姚安县松材线虫病普查技术方案

为保护我县森林资源安全和造林绿化成果，促进经济和生态建设稳步发展，切实做好松材线虫病的监测预防工作，掌握我县松科植物的健康状况，及早及小发现松材线虫病疫情，为今后的预防和除治工作奠定基础，根据《国家林业和草原局关于印发新修订的〈松材线虫病防治技术方案〉的通知》（林生发〔2018〕110号）精神，结合我县实际，特制定本方案。

一、疫情普查

（一）普查范围

普查范围为全县松科植物分布区，要求“监测全覆盖、普查无盲区”。普查重点是重要生态区位及其周边的松林、人为活动频繁以及交通沿线、建筑工地、仓库、木材集散地、移动通讯站、电视发射台、高压线塔、电缆线路、光缆线路及高压线路等地区附近的松林。

（二）普查内容

调查枯死松树地点、数量，涉及松林面积，查明松树枯死原因等。

我县属于非疫情发生区。主要查清辖区内枯死松树分布地点、松树种类、枯死株数、分布面积等情况，不要求使用松材线虫病精细化管理平台”手机端APP进行调查。

（三）普查时间

1．日常监测。定期巡查辖区内松树，每月至少一次。

2．专项普查。每年2次，春季普查4－5月份进行；秋季普查在9－10月份进行。

（四）普查方法

1．准备工作。各乡镇应分析辖区内松林分布状况，按照“监测全覆盖、普查无盲区”的要求，提前设计出辖区内各村委会的踏查路线，（最好设计多条，每一条踏查路线的设计要便于观察可视范围内的松林，监测工作量最好控制在当天可以完成，踏查路线应覆盖本村辖区内的松林面积，在保证不留死角的情况下尽量减少重叠）；

2．踏查。沿路线踏查时可用目测方法或借用望远镜查找有无当年（秋节普查）或越年（春季普查）枯死树，或针叶褪色，或针叶黄化，或针叶枯萎，或针叶呈红褐色等症状的松树。

3．详查。根据踏查结果，对可疑林分（不明原因死亡、疑是松材线虫病致死松树）进一步抽取一定数量的样品，送县林草有害生物防治检疫站进行分离鉴定，确定是否发生疫情。

二、疫情监测

（一）日常监测

1．定期巡查监测。至少每月开展1次，根据每年的普查结果确定重点区域，组织调查人员进行巡查，凡发现松树有感病症状，及时上报并取样送检，进行分离鉴定，确定是否有松材线虫。

2．定点监测。根据每年的普查结果进行分析判定，确定可疑林分、设置固定监测点，定期进行详查，发现当年松树枯死立即取样分离鉴定，确定是否有松材线虫。

（二）专项普查

每年开展2次（春、秋季），对本辖区内所有松科植物是否出现松树枯死、松针变色等异常情况开展调查，组织调查人员进行信息采集上报，取样分离鉴定，确定是否有松材线虫。

三、取样

（一）取样方法

1．取样部位。一般情况下在树干下部（胸高处）、上部（主干与主侧枝交界处）、中部（上、下部之间）3个部位取样。如仅部分枝条表现症状的，要在树干上部和死亡的枝条上取样。如外部表现症状明显的可在胸高处取样。在春季松褐天牛化蛹期，可在蛹室周围取样。

2．取样要求。时在取样部位剥净树皮，直接砍取100－200克木片；或剥净树皮，用手摇钻从木质部至髓心钻取100－200克木屑；或在取样部位分别截取2 厘米厚的圆盘。取样时应排除人畜破坏、森林火灾、其他病虫害等原因造成的枯死树。

3．取样时应考虑以下因素。

（1）感染松材线虫病松树一般具有几个特点。一是发病时间多在7月（8月）到11月上旬（当年枯死），4-6月（越年枯死）；二是针叶由绿色渐失光泽，后变黄，最后变为红褐色，针叶当年不脱落；三是树皮上常常能观察到天牛的产卵刻槽及羽化孔。用刀刮去部分树皮，无松脂流出。

（2）松材线虫病与干旱枯死之间的区别（大树）。松材线虫病大多整株或多从下部针叶开始变色，再到上部新叶；针叶基部褪绿褐变到端部；无松脂。而干旱枯死的往往从枝梢上部新叶开始变色到老叶；针尖到叶基，基部不褐变；有松脂。

（3）野外识别方法。一是判断针叶是否失去光泽，松脂分泌减少；二是观察针叶是否变黄，并开始出现枯萎；三是分辩枯死针叶是否为红褐色，且不脱落（当年枯死）；四是查看是否有天牛产卵刻槽，蛀道及羽化孔。五是检查木质部有无褐变（褐变是由蓝变菌造成的，但松树砍伐后，部分腐生菌也会造成褐变，褐变与松材线虫没有必然的联系，只能作为参考）。

松材线虫病发病从表现出针叶变黄、树脂分泌减少甚至停止至死亡约1个月至1个半月。在松林中一般是优势木先发病。由于不同地区种源的松材线虫的致病性、松树的抗性差异等原因，一些松树仅部分枝条表现感病外部症状。这种症状在混交林中表现尤其明显。抽取样品要及时并重点抽取尚未完全枯死或刚枯死的优势木（针叶呈黄绿或黄褐色，尚未完全枯萎，树皮尚未脱落，材质尚未腐朽、树皮上能观察到天牛的产卵刻槽及羽化孔，用刀刮去部分树皮，无树脂流出的）。

4．所取的样品要制作标签（标签内容：样品号、乡村、采集地点、树种、枯死原因、取样时间和取样人）。

不能及时送检的参照样品的保存与处理后送检（时间不应超过7日）。

（二）抽样数量

以林业小班为单位，表现典型症状的松树在10株以下时全部取样；10株以上时先抽取10株，再选取其余数量的1%－5%。

（三）样品的保存与处理

取回的样品应及时分离鉴定，不能及时送检或因需要保存的可采取以下方法：将木片装入塑料袋内，扎紧袋口，在袋上扎几个小孔（也可直接保存木段、圆盘），放入4℃冰箱。若需长期保存，要经常在样品上喷水（一般在半个月至1个月内完成分离鉴定）。

四、分离鉴定

（一）分离。将样品洗净，劈砍为火柴棍大小小段，置于烧杯或漏斗中加清水浸泡24小时后，将底部分离液体收集到试管或者烧杯中，通过自然沉淀或者使用离心机处理后，在室内采用贝尔曼漏斗法或浅盘法进行线虫分离、镜检。 进行鉴定。
　　（二）玻片的制作。在洁净的载玻片中央滴一水滴，水滴的量以加盖玻片后恰好充满盖玻片下的空间为好。用细针挑取，或用毛细滴管吸取线虫置于载玻片的水滴中，并使之沉底。将有线虫的载玻片在酒精灯的火焰上往返通过5－6秒，杀死线虫。用细针摆好水滴中死线虫，然后用镊子夹盖玻片从一侧轻轻盖下。

（三）鉴定。常规显微镜形态鉴定（仅适用于雌雄成虫，以雌成虫为主）：将制作好的玻片置于显微镜下观察其形态，判别是否为松材线虫，并填写镜检记录表。

（四）分子检测（适用于各虫态）。经常规显微镜形态鉴定认为有可能是松材线虫病的，将样液送专业机构进行松材线虫的分子检测，检测时采用实时PCR检测技术。

五、数据整理与上报

（一）数据整理

普查和调查数据以村级为单位进行汇总，汇总到乡镇级行政区级别，由县级汇总到州级，并上报至省级防治检疫局。

（二）材料上报

1．春秋季专项普查工作完成后，形成普查调查表（附表1、附表2），分别于5月31日前、10月25日前上报电子版与纸质版。

2．日常监测调查工作完成后，于每月25日前上报电子版与纸质版每月日常监测调查汇总表（附表3）。

（三）附表

1．春秋季专项普查附表。

附表1 姚安县2021年松材线虫病 季专项普查汇总表；

附表2 姚安县2021年 季松材线虫病普查人财物报表。

2．日常监测调查附表（月零报告表）。

附表3 姚安县2021年 月松材线虫病日常监测调查汇总表；