

中华人民共和国国家标准

GB/T 19524.2—2004

肥料中蛔虫卵死亡率的测定

Determination of mortality of ascarid egg in fertilizers

2004-05-31 发布

2004-10-01 实施



中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会

发布

前 言

本标准由中华人民共和国农业部种植业管理司提出。
本标准由农业部微生物肥料质量监督检验测试中心负责起草。
本标准主要起草人：姜昕、李俊、沈德龙、曹凤明、李力。

肥料中蛔虫卵死亡率的测定

1 范围

本标准规定了肥料中蛔虫卵死亡率的测定方法。

2 测定方法原理

将碱性溶液与肥料样品充分混合,分离蛔虫卵,然后用密度较蛔虫卵密度大的溶液为漂浮液,使蛔虫卵漂浮在溶液的表面,从而收集检验。

3 仪器设备

往复式振荡器;天平;离心机;金属丝圈(约 $\phi 1.0$ cm);高尔特曼氏漏斗;微孔火棉胶滤膜($\phi 35$ mm、孔径 $0.65\ \mu\text{m}\sim 0.80\ \mu\text{m}$);抽滤瓶;真空泵;显微镜;恒温培养箱及其他试验室常用仪器、物品等。

4 试剂

本标准所用试剂,在没有注明其他要求时,均指分析纯。

- a) 50.0 g/L 氢氧化钠溶液;
- b) 饱和硝酸钠溶液(密度 $1.38\sim 1.40$);
- c) 500 mL/L 甘油溶液;
- d) 20 mL \sim 30 mL/L 甲醛溶液或甲醛生理盐水。

5 检验步骤

5.1 样品处理

称取 $5.0\ \text{g}\sim 10.0\ \text{g}$ 样品(颗粒较大的样品应先进行研磨),放于容量为50 mL离心管中,注入氢氧化钠溶液25 mL \sim 30 mL,另加玻璃珠约10粒,用橡皮塞塞紧管口,放置在振荡器上,静置30 min后,以200 r/min \sim 300 r/min频率振荡10 min \sim 15 min。振荡完毕,取下离心管上的橡皮塞,用玻璃棒将离心管中的样品充分搅匀,再次用橡皮塞塞紧管口,静置15 min \sim 30 min后,振荡10 min \sim 15 min。

5.2 离心沉淀

从振荡器上取下离心管,拔掉橡皮塞,用滴管吸取蒸馏水,将附着于橡皮塞上和管口内壁的样品冲入管中,以2 000 r/min \sim 2 500 r/min速度离心3 min \sim 5 min后,弃去上清液。然后加适量蒸馏水,并用玻璃棒将沉淀物搅起,按上述方法重复洗涤三次。

5.3 离心漂浮

往离心管中加入少量饱和硝酸钠溶液,用玻璃棒将沉淀物搅成糊状后,再徐徐添加饱和硝酸钠溶液,随加随搅,直加到离管口约1 cm为止,用饱和硝酸钠溶液冲洗玻璃棒,洗液并入离心管中,以2 000 r/min \sim 2 500 r/min速度离心3 min \sim 5 min。

用金属丝圈不断将离心管表层液膜移于盛有半杯蒸馏水的烧杯中,约30次后,适当增加一些饱和硝酸钠溶液于离心管中,再次搅拌、离心及移置液膜,如此反复操作3次 \sim 4次,直到液膜涂片在低倍显微镜下观察不到蛔虫卵为止。

5.4 抽滤镜检

将烧杯中混合悬液,通过覆以微孔火棉胶滤膜的高尔特曼氏漏斗抽滤。若混合悬液的浑浊度大,可更换滤膜。

抽滤完毕,用弯头镊子将滤膜从漏斗的滤台上小心取下,置于载玻片上,滴加二、三滴甘油溶液,于低倍显微镜下对整张滤膜进行观察和蛔虫卵计数。当观察有蛔虫卵时,将含有蛔虫卵的滤膜进行培养。

5.5 培养

在培养皿的底部平铺一层厚约 1 cm 的脱脂棉,脱脂棉上铺一张直径与培养皿相适的普通滤纸。为防止霉菌和原生动物的繁殖,可加入甲醛溶液或甲醛生理盐水,以浸透滤纸和脱脂棉为宜。

将含蛔虫卵的滤膜平铺在滤纸上,培养皿加盖后置于恒温培养箱中,在 28℃~30℃ 条件下培养,培养过程中经常滴加蒸馏水或甲醛溶液,使滤膜保持潮湿状态。

5.6 镜检

培养 10 d~15 d,自培养皿中取出滤膜置于载玻片上,滴加甘油溶液,使其透明后,在低倍显微镜下查找蛔虫卵,然后在高倍镜下根据形态,鉴定卵的死活,并加以计数。镜检时若感觉视野的亮度和膜的透明度不够,可在载玻片上滴一滴蒸馏水,用盖玻片从滤膜上刮下少许含卵滤渣,与水混合均匀,盖上盖玻片进行镜检。

5.7 判定

凡含有幼虫的,都认为是活卵;未孵化或单细胞的都判为死卵。

5.8 结果计算

结果计算见式(1):

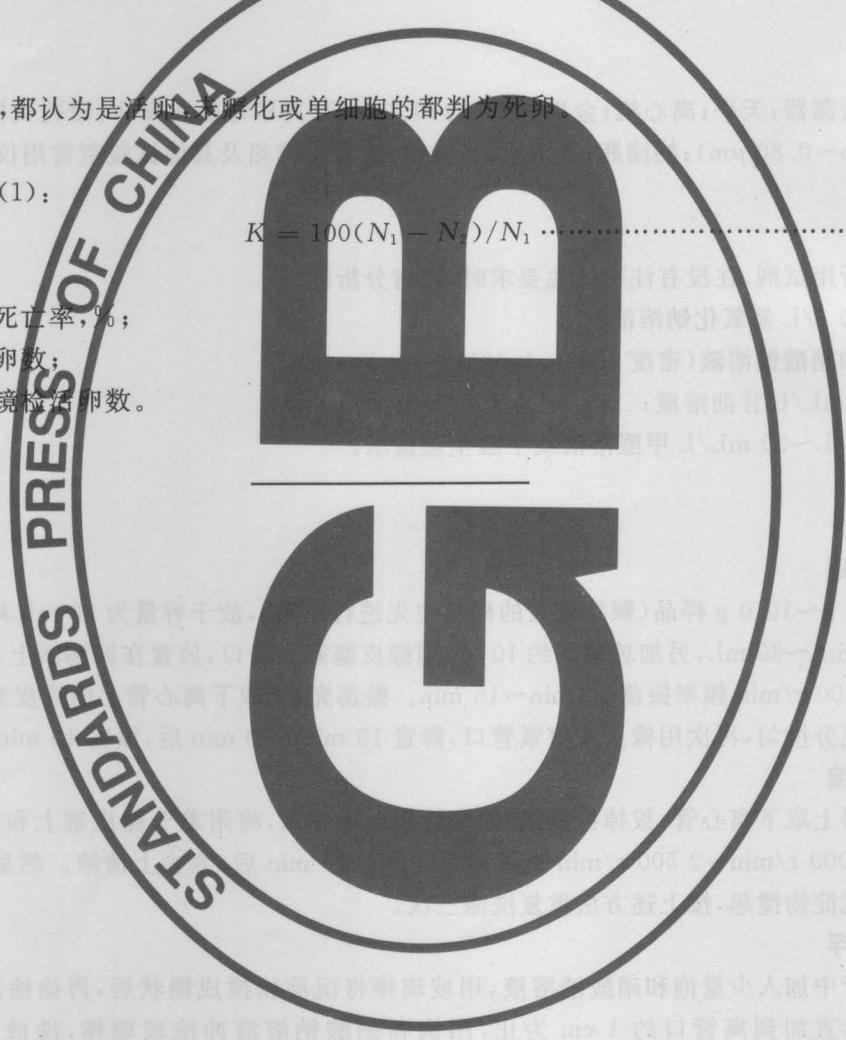
$$K = 100(N_1 - N_2) / N_1 \dots\dots\dots (1)$$

式中:

K——蛔虫卵死亡率,%;

N₁——镜检总卵数;

N₂——培养后镜检活卵数。



中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
肥料中蛔虫卵死亡率的测定
GB/T 19524.2—2004

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.bzcs.com

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.5 字数 6 千字
2004年7月第一版 2004年7月第一次印刷

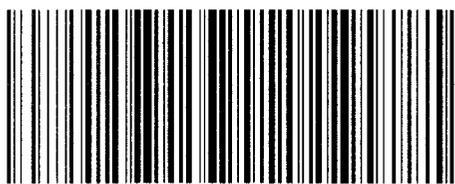
*

书号: 155066·1-21210 定价 8.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533



GB/T 19524.2-2004