

مطالعه فاکتورهای مؤثر در انتقال ژن به گیاه دو پایه اسفناج با بیان موقت ژن gus

زهرا ظهراپی، داود نادری قمی، نادعلی بابائیان

کرج، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی

اسفناج، یکی از گیاهان دوپایه است که به جهت خصوصیات ویژه اش از جمله تعداد کم کروموزوم و کوتاه بودن دوره رشد می تواند به عنوان یک گیاه مدل مناسب در مطالعات ژنتیکی و مولکولی تعیین جنسیت مورد استفاده قرار گیرد. جهت انتقال ژنهایی که تعیین جنسیت را تحت کنترل دارند به این گیاه ابتدا بایستی روش کارا و مناسب انتقال ژن به این گیاه ایجاد شود. انتقال ژن به این گیاه با استفاده از ریزنمونه های مختلف و استفاده از اگروباکتریوم سویه LBA4404 حاوی پلاسمید pCAMBIA3301 مورد

بررسی قرار گرفت. این پلاسمید دارای ژن گزارشگر *gus* و ژن انتخابگر *bar* می باشد که هر دو تحت کنترل پیشبر *CaMV35S* هستند. ریزنمونه های برگ، کوتیلدون، هیپوکوتیل و ریشه با سوسپانسیون اگروباکتریوم، در دو حالت بدون القا و با القای ژن های *vir* تلقیح شدند. روزهای مختلف هم کشتی و پیش کشتی نیز مورد بررسی قرار گرفتند. آزمایشات به صورت طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. ریزنمونه ها، بعد از هم کشتی برای کالوس زایی به محیط گزینش حاوی ۲۵۰ میلی گرم در لیتر کرینی سیلین منتقل شدند. راندمان انتقال ژن در هر تیمار بر اساس بیان موقت ژن *gus*، یک هفته بعد از تلقیح مورد بررسی قرار گرفت. بررسی نتایج نشان داد که، راندمان انتقال ناپایدار ژن در ریزنمونه کوتیلدون، در حالت بدون پیش کشت ، با سه روز هم کشتی با باکتری و با استفاده از سوسپانسیون اگروباکتریوم در حالت بدون القای ژن های *vir* بالاتر از بقیه تیمارها بوده است. با توجه به نتایج حاصل از بیان موقت، آزمایشات انتقال پایدار ژن انجام گرفت. نمونه های تلقیح شده، در محیط انتخابی حاوی ۲۵۰ میلی گرم در لیتر کرینی سیلین و ۲/۵ میلی گرم در لیتر فسفینوترایسین قرار گرفت. پس از تشکیل کالوس، کالوس های تشکیل شده تحت آزمون هیستوشیمیایی GUS قرار گرفتند. نتایج حاصل، راندمان انتقال پایدار ژن در ریزنمونه کوتیلدون را ۱۲٪ نشان داد.