜根腐病菌的优势菌株作为人工接种鉴定使用的接种体。

4.4 接种体保存

将西瓜枯萎病菌、西瓜根腐病菌接种于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。或将西瓜枯萎病菌、西瓜根腐病菌接种于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西瓜枯萎病菌、西瓜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,将西瓜枯萎病菌和西瓜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

将西瓜种子置于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30℃~32℃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。将西瓜种子露白后播种,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50。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°个孢子/mL~4.0×10°个孢子/mL接菌量下病情指数小于15。

6.2 鉴定时间

每年4月~6月和9月~11月为西瓜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

在西瓜苗三叶一心至五叶一心时进行接种。

6.4 接种液配制

用无菌水稀释接种体悬浮液,配制成浓度为1.0×106个孢子/mL~4.0×106个孢子/mL的接种液。

6.5 接种方法

6.5.1 伤根接种

在距离西瓜苗茎基部周围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

取出西瓜幼苗,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

接种后的西瓜苗置于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20 d~25 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 西瓜枯萎病和根腐病的病情分级

病级	症状描述
0级	西瓜植株健康,无病症。
1级	西瓜植株茎杆出现轻微病斑,但生长正常。
3级	西瓜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	西瓜植株茎杆病斑明显,20%~50%病变,植株叶片明显出现枯萎现象;
7级	西瓜植株茎杆病斑明显,50%~75%病变,植株叶片萎蔫或枯萎;
9级	西瓜植株茎杆病斑明显,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:

$$Ri = \frac{n_i}{n_t} \times 100\% \tag{1}$$

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:

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

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 西瓜枯萎病和根腐病抗性评价划分

序号	抗感级统	別 (Q)	病情指数区间				
厅写	中文	英文缩写	州				
1/	高抗	HR	0≤ <i>DI</i> ≤10.00				
2	抗病	R	10.00< <i>DI</i> ≤30.00				
3	中抗	MR	30.00< <i>DI</i> ≤50.00				
4	中感	MS	50.00< <i>DI</i> ≤60.00				
5	感病	S	60.00< <i>DI</i> ≤70.00				
6	高感	HS	70.00 <di≤100.00< td=""></di≤100.00<>				

9.3 结果记录

将西瓜枯萎病和根腐病的抗性鉴定结果记录于表3。

表3 西瓜枯萎病和根腐病抗性鉴定与评价结果记载表

	重复	病情级											
编号	种质 名称	来源	区号	0	1	3	5	7	9	病情指数	平均病指	抗	性评价
			I									V	
			II										
			III										
	播种日期			接种日期				1/2			接种生育期		
接种	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):						杉	を核人	(签号	孝):			
		F	月日)	年	月	日				
鉴定技术负责人(签字):													
鉴定单	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) 西瓜枯萎病菌、西瓜根腐病菌

B.1 病害症状

西瓜枯萎病在西瓜整个生育期均可发生,以伸蔓期至开花坐果期发病最为严重。苗期发病后幼茎基部变褐缢缩,子叶和幼叶萎蔫下垂,随后幼苗全株瘫软倒伏,发病后1天即可死亡;成株期发病后病株生长缓慢,下部叶片发黄,逐渐向上扩展,开始白天萎蔫,早晚恢复,数日后全株萎蔫枯死。病蔓基部常有褐色条斑或发生表皮纵列,并伴有树脂状胶质流出,茎部维管束变褐色。潮湿时,茎部呈水渍状腐烂,表面出现白色至粉红色霉状物。

西瓜根腐病主要危害西瓜根部和茎基部,很少危害茎蔓。初感病时,病株地上部症状不明显,后随病害发展,植株中午失水萎蔫,早晚吸水恢复正常,反复多次后不再恢复,最后逐渐枯死。病株地下部初呈水渍状,后呈浅褐至深褐色腐烂,发病部位不缢缩,也不向上扩展,当植株接近成熟,根部和茎基部的皮层组织坏死,严重时皮层破溃只留下丝状维管束,病株通常在几天之内就会死亡西瓜根腐病主要危害西瓜根部和茎基部,很少危害茎蔓。初感病时,病株地上部症状不明显,后随病害发展,植株中午失水萎蔫,早晚吸水恢复正常,反复多次后不再恢复,最后逐渐枯死。病株地下部初呈水渍状,后呈浅褐至深褐色腐烂,发病部位不缢缩,也不向上扩展,当植株接近成熟,根部和茎基部的皮层组织坏死,严重时皮层破溃只留下丝状维管束,病株通常在几天之内就会死亡。

B.2 病原菌分类地位

甜瓜枯萎病菌(Fusarium oxysporum (Schl.) f.sp. melonis (Leachet currence) Snyder et Hansen) 甜瓜根腐病菌(Fusarium solani (Mart.) Sacc., Michelia)

B.3 病原菌形态描述

西瓜枯萎病菌(Fusarium oxysporum (Schl.) f.sp. melonis (Leachet currence) Snyder et Hansen)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 μ m~38.4 μ m)×(2.6 μ m~4.1 μ 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 μ m~12 μ m)×(2.2 μ m~3.5 μ 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。

西瓜根腐病菌(Fusarium solani (Mart.) Sacc., Michelia)在DA培养基上,菌落整体呈圆形,生

长旺盛,边缘为白色,中央稍隆起,底部为紫红色,菌丝体浓密而厚实,呈辐射状向周围扩散。小型分生孢子为单孢、假头状着生,大型分生孢子为镰刀形或肾形,两端细胞稍尖,少数为 $1\sim3$ 隔,大小为 $(4.5\sim14.0)$ $\mu m \times (1.8\sim6.23)$ μm ,产孢细胞直接着生在菌丝上,分生孢子梗有分枝。

T/ZJSIA

浙江省种子产业协会团体标准

T/ZJSIA 0003-2024

西瓜主要病害抗性鉴定与评价技术规程 第2部分:西瓜蔓枯病抗性鉴定与评价技术规程

Technical code of practice for evaluation of watermelon resistance to diseases

Part 2:Technical code of practice for evaluation of watermelon resistance to gummy stem

blight

2024 - 12 - 11 发布

2024 - 12 - 30 实施



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 0003—2024《西瓜主要病害抗性鉴定与评价技术规程》为系列标准,共5部分:

- ——第1部分:西瓜枯萎病、西瓜根腐病抗性鉴定与评价技术规程;
- ——第2部分: 西瓜蔓枯病抗性鉴定与评价技术规程;
- ——第3部分:西瓜炭疽病抗性鉴定与评价技术规程;
- ——第4部分:西瓜白粉病抗性鉴定与评价技术规程;
- ——第5部分: 西瓜霜霉病抗性鉴定与评价技术规程;

本文件是T/ZJSIA 0003—2024《西瓜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 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: 吴早贵、陈小央、王汉荣、武军、李燕、祝玮、胡敏骏、金立新、沈年桥。



西瓜主要病害抗性鉴定与评价技术规程 第2部分:西瓜蔓枯病抗性鉴定与评价技术规程

1 范围

本文件规定了西瓜蔓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西瓜品种、品系及种质资源的西瓜蔓枯病的抗性鉴定与评价。

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1部分: 瓜类 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。从西瓜蔓枯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西瓜蔓枯病菌(*Mycosphaerella melonis* (Pass.) Chiu et Walker.),见附录B。

4.3 接种体确定

选择分布较广、致病力较强的西瓜蔓枯病病菌的优势菌株作为人工接种鉴定使用的接种体。

4.4 接种体保存

将西瓜蔓枯病菌接种于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。或将西瓜蔓枯病菌接种

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

4.5 接种体悬浮液制备

西瓜蔓枯病菌接种体移植于PDA平板培养基,25℃~28℃下培养7 d~10 d,用灭菌蒸馏水洗下分生孢子,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

将西瓜种子置于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30℃~32℃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。将西瓜种子露白后播种,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50。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 $\sim4.0\times10^6$ 个孢子/mL接菌量下病情指数小于15。

6.2 鉴定时间

每年4月~6月和9月~11月为西瓜对蔓枯病抗性鉴定与抗性评价的最佳时间。

6.3 接种生时期

在西瓜苗三叶一心至五叶一心时进行。

6.4 接种液配制

用无菌水稀释接种体悬浮液,配制成浓度为1.0×10⁶个孢子/mL~4.0×10⁶个孢子/mL的接种液。

6.5 接种方法

6.6 伤根接种

在距离西瓜苗茎基部周围 $2.0~\text{cm}\sim3.0~\text{cm}$ 范围内,定点六个方向,用宽度为 $1.5~\text{cm}\sim2.0~\text{cm}$ 的无菌竹片垂直向下损伤根系后,每株用 $200~\text{mL}\sim250~\text{mL}$ 接种液浇根,采用小拱棚保湿 $24~\text{h}\sim48~\text{h}$ 。

6.6.1 浸根接种

取出西瓜幼苗,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。

6.7 接种后管理

接种后的西瓜苗置于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20 d~25 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。

病级 症状描述
0级 无病症;
1级 0<病斑面积占整片叶面积≤5%;
3级 5%<病斑面积占整片叶面积≤25%;
5级 25%<病斑面积占整片叶面积≤50%;
7级 50%<病斑面积占整片叶面积≤75%;
9级 75%<病斑面积占整片叶面积≤100%。

表1 西瓜蔓枯病的病情分级

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:

$$Ri = \frac{n_i}{n_t} \times 100\%$$
 (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:

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

式中:

d_c — 相应病级;

nc — 各病级病株数;

nt —— 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。

抗感级别(Q) 序号 病情指数区间 中文 英文缩写 高抗 0<DI<10.00 1 HR 抗病 2 R 10.00 < *DI*≤25.00 3 中抗 MR 25.00 < DI < 50.00 中感 4 50.00≤*DI*≤60.00 MS 5 感病 S 60.00<*DI*≤70.00 6 高感 HS 70.00 < DI < 100.00

表2 西瓜蔓枯病抗性评价划分

9.3 结果记录

将西瓜蔓枯病的抗性鉴定结果记录于表3。

表3 西瓜蔓枯病抗性鉴定与评价结果记载表

40.0 种质		来	重复	病情级别										
编号	名称	源			区号	0	1	3	5	7	9	病情指数	平均病指	抗性评价
			I											
			II											
			III											

				•••	
播种日期			接种日期	朝	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	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	В

附 录 A (资料性附录) PDA培养基

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) 西瓜蔓枯病菌菌

B.1 病害症状

西瓜蔓枯病在西瓜整个生育期的地上部分均可发病,可引起叶、茎、蔓枯死和果实腐烂。子叶发病,初期呈水浸状小点,逐渐扩大为黄褐色或青灰色圆形或不规则形斑,不久扩展至整个子叶,引起子叶枯死。幼苗茎部受害,初期呈水浸状小斑,后迅速向上下扩展,并可环绕一周,使幼苗基部死亡。成株期发病,多发生在茎蔓基部分枝处,病斑初期为水浸状,表皮淡黄色,后变为灰色或深灰色,其上密生小黑粒点,即病原菌的分生孢子囊座,病势发展后,病部溢出琥珀色胶状物,干后为赤褐色小硬块,表皮纵裂脱落,潮湿时表面腐烂,露出维管束,呈麻丝状。茎节部也易受害,产生黄白色病斑,潮湿时软化变黑,后密生小黑粒点,亦流出琥珀色胶状物质。叶部发病多从叶缘开始,产生"V"字形或半圆形黄褐色或深褐色大病斑,多具轮纹,后期产生小黑粒点,病斑易干枯破碎。果实发病,初期呈油浸状小斑点,后变为暗褐色圆形大凹陷斑,表面干裂,内部木栓化,呈星裂状,后期病斑上密生小黑粒点。

B.2 病原菌分类地位

西瓜蔓枯病菌: Mycosphaerella melonis (Pass.) Chiu et Walker.

B.3 病原菌形态描述

西瓜蔓枯病菌(Mycosphaerella melonis (Pass.) Chiu et Walker.)在PDA培养基上培养7 d,分生孢子器埋生于表皮下,后露出表皮,球形至扁球形,黑褐色顶部呈乳状突起,孔口明显。分生孢子短圆形至圆柱形,初为单胞,后产生1-2个隔膜,分隔处略缢缩。子囊壳球形,黑褐色,单生于寄主表面,孔口突出表面。子囊呈短棍棒状或袋状,无色透明,正直或稍弯。子囊孢子无色透明,梭形至椭圆形,双胞,上面细胞较宽,顶端较钝,下部细胞较窄,顶端稍尖,分隔处明显缢缩。

8

T/ZJSIA

浙江省种子产业协会团体标准

T/ZJSIA 0003-2024

西瓜主要病害抗性鉴定与评价技术规程 第3部分:西瓜炭疽病抗性鉴定评价技术规程

Technical code of practice for evaluation of watermelon resistance to diseases

Part 3: Technical code of practice for evaluation of watermelon resistance to anthracnose

2024 -12 - 11 发布

2024 - 12 - 30 实施



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 0003—2024《西瓜主要病害抗性鉴定与评价技术规程》为系列标准,共5部分:

- ——第1部分: 西瓜枯萎病、根腐病抗性鉴定与评价技术规程;
- ——第2部分: 西瓜蔓枯病抗性鉴定与评价技术规程;
- ——第3部分: 西瓜炭疽病抗性鉴定与评价技术规程;
- ——第4部分:西瓜白粉病抗性鉴定与评价技术规程;
- ——第5部分: 西瓜霜霉病抗性鉴定与评价技术规程;

本文件是T/ZJSIA 0003—2024《西瓜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 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: 吴早贵、陈小央、王汉荣、武军、李燕、祝玮、胡敏骏、金立新、沈年桥。



西瓜主要病害抗性鉴定与评价技术规程 第3部分:西瓜炭疽病抗性鉴定与评价技术规程

1 范围

本文件规定了西瓜炭疽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西瓜品种、品系及种质资源的西瓜炭疽病的抗性鉴定与评价。

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1部分: 瓜类 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

西瓜炭疽病菌以PDA培养基,采用常规组织分离法,从西瓜炭疽病发病植株的发病部位,分离病原物,采用单孢分离纯化。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西瓜炭疽病菌(Colletotrrichum orbiculare(Berk. & Mont.) Arx.),见附录B。

4.3 接种体确定

选择分布较广、致病力较强的病原菌优势菌株作为人工接种鉴定使用的接种体。

4.4 病原物保存

将西瓜炭疽病菌接种于PDA平板培养基上,并在接种点周围放置一定数量的灭菌滤纸片,在 25° C~ 28° C培养7 d后,取出滤纸片,经真空干燥后于- 20° C~ -30° C的低温冰箱中保存。或将西瓜炭疽病菌接种于PDA斜面,在 25° C~ 28° C培养7 d后,置 4° C~ 8° C的冰箱中保存。

4.5 接种体悬浮液制备

西瓜炭疽病菌接种体接种于PDA平板培养基上,置于25℃~28℃恒温培养箱中培养7 d~10 d,用 灭菌蒸馏水洗下分生孢子,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

将待鉴定西瓜的种子经5%次氯酸钠溶液浸种10 min,用清水冲洗3次,再用清水浸泡5 h后,沥干水,置于30℃~32℃恒温箱中保湿催芽。

5.3 播种

露白发芽后播植于温室,采用营养钵盆栽法进行育苗,基质应符合NY/T 2118的要求。将蔬菜育苗基质装入新的直径11 cm~13 cm、高10cm~13 cm的塑料营养钵中,至2/3高度,排列整齐,播种前先用自来水浇透育苗基质,随后将已催芽的待鉴定西瓜种子播于上述塑料营养钵中,每钵1粒种子,然后用泥炭育苗基质覆盖,以盖住种子为宜。重复3次,每重复30钵,共90钵,待用。

5.4 接种前管理

播种后将塑料钵置于温室中,进行培育,出苗前,温室温度保持在25℃~30℃,保持盆中土壤湿度;西瓜苗出土后,温室温度保持在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,鉴定中设置一个感病对照品种,感病对照不得缺省。感病对照宜选用本地区的常规 感病品种,感病对照品种选择标准为在常规接菌量下病情指数大于50的品种。鉴定中也可增设一个抗病 对照品种,抗病对照品种也可缺省,选用本地区的常规抗病品种。抗病对照品种选择标准为在常规接菌 量下病情指数小于15的品种。

6.2 鉴定时间

每年4月~6月和9月~11月为西瓜对炭疽病抗性鉴定与抗性评价的最佳时间。

6.3 接种生育期

西瓜对炭疽病的抗病性鉴定接种,在西瓜苗三叶一心至五叶一心时进行。

6.4 接种体浓度

用无菌水稀释接种体悬浮液,配制成浓度为1.0×106个孢子/mL~4.0×106个孢子/mL的接种液。

6.5 接种方法

西瓜炭疽病采用接种体悬浮液喷雾西瓜叶片进行接种鉴定。

6.6 接种后管理

接种后的西瓜苗,置于温度为23°C~28°C的温室中,黑暗保湿(RH 85%~100%)24 h; 以后每天 光照12 h~14 h,温室温度保持在23°C~28°C,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20 d~25 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。

病级	症状描述
0级	无病症;
1级	0<病斑面积占整片叶面积≤5%;
3级	5%<病斑面积占整片叶面积≤10%;
5级	10%<病斑面积占整片叶面积≤25%;
7级	25%<病斑面积占整片叶面积≤50%
9级	50%<病斑面积占整片叶面积≤100%。

表1 西瓜炭疽病的病情分级

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

7.4 鉴定西瓜苗栽培管理

7.4.1 接种前管理

将待鉴定西瓜的种子经5%次氯酸钠溶液浸种10 min,用清水冲洗3次,再用清水浸泡5 h后,置于30℃~32℃恒温箱中保湿催芽。出芽后,挑选胚根长至0.2 cm~0.3 cm的种子,一起播于装有草炭、蛭石和菜田土(2:1:1)的灭菌育苗基质的育苗盘中,每份待鉴定的西瓜品种(系)播种30株,重复3次。然后进行正常栽培管理。整个过程不使用杀菌剂。

7.4.2 接种后管理

接种后的西瓜苗,置于温度为25°C~30°C的温室中,黑暗保湿(RH 85%~100%)24 h;以后每天光照12 h~14 h,RH 80%~90%,培养温度25~30°C,正常栽培管理。整个过程不使用杀菌剂。

7.4.3 对照品种

抗病性鉴定时,设定一个感病对照和一个抗病对照。抗病对照品种可缺省,但感病对照品种不得缺省,感病对照宜选用本地区的常规感病品种。

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:

$$Ri = \frac{n_i}{n_t} \times 100\% \tag{1}$$

式中:

ni ——发病株数;

nt ——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:

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

式中:

dc — 相应病级;

nc — 各病级病株数;

nt —— 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。

抗感级别(Q) 序号 病情指数区间 中文 英文缩写 高抗 1 HR 0≤*DI*≤10.00 2 抗病 R 10.00<*DI*≤35.00 中抗 3 35.00<*DI*≤50.00 MR 4 中感 MS 50.00<*DI*≤60.00 60.00<*DI*≤75.00 5 感病 S 高感 6 HS 75.00<DI<100.00

表2 西瓜炭疽病抗性评价划分

9.3 结果记录

将西瓜炭疽病的抗性鉴定结果记录于表3。

表3 西瓜炭疽病抗性鉴定与评价结果记载表

	-1					病情	级别			Lat. dS	ada tata	= 1/	1	17.14
编	种质	来	重复							株发	病情	平均		抗性
号	名称	源	区号	0	1	3	5	7	9	病率%	指数	病指		评价
			I							*				
			II						7		7			
			III					_/	1					
	播种日期				:	接种日	用期				接种生育			
接种组	病原物分离编 ⁴	号		1	妾种痘	 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		
鉴定抗	鉴定技术负责人(签字):													
鉴定单	鉴定单位: (盖章)													
	年 月 日													

附 录 A (资料性附录) PDA培养基

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) 西瓜炭疽病菌

B.1 病害症状

西瓜炭疽病由瓜类炭疽菌侵染引起,其中以气候湿润地区最为明显与普遍。在气候条件适宜时,该病害从植株苗期到生育初、中、后期均可发生。西瓜幼苗发病时,于子叶上先呈现褐色圆形病斑,而后幼茎基部变为黑褐色,且缢缩,甚至倒折。成株期发病时,叶片上出现淡黄色水渍状圆形斑点,后期变为褐色,边缘呈紫褐色,中间部分为淡褐色,并呈现同心轮纹状,病斑扩大相互融合后易引起叶片穿孔干枯。未成熟的果实染病,初期呈现为淡绿色水渍状圆形小斑点;成熟的果实染病,初期为凸起病斑,后期扩大为褐色凹陷,并环状排列许多小黑点。气候条件湿润时,病部会生出粉红色的黏性物质,多变黑腐烂或呈畸形。

B.2 病原菌分类地位

西瓜炭疽病菌: Colletrichum orbiculare (Berk. & Mont.) Arx

B.3 病原菌形态描述

西瓜炭疽病菌(Colletrichum orbiculare(Berk. & Mont.) Arx.)在PDA培养基上培养7 d,病菌分生孢子盘聚生,初埋生,后突破表皮外露,呈黑褐色,刚毛散生于分生孢子盘中,顶端色淡,略尖,基部膨大,长90~120 μ m,具1~3个分隔。分生孢子梗无色,圆筒状,栅状排列,大小为20~25 μ m×2.5~3.0 μ m。分生孢子长圆形,单细胞,无色,大小为14~20 μ m×5.0~6.0 μ m。

T/ZJSIA

浙江省种子产业协会团体标准

T/ZJSIA 0003-2024

西瓜主要病害抗性鉴定与评价技术规程 第4部分:西瓜白粉病抗性鉴定与评价技术规程

Technical code of practice for evaluation of watermelon resistance to diseases

Part 4: Technical code of practice for evaluation of watermelon resistance to powdery

mildew

2024 - 12 - 11 发布

2024 - 12 - 30 实施



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 0003—2024《西瓜主要病害抗性鉴定评与价技术规程》为系列标准,共5部分:

- ——第1部分: 西瓜枯萎病、西瓜根腐病抗性鉴定与评价技术规程;
- ——第2部分: 西瓜蔓枯病抗性鉴定与评价技术规程;
- ——第3部分: 西瓜炭疽病抗性鉴定与评价技术规程;
- ——第4部分: 西瓜白粉病抗性鉴定与评价技术规程;
- ——第5部分: 西瓜霜霉病抗性鉴定与评价技术规程;

本文件是T/ZJSIA 0003—2024《西瓜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 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: 吴早贵、陈小央、王汉荣、武军、李燕、祝玮、胡敏骏、金立新、沈年桥。



西瓜主要病害抗性鉴定与评价技术规程 第4部分:西瓜白粉病抗性鉴定与评价技术规程

1 范围

本文件规定了西瓜白粉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西瓜品种、品系及种质资源的西瓜白粉病的抗性鉴定与评价。

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1部分: 瓜类

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

西瓜白粉病菌的分离采用活体寄主法。采集具有典型西瓜白粉病病斑的西瓜叶片,用接种针挑取发病叶片上的子囊壳于载玻片上,盖上盖玻片,放于显微镜下进行观察镜检。形态学鉴定为瓜类单囊壳(*Sphaerotheca cucurbitae* (Jacz.) Z.Y.Zhao)后,方法见附录B。直接将分生孢子接种于种植在温度 20℃~25℃、相对湿度(RH) 30% ~ 50%隔离温室的五叶一心至八叶一心的感病西葫芦(*Cucurbita pepo* L.)品种植株上,再进行重复接种,实现分离纯化备用。

4.3 接种体确定

选择分布较广、致病力较强的病原菌优势菌株作为人工接种鉴定使用的接种体。

4.4 接种体保存

西瓜白粉病菌的保存可采用种植感病品种隔离保存,方法见4.2。或者采集通过隔离种植扩繁备用的感病品种发病叶片,阴干后,保存于-10℃~-30℃的低温冰箱中。

4.5 接种体悬浮液制备

采集具有典型西瓜白粉病病斑的病叶,用无菌毛刷将白色霉层冲刷于无菌水中,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

将西瓜种子置于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30℃~32℃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。将西瓜种子露白后播种,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50。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1.0×10⁶个孢子/mL~4.0×10⁶个孢子/mL接菌量下病情指数小于15。

6.2 鉴定时间

每年4月~6月和9月~11月为西瓜对白粉病抗性鉴定与抗性评价的最佳时间。

6.3 接种时期

在西瓜苗三叶一心至五叶一心时进行。

6.4 接种液配制

用无菌水稀释接种体悬浮液,配制成浓度为1.0×106个孢子/mL~4.0×106个孢子/mL的接种液。

6.5 接种方法

西瓜白粉病采用接种体悬浮液喷雾西瓜叶片进行接种鉴定。

6.6 接种后管理

接种后的西瓜苗置于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20 d~25 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。

	- /// X
病级	症状描述
0级	无病症;
1级	0<病斑面积占整片叶面积≤1/3,白粉状模糊不清;
3级	1/3<病斑面积占整片叶面积≤2/3,白粉状较为明显;
5级	2/3<病斑面积占整片叶面积≤100%; 白粉状连片,叶片开始变黄;
7级	白粉层较厚,由叶缘向里变褐;
9级	叶片变褐面积1/2以上,叶缘上卷。

表1 西瓜白粉病的病情分级

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:

$$Ri = \frac{n_i}{n_t} \times 100\% \tag{1}$$

式中:

ni ——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:

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

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 西瓜白粉病抗性评价划分

ria D	抗感级别	引 (Q)	产桂松料豆 茵			
序号	中文	英文缩写	病情指数区间			
1	高抗	HR	0≤ <i>DI</i> ≤10.00			
2	抗病	R	10.00< <i>DI</i> ≤35.00			
3	中抗	MR	35.00< <i>DI</i> ≤50.00			
4	中感	MS	50.00< <i>DI</i> ≤60.00			
5	感病	S	60.00< <i>DI</i> ≤75.00			
6	高感	HS	75.00< <i>DI</i> ≤100.00			

9.3 结果记录

将西瓜白粉病的抗性鉴定结果记录于表3。

表3 西瓜白粉病抗性鉴定与评价结果记载表

		种质	来	重复			病情	级别					
	编号	名称	源	区号	0	1	3	5	7	9	病情指数	平均病指	抗性评价
		\ //		I									
				II									
				III									
1													
		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) 西瓜白粉病菌保存与扩繁

A.1 西瓜白粉病菌保存与扩繁

甜瓜白粉病菌的分离采用活体寄主法,采集具有典型甜瓜白粉病病斑的甜瓜叶片,用接种针挑取发病叶片上的子囊壳于载玻片上,盖上盖玻片,放于显微镜下进行观察镜检。直接将分生孢子接种于种植在温度20℃~25℃、相对湿度(RH) 30% ~ 50%隔离温室的五叶一心至八叶一心的感病西葫芦(Cucurbita pepo L.)品种植株上,再进行重复接种,实现分离纯化备用。

附录B (资料性附录) 西瓜白粉病菌

B.1 病害症状

瓜白粉病主要危害叶片,其次是叶柄和茎,一般不危害果实。一般是下部老叶先发病,而后逐渐向上蔓延扩展。发病初期叶面或叶背产生白色近圆形星状小粉点,以叶面居多,当环境条件适宜时,粉斑迅速扩大,连接成片,成为边缘不明显的大片白粉斑,上面布满白色粉末状霉层,严重时整叶面布满白粉。叶柄和茎上的白粉较少。发病后期,白色霉层因菌丝老熟变为灰色,病叶枯黄、卷缩,一般不脱落。

B.2 病原菌分类地位

西瓜白粉病菌: Sphaerotheca cucurbitae (Jacz.) Z.Y.Zhao

B.3 病原菌形态描述

西瓜白粉病菌: Sphaerotheca cucurbitae (Jacz.) Z.Y.Zhao菌丝体生于叶的两面和叶柄上,存留,开始为白圆斑,后展生,长满全叶;分生孢子成串,腰鼓形、广椭圆形,19.5~30(-33)×12~18 μm; 子囊果散生,球形,褐色至暗褐色,直径(72-)75~90(-99)μm,壁细胞不规则长方形或多角形,直径9~33(-42)μm; 附属丝4-8根,丝状,曲膝状弯曲,长度为子囊果直径的0.5~3倍,基部稍粗,平滑,有3~5个隔膜,无色或下部淡褐色;子囊1个,广椭圆形、近球形,无柄或有短柄,壁厚,顶部壁不变薄,60~70(-84)×42~60(-63)μm;子囊孢子4-8个,椭圆形,19.5~28.5×15~19.5 μm。

T/ZJSIA

浙江省种子产业协会团体标准

T/ZJSIA 0003-2024

西瓜主要病害抗性鉴定与评价技术规程 第 5 部分: 西瓜霜霉病抗性鉴定预与评价技术规程

Technical code of practice for evaluation of watermelon resistance to diseases

Part 5: Technical code of practice for evaluation of watermelon resistance to downy

mildew

2024 - 12 - 11 发布

2024 - 12 - 30 实施



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 0003—2024《西瓜主要病害抗性鉴定与评价技术规程》为系列标准,共5部分:

- ——第1部分:西瓜枯萎病、西瓜根腐病抗性鉴定与评价技术规程;
- ——第2部分: 西瓜蔓枯病抗性鉴定与评价技术规程;
- ——第3部分:西瓜炭疽病抗性鉴定与评价技术规程;
- ——第4部分: 西瓜白粉病抗性鉴定与评价技术规程;
- ——第5部分: 西瓜霜霉病抗性鉴定与评价技术规程;

本文件是T/ZJSIA0003—2024《西瓜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:浙江省种子管理总站、浙江省农业科学院植物保护与微生物研究所、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: 吴早贵、陈小央、王汉荣、武军、李燕、祝玮、胡敏骏、金立新、沈年桥。



西瓜主要病害抗性鉴定与评价技术规程 第 5 部分: 西瓜霜霉病抗性鉴定与评价技术规程

1 范围

本文件规定了西瓜霜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西瓜品种、品系及种质资源的西瓜霜霉病的抗性鉴定与评价。

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1部分: 瓜类 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

西瓜霜霉病菌的分离采用活体寄主法。采集具有典型西瓜霜霉病的西瓜叶片,用接种针挑取发病叶片上的孢子囊和孢囊梗于载玻片,盖上盖玻片,放于显微镜下进行观察镜检。形态学鉴定为古巴假霜霉菌(*Pseudoperonospora cubensis* (Berk. Et Curt.) Rostov)后,方法见附录B。直接将游动孢子囊接种于种植在温度20 $\mathbb{C} \sim 25$ \mathbb{C} 、相对湿度(RH) $30\% \sim 50\%$ 隔离温室的八叶一心至十叶一心的感病龙泉白黄瓜品种的植株,再进行重复接种,实现分离纯化备用。

4.3 接种体确定

选择分布较广、致病力较强的病原菌优势菌株作为人工接种鉴定使用的接种体。

4.4 接种体保存

西瓜霜霉病菌的保存可采用种植感病品种隔离保存,方法见4.2。或者采集通过隔离种植扩繁备用的感病品种发病叶片,阴干后,保存于-10℃~-28℃的低温冰箱中。

4.5 接种体悬浮液制备

采集具有典型西瓜霜霉病病斑的病叶,用无菌毛刷将灰黑霉层冲刷于无菌水中,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

将西瓜种子置于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30℃~32℃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。将西瓜种子露白后播种,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50。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1.0×10⁶个孢子/mL~4.0×10⁶个孢子/mL接菌量下病情指数小于15。

6.2 鉴定时间

每年4月~6月和9月~11月为西瓜对霜霉病抗性鉴定与抗性评价的最佳时间。

6.3 接种时期

在西瓜苗三叶一心至五叶一心时进行。

6.4 接种液配制

用无菌水稀释接种体悬浮液,配制成为1.0×106个孢子/mL~4.0×106个孢子/mL的接种液。

6.5 接种方法

西瓜霜霉病采用接种体悬浮液喷雾西瓜叶片进行接种鉴定。

6.6 接种后管理

接种后的西瓜苗置于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20 d~25 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。

	- /// >
病级	症状描述
0级	无病症;
1级	0<病斑面积占整片叶面积≤5%;
3级	5%<病斑面积占整片叶面积≤10%;
5级	10%<病斑面积占整片叶面积≤25%;
7级	25%<病斑面积占整片叶面积≤50%
9级	50%<病斑面积占整片叶面积≤100%。

表1 西瓜霜霉病的病情分级

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:

$$Ri = \frac{n_i}{n_t} \times 100\% \tag{1}$$

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:

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

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 西瓜霜霉病抗性评价划分

E I	抗病性级	·别(Q)	ch kt kk kk To ka		
序号	中文	英文缩写	病情指数区间		
1	高抗	HR	0≤ <i>DI</i> ≤10.00		
2	抗病	R	10.00< <i>DI</i> ≤35.00		
3	中抗	MR	35.00< <i>DI</i> ≤50.00		
4	中感	MS	50.00< <i>DI</i> ≤60.00		
5	感病	S	60.00< <i>DI</i> ≤75.00		
6	高感	HS	75.00 < DI ≤ 100.00		

9.3 鉴定结果记录

将西瓜霜霉病的抗性鉴定与评价结果记录于表3。

表3 西瓜霜霉病抗性鉴定与评价结果记载表

	种质	来	重复			病情	级别							
	编号	名称	源	区号	0	1	3	5	7	9	病情指数	平均病指	抗	性评价
				I										
				II										
	/ -			III										
4	X													
		播种日期				į	接种目	期		接种生育期				
	接种组	接种病原物株系类型							调查时间					
	鉴定人				杉	を核人	(签号	₹):						
				3	丰	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) 西瓜霜霉病菌保存与扩繁

A.1 西瓜霜霉病菌保存与扩繁

西瓜霜霉病菌的分离采用活体寄主法,采集具有典型甜瓜霜霉病的甜瓜叶片,用接种针挑取发病叶片上的游动孢子囊于载玻片上,盖上盖玻片,放于显微镜下进行观察镜检。直接将游动孢子囊接种于种植在温度 20℃~25℃、相对湿度(RH) 30%~50%隔离温室的八叶一心至十叶一心的感病龙泉白黄瓜品种的植株上,再进行重复接种,实现分离纯化备用。

附录 B (资料性附录) 西瓜霜霉病菌

B.1 病害症状

苗期染病症状。子叶上产生水渍状小斑点,病情发展之后扩展成浅褐色病斑,湿度大时叶背长灰紫色霉层。成株发病症状。感染病菌的西瓜叶片,发病之初是在叶片上出现水渍状褪绿小斑点,随着病情的发展病斑逐渐成为黄色小斑,继续扩大后因受到叶脉的限制呈黄褐色不规则多角形病斑,在连续降雨或潮湿环境下,在叶背病斑处长出灰黑色霉状物;病害严重时,病斑联合成大斑块,致使叶片上卷或干枯,后期可导致全叶呈黄褐色,干枯易破碎。叶片发病顺序。病害先从下部叶片为害,逐渐向上扩展蔓延,严重时仅留顶部3~5片嫩叶。全田发病严重时叶片一片枯黄,像被火烧烤过一样。

B.2 病原菌分类地位

西瓜霜霉病菌: Pseudoperonospora cubensis (Berk. et Curt.) Rostov.

B.3 病原菌形态描述

西瓜霜霉病菌: *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt.) Rostov. 孢囊梗1~2枝或3~4枝 从气孔伸出,长165~420 μ m,多为240~340 μ m,主轴长105~290 μ m,占全长的2/3~9/10,粗5~6.5 μ m,个别3.3 μ m,基部稍膨大,上部呈双叉状分枝3~6次;末枝稍弯曲或直,长1.7~15 μ m,多为5~11.5 μ m;孢子囊淡褐色,椭圆形至卵圆形,具乳突,大小15~31.5 μ m×11.5~14.5 μ m,长宽比为1.2~1.7;以游动孢子萌发;卵孢子生在叶片的组织中,球形,淡黄色,壁膜平滑,直径28~43 μ m。