

植物保护

利用原位杂交及原位RT-PCR技术检测梨树组织中苹果茎痘病毒的分布

赵英, 牛建新

石河子大学农学院园艺系

收稿日期 2007-12-13 修回日期 2008-2-28 网络版发布日期 2008-12-10 接受日期 2008-12-26

摘要

【目的】搞清苹果茎痘病毒在梨树组织中的分布, 为茎尖脱毒提供直接的理论依据和技术支撑。**【方法】**以库尔勒香梨茎尖、叶片为材料, 利用非放射性标记物地高辛(DIG), 通过RT-PCR反应体系, 合成了苹果茎痘病毒的cDNA探针, 利用核酸探针斑点杂交检测方法对该探针特异性及灵敏度进行验证。研究制作了适合原位PCR及原位杂交的石蜡切片, 利用原位反转录酶聚合酶链式反应(IS-RT-PCR)技术检测石蜡切片组织中苹果茎痘病毒RNA的定位及分布, 并对影响实验结果的重要因素进行优化。**【结果】**梨树中的苹果茎痘病毒RNA阳性信号主要位于叶片的叶肉细胞、茎尖的外围皮层组织及相应的初生维管束。蛋白酶K消化时间以20 min为宜, 要获得良好的扩增效果, RT反应体系中RNasin的量需大于 $0.2 \text{ U} \cdot \mu\text{l}^{-1}$, dNTPs大于 $0.4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, SuperScript II在 $0.1 \sim 1.3 \text{ U} \cdot \mu\text{l}^{-1}$, 引物在 $0.9 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上。PCR反应体系中适宜的退火温度为 60°C , 循环35次, 引物浓度应在 $0.8 \sim 1.2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, LA Taq酶浓度大于 $0.5 \text{ U} \cdot 100 \mu\text{l}^{-1}$ 。**【结论】**梨树茎尖顶端分生组织 0.25 mm 的区域为无病毒区域。

关键词 [库尔勒香梨](#) [苹果茎痘病毒](#) [cDNA探针](#) [地高辛](#) [原位PCR](#)

分类号

DOI:

通讯作者:

牛建新 njx105@163.com

作者个人主页: [赵英](#); [牛建新](#)

扩展功能

本文信息

▶ [Supporting info](#)

▶ [PDF \(526KB\)](#)

▶ [\[HTML全文\] \(0KB\)](#)

▶ [参考文献\[PDF\]](#)

▶ [参考文献](#)

服务与反馈

▶ [把本文推荐给朋友](#)

▶ [加入我的书架](#)

▶ [加入引用管理器](#)

▶ [引用本文](#)

▶ [Email Alert](#)

▶ [文章反馈](#)

▶ [浏览反馈信息](#)

相关信息

▶ [本刊中包含“库尔勒香梨”的相关文章](#)

▶ 本文作者相关文章

· [赵英, 牛建新](#)