

湖南省植物保护学会团体标准

T/SPPHN 001-2024

扩散前沿区柑橘黄龙病可持续防控技术 规程

Code of Sustainable Prevention and Control of Citrus Huanglongbing in the
Diffusion Frontier Zone

2024-06-05 发布

2024-06-05 实施

湖南省植物保护学会 发布

前 言

本文件是根据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》的规定起草。

本文件由湖南省植物保护学会提出。

本文件由湖南省植物保护学会归口。

本文件起草单位为湖南农业大学、赣南师范大学。

本文件主要起草人：王运生、戴良英、易龙、戴素明、李大志、宋娜、李娜、周俊、胡威、鲍敏丽。

扩散前沿区柑橘黄龙病可持续防控技术规程

1 范围

本标准规定了扩散前沿区柑橘黄龙病可持续防控的术语和定义、检疫、预防、诊断、防控等。
本标准适用于扩散前沿区柑橘黄龙病可持续防控。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 5040 柑桔苗木产地检疫规程
- GB 4285 农药安全使用标准
- GB/T 8321 农药合理使用准则
- GB 15569 农业植物调运检疫规程
- GB/Z 26580 柑橘生产技术规范
- GB/T 28062 柑桔黄龙病菌实时荧光 PCR 检测方法
- GB/T 29393 柑桔黄龙病菌的检疫检测与鉴定
- GB/T 35333 柑橘黄龙病监测规范
- NY/T 973 柑橘无病毒苗木繁育规程
- NY/T 974 柑橘苗木脱毒技术规范
- NY/T 975 柑橘栽培技术规程
- NY/T 2920 柑橘黄龙病防控技术规程

3 术语和定义

GB/T 35333 和界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

下列术语和定义适用于本标准。

3.1 柑橘黄龙病 (Citrus Huanglongbing)

柑橘黄龙病是一类由韧皮部寄生的革兰氏阴性菌韧皮部杆菌引起的柑橘类系统性植物病害，是一种

病原体触发的免疫疾病。柑橘黄龙病的传播方式主要有柑橘木虱传播和嫁接传播，造成柑橘叶片黄化、果实品质下降、产量降低、树势衰退甚至死亡。

3.2 柑橘黄龙病扩散前沿区 Citrus Huanglongbing Diffusion Front Zones

扩散前沿区是指柑橘黄龙病新发生区，位于流行区与无病区之间，包括湖南中西部、江西中部、浙江中西部、四川东南部、云南东北部。前沿区黄龙病零星发生，发病率低于 1%，病树多表现为无症状。区域内柑橘木虱也为零星发生，百梢柑橘木虱头数低于 1 头。

4 扩散前沿区柑橘黄龙病防控策略

按照 NY/T 2920，柑橘黄龙病防控策略为“种植无病大苗，严防柑橘木虱，彻底铲除病株”，俗称黄龙病防控“三板斧”。扩散前沿区黄龙病防控技术在传统的“三板斧”基础上，需加强早期预警和失管果园防控，将病原检测和监测贯穿全过程。

5 防控措施

5.1 病害监测

定期对果园进行巡查监测，发现疑似病株，及时抽取送检，确诊为病株后，以病株为中心，周围 2 圈每株树均要送检。送检时，每株树东南西北四个方向各取一个枝条，每个枝条从下到上取 5-8 片叶子，混合后作为一个样品。检测方法见附件 B。

5.2 园区生态隔离

充分利用自然地形，在果园周围种植防风林，对果园形成适当生态隔离，在地势平缓地区，在果园四周可做防虫墙进行隔离，防虫墙高 4 米，用 60 目及以上的防虫网围住。新果园要全面清除园内及周边的九里香、黄皮等柑橘木虱寄主。园区规划应符合 NY/T 975 规定。

5.3 种植无病虫种苗

选择种苗时应根据植物检疫要求，种植经过检疫的无病种苗，具体要求按照 GB 5040-2003，GB 15569-2009 和 NY/T 973-2006 的相关规定执行，也不要种植有柑橘木虱取食的种苗。3 年以下小苗在苗圃进行集中管理，果园定植 3 年以上大苗。

5.4 栽培管理

加强果园基础建设，如果园地势平坦，要挖沟排水，不积水。科学肥水管理，增强树势，提高抗病能力。其他要求按照 NY/T 975 的规定执行。

5.5 清除病株

挖除病树之前 1 - 3 天，对病树及附近植株施用防治木虱触杀性药剂，将病树连根挖除，对于不能彻底挖除的，可先砍除地上部分，树桩不超过 10 cm，树桩切十字型切口，切面和切口处涂草甘磷或煤油，并用黑膜包裹，防止病树桩萌发出新的枝条。砍除的病树、病桩、根等应集中销毁处理。

5.6 失管果园防控

加强失管、半失管果园柑橘黄龙病和柑橘木虱发生动态监控，发现失管、半失管果园内有黄龙病或有柑橘木虱发生，应立即通知当地植物防疫部门和村部主管部门，向果园主人出具整改通知，应加强柑橘木虱防治和病树清除，对于失管无主果园，应由当地主管部门农业执法人员统一挖除并进行无害化处理。

5.7 木虱防治

5.7.1 农业防治

5.7.1.1 增施有机肥，冬季每株施有机肥 5 kg~10 kg，施肥时期以摘果后 1 个星期之内为好，保水性较差的果园可加使农用保水剂，每株 40 g~50g。

5.7.1.2 科学控草。提倡生草栽培，改善橘园生态环境，保护利用天敌。以机械割草控制杂草生长，尽量不施用除草剂，果园禁止使用草甘膦。

5.7.1.3 梢期管理，采取分批抹梢、统一打顶的方法，以达到统一放梢的目的。通过合理的肥水管理和栽培管理，统一放春梢，通过抹梢、以梢控梢、杀梢等手段控制夏秋梢。

5.7.2 物理防治

在树冠外围中上部悬挂粘虫黄板，每亩 20 片~30 片。

5.7.3 化学防治

5.7.3.1 防治原则

遵循“科学、安全、高效、绿色”原则，以预防为主，采取不同作用机制的药剂轮换使用，减缓抗药性的产生。

5.7.3.2 施药方法及时期

采用飞防或喷雾器喷雾法，重点施药新梢部位。新梢 2 cm~3 cm 喷第一次药，10 d~15 d 后喷第二次药，药剂选择见附件 C。农药使用按照 GB 4285 和 GB/T 8321 的规定执行。

6 档案管理与保存

建立黄龙病防控工作档案，包括繁育和购买种苗记录、种苗检疫报告、木虱防治时间、药品品种与浓度、防治效果、黄龙病发生时间、病树发生位置、病树处理措施及时间、防控记录见附件 D。

附录 A

柑橘黄龙病症状

1. 叶片黄化

叶片从叶脉附近开始褪绿，逐渐扩散形成黄绿相间的斑驳，严重时整张叶片呈现均匀的黄化。具体症状分为几种类型：

均匀黄化叶片：叶片呈现均匀的浅黄绿色。

斑驳型黄化叶片：叶片呈现黄、绿相间的不均匀斑块状。

2. 果实症状

包括幼果畸形、易落果，以及“红鼻子”果，即成熟期果实只有果蒂周围是红色，其他部分仍是绿色，剖开后里面不对称，一边大，一边小，味道酸涩且汁少。

3. 与缺素症状的区别

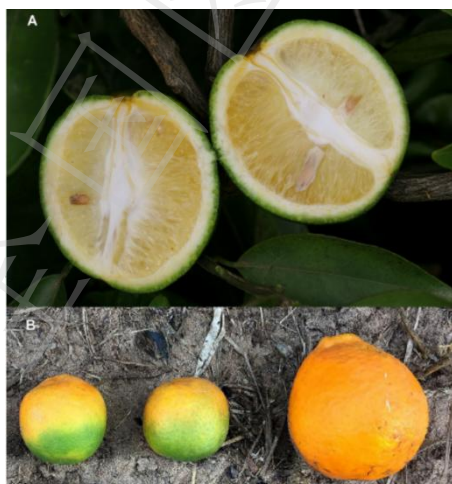
黄龙病与缺素症状有时可能表现出相似的黄化现象，但黄龙病的黄化特征更为斑驳和不对称。此外，黄龙病的症状随季节变化而有所不同，而缺素症状则相对稳定。在田间，仅凭黄化症状并不能确定是黄龙病，可能需要进一步的分子检测（附件 B）和分析。



枝条均匀黄化



斑驳黄化



红鼻子果



柑橘黄龙病后期症状

附录 B

柑橘黄龙病分子检测

1. 植物总 DNA 抽提

用 CTAB 法提取总 DNA，主要步骤如下：

- （1）取 100 mg 新鲜叶片或者柑橘叶脉组织放于灭菌研钵中，加入液氮研磨成粉末，移至 1.5 mL 离心管中，加入 500 μ L 2% CTAB (65 $^{\circ}$ C 预热)；
- （2）65 $^{\circ}$ C 水浴 30 min，期间每 7 分钟颠倒混匀；
- （3）冷却 2 min，加入 500 μ L 氯仿异戊醇（24：1）震荡 5 min；-20 $^{\circ}$ C 冷却 10 min，10000 rpm 4 $^{\circ}$ C 离心 20 min；
- （4）提取上清，加入 340 μ L 冷凝的异丙醇，轻轻混匀，-20 $^{\circ}$ C 放置 30 min；
- （6）弃上清，用 500 μ L 75%乙醇洗两次，倒掉乙醇晾干；
- （7）加入 50 μ L 无菌水，65 $^{\circ}$ C 加热 3 min 溶解得 DNA 样本，用于后续 PCR 检测。

2. PCR 检测

PCR 检测引物序列，上游引物：GGAGAGGTGAGTGGAATTCCGA，下游引物：ACCCAACATCTAGGTAAAAACC。扩增片断大小：约 500 bp。

PCR 扩增反应体系	
试剂	体积(μ L)
上游引物（10 μ mol/L）	0.5
下游引物（10 μ mol/L）	0.5
Mix	10
模板 DNA	2
加 ddH ₂ O 至	20

PCR 扩增反应参数		
项目	温度	时间
预变性温度	94 $^{\circ}$ C	3 min
变性温度	94 $^{\circ}$ C	30 sec
退火温度	60 $^{\circ}$ C	30 sec
延伸	72 $^{\circ}$ C	1 min
再延伸	72 $^{\circ}$ C	5 min

33个循环

3. 电泳及成像

3.1 电泳

将PCR扩增产物10 μL 与3 μL 上样缓冲液($5\times$)和2 μL SYBR Green I($1\times$)染色液混合,加入到1.5%琼脂糖凝胶的点样孔内,同时设置DL2000标准分子量DNA作为片段大小标准,120 V电压电泳约30 min。

3.2 成像及分析

将电泳后的琼脂糖凝胶放置于凝胶成像系统内,打开紫外灯,在凝胶成像系统控制软件上观察PCR扩增条带。

4. 结果判定

在凝胶成像系统观察,电泳后的琼脂糖凝胶上,阳性对照的特异性条带如图1所示,阴性对照没有该特异性条带。供试样品出现与阳性对照大小一致的特异性条带,判定为阳性,即该样品为柑橘黄龙病阳性;供试样品没有出现与阳性对照大小一致的特异性条带,判定为柑橘黄龙病阴性。

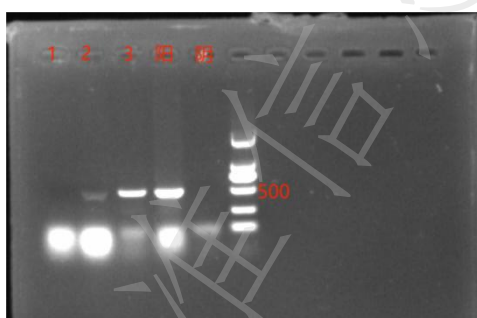


图1 柑橘黄龙病PCR检测电泳图,图中显示样本2、3为阳性,样本1为阴性

5. 检测后样品的处理

基因组DNA提取液放置于 -20°C 冰箱中保存,以备复检;用于检测的样品和用具,样品应保存于 -80°C 冰箱或集中销毁,用具应进行灭菌处理。

附录 C

柑橘木虱防治药剂

序号	防治药剂	使用方法	使用次数	安全间隔期（天）
1	100 克/升联苯菊酯	1667 倍~3333 倍喷雾	3	7
2	55%氯氰·毒死蜱	1000 倍~1500 倍喷雾	3	7
3	25 克/升联苯菊酯	800 倍~1200 倍喷雾	3	7
4	100 克/升吡丙醚	1000 倍~1500 倍喷雾	3	7
5	17%氟吡呋喃酮	3000 倍~4000 倍喷雾	3	7
6	26%联苯·螺虫酯	5000 倍~6000 倍喷雾	3	7
7	30%螺虫·吡丙醚	3000 倍~5000 倍喷雾	3	7
8	40%啉虫·毒死蜱	2667 倍~3200 倍喷雾	3	7
9	15%阿维·螺虫酯	2500 倍~3500 倍喷雾	3	7
10	28%阿维·螺虫酯	5000 倍~7000 倍喷雾	3	7
11	25%吡丙·噻嗪酮	1500 倍~2500 倍喷雾	3	7
12	20%阿维·螺虫酯	3500 倍~4500 倍喷雾	3	7
13	30%螺虫·噻虫啉	4000 倍~5000 倍喷雾	3	7
14	35%螺虫·噻嗪酮	2000 倍~3000 倍喷雾	3	7
15	2.50%高效氟氯氰菊酯	1500 倍~2500 倍喷雾	3	7
16	4.50%联苯菊酯	1500 倍~2500 倍喷雾	3	7
17	22%螺虫·噻虫啉	3000 倍~5000 倍喷雾	3	7
18	80 亿孢子/毫升金龟子绿僵菌 CQMa421	1000 倍~2000 倍喷雾	3	7
19	5%香芹酚	800 倍~1200 倍喷雾	3	7
20	30%噻虫啉	4000 倍~6000 倍喷雾	3	7
21	51.50%高氯·毒死蜱	1000 倍~2000 倍喷雾	3	7
22	522.5 克/升氯氰·毒死蜱	1000 倍~1500 倍喷雾	3	7
23	34%啉虫·毒死蜱	1500 倍~2500 倍喷雾	3	7

24	40%螺虫·毒死蜱	2000 倍~3000 倍喷雾	3	7
25	10%虱螨脲	3000 倍~5000 倍喷雾	3	7
26	20%螺虫·噻虫嗪	4000 倍~6000 倍喷雾	3	7
27	30%吡丙·噻嗪酮	2000 倍~3000 倍喷雾	3	7
28	20%联苯·噻虫啉	3000 倍~4000 倍喷雾	3	7
29	25%啶硫磷	1500 倍~2000 倍喷雾	3	7
30	70%螺虫乙酯	8000 倍~12000 倍喷雾	3	7
31	10.50%高氯·啶虫脒	2000 倍~3000 倍喷雾	3	7
32	30%螺虫·噻虫嗪	3000 倍~4000 倍喷雾	3	7
33	22.40%螺虫乙酯	4000 倍~5000 倍喷雾	3	7
34	10%虱螨脲	3000 倍~5000 倍喷雾	3	7
35	30%螺虫·噻虫嗪	3000 倍~4000 倍喷雾	3	7
36	20%噻虫嗪·虱螨脲	3000 倍~4000 倍喷雾	3	7
37	21%噻虫嗪	3360 倍~4200 倍喷雾	3	7
38	10%高氯·吡丙醚	1500 倍~2500 倍喷雾	3	7

附录 D

柑橘黄龙病防控记录表

果园位置：_____

日期	防控措施	防控效果	实施人员	记录人
