

海南省地方标准编制说明（征求意见稿）

一、项目简况

- （一）标准名称：芒小果普瘿蚊检疫鉴定规程
- （二）任务来源（项目计划号）：2021-Z-088
- （三）起草单位：中国热带农业科学院环境与植物保护研究所
- （四）单位地址：海口城西学院路4号
- （五）参与起草单位：无
- （六）标准起草人：

序号	姓名	单位	职务	职称	任务分工	联系方式
1	韩冬银	中国热带农业科学院环境与植物保护研究所	/	副研究员	项目负责人，负责整体方案设计和资料整理、标准制定	Hdy426@163.com
2	王建赞	中国热带农业科学院环境与植物保护研究所	/	助理研究员	负责瘿蚊识别资料收集与整理	wjy-1989@163.com
3	叶政培	中国热带农业科学院环境与植物保护研究所	/	助理研究员	负责蓟马分子生物学与资料收集整理	zhengpeiye@163.com
4	李磊	中国热带农业科学院环境与植物保护研究所	主任	副研究员	负责形态鉴定方法调研与分析	lee_lay@163.com
5	张方平	中国热带农业科学院环境与植物保护研究所	/	研究员	负责虫情调研与分析	fangpingz9@163.com
6	符悦冠	中国热带农业科学院环境与植物保护研究所	/	研究员	负责标准制定与防控技术指导	fygcatas@163.com
7	陈俊谕	中国热带农业科学院环境与植物保护研究所	副主任	助理研究员	负责监测方法调研与分析	jychencn@163.com

二、编制情况

（一）编制标准的必要性和意义及背景

芒果是海南的重要特色的水果之一，目前海南芒果种植面积达80多万亩，第三大主产区；是农民增收最主要的水果品种之一。芒小果普瘿蚊是一种为害芒果花穗和幼果的新型害虫，主要在芒果开花和幼果形成期造成为害。在发生为害区，受害轻的果园，受害率在5%~20%；受害严重的果园为害率达50%~90%。在芒果花序抽出后，小花蕾准备开放前至幼果发育成米粒大小期间，芒小果普瘿蚊成虫产卵到幼果和花蕾，幼虫孵化后即蛀食小果的幼胚，造成落果和产量损失，严重时造成失收。芒小果普瘿蚊成虫飞行能力较弱，不具备远距离扩散能力。主要以幼虫随寄主果实、蛹随寄主附着的土壤，以及卵随寄主的花或子房进行远距离传播。目前此虫是严重威胁芒果产业发展造成的最主要的害虫之一。鉴于芒小果普瘿蚊已在广西部分地区发生，并造成严重危害为害，且发生区域不断扩散。为防止其向海南扩散蔓延，

极有必要制定芒小果普瘿蚊疫鉴定技术标准，为对其的检疫提供技术标准支撑。本项目的实施，将延缓芒小果普瘿蚊对海南芒果产业的威胁，进而保护海南芒果产业的健康发展及环境安全，保护生物多样性。

（二）编制过程简介

2021年11月3日，收到《关于下达2021年第三批海南省地方标准制修订计划的通知》后，成立标准编制小组，成员有韩冬银、王建赞、叶政培、李磊、张方平、符悦冠、陈俊谕共7人。

标准起草过程：按照制定海南地方标准的工作程序，编制小组分工协作着手标准的制定工作。同时，向海南省农业农村厅、海南省市场监督管理局上报了标准实施方案。2021年11月-2022年5月，收集整理团队前期的工作基础及国内外公开发表的相关资料；前往广西百色、田东等芒小果普瘿蚊发生区进行调研，掌握了科研生产上的第一手资料，形成基本的框架思路。2022年2-10月完成芒果蓟马的防治技术补充试验及其数据的收集整理。在2022年11月开始组织技术专家着手标准的起草工作，于2023年2月完成意见征求稿初稿，并在此基础上按照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》的编写要求和格式对标准初稿进行了进一步修改和完善，形成征求意见稿。

征求意见情况：2023年3月，由起草单位牵头负责通过网站通讯的方式公开征求意见，共向5个有关海南大学、海南省农业科学研究院、广西壮族自治区农业科学研究院、椰城海关及三亚市热作中心等具有代表性的标准利益方发函征求意见。截止2023年4月，征求意见共收到X家单位21条意见，最终18条采纳，4条未采纳。

（三）制定标准的原则和依据，与现行法律法规、标准的关系

（从科学性、统一性、协调性、适用性、一致性和规范性等方面说明标准制定的原则，从技术方面说明标准制定过程中所依据的技术性文件。应写清该项标准与现行法律、法规、标准是否协调一致、有无冲突。）

1) 科学性：本标准中各部分内容上下连贯，层次分明、合理，符合芒果产业发展需求，文件内容力求简化、协调、实用和统一的原则。

2) 适用性：本标准制订的各项工作既要充分发挥各级政府的主导作用，又要积极引导生产经营企业、中介组织、农户和技术服务部门全面参与，确保制订、发布和实施全过程的连贯性。此外，标准只能在一定时期内与当时的科学技术水平和经济发展需要相适应。因此，还应根据海南省芒果产业的发展及芒小果普瘿蚊的发生情况对标准进行完善修订。

3) 一致性：本标准与有关现行标准、法律、法规和强制性标准没有冲突。

4) 规范性：本标准依据GB/T 1.1—2020的编写要求制订。本标准的编制充分考虑了标准须具备包容性、先进性、实用性和可操作性的特点，确保本标准能在相关领域和部门有条件实施，并能通过标准的实施，规范芒小果普瘿蚊的检疫鉴定技术。

（四）主要条款的说明，主要技术指标、参数、试验验证的论述

1、主要条款

本文件的章节由范围、规范性引用文件、基本信息、方法原理、仪器、用具和试剂、现场检查、室内检验检测、芒小果普瘿蚊鉴定特征、结果判定及标本保存组成。其中“方法原理”、“室内检验检测”和“芒小果普瘿蚊鉴定特征”是本标准的主要技术内容。

本文件植物检疫中芒小果普瘿蚊的检疫鉴定方法。

2、主要技术指标、参数

1) 原理

本标准在确定芒小果普瘿蚊鉴定方法时，充分考虑了该虫为害症状，各龄期虫态形态特征，以雄成虫形态特征作为判定依据，并对其地理分布、寄主范围及为害特点等进行描述。

鉴于芒小果普瘿蚊外部形态与同属其它瘿蚊十分相似。普瘿蚊属不同种类昆虫的识别与鉴定通常依据雄成虫生殖器的特征，并综合触角、下颚须、产卵器、尾须的特征判定，但因种类繁多，瘿蚊虫体微小虫体应用常规的比较形态学方法难以准确鉴别，对于卵、若虫或不完整的瘿蚊标本则更无法进行种类鉴定。故本标准利用瘿蚊昆虫COI基因序列的保守片段，参照Kolesik (2009) 的方法进行分子生物检测鉴定。

2) 鉴定方法

采用常规生物学和形态学作为主要手段 (KE-LONG JIAO, et al. 2018)，分子生物学作为辅助手段进行检测鉴定。其中分子生物学辅助检测采用PCR法 (Kolesik, et al. 2009)。

3) 芒小果普瘿蚊成虫的形态特征

雄虫。体色：头及胸棕褐色，腹部浅褐色。翅长1.1 mm~1.2 mm，宽0.5 mm~0.6 mm。头。头顶复眼桥长6-7个小眼直径。下颚须4节，向端部逐节渐长。单眼突微隆起。触角具12节，第1节与第2节融合；梗节亚球形，略微比柄节长；鞭节为双亚节，每个亚节具一圈环毛；第3鞭节中部的无毛区约为基亚节长度的0.6-0.7倍，颈部长约为端亚节长的1.0-1.1倍；基亚节的环毛伸至端亚节中部，端亚节环毛伸达颈部末端。胸部。翅膜质，被稀疏细鳞片，R1脉和C脉在翅前缘的近中部融合；R5脉和C脉交会于翅端部，Rs脉细缩呈R5脉上的一个隆起，Cu脉叉状。各足密被细鳞和稀疏短毛；前跗节齿状；爪间突与前跗节近等长；爪垫几不可见。腹部。第1节至第6节背板矩形，表面散布鳞片，各节后缘具单排长毛，侧缘及中部散布短毛，前缘具成对毛状感器；第7背板似第6背板，稍窄；第8背板似第7背板，但明显窄小；第2节至第7节腹板矩形，具不规则长毛，侧缘及中部短毛较背板密，前缘具一对紧邻的毛状感器；第7腹板稍窄于第6腹板；第8腹板明显较第7腹板短小。末节：生殖基节伸长；生殖基节基突圆钝，强烈骨化，密生毛列；生殖突粗壮，向端部齿突逐渐细缩，基部三分之一密被微毛，其余部分具稀疏短毛；尾突短宽，几近完全愈合，端缘中部微凹入，端缘具长毛；肛下板窄，略与尾突等长，端部微凹入，端部具若干短毛；阴茎细长，明显长于生殖基节，向端部逐渐变细，末端背侧1/3具无毛点状感器，腹侧1/4较稀疏地散布稍大的感器。

雌虫。翅长1.2 mm~1.8 mm，宽0.6 mm~0.7 mm。头。具单眼突，微隆起。触角鞭节柱状，第3节中部略缢缩，颈部约为小节长的1/3；环毛紧贴表面，由2条水平方向和2条垂直方向的环带交联而成。腹部。背板第1节至第7节，腹板第2节至第7节与雄性相近，但毛及鳞片略多；第8节背板及腹板未骨化，后缘稀疏散布一排短毛。产卵器较伸长，伸出时约为腹部其他部分的0.55-0.65倍；第9节腹面密布短毛，背面无毛被；尾突从端部1/5处分开，密被短毛，背部具若干稀疏长毛，端部具若干中等长度的刚毛；肛下板约为尾突长的1/5，腹面观端部宽圆，后缘具一对毛。其他部分与雄性相近。

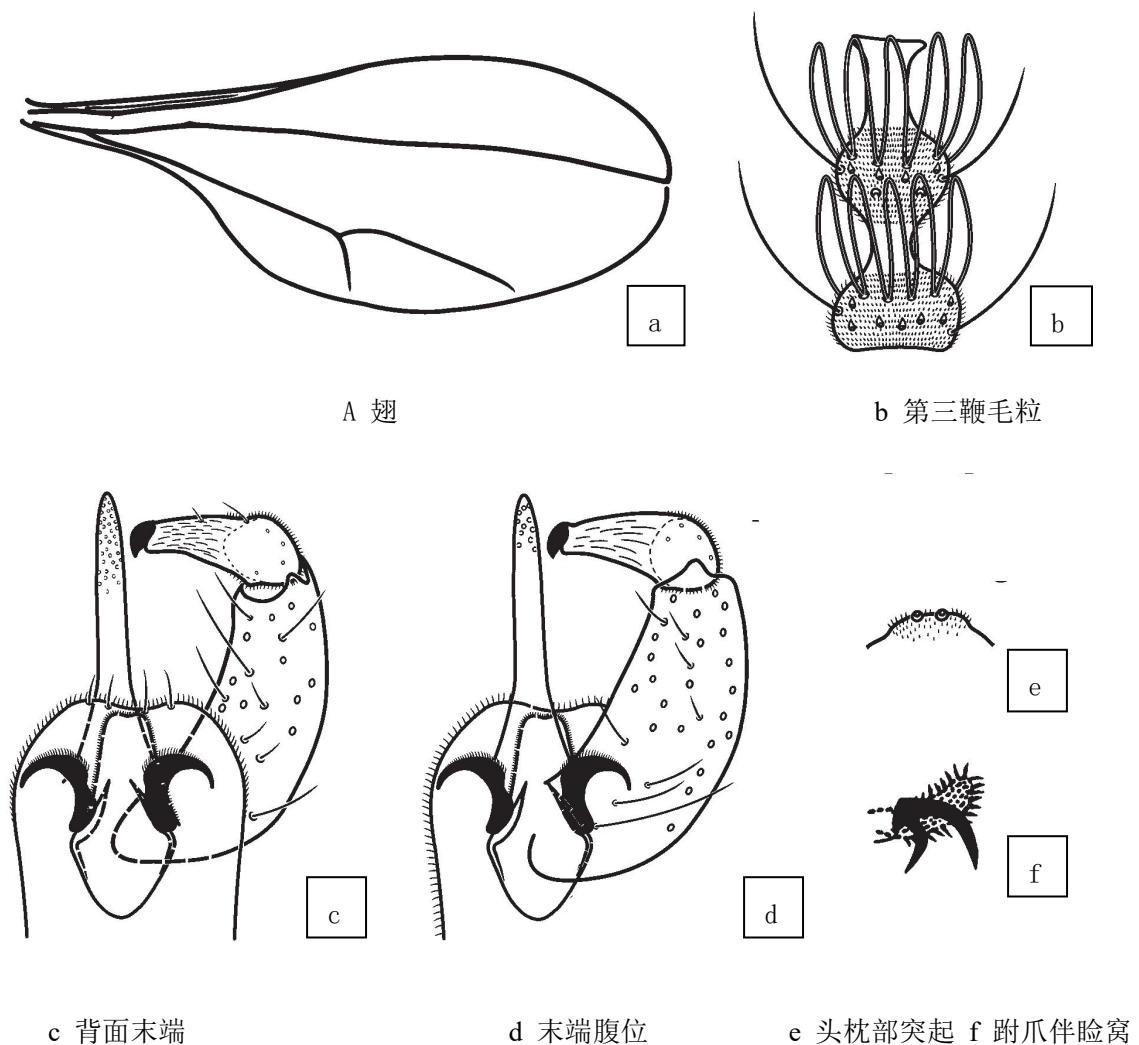


图1 芒小果普瘿蚊雄成虫的特征图

3、试验验证的论述

本文件选择芒小果普瘿蚊若虫为试样，分别用了试剂盒法，将瘿蚊样本移入1.5 mL离心管或碾钵中，捣碎或加入液氮碾磨，之后实验步骤根据DNA提取试剂盒的操作说明书操作。瘿蚊基因组DNA溶液置于-20 °C冷冻保存。提取得到的基因组DNA作为模板于PCR仪上进行扩增。PCR体系为：DNA模板1 μl，10×Ex Taq Buffer (Mg²⁺ Plus) 2.5 μl，TaKaRa Ex Taq 0.25 μl (1.25 U)，dNTP 0.5 μl (100 nmol · L⁻¹)，引物正向：5' - GGATCACCTGATATAGCATTCCC-3' (COIS)和反向：5' -CCCGGTAAAATTTAAAATATAAACTTC-3' 各 0.25 μl (250 pmol · L⁻¹)，加 ddH₂O 补足至 25 μl。反应条件为：94 °C 4 min，进入循环：94 °C 30 s，50 °C 45 s，72 °C 45 s，共35个循环，最后延伸10 min。取 10 μl~15 μl 扩增产物进行1.5% 琼脂糖电泳。

琼脂糖凝胶电泳结果待测样品与阳性对照扩增出一条大小为446 bp的PCR产物带，阴性对照无DNA产物带。将产物进行测序后，登录GenBank系统进行比对，结果与系统中芒小果普瘿蚊的序列一致则可判定样本的种类为芒小果普瘿蚊。

(五) 标准中如果涉及专利，应有明确的知识产权说明

本标准没有涉及专利。

(六) 采用国际标准或国外先进标准的，说明采标程度，以及国内外同类标准水平的对比情况

本标准没有采用的国际标准。

(七) 重大分歧意见的处理依据和结果

本标准制定过程中尚未出现重大分歧意见。

(八) 贯彻标准的要求和措施建议（包括组织措施、技术措施、过渡办法、实施日期等）

标准发布后，建议通过培训、咨询等形式在海南芒果种植区进行推广应用。

(九) 预期效果

芒小果普瘿蚊是2015年新发现为害芒果重要害虫，受害严重的果园为害率达50%~90%，严重威胁芒果产业发展，推荐使用本标准将有效防止其向海南扩散蔓延。

(十) 其他应予说明的事项

无。