

# 黄瓜黑星病苗期人工接种抗病性鉴定技术研究

关钟燕 林蔚杉 张志新 柳景兰

(黑龙江省农科院园艺研究所·哈尔滨)

**摘要:**本试验进行了黄瓜黑星病的发生,病原菌分离培养,不同菌株的致病力测定,菌株保存及苗期接种抗病性鉴定方法的研究,为选育抗黑星病黄瓜新品种,提供了苗期人工接种的抗病性鉴定技术。

**关键词:**黄瓜;黑星病;鉴定技术。

黄瓜黑星病(*Cladosporium cucumerinum*)是黑龙江省保护地的主要病害之一,在露地也有发生,1983年开始在牡丹江市郊区发现此种病害,据黑龙江省植保站调查材料(01),牡丹江市1983—1986年期间由于黄瓜发生黑星病,使黄瓜减产8.6—11.0%,1988年哈尔滨市黄瓜黑星病大流行年份对四个乡八个村调查,平均发病率为44.8%,平均减产率为28.3%,到目前黄瓜黑星病的发生,已扩展到我省哈尔滨、牡丹江、佳木斯、齐齐哈尔、鸡西、双鸭山、鹤岗、七台河、大庆、黑河等12个城市,其发病面积占播种面积的43.34%,病果率为20—30%。根据国家“八五”攻关计划,选育抗多种病害黄瓜新品种的要求,我们进行了黄瓜黑星病苗期人工接种抗病性鉴定技术研究。

黄瓜黑星病主要为害瓜条、叶片、茎及卷须。瓜条的症状:发病初期为近圆形的退绿小斑,病斑处溢出乳白色透明的胶状物,不流失,其后变为琥珀色。病斑的直径为1—4mm,大的病斑达1cm以上,胶状物脱落后,病斑凹陷龟裂,呈疮痂状,病斑处形成木栓化,瓜条呈现弯曲形,湿度大时,凹陷的病斑上生长出灰黑色霉层。叶片症状:叶片发病不受叶脉限制,叶片病斑较小,淡黄色近圆形,病斑大小为1—5mm,发病初期病斑周围有黄色晕

圈,后期病斑薄而脆,易破裂呈星状不著生霉层,叶脉受害后坏死,周围健部继续生长,叶片呈现扭皱变形。茎蔓、叶柄、卷须受害时,病斑呈长梭形,淡黄褐色,病斑稍凹陷,有胶状物溢出,后变为琥珀色,有时茎裂开,湿度大时,病斑上长出灰黑色霉层,卷须受害处呈现黄褐色而枯死。

黄瓜黑星病病原菌可在田间病株残体上越冬,种子和土壤均可成为第2年的初侵染来源。发病时期,保护地多在5月中旬以后,棚内温度在10℃以上,相对湿度在90%以上达12个小时,有利黄瓜黑星病的孢子产生和萌发,发病盛期在6月上、中旬,6月下旬放风量加大,湿度小,病情减轻。

## 1. 接种原

(1)病原特性 在PDA培养基上,菌丝为灰白到灰色,分生孢子梗细长,暗绿色到灰色有隔膜,顶端有分枝,分生孢子串生椭圆形或卵形,灰色到暗绿色,多数为单胞,少数有一个隔。孢子大小为 $3.5-10 \times 2.7-5\mu$ 。据有关资料定名为“*Cladosporium cucumerinum* Ellis and Arth.”

本试验共收集分离到4个菌株即:HXB—1(中国农科院蔬菜花卉研究所),HXC—2(中国农科院蔬菜花卉所从吉林农大引入),HXH—3(本所植保室),HXH—4(本所黄瓜温室病株分离)。经镜检观察,HXB—1分生孢子大于其它三个菌株,而长春和哈尔滨两地的三个菌株分生孢子略小。大小近似。

(2)菌种分离与纯化 ①采样 温室在4月份、大

须。②培养基 应用 PDA(马铃薯葡萄糖洋菜)。③病原菌分离培养 将采集的病组织标样,由病斑中心切 0.2—0.3cm<sup>2</sup> 的小片,浸入 1:1 漂白粉液或 70%乙醇液中进行表面消毒半分钟,再用无菌水冲洗后,放入盛有固体 PDA 培养基的平皿内,每个平皿放 3—4 片,然后将平皿置入保温箱中,温度控制在 20℃,培养 36—48 小时。在病组织周缘长出暗灰色菌落,经过镜检,用平皿固体培养基在分离纯化 1—2 次,镜检纯度一致时,将其接种到试管斜面培养基上,温度保持在 20℃,培养 48 小时即可使用。有时在瓜条及病叶上生有灰黑色霉层,也可以挑出少量霉菌接种在平皿固体 PDA 培养基上,进行培养纯化。

(3)致病力测定 以黄瓜品种津研 2 号、长春密刺为试材,菌液浓度 10<sup>6</sup>/ml,在黄瓜秧苗 1 叶 1 心期时,喷雾接种。结果如下,不同菌株接种致病力情况(%)

试 材	HXB-1	HXC-2	HXH-3	HXH-4
津研二号	72.5	60.0	67.5	69.8
长春密刺	32.5	25.0	27.5	30.4

由上表明显看出,4 个菌株对不同品种致病力差异显著,而不同菌株间对各品种,致病力虽有差异但不显著其致病力趋势基本一致。

(4)菌种保存 黄瓜黑星病病原菌,较易保存。将病原菌接种在 PDA 斜面培养基,放在 1—2℃ 条件下,可存活 2—8 年。自本所植保室取来的黄瓜黑星病 HXH-3 菌株,已保存 2 年以上,培养基已干硬,从上挑取接种,转管后病原菌仍然发育良好。据美国威斯康星大学植保系教授威廉姆斯的研究,黑星病菌株在 PDA 培养基上保存 8 年,仍有致病力。

## 2. 苗期人工接种鉴定技术

(1)鉴定材料准备 试材的种子用 0.1%升汞液消毒 10 分钟,用流水冲洗去药液,再用 45—50℃ 温热水浸种 30 分钟,以后在室温中继续浸泡 4—8 小时,保温箱催芽温度保持在 28℃ 经 16—18 个小时,选择芽长 0.5cm 左右的种子播种。基质采用灭菌蛭石,用塑料盘(60×25×5cm)播种。每盘播 10 行,中间两行为对照品种,长密(R),津二(S)。应用育苗钵,采用 8×8×10cm 大小规格一致的塑料钵,填充入钵体 2/3 的无菌蛭石为基质。每钵播 2 粒发芽种子播种后在育苗钵上覆膜注意保湿,并放在定温室内,温度保持在 23—25℃,当试材幼苗出现 1 叶 1 心期时,即可准备接种。

(2)接种体制备 接种用的黄瓜黑星病病原菌,采用斜面培养基培养,接种后 48 小时即可使用。

(3)接种 将斜面培养基上的黑星病病菌刮下,放

入无菌水中,用捣碎机捣碎,经过用血球计数器计数,调成 10<sup>6</sup>/ml,用喷雾法或点滴法接种,点滴接种时在真叶与子叶上各滴一滴,然后将播种盘或塑料钵放保湿棚中,温度控制为 20—23℃,相对湿度控制为 95—100%,遮光 48 小时。

通过接种试验,我们认为真叶点滴接种较子叶点滴接种方法简便易行,效果明显,真叶点滴接种后,抗病株有病斑但不扩展或只有斑痕,中抗株,病斑局部害坏死或穿孔,不扩展,感病株则病叶甚至生长点均死亡;而子叶点滴接种不如真叶明显,子叶点滴接种后,菌液易滑落,发病也较慢。在一叶一心期喷雾接种效果也较好,抗病株心叶及生长点发育正常,而感病株心叶及生长点均坏死,不再生长。

为比较光照强度与发病效果,在接种遮光 48 小时后,采用两种处理,一种是将接种苗继续放在保湿棚中用钠灯照射 10 小时/天,另一种是放在日光下的保湿棚中,通过试验,在钠灯照射下保湿保温效果好,发病快,而在日光照射下,光照强且湿度也较难控制,其发病效果不如前者。

此外,还进行了瓜片接种试验,共接种了 20 个品种用长春密刺与津研二号为抗病与感病对照,具体做法,将瓜片切成 0.3cm 厚度的薄片,放在装有滤纸的培养皿中,每个培养皿中放 3 片瓜片并加入一定量的无菌水,接种浓度为 10<sup>6</sup>/ml,每个瓜片上滴一滴菌液,接种 2—3 天后开始发病,以第一次发病的病斑直径大小作为调查的基数,以后每隔 2 天调查一次病斑的直径,以最后一次约 14 天,病斑不再扩展为止,记载和计算发病率和病情指数。

根据调查结果,20 个品种接种后,其病情指数为 0—67.5%,瓜片接种与苗期人工接种的发病趋势一致。瓜片接种可继苗期人工接种后再一次在成株上进行各品种的抗病性鉴定,在温室的条件下,在培养皿中进行,方法简易,可以多次重复,是可以采用的一种人工接种鉴定方法。在应用过程中,选择黄瓜果实时,注意成熟度一致;切片部位一致;瓜片厚度一致;点滴药量一致。根据试验,嫩瓜的瓜瓤小,水分少,发病轻,扩展慢;老熟的瓜瓤水分多,相对的发病重,扩展也快。不同品种材料间的抗病性差异,还是很显著的。

(4)病情指数调查与分级标准:0 级:无病斑。1 级:有极少量斑点,1/5 以下。3 级:病斑面积占叶面积的 1/5 以上,1/3 以下。5 级:病斑扩大,占叶面积的 2/3 以下。7 级:病斑连接,布满叶片,未枯死。9 级:病叶枯死。(参考文献 4 篇略)

