



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102640671 A

(43) 申请公布日 2012.08.22

(21) 申请号 201210132181.4

(22) 申请日 2012.05.02

(71) 申请人 湖北省农业科学院果树茶叶研究所
地址 430209 湖北省武汉市江夏区金水闸果
树茶叶研究所

(72) 发明人 胡红菊 杨晓平 陈启亮 田瑞
张靖国

(74) 专利代理机构 武汉宇晨专利事务所 42001
代理人 王敏锋

(51) Int. Cl.

A01G 7/06 (2006.01)

A01G 17/00 (2006.01)

C12Q 1/18 (2006.01)

权利要求书 2 页 说明书 6 页 附图 2 页

(54) 发明名称

一种梨种质抗黑斑病鉴定的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种梨种质抗黑斑病鉴定的方法,它包括以下步骤:(1)梨黑斑病病原菌准备,主要为培养基配制、梨黑斑病分离鉴定、梨黑斑病原菌转接和梨黑斑病原菌活化及扩大培养;(2)梨抗黑斑病材料准备,主要为梨品种嫁接和梨嫁接品种移栽(3)人工接种鉴定,主要利用梨黑斑病病原菌孢子悬浮液对一年生梨品种嫁接苗叶片进行喷雾接种;(4)病情调查与分级标准。方法易行,操作简便,使用该方法能够本方法能够快速准确的对梨品种进行抗黑斑病鉴定。通过本发明处理可以有效解决梨科研、育种及生产中梨品种抗黑斑病快速鉴定的问题。

1. 一种梨种质抗黑斑病鉴定的方法,其步骤是:

A、黑斑病原菌的准备:

首先是培养基的选择,选择马铃薯培养基,制备方法为马铃薯 200g,琼脂粉 20g,蔗糖 20g,水 1000ML,配制方法如下:将马铃薯去皮,切成 2cm^2 的小块,煮沸 0.5h,用玻璃棒搅拌,然后用双层纱布过滤,取其滤液加入琼脂粉,溶解后加入蔗糖,再补足水至 1000mL,PH 7.0;其次是梨黑斑病分离鉴定步骤,鉴定方法为采集的带有梨黑斑病病症的叶片或果实,按常规方法进行组织分离、单孢纯化、培养、保存,将分离获得的菌株接种到幼嫩的梨叶片上,观察黑斑病病斑,对病斑进行分离纯化,将分离纯化的病原菌株在 PSA 培养基上划线培养 6-8d,观察菌落形态;继续培养 19-21 天后在显微镜下观察病原菌的菌丝和孢子形态特征,参照真菌形态学鉴定手册,鉴定分离所得病原菌的种类,为了确认梨黑斑病病原菌菌株的种名,采用 rDNA-ITS 分子鉴定法对分离菌株进行分析,以病原真菌的 DNA 作为模板,用通用引物 ITS1 和 ITS4 进行扩增,将所测得的 rDNA-ITS 序列在 GenBank 中用 Clustalx 2.0.10 对分离梨黑斑病菌和已登录发表的梨黑斑病病原菌 rDNA-ITS 序列进行多重序列比对分析,综合病原菌形态学特征及 rDNA-ITS 序列测定比对结果,鉴定梨黑斑病菌;再次是梨黑斑病原菌转接,转接步骤为将分离、纯化并鉴定的黑斑病原菌在新鲜的斜面 PSA 培养基上划线,光照培养箱 28°C 培养 19-21 天,长出孢子后放于冰箱 4°C 保存;最后为梨黑斑病原菌活化及扩大培养,培养方法为将保存的黑斑病原菌从冰箱中取出,用接种环在培养皿中划线,并在光照培养箱 28°C 培养,菌丝铺满培养皿后,在无菌条件下用菌丝块接种的方法在培养皿中扩大培养黑斑病原菌孢子,反复培养 2-3 次,培养出 2×10^5 个孢子/mL 的孢子悬浮液接种梨叶片;

B、梨抗病性材料准备:

首先是梨品种嫁接,10-11 月间,梨处于休眠期时,采集已选梨品种的枝条,采用芽接方法在豆梨砧木上嫁接,每个品种嫁接;其次为梨嫁接品种移栽,1-2 月间,在雨雪天气来临之前,将梨嫁接品种苗木移栽到温室大棚;

C、人工接种鉴定:

首先为病原孢子液配制,将培养皿扩大培养 19-21 天后,每个培养皿中加入 20mL 无菌水,将梨黑斑病孢子刷下,集中到 1L 的烧杯中,使用血球计数板在显微镜下计数,并用蒸馏水将梨黑斑病孢子稀释成浓度为 2×10^5 个孢子/mL 的孢子悬浮液,放入 28°C 培养中恒温下培养 6h,发芽率在 80%;其次是人工接种,接种方法为待接种的梨品种整个生育期中不喷施杀菌剂,在 6 月-7 月间将待接种梨品种顶芽去掉,用 2×10^5 个孢子/mL 的梨黑斑病孢子悬浮液喷雾接种到待鉴定嫁接梨品种上,喷雾至叶片正反面全部淋湿,接种后 24 小时内保持空气湿度在 95%,接种后 20 天进行调查,根据病情级数计算病情指数,对梨种质进行抗黑斑病鉴定评价;

D、病情调查与分级标准,接种后 20 天,调查接种梨品种全部叶片受害级别,同时调查鉴定品种的自然发病的病情指数,按每株东、西、南、北四个方向调查,每个方向随即调查 50 片叶;

病情调查与分级标准参照如下:

0 级 无病斑;

1 级 病斑占叶面积的 10% 以下;

- 3 级 病斑占叶面积的 10%~25% ;
5 级 病斑占叶面积的 26%~40% ;
7 级 病斑占叶面积的 41%~65% ;
9 级 病斑占叶面积的 65% ;

根据受害级别,计算黑斑病病情指数 :

$$BI = \frac{\sum(x_i n_i)}{9N} \times 100$$

式中 :BI——黑斑病病情指数 ;

x_i ——各级病叶代表级数 ;

n_i ——各级病叶数 ;

N——总叶数 ;

根据病情指数及下列标准,确定种质的黑斑病抗性 :

梨树对黑斑病的抗性根据病情指数划分为 5 级 :

- 1 高抗 :病情指数 < 10.0 ;
3 抗 :10.0 ≤ 病情指数 < 25.0 ;
5 中抗 :25.0 ≤ 病情指数 < 40.0 ;
7 感病 :40.0 ≤ 病情指数 < 65.0 ;
9 高感 :病情指数 ≥ 65.0。

一种梨种质抗黑斑病鉴定的方法

技术领域

[0001] 本发明属于果树技术领域,更具体涉及一种梨种质抗黑斑病鉴定的方法,经该方法处理可以有效解决梨科研、育种及生产中梨品种抗黑斑病快速鉴定的问题。该方法适用于从事梨科研、育种及生产的科研单位、公司和个人。

背景技术

[0002] 梨属于蔷薇科 (Rosaceae) 苹果亚科 (Maloideae) 梨属 (Pyrus) 植物,为乔木落叶果树,是我国三大栽培果树之一,在世界上亦占有举足轻重的地位。据中国年鉴统计,2010 年我国梨种植面积 1063.1 千公顷,产量 1505.71 万吨,居世界首位。梨果生产一直是我国农民增收致富的重要支柱产业,也是我国出口创汇的主要农产品之一。但随着砂梨栽培面积的扩大,梨黑斑病 (*Alternaria alternata* (Fr.) Keissler) 逐渐发展成为我国梨园中主要的病害,特别是在南方砂梨产区发病更为严重。梨黑斑病主要危害叶、果实和新梢,导致树木衰弱,缩短结果年限,造成严重的经济损失,而且还造成贮藏期病果,并在梨的进出口贸易中受到进口国的严密关注。

[0003] 梨黑斑病防治不当会造成梨树叶片提前脱落,容易使梨树形成二次花,严重影响次年梨果产量,一般梨黑斑病造成果农的损失可达 20% -30%,严重时达到 50% -60%。在我国南方梨产区,防治病害成功的关键主要是看梨园中梨黑斑病防治的效果,梨农一年中梨树一半以上的农药防治成本用于防治梨黑斑病。目前防治梨黑斑病的方法是使用甲基托布津、代森锰锌和苯醚甲环唑等化学药剂,长期使用这些化学药剂,如果使用不当必然会引起病原菌对化学药剂产生抗药性、污染环境和对人体健康产生危害等问题。为了克服化学药剂防腐的毒性缺点,制定合理有效梨黑斑病的综合防治措施,选育抗病性生产品种势在必行,但如何快速准确的鉴定梨品种在大面积推广过程中具有抗黑斑病的特性,已是摆在科研人员面前必须解决的重大课题。

[0004] 多年来,我们依托国家果树种质资源圃,围绕着梨种质抗黑斑病鉴定评价开展了大量科学研究与试验,总结发明出一套梨种质抗黑斑病鉴定的方法。本方法是利用梨黑斑病病原菌孢子悬浮液对一年生梨品种嫁接苗叶片进行喷雾接种,接种后 24 小时内保持空气湿度在 95% 以上,接种后 20 天进行调查,根据病情级数计算病情指数,对梨种质进行抗黑斑病鉴定评价,采用本方法能够快速准确的对梨品种进行抗黑斑病鉴定。

发明内容

[0005] 本发明的目的是在于提供了一种梨种质抗黑斑病鉴定的方法,方法易行,操作简便,使用该方法能够本方法能够快速准确的对梨品种进行抗黑斑病鉴定。

[0006] 为了实现上述的目的,本发明采用以下技术措施:

[0007] 本发明是利用梨黑斑病病原菌孢子悬浮液对一年生梨品种嫁接苗叶片进行喷雾接种,接种后 24 小时内保持空气湿度在 95% 以上,接种后 20 天进行调查,根据病情级数计算病情指数,对梨种质进行抗黑斑病鉴定评价。

[0008] 一种梨种质抗黑斑病鉴定的方法,其步骤是:

[0009] 1. 黑斑病原菌的准备:

[0010] (1) 培养基的制备:

[0011] 马铃薯培养基 (PSA): 马铃薯 (去皮) 200g, 琼脂粉 20g, 蔗糖 20g, 水 1000mL。配制方法如下: 将马铃薯去皮, 切成约 2cm² 的小块, 煮沸 0.5h, 注意用玻璃棒搅拌以防糊。然后用双层纱布过滤, 取其滤液加入琼脂粉, 溶解后加入蔗糖, 再补足水至 1000mL, PH 7.0。

[0012] (2) 梨黑斑病分离鉴定:

[0013] 采集的带有梨黑斑病病症的叶片或果实, 参照 2005 年杜连祥, 路福平主编的《微生物学实验技术》进行组织分离、单孢纯化、培养、保存。将分离获得的菌株接种到幼嫩的梨叶片上, 观察能否产生典型的黑斑病病斑, 然后再对病斑进行分离纯化。将分离纯化的病原菌株在 PSA 培养基上划线培养 6-8d, 观察菌落形态; 继续培养 19-21 天后在显微镜下观察病原菌的菌丝和孢子形态特征, 参照 1979 年魏景超主编的《真菌形态学鉴定手册》, 鉴定分离所得病原菌的种类。为了进一步确认梨黑斑病病原菌菌株的种名, 采用 rDNA-ITS 分子鉴定法对分离的菌株进行分析。以病原真菌的 DNA 作为模板, 用通用引物 ITS1: TCCGTAGGTGAACCTGCGG (序列 5-3') 和 ITS4: TCCTCCGCTTATTGATATGC (序列 5-3') 引物序列来源文献“ITS 序列分析在真菌分类鉴定中的应用进行扩增”(2007 年陈剑山, 郑服丛), 将所测得的 rDNA-ITS 序列在 GenBank 中用 Clustalx 2.0.10 对分离梨黑斑病菌和已登录发表的梨黑斑病病原菌 rDNA-ITS 序列进行多重序列比对分析。综合病原菌形态学特征及 rDNA-ITS 序列测定比对结果, 鉴定梨黑斑病菌。

[0014] (3) 梨黑斑病原菌转接:

[0015] 将分离、纯化并鉴定的黑斑病原菌在新鲜的斜面 PSA 培养基上划线, 光照培养箱 28℃ 培养 19-21 天, 长出孢子后放于冰箱 4℃ 保存。

[0016] (4) 梨黑斑病原菌活化及扩大培养:

[0017] 将保存的黑斑病原菌从冰箱中取出, 用接种环在培养皿中划线, 并在光照培养箱 28℃ 培养。等菌丝铺满培养皿后, 在无菌条件下用菌丝块接种的方法在培养皿中扩大培养黑斑病原菌孢子。如此反复培养 2-3 次, 培养出 2×10^5 个孢子/mL 的孢子悬浮液接种梨叶片。

[0018] 2、梨抗病性材料准备:

[0019] (1) 梨品种嫁接:

[0020] 10-11 月间, 当梨处于休眠期时, 采集已选梨品种的枝条, 采用芽接方法参照 2010 年胡红菊, 王友平主编的《砂梨优良品种及标准化栽培技术》中苗木培育, 在豆梨砧木上嫁接, 每个品种嫁接 50 株。

[0021] (2) 梨嫁接品种移栽:

[0022] 1-2 月间, 在雨雪天气来临之前, 将梨嫁接品种苗木移栽到简易的温室大棚中防止品种芽冻伤, 温度控制在 10-15 度。

[0023] 3. 人工接种鉴定:

[0024] (1) 病原孢子液配制:

[0025] 将培养皿扩大培养 19-21 天后, 每个培养皿中加入 20mL 无菌水, 用 2cm 型号牌刷将梨黑斑病孢子刷下, 集中到 1L 的烧杯中, 使用血球计数板在显微镜下计数, 并用蒸馏水

将梨黑斑病孢子稀释成浓度为 2×10^5 个孢子/mL 的孢子悬浮液,放入 28℃ 培养中恒温下培养 6h,发芽率在 80% 以上,待用。

[0026] (2) 人工接种:

[0027] 待接种的梨品种整个生育期中不喷施杀菌剂,在 6 月-7 月间将待接种梨品种顶芽去掉,使用 2×10^5 个孢子/mL 的梨黑斑病孢子悬浮液喷雾接种到待鉴定嫁接梨品种上,喷雾至叶片正反面全部淋湿。接种后 24 小时内保持空气湿度在 95% 以上,接种后 20 天进行调查,根据病情级数计算病情指数,对梨种质进行抗黑斑病鉴定评价。

[0028] 4. 病情调查与分级标准:

[0029] 接种 20 天,调查接种梨品种全部叶片受害级别。同时调查鉴定品种的自然发病的病情指数,按每株东、西、南、北四个方向调查,每个方向随即调查 50 片叶。

[0030] 病情调查与分级标准

[0031] 0 级无病斑;

[0032] 1 级 病斑占叶面积的 10% 以下;

[0033] 3 级 病斑占叶面积的 10%~25%;

[0034] 5 级 病斑占叶面积的 26%~40%;

[0035] 7 级 病斑占叶面积的 41%~65%;

[0036] 9 级 病斑占叶面积的 65% 以上。

[0037] 根据受害级别,计算黑斑病病情指数。

$$[0038] \quad BI = \frac{\sum(x_i n_i)}{9N} \times 100$$

[0039] 式中:BI——黑斑病病情指数

[0040] x_i ——各级病叶代表级数

[0041] n_i ——各级病叶数

[0042] N——总叶数

[0043] 根据病情指数及下列标准,确定种质的黑斑病抗性。

[0044] 梨树对黑斑病的抗性根据病情指数划分为 5 级。

[0045] 1 高抗 (HR) (病情指数 < 10.0)

[0046] 3 抗病 (R) ($10.0 \leq$ 病情指数 < 25.0)

[0047] 5 中抗 (M)R ($25.0 \leq$ 病情指数 < 40.0)

[0048] 7 感病 (S) ($40.0 \leq$ 病情指数 < 65.0)

[0049] 9 高感 (HS) (病情指数 \geq 65.0)。

[0050] 用上述方法一般能够快速准确的对引种梨品种进行抗黑斑病鉴定。方法易行,操作简便,通过本发明处理可以有效解决梨科研、育种及生产中梨品种抗黑斑病快速鉴定的问题,而且鉴定结果准确,适宜于梨品种苗期抗黑斑病的早期鉴定。

附图说明

[0051] 图 1 为一种梨黑斑病病原菌菌株 A、H、C 菌株在 $\times 400$ 倍显微镜下的孢子形态示意图。

[0052] 图 2 为一种梨黑斑病病原菌在 PSA 培养基上的菌落形态鉴定示意图。

[0053] 图 3 为一种梨黑斑病病原菌 ITS 序列分子鉴定电泳示意图。

[0054] 图 4 为一种梨黑斑病菌株 A、C、H、GQ249171.1、GU797144.1 和 GU566303.1 进行 ITS 序列同源性序列比对示意图。

[0055] 图 5 为一种砂梨种质抗黑斑病鉴定示意图。

[0056] 图 6 为一种自然发病和人工接种条件下不同砂梨品种病情指数示意图。

[0057] 实验例证 1:2008 年、2009 年、2010 年和 2011 年,采用本方法对国家果树种质武昌砂梨圃中的 331 份梨种质资源进行抗梨黑斑病鉴定评价。

[0058] 图 7 为一种人工接种条件下不同梨黑斑病抗性砂梨品种鉴定结果示意图。

[0059] 从图 6、图 7 可以看出,通过使用本方法连续 4 年对国家果树种质武昌砂梨圃中的 331 份梨种质资源进行抗梨黑斑病鉴定评价,筛选出高抗黑斑病品种 9 份、抗病品种 71 份、中抗品种 165 份、感病品种 68 份、高感品种 18 份。鉴定结果将为梨抗黑斑病品种的选育奠定试验基础和理论依据。

具体实施方式

[0060] 一种梨种质抗黑斑病鉴定的方法,其步骤是:

[0061] 1. 黑斑病原菌的准备:

[0062] (1) 培养基的制备:

[0063] 马铃薯培养基 (PSA):马铃薯(去皮)200g,琼脂粉 20g,蔗糖 20g,水 1000mL。配制方法如下:将马铃薯去皮,切成约 2cm² 的小块,煮沸 0.5h,注意用玻璃棒搅拌以防糊。然后用双层纱布过滤,取其滤液加入琼脂粉,溶解后加入蔗糖,再补足水至 1000mL,PH 7.0。

[0064] (2) 梨黑斑病分离鉴定:

[0065] 采集的带有梨黑斑病病症的叶片或果实,参照 2005 年杜连祥,路福平主编的《微生物学实验技术》进行组织分离、单孢纯化、培养、保存。将分离获得的菌株接种到幼嫩的梨叶片上,观察能否产生典型的黑斑病病斑,然后再对病斑进行分离纯化。将分离纯化的病原菌株在 PSA 培养基上划线培养 6 或 7 或 8d,观察菌落形态;继续培养 19 或 20 或 21 天后在显微镜下观察病原菌的菌丝和孢子形态特征,参照 1979 年魏景超主编的《真菌形态学鉴定手册》,鉴定分离所得病原菌的种类。为了进一步确认梨黑斑病病原菌菌株的种名,采用 rDNA-ITS 分子鉴定法对分离的菌株进行分析。以病原真菌的 DNA 作为模板,用通用引物 ITS1:TCCGTAGGTGAACCTGCGG(序列 5-3') 和 ITS4:TCCTCCGCTTATTGATATGC(序列 5-3') 引物序列来源文献“ITS 序列分析在真菌分类鉴定中的应用进行扩增”(2007 年陈剑山,郑服丛),将所测得的 rDNA-ITS 序列在 GenBank 中用 Clustalx 2.0.10 对分离梨黑斑病菌和已登录发表的梨黑斑病病原菌 rDNA-ITS 序列进行多重序列比对分析。综合病原菌形态学特征及 rDNA-ITS 序列测定比对结果,鉴定梨黑斑病菌。

[0066] (3) 梨黑斑病原菌转接:

[0067] 将分离、纯化并鉴定的黑斑病原菌在新鲜的斜面 PSA 培养基上划线,光照培养箱 28℃培养 19 或 20 或 21 天,长出孢子后放于冰箱 4℃保存。

[0068] (4) 梨黑斑病原菌活化及扩大培养:

[0069] 将保存的黑斑病原菌从冰箱中取出,用接种环在培养皿中划线,并在光照培养箱 28℃培养。等菌丝铺满培养皿后,在无菌条件下用菌丝块接种的方法在培养皿中扩大培养

黑斑病原菌孢子。如此反复培养 2 或 3 次,培养出 2×10^5 个孢子 /mL 的孢子悬浮液接种梨叶片。

[0070] 2、梨抗病性材料准备:

[0071] (1) 梨品种嫁接:

[0072] 10-11 月间,当梨处于休眠期时,采集已选梨品种的枝条,采用芽接方法参照 2010 年胡红菊,王友平主编的《砂梨优良品种及标准化栽培技术》中苗木培育,在豆梨砧木上嫁接,每个品种嫁接 50 株。

[0073] (2) 梨嫁接品种移栽:

[0074] 1-2 月间,在雨雪天气来临之前,将梨嫁接品种苗木移栽到简易的温室大棚中防止品种芽冻伤,温度控制在 10 或 12 或 13 或 15 度。

[0075] 3. 人工接种鉴定:

[0076] (1) 病原孢子液配制:

[0077] 将培养皿扩大培养 19 或 20 或 21 天后,每个培养皿中加入 20mL 无菌水,用 2cm 型号牌刷将梨黑斑病孢子刷下,集中到 1L 的烧杯中,使用血球计数板在显微镜下计数,并用蒸馏水将梨黑斑病孢子稀释成浓度为 2×10^5 个孢子 /mL 的孢子悬浮液,放入 28℃ 培养中恒温下培养 6h,发芽率在 80% 以上,待用。

[0078] (2) 人工接种:

[0079] 待接种的梨品种整个生育期中不喷施杀菌剂,在 6 月-7 月间将待接种梨品种顶芽去掉,使用 2×10^5 个孢子 /mL 的梨黑斑病孢子悬浮液喷雾接种到待鉴定嫁接梨品种上,喷雾至叶片正反面全部淋湿。接种后 24 小时内保持空气湿度在 95% 以上,接种后 20 天进行调查,根据病情级数计算病情指数,对梨种质进行抗黑斑病鉴定评价。

[0080] 5. 病情调查与分级标准:

[0081] 接种后 20 天,调查接种梨品种全部叶片受害级别。同时调查鉴定品种的自然发病的病情指数,按每株东、西、南、北四个方向调查,每个方向随即调查 50 片叶。

[0082] 病情调查与分级标准

[0083] 0 级 无病斑;

[0084] 1 级 病斑占叶面积的 10% 以下;

[0085] 3 级 病斑占叶面积的 10%~25%;

[0086] 5 级 病斑占叶面积的 26%~40%;

[0087] 7 级 病斑占叶面积的 41%~65%;

[0088] 9 级 病斑占叶面积的 65% 以上。

[0089] 根据受害级别,计算黑斑病病情指数。

$$[0090] \quad BI = \frac{\sum(x_i n_i)}{9N} \times 100$$

[0091] 式中:BI——黑斑病病情指数

[0092] x_i ——各级病叶代表级数

[0093] n_i ——各级病叶数

[0094] N——总叶数

[0095] 根据病情指数及下列标准,确定种质的黑斑病抗性。

- [0096] 梨树对黑斑病的抗性根据病情指数划分为 5 级。
- [0097] 1 高抗 (HR) (病情指数 < 10.0)
- [0098] 3 抗病 (R) ($10.0 \leq$ 病情指数 < 25.0)
- [0099] 5 中抗 (MR) ($25.0 \leq$ 病情指数 < 40.0)
- [0100] 7 感病 (S) ($40.0 \leq$ 病情指数 < 65.0)
- [0101] 9 高感 (HS) (病情指数 ≥ 65.0)。

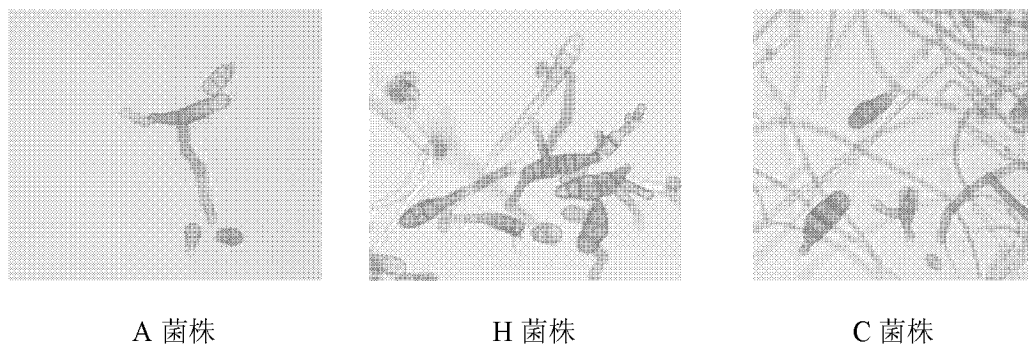
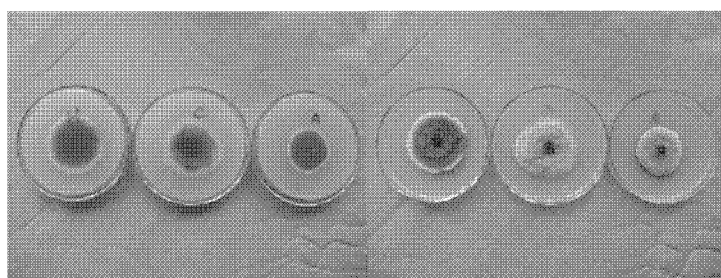


图 1



背面菌落形态

正面菌落形态

图 2

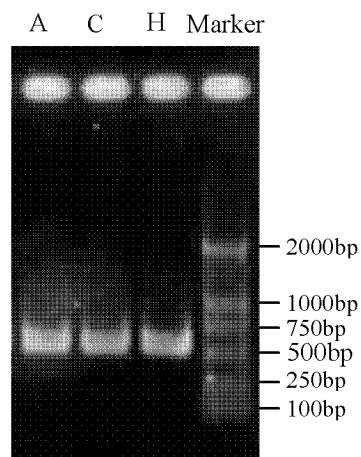


图 3

<pre> A : TCCTCCGCTTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATC : 38 C : TCCTCCGCTTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATC : 38 H : TCCTCCGCTTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATC : 38 GQ249171.1 : TCCTCCGCTTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATC : 58 SU797144.1 : TCCTCCGCTTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATC : 38 GU566303.1 : TCCTCCGCTTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATC : 38 TCCTCCGCTTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATC * 20 * A : CCTACCTGATCCGAGGTCAAAAGTTGAAAAAAGGCTT : 76 C : CCTACCTGATCCGAGGTCAAAAGTTGAAAAAAGGCTT : 76 H : CCTACCTGATCCGAGGTCAAAAGTTGAAAAAAGGCTT : 76 GQ249171.1 : CCTACCTGATCCGAGGTCAAAAGTTGAAAAAAGGCTT : 76 SU797144.1 : CCTACCTGATCCGAGGTCAAAAGTTGAAAAAAGGCTT : 76 GU566303.1 : CCTACCTGATCCGAGGTCAAAAGTTGAAAAAAGGCTT : 76 CCTACCTGATCCGAGGTCAAAAGTTGAAAAAAGGCTT 40 * 60 * A : AATGGATGCTAGACCTTTGCTGATAGAGAGTCCGACTT : 114 C : AATGGATGCTAGACCTTTGCTGATAGAGAGTCCGACTT : 114 H : AATGGATGCTAGACCTTTGCTGATAGAGAGTCCGACTT : 114 GQ249171.1 : AATGGATGCTAGACCTTTGCTGATAGAGAGTCCGACTT : 114 SU797144.1 : AATGGATGCTAGACCTTTGCTGATAGAGAGTCCGACTT : 114 GU566303.1 : AATGGATGCTAGACCTTTGCTGATAGAGAGTCCGACTT : 114 AATGGATGCTAGACCTTTGCTGATAGAGAGTCCGACTT 80 * 100 * </pre>	<pre> A : AAACAAGAAGTACGCAAAAAGACAAGGGTGAATAATTCA : 494 C : AAACAAGAAGTACGCAAAAAGACAAGGGTGAATAATTCA : 494 H : AAACAAGAAGTACGCAAAAAGACAAGGGTGAATAATTCA : 494 GQ249171.1 : AAACAAGAAGTACGCAAAAAGACAAGGGTGAATAATTCA : 494 SU797144.1 : AAACAAGAAGTACGCAAAAAGACAAGGGTGAATAATTCA : 494 GU566303.1 : AAACAAGAAGTACGCAAAAAGACAAGGGTGAATAATTCA : 494 AAACAAGAAGTACGCAAAAAGACAAGGGTGAATAATTCA 460 * 480 * A : GCAAGGCTGTAACCCCGAGAGGTTCCAGCCCGCCTTCA : 532 C : GCAAGGCTGTAACCCCGAGAGGTTCCAGCCCGCCTTCA : 532 H : GCAAGGCTGTAACCCCGAGAGGTTCCAGCCCGCCTTCA : 532 GQ249171.1 : GCAAGGCTGTAACCCCGAGAGGTTCCAGCCCGCCTTCA : 532 SU797144.1 : GCAAGGCTGTAACCCCGAGAGGTTCCAGCCCGCCTTCA : 532 GU566303.1 : GCAAGGCTGTAACCCCGAGAGGTTCCAGCCCGCCTTCA : 532 GCAAGGCTGTAACCCCGAGAGGTTCCAGCCCGCCTTCA 500 * 520 * A : TATTTGTGTAATGATCCCTCCGAGGTTACCTACGGA : 570 C : TATTTGTGTAATGATCCCTCCGAGGTTACCTACGGA : 570 H : TATTTGTGTAATGATCCCTCCGAGGTTACCTACGGA : 570 GQ249171.1 : TATTTGTGTAATGATCCCTCCGAGGTTACCTACGGA : 570 SU797144.1 : TATTTGTGTAATGATCCCTCCGAGGTTACCTACGGA : 570 GU566303.1 : TATTTGTGTAATGATCCCTCCGAGGTTACCTACGGA : 570 TATTTGTGTAATGATCCCTCCGAGGTTACCTACGGA 540 * 560 * </pre>
--	---

图 4



黑斑病接种现场

黑斑病高抗品种

黑斑病高感品种

图 5

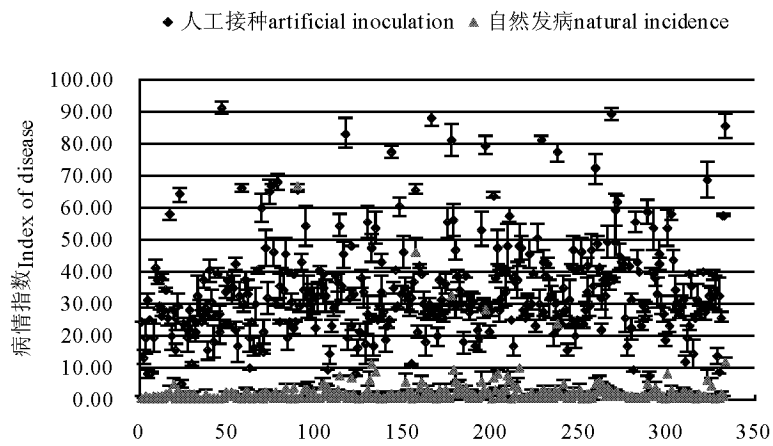


图 6

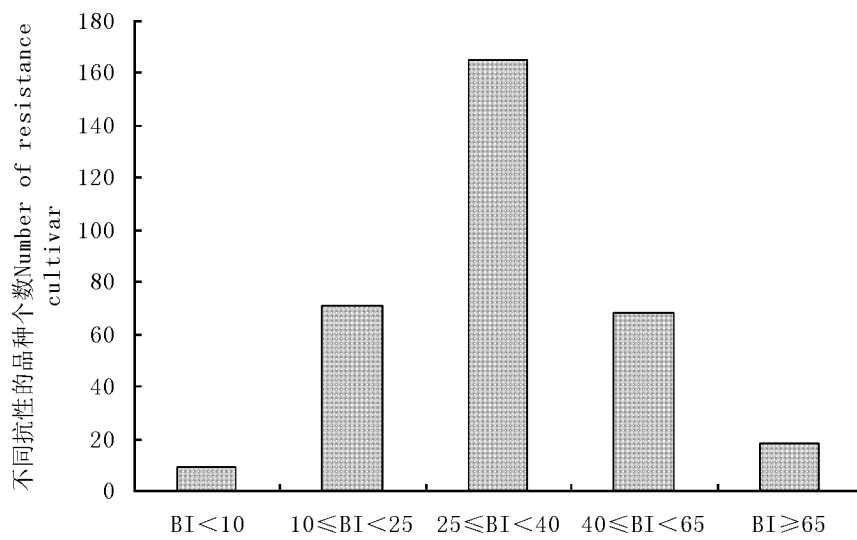


图 7