|  |  |
| --- | --- |
| ICS | 65.020 |
| CCS | |  | | --- | | D:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T.pngD:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T后面的反斜杠.png GXAS |   B 47 |

团体标准

T/GXAS XXXX—XXXX

桑树抗青枯病鉴定技术规程

Technical Protocol for Identification of Resistance Levels to Bacterial Wilt in Mulberry

（本草案完成时间：2025年6月）

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX实施

广西标准化协会  发布

1. 前言

本文件参照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。

本文件由广西壮族自治区蚕业技术推广站提出并宣贯。  
本文件由广西标准化协会归口。

本文件起草单位：广西壮族自治区蚕业技术推广站、百色市蚕业站、广西南宁天龙生物科技有限公司。

本文件主要起草人：刘丹、林强、邱长玉、曾燕蓉、黄胜、蒋满贵、陆晓媚、莫荣利、张朝华、文柳璎、陈小青、赵潇、朱光书、于永霞、何国玲、石华月、黄飞、冉艳萍、李莉、莫愁、黄丽萍、李福乐、蓝黄丽。

桑树抗青枯病鉴定技术规程

* 1. 范围

本文件确立了利用水循环装置快速鉴定桑树青枯病抗性等级的术语和定义、并规定了材料设备、试验步骤、抗性等级划分及数据处理等内容。

本文件适用于桑树品种（系）对青枯病（*Ralstonia solanacearum*）的抗性等级鉴定，为抗病品种筛选提供技术依据。

* 1. 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 1464.35 植物病害鉴定技术规程

* 1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

桑树青枯病 Mulberry bacterial wilt

由青枯菌（*Ralstonia solanacearum*）引起的土传病害，主要通过根系侵染，导致植株叶片萎蔫、枯死。

病情指数 Disease index, DI

反映植株发病程度的量化指标，通过各病情级别植株数计算得出，计算公式为：

式中：

- *s* 为各病情级别的代表数值（0-4级，对应0-4分）；

- *n* 为各病情级别的植株数；

- *N* 为调查总植株数；

- *S* 为最高病情级别代表数值（4分）。

水循环装置 Water circulation device

由水箱、水槽、种植板、水泵及管道组成的闭合循环系统，用于水培桑苗并均匀分布菌液，维持青枯菌活性。

* 1. 方法原理

通过水循环装置对伤根处理的桑苗进行水培，接种青枯病菌后，在可控环境下观察植株发病症状，计算病情指数，依据抗性等级标准划分免疫、高抗、抗病、中抗、感病、高感 6个等级。

* 1. 材料与设备
     1. 材料

所需材料如下：

待测桑苗：生长健壮、粗细一致，株长25-35 cm。

青枯病菌株：经活化培养的致病菌株，工作浓度1-5×10⁸ cfu/mL。

培养基：LB培养基（对照组使用）。

试剂：无菌水、营养液（MS培养基，浓度10%）。

* + 1. 设备

所需设备如下：

水循环装置：含水槽、种植板（带种植孔）、灯管，可层叠设置（推荐3层）。

水箱：通过管道与水槽连接，配备水泵驱动水培液循环。

环境控制设备：恒温恒湿培养箱（温度28-30 ℃，相对湿度＞90%）。

检测工具：显微镜、细菌计数板、pH计、溶解氧检测仪。

* 1. 试验步骤
     1. 桑苗预处理（S1）

桑苗预处理步骤如下：

清洗：去除桑苗根部泥土，用无菌水冲洗3次。

预培养：将桑苗植入水循环装置，用无菌水培养10-20 d，至新叶长出，剔除自然发病苗木。

伤根处理：修剪根系末端，造成轻微损伤，促进病菌侵染。

* + 1. 接种与培养（S2）

青枯病病原菌接种与培养步骤如下：

分组：设置试验组（接种青枯病菌）和对照组（添加等体积 LB 培养基）。

菌液制备：青枯菌用LB培养基培养至对数生长期，离心后重悬，调整浓度至1×10⁸ cfu/mL。

培养条件：试验组加入菌液，对照组加入LB培养基。

循环系统：水泵驱动水培液循环，每10-15 min 启动一次，每次工作10-30 min。参数：温度

28-30 ℃，相对湿度＞90%，光照12 h/d（灯管补光）。

培养周期：持续培养14 d，每日记录症状。

* + 1. 症状观察与记录

病情分级与记录（0-4级）如下，病情分级示例图见附录B：

- 0级：无症状；

- 1级：植株开始出现低垂状态，0-1片叶萎蔫；

- 2级：2-3片叶萎蔫；

- 3级：3片以上叶萎蔫，未全株枯死；

- 4级：全株叶片萎蔫枯死。

- 记录：接种后第14天观察与记录。

* 1. 抗性等级划分（S3）

根据病情指数（DI）划分6个抗性等级，具体标准如下：

抗性等级 病情指数（DI）

免疫（I） DI=0

高抗（HR） 0＜DI≤12.5

抗病（R） 12.5＜DI≤25

中抗（MR） 25＜DI≤50

感病（S） 50＜DI≤75

高感（HS） DI＞75

* 1. 数据处理
     1. 病情指数计算

按公式计算每组桑苗的病情指数，重复3次取平均值。

* + 1. 统计分析

采用SPSS软件进行方差分析，比较试验组与对照组差异，确保数据显著性（*P* ＜0.05）。

* 1. 结果判定

根据平均病情指数，对照抗性等级标准，判定参测桑树品系的抗性级别。

* 1. 注意事项

水循环装置使用前需灭菌，避免杂菌污染。菌液浓度需严格校准，确保接种量一致。伤根处理程度应均匀，避免机械损伤过重导致非特异性死亡。定期检测水培液溶解氧（≥6 mg/L）、pH（6.0-7.0）及菌液分布均匀性，确保试验条件稳定。

* 1. 档案管理

对桑树青枯病抗性鉴定结果进行记录，结果记于附录A。

附录A

（资料性)

桑树青枯病抗性鉴定实验基础信息表见表A.1，

结果记录表见表A.2。

项目名称：桑树抗青枯病抗性鉴定

试验编号：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

接种日期：年\_\_月\_\_日

记录日期：年\_\_月\_\_日

环境条件：温度\_\_\_\_℃，湿度 %

表A.1 桑树青枯病抗性鉴定实验基础信息表

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 组别 | 品种（系） | 桑苗数量（株） |
| 试验组 |  |  |
| 对照组 |  |  |

表A.2 桑树青枯病抗性鉴定结果记录表

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 组别 | 病情分级株数统计（株） | 病情指数（DI） | 抗性等级判定 |
|
| 试验组1 | 0级： |  |  |
| 1级： |  |  |
| 2级： |  |  |
| 3级： |  |  |
| 4级： |  |  |
| 试验组2 | 0级： |  |  |
| 1级： |  |  |
| 2级： |  |  |
| 3级： |  |  |
| 4级： |  |  |
| ... | ... |  |  |
|  |  |
| 对照组 | 0级： |  |  |
| 1级： |  |  |
| 2级： |  |  |
| 3级： |  |  |
| 4级： |  |  |

附录B

（资料性)

桑树青枯病抗性鉴定实验病情分级示例图。

