

عنوان مقاله:

اثر زمان های مایه کوبی و غلظت های استوسیرینگون بر کارایی انتقال ژن بتا گلوکورونیداز (GUS) با میانجیگری آگروباکتریوم در گل ژربرا ('Gerbera jamesonii cv. 'Royal Soft Pink')

محل انتشار:

مجله پژوهش های تولید گیاهی، دوره 25، شماره 2 (سال: 1397)

تعداد صفحات اصل مقاله: 14

نویسندگان:

فرزاد نظری - عضو هیئت علمی دانشگاه کردستان

پژمان آزادی - پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی کرج

مرتضی خوشخوی - استاد بخش علوم باغبانی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز.

ایکیو ناکامورا - استاد بخش علوم باغبانی دانشگاه چیبا، ژاپن.

خلاصه مقاله:

سابقه و هدف: گل ژربرا یکی از محبوب ترین گیاهان زینتی در جهان است و در صنعت گلکاری رتبه چهارم را در بین ده گل بریدنی برتر دارد. امروزه در گل ژربرا روش های انتقال ژن قابل اعمال، برای وارد کردن صفات جدید به ژنوتیپ های برگزیده بدون تغییر در ویژگی های خوب آن، ضرورت دارد. مواد و روش ها: این پژوهش در سه آزمایش جداگانه انجام شده است؛ ابتدا اثر غلظت های متفاوت (5، 10، 15، 20، 25 و 30 میلی گرم بر لیتر) آنتی بیوتیک هیگرومایسین برای تعیین غلظت کشنده آن در گیاهک های غیرتراریخت ژربرا رقم 'Royal Soft Pink' ارزیابی شد. سپس در آزمایش دوم، اثر غلظت 10 میلی گرم در لیتر هیگرومایسین بر میزان باززایی شاخساره در ریزنمونه های دمبرگ دارای پهنک بررسی گردید. در نهایت در آزمایش سوم اثر مدت زمان های مایه کوبی (10 و 20 دقیقه) و غلظت های استوسیرینگون (صفر، 50 و 100 میکرومول) بر کارایی انتقال ژن بتاگلوکورونیداز (GUS) با میانجیگری آگروباکتریوم (*Agrobacterium tumefaciens*) و از طریق هم کشتی ریزنمونه های دمبرگ دارای پهنک، ارزیابی شد. پس از هم کشتی ریزنمونه ها با آگروباکتریوم به مدت دو تا 3 روز، به محیط کشت انگیزش مستقیم شاخساره انتقال یافتند. در ادامه، شاخساره های تراریخت احتمالی، از ریزنمونه ها جدا گردید و افزونگی آن ها انجام شد. در پایان، به منظور تایید گیاهان تراریخت، از آزمون بافت شیمیایی و واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) استفاده شد. یافته ها: نتایج نشان داد که غلظت 10 میلی گرم در لیتر هیگرومایسین برای گزینش شاخساره های تراریخت مناسب بوده و باید پس از باززایی اولیه استفاده شود. بیشترین میزان باززایی (38 درصد) شاخساره های تراریخت احتمالی از ریزنمونه های دمبرگ دارای پهنک، در تیمار 10 دقیقه مایه کوبی و 100 میکرومول استوسیرینگون به دست آمد. همچنین کمترین میزان باززایی (25/25 درصد) شاخساره های تراریخت احتمالی، در تیمار 20 دقیقه مایه کوبی و 50 میکرومول استوسیرینگون مشاهده شد. نتایج آزمون بافت شیمیایی و آنالیز PCR گیاهک های تراریخت، نشان داد که بیشترین شمار رگه مستقل (27 شاخساره) و کارایی انتقال ژن (11 درصد) به ازای هر 100 ریزنمونه دمبرگ، مربوط به تیمار 10 دقیقه مایه کوبی و 100 میکرومول استوسیرینگون می باشد. نتیجه گیری: افزودن هیگرومایسین به محیط کشت، سبب کاهش باززایی مستقیم شاخساره از ریزنمونه های دمبرگ دارای پهنک می شود. عواملی مانند مدت زمان مایه کوبی و غلظت استوسیرینگون اثر چشم گیری بر راندمان و موفقیت تراریختی در ژربرا دارند. استوسیرینگون به عنوان یک انگیزاننده فنولی ژن های Vir و انتقال دهنده T-DNA در آگروباکتریوم در نظر گرفته شده است و سبب افزایش کارایی تراریختی می شود. بنابراین بهترین تیمار برای تولید گیاهان تراریخت در گل ژربرا رقم 'Royal Soft Pink' با انتقال ژن GUS، مایه کوبی ریزنمونه های دمبرگ دارای پهنک با آگروباکتریوم به مدت 10 دقیقه و استفاده از استوسیرینگون به غلظت 100 میکرومول می باشد.

کلمات کلیدی:

آزمون بافت شیمیایی، باززایی مستقیم شاخساره، ژربرا، ژن GUS، واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR)

