

植物和土壤线虫实验法

古 德 伊 著

农 业 出 版 社

植物和土壤线虫实验法

古 德 伊 著

畢志樹 陸明賢 宋定蕃 譯
關廣清 楊維琇

陈 世 昌 校 訂

农 业 出 版 社

J. Basil Goodey, Ph. D.
LABORATORY METHODS FOR
WORK WITH PLANT AND SOIL
NEMATODES

London

Her Majesty's Stationery Office

1957

根据英国皇家出版社 1957 年英文版本译出

植物和土壤线虫实验法

[英] 古德伊著

畢志樹等譯

陈世昌校訂

农业出版社出版

北京老錢局一号

(北京市书刊出版业营业許可証出字第 106 号)

新华书店上海发行所发行 各地新华书店經售

上海大东集成联合印刷厂印刷装订

統一書号 13144·155

1964 年 6 月北京制型

1964 年 9 月初版

1964 年 9 月上海第一次印刷

印数 1—6,000 册

开本 860×1168 毫米

三十二分之一

字数 60 千字

印张 二又八分之七

定价 (科六) 四角六分

譯者的話

解放以來，由於黨和政府的重視，我國在植物綫蟲病害的防治和研究工作上已取得了不少成就。這次我們翻譯了這本英國著名綫蟲學者古德伊(J. B. Goodey)的著作，相信對我國目前的植物保護和植物綫蟲方面的科學工作者可能有一定的參考價值。

初稿是按照英文本翻譯的，譯後參照俄譯本作了校訂，增譯俄譯本的前言和俄譯注釋。並採用俄譯本的方式將引用參考文獻以數字代號附在相應的正文中，把原來集中的插圖也分散在相應的章節內。

由於譯者知識領域的狹窄，並受翻譯水平的限制，在譯文中必然有許多不妥當以及錯誤之處，敬請讀者給予指正。

譯者

1963年7月於沈陽農學院

俄譯本对本书的簡介

这是一本植物綫虫和土壤綫虫研究方法的有价值的参考书。书中叙述了綫虫的采集、分离、保存和研究方法,这些方法均系英国农业部、漁业部以及食品部为在綫虫学范围内統一試驗工作方法所推荐的。

这本书无疑地会引起从事于植物綫虫和土壤綫虫工作的广大农业专家和生物学家的兴趣,同时本书也是农业技术专科学校、农业高等学校、綜合大学和师范学院生物系师生的很有价值的参考书。

俄譯本序

近年来植物寄生綫虫学——关于植物綫虫的科学——的重要性显著提高。很多植物病原綫虫对我国来讲都是极其重要的，其中包括有露地和保护地的根結綫虫，甜菜、馬鈴薯和燕麦的胞囊綫虫，洋葱、大蒜、馬鈴薯、草莓和福祿考（Флокс）的莖綫虫，观赏植物的滑刃綫虫、柑橘綫虫以及广泛分布在很多地区的在田間以及在儲藏过程中造成相当損失的其他类型綫虫。

研究植物綫虫，特别是植物寄生綫虫，漸漸成为植物保护事业中具有现实意义的一项重要任务。当然，与此相关的植物綫虫的研究技术问题也就具有很大的意义。有关綫虫研究技术的文献資料是很多的。值得讀者注意的是英国罗森斯迭特試驗場綫虫学者約翰·古德伊的著作，它十分确切而且全面地反映了研究植物綫虫的基本原則和方法，因此无疑地，对正在迅速成长的苏联植物寄生綫虫学队伍，必然十分有益。同样，本书对其他专业的动物学者，其中包括研究土壤动物区系的专家，也一定会有很大的用处。

本书作者約翰·古德伊在书中应用了很有趣的闡述方法。从书的首頁到末頁，讀者可以看到內容是按照工作的先后順序过程而进行叙述的，即自材料的采集开始，到由土壤和植物中取得綫虫，經過相应的处理和研究，最后讲到綫虫的繪图方法。书中全部工作过程是根据其原有的和必要的順序而进行闡述的。这种描述和記錄材料的方法使本书成为我們工作人員的极其有价值、有实际意义的参考书；其次本书第二个有趣味和有教益的特点是用日常生活中习見的很多物品或其零件創制各种设备裝置的精神。苏

联讀者十分珍視本书的这种特点，并将用以發揮于本身的实际工作中。最后必須指出，书中有很多有趣的处理綫虫的方法，这些方法无疑地会改进标本的质量。同样，作者关于将显微鏡技术改用于专门研究綫虫方面的很多宝贵意見，也是必須予以指出的。这些研究綫虫的設備和方法，在文献目录所列举的著作內有更为詳尽的叙述。

我們希望，本书对苏联植物綫虫学者会有所裨益，并将促使其改进工作。

A. A. Парамонов. 教授

序

适用于植物和土壤綫虫的研究方法和技术并不是大家都熟悉的，因此，作者试图在这本册子里把已証明适用的方法搜集在一起。这些方法在罗森斯迭特(Rothamsted)試驗場經常采用，同时，其中許多方法通过多年試驗，已証实了它們的价值。有些方法是我們綫虫学系的成員所首創和发展的；另外一些，例如貝尔曼(Baermann)漏斗法、采集綫虫的过篩技术以及用鉍酸在根和嫩茎組織內进行綫虫染色的方法等則系引自他人的資料。

这本册子第一版和第二版是已故的古德伊(T. Goodey)博士所著的，而这第三版則由其子，現任职罗森斯迭特試驗場綫虫学系，約翰·巴茲尔·古德伊(J. B. Goodey)博士整理。

在重写这本册子时，借此机会扩大了这项工作的范围。自1951年第二版刊行以来，又有了很多新的技术和旧技术的修訂，所有这些都已編入这本册子里。有些目前已过了时的或用处較少的方法已予刪去，有的則列入参考文献。此外，某些更专门的技术則作为参考文献加以引証。

这本册子內的資料主要是为了内部工作需要而汇集的。但由于經常收到外地要求介紹有关采集和处理綫虫的方法，把这些方法刊印出来介紹給更广泛的讀者，看来是合适的。

哈彭登罗森斯迭特試驗場場长

哲学博士，文学碩士，法律博士威廉 G. 奥格爵士

1956年11月

作者謝詞

作者由衷地感謝許多同事共同參與了本書的審查、討論，並感謝他們在本書編寫過程中所給予的始終如一的鼓勵。作者也竭誠感謝：賽因豪斯特 (J. W. Seinhorst) 博士提供了他從土壤中定量分離綫蟲的方法的細節和為體視顯微鏡裝備照明的方法；芬威克 (D. W. Fenwick) 博士提供了馬鈴薯綫蟲孢囊孵化試驗作法的細節；黑斯林 (J. J. Hesling) 先生提供了用機械滾轉法從雜屑中分離胞囊的細節；根特的基普斯 (R. H. Kips) 先生提示作者以削尖的翎管牙簽用作挑取綫蟲的處理針的優點；美國特克薩斯州 (Texas) 韋斯拉科 (Weslaco) 的下格蘭德 (Lower Rio Grande) 試驗場植物病理學家戈弗雷 (G. H. Godfrey) 博士提供有關用二氯二乙醚水溶液進行麻醉的方法的資料，鹽湖 (Salt Lake) 城杰勒耳德·桑 (Gerald Thorne) 先生在綫蟲過篩技術示范上，在殺死、處理和封藏細節方面以及為觀察端部構造的綫蟲頭部標本製備法上所給予的實際幫助。

1956 年 11 月

目 录

譯者的話

俄譯本对本书的簡介

俄譯本序

序

作者謝詞

材料的收集和綫虫的分离.....	1
收集和保存(1)	1
植物材料在水中挑开(2)	1
貝尔曼(Baermann)漏斗法(3—6)	1
賽因豪斯特分离器——噴霧器(7)	4
过篩技术(8—17)	4
从土壤样品中提取綫虫的烏斯頓布林克技术烏斯頓布林克 (<i>Oostenbrink</i>), 1954 (18—21)	7
賽因豪斯特定量分离土壤綫虫法(22—42)	8
机械浸漬技术(43—44)	12
綫虫的过滤(45—46)	13
根解技术(47—48)	13
其他分离方法的参考文献(49)	13
土壤內胞囊綫虫(<i>Heterodera</i>)群体的估計.....	15
取样(50—52)	15
自土壤中漂浮胞囊法(53—71)	15
胞囊的大量分离(72)	20

① 括弧內数字, 指正文內的各节号数。

产生大量綫虫胞囊法(73—74)	20
綫虫胞囊分离法(75—81)	21
測定綫虫胞囊內幼虫含量法(82—85)	24
用馬鈴薯金綫虫(<i>Heterodera rostochiensis</i>)胞囊作为試驗有机体的 孵化法(86—93)	26
对其他胞囊綫虫需要作的修改(94—97)	27
馬鈴薯根滲出物的收集(98—100)	27
其他研究多种胞囊綫虫方法的参考文献(101)	28
計数	29
总述(102)	29
体視显微鏡的照明(103—104)	29
綫虫胞囊計数盘(附有杂屑或无杂屑)(105)	30
改进的麦克馬斯特(<i>macmaster</i>)計数玻片(106—116)	30
綫虫的处理	35
处理用針(117—118)	35
麻醉(119)	36
杀死和固定(120—122)	36
固定剂(123—126)	37
染色、保存(127—137)	39
石蜡包埋(138—147)	43
封藏	46
鋁质双层盖片載片(148—149)	46
临时性封藏(150—151)	46
永久性封藏(152—154)	47
观察前端构造的綫虫头部的封藏(155—165)	48
根結綫虫(<i>Meloidogyne</i> spp.)各个种的“会阴花紋”(166—171)	49
胞囊綫虫(<i>Heterodera</i> spp.)各个种的“会阴花紋”(172—174)	50
植物組織中的綫虫染色	52
总述(175)	52
棉染蓝乳酸酚(176—185)	52
弗来明氏液(186—194)	53

用溶于70%乙醇的猩紅 R (<i>Scarlet R</i>) 液处理的嫩枝 (195—200)···	54
培养	55
培养綫虫用的洋菜培养基 (201—206)	55
短体綫虫 (<i>Pratylenchus</i> spp.) 的培养 (207—210)	56
用馬鈴薯茎綫虫 (<i>Ditylenchus destructor</i>) 接种馬鈴薯块茎 (211— 212)	56
培养綫虫用于杀綫虫剂的检定 (213—218)	57
綫虫繪图	59
繪图仪器和显微鏡 (219—221)	59
显微鏡和照灯的安装使用 (222—229)	60
入射照明 (230—239)	61
測量繪图 (240—241)	62
測量公式 (242—244)	62
出版用繪图 (245—253)	64
文献	66
名詞索引	75

材料的收集和綫虫的分离

收集和保存

1. 聚乙烯袋是收集感染有綫虫材料的优良容器。它几乎不会丧失水分, 坚韧, 易于携带, 并可邮寄。它能很好的装运从泥土里挖起来的各种植株。含有或不含有植物根的土壤样品也能用这样的袋子很好地装运。感染有綫虫的植物材料和含有綫虫的土壤, 可以貯存在約 4 °C 的冰箱中, 而不会有多大的损坏。

植物材料在水中挑开

2. 将选择好的材料浸在盛有水的揭开盖的培养皿或小、圓形玻璃皿內, 用解剖針(硬鋼針)小心地将其挑开。此項操作最好在解剖顯微鏡下进行, 这样可以看清綫虫在植物組織內的位置。綫虫进入水內, 可用处理針(118)①, 或用細吸管收集。把培养皿靜置一小時左右, 然后再检查。

貝尔曼(Baermann)漏斗法

3. 此法的基本装置为一适当直径的漏斗, 漏斗頸末端接一段橡皮管, 用霍夫曼(Hoffmann)夹或弹簧夹把管夹住。漏斗擱在支架上, 其內盛滿清水②。把含有綫虫的植物材料切成小段, 放在一块方形的薄紗布中包起来, 輕輕地浸入漏斗中的水內。綫虫从

① 圓括弧內数字表示条数索引——俄文譯注。

② 在田間情况下, 池水应当事先经过过滤, 从而預防池水內的綫虫滲入貝尔曼漏斗——俄文譯注。

植物組織中逸出，經紗布而沉落到漏斗頸底。經几小时或过一夜后，让少量水流出，这些水里就含有綫虫^①。

4. 有許多改进和补充此法的方法，下列系其中的两种(图 1 和 3)。

5. 克里斯蒂(Christie)和佩里(Perry)(1951)^[15]用細紗布制成半圓形的布袋，袋口系結在 10 号規格(橫截面为 3.2 毫米)鍍鋅綫的圈上，圈的直径小于漏斗口。裝有此袋的漏斗，可直接代替薄紗布(3 节)，或者用来从土壤(15 节)中或泡过的植物組織(43 节)所得的悬浮液中过滤綫虫。代在攔有布袋的漏斗內，加一些清水，以淹沒袋的下半部为度。然后将混有綫虫的悬浮液倒入袋內。



图 1 貝尔曼漏斗

左——裝有克里斯蒂和佩里紗布袋。

右——裝有斯坦尼兰德銅絲網篩和封閉的毛細管。

6. 斯坦尼兰德(Staniland)(1954)(92)在一小段直径为 2.5—3

① 貝尔曼漏斗的处理時間，必須根据季节、實驗室溫度以及取得綫虫的植物組織特性等而定。尤其在要获得活的材料时，这样作是十分重要的。柔弱的小杆綫虫(*Rhabditis*)在从洋葱組織提取出来以后的数小时內，不仅全部死亡，甚至部分个体已經腐解，而在寄生性的垫刃綫虫(*Tylenchus*)的腸內尚可观察到死后脂肪粒在形态上变为畸形的情况。綫虫还受到植物組織抽出物(植物杀生素)的抑制。因此最好大約每隔三小时，从漏斗中放出一部分水，放在培养皿內，并在双目解剖鏡下檢驗这部分水中的內含物，同时以同量新鮮水注入漏斗，借以减低溶质的浓度，使綫虫易于从組織內逸出。——俄文譯注。

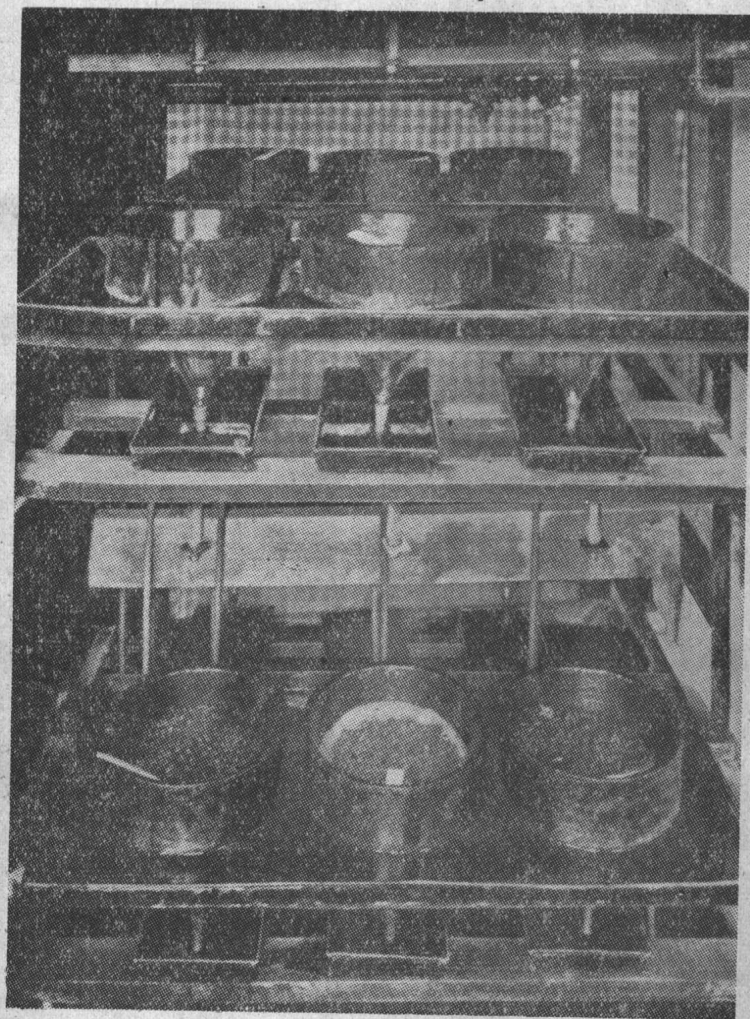


图 2 在使用中的赛因豪斯特 (Seinhorst) 分离器。
接在自来水管上的喷油嘴把水喷洒到每一筛子上。
筛内盛有要分离的材料。筛搁在位于漏斗之上的一个
锌浅盘内。每一漏斗均通到一个单独的装有 2 个
排水器和一个流溢管的收集盘内。

吋的銅管底上，焊接一塊細銅絲網，制成一個小圓篩，以代替克里斯蒂和佩里的布袋。他又用一根毛細管接在貝爾曼漏斗的橡皮管的下端。應用時，把毛細管提高一些，用本生燈封閉毛細管口。以後把橡皮管上的夾子鬆開，不要再夾住，讓水和綫蟲流入封閉的毛細管底部。在取出逸出來的綫蟲時，要把夾子夾住橡皮管，然後打破玻璃管尖端，讓它掉到事先安放在下面的玻璃皿里。再稍稍鬆開夾子，則在毛細管的破口處，會形成一滴含有綫蟲的水滴；收集這一水滴。關閉夾子，並把毛細管口再封閉。這樣的操作可重複數次。

安德森(Anderson)和Yamagihara (1955)^[1]，卡文尼斯(Caviness)和詹遜(Jensen 1955)^[12]，奧佛加德(Overgaard 1948)^[67]；倫康南(Renkonen 1949 a, 1949b)^[74, 75]等人記述了一些以貝爾曼法為基礎的其他方法。

賽因豪斯特分離器——噴霧器

7. 貝爾曼漏斗法的缺點之一是：逸出來的綫蟲可能因漏斗管底部缺氧而死去。賽因豪斯特(1950)^[80]設計出一種裝置，克服了这个缺點。這個裝置是將新鮮或風干的含有靜止綫蟲的罹病植物材料，擱在一個篩里，而這個篩則是放在一個漏斗上，用水霧慢慢地噴濕植物。水集聚在漏斗下的扁平淺盤中。盤側裝有析流板，使多余水流出去，綫蟲留存在盤底部的淺水層內。水霧是利用自來水的壓力，使水從噴油嘴噴出而成。噴出的水霧直接噴洒在要提取的材料上。另有裝置使落在篩的四周的多余水流走。圖2是裝置在羅森斯迭特試驗場內綫蟲學系的賽因豪斯特裝置。

過篩技術

設備

8. 10—12吋搪瓷盆兩個；用銅，黃銅或磷青銅絲濾網制成的6吋篩子7個，每平方吋篩孔分別為16, 25, 50, 100, 160, 250和400

(篩孔尺寸相当于1毫米, 690, 240, 140, 65, 55 和 30 微米); 6 吋盘子 1 个; 250 毫升烧杯 6 个, 100 毫升烧杯(不是必备的) 6 个; 过篩用布或綢一块(图 3)。



图 3 过篩技术设备

步骤

9. 把綫虫液倒在篩子內过滤时, 要用最少量的水迅速冲洗, 否則就会損失綫虫。可用最細的过篩布代替最細的銅篩^①。篩布是夹在无底的两个盘的中間。使用細篩以前, 必需先用水湿润, 再从一定的高度倒入一般細水流以助过滤。最細的篩在倒水时要斜置, 使其与水流成一定角度, 而不是成直角, 因为在这样傾斜的篩

① 可用最大号的細紗代替之。——俄文譯注。

② 即不透過篩子。——俄文譯注。