

甜瓜抗细菌性角斑病鉴定技术规程

Technical regulation for evaluation of muskmelon resistance to bacterial
angular leaf spot

(送审稿)

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。

2025 - 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。

本文件主要起草人：王辉、于舒怡、刘丽、关天舒、李柏宏、刘长远、何明、张嘉旺、吕艳玲

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。

甜瓜抗细菌性角斑病鉴定技术规程

1 范围

本文件规定了甜瓜细菌性角斑病 [*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* (Smith et Bryan) Young, Dye & Wilkie] 抗病性鉴定过程的准备、接种、调查和评价等技术内容。

本文件适用于甜瓜 (*Cucumis melo* L.) 品种或种质资源对细菌性角斑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。

GB/T 17980.1.110—2004 农药田间药效试验准则（二） 第110部分：杀菌剂防治黄瓜细菌性角斑病

GB/T 36851—2018 甜瓜细菌性角斑病菌检疫鉴定方法

NY/T 1857.6—2010 黄瓜主要病害抗病性鉴定技术规程 第6部分：黄瓜抗细菌性角斑病鉴定技术规程

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

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 准备

肉汁培养基（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℃ 20 min。

4.2 接种体制备

4.2.1 病原物分离

从发病植株叶片的典型病斑上采集病样，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，确定甜瓜细菌性角斑病病原菌，并将该病菌4℃保存备用。病原物的分离与鉴定符合GB/T 36851的规定和附录A的要求。

4.2.2 菌种保存

4.2.2.1 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。

4.2.2.2 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。

4.2.3 接种体制备

将保存的病原菌在NA平板培养基上进行纯培养，28℃恒温培养36 h~48 h，用接种环刮取病原菌，将其放入装有适量无菌水的三角瓶中，充分搅拌均匀，用稀释平板计数法或血球计数板计数法测定菌悬液浓度，配制成 3×10^6 cfu/mL病菌悬浮液，供接种使用。

4.3 鉴定对照品种

抗病性鉴定时选择“彩虹7号”为甜瓜感病对照品种。

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、无病虫害的甜瓜种子经5%次氯酸钠溶液浸种10 min后，用清水冲洗，放入垫有两层滤纸的培养皿中，然后于恒温培养箱中28℃催芽。待胚根长至0.5 cm时，将其播于装有播种基质的塑料育苗钵内。育苗基质中草炭:蛭石:菜田土配比为2:1:1，基质经高温蒸汽灭菌（134℃，30 min）。育苗在20℃~25℃的日光温室内进行。

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

人工接种室内应具备人工调节温度、湿度及稳定的光照条件；亦可使用恒温光照箱。

5 接种

5.1 接种期

抗性鉴定接种期为甜瓜2片~3片真叶期。

5.2 接种浓度

接种用病原物菌悬浮液浓度为 3×10^6 cfu/mL。

5.3 接种方法

采用喷雾接种法。用小型手持喷雾器将准备好接种的病原物菌悬浮液均匀地喷雾到每片叶片的正反面，以不流水滴为宜。

5.4 接种后管理

接种后将植株置于鉴定室或恒温保藏箱内，温度设定18℃~22℃，光照16小时、黑暗8小时，光照强度6000 Lx，内部空间保持相对湿度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，逐份调查植株叶片发病情况，记载接种的总叶数、各病情级别的叶片数、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—各级叶片数；

S—发病最高代表值；

N—调查总叶数。

6.3 病情分级

病情分级及其对应的症状描述见表1。

表1 表1 甜瓜细菌性角斑病鉴定病情级别划分指标

病情级别	病害症状描述
0	无病斑
1	A≤5%
3	5<A≤10
5	10<A≤20
7	20<A≤50
9	A>50%

注：病斑面积占整个叶片面积比例以A表示

7 抗病性评价

7.1 鉴定有效性判别

当感病对照材料达到感病程度（S级）时，该批次材料抗细菌性斑点病鉴定视为有效（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 甜瓜细菌性角斑病抗病性划分指标

病情指数 (DI)	抗病性评价
$DI = 0$	免疫 Immune (I)
$0 < DI \leq 20$	高抗 Highly Resistant (HR)
$20 < DI \leq 40$	抗病 Resistant (R)
$40 < DI \leq 60$	中抗 Moderately Resistant (MR)
$60 < DI \leq 80$	感病 Susceptible (S)
$DI > 80$	高感 Highly Susceptible (HS)

7.3 鉴定记载表格

甜瓜细菌性角斑病抗病性鉴定结果记载表格见图1。

表 甜瓜细菌性角斑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 甜瓜细菌性角斑病抗病性鉴定结果记载表样式图

附录 A
(资料性)
甜瓜细菌性角斑病

A.1 病名和症状描述

A.1.1 病名

甜瓜细菌性角斑病病名为 Muskmelon angular leaf spot

A.1.2 田间症状

该病害主要危害叶片，还可为害茎、叶柄及果实。染病初期产生水渍状小点，以后病斑扩大，由于受叶脉的限制病斑呈多角形，在病斑周围有黄色晕圈；再潮湿条件下叶背病部会出现白色菌脓。



图 A.1 甜瓜细菌性角斑病田间症状

A.2 病原菌学名和形态描述

A.2.1 病原菌

该病害病原为丁香假单胞菌黄瓜致病变种 [*Pseudomonas syringae* pv. *Lachrymans* (Smith et Bryan) Young, Dye & Wilkie]。

A.2.2 形态描述

菌体短杆状，无芽孢，相互呈链状连接，革兰氏阴性。在 NA 培养基上菌落呈灰白色的不规则或近圆形，灰白色，不透明，无光泽，边缘不整齐，易挑取。

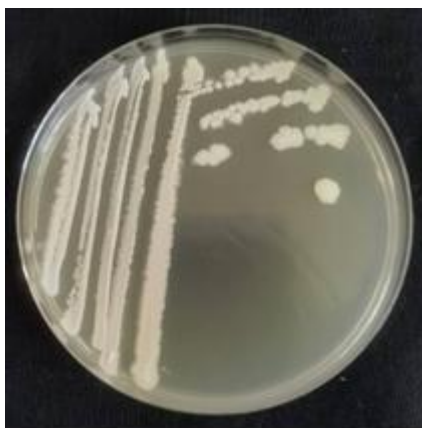


图 A. 2 甜瓜细菌性角斑病病菌菌落形态 (NA 培养基)

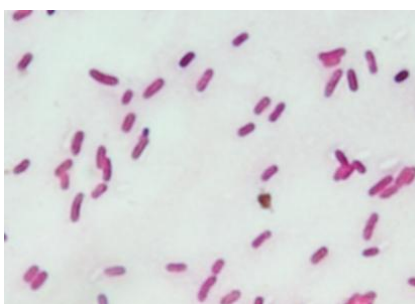


图 A. 3 甜瓜细菌性角斑病病菌革兰氏染色及菌体形态 (1000×)
