

ICS 65.020
B61
备案号: 30058-2011

DB46

海 南 省 地 方 标 准

DB 46/ T190—2010

蔬菜根结线虫病防控技术规程

2010 - 08 - 05 发布

2010 - 09 - 05 实施

海南省质量技术监督局 发 布

前 言

本标准由海南省质量技术监督局提出并归口。

本标准起草单位：海南省农业科学院农业环境与植物保护研究所。

本标准主要起草人：陈绵才、芮凯、王会芳、吴凤芝、肖彤斌、符美英、黄伟明。

蔬菜根结线虫病防控技术规程

1 范围

本标准规定了蔬菜根结线虫（*Meloidogyne* spp.）的术语和定义、调查和诊断，以及蔬菜从播种到收获各个生育阶段根结线虫病防治的技术措施。

本标准适用于海南省范围内蔬菜根结线虫的识别与防治。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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 8321.5 农药合理使用准则（五）

3 术语和定义

3.1 根结线虫

线虫动物门的一类细小动物，雌、雄虫异形。成熟雌虫梨形或柠檬形，雄虫蠕虫形。

3.2 2龄幼虫

根结线虫2龄幼虫呈线状，两端略尖细，以2龄幼虫从寄主植物须根或侧根侵入并诱发病害。

3.3 生物熏蒸

在秸秆或稻草上撒施石灰，并翻犁入耕作层直至秸秆腐烂，可加入鸡粪等农家肥，用农用薄膜封盖15 d以上，翻土通气5~7d后移栽。

4 取样

4.1 取样时间

种植（移栽）前取样一次及种植（移栽）后每月取样一次。

4.2 取样方法

种植（移栽）前用对角线5点取样法从10~20cm的耕作层取土样，充分混匀后用量杯量取100 mL土样分离线虫24 h。种植（移栽）后采用相同的办法从作物根际0~20 cm土层采集土样并分离线虫。如果不能及时分离，可置于1~7℃保存。

5 根结线虫的检测

5.1 根结线虫的分离

从土壤或植物根组织中收集根结线虫的卵、2龄幼虫和成虫的实验方法。常用的有直接解剖分离法、贝曼漏斗分离法、离心飘浮分离法和直接过筛分离法。

5.2 线虫计数

用培养皿收集分离的线虫，在体视显微镜下统计2龄幼虫的数量。

5.3 根结线虫的诊断

在体视显微镜下直接用解剖针解剖根结，观察根系中是否有根结线虫雌虫和雄虫。用贝曼漏斗法分离土壤中线虫，在体视显微镜下观察是否有根结线虫雄虫和2龄幼虫。

5.4 根结线虫的种类和检测特征

海南岛蔬菜产区发生与为害的常见根结线虫有4种，即：南方根结线虫、花生根结线虫、爪哇根结线虫和象耳豆根结线虫。其各自的诊断特征参见附录B。

6 综合防治技术

6.1 农业防治

6.1.1 轮作

采用蔬菜与非寄主作物如玉米进行一年以上轮作或进行水旱轮作。

6.1.2 及时清理病株残体

蔬菜收获后根系腐烂前清洁病田，将染病根系连同植株残体清理出田外集中焚烧。

6.1.3 培育和选用无病苗

采用无病土或无病培养基质育苗，移栽时剔除有根结的疑似病苗。

6.1.4 加强肥水管理

下足有机肥，注意及时增施有机肥和生物肥料以及土壤改良剂，适时喷施有机叶面肥。

6.2 土壤消毒

6.2.1 生物熏蒸与阳光消毒

非寄主作物收获后均匀撒施石灰 $50\text{kg}/667\text{m}^2$ ，并将秸秆翻犁入耕作层直至秸秆腐烂。或上茬蔬菜完全收获后于土壤表面撒施：稻草 $500\text{kg}/667\text{m}^2+50\%$ 石灰氮 $100\text{kg}/667\text{m}^2$ ，或稻草 $500\text{kg}/667\text{m}^2+鸡粪250\text{kg}/667\text{m}^2+17.2\%$ 碳酸氢铵 $67\text{kg}/667\text{m}^2$ ，一并翻犁入 20cm 以下耕作层，用农用薄膜封盖 15d （天）后，翻土通气 $5\sim 7\text{d}$ 后移栽。或盛夏高温季节对耕作层土壤实施深翻晒垡 15d 以上。

6.2.2 植前土壤消毒

按3kg/667m²的剂量用35%威百亩水剂兑水300kg沟施和覆土并用地膜覆盖熏蒸7d后，翻土释放毒气，7天后移栽菜苗。

6.3 药剂防治

6.3.1 防治指标

100 mL土壤中2龄幼虫数量 $\geq$ 30条时实施防治。

6.3.2 植前施用杀线虫剂

在种植穴或种植沟中施入10%噻唑磷颗粒剂1.0~1.5 kg/667m²、或5%丁硫克百威颗粒剂5.0 kg/667m²、或0.5%阿维菌素颗粒剂3.0 kg/667m²、或5亿孢子/g淡紫拟青霉颗粒剂5.0 kg/667m²、或2.5亿孢子/g厚垣轮枝菌微粒剂5.0 kg/667m²，并与土壤充分混匀后移栽。

6.3.3 生长期施用杀线虫剂

可选用10%噻唑磷颗粒剂1.0~1.5 kg/667m²，或0.5%阿维菌素颗粒剂3.0 kg/667m²沟施。也可选用2.5%二硫氰基甲烷可湿性粉剂1500~3000倍液，或1.8%阿维菌素乳油1000~1500倍液灌根。

6.3.4 杀线虫剂品种及使用技术

参见附录A。

6.3.5 严禁使用的高毒剧毒高残留农药

按照海南省的相关管理规定执行。

附 录 A
(资料性附录)

用于防治蔬菜根结线虫的杀线虫剂种类和使用技术

杀线虫剂名称		施用量	施药方法和要求	持效期	安全间隔期
消毒药剂	35%威百亩水剂	3.0-4.0kg/667m ²	仅限种植前土壤消毒处理，均匀施于沟内，随即盖土踏实，盖地膜熏蒸 7d 后揭膜，充分透气 7d 后再播种或移栽。	120d	
	98%棉隆微粒剂	5-7 kg/667m ²	仅限种植前土壤消毒处理，均匀施于沟内，随即盖土踏实，盖地膜熏蒸 15d 后揭膜，翻耕透气 2~3d 后，再播种或移栽。	120d	
	50%氰氨化钙颗粒剂	40-80 kg/667m ²	播种前或定植前施用，随同有机基肥均匀撒施于土壤表面，翻耕入 20cm 耕作层，浇水后覆盖塑料薄膜。15-30d 后揭地膜，并松土降温 1~2d 后播种或移栽。	120d	
防治药剂	5 亿活孢子/g 淡紫拟青霉颗粒剂	2.5-3.0 kg/667m ²	播种前或移栽前均匀穴施、沟施在种子或幼苗根系附近，施药深度为 20cm 左右，施药 1 次。	90d	10d
	2.5 亿孢子/g 厚垣轮枝菌微粒剂	3.0-5.0 kg/667m ²	播种前或移栽前均匀穴施或沟施。每个作物周期分 2 次施用。育苗时与营养土混匀施用，移栽时与适量农家肥或土混匀穴施。	90d	10d
	0.5%阿维菌素颗粒剂	3.0-5.0 kg/667m ²	苗床土消毒或整个生长期施用，拌细土沟施或穴施。	30d	10d
	10%噻唑磷颗粒剂	1.0-1.5kg/667m ²	沟施、穴施，在播种前撒施并充分与土壤混合，整个生长期可施用，每季最多使用 1 次。	120d	10d
	5%丁硫克百威颗粒剂	5.0-7.0kg/667m ²	在移栽前或移栽时采用沟施或穴施，然后覆土、浇水。每季最多使用 1 次。	90d	15d
	2.5%二硫氰基甲烷可湿性粉剂	1500-3000 倍液	灌根，在整个生长期均可施用。	60d	10d

注：合理选用杀线虫剂，严格控制农药的安全间隔期、施用剂量和施用次数，尽量减轻化学农药对环境的污染和天敌的伤害，避免对果实造成污染。注意不同作用机理的农药的合理混用和交替使用，避免根结线虫产生抗药性。

附 录 B

(资料性附录)

蔬菜根结线虫的检测特征

根结线虫 (*Meloidogyne* spp.) 在属于线虫动物门、侧尾腺纲、垫刃目、异皮科、根结属。至目前全世界已报道有 90 多个种, 国内已报道有近 40 个种分布。根结线虫的寄主广泛, 超过 3000 种植物, 是普遍而重要的农作物病原线虫, 一般造成农作物减产 10%~20%, 严重的达 75% 以上。海南岛蔬菜产区分布的根结线虫有 4 种, 即南方根结线虫、花生根结线虫、爪哇根结线虫和象耳豆根结线虫。

B.1 根结线虫病的症状

植物根部产生大小不一的、呈圆形或纺锤形或不规则瘤状根结。一条根上可串珠状着生多个根结, 分布整个根系。严重时须根和小根损坏, 仅存主根, 整个根系呈鸡爪状, 后期根系腐烂。地上部似缺肥水状, 植株矮化, 叶片变小变黄, 严重时干枯, 甚至整株枯死。

B.2 病株分级标准

0 级: 根系无根结; 1 级: 根系有少量小根结; 3 级: 三分之二根系布满根结; 5 级: 根系布满根结并有次生根结; 7 级: 根系形成根结团。

B.3 防治效果的统计

采用对角线五点取样法, 每点调查 2 株, 共调查 10 株, 计算发病率、病情指数和防治效果。

发病率 = (发病株数 / 调查株数) × 100%;

根结指数 = [(病情级值 × 该级病情株数) / (调查总株数 × 7)] × 100;

防治效果 = [1 - (施药前对照区活虫数 × 施药后处理区活虫数) / (施药后对照区活虫数 × 施药前处理区活虫数)] × 100%。

B.4 南方根结线虫

雌虫: 体长 607.7(483.5~698.5)μm; 最大体宽 403.5(316.5~538)μm; 口针长 14.5(13.1~15.6)μm; DEGO3.2 (2.5~4.5)μm; 口针基部球高 2.2(1.9~3.2)μm; 口针基部球宽 4.0(3.2~4.5)μm; 中食道球高 50.5(42.0~61.2)μm; 中食道球宽 41.5(29.0~47.5)μm。

雄虫: 体长 1508.0(1007.5~1674.0)μm; 最大体宽 35.0(33.2~40.0)μm; 口针长 24.2(22.5~40.0)μm; DEGO2.3(1.7~3.0)μm; 口针基部球高 3.4(2.5~3.5)μm; 口针基部球宽 4.8(4.5~5.1)μm。

2 龄幼虫: 体长 402.1(352~478)μm; 最大体宽 15.5(13.5~17.0)μm; 口针长 12.3(10.5~14.0)μm; DEGO2.9(2.0~3.6)μm; 尾长 51.5(43.0~59.2)μm; 透明尾长 15.5(11.5~21.5)μm。

形态描述: 雌雄异形, 雌虫膨大, 呈球形、梨形, 有突出的颈部; 唇区稍突起, 略呈帽状, 会阴花纹变异较大, 一般背躬高; 花纹明显呈椭圆形或方形, 背弓顶部圆或平, 有时呈梯形, 背纹紧密, 背面和侧面的花纹从波浪形至锯齿形, 有时平滑, 侧区常不清楚, 侧纹常分叉。雄虫线形, 唇区平至凹, 不缢缩, 常有 2~3 条不完整的环纹; 口针圆锥体部尖端钝圆, 杆状部常为圆柱形, 靠近基部球位置较窄, 基部球圆。

其他特征: 年轻雌虫同工酶试验表明其苹果酸脱氢酶电泳带谱型为 N1, 酯酶电泳带谱型为 I1 型。用引物 # C2F3 和 # 1108 扩增线粒体 DNA 的 COII 和 LrRNA 基因间序列, 其片段长度为 1.7kb, 用 HinfI 内切酶酶切成 1.3 和 0.4kb 大小的两条限制性片段。引物的序列如下:

引物 # C2F3: 5'-GGTCAATGTTTCAGAAATTTGTGG-3'

引物#1108: 5'-TACCTTTGACCAATCACGCT-3'

形态和鉴定特征见图A、图B、图C、图D、图E。

B.5 爪哇根结线虫

雌虫: 体长715.8(589.0~865.0) μm ; 最大体宽455.5(425.0~612.3) μm ; 口针长15.6(13.0~17.3) μm ; DEGO4.6(4.1~5.0) μm ; 口针基部球高2.0(1.8~2.5) μm ; 基部球宽4.3(3.9~5.0) μm ; 中食道球高50.5(30.0~60.2) μm ; 中食道球宽42.5(33.0~48.5) μm 。

雄虫: 体长1540.0(1107.5~1679.0) μm ; 最大体宽36.5(33.2~43.0) μm ; 口针长23.8(22.5~40.0) μm ; DEGO3.2(1.5~3.0) μm ; 口针基部球高2.7(2.5~3.5) μm ; 口针基部球宽4.2(3.4~5.0) μm 。

2龄幼虫: 体长432.2(352.2~478.1) μm ; 最大体宽15.3(13.5~17.0) μm ; 口针长12.3(9.5~12.9) μm ; DEGO3.1(2.0~3.9) μm ; 尾长51.3(43.0~54.2) μm ; 透明尾长15.6(11.5~21.5) μm 。

形态描述: 雌虫犁型或近球形, 颈较长, 与虫体纵抽在一条直线上或略弯向一侧, 与体分界明显; 口针基球与基杆分解明显, 会阴花纹在群体内变异很大, 通常为椭圆形至圆形, 形成一个套一个的同心圆, 背躬有低到高形, 线纹平滑、细密、连续, 有明显的侧线, 很少有线纹通过侧线, 也有些种群的侧线不明显; 雄虫线型, 头冠宽, 前端圆, 有2条不完全环纹, 头区与体部分界不明显, 口针锥体向渐粗, 基杆圆柱形, 中食道球明显, 瓣门大。侧区有4条侧线。尾端阔圆。

其他特征: 年轻雌虫同工酶试验表明其苹果酸脱氢酶电泳带谱型为N1, 酯酶电泳带谱型为J3型。用引物#C2F3和#1108扩增线粒体DNA的COII和LrRNA基因间序列, 其片段长度为1.7kb。引物序列同上。

形态和鉴定特征见图A、图B、图C、图D、图E。

B.6 花生根结线虫

雌虫: 体长705.8(589.0~885.0) μm ; 最大体宽465.5(425.0~601.3) μm ; 口针长15.1(13.5~16.3) μm ; DEGO4.8(4.5~5.0) μm ; 口针基部球高2.2(2.0~2.5) μm ; 基部球宽4.7(4.5~5.0) μm ; 中食道球高51.5(32.0~60.2) μm ; 中食道球宽40.5(29.0~48.5) μm 。

雄虫: 体长1340.0(1007.5~1674.0) μm ; 最大体宽35.1(33.2~40.0) μm ; 口针长24.5(22.5~40.0) μm ; DEGO2.2(1.5~3.0) μm ; 口针基部球高2.9(2.5~3.5) μm ; 口针基部球宽3.8(3.4~5.0) μm 。

2龄幼虫: 体长412.2(352.6~478.9) μm ; 最大体宽16.3(13.5~17.0) μm ; 口针长11.9(9.5~12.0) μm ; DEGO2.7(2.0~3.9) μm ; 尾长48.6(43.0~50.2) μm ; 透明尾长15.5(11.5~21.5) μm 。

形态描述: 雌雄异形, 雌虫膨大、呈球形; 唇区稍突起, 略呈帽状; 会阴花纹变异较大, 花纹明显呈椭圆形, 一般背躬扁平到圆形, 大多时候弓上的线纹在侧线处分叉, 有明显的侧线, 有线纹通过侧线, 背面和侧面的花纹从波浪形至锯齿形, 侧纹常分叉, 有时纹断续并分叉; 有些种群没有侧线。雄虫线形, 唇区平至凹, 不缢缩, 常有1~2条不完整的环纹; 口针圆锥体部尖端钝圆, 杆状部常为圆柱形, 靠近基部球位置较窄, 口针基球为圆球形。

其他特征: 年轻雌虫同工酶试验表明其苹果酸脱氢酶电泳带表型为N1, 酯酶电泳带表型为A1型或A2型。用引物#C2F3和#1108扩增线粒体DNA的COII和LrRNA基因间序列, 其片段长度为1.1kb或1.7kb。引物序列同上。

形态和鉴定特征见图A、图B、图C、图D、图E。

B.7 象耳豆根结线虫

雌虫：体长732(552.0~995.0) μm ；最大体宽435.5(315.0~702.3) μm ；口针长12.1(9.1~13.2) μm ；DEGO4.9(4.2~5.7) μm ；口针基部球高2.4(1.7~2.9) μm ；基部球宽4.9(4.2~5.7) μm ；中食道球高42.5(29.4~56.7) μm ；中食道球宽38.2(26.0~52.6) μm 。

雄虫：体长1449.2(1107.6~1659.0) μm ；最大体宽31.6(28.2~39.0) μm ；口针长19.3(18.5~26.4) μm ；DEGO2.2(1.5~3.0) μm ；口针基部球高2.1(1.8~2.5) μm ；口针基部球宽4.1(3.5~5.2) μm 。

2龄幼虫：体长412.5(388.6~436.9) μm ；最大体宽15.3(14.1~16.6) μm ；口针长11.9(11.6~12.9) μm ；DEGO3.6(2.6~5.0) μm ；尾长53.5(41.9~66.5) μm ；透明尾长16.2(12.7~22.1) μm 。

形态描述：象耳豆根结线虫雌虫腹面线纹通常纤细并平滑，尾端可见。口针锥部稍向背面弯曲。干部圆柱形，末端加宽。口针基球同干部界限明显，每个球均有一条纵沟纹，所以看起来如同有两个球。会阴花纹通常呈卵圆形，线纹平滑到粗糙。弓高中度，通常呈圆形。无明显侧线。阴门周围通常无线纹。雄虫头部唇盘和中唇融合形成一个长形的头冠。唇盘稍高于中唇，中唇月牙形。头部无环纹。口针粗壮，锥体尖，不弯曲。干部圆柱形。基球大而圆，同干部有明显界限。有些雄虫口针的基球也有纵纹。

其他特征：年轻雌虫同工酶试验表明其苹果酸脱氢酶电泳带表型为N1a，酯酶电泳带表型为VS1-S1型。用引物#C2F3和#1108扩增线粒体DNA的COII和LrRNA基因间序列，其片段长度为0.7kb。引物序列同上。

形态和鉴定特征见图A、图B、图C、图D、图E。



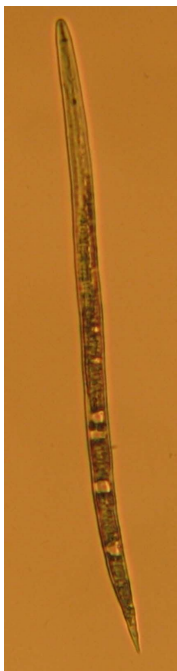
A. 卵



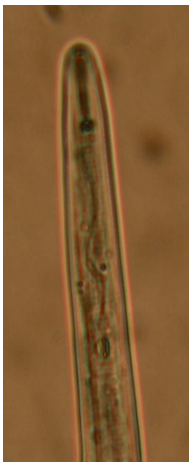
B. 雄虫前端



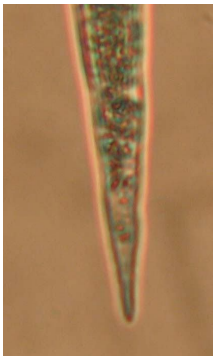
C. 雄虫



D. 2 龄幼虫



E. 2 龄幼虫前端



F. 2 龄幼虫尾部

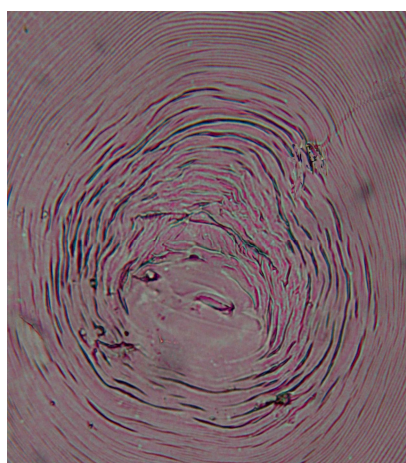


G. 雌虫

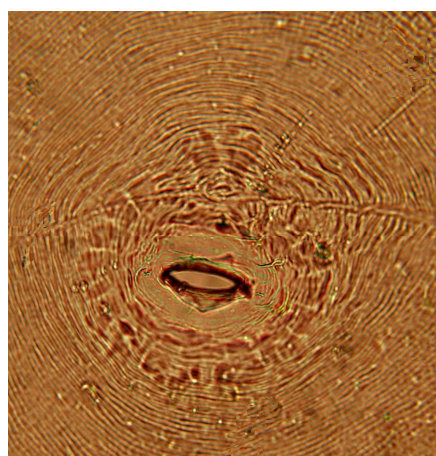


H. 雌虫头部

图 A 蔬菜根结线虫的外部形态



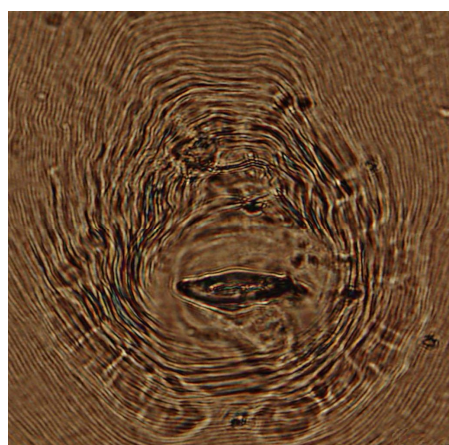
A. 南方根结线虫会阴花纹



B. 爪哇根结线虫会阴花纹

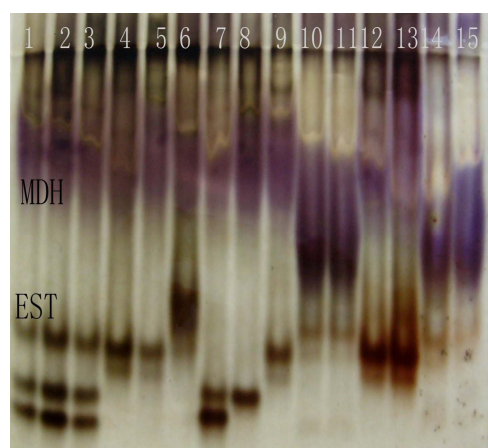


C. 花生根结线虫会阴花纹

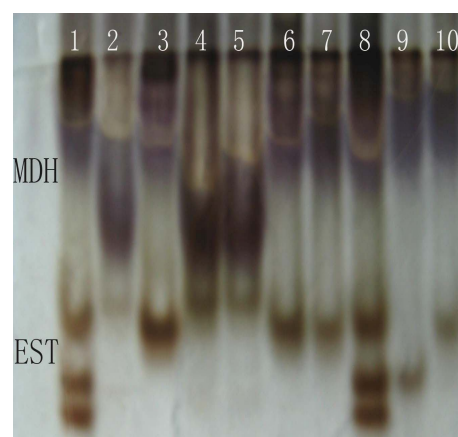


D. 象耳豆根结线虫会阴花纹

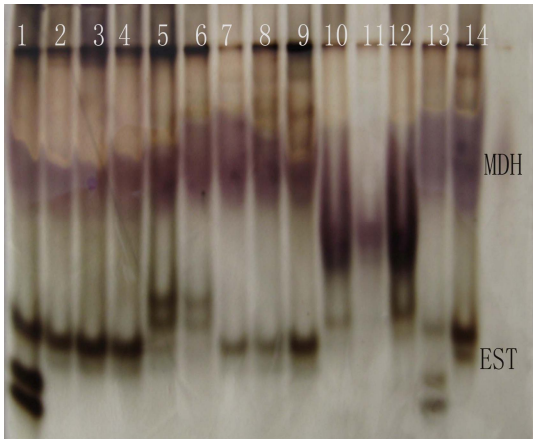
图 B 常见 4 种蔬菜根结线虫雌虫会阴花纹



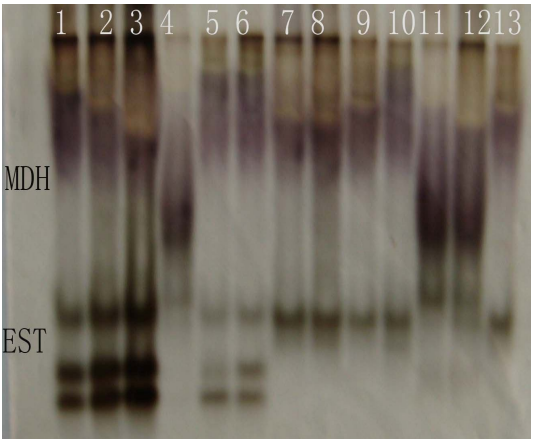
A 图：1 为对照爪哇根结线虫；2 和 3 为爪哇根结线虫 (*M.javanica*)；4、5、9、12 和 13 为南方根结线虫 (*M.incognita*)；10、11、14 和 15 为象耳豆根结线虫 (*M. enterolobii*)；6 为西班牙根结线虫 (*M.hispanica*)；7 为花生根结线虫 (N1、A2) (*M.arenaria*)；8 为花生根结线虫 (N1、A1) (*M.arenaria*)。



B 图：1 为对照爪哇根结线虫；3、6、7 和 10 为南方根结线虫 (*M.incognita*)；2、4 和 5 为象耳豆根结线虫 (*M. enterolobii*)；8 为爪哇根结线虫 (*M.javanica*)；9 为花生根结线虫 (*M.arenaria*)。



C 图：1 为对照爪哇根结线虫；2、3、4、7、8、9 和 14 为南方根结线虫 (*M.incognita*)；5 和 6 为西班牙根结线虫 (*M.hispanica*)；13 为爪哇根结线虫 (*M.javanica*)；10、11 和 12 为象耳豆根结线虫 (*Meloidogyne enterolobii*)。



D 图：1 为对照爪哇根结线虫；2、3、5 和 6 为爪哇根结线虫 (*M.javanica*)；4、11 和 12 为象耳豆根结线虫 (*Meloidogyne enterolobii*)；7、8、9、10 和 13 为南方根结线虫 (*M.incognita*)。

图 C 4 种常见蔬菜根结线虫种群同工酶电泳图谱

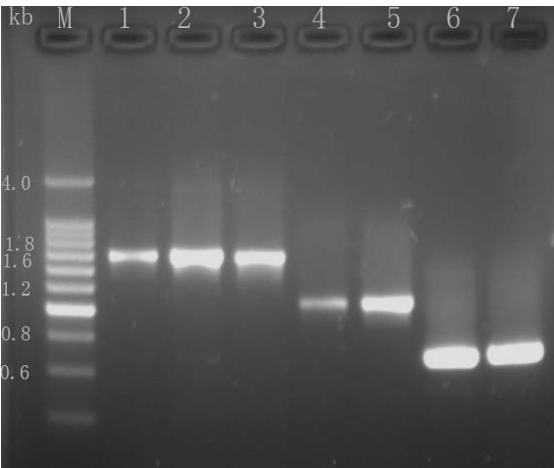


图 A：M 为 Marker；
1、2 和 3 为爪哇根结线虫 (1.7kb)；
4 和 5 为花生根结线虫 (N1、A2) (1.1kb)；
6 和 7 为象耳豆根结线虫 (0.7kb)。

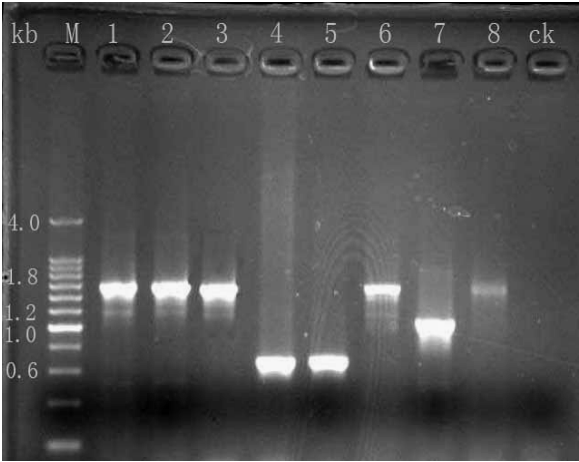


图 B：M 为 Marker；
1、2 和 3 为南方根结线虫 (1.7kb)；
4 和 5 为象耳豆根结线虫 (0.7kb)；
6 为西班牙根结线虫 (1.7kb)；
7 为花生根结线虫 (N1、A2) (1.1kb)；
8 为花生根结线虫 (N1、A1) (1.7kb)。

图 D 4 种常见蔬菜根结线虫 mtDNA 的 *COII* 和 *LrRNA* 基因间序列扩增结果

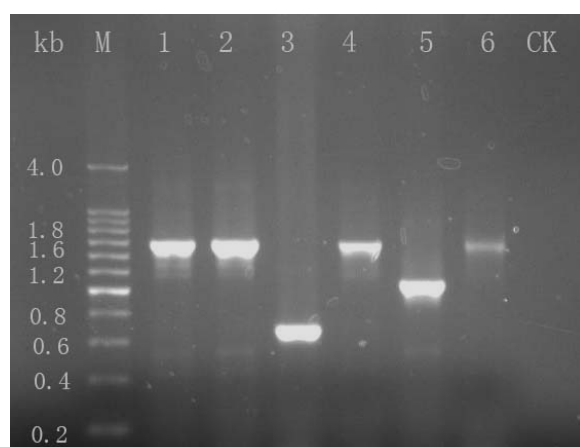


图 A: M 为 Marker;
 1 为爪哇根结线虫 (1.7kb);
 2 为南方根结线虫 (1.7kb);
 3 为象耳豆根结线虫(0.7kb);
 4 为西班牙根结线虫 (1.7kb);
 5 为花生根结线虫 (N1、A2) (1.1kb);
 6 为花生根结线虫 (N1、A1) (1.7kb).

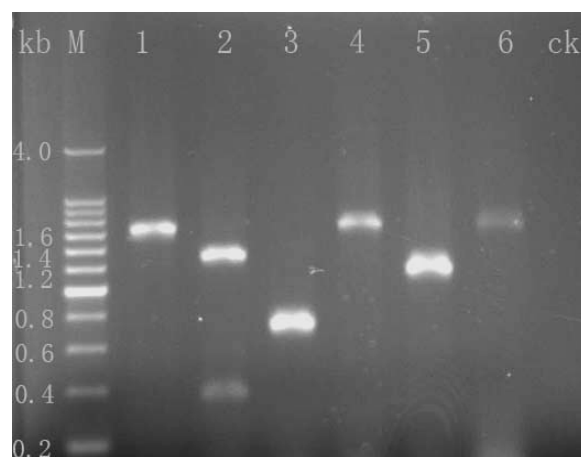


图 B: M 为 Marker;
 1 为爪哇根结线虫 (1.7kb);
 2 为南方根结线虫 (1.3 和 0.4kb);
 3 为象耳豆根结线虫(0.7kb);
 4 为西班牙根结线虫 (1.7kb);
 5 为花生根结线虫 (N1、A2) (1.1kb);
 6 为花生根结线虫 (N1、A1) (1.7kb).

图 E 4 种常见蔬菜根结线虫 mtDNA 的 *COII* 和 *LrRNA* 基因间序列扩增结果和 *HinfI* 酶切结果