|  |  |
| --- | --- |
| ICS | 65.020.01 |
| CCS | B 04 |

|  |
| --- |
| NY |

中华人民共和国农业行业标准

NY/T XXXXX—2022

代替 XX/T

热带作物种质资源抗病虫鉴定技术规程 咖啡炭疽病

Technical code of practice for resistance identification to diseases and pests of tropical crop varieties-Coffee anthracnose

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

（本草案完成时间：2022年8月21日）

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX实施

中华人民共和国农业农村部  发布

1. 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有可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中华人民共和国农业农村部农垦局提出。

本文件由农业农村部热带作物及制品标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：中国热带农业科学院环境与植物保护研究所。

本文件主要起草人：陆英、易克贤、贺春萍、吴伟怀、梁艳琼、李锐。

热带作物种质资源抗病虫鉴定技术规程 咖啡炭疽病

* 1. 范围

本标准规定了咖啡种质抗炭疽病评价的术语和定义、接种体制备、田间自然发病鉴定、人工接种鉴定、抗病性评价、抗性鉴定的有效性判别、重复鉴定和抗性终评。

* 1. 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。

NT/T 922 咖啡栽培技术规程

* 1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

咖啡炭疽病 coffee anthracnose

由胶孢炭疽菌（Colletotrichum gloeosporioides complex）侵染引起的真菌病害，可造成咖啡的枝条枯、落叶和落果。咖啡炭疽病田间症状、病原参见附录A。

抗病性 disease resistance

植物体所具有的能够减轻或克服病原体致病作用的可遗传的性状。

抗病性鉴定 screening for disease resistance

通过适宜技术方法鉴别植物对其特定侵染性病害的抵抗水平。

抗性评价 evaluation resistance

根据采用的技术标准判别寄主对特定病害反应程度和抵抗水平的描述。

致病性 pathogenicity

病原物侵染寄主植物引起发病的能力。

病情级别 disease rating scale

定量植物个体或群体发病程度的数值化描述。

病情指数 disease index

以发病率和病害严重度相结合，用一个数值表示发病的程度。

分离物 isolate

采用人工方法分离获得的病原体的纯培养物。

培养基 medium

自然或人工配制的、可以使病原体在其上生长的基质。

接种体 inoculum

用于接种以引起病害的病原菌或病原体的一部分。

人工接种 artificial inoculation

在适宜条件下，通过人工操作将接种体接于植物体适当部位。

对照品种 control germplasm

对检验试验的可靠性，在品种鉴定时附加的抗/感品种。

田间鉴定 field identification

将参鉴品种种植于鉴定圃，通过满足发病条件的方式鉴定参鉴品种对病害的抗性水平。

人工接种鉴定 artificial inoculation for identification

用人工繁殖的病原菌，仿照自然情况，创造发病条件，按一定量接种，根据接种对象抗性表现和发病程度参鉴品种抗性强弱的鉴定方法。

* 1. 接种体的制备
     1. 病原菌的分离

采用常规组织分离法从发病咖啡叶片的病斑上分离病原菌，单孢分离后经形态学和分子生物学技术鉴定，经致病性测定后选定致病力强的菌株在4℃条件下保存备用。

* + 1. 病原菌的培养

将病原菌接种于马铃薯葡萄琼脂培养基（PDA）平板（直径9 cm）上，28℃，黑暗培养3 d，在超净工作台内用无菌牙签在菌落菌丝表面划破，以刺激病原菌产生分子孢子，继续培养3 d,用无菌水将培养基表面孢子洗下，孢子悬浮液用4层灭菌纱布过滤，显微镜下用血球计数板计数滤液中的孢子数，用无菌水调至浓度为1×106 个/mL的孢子悬浮液，加入0.02%（体积分数）吐温20，即配即用。

* 1. 田间接种鉴定
     1. 鉴定对照种质

设立“铁皮卡”为感病对照种质，“矮卡”为抗病对照种质。

* + 1. 鉴定圃设计

鉴定圃选址于咖啡炭疽病常发生区，地势平坦、土壤理化性质均一，四周无高大乔木，立地环境一致，每份种质种植20株。采用完全随机区组排列，种植规格和管理按 NY/T 922的有关规定进行除草、浇水及施肥。确保苗木健康生长旺盛。

* + 1. 接种方法

采用孢子悬浮液喷雾接种法。分生孢子悬浮液的制备方法同4.2。每份种质选取5株，重复3次，用弥雾喷雾器（雾滴的体积中值直径50-100 µm）在所有完全展开的叶片的正反两面进行均匀喷雾，以喷施灭菌水作对照，用透明的保鲜袋套袋保湿至第3 d摘除。

* + 1. 病情调查
       1. 调查时间

接种后7 d进行调查。

* + - 1. 调查方法

调查对象为接种的叶片，每份种质随机调查4株，每株调查全部叶片。

* + - 1. 病情分级

病情级别及相关的分级标准见表1。

1. 咖啡炭疽病病情分级标准

| 病级 | 分级标准 |
| --- | --- |
| 0级 | 叶片上无病斑 |
| 1级 | 病斑面积占整个叶片面积的5%以下 |
| 3级 | 病斑面积占整个叶片面积的6%-15% |
| 5级 | 病斑面积占整个叶片面积的16%-25% |
| 7级 | 病斑面积占整个叶片面积的26%-50% |
| 9级 | 病斑面积占整个叶片面积的50%以上 |

* + - 1. 病情指数计算

调查记载每个种质叶片的病情，并按照公式（1）计算病情指数：

()

式中：

*DI*---病情指数；

A---各病级叶片数；

B---相应病级数值；

C---调查的总叶片数；

* + 1. 抗病性评价
       1. 抗病性评价标准

依据鉴定材料3次重复的病情指数（DI）的平均值确定其抗病性水平，划分标准见表2。

1. 咖啡种质对炭疽病抗性评价标准

| 病情指数（DI） | 抗病级别 |
| --- | --- |
| DI<10.0 | 高抗（HR） |
| 10.0≤DI＜20.0 | 抗（R） |
| 20.0≤DI＜30.0 | 中抗（MR） |
| 30.0≤DI＜40.0 | 感（S） |
| DI≥40.0 | 高感（HS） |

* + - 1. 结果记录

抗病性评价结果按附录B中的表B.1填写。

* 1. 田间自然条件下抗病性评价
     1. 鉴定对照种质

按5.1规定进行。

* + 1. 鉴定圃设计

按5.2规定进行。

* + 1. 调查时间

在咖啡炭疽病发病高峰期进行。

* + 1. 调查方法

每个种质随机调查4株，每株按东、西、南、北取样，每点调查上部2条枝条的全部叶片。

* + 1. 病情调查

按5.4规定进行。

* + 1. 抗病性评价

按5.5规定进行。

* + 1. 记录结果

抗病性评价结果按附录B中的表B.2填写。

* 1. 鉴定有效性判定

感病对照种质“铁皮卡”达到相应感病程度（DI＞30）时该批次鉴定视为有效。

* 1. 重复鉴定

鉴定种质初次鉴定表现为高抗或抗病，次年进行重复鉴定。

* 1. 抗病性终评

同一年田间人工接种与自然条件下抗病性鉴定结果不一致时，以记载的抗病性水平低的为准。

进行重复鉴定后，以鉴定的抗病水平低的评价结果作为鉴定种质的最终评价结果，并按表B.3填写。

2. （资料性）  
   咖啡炭疽病
   1. 田间症状

叶片感病多在叶尖和叶缘产生褐色病斑,随病斑的不断扩大,后期病斑中心呈灰褐色且具同心轮纹排列的黑色小点,边缘为暗褐色,其外缘有黄色晕圈;发病严重的则数个病斑交汇成大病斑,叶片干枯、脱落。高温条件下,叶片边缘出现黑色圆形病斑,病斑中央呈灰白色,病斑外缘有黄色晕圈,叶背有同心轮纹,上有黑色小点;枝条感病时，病斑褐色、不规则形。浆果感病时在果实向阳面出现深褐色灼伤凹陷斑,斑痕扩展形成不规则凹陷灼伤区, 最后果皮干褐挂于枝上;旱季小树和弱树易感病,出现大量落叶,并伴随有枯枝症状。



* 1. 咖啡炭疽病叶片和枝干症状
  2. 病原

无性态为腔孢纲、黑盘孢目、刺盘孢属。病原菌为胶孢炭疽菌复合种（Colletotrichum gloeosporioides complex）中的一个种。有性态自然条件下少见。

1. （规范性）  
   抗病性评价记录表
   1. 咖啡炭疽病田间接种抗病性评价结果
   2. 咖啡种质对炭疽病的田间接种抗性评价表

| 鉴定单位 | | |  | | | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 鉴定时间 | | |  | | | |
| 病原菌及编号 | | |  | | | |
| 序号 | 种质名称 | 来源 | 重复 | 病情指数 | 平均病情指数 | 抗病性等级 |
|  |  |  | Ⅰ |  |  |  |
|  |  |  | Ⅱ |  |
|  |  |  | Ⅲ |  |
| 鉴定负责人（签字） | |  | | | | |

* 1. 咖啡炭疽病自然条件下抗性评价结果
  2. 咖啡种质抗炭疽病自然发病评价表

| 鉴定单位 |  | | |
| --- | --- | --- | --- |
| 鉴定时间 |  | | |
| 序号 | 种质名称 | 病情指数 | 抗病性等级 |
|  |  |  |  |
| 鉴定负责人（签字） |  | | |

* 1. 咖啡炭疽病抗病性评价终评
  2. 咖啡炭疽病（病原 ）抗病性终评结果

| 鉴定单位 |  | | | | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 鉴定时间 |  | | | | |
| 序号 | 种质名称 | 来源 | 抗病性等级 | | 抗病性终评 |
| 田间接种 | 自然发病 |  |
|  |  |  |  |  |
| 鉴定负责人（签字） | |  | | | |

