

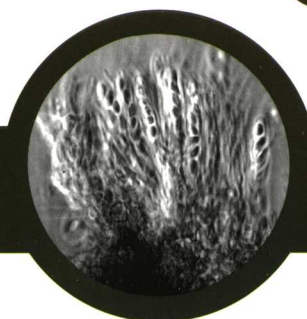


华夏英才基金学术文库  
国家自然科学基金资助

# 苜蓿 褐斑病 研究



袁庆华 桂枝 著



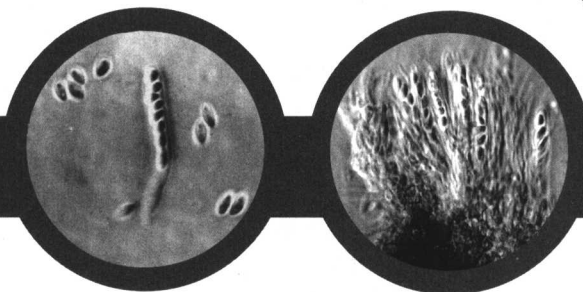
化学工业出版社  
农业科技编辑部

华夏英才基金学术文库  
国家自然科学基金资助

# 苜蓿 褐斑病 研究



袁庆华 桂枝 著



化学工业出版社  
农业科技编辑部  
·北京·

本书是在总结作者近年研究苜蓿褐斑病成果的基础上,结合该领域国内外最新研究进展撰写而成,是一部学术性专著。

本书论述了苜蓿褐斑病的分布、危害与损失、研究方法、症状及诊断,苜蓿假盘菌的生物学特性,植物的抗病机制及其遗传,苜蓿褐斑病的发生和发展、防治途径、抗病育种、19种苜蓿重要病害的鉴定方法及标准。书末收录了常用试剂的配制。本书注重科学理论和实际应用的结合,可作为草业科学和植物保护领域的研究、推广和管理人员及大专院校相关专业师生的参考书。

### 图书在版编目(CIP)数据

苜蓿褐斑病研究/袁庆华,桂枝著. —北京:化学工业出版社, 2006.6

ISBN 7-5025-8968-6

I. 苜… II. ①袁…②桂… III. 紫花苜蓿-褐斑病-研究 IV. S435.5

中国版本图书馆CIP数据核字(2006)第071040号

---

### 苜蓿褐斑病研究

袁庆华 桂枝 著

责任编辑:侯玉周

文字编辑:张林爽 周 侗

责任校对:周梦华

封面设计:于 兵

\*

化学工业出版社 出版发行  
农业科技编辑部

(北京市朝阳区惠新里3号 邮政编码100029)

购书咨询:(010)64982530

(010)64918013

购书传真:(010)64982630

<http://www.cip.com.cn>

\*

新华书店北京发行所经销

北京云浩印刷有限责任公司印装

开本 720mm×1000mm 1/16 印张 10 $\frac{1}{4}$  字数 182千字

2006年8月第1版 2006年8月北京第1次印刷

ISBN 7-5025-8968-6

定 价: 30.00元

---

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者,本社发行部负责退换

# 前 言

苜蓿褐斑病是世界范围内最常见、破坏性最大的苜蓿病害之一，在中国各地苜蓿种植区发病较为广泛，具有很大的危害性。深入了解苜蓿假盘菌的生物学特性及生活史，掌握苜蓿褐斑病的发病规律，制订正确有效的防治对策，对于苜蓿产业化发展具有重要意义。从 1998 年以来，作者连续得到两项国家自然科学基金项目资助，对苜蓿褐斑病的发生和危害、病害研究方法、病原菌生物学特性、病害防治及抗病育种进行了深入系统的研究。本书就是在总结作者近年研究成果的基础上，结合该领域国内外最新研究进展撰写而成，以便为中国苜蓿病害的研究及防治略尽绵薄之力。

本书共分八章，介绍了苜蓿褐斑病的分布、危害与损失、研究方法、症状及诊断，苜蓿假盘菌的生物学特性，植物的抗病机制及其遗传，苜蓿褐斑病的发生和发展、防治途径、抗病育种，苜蓿 19 种重要病害的鉴定方法及标准。书末收录了常用试剂的配制。

本书绝大部分内容是作者自己研究课题的总结，在编写中力求科学性和实用性的统一，为读者提供有用的信息。但由于作者水平所限，不足之处在所难免，恳请广大读者批评指正。

本书得到 2005 年华夏英才基金（第 9 批）及国家自然科学基金（39870559；30471230）的资助，在此谨致诚挚的谢意。

著者

2006 年 5 月

# 目 录

绪论	1
一、苜蓿褐斑病的分布	1
二、苜蓿褐斑病的危害与损失	2
(一) 苜蓿褐斑病对苜蓿生长和产量的影响	2
(二) 苜蓿褐斑病对苜蓿品质的影响	3
第一章 苜蓿褐斑病的研究方法	4
一、病害的调查	4
(一) 调查的类别	4
(二) 取样方法	5
(三) 分级标准及病情记载	6
二、苜蓿假盘菌	9
(一) 苜蓿假盘菌的分离和培养	9
(二) 苜蓿假盘菌 DNA 的提取方法	14
(三) 苜蓿假盘菌 ISSR 反应体系的建立	16
(四) 不同地区苜蓿假盘菌 ISSR 指纹分析	21
三、苜蓿褐斑病	24
(一) 苜蓿褐斑病接种方法	24
(二) 苜蓿褐斑病保护酶系统的研究	25
(三) 苜蓿褐斑病分子标记方法	28
第二章 苜蓿褐斑病的症状及诊断	38
一、苜蓿褐斑病的症状	38
(一) 苜蓿褐斑病的外部症状	38
(二) 苜蓿受假盘菌侵染后的组织结构变化和病理变化	38
二、苜蓿褐斑病的诊断程序	39
(一) 症状的观察和显微镜检查	39
(二) 病原菌的分离	39
(三) 致病性测定	40
第三章 苜蓿假盘菌的生物学特性	41
一、苜蓿假盘菌及其菌落的形态特征	41

(一) 苜蓿假盘菌的形态特征 .....	41
(二) 菌落的形态特征 .....	42
二、苜蓿假盘菌的生殖特点 .....	43
三、苜蓿假盘菌的生理生化特性 .....	43
(一) 苜蓿假盘菌的营养特性 .....	43
(二) 苜蓿假盘菌的生理特性 .....	45
(三) 苜蓿假盘菌的致病性和侵染性 .....	48
(四) 苜蓿假盘菌 ISSR 遗传多样性研究 .....	49
(五) 小结 .....	50
<b>第四章 植物的抗病机制及其遗传 .....</b>	<b>52</b>
一、植物的抗病性 .....	52
(一) 抗病性的概念 .....	52
(二) 抗病性的类型 .....	53
(三) 植物抗病性的机制 .....	55
(四) 垂直抗病性和水平抗病性 .....	61
二、抗病性的遗传和变异 .....	63
(一) 抗病性遗传的研究方法 .....	63
(二) 抗病性遗传的研究成果 .....	64
(三) 寄主抗病性的变异 .....	66
<b>第五章 苜蓿褐斑病的发生和发展 .....</b>	<b>67</b>
一、病原物的寄生性和致病性 .....	67
(一) 苜蓿假盘菌的寄生性 .....	67
(二) 苜蓿假盘菌的寄主专化性 .....	68
(三) 苜蓿假盘菌的致病性 .....	68
(四) 病原物的致病机制 .....	69
二、苜蓿褐斑病的传播方式和侵染过程 .....	70
(一) 传播方式 .....	70
(二) 影响病原菌传播的环境因素 .....	71
(三) 苜蓿褐斑病的侵染过程 .....	74
三、病害循环 .....	77
(一) 苜蓿假盘菌的越冬和越夏 .....	78
(二) 初次侵染和再次侵染 .....	78
四、病害的流行 .....	79
(一) 病害流行的基本条件 .....	79

(二) 病害流行的变化 .....	80
<b>第六章 苜蓿褐斑病的防治途径 .....</b>	<b>81</b>
一、田间管理措施 .....	81
(一) 合理进行草地排灌 .....	81
(二) 科学施肥 .....	82
(三) 合理的种植方式 .....	82
(四) 合理利用草地 .....	83
(五) 搞好草地卫生 .....	83
二、化学防治措施 .....	83
三、抗病品种选育 .....	85
四、生物防治措施 .....	85
(一) 拮抗作用 .....	86
(二) 寄生现象 .....	86
(三) 交互保护 .....	86
(四) 竞争作用 .....	87
<b>第七章 苜蓿褐斑病的抗病育种 .....</b>	<b>88</b>
一、抗病育种的重要性及进展 .....	88
(一) 抗病育种的重要性 .....	88
(二) 抗病育种的进展 .....	89
二、抗病性鉴定 .....	90
(一) 进行抗病性鉴定所需要的外部条件 .....	90
(二) 田间抗病性的鉴定 .....	90
(三) 实验室或温室内抗病性的鉴定 .....	91
三、苜蓿抗病种质材料的筛选及田间抗病性评价 .....	92
(一) 苜蓿抗病种质材料的筛选 .....	92
(二) 苜蓿抗感株系的筛选 .....	97
四、传统的抗病育种方法 .....	101
(一) 广泛收集抗原 .....	101
(二) 抗病品种的传统选育方法 .....	102
五、苜蓿抗褐斑病分子标记辅助育种 .....	110
(一) 遗传标记简介 .....	110
(二) 同工酶标记 .....	112
(三) DNA 分子标记 .....	120
六、抗病品种的使用 .....	131

七、预防品种退化的措施和方法·····	132
(一) 品种退化的征象·····	133
(二) 品种退化的原因·····	133
(三) 预防品种退化的方法·····	134
<b>第八章 苜蓿病害的鉴定标准·····</b>	<b>136</b>
一、苜蓿霜霉病·····	136
二、苜蓿丝囊霉根腐病·····	137
三、镰刀菌萎蔫病 (I) ·····	138
四、镰刀菌萎蔫病 (II) ·····	139
五、小叶斑病·····	140
六、疫霉根腐病·····	141
七、苗期疫霉根腐病·····	142
八、腐霉病·····	142
九、锈病·····	143
十、菌核病·····	144
十一、春季黑茎病和叶斑病·····	145
十二、壳多隔孢菌叶斑病和根腐病·····	146
十三、匍柄霉叶斑病·····	148
十四、黄萎病·····	149
十五、黄叶斑病·····	150
十六、白粉病·····	151
十七、炭疽病·····	151
十八、细菌性萎蔫病 (I) ·····	152
十九、细菌性萎蔫病 (II) ·····	153
<b>附录 常用试剂的配制·····</b>	<b>155</b>
<b>参考文献·····</b>	<b>161</b>



## 绪 论

苜蓿褐斑病是由苜蓿假盘菌 [*Pseudopeziza medicaginis* (Lib.) Sacc] 引起的, 在世界各地的苜蓿种植区中, 苜蓿褐斑病都是最常见和破坏性较大的真菌病害之一。据报道, 此病早在 1890 年于澳大利亚发现。苜蓿褐斑病可使牧草产量大幅度减少, 牧草营养成分降低, 适口性下降, 严重影响苜蓿的产量和饲用价值。

### 一、苜蓿褐斑病的分布

紫花苜蓿简称苜蓿, 是苜蓿属内栽培最广泛的优良牧草, 号称“牧草之王”。苜蓿在中国已有两千多年的栽培历史, 现在西北、东北、内蒙古和华北各地都有大面积栽培。据初步统计全国约有 1440.63 万亩<sup>●</sup>耕地种植苜蓿。苜蓿在世界上栽培也很广泛, 据统计全世界栽培面积约为 330 万公顷。苜蓿的分布可向北推进到北纬 50°以上, 在瑞典、丹麦等国都有栽培。

苜蓿褐斑病在中国江苏、山东、云南、湖北、新疆、甘肃、内蒙古、宁夏、河北等省区都有记载。甘肃省曾于 1984~1986 年和 1987~1989 年连续两次对甘肃省主要的苜蓿病害进行了全面系统的调查, 发现由苜蓿假盘菌引起的褐斑病在甘肃各地区都有发生, 特别是在降水结露、温暖潮湿的条件下此病发生严重, 而在干旱而无灌溉条件的地方则发病较轻。袁庆华等在北京, 苏生昌、王雪薇等在新疆, 商文静在宁夏, 侯天爵、朱伟等在内蒙古等地都报道了苜蓿假盘菌的发生和危害。南志标等人则在《中国牧草真菌病害名录》中提到苜蓿褐斑病广泛分布于中国吉林、内蒙古、甘肃、山东、山西、江苏、宁夏、云南、新疆等省区。实际上此病可能已经遍布中国所有苜蓿种植地区。苜蓿褐斑病在世界各地也均有报道发生。例如, Wendy 报道澳大利亚从 1890 年就发现了该病的存在, Amprecht 等人在南非冬雨区的一

● 1 亩 = 666.67m<sup>2</sup>

年生苜蓿上发现有苜蓿假盘菌的存在, Szepieniec-Gajos 在波兰、Blazhev 和 Nikolova 在保加利亚、Billar 在叙利亚、Glaeser 在德国、Hijano 在阿根廷均从苜蓿植株上分离到苜蓿假盘菌。Gray 等人通过大量的田间调查发现苜蓿褐斑病多在灌溉地区发生。这个结论与中国研究人员得到的结果相吻合。

## 二、苜蓿褐斑病的危害与损失

近年来随着苜蓿种植面积的不断扩大, 苜蓿褐斑病造成的危害正在逐年增加。目前人们普遍认为苜蓿褐斑病对苜蓿的影响主要有四个方面: ①降低光合面积, 从而降低了整株个体内蛋白质和矿物质的比例, 使得植株活力下降; ②导致未成熟个体老化、落叶, 甚至死亡; ③感病苜蓿体内香豆醇类物质含量剧增; ④牧草产量和适口性等品质均明显降低。大量的试验结果表明: 当植株感染苜蓿褐斑病后, 虽然不会导致苜蓿的急性死亡, 但生活力将受到很大影响; 即使没有被再次侵染, 一次侵染所造成损失也是相当大的, 这种危害可持续相当长的一段时间。所以, 许多研究者认为苜蓿褐斑病是很重要的病害, 特别是欧洲的科学家更加重视此病。

### (一) 苜蓿褐斑病对苜蓿生长和产量的影响

Wendy、Morgan 和 Parbery (1977) 在研究苜蓿褐斑病时发现: 苜蓿假盘菌的侵染可导致感病植株的叶片和根中的净同化率降低, 病株的净同化率明显低于健株 ( $P < 0.05$ ), 随着时间的增加病叶中净同化率增加的幅度较小, 而未感病叶片中的净同化率增加的幅度较大。感病植株的侧枝数量明显低于未感病的植株, 侧枝上的叶片数及其鲜重和叶面积也明显比未感病的植株要少。在澳大利亚此病有时会使苜蓿干物质产量下降 40% 以上。还有报道认为条件适宜时, 叶片的发病率可高达 60%~70% 以上, 使 35% 的叶片提早脱落, 导致枝茎下部叶片完全脱落。

Summers 和 Gilchrist 在苜蓿病虫害的田间调查中发现, 始终未感病和未发生虫害的实验区苜蓿生长旺盛, 生长年限较长, 而受苜蓿褐斑病或虫害危害的实验区, 可导致苜蓿的生长年限降低, 感病的苜蓿比未感病的苜蓿生长年限缩短了 1~2 年。

苜蓿受到假盘菌侵染后, 可导致生长速度减退, 这种减退因植株的株龄、侵染后被检测的时间和部位而有差异。例如 Wendy 和 Morgan 等人发现根部最容易受到侵染的影响, 相对生长率下降幅度超过 50%。当根、茎和整株植物的相对生长率下降 11% 以上时, 叶片相对生长率的下降幅度低于 9%。尽管苜蓿植株在各个生育期内对假盘菌都很敏感, 但幼苗期对假盘

菌更加敏感。而在苜蓿遭受侵染后，成年植株受到的损害却大于幼苗，并且落叶的现象非常严重。

自1999年以来作者对北京及周边地区苜蓿田间褐斑病进行了调查，发现重病地发病率可达80%以上，落叶率达60%以上，减产40%~60%。该病在苜蓿的整个生长季都可发生，但主要发生在温暖潮湿的季节。此病在生长季的中后期严重，对第二茬、第三茬苜蓿危害较大。1987~1989年，中国农业科学院兰州畜牧研究所与中国农业科学院草原研究所对甘肃省苜蓿的主要病害进行调查后，通过分析和研究也得到了类似的结论。

## (二) 苜蓿褐斑病对苜蓿品质的影响

Morgan (1977) 报道苜蓿感染褐斑病后，粗蛋白含量下降16%，消化率下降14%，种子减产达50%，且品质低劣。侵染还延迟并可能减少开花。Wendy C. Morgan (1980) 发现苜蓿假盘菌的侵染降低了叶片在植株中的比例，提高了茎叶比，即提高了植物中的纤维比例，造成营养成分下降。

Schmiedeknecht 发现被苜蓿假盘菌侵染的紫花苜蓿中，单宁酸和苯酚的含量高于未被侵染植株的水平，蛋白质含量的下降随植株的老化而日趋明显，受假盘菌侵染所造成的粗蛋白含量的下降要比因植株老化所引起的粗蛋白含量的下降要高。最终导致牧草的消化率降低。

1959年已经有文章证实被苜蓿褐斑病侵染的紫花苜蓿中有雌激素的活性，1961年又报道在感病苜蓿中发现了雌激素前体——香豆素。Wendy、Morgan 和 Parbery (1980) 发现苜蓿被假盘菌侵染后，会刺激植株内雌激素的活性。家畜采食这种苜蓿后，对雌畜的排卵、怀孕等生殖过程产生很大影响，能够显著降低母畜的繁殖力 (Morgan, 1980)。

此外，Wendy、Morgan 和 Parbery (1977) 的研究中发现，干旱或极度干旱的季节，苜蓿褐斑病发病率极低，试验小区中的苜蓿几乎没有新的侵染发生。他们还证实苜蓿褐斑病发生较严重的时期收割感病苜蓿有助于降低褐斑病的传播和产量的损失。因此，采用刈割可控制苜蓿褐斑病的发生，减少损失和危害。

# 第一章 苜蓿褐斑病的研究方法

## 一、病害的调查

只有通过科学的调查,才能对苜蓿褐斑病的分布、危害、发生时期、症状的变化、栽培条件和环境条件对病害发生的影响,以及各种防治措施的效果等有详细和全面的了解。

### (一) 调查的类别

苜蓿褐斑病的调查可分为3类,即一般调查、重点调查和定点调查。它们之间的界限不是绝对的,区分的意义在于明确调查目的和可采取的具体方法。

#### 1. 一般调查

一般调查又称普查,是一种较粗放的调查方法。一般情况下调查的面要广,调查记载的项目不必很细。如记载发病程度和发病严重程度时,可以用无、轻、中、重或0、1、2、3这4个级别来表示,不做具体数值的记载。通常采用目测法估计病情即可。

#### 2. 重点调查

重点调查又称系统调查,是在一般调查的基础上,以牧草或病害为对象,进行深入地定期、定点、定株调查。重点调查的范围不易过大,但调查记载的内容和调查次数要多,记录的数据要准确。对调查的数据要及时进行分析研究,得出正确的结论。重点调查的内容主要包括3个方面:第一是环境方面的气候和土壤因素,即温度、湿度、降水、土壤肥力和土壤pH值等;第二是苜蓿方面,主要包括苜蓿的分布、种子来源、栽培历史、利用制度、发病时的生育期及感病器官等;第三是病害方面,包括褐斑病的分布、发病率和发病史、褐斑病的发生和消长规律、褐斑病与牧草生育期及环境间的关系、不同寄主植物受害情况及采取的防治措施等。

#### 3. 定点调查

定期或不定期地在固定的样地上进行病害调查,目的是摸清褐斑病在田

间的消长规律，为病害的防治提供依据。对单播的紫花苜蓿田进行定点调查时，应选择有代表性的田块设立观察样点；对混播草地做定点调查时，较常用的方法是建立样地，以样方取样，统计褐斑病的发病率或病害严重度，同时要特别注意气象资料的观察记载和收集。

## （二）取样方法

病害调查的取样方法在很大程度上影响着结果的准确性。取样的基本原则是可靠、可行，能够正确反映田间病害的实际流行特点，同时还要兼顾调查的性质和所要求的准确程度。取样方法往往随所调查对象和目的而有所不同。在取样时通常要考虑以下 5 个因素。

### 1. 样本数目

样本数目的确定要看病害的性质和环境条件。可以用面积或长度为单位，如以每平方米或 1~2 米的长度为单位来取样。叶部病害每一个样点至少要调查 50~100 张叶片，全株发病时每一样点至少要调查 100~200 株植株。苜蓿褐斑病属于靠气流传播的病害，地形、土壤和耕作条件的差别对其影响较小，因此样本数目可以少一些，但重要的是具有代表性。一般的方法是在一块田内随机调查 5 个点，在一个地区调查 10 块田。

### 2. 取样地点

由于田边的植株存在边际效应，往往不能代表一般的发病情况，所以应避免在田边地头取样。可在离开田边 5~10 步（田小的可以近些）的范围内随机选取 5 个点取样。可以用双对角线、单对角线、棋盘式、“Z”字或其他方式随机取样，也可以采用五点取样法，即从田块两条对角线的交点至各角连线的 4 个中点和交叉点共 5 个点取样。也可以在田间随机选若干行进行调查。在一个地区内调查时要随机选田，避免专门选择重病田，可规定每隔一定时间调查一次。调查的地块愈大，样点数目相应要加多，这样调查结果才更可靠。

### 3. 样本类别

应该选择易于操作且能正确反映发病情况的样本单位进行取样。对苜蓿褐斑病这种叶部病害进行研究时可以用整株、枝条、或叶片作为取样或计算的单位。

以叶片为取样单位时大致有以下 3 种方法：①田里随机采取叶片若干，分别记载，求得平均发病率；②从植株的一定部位采取叶片，以此叶片代表植株的平均发病率；③记载植株上每张叶片（必要时也可采下）的发病率，求得平均数。第一种方法较为省时省事，用得最多，第 2 种、第 3 种方法只适合于在植株叶片较少时进行。事实上，后两种方法是有关联的，可以先用

第3种方法确定出能代表植株发病率的一张或几张叶片，然后再改用比较省时的第2种方法。

#### 4. 样本要小而可靠

样本数目要根据苜蓿褐斑病的分布情况来决定，分布很不均匀时，每一样本要有50张左右的叶片，发病如果比较均匀则只需观察10~15张叶片。在褐斑病发生的早期，尽管在田间不易发现，且病害的潜育期长，但对以后病害发展的影响很大，每次应观察数百张以至数千张叶片。

#### 5. 取样时间

调查取样一般选择在田间发病最盛时进行较为适宜。

### (三) 分级标准及病情记载

#### 1. 分级标准

评价植物抗病性的分级标准主要有两种：一种是定性分级，一种是定量分级。

(1) 定性分级 对于过敏性坏死反应的抗病性普遍采用定性分级标准，即按照反应型进行分级鉴定。反应型反映了植物材料抗病性的特点，决定着过敏性坏死反应的速度和强度。因此，抗病性会在完全免疫到高度感病之间有一系列的中间过渡类型。定性分级主要依据受侵染部分坏死反应的有无、强弱以及孢子堆发育程度而定。朱伟、陈申宽等人(1998.8)在内蒙古扎兰屯采用定点定期采样、调查、测定的方法研究了紫花苜蓿褐斑病发生危害的程度及发病条件。试验结果表明：呼伦贝尔盟紫花苜蓿褐斑病的发病日期与病情指数间呈显著正相关( $R=0.9041$ ,  $N=11$ )，在苜蓿与禾草混播的草地上每平方米内苜蓿的枝条数与病情指数间呈显著的正相关( $R=0.7781$ ,  $N=10$ )，病情指数与单枝叶片数呈显著的正相关( $R=0.9076$ ,  $N=6$ )；此外，他们还根据病斑占叶片面积的大小，将病害严重程度分为6级。0级：叶片无病斑；1级：病斑占叶面积的5%以下；2级：病斑占叶面积的5%~15%，病斑部位开始退绿；3级：病斑占叶面积的15%~35%，3/4的叶片开始退绿；4级：病斑占叶面积的35%~50%，叶片几乎全部变黄；5级：病斑占叶面积的50%~70%，叶片全部退绿；6级：叶片全部枯死。

K. T. Leath (1991) 用在温室内生长6~8周的紫花苜蓿做试验材料，在相对湿度为100%、温度为19~21℃、黑暗的保湿室内用假盘菌接种24~48h，14d后对苜蓿褐斑病进行了定性鉴定。结果发现该试验在温室条件下全年都可以进行，并且与田间试验的相关性良好，从而认为温室法是最可靠的鉴定方法之一。在试验中K. T. Leath采用了5级鉴定指标。1级：抗病，无病斑；2级：抗病，病斑几乎不可见，病斑直径为1mm或更小；3级：

感病，病斑>1mm，但没有失绿；4级：感病，病斑>2mm，叶片失绿或脱落；5级：感病，病斑>3mm，叶片失绿、脱落，病斑中心有或无子囊盘。

作者在研究离体叶接种技术的过程中，同样采用了温室试验的方法，并根据叶片上病斑的个数划分了苜蓿褐斑病的病情分级标准。0级：无病斑，为免疫（I）；1级：有1~3个病斑，为高抗（HR）；2级：有4~6个病斑，为中抗（MR）；3级：有7~10个病斑，为中感（MS）；4级：有11个以上，为高感（HS）。此外，还确定了叶片变色的划分标准，即：1级为绿色；2级为微黄；3级为黄。

（2）定量分级 对于水平抗病性的比较和鉴定基本上可以采用抗病性的定量分级方法，但是要特别注意种植材料、接种量和诱病环境条件的严格标准化和调查分析的细致严密。目前应用的抗病性定量鉴定标准归纳起来主要有发病率、严重度、反应型和病害损失估计，有时还需要计算病情指数。

① 发病率 又称普遍率，是表示群体发病情况的指标，常用百分数表示，如病株率、病穗率及病叶率等。这一统计项目只反映发病个体所占的比重，不反映染病或受害的程度。发病率计算公式如下：

$$\text{发病率(普遍率)} = \frac{\text{发病株(枝条)数}}{\text{调查的总株(枝条)数}} \times 100\%$$

② 严重度和病情指数 即对受害程度所作的记载统计，是表明个体发病程度的指标。例如一个病叶上病斑的大小，发病部位占整个叶片的比例，或一个病穗上受害籽粒的多少等。一般要按照发病程度的轻重来划分严重度的级别。可以用地块、植株、叶片、果实等为单位来分级。分级标准可以自己拟定，但应配以文字、照片、绘图等给予明确说明。James（1971）将苜蓿褐斑病病害严重度划分为6个级别（图1-1）。研究者还根据苜蓿褐斑病叶片上病斑占叶面积的百分比将病害严重度分为6级，即把病斑占叶面积5%以下、5%~15%、15%~35%、35%~50%、50%~70%、70%以上分别定为1级、2级、3级、4级、5级、6级。

调查时，在田间随机采集一定数目的叶片，分别和标准对比，确定各叶片的病害级别。然后计算其平均严重度。例如，所采5张叶片的严重度分别为100%、65%、40%和25%，则平均严重度为 $(100\% + 65\% + 40\% + 25\%) \div 5 = 59\%$ 。但是分级往往不是以百分率来计算的，而是按每一级个体的数量来计算，所以往往采用病情指数来衡量病害的严重程度。病情指数是发病率和严重度的综合值，它是将发病率和严重度两者结合在一起全面说明病害发生程度的指标。病情指数是根据采集一定数目的植株（或器官），按发病程度将病株（或器官）分成不同的级别（表1-1），按各病级统计发

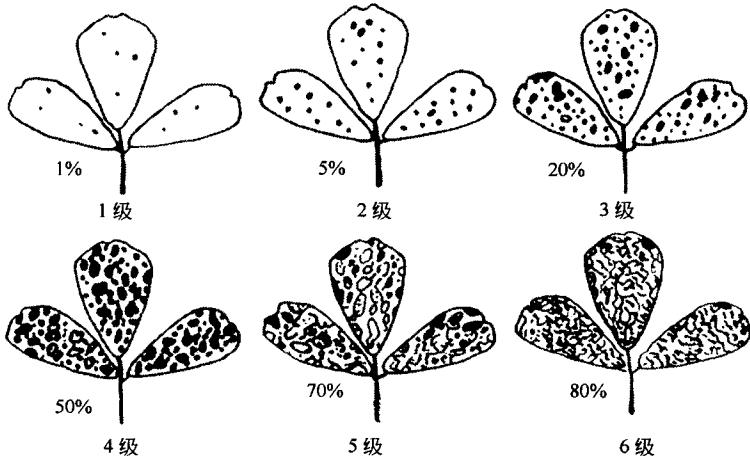


图 1-1 苜蓿褐斑病的分级 (James, 1971)

病株 (或器官) 数, 用以表示平均发病程度的数值。病情指数的计算公式如下:

$$DI = \frac{\sum(n_i \times S_i)}{4 \times N} \times 100$$

式中  $DI$ ——病情指数;

$n$ ——相应发病级别的株 (叶、枝条) 数;

$i$ ——病情分级的各个级别;

$S$ ——发病级别;

$N$ ——调查总株 (叶、枝条) 数。

作者用假盘菌对苜蓿接种 14d 后根据病斑的大小、叶片颜色及叶片脱落等来评价病害的等级 (表 1-1)。

表 1-1 苜蓿褐斑病的分级标准

病 级	病 情
0 级	无病斑
1 级	肉眼可见极少量的胡椒状斑点, 直径 $\leq 1\text{mm}$
2 级	$2\text{mm} \geq$ 斑点直径 $> 1\text{mm}$ , 但无变色
3 级	$3\text{mm} \geq$ 斑点直径 $> 2\text{mm}$ , 变色或落叶
4 级	斑点直径 $> 3\text{mm}$ , 变色落叶, 病斑中央产生/不产生子实体

③ 反应型 反应型是衡量植物染病后产生症状反应的指标。它是在鉴定过敏性坏死反应的抗病性时普遍采用的分级方法。它所反映的是材料抗病性的质的特点, 是一个定性分级标准。



④ 病害损失估计 估测病害导致的减产也是研究病害的一项重要内容。根据病害损失可以推算出病害的经济损失、防治效果及防治的经济效益。常用的方法有统计方法、经验公式法和小区实验法，具体介绍如下。

统计方法：对以往不同年份的病情和年产量的记载资料加以统计分析，从而估测出该病导致的产量损失。这种方法的准确性较差。

经验公式法：根据长期观察，在积累了某种器官的发病程度与产量损失的关系后，拟出一个经验公式来。例如，Bass (1976) 拟定出用落叶率乘以 0.5 来估测由苜蓿褐斑病和匍柄霉叶斑病导致的紫花苜蓿叶斑病的损失率。虽然这种方法使用起来很简便，但是准确度也较低。

小区试验法：该法是通过人工接种试验小区，评价接种后各小区病害的发生程度，然后与健康小区的产量进行比较，求出其损失率。或者是使用药物保护部分试验小区，使之不发生病害，将其产量与自然发病的小区的产量相对比，来估测各种发病程度与产量损失的关系。

## 2. 调查结果的记载和统计方法

可以根据所调查病害的特点，参照文献自行设计记载表格，表格既要简明扼要又要能反映调查的要求和目的。在使用中，对表格的内容和形式可以作必要的变动，但不宜过于复杂，以免最后统计、分析结果时发生困难。记载工作应力求实事求是，避免主观性和片面性。

对一种病害仅仅观察采集的标本是不够的，还要了解这种病害在田间发生的情况，注意观察并详细记载病害在田间的发生、发展及其所表现出的特定的规律，例如，病害的发病率和严重度、病害发展和在田间的分布、发生时期、受害寄主和部位等。

特别值得提出的是，鉴定时常常会发现许多由其他菌引起的症状与苜蓿假盘菌引起的症状很相似，所以鉴定时要注意与其他病害区别开，要进行田间调查分析、室内显微镜检查、分离培养和人工接种实验，不能单纯依靠某一种方法。

## 二、苜蓿假盘菌

### (一) 苜蓿假盘菌的分离和培养

观察一种真菌病害的标本不一定都能检查到子实体从而作出诊断，而在病部表面或组织中检查到的真菌也有可能是植物组织死亡后在其上生长的腐生性真菌。因此，确定病害病原物时最好是经过分离和培养工作，并且在适当的环境下进行接种试验，以确定它的致病性。此外，为了进一步研究真菌