**苹果褐斑病监测与预警技术规范（送审稿）**

**编制说明**

**一、工作简况：包括任务来源、协作单位、主要工作过程、起草组组成成员及其所做的主要工作等；**

“苹果褐斑病监测与预警技术规范”的任务来源于陕西省市场监督管理局关于下达2024年地方标准制修订项目计划的通知（文号：陕市监函[2024]590号），项目编号为SDBXM 103-2024。

研究来源于西北农林科技大学承担的“十四五”国家重点研发计划“农业重大病虫害精准监测共性技术研发（2022YFD1400403）”、陕西省科技重大专项“苹果重大病害监测预警技术研发与应用（2020zdzx03-03-01）”和科技部国际合作项目“基于上合组织农业基地的外来入侵生物监测与风险评估（KY202002018）”。

协作单位为陕西省植物保护工作总站和西安黄氏生物工程有限公司。

该技术规范主要包括苹果褐斑病的田间调查监测方法、病原菌孢子捕捉仪、预测数据自动收集系统在苹果褐斑病监测预警中的应用（包括使用方法、模型构建和病害预测）。主要起草人中，胡小平教授全面负责研究课题的设计和组织实施，王强副教授主要负责苹果褐斑病的监测预警效果评价，张皓副教授主要负责苹果褐斑病的田间调查监测研究，魏佳美主要负责苹果褐斑病实时定量PCR技术研究和苹果褐斑病预测模型构建，黄丽丽教授主要负责课题咨询和统筹协调，冯小军研究员主要负责苹果褐斑病监测预警系统的试验示范，黄卫利总经理主要负责病原菌孢子捕捉仪和预报器的安装、技术指导和后期维护。

**二、标准编制原则和确定标准主要内容：包括技术指标、参数、公式、性能要求、试验方法、检验规则等的依据（包括试验、统计数据）；地方标准修订项目还应当列出和原标准主要差异情况；**

**1.陕西省地方标准编制原则**

本文件的编制依据《中华人民共和国标准法》和《地方标准管理办法》的规定进行编制。

**2.确定地方标准主要内容**

（1）适用范围

本文件规定了苹果褐斑病监测预警技术的术语和定义、系统构成、系统安装、数据采集、发生预测等内容。

本标准适用于陕西省县级行政区范围苹果褐斑病监测。

（2）规范性引用文件

本文没有规范性引用的文件。

（3）术语与定义

1）苹果褐斑病

苹果褐斑病是典型的早期落叶病害，主要危害苹果叶片，偶尔也感染叶柄和果实。该病在我国苹果主产区多年持续流行，且病情呈加重趋势。苹果褐斑病由*Marssonina coronaria*引起，病原菌通过菌丝体、分生孢子盘和子囊盘在落地病叶上越冬。

2）严重度

是指发病植物单元上发病面积或体积占该单元总面积或总体积的百分率，亦可用分级法表示，即将发病的严重程度由轻到重划分出若干级别，分别赋予相应的代表值，表示病害发生的严重程度。在本标准中，物体单元为叶片。

3）病情指数

病害发生的普遍性和严重程度的综合指标，用以表示病害发生的平均水平。病情指数可通过普遍率和严重度计算得出。当严重度为发病等级时，病情指数可通过下述公式进行计算：

病情指数=∑（各级病叶数×各级代表值）/（调查总叶数×发病最重级代表数值）×100

苹果褐斑病的发病等级按照病斑占叶面积的0%、<25%、25%~50%、50%~70%和>70%，依次列为0~4级。

4）孢子捕捉仪器

是一种专门用于收集空气中悬浮颗粒物，如病原菌孢子、花粉、尘粒等的设备，可用于监测病原菌在空气中的浓度变化，为病害预测预报提供可靠的数据。

5）苹果褐斑病预报数据自动收集系统

由病原菌孢子捕捉仪、多维环境气象监测仪和云端数据库构成的系统，可收集与苹果褐斑病发生相关的基础数据，并完成数据的储存和管理。

6）温湿度传感器

以温湿度一体的探头作为元件，对温湿度信号进行采集的装置。

7）叶片表面湿润时间传感器

以湿度探头作为元件，根据植物叶片距地高度设置探头位置，用于检测植物叶片表面持续湿润时间。

8）降雨量传感器

一种自动测量降水量的仪器，可通过传感装置对降水量、降雨量、降水强度、降水起止时间进行测定。

9）气象因子

影响作物病害发生发展的气象原因或条件，包括温度、湿度、降雨量等。

（4）系统构成

监测预警系统由病原菌孢子捕捉仪、多维环境气象监测仪、云端数据库和预测模型构成。病原菌孢子捕捉仪可收集不同高度随空气传播的病原菌孢子，用于监测病原菌在空气中的浓度和动态变化规律。多维环境气象监测仪由温湿度传感器、叶片表面湿润时间传感器、降雨量传感器组成，用于采集温湿度、叶片表面持续湿润时间、降水量、降水强度、降水起止时间。

（5）系统安装

1）在苹果褐斑病常发区内选择代表性果园进行设备安装。

2）安装点周围10 m无建筑物、其他树木等遮挡物。

3）数据自动收集系统采用水泥基座固定，太阳能板朝南，传感器头的“N”向北固定。叶片表面湿润时间传感器电路面朝上水平固定在距地面70 cm。孢子捕捉仪的底座高出地面不小于10 cm，采集口距地面70~200 cm。

4）蓄电池用防水箱埋地安装、接线保护套保护。

5）设备接入监测预警软件系统。

（6）数据采集

1）气象因子数据采集

温度、湿度、叶片表面湿润时间、露点温度、光照时间、降雨量、降雨强度等数据通过传感器实时获取并在云端数据库自动存储。

2）菌源量监测

通过实时荧光定量PCR技术，在苹果萌芽期到开花期对果园中褐斑病菌孢子数量进行监测，结果由地方植保部门上传至监测预警系统。

（7）发生预测

1）模型构建

根据苹果褐斑病自动监测系统采集的褐斑病菌孢子数量、气象因子及病害发生等级，建立预测模型。

2）发生程度预测

通过预测模型预测褐斑病的发生程度，并上传至系统。植保部门将根据已上传的数据，经过综合分析和判断后发布预报信息。

**三、试验验证：包括试验（或验证）准确度、可靠性、稳定性的分析和说明，实验结果综述等；**

**1.病原菌孢子数量监测**

病原菌孢子数量是影响苹果褐斑病流行的关键因素之一。通过采用实时荧光定量PCR技术，对陕西延安、陕西渭南2021-2024年苹果褐斑病病原菌孢子数量进行监测。

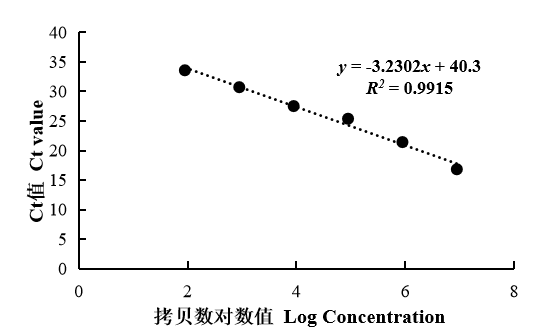
（1）病原菌孢子的捕捉

采用病原菌孢子捕捉仪收集距地面0.7m、1.5m和2.0m的苹果褐斑病菌孢子。

（2）RT-qPCR检测

以浓度梯度为9×107 ~ 9×100拷贝/μL的模拟样本DNA为模板，无酶水作为阴性对照，采用SYBR Green Ⅰ方法对苹果褐斑病菌不同稀释度的标准品进行定量分析。以不同浓度梯度质粒的拷贝数对数值为横坐标，对应的Ct值为纵坐标，绘制标准曲线（图1）。标准曲线方程为：

*y* = -3.2302*x* + 40.300，相关系数（R2）为0.9915



**图1 苹果褐斑病孢子数量与Ct值之间的关系**

Ct为RT-qPCR的循环阈值。

引物及其序列见表1。

**表1 引物及其序列**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 名称 | 序列 | 扩增长度 |
| McF | TCTCCCTCAACGCAAACTTC | 146 bp |
| McR | GTGACAACGAGTGGGGATAC |

RT-qPCR反应体系为：2× UltraSYBR Mixture 12.5 μL，10 μmol/L的上下游引物各1 μL，模板DNA1 μL，dd H2O补至25 μL。

RT-qPCR反应程序为：95°C预变性10 min，1个循环；95°C变性15 s，60°C退火1 min，共40个循环。在Light Cycler 480实时荧光定量PCR仪上进行。

**2.病害的田间调查**

在陕西延安、陕西渭南选择代表性的苹果果园。采用五点取样法，每个果园中分别从东、南、西、北和中心随机选取两株果树进行调查。每株果树从上下左右和中心五个方位各随机选取一根枝条，并评估该枝条上25片叶片的各级严重度，计算病叶率和病情指数。

**3.预测模型的建立**

以2021~2023年陕西延安和陕西渭南的数据为学习训练集，建立了BP神经网络预测模型，选择当年4月下旬平均温度、4月上旬累计降雨量和3月下半月病原菌孢子数量作为关键因子。BP神经网络模型预测2023年延安苹果褐斑病发生程度为2.59，实际发生程度为2级，预测准确度为80.34%。通过该预测模型对2024年延安和渭南苹果褐斑病进行发生程度预测，预测发生等级分别为0.64和0.67。实际发生等级均为1级，预测准确度分别为88%和89%（表2）。

**表2 苹果褐斑病BP神经网络模型回测准确度评价**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **年 份** | **地 区** | **实际发生程度** | **预测发生程度** | **预测准确度（%）** | **平均准确度（%）** |
| 2023 | 延安 | 2 | 2.59 | 80.34 | 85.78 |
| 2024 | 延安 | 1 | 0.67 | 89.00 |
| 2024 | 渭南 | 1 | 0.64 | 88.00 |

**四、知识产权说明：标准涉及的相关知识产权说明；**

本文件知识产权归研制单位所有，没有知识产权争议。

**五、采标情况：采用国际标准和国外先进标准的程度或与国内同类标准水平的比较；**

经检索，与本文件相关的行业标准1项，地方标准4项，无国家或国际标准文件。在这些规范中，2020年1项行业标准《苹果主要叶部病害综合防控技术规程 褐斑病》（NY/T 3689-2020）、2020年1项陕西省地方标准《陕西省苹果褐斑病综合防治技术规范》（DB61/T 1371-2020）和2021年1项山西省地方标准《山西省苹果褐斑病综合防治技术规范》（DB14/T 2346-2021）均为苹果褐斑病的综合防治技术。关于苹果褐斑病的调查测报相关标准，仅有2019年1项山西省地方标准《山西省苹果褐斑病测报调查规范》（DB14/T 143-2019）和2024年1项陕西省地方标准《苹果褐斑病测报技术规范》（DB61/T 1821-2024）。这两项标准主要侧重于苹果褐斑病的调查。上述标准均未涉及到基于果园气候环境和病菌孢子密度动态变化规律的预测预报。本规范是申请者及其团队通过对苹果褐斑病多年的监测预警研究，总结出适用于陕西省各地苹果褐斑病的监测预警技术规范。

**六、重大意见分歧的处理：包括处理过程、依据和结果；**

无重大分歧意见。

**七、标准性质的建议说明：建议审批发布为推荐性标准或强制性标准**的说明及理由；

由于本文件涉及我省乃至我国苹果安全生产的重大问题，建议将本文件作为推荐性地方标准批准发布，用于指导和规范苹果褐斑病的综合防控。

**八、其他应予说明的事项。**

无