

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 3623—2020

马铃薯抗南方根结线虫病 鉴定技术规程

Technical code of practice for evaluation of potato resistance against southern
root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*)

2020-07-27 发布

2020-11-01 实施



中华人民共和国农业农村部 发布



本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由农业农村部种植业管理司提出并归口。

本标准起草单位：中国农业科学院蔬菜花卉研究所。

本标准主要起草人：茆振川、杨宇红、徐东辉、谢丙炎、凌键、李彦。



马铃薯抗南方根结线虫病鉴定技术规程

1 范围

本标准规定了马铃薯抗南方根结线虫的抗性鉴定方法及抗性评价方法。

本标准适用于马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)品种及其育种资源材料对南方根结线虫(*Meloidogyne incognita*)的抗性鉴定及评价。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的引用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅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 1858.8 番茄抗南方根结线虫病鉴定技术规程

NY/T 3063 马铃薯抗晚疫病室内鉴定技术规程

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

马铃薯南方根结线虫病 potato southern root-knot nematode disease

由南方根结线虫侵染马铃薯根系及块茎而引起的一种线虫病害,主要症状表现为在马铃薯植株根系上形成大小不等的根结,在块茎上形成粗糙的瘤状突起(参见附录 A)。

4 试剂、材料及仪器设备

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯或生化试剂。

4.1 0.5%次氯酸钠溶液。

4.2 将草炭、蛭石和细沙按体积 2:1:1 混合均匀,于 $(121\pm1)^{\circ}\text{C}$ 湿热灭菌 30 min。

4.3 在以下马铃薯品种中选用 1 个~2 个作为感病对照品种:宣薯 4 号、克新 13、青薯 3 号、东农 303、尤金、608 Kennebec、伽马 2 号、大西洋、费乌瑞它等。

4.4 体式显微镜。

4.5 标准筛网:规格为 100 目~200 目。

5 室内抗性鉴定

5.1 马铃薯育苗

马铃薯育苗按 NY/T 3063 的规定执行。选择健康的微型薯或是种薯块在 $25^{\circ}\text{C}\sim 28^{\circ}\text{C}$ 下避光催芽,当薯芽长到 0.5 cm~1.5 cm 时,播种于直径不小于 15 cm 的育苗钵中,每钵 1 粒(块),在温度 $25^{\circ}\text{C}\sim 28^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 70%~80%条件下于日光温室进行育苗。

5.2 接种体制备

将南方根结线虫卵块用 0.5%次氯酸钠消毒 1 min~2 min,然后用灭菌水冲洗 3 次,卵块转移至 100 目标筛网上,放入培养皿内,皿内加入约 10 mL 灭菌水,使卵块与水面接触。在 $25^{\circ}\text{C}\sim 28^{\circ}\text{C}$ 下避光孵化 2 d~3 d,收集二龄幼虫,制备 1 000 条/mL 的线虫悬浮液用于接种鉴定(见附录 B)。

5.3 接种时期

马铃薯苗 2 叶~3 叶期。

5.4 接种数量

每株接种 1 500 条(二龄幼虫)。

5.5 接种方法

接种时距离苗主根 5 cm,在 3 个不同方向各打 1 个小孔,分别接种 0.5 mL 线虫悬浮液,并轻压封闭孔口,每个材料接种 10 株苗,重复 3 次。

5.6 接种后管理

植株在温度 25℃~28℃、相对湿度 70%~80%,自然光照条件下进行正常管理。

5.7 病情调查

5.7.1 调查时间

接种后 40 d~50 d 调查。

5.7.2 调查方法

调查方法按 NY/T 1858.8 的规定执行。调查时轻轻将根部土壤清除,检查每株马铃薯苗根系发病症状,根据具有根结的根系占有根系的总比例确定病情级别(表 1),并计算病情指数(DI)。

表 1 病情级别的划分

根系病情级别	根系症状
0	所有根系上没有根结
1	有根结的根系比例为 0.1%~10.0%
2	有根结的根系比例为 10.1%~25.0%
3	有根结的根系比例为 25.1%~50.0%
4	有根结的根系比例为 50.1%~75.0%
5	有根结的根系比例为 75.1%~100.0%

病情指数(DI)按式(1)计算。

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

式中:

DI——病情指数。

$\sum$ ——各病情级别数值与各病情级别植株数乘积的总和;

s——各病情级别数值;

n——各病情级别病株数,单位为株;

N——调查总株数,单位为株;

S——最高病情级别数值。

5.8 鉴定材料后处理

鉴定完毕后将马铃薯植株、残体及土壤基质集中进行无害化处理。

6 田间抗病性鉴定

6.1 病圃选择

种植前采用直径为 4 cm 的土钻对种植田进行随机取样,每个小区 5 点,深度 20 cm,每点从中取 100 g 采用浅盘漏斗法分离并收集线虫(见附录 C)。如果 5 点样品中根结线虫二龄幼虫数量均大于 100 条,则可以选择该田块为鉴定病圃。

6.2 田间处理

6.2.1 种苗处理

方法同 5.1。

6.2.2 种植

每个小区 6 m²~8 m²,在田间每个小区种植 2 行,株距 40 cm,行距 50 cm,每个品种 30 株苗,重复 3 次,小区随机区组排列,每 10 个品种设 1 个感病对照。

6.3 病情调查

6.3.1 调查时间

在种植 50 d~60 d 后进行病情调查。

6.3.2 调查方法

方法同 5.7.2。

7 抗性鉴定

7.1 抗性评价标准

抗性标准划分为 5 个级别,见表 2。

表 2 马铃薯对南方根结线虫病抗性的评价标准

病情指数(DI)	抗性评价
$DI=0$	免疫(IM)
$0<DI\leq 10$	高抗(HR)
$10<DI\leq 30$	抗(R)
$30<DI\leq 60$	感病(S)
$DI>60$	高感(HS)

7.2 鉴定有效性判别

7.2.1 当感病对照材料的病情指数大于等于 60($DI\geq 60$)时,该批次抗性鉴定判定为有效。

7.2.2 在田间抗性鉴定为免疫、高抗、抗病的,需要进行室内人工盆栽接种重复鉴定,并以人工接种测试鉴定结果评价抗性类别。

7.2.3 在抗性鉴定的 3 次重复中,如果 3 次重复鉴定中鉴定出现差异,以较高发病级别指标优先确定;如果评价级别相差 2 个级别以上(含 2 个级别),则需要做重复抗性鉴定。

7.3 抗性评价

依据马铃薯鉴定材料 3 次重复鉴定的病情指数(DI),按照表 2 确定马铃薯材料对南方根结线虫的抗感病水平,对鉴定材料进行抗病性评价,写出正式鉴定报告,并附原始调查记录资料(参见附录 D)。

附录 A

(资料性附录)

南方根结线虫及马铃薯地下部症状

A.1 学名和形态描述

A.1.1 学名

南方根结线虫(*Meloidogyne incognita*)。

A.1.2 形态描述

南方根结线虫幼虫呈细长蠕虫状,体长 $340\ \mu\text{m}\sim 460\ \mu\text{m}$,体宽 $13\ \mu\text{m}\sim 15\ \mu\text{m}$ 。雌雄异形,雌成虫梨形,埋藏于寄主组织内,大小 $(440\sim 1\ 300)\ \mu\text{m}\times (325\sim 700)\ \mu\text{m}$ 。食道垫刃型,中食道球发达。会阴花纹背弓高,呈方形,侧线明显,平滑至波浪状,线纹细至粗状,有时呈锯齿状,尾端常具轮纹(图 A.1)。雄成虫线状,尾端稍圆,大小 $(700\sim 1\ 900)\ \mu\text{m}\times (30\sim 36)\ \mu\text{m}$;卵长椭圆形,大小约 $83\ \mu\text{m}\times 38\ \mu\text{m}$ 。



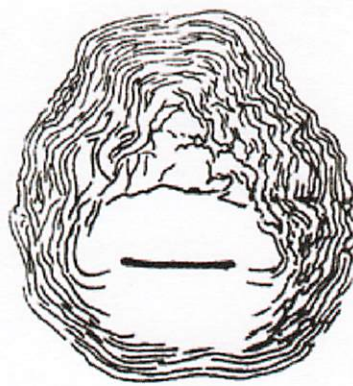
a) 卵



b) 二龄幼虫



c) 雌成虫



d) 雌成虫会阴花纹墨线图

图 A.1 南方根结线虫的形态

A.2 马铃薯地下部症状

南方根结线虫侵染马铃薯的根系和块茎,在根系上形成大小不等的根结,在块茎上形成瘤状突起,且表面粗糙。



图 A.2 马铃薯根部症状及块茎初期症状

附录 B

(规范性附录)

南方根结线虫的分离及保存

B.1 分离

采集感染南方根结线虫的病株,直接挑取根结上的卵块,单卵块直接接种在感病寄主根际土壤中,在 $25^{\circ}\text{C}\sim 28^{\circ}\text{C}$ 、土壤相对湿度 $70\%\sim 80\%$ 条件下培养 $40\text{ d}\sim 60\text{ d}$,收集在根系上扩繁的卵块,采用 0.5% 次氯酸钠溶液对卵块进行浸泡消毒,轻轻振荡 1 min ,弃液体,用灭菌水冲洗卵块 3 次,将干净的卵块转移到 100 目细筛网上,置于培养皿内,加入无菌水约 10 mL ,以水面没过筛网而不淹没卵块为宜。在 $25^{\circ}\text{C}\sim 28^{\circ}\text{C}$ 下避光孵化 $2\text{ d}\sim 3\text{ d}$,然后从筛网下的水中收集孵化的二龄幼虫,经形态学或分子技术鉴定为南方根结线虫,确定分离成功,收集的二龄幼虫用于接种。

B.2 繁殖

将经过鉴定的南方根结线虫接种在高感寄主植物的根部,在 $25^{\circ}\text{C}\sim 28^{\circ}\text{C}$ 、土壤相对湿度 $70\%\sim 80\%$ 条件下培养 $40\text{ d}\sim 60\text{ d}$,接种前从寄主植物根系上挑取卵块,孵化二龄幼虫制备接种体,方法同 5.2 。

B.3 保存

采用活体保存方法,将南方根结线虫接种在高感寄主植物的根部,在 $25^{\circ}\text{C}\sim 28^{\circ}\text{C}$ 、土壤湿度 $70\%\sim 80\%$ 条件下培养,并且每 60 d 重新进行 1 次线虫分离、收集及接种。



附 录 C
(规范性附录)
浅盘法分离检测土壤线虫

C.1 土壤处理

在 20 目网筛(直径 15 cm~20 cm)上放干的双层面巾纸,取 100 g 土壤(含水量 60%~70%)均匀地平铺于面巾纸上,随后将网筛轻轻放置于稍大的不锈钢浅盘上,网筛底部与不锈钢浅盘之间有 0.5 cm 的间隙,从浅盘边缘轻轻加入蒸馏水,使纸上的土壤呈湿润状。置于室温(25℃~28℃)下放置 24 h,其间如果水分蒸发过快,应及时补充。

C.2 线虫收集

将直径为 10 cm~15 cm 的漏斗底部连接上橡胶软管,用弹簧夹子夹紧,架在铁架台上。将土壤及筛网一起从浅盘中轻轻移走,将浅盘中的水搅动均匀,倒入漏斗。静置 8 h。打开弹簧夹,从橡胶管中收取底部 2 mL~3 mL 水样。

C.3 线虫检测

将取得的水样在体式显微镜下检测线虫,并鉴定、计算根结线虫的数量,根结线虫的鉴定参见 A.1.2。

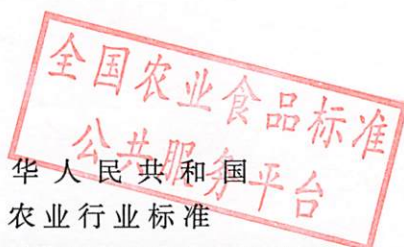
附 录 D
(资料性附录)
马铃薯抗南方根结线虫病鉴定结果记录表

马铃薯抗南方根结线虫病鉴定结果记录表见表 D. 1。

表 D. 1 马铃薯抗南方根结线虫病鉴定结果记录表

编 号	品种/材料 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	2	3	4	5			
1	感病对照		I									
			II									
			III									
2	鉴定品种 1		I									
			II									
			III									
3	鉴定品种 2		I									
			II									
			III									
...	...		I									
			II									
			III									
播种日期			接种日期									
接种生育期			根结线虫种类									
线虫学名			调查日期									
记录人			地点									

审核人(签字):



中华人民共和国
农业行业标准

马铃薯抗南方根结线虫病鉴定技术规程

NY/T 3623—2020

食典通

* * *

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区麦子店街18号楼)

(邮政编码:100125 网址:www.ccap.com.cn)

化学工业出版社印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经销

* * *

开本 880mm×1230mm 1/16 印张 1 字数 20 千字

2020年10月第1版 2020年10月北京第1次印刷

书号: 16109·8176

定价: 25.00 元



NY/T 3623—2020

版权专有 侵权必究

举报电话: (010) 59194261