

大豆孢囊线虫病鉴定病土毒性稳定性研究^{*}

马俊奎 任冬莲 任小俊 史宏 王 勇 刘学义

(山西省农业科学院经济作物研究所, 汾阳 032200)

摘要 通过对大豆孢囊线虫病4号生理小种病土进行换土、施药、冷冻、研磨、加热等处理, 研究影响大豆孢囊线虫病发生的因素。经方差分析换土与其它处理有显著差异, 施药、对照、冷冻、研磨处理间没有显著差异, 但它们与加热处理有显著差异。所以我们认为鉴定用病土最好用刚开始稳定发病的病圃病土, 而且使用次数不宜过多, 如果是旧病圃, 最好采取换土的方法提高孢囊侵染量。

关键词 大豆; 孢囊线虫; 病土毒性; 稳定性; 鉴定技术

中图分类号 S 565. 108 文献标识码 A 文章编号 1000—9841(2006)01—0091—03

培育抗大豆孢囊线虫病品种关键的技术之一是进行抗病性鉴定, 但病土毒性的稳定性直接影响鉴定结果, 有人对大豆孢囊线虫的发生规律和鉴定方法进行过比较多的研究^[1-6], 但是研究病土毒性稳定性的报道很少。本文试图通过对本所大豆孢囊线虫病4号生理小种病土进行换土、施药、冷冻、研磨、加热等处理的研究, 解决目前存在的孢囊线虫侵染力低的难题。

1 材料与方法

1.1 病土来源

山西省农科院经济作物研究所试验农场从1989年以来连续种植大豆, 1992~1995年大面积发生大豆孢囊线虫病, 1996年以后逐年发病减轻, 1998年5月从该地块随机取0~20cm耕层土壤, 混合均匀后作为鉴定用病土。经鉴定该病土属于4号生理小种, 病土百克风干土孢囊量为98~133个, 但是该病圃连续两年发病很轻, 主要表现是孢囊侵染量很低。

1.2 试验处理

1.2.1 对照

称取1.25kg试验病土装入一个直径为15cm的花盆中。

1.2.2 研磨

把过30目筛的试验病土称取1.25kg, 然后再过60目筛, 把筛得的孢囊混合物用研磨器研破孢囊, 再与过60目的病土混合均匀, 装入一个15cm的花盆中。

1.2.3 加热病土

把装有1.25kg试验病土的直径为15cm的花盆放到大塑料盒中, 然后将塑料盒内注入100℃水, 浸泡0.5h后自然降温。

1.2.4 冷冻病土

把装有1.25kg试验用病土的直径为15cm的花盆放入-20℃冰箱中冷冻24h后自然升温。

1.2.5 施1号杀线剂

取40%的1号杀线剂1mL, 稀释后与1.25kg试验病土充分混合, 装入直径为15cm的花盆中。

1.2.6 换土

称取1.25kg试验病土, 先过32目筛, 再过60目筛, 筛得的孢囊混合物与未感染大豆孢囊线虫病的土壤混合至1.25kg, 装入一个直径为15cm的花盆中。

1.3 灌水

采取渗灌的方法, 将塑料盒内注入10cm自来水, 放入装有试验病土的花盆, 约1h后, 当水渗至土表时取出。

1.4 播种

将花盆中的土壤用竹签松开, 刨开土约3cm进

* 收稿日期: 2005—05—08

基金项目: 国家高新技术“863”计划项目: 大豆品质等主效基因的标记定位与辅助育种技术, 山西省农科院青年基金: 大豆孢囊线虫不同生理小种遗传多样性分析

作者简介: 马俊奎(1969—)男, 助理研究员, 从事大豆遗传育种研究。

行播种, 每花盆播 3 穴, 呈三角形, 每穴播 9 粒种子。播种品种为国际通用的感病品种 Lee。本试验在山西省农科院经济作物研究所试验田间进行。出苗 15 天后定苗, 每盆留长势均匀的 3 株。每处理 3 个花盆, 三次重复。

1.5 倒盆鉴定

当植株长到第三个三出叶展开时, 倒盆进行鉴定, 逐株计数根部孢囊量。

2 结果与分析

2.1 结果

鉴定时逐株计数孢囊量, 将三盆的孢囊量进行平均, 其平均值作为该重复该处理的孢囊量, 当孢囊量为 0 时, 为了方便进行方差分析用一个很小的值 0.1 或 0.2 代替。方差分析结果见表 1。

表 1 处理间方差分析结果

Table 1 The result of variance analysis among different methods						
差异源 Components of variance	平方和 SS	自由度 df	均方 MS	F 值 F	P 值 P-value	F 临界值 F crit
组间 Variance among replicates	1855.258	5	371.0516	7.727956	0.001848	3.105875
组内 Variance among methods	576.1703	12	48.01419			
总计 Total	2431.428	17				

表 2 处理间显著性差异表

Table 2 The significance of variance among methods			
处理 Method	平均 Average	显著性差异	
换土 Exchanging the diseased soil with the diseased-free soil	34 a	A	
施药 Applying nematocide	21.6 b	B	
对照 CK	14.3 b	B	
研磨 Grinding the diseased soil	13.8 b	B	
冷冻 Frozen the diseased soil	13.7 b	B	
加热 Heating the diseased soil	0.1 c	C	

2.2 分析

2.2.1 处理间存在极显著差异

根据表 1 可知处理间存在显著差异, 从表 2 可

以看出换土与其它处理差异达到极显著, 施药、对照、研磨、冷冻间差异不显著, 但它们与加热处理的差异达到极显著。

2.2.2 换土能提高孢囊侵染量

试验中换土的平均孢囊量达到 34 个, 而对照仅仅是 14.3 个, 它们间有极显著差异, 可见换土这种方法可以提高孢囊线虫的侵染力, 其原因可能是老病圃病土中存在抑制大豆孢囊线虫发育的小昆虫和微生物, 而新土中没有。所以换土是解决老病圃发病弱、孢囊感染力低的理想途径。

2.2.3 杀线剂不能连续使用

本试验施杀线剂目的是研究施药后对孢囊线虫的影响, 由于试验地连续多年种植大豆, 前几年孢囊线虫病发病严重, 连续施杀线剂, 但是最近两年发病变轻, 施药处理与对照没有显著差异。可见杀线剂不能单一连续使用, 否则孢囊线虫会产生耐药性。

2.2.4 研磨、冷冻对孢囊线虫侵染力的影响

研磨孢囊目的是使孢囊打开释放出卵细胞提高侵染力, 通过方差分析认为该处理与对照没有显著差异, 可见孢囊侵染力低的原因不是由于孢囊打不开; 冷冻处理与对照没有显著差异, 这与前人的研究孢囊线虫耐冻一致^[9]。

2.2.5 加热对孢囊线虫侵染力的影响

前人^[7-9]研究认为孢囊线虫不耐高温, 气温超过 41℃孢囊将不显露, 本试验将病土在 100℃水中浸泡 0.5h, 可能把孢囊全部杀死, 所以植株根部没有孢囊。

3 讨论

3.1 影响孢囊线虫侵染力的原因

通过本试验我们认为, 影响大豆孢囊线虫侵染力的主要原因可能是地下昆虫、微生物对大豆孢囊线虫生长发育的抑制, 所以鉴定用病土不能连续多次使用, 否则会造成孢囊线虫侵染力低, 影响鉴定结果。

3.2 控制病土毒性稳定性的方法

首先是保持鉴定用病土新鲜。
其次是虽然大豆孢囊线虫病一年四季均能发病, 但春季发病整齐, 所以对重要材料进行鉴定时, 最好在地温稳定地高于 10℃后(一般在四月下旬)进行。

参 考 文 献

1 林茂松. 土壤真菌防治大豆孢囊线虫的效果测定[J]. 中国油料, 1990, (3): 63—65.

2 刘汉起. 黑龙江大豆孢囊线虫发生、危害及研究状况[J]. 大豆科学, 1987, 6(2): 144—147.

3 刘学义, 马俊奎, 任小俊, 等. 塑料钵柱法在大豆抗孢囊线虫病鉴定中的应用[J]. 华北农学报, 1998, 13: 92—96

4 王中田. 大豆孢囊线虫病发生规律及防治[J]. 中国油料, 1983, (3): 62—67.

5 吴和礼. 大豆孢囊线虫病抗病鉴定技术的研究[J]. 大豆科学, 1984, 3(1): 2—3.

6 张磊. 安徽省大豆孢囊线虫病的发生及防治[J]. 中国油料, 1986, (4): 74—75.

7 A. L. 泰勒著, 陈品三, 郝近大译. 植物线虫学研究入门[M]. 北京: 农业出版社, 1981, 33—34.

8 Ali A. H. H. Influence of some chemical factors affecting emergence of juveniles from cysts of soybean cyst nematode , *Heterodera glycines* [J]. Egyptian Journal Phytopathology. 1988, 20(2): 151—157.

9 Ali A. H. H. Influence of some physical factors affecting emergence of juveniles from cysts of soybean cyst nematode, *Heterodera glycines* [J]. Egyptian Journal Phytopathology. 1988, 20(2): 159—164.

A STUDY ON THE STABLE TOXICITY OF DISEASED SOIL IN IDENTIFYING SOYBEAN CYST NEMATODE

Ma Junkui Ren Donglian Ren Xiaojun Shi Hong Wang Yong Liu xueyi *

(Industrial Crop Research Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Fenyang, 032200)

Abstract We studied stable toxicity and controlling technology of the diseased soil in identifying soybean cyst nematode with five methods, heating the diseased soil, exchanging the diseased soil with the diseased—free soil, frozen the diseased soil, applying nematocide and grinding the diseased soil. There was very significance variance between the method of exchange the diseased soil and the other methods. Soybean cyst nematode was sensitive to the heat treatment. In order to providing the quantity of soybean cyst nematode in the old—diseased soil, the best one was the method of exchanging the diseased soil with the diseased—free soil.

Key words Soybean; Cyst nematode; Stable toxicity; Identifying resistant technology

(上接第 96 页)

STUDY ON PREPARATION OF ISOFLAVONES AGLYCON

Wang Lu¹ Li Yuhou² Sun Liyan¹ Han Jun³ Cui Hongbin¹

(1. Harbin Medical University, Harbin, 150086; 2 Nutrition Institute of Heilongjiang Province Hospital, Harbin, 150036; 3. Harbin Gene—tech Biochip Development Inc., Ltd, Harbin, 150001)

Abstract By orthogonal experimental methodology, the optimum parameters of acid hydrolysis for aglycon including Genistein were established, as follows: concentration of ethanol of acid, 2.5 mol/L; temperature, 90 ℃; and time 3h. According to solubility and polarity the Genistein of 48. 6% purity was prepared with macro—pore resin AB—8 desorping of terraced concentration (water→30% ethanol→80% ethanol) and thin layed which the mixture of chloroform: methanol :20% acetic acid(7 :3 :1) was mobile phase.

Key words Aglycon; Isoflavones; Preparation; HPLC