

HNNY

湖南省农业技术规程

HNNY442-2024

冬瓜抗疫病鉴定技术规程

Code for resistance identification technology of wax gourd to
phytophthora blight

2024-11-26 发布

2024-11-26 实施

湖南省农业农村厅发布

目 次

前言	1
1 范围	2
2 规范性引用文件	2
3 术语和定义	2
4 疫病菌接种体制备	3
5 室内抗性鉴定	3
6 病情调查	4
7 抗病性评价	5
8 菌种保藏及销毁	6
9 鉴定后材料灭活处理	6
10 资料管理	6
附录 A 冬瓜疫病病原菌、田间发病症状和流行规律	7
附录 B 冬瓜抗疫病鉴定结果记载表	8

前 言

本文件按《湖南省农业技术规程制定与发布管理规范》相关规定起草。

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这些专利的责任。

本文件由湖南省农业标准化技术委员会提出并技术归口。

本文件起草单位：湖南省蔬菜研究所、湖南农业大学、海南兴蔬种业有限公司。

本文件主要起草人：弭宝彬、武芳芳、谢玲玲、刘丹、刘碧琼、肖伟。

冬瓜抗疫病鉴定技术规程

1 范围

本文件规定了冬瓜抗疫病（瓜类疫霉（*Phytophthora melonis* Katsura）引起）鉴定的疫病接种体制备、室内抗性鉴定、病情调查、抗病性评价、菌种保藏及销毁、鉴定后材料的灭活处理和资料管理。

本文件适用于冬瓜抗疫病鉴定。

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 3543.1	农作物种子检验规程
NY/T 1857.4	黄瓜主要病害抗病性鉴定技术规程第4部分：黄瓜抗疫病鉴定技术规程
NY/T 2118	蔬菜育苗基质

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 冬瓜疫病 wax gourd phytophtiora blight

由瓜类疫霉（*Phytophthora melonis* Katsura）引起的冬瓜瓜肉腐烂发臭，茎蔓病部凹陷溢缩，呈开水浸状，致病部以上叶片萎蔫的病害。

3.2 抗病性鉴定 disease resistance identification

根据采用的技术标准判别植物对特定病害反应程度和抵抗水平的描述。

3.3 致病性 pathogenicity

病原物所具有的破坏寄主和引起病变的能力。

3.4 人工接种 artificial inoculation

在适宜条件下，通过人工操作将接种体置于植物体适当部位并使之发病的过程。

3.5 病情级别 disease rating scale

人为定量植物个体或群体发病程度的数值化描述。

3.6 病原分离物 pathogenic isolate

采用人工方法从植物发病部位分离获得的在特定的环境条件下培养的病原物。

3.7 接种体 inoculum

用于接种以引起病害的病原物或病原物的一部分，在本标准中指用于冬瓜接种的游动孢子悬浮液。

3.8 病情指数 disease index (DI)

通过对植物个体发病程度（病情级别）数值的计算所获得的群体发病程度的数值化描述形式。

4 疫病菌接种体制备

4.1 病原物分离与保存

疫病菌病原物分离符合NY/T 1857.4技术规程规定，分离物经菌体形态特征以及致病性鉴定后，保存备用。

4.2 接种体的繁殖和保存

4.2.1 接种体的繁殖

在接种前进行病原物接种体的繁殖。将冬瓜疫霉菌接种在V8培养基上，于 $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下培养7 d，在 $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 日光灯照射48 h以诱发游动孢子囊。待培养基平板上产生大量游动孢子囊后加入无菌水，用玻璃棒刮动平板培养基表面收集菌丝和游动孢子囊。将收集的培养物置于 $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下30 min，然后置于 $20\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 24\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温度下3 h以诱发游动孢子的形成和释放。两层纱布过滤后即得孢子悬浮液，然后蒸馏水稀释滤液至所需接种浓度。

4.2.2 接种体的保存

将冬瓜疫霉菌接种于燕麦斜面培养基上，在 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的恒温箱中培养7 d后，置 $4\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 6\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱内保存；或在斜面上加一层灭菌矿物油（超过斜面顶部1 cm），置冰箱或室温下保存。

5 室内抗性鉴定

5.1 鉴定室设置

人工接种鉴定室应具备人工调节温度、湿度及光照的条件，使人工接种后待鉴定材料具备良好的发病环境。

5.2 鉴定设计

待鉴定材料随机排列或顺序排列，每份待鉴定材料重复3次，每个重复10株苗。

5.3 鉴定寄主材料

以长沙扁担瓜为感病对照鉴定寄主。

5.4 待鉴定材料育苗

待鉴定材料种子质量符合GB/T 3543.1规定，将种子用10%的次氯酸钠溶液中浸种5 min~10 min，清水反复冲洗后置于恒温培养箱中28℃~30℃催芽后，播种于9×9的育苗钵中。育苗基质符合NY/T 2118规定，经高温蒸汽灭菌（134℃，120 min）后装入育苗钵。在日光温室里育苗，室内温度为25℃~30℃。每钵一苗，所有幼苗应生长健壮一致。

5.5 接种

5.5.1 接种时期

接种时期为3叶一心期，第2片真叶展平期。

5.5.2 接种浓度

接种悬浮液的游动孢子浓度为 5×10^3 个/mL。

5.5.3 接种方法

距每一植株茎基部1 cm~1.5 cm处注入3 mL接种悬浮液，注意不要使菌液直接接触植物根茎部。

5.5.4 接种后管理

接种后将植物置于鉴定室内黑暗保湿（RH为100%）24 h。然后置于25℃~30℃的鉴定室内，每天光照10 h~12 h，接种期间适时浇水，保存土壤湿润度接近饱和状态。

6 病情调查

6.1 调查时间

接种后5 d~7 d对发病情况进行调查。

6.2 病情级别划分

幼苗病情级别及其对应的症状描述见表1。

表1 冬瓜抗疫病室内鉴定病情级别的划分

病情级别	症状描述
0	无症状
1	茎基部水浸状，稍变黄，叶片不萎蔫
3	茎基部水浸状扩展型病斑超过 2 cm，稍缢缩，或子叶萎蔫
5	茎基部病斑超过 3 cm，或茎部缢缩明显，真叶出现萎蔫
7	茎基部呈水浸透明状，或整株倒伏

6.3 调查方法

调查每份待鉴定材料接种株发病情况，根据病害症状描述，逐份材料进行调查，记载单株病情级别，并计算每份待鉴定材料的病情指数（DI）。

病情指数按式（1）计算：

$$DI = \frac{\sum (s \times n)}{N \times S} \times 100 \dots \dots \dots (1)$$

式中：

DI——病情指数；

s——各病情级别的代表数值；

n——各病情级别的植株数；

N——调查总植株数；

S——最高病情级别的代表数值。

7 抗病性评价

7.1 抗病性评价标准

依据待鉴定材料3次重复的病情指数（DI）平均值确定其抗性水平，划分标准见表2。

表2 冬瓜对疫病抗性的评价标准

病情指数（DI）	抗性评价
DI=0	免疫（I）
0 < DI ≤ 10	高抗（HR）
10 < DI ≤ 30	抗病（R）
30 < DI ≤ 50	中抗（MR）
50 < DI ≤ 70	感病（S）
DI > 70	高感（HS）

7.2 鉴定有效性判别

当感病对照材料达到其相应感病程度（DI>50），该批次抗疫病鉴定视为有效。

8 菌种保藏及销毁

菌种采用传代保存，将传代并经过培养后的菌种放入冰箱中4℃~6℃保存。每支保存菌种需标明菌名、标准编号、传次、传代日期。

菌种使用后或超过贮存期的应进行销毁，需销毁的菌种，应用高压蒸汽121℃、20 min灭菌。灭菌后，再进行清洗和处理，销毁的菌种应做好记录。

9 鉴定后材料的灭活处理

将接种后剩余的接种体、接种鉴定后的植株残留物等集中到容器中经高压蒸汽120℃、20 min灭活处理。

10 资料管理

冬瓜抗疫病鉴定结果记载表格，表格样式见附录B。应妥善保管原始档案记录，至少保存2年。

附录 A

(规范性)

冬瓜疫病病原菌、田间发病症状和流行规律

A.1 病原菌形态描述

在燕麦培养基上培养，菌丛呈灰白色，稀疏，菌丝无隔透明，直径 $4\ \mu\text{m}\sim 7\ \mu\text{m}$ ，后期菌丝产生不规则形的肿胀或结节状突起。在V8培养基上，菌丛近白色，稀疏，产生游动孢子囊，孢子囊下部圆形，乳突不明显，有时也可看到少量孢子囊的乳突较高，可达 $4\ \mu\text{m}$ ，大小 $43\sim 69\times 19\sim 36\ \mu\text{m}$ ，新的孢子囊自前一个孢子囊中伸出，萌发时产生游动孢子，自孢子囊的乳突逸出。藏卵器近球形，直径 $18\sim 31\ \mu\text{m}$ ，无色，雄器围生；卵孢子球形，淡黄色，表面光滑， $16\sim 28\ \mu\text{m}$ 。

A.2 症状

冬瓜疫病在冬瓜整个生长期均可发生。成株染病多从茎嫩头或节部发生，初为水浸状，病部失水缢缩，病部以上叶片迅速萎蔫，呈青枯状整株死亡，维管束不变色。叶片受害，先出现水浸状圆形或不规则形灰绿色大斑，边缘不明显，潮湿时易腐烂，干燥时病斑边缘为暗绿色，中部淡褐，干枯易破裂。果实染病，初现水浸状斑点，后病斑凹陷，有时开裂，溢出胶状物，病部扩大后引致瓜腐烂，表面常疏生白霉。



图A.1 冬瓜疫病田间症状

A.3 发生流行规律

冬瓜疫病病菌以菌丝或厚垣孢子和卵孢子随病残体在土壤中越冬，条件适宜时，侵染寄主导致寄主发病。在高湿或阴雨条件下病部产生大量孢子囊，孢子囊和所萌发的游动孢子借风雨、灌溉水传播，引起再侵染。湖南地区疫病的盛发期主要在5月~7月，该段时间雨水较多，温湿度适宜发病，田间发病高峰期通常在降雨高峰之后。

A.4 培养基配方

燕麦培养基：燕麦片30 g，琼脂20 g，蒸馏水1000 mL。将燕麦片加入600 mL蒸馏水中，制成匀浆，加热至45℃~50℃，然后加入已溶化琼脂的蒸馏水400mL，高压灭菌（121℃，30 min）。

V8培养基：V8蔬菜汁100ml、碳酸钙0.2g、琼脂20g、去离子水900mL，高压灭菌（121℃，30min）。

附录 B

（资料性）

冬瓜抗疫病鉴定结果记载表

编号	品种/种质名称	来源	重复区号	病情鉴定						病情指数	平均指数	抗性评价
				0	1	2	3	4	5			
			I									
			II									
			III									
	感病对照		I									
		II										
		III										
播种日期			接种日期									
接种生育期			调查日期									

鉴定技术负责人（签字）：