

情人草叶片再生植株

张弓 刘丽娟 金春斌

情人草 (*L. belt laard*) 是杂种补血草中的一个品种。因花枝坚韧、花色持久、不易褪色, 而成为切花中重要成员, 情人草组培繁殖比播种繁殖能得到更加健壮和整齐一致的小苗, 因而推广很快。

1 材料与方法

取田间生长的情人草中部叶片做接种材料, 取稀释的洗涤液清洗。再用自来水冲洗 10min, 放入消毒瓶, 在超净工作台上用 75% 的酒精浸泡 30s, 边泡边摇。倒出, 再用 0.1% 升汞灭菌 1min, 用无菌水冲洗 4 次, 备用。将消毒好的叶片切成数片, 接种在 MS+2mg/L6BA+0.2mg/LNAA 的培养基上进行分化培养。培养基 pH 值为 5.8, 培养温度控制在 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, 光照强度为自然散射光, 辅助 1000LX 照明, 光照时间为 10~12h/d。在 1/2MS+0.5mg/LNAA 培养基上诱导生根, 用珍珠岩基质移栽。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织的形成和分化丛生苗 接种在 MS+2mg/L6BA+0.2mg/LNAA 培养基上的情人草叶片, 接种 20d 左右, 外植体周围产生绿色愈伤组织, 愈伤组织逐步扩大。并在其表面出现绿色突起, 这些突起继续培养 15d 左右, 分化成芽, 继而发育成苗丛。随着培养时间的延长, 苗丛不断扩大。

2.2 苗的扩大繁殖 当小苗丛长到 4~5cm 高时, 将小苗丛取出分离, 高的可切成 2~3 段, 小苗不用再切。转接到新鲜的 MS+2mg/L6BA+0.2mg/LNAA 分化培养基上。小苗基部不断分化出小苗, 形成新的小苗丛, 当小苗丛长至 4~5cm 高时, 继续分离转接, 这样反复下去, 加速情人草的繁殖。

2.3 根的诱导和试管苗的移栽 当繁殖到一定数量后, 待苗长到 2cm 高时, 将小苗取出, 接种到生根培养基上, 培养 15d 左右, 即可长出 3~5 条根, 25d 后, 当根长到 2~3cm 时, 小苗也长到了 4~5cm 高, 可将培养瓶盖打开, 放入遮阴的大棚或温室内锻炼小苗, 5~7d 将生根苗从瓶中取出, 放入清水中洗净培养基, 栽入消毒好的珍珠岩中, 用清水浇透, 复好薄膜。加强温度、湿度和光照管理, 使小苗逐渐适应外界环境条件, 20~25d 后, 选阴雨天移入苗床定植。

3 培养过程的改进

可适当降低 6BA 的浓度, 增强苗的健壮程度。以绵白糖代替蔗糖, 自来水代替蒸馏水, 取得了用蔗糖与蒸馏水相同的培养效果, 降低了培养成本。在培养过程中, 始终进行自然散射光照射。既降低成本, 又锻炼了小苗, 提高了苗的成活率。

(吉林省通化市东昌区江沿路 48 号 通化市园艺所 134001)

的转录产物 RNA 介导植物产生抗病性。CP RNA 介导马铃薯抗病毒的可能机制是与病毒 RNA 复制的模板负链 RNA 结合, 从而干扰病毒基因组 RNA 的复制。或者是 CP RNA 与病毒基因组 RNA 竞争结合蛋白转译因子, 使病毒基因组 RNA 的转译过程不能正常进行。

3 对马铃薯转 CP 基因育种方法的思考

如前所述, 目前国内外均获得了转 CP 基因的马铃薯株系, 但迄今所获得的转 CP 基因马铃薯的抗病程度多数表现为中抗, 而高抗和免疫类型相对较少, 抗性水平有待进一步提高。此外, 某些转基因株系出现外源 CP 基因沉默和失活现象, 致使 CP 基因的正常转录表达受到抑制。针对转 CP 基因育种存在的上述问题, 必须对目前的方法加以改进。为了进一步提高转基因马铃薯对病毒的抗性, 在构建 CP 基因的植物表达载体时应加上能增强基因转录表达的调控序列。为了避免外源 CP 基因的沉默与失活, 应深入研究基因沉默与失活的原因, 从而采取相应的对策。目前的研究表明基因的沉默与失活与整合到植物基因组的外源 DNA 的多拷贝性有关, 因此, 对转基因株系的选育过程应尽可能筛选整合了单拷贝外源 CP 基因的转基因株系。随着研究的深入, 马铃薯转 CP 基因育种的方法将不断改进和完善, CP 基因介导的马铃薯抗病毒基因工程将会在生产上发挥重要作用。

参考文献

- 1 Hemenway, C. et al. Analysis of the mechanism of protection in transgenic plants expressing the potato virus X coat protein or its antisense RNA. EMBO. J. 1988, 7: 1273~1280
- 2 Lawson, C. et al Engineering resistance to mixed virus infection in a commercial potato cultivar; resistance to potato virus X and potato virus Y in transgenic Russet Burbank. Bio/Technology 1990, 8: 127~134
- 3 Frank van der wilk et al. Expression of the potato leafroll luteovirus coat protein gene in transgenic potato plants inhibits viral infection. Plant Molecular Biology 1991, 17: 431~439
- 4 宋艳茹 李枏 侯林林等. 双价外壳蛋白基因植物表达载体的构建及马铃薯转基因植株的鉴定. 植物学报 1994, 36 (11): 842~848
- 5 张鹤龄 李天然 哈斯阿古拉等. 抗卷叶病毒 (PLRV) 转基因马铃薯及其抗病性的研究. 病毒学报, 1995, VOL. 11NO. 4: 342~350
- 6 John, H. et al. Genetically engineered protection against viruses in transgenic plants. Annu. Rev. Microbiol. 1993, 47: 739~631
- 7 Karen—Beth G. et al. Control of plant virus diseases by pathogen—derived resistance in transgenic plants. Plant Physiol. 1993, 102: 7~12
- 8 Presting, G. G. et al. Resistance to potato leafroll virus in potato plants transformed with the coat protein gene or with vector control constructs Phytopathology, 1995, 85: 436~442.