

بهبود سازی انتقال ژن به گاهوی ایرانی

حسین هنری، هوشنگ عزیززاده، علی اکبر شاه نجات بوشهری، سید علی پیغمبری،
مختار جلالی جواران

به ترتیب دانشجوی دکتری، استادیار، دانشیار و استادیار پردیس کشاورزی و منابع
طبیعی دانشگاه تهران- کرج و استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس

گیاه کاهو با توجه به نوع مصرف و بیوماس تولیدی دارای پتانسیل مطلوب برای
تبدیل شدن به یک بیو راکتور جهت تولید پروتئین های نو ترکیب و واکسن های خوراکی می
باشد. برای این منظور لازم است، ابتدا مسیر و چگونگی کشت بافت و انتقال ژن به این
گیاه مشخص شود. برای بهبود سازی انتقال ژن با کمک *Agrobacterium tumefaciens*
به کاهو از وکتور دو تایی pBR121 که دارای ژن GUS به عنوان گزارشگر تحت کنترل
پروموتور CamV 35s و ژن NPTII با پروموتور NOS به عنوان ژن نشانگر استفاده
شد. در آزمایش اول دو رقم گیاه کاهو (TN-96-39, TN-96-41) و دو سویه
آگروباکتری (LBA4404 و C58) با غلظت های OD: ۰/۴ و ۰/۶ و سه سطح: ۰ و ۱۰۰
و ۱۵۰ $\mu\text{M}/\text{L}$ استوسرنگان و سه زمان تلقیح: ۲ و ۴ و ۷ دقیقه و با سه تکرار در قالب
طرح فاکتوریل به کار گرفته شد. نتایج نشان داد که رقم TN-96-39 و سویه باکتری
LBA4404 برای عمل ترانسفورماسیون مناسبترند. در تیمار غلظت های OD و سطوح
مختلف استوسرنگان تفاوت معنی داری مشاهده نشد. زمان تلقیح ۲ دقیقه نسبت به دو
سطح دیگر تلقیح نتایج بهتری را نشان داد. با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایش
اول، آزمایش دیگری با رقم TN-96-39 گیاه کاهو و سویه باکتری LBA4404 و تلقیح
به مدت ۲ دقیقه بر روی کوتیلدون های سه روزه و برگ های یک ماهه و جوانه های
برگی جدا شده از سطح جنین های سوماتیکی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه
تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که جوانه های برگی و کوتیلدون ها برای عمل انتقال ژن
مناسب می باشند که به ترتیب ۲۳٪ و ۱۹٪ جداگشت ها بر روی محیط انتخابی قادر به
رشد بودند. فعالیت ژن GUS در گیاهچه های تراریخته احتمالی ارزیابی و PCR و RT-
PCR نشان دادند که حداقل یک نسخه از ژن GUS در ژنوم گیاه جا گرفته است.