ژنتیک نوین
دوره هجدهم، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۲
صفحه ۳۸۸ - ۳۷۷

بهینه‌سازی عوامل مؤثر در انتقال ژن FAD3 مؤثر در بیوسنتز امگا ۳ به دو رقم کنجد

Optimization of effective factors in the transfer of FAD3 gene effective in omega-3 biosynthesis to two sesame cultivars

نوشین فلاحی[۱]، علیرضا زبرجدی*[۲،۳]، زهرا طهماسبی[۴]

۱- دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، مهندسی ژنتیک و ژنتیک مولکولی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
۲- استاد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، پردیس کشاورزی ومنابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
۳- استاد، پژوهشکده گیاهان دانه روغنی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
۴- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

Fallahi N[1], Zebarjadi A*[2,3], Tahmasebi Z[4]

1- PhD Student, Plant breeding- Molecular genetics and genetic engineering, Ilam University, Ilam, Iran
2- Professor, Department of Plant Production and Genetics, Campus of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran
3- Professor, Oilseed Plants Research Institute, Razi University, Kermanshah, Iran
4- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Ilam University, Ilam, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: zebarjadi@razi.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۰۶ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۰۹)

چکیده

مقادیر بالای اسیدهای چرب غیراشباع امگا ۶ و نسبت بسیار بالای امگا ۶ به امگا ۳ باعث بیماری‌های بسیاری از جمله بیماری‌های قلبی عروقی، سرطان و بیماری‌های التهابی و خودایمنی می شود. برای انتقال موفق یک ژن به گیاه، به بهینه‌سازی انتقال ژن نیاز است. کنجد یک گیاه دانه روغنی قدیمی است که به‌دلیل داشتن لیگنان‌های مهم دارویی و همچنین روغن خوراکی با کیفیت شهرت دارد. افزایش امگا ۳ در این گیاه تا اندازه زیادی به بهبود کیفیت روغن آن کمک می‌کند. در این پژوهش جهت بهینه‌سازی شرایط انتقال ژن FAD3 جدا شده از گیاه کتان به گیاه کنجد اثرات رقم (داراب و دشتستان)، مدت زمان پیش کشتی (۵، ۶ و ۷ روزه)، غلظت اگروباکتریوم (۱ و ۰/۵، ۰/۲۵ =OD600)، مدت زمان تلقیح (۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه)، مدت زمان هم‌کشتی (صفر، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) و شرایط نوری (تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی) وغلظت استوسیرینگون (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) هر کدام به‌صورت جداگانه در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار بررسی شد. نتایج نشان داد که ریزنمونه‌های ۷ روزه در رقم دشتستان و ریزنمونه‌های ۵ روزه در رقم داراب، غلظت اگروباکتریوم OD_{600}=1، مدت زمان تلقیح ۳۰ دقیقه، مدت زمان همکشتی ۲۴ ساعت در تاریکی و غلظت استوسیرنگون ۱۰۰ میکرومولار نقش مهمی در کارایی انتقال ژن دارند. در این پژوهش رقم دشتستان درصد باززایی بهتری را نسبت به رقم داراب نشان داد. در نهایت گیاهچه‌های باززا شده به محیط ریشه‌زایی منتقل شدند. بررسی اولیه گیاهان باززا شده در محیط انتخابی انجام شد و آزمایش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی انجام گشت و گیاهان تراریخته انتخاب شدند.

واژه‌های کلیدی

امگا۳
انتقال ژن
کنجد
Agrobacterium tumefacience

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

مقدمه

کنجد با نام علمی *Sesamum indicum* مهم‌ترین گونه از جنس کنجد و عضوی از خانواده pedaliaceae است. دانه این گیاه دارای محتوای روغن بالا (۵۰٪)، سطح بالای اسیدهای چرب غیر اشباع و همچنین لیگنان‌های مهم دارویی شامل سزامین، سزامولین، توکوفرول‌ها می‌باشد (Zimik and Arumugam 2017).

درصد بالای اسید چرب امگا ۶ نسبت به اسید چرب امگا ۳ باعث بروز بیماری‌های کشنده‌ای از جمله دیابت، بیماری‌های قلبی عروقی و چاقی می‌شود در حالی‌که افزایش مقدار سطح اسید چرب امگا ۳ نسبت به امگا ۶ مانعی بر سر راه این گونه بیماری‌هاست. مطالعات نشان می‌دهد اسید چرب امگا ۳ علاوه بر نقش آنتی اکسیدانی و ضد التهابی در تنظیم و ثبات پلاکت خون (هومستاز) و کاهش خطر لخته شدن خون (ترمبوز) مؤثر است که این موضوع نشان می‌دهد که می‌توان از آن در درمان COVID-19 بهره جست (Djuricic and et al. 2021).

گیاهان دانه روغنی با سطوح بالایی از امگا ۳ در سال‌های اخیر مورد توجه بسیاری از دانشمندان قرار گرفته‌اند. زیرا آن‌ها منابع ارزشمندی برای مطالعات و دستکاری‌های ژنتیکی همچون تغییر درمیزان امگا ۳ هستند (Soltani et al. 2020; Gunstone et al. 1994). اسیدهای چرب دیساتوراز (FAD) delta 15 desaturase مهم‌ترین آنزیم‌هایی هستند که در بیوسنتز اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه نقش دارند (Z¨auner et al. 2012).

در مطالعات اخیر، تجزیه و تحلیل ترکیبات اسیدهای چرب گیاه کنجد نشان داده که سطح اولئیک اسید (C18:1) و لینولئیک اسید (C18:2) در این گیاه بالاست، اما سطح آلفا لینولنیک اسید (C18:3) به‌طور قابل ملاحظه‌ای پایین است و نسبت C18: 2 به C18: 3 نیز بسیار زیاد است. بنابراین، ارقام کنجد با نسبت متعادل امگا۶ به امگا۳ به‌طور قطع می‌توانند ارزش غذایی بیشتری داشته باشد و به شایستگی غذایی این منبع روغنی ارزان قیمت و سالم بیفزایند (Bates et al. 2013; Bhunia et al. 2002; Browse et al. 1986).

تاکنون در گیاه کنجد ورود ژن‌های مفید از گونه‌های وحشی به‌دلیل موانع پس از لقاح موفقیت‌آمیز نبوده است و تنها جایگزین برای بهبود کیفیت روغن این گیاه انتقال ژن از منابع دیگر، از طریق تکنیک انتقال ژن است (Kapoor et al. 2015). در روش‌های اصلاح مولکولی گیاهی از انتقال ژن و کشت بافت استفاده می‌شود و کشت درون شیشه‌ای یکی از روش‌های مهندسی ژنتیک در تولید گیاهان با صفات مطلوب است (Gholami 2017). کارایی انتقال ژن به چندین فاکتور بستگی دارد که از جمله آن می‌توان به‌نژاد و غلظت باکتری، اضافه کردن مواد فنلی در محیط کشت، گونه گیاهی و ژنوتیپ، تنظیم کننده‌های رشدی، ریزنمونه، نور و دما، دمای همکشتی، آنتی بیوتیک و روش مناسب انتخاب سلول تراریخت شده از بافت غیر تراریخته اشاره نمود. در تراریختگی به‌وسیله اگروباکتریوم علاوه بر نیاز به یک سیستم باززایی قدرتمند در گیاه مورد نظر، بهینه نمودن فاکتورهای دیگر مؤثر در انتقال ژن که باعث تولید گیاه باززا شده بیشتری می‌شود و در نهایت باعث افزایش کارایی روش شود ضرورت دارد. از طرفی طراحی و استفاده از سازه مناسبی که امکان ردیابی آسان گیاهان تراریخته را در مراحل اولیه رشد فراهم نماید بسیار مفید خواهد بود (Towheed-Far and Mohsenpour 2010).

پژوهشگران اعلام کردند که می‌توان از ژن جدا شده FAD3 برای افزایش تبدیل اسیدهای چرب غیراشباع ۱۸:۲ به ۱۸:۳ برای بهبود کیفیت دانه‌های روغنی برای غذای انسان استفاده کرد. آن‌ها اظهار داشتند که CsFAD3 پروتئینی است که می‌تواند اسیدهای چرب ω6 را به ω3 تبدیل کند (Soltani and et al. 2019). محققین اعلام کردند که میزان تراریختگی در گیاه کنجد مصری بسیار کم است و گیاه کنجد به‌دلیل داشتن متابولیت های ثانویه نسبت به تراریختگی سرکش و بسیار مقاوم است (Shafeay and et al. 2011; Baskaran and Jayabalan 2006).

Al-Chowdhury and et al. (2014) موفق شدند که دو ژن Nptll و GUS را به‌وسیله اگروباکتریوم به گیاه کنجد انتقال دهند. آن‌ها اعلام کردند که در این پژوهش باززایی گیاه کنجد در حدود ۵۷ درصد و تراریختگی آن ۴۳ درصد بوده است.

Debnath et al. (2018) در پژوهشی اظهار داشتند که تنظیم‌کننده‌های رشدی BAP، IAA و Agno3 در انتقال ژن گیاه کنجد مؤثر می‌باشد. به پژوهش آن‌ها از ریزنمونه کوتیلدون ۴ تا ۷ روزه جهت انتقال ژن مورد نظر استفاده شد.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

مزایای فراوان استفاده از بیوتکنولوژی پیشرفته کشاورزی در بهبود ژنتیکی کنجد هنوز به‌طور جدی در ایران محقق نشده است. یکی از مشکلات روغن گیاه کنجد بالا بودن میزان امگا۶ نسبت به امگا ۳ است. به‌همین دلیل مصرف دراز مدت این روغن ممکن است باعث ایجاد بیماری‌های قلبی و عروقی شود. بنابراین هدف از انجام این پژوهش افزایش میزان امگا ۳ در این گیاه است که تا اندازه زیادی به بهبود کیفیت روغن در آن کمک کند. لازم به ذکر است تا به حال مسیر بیوسنتز این اسید چرب ضروری در گیاه کنجد از طریق ژن FAD3 گیاه کتان به‌وسیله مهندسی ژنتیک دستورزی نشده است، لذا این تحقیق از این نظر اولین گزارش محسوب می شود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۴۰۱ در آزمایشگاه بیوتکنولوژی و کشت بافت دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی انجام شد. ارقام کنجد مورد استفاده در این پژوهش شامل دو رقم ایرانی داراب و دشتستان بود که از مؤسسه تحقیقات نهال و بذر کرج تهیه شد. ابتدا بذور سالم انتخاب و به پس از شستشو به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطرخیس شدند. در ادامه توسط الکل ۷۰ درصد به مدت ۲ دقیقه ضدعفونی گشتند و بعد از سه مرحله شستشوی ۵ دقیقه‌ای به مدت ۲۰ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۲ درصد قرار گرفتند. در نهایت سه مرتبه به مدت ۵ دقیقه با آب مقطر استریل مورد شستشو قرار گرفتند. تمام لوازم موردنیاز از جمله اسکالپل، پنس، شیشه‌های کوچک جهت کشت بذور، پتری به‌منظور استریل شدن در اتوکلاو قرار گرفتند. فضای زیر هود لامینار جهت کشت و کار ابتدا با الکل ۷۰ درصد ضد عفونی و سپس به مدت ۲۰ دقیقه نور ماوراء بنفش به آن تابیده شد. برای ضد عفونی دست‌ها هم در زیر هود از الکل ۷۰ درصد استفاده شد. بعد از ضدعفونی، پوشش و جنین بذرها توسط پنس و تیغ اسکالپل حذف و دو لپه بذور جدا گشتند (این کار به دقت بسیار زیادی نیاز دارند به‌طوری که نباید لپه‌ها آسیب ببینند).

محیط پایه در این پژوهش شامل محیط MS به‌همراه ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ۷ گرم در لیتر آگار به‌عنوان عامل منعقد کننده بود. محیط‌های مورد استفاده در این پژوهش شامل محیط پیش‌کشتی، هم‌کشتی، باززایی و انتخاب و ریشه‌زایی بود (جدول۱). به‌منظور بهینه‌سازی انتقال ژن در گیاه کنجد ۵ آزمایش چند عاملی در قالب طرح کامـل تصادفی در ۴ تکرار به‌طور جداگانه و به شرح زیر اجراء شد.

آزمایش ۱- بررسی مدت زمان پیش‌کشتی= دو عامل رقم (داراب و دشتستان) و مدت زمان پیش‌کشتی (۵، ۶ و ۷ روز) ابتدا ریزنمونه‌ها در محیط شماره ۲ کشت داده شدند و در ادامه از ریزنمونه‌های ۵، ۶ و ۷ روزه جهت انتقال ژن استفاده شد.

آزمایش ۲- بررسی غلظت اگروباکتریم= دو عامل رقم (داراب و دشتستان) و غلظت اگروباکتریم (۱ و ۰/۵، ۰/۲۵ =OD_{600})

آزمایش ۳- بررسی مدت زمان تلقیح= دو عامل رقم (داراب و دشتستان) و مدت زمان تلقیح (۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه)

آزمایش۴- بررسی مدت زمان همکشتی و اثر نور= سه عامل رقم (داراب و دشتستان)، مدت زمان همکشتی (صفر، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) و اثر نور (تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی با شدت نور ۲۰۰۰ لوکس)

ریزنمونه‌ها پس از تلقیح با اگرو باکتریوم حاوی سازه مورد نظر، ابتدا بر روی کاغذ صافی استریل قرار داده شدند تا مقداری از رطوبت آن کاهش یابد و سپس به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت دو شرایط نوری تاریکی و روشنایی قرار گرفتند.

آزمایش ۵- بررسی غلظت استوسیرینگون= دو عامل رقم (داراب و دشتستان) و غلظت استوسیرینگون (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) با توجه به اینکه اگروباکتریوم برای ورود به گیاه معمولا به سمت زخم‌های گیاه (محل تجمع مواد فنلی) حرکت کرده و در گیاه باعث بیماری‌زایی می‌شود، استفاده از استوسیرینگون به‌عنوان ماده فنولی در بهبود و موفقیت انتقال ژن نقش دارد.

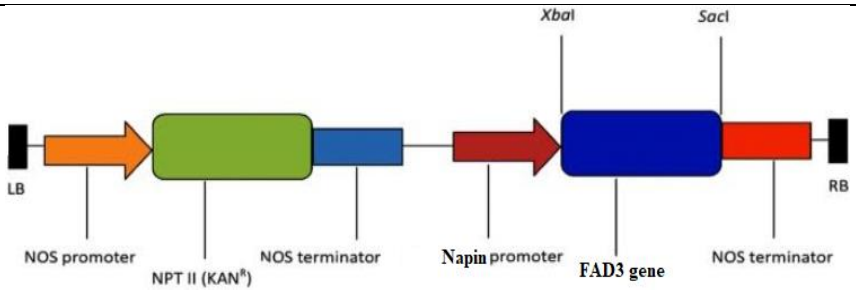
ریزنمونه‌ها بعد از سپری شدن مدت زمان همکشتی توسط سوفاتاکسیم ۵۰۰ میلی‌گرم به مدت ۹۰ دقیقه شستشو شدند.

برای انتقـال ژن بـه کنجد از سویه اگروبـاکتریوم تومـه‌فاسـینس (PGV3101) C58 که حاوی ناقل دوتایی pBI121 مقاوم به آنتی‌بیوتیک ریفامپیسین بود استفاده شد.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

جدول ۱- محیط‌های استفاده شده در بهینه‌سازی انتقال ژن به گیاه کنجد

محیط	ترکیبات
محیط ۱ (پیش‌کشتی یا قبل از آلودگی)	$AgNO_3$ 5 mg/L+ IAA 1 mg/L+ BAP 6.5 mg/L + MS
محیط۲ (همکشتی)	acetosyringon + $AgNO_3$ 5 mg/L+ IAA 1 mg/L+ BAP 6.5 mg/L + MS
محیط ۳ (باززایی و انتخاب)	kanamycin 50 mg/L+ $AgNO_3$ 5 mg/L+ IAA 1 mg/L+ BAP 6.5 mg/L + MS
محیط۴ (ریشه زایی)	kanamycin 30 mg/L +IAA 1 mg/L + NAA 0.5 mg/L + MS



شکل ۱- ساختار ژنی مورد استفاده

این ناقل دارای پروموتور ناپین جدا شده از گیاه کلزا (Sohrabi and et al. 2015) و ناحیه T-DNA حاوی ژن FAD3 گیاه کتان (Fallahi and et al. 2023) بود (شکل ۱).

جهت کشت اگروباکتریوم حاوی پلازمید نوترکیب حدود ۲۵ میکرولیتر از محیط باکتریایی ذخیره شده در گلیسرول (نگهداری شده در ۸۰- درجه سانتی‌گراد) پس از ذوب شدن بر روی یخ به ۵۰ میلی‌لیتر LB مایع (حاوی آنتی‌بیوتیک ریفامپیسین و کانامایسین) اضافه شد و به مدت یک شب در انکوباتور شیکر دار با سرعت ۱۸۰rpm و دمای ۲۸ºC تا رسیدن به OD_{600}=۱ رشد داده شدند. در روز تلقیح سوسپانسیون اگروباکتریوم به مدت ۵ دقیقه و با سرعت ۴۰۰۰rpm سانتریفیوژ گشت و رسوب باکتری در ۲۵ میلی‌لیتر از محیط تلقیح (محیط MS مایع) دوباره سوسپانسیون شد و در نهایت برای رسیدن به غلظت‌های مورد نظر رقیق شد.

جهت تلقیح ریزنمونه‌های کوتیلدون ابتدا کوتیلدون‌های استریل در مدت زمان پیش‌کشتی (۵، ۶ و ۷ روزه) در محیط پیش‌کشتی (محیط۱) کشت داده شدند. در ادامه به مدت زمان تعیین شده (۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه) در سوسپانسیونی از سه غلظت باکتری (۱ و ۰/۵، ۰/۲۵ =OD_{600}) در دمای ۲۸ درجه با سرعت ۱۵۰rpm شیک شدند. سپس به روی کاغذ صافی سترون شده منتقل شده و در نهایت به محیط هم‌کشتی (محیط۲) به مدت زمان (صفر، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) و شرایط نوری (تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی) انتقال داده شده و در دمای ۲۵ºC نگهداری شدند، تا اگروباکتریوم بتواند T-DNA خود را به گیاه منتقل کند. پس از این مرحله، ریزنمونه‌ها توسط آنتی‌بیوتیک‌های سفوتاکسیم با غلظت $mg\ l^{-1}$ ۵۰۰ (۹۰ دقیقه) شستشو شدند. آلودگی اگروباکتریومی یکی از مشکلات عمده تحقیقات انتقال ژن است، شستشو ریزنمونه با آنتی‌بیوتیک عمده‌ترین روش‌ها برای کنترل آلودگی اگروباکتریومی است. سپس ریزنمونه‌ها به محیط کشت باززایی و انتخاب (محیط۳) حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر سفوتاکسیم+ ۵۰ میلی‌گرم در لیتر کانامایسین منتقل شدند. ریزنمونه‌هایی که روی محیط انتخابی به گیاهچه‌های سبز باززا شدند، هر ۱۵ روز یکبار به محیط مشابه واکشت شدند. بعد از مدت ۳۰ روز گیاهچه‌های تراریخت شده در محیط ریشه‌زایی (محیط ۴) قرار گرفتند.

جهت آنالیز گیاهان تراریخت ابتدا استخراج DNA از نمونه‌های شاهد و تراریخت گیاه کنجد طبق روش (Doyle and Doyle 1990) CTAB انجام گرفت و در نهایت، جهت تأیید انتقال ژن به گیاهان از روش PCR باکمک آغازگرهای اختصاصی طراحی شده، استفاده شد.

به‌منظور تعیین میزان کمی غلظت DNA استخراج شده با استفاده از فرمول زیر استفاده گشت:

غلظت DNA (برحسب نانوگرم بر میکرولیتر) = 50 * عکس رقت * OD_{260nm}

کیفیت DNA نیز از فرمول زیر به‌دست آمد:

$۲ > OD_{280}/ OD_{260} > ۱/۸$

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

جدول ۲- مشخصات آغازگرهای طراحی شده

نام آغازگر	درصد GC	Tm	تعداد باز	توالی آغازگر
FFAD3B	41	69.45	39 mer	GAATTC TCTAGA ACTAGT ATGAGCCCTCCAAACTCAATG EcoRI XbaI SpeI
RFAD3B	51	72.79	37 mer	AAGCTT GAGCTC AGCGCT TCAGCTGGATTTGGACTTG HindIII SacI AfeI

بررسی نرمال بودن، تجزیه‌های آماری داده‌ها و رسم نمودار نبز با استفاده از نرم‌افزار Minitab19، SPSS 26 و Excel 2019 انجام گرفت و میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

نتایج و بحث

مدت زمان پیش‌کشتی: در این تحقیق از ریزنمونه‌های ۵، ۶ و۷ روزه برای انتقال ژن در دو رقم دشتستان۲ و داراب ۱ استفاده شد. نتایج جداول تجزیه واریانس نشان دادکه اثر متقابل مدت زمان پیش‌کشتی در رقم، در سطح یک درصد معنی دار است (جدول ۳). همچنین نتایج مقایسه میانگین حاکی از آن بود که ریزنمونه ۷ روزه در رقم دشتستان ۲ درصد باززایی بالاتری (۲۷/۴۹) را نسبت به سایر ریزنمونه‌ها داشت. در این پژوهش مشاهده شد که ریزنمونه ۵ روزه در رقم داراب ۱ درصد باززایی بالاتری (۲۱/۶۶) را نسبت به ریزنمونه‌های ۶ و ۷ روزه این رقم به‌خود اختصاص داد (شکل ۲).

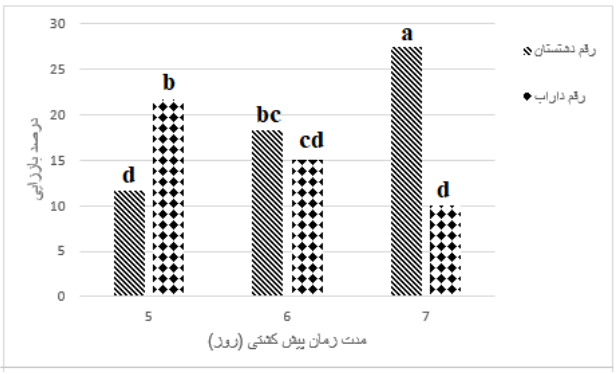
پژوهشگران اعلام کردند مدت زمان پیش‌کشتی در میزان باززایی بعد از انتقال ژن مؤثر است. آن‌ها اعلام کردند که در فرآیند انتقال ژن به گیاه کنجد از بین ریزنمونه‌های ۴، ۶ و ۸ روزه ریزنمونه‌های ۶ روزه بالاترین درصد باززایی را داشتند (Chowdhury and et al. 2018) باتاچاریا و همکاران Bhattacharyya and et al. (2015) ریزنمونه‌های ۵ روزه را برای انتقال ژن در گیاه کنجد مناسب دانستند.

غلظت اگروباکتریوم: نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که دو اثر اصلی رقم و غلظت اگروباکتریوم به‌ترتیب در سطح پنج درصد و یک درصد دارای اختلاف معنی‌داری بودند (جدول ۴) .

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر رقم در مدت زمان پیش‌کشتی برای صفت درصد باززایی

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
رقم	۱	۷۸/۲۲*
مدت زمان پیش‌کشتی	۲	۱۱/۵۴ ns
رقم × مدت زمان پیش‌کشتی	۲	۳۷۸/۳۰**
خطای آزمایشی	۱۸	۱۰/۳۴
ضریب تغییرات (درصد)		۱۸/۵۳

** و * به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر رقم در مدت زمان پیش‌کشتی برای صفت درصد باززایی

داده‌های مقایسه میانگین نشان داد که رتبه a متعلق به رقم دشتستان ۲ با ۲۴/۹۹ درصد باززایی بود (شکل۳) و همچنین بالاترین درصد باززایی (۳۰/۸۲) در غلظت اگروباکتریوم OD_{600}=۱ رخ داد و کمترین میزان باززایی (۱۴/۹۹) به‌غلظت اگروباکتریوم OD_{600}= ۰/۲۵ تعلق گرفت (شکل ۴).

اگروباکترها باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی هستند که می‌توانند DNA خود را در حین آلوده کردن به سلول‌های گیاهی انتقال دهند. اصلی‌ترین رویداد در انتقال ژن به گیاه در روش

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

اگروباکتریوم ورود T-DNA این باکتری به گیاه است (Rodrigues et al. 2021).

در این پژوهش از سویه (PGV3101) C58 اگروباکتریوم استفاده شد. Zimik et al. (2017) در پژوهشی جهت انتقال ژن در گیاه کنجد از باکتری *A. tumefaciens* سویه PGV3101 حامل ناقل دوتایی pCGMCP22 حاوی ژن β-گلوکورونیداز (GUS)، ژن (uidA) و ژن نشانگر انتخابی کدکننده آنزیم تخریب کننده علف‌کش فسفوئینوتریسین آمینوترانسفراز (PAT) استفاده کردند. نسبت متناسب بین سلول‌های میزبان و سلول‌های اگروباکتریوم یکی از عوامل مؤثر در افزایش انتقال T-DNA است. به‌طوری که در غلظت کم اگروباکتریوم انتقال T-DNA کاهش می‌یابد و غلظت بیش از حد نیز باعث کاهش قابلیت زیست‌پذیری سلول‌های گیاه می‌شود (Wang et al. 2003). غلظت بالای اگروباکتریوم درصد زنده مانی و باززایی را در گیاه کنجد کاهش می‌دهد (Al-Shafeay 2011). دات و گروسر (2009) Dutt and Grosser اعلام کردند که تأثیر غلظت اگروباکتریوم بر کارایی انتقال ژن وابسته به نوع رقم و گونه گیاهی می‌باشد.

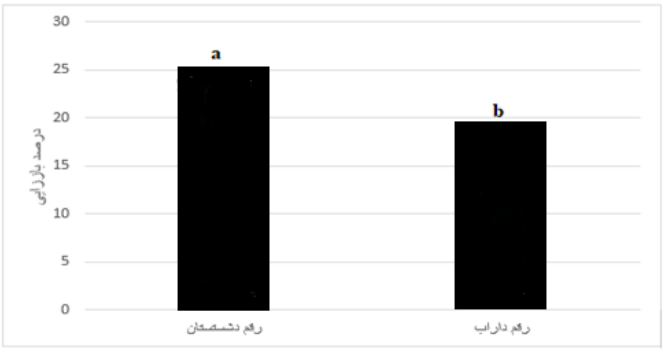
جدول ۴ – تجزیه واریانس اثر رقم در غلظت اگروباکتریوم برای صفت درصد باززایی

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
رقم	۱	۲/۵۶*
غلظت اگروباکتریوم	۲	۵/۸۵**
رقم × غلظت اگروباکتریوم	۲	۰/۴۰ ns
خطای آزمایشی	۱۸	۰/۴۷
ضریب تغییرات (درصد)		۱۴/۸۰

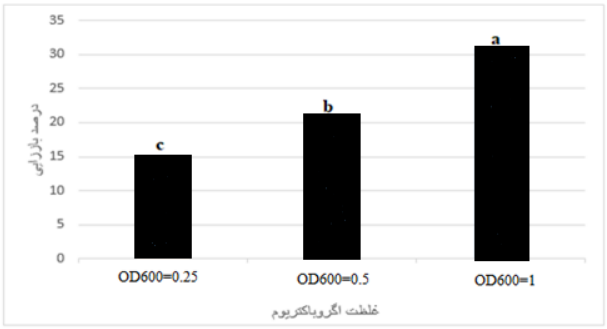
**، * و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی‌دار

Yadav et al. (2010) در پژوهشی از انتقال موفق ژن به گیاه کنجد با استفاده از غلظت اگروباکتریوم OD_{600}=۱ خبر دادند. پژوهشگران اعلام کردند که از بین تراکم‌های سلولی انتخاب شده جهت بهینه نمودن شرایط انتقال ژن به گیاه گلرنگ تراکم سلول باکتریایی ۱ بهترین تراکم سلولی جهت انتقال ژن به این گیاه بوده است (Belide et al. 2011).

مدت زمان تلقیح: در این پژوهش سه زمان ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه برای تلقیح (به روش شیک، با تعداد دور rpm ۱۳۰–۱۲۰ شیکر و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد) انتخاب شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که دو اثر اصلی رقم و مدت زمان تلقیح به‌ترتیب در سطح ۵ و یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۵).



شکل ۳– مقایسه میانگین اثر رقم برای صفت درصد باززایی



شکل ۴– نمودار مقایسه میانگین اثر رقم در غلظت اگروباکتریوم برای صفت درصد باززایی

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که برای صفت مدت زمان تلقیح، از بین دو رقم دشتستان ۲ و داراب ۱ بالاترین میزان باززایی (۲۴/۱۶) مربوط به رقم دشستستان ۲ بود (شکل ۵). همچنین بیشترین نرخ باززایی در مدت زمان ۳۰ دقیقه با ۳۲/۴۹ درصد رخ داد و کمترین نرخ باززرایی با ۸/۳۲ درصد بازایی به تیمار مدت زمان تلقیح ۱۰ دقیقه تعلق گرفت (شکل ۶).

یکی از موارد مهم در مراحل انتقال ژن که نقش اساسی در میزان باززایی دارد مدت زمان تلقیح است. به‌طوری که زمان بیشتر

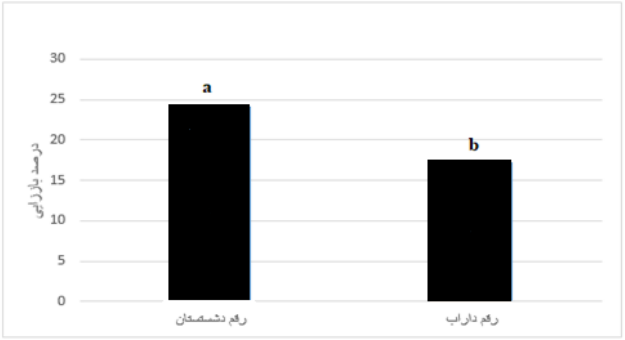
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

باعث ترکیدگی سلول‌های گیاهی و زمان کمتر میزان انتقال ژن را کاهش می‌دهد و عامل مؤثری در انتقال ژن محسوب می‌شود. این عامل وابسته به ژنوتیپ و گونه گیاهی، نوع و مدت زمان پیش‌کشتی، نوع و ترکیب محیط کشت، دما و نحوه تلقیح و سایر عوامل می‌باشد (Sivanandhan and et al. 2016). Rajesh et al. (2013) مدت زمان ۲۰ دقیقه را به‌عنوان زمان بهینه در انتقال ژن به گیاه دارویی *P.hexandrum* گزارش دادند. مدت زمان ۳۰ دقیقه بهترین زمان برای تلقیح ریزنمونه کوتیلدون برای گیاه کنجد است (Al-Shafeay *et al.* 2011).

جدول ۵ – تجزیه واریانس اثر رقم در مدت زمان تلقیح برای صفت درصد باززایی

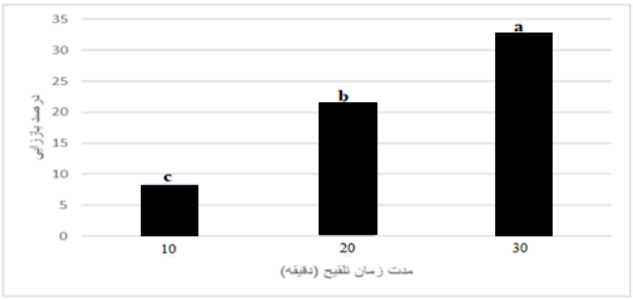
منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
رقم	۱	۳/۶۶*
مدت زمان تلقیح	۲	۱۵/۳۶**
رقم × مدت زمان تلقیح	۲	۰/۲۸ns
خطای آزمایشی	۱۸	۰/۴۹
ضریب تغیرات(درصد)		۱۵/۹۹

**، * و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی‌دار



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر رقم برای صفت درصد باززایی

مدت زمان هم‌کشتی و اثر نور: پس از تلقیح کوتیلدون‌ها، در محیط هم‌کشتی حاوی ۵ میلی‌گرم در لیتر AGNO3 و ۶/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA، به‌مدت صفر (بعد از تلقیح بلافاصله نمونه‌ها سشتشو و کشت شدند)، ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت قرار داده شدند.



شکل ۶- مقایسه میانگین مدت زمان تلقیح برای صفت درصد باززایی

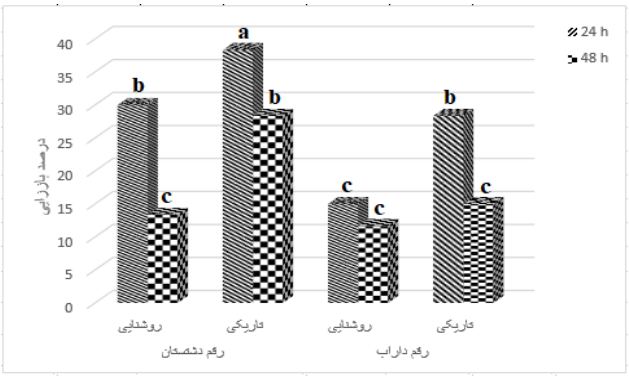
با توجه به اینکه در تیمار ۷۲ ساعت کل نمونه‌ها آلودگی شدید داشتند و از بین رفتند و در تیمار صفر نیز هیچ‌گونه باززایی مشاهده نشد فقط داده‌های مربوط به تیمار ۲۴ و ۴۸ ساعت آنالیز شدند. نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد اثر اصلی هم‌کشتی، اثر نور و اثر رقم (در سطح ۱ درصد) معنی‌دار بوده است. همچنین اثر متقابل سه گانه رقم در زمان همکشتی و اثر نور در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۶). مدت زمان دوره هم‌کشتی تأثیر مهمی در تراریختی دارد. بالاترین نرخ باززایی در شرایط تاریکی و در مدت زمان ۲۴ ساعت برای رقم دشتستان ۲ به میزان ۳۸/۳۳ درصد رخ داد. همچنین پایین‌ترین نرخ باززایی (۱۱/۶۶) در شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و در مدت زمان ۴۸ ساعت و متعلق به رقم داراب ۱ بود (شکل ۷). مدت زمان هم‌کشتی و اثر نور برای انتقال ژن در گیاه حیاتی هستند. مطالعات گذشته نیز دوره هم‌کشتی به مدت ۲۴ ساعت در کنجد را تأیید نموده‌اند. پژوهشگران معتقدند که با افزایش زمان همکشتی بیش از ۴۸ ساعت میزان زنده‌مانی ریزنمونه‌ها نیز کاهش می‌یابد (Chowdhury et al. 2014; Al-Shafeay et al. 2011). در دوره هم‌کشتی ۲۴ ساعت فرصت مناسبی به اگروباکتریوم داده می‌شود تا ریزنمونه را احاطه کند و در عین حال پلاسمید خود را وارد ریزنمونه کند. همچنین دوره هم‌کشتی خیلی طولانی منجر به رشد بیش از حد اگروباکتریوم و نکروزه شدن بافت‌ها می‌شود که این مورد در سایر گیاهان مانند ماش (Tazeen and Mirza 2004)، سویا (Verma et al. 2014) و توتون (Uranbey et al. 2005) نیز گزارش شده است.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

جدول ۶- تجزیه واریانس مدت زمان هم‌کشتی و اثر نور برای صفت درصد باززایی

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
رقم	۱	۷/۵۴**
اثر نور	۱	۱۰/۳۳**
مدت زمان هم‌کشتی	۱	۱۱/۷۰**
رقم × نور	۱	۰/۰۶۴ns
رقم × مدت زمان هم‌کشتی	۱	۰/۳۹ns
نور× مدت زمان هم‌کشتی	۱	۰/۰۱۰ns
رقم× نور× مدت زمان هم‌کشتی	۱	۲/۴۰*
خطای آزمایشی	۲۴	۰/۵۱
ضریب تغیرات (درصد)		۱۵/۴۳

**، * و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی‌دار



شکل ۷- مقایسه میانگین مدت زمان هم‌کشتی و اثر نور برای صفت درصد باززایی

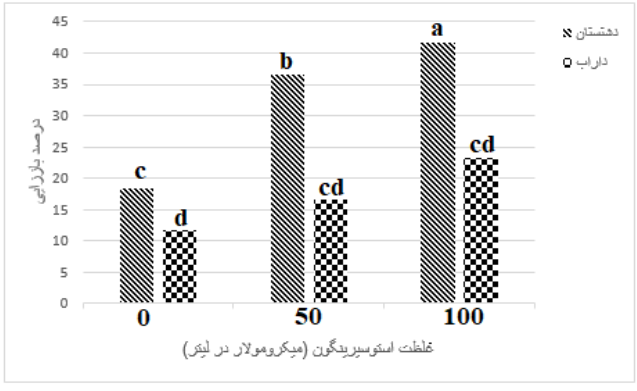
غلظت استوسیرنگون: اضافه کردن استوسرینگون به محیط تلقیح، اثر مثبتی در افزایش نرخ باززایی در هر دو رقم مورد مطالعه داشت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثرات اصلی رقم و غلظت استوسیرنگون در سطح ۱٪ معنی‌دار می‌باشند و همچنین اثر متقابل رقم در غلظت استوسیرنگون در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۷). ترکیب فنولی استوسیرنگون به‌عنوان القاء کننده ژن *Vir* در اگروباکتریوم نقش مؤثری در جایگزینی T-DNA در سلول‌های گیاهی دارد. بهینه‌سازی غلظت آن موجب افزایش نرخ تراریختی می‌شود زیرا غلظت بالای آن برای اگروباکتریوم و سلول‌های گیاهی اثر سمیت دارد (Niazian et al. 2016). در این پژوهش رتبه a و بالاترین درصد باززایی (۴۱/۶۶) به رقم دشتستان ۲ با غلظت ۱۰۰ میکرومولار در لیتر استوسرینگون تعلق گرفت (شکل ۸).

Chowdhury et al. (2014) اظهار داشتند که مدت زمان همکشتی، غلظت استوسیرینگون در افزایش تراریختگی گیاه کنجد مؤثر است آن‌ها در پژوهش‌شان از غلظت ۱۰۰ میکرومولار استو سیرینگون استفاده کردند. در پژوهش‌هایی که بر روی بهبود روغن در گیاهان روغنی کرچک و کلزا از طریق مهندستی ژنتیک و انتقال ژن توسط اگروباکتریوم صورت پذیرفت اعلام شد که غلظت‌های ۱۰۰ میکرومولار استوسیرینگون در انتقال ژن موفق مؤثر است (Sánchez-Álvarez et al. 2019; rani et al. 2018). فرناندو و همکاران Fernando and et al. (2016) غلظت ۱۰۰ میکرومولار در لیتر استوسرینگون را جهت انتقال ژن به گیاه اکالیپتوس در محیط همکشتی به‌کار بردند.

جدول ۷- تجزیه واریانس غلظت استوسیرنگون

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
رقم	۱	۱۳۵۰/۱۵**
استوسیرینگون	۲	۶۳۵/۱۲**
رقم × استوسیرینگون	۲	۱۰۵/۴۹*
خطای آزمایشی	۱۸	۲۲/۸۴
ضریب تغیرات (درصد)		۱۹/۳۴

**، * و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی‌دار



شکل ۸- مقایسه میانگین رقم برای صفت درصد باززایی

روش بهینه انتقال ژن گیاه کنجد: در نهایت با توجه به نتایج حاصل از بهینه‌سازی انتقال ژن و بررسی بیشترین باززایی، روش

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

مناسب برای انتقال ژن در گیاه کنجد مشخص شد که به‌طور مختصر شامل مراحل زیر می‌باشد.

۱- تلقیح ریزنمونه‌های کوتیلدون ۷ روزه در اگروباتریوم تومفاشینس سویه (PGV3101) C58 (حاوی پلازمید pBI121 که حاوی ژن انتخابگر مقاومت به کانامایسین است) با غلظت OD_{600}=۱ به مدت ۳۰ دقیقه

۲- همکشتی ریزنمونه‌ها در محیط بهینه شده کشت بافت حاوی ۱۰۰ میکرومولار استوسیرنگون و در شرایط تاریکی به مدت ۲۴ ساعت

۳- شستشو در سفاتاکسیم ۵۰۰mg/L به مدت ۹۰ دقیقه

۴- کشت در محیط کشت بهینه شده شامل محیط MS حاوی ۵ میلی‌گرم در لیتر AGNO3 و ۶/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA به‌همراه آنتی بیوتیک‌های کانامایسین ۵۰ میلی‌گرم و سفاتاکسیم ۵۰۰ میلی‌گرم

۵- واکشت در محیط مشابه هر دو هفته یک بار

۶- در این پژوهش ریشه‌زایی گیاهان تراریخت بسیار کندتر و سخت‌تر از گیاهان غیرتراریخت صورت گرفت. به‌همین دلیل جهت القا ریشه‌زایی علاوه بر تنظیم‌کننده رشد IAA یک میلی‌گرم در لیتر از تنظیم‌کننده رشد NAA ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر نیز استفاده شد.

بررسی گیاهان تراریخت احتمالی: اگر چه رشد نوساقه‌ها روی محیط کشت حاوی کانامایسین می‌تواند دلیلی بر تراریخت بودن آن‌ها باشد ولی در گزینش گیاهان بر روی محیط گزینشگر امکان فرار گیاهچه‌های غیر تراریخت وجود دارد. با توجه به این موضوع و جهت اطمینان از تراریخت بودن گیاهان باززایی شده آنالیز PCR با آغازگرهای اختصاصی نیز بر روی گیاهان انتخابی انجام شد.

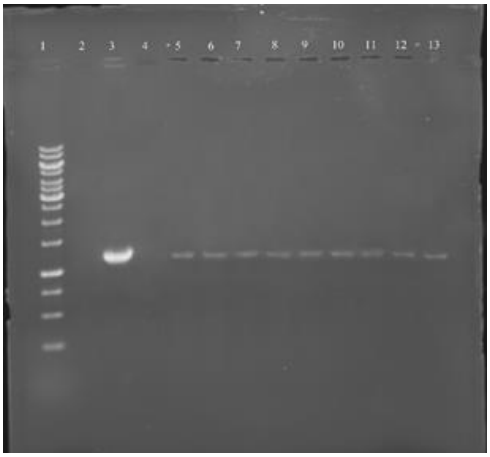
آزمون PCR: گیاهان تراریخت تولید شده با استفاده از آزمون PCR توسط پرایمرهای اختصاصی نیز تأیید شدند (شکل ۹ و ۱۰). استفاده از آزمون PCR یکی از روش‌های شناسایی گیاهان تراریخته می‌باشد. پژوهشگران در گیاه کنجد (Chowdhury et al. 2014; yadave and Chaudhary 2010) داودی (Niazian et al. 2016) گوجه فرنگی (Jedi et al. 2018) پنبه (Hamid et al. 2018) برنج (Zandi et al. 2020) کاملینا (Soltani et al. 2019).



[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]



شکل ۹- مراحل رشدی گیاهان تراریخت



شکل ۱۰- نتایج حاصل از PCR تعدادی از گیاهان تراریخت چاهک ۱: سایز مارکر 1kb چاهک۲: کنترل منفی چاهک ۳: شاهد مثبت چاهک ۴: شاهد منفی چاهک ۵، ۶، ۷، ۸، ۹،۱۰، ۱۱،۱۲ و ۱۳ PCR گیاهان تراریخت

منابع

Al-Shafeay AF, Ibrahim AS, Nesiem MR, Tawfik MS (2011) Establishment of regeneration and transformation system in Egyptian sesame (*Sesamum indicum* L.) cv Sohag 1. GM crops 2:182-192.

Baskaran P, Jayabalan N (2013) *In vitro* mass propagation and diverse callus orientation on *Sesamum indicum* L.-an important oil plant. Journal of Agricultural Technology 2:259-269.

Bates PD, Stymne S, Ohlrogge J (2013) Biochemical pathways in seed oil synthesis. Current opinion in plant biology 16:358-364.

Belide S, Hac L, Singh SP, Green AG, Wood CC (2011) Agrobacterium-mediated transformation of safflower and the efficient recovery of transgenic plants via grafting. Plant methods 7:1-13.

Bhattacharyya J, Chakraborty A, Mitra J, Chakraborty S, Pradhan S, Manna A, Sikdar N, Sen SK (2015) Genetic transformation of cultivated sesame (*Sesamum indicum* L. cv Rama) through particle bombardment using 5-day-old apical, meristematic tissues of germinating seedlings. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC) 123:455-466.

Bhunia AK, Piontek K, Boletta A, Liu L, Qian F, Xu PN, Germino FJ, Germino GG (2002) PKD1 induces p21waf1 and regulation of the cell cycle via direct activation of the JAK-STAT signaling pathway in a process requiring PKD2. Cell 109:157-168.

Browse J, Court P, Somerville C (1986) A mutant of Arabidopsis deficient in c(16:3) and c(18:3), leaf lipids. Plant Physiology 81:859-864.

Chowdhury S, Basu A, Kundu S (2014) A new high-frequency Agrobacterium-mediated transformation technique for *Sesamum indicum* L. using de-embryonated cotyledon as explant. Protoplasma 251:1175-1190.

Debnath AJ, Gangopadhyay G, Basu D, Sikdar SR (2018) An efficient protocol for *in vitro* direct shoot organogenesis of *Sesamum indicum* L. using cotyledon as explant. 3 Biotech 8:1-13.

Djuricic I, Calder PC (2021) Beneficial outcomes of omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids on human health: An update for Nutrients 13:2421.

Doyle J (1990) DNA protocols for plants. Molecular Techniques in Taxonomy 283-293.

Dutt M, Grosser J (2009) Evaluation of parameters affecting Agrobacterium-mediated transformation of citrus. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 98:331-340.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

Dutta D, Banerjee S, Pal M, Gangopadhyay G (2022) Validation of determinate (dt) gene-based DNA marker in inter-specific hybrid sesame and in-silico analysis of the predicted dt protein structures. Physiology and Molecular Biology of Plants 28:139-152.

Fallahi N, Tahmasebi Z, Zebarjadi A (2023) Optimization of tissue culture conditions, Isolation, cloning, and synthesis of transferable construct from delta-15 desaturase (FAD3) gene effective in omega-3 biosynthesis pathway and its transfer to Sesamum indicum L. 84-85. (In Farsi).

Fernando S C, Goodger JQD, Gutierrez SS, Johnson A, Woodrow IE (2016) Plant regeneration through indirect organogenesis and genetic transformation of *Eucalyptus polybractea* RT Baker. Industrial Crops and Products 86:73-78.

Gholami, AA (2017) Effective factors in tissue culture and methods of gene transfer to wheat plant. Journal of Biosafety 4:16-30. (In Farsi).

Gunstone FD, Harwood JL, Padley FB (1994) Dictionary. The Lipid Handbook. 2nd ed. FD Gunstone, JL Harwood, and FB Padley, ed. Chapman and Hall, London. UK 1273.

Hamid R, Marashi H, Tohidfar M, Malekzadeh- hafaroudi S (2016) Optimization of regeneration and parameters affecting Agrobacterium-mediated transformation of commercial cultivar of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). Modern Genetics Journal 12:597-606. (In Farsi).

Jadi L, Dorani-Oliaei, A. Farsi,M (2018) Optimizing factors effective in gene transfer by *Agrobacterium tumefaciens* to tomato. Iranian Agricultural Research Journal 8:384-368. (In Farsi).

Kapoor S, Sanjay SP, Yadav M, Chaudhary D, Sainger M, Jaiwal R, Jaiwal PK (2015) Sesame (*Sesamum indicum* L.). Methods in Molecular Biology 2:37-46.

Kazemi RA, Amani J, Sharfi A, Abbasi A, Salmanian A (2013) Optimization of transformation in canola (*B. napus* L.) with control of ethylene production and gradual increase in concentration of selection element. Journal of Molecular and Cellular Research 27:589-575. (In Farsi).

Mousavi J, Hosseini R (2015) Transgenic sesame plant with gammatocopherol methyltransferase gene. MSc Thesis. Faculty of Agriculture and Natural Resources of Imam Khomeini University. Department of Agricultural Biotechnology 20-25. (In Farsi).

Naing A H, Park K I, Lim S H, Kim C K (2014) Appropriate choice of antibiotics for plant regeneration and optimization of selective agents to be used in genetic transformation of chrysanthemum. Plant Omics Journal 7:237- 243.

Naing AH, Ai TN, Jeon SM, Lim SH, Kim CK (2016) An efficient protocol for *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of recalcitrant chrysanthemum cultivar Shinma. Acta Physiologiae Plantarum 38:9.

Niazian M, Sadat-Nouri SA, Tawheed-Far M, Galushka P, Mortazavian SMM (2016) Optimization of Agrobacterium-mediated gene transformation in Ajowan medicinal plant (*Trachyspermum ammi* L.) using FLD gene Journal of Molecular and Cellular Research 30:452-463. (In Farsi).

Rajesh M, Jeyaraj M, Sivanandhan G, Subramanyam K, Mariashibu TS, Mayavan S, Kapil Dev G, Anbazhagan VR, Manickavasagam M, Ganapathi A (2013) *Agrobacterium*-mediated transformation of the medicinal plant *Podophyllum hexandrum* Royle (syn. P. emodi Wall. ex Hook. f. & Thomas). Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC) 114:71-82.

Rani A, Panwar A, Sathe M, Chandrashekhara KA, Kush A (2018) Biofortification of safflower: an oil seed crop engineered for ALA-targeting better sustainability and plant based omega-3 fatty acids. Transgenic Research 27:253-263.

Rodrigues SD, Karimi M, Impens L, Van Lerberge E., Coussens, G, Aesaert S, Rombaut D, Holtappels D, Ibrahim HM, Van Montagu M, Wagemans J (2021) Efficient CRISPR-mediated base editing in *Agrobacterium* spp. Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS) 118:1-8.

Sánchez-Álvarez A, Ruíz-López N, Moreno-Pérez AJ, Martínez-Force E, Garcés R, Salas JJ (2019) *Agrobacterium*-mediated transient gene expression in developing *Ricinus communis* seeds: A first step in making the castor oil plant a chemical biofactory. Frontiers in Plant Science 10:1410.

Sivanandhan G, Arunachalam C, Vasudevan V, Kapildev G, Sulaiman AA, Selvaraj N, Ganapathi A, Lim YP (2016) Factors affecting Agrobacterium mediated transformation in *Hybanthus enneaspermus* (L.). Plant Biotechnology Reports 10:49-60.

Sohrabi m, Zebarjadi A, Najaphy A, Kahrizi D (2015) Isolation and sequence analysis of napin seed specific promoter from Iranian Rapeseed (Brassica napus L.). Gene 160-164.

Soltani Gishini MF, Zebarjadi A, Abdoli-Nasab, M, Jalali Javaran M, Kahrizi D, Hildebrand D (2019) Endoplasmic reticulum retention signaling and transmembrane channel proteins predicted for oilseed ω3 fatty acid desaturase 3 (FAD3) genes. Functional and integrative genomics 20:433-458.

Soltani MF, Zebarjadi A, Abdoli-Nasab M, Jalali Javaran M, Kahrizi D (2020) Isolation and characterization of delta 15 desaturase (FAD3) gene from *Camelina sativa* L. Journal of Applied Biotechnology Reports 7:48-52.

Tazeen S, Mirza B (2004) Factors affecting *Agrobacterium tumefaciens* mediated genetic transformation of *Vigna radiata* (L.). Pakistan Journal of Botany 36:887-896.

Towheed-Far M, Mohsenpour M (2019) Effective factors in cotton (*Gossipium spp*) Transformation using *Agrobacterium*. Agricultural Biotechnology Journal 2:1-24. (In Farsi).

Uranbey S, Sevimay C, Kaya M, Ipek A, Sancak C, Basalma DC, Er Ozcan S (2005) Influence of different co-cultivation temperatures, periods and media on *Agrobacterium tumefaciens* mediated gene transfer. Biologia Plantarum 49:53-57.

Verma K, Saini R, Rani A (2014) Recent advances in the regeneration and genetic transformation of soybean. Journal of Innovative Biology 1:015-026.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

Zimik M, Arumugam N (2017) Induction of shoot regeneration in cotyledon explants of the oilseed crop *Sesamum indicum* L. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology 15:303-308.

Wang Y, Kausch AP, Chandlee JM, Luo H, Ruemmele BA, Browning M, Jackson N, Goldsmith MR (2003) Co-transfer and expression of chitinase, glucanase, and bar genes in creeping bentgrass for conferring fungal disease resistance. Plant Science 165:497-506.

Yadav M, Chaudhary D, Sainger M, Jaiwal PK (2010) *Agrobacterium tumefaciens*-mediated genetic transformation of Sesame (*Sesamum indicum* L.). Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC) 103:377-386.

Yadav SH, 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.

Zäuner S, Jochum W, Bigorowski T, Benning C (2021) A cytochrome b 5-containing plastid-located fatty acid desaturase from *Chlamydomonas reinhardtii*. Eukaryotic Cell 11:856-863.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]