

HNNY

湖南省农业技术规程

HNNY498-2026

青花菜软腐病抗性接种鉴定技术规程

Code of practice for indoor inoculation and resistance

assessment of brocoli soft rot

2026-07-08 发布

2026-07-08 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 设施设备及耗材 2

5 接种体制备 2

6 抗性接种 3

7 鉴定评价 4

8 废弃物处理 6

9 档案管理 6

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：湖南农业大学、岳麓山实验室、天津科润农业科技股份有限公司。

本文件起草人：黄科、黄惠萍、黄露、罗雅方、吴秋云、张小丽、胡震竺、孙德岭、江汉民。

青花菜软腐病抗性接种鉴定技术规程

1 范围

本文件规定了青花菜软腐病抗性接种鉴定的设施设备及耗材、接种体制备、抗性接种、鉴定评价、抗性鉴定评估和鉴定报告和废弃物处理等内容。

本文件适用于青花菜对软腐病的抗性接种鉴定。

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 23392.2-2009 十字花科蔬菜病虫害测报技术规范第2部分：软腐病

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 青花菜软腐病

由胡萝卜果胶杆菌胡萝卜亚种 *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* 侵染引发的青花菜细菌性土传病害，属十字花科典型软腐类病害，俗称水烂、烂花球。

4 设施设备及耗材

4.1 设施

隔离温室、鉴定室。

4.2 设备

高温灭菌锅、恒温摇床、超净工作台、-80℃冰箱、恒温培养箱、移液器、分光光度计等。

4.3 耗材

接种盘、培养皿、锥形瓶、纱布、酒精灯、穴盘、保鲜膜、滤纸等。

5 接种体制备

5.1 接种体采集

田间采集具有典型病症的青花菜软腐病植株，放入封口袋密封并登记编号带回实验室。或采购于中国农业微生物菌种保藏管理中心（ACCC）等国家级菌种保藏机构。

5.2 接种体纯化

挑取纯化接种体在生物显微镜下开展病原菌形态学鉴定，结合分子生物学鉴定，初步认定为青花菜软腐病病原物后，经科赫氏法则（Koch's postulates）验证确认，保存备用。

5.3 接种体保存

5.3.1 活体保存

在适宜环境条件下，定期将青花菜软腐菌人工接种于感病寄主上保存。

5.3.2 冷冻保存

将纯化后的菌株接种于液体培养基培养至对数生长期，取菌液与40%无菌甘油按比例混合，使甘油终浓度为15%~20%，分装冻存管，-80℃保存。

5.4 接种体扩繁

将保存好的菌株在NA固体培养基或LB培养基上划线活化，挑取活化的单菌落于LB液体培养基中，在28℃、180 r/min~200 r/min条件下振荡培养16 h~24 h，至菌液浓度达到对数生长期。将培养好的菌液以4000 r/min离心10 min，收集菌体，用无菌水重悬菌体，重复洗涤2次；用无菌水稀释菌悬液，采用分光光度法测定菌悬液浓度，接种浓度以 1×10^8 cfu/mL为宜。将菌悬液调节至所需浓度备用。菌悬液应现配现用，在4℃条件下临时保存不超过4 h。

6 抗性接种

6.1 鉴定室准备

人工接种鉴定室应具备人工调节温度、湿度及光照条件。温度可调范围为1℃~35℃，湿度可调范围为60%~100%，光照可调范围为0 lx~6000 lx。

6.2 植株准备

以高抗青花菜种质设置1个~2个抗病对照组，以高感青花菜种质设置1个~2个感病对照组，同时设置空白对照组。

选择植株中上部生长状态较一致的健康展开叶，用自来水冲洗后，75%酒精表面消毒叶片10 s~15 s，再用无菌水冲洗干净后置于无菌滤纸，背面朝上，晾干待用。

6.3 接种

6.3.1 接种时期

达到接种材料要求后即可进行接种。

6.3.2 接种浓度

接种体悬浮液浓度调节至 1×10^8 CFU/mL。

6.3.3 接种方法

选取青花菜幼苗的叶柄基部与茎连接处或茎基部作为接种部位。用接种针刺破表皮形成微小伤口，深度以刺透表皮为宜，约2 mm~3 mm。每个接种点刺1针~2针，在茎基部两侧各刺一处。用移液器吸取10 μL~20 μL制备好的菌悬液，滴加于针刺伤口处。感病、抗病对照接种菌悬液，另设空白对照（接种无菌PBS或无菌水）。每个被鉴定材料（包括对照）至少设置3次重复，每个重复不少于10株。

6.4 接种后管理

接种后向托盘中注水覆膜控制湿度，保湿24 h，保湿期间保持相对湿度 $\geq 90\%$ ，接种期间室内温度保持在25 ℃~28 ℃之间，光照12 h~14 h。保湿结束后恢复正常管理，环境温度维持在25 ℃~28 ℃，相对湿度70%~80%，光照强度不低于3000 lx。

7 鉴定评价

7.1 病情分级

青花菜软腐病病情级别及相应症状描述见图1和表1。



图 1 青花菜软腐病症状示意图

表 1 青花菜软腐病病情分级标准

级别	症状描述
0级	接种点无侵染病症
1级	病斑刚开始形成，呈水浸状，病斑长度<0.5 cm
3级	0.5 cm≤病斑长度<1 cm
5级	1 cm≤病斑长度<2 cm

级别	症状描述
7级	2 cm≤病斑长度<3 cm
9级	病斑长度≥3 cm 或者叶柄大部或全部腐烂

注：病斑长度为“从接种点沿茎/叶柄纵向扩展的最大长度”。

7.2 病情调查

7.2.1 病情指数统计方法

计算每份鉴定材料的病情指数（DI），计算结果取3次重复平均值，保留小数点后2位。病情指数按公式（1）计算。

$$DI = \frac{\sum (Fi \times Ui)}{U \times S} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- DI ——病情指数；
- Fi ——第i级病情级别(i=0, 1, 3, 5, 7, 9)；
- Ui ——第i级病情级别对应植株数/叶片数；
- U——调查总植株数/叶片数；
- S ——最高级病情级值。

7.2.2 调查时间

接种后逐日观察发病情况，分别于接种后第12 d～15 d进行系统病情调查，于第14 d调查最佳。根据此期间感病的对照品种病级扩展到感病病级的时间做适当调整。

7.3 抗性评价

7.3.1 鉴定有效性判别

感病对照品种的病情指数（DI）应达到感病（S）或高感（HS）级别（DI≥ 55.55）；抗病对照品种的病情指数应达到抗病（R）或高抗（HR）级别（DI<33.33）；不满足上述对照判定条件时，鉴定结果无效。

7.3.2 抗性分级

依据鉴定材料的病情指数（DI）平均值确定其抗性水平，划分标准见表2。

表 2 青花菜软腐病抗性评价标准

抗性级别	抗性类型	病情指数范围
I	免疫	DI=0
HR	高抗	DI < 11.11

抗性级别	抗性类型	病情指数范围
I	免疫	DI=0
R	抗病	$11.11 \leq DI < 33.33$
MR	中抗	$33.33 \leq DI < 55.55$
S	感病	$55.55 \leq DI < 77.77$
HS	高感	$77.77 \leq DI \leq 100$

8 废弃物处理

鉴定完毕后，集中所有病株、叶片材料做无害化处理，带有病菌的基质应彻底灭菌，宜采用蒸汽高温消毒处理，温度达到130 ℃以上并保持30 min。

9 档案管理

应建立青花菜软腐病抗性接种档案，其内容包括但不限于青花菜农事记录、样品采集、抗性鉴定以及抗性评价等内容；记录档案保存2年以上。