

黑 龙 江 省 地 方 标 准

DB23/T XXXX—XXXX

植物寄生线虫趋化行为观测技术规程

（征求意见稿）

起草单位：中国科学院东北地理与农业生态研究所

农业技术中心

联系人：李春杰

联系电话：13703620177

联系邮箱：lichunjie@iga.ac.cn

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

黑龙江省市场监督管理局 发布

前 言

本文件按照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。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由黑龙江省农业农村厅提出。

本文件起草单位：中国科学院东北地理与农业生态研究所农业技术中心、黑龙江省农业科学院大庆分院、铁力市农业农村局。

本文件主要起草人：李春杰、王从丽、黄铭慧、姜野、周长军、谢倚帆、常豆豆、秦瑞峰、蒋丹、韦柳利、王旋、吴黎黎、徐彬钰。

植物寄生线虫趋化行为观测技术规程

1 范围

本文件规定了植物寄生线虫趋化行为测定技术中的术语和定义、泊洛沙姆（Pluronic）胶的配制、线虫胶悬液的配制、线虫对植物根的趋化行为观测和线虫对化学物质的趋化行为观测。

本文件适用于植物寄生线虫趋化行为测定。

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。

DB23/T 2476 大豆孢囊线虫病抗性室内鉴定方法

DB23/T 3185 设施番茄根结线虫病抗性鉴定技术规程

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

化学分配器

是指微量移液器枪头的两端各切掉 1 cm，将含有不同浓度化学物质的泊洛沙姆（Pluronic）胶注入其中的装置。

4 泊洛沙姆（Pluronic）胶的配制

将2瓶装含有400 ml的无菌水于4℃-10℃冷藏柜内预冷至少4 h，将1个无菌搅拌子放入其中一个瓶内，称取Pluronic胶粉230 g加入该瓶中，再将另一瓶400 ml无菌水加入该瓶中Pluronic胶粉上方，将其置于4℃-10℃的磁力搅拌器上（100-150转/min）搅拌过夜至全部溶解呈透明液体。

5 线虫胶悬液的配制

根结线虫和大豆孢囊线虫的培养及线虫的获得分别按照DB23/T 3185和DB23/T 2476执行。按照每毫升胶中含有300-500条线虫，将孵化后3 d以内的线虫沉淀，去上清后将线虫加入胶中，将其置于4℃-10℃的磁力搅拌器上（150转/min）搅拌20 min-30 min，备用。

6 线虫对植物根的趋化行为观测

6.1 线虫趋化反应器设置

将直径为 6 cm 的无菌培养皿置于冰上，吸取线虫胶悬液 10 ml 于培养皿内。用无菌刀片切下不同植物表面干净的根尖 2 cm-3 cm，置于培养皿胶悬液中央，每皿内放置 1 个根尖，每种植物根至少重复 4 皿，取出冰上所有培养皿，置于 25 ℃ 恒温培养观察。

6.2 线虫对植物根趋化行为观测

4 h、8 h、12 h 和 24 h 显微镜下调查和拍照，调查距离根尖 1 cm 内根表线虫数量，并拍照，计算线虫的吸引率。

吸引率按式（1）计算：

$$P = \frac{A}{S} \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

P ——吸引率（%）；

A ——根表线虫数量；

S ——胶中线虫总数量。

7 线虫对化学物质的趋化行为观测

7.1 线虫对无机化学物质的趋化行为观测

用无菌水将待测化学物质配制成不同浓度的溶液，用该溶液分别配制 Pluronic 胶，以无菌水配制的胶为对照 CK。用 200 ul 的移液器枪头做成化学分配器，将不同浓度的 Pluronic 胶注入化学分配器中，将分配器置于直径为 6 cm 培养皿内含 10 ml 线虫胶悬浮液中央，培养皿置于冰上操作，每处理至少 4 皿，置于 25 ℃ 恒温培养观察，观察装置示意图如图 1 所示。

2 h、6 h、12 h、24 h 和 48 h 后将培养皿倒置于显微镜下，调查化学分配器两端（半径为 0.5 cm 的外半圆内）线虫被吸引的数量，并计算线虫的吸引率，同时对分配器两端线虫被吸引或被趋避的现象进行拍照。

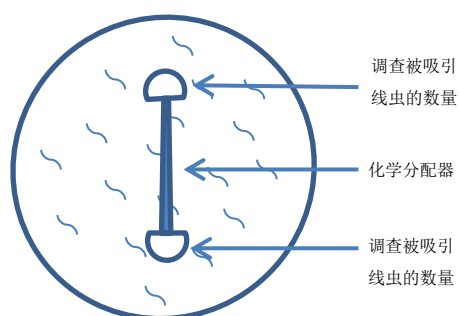


图 1 线虫对无机化学物质的趋化行为观测装置

7.2 线虫对有机化学物质的趋化行为观测

通过直径为 6 cm 的培养皿皿底圆心画两条垂直的直线，将培养皿分成四等份，注入 10 ml 泊洛沙姆胶溶液，待室温凝固后，在圆心打一个直径为 0.5 cm 的孔洞，并注入 100-200 条线虫。在对称两个区域靠近培养皿边缘 0.5 cm 处分别打一个直径为 0.5 cm 的孔洞。用有机溶剂将待测化学物质配制成不同浓度的溶液，取 50 ul-100 ul 注入其中一个孔，该孔洞所在一侧为处理区域 T，向另一个孔注入同体积的有机溶剂为对照，该孔所在一侧为对照区域 CK，置于 25 ℃ 恒温培养观察。观察装置示意图如图 2 所示。

2 h、6 h、12 h、24 h 和 48 h 后将培养皿倒置于显微镜下调查和拍照，调查处理区域和对照区域线

虫数量，并计算线虫的趋化指数。
趋化指数按式（2）计算：

$$CI = \frac{St - Sc}{St + Sc} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

式中：
CI——趋化指数（%）；
St——处理区域线虫数量；
Sc——对照区域线虫数量。

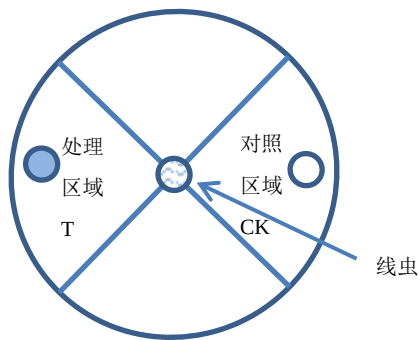


图 2 线虫对有机化学物质的趋化行为观测装置
