

# DB2308

## 黑龙江省佳木斯市地方标准

DB2308/T XXXX—2023

### 佳木斯水稻品种（系）稻瘟病抗性离体 叶片鉴定技术规范

（征求意见稿）

起草单位：黑龙江省农业科学院佳木斯水稻研究所

联系人：陆文静

联系电话：18004541526

邮箱：reachwenjing@163.com

2023-XX-XX 发布

2023-XX-XX 实施

佳木斯市市场监督管理局 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。

本文件由黑龙江省佳木斯市农业农村局提出并归口。

本文件由黑龙江省佳木斯市场监督管理局批准发布。

本文件起草单位：黑龙江省农业科学院佳木斯水稻研究所。

本文件主要起草人：陆文静、王桂玲、周通、周雪松、韩笑。

本文件 2023 年首次发布。

# 佳木斯水稻品种（系）稻瘟病抗性离体叶片鉴定技术规范

## 1 范围

本标准规定了寒地水稻稻瘟病室内离体叶片接种鉴定的接种体制备、抗性鉴定和抗性评价的技术要求。

本标准适用于寒地常规水稻品种（系）稻瘟病抗性的离体叶片鉴定和评价。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的，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。

GB/T 15790-2009 稻瘟病测报调查规范

GB/T 19557.7-2002 植物品种特异性（可区别性）、一致性和稳定性测试指南 水稻

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

### 3.1 水稻稻瘟病 the rice blast

稻瘟病菌引起的水稻病害。依据病害发生的时期和部位，可分为苗瘟、叶瘟、穗颈瘟、枝梗瘟、粒瘟等。

### 3.2 抗病性：

植物与病原物在长期进化和相互作用的复杂过程中，逐渐形成和表现出各种抵御有害病原物的特征和能力。

### 3.2 接种物：

人工制备能够侵染寄主并引起病害的微生物病原体。

### 3.3 人工接种：

采取人工方法将病菌直接或间接接种到寄主株或器官上，使其发病，如喷雾法、涂抹法、注射法、针刺法等。

### 3.4 抗性评价：

根据采用的技术标准判别寄主植物对特定病害反应程度和抵抗水平的定性描述。

#### 4 病原物的采集、分离和保存

采集寒地水稻种植区具有典型病斑的稻结、穗颈瘟组织。剪取含有单个典型病斑的水稻组织，75%酒精和无菌水漂洗后用灭菌滤纸吸干水分，用无菌凡士林将发病组织悬挂无菌培养皿中，28℃光照培养箱中黑暗培养 24h。发病组织产孢后徒手轻轻拍打，使稻瘟病菌孢子落至无菌水琼脂平板上，显微镜下做好单孢标记，无菌环境下转移至新的水琼脂板上，28℃光照培养箱中黑暗培养 12 h~24h，显微镜下观察孢子萌发情况确认分离出稻瘟菌单孢。剔除混杂多孢平板，将单孢平板至于 28℃光照培养箱中培养 3d~5d 后可长出稻瘟菌单孢菌落。将分离得到的无污染单孢接种至无菌的水稻稻节上，放置 28℃光照培养箱中培养 15 h，待组织上布满菌丝后做好标记放入干燥器中密封保存。

#### 5 水稻的种植与管理

根据需要称取适量的供试(待测)水稻种子，按常规方法种植水稻幼苗，待水稻生长至 3~7 叶龄时用于接种。

#### 6 接种体制备

将保存稻瘟病菌单孢的稻节至于无菌培养基中央部位，28℃光照培养箱中黑暗培养 5~7 d，培养基表面即可生成大量分生孢子。在产孢培养皿上加入灭菌水，用玻璃洗菌棒将菌落表面形成的分生孢子洗下放于 5 mL EP 管中，充分混匀后用血球计数板测定孢子浓度，重复测定 3 次，取平均值。接种用的分生孢子悬浮液浓度调至  $10^5$  个孢子/mL，保证接种菌液量不少于 2mL，分生孢子悬浮液需现配现用。

#### 7 离体叶片接种

剪取 5cm 充分展开心叶的中下部叶段，用灭菌针在叶正面、垂直于主叶脉处制造 3 个均匀分布的微创伤点，每个点长约 2 mm，注意不要划穿叶片。将滤纸裁剪成直径约 8cm 的无菌圆片至于无菌培养皿中，充分用无菌水浸湿。将 2 根灭菌牙签放置滤纸片上搭放上水稻叶片，牙签间距 2cm~3cm。接种前，先在划伤叶段上均匀喷洒灭菌水。用 200  $\mu$ L 的移液器在划伤点处点接 5  $\mu$ L~10  $\mu$ L 孢子悬液，每个叶片 3 个接种点，3 次独立重复。接种水稻叶段的培养皿先放置于相对湿度 100%、26℃下，黑暗培养 24h~36h；再将培养皿摆放在 26℃、光照条件下保湿培养，每天喷水 1 次~2 次，观察叶片发病情况。根据发病情况，在接种后 4~7 d 拍照、记录。

#### 8 抗病性评价

##### 8.1 抗感性判断

抗性病斑仅局限于叶片划伤处，呈褐色点状，病斑中无分生孢子形成，即为“+”。感病病斑呈梭形，中央灰色的崩溃部生有菌丝和分生孢子，崩溃部的外围可能有褐色坏死，最外层是淡黄色的中毒部，形状不规则，边缘呈现出暗绿色记为“-”。

## 8.2 抗谱计算

计算公式： $C = \frac{a}{b} \times 100$

a: 形成抗病病斑的菌株数，单位为个；

b: 总接种菌株数，单位为个；

C: 抗谱，单位为百分率(%)。

## 8.3 抗瘟性评价标准

水稻稻瘟病抗性的评价标准

抗性评价	评价标准(C),%
抗病Resistant(R)	$C \geq 70$
中抗Moderately resistant(MR)	$50 \leq C < 70$
中感Moderately Susceptible(MS)	$30 \leq C < 50$
感病Susceptible(S)	$C < 30$