

黄瓜细菌性角斑病苗期人工接种细菌计数方法研究—混浊度计数法

张 慧

黄瓜细菌性角斑病苗期人工接种时,必须先测定接种物浓度,而细菌太小,计数方面就比较困难。用计数计计数法计数时,需稀释染色;平板菌落计数法时间又太长。而用混浊度计数法,在作抗源筛选时,只要提前将其标定一下,便可长期使用,不受时间和其它因素的限制。因此不失为一种简单、快捷的细菌计数方法。

混浊度计数法,是运用光度计测定细菌悬浮液的混浊度(透光度),然后与标准比较而后决定数目。光度计用于细菌计数要经过标定,即配成不同浓度的细菌悬浮液,用光度计测定它们的透光度或混浊度,然后用计数计测定细菌的数目。这样就可以得到光度计上的读数与细菌数目的关系,它们之间是直线关系。以后测定时就根据直线关系求得细菌数。

1 材料与方法

1.1 供试材料 采用本所田间黄瓜病叶上的细菌性角斑病菌。供试仪器:血球计计数计,721 分光光度计。

1.2 试验方法 黄瓜细菌性角斑病专用培养基制作:蔗糖 8g,磷酸一氢钾 1.2g,磷酸二氢钾 0.3g,硫酸镁 0.3g,蒸馏水 1000ml 加铁、铜、锌、锰各 $1g/m^3$,洋菜 18g,调 pH 值 6.9 放入高压灭菌锅灭菌 15min。病原菌分离培养:在发病盛期,清晨有露水时到田间采集有菌浓的病叶,从病斑中心切成 $0.2 \sim 0.5cm^2$ 的小片后,用 1:1 漂白粉液或 70% 乙醇表面消毒 0.5 ~ 1min,用无菌水冲洗 3 次后,放入直径 9cm,盛有固体培养基的平皿内,每个平皿放 3 ~ 4 片,然后放入保温箱,温度控制在 $23^{\circ}C$,培养 48h,待病斑叶缘长出菌落,经过染色,形态观察后,用平皿和试管固体培养基转培 2 ~ 3 次,培养纯化。细菌悬浮液的配制:挑取 2 管培养 3d 的试管中的菌浓,用 40ml 灭菌水稀释,充分振荡、摇匀,使细菌充分分散。然后用移液管依次取 10ml, 9ml, 8ml, 7ml, 2ml 分别放入 5 个试管中,并编号为 1, 2, 3, 4, 5。在这 5 个试管中分别加入灭菌水,使其悬浮液都达到 10ml,充分摇匀,制成 1 组浓度梯度的细菌悬浮液,待测。721 分光光度计测量方法:用灭菌水作为介质,其他 5 个试管细菌悬浮液作为待测液,用 $0.5cm \times 1.0cm$ 规格比色槽,用波长 450 纳米的光,测定介质和细菌悬浮液,每个待测液测两次,记下分光光度计上透光度(混浊度)的显示值。血球计计数计:将 2 号管的细菌悬浮液,用移液管取 1ml,稀释 10 倍后,摇匀,

滴 1 滴菌液于血球计计数计上,固定后,用亚甲基蓝色 1min,并固定,冲洗干净后,用显微镜计数,并计算出菌液浓度,方法是每小格细菌平均数 $\times 4 \times 10^6$ 个/ml。

2 结果与分析

2.1 结果 用 721 分光光度计测得灭菌水及 5 个试管悬浮液的透光度,见下表。从 1、2、3、4 之间的差可看出,细菌悬浮液与透光度之间呈直线相关。血球计

悬浮液	灭菌水	1	2	3	4	5
透光度	0.054	0.407	0.378	0.349	0.320	0.176

计数计测得 80 个小格细菌数目的平均值为 5.4475 个/ml,那么每 ml 稀释液的浓度为 $5.4475 \times 4 \times 10^6 = 2.179 \times 10^7$ 个/ml,则 2 号管悬浮液的透光度与悬浮液的浓度是直线关系,所以可以设透光度为 Y,细菌悬浮液的浓度为 X,则可建立方程 $Y = ax + b$ 。当 X 为零时, $Y = b = 0.054$ 。当 $Y = 0.378$, $X = 2.179 \times 10^8$ 个/ml,代入方程,那么系数 $a = 1.487 \times 10^{-9}$ 。由此得出透光度与细菌悬浮液浓度的关系为 $Y = 1.487 \times 10^{-9} X + 0.054$ 。细菌角斑病苗期人工接种所需菌液浓度为 3×10^8 ,那么其对应的透光度为 $Y = 0.5001$ 。只要配成这个透光度的细菌悬浮液,便可用来接种。

2.2 分析讨论 由于细菌悬浮液配制过程、稀释过程,特别是计数过程的染色、计数等,都可能产生误差。因此,方程的系数就不可避免存在试验误差。通过三次试验,结果趋于一致,只不过不同的菌株对应不同的直线相关。说明利用混浊度计数法测定细菌性角斑病菌液浓度,不失为一种快捷而有效的计测方法。因为各地细菌状况有差异,甚至有的黄瓜角斑病细菌带有荧光,更会影响到透光度,因而不同来源的细菌角斑病的病菌,都会有其特定的直线关系,所以要用特定细菌时,都需经过标定后,才能使用。

(黑龙江省园艺研究所,哈尔滨 150069)

奇 异 的 灌 溉 塑 料

谁能想到塑料与灌溉有关系,现在果然成为现实。灌溉塑料不仅可以改良土壤的性质,明显提高作物的产量,而且具有蓄水灌溉的奇妙功能。

其特点是吸水能力相当强,如海绵一样,可将蓄存的水释放出来。目前已经投入实际应用的灌溉塑料主要有两个品种,一是可溶于水的艾格罗苏克塑料,一是不溶于水的厄洛塞尔塑料。

艾格罗苏克塑料就像一颗颗的药丸子,将其与沙土混合处理后,就能制造出一种可以保持水分、盐分及作物所需要的营养物质的土壤。厄洛塞尔塑料的成品犹如白糖颗粒,其使用方法甚为简便,只需把它与作物种子搅拌在一起后再下种就行了,据实验,1kg 灌溉塑料可处理 1t 土壤。