

一年生枝构成以长枝和短枝为主,产量构成则以长枝和基生枝为主,得出丰产薄皮的树势,叶面积和产量主要是长枝和基生枝形成的。因此,在栽培管理时,要保证肥水供应,秋施基肥每亩 2 000 公斤以上,以保持树势生

长强壮。修剪注意长枝和基生枝数应占 50% 以上,这是丰产薄皮达到丰产的基础。调查得出,四年生以上的主枝结果能力和成枝力弱,应从基部疏除。在花后通过喷磷钾肥等保花保果措施,是提高丰产薄皮产量的有效途径。

## 大蒜脱毒苗脱毒效果的电镜鉴定

朱光新 郭福寰 李学湛 杨冰岩

(黑龙江省农科院实验技术中心)

朱之垠 刘文萍

(黑龙江省农科院育种所)

**摘要** 大蒜病毒病发生普遍,主要为线条状病毒,应用营养茎尖分生组织培养技术,可以获得脱毒大蒜。本试验应用电镜“负染—环圈计数法”定量检测大蒜脱毒苗的脱毒效果,从 28 份试管苗中筛选出 13 份无毒试管苗,该法对于大蒜脱毒试管苗高质量的扩繁具有重要作用。

大蒜病毒病是当前大蒜生产上普遍流行的一种病毒。罹病大蒜的产量和品质均有不同程度的下降,造成所谓“种性退化”。黑龙江省农科院育种所对“宁安”和“阿城”大蒜应用营养茎尖分生组织培养技术,脱去主要病毒,获得一批试管苗,但茎尖脱毒苗必须经过严格的鉴定后,才能被作为无毒蒜予以扩繁。

电镜负染技术是由 Hall(1955)和 Huxley(1957)首先采用的一种新的检测技术。长期以来电镜负染法大都是以“+”号的多少来表示病毒量浓度,这在病毒量比较多的情况下是适用的,但是对于可能只含有微量病毒的试管苗来说,这种检测方法是不适用的。它要求用准确的计数方法来表示微量的病毒含量。为此,作者创造了这种既简便又科学的

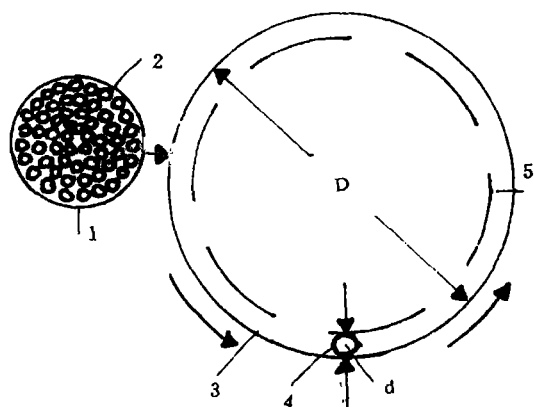


图1 “环圈计数法”示意图

1. 300 目规格的铜网。2. 网孔。3. 放大 4 万倍的网孔,  $D=3.2$  米。4. 荧光屏  $d=12$  厘米。5. 荧光屏和网孔边缘相对移动的轨迹。

“负染—环圈计数法”,即规格为 300 目铜网

在电镜 4 万倍率下,网孔的直径放大到 3.2 米,用直径 12 厘米的荧光屏沿着网孔边缘寻找一圈(实际上是网孔边缘进入荧光屏视野一周),所查的病毒粒子数即为这一网孔的粒子数(见图 1),本试验为应用此法来对大蒜茎尖分生组织脱毒试管苗的脱毒效果进行电镜鉴定。

## 一、材料和方法

**材料来源:**1990 年 3 月至 4 月间,在黑龙江省农科院育种所温室内,取由“宁安”和“阿城”大蒜营养茎尖分生组织培养的脱毒试管苗 24 份和 4 份对照试管苗(即脱毒苗的母体)。

**负染色液和载网制备:**以 pH7.0、2% 的磷钨酸的水溶液作负染色,以辅有 Formvar

(聚乙烯醇缩甲醛)膜的普通 300 目铜网作为载网。

**负染:**取试管苗的部分叶片用天枰称重,按比例加放磷酸缓冲液,每毫克叶重加缓冲液 10 微升,使汁液稀释度一致,将载网有膜的一面覆盖在液滴上,5 分钟后取下,用吸水纸吸去多余液体,稍加风干,浮载于负染色液上负染 4 分钟后取下,吸去多余染料,在室温下干燥,然后 H-300 电镜观察。

## 二、试验结果

镜检试管苗 28 份,均采用“环圈计数法”,在 4 万倍率下,每个样品找 6 个典型网孔,记下每一网孔的病毒粒子数,取它们的平均值(见表)。

表 大蒜脱毒试管苗的电镜鉴定

分类	类 别	试 管 标 号	试管数 (份)	平均每网孔病毒 粒子数含量(粒)	占对照百分比 浓度(%)
1	对 照(未脱毒)	2 19 20 21	4	121	100
2	脱毒效果不明显	6 7 9 25	4	39	32
3	病毒量明显降低	1 3 4 5 8 11 14	7	2	1.7
4	无 毒 苗	10 12 13 15 16 17 18 22 23 24 26 27 28	13	0	0

从表中可以看出:1 类试管苗是未脱毒的,它含有较高的病毒浓度(见图 2);2 类试管苗脱毒效果不明显,仍含有较多病毒粒子,但比对照少,占对照的 32%;3 类试管苗病毒含量明显减少,在电镜视野下偶而能见到 1 个(见图 3),只占对照的 1.7%;4 类试管苗经 6 个网孔,按“环圈计数法”测量均无病毒粒子出现,又随机观察了其它网孔任意部位,均无病毒粒子出现,这些试管苗可以作为无毒蒜苗予以扩繁。

## 三、讨 论

应用电镜“负染—环圈计数法”检测茎尖分生组织培养的试管苗中的线条状病毒粒子是很有效的,它不仅能定性而且能定量的分析每个试管苗的病毒含量,这对于茎尖切割愈伤组织以多大为最佳合适点是很有参考价值的。从拍摄的照片上看,虽然上面有较多的杂质,但病毒粒子仍然清晰可见,它无须提纯,也不用抗血清,因而程序简便快速,一般样品处理仅用 10 分钟即可。采用此法检测脱

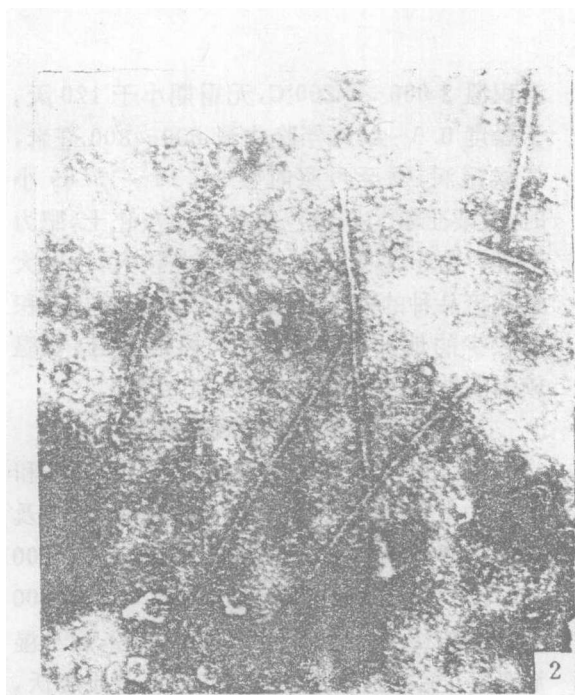


图2 大蒜茎尖试管苗母体的病毒粒子 40000×

毒苗中的微量病毒粒子具有直观、准确和灵敏度高等特点,可及时汰除有病毒的试管苗,既节省人力物力,又提高脱毒苗的纯度,具有明显的经济效益。

本文所述检测方法对于其它植物茎尖分生组织培养的脱毒苗进行快速鉴定都是有效的,如马铃薯、唐菖蒲等。



图3 大蒜茎尖试管苗里的病毒粒子 40000×

### 参考文献

- [1] 田波、龚祖坝:病毒与农业,科学出版社,1986
- [2] 朱丽霞:生物学中的电子显微镜技术,北京大学出版社,1983
- [3] 周桂珍等:京郊大蒜病毒病的研究及其鳞茎中病毒的脱除,植物病理学报,1989

### 生产技术

## 东北地区(包括内蒙)春大豆品种区划

农业部大豆专家顾问组

### 前言

大豆品种区划是实现品种布局区域化的基础工作,也是实现大豆高产、稳产的主要措

施。东北地区的大豆品种区划早已有许多学者根据各地的气候条件、土壤肥力和栽培管理水平等综合条件进行区划。近年来,随着大豆生产的发展及新品种的增加有必要进一步

注:本文由黑龙江省农业科学院大豆所王彬如研究员执笔。