دارای امتیاز بازآموزی

# ریشه‌های مویین منبعی برای تولید ترکیبات با ارزش دارویی

**طاهره حسنلو[1*]، شمسعلی رضازاده[2]، حسن رهنما[3]**

۱- استادیار پژوهشی، گروه فیزیولوژی و پروتئومیکس، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی، کرج
۲- استادیار، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، تهران
۳- استادیار پژوهشی، گروه کشت بافت و انتقال ژن، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی، کرج
*آدرس مکاتبه: کرج، ابتدای جاده ماهدشت، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی، تلفن: ۲۷۰۲۸۹۳ (۰۲۶۱)
نمابر: ۲۷۰٤٥۳۹ (۰۲٦۱)
پست الکترونیک: thasanloo@abrii.ac.ir

**اهداف آموزشی**

- **گروه هدف:** داروسازان و پزشکان عمومی
- **آشنایی با:**

۱- کاربردهای ریشه‌های مویین در تولید متابولیت ثانویه
۲- پژوهش‌های انجام شده درباره ریشه‌های مویین
۳- شرایط و باکتری‌های تولید کننده ریشه‌های مویین

**تاریخ دریافت:** ۸۷/۲/۹ **تاریخ تصویب:** ۸۷/۱۱/۱۵

**چکیده**

**انسان با شناخت گیاهان دارویی مختلف به شفابخشی و اثرات درمانی این گیاهان پی برد و به منظور پیشگیری و درمان بیماری‌ها از آن‌ها استفاده کرد. با پیشرفت شیمی تجزیه امکان شناخت مواد موثره گیاهی برای بشر محقق شد و در تهیه داروهای گیاهی استفاده شد. برای بیشتر جمعیت دنیا گیاهان دارویی از مهم‌ترین منابع تهیه داروها جهت تامین امنیت زندگی می‌باشند. امروزه به دلیل مشکل بودن تولید یا عدم صرفه اقتصادی، بیشتر این متابولیت‌ها از گیاهان وحشی یا کشت شده استخراج می‌شوند. بسته به گونه گیاهی روش‌های زراعی سنتی اغلب نیاز به ماه‌ها و حتی سال‌ها زمان جهت تولید محصول دارند. به علاوه مقدار متابولیت تولید شده تحت تاثیر عوامل متعددی از جمله عوامل بیماری‌زا یا تغییرات آب و هوایی می‌باشد. کشت بافت گیاهان دارویی به عنوان یک راه حل جهت تولید متابولیت‌های ثانویه با ارزش معرفی شده است. اخیراً کشت ریشه‌های مویین به عنوان یک منبع پایدار برای تولید متابولیت‌ها پیشنهاد شده است. ریشه‌های مویین که با استفاده از اگروباکتریوم رایزوژنز (یک نوع باکتری گرم منفی خاکزی) تولید می‌شوند دارای رشد سریع بوده واغلب میزان رشد آن‌ها سریع‌تر از کشت سلول‌های گیاهی است. بزرگترین مزیت کشت ریشه‌های مویین این است که اغلب در مقایسه با گیاهان مربوط ، توان بالایی در تولید متابولیت‌های ثانویه دارند.**

**گل‌واژگان:** متابولیت‌های ثانویه، کشت بافت، ریشه‌های مویین، اگروباکتریوم رایزوژنز



[ Downloaded from jmp.ir on 2025-08-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.1.2 ]

## مقدمه

هزاران سال است که گیاهان از مهم‌ترین منابع درمانی محسوب می‌شوند. حتی امروزه، سازمان بهداشت جهانی اعلام نموده که بیش از ۸۰ درصد از مردم دنیا هنوز در طب سنتی از گیاهان دارویی برای درمان استفاده می‌نمایند. گیاهان هم‌چنین منبع بسیاری از درمان‌های جدید نیز می‌باشند. تقریباً یک چهارم داروهای تولید شده حاوی عصاره‌های گیاهی یا ترکیباتی هستند که از مواد گیاهی به دست آمده‌اند یا بر اساس ترکیبات گیاهی مدل‌سازی شده‌اند [۱،۲].

تولید متابولیت‌های ثانویه در شیشه از طریق کشت بافت‌های گیاهی امکان‌پذیر است. استقرار موفق لاین‌های سلولی که منتهی به تولید درصد بالایی از ترکیبات ثانویه در کشت‌های سوسپانسیون سلولی شده به وسیله تعداد زیادی از محققین گزارش شده است [۱]. مواردی وجود دارد که میزان متابولیت‌های موجود در سلول‌های کشت بافت شده خیلی بیشتر از میزان آن در گیاه کامل است و یا حتی سلول‌های کشت بافت شده، متابولیت‌هایی تولید می‌کنند که در گیاه اولیه تولید نمی‌شود. با توجه به آن‌که در طبیعت سرعت تولید متابولیت‌های ثانویه آهسته بوده و مدت زمان طولانی برای تولید لازم است، بنابراین میزان تولید اقتصادی نبوده و ضروری به نظر می‌رسد که برای تولید سریع و انبوه متابولیت‌های ثانویه و مواد دارویی، از فنون کشت بافت گیاهی به طور بهینه استفاده شود. کشت بافت گیاهی یکی از مهم‌ترین تکنیک‌ها در راستای تولید صنعتی متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی است، زیرا پتانسیل این مواد در شرایط طبیعی بسیار محدود می‌باشد. برخی مزیت‌های تولید متابولیت‌های ثانویه از طریق کشت بافت شامل کنترل بهینه شرایط کشت، افزودن پیش‌سازهای موردنیاز برای افزایش بازده و تولید متابولیت‌های ثانویه خاص می‌باشد [۳۶].

اخیراً هدف صنعت آن است که تکنیک‌های کشت درون شیشه‌ای گیاهی را آن‌چنان توسعه دهد که تولید متابولیت‌های ثانویه نسبت به استحصال آن‌ها از گیاه کامل یا سنتز آزمایشگاهی ارزان‌تر شود [۳۶]. تولید سولاسودین از کالوس‌های *Solahum eleagniholium* و آلکالوئید پیرولیزیدین از کشت‌های ریشه گونه *Senecio* مثال‌هایی از این نوع هستند [۳،٤]. بیوراکتورها نیز شرایط مناسبی را برای تولید محصولات گیاهی در ابعاد بزرگ در تولید صنعتی ایجاد می‌کنند. اخیراً بررسی‌های زیادی بر روی بهینه‌سازی این سیستم‌ها جهت تولید و استخراج ترکیبات گیاهی با ارزش از جمله ژنیسنوئیدها و شیکونین انجام شده است [۵،٦،۷]. بزرگترین چالش موجود در این زمینه این است که متابولیت‌های مزبور در مرحله خاصی تولید می‌شوند و بعضی از ترکیبات هم‌چنانچه سلول تمایز نیابد، سنتز نمی‌شوند. بنابراین، در برخی موارد کشت سلول‌های گیاهی تمایز نیافته، توان بیوسنتزی فراورده‌های ثانویه را از دست می‌دهند. با توجه به نتایج به دست آمده از کشت بافت‌های تمایز یافته بیشتر پژوهش‌ها بر کشت ریشه‌های موئین تاکید دارند [۱،۷].

### ریشه‌های مویین

ریشه مویین نوعی بیماری گیاهی است که توسط یک باکتری گرم منفی خاکزی به نام اگروباکتریوم رایزوژنز ایجاد می‌شود. زمانی‌که باکتری وارد گیاه می‌شود، تعدادی از ژن‌ها از پلاسمید باکتری، به گیاه منتقل شده و وارد ژنوم هسته‌ای گیاه میزبان می‌شود. حاصل این انتقال تولید ریشه موئین در نزدیکی جایگاه ورود باکتری است.

سویه‌های بیماری‌زای *A. tumefacens* و *A. rhizogenus* حاوی یک پلاسمید بزرگ هستند (بیش از ۲۰۰ Kb) که نقش کلیدی در القا تومور دارند و به این دلیل آن‌را Ti پلاسمید یا (Ri پلاسمید در مورد *A. Rhizogenus*) می‌نامند.

بخشی از پلاسمید Ti یا Ri به نام T- DNA (Transfer DNA) به هسته سلول گیاه میزبان منتقل شده و وارد کروموزوم گیاه می‌شود. اگروباکتریوم تومه فاسینس، T-DNA را به هسته سلول آلوده منتقل می‌کند و بیماری گال تاجی ایجاد می‌شود. T-DNA حاوی ۲ تیپ از ژن‌ها می‌باشد. ژن‌های انکوژنیک که کدکننده آنزیم‌های شرکت‌کننده در سنتز اکسین و سیتوکینین هستند و مسؤول تشکیل تومور هستند و ژن‌هایی که کدکننده برای سنتز اُپین‌ها هستند [۸].



[ Downloaded from jmp.ir on 2025-08-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.1.2 ]

آلودگی گیاه با باکتری اگروباکتریوم رایزوژنز باعث تشکیل ریشه‌های زیاد در ناحیه آلوده می‌گردد که ریشه‌های موئین نامیده می‌شوند. این آلودگی با انتقال یک قطعه DNA از T-DNA که به عنوان پلاسمید القاکننده ریشه (Ri پلاسید) به DNA کروموزومی سلول گیاه است ایجاد می‌شود. حاصل این انتقال تولید ریشه موئین در نزدیکی جایگاه ورود باکتری است. به علاوه اپین‌ها به عنوان غذای مخصوص برای باکتری تولید می‌شوند. ریشه‌های موئین به سرعت رشد می‌کنند و در محیط بدون هورمون‌های گیاهی به خوبی تکثیر شده و تولید انشعابات فرعی می‌نمایند (شکل شماره ۱ و ۲). بر اساس نوع اپین تولید شده، سویه‌های *A. rhizogenus* در ۵ گروه اکتوپین- اگروپین- نوپالین- مانوپین و کوکومپین تقسیم‌بندی می‌شوند [۹].

تعدادی از گونه‌های گیاهی از جمله بسیاری از گیاهان دارویی به وسیله اگروباکتریوم رایزوژنز تراریخته شده و نتایج منتشر شده حاکی از توان تولید متابولیت‌های با ارزش دارویی توسط این ریشه‌ها می‌باشد. گیری و همکاران[1] (۲۰۰۱) ریشه‌های موئین را در *Aconitum heterophylum* با استفاده از اگروباکترویوم رایزوژنز ایجاد نمودند [۱۰]. بونهام[2] و همکاران (۲۰۰۰) گزارش نمودند که آلکالوئید تروپاتی به وسیله ریشه‌های موئین *Atropa belladonna* بعد از ترانس فورم نمودن با اگروباکترویوم رایزوژنز تولید شد [۱۱]. آرگولو[3] و همکاران (۲۰۰۰) تنظیم تولید سولاسودین را به وسیله ریشه‌های تراریخته با اگروباکترویوم رایزوژنز در *Solanum ariculare* نشان دادند [۱۲] هم‌چنین سورت[4] و همکاران (۲۰۰۳) ریشه‌های تراریخته را از نظر درصد تولید سزکوئی ترپن آرتمیزین نسبت به گیاه کامل بهتر دانستند [۱۳].

تولید ریشه‌های مویین در گیاه خارمریم[5] با استفاده از اگروباکتریوم رایزوژنز به عنوان منبعی برای تولید ترکیب دارویی سیلی‌مارین مورد مطالعه قرار گرفته است (شکل شماره ۳). نتایج حاصل بیانگر وجود پنج ترکیب تاکسی فولین، سیلی‌کریستین، سیلی‌دیانین، ایزوسیلی‌بین و سیلی‌بینین به ترتیب ۰/۰۰٤، ۰/۰٦٤، ۰/۱۰۳، ۰/۰٤٤ و ۰/۱٤ میلی‌گرم در گرم ماده تر بود. عمده‌ترین فلاولیگنان موجود در این ریشه‌ها سیلی‌بین بود. تولید موفق این فلاولیگنان می‌تواند سیستم مفیدی برای تولید یا مطالعه بیوسنتز سیلی‌مارین باشد [۱٤،۱۵،۱٦].

مطالعات به منظور به کارگیری انتقال ژن گیاهی و تغییرات ژنی با استفاده از *A. rhizogenus* ادامه دارد و جهت تولید متابولیت‌های ثانویه (که به‌طور طبیعی در بافت‌های گیاه مادری سنتز می‌شوند) استفاده می‌شود. ریشه‌های موئین تراریخته مکانیسم‌های بیوشیمیایی و فعال در ریشه‌های طبیعی را تقلید می‌نمایند و حتی تولید بالاتری را نیز نشان می‌دهند.

مقاله حاضر خلاصه‌ای از یافته‌ها در رابطه با به کارگیری کشت ریشه‌های مویین جهت تولید متابولیت‌های ثانویه را ارایه می‌نماید.

**ایجاد و استقرار ریشه موئین**

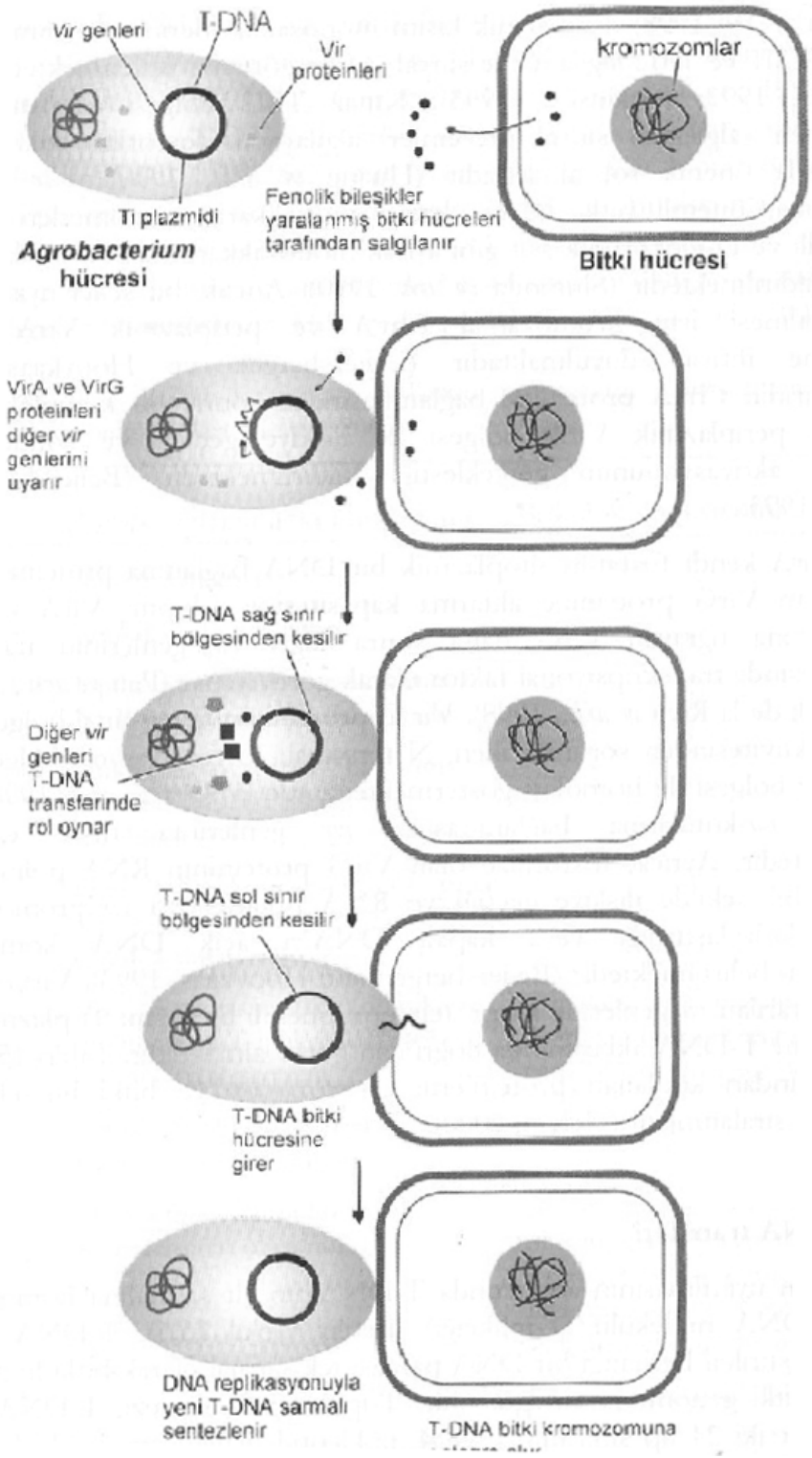
تولید ریشه‌های مویین مطابق مراحل زیر انجام می‌شود:

- تهیه و کشت یک سویه از باکتری *A. rhizogenus*
- تهیه نمونه گیاهی در شرایط استریل (این نمونه‌ها می‌تواند شامل هیپوکوتیل، برگ، ساقه، دمبرگ، لپه، ریشه یا غده و ... باشد).
- ایجاد زخم در نمونه و آلوده‌سازی محل زخم با باکتری *A. rhizogenous*
- تعیین نوع مناسب نمونه گیاهی جهت ایجاد ریشه موئین بر اساس گونه گیاهی و سن مواد متفاوت است.
- قراردادن مواد گیاهی آلوده شده در پتری دیش‌های استریل حاوی محیط کشت مناسب.
- نگهداری نمونه‌ها در اتاق رشد تا مشاهده ازدیاد ریشه‌ها در محل زخم.
- انتقال نمونه‌ها به محیط حاوی آنتی‌بیوتیک از قبیل سفوتاکسیم سدیم، کاربنسیلین دی سدیم و نکومایسین، آمپی‌سیلین سدیم، کلافورن، استرپتومایسین سولفات یا تتراسیکلین در غلظت‌های ۱۰۰ تا ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر جهت حذف باکتری.

[1] Giri
[2] Bonhomme
[3] Argolo
[4] Souret
[5] *Silybum marianum*



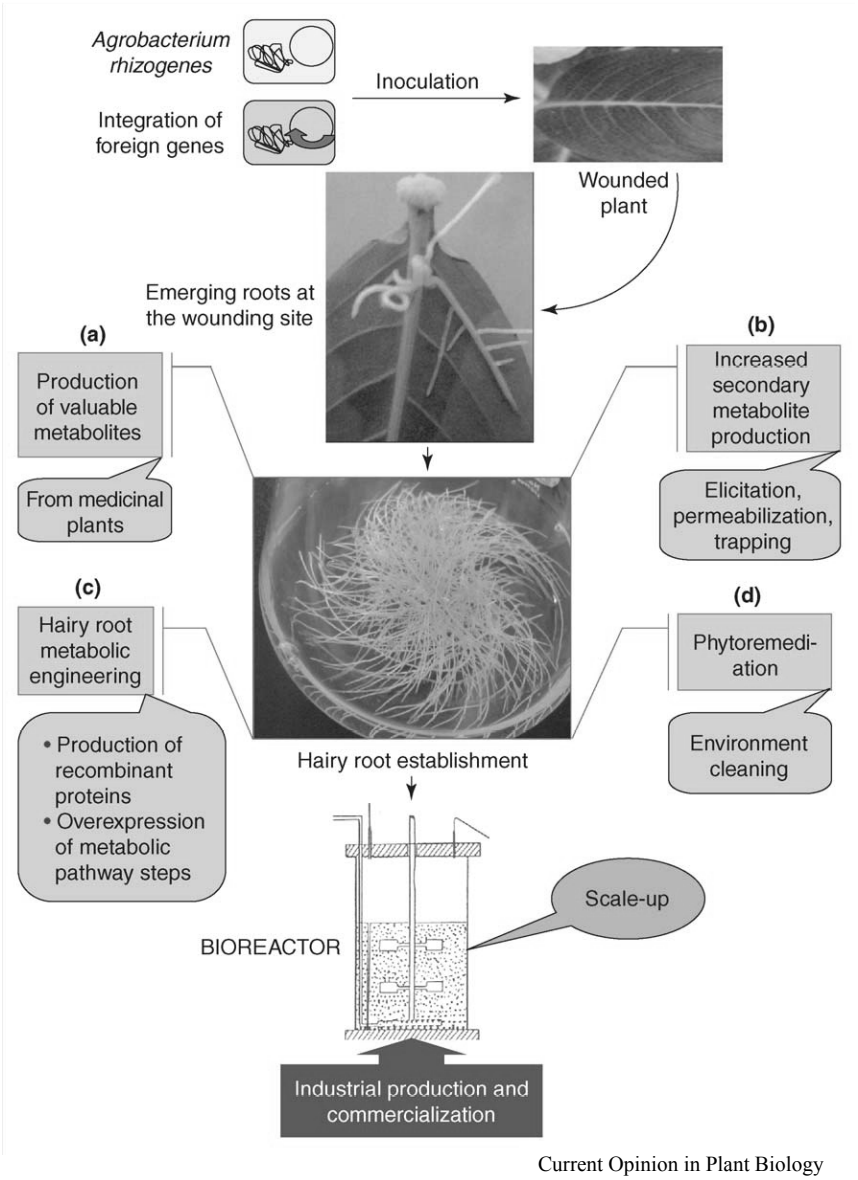
[ Downloaded from jmp.ir on 2025-08-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.1.2 ]




**شکل شماره ۱- مراحل انتقال T-DNA از اگروباکتریوم به سلول گیاهی**

[ Downloaded from jmp.ir on 2025-08-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.1.2 ]




Current Opinion in Plant Biology

**شکل شماره ۲- تولید ریشه‌های مویین و کاربردهای آن**

**شکل شماره ۳- القا و کشت ریشه‌های مویین گیاه خارمریم *Silybum marianum***

[ Downloaded from jmp.ir on 2025-08-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.1.2 ]

– انتقال توده ریشه به محیط عاری از هورمون‌های گیاهی (حاوی ۳۰ گرم در لیتر سوکرز) و بدون آنتی‌بیوتیک.
– نگهداری نمونه‌ها روی شیکر انکوباتور.
– بهینه‌سازی محیط به منظور افزایش سرعت رشد ریشه‌های موئین و تولید متابولیت‌های ثانویه [۱۵،۱۶].

**روش‌های تایید انتقال ژن توسط باکتری**

ژن *glucuronidase* -β (Gus) که معمولاً به ریشه‌های موئین منتقل می‌شود به عنوان یک ژن گزارشگر شناخته شده است و به راحتی به وسیله تیمارهای بافت‌شناسی بررسی می‌شود. به این ترتیب سیستم گزارشگر Gus به عنوان یک سیستم بررسی و تائید انتقال ژن توسط باکتری استفاده می‌شود. ممکن است از NPT-11 (نئومایسین فسفوترانسفراز ۱۱) کدکننده آنزیم مقاومت به کانامایسین استفاده شود. گاهی اوقات هر دو Gus و NPT11 به ریشه‌های موئین منتقل می‌شوند. اخیراً ژن پروتئین فلورسانس سبز (GFP) نیز به عنوان یک ژن گزارشگر منتقل شده است. ریشه‌های موئین با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن rolB با روش PCR نیز قابل شناسایی و تایید هستند [۷،۱۵،۱۶].

**انتخاب لاین‌های ریشه موئین**

بسته به جایگاه ورود T-DNA به ژنوم گیاه میزبان، توان ریشه‌های موئین در تولید متابولیت ثانویه متفاوت می‌باشد. مشخص شده که ریشه‌های مویین از نظر ژنتیکی پایدار بوده و واکشت آن‌ها آسان می‌باشد. با این وجود، ریشه‌های مویین هم دارای هتروژنیتی می‌باشند و به نظر می‌رسد که به منظور دستیابی به لاین‌هایی از ریشه‌های مویین که دارای تولید بالایی باشند لازم است که عمل انتخاب چند بار انجام شود [۷].

**بهینه‌سازی شرایط کشت ریشه‌های موئین**

تولید متابولیت‌های ثانویه با استفاده از تکنولوژی کشت بافت گیاهی هنوز هم دچار محدودیت‌های بیولوژیکی و بیوتکنولوژیکی است. یکی از این موارد درصد پایین متابولیت‌های تولید شده در این تکنیک می‌باشد.

از آنجا که نقش عمده متابولیت‌های ثانویه گیاهی حفاظت از گیاه در برابر حمله حشرات، عوامل بیماری‌زا و یا در مقابل سایر تنش‌های زنده و یا غیرزنده می‌باشد، استراتژی‌های متعددی برای افزایش تولید متابولیت‌ها در کشت ریشه‌های مویین اتخاذ شده است. این موارد شامل استفاده از عوامل محرک متفاوت از جمله ترکیبات سیگنالی و تنش‌های غیرزنده می‌باشد. مطالعاتی که اخیراً به منظور افزایش تولید این ترکیبات انجام می‌شود [۷] عبارتند از، دستکاری کشت‌های گیاهی برای افزایش تولید ترکیبات موردنظر از طریق تغییرات و تحریک مسیر بیوسنتزی با به کارگیری عوامل محرک، مطالعه مسیر انتقال سیگنال با استراتژی‌های مؤثر و متفاوت که منجر به بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه شود، مطالعه فاکتورهای رونویسی و مکانیسم تنظیم آن شامل دستورزی ژنتیکی ژن‌های تنظیم‌کننده به منظور افزایش و تولید متابولیت‌های موردنظر، کلون نمودن ژن‌های بیوسنتز متابولیت‌ها و تغییر ژنتیکی ژن‌های کلیدی جهت مهندسی جریان متابولیکی به سمت ترکیبات هدف، مطالعه مسیرهای بیوشیمیایی که منجر به تولید ماده موردنظر می‌شوند و در نهایت مطالعه رونوشت‌ها یا ژن‌های متابولیسم ثانویه گیاهی جهت بررسی گیرنده‌هایی که در سطح غشاء پلاسمایی یا غشاءهای درونی وجود دارند.

نتایج لی[1] و همکاران (۲۰۰۵) نشان داد که بالاترین مقدار تولید رزمارینیک اسید (RA) در کشت‌های ریشه‌ای[2] (۹/٤ میلی‌گرم در هر ظرف و ۳/٤ برابر بیشتر از شاهد) در محیط‌های حاوی ۰/۱ میلی‌مول متیل جاسمونات (MJA) بود و پیشنهاد کردند که MJA یک محرک قوی برای تولید RA در کشت‌های ریشه‌ای *C. forskohlii* می‌باشد [۱۷]. نتایج چن[3] و همکاران (۲۰۰۰) نشان داد که تولید فیتوالکسین‌ها در کشت ریشه‌های مویین گیاه *Salvia militorrhiza* با اضافه شدن متیل ویولوژن به محیط کشت تحریک می‌شود [۱۸]. پیتا الولرز[4] و همکاران (۲۰۰۰) با بررسی اثرات الیسیتورهای زنده و غیرزنده در کشت ریشه‌های مویین گیاه *Burgmansia candida* نشان دادند که به کارگیری نیترات نقره، تولید

[1] Li
[2] *Coleus forskohlii*
[3] Chen
[4] Pitta–Alvarez



[ Downloaded from jmp.ir on 2025-08-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.1.2 ]

اسکوپول آمین را تا سه برابر افزایش می‌دهد [۱۹]. پارک[1] و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که کشت ریشه‌های مویین گیاهان *Opium popy* و *California poppy* مدل‌های مناسبی جهت بررسی مسیرهای بیوشیمیایی و مهندسی ژنتیک در رابطه با تولید متابولیت‌های ثانویه از این گیاهان هستند [۲۰]. کیتیپونگپاتانا[2] و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که متیل جاسمونات عامل مؤثری در افزایش تولید والپوتریت‌ها در کشت ریشه‌های مویین گیاه *Valeriana locusta* می‌باشد [۲۱]. کیم[3] و همکاران (۲۰۰۳) از روش بررسی پروتئوم به منظور شناسایی بهتر مسیر بیوسنتزی متابولیت‌ها در کشت ریشه‌های مویین گیاه جینسینگ استفاده نمودند [۲۲]. روت[4] و همکاران (۲۰۰۳) موفق به تولید آلکالوییدها در کشت ریشه‌های مویین گیاه آتروپا بلادونا شدند [۲۳]. ساویتا[5] و همکاران (۲۰۰۶) به بررسی تفاوت اثرات به کارگیری عوامل محرک مختلف در کشت ریشه‌های مویین در ارلن و بیوراکتور پرداختند [۲۶]. مطالعات کازوئو کویک[6] و همکاران (۲۰۰۵) منجر به تولید رزمارینیک اسید در کشت ریشه‌های مویین *Coleus forskohlii* شد [۲۴]. نتایج تحقیقات رودراپا[7] و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد که فعالیت پراکسیدازها در کشت ریشه‌های موئین *Beta vulgaris* با کاربرد الیسیتورها افزایش می‌یابد [۲۵]

## کاربرد ریشه‌های مویین

### آنالیز کارکردی ژن‌ها

کوماگایی[8] و همکاران (۲۰۰۳) لاین‌های تراریخته[9]، حاوی ژن GUS که تحت کنترل دو پیشبر دایمی و پیشبر القای گرهک قرار داشت را مورد بررسی قرار دادند. *L. japonicus* مجدداً با *A. rhizogenes* حاوی سازه ژنی برای بیان RNAs سنجاق سری[10] با توالی‌های مکمل برای ناحیه کدکننده GUS تراریخته شدند. نتایج حاصل نشان داد که فعالیت GUS در این لاین‌ها بیش از ۶۰ درصد کاهش یافته است [۲۷]. این امر مشخص می‌کند که خاموشی موقت RNA به وسیله تراریختی ریشه مویین ابزار قدرتمندی برای آنالیز کاهش فعالیت ژن‌های بیان شده در ریشه می‌باشد. در مورد دیگر، پیشبر القا شونده توسط گلوکوکورتیکوئید که کنترل بیان ژن GFP را بر عهده داشته به ریشه‌های مویین *C. roseus* منتقل شد. این پیشبر القایی، پاسخی به شدت کنترل شونده، برگشت‌پذیر و وابسته به مقدار گلوکوکورتیکوئید دگزامتازون را در ریشه‌های موئین از خود نشان داد. ژن GUS متصل به پیشبر الکل دهیدروژناز[1] به ریشه‌های مویین سویا منتقل شد. فعالیت و عملکرد پیشبر تحت شرایط مختلف از جمله سرما، زخم، بی‌هوازی و تیمارهای آبسزیک اسید مطالعه شد. یک ژن شیمری شامل پیشبر ژن گلیکوپروتئین غنی از هیدروکسی پرولین (HRGPnt3)- GUS در ریشه‌های مویین توتون بیان شد. نتایج حاصل بیانگر الگوهای بیانی مختلفی از این پیشبر بود. یک ژن آنتی‌سنس از دی هیدروفلاونول ردوکتاز (DFR) به ریشه موئین *Lotus corniculatus* منتقل شد و در دو ژنوتیپ به دست آمده بیوسنتز تانن را به طور موثری کاهش داد [۷].

### بیان پروتئین‌های خارجی

تولید پروتئین‌های صنعتی و درمانی به وسیله گیاهان یکی از زمینه‌های جذاب تجاری می‌باشد. سه ژن از *Ralstonia eutropha* (نوعی باکتری لازم برای سنتز پلی ۳- هیدروکسی بوتیرات (PHB)) وارد ریشه‌های موئین چغندر قند شد و ۲۰ کلون تراریخته ریشه موئین بیش از ۵۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک PHB با وزن مولکولی بالا تولید نمودند [۲۸] ژن لکتین نخود به ریشه‌های موئین شبدر سفید[2] منتقل شده و به خوبی عمل نمودند [۲۸]. شارپ[3] و دوران[4] (۲۰۰۱) گزارش کردند که IgG1 موش در ریشه‌های موئین توتون تولید شده و تجمع این آنتی‌بادی را با افزایش فشار اکسیژن محلول تا ۱۵۰ درصد اشباع هوا بهبود بخشیدند [۲۹]. گیاهان تراریخت شده با پروتئین ویروس، اغلب به آلودگی‌های

[1] Park
[2] Kittipongpatana
[3] Kim
[4] Rothe
[5] Savitha
[6] Koike
[7] Rudrappa
[8] Kumagai
[9] *Lotus japonicus*
[10] hp RNAs

[1] Adh
[2] *Trifolium repens*
[3] Sharp
[4] Doran



[ Downloaded from jmp.ir on 2025-08-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.1.2 ]

ویروسی مقاومت نشان می‌دهند. تورگروزا[1] و همکاران (۱۹۹۷) موفق شدند ریشه‌های موئینی در انگور تولید نمایند که با پروتئین پوششی نپوویروس موزائیک کرومی انگور تراریخته شده بودند. متاسفانه، باززایی گیاهان از ریشه‌ها حاصل نشد. با این وجود، گیاهان پیوند خورده با ریشه‌های تراریخته در گلخانه مستقر شدند [۳۰].

**تولید متابولیت‌های ثانویه**

به طور طبیعی، کشت ریشه نیاز به یک منبع فیتوهورمونی خارجی داشته و رشد کندی هم دارند که این امر منجر به سنتز بسیار کم متابولیت‌های ثانویه می‌شود.

سیستم ریشه موئین در شرایط کشت بدون هورمون بسیار پایدار بوده و تولید بالایی دارد [۷]. رشد سریع، زمان دو برابر شدن پایین، سهولت نگهداری و توانایی سنتز طیفی از ترکیبات شیمیایی در ریشه‌های موئین از جمله مزایایی است که آن‌ها را به منبعی مهم و دایمی برای تولید متابولیت‌های ثانویه ارزشمند تبدیل نموده است. ریشه‌های موئین هم‌چنین منبع ارزشمندی برای ترکیبات شیمیایی گیاهی با استفاده دارویی، آرایشی و افزودنی غذایی می‌باشند. این ریشه‌ها هم‌چنین می‌توانند بیش از یک متابولیت تولید نمایند و بنابراین ثابت شده که از نظر تولید تجاری اقتصادی هستند. بسیاری از گیاهان دارویی به طور موفقیت‌آمیزی با استفاده از *A. rhizogenes* تراریخته شده و ریشه‌های موئین القا شده تولید نسبتاً بالایی از متابولیت ثانویه (که دارای ارزش دارویی می‌باشد) را نشان داده‌اند. سوون[2] (۲۰۰۲) مهم‌ترین آلکالوییدهای تولید شده به وسیله ریشه‌های مویین توسط *Atropa belladonna*، *Cathranthus tricophyllus* و *Datura candida* را گزارش نموده است [۳۱].

با این وجود، گاهی کارایی تولید متابولیت‌های ثانویه چندان مطلوب نیست. مهندسی متابولیت دیدگاه‌های جدیدی برای بهبود تولید متابولیت‌های ثانویه با تشدید بیان ژن‌های منفرد فراهم نموده است. این راهکار می‌تواند منجر به افزایش برخی از آنزیم‌های دخیل در متابولیسم و در نهایت منجر به تجمع فرآورده هدف شود.

به طور معمول، دو نوع روش تراریختی مبتنی بر نوع ژن‌های منتقل شونده وجود دارد. در یکی از این روش‌ها، از ژن‌های خارجی رمزکننده فعالیتی که به طور طبیعی در گیاه وجود ندارد استفاده می‌شود. این امر می‌تواند باعث تغییر تبدیل مسیرهای متابولیکی گیاه شود. انتقال ژن لیزین دکربوکسیلاز باکتریایی که در ریشه‌های مویین *N. tabacum* بیان شد، به طور مشخصی میزان کاداوارین و آنابازین را افزایش داد. تولید آنتراکوئینون و آلیزارین در ریشه‌های موئین *Rubia peregrine* با وارد کردن ایزوکروزیمات سنتاز افزایش یافت. ریشه‌های موئین *A. belladonna* تراریخت شده با ژن P450 2E1 خرگوش باعث افزایش متابولیت شد. ریشه‌های موئین *Catharanthus roseus* حامل cDNA ۳- هیدروکسی ۳- متیل گلوتاریل A (CoA) ردوکتاز هامستر (HMGR) بدون ناحیه متصل شونده به غشاء باعث تولید بیشتر آجمالیسین و کانتارانتین یا سرپنتین و کامپسترول نسبت به گیاه کنترل شد.

روش دیگر تراریختی، تشدید بیان آنزیم‌هایی است که قبلاً در گیاه وجود دارد. پوترسین N- متیل ترانسفراز (PMT) توتون به Datura metel و Hyoscyamus muticus منتقل شد. این آنزیم اولین مرحله در مسیر آلکالوئید تروپان را کاتالیز نموده و رشد ریشه‌های تراریخته و تجمع تروپان آلکالوییدرا افزایش داد.

کمبود اکسیژن یک مشکل معمول در کشت ریشه‌های موئین است که در نتیجه کم مخلوط شدن و شرایط انتقال توده‌ای ایجاد می‌شود. برای بهبود شرایط کمبود اکسیژن، دو ژن Adh و پیروات دکربوکسیلاز، به ریشه‌های موئین Arabidopsis thaliana منتقل شد. لاین‌های ریشه‌ای تراریخته در شرایط کمبود اکسیژن، سرعت رشد مشابه حالتی که هوادهی کامل بود، داشت [۷].

**تولید ترکیباتی که در ریشه‌های غیر تراریخته وجود ندارد**

تراریختی ممکن است مسیر متابولیکی را تحت تاثیر قرار داده و ترکیبات جدیدی که به طور طبیعی در ریشه‌های غیرتراریخته تولید نمی‌شوند را باعث شود. برای مثال،

[1] Torregrosa [2] Sevon



[ Downloaded from jmp.ir on 2025-08-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.1.2 ]

ریشه‌های موئین تراریخته *Scutellaria baicalensis* به جای مشتقات گلوکوز ریشه‌های غیرتراریخته، فلاونوییدهای گلوکوزیدی را تولید نمودند [۷].

**باززایی گیاه کامل**

باززایی گیاه کامل از ریشه‌های موئین در چند گونه گیاهی گزارش شده است. باززایی موفق گیاهان تراریخته در اغلب موارد بستگی به شرایط کشت درون شیشه‌ای آن گونه دارد. با این وجود، ژنوتیپ و جوان بودن قطعه جدا کشت مناسب هم بسیار مهم است. ریشه‌های تراریخته پس از افزودن هورمون گیاهی مناسب می‌توانند تولید جنین‌های سوماتیکی نمایند. چاو[1] و ویلدهولم[2] (۲۰۰۲) گزارش دادند وقتی ریشه‌های موئین Astragalus sinicus در محیط حاوی ۷/۵ تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر 2،4-D کشت شوند تولید جنین سوماتیک می‌کنند. هم‌چنین با افزودن ۱۰ میکرومولار در لیتر آلفا نفتالین استیک اسید و ۵ میکرو مولار ٦- بنزیل آمینوپورین به محیط کشت، ریشه‌های موئین *Rubia pseudoacacia* تولید ساقه می‌نمایند [۳۲].

**استفاده از بیوراکتورها برای کشت ریشه‌های موئین**

بیوراکتورها شرایط مناسبی را برای تولید گیاه در ابعاد بزرگ برای تولید صنعتی ایجاد می‌کنند. بررسی‌های زیادی اخیراً بر روی بهینه‌سازی این سیستم‌ها جهت تولید و استخراج ترکیبات گیاهی با ارزش از جمله ژنیسنوئیدها و شیکونین شده است [۱].

ریشه‌های کشت شده در بیوراکتورها قادر به آزادسازی ترکیبات فعال دارویی از جمله داروهای ضدسرطان از گونه‌های مختلف تاکسوس در محیط مایع می‌باشند که ممکن است در تولید انبوه جهت استفاده‌های دارویی استخراج شود. معمولاً جهت نمونه‌برداری از پوست درختان (حدوداً ۱۰۰ ساله) حدود ۱ کیلوگرم ترکیب تاکسول به دست می‌آید. مطالعات انجام شده در ۲ دهه گذشته روش‌های خوبی برای کشت‌های سلولی و سیستم‌های بیوراکتور ارایه نموده است. پذیرش این مراحل برای تولید صنعتی این ترکیب با ارزش اخیراً اعلام شده است و به طور معنی‌داری تولید محصولات دارویی باز دارنده تومور را بالا خواهد برد [۱]. راکتورهایی که جهت کشت ریشه‌های موئین استفاده می‌شوند، ۳ نوع می‌باشند. راکتورهای Liquid-phase، gas-phase یا هیبرید که ترکیبی از ۲ نوع قبلی است [۳۳].

انواع سیستم‌های کشت شامل کشت بسته[1]، کشت نیمه بسته[2] و کشت پیوسته[3] می‌باشد. کشت غیرمداوم را می‌توان یک سیستم بسته در نظر گرفت که در زمان شروع کشت، محلول غذایی داخل ظروف، با نمونه‌های گیاهی تلقیح شده و تحت شرایط فیزیولوژیکی مطلوب (نور و دما) نگهداری می‌شوند. در طی کشت فقط اکسیژن و دی‌اکسیدکربن، عامل ضدکف، اسید و یا باز برای کنترل pH قابل افزودن است. در کشت بسته، مواد غذایی محیط کشت برای رشد ریزنمونه‌ها در آغاز فرایند کشت اضافه می‌شوند و لیکن در کشت نیمه بسته مواد غذایی محیط کشت با پیشرفت رشد بافت‌ها به تدریج اضافه می‌شود. با رشد بافت‌های گیاهی و تولید متابولیت‌های اصلی به تدریج از غلظت مواد غذایی کاسته شده و اثر مهار کنندگی متابولیت‌ها افزایش می‌یابد. در طی رشد بافت‌ها، مواد غذایی با مقادیر کم به تدریج به سیستم کشت اضافه می‌شود. کشت پیوسته، یک سیستم باز است. محلول غذایی استریل شده به‌طور مداوم به ظرف بیوراکتور افزوده شده و معادل آن محلول غذایی مصرف شده به همراه بخشی از سلول‌ها و متابولیت‌های تولید شده هم‌زمان از سیستم خارج می‌شوند.

بیوراکتورها مرحله کلیدی در تولید صنعتی متابولیت‌های ثانویه در فناوری زیستی گیاهی هستند. بیوراکتورها دارای مزایایی در تولید مواد در بافت‌های گیاهی هستند که عبارتند از: ایجاد کنترل بهتر برای تولید انبوه کشت‌های بافت گیاهی تحت شرایط تعریف شده در جهت تولید ترکیبات زیست فعال، قابلیت تنظیم شرایط در مراحل مختلف کشت، سهولت در تنظیم محیط از جمله اعمال تیمار یا نمونه‌برداری، افزایش جذب مواد غذایی به وسیله شرایط واکشت و افزایش مقدار محصول.

[1] Cho [2] Widholm

[1] Batch culture [2] Fed-Batch
[3] Continuous culture



[ Downloaded from jmp.ir on 2025-08-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.1.2 ]

**مزیت کشت ریشه‌های موئین**

بزرگترین مزیت ریشه‌های موئین، توان بالای تولید متابولیت‌های ثانویه در مقایسه با گیاهان مادری است. بسیاری از متابولیت‌های ثانویه با ارزش که در شرایط طبیعی در ریشه سنتز می‌شوند و اغلب در ارتباط با تمایز ریشه هستند، حتی در مواردی که متابولیت‌های ثانویه فقط در قسمت‌های هوایی یک گیاه تجمع می‌یابند، کشت‌های ریشه موئین نشان داده‌اند که قادر به سنتز و تجمع آن متابولیت‌ها هستند. برای مثال لاوسون در حالت عادی فقط در قسمت‌های هوایی گیاه تجمع دارد ولی ریشه‌های موئین *Lawsonnia inermis* رشد یافته در محیط MS قادر به تولید لاوسون تحت شرایط تاریکی هستند. گرچه آرتمیزین که به نظر می‌رسد تنها در بخش هوایی گیاه آرتمیزیا تجمع دارد در چندین آزمایش مشخص شده است که ریشه‌های موئین نیز می‌توانند آرتمیزین را تولید کنند. ثبات ژنتیکی نیز از دیگر ویژگی‌های ریشه‌های موئین می‌باشد.

**تنظیم متفاوت متابولیسم ثانویه در گونه‌های نزدیک**

گرچه متابولیت‌های ثانویه در گونه‌های نزدیک ممکن است مسیر مشابهی داشته باشند ولی تنظیم آن‌ها بر اساس الگوهای متفاوتی انجام می‌شود. برای مثال، آلکالوییدتروپان در ریشه‌های موئین *D. metel* و *H. muticus* افزایش می‌یابد. با این وجود، الگوی تجمع آن‌ها در این دو گیاه متفاوت است. هیوسیامین و اسکوپولامین هر دو در ریشه‌های موئین *D. metel* افزایش می‌یابد در حالی که در *H. muticus* تنها میزان هیوسیامین زیاد می‌شود. این موضوع مشخص می‌کند که یک مسیر در دو گونه مختلف به طور متفاوتی تنظیم می‌شود. ٤- هیدروکسی سیناموئل- کوا هیدراتاز (HCHL) در کشت ریشه‌های موئین *Datura strmonium* بیان شد. با این وجود، هیچ ٤- هیدروکسی بنزالدئیدی در این ریشه‌ها مشاهده نشد. بر عکس، میزان فرولویل- کوا جهت تولید فرولویل پوترسین و کونیفریل الکل کاهش یافت.

ژنوتیپ‌های گیرنده ممکن است بیان ژن خارجی را تحت تاثیر قرار دهند. DFR آنتی سنس، در دو ژنوتیپ (S33 و S50) ریشه‌های مویین *L. corniculatus* بیوسنتز تانن را کاهش داد[1]. با این وجود، در ژنوتیپ سوم (S41)، ریشه‌های مویین تراریخته مقادیر بالایی از تانن فشرده را در خود انباشته نمودند.

تشدید بیان آنزیم‌های کلیدی همیشه متابولیت‌های ثانویه را بهبود نمی‌دهد.

دو آنزیم کلیدی رمزکننده کوریزمات پیروات لیاز و HMGR، که در بیوسنتز شیکونین دخالت دارند، به ریشه‌های موئین Lithospermum erythrorhizon منتقل شد. با وجود آن‌که بیان این دو آنزیم افزایش یافت، اما تجمع شیکونین تغییری نکرد.

**احتمال کاهش تعداد کروموزوم‌ها در طی واکشت**

ریشه‌های موئین اولیه Onobrychis viciaefolia تعداد کروموزوم طبیعی داشتند (2n=28). با این وجود، بعد از چهار ماه واکشت، درصد سلول‌های ریشه مویین با تعداد کروموزوم طبیعی از ۸۵ درصد به ۲۳/۵ درصد کاهش یافت. هشت ماه بعد، تنها ٤/١ درصد سلول‌ها دارای تعداد کروموزوم طبیعی بودند.

**سرکوب هم‌زمان ژن‌های داخلی و خارجی**

تعداد نسخه بیشتر از ژن منتقل شده، منجر به تشدید بیان آنزیم‌های هدف و افزایش تولید محصول موردنظر نمی‌شود. ریشه‌های موئین Cathranthus roseus حاوی HMGR cDNA هامستر الگوی متفاوتی از تولید آلکالوییدرا نشان داد. کلون ٢٣٦ که دارای تعداد نسخه بیشتری از HMGR بوده، کمترین میزان فعالیت HMGR را داشته و میزان آجمالیسین و کاتارانتین آن افزایش یافت. کلون ۹، که دارای تعداد نسخه کمتری از HMGR بود، HMGR بیشتری را بیان نموده و میزان تولید کامپسترول و سرپنتین آن بیشتر بود اما میزان آجمالیسین آن کاسته شده و فاقد کاتارانتین بود. در برخی از گونه‌ها دلیل این امر خاموشی حاصل از تراریختی می‌باشد. ریشه‌های موئین Cinchona officinalis تراریخت شده با تریپتوفان دکربوکسیلاز (TDC) و استریکتوزیدین سنتاز

[1] Downregulated



[ Downloaded from jmp.ir on 2025-08-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.1.2 ]

(STR) در ابتدا مقادیر بالایی از تریپتوفان و استریکتوزیدین را در پی داشت. با این وجود، یک سال بعد، این ریشه‌ها توانایی خود در تولید و تجمع آلکالوییدها را به طور کامل از دست دادند بدون اینکه رشد و موفولوژی آن‌ها تغییر کند [۷].

**تغییرات موفولوژیکی گیاهان باززا شده**

گیاهان باززا شده از ریشه‌های مویین در اغلب موارد دارای برگ‌های چروکیده، سیستم‌های ریشه‌ای فراوان و پلاژیوتروفیک می‌باشند هم‌چنین در این گیاهان غالبیت انتهایی، طول میان‌گره، اندازه برگ و توانایی قطعات برگی برای تشکیل ریشه در محیط‌های بدون هورمون کاهش می‌یابد. علاوه بر این، برگچه‌های نامتقارن، برگ‌های رنگارنگ و متفاوت و کاهش طول خار نیز گاهی مشاهده می‌شود. این فنوتیپ‌های غیرطبیعی احتمالاً حاصل پراکندگی ژنومی است که در نتیجه ورود DNA خارجی یا تغییرات سوماکلونال حاصل می‌شود.

## نتیجه‌گیری

ریشه‌های مویین مکانیسم‌های بیوشیمیایی و فعال در ریشه‌های طبیعی و حتی سایر اندام‌های گیاهی را تقلید می‌نمایند. چنین ریشه‌هایی جهت تولید متابولیت‌های ثانویه به خصوص متابولیت‌های با خاصیت دارویی به دلیل پایداری و بالا بودن میزان تولید آن‌ها در محیط‌های کشت مفید هستند. در برخی موارد میزان تولید این متابولیت‌ها در ریشه‌های موئین بالاتر از ریشه‌های طبیعی یا سایر بافت‌ها می‌باشد. بنابراین ریشه‌های موئین یک ابزار قدرتمند جهت انجام تحقیقات به منظور بالا بردن میزان تولید متابولیت‌های دارویی با ارزش محسوب می‌شوند. پتانسیل بالای سیستم ریشه‌های موئین برای تولید متابولیت‌ها باعث جلب توجه شرکت‌های خصوصی شده است. این موضوع شاخص مهمی است تا در آینده نزدیک بیوتکنولوژیست‌ها از ریشه‌های مویین به عنوان ابزاری قدرتمند برای دستیابی به منابع زیر زمینی سلسله گیاهی دست پیدا نمایند.

## منابع


**1.** Tripathi L, Tripathi JN, Role of biotechnology in medicinal plants. *Tropical J. of Pharmaceutical Res*. 2003; 2: 243 - 53.

**2.** Yaniv Z. Handbook of Medicinal Plant. Food Product Press. The Haworth Medical Press. Imprints of the Haworth Press, Inc. New York, London and Oxford. 2005, pp: 235 - 59.

**3.** Nigra HM, Caso OH and Guilietti AM. Production of solasodine by calli form different parts of *Solanum eleaginifolium* Cav. Plants. *Plant Cell Reports*. 1987; 6: 135 - 7.

**4.** Toppel G, Witte L, Riebesehl B, Borstel KV, Hartmann T. Alkaloid patterns and biosynthetic capacity of root cultures from some pyrrolizidine alkaloid producing *Senecio* species. *Plant Cell Reports*. 1987; 6: 135 - 7.

**5.** Kim S, Kim JY, Kim EA, Kwon KH, Kim KW, Cho K, Lee JH, et al. Proteome analysis of hairy root from Panax ginseng C. A. Meyer using peptide fingerprinting, internal sequencing and expressed sequence tag data. *Proteomics*; 3: 2379 - 92.

**6.** Pitta – Alvarez SI, Tatiana C. Spollansky and Ana M. Giulietti. The influence of different biotic and abiotic elicitors on the production and profile of tropane alkaloids in hairy root cultures of *Brugmansia candida*. *Enzyme and Microbial Technol*. 2000; 26: 252 - 8.

**7.** Hu ZB and Du M. Hairy root and its application in plant genetic engineering. *J. of Integrative Plant Biol.* 2006; 48: 121 - 7.

**8.** Christey MC; Braun RH. Production of hairy root cultures and transgenic plants by Agrobacterium rhizogenes - mediated transformation. *Methods Mol. Biol*. 2005; 286: 47 - 60.

**9.** Chilton MD, Tepfer DA, Petit A, David C, Casse-Delbart F & Tempé J. *Agrobacterium*




[ Downloaded from jmp.ir on 2025-08-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.1.2 ]

*rhizogenes* inserts T-DNA into the genomes of the host plant root cells. *Nature*. 1982; 295: 432 - 4.

**10.** Giri A, Ravindra ST, Dhingra and Narasu ML. Influence of different strains of *Agrobacterium rhizogenes* on induction of hairy roots and artemisinin production in *Artemisia annua*. *Current Sci.* 2001; 81: 378 - 82.

**11.** Bonhomme V, Laurain-Matter D, Lacoux J, Fliniaux MA and Jacquin-Dubreuil A. Tropan alkaloid production by hairy roots of *Atropa belladona* obtained after transformation with *Agrobacterium rhizogenes* 15834 and *Agrobacterium tumefaciens* containing *rol* A, B, C genes only. *J. of Biotechnol,* 2000; 81: 151 - 8.

**12.** Argolo AC, Charlwood BV, Pletsch M. The regulation of solasodine production by *Agrobacterium rhizogenes* – transformed roots of Solanum aviculare*. Planta Medica*. 2000; 66: 448 - 51.

**13.** Souret FF, Yoojeong Kim, Barbara EW, Kristin KW, Pamela JW. Scale-up of *Artemisia annua* L. hairy root cultures produces complex patterns of terpenoid gene expression. *Biotechnology and Bioengineering* 2003; 83: 653 - 67.

**14.** Hasanloo T, Khavari Nejad RA and Majidi E. Evaluation of phenotypic coefficient and flavonolignan content in dried fruits of cultivated and endemic *Silybum marianum* (L.) Gaertn. *J. of Med. Plants*. 2007; 22: 77 - 90.

**15.** Rahnama H, Hasanloo T, Shams MR and Sepehrifar.R. Hairy root induction in S*ilybum marianum* (L.) Gaertn as a source of silymarin. Oral presentation. The 5th National Biotechnology Congress of Iran. 2007, 23 - 26 Nov, Tehran, Iran.

**16.** Rahnama H, Hasanloo T, Shams MR and Sepehrifar R. Silimarin production on hairy roots systems in S*ilybum marianum* (L.) Gaertn. Oral presentation. The 3re Congress of Medicinal Plants. Shahed University. Tehran. 2007, 24 - 25 Oct, Iran.

**17.** Li W, Koike K, Asada Y, Yoshikawa T and Nikaido T. Rosmarinic acid production by coleus *forskohlii* hairy root cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Cultur*. 2005; 80 (2): 151 - 5.

**18.** Chen H and Feng Chen. Induction of phytoalexin formation in crown gall and hairy root culture of *Salvia miltiorrhiza* by methyl viologen. *Biotechnol. Letters*. 2000; 22: 715 - 20.

**19.** Pitta – Alvarez SI, Tatiana C. Spollansky and Ana M. Giulietti. The influence of different biotic and abiotic elicitors on the production and profile of tropane alkaloids in hairy root cultures of *Brugmansia candida*. *Enzyme and Microb. Technol*. 2000; 26: 252 - 8.

**20.** Park S and Facchini PJ. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation of *Opium poppy*, *papaver somniferum* L., and *California poppy*, *Eschscholzia California* Cham., root cultures. *J. of Experimental Botany*, 2000; 51: 1005 - 16.

**21.** Kittipongpatana N, Darryl L. Davis and John R. Porter. Methyl jasmonate increases the production of valepotriates by transformed root cultures of *Valerianella locusta*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 2002; 71: 65 - 75.

**22.** Kim NC, Graf TN, Sparacino CM, Wani MC and Wall ME. Complete isolatation and characterization of silybins and isosilybins from milk thistle (*Silybum marianum*). *Org. Biomol. Chem*. 2003; 1: 1684 - 9.

**23.** Rothe G, Hachiya A, Yamada Y, Hashimoto T; Dräger B. Alkaloids in plants and root cultures of *Atropa belladonna* overexpressing putrescine. *J. of Exp. Botany* 2003; 54: 2065 - 207.

**24.** Li W, Koike K, Asada Y, Yoshikawa T, Nikaido T. Rosmarinic acid production by coleus *forskohlii* hairy root cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Cultur*. 2005; 80: 151 - 5.

**25.** Rudrappa T, Neelwarne B, Lakshmanan V, Venkataramareddy SR, Aswathanarayana RG. Elicitation of peroxidase activity in genetically transformed root cultures of *Beta vulgaris* L. *Electron. J. of Biotechnol*. 2006; 9: 512 - 21.

**26.** Savitha BC, R. Thimmaraju N, Bhagyalakshmi and GA Ravishankar. Different biotic and abiotic



[ Downloaded from jmp.ir on 2025-08-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.1.2 ]

elicitors influence betalain production in hairy root cultures of *Beta vulgaris* in shake-flask and bioreactor. *Process Biochem*. 2006; 41: 50 - 60.

**27.** Kumagai H and Kouchi H. Gene Silencing by Expression of Hairpin RNA in *Lotus japonicus* Roots and Root Nodules. *Mol. Plant - Microbe Interactions*. 2003; 16: 663 - 8.

**28.** Menzel G, Harloff HJ, Jung C. Expression of bacterial poly (3-hydroxybutyrate) synthesis genes in hairy roots of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Applied Microbiol. and Biotechnol.* 2003; 60: 571 - 6.

**29.** Sharp JM and Doran PM. Strategies for Enhancing Monoclonal Antibody Accumulation in Plant Cell and Organ Cultures. *Biotechnol. Prog*. 2001; 17: 979 - 92.

**30.** Torregrosa L and Bouquet A *Agrobacterium rhizogenes* and *A. tumefaciens* co-transformation to obtain grapevine hairy roots producing the coat protein of grapevine chrome mosaic nepovirus. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 1997; 49: 53 - 62.

**31.** Sevon N, Oksman-Caldentey KM *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation: root cultures as a source of alkaloids. *Planta Med*. 2002; 68: 859 – 68.

**32.** Cho HJ, Widholm JM. Improved shoot regeneration protocol for hairy roots of the legume Astragalus sinicus. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2002; 69: 259 - 269 (11).

**33.** Hasanloo T. Study of some secondary metabolites in Silybum marianum from different area of Iran and its cell and tissue culture for production of silymarin. PhD Thesis. 2006, pp: 35 – 6.

**34.** Xing J, Min Z, De-Xiu, L, Mao-Yin. Cell growth and flavonoids production in suspension culture of Saussurea medusa, *Acta Botanica Sin.* 1998; 40 (9): 836 - 41.

[ Downloaded from jmp.ir on 2025-08-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.1.2 ]

**توجه: مطابق بند ۲-٦ مصوبات هفدهمین جلسه شورای عالی، کسب حداکثر ۵۰ درصد امتیاز آموزش مداوم از طریق شرکت در برنامه‌های خودآموزی (٦۲/۵ امتیاز از ۱۲۵ امتیاز ۵ ساله) مجاز می‌باشد.**

۱- کشت ریشه‌های موئین در گیاه خارمریم موجب تولید کدام ترکیب دارویی می‌شود؟
الف- سولاسیدین
ب- ارتیمیزین
ج- سیلی‌مارین
د- اسکوبولامین

۲- عمده‌ترین فلاولیگنان موجود در ریشه‌های خارمریم کدام ترکیب می‌باشد؟
الف- سیلی‌دیانین
ب- سیلی‌کریستین
ج- سیلی‌بین
د- تاکسی‌فولین

۳- دو متابولیت ثانویه که در حالت عادی فقط در اندام‌های هوایی گیاه یافت می‌شوند ولی در کشت ریشه موئین در محیط تجمع می‌یابند عبارتند از:
الف- لاوسون در گیاه لاوسونیا - اسکوبولامین در گیاه هیوسیاموس
ب- اسکوبولامین در گیاه هیوسیاموس- ارتیمیزین در گیاه ارتیمیزیا
ج- ارتیمیزین در گیاه ارتیمیزیا- لاوسون در گیاه لاوسونیا
د- تبائین در خشخاش- اسکوبولامین در گیاه هیوسیاموس

٤- انتقال ژن لیزین دکربوکسیلاز باکتریایی در ریشه موئین توتون باعث افزایش کدامیک از متابولیت‌های ثانویه گشت:
الف- کاداوارین – انابازین
ب- تاکسی فولین – کاداوارین
ج- انابازین – ارتیمیزین
د- کاوادین – سولاسیدین

۵- بزرگترین مزیت کشت ریشه‌های موئین عبارت است از:
الف- ریشه‌های موئین مکانیسم‌های بیوشیمیایی و فعال تولید متابولیت‌ها در ریشه‌های طبیعی تقلید می‌کند.
ب- ریشه‌های موئین تولید متابولیت‌های ثانویه را به صورت بایدار و موثری افزایش می‌دهند.
ج- ریشه‌های موئین باعث افزایش ثبات ژنتیکی در گیاه می‌شود.
د- ریشه‌های مویین باعث تغییر الگوی تجمع متابولیت‌ها می‌شود.



[ Downloaded from jmp.ir on 2025-08-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.1.2 ]

٦- افزایش تولید بسیاری از ترکیبات دارویی در گیاهان دارویی از طریق:
الف- ریشه‌های تراریخته با باسیلوس سوبیتلیس
ب- ریشه‌های تراریخته با اکروباکتریوم رایزوژنز
ج- ریشه‌های تراریخته با کلستریدیوم بوتولونیوم
د- ریشه‌های تراریخته با سودوموناس ایروژنزیس

۷- کشت ریشه‌های موئین در کدام یک از گیاهان زیر منجر به افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شود:
الف- رزماری- توتون- تاتوره
ب- خارمریم- رزماری- سالویا
ج- هیوسیامس – خارمریم- سالویا
د- کلیه موارد فوق

۸- کدامیک از مزایای استفاده از بیوراکتورها برای کشت ریشه‌های موئین نمی‌باشد:
الف- ایجاد کنترل بهتر برای تولید انبوه کشت بافت‌های گیاهی
ب- سهولت در تنظیم محیط از جمله اعمال تیمار یا نمونه‌برداری
ج- کاهش تدریجی اثر مهار کنندگی متابولیت‌ها با کاهش غلظت مواد غذایی
د- افزایش آزادسازی ترکیبات فعال دارویی از جمله داروهای ضدسرطان از ریشه‌های کشت شده

۹- دلایل بهره‌گیری از ریشه‌های موئین به عنوان منبعی مهم و دایمی برای تولید متابولیت‌های ثانویه:
الف- رشد سریع و توانایی تکثیر
ب- توان بالای تولید متابولیت‌های ثانویه در مقایسه با گیاهان مادری
ج- توانایی سنتز بیش از یک متابولیت
د- کلیه موارد فوق

۱۰- سیستم کشت ریشه موئین در چه شرایط بسیار بایدار بوده و تولید بالایی دارد:
الف- استفاده از کشت‌های حاوی غلظت‌های مناسب از اکسین
ب- استفاده از کشت‌های حاوی غلظت‌های مناسب از سیتوکنین
ج- استفاده از کشت‌های بدون هورمون
د- استفاده از کشت‌های حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز



[ Downloaded from jmp.ir on 2025-08-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.1.2 ]

**پاسخ‌نامه**

**خودآموزی شماره (مشخصات مجله):**

**نام:** **نام خانوادگی:** **رشته و مدرک تحصیلی:**

**شماره نظام پزشکی:**

**آدرس:**

**شماره تلفن:** **پست الکترونیک:**

| سئوال | الف | ب | ج | د |
|---|---|---|---|---|
| ۱ | | | | |
| ۲ | | | | |
| ۳ | | | | |
| ٤ | | | | |
| ٥ | | | | |
| ٦ | | | | |
| ۷ | | | | |
| ۸ | | | | |
| ۹ | | | | |
| ۱۰ | | | | |

* پس از تکمیل پاسخ‌نامه، مبلغ ۱۵/۰۰۰ ریال به شماره حساب ۱۳۰٤۰۲٤٤۱۳ حساب جام بانک ملت به نام پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی واریز و پاسخ‌نامه و اصل فیش را به آدرس دفتر فصلنامه ارسال فرمایید.



[ Downloaded from jmp.ir on 2025-08-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.1.2 ]

**بسمه‌تعالی**

## پرسشنامه نظرخواهی از شرکت‌کنندگان در برنامه‌های خودآموزی

**عنوان برنامه:** **شماره نشریه: (در صورت لزوم)**

**کد برنامه:** **کد سازمان برگزارکننده: ۱۱۶۳۶ سازمان برگزارکننده:** ***پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی***

همانگونه که مستحضرید ارزشیابی هر برنامه از دیدگاه شرکت‌کنندگان در شناخت مسائل و نارسائیهای آن اهمیت بسزایی دارد و شناخت مشکلات اولین گام در رفع آنهاست. لذا خواهشمند است برای کسب نتایج صحیح و واقعی، با دقت نظر و بذل توجه به سؤالات زیر پاسخ دهید.

مشخصات پاسخگو:

جنس: زن ☐ مرد ☐ سن: ☐☐ سال سابقه کار: ☐☐ سال رشته تخصصی:

محل فارغ‌التحصیلی: محل خدمت: آیا به کاردرمانی اشتغال دارید؟ بلی ☐ خیر ☐

| خواهشمند است نظرات خود را با گذاشتن علامت (×) در محل مربوطه بیان فرمائید. | بسیار زیاد | زیاد | کم | بسیار کم |
|---|---|---|---|---|
| ۱- محتوای برنامه از نظر ارائه مطالب جدید علمی و تحکیم اطلاعات صحیح قبلی | | | | |
| ۲- متناسب بودن محتوای برنامه با نیازهای شغلی شما | | | | |
| ۳- موفقیت برنامه در دستیابی به اهداف آموزشی برنامه | | | | |
| ٤- استفاده مطلوب از تصاویر و روش‌های مناسب آموزشی | | | | |
| ٥- توانایی برنامه در ایجاد علاقه به مطالعه تخصصی و بحث و تبادل نظر | | | | |
| ٦ – میزان امتیاز تعلق یافته به برنامه | | | | |

۷- آیا برنامه تاثیری بر روی دانش، نگرش و عملکرد شما داشته است؟ بلی ☐ خیر ☐

با ذکر مثال:

۸- این برنامه را نسبت به سایر برنامه‌های خودآموزی چگونه ارزیابی می‌کنید؟

عالی ☐ خوب ☐ ضعیف ☐ بد ☐

با ذکر مورد مقایسه و علت:

۹- خواهشمند است حداقل سه عنوان پیشنهادی خود را برای طراحی برنامه‌های آتی خودآموز ذکر فرمائید:

۱-

۲-

۳-

۱۰- نظرات و پیشنهادات:



[ Downloaded from jmp.ir on 2025-08-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.1.2 ]