مجله ایمنی زیستی

دوره ۱۷، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳

ISSN 2716-9804 الکترونیکی، ISSN 2717-0632 چاپی

تاثیر متیل جاسمونات بر برخی صفات فیزیولوژیکی ریشه‌های مویین حاصل از گیاه دارویی شابیزک (*Atropa belladonna*) در شرایط درون شیشه‌ای

نوع مقاله: پژوهشی 20.1001.1.27170632.1403.17.2.1.1

هانیه لطفی[۱]، حسن مهدوی‌کیا[۲]، فرزاد بنائی‌اصل[۳*]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه گیاهان دارویی، مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب، دانشگاه ارومیه، ایران

۲- دانشیار، گروه گیاهان دارویی، مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب، دانشگاه ارومیه، ایران

۳- استادیار پژوهشی، بخش تحقیقات زیست‌فناوری، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

f.banaei@rifr-ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۲۷، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۱۰

صفحه ۱۹-۱

چکیده

شابیزک (*Atropa belladonna*) به دلیل وجود آلکالوئیدهای تروپانی برای درمان دردها و همچنین بیماری‌هایی با حملات انقباضی چون آسم و سیاه‌سرفه دارای عملکرد مثبتی است. در این پژوهش از ۵ سویه باکتری *Agrobacterium rhizogenes* به نام‌های A_4، ATCC، 1724، R1000 و MSU و سه ریزنمونه برگ، ساقه و ریشه به منظور القای ریشه مویین استفاده شد. درنهایت لاین برتر در معرض شش غلظت متیل جاسمونات و پنج تیمار زمانی قرار گرفت و صفات مورفولوژیک بررسی شد. طبق نتایج به‌دست‌آمده، نوع ریز نمونه و سویه‌های مختلف آگروباکتریوم موفق شدند تا اثر معنی‌داری را بر درصد تولید ریشه مویین داشته باشند، همچنین از بین سه ریزنمونه مورد استفاده در محیط‌کشت، تنها ریز نمونه برگ موفق به تولید ریشه مویین شد و بیشترین درصد ریشه‌زایی (۴۵/۵٪) توسط تلقیح با سویه R1000 به دست آمد. به‌طورکلی محرک متیل جاسمونات در صورت افزایش غلظت و مدت‌زمان قرارگیری ریزنمونه در معرض این تیمار دچار تنش و سمیت شده و آسیب و کاهش رشد در ریشه‌ها مشاهده خواهد شد. درصورتی‌که در صورت استفاده صحیح از غلظت و زمان مناسب باعث افزایش فعالیت‌های متابولیتی شده و به‌عنوان یک پیام‌رسان مولکولی قوی عمل خواهد کرد.

واژه‌های کلیدی: آگروباکتریوم، خانواده سولاناسه، ریشه موئین، کشت درون شیشه‌ای، متیل جاسمونات

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.2.1.1]

مقدمه

شابیزک با نام علمی *Atropa belladonna* یک گیاه علفی و چندساله بوده که در اروپا، شمال آفریقا و آسیای غربی رویش دارد. همچنین این گیاه گاهی به‌عنوان یک گیاه زینتی در ایالات‌متحده کشت می‌شود. شابیزک به خانواده سیب‌زمینیان (Solanaceae) تعلق دارد (Lacković, 2017) دارای برگ‌های بزرگ به‌صورت جفت؛ در دو طرف ساقه است. میوه‌ها به شکل گیلاس‌های بنفش تیره/سیاه، آبدار بوده که حاوی دانه‌های بسیاری است و سمی‌ترین قسمت این گیاه هستند. به دلیل طعم شیرین و مطبوع میوه این گیاه سمی و خودرو در طبیعت و شباهت بسیار آن با توت‌های خوراکی دیگر باعث ایجاد خطر مسمومیت بالا برای کودکان و بزرگ‌سالان در اروپا، آفریقا و آسیا شده است (Laffargue et al. 2011; Lacković. 2017; Fattahi et al. 2021;).

به دلیل وجود آلکالوئید در این گیاه مسکنی برای از بین بردن درد، در بیماری‌هایی که همراه با حملات انقباضات عضلانی همچون: سیاه‌سرفه، آسم، صرع و برونشیت حاد بوده و همچنین عصاره شابیزک به کاهش درد قلب، درمان مشکلات کبدی و کیسه صفرا کمک شایانی می‌کند. به‌علاوه اینکه از این گیاه دارویی برای درمان نقرس و زخم نیز استفاده می‌شود (Lee. 2007).

به‌طورمعمول تولید ترکیبات زیست فعال از گیاهان دارویی (Khodadadi et al. 2024) باارزش از طریق انواع سیستم‌های کشت بافتی انجام می‌شود و به دلیل اینکه روشی ایده‌آل به جهت تکثیر برخی از گیاهان دشوار است؛ در سال‌های اخیر در سراسر جهان علاقه زیادی به این تکنیک پیدا شده است (George et al. 2008; Moradi et al. 2018) همچنین از دیگر توانایی این تکنیک کشت ریشه مویین بوده که این ریشه‌های مویین دارای ویژگی‌هایی بالقوه‌ای اعم از رشد در کمترین زمان ممکن، پایداری ژنتیکی بالا، افزایش تولید متابولیت ثانویه و همچنین حفاظت از گیاهان نادر بدون ریشه‌کن کردن آن‌ها و استفاده مؤثر از آن‌ها خواهد شد؛ درنتیجه یکی از راهکارهای مؤثر برای دست‌یابی به متابولیت‌های باارزش گیاه دارویی مدنظر است (Faraz et al. 2020).

باکتری *Agrobacterium rhizogenes* ابزاری موثر و توانمند در القای ریشه مویین بوده و همچنین باعث افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه شده و در صورت بهره‌مندی از محرک‌های مناسب باعث بهبود این هم‌افزایی نیز خواهد شد (Li and Wang, 2021). عوامل مختلفی چون نوع ژنوتیپ، گیاه، ریز نمونه و سویه باکتری مورد استفاده برای

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.2.1.1]

تلقیح بر میزان القای ریشه مویین تأثیرگذار خواهد بود؛ همچنین فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی دیگری همچون رشد و تولید ریشه‌های‌موئین وابسته به این عوامل بوده و نتایج متفاوتی را در بر خواهد داشت. درنتیجه استفاده از محرک‌های مناسب جهت بهینه‌سازی ترکیبات محیط‌کشت باعث تحریک جریان محصولات درون‌سلولی برای انتقال ژن به گیاهان توسط *A. rhizogenes* شده و با توسعه‌بخشی این جریانات می‌تواند باعث کارایی بیشتر این امر شود (Kabirnotaj et al. 2013; Yadav et al. 2014).

متیل جاسمونات جزئی از مشتقات جاسمونیک اسید است و محصول نهایی مسیر اکتادکانوئید بوده که مسئول القا کردن فعالیت آنزیم‌های ویژه‌ای است که درنهایت باعث بیوسنتزی واکنش‌های مرتبط با تولید ترکیب‌های دفاعی خواهد شد و این واکنش‌های دفاعی شامل پلی فنل‌ها، آلکالوئیدها و ترپنوئیدها بوده و باعث بروز پاسخ‌های دفاعی می‌شود و درنتیجه این مراحل؛ گیاه در برابر تنش‌های پیش‌آمده و عوامل فیزیولوژیک چون رشد و پیری برگ تأثیرپذیر خواهد بود (Kozlowski et al. 1999; Qian et al. 2004; Choi et al. 2005).

به‌طورکلی با توجه به پژوهش‌های صورت گرفته در خصوص رابطه میزان غلظت مصرفی متیل جاسمونات و زمان مورد استفاده نتایج حاکی از آن بوده که غلظت‌های پایین‌تر در اکثر گونه‌های گیاهی اثر مثبتی داشته و در غلظت‌های بالاتر از حدی با ایجاد سمیت نتیجه منفی را در بر خواهد داشت (Lorenzo et al. 2003).

در این پژوهش اثر سویه‌های مختلف *A. rhizogenes* بر القای ریشه مویین در گیاه شابیزک در سه ریز نمونه برگ، ساقه و ریشه بررسی‌شده و همچنین تأثیر تیمار متیل جاسمونات در غلظت‌های مختلف بر صفات مورفولوژیک و شاخص رشد ریشه‌های‌موئین حاصل از تلقیح توسط *A. rhizogenes* به‌طور مجزا در ریشه‌های‌موئین تحت تیمار و بدون تیمار مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش

این پژوهش در سال ۱۴۰۲ در آزمایشگاه بخش زیست‌فناوری واقع در موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور تهران انجام شد.

طرح آزمایشی: بررسی القا ریشه مویین در سه نوع ریز نمونه (برگ، ساقه و ریشه) توسط ۵ نوع سویه باکتری *A. rhizogenes* (MSU، A_4، ATCC، 1724 و R1000) در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار انجام شد.

در مرحله بعدی تیماردهی در غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۵ و ۱۵۰ میکرو مولار و ۵ تیمار زمانی شامل ۴،۰، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت مورد

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.2.1.1]

بررسی قرار گرفت. همچنین درنهایت ویژگی‌های مورفولوژیک آن اعم از طول ریشه و وزن خشک‌ریشه‌های مویین، تحت تأثیر تیمار اعمال‌شده؛ مورد ارزیابی قرار گرفت.

۱. کشت بذرها برای تهیه ریزنمونه‌ها: بذرهای گیاه دارویی *A. belladonna* از موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور تهران تهیه شد. بذرها پس از خیسانده شدن در آب مقطر به مدت یک ساعت قرار گرفت. به منظور ضدعفونی بذور از الکل ۷۰ درصد و هیپوکلریت‌سدیم دو درصد به ترتیب به مدت ۳۰ ثانیه و ده دقیقه استفاده شد؛ درنهایت سه مرتبه با آب مقطر استریل شستشو داده شدند (Sedira et al. 2001). بذزهای استریل شده در محیط‌کشت پایه MS (Murashige and Skoog, 1962) با یک‌دوم غلظت حاوی ۶ گرم بر لیتر آگار کشت‌شده و تحت شرایط تاریکی و دمای ۲۵ درجه‌ی سلسیوس برای جوانه‌زنی در اتاق رشد نگهداری شدند.

۲. القای ریشه‌موئین: این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. فاکتور اول تأثیر نوع ریز نمونه (برگ، ساقه و ریشه) و فاکتور دوم ۵ نوع سویه (A_4، MSU، ATCC 1724 و R1000) در نظر گرفته شد. هر سویه به‌صورت تک کلون شده در محیط‌کشت مایع LB به مدت ۴۸ ساعت بر روی شیکر در حالت غوطه‌ور، در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد در انکوباتور انتقال یافت. پس از رشد کافی باکتری‌ها؛ تراکم نوری آن‌ها توسط دستگاه اسپکتوفوتومتر با طول‌موج ۶۰۰ نانومتر سنجیده شد و مقدار بهینه غلظت باکتری (OD_{600}) بین ۵/۰ تا ۶/۰ برای هر سویه درنظرگرفته شد (Sathasivam et al. 2022). برای تلقیح ابتدا ریز نمونه‌های برگ، ساقه و ریشه‌های جوان‌تر و سالم‌تر انتخاب و به قطعات دو سانتی‌متری برش داده شدند. سپس زخم‌هایی بر سطح‌رویی ریز نمونه‌ها با استفاده از اسکالپل ایجاد شد و جهت تلقیح غوطه‌وری در محیط حاوی سوسپانسیون باکتری انجام شد. سپس برای حذف سوسپانسیون اضافی باکتریایی موجود در اطراف ریز نمونه‌ها، از کاغذ استریل استفاده شد. ریز نمونه‌های تلقیح شده جهت هم کشتی ابتدا به محیط‌کشت پایه MS فاقد هورمون و آنتی‌بیوتیک به مدت ۴۸ ساعت انتقال یافت.

پس از گذشت ۲ الی ۳ روز پس از تشکیل هاله موسیلاژی شکل لزجی در اطراف ریز نمونه‌های تلقیح یافته با باکتری، آلودگی نمایان گشت. برای حذف باکتری، ریز نمونه‌ها با آب استریل حاوی ۳۵۰mg/L سفوتاکسیم شست‌وشو داده شدند و برای حذف آب اضافی روی کاغذ استریل قرارگرفته شد؛ سپس به محیط‌کشت جامد MS حاوی ۲۵۰mg/L سفوتاکسیم انتقال‌یافته و هر سه روز یک‌بار واکشت انجام شد؛ و این کار تا

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.2.1.1]

زمانی که ریز نمونه‌ها عاری از باکتری شوند؛ ادامه یافت. در این مرحله ریشه مویین رؤیت شد. بعد از ظهور ریشه‌های مویین، درصد ریشه‌زایی برای هر سویه بررسی‌شده و مورد ارزیابی قرار گرفت.

۳. استقرار ریشه‌های مویین: پس از گذشت دو هفته از رشد ریشه‌های مویین حاصل از القای باکتری *A. rhizogenes*؛ ریشه‌های ۲ تا ۳ سانتی‌متری حاصل شد. حدود ۱-۲ سانتی‌متر از آن بریده‌شده و به محیط‌هایی حاوی ۳۰ میلی‌لیتر محیط‌کشت مایع پایه MS (Murashige and Skoog, 1962) با یک‌دوم غلظت در ظروف شیشه مربا کشت شد و در داخل شیکر انکوباتر با ۸۰ دور در دقیقه، دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و شرایط تاریکی نگهداری شدند و هر دو هفته یک‌بار جهت رشد بهتر واکشت صورت گرفت. کلون‌های حاصل از ریشه‌موئین شابیزک رشد بسیار کندی داشته و بعد از حدود سه ماه با انتخاب لاین برتر و ریشه‌های رشد یافته جهت اعمال تیمار مورداستفاده قرار گرفت.

۴. تأیید تراریختی ریشه‌های‌موئین القاشده توسط *A. rhizogenes* به روش مولکولی: برای اطمینان از تائید تراریخته بودن ریشه‌های مویین حاصله، از روش مولکولی استفاده شد. استخراج دی‌انِا به روش Cheng و همکاران (۲۰۰۳) انجام شد. درنهایت تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) بر روی ریشه‌های مویین با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن rolB، جهت تأیید تراریختی استفاده شد. چاهک‌ها حاوی ریشه‌های‌موئین حاصل از ریز نمونه تلقیح‌یافته و همچنین سویه باکتری *A. rhizogenes* استفاده‌شده بوده که به‌عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد و ریشه‌های غیرتراریخته حاصل از جوانه‌زنی بذر نیز به‌عنوان کنترل منفی (شاهد) استفاده شد. در مرحله اول واسرشت در دمای ۹۵ درجه‌ی سلسیوس در مدت ۵ دقیقه صورت گرفت و پس‌ازآن ۳۰ چرخه شامل واسرشت در ۹۴ درجه‌ی سلسیوس به مدت‌زمان ۳۵ ثانیه انجام‌شده و در مرحله بعدی، اتصال آغازگرها در دمای ۵۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۳۵ ثانیه و سنتز رشته‌ی جدید در دمای ۷۲ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه و در مرحله آخر بسط نهایی در ۷۲ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۵ دقیقه انجام شد (Sedira et al., 2001).

Forward Primer: 5′- CAGTTTCGCATCTTGACAG -3′
Reverse Primer: 5′- GTTCTCGCGAGAAGATGCA-3′

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.2.1.1]

۵. تیمار متیل جاسمونات

پس از این‌که ریشه‌های مویین به حداکثر رشد خود رسیدند؛ بعد از اطمینان از تائید تراریختی ریشه‌های مویین حاصل‌شده، ریز نمونه و سویه برتر جهت تکثیر و کشت انتخاب شد. ریشه‌های مویین حاصل از ریز نمونه برگ تلقیح شده توسط سویه R1000 انتخاب و جهت تکثیر به محیط‌کشت مایع انتقال یافت. پس از رشد کافی ریشه‌ها، تیمار متیل جاسمونات در غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۵ و ۱۵۰ میکرو مولار و در ۵ تیمار زمانی شامل ۴،۰، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت اعمال شد. از مقادیر هم‌وزن ریشه‌های‌موئین در محیط‌کشت بدون هورمون استفاده شد و هریک از ریشه‌ها به‌طور جداگانه تحت تأثیر قرار گرفتند. سپس به داخل شیکر با سرعت ۶۰ دور در دقیقه، دمای ۲۵ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی انتقال یافتند (Moradi et al. 2020). پس از اتمام دوره تیمار به محیط کشت MS یک دوم مایع عاری از محرک انتقال یافتند. پس از گذشت یک ماه، ریشه‌های مویین برداشت شده و پس از شستشو با آب مقطر و حذف آب اضافی توسط کاغذ صافی صفات مورفولوژیک آن مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

۶. صفات مورداندازه‌گیری

متغیرهای طول ریشه مویین و وزن خشک پس از تیماردهی برای هر لاین از ریشه مویین اندازه‌گیری شد.

۷. تجزیه‌وتحلیل داده‌های آماری

تمامی آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون Duncan در سطح احتمال ۵ درصد محاسبه و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج

تأثیر نوع سویه و نوع ریز نمونه بر القای ریشه مویین

جوانه‌زنی بذور کشت‌شده در محیط‌کشت MS بعد از ۱۸ روز آغاز شد. پس از رشد گیاه مذکور القای ریشه مویین در ریز نمونه برگ، ریشه و ساقه انجام شد و بعد از حدود ۱۴ روز پس از تلقیح، اولین ریشه تراریخته در محل زخم از ریز نمونه برگ ظهور یافت. در ابتدا نقطه‌ای کالوس مانند تشکیل شد و پس‌ازآن، از محل کالوس شکل؛ ریشه‌های مویین رشد یافتند. نتایج نشان داد از ریز نمونه‌های موردنظر برگ و ریشه موفق به القای ریشه مویین شدند. محل ظهور ریشه‌های مویین حاصل‌شده نیز محل زخم ایجادشده بوده که حاکی از محل ارتباط باکتری با سلول گیاهی میزبان می‌بود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) حاکی از آن بوده که برهمکنش بین نوع ریز نمونه و ۵ سویه *A. rhizogenes* مورداستفاده در تشکیل ریشه

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.2.1.1]

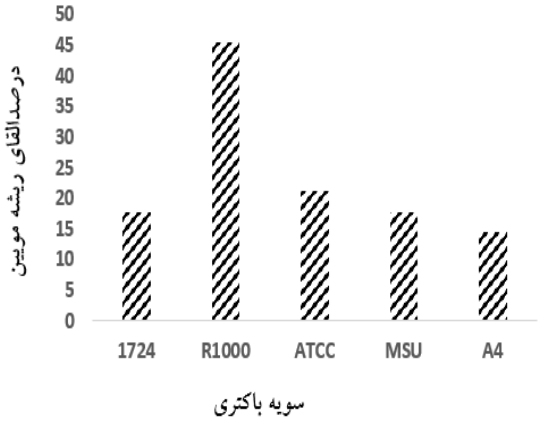
مویین به ترتیب در سطح ۱ و ۵ درصد معنی‌دار شده؛ درحالی‌که اثرمتقابل نوع سویه و نوع ریز نمونه بر درصد القای ریشه مویین معنی‌دار نشد.

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که سویه R1000 بالاترین درصد تشکیل ریشه مویین (۵/۴۵ درصد) را داشت (شکل ۱ و ۴). همچنین بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثر نوع ریز نمونه؛ بیشترین درصد القا ریشه مویین (۴۴ درصد) مربوط به ریز نمونه برگ (شکل ۲) بوده و در ریز نمونه ریشه و ساقه به ترتیب ۶۷/۲۰ درصد و ۳۳/۵ درصد (شکل ۲). به دست آمد که کمترین میزان، در ریز نمونه ساقه مشاهده شد؛ اما بااین‌حال القای ریشه مویین در ریز نمونه‌های ساقه و ریشه قبل از رسیدن به فاز ریشه‌زایی و ظهور ریشه مویین به دلیل آلودگی‌های قارچی و نکروزه شدن کمترین میزان درصد القای ریشه مویین را در برداشت (شکل ۳).

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر نوع سویه و نوع ریز نمونه بر برخی صفات ریشه‌های مویین

		میانگین مربعات
منابع تغییرات	df	**درصد القای ریشه مویین**
ریز نمونه	۲	**۵۶۸۶/۷****
سویه	۴	**۱۴۳۸/۹***
اثر متقابل	۸	**۶۲۲/۵ ns**
خطا	۳۰	**۴۲۸/۸**

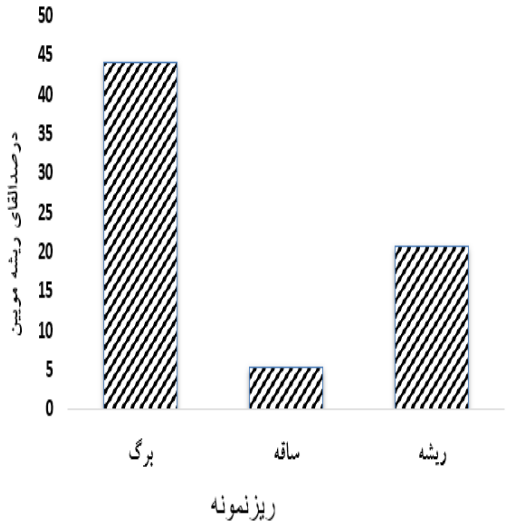
**، * و ns به ترتیب نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و عدم معنی‌داری است



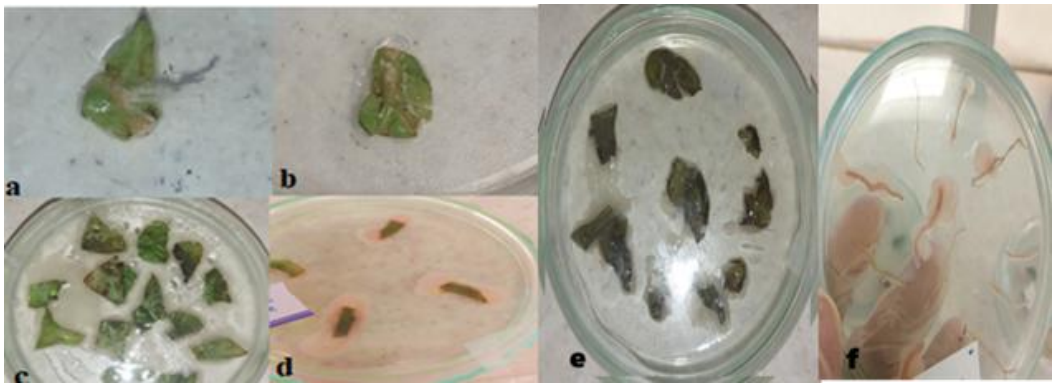
شکل ۱- تاثیرنوع سویه باکتری بر درصد القای ریشه مویین

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-24]

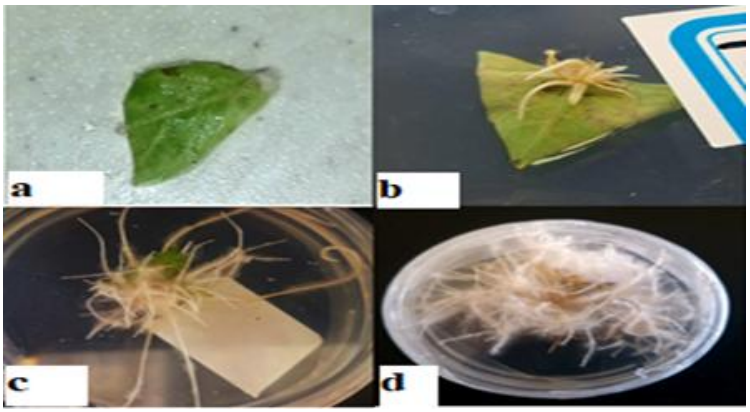
[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.2.1.1]



شکل ۲- تأثیر ریز نمونه بر درصد القای ریشه مویین



شکل ۳- ریشه مویین ظهور یافته از سویه ATCC که در ابتدا به شکل کالوس بود (a و b)، ریز نمونه برگ حاصل از سویه A4 آلوده‌شده (C)، ساقه، برگ و ریشه نکروزه شده قبل از رسیدن به فاز ریشه‌زایی و ظهور ریشه مویین (d،e و f)

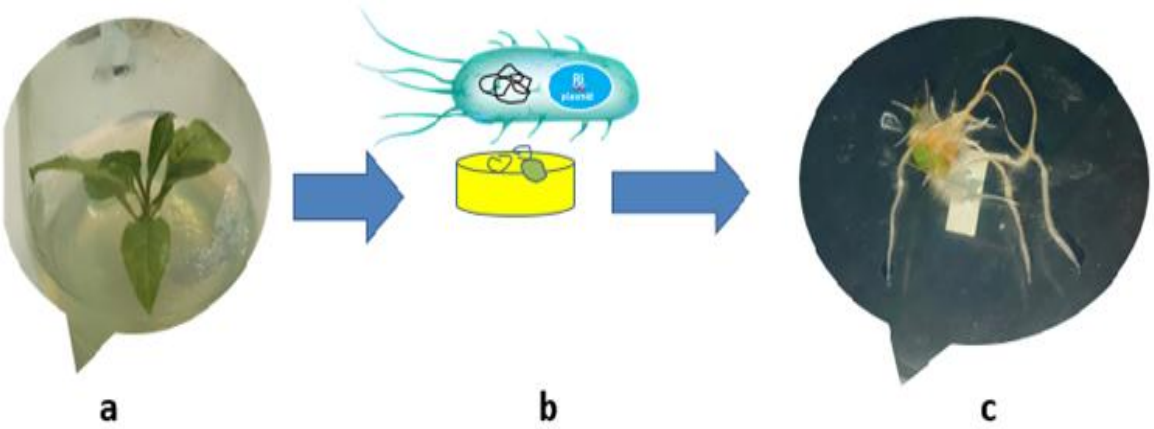


شکل ۴- مراحل رشدی ریشه‌های مویین حاصل از سویه. R1000 به ترتیب ریشه مویین ظهور یافته از محل زخم (a و b)، ریشه‌های مویین رشد یافته (c و d)

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.2.1.1]

با توجه به نتایج حاصل از اثر نوع ریز نمونه و نوع سویه باکتری، ریز نمونه برگ تلقیح شده توسط سویه R1000 به‌عنوان بهترین ریز نمونه و بهترین سویه باکتری برای گیاه شابیزک در نظر گرفته شد و با توجه به تولید درصد بالایی از ریشه مویین، ادامه پژوهش با تمرکز بر این سویه و ریز نمونه پیش رفت (شکل ۵). درنتیجه ریشه‌های مویین حاصل‌شده به محیط‌کشت مایع به جهت تکثیر و اعمال تیمار انتقال یافت.



شکل ۵- مراحل القاء ریشه‌موئین توسط سویه *A. rhizogenes* R1000 در ریز نمونه برگ شابیزک
گیاهچه مادری (a)، قطعات برگ بریده‌شده و آماده تلقیح (b)، ریشه مویین حاصل‌شده از القاء *A. rhizogenes* سویه R1000 بعد از ۱۴ روز (c)

تأیید تراریختی ریشه‌های مویین به روش مولکولی

برای اطمینان از صحت القای سویه‌های *A. rhizogenes* مورداستفاده، سویه باکتری موردنظر به جهت تکثیر قطعه‌ای از ژن *rol B* برای انجام pcr مورداستفاده قرار گرفت.

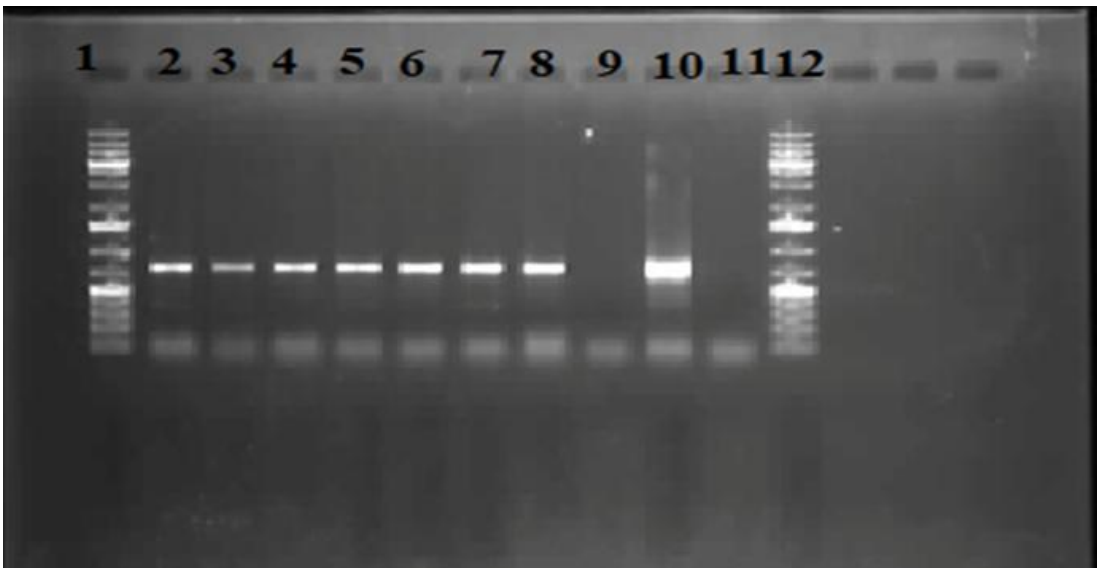
بر اساس نتایج به‌دست‌آمده وجود T_DNA تأییدشده و قطعه‌ای به طول ۳۳۸ bp در چاهک‌های ژل الکتروفورز و هم‌تراز با قطعه تکثیرشده به دست آمد (شکل ۶).

تأثیر متیل جاسمونات بر صفات مورفولوژیک ریشه‌های‌موئین شابیزک

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر متقابل تیمار غلظت و مدت‌زمان قرار گرفتن ریز نمونه در معرض محرک متیل جاسمونات بر صفات مورد بررسی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار است. بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین تأثیر غلظت و مدت‌زمان تیمار متیل جاسمونات بر طول ریشه مویین، بلندترین طول ریشه (۶۵/۶۳ میلی‌متر) در غلظت ۱۰ و ۲۵ میکرو مولار متیل جاسمونات با تیمار زمانی ۲۴ ساعت و

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-24]
[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.2.1.1]

کم‌ترین طول ریشه در غلظت ۵ میکرو مولار متیل جاسمونات با تیمار زمانی ۷۲ و ۲۴ ساعت حاصل شد (شکل ۷). بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین تأثیر غلظت و مدت‌زمان تیمار متیل جاسمونات بر وزن خشک‌ریشه‌های موئین، بیشترین میزان وزن خشک نیز در غلظت ۱۰ میکرو مولار با تیمار زمانی ۲۴ ساعت (۹۵/۰ گرم) مشاهده شد (شکل ۸).



شکل ۶- نتیجه تائید تراریختی ریشه‌های‌موئین حاصل‌شده. ۱-نشانگر دی‌ان‌ا. ۲-۸ ریشه‌های تراریخته، ۹ و ۱۱ ریشه‌های مویین غیر تراریخته به‌عنوان کنترل منفی ۱۰-کنترل مثبت (سویه باکتری مورداستفاده)

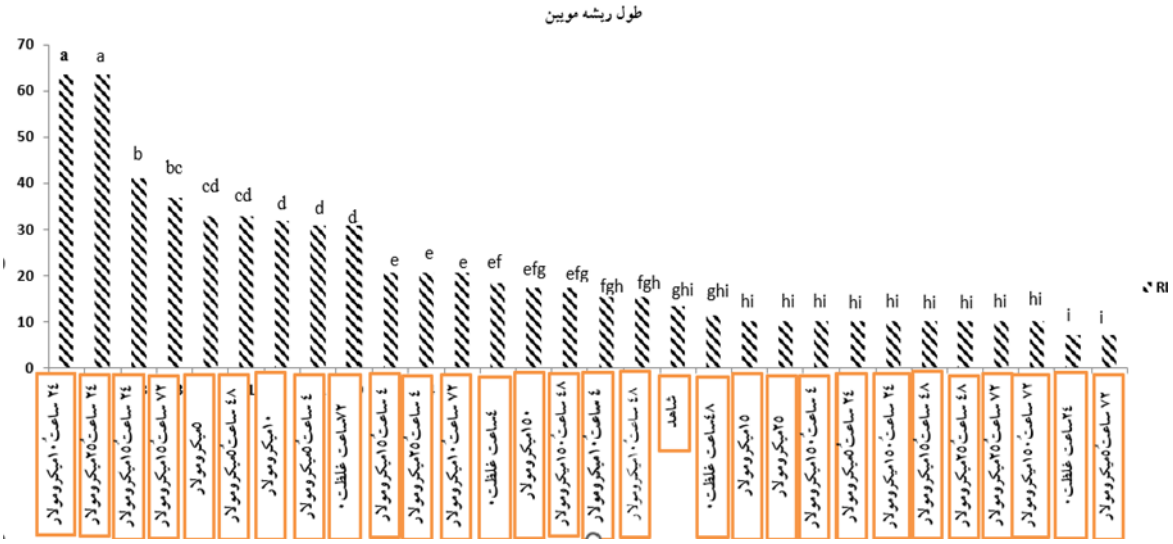
جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر غلظت و مدت‌زمان تیمار با متیل جاسمونات بر میزان طول رشد و وزن خشک‌ریشه مویین شابیزک

		میانگین مربعات	
منابع تغییرات	درجه آزادی	طول ریشه مویین	وزن خشک
مدت‌زمان تیمار	۴	۷۲۹/۴۳**	۰/۱۹۸**
غلظت متیل جاسمونات	۵	۵۰۶/۳**	۰/۱۴۱**
اثرمتقابل	۲۰	۷۰۵/۷۳**	۰/۱۶۱**
خطای آزمایشی	۶۰	۶/۷	۰/۰۰۳

**، * و ns به ترتیب نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و عدم معنی‌داری است

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.2.1.1]



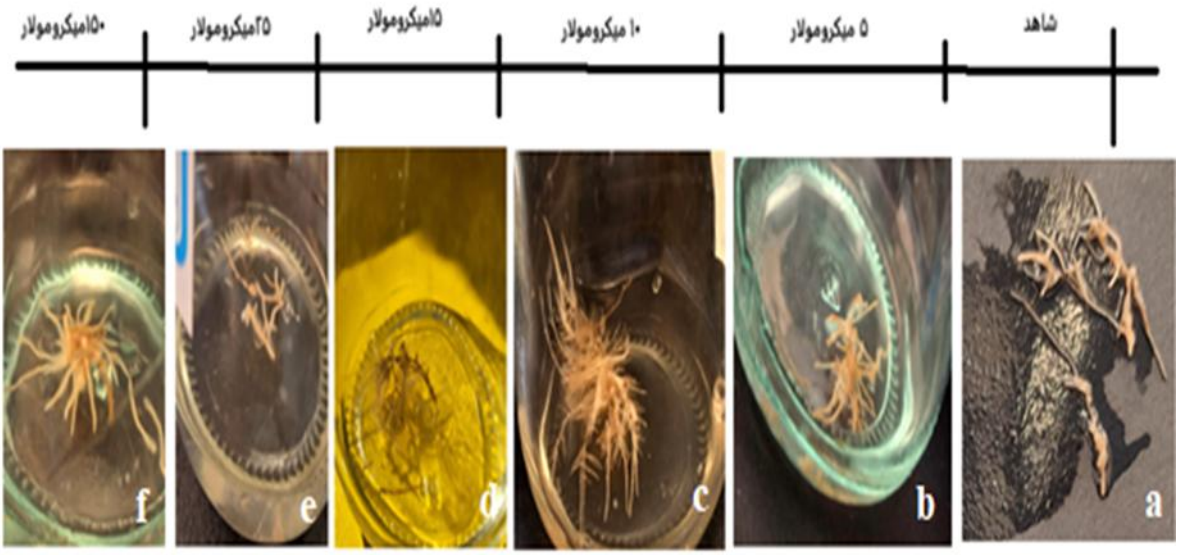
شکل ۷- تأثیر غلظت و مدت‌زمان تیمار بر میزان طول ریشه مویین شابیزک

شکل ۸- تأثیر غلظت و مدت‌زمان تیمار بر میزان وزن خشک‌ریشه مویین شابیزک

نتایج بررسی اثر متیل جاسمونات بر شاخص رشد ریشه‌های مویین حاصل از کشت بافت در نتایج نشان داد که با افزایش غلظت تیمار متیل جاسمونات، میزان رشد در طول ریشه مویین و وزن خشک‌ریشه‌های مویین کاهش می‌یابد. رشد طولی و وزن خشک ریشه‌های مویین در محیط‌کشت حاوی ۱۰ میکرو مولار متیل جاسمونات و پس از گذشت ۲۴ ساعت تیماردهی نسبت به شاهد افزایش چشمگیری را در پی داشت. درحالی‌که کمترین میزان رشد در غلظت پایین ۵ میکرو مولار با مدت‌زمان ۷۲ ساعت مشاهده شد (شکل ۹)؛ بر اساس نتایج

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-24]
[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.2.1.1]

به‌دست‌آمده به نظر می‌رسد که در فرآیند کاهش صفات موروفولوژیک سه عامل اصلی دخیل باشد: دلیل اول، مدت‌زمان قرارگیری در معرض تیمار و دلیل دوم، غلظت تیمار مورداستفاده بوده و عامل سوم نیز تنش‌های محیطی پیش‌آمده را می‌توان احتمال داد؛ که دراین‌بین، به نظر می‌رسد مدت‌زمان نسبت به غلظت برتری دارد، درنتیجه می‌توان گفت با افزایش مدت‌زمان تیماردهی و مقدار غلظت مورداستفاده، نتیجه معکوسی را در خصوص صفات مورفولوژیک خواهیم داشت. با توجه به اثر مهارکنندگی این تیمار تحت شرایط تنش، رشد گیاه کاهش خواهد یافت؛ بنابراین می‌توان گفت افزودن الیسیتورها در کنار مزایایی که دارد (در صورت استفاده نامنطبق با گونه گیاهی موردنظر) باعث عدم رشد ریشه مویین شده و اثرات منفی را به بار خواهد آورد. یکی از دلایل این تأثیر، تجمع تروپان آلکالوئیدها در محیط‌کشت استکه باعث ایجاد صدمه در ریشه‌موئین خواهد شد (Kai et al. 2012).



شکل ۹- تأثیر تیمار متیل جاسمونات بر رشد ریشه مویین شابیزک

شاهد (a) ریشه مویین تیمارشده به ترتیب با غلظت ۵-۱۰-۱۵-۲۵-۱۵۰ میکرو مولار (b، c، d، e، f)

بحث

در این پژوهش، اثر سویه‌های مختلف باکتری *A. rhizogenes* بر القای ریشه‌موئین در سه ریز نمونه مورداستفاده بررسی‌شده و در مرحله بعدی تأثیر الیسیتور متیل جاسمونات برریشه‌های موئین بر میزان رشد و صفات رشدی و مورفولوژیک ریشه‌های مویین حاصل از کشت بافت این گیاه مورد بررسی قرار گرفت.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.2.1.1]

موفقیت در القای ریشه مویین از طریق *A. rhizogenes* وابسته به عوامل مختلفی نظیر گونه، جنس و سن بافت گیاهی است (Bernousi et al. 2016) همچنین نوع ریز نمونه، ژنوتیپ گیاه، شرایط محیط‌کشت و همچنین نوع سویه باکتری از عوامل مؤثر بر القای ریشه مویین است (Jaberi et al. 2018). بنابراین می‌توان گفت بامطالعه و بررسی تجربی می‌توان سویه مناسب با گونه گیاهی موردنظر را بررسی کرده و از نتایج و مزایای مثبت آن استفاده کرد (Thwe et al. 2016). در این پژوهش نیز ریز نمونه‌های مختلف تأثیر متفاوتی را در سویه‌های متفاوت از *A. rhizogenes* مورداستفاده در برداشت. در پژوهشی بر روی گیاه بذرالبنج (*Hyoscyamus niger*) از خانواده سولاناسه، نتیجه تلقیح ریز نمونه برگی به‌وسیله *A. rhizogenes* نتیجه منفی در برداشته و تمامی برگ‌ها در اثر نکروزه شدن بافت‌ها از بین رفتند (Shakeran and Keyvanfar. 2017). بر اساس پژوهش‌های انجام شده به نظر می‌رسد ایجاد آلودگی، نوع بافت، گونه گیاهی و سویه باکتری رابطه مستقیمی با یکدیگر نداشته و بر اساس بافت گونه گیاهی عکس‌العمل متفاوتی را خواهد داشت. در گیاه شابیزک نیز به نظر می‌رسد مستعدترین ریز نمونه، بافت برگی است. بنابراین می‌توان اظهار داشت که با توجه به تفاوتی که در عواملی من‌جمله؛ سنتز دی‌انا و همچنین تقسیم سلولی در بافت‌های مختلف است، بسته هر بافت گیاهی با توجه به گونه آن گیاه توانایی متفاوتی را در تولید ریشه مویین دارد (Pirian et al. 2012; Kabirnotaj et al. 2013). همچنین در پژوهشی دیگر برروی تمامی ریز نمونه‌های برگی گونه بذرالبنج پس از تلقیح توسط سویه‌های مختلف *A. rhizogenes* (AR15834, AR9543, A7,AR318, A4,AR9402) قهوه‌ای شده و این امر سبب عدم توانایی در تولید ریشه‌های مویین شد (Shakeran and Keyvanfar. 2017). القاء ریشه مویین در ریز نمونه ساقه و هیپوکوتیل دو گیاه دیگر از خانواده سولاناسه نیز؛ موفقیت‌آمیز نبود (Pawar and Maheshwari. 2004). با توجه به واکنش‌های افزایش حساسیت (hypersensitivity) که جزئی از پاسخ‌های دفاعی گیاه در تقابل با تنش‌ها است؛ به‌صورت موضعی در اطراف محل آلوده‌شده را فراگرفته و با علائمی چون مرگ سلولی و تجمع عوامل ضدمیکروبی ظاهر خواهد شد (Richter and Ronald, 2000). درنهایت تمامی این عوامل منجر به نکروزه شدن و درنهایت تخریب و مرگ سلولی رخ خواهد داد؛ درنتیجه محل ورود T-DNA را با مشکل مواجه کرده و باعث کاهش کلون‌های حاوی سلول‌های تراریخته می‌شود. همچنین از دیگر پیامدهای نکروزه شدن عدم توانایی آزاد شدن سیگنال‌های

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.2.1.1]

شیمیایی فعال‌شده و درنتیجه القاء ژن‌های *Vir* در *A. rhizogenes* مختل شده و سلول‌های نکروز شده و مرده توانایی خود را از دست می‌دهد و باعث کاهش کارآمدی فرآیند انتقال ژن خواهد شد (Kumria et al. 2001; Kuta and Tripathi. 2005).

در پژوهشی نتایج بررسی توانایی القاء ریشه مویین توسط سویه‌های مختلف *A. rhizogenes*، ATCC 13333، ATCC 15834، A4، R1000، R1200 و R1601 در ریز نمونه برگ گیاه ریحان؛ سویه‌های متفاوت *A. rhizogenes* درصد بازده آلودگی، تعداد و طول ریشه مویین متفاوتی نیز در برداشت. بالاترین درصد تولید ریشه مویین از سویه R1601 (۹۴٪) مشاهده شد و کمترین درصد القای ریشه مویین برای سویه ATCC 15834 (۶۶٪) بود (Sathasivam et al. 2022). درواقع هر سویه آگروباکتریوم در پلاسمیدهای القاء کننده ریشه؛ آرایش ژنی متفاوتی را دارد و این امر موجب می‌شود تا هر سویه توانایی متفاوتی را برای تولید ریشه مویین داشته باشد (Gutierrez-Valdes et al. 2020).

نتایج حاصل از این پژوهش‌ها با نتایج ما مطابقت دارند. در پژوهش حاضر سویه R1000، سویه مناسب به جهت القای ریشه مویین در گیاه شابیزک بوده و در بین بافت‌های مورداستفاده، برگ به‌عنوان ریز نمونه‌ای مناسب جهت تولید موفقیت‌آمیز ریشه‌های مویین در نظر گرفته شد. تأثیر متیل جاسمونات یا هر الیسیتور دیگر در گیاهان رابطه مستقیمی را با عواملی چون: ویژگی‌های الیسیتور مورداستفاده، غلظت و مدت‌زمان قرارگیری در الیسیتور و مرحله رشدی گیاه در ارتباط است. همچنین بر اساس پژوهش‌های صورت گرفته نتایج نشان می‌دهد بر اساس غلظت تروپان آلکالوئیدها و سایر متابولیت‌های ثانویه ارائه‌شده؛ غلظت بهینه ترکیب‌های سیگنالی بر اساس نوع گونه‌ها متفاوت عمل می‌کند (Namdeo, 2007). بنابراین یکی از راهبردهای مفید در راستای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه استفاده صحیح از میزان الیسیتورهای زنده و غیرزنده در دوز غلظتی و مدت‌زمان مناسب برای هرگونه گیاهی است.

در پژوهشی برریشه‌های جانبی گیاه *Scopolia parviflorato* تأثیر دو تیمار سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات بررسی‌شده و نتیجه منفی بر رشد ریشه‌های حاصله توسط محرک سالیسیلیک اسید یافت نشد در حالیکه اثر منفی محرک متیل جاسمونات مشاهده شد، در این پژوهش گزارش شد که زمان قرارگیری در معرض الیسیتور فاکتوری مؤثر بوده و دلیل عدم تأثیر منفی سالیسیلیک اسید را کوتاه بودن مدت‌زمان محرک و هم‌زمان بودن تأثیر این محرک با فاز فعال رشدی ریشه‌های جانبی دانستند (Kang et al.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.2.1.1]

2004). همچنین در پژوهش دیگری در کشت‌های سوسپانسیون سلولی *Lavandula vera*، نمونه‌هایی که به مدت ۴ ساعت در دوزهای متفاوتی از متیل جاسمونات قرار گرفتند، با بیشترین میزان افزایش زیست‌توده مواجه شد و نمونه‌هایی که در غلظت ۱۰۰ تا ۱۵۰ میکرو مولار متیل جاسمونات قرار داشتند کمترین میزان زیست‌توده را در پی داشت (Georgiev et al. 2007). با توجه به پژوهش‌های صورت گرفته، نمونه‌هایی که تحت تأثیر این محرک در غلظت‌های بالای ۱۰۰ میکرو مولار قرار می‌گیرند با مرگ سلولی مواجه شده و در غلظت‌های بالا این اتفاق خواهد افتاد و درنتیجه کاهش تدریجی زیست‌توده سلولی رخ خواهد داد (Rijhwani and Shanks, 1998). درپی مطالعات انجام شده که در این زمینه نتایج حاکی از آن بوده که تنش‌های بیش‌ازحد، ریشه را دچار تنش کرده و درنتیجه تمامی این تنش‌ها، غشاء سلولی آسیب‌دیده و میزان متابولیسم گیاه کاهش‌یافته و درنتیجه رشد نیز دچار اختلال خواهد شد و این پژوهش نیز با این نتایج تطابق دارد (Parsa and Zeinali, 2016).

در پژوهش حاضر اثرات متیل جاسمونات بر پارامترهای رشدی ریشه‌های مویین، در مقایسه با شاهد افزایش یافت اما با افزایش مدت‌زمان قرارگیری در معرض محرک، کاهش میزان رشد و صفات رشدی و همچنین قهوه‌ای شدن ریشه‌های مویین مشهود بود. درنتیجه به نظر می‌رسد این بازدارندگی در رشد و همچنین بدرنگ شدن ریشه‌های مویین تحت تأثیر دو عامل تأثیرات مستقیم این تیمار و یا به دلیل پاسخی در پی تنش‌های محیطی بوده است؛ اما با این‌حال در غلظت و زمان‌های پایین مورداستفاده از این تیمار اثرات مثبتی یافت شد که حاکی از عملکرد سیگنالی این محرک بوده و نشان می‌دهد متیل جاسمونات در صورت استفاده نامناسب مقدار غلظت و زمان برحسب گونه گیاهی مورداستفاده اثرات سمی خود را برجای می‌گذارد؛ در حالی که در غلظت و مدت‌زمان پایین‌تر تیماردهی به‌عنوان یک پیام‌رسان مولکولی عمل خواهد کرد، همچنین به نظر می‌رسد زمان از عوامل برتر درنتیجه صفات رشدی است.

نتیجه‌گیری

هدف از این پژوهش، بررسی تراریختی گیاه شابیزک و توانایی سویه‌های مختلف *A. rhizogenes* در ریز نمونه‌های مختلف بوده و در مرحله بعدی نیز تأثیر محرک متیل جاسمونات بر برخی صفات مورفولوژیک ریشه‌های مویین حاصله در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. در این راستا پس از تولید ریشه‌موئین با سویه‌های مختلف *A. rhizogenes*، اعمال تیمار محرک مذکور در محدوده‌های زمانی مشخص اعمال شد

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.2.1.1]

و نتایج نشان داد که توانایی هر سویه وابسته به بافت، گونه گیاهی، ریز نمونه و پاسخ دفاعی گیاه، به‌طور متفاوت عمل می‌کند. بر اساس نتایج مندرج، به نظر می‌رسد سویه R1000 در نمونه برگی بهترین سویه *A. rhizogenes* برای گیاه شابیزک بوده و در تولید ریشه مویین موفقیت‌آمیز عمل خواهد کرد. همچنین محرک متیل جاسمونات به‌عنوان یک محرکی کمک‌کننده می‌تواند به‌عنوان یک سیگنالی مولکولی به‌طور مفیدی عمل کند. در صورت افزایش غلظت و زمان تأثیر الیسیتور گیاه با تنش روبرو خواهد شد و دچار آسیب می‌شود. که یکی از علت‌های آن اثر مهارکنندگی رشد بوده که جزئی از خصایص این محرک است؛ بنابراین به نظر می‌رسد این محرک هم باعث ایجاد سمیت شده و هم می‌تواند در غلظت و زمان مصرفی صحیح و کمتر به‌عنوان یک مولکول پیام‌رسان قوی عمل کرده و فعالیت متابولیسمی گیاه را افزایش دهد.

سپاسگزاری

در پایان بر خود لازم می‌دانیم که مراتب قدردانی و سپاس خود را از استاد ارجمند جناب آقای دکتر حامد صالحیان، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (ABRII) کرج، بابت همکاری صمیمانه ایشان در تأمین سویه‌های باکتریایی مورد استفاده اعلام داریم.

فهرست منابع

References

Bernousi I, Jafari M, Ahmadi Dizaji J. 2016. Optimization of induction and hairy root culture establishment of *Teucrium chamaedrys* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research. 32: 264-280. https://doi.org/10.22092/ijmapr.2016.106561.

Cheng YJ, Guo WW, Yi HL, Pang XM, Deng X. 2003. An efficient protocol for genomic DNA extraction from *Citrus* species. Plant Molecular Biology Reports. 21: 177–178. https://doi.org/10.1007/BF02774246.

Choi DW, Jung J, Ha YI, Park HW, In DS, Chung HJ, Liu JR. 2005. Analysis of transcripts in methyl jasmonate-treated ginseng hairy roots to identify genes involved in the biosynthesis of ginsenosides and other secondary metabolites. Plant Cell Reports. 23: 557-566. https://doi.org/10.1007/s00299-004-0845-4.

Faraz R, Gokhale M, Gothalwa R. 2020. Hairy root culture through *Agrobacterium rhizogenes* for enhancement of secondary metabolites production in medicinal plants: A Review. Journal of Advanced Microbiology. 4: 45-58.

Fattahi F, Shojaeiyan A, Palazon J, Moyano E, Torras-Claveria L. 2021. Methyl-β-cyclodextrin and coronatine as new elicitors of tropane alkaloid biosynthesis in *Atropa acuminata* and *Atropa belladonna* hairy root cultures. Physiologia Plantarum. 172(4): 2098-2111. https://doi.org/10.1111/ppl.13444.

George EF, Hall MA, De Klerk GJ. 2008. Plant propagation by tissue culture 3rd Edition. the Back Ground Springer, The Netherland.

Georgiev MI, Kuzeva SL, Pavlov AI, Kovacheva EG, Ilieva MP. 2007. Elicitation of rosmarinic acid by *Lavandula vera* MM cell suspension culture with abiotic elicitors. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 23: 301-304. https://doi.org/10.1007/s11274-006-9214-5.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.2.1.1]

Gutierrez-Valdes N, Häkkinen ST, Lemasson C, Guillet M, Oksman-Caldentey KM, Ritala A, Cardon F. 2020. Hairy root cultures—a versatile tool with multiple applications. Frontiers in Plant Science. 11: 33. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00033.

Jaberi M, Sharafi A, Sharafi AA, Azadi P, Kheiri-Manjili H, Danafar H, Ahmadnia A. 2018. Genetically transformed root-based culture technology in medicinal plant *Cosmos bipinnatus*. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products. 13(1): e67182.

Kabirnotaj S, Zolalla J, Nematzadeh G, Shokri E. 2013. Optimization of hairy root culture establishment in Chicory plants (*Cichorium intybus*) through inoculation by *Agrobacterium rhizogenes*. Agricultural Biotechnology Journal. 4: 61-75. https://doi.org/10.22103/JAB.2012.474.

Kai G, Yang S, Zhang Y, Luo X, Fu X, Zhang A, Xiao J. 2012. Effects of different elicitors on yield of tropane alkaloids in hairy roots of *Anisodus acutangulus*. Molecular Biology Reports. 39: 1721-1729. https://doi.org/10.1007/s11033-011-0912-1.

Kang SM, Jung HY, Kang YM, Yun DJ, Bahk JD, Yang JK, Choi MS. 2004. Effects of methyl jasmonate and salicylic acid on the production of tropane alkaloids and the expression of PMT and H6H in adventitious root cultures of *Scopolia parviflora*. Plant Science. 166: 745-751. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.11.022.

Khodadadi Z, Moudi M, Mousavi Kouhi SM, Hosseinzadeh MS. 2024. A review of phytoremediation using some medicinal and dramatic plant species. Journal of Biosafety. 17(1): 17-36.

Kozlowski G, Buchala A, Métraux JP. 1999. Methyl jasmonate protects Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst.] Seedlings against *Pythium ultimum* trow. Physiological and Molecular Plant Pathology. 55: 53-58.

Kumria R, Waie B, Rajam M. 2001. Plant regeneration from transformed embryogenic callus of an elite indica rice via Agrobacterium. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 67: 63-71. https://doi.org/10.1023/A:1011645315304.

Kuta DD, Tripathi L. 2005. *Agrobacterium*-induced hypersensitive necrotic reaction in plant cells: a resistance response against *Agrobacterium*-mediated DNA transfer. African Journal of Biotechnology. 4: 752-757. https://doi.org/10.4314/ajb.v4i8.15199.

L**acković Z. 2017.** "BUNANJE": XX century abuse of *Atropa belladonna* halucinogenic berries in continental Croatia. Psychiatria Danubina. 29(3): 379-382. https://doi.org/10.24869/psyd.2017.379.

Laffargue F, Oudot C, Constanty A, Bedu A, Ketterer-Martinon S. 2011. Un cas d'intoxication aiguë par la belladone (*Atropa belladona*) chez une enfant de 2 ans. Archives de Pédiatrie. 18: 186-188.

Lee MR. 2007. Solanaceae IV: *Atropa belladonna*, deadly nightshade. Journal-Royal College of Physicians of Edinburgh. 37(1): 77-84. https://doi.org/10.1177/147827152007370102.

Li C, Wang M. 2021. Application of hairy root culture for bioactive compounds production in medicinal plants. Current Pharmaceutical Biotechnology. 22: 592-608. https://doi.org/10.2174/1389201021666200516155146.

Lorenzo O, Piqueras R, Sánchez-Serrano JJ, Solano R. 2003. Ethylene response factor1 integrates signals from ethylene and jasmonate pathways in plant defense. The Plant Cell. 15: 165-178. https://doi.org/10.1105/tpc.007468.

Moradi A, Zarinkamar F, Caretto S, Azadi P. 2018. Influence of thidiazuron on callus induction and crocin production in corm and style explants of *Crocus sativus* L. Acta Physiologiae Plantarum. 40: 185. https://doi.org/10.1007/s11738-018-2760-2.

Moradi A, Sharifi M, Mousavi A. 2020. Induced production of tropane alkaloids, and expression of hyoscyamine 6β-hydroxylase (h6h) and putrescine N-methyl transferase (pmt2) genes in hairy roots and propagated plantlets of *Atropa belladonna* L. elicited by methyl jasmonate. South African Journal of Botany. 131: 328-334.

Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum. 15: 473-497.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.2.1.1]

Namdeo A. 2007. Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: a review. Pharmacogn Reviews. 1: 69-79.

Parsa M, Zeinali A. 2016. Effects of salicylic acid elicitor on the production of tropane alkaloids (atropine and scopolamine) in hairy roots and in vitro roots cultures of *Hyoscyamus niger* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research. 32(4): 655-666. http://dx.doi.org/10.22092/ijmapr.2016.107137.

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

Pirian K, Piri K, Ghiyasvand T. 2012. Hairy roots induction from *Portulaca oleracea* using *Agrobacterium rhizogenes* to noradrenaline's production. International Research Journal of Applied and Basic Sciences. 3: 642-649.

Qian ZG, Zhao ZJ, Xu Y, Qian X, Zhong JJ. 2004. Novel chemically synthesized hydroxyl-containing jasmonates as powerful inducing signals for plant secondary metabolism. Biotechnology and Bioengineering. 86: 809-816. https://doi.org/10.1002/bit.20092.

Richter TE, Ronald PC. 2000. The evolution of disease resistance genes. Plant Molecular Biology. 42: 195-204. https://doi.org/10.1023/A:1006388223475.

Rijhwani SK, Shanks JV. 1998. Effect of elicitor dosage and exposure time on biosynthesis of indole alkaloids by *Catharanthus roseus* hairy root cultures. Biotechnology Progress. 14: 442-449. https://doi.org/10.1021/bp980029v.

Sathasivam R, Choi M, Radhakrishnan R, Kwon H, Yoon J, Yang SH, Kim JK, Chung YS, Park SU. 2022. Effects of various *Agrobacterium rhizogenes* strains on hairy root induction and analyses of primary and secondary metabolites in *Ocimum basilicum*. Frontiers in Plant Science. 13: 983776. https://doi.org/10.1007/s002990100357.

Sedira M, Holefors A, Welander M. 2001. Protocol for transformation of the apple rootstock Jork 9 with the *rol B* gene and its influence on rooting. Plant Cell Reports. 20: 517-524. https://doi.org/10.1007/s002990100357.

Shakeran Z, Keyvanfar M. 2017. Leaf explant browning of four species of Solanaceae family after induction by *Agrobacterium Rhizogenes* Species. Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology). 30(3): 252-263. https://doi.org/20.1001.1.23832738.1396.30.3.4.7.

Thwe A, Valan Arasu M, Li X, Park CH, Kim SJ, Al-Dhabi NA, Park SU. 2016. Effect of different *Agrobacterium rhizogenes* strains on hairy root induction and phenylpropanoid biosynthesis in tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn). Frontiers in Microbiology. 7: 318. https://doi.org/10.3389/fimicb.2016.00318.

Yadav S, Sharma P, Srivastava A, Desai P, Shrivastava N. 2014. Strain specific *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of *Bacopa monnieri*. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. 12: 89-94. https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2014.11.003.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.2.1.1]

The Effect of Methyl Jasmonate on Some Physiological Traits of *Atropa belladonna* Hairy Roots

Hanieh Lotfi[1], Hassan Mahdavikia[2], Farzad Banaei-Asl[3*]

1- MSc. Student, Department of Medicinal Plants, Shahid Bakeri Higher Education Center of Miandoab, Urmia University, Urmia, Iran
2- Associate Professor, Department of Medicinal Plants, Shahid Bakeri Higher Education Center of Miandoab, Urmia University, Urmia, Iran
3- Assistant Professor, Biotechnology Research Department, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
f.banaei@rifr-ac.ir

Abstract

Atropa belladonna has positive medicinal values due to the presence of tropane alkaloids. In this study, five strains of *Agrobacterium rhizogenes*, A4, ATCC, 1724, R1000, and MSU, were used to induce hairy roots in three types of explants: leaves, stems and roots. After selecting the superior line, it was exposed to six concentrations and five treatments durations of methyl jasmonate. According to the results, both the type of explant and the strain of *Agrobacterium rhizogenes* had a significant effect on the percentage of hairy root production. Among the three explants, only the leaf explant produced hairy roots, with the highest rooting percentage (4505%) achieved by inoculation with the R1000 strain. In general, the methyl jasmonate elicitor can cause stress and toxicity when the concentration and exposure duration are increased, leading to damage and reduced root growth. However, if applied correctly at the appropriate concentration and duration, it can increase metabolic activities and act as a potent molecular messenger.

Keywords: *Agrobacterium*, Solanaceae family, Hairy Roots, *in vitro* Culture, Methyl jasmonate

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.2.1.1]