

黄瓜细菌性角斑病苗期抗病性 鉴定技术研究

关 钟 燕

(黑龙江省农科院园艺研究所·哈尔滨)

前 言

黄瓜细菌性角斑病 (*Pseudomonas Lachrymans*) 是黑龙江省春季大棚黄瓜及露地黄瓜主要病害之一, 春季大棚黄瓜一般在五月中、下旬开始发病, 露地黄瓜在整个生长季节均发病, 以六月下旬~七月上、中旬为主要流行期, 发病率在不同地区为30~70%, 影响产量达15~30%。其为害症状, 发病初期在叶背面出现水浸状的多角形斑点, 叶面为黄褐色。清晨在田间湿度大或有露水的情况下, 叶背面病斑处可看到溢出的白色菌脓, 干燥后, 呈现为白色膜状物, 病叶后期病斑为黄褐色破碎穿孔; 茎及卷须被害时, 均出现水浸状斑点, 以后扩大为短条状, 干燥形成白色菌膜; 果实被害时呈现圆形或不规则形状的灰白色病斑。

为了选育抗黄瓜细菌性角斑病的品种, “七五”期间, 我们承担了黄瓜优质、多抗、丰产新品种选育(75-02-10-03) 专题中的黄瓜细菌性角斑病苗期人工接种鉴定技术研究。一九八六年七月接受任务后, 经广泛收集国内外有关资料, 反复试验研究, 已得出准确、可靠、简便、易行的苗期抗病性鉴定方法。

病原菌分离培养及鉴定

(一) 病原菌分离培养: ① 取样: 经一九八六~一九八九年65菌株次(编号: 86-1-20, 87-21-40, 88-41-50, 89-51-65) 取样分离培养结果, 以七月上中旬为发病盛期, 清晨有露水时取样分离菌株的效果最好。② 培养基筛选: 采用三种不同培养基, 一种为蛋白胨培养基; 第二种为黄瓜细菌性角斑病专用培养基; 第三种为Tzc培养基。经过试验, 我们认为第二种培养基效果最好, 其配方是:

蔗糖	8.0g
KH_2PO_4	0.3g
K_2HPO_4	1.2g
Mg SO_4	0.3g
蒸馏水	1000ml
铁、铜、锌、锰	各1PPm

调配到PH6.9在15磅下灭菌15分钟, 灭菌后每毫升培养液内加天门冬酰胺10~20mg, 加蔗糖10mg。如配制固体培养基时, 在配方中加入洋菜粉18g。这种培养基, 液体为无色透明, 固体的为白色透明, 接种

后,菌落清晰明显,易于观察。③ 病原菌分离培养:将取回的病原病叶标样,由病斑中心切成 0.2cm^2 小小片,用1:1的漂白粉液或70%的乙醇,进行表面消毒半分钟,用无菌水冲洗3次后,放入直径90mm盛有固体培养基的平皿内,每个平皿放入4片,然后将平皿置入保温箱,温度控制在 24°C 。培养24~48小时后,在病叶周缘长出菌落,经过镜检,再用平皿固体培养基分离培养2~3次。镜检病原菌纯度达一致时,接种在试管斜面培养基上,经36—48小时后接种到液体培养基。放入摇床中培养36~48小时,可作接种用。

(二) 病原菌鉴定与保存:① 形态及特征鉴定:一九八六年~一九八九年对取样的65份菌株标样,经分离比较其形态特征基本一致,回接后进行致病力测定,其中PL-25, PL-62-2-1致病力为最强。将PL-25等菌株,用苯酚品红及亚甲兰染色后镜检观察:菌体均为短杆状,大小为 $0.7\sim 0.9\times 1.4\sim 2.0\mu$,极生鞭毛1~4根,进行革兰氏染色反应为阴性。在黄瓜细菌性角斑病专用培养基上,菌落为白色,近圆形,呈扁平突脐状,中央凸起白色不透明,较光滑,外缘带有放射状细毛状物。后期,菌落有黄绿色荧光。根据(法)N·冈查洛夫著的《异养细菌鉴定的检索与方法》书中引用的“Prevot氏分类检索表”,我地区的黄瓜细菌性角斑病病原菌为假单胞菌属滴泪黄瓜角斑假单胞菌(*Pseudomonas lachrymans*)。② 病原菌保存:黄瓜细菌角斑病的病原菌,由于培养基易于脱水干燥,故很不易保存,一般每1~2个月,就得转管再培养。经试验,用无菌蒸馏水,将在斜面固体培养基上发育正常的、无杂菌污染的病原菌落挑起放入盛有40~50ml无菌水中,然后用灭菌铝箔纸封口,在 $1\sim 3^{\circ}\text{C}$ 条件下(冰箱冷藏室的上部),可保存一年以上,而且效果很好。

苗期人工接种鉴定方法

(一) 接种苗准备:试材的种子在0.1%升汞液中消毒10分钟,用流水冲洗3次后,浸于 50°C 温水中,以后在室温中继续浸泡4~6小时,催芽温度为 $28\sim 30^{\circ}\text{C}$,种芽长 $0.5\sim 0.7\text{cm}$ 时播种。基质采用蛭石(经预先灭菌)平铺于播种盘内,厚度3~5cm,条播每行10株,行距5cm,采用塑料钵育苗时,用 $8\times 8\times 10\text{cm}$ 大小的塑料钵,填装入钵体2/3的灭菌蛭石,打水后每钵播2粒有芽种子,播种后置入定温室,温度保持在 $25\sim 28^{\circ}\text{C}$ 之间,当试材幼苗出现第一片真叶时接种。

(二) 接种:接种用的黄瓜细菌性角斑病病原菌,在液体培养基中培养48小时的新鲜菌液,接种菌量为 3×10^8 ,用微型喷雾器逐株进行喷雾接种,喷时要在叶面及背面喷洒均匀;或采用点滴接种,用细针管(或滴管)在子叶及真叶上进行点滴,点滴量要均匀一致。接种后放在保湿棚中,在遮光条件下保湿48小时(相对湿度95~100%,温度保持在 $21\sim 24^{\circ}\text{C}$),然后移到温室内(温度白天 24°C ,夜间 18°C)。

(三) 发病与病害分级标准:接种后10天,进行第一次调查,隔一周进行第二次调查。根据病斑类型、发病面积,计算病叶率和病情指数,以最后一次调查的病情指数为鉴定依据。

分级标准:0级:无病症;1级:产生坏死斑点,病斑较小;3级:病斑面积占叶面积的1/5以下;5级:病斑扩大,病斑面积占叶面积的1/5~2/3;7级:病斑连接,病斑面积占叶面积的1/3~2/3;9级:病斑破裂穿孔,病斑面积占叶面积的2/3以上。

(参考文献略收稿时间为1990年9月5日)