

番茄细菌性软腐病抗病性鉴定技术规程

Technical regulation for evaluation of tomato resistance to bacterial
soft rot

(送审讨论稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由辽宁省农业农村厅提出并归口。

本文件起草单位：辽宁省农业科学院、铁岭市农业科学院、新民市乡村振兴发展中心、台安县农业农村发展中心、北镇市农业农村综合服务中心

本文件主要起草人：王辉、刘丽、于舒怡、关天舒、陈乐、李柏宏、刘长远、刘震、吴媛媛、郑丽娇、刘斯、周颖

本文件发布实施后，任何单位和个人如有问题和意见建议，均可以通过来电和来函等方式进行反馈，我们将及时答复并认真处理，根据实际情况依法进行评估及复审。

归口管理部门通讯地址：辽宁省农业农村厅(沈阳市和平区太原北街2号)，联系电话：024-23447862。

文件起草单位通讯地址：辽宁省农业科学院(沈阳市沈河区东陵路84号)，联系电话：024-88419895。

番茄细菌性软腐病抗病性鉴定技术规程

1 范围

本文件规定了番茄细菌性软腐病 [*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*] 抗病性鉴定过程的准备、接种、调查和评价等技术内容。

本文件适用于番茄 (Tomato) 品种或种质资源对细菌性软腐病抗性的室内鉴定及评价。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

- NY/T 1858.3—2010 番茄主要病害抗病性鉴定技术规程 第3部分:番茄抗枯萎病鉴定技术规程
SN/T 1538.1 培养基制备指南 第1部分:实验室培养基制备质量保证通则
DB21/T 3417—2021 设施番茄育苗及绿色生产技术规程

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 准备

4.1 培养基制备

肉汁胨培养基 (NA): 牛肉浸膏3.0 g, 酵母浸膏1.0 g, 蛋白胨5.0 g, 葡萄糖 (或蔗糖) 10.0 g, 琼脂粉10.0 g, 蒸馏水1000 mL, pH 6.8~7.0, 高压灭菌121°C 20 min。

结晶紫聚果胶培养基 (CVP): 将搅碎器预热, 加500mL煮沸的蒸馏水, 将以下成分依次加入, 用低速搅拌。结晶紫的10%水溶液1.0mL, 1.0mol/L氢氧化钠溶液4.5mL, 二水合氯化钙1%水溶液 (现配现用), 琼胶2.0g, 硝酸钠1.0g, 随后将聚果胶酸钠加入, 高速搅拌15s, 分装三角瓶, 高压灭菌121°C 15 min 后立即倒入培养皿, 制成平板。

4.2 接种体制备

4.2.1 病原物分离

从发病植株典型病斑上采集病样, 在结晶紫聚果胶培养基 (CVP) 上采用培养皿稀释分离法或平板划线分离法进行分离, 挑取单个菌落进行纯化培养, 经柯赫氏证病法则测定后, 对纯化的分离物进行形态学、分子学鉴定等, 确定为番茄细菌性软腐病病原菌, 并将该病菌4°C保存备用。病原物的分离与鉴定符合SN/T 1538.1的要求。

4.2.2 接种体制备

平板计数法测定菌悬液浓度，配制成 5×10^7 cfu/mL病菌悬浮液，供接种使用。

4.2.3 菌种保存

4.2.3.1 斜面保存：将纯化的病原物划线转接到 NA 试管斜面培养基上，28℃恒温培养 36 h~48 h，待病菌长满斜面后放 4℃条件下冷藏保存，保存期为 1 周~10 周。

4.2.3.2 超低温甘油保存：将获得的病原菌在 NA 平板培养基上培养，28℃恒温培养 36 h~48 h，用接种环挑取病原菌放入装有灭菌的甘油（甘油:水=1:4）冻存管中混匀，放于-80℃超低温冰箱下长期保存。

4.3 鉴定对照品种

抗病性鉴定时选择“Money maker”为感病对照品种。

4.4 鉴定设计

鉴定材料随机排列，每份材料重复3次，每次重复10株苗。

4.5 鉴定材料育苗

选择颗粒饱满、无病虫害的番茄种子，经10%次氯酸钠溶液浸泡10 min，晾干后备种。将种子均匀地撒在育苗盘上，覆盖一层薄土，覆地膜保湿，夏季需遮阴。育苗期间棚室内夜里温度宜控制在15℃~23℃，出苗前白天温度控制在26℃~30℃，夜晚17℃~25℃；出苗后白天温度控制在20℃~28℃，夜晚15℃~20℃。当番茄苗长出5片~6片真叶时，在接种室接种病原菌后移至恒温光照培养箱进行抗病性鉴定培养。

育苗基质选择草炭:珍珠岩:蛭石体积配比为 4:1:1，经高温蒸汽灭菌（134℃，30min）。夏季宜采用保水保肥性好的草炭，冬季宜采用通透性好的草炭，pH 值5.5~7.0。基质符合DB21/T 3417—2021的要求。

4.6 接种室与鉴定室设置

4.6.1 接种室设置

接种室应包括接种间和缓冲间。接种室的地板、墙壁、天花板要平整。门窗应密闭，房间应设有工作台，以便放置酒精灯、常用接种工具，工作台上方和缓冲间天花板上应安装紫外线杀菌灯和日光灯。

4.6.2 鉴定室设置

鉴定室内应具备人工调节温度、湿度及稳定的光照条件；亦可使用恒温光照培养箱。

5 接种

5.1 接种期

抗性鉴定接种期为番茄生长5片~6片真叶期。

5.2 接种浓度

接种用病原物菌悬浮液浓度为 5×10^7 cfu/mL。

5.3 接种方法

采用注射接种法。用无菌注射器将准备好的病原物菌悬浮液1mL注射至鉴定材料的茎部。

5.4 接种后管理

接种后将植株置于鉴定室或恒温光照培养箱内，温度设定26℃~30℃，光暗交替12 h，光照6000 Lx，覆盖塑料薄膜保湿，湿度保持90%~100%。

6 调查

6.1 调查时间

病情调查于接种后10 d~14 d进行，对发病情况进行调查并记录。

6.2 调查方法与病指计算

根据病害分级标准，逐份调查植株茎部发病情况，记载接种的调查总株数、各病情级别的株数、病情级别，计算出病情指数（DI）。

病情指数（DI）按下列公式计算：

$$DI = \frac{\sum (s \times n)}{S \times N} \times 100\%$$

式中：

DI—病情指数；

s—各级代表值；

n—各级株数；

S—发病最高代表值；

N—调查总株数。

6.3 病情分级

病情分级及其对应的症状描述见表1。

表1 番茄细菌性软腐病鉴定病情级别划分指标

病情级别	病害症状描述
0	茎部无病斑
1	0%<病斑长度占茎全长≤5%
3	5%<病斑长度占茎全长≤10%
5	10%<病斑长度占茎全长≤20%
7	20%<病斑长度占茎全长≤50%
9	病斑长度占茎全长50%以上

7 抗病性评价

7.1 鉴定有效性判别

当感病对照材料达到高感程度（HS级）时，该批次材料抗细菌性软腐病鉴定视为有效（表2）。

7.2 评价标准

依据鉴定材料的病情指数确定其抗性水平，划分标准见表2。

表 2 番茄细菌性软腐病抗病性划分指标

病情指数 (DI)	抗病性评价
DI =0	免疫 Immune (IM)
0 < DI ≤ 10	高抗 Highly resistant (HR)
10 < DI ≤ 35	抗病 Resistant (R)
35 < DI ≤ 55	中抗 Moderately resistant (MR)
55 < DI ≤ 75	中感 Moderately susceptible (MS)
75 < DI ≤ 100	高感 Highly susceptible (HS)

7.3 鉴定记载表格

番茄细菌性软腐病抗病性鉴定结果记载表格见图1。

表 番茄细菌性软腐病抗病性鉴定结果记载表										
编号	品种名称	来源	病情级别						平均病指	抗性评价
			0级	1级	3级	5级	7级	9级		
播种日期:					接种日期:					
接种生育期:					接种病原菌分离物编号:					
调查日期:										
鉴定技术负责人(签字):										

图 1 番茄细菌性软腐病抗病性鉴定结果记载表样式图

附录 A
(资料性)
番茄细菌性软腐病

A.1 病名和症状描述

A.1.1 病名

番茄细菌性软腐病病名为 Bacterial soft rot of tomato。

A.1.2 田间症状

细菌性软腐病可侵染番茄、辣椒、黄瓜、茄子、大白菜、马铃薯等多种作物。侵染番茄时主要表现为茎秆腐烂。发病初期，番茄茎秆、枝条上出现椭圆或条状灰褐色病斑，然后逐渐扩散、腐烂。湿度大的情况下，植株表皮湿腐，茎秆很快腐烂直至整株死亡。



图 A.1 番茄细菌性软腐病田间症状

A.2 病原菌学名和形态描述

A.2.1 病原菌

病原为胡萝卜软腐果胶杆菌巴西亚种 (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*)。

A.2.2 形态描述

病原菌在 NA 培养基上菌落近圆形，灰白色，半透明，边缘整齐，表面湿润、光滑，有光泽，中间略凸起。革兰氏染色呈阴性，菌体短杆状、无芽孢，大小为 $(0.5 \sim 1) \mu\text{m} \times (1 \sim 13) \mu\text{m}$ 。

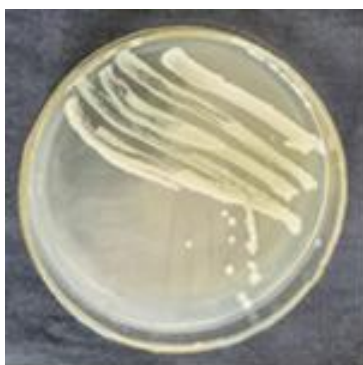


图 A. 2 番茄细菌性软腐病病菌菌落形态 (NA 培养基)



图 A. 3 番茄细菌性软腐病病菌革兰氏染色及菌体形态 (1000×)
