بهینه سازی استخراج پروتوپلاست از میوه گوجه فرنگی (Solanum lycopersicum)

افشین تیمورپور[1]،علیرضا سیفی[2]، نسرین مشتاقی[2]

[1]دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشگاه فردوسی مشهد

[2]عضو هیات علمی گروه بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

Arseifi@um.ac.ir

تهیه و استخراج پروتوپلاست از بافت های گیاهی به منظور انجام پروژه های اصلاحی و مهندسی ژنتیک در گیاهان حایز اهمیت است. لذا پژوهش حاضر با هدف بهینه سازی شرایط جداسازی پروتوپلاست از میوه گوجه فرنگی انجام شد. چهار تیمارمختلف شامل: آب، CPW (۱۰۱ میلی گرم در لیتر KNO_3، ۱۴۸۰ میلی گرم در لیتر $CaCl_2.2H_2O$، ۲۴۶ میلی گرم در لیتر $MgSO_4.7H_2O$، ۲۷/۲ میلی گرم در لیتر KH_2PO_4 و ۰/۱۶ میلی گرم در لیتر KI)،محیط غذایی MS، محلولTris حاوی غلظت های متفاوت ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد ساکارز و حاوی ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر آنزیم پکتیناز به عنوان محلول استخراج ارزیابی شدند. با استفاده از این تیمارها پروتوپلاست جداسازی شد لیکن زنده مانی پروتوپلاست‌ها پس از ۲۰ ساعت در این تیمارها کاملا متفاوت بود. پروتوپلاست‌های استخراج شده با استفاده از محلول های استخراج آب، CPW و MS در تمامی غلظت‌های ساکارز پس از ۲۰ ساعت از بین رفتند، ولی پروتوپلاست‌های استخراج شده با محلول Tris حاوی۱۵ درصد ساکارزپس از ۲۰ ساعت زنده ماندند. از آنجا که برای بیان موقت ژن در پروتوپلاست نیاز به نگهداری پروتوپلاست های تیمار شده با DNA برای مدتی بین ۱۶-۸ ساعت است، روش جداسازی سازی پروتوپلاست ارائه شده در این پژوهش می تواند مطالعات بیان موقت ژن در پروتوپلاست گوجه فرنگی را تسهیل کند.

کلمات کلیدی: پروتوپلاست، گوجه فرنگی، بیان موقت ژن

Optimization of protoplast isolation from tomato fruit (Solanum lycopersicum)

Afshin Teimourpour[1], Alireza Seifi[2], Nasrin Moshtaghi[2]

[1]MS.C Student of Plant Breeding, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Ferdowsi University of Mashhad

[2]Faculty of Biotechnology and Plant Breeding Department, Ferdowsi University of Mashhad

Arseifi@um.ac.ir

Protoplast isolation from plant tissues is important for plant breeding and genetic engineering programs. For this, the objective of the present study was to optimize protoplast isolation from tomato fruits. Four different treatments including water, CPW (101 mg/l KNO_3, 1480 mg/l $CaCl_2.2H_2O$, 246 mg/l $MgSO_4.7H_2O$, 27.2 mg/l KH_2PO_4& 0.16 mg/l KI), MS nutrient medium and Tris buffer containing 10, 15, or 20% sucrose, with 10 mgL^{-1}pectinase,as protoplast isolation buffer were compared. Protoplasts were isolated by using all the treatments, however, the viability of protoplasts after 20 hours was different in different isolating solutions. While, isolated protoplasts by using water, CPW, and MS, did not survive after 20 hours incubation at room temperature, most of the protoplasts isolated by Tris buffer containing 15% sucrose remained intact after 20 hours. Since the transient gene expression in protoplasts requires incubation of transfected protoplasts for 8-16 hours, this protoplast isolation .method can be used for transient gene expression studies in tomato

Keywords: Protoplast, Tomato, transient gene expression