ICS 65.020.20
CCS B 15

DB21

辽 宁 省 地 方 标 准

DB XX/T XXXX—XXXX

花生抗褐斑病鉴定技术规程

Rule for evaluation of resistance to brown leaf spot in peanut

（报批稿）

XXXX－XX－XX 发布　　XXXX－XX－XX 实施

辽宁省市场监督管理局　　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。

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。

本文件由辽宁省农业农村厅提出并归口。

本文件起草单位：辽宁省农业科学院、辽宁省农业发展服务中心。

本文件主要起草人：谢瑾卉、林英、梁春浩、臧超群、于舒怡、刘晓舟、安福涛、张海东、辛绪红、金迪。

本文件发布实施后，任何单位和个人如有问题和意见建议，均可通过来电和来函等方式进行反馈，我们将及时答复并认真处理，根据实际情况依法进行评估及复审。

归口管理部门通讯地址：辽宁省农业农村厅（沈阳市和平区太原北街2号），联系电话：024-23447862。

文件起草单位通讯地址：辽宁省农业科学院（沈阳市沈河区东陵路84号），联系电话：024-31029388。

花生抗褐斑病鉴定技术规程

1 范围

本文件规定了花生抗褐斑病（*Cercospora arachidicola* Hori）鉴定技术的病原物分离、接种体制备、室内抗性鉴定、田间抗性鉴定、病情调查、抗性评价、鉴定记载方法等。

本文件适用于花生（*Arachis hypogaea* L.）品种及种质资源对花生褐斑病抗性的室内、田间鉴定及评价。

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/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

NY/T 2391 农作物品种区域试验与鉴定规程 花生

NY/T 3842 东北产区花生生产技术规程

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

PDA 马铃薯葡萄糖琼脂培养基（Potato Dextrose Agar Medium）

OA 燕麦琼脂培养基（Oatmeal Agar Medium）

5 试剂与材料

PDA培养基、OA培养基。

6 病原物分离与接种体制备

6.1 病原物分离

从花生叶片病斑处挑取花生褐斑病菌分生孢子，置于无菌水中，震荡3 min，将分生孢子悬浮液涂布于水琼脂平板上，挑取单孢子，置于PDA培养基上，26℃培养箱中暗培养。形态观察结合系统进化分析，鉴定为落花生尾孢菌（*Cercospora arachidicola* Hori），采用柯赫氏法则测定致病性，确定为供接种用菌株。病原菌于4℃保存，或20%甘油中，-40℃长期保存。

花生褐斑病症状及病菌形态描述见附录A。

6.2 接种体制备

接种前30 d~45 d，将病菌接种于PDA培养基平板上，25℃恒温培养15 d，挑取菌落，置于2 mL离心管中，加入无菌水1.5 mL，充分震荡混匀，吸取菌悬液500 μL，置于OA培养基中央，均匀涂布整个平板，25℃恒温培养10 d~15 d。于超净工作台中刮取分生孢子，置于装有少量无菌水的烧杯中，静置20 min，配制成浓度为1×10^5个/mL孢子悬浮液（如未立即接种使用，可置4℃保存，保存时间≤2 d）。接种前在孢子悬浮液中加入0.1% Tween20 1 μL/mL 增加病菌孢子与叶片粘附性，加入蔗糖0.05 mg/mL提高孢子萌发率。

7 室内抗性鉴定

7.1 室内离体叶片准备

在花盆中播种籽粒饱满的花生种子3粒，定期浇水，于26℃、12 h光暗交替的培养箱中培养至下针期。剪取底部向上的第3、4片复叶，用脱脂棉包裹叶柄，插入经人工打孔的接种杯（直径4 cm，高4.8 cm）中，杯内含清水30 mL。

7.2 接种

将孢子悬浮液均匀喷施于离体叶片上，光照条件下26℃保湿培养12 h，黑暗条件下18℃保湿培养12 h，培养7 d~10 d。

7.3 病情调查方法

接种后25 d~30 d，进行病情调查。调查接种的全部叶片，记录总叶片数，各级病叶数，计算病情指数及相对抗病指数。

$$DI = \frac{\sum (s\times n)}{S\times N}\times 100 \quad \cdots\cdots (1)$$

式中：

DI——病情指数；

s——各级代表值；

n——各级叶片数；

S——发病最高代表值；

N——调查总叶数。

$$RDI = 1 - \frac{DI_P}{DI_S} \quad \cdots\cdots (2)$$

式中：

RDI——相对抗病指数；

DI_P——品种病情指数；

DI_S——最感品种病情指数。

7.4 病情分级

病情分级及其对应的症状描述见表1。

表1　花生抗褐斑病鉴定病情级别划分标准

病情级别	病害症状描述
0	整片复叶无病症状；
1	病斑面积＜10%；
3	10%≤病斑面积＜25%；
5	25%≤病斑面积＜50%；
7	50%≤病斑面积＜75%；
9	75%≤病斑面积。

8　田间抗性鉴定

8.1　抗性鉴定圃设置

抗性鉴定圃设置在具备良好的自然发病环境条件、灌溉良好、地势平坦、地力均匀的地块，发病条件一致。

8.2　小区设计

鉴定材料随机区组排列。小区面积25 m^2~30 m^2，4行区，行距0.5 m~0.6 m，小区保苗80穴左右。每20份鉴定材料各设1组抗、感病对照，抗病对照品种为花育20，感病对照品种为白沙1016。

8.3　种植要求

鉴定材料播种时间、栽培管理方式应符合NY/T 3842的要求，整个生长季不施用杀菌剂。

8.4　接种

8.4.1　接种期

接种期为花针期。

8.4.2　接种方法

每个品种随机连续选择10株，将孢子悬浮液均匀喷施于主茎自上向下第3片至第7片复叶，保湿培养。接种期如遇干旱天气，应及时进行田间浇灌。

8.5　病情调查方法

接种后15 d~20 d，进行病情调查。调查接种的全部植株，统计每株叶数和各级病叶数，计算病情指数，计算方法同 7.3。

9　抗性评价

9.1　鉴定有效性判别

当感病对照材料达到其相应感病程度（S级），该批次材料抗褐斑病鉴定视为有效。

9.2　抗性评价标准

依据鉴定材料相对抗病指数确定其抗性水平，划分标准见表2。

表2　花生抗褐斑病抗病评价标准

相对抗病指数	抗性评价
1.0	免疫（IM）
0.80~0.99	高抗（HR）
0.60~0.79	抗　（R）
0.40~0.59	中抗（MR）
0.20~0.39	感　（S）
＜0.2	高感（HS）

10　鉴定记载

宜做好花生抗褐斑病鉴定结果的记载，见附录B。

附　录　A
（资料性）
花生褐斑病症状及病菌形态描述

A.1　病名和症状描述

A.1.1　病名

花生褐斑病 Peanut brown leaf spot

A.1.2　症状描述

花生褐斑病是花生生产上常见的真菌病害，主要为害叶片，也可为害茎和叶柄。发病初期为褪绿小点，后扩展成近圆形或不规则形小斑，病斑较黑斑病大而色浅，叶正面呈暗褐或茶褐色，背面呈褐或黄褐色，病斑周围有亮黄色晕圈。湿度大时病斑上可见灰褐色粉状霉层，即病菌分生孢子梗和分生孢子。叶柄和茎秆染病，病斑长椭圆形，暗褐色。花生褐斑病症状图见图A.1。

图A.1 花生褐斑病症状图

A.2　病原菌学名和形态描述

A.2.1　病原菌

花生褐斑病（Peanut brown leaf spot）致病菌为落花生尾孢（*Cercospora arachidicola* Hori），有性态为落花生球腔菌（*Mycosphaerella arachidicola* Hori）。

A.2.2　形态描述

花生褐斑病菌丝体在燕麦琼脂培养基（OA）上菌落呈深褐色至黑色，近圆形，粘性较差。分生孢子梗丛生或散生，淡褐色，有0~2个分隔，大小21~42 μm×3~5 μm。分生孢子倒棍棒状，基部膨大，向上渐尖，淡褐色，具5~8个隔膜，大小40~110 μm×3~5 μm。花生褐斑病菌菌落形态图见图A.2。花生褐斑病菌分生孢子形态图见图A.3。

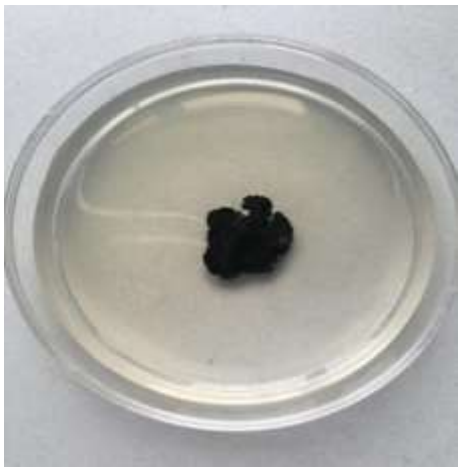

图 A.2　花生褐斑病菌菌落形态图

图 A.3　花生褐斑病菌分生孢子形态图

附　录　B
（资料性）
花生抗褐斑病鉴定记载

花生抗褐斑病鉴定结果记载在表B.1中。

表B.1　花生抗褐斑病鉴定记载表

接种日期	调查日期	地点	品种	各级病叶数						病情指数	抗性评价
				0	1	3	5	7	9		