

根结线虫会阴花纹的染色方法

张靠稳¹, 贾振华²

(1. 北方民族大学 生命科学与工程学院, 宁夏 银川 750024; 2. 福州大学 生物科学与工程学院, 福建 福州 350002)

摘要: 会阴花纹是根结线虫种类鉴定的主要依据, 它的纹路变化对于判断根结线虫的种类具有重要意义。由于根结线虫的个体小, 在进行会阴花纹的制片和显微观察时, 常常遇到制作易败, 观察模糊的现象, 因而种类的正确鉴定受到较大影响。在会阴花纹的常规制片基础上, 从根结线虫成虫的获得、会阴花纹的切取、片子的制作等方面进行了一定的改进, 主要是用甲烯蓝对其会阴花纹进行了处理, 其结果与未处理的相比, 具有制作简单、快捷, 显微观察纹路清晰、图案易辨、利于判断等优点, 对于根结线虫的种类鉴定有一定的应用价值。

关键词: 鉴定; 会阴花纹; 染色

中图分类号: Q 94-34 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-0009(2008)03-0207-02

会阴花纹是根结线虫种类鉴定的主要形态特征^[1], 由于它位于成虫虫体后部的阴门和肛门的体壁周围, 纹路细微、密集, 体壁透明, 传统的会阴花纹切片制作是将切下的虫体后部直接压片观察, 此法总是遇到会阴花纹的纹路模糊、走向不清、整体图案类型不好判断的状况, 在一定程度上影响了种类鉴定的准确性。

在会阴花纹的常规制作^[1]基础上, 对其进行染色, 目的在于探索能否获得纹路清晰、图案易辨的会阴花纹样本, 为根结线虫种类的鉴定提供简单、快捷、有效的方法。

1 材料与方法

1.1 样品来源

宁夏贺兰山农牧场温棚。病害发生中后期, 采集黄瓜病株根样, 保存^[3]于-4~0℃下, 待用。

1.2 成虫的挑取

取出保存的病根, 4℃下解冻。首先将根结线虫的表皮用镊子或针尖轻轻拨开, 使拨开的根面尽量宽阔, 然后将剖面放在解剖镜下观察, 剖面上乳白色的光滑球状物即为根结线虫的雌虫, 用解剖针轻轻拨出, 放入水中待用。

1.3 虫体的切分

在载玻片上滴1滴1%的肥皂水, 以减小水的张力, 便于下刀。用自制毛细吸管从放有雌虫的样瓶中吸出一只雌虫, 放入上述肥皂水滴中, 在解剖镜下, 用解剖刀从虫体后部约1/4处轻轻切下, 使虫体前后两部分完全分开后, 将刀推向虫体前部一方便之远离切下的虫体后部, 移动载玻片使留下的虫体后部位于解剖镜视野中

央。

1.4 杂物的清除

在解剖镜下, 向留下的虫体后部处加1小滴1%的肥皂水。两手各握一把挑针, 用左手挑针针尖拨动虫体后部, 使其切口向上, 并轻轻按住, 用右手挑针针尖轻轻清除虫体切取部内腔的杂物, 清除干净后, 使切口向下, 轻轻展开, 避免重叠, 盖上盖玻片, 显微镜下检查目标后, 以备染色。

1.5 染色

用吸水纸吸掉制好的载玻片上多余的水分, 从盖玻片一边加上1小滴1%的甲烯蓝染液, 稍微倾斜载玻片, 使染液慢慢扩散到盖玻片与载玻片之间, 染色60 min (也可自然风干)后, 用手轻轻按住载玻片和盖玻片, 于自来水下, 从盖玻片一边轻轻冲洗染液, 使载玻片和盖玻片间的染液冲完为止, 于显微镜下观察。

2 结果与分析

根结线虫会阴花纹染色前后的显微观察状况如图1、2。图1、2是同一张会阴花纹样本染色前后的显微观察效果, 结果表明经过染色后的会阴花纹纹路清晰、

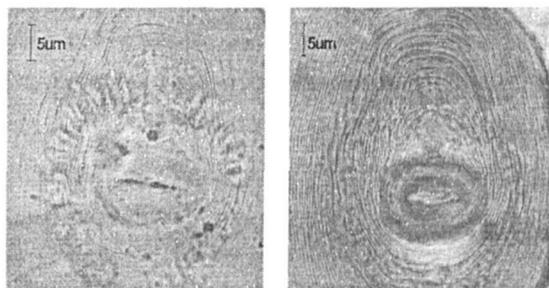


图1 未染色的会阴花纹 图2 染色后的会阴花纹

第一作者简介: 张靠稳(1962-), 男, 本科, 副教授, 主要研究温室蔬菜病害, 现从事植物生理学本科教学工作。E-mail: zkw620821@yahoo.com.cn

收稿日期: 2007-09-03

近郊保护地蔬菜根结线虫调查及应对措施

刘翠珍

(河北旅游职业学院 生物工程系, 河北 承德 067000)

摘要: 已经成为设施蔬菜生产的重大障碍, 其发病原因主要是菜地连年重茬种植和不规范的使用农药。根结线虫危害多种蔬菜, 减产, 减效益很严重。所以要求采取以农业防治为主的综合防治措施。

关键词: 保护地; 根结线虫; 调查; 防治

中图分类号: S 436.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)03-0208-02

通过对承德市近郊老菜区的 5 栋温室的西红柿的根结线虫发生情况进行调查, 结果显示: 西红柿病株率在 50%~60%, 其中一个温室达到 90%, 减产在 20%~50%, 严重的绝产。目前, 根结线虫已经成为设施蔬菜生产的重大障碍, 特别是老蔬菜产区, 随着连年重茬种

植, 线虫病的发病程度逐年上升。有的棚已经不能继续种植。

1 发病原因

根结线虫在老菜区发病比较严重的主要原因是: 保护地设施常年生产, 复种指数高, 菜地没有休整的过程。露地生产时, 冬季寒冷的天气可以把虫卵冻死, 以减少来年虫口密度; 此外, 夏季的雨水冲刷也可以带走一部分虫卵。而这些在保护设施里是无法做到的, 从而导致保护设施发病越来越严重。另外, 有些蔬菜种植户不注

作者简介: 刘翠珍(1972-), 女, 讲师, 主要从事蔬菜科研与生产。

E-mail: liucuizhende7294@126.com.

收稿日期: 2007-09-25

图案易辨, 利于观察、判断。

由于花纹的凸凹不平, 染液干燥后, 染料的沉积程度不同, 冲洗后, 凸凹处留下的染料多少有别, 形成了一定的反差, 加大了凸凹的区别, 使得会阴花纹纹路清楚, 图案易辨, 克服了不染色纹路模糊、图案不清的状况。

3 小结与讨论

试验表明上述方法是根结线虫会阴花纹显微观察的好方法, 简单、快捷、有效, 此方法对于根结线虫种类的快速鉴定具有一定的实际应用价值。

由于根结线虫成虫呈球状, 切下的部分仍为立体状, 如果过大, 加盖盖玻片后, 压成平面, 易出现皱折或

重叠, 冲洗染液时, 重叠处染料不易冲掉, 出现色重现象, 不利观察, 因此, 虫体切分时, 在不影响会阴花纹完整的情况下, 切取部越小越好。

其它生物染料是否比甲稀蓝的染色效果更好, 有待进一步研究。

参考文献

- [1] 王东昌, 赵洪海, 刘维志. 根结线虫分类手段的研究概况[J]. 莱阳农学院学报, 2000, 17(4): 250-254.
- [2] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 398-399.
- [3] 陈书龙, 李秀花, 马娟. 河北省根结线虫发生种类与分布[J]. 华北农学报, 2006, 21(4): 91-94.

Method of Dyeing Perineal-striae of Root-knot Nematodes

ZHANG Kao-wen¹, JIA Zhen-hua²

(1. College of Life Science and Engineering, the North University for Nationalities, Yinchuan 750021, China; 2. College of Biological Science and Technology, Fuzhou University, Fuzhou, Fujian 350002, China)

Abstract: Perineal-striae are very important for the species identification of root-knot nematodes. But the root-knot nematodes are very small. And it was difficult to make slices about vulva striae of root-knot nematodes now. In this article, we improved the traditional methods in slicing, cutting, dyeing. Especially, the new last step-dyeing with Methylthionine Chloride was very important for quality of Slices. After the dyeing, perineal-striae became clearer. At the same time, it was conducive to get a better result.

Key words: Identification; Perineal-striae; Dyeing