

بررسی پارامترهای مختلف انتقال ژن GOX (گلوکز اکسیداز) به زیره سبز در راستای ایجاد مقاومت به فوزاریوم عامل بیماری بوته میری

اسماعیل ابراهیمی^۱، علی اکبر حبشی^۱، منیژه محمدی ده چشمه^۱، محمدرضا قنادها^۲، بهمن یزدی صمدی^۲ و بهزاد قره یاضی^۱

۱- بخش کشت بافت و انتقال ژن، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی کرج

۲- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

پروتکلی برای تولید گیاهان زیره سبز تراریخت با استفاده از روش آگروباکتریوم بدست آمد.
آگروباکتریوم غیر مسلح سویه EHA105 دارای پلاسمید pBI121 حاوی ژن nptII و ژن GOX (گلوکز

اکسیداز) به عنوان ناقل مورد استفاده قرار گرفت. تعدادی از پارامترها در راستای افزایش کارایی انتقال ژن مورد ارزیابی قرار گرفتند که دوره پیش کاشت جداکشت (pre-culture period) اثر بازدارنده، مرحله رشد باکتری ($OD_{600} = 0.6-0.8$)، طول دوره کشت همزمان (Cocultivation) برابر با دور روز، pH محیط کشت همزمان برابر با ۵/۶، ایجاد زخم و تیمار با استوسرینگون ($100 \mu M$) دارای اثرات مثبت بر انتقال ژن بودند. استراتژیهای مختلف کشت بافت شامل جنین‌های سوماتیکی (با استفاده از جداکشت هیپرکتیل)، اندام‌زایی با (جداکشتهای جنین) و شاخه‌زایی مستقیم (با جداکشتهای گره و جنین) برای عمل انتقال مورد استفاده قرار گرفت. غلظتهای مختلف نشانگر کانامایسین (30-100 mg/ml) برای انتخاب گیاهان تراریخت مورد استفاده قرار گرفت. شاخه‌های باززا شده حاصل از جداکشتهای گره به کانامایسین مقاوم بودند (میانگین ۵ درصد) و به محیط ریشه‌زایی منتقل شدند. فوق بیان ژن GOX و تولید مقادیر زیاد هیدروکسی پراکسیداز به وقوع پیوست، در نتیجه گیاهچه‌های تولید شده سفید شده و مردند.