مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی
دوره ۷، شماره ۱، بهار و تابستان ۹۷
صفحه ۴۰-۳۳

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 7, Number 1

بررسی اثر سویه *Agrobacterium rhizogenes* و ریزنمونه در القای ریشه مویین در عروسک پشت پرده

Effects of *Agrobacterium rhizogenes* strains and explants on induction of hair root in *Physalis alkekengi*

آرزو عزیزخواجه[۱]، ابراهیم دورانی[۲*]، سعید اهری‌زاد[۳]

Arezoo Aziz Khajeh[1], Ebrahim Dorani[2*], Saeid Aharizad[3]

۱- کارشناس ارشد، ۲- دانشیار، ۳- استاد گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

1- MSc, 2- Associate professor, 3- Professor of Plant Breeding and Biotechnology Dept., Agriculture Faculty, Tabriz University, Tabriz, Iran

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: uliaie@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۲۰ - تاریخ پذیرش: ۹۷/۵/۲۶)

چکیده

عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi* L.) یک گیاه دارویی از تیرهٔ Solanaceae و غنی از مواد فیتوشیمیایی از قبیل فیزالین‌ها، ویتانولیدها، استرول‌ها، پلی‌ساکاریدها و فلاوونوئیدها است. این گیاه دارویی کاربردهای زیادی در طب سنتی و صنعت داروسازی دارد. کشت ریشه‌های مویین عروسک پشت پرده می‌تواند یک روش کارآمد برای تولید صنعتی متابولیت‌های ثانویهٔ آن باشد. در این پژوهش برای القای ریشهٔ مویین در عروسک پشت پرده اثر پنج سویهٔ *Agrobacterium rhizogenes* شامل GM، C58، A4، MSU و 15834 و ریزنمونه‌های برگ و ساقه مطالعه شد. بیشترین درصد تاریختی مربوط‌به ریزنمونه‌های تلقیح شده با سویه‌های A4، MSU و 15834 بود. ریزنمونه‌های برگ با تولید ۵/۶ ریشهٔ مویین به‌ازای هر ریزنمونه نسبت به ریزنمونه‌های ساقه (۲/۹ ریشهٔ مویین به‌ازای هر ریزنمونه) عملکرد بهتری داشتند. برای تأیید تاریخته بودن ریشه‌های مویین، پس از استخراج DNA، PCR با جفت‌آغازگر اختصاصی *rol* A انجام شد. الکتروفورز محصولات PCR حضور قطعه ۴۰۳ جفت‌بازی *rol* A در ریشه‌های مویین و تاریخته بودن آن‌ها را تأیید کرد. پژوهش حاضر اولین مطالعهٔ منتشر شده در زمینهٔ القای ریشهٔ مویین در *P. alkekengi* است.

واژه‌های کلیدی

آگروباکتریوم،
ریشهٔ مویین،
عروسک پشت پرده،
گیاه دارویی،
مهندسی ژنتیک

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-08]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.1.2.1]

مقدمه

گیاهان از دیرباز منبع مهمی برای استخراج مواد شیمیایی مورد استفاده در صنعت داروسازی بوده‌اند. بسیاری از مواد فیتوشیمیایی باارزش جزء متابولیت‌های ثانویه هستند (Tripathi and Tripathi 2003). عروسک پشت پرده یا کاکنج یک گیاه چندساله است که به‌طور وسیع در اروپا و آسیا، به‌خصوص شمال شرقی چین، پراکنش دارد (Hee *et al*. 2011). استفاده دارویی از این گیاه تاریخچهٔ طولانی دارد. همهٔ قسمت‌های این گیاه می‌توانند به‌عنوان دارو مورد استفاده قرار گیرند (Yu *et al*. 2009). مطالعاتی که در سال‌های گذشته انجام شده موجب جداسازی فیزالین‌ها، ویتانولیدها، استرول‌ها، پلی‌ساکاریدها و فلاوونوئیدها از عروسک پشت پرده شده است (Li *et al*. 2014). فیزالین‌ها رنگدانه‌های طبیعی هستند که در صنایع دارویی و غذایی از آن‌ها استفاده می‌شود (Bunsho *et al*. 1995). فیزالین‌ها موجب کاهش فعالیت گلوکز خون و تسکین درد می‌شوند (Wang *et al*. 2004; Gong *et al*. 2002). آزمایشات نشان داده‌اند که فیزالین‌ها و ویتانولیدهای استخراج شده از عروسک پشت پرده اثر بازدارندگی در برابر فعالیت سلول‌های توموری دارند (Li *et al*. 2014). پلی‌ساکاریدها و ترکیبات فنولی موجود در این گیاه نیز نقش مهمی در از بین بردن رادیکال‌های آزاد برای جلوگیری از تنش‌های اکسیداتیو دارند (Yu *et al*. 2009).

در سال‌های گذشته مطالعات بسیاری درجهت ارزیابی تولید ترکیبات دارویی به‌وسیلهٔ کشت درون شیشه‌ای سلول یا اندام‌های گیاهی انجام شده است (Alfermann and Petersen 1995; Berlin 1986). کشت‌های ریشهٔ مویین وسیله‌ای موثر برای تولید متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که در شرایط عادی در گیاهان تمایزیافته تولید می‌شوند (Hu and Du 2006). متابولیت‌های ثانویه در ریشه‌های مویین، درنتیجهٔ تلقیح مواد گیاهی با *A. rhizogenes* تولید می‌شوند که مشابه متابولیت‌های تولیدشده در گیاهان والدی هستند. بازده تولید متابولیت‌های ثانویه در ریشه‌های مویین اغلب برابر و یا بیشتر از گیاهان والدی است (Sevon and Oksman-Caldentey 2002). ازجمله ویژگی‌های ریشه‌های مویین می‌توان به پایداری ژنتیکی بالا و رشد سریع آن‌ها اشاره کرد. ریشه‌های مویین برای رشد نیازی به حضور تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در محیط کشت ندارند. کشت ریشه‌های تراریخته علاوه‌بر تولید متابولیت‌های ثانویه، برای تولید تجاری پروتئین‌ها به‌خصوص آنزیم‌ها نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند (Georgiev *et al*. 2007).

عوامل متعددی ازقبیل گونهٔ گیاه، سن و نوع بافت گیاهی (Sevon and Oksman-Caldentey 2002)، سویهٔ *A. rhizogenes*، غلظت سوسپانسیون باکتری و مدت زمان تلقیح و هم‌کشتی (Park and Facchini 2000) موفقیت تراریختی و القای ریشهٔ مویین را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند.

چندین مطالعه درمورد القای ریشهٔ مویین در گیاهان تیرهٔ Solanacea انجام شده است. در گیاه دارویی *Physalis minima* بیشترین درصد القای ریشهٔ مویین (در محیط هم‌کشتی YEB بین ۱۵ تا ۱۷/۵ درصد و در محیط هم‌کشتی MS بین ۴۰ تا ۴۲/۵ درصد) مربوط‌به ریزنمونه‌های ساقه با برگچهٔ متصل به آن‌ها است که با سویهٔ LBA9402 تلقیح شده بودند. مقدار فیزالین F و فیزالین B در ریشه‌های مویین رشد کرده تحت شرایط تاریکی کمتر از ریشه‌های معمولی رشد یافته در شرایط مشابه بوده است. همچنین فیزالین F تحت روشنایی به‌طرز چشم‌گیری کاهش یافته است (Jualang Azlan *et al*. 2002). تلقیح ریزنمونه‌های برگ *Przewalskia tangutica* با سویهٔ A4 موجب القای ریشهٔ مویین در ۱۰۰ درصد ریزنمونه‌ها شده است.ریشه‌های مویین حاصل درمقایسه با ریشه‌های معمولی گیاه، اسکوپولامین و هیوسیامین بیشتری تولید کرده‌اند (Lan and Quan 2010). در مطالعه‌ای که برای القای ریشهٔ مویین در دو گونهٔ مختلف *Capsicum* spp. انجام شده، بیشترین درصد القای ریشهٔ مویین مربوط‌به ریزنمونه‌های کوتیلدونی بوده که در گونهٔ *C. frutescens* با سویه‌های ATCC 13333 و ATCC 15834، و در گونهٔ *C. annuum* با سویه‌های ATCC 43056 و ATCC 43057 تلقیح شده بودند (Setamam *et al*. 2014). در گیاه دارویی *Atropa komarovii* تلقیح گیاهچه‌های استریل ۱۵ روزه با سویهٔ ATCC 15834 موجب پاسخ مثبت ۷۰ درصد ریزنمونه‌ها به القای ریشهٔ مویین شده است (Banihashemi *et al*. 2015).

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-08]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.1.2.1]

با توجه به اینکه عروسک پشت پرده دارای متابولیت‌های ثانویهٔ ارزشمند در تمام بخش‌های گیاه است؛ در این مطالعه تلاش بر این بوده که یک روش تکرارپذیر برای القای ریشهٔ مویین در این گیاه ارائه شود. طبق بررسی‌های انجام شده پژوهش حاضر نخستین گزارش از القای ریشهٔ مویین در این گیاه است و در آن اثر چند سویهٔ *A. rhizogenes* و ریزنمونه‌های برگ و ساقه در القای ریشهٔ مویین مطالعه شده است. این پژوهش می‌تواند زمینه-ساز مطالعات بعدی باشد و ریشه‌های مویین القا شده برای تولید صنعتی مواد فیتوشیمیایی موجود در عروسک پشت پرده به‌کار روند.

مواد و روش‌ها

بذور بالغ عروسک پشت پرده که از منطقهٔ کلیبر آذربایجان شرقی جمع‌آوری شده بودند؛ به‌مدت ۱۵ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد ضدعفونی و سه مرتبه با آب مقطر استریل آبکشی شدند. بذرها برای رفع خواب به‌مدت ۴ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد درون یخچال قرار گرفتند. بعد از چهار روز، تعداد ۲۰ بذر در پتری‌های ۱۰۰ × ۱۵ میلی‌متری حاوی ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت MS $^{1}/_{2}$ برای جوانه‌زنی کشت شدند. محیط کشت پایهٔ MS حاوی ۳ درصد شکر بود و pH آن قبل از افزودن آگار روی ۵/۷ تنظیم شده سپس ۰/۶ درصد آگار به آن اضافه و به‌مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو تحت دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع ضدعفونی شد. کشت‌ها در اتاق رشد با دمای ۲±۲۵درجهٔ سانتی‌گراد و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شدند.

برای به‌دست آوردن تک کلونی، سویه‌های *A. rhizogenes* شامل GM، C58، A4، MSU و 15834 در محیط LB-Agar مایه‌زنی شدند. کلونی‌های تازهٔ باکتری در ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت LB مایع حاوی ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر ریفامپیسین مایه‌زنی شده و در شیکر انکوباتور با سرعت ۱۱۰rpm در دمای ۲۸ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت یک شب قرار گرفتند تا OD_{600} آن‌ها برابر با ۰/۸ شود. سلول‌های باکتری به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰rpm سانتریفیوژ شدند سپس رسوب‌های حاصل در محیط کشت تلقیح (MS مایع) حل شدند.

ریزنمونه‌های ساقه و برگ گیاهچه‌های درون شیشه‌ای سه ماهه برای هم‌کشتی با *A. rhizogenes* استفاده شدند (شکل ۲a). ریزنمونه‌ها به‌طور متناوب با اسکالپل زخمی شدند و برای ۱۵ دقیقه در محیط تلقیح غوطه‌ور شدند. سپس روی کاغذ واتمن استریل خشک و در محیط کشت MS جامد کشت شده و در تاریکی مطلق قرار گرفتند تا دورهٔ هم‌کشتی را طی کنند. بعد از دو روز، ریزنمونه‌ها به محیط MS جامد فاقد تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی دارای ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سفوتاکسیم انتقال داده شدند. کشت‌ها در اتاق رشد با دمای ۲±۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد و تحت تاریکی مطلق قرار داده شدند.

ریشه‌های مویین تشکیل شده بعد از سه مرحله واکشت به‌فاصله زمانی پنج روز در محیط کشت حاوی آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم و اطمینان از حذف کامل باکتری‌ها، برای تأیید تراریختی مورد بررسی مولکولی قرار گرفتند. پس از استخراج DNA ریشه‌های مویین و نمونه‌های شاهد به‌روش دلاپورتا و همکاران (Dellaporta *et al.*, 1983) از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای تکثیر قطعه¬ای از ژن *rol* A با استفاده از جفت‌آغازگر اختصاصی F: 5′-ACGGTGAGTGTGGTTGTAGG-3′ و R: 5′-GCCACGTGCGTATTAATCCC-3' استفاده شد. به‌منظور الکتروفورز، محصولات PCR روی ژل آگاروز ۰/۸ درصد همراه نشانگر ۱۰۰bp بارگذاری شدند و برای رنگ آمیزی از اتیدیوم بروماید استفاده شد.

درصد تراریختی ریزنمونه‌ها و تعداد ریشه‌های مویین القا شده به‌ازای هر ریزنمونه ۲۰ روز پس از تلقیح محاسبه شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار MSTAT-C در قالب آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور سویهٔ باکتری و ریزنمونه، برپایهٔ طرح کاملا تصادفی با سه تکرار (هر تکرار حاوی شش ریزنمونه) انجام شد و مقایسهٔ میانگین‌ها به‌روش دانکن انجام گرفت.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-08]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.1.2.1]

نتایج و بحث

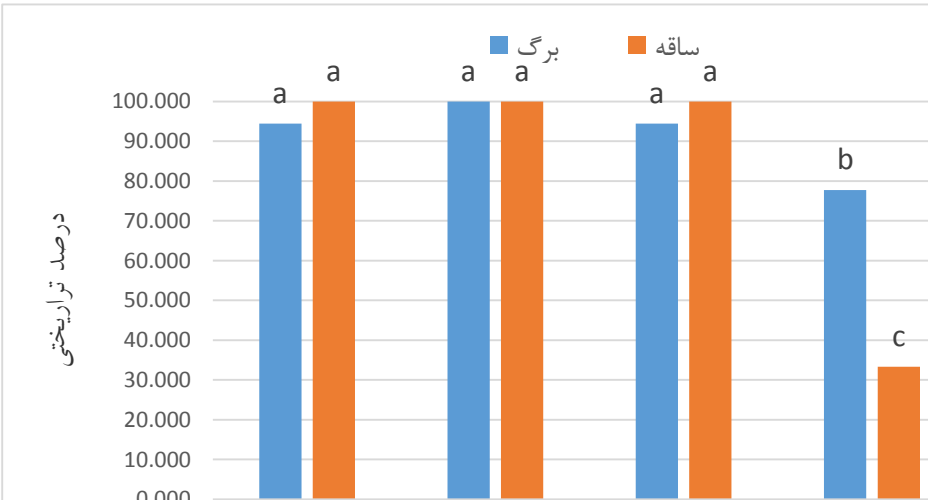
در این پژوهش اثر پنج سویهٔ *Agrobacterium rhizogenes* شامل GM، C58، A4، MSU و 15834 و ریزنمونه‌های برگ و ساقه در القای ریشهٔ مویین در عروسک پشت پرده مطالعه شد. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در قالب آزمایش فاکتوریل برپایهٔ طرح کاملا تصادفی نشان داد که اثر ریزنمونه، باکتری و اثر متقابل ریزنمونه×باکتری بر درصد تراریختی ریزنمونه‌ها، و اثر ریزنمونه بر تعداد ریشهٔ مویین تولید شده به‌ازای هر ریزنمونه معنی‌دار بوده است (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس داده‌های مربوطبه درصد تراریختی و تعداد ریشهٔ مویین تولید شده به‌ازای هر ریزنمونه در گیاه عروسک پشت پرده

Table 1- Variance analysis of transformation rate and number of hairy roots per explant

منبع تغییرات	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات	
		درصد تراریختی ریزنمونه‌ها	تعداد ریشهٔ مویین به‌ازای هر ریزنمونه
ریزنمونه	۱	۷۶۰/۳۶۶**	۵۴/۴۹۴**
سویهٔ باکتری	۴	۵۸۱۸/۴۹۵**	۹/۴۰۸^{ns}
ریزنمونه × سویهٔ باکتری	۴	۷۰۶/۶۶۲**	۱/۹۳۱^{ns}
خطای آزمایش	۲۰	۷۷/۴۰۰	۴/۲۹۶
ضریب تغییرات (درصد)		۱۳/۳۴	۴۸/۷۳

**معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد ^{ns}غیرمعنی‌دار



شکل ۱- مقایسهٔ میانگین اثرمتقابل ریزنمونه×سویهٔ باکتری بر درصد تراریختی

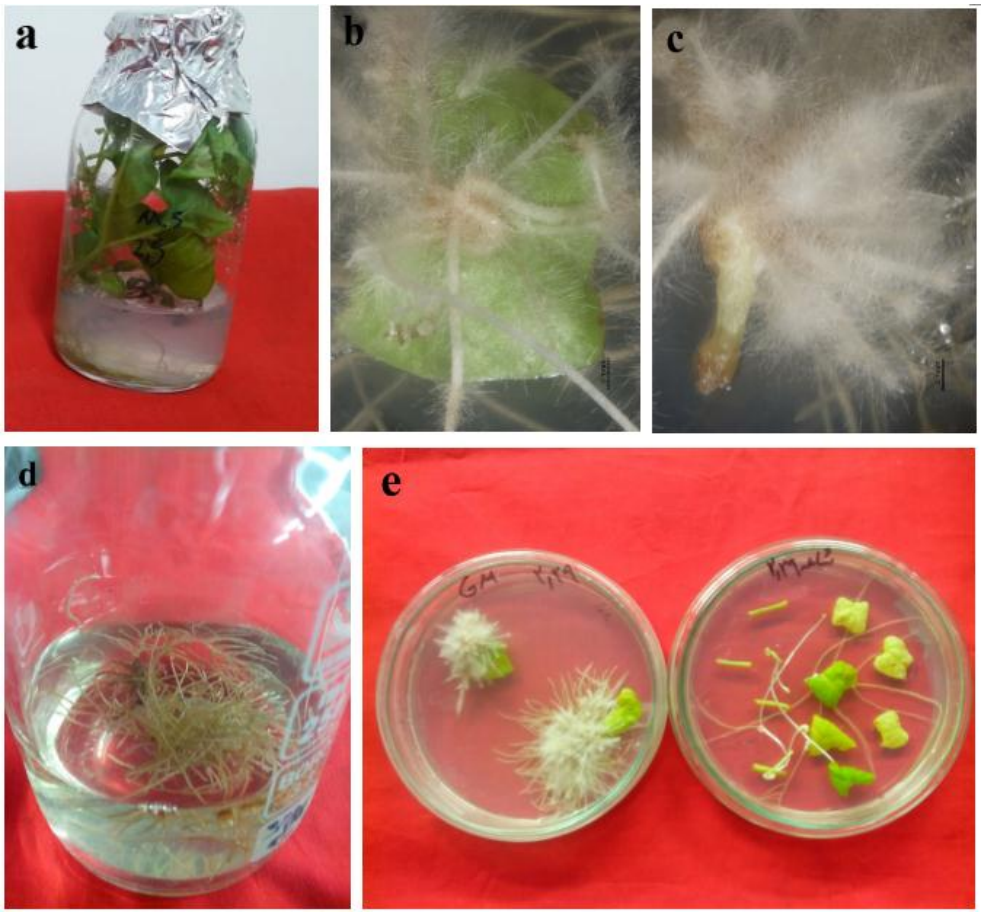
Figure 1- Mean comparison of explant×bacterial strain interaction on transformation rate

مقایسهٔ میانگین برای درصد تراریختی ریزنمونه‌ها که در شکل ۱ خلاصه شده است، نشان داد که بیشترین درصد تراریختی مربوط به ریزنمونه‌های برگ و ساقهٔ تلقیح شده با سویه‌های A4، MSU و 15834 است. مقایسهٔ میانگین تعداد ریشهٔ مویین به‌ازای هر ریزنمونه نیز نشان داد که ریزنمونه‌های برگ با ۵/۶ ریشهٔ مویین به‌ازای هر ریزنمونه نسبت به ریزنمونه‌های ساقه با ۲/۹ ریشهٔ مویین به‌ازای هر ریزنمونه عملکرد بهتری داشته‌اند. شکل‌های 2b و 2c ریشه‌های مویین القا شده از ریزنمونه‌های برگ و ساقهٔ عروسک پشت پرده را نشان می‌دهند. اولین ریشه‌های مویین یک هفته پس از تلقیح در ریزنمونه‌های برگ تلقیح شده با سویه‌های A4، MSU و 15834 ظاهر شدند. ریشه‌های مویین تولید شده ۲۰ روز بعد از تلقیح، پس از جداسازی از ریزنمونه‌ها در محیط

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-08]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.1.2.1]

کشت مایع بدون تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی کشت شدند. این کشت‌ها درون شیکر انکوباتور با سرعت ۹۰ rpm، دمای ۲±۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد و تحت تاریکی مطلق قرار گرفتند. کشت‌های مایع پس از دو هفته بازکشت شدند.(شکل 2d). نمونهٔ شاهد عروسک پشت پرده نیز تهیه شد که در آن برای تلقیح به‌جای سوسپانسیون باکتری از محیط LB مایع استفاده شده بود (شکل 2e).

حضور ژن *rolA* در DNA ژنومی ریشه‌های مویین تراریخته و نمونه‌های شاهد با روش PCR مورد بررسی قرار گرفت. تکثیر یک قطعهٔ ۴۰۳bp با آغازگرهای اختصاصی تراریخته بودن ریشه-های مویین را تأیید کرد (شکل ۳).

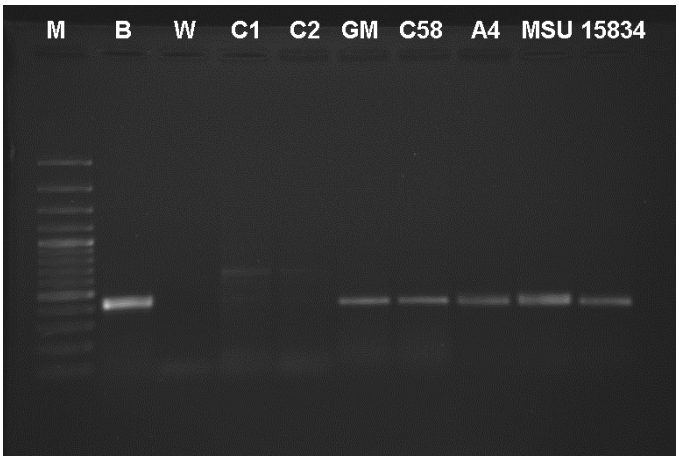


شکل ۲- القای ریشهٔ مویین در *P. alkekengi* ، a: گیاهچه‌های ۳ ماههٔ استفاده شده برای تهیهٔ ریزنمونه، b: ریشه‌های مویین حاصل از ریزنمونهٔ برگ، c: ریشه‌های مویین حاصل از ریزنمونهٔ ساقه، d: رشد ریشه‌های مویین در محیط کشت مایع، e: مقایسهٔ مورفولوژی ریشه‌های مویین با ریشه‌های معمولی در نمونهٔ شاهد.

Figure 2- Induction of hairy root in *P. alkekengi*, a: 3-month-old seedlings used to prepare the explants, b: hairy roots emerged from leave explants, c: hairy roots emerged from stem explants, d: establishment of hairy root cultures in liquid medium, e: comparison of hairy root's morphology with common roots.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-08]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.1.2.1]



شکل ۳- تجزیه و تحلیل PCR ژن A *rol* در ریشه‌های مویین عروسک پشت پرده، M: نشانگر 100 bp، B: کلونی *A. rhizogenes* به‌عنوان شاهد مثبت، W: آب به‌عنوان شاهد منفی، C1: DNA برگ به‌عنوان شاهد منفی، C2: DNA ریشه به‌عنوان شاهد منفی، (GM، C58، A4، MSU و 15834): قطعهٔ ۴۰۳ جفت‌بازی که تکثیرژن A *rol* در ریشه‌های مویین تراریخته را نشان می‌دهد.

Figure 3- PCR analysis of *rol* A gene in transformed hairy roots of *Physalis alkekengi*, M: Marker (100 bp), B: positive control of *A. rhizogenes*, W: negative control of distilled water, C1: negative control of non-transgenic DNA of leaf, C2: negative control of non-transgenic DNA of stem, (GM, C58, A4, MSU and 15834): genomic DNA of hairy roots showing amplified fragment of *rol A* (403bp)

سویه‌های مختلف باکتری آگروباکتریوم توانایی انتقال ژن به گیاهان را دارند (Guillon *et al*. 2006). *A. rhizogenes*، یک باکتری خاکزاد و گرم‌منفی است که مطالعات وسیعی در مورد آلودگی مواد گیاهی توسط این باکتری و به‌تبع آن شکل‌گیری ریشه‌های مویین انجام شده است (Kim *et al*. 2010). یکی از مهم‌ترین موارد در فرآیند آلودگی برهمکنش میزبان-عامل بیماری‌زا است. چندین عامل از جمله قند و ترکیبات فنولی آزاده شده از گیاهان و غشاها، و پروتئین‌های اتصالی که بسته به ژنوتیپ گیاه متفاوت‌اند در شکل‌گیری این رابطه مشارکت دارند؛ درنتیجه پاسخ‌های متفاوتی ایجاد می‌شود (Winans 1992). امروزه پیشرفت در روش‌های کشت سلول و بافت‌های گیاهی و مهندسی ژنتیک موجب دستکاری در مسیرهای متابولیکی شده که موفقیت سیستم‌های کشت ریشه‌های مویین در گونه‌های گیاهی خاص را امکان پذیر کرده است. بنابراین به‌منظور القای موفق ریشهٔ مویین چند عامل اساسی باید مورد بررسی قرار گیرند. این عوامل سویهٔ *A. rhizogenes*، ریزنمونهٔ مناسب، آنتی بیوتیک مناسب برای حذف باکتری‌ها بعد از هم‌کشتی و محیط کشت مناسب را شامل می‌شود (Hu and Du 2006). در گیاه دارویی *Physalis minima* تلقیح ریزنمونه‌های ساقه که برگچهٔ متصل دارند با سویهٔ LBA9402 موجب القای ریشهٔ مویین در این گیاه شده است (Jualang *et al*. 2002). در گونه‌های *Withania somnifera* و *Solanum surattense* برگ به‌عنوان بهترین ریزنمونه برای القای ریشهٔ مویین معرفی شده است (Pawar and Maheshwari 2004). در گیاه *Przewalskia tangutica* القای ریشهٔ مویین با استفاده از ریزنمونه‌های برگ و سویهٔ A4 موفقیت‌آمیز بوده است (Lan and Quan 2010). ریزنمونه‌های کوتیلدون *Capsicum annuum* تلقیح شده با سویه‌های ATCC 43056 و ATCC 43057 و ریزنمونه‌های کوتیلدونی *Capsicum frutescens* تلقیح شده با سویه‌های ATCC 13333 و ATCC 15834 بیشترین درصد القای ریشهٔ مویین را داشته‌اند (Setamam *et al*. 2014). در گیاه *Atropa komarovii* نیز ریزنمونه‌های برگ (Banihashemi *et al*. 2015) و ریزنمونه‌های ساقه گیاه *Atropa baetica* (Zarate 1999) تلقیح شده با سویهٔ ATCC15834 بهتر پاسخ را در القای ریشهٔ مویین داشتند. در پژوهش حاضر نیز هر دو ریزنمونهٔ ساقه و برگ که با سویه‌های A4، MSU و 15834 تلقیح شده بودند؛ درصد تراریختی مشابهی داشتند و بیشترین درصد تراریختی را نشان دادند. ریزنمونه‌های برگ با تولید ۵/۶۰۱ ریشهٔ مویین به‌ازای هر ریزنمونه نسبت به ریزنمونه‌های ساقه (با ۲/۹۰۶ ریشهٔ مویین به‌ازای هر ریزنمونه) عملکرد بهتری داشتند. پژوهش حاضر اولین مطالعه در زمینهٔ القای ریشهٔ مویین در *P. alkekengi* است و امید است زمینه‌ساز مطالعات بعدی در این گیاه باشد.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-08]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.1.2.1]

منابع

Alfermann AW, Petersen M. 1995. Natural product formation by plant cell biotechnology–Results and perspectives. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 43: 199–205.

Banihashemi O, Khavari-Nejad R, Yassa N, Najafi F. 2015. Induction of hairy roots in *Atropa komarovii* using *Agrobacterium rhizogenes* ATCC15834. Indian Journal of Fundamental and Applied Life Science 5: 585-591.

Berlin J. 1986. Secondary products from plant cell cultures. In: Rehm H, Reed G (eds.). Biotechnology a comprehensive treatise. Verlag Chemie, Verlagsgesellschaft, Weinheim, Vol 4, 630–658.

Bunsho M, Masao K, Koji K, Hatsuo Y, Yasuo B. 1995. New physalins possessing an additional carbon–carbon bond from *Physalis alkekengi* var. *francheti*. *Tetrahedron* 51:12529–12538.

Dellaporta S, Wood J, Hicks JB. 1983. A plant DNA minipreparation: Version II. Plant Molecular Biological Reports 1: 19-21.

Georgiev MI, Pavlov AI, Bley T. 2007. Hairy root type plant in vitro systems as sources of bioactive substances. Applied Microbiology and Biotechnology 74: 1175-1185.

Gong S, Dan LD and Zhang YY. 2002. Experimental Study on the analgesic effect of *Physalis alkekengi* L. Chinese Journal of Suzhou University 22: 380–382.

Guillon S, Tremouillaux-Guiller J, Pati P, Rideau M, Gantet P. 2006. Harnessing the potential of hairy roots: dawn of a new era. Trends in Biotechnology 24: 403- 409.

Hee K, Seung-Ro K, Ho-Young C. 2011. Inhibitory effect of *Physalis alkekengi* L. var. *franchetii* extract and its chloroform fraction on LPS or LPS/IFN-g-stimulated inflammatory response in peritoneal macrophages. Journal of Ethnopharmacology 135: 95–101.

Hu Z, Du M. 2006. Hairy root and its application in plant genetic engineering. Journal of Integrative Plant Biology 48: 121–127.

Jualang Azlan G, Marziah M, Radzali M, Johari R. 2002. Establishment of *Physalis minima* hairy roots culture for the production of physalins. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 69: 271-278.

Kim YK, Xu H, Park W, Park N, Lee N, Lee S, Park S. 2010. Genetic transformation of buck wheat (*Fagopyrum esculentum* M.) with Agrobacterium rhizogenes and production of rutin in transformed root culture. Australian Journal of Crop Science 4: 485-490.

Lan X, Quan H. 2010. Hairy root culture of *Przewalskia tangutica* for anhancedproduction of pharmaceutical tropane alkaloids. Journal of Medicinal Plants Research 4: 1477-1481.

Li X, Zhao J, Yang M, Liu Y, Li Z, Li R, Li X, Li N, Xu Q, Khan I, Yang Sh. 2014. Physalins and withanolides from the fruits of *Physalis alkekengi* L. var. *franchetii* (Mast.) Makino and the inhibitory activities against human tumor cells. Phytochemistry Letters 10: 95–100.

Park SU, Facchini PJ. 2000. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation of opium poppy, *Papaver somniferum* L., and California poppy, *Eschscholzia californica* Cham., root cultures. Journal of Experimental Botany 347: 1005-1016.

Pawar PK, Maheshwari VL. 2004. *Agrobacterium rhizogenes* mediated hairy root induction in two medicinally important members of family solanaceae. Indian Journal of Biotechnology 3: 414-417.

Setamam NM, Jaafar Sidik N, Abdul Rahman Z, Che Mohd Zian CR. 2014. Induction of hairy root by various strains of *Agrobacterium rhizogenes* in different types of *Capsicum* species explants. BMC Research Notes 7: 414-422.

Sevon N, Oksman-Caldentey K. 2002. *Agrobacterium rhizogenes* mediated transformation: root cultures as a source of alkaloids. Planta Medica 68: 859 – 868.

Tripathi L, Tripathi JN. 2003. Role of biotechnology in medicinal plants. Tropical Journal of Pharmaceutical Research 2: 243 – 253.

Wang HP, Xu MS, Sun L and Song XB. 2004. Study on the decreasing blood glucose effect of Jindenglong. Information of Traditional Chinese Medicine 21: 53–55.

Winans SC. 1992. Two-Waychemical signaling in Agrobacterium-plant interaction. Microbiology Review 56: 12-31.

Yu G, Yufeng D, Guozhen F, Yan Z, Shuo W. 2009. Study on biological activities of *Physalis alkekengi* var. *franchetti* polysaccharide. Journal of the Science of Food and Agriculture 89: 1593–1598.

Zarate R. 1999. Tropane alkaloid production by *Agrobacterium rhizogenes* transformed hairy root cultures of *Atropa baetica* Willk. (Solanaceae). Plant Cell Reports 18: 418-423.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-08]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.1.2.1]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 7, Number 1

Effects of *Agrobacterium rhizogenes* strains and explants on induction of hair root in *Physalis alkekengi*

Arezoo Aziz Khajeh[1], Ebrahim Dorani[2*], Saeid Aharizad[3]

1- MSc, 2- Associate professor, 3- Professor of Plant Breeding and Biotechnology Dept., Agriculture Faculty, Tabriz University, Tabriz, Iran

*Corresponding Author: uliaie@yahoo.com

Abstract

Physalis alkekengi L. is a medicinal plant belonging to the Solanaceae family. This plant is rich in phytochemicals such as: physalins, withanolides, sterols, polysaccharides and flavones. *P. alkekengi* has many uses in traditional medicine and pharmaceutical industry. Hairy root cultures of *P. alkekengi* can be used to produce secondary metabolites. In this research, the effects of 5 strains of *Agrobacterium rhizogenes* (GM, C58, A4, MSU and 15834) and leaf and stem explants were studied on induction of hairy root in *P. alkekengi*. The highest transformation rate was related to explants which were inoculated with A4, MSU and 15834 strains. Leaf explants produced 5.6 hairy roots per explant and were better than stem explants (produced 2.9 hairy roots per explant). To confirm the transformation of hairy roots, PCR was performed with specific primers of *rol*A gene. Electrophoresis of PCR products confirmed the integration of *rol*A gene (403 bp) to the plant genome. This article is a first published study about induction of hairy root in *P. alkekengi*.

Key words: *Agrobacterium rhizogenes,* genetic engineering, hairy root, medicinal plant, *Physalis alkekengi*

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-08]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.1.2.1]