



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4171—2015

短颈剑线虫检疫鉴定方法

Detection and identification of *Xiphinema brevicollum* Lordello & Da Costa

2015-02-09 发布

2015-09-01 实施



中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国珠海出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：迟远丽、廖力、王岚、徐森锋、权永兵、黄永辉、张卫东、陈其文。

短颈剑线虫检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了出入境植物检疫中短颈剑线虫的检疫鉴定方法。

本标准适用于出入境植物、花卉、苗木、盆景及其繁殖材料、土壤及栽培介质中短颈剑线虫的检疫鉴定。

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 28091—2011 剑线虫属(传毒种类)检疫鉴定方法

SN/T 1157 进出境植物苗木检疫规程

SN/T 1158 进出境植物盆景检疫规程

SN/T 2757 植物线虫检测规范

3 符号和缩略语

下列符号和缩略语适用于本文件。

n :测计的标本数;

a :体长/最大体宽;

b :体长/体前端至食道与肠连接处的距离;

c :体长/尾长;

c' :尾长/肛门处体宽;

h :尾后部的透明区长;

L :体长;

Lip w:头部宽度;

Odontophone:齿尖针延伸部长度;

Odontostyle:齿尖针长度;

Tail:尾长;

V :体前端至阴门的距离 $\times 100$ /体长;

VBW:阴门处的体宽;

BWGR:导环处体宽;

BWOB:食道基部体宽;

GR:导环至体前端的距离;

Spicules:交合刺的长度。

4 基本信息

中文名称:短颈剑线虫。

学名: *Xiphinema brevicollum* Lordello & Da Costa, 1961。

异名: *X. saopauloense* Khan & Ahmad, 1975, *X. americanum* Apud Carvalho, 1955, 1962, *X. diffusum* Lamberti & Bleve-Zacheo, 1979 (n. syn.), *X. parvum* Lamberti, Ciancio, Agostinelli & Coiro, 1992 (n. syn.), *X. pseudoguirani* Lamberti, Ciancio, Agostinelli & Coiro, 1992 (n. syn.), *X. guirani* Apud Lamberti & Bleve-Zacheo, 1979, *X. Sheri* Lamberti & Bleve-Zacheo, 1979 (n. syn.), *X. taylori* Lamberti, Ciancio, Agostinelli & Coiro, 1992 (n. syn.)。

分类地位: 线虫门(Nematoda), 无侧尾腺纲(Adenophorea), 矛线目 Dorylaimida, 矛线亚目(Dorylaimina), 矛线总科(Dorylaimoidea), 长针科(Longidoridae), 剑亚科(Xiphinematinae), 剑属(*Xiphinema*), 美洲剑线虫组(*Xiphinema americanum*-group)。

短颈剑线虫是一种非常重要的植物寄生线虫, 主要危害寄主植物的根部, 引起根部组织变黑, 皮层增厚, 侧根增生, 长势变弱, 造成根系肿大或坏死。短颈剑线虫主要通过带根苗木、土壤及栽培介质传播扩散, 雌、雄虫形态学特征是该虫检验鉴定的主要依据, 寄主范围、地理分布等信息可供参考(参见附录 A)。

5 方法原理

根据形态特征描述和形态特征测计值采用 Hunt(1993)的长针科分类系统进行线虫的分类鉴定。

6 仪器、用具和试剂

6.1 仪器

生物显微镜、体视显微镜(具透射光源)、恒温培养箱、冰箱、离心机。

6.2 用具

钟面皿或培养皿、盖玻片、载玻片、挑针、酒精灯、线虫滤纸或纱布、500 μ L 塑料管、漏斗、漏斗架、乳胶管、止水夹、加热板、水桶、分样筛(60 目~300 目)、移液器、干燥器、记号笔。

6.3 试剂

4% 甲醛、甘油、指甲油、石蜡、溶液 I (96% 乙醇: 甘油: 蒸馏水 = 20: 1: 79)、溶液 II (甘油: 96% 乙醇 = 1: 19)。

7 现场检疫

对植物种苗的根、茎根、根状茎等地下部分材料进行检查, 观察苗木的生长状况, 根部为害状, 以及是否带介质、土壤等。重点选取根部组织变黑, 皮层增厚, 侧根增生, 长势变弱, 根系肿大或坏死等症状的苗木及根际介质或土壤, 如无可疑症状则按要求随机取样。取样后立即置密封塑料袋, 标记后及时送实验室检验。

具体抽样比例按 SN/T 1157 和 SN/T 1158 执行。

8 实验室检验

8.1 线虫分离

8.1.1 土壤或介质中线虫的分离

线虫的分离采用改进的过筛法: 将约 500 g 土样置于水桶中, 捏碎土块并加水搅拌均匀, 形成土壤

悬浮液,静置约 30 s 后将上清液通过 60 目的分离筛,将悬浮液注入新的水桶中,再静置约 30 s,再将土壤悬浮液经过 300 目的分样筛,收集筛上的残留物,然后结合漏斗法或浅盘法进行分离(具体操作按照 SN/T 2757)。

8.1.2 植物组织中线虫的分离

将植物材料(茎干、根、叶柄等)切成小段,大小约 2 cm,用漏斗法或浅盘法进行分离(具体操作按照 SN/T 2757)。

8.2 体视显微镜镜检

分离获得的水样在体视显微镜下检查,初步观察线虫的形态结构,挑取或吸取疑似短颈剑线虫。

8.3 生物显微镜观察、摄影和测量

将线虫置于载玻片上制成临时玻片或永久玻片,在生物显微镜下仔细观察其形态特征并对整体形态、齿尖针、尾部形态、雌虫生殖系统及雄虫交合刺等进行摄影,并测量相应的测计值。

9 形态鉴定特征

9.1 美洲剑线虫组的主要鉴别特征

雌虫虫体热杀死后呈“C”形或螺旋形;唇区圆,与身体连接处平展或有不同程度缢缩;矛线型食道,齿尖针强壮,60 μm ~200 μm ;双生殖管,子宫中无“Z”分化现象,卵巢反折;V 值为 42%~65%;尾短, $c' < 2.5$,宽圆或圆锥形,有的种略显有一指状突。雄虫少见,有 5 枚或超过 5 枚中腹交配乳突,最后一枚一般位于交合刺所在区域,其他特征与雌虫相似。美洲剑线虫组线虫的分类检索表参见附录 B。

9.2 短颈剑线虫形态特征(参见附录 C)

9.2.1 成熟雌虫形态特征

短颈剑线虫成熟雌虫主要形态特征如下:

- 热杀死后虫体呈“C”形或者螺旋形,体长为 1 800 μm ~2 200 μm ;
- 唇区与虫体连接处略缢缩,唇区基部宽约为 12.25 μm ~14.75 μm ;
- 齿针和导环结构典型,齿尖针全长为 136 μm ~168 μm ,齿尖针长 84.7 μm ~108.2 μm ,齿针延伸部分长为 48 μm ~60 μm ;
- 食道基部膨大,与肠分界明显,食道球呈圆柱状;
- 阴门横裂,位于虫体体长的 50%左右。阴道长占所在位置体宽的 1/3;
- 双生殖腺,对生,均发育完全,卵巢转折覆盖输卵管;
- 尾短锥形,透明区呈轻微指状凸起,尾长为肛门处体宽的 0.66~1.11 倍。

9.2.2 成熟雄虫形态特征

短颈剑线虫成熟雄虫主要形态特征如下:

- 热杀死后虫体呈螺旋形,体长为 1 965 μm ~2 191 μm ,体前部与雌虫相似;
- 齿尖针和导环结构典型,后导环距体前端距离为 102.25 μm ;
- 泄殖腔前一共有 5 个腹中交配乳突;
- 交合刺矛线型,长约为 41 μm ~55 μm ;
- 尾呈短锥形,比雌虫的长,约是肛门处体宽的 1.12 倍,尾部透明区也呈轻微指状凸起。

9.2.3 幼虫形态特征

- 短颈剑线虫幼虫主要形态特征如下：
- 除生殖系统均未发育完全,其他特征与成虫相似；
 - 虫体热杀死后呈“C”型,随龄期增长身体弯曲程度加大；
 - 唇区微缢缩；
 - 尾锥形,随着龄期增长尾长基本不变,尾宽增加；
 - 尾尖圆,有轻微指状凸起。

9.3 短颈剑线虫测计值

短颈剑线虫测计值见表 1。

表 1 短颈剑线虫测计值

形态指标	测量值	
<i>n</i>	17♀♀ Lamberti <i>et al.</i> (1991)	4♂♂ Shesh Kumari (2010)
<i>L</i> /μm	2 100±100 (1 800~2 200)	2 059±97 (1 965~2 191)
<i>a</i>	44.5±23 (40.7~50.1)	45.7±3.81 (41.3~49.1)
<i>b</i>	6.4±0.6 (5.4~7.7)	6.1±0.53 (5.7~6.7)
<i>c</i>	77.8±0.6(60.3~94.0)	80.2±6.29 (72.8~82.0)
<i>c'</i>	1.0±0.06 (0.9~1.1)	1.03±0.10 (0.93~1.14)
<i>V</i>	53.0±0.9 (51.0~54.0)	—
Odontostyle/μm	101.9±7.2 (84.7~108.2)	93±4.86 (88~99)
Odontophone/μm	57.0±2.9 (48.8~60.0)	55±3.10 (51~58)
GR/μm	86.3±5.6 (72.3~92.3)	—
Tail/μm	26.8±2.0 (24.1~31.2)	30±2.22 (27~32)
<i>h</i> /μm	8.0±0.9 (5.9~9.4)	8±2.22 (5~10)
Lip W/μm	11.5±0.5 (10.6~12.3)	13±0.50 (12~13)
BWGR/μm	29.8±1.5 (27.1~31.8)	31±0.82 (30~32)
BWOB/μm	39.4±2.9 (35.3~45.3)	—
VBW/μm	46.6±3.4 (39.4~50.0)	—
Spicules	—	48±6.22 (41~55)
注：以上♀♀引自 Lamberti <i>et al.</i> (1991),♂♂ 引自 Shesh Kumari(2010),—表示空白。		

9.4 短颈剑线虫与近似种的区别

在剑属线虫中,短颈剑线虫(*X.brevicollum*)与 *X.incognitum*、*X.paramonovi* 形态上极为相似,其主要区别见表 2。

表 2 短颈剑线虫与近似种的主要形态区别

形态特征	<i>X.brevicollum</i>	<i>X.incognitum</i>	<i>X.paramonovi</i>
头部特征	唇区与身体连接处微缢缩	唇区半圆形,微缢缩	唇区与体壁不连续,缢缩
尾部特征	短锥形,尾尖透明区呈轻微指状突起	锥形,尾端角质层厚,背凸起,无指状突	尾末端圆
体长	1 800 μm~2 200 μm	1 700 μm~2 100 μm	2 000 μm~2 300 μm
V 值	51~54	48~53	51~55
c' 值	0.9~1.1	0.9~1.3	0.9~1.2
c	24 μm~31 μm	27 μm~31 μm	>32 μm

10 结果判断

主要依据雌、雄虫的形态特征作为该虫的鉴定依据,符合第 9 章形态鉴定特征及测计值的线虫可判定为短颈剑线虫,其寄主和地理分布(参见附录 A)等信息可供参考。

11 样品保存

若鉴定为短颈剑线虫,则将剩余的线虫杀死、固定制成永久玻片保存;也可以用 4% 甲醛固定后长期保存。标签上应注明样品编号、种名、寄主、产地、制作人和制作时间等。

对已鉴定出带有短颈剑线虫的植物材料,要保存在 5℃~10℃ 及防鼠防虫处,并标明样品编号、截获日期、截获人、寄主名称、运输工具名称、输出国名等,样品需至少保存 6 个月,以备复验、谈判和仲裁。

附 录 A
(资料性附录)
短颈剑线虫的寄主和分布

A.1 短颈剑线虫的寄主

大叶相思(*Acacia auriculaeformis*)、羊蹄甲(*Bauhinia blakeana*)、秋枫(*Bischofia javanica*)、柑橘(*Citrus reticulata*)、咖啡(*Coffea arabica*)、龙眼(*Dimorcarpus longan*)、红背桂(*Excoecaria cochinchinensis*)、草莓(*Fragaria ananassa*)、番茄(*Lycopersicon esculentum*)、灰木莲(*Magnoliaceae glanca*)、悬钩子(*Rubus* spp.)、鸡蛋花(*Plumeria rubra*)、石楠(*Photinia serrulata*)、樱桃(*Prunus pseudocerasus*)、梨(*Pyrus* spp.)、葡萄(*Vitis* spp.)等。

A.2 短颈剑线虫的分布

欧洲:俄罗斯、西班牙、保加利亚、意大利、匈牙利、波兰、斯洛伐克、罗马尼亚;
非洲:毛里求斯、南非、肯尼亚、马拉维;
美洲:美国、巴西、委内瑞拉、秘鲁、洪都拉斯;
亚洲:乌兹别克斯坦、以色列。

附 录 B
(资料性附录)
美洲剑线虫组多歧检索表

美洲剑线虫组多歧检索表见表 B.1。

表 B.1 美洲剑线虫组多歧检索表(引 GB/T 28091—2011)

序号	<i>Xiphinema</i>	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	<i>X.bacaniboia</i>	1	3	4	1	2/3	1	2	3	2/1	2
2	<i>X.himalayense</i>	1	3	3	1	1/2	1	2	3	2	2
3	<i>X.inaequale</i>	1	2/1	2/1	2/1	1/2	1	2/1	3/2	2	1
4	<i>X.laevistriatum</i>	1	2/3	1	2/3	1	1	1	1/2	3/2	1
5	<i>X.luci</i>	1	2	2	2/1	1	1	2/1	2/1	2/1	2
6	<i>X.minor</i>	1	1/2	1	3/2	1	1	1	1/2	2	1
7	<i>X.neoamericanum sp.inq.</i>	1	2/1	1	1	1	1	1	/	/	/
8	<i>X.rivesi</i>	1	2	1/2	2/3	1/2	1	1	2/3	3/2	2
9	<i>X.silvaticum</i>	1	2/3	3	1	2/3	1	2	/	3/2	2
10	<i>X.americanum sensu stricto</i>	2	2/1	1/2	3	1	1/2	1	2/1	3/2	1
11	<i>X.brevicollum</i>	2	3/2	3/2	1	2/3/1	1	2	3	2/1	2
12	<i>X.brevisicum</i>	2	3/2	1	4	3/2	3	1/2	1/2	3	1
13	<i>X.bricolense</i>	2	2/3	2/1	2/3	2/3	1/2	1/2	2/1	3	1
14	<i>X.californicum</i>	2	2/3	2	3/2	1/2	1/2	2/1	3/2	2	1
15	<i>X.citricolum</i>	2	2	2/1	3/2	2/1	1	1	2/1	3	1
16	<i>X.diffusum</i>	2	2	2/1	1	1	1	2	2/1	1/2	2
17	<i>X.duriense</i>	2	2	1	4/3	3	2/3	1/2	2/1	2/3	1
18	<i>X.floridae</i>	2	2	2	2	1	1	1/2	2/3	2/3	1
19	<i>X.fortuitum</i>	2	3	3/2	3/4	2/1	3/2	2	3/2	3	1
20	<i>X.franci</i>	2	1/2	2	2/3	2/1	1	1	3/2	2	1
21	<i>X.georgianum</i>	2	2/3	3	2	2/1	1	2/1	3	2/3	1
22	<i>X.incertum</i>	2	2/3	2	2/3	3/2	1/2	2/1	2/3	1/2	2
23	<i>X.incognitum</i>	2	2/3	2/1	1/2	1	1	2/1	2/3	2	2
24	<i>X.intermedium</i>	2	2/1	1	2/3	1/2	1	1	2/1	2/3	1
25	<i>X.kosaigudense</i>	2	1	1	/	1	1	1	2/3	/	1
26	<i>X.lambertii</i>	2	1	1	3/4	2/1	1	1	1	/	1
27	<i>X.longistillum</i>	2	3	3	2/3	3/2	2/3	2	3	3	1
28	<i>X.madeirense</i>	2	3	3/2	3/4	2/3	2/3	1/2	3/2	3	1
29	<i>X.mesostilum</i>	2	3	2/3	2/3	3/2	3	2	3/2	1/2	1

表 B.1 (续)

序号	<i>Xiphinema</i>	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
30	<i>X.microstylum</i>	2	3	1	3	3/2	3/2	2	2/1	3	1
31	<i>X.neoelongatum</i>	2	1/2	1	3/2	2/3	1	1	2/1	/	1
32	<i>X.occiduum</i>	2	3	1	2	1	1/2	2/1	2/1	2/3	2
33	<i>X.opisthohysterum</i>	2	2	1	3/4	3	1/2	1/2	1	3	1
34	<i>X.oxycaudatum</i>	2	2/1	1/2	3/2	1/2	1	1/2	2/3	3	1
35	<i>X.pachtaicum</i>	2	2	1/2	3/2	3/2	2/1	2/1	2/3	2/1	1
36	<i>X.pachydermum</i>	2	3/2	1/2	2/3	3	2/1	2	2/1	2/3	1
37	<i>X.pacificum</i>	2	2/3	1/2	3/2	2/1	2/1	1/2	2/3	3	2
38	<i>X.pakistanense</i>	2	1/2	1	2/1	1/2	1	1/2	1/2	2/1	1
39	<i>X.paramonovi</i>	2	3/2	3/2	1/2	1/2	1	1/2	2/3	3	2
40	<i>X.parvum</i>	2	2/1	2	2/1	2/1	1	2/1	2/3	1	1
41	<i>X.peruvianum</i>	2	2	2/1	2	1/2	1	1/2	2/3	2	1
42	<i>X.pseudoguirani</i>	2	2/3	3	1	2/3	1	2	3	1	2
43	<i>X.santos</i>	2	2	1/2	3	1/2	1/2	1/2	2	3/2	2
44	<i>X.sharmai sp.inq.</i>	2	3	2/3	/	3/2	/	2	/	3	2
45	<i>X.sheri</i>	2	2	2/3	1	2/3	1	2/1	3	1	2
46	<i>X.simile</i>	2	2/3	1	3	2/1	2/3	2/1	1	2	2
47	<i>X.tarjanense</i>	2	1	1/2	3/2	2/3	1	1	2/1	3/2	1
48	<i>X.taylori</i>	2	3/2	2	1	1	1/2	2	3/2	2/1	2
49	<i>X.tenuiculis</i>	2	2	1	2/3	1	1	2/1	1/2	2	1
50	<i>X.thornei</i>	2	2/3	1	2	1	1/2	2/1	2/1	2	2
51	<i>X.utahense</i>	2	3/2	2	2/3	2/1	2/1	2/1	3/2	3/2	2

注：特征取值及其与其相应的代码结果：

A:1. 唇区与体壁连续,无缢缩 2. 唇区与体壁不连续,缢缩

B:1. 体长<1.5 mm 2. 1.6 mm≤体长≤2.0 mm 3. 体长>2.0 mm

C:1. 齿尖针长度<86 μm 2. 86 μm≤齿尖针长度≤100 μm 3. 101 μm≤齿尖针长度≤150 μm

4. 齿尖针长度<150 μm

D:1. c' 值<1.1 2. $1.2 \leq c'$ 值 ≤ 1.5 3. $1.6 \leq c'$ 值 ≤ 2 4. c' 值>2

E:1. $48 \leq V$ 值 ≤ 52 2. $53 \leq V$ 值 ≤ 56 3. V 值>56

F:1. a 值<60 2. $61 \leq a$ 值 ≤ 80 3. a 值>80

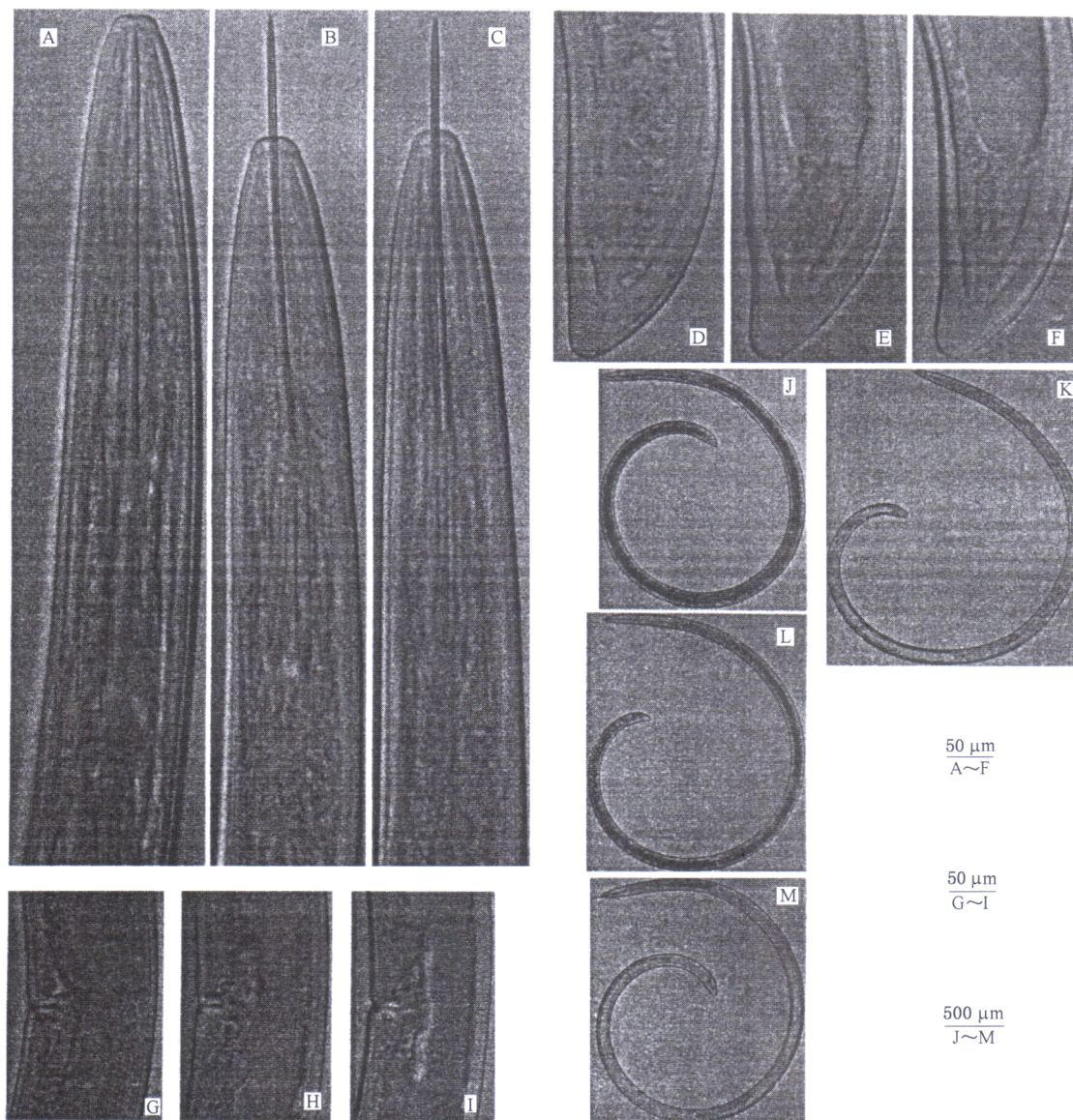
G:1. c 值<60 2. c 值>60

H:1. 口孔到基部导环距离<61 μm 2. $61 \mu\text{m} \leq$ 口孔到基部导环距离 $\leq 75 \mu\text{m}$ 3. 口孔到基部导环距离>75 μm

I:1. 尾长<27 μm 2. $27 \mu\text{m} \leq$ 尾长 $\leq 32 \mu\text{m}$ 3. 尾长>32 μm

J:1. 尾末端尖 2. 尾末端圆

附录 C
(资料性附录)
短颈剑线虫的形态特征图



说明：

A~C —— 头部；

D~F —— 尾部；

G~I —— 阴门；

J~M —— 雌虫整体。

图 C.1 *X. brevicollum* 雌虫形态特征图(引自 Hiromichi Sakai)

参 考 文 献

- [1] 刘维志.植物线虫志.北京:中国农业出版社,2004.
 - [2] 武杨.中国剑线虫属主要种群的形态学与分子分类研究(浙江大学博士学位论文).杭州:浙江大学,2007.
 - [3] Lamberti F,Ciancio A,Agostinelli A,*et al.*Relationship between *Xiphinema brevicolle* and *X.diffusum* with a redescription of *X.brevicolle* and descriptions of three new species of *Xiphinema* (Nematoda:Dorylaimida).*Nematologia Mediterranea*.1991,19:311~326.
 - [4] Luc M,Coomans A,Loof P A A.The *Xiphinema americanum*-group(Nematoda:Longidoridae) 2.Observation on *Xiphinema brevicollam* Lordello da Costa,1961 and comments on the group.*Fundmental and applied Nematology*.1998,21:475~490.
 - [5] Shesh Kumari,Wilfrida Decraemer,Francesca De Luca.Molecular characterization of *Xiphinema Brevicollum* (Nematoda:Longidoridae) from the Czech Republic;*Eur J Plant Pathol*.2010,128:243~250.
 - [6] Hiromichi Sakai,Ai Takeda,Takayuki Mizukubo,First report of *Xiphinema brevicolle* Lordello et Costa,1961 (Nematoda,Longidoridae) in Japan,*ZooKeys*.2011,135:21~40.
-