ژنتیک نوین
دوره یازدهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۵
صفحه ۱٦٤ - ۱۵۵

تشدید تقسیم سلول در کالوس‌های آلوئه‌ورا تیمار شده با لیزر کم‌توان و ارتباط آن با متابولیت‌های ثانویه

Aggravation of cell division in *Aloe vera* calli treated by low level laser and its relation with secondary metabolites production

منصور امیدی *[۱]، مهسا توکلی[۱]، سیدعلی پیغمبری[۱]، هدیه پازکیان[۲]، شهریار عبدالحسینی[۲]

۱- به‌ترتیب استاد، دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
۲- به‌ترتیب استادیار، کارشناس ارشد، پژوهشکده لیزر و اپتیک، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، تهران

Omidi M*[1], Tavakoli M[1], Peighambari SA[1], Pazokian H[2], Abolhoseini Sh[2]

1- Professor, Graduated MSc Student, Professor, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
2- Assistant Professor, MSc, Laser and Optics Research Center, Institute of Nuclear Science and Technology, Tehran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Momidi@ut.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹٤/۱/۱۵ - تاریخ پذیرش: ۹٤/۲/۱۵)

چکیده

زندگی همه موجودات زنده وابسته به تقسیم و تنظیمات میتوز است. چرخه سلولی توسط چندین مکانیسم تنظیم می‌شود. از مهم‌ترین مکانیسم‌های کنترلی، نقاط کنترلی چرخه سلولی هستند که باعث توقف یا ادامه چرخه سلولی می‌شوند. دیگر مکانیسم آبشار فسفات افزایی و فسفات زدایی است که واکنش‌های چرخه سلولی را به جریان می‌اندازد. از این رو عامل سیتوپلاسمی MPF و سایکلین و کیناز وابسته به سایکلین نقش مهمی در هدایت سیگنال‌ها ایفا می‌کنند. در این پژوهش، کالوس‌های جوان به دست آمده از طوقه گیاه آلوئه‌ورا تحت تیمار با لیزر هلیوم نئون با طول موج ٦۳۲/۸ نانومتر و توان یک یا دو میلی وات به مدت یک، سه، پنج و ۱۰ دقیقه قرار گرفتند. سطح کالوس‌های تیمارشده برای مدت دو ماه هر ۱۰ روز یک‌بار اندازه-گیری شد. نتایج نشان داد احتمالا لیزر کم توان هلیوم نئون با تاثیر بر سیتوکروم اکسیداز در زنجیره انتقال الکترون سبب تامین انرژی لازم برای فرآیندهای بیان ژن و تولید پروتئین‌های ضروری در مسیر تقسیم شده و با تامین فسفات لازم جهت فرآیندهای فسفریلاسیون و جلوگیری از مرگ سلول‌ها، سطح کالوس‌های تیمار شده را به‌طور چشمگیری افزایش داده و تقسیمات سلولی پیاپی را موجب شده‌است. نتایج حاصل از بررسی فیتوشیمیایی نشان داد با افزایش سطح کالوس میزان مجموع سه متابولیت ثانویه آلوئنین، باربالوئین و ایزوباربالوئین کاهش می‌یابد اما با توجه به افزایش چند برابری سطح کالوس، این موضوع قابل اغماض بوده و می‌توان با تولید کالوس‌های بزرگ‌تر و با پتانسیل رشد بیش‌تر مقدار متابولیت‌های مذکور را افزایش داد. بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، لیزر کم توان می‌تواند به‌عنوان یک الیسیتور کم هزینه و مناسب به-منظور بهبود تولید متابولیت‌های ثانویه در پژوهش‌های آتی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی

تقسیم سلولی
چرخه سلولی
سطح کالوس
لیزر کم توان
متابولیت ثانویه

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.2.1.6]

مقدمه

لیزر به معنای تقویت نشر نور برانگیخته می‌باشد و در تقسیم-بندی براساس توان به سه نوع گرم یا سخت (پرتوان)، نرم یا سرد (کم توان) و دارای توان متوسط دسته‌بندی می‌شود (Rybiński and Garczyński 2004). لیزرهای کم‌توان فاقد اثر حرارتی بر روی بافت بوده و با تحریک نوری بر روی سلول، باعث واکنش-های نوری در بافت می‌شوند که به آن تحریک زیست نوری[1] می-گویند. توان این لیزرها معمولاً زیر ۲۵۰ میلی‌وات می‌باشد. عملکرد و مکانیسم لیزر در سلول‌ها هنوز مورد بحث و پژوهش است اما در منابع مختلف به دفعات از لیزر کم‌توان به‌عنوان افزاینده محتوای انرژی سلول به‌طور طولانی مدت یاد شده‌است (Chen et al. 2005; AlGhamdi KM et al. 2011). گیاه آلوئه‌ورا (*Aloe vera L.*) از تیره لاله[2] از جمله گیاهان دارویی است که از هزاران سال پیش مورد استفاده بشر بوده و در حال حاضر از متابولیت‌های ثانویه آن در صنایع مختلف استفاده‌های فراوانی می-شود (Zarrinpanje et al. 2012). متابولیت‌های ثانویه ترکیباتی پیچیده با وزن مولکولی پایین هستند که به مقدار بسیار کم در سلول‌ها ذخیره می‌شوند و در بسیاری از فرآیندهای سلولی گیاه درگیر هستند. متابولیت‌های اصلی و اساسی این گیاه آلوئین[3] و آلوئینز[4] هستند که یک منبع طبیعی از دو دیاسترومر به نام‌های آلوئین A (باربالوئین[5]) و آلوئین B (ایزوباربالوئین[6]) محسوب می-شوند. آلوئین یک گلیکوزید آنتراکینونی و قابل حل در آب می-باشد (Lulinski 2007; Doria et al. 2010). تمامی سلول‌های پیکر یک موجود زنده، انرژی مورد نیاز خود را از طریق میتوکندری سلول فراهم می‌کنند. ATP، شکل رایج انرژی ذخیره شده در سلول است که جهت انجام واکنش‌ها، سوخت و ساز سلولی، مقابله با تنش‌ها و بقای سلول مورد نیاز می‌باشد (Törnroth-Horsefield and Neutze 2008). پرتو لیزر کم توان این امکان را مهیا می‌سازد تا انرژی سلولی (ATP) افزایش یابد. اگر پرتو لیزر به داخل سلول نفوذ کند، بلافاصله توسط آخرین کمپلکس زنجیره انتقال الکترون به نام سیتوکروم c اکسیداز جذب شده و سبب افزایش شیب پروتون و در نهایت افزایش ساخت ATP می‌شود (Farivar et al. 2014). کلیه رویدادهای سلولی از جمله تقسیم سلول و تک تک مراحل آن وابسته به انرژی حاصل از هیدرولیز ATP است (Törnroth-Horsefield and Neutze 2008). چرخه سلولی از وقایع مهمی به‌شمار می‌رود که بقای جاندار را تحت تأثیر قرار می‌دهد و در یوکاریوت‌ها از چهار مرحله G1، S، G2 و میتوز تشکیل شده است (Gaurisankar and Tanya 2008). چرخه سلولی تحت کنترل ژنتیکی بوده و تعداد فراوانی از پروتئین‌های دخیل در فرایند همانندسازی (RF)[7] و پروتئین‌های اسکلت سلولی این وقایع را از طریق فسفریلاسیون کنترل می‌کنند (Debra et al. 1995). سایکلین و کیناز وابسته به سایکلین[8] از جمله مهم‌ترین مولکول‌های تنظیم کننده چرخه سلولی هستند که کشف آن‌ها موجب پیشرفت بزرگی در زمینه علم فیزیولوژی شده‌است (DeSouza and Osmani 2007). علاوه بر این، عامل سیتوپلاسمی فعالی در سلول‌ها وجود دارد که به فاکتور راه‌اندازی رشد و تکامل (MPF[9]) معروف است و باعث شروع میتوز در سلول‌های سوماتیکی می‌شود. MPF در واقع یک CDK–سایکلین است که سوبستراهای فراوانی دارد و در هنگام میتوز افزایش می‌یابد (Lodish 2000). با توجه به این‌که تکثیر سلولی به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر تولید متابولیت-های ثانویه در مقیاس وسیع، درمان آسیب‌های فیزیکی در انسان و سایر جانداران، رشد و نمو و تجاری سازی تولید مطرح می‌باشد، پژوهش حاضر با هدف مطالعه اثر لیزر کم توان بر تقسیمات سلولی پیاپی از طریق بررسی وقایع چرخه سلولی انجام شد. از سوی دیگر در این مقاله ارتباط بین تقسیمات سلولی و میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاه آلوئه‌ورا به‌منظور بررسی امکان استفاده از لیزر کم‌توان به‌عنوان یک الیسیتور فیزیکی مورد بحث و بررسی قرار گرفته است.

[1] Photobiostimulation
[2] Liliaceae
[3] Aloin
[4] Aloenin
[5] Barbaloin
[6] Iso-Barbaloin
[7] Replication Factors
[8] Cyclin depended kinase
[9] Maturating-Promoting Factor

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.2.1.6]

مواد و روش‌ها

به‌منظور تهیه ریزنمونه‌های لازم جهت القای کالوس، گیاهچه‌های قوی و جوان آلوئه‌ورا از گلخانه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران انتخاب و به آزمایشگاه گروه زراعت و اصلاح نباتات منتقل شدند. ریزنمونه‌ها به‌صورت حلقوی از طوقه گیاهچه‌ها تهیه و بر روی محیط کشت پایه MS ½ با ترکیب هورمونی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP و دو میلی‌گرم بر لیتر NAA کشت و در تاریکی تحت شرایط دمایی ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Tavakoli et al. 2014). ظهور اولین نشانه‌های تشکیل کالوس نه روز به طول انجامید و پس از ۱۵ روز کال‌زایی تکمیل شد ولی برای گسترش بهتر کالوس تا سه هفته پس از کشت ریزنمونه، کالوس‌ها پرتوتابی نشدند. پس از به‌دست آمدن کالوس‌های مناسب، سطح کالوس‌ها با استفاده از کاغذ شطرنجی اندازه‌گیری شد. سپس تعداد پنج قطعه کالوس با اندازه تقریبی چهار سانتی‌متر مربع در هر پتری حاوی محیط کشت MS ½ و ترکیب هورمونی فوق‌الذکر واکشت شدند و مورد پرتوتابی قرار گرفتند. آزمایش به‌صورت فاکتوریل با دو فاکتور توان لیزر (یک و دو میلی‌وات) و مدت زمان پرتوتابی (یک، سه، پنج و ۱۰ دقیقه) در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. لیزر مورد استفاده در این پژوهش از نوع هلیوم-نئون با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر و اندازه لکه‌ای به قطر ۱/۱ میلی‌متر بود و نمونه‌ها در فاصله ۲۵ سانتی‌متری از روزنه خروجی قرار گرفتند. مساحت کالوس‌های تیمار شده بدون واکشت مجدد، برای دو ماه، هر ده روز یک بار اندازه‌گیری شد. تجزیه آماری داده‌های آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. ارزیابی میزان متابولیت‌های ثانویه با دستگاه HPLC در دو زمان کاملاً متفاوت پس از پرتوتابی صورت گرفت. تعداد پنج نمونه شامل کالوس‌های تیمار شده با توان یک و دو میلی‌وات به مدت سه دقیقه در دو زمان چهار روز و ۱۸۰ روز پس از پرتوتابی به همراه نمونه‌های کالوس حاصل از پرتوتابی با توان دو میلی‌وات به مدت ۱۰ دقیقه چهار روز بعد از پرتوتابی جهت اندازه‌گیری میزان سه متابولیت ثانویه آلوئینین، باربالوئین و ایزو باربالوئین انتخاب شدند.

نتایج و بحث

سطح کالوس‌های تیمار شده با دزهای مختلف لیزر کم‌توان افزایش بسیار چشمگیری در مقایسه با نمونه شاهد نشان داد (شکل ۱). تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بین دزهای مختلف تیمار لیزر و نیز بین زمان‌های مختلف پرتوتابی مشاهده شد. اثر متقابل دو فاکتور مورد مطالعه غیرمعنی‌دار بود که نشان دهنده آن‌است که این دو فاکتور به‌صورت مستقل از یکدیگر بر روی صفت مورد نظر عمل می‌نمایند.

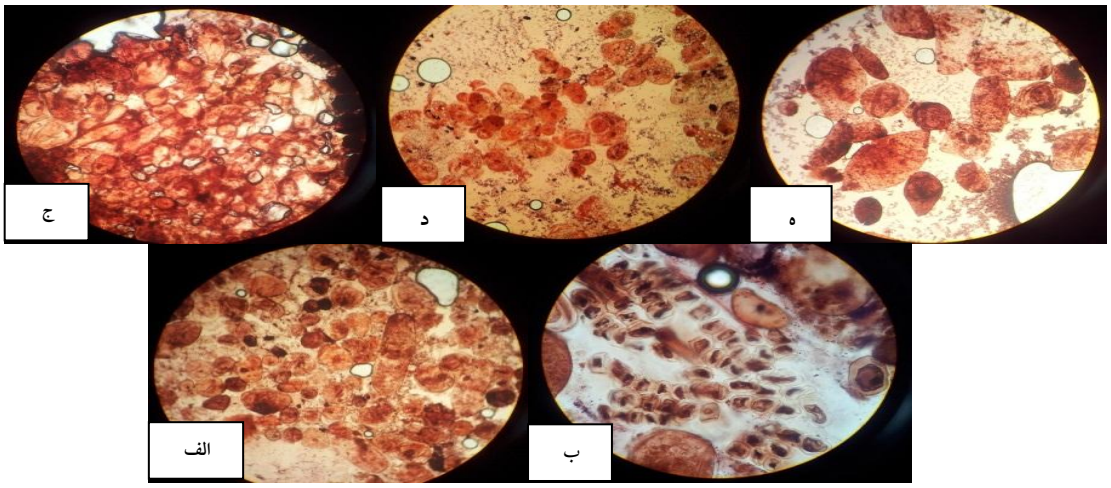
با پیش‌روی زمان از روز اول پرتوتابی تا پایان دو ماه، سطح کالوس‌ها افزایش یافت و تنها در دو تیمار ۳ و ٤ کاهش اندکی در اواخر دوره دو ماهه اندازه‌گیری مشاهده شد. این کاهش، نسبت به حداکثر سطح مشاهده شده در اندازه‌گیری‌ها بود (افزایش سطح به طور تقریبی تابع الگوی نمایی بوده‌است) ولی در نهایت نسبت به روز اول پرتوتابی در همه تیمارها افزایش مساحت مشاهده شد (شکل ۳). تیمار شماره ٦ (لیزر کم توان هلیوم نئون با توان دو میلی‌وات به مدت سه دقیقه) حداکثر رشد کالوس را به همراه داشت و به‌عنوان بهترین تیمار شناسایی شد در حالی‌که کم‌ترین رشد کالوس پس از شاهد، در تیمار شماره ۸ یعنی لیزر هلیوم نئون با توان دو میلی وات به مدت ده دقیقه مشاهده شد.

به دلیل عدم مشابهت پژوهش حاضر با تحقیقات انجام شده، کالوس‌های تیمار شده در دو بازه زمانی بسیار متفاوت چهار روزه و ۱۸۰ روزه برای کروماتوگرافی انتخاب شدند. ویژگی متمایز این دو گروه این بود که کالوس‌های چهار روزه همچنان رنگ روشن و ظاهر شکننده داشتند ولی کالوس‌هایی که ۱۸۰ روز از پرتوتابی آن‌ها گذشته بود، رنگی تیره و ظاهری خمیری داشته و تقسیمات سلولی پیاپی و سه واکشت را پشت سر گذاشته بودند. نتایج حاصل از ارزیابی متابولیت‌های ثانویه با دستگاه کروماتوگرافی رابطه معکوسی را بین تقسیمات سلولی و مجموع متابولیت‌های ثانویه کالوس‌ها نشان داد. کالوس‌های تیمار شده با لیزر کم‌توان هلیوم نئون با طول موج ۶۳۲/۸ به مدت سه دقیقه که بیش‌ترین اثر را روی افزایش سطح کالوس‌ها داشت، کم‌ترین میزان متابولیت ثانویه را پس از چهار روز نشان داد (شکل٤).

پرتو لیزر کم‌توان مورد استفاده در این پژوهش سهم بسزایی در تکثیر و تقسیم سلول‌ها طی فرآیند میتوز داشته‌است. دراین راستا

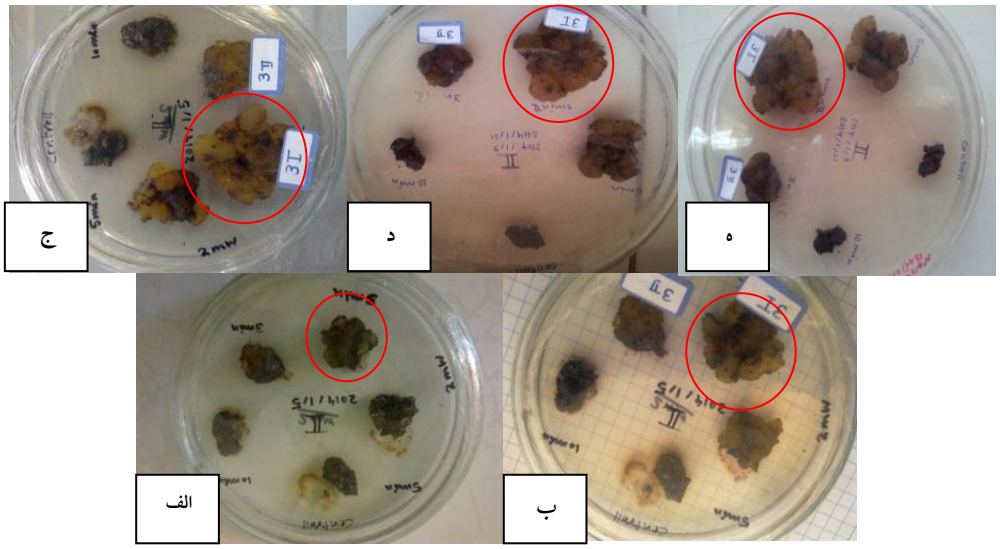
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.2.1.6]

افزایش میزان رشد و تقسیمات سلولی در نتیجه تیمار با لیزر کم-توان در پژوهش‌های دیگری نیز بررسی و تایید شده‌است. از جمله، درصد کالوس‌های القا شده توسط لیزر کم‌توان در چند گونه چمن وحشی، نسبت به شاهد بررسی شده و افزایش کالزایی تحت تیمار با لیزر هلیوم نئون حتی در برخی از گونه‌ها از مرز ۵۰ درصد نیز پیشی گرفته‌است (Salyaev et al. 2001a). هم‌چنین افزایش باززایی کالوس (افزایش خاصیت قطبی کالوس) و ریشه زایی در کالوس‌های گندم تحت تیمار با لیزر هلیوم نئون مشاهده شده‌است (Salyaev et al. 2001b). به‌علاوه گیاهچه‌های حاصل از بذور تیمار شده با لیزر هلیوم نئون شاخص‌های رشد بالاتری را نسبت به شاهد نشان می‌دهند (Chen et al. 2005).



شکل۱- مقایسه اندازه و انبوهی سلول‌های کالوس گیاه آلوئه‌ورا پس از تیمار با لیزر با توان یک میلی‌وات زیر میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ده برابر.

الف) شاهد، ب) لیزر یک دقیقه، ج) لیزر سه دقیقه، د) لیزر پنج دقیقه، ه) لیزر ۱۰ دقیقه.



شکل۲- افزایش سطح کالوس پس از تیمار با لیزر هلیوم نئون با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر و توان دو میلی‌وات.

الف) چندساعت پس از اعمال تیمار، ب) ده روز پس از تیمار، ج) ۲۰ روز پس از تیمار، د) ۴۰ روز پس از تیمار، ه) ۵۰ روز پس ازتیمار.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.2.1.6]

در تحقیق دیگری شاخص میتوز در سلول‌های ریه تحت تیمار با لیزر کم توان افزایش یافته‌است (Silva et al. 2003). در پژوهش دیگری نیز رشد و نمو بیش‌تر گیاهچه‌های حاصل از بذور گندم-های بهاره تیمار شده با لیزر کم‌توان نسبت به نمونه‌های شاهد به اثبات رسید (Drozd and Szajsner 1999).

همچنین در تحقیقات دیگری افزایش نرخ و شاخص‌های رشد بررسی و تایید شده‌اند (Kobrzyñski and Róanowski 2000). هنگامی‌که پرتو نور به سلول نفوذ می‌کند به‌طور کلی مسیرهای موجود در کلروپلاست مانند تثبیت کربن، بیوسنتز گلوکان‌ها و لیپیدها بلافاصله تقویت شده که به نوبه خود سبب تجمع این مواد درون گرانول‌ها و واکوئل‌های ذخیره‌ای می‌شود (Chauton et al. 2013;Tavakoli et al. 2014). پس از یک فاز تاخیر، فرآیندها و واکنش‌های میتوکندریایی مانند چرخه کربس و تجزیه لیپیدها افزایش می‌یابند (Chauton et al. 2013). بنابراین می‌توان این‌طور بیان کرد که سوخت و سازهای سلولی در یک الگوی چرخه‌ای رخ می‌دهند و برخی از این چرخه‌ها در پاسخ به عوامل خارج سلولی مانند نور (لیزر کم‌توان) به جریان می‌افتند (فسفریلاسیون نوری)؛ در حالی‌که تعدادی دیگر به‌وسیله ساعت-های بیولوژیکی درونی فعال می‌شوند که به بیان ژن و تنظیمات آن وابسته است (Tessmar-Raible et al. 2011). این موضوع می‌تواند توجیهی بر تقسیمات پیاپی سلول‌های کالوس پس از یک فاز تاخیری در این پژوهش باشد. پروسه‌های میتوکندریایی علاوه بر نقشی که در کنترل و تنظیم آپوپتوزیس دارند، اغلب سبب تولید انرژی به‌عنوان هزینه حیات سلول شده و به زنجیره انتقال الکترون منتهی می‌شوند (Chauton et al. 2013). پس این موضوع را می‌توان از دو منظر بررسی کرد. اول این‌که پرتو لیزر توسط سیتوکروم اکسیداز جذب شده و آن را فعال می‌سازد و دوم اینکه تقویت پروسه‌های میتوکندریایی به خودی خود سبب تجزیه مواد تولید شده در طی پروسه‌های کلروپلاست شده و انرژی در دسترس سلول را افزایش می‌دهد. به‌طور کلی در اغلب منابع به افزایش میزان ATP در اثر تیمار با لیزر کم توان اشاره شده‌است (Vasilevski 1987; Karu et al. 2013). در پژوهشی تیمار سلول‌ها با پرتو لیزر کم‌توان هلیوم نئون با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر باعث افزایش ۲۰ درصدی در تعداد میتوکندری‌های سلول شد (Manteitel et al. 1991). از طرفی دیگر افزایش محتوای ATP در سلول‌ها منجر به افزایش مقادیر ROS و آنزیم‌های پراکسیداز می‌شود که این موضوع در تحقیقات زیادی مورد تایید واقع شده‌است. به‌طور مثال در نمونه‌های بذر گیاه گندم تحت تیمار با لیزر هیلوم نئون، آنزیم‌های لیپید پراکسیداز و هیدروژن اکسیداز افزایش یافته‌است که خود گویای تولید ATP در سلول می‌باشد (Abdelghafar et al. 2013). از آنجاکه اغلب فرآیندهای چرخه سلولی از جمله تشکیل صحیح زیرواحدهای CDK[1] یا پروتئین‌های اسکلت سلولی مانند لامینای هسته و میکروتوبول‌ها، بیان گروه متعددی از ژن‌های هسته‌ای و سیتوپلاسمی (کلروپلاست و میتوکندری) و جذب یا تولید ویتامین‌های فراوان به‌عنوان کوآنزیم به انرژی حاصل از هیدرولیز ATP وابسته است، پرتو لیزر کم‌توان با تولید این انرژی، موجبات تکثیر بیشتر سلول ها را فراهم می‌آورد (Courvalin et al. 1992; Heald et al. 1993).

یکی دیگر از دلایل افزایش میزان تقسیمات سلولی و میتوز در این پژوهش می‌تواند فسفات فراوانی باشد که در نتیجه تولید آدنوزین تری فسفات و هیدرولیز آن، در اختیار سلول قرار می‌گیرد. این فسفات‌های آزاد با اتصال به اسیدهای آمینه سرین یا ترئونین موجود در پروتئین‌ها امکان فسفریله شدن آن‌ها را فراهم می‌کنند (Lohka et al. 1988; Chao et al. 2012). فسفریله شدن پروتئین-ها یک مکانیسم مفید برای کنترل فرآیندهای چرخه سلولی است و دلیل عمده آن تغییرات برگشت‌پذیر صورت‌بندی[2] پروتئین‌ها می‌باشد (Debra et al. 1995). چند نمونه از فسفریلاسیون چرخه ای در سلول که بیش‌تر مورد بررسی قرار گرفته‌اند شامل فسفریلاسیون هیستون H_1 جهت غیرمتراکم‌سازی و همانندسازی DNA، فسفریله شدن لامینای هسته در مرحله پروفاز برای تخریب غشای هسته، فسفریله کردن پروتئین کاندسین[3] جهت فشرده‌سازی کروموزوم‌ها و فسفریله شدن کوهیزین[4] جهت تفکیک صحیح کروموزوم‌های خواهری است (Bradbury et al. 1974; Freedman and Heald 2010; Lodish 2000). کلیه این

[1] Cyclin dependent Kinase
[2] Conformation
[3] Condesin
[4] Cohisin

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.2.1.6]

فعالیت‌ها نیازمند انرژی فراوان و محتوای فسفات بالایی است که باید پیش از ورود سلول به مرحله تقسیم مهیا شود. تیمار با پرتو لیزر کم‌توان می‌تواند به خوبی پاسخگوی این نیاز باشد. در بررسی مخمرهای تیمار شده با لیزر کم توان با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر میزان فعالیت آنزیم‌های میتوکندریایی مانند NADH دهیدروژناز و سیتوکروم اکسیداز به‌ترتیب ۲۴۱ و ۱۲۸ درصد بیش‌تر از میزان شاهد شده‌است (با در نظر گرفتن شاهد به‌عنوان صد درصد) و سپس رفته رفته کاهش یافته تا به مقدار موجود در سلول‌های شاهد برسد (Fedoseyeva et al. 1988). تحقیقات نشان داده که بیش از ۸۰ درصد نوکلئوتیدهای آدنین دار موجود در سلول‌ها از ATP به دست می‌آیند؛ بنابراین محتوای بالای ATP و کاهش تدریجی آن می‌تواند با چرخه فسفریلاسیون ADP و ATP و سنتز DNA جدید در طی پروسه همانندسازی مرتبط باشد (Karu et al. 1995).

از منظر دیگر، می‌توان از پرتو لیزر کم‌توان به‌عنوان یک میتوژن[1] یاد کرد. در تحقیقات گذشته از میتوژن‌ها به‌عنوان یک عامل بیرونی تحریک کننده و راه‌انداز سیگنال‌های درونی استفاده شده‌است. اغلب این سیگنال‌ها تحریک کننده چرخه سلولی هستند. گزارش‌هایی در خصوص استفاده از پرتو لیزر به‌عنوان میتوژن فیزیکی برای بررسی نرخ تقسیمات سلولی در نتیجه افزایش اسمیلات‌ها وجود دارد (Courvalin et al. 1992). هم‌چنین انواعی از نانوالیسیتورها برای تحریک تقسیمات سلولی یا آپوپتوزیس مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Polyana et al. 2008). نتایج حاصل از کاربرد لیزرتراپی به‌عنوان میتوژن برای تکثیر سلول‌ها در بافت‌های انسانی بیانگر آن است که لیزر کم‌توان فعال‌کننده پروتئین کینازها (MAP کیناز) یا یک سیگنال تنظیمی خارج سلولی پروتئین کینازها می‌باشد (Kawano et al. 2012).

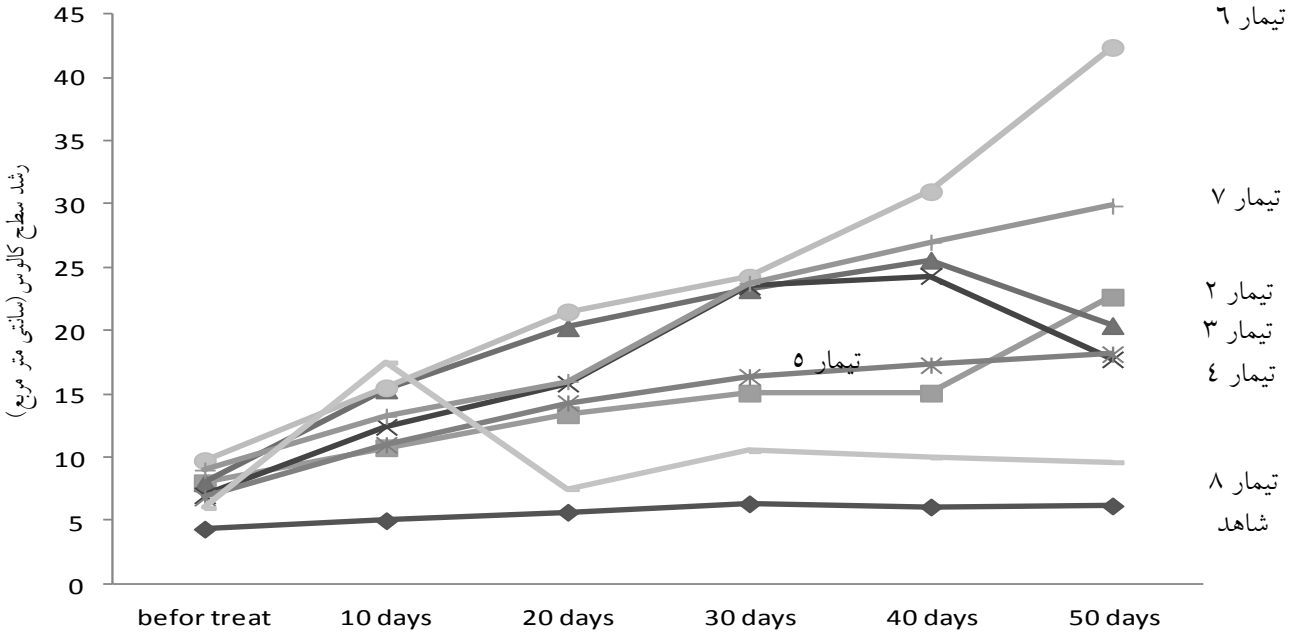
پس از گذشت دو ماه از پرتوتابی، سطح کالوس‌های اندازه‌گیری شده اندکی کاهش یافت (شکل ۳). علت کاهش تقسیمات سلولی در پایان دو ماه را می‌توان به کاهش مواد غذایی در دسترس کالوس‌ها نسبت داد (کالوس‌ها به مدت دو ماه واکشت شدند). یکی از این مواد ضروری برای تقسیم کالوس اکسین است که از طریق فعال‌کردن ژن‌های مهم و اساسی دخیل در تنفس سلولی بر تقسیم کالوس اثر می‌گذارد. به‌خصوص خانواده ژنی IAA[2] که کاهش میزان آن‌ها از حد معینی سبب کاهش یا کند شدن تقسیمات میتوز می‌شود (Bögre and Meskiene 2000). باید به این نکته نیز توجه کرد که سلول‌های کالوس از آن جهت که در معرض نور قرار ندارند و فتوسنتز نمی‌کنند در مقایسه با سلول های گیاهی فتوسنتز کننده زودتر موادغذایی محیط خود را به مصرف می‌رسانند. همچنین نتایج نشان می‌دهند که در دزهای بالای لیزر کم‌توان کالوس‌ها توانایی رشد و تقسیم خود را در مقایسه با دزهای پایین‌تر از دست می‌دهند و به رنگ تیره و سیاه گرایش می‌یابند. این نتایج با نتایج آزمایش بر روی گیاه چای کوهی تحت تیمار با الیسیتور متیل جاسمونات و سالیسیک اسید مطابقت دارد (Mehrabani et al. 2012). نتایج بررسی فیتوشیمیایی نشان داد مجموع سه متابولیت ثانویه اندازه‌گیری شده (آلوئنین، باربالوئنین و ایزوباربالوئین)، با افزایش سطح کالوس‌ها کاهش می‌یابد. به معنی دیگر بین تقسیمات پیاپی کالوس‌ها و سنتز و ذخیره متابولیت‌های ثانویه رابطه معکوسی وجود دارد. تاکنون مورد مشابهی در خصوص استفاده از لیزر کم‌توان به عنوان الیسیتور جهت افزایش متابولیت‌های ثانویه گزارش نشده‌است اما گزارش‌هایی مبنی بر استفاده از نور به‌عنوان الیسیتور طبیعی با اثرات مثبت وجود دارد (Namdeo 2007). نتایج پژوهش‌هایی که در آن‌ها اثر نور دریافتی به‌عنوان الیسیتور مورد بررسی قرار گرفته‌است، نشان داده که با افزایش میزان نور، تولید متابولیت‌های ثانویه افزایش می‌یابد. مثلاً نتایج آزمایش روی ریزنمونه‌های گل محمدی تحت تیمار با شدت نوری ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ لوکس نشان داد که میزان تولید آنتوسیانین کالوس‌ها نسبت به شرایط تاریکی به شدت افزایش می‌یابد (Abdirad et al. 2012). هم چنین گزارش شده که آنزیم مهم مسیر سنتز فلاونوئیدها (چالکون سینتاز) به‌وسیله نور پس از یک فاز تاخیری چند ساعته فعال می‌شود؛ یعنی برای فعال‌سازی آن به چند ساعت نور نیاز است (Irani and Grotewold 2005).

[1] Mitogen

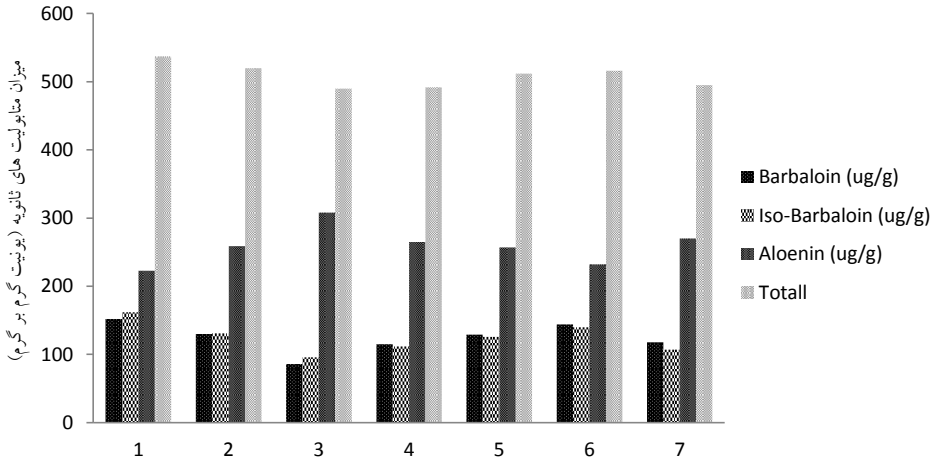
[2] Indol Acetic Acid

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.2.1.6]



شکل ۳- نمودار تغییرات سطح کالوس‌های آلوئه ورا تحت تیمار با لیزر کم‌توان هلیوم نئون به‌مدت دو ماه پس از تیمار
تیمار ۱) شاهد؛ تیمار ۲) یک میلی‌وات به‌مدت یک دقیقه؛ تیمار ۳) یک میلی‌وات به‌مدت سه دقیقه؛ تیمار ٤) یک میلی‌وات به‌مدت پنج دقیقه؛ تیمار ٥) یک میلی‌وات به مدت ده دقیقه؛ تیمار ٦) دو میلی‌وات به‌مدت سه دقیقه؛ تیمار ۷) دو میلی‌وات به‌مدت پنج دقیقه؛ تیمار ۸) دو میلی‌وات به‌مدت ده دقیقه



شکل ٤- نمودار تغییرات متابولیت‌های ثانویه کالوس‌های آلوئه‌ورا تحت تیمار با لیزر کم‌توان هلیوم نئون.
تیمار ۱) شاهد اول؛ تیمار ۲) توان یک میلی‌وات به‌مدت سه دقیقه ٦/٥ ماه پس از اعمال تیمار؛ تیمار ۳) توان دو میلی‌وات به‌مدت سه دقیقه ٦/٥ ماه پس از اعمال تیمار؛ تیمار ٤) شاهد دوم؛ تیمار ٥) توان یک میلی‌وات به‌مدت سه دقیقه چهار روز پس از اعمال تیمار؛ تیمار ٦) توان دو میلی‌وات به‌مدت سه دقیقه چهار روز پس از اعمال تیمار؛ تیمار ۷) توان دو میلی‌وات به‌مدت ده دقیقه پس از اعمال تیمار.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.2.1.6]

در نتایج حاصل از بررسی اثر لیزر بر پراکسیداسیون لیپیدها در کشت درون شیشه‌ای گندم گزارش شده که واکنش القا شده در سلول‌ها پس از تیمار با لیزر به دو صورت می‌باشد. یکی عکس-العمل سریع سلول در مواجهه با لیزر بوده که در نتیجه آن فعالیت‌های پراکسیداسیون لیپیدها افزایش می‌یابد و دومی (که پایاتر می‌باشد)، فعالیت‌های ثانویه‌ای است که میزان متابولیت‌های لازم جهت سازگاری سلول را افزایش داده و در نهایت سبب پروسه‌های مورفوژنتیکی می‌شود (Salyaev et al. 2003). این موضوع در تیمار مستقیم میتوکندری‌های جدا شده از کالوس‌های ذرت زراعی نیز تایید شده‌است. از آن‌جا که میتوکندری‌های سلول مادری در تقسیم میتوز به صورت نابرابر به سلول‌های دختری ارث می‌رسند، این پروسه در سلول‌های دختری نیز ادامه می‌یابد (Salyaev et al. 2007). در آزمایش دیگری مشاهده شد در اثر تیمار کالوس‌های گندم با لیزر هلیوم نئون مورد استفاده در این پژوهش، میزان اسیدهای آمینه‌ای که در شرایط تنش افزایش می-یابند[1] (مانند پرولین، آلانین و فنیل آلانین) در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری داشته است (Dudareva et al. 2012). بنابراین اثر لیزر مشابه اثر تنش‌های محیطی شناخته شده و از آنجاکه این اسیدهای آمینه پیش‌ساز بسیاری از متابولیت‌های ثانویه هستند، افزایش متابولیت‌های ثانویه را در این پژوهش تایید می‌کند. از طرف دیگر لیزر کم‌توان از طریق فعال کردن سیتوکروم اکسیداز، سنتز ATP و در نتیجه cAMP را افزایش می‌دهد (Pradedova et al. 2006). میزان cAMP در تنش‌ها به‌عنوان پیک ثانویه افزایش می‌یابد و از این طریق نیز میزان سنتز متابولیت‌های ثانویه را کنترل می‌کند. البته قابل ذکر است که گرچه میزان متابولیت ثانویه با رشد کالوس در مقیاس کاهش می‌یابد اما با توجه به افزایش چندبرابری سطح کالوس این موضوع قابل اغماض بوده و با دستیابی به کالوس‌های بزرگ‌تر و با پتانسیل رشد بیش‌تر، می‌توان متابولیت‌های بیش‌تری حاصل نمود. به‌طور کلی لیزر کم‌توان استفاده شده در این پژوهش به‌طور معنی‌داری سبب افزایش سطح کالوس شد بنابراین می‌تواند به‌عنوان الیسیتور کم هزینه و بدون عوارض جانبی در کم‌ترین زمان سبب افزایش میزان متابولیت‌های ثانویه (نسبت متابولیت ثانویه به میزان کل بیوماس تولیدی) شود. نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که لیزر کم توان می-تواند به‌عنوان یک الیسیتور مناسب به منظور بهبود تولید متابولیت‌های ثانویه در پژوهش‌های آتی مورد استفاده قرار گیرد.

[1] Stress amino acids

منابع

Abdirad S, Rezanejad F, Kalantari KF (2011) The Effect of Different Light Intensities on Callogenesis and Calli Pigments Content of Shoot and Floral Explants of *Rosa damascena* Mill and *Rosa miniature*. Agriculture Biotechnology 3: 43-65.

Abu-Elsaoud Abdelghafar M, Tuleukhanov Sultan T (2013) Can He-Ne laser induce changes in oxidative stress and antioxidant activities of wheat cultivars from Kazakhstan and Egypt. Science international 10:39-50.

AlGhamdi KM, Kumar A, Moussa NA (2011) Low-level laser therapy: a useful technique for enhancing the proliferation of various cultured cells. Lasers Medical Science 6:18-23.

Bögre L, Meskiene I (2000) Stress the role of MAP kinases in mitogenic stimulation. Plant Molecular Biology 43:705-718.

Bradbury EM, Inglis RJ, Matthews HR (1974) Control of cell division by very lysine rich histone (F1) phosphorylation. Nature 247-257.

Chao WC, Kulkarni K, Zhang Z, Kong EH, Barford D (2012) Structure of the mitotic checkpoint complex. Nature 484:208-213.

Chauton MS, Winge P, Brembu T, Vadstein O, Bones AM (2013) Gene Regulation of Carbon Fixation, Storage, and Utilization in the Diatom Phaeodactylumtricornutum Acclimated to Light/Dark Cycles1. Plant Physiology 161:1034-1048.

Chen YP, Yue M, Wang XL (2005b) Influence of He-Ne laser irradiation on seeds thermodynamic parameters and seedlings growth of *Isatis indigotica*. Plant Science 168:601-606.

Courvalin JC, Segil N, Blobel G, Worman HJ (1992) The lamin B receptor of the inner nuclear membrane undergoes mitosis-specific phosphorylation and is a substrate for p34cdc2-type protein kinase. Journal of Biology and Chemistry 267:19035-8.

DeSouza CP, Osmani SA (2007) Mitosis, not just open or closed. Eukaryotic Cell 6:1521-7.

Debra J, wolgemuth DJ, KunsooShuang WU, Stuart E. avnik (1995) Genetic Control of Mitosis, Meiosis and

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.2.1.6]

Cellular Differentiation during Mammalian Spermatogenesis, Reprod. Fertility Developing 7: 669-83.
Drozd D, Szajsner H (1999) the effect of laser radiation on spring wheat genotypes. International Agrophysics 13:197-202.
Doria SPM, Imad AA, Sreeraj G, Shanmugam K, Bommuraj V, Sofiant K, Conjeeveram G, Srinivasan N (2010) Synthesis and antibacterial activity of aloin. European Journal of Scientific Research 43:297-306.
Dudareva LV, Shmakov VN, Sobenin AM, Rudikovskaya EG (2012) Low- Intensity Laser Radiation Changes Amino Acid Composition of Wheat Callus Tissues. Doklady Biochemistry and Biophysics 446:260-262.
Farivar Sh, Malekshahabi T, Shiari R (2014) Biological Effects of Low Level Laser Therapy. Journal of Lasers Mededical Science 5:58-62.
Fedoseyeva GS, Karu TI, Lyapunova TS, Pomoshnikova NA, Meissel MN (1988) The activation of yeast metabolism with He-Ne laser. Lasers life Science 2:147-154.
Freedman BS, Heald R (2010) Functional Comparison of Linker Histones in Xenopus Reveals Isoform-Specific Regulation by Cdk1 and RanGTP. Biology 20:1048-52.
Gaurisankar SA, Tanya D (2008) Anti-cancer effects of curcumin: cycle of life and death Review. Cell Division 3:14.
Heald R, McLoughlin M, McKeon F (1993) Human wee1 maintains mitotic timing by protecting the nucleus from cytoplasmically activated Cdc2 kinase. Cell 74:463-74.
Irani N, Grotewold E (2005) Light-induced morphological alteration in anthocyanin-accumulating vacuoles of maize cells. Plant Biology 5:7-9.
Karu T (1989) Laser biostimulation: a photobiological phenomenon. Photochemical Photobiology 3: 638-40.
Karu T, Pyatibrat L, Kalendo G (1995) irradiation with He-Ne laser ATP level in cells cultivated in vitro. Journal of Photochemistry and Photobiology 27:219-223.
Kawano Y, Utsunomiya-Kai Y, Kai K, Miyakawa I, Ohshiro T, Narahara H (2012) The production of VEGF involving MAP kinase activation by low level laser therapy in human granulosa cells. Laser Therapy 21: 269-74.
Kobrzyñski M, Róanowski B (2000) Influence of heavy metal (cadmium and lead), He-Ne and AR laser light on mitotic activity of meristem cells of rye roots (*Secale cerale L.*). 14th Congress Polish Genetic Society 6:279-280.
Lodish H (2000) Molecular cell biology.4th edition. Chapter 13: Regulation of the Eukaryotic cell cycle. England, 482-512.
Lohka MJ, Hayes MK, Maller J (1988) Purification of maturation-promoting factor, an intrinsic regulator of early mitotic events. Proceedings of the National Academy of Sciences 85:3009-13.
Lulinski BRD, cathy kapica RD (2007) some notes on aloe vera. Retrieved 3:11-12.
Manteifel VM, Andreichuk TN, Karu TT (1991) the effect of irradiation by He-Ne laser and phytohemagglutinin on lymphocyte mitochondria. Molecular Biology 25:273-280.
Mehrabani B, Nazeri S, Piri K (2012) Evaluation of total produced phenol in Chaei Koohi (*Stachyslavan dulifolia Vahi*) callus culture and possibility of its enhancement using Elicitors. Agronomy Biotechnology 2: 77-88.
Namdeo AG (2007) Plant Cell Elicitation for Production of Secondary Metabolites. Pharmacognosy Reviews 1:17-19.
Pradedova EV, Ishcheeva OD, Ozolina NV, Salyaev RK (2006) Effect of cAMP and Jasmonic and Salicylic Acids on Tonoplast Proton Pumps. Doklady Akademii Nauk 3:411-413.
Polyana KM, Berenice Q, Yamanaka O, José RB Farias, Magda A, Binneck E, Fuganti R, Renata S, Nepomuceno AL (2008) Differential gene expression and mitotic cell analysis of the drought tolerant soybean (*Glycine max L.* Merrill Fabales, Fabaceae) cultivar MG/BR46 (Conquista) under two water deficit induction systems. Genetics and Molecular Biology 31:512-521.
Rybiñski W, Garczyñski S (2004) Influence of laser light on leaf area and parameters of photosynthetic activity in DH lines of spring barley (*Hordeum vulgare* L.). International Agrophysics 18:261-267.
Salyaev RK, Dudareva LV, Lankevich SV, Ekimova EG, Sumtsova VM (2003) Effect of Low-Intensity Laser Radiation on the Lipid Peroxidation in Wheat Callus Culture. Russian Journal of Plant Physiology 4:498-500.
Salyaev RK, Dudareva LV, Lankevich SV, Sumtsova VM (2001b) The effect of low-intensity coherent radiation on morphogenetic processes in wheat callus culture. Doklay Biological Science 376:113-114.
Salyaev RK, Dudareva LV, Lankevich SV, Makarenko SP, Sumtsova VM, Rudikovskaya EG (2007) Effect of low-intensity laser irradiation on the chemical composition and structure of lipids wheat tissue culture. Doklay Biology Science 412:87-88.
Salyaev RK, Dudareva LV, Lankevich SV, Sumtsova VM (2001a) Effect of low-intensity coherent radiation on callusogenesis in wild grasses. Doklay Biochemistry Biophysics 6:279-280.
Silva Jr, Silva RL, Melo GB, Melo VA, Lima SO, Antonioll AR, Bagnato VS (2003) Proliferative effect of medicinal plants and laser on liver regeneration. A considerable experimental model: from an experimental model to clinical applications. Acta Cirúrgica Brasileira 18:18-21.
Tavakoli M, Peighambari SA, Pazokian H, Maleki M, Abolhasani SH, Tabatabaii A (2014) Microscopic changes in callus of *Aloe vera (Aloe vare L syn: A.barbadansis Miller*) treated with laser. Plant breeding congress. Iran, Tehran university 490-493. (In Farsi)
Tavakoli M, Maleki M, Peighambari SA, Omidi M (2014) Effect of growth regulators on callus induction in *Aloe vera L*. the 1st International Congress of Genetic, Tehran, Shahid Beheshti university 1102-1105.
Tessmar-Raible K, Raible F, Arboleda E (2001) Another place, another timer: marine species and the rhythms of life. Biological Essays 33:165-172.
Törnroth-Horsefield S, Neutze R (2008). Opening and closing the metabolite gate. Proceedings of the National Academy of Sciences 105:19565–19566.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.2.1.6]

combinations on callus induction somatic embryogenesis and plantlet production of *Aloe vera* L. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 20:181-191. (In Farsi).

Vasilevski G (1987) Results of the Laser Application in the Primary Production and Food Industry. XIII Yugoslavian Symposium of Agricultural Technique 216-228.

Zarinpanjeh N, OladzadAbbasabadi A, Omidi M (2012) Effects of plant growth regulators and vitamin

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.2.1.6]