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。我县属于非疫情发生区，每年开展1次秋季普查，8－10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或越年枯死树，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

我县属于非疫情发生区，每年开展1次秋季普查，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8月至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.专项普查工作完成后，形成普查调查表（附表1、附表2），于10月10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）。