

参 考 文 献

- [1] 王国勋;大豆品种蛋白质、脂肪含量的地理纬度生态分布,中国油料,1979,(1) 46~49
[2] 祖世亨;大豆含油率的农业气候分析及黑龙江省大豆含油率的地理分布区划,大豆科学,1983,(4)

267~275

- [3] 王彬如;黑龙江省大豆品种生态试验研究,1984,大豆科学,(1) 10~11
[4] 王国勋;大豆品种生态研究,中国油料,1979,(2) 41~43
[5] 许显斌;黑龙江省大豆品种脂肪含量变化,中国油料,1987,(3) 80~81

大蒜花叶病原病毒的免疫 电子显微镜诊断

崔荣昌 李晓龙

李学湛

(省农科院马铃薯研究所)

(省农科院实验技术中心)

摘要 用洋葱黄矮病毒(Onion Yellow Dwarf Virus),韭葱黄条病毒(Leek Yellow Stripe Virus),亚实基隆葱潜隐病毒(Shallot Latent Virus),马铃薯Y病毒(PVY),马铃薯A病毒(PVA),马铃薯S病毒(PVS),马铃薯M病毒(PVM),康乃馨潜隐病毒(Carnation Latent Virus)和烟草花叶病毒(TMV)等九种病毒的抗体,以诱捕修饰免疫电镜技术检测了58个大蒜品种的带病毒状况,其结果表明:用九种病毒抗体包被的电镜载网诱捕到大量的同源病毒粒子,这些病毒粒子又分别被同源抗体分子修饰,形成连续完整的抗体分子外套。这说明这些大蒜品种已被上述九种病毒侵染。以常规夹心法用前述九种病毒抗体制备的过氧化物酶酶标抗体检测前述大蒜品种的带病毒状况,其结果与免疫电镜的检测结果完全吻合。

大蒜(*Allium sativum* L.)花叶病是一种世界性病害⁽¹⁾。自1946年Brierley首次报道在美国等国家发现此病以后⁽²⁾,日本、南朝鲜、印度、加拿大、委内瑞拉、新西兰、法国、英国、罗马尼亚、荷兰、摩洛哥、智利、阿根廷、古巴和我国台湾⁽³⁾、广东⁽⁴⁾、北京⁽⁵⁾和新疆⁽⁶⁾也相继报道发现这一病害。大蒜花叶病的主要症状是花叶、褪绿条斑,叶片开裂、扭曲、矮

化,以及叶尖干枯等,导致大蒜减产20~45%。

国内外报道大蒜病原病毒有马铃薯Y病毒组(Poty Viruses)的洋葱黄矮病毒(Onion Yellow Dwarf Virus)和一些未知种,以及康乃馨潜隐病毒组(Carla Viruses)的一些未知种。一些研究者根据自己的研究结果把大蒜花叶病原病毒命名为大蒜花叶病毒(Garlic Mosaic

注:朱之垠研究员协助修改文稿,特致谢意。

Virus), 大蒜退化病毒 (Garlic Degeneration Virus), 大蒜黄条斑病毒 (Garlic Yellow Streak Virus) 或大蒜潜隐病毒 (Garlic Latent Virus) 等, 这就是使得大蒜花叶病原病毒的研究结果混淆不清。

Delecolle⁽⁷⁾ 用诱捕修饰免疫电镜技术鉴定一批大蒜品种发现, 有些品种至少带两种 Poty 病毒, 其中一种是洋葱黄矮病毒, 另一种与已知葱属 (Allium) 的 Poty 病毒无血清学关系; 这些品种还带有 Carla 病毒, 但与亚实基隆潜隐病毒也无血清学关系, 这说明大蒜花叶病并非是单一病毒侵染, 而是多种病毒复合侵染的结果。

本研究应用诱捕修饰免疫电镜技术和酶联免疫吸附试验法鉴定 58 份大蒜品种的带病毒状况, 以研究明确大蒜花叶病原病毒, 为检测筛选出无病毒的大蒜茎尖脱毒苗和繁育脱毒大蒜准备条件。

材 料 和 方 法

一、供试材料

供试的 58 份大蒜品种是: 美国加利弗尼亚蒜 1 份; 加拿大温哥华蒜 1 份, 列斯布里奇蒜 1 份, 弗列德里克顿蒜 2 份, 爱德华王子岛蒜 2 份; 日本蒜 1 份; 山东、广东、青海、四川、上海、吉林、北京、内蒙古、安徽、陕西和云南等省市的大蒜品种 22 份; 黑龙江省大蒜品种 28 份。

供试的抗血清有: 本实验室制备的马铃薯 Y、S 病毒抗血清, 烟草花叶病毒和大蒜复合病毒抗血清。荷兰的 D. Z MAAT 赠给洋葱黄矮病毒、韭葱黄条病毒、亚实基隆葱潜隐病毒、马铃薯 Y^o、Yⁿ、A、S 和 M 八种病毒抗血清; 加拿大的 R. P. Singh 赠给马铃薯 Y、A、S、M 病毒抗血清及其碱性磷酸酶酶标抗体; R. Space-Smith 赠给马铃薯 Y、S 和 M 病毒抗血清; 美国的 H. A. Scott 赠给马铃薯 Y 和 M 病

毒抗血清。

二、病毒鉴定方法

1. 诱捕修饰免疫电镜法: 用敷有福尔马膜 (Formvar) 的电镜载网, 沾取 1 微克/毫升浓度的病毒抗体球蛋白, 再沾取大蒜复合病毒提纯制剂或大蒜叶片榨汁, 然后再用浓度为 20 微克/毫升的抗体球蛋白修饰病毒粒子, 用 2% 磷钨酸负染。上述每一步骤完成后都用磷酸缓冲液或蒸馏水洗涤。用 H-300 型电镜观察病毒粒子形态和被抗体分子修饰的状况。

2. 酶联免疫吸附试验法: 用戊二醛二步法将提纯的抗体球蛋白 (r-globulin) 与辣根过氧化物酶 (HRP, TYPE VI, RZ=3.2, Sigma) 交联, 制成酶标抗体。将搜集的大蒜品种种植于温室中, 每一品种用常规夹心法检测 30 个植株的叶片。

结 果 和 讨 论

一、用诱捕修饰免疫电镜技术鉴定大蒜带病毒状况的结果如照片。用洋葱黄矮病毒等九种抗体中的每一种抗体诱捕修饰的电镜视野里, 都可以看到诱捕到的病毒粒子完全被修饰, 即抗体分子连续不断地包被病毒粒子, 形成一个连续完整的抗体分子外套; 还可见到部分被修饰的病毒粒子, 即抗体分子断断续续地粘附于病毒粒子上。这说明抗体诱捕和完全修饰了同源病毒, 部分修饰有一定血清学关系的异源病毒。用大蒜复合病毒抗体诱捕、修饰的处理, 只观察到完全被抗体分子修饰的病毒粒子。从本试验结果可以看出, 大蒜被四种 Poty 病毒和四种 Carla 病毒以及烟草花叶病毒总计九种病毒侵染。在这九种病毒中, 除了与 Delecolle 所鉴定明确的洋葱黄矮病毒和李治远等人鉴定出的烟草花叶病毒等结果吻合外, Delecolle 鉴定出的未知的 Poty 和 Carla 病毒, 则应该是我们所鉴定明

确的 Poty 和 Carla 病毒中的一种或几种。经 的烟草脉坏死变株(PVYⁿ)。

检测大量大蒜样品,大蒜不带马铃薯 Y 病毒

二、用酶联免疫吸附试验法检测大蒜带

表 用酶联免疫吸附试验法(ELISA)鉴定大蒜带病毒状况的结果

来源和产地	品种名称	带病毒状况								
		OYDV	LYSV	SLV	FVY	FVA	PVS	PVM	CLV	TMV
美国加利福尼亚	—	30	30	28	0	6	0	0	0	21
加拿大温哥华	—	30	30	30	0	15	0	0	0	21
加拿大列斯布里奇	—	30	30	28	0	9	0	0	0	6
加拿大多伦多	—	30	30	30	6	6	15	9	9	30
加拿大弗列德里克顿	—	30	30	30	0	7	0	0	0	7
加拿大 P. E. I	—	30	30	30	6	15	9	0	15	30
加拿大 P. E. I	象蒜	30	30	30	30	21	30	18	21	30
日 本	脱毒蒜	30	30	16	20	30	0	0	—	0
广 东	烤蒜	30	30	30	29	27	0	13	3	30
山 东 济 南	—	30	30	29	29	28	24	29	—	1
山 东 济 南	—	30	30	30	15	12	18	12	21	27
山 东 济 南	—	30	30	30	30	30	30	30	30	30
山 东 金 乡	—	27	30	30	3	30	30	30	3	6
山 东 金 乡	—	30	26	26	11	30	8	30	19	30
山 东 济 南	嘉祥	30	30	26	4	23	15	30	8	8
山 东 济 南	高脚	30	30	26	0	23	10	30	8	3
山 东 济 南	糙蒜	30	30	23	11	23	11	30	3	0
山 东 济 南	油棵	30	30	30	4	15	8	29	11	8
山 东 济 南	太仑	30	30	18	6	24	0	30	12	0
山 东 济 南	糙杂	30	30	30	30	30	30	30	30	26
青 海 西 宁	—	30	30	30	28	6	16	16	—	30
四 川 成 都	—	30	30	29	30	18	26	30	30	30
上 海 市	—	30	30	30	30	30	8	30	3	8
吉 林 梅 河 口	—	30	30	30	7	9	5	17	—	0
北 京 市	—	30	30	30	0	6	27	27	18	21
内 蒙 古 扎 兰 屯	—	30	30	29	4	2	2	3	—	0
安 徽	—	30	30	30	30	30	30	30	30	30
安 徽	—	30	30	30	26	30	30	30	30	30
陕 西 留 坝	—	30	30	11	6	17	28	9	0	15
云 南 昆 明	—	30	30	30	30	30	0	30	30	30
黑 龙 江 宁 安	红袍	30	30	30	29	28	24	29	—	1
黑 龙 江 拜 泉	红袍	30	30	28	29	28	24	29	—	1
黑 龙 江 肇 东	红袍	30	30	30	24	30	0	0	18	30
黑 龙 江 绥 化	四六瓣	30	30	30	12	30	30	30	30	30
黑 龙 江 克 山	红袍	30	30	30	12	30	0	0	6	30
黑 龙 江 克 山	红袍	30	30	30	6	24	0	0	0	30
黑 龙 江 克 山	红袍	30	30	30	0	12	0	0	0	24
黑 龙 江 克 山	红袍	30	30	30	12	18	0	0	0	30
黑 龙 江 克 山	红袍	30	30	30	0	0	0	0	0	30
黑 龙 江 克 山	红袍	30	30	28	24	30	0	0	30	30
黑 龙 江 克 山	红袍	30	30	30	26	28	17	24	—	0
黑 龙 江 克 山	红袍	30	30	30	17	30	10	21	—	8

(续表)

来源和产地	品种名称	带病毒状况								
		OYDV	LYSV	SLV	FVY	FVA	PVS	PVM	CLV	TMV
黑龙江克山	红袍	30	30	30	25	19	21	9	—	0
黑龙江克山	红袍	30	30	30	30	30	30	30	30	26
黑龙江克山	红袍	23	30	26	26	30	4	30	0	4
黑龙江克山	红袍	19	30	15	23	30	8	30	0	8
黑龙江克山	红袍	19	23	11	30	19	0	30	0	0
黑龙江克山	红袍	15	26	15	26	23	8	30	0	0
黑龙江克山	红袍	23	30	15	19	30	8	30	0	0
黑龙江克山	红袍	30	30	30	0	30	30	24	30	30
黑龙江克山	红袍	30	30	30	10	30	30	30	30	30
黑龙江克山	紫皮	13	26	13	30	30	0	30	0	0
黑龙江克山	紫皮	30	30	30	24	30	30	30	30	30
黑龙江克山	紫皮	30	30	30	0	30	30	30	30	24
黑龙江克山	紫皮	30	30	30	6	30	30	30	30	30
黑龙江克山	紫皮	30	30	30	6	30	30	30	30	24
黑龙江克山	紫皮	30	30	30	12	30	30	30	30	18

注：—为未检测。表中数字为检测 30 个样品的阳性样品数。

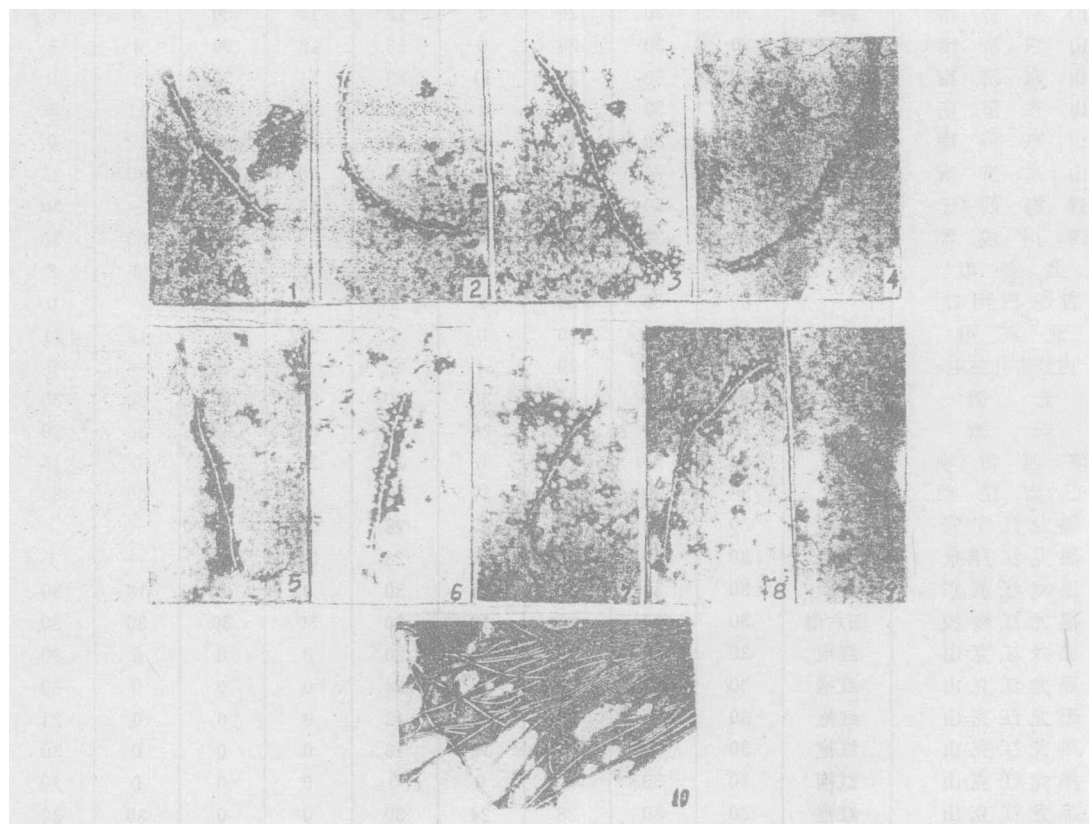


图 用九种病毒抗体诱捕、修饰的大蒜病毒粒子照片(放大 4 万倍)
 1. OYDV 抗体; 2. LYSV 抗体; 3. SLV 抗体; 4. PVY 抗体; 5. PVA 抗体;
 6. PVS 抗体; 7. PVM 抗体; 8. CLV 抗体; 9. TMV 抗体; 10. 大蒜复合病毒负染照片。

病毒的结果列成上表。从上表可以看出,不同来源大蒜品种的带病毒状况是相似的。葱属植物的三种主要病毒也是侵染大蒜的主要病毒,几乎达到饱和侵染。按侵染率的高低依次为马铃薯 A 病毒和 M 病毒,侵染率分别为 75.5% 和 66.0%;烟草花叶病毒的侵染率为 57.0%,马铃薯 Y 病毒和康乃馨潜隐病毒的侵染率分别为 51.6% 和 46.0%。

加拿大、美国和日本大蒜主要被三种葱属植物病毒侵染,只带低比率的其它植物种的 Poty 和 Carla 病毒。国内大蒜只有一部份品种的带毒状况与国外品种相似,多数品种的带毒状况则比较复杂,有的竟被九种病毒饱和和侵染。不同来源的 Poty 和 Carla 病毒组的同

一病毒抗血清所作的免疫电泳鉴定结果和酶联夹心法检测结果完全相同。

参 考 文 献

- [1] Boe, L. 1982. Acta Horticulturae 127: 11~29
- [2] Brierley, P. & Smith F. F. 1946. Phytopathology 36, 292~296
- [3] 陈脉纪、柯南靖,植物保护学报(台湾),1979, 21, 220~225
- [4] 赵庆顺等,病毒学杂志,1987, 2, 75~86
- [5] 周桂珍等,植物病理学报,1989, 19(3), 145~149
- [6] 谢浩等,植物病理学报,1981, 11(3), 57~59
- [7] Delecalle, B. and Lot, H. Agronomie, 1981, 1, 763~770

低湿地台田机械化耕种技术研究

赵作民

(黑龙江省农业科学院耕作栽培所)

摘要 台田是低湿地抗涝的有效措施,本文主要报道低湿地弃耕条件下台田大豆机械化的耕种技术,其中包括深松筑台、旋耕播种等技术环节和相应地配套机具,为低湿地开发和改变大豆低产面貌找到了有效途径。

前 言

当今世界各地,有不少地区低湿地进行了开发研究,形成了“洼地农业”。墨西哥谷地琴纳帕农业系统的“旱水结构”、华北地区低洼地的“台田”,都是调控水分的抗涝措施。黑龙江省有低湿地 3,000 多万亩,占总耕地面积 25% 左右,主要集中在三江平原及江河两

岸阶地。具有潜在肥力高和增产潜力大等特点,但是由于土壤水分过大,土壤冷浆粘朽,限制了潜在肥力的发挥,不仅不利作物生育,甚至影响农事季节,只能进行草种粗耕,成为典型的“低产田”。

台田在黑龙江省六十年代曾出现过,但因人工筑台田工程量大,耗费人工,加之质量不高而未能推广。为了发挥低湿地增产潜力,

注:参加本项试验的还有马孝贤、杨树存、佟超、李章模、张蓉芳、聂希安、刘东辉、王俊河、马玉祥等同志。