



فصل نامه داروهای گیاهی

journal homepage: www.jhd.iaushk.ac.ir



کاربرد الیسیتورها در افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در سوسپانسیون‌های کشت سلول و اندام گیاهی

مریم محمدی فارسانی، دکتر عبدالله قاسمی پیربلوطی

1. دانشجوی دکترای فیزیولوژی گیاهی، پیام نور تهران شرق، ایران؛

*مسئول مکاتبات (mmohammadi0003@yahoo.com)

2. مرکز پژوهش‌های گیاهان دارویی و دام پزشکی سنتی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران؛

شناسه مقاله چکیده

تاریخ دریافت مقاله: 1392/10/27

تاریخ پذیرش مقاله: 1392/12/12

نوع مقاله: مروری

موضوع: فیتوشمی-فیزیولوژی گیاهی

کلید واژگان:

- ✓ متابولیت ثانویه
- ✓ کشت سلول گیاهی
- ✓ الیسیتور
- ✓ مسیرهای سیگنال‌رسانی

در زیست فناوری همواره به بررسی مسیرهای جایگزین برای تولید ترکیبات طبیعی توجه می‌شود. سیستم‌های کشت سلول و اندام گیاهی برای تولید متابولیت‌های ثانویه ای که اهمیت تجاری در صنایع غذایی و دارویی دارند قابل جایگزینی می‌باشند. با این حال، تقریباً تعداد کمی از محیط‌های کشت این ترکیبات را سنتز می‌کنند و میزان این سنتز و مدت زمانی که صرف می‌کند قابل مقایسه با استفاده از یک گیاه کامل می‌باشد. روش‌هایی شامل تغییر محیط کشت (افزودن مواد مغذی و هورمونی) و شرایط محیطی (تغییرات دما، pH و اسمزی) و همین‌طور از مواد استخراجی و ترکیبی نیز در این راهبردها استفاده می‌شده است. امروزه از دستکاری ژنتیکی مسیرهای بیوسنتتیک با استفاده از مهندسی متابولیکی که امروزه برای بهبود تولیدات متابولیت‌های مورد نیاز تکنیکی قدرتمند شده است استفاده می‌شود. نتایج مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که هم الیسیتورهای زیستی و هم غیر زیستی سنتز متابولیت‌های ثانویه را در محیط کشت سلول‌های گیاهی افزایش می‌دهند.

1. مقدمه

سازگاری آن با محیط پیرامون دارای نقش هستند (Dixon, 2001; Oksman-Caldentey & Inze 2004). متابولیت‌های ثانویه ممکن است دارای خواص ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضدویروسی باشند و به این ترتیب قادرند از گیاه در مقابل عوامل بیماری‌زا محافظت نمایند. از طرف دیگر، این ترکیبات نقش بسیار مهمی در جذب نور فرابنفش و حفاظت برگ‌ها در برابر آثار زیان‌بار این اشعه به عهده دارند (Li et al., 1993). به علاوه، این ترکیبات می‌توانند از خورده شدن گیاهان توسط جانوران (مانند حشرات) جلوگیری نمایند و یا

گیاهان بخش مهمی از رژیم غذایی روزانه ما را تشکیل می‌دهند. ترکیبات سازنده و ارزش غذایی گیاهان سال‌هاست که مورد توجه و بررسی محققان قرار گرفته‌اند. گیاهان عالی، علاوه بر متابولیت‌های اولیه ضروری (مانند کربوهیدرات‌ها، لیپیدها و آمینواسیدها)، مقادیر وسیعی از ترکیبات با وزن مولکولی پایین تولید می‌کنند که متابولیت‌های ثانویه نامیده می‌شوند. متابولیت‌های ثانویه را می‌توان به عنوان گروهی از ترکیبات تعریف کرد که در فرآیندهای اولیه‌ی حیات گیاه نقش قابل توجهی ندارند، بلکه در

آلکالوئیدها سه خانواده بزرگ از ترکیبات ثانویه گیاهی هستند (Bourgaud *et al.*, 2001). در جدول 1، انواعی از متابولیت‌های ثانویه و تعداد گزارش شده از این ترکیبات در گیاهان عالی نشان داده شده است.

جدول 1. شاسایی ترکیب‌های ثانویه شناسایی شده در گیاهان عالی (Wink, 1999).

تعداد	نوع ترکیب ثانویه
12000	آلکالوئیدها
600	اسیدهای آمینه غیر پروتئینی (NPAA _s)
100	آمین‌ها
100	گلیکوزیدهای سیانوزیک
1000	سزکونن‌ترین‌ها
1000	مونوترپن‌ها
1000	دی‌ترین‌ها
4000	تری‌ترین‌ها، استروئیدها و ساپونین‌ها
350	تترا‌ترین‌ها
2000	فلاونوئیدها
1000	پلی‌استیلین‌ها
750	پلی‌کتیدها
500	فنیل پروپانوئیدها

3. کاربرد متابولیت‌های ثانویه گیاهی

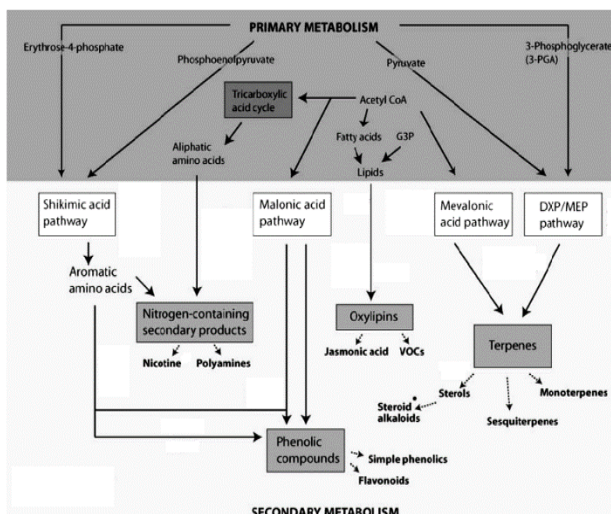
از آنجایی که متابولیت‌های ثانویه فعالیت‌های زیستی متعددی دارند (شکل 2)، در صنعت داروسازی، شیمی خاک، عطرسازی و تولید چاشنی استفاده‌های فراوان دارند (Wink, 1999; Alfermann *et al.*, 2005). گیاهان دارای متابولیت‌های ثانویه، سالیان سال است که توسط بشر برای درمان عفونت‌ها و بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. آلکالوئیدهایی هم‌چون مورفین² (کشنده درد)، کودئین³ (ضدسرفه)، پاپاورین⁴ (مهارکننده فسفودی‌استراز)، ادفدرین⁵ (تحریک کننده)، کوئینین⁶ (ترکیب ضدمالاریا)، رسپرن⁷ (کنترل کننده فشارخون)، گالاتامین⁸

2. Morphine
3. Codeine
4. Papaverine
5. Ephedrine
6. Quinine
7. Reserpine
8. Galanthamine

حتی در مواردی سبب بروز اختلالات باروری در جانور تغذیه کننده گردند. تولید متابولیت‌های ثانویه اغلب کم بوده (کمتر از 1 درصد وزن خشک گیاه) و به مقدار قابل توجهی به مراحل تکوین و فیزیولوژیک گیاه بستگی دارد (Oksman-Caldentey & Inze, 2004).

2. طبقه‌بندی متابولیت‌های ثانویه و مسیرهای بیوسنتزی مرتبط با آنها

پیش ماده‌های ساختاری متابولیت‌های ثانویه از متابولیت‌های اولیه حاصل می‌شوند. مسیرهای اصلی متابولیت‌های ثانویه در گیاه و ارتباط آن‌ها با متابولیسم اولیه به صورت شماتیک در شکل 1 نشان داده شده است (Wink, 1999; Alfermann *et al.*, 2005). به استثنای فرآیندهای اولیه بیوسنتز قند و اسیدهای آمینه، سه مسیر اصلی بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه شامل مسیرهای استات-مالونات، استات-مالونات و اسید شیکمیک می‌باشد (Wink, 1999; Alfermann *et al.*, 2005).



شکل 1. مسیرهای اصلی بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه و ارتباط آن‌ها با متابولیسم اولیه (Wink, 1999; Alfermann *et al.*, 2005).

G3P: Glyceraldehyde 3-phosphate; VOC: Volatile Organic Compounds; 2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate/1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate pathway (MEP/DOXP pathway).

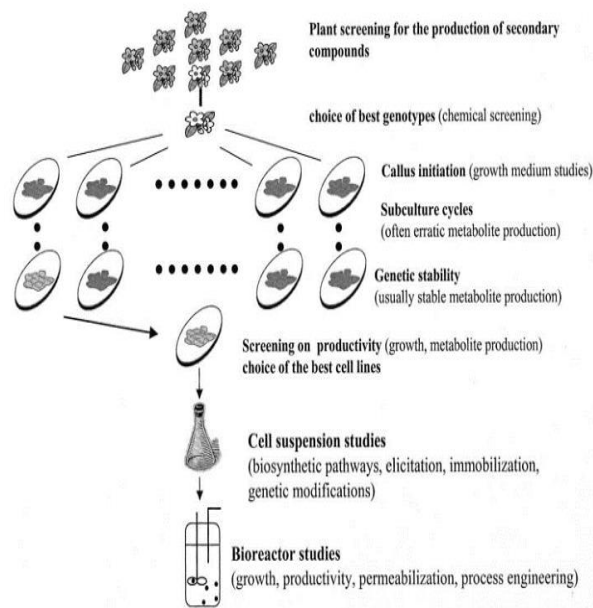
متابولیت‌های ثانویه عموماً براساس مسیرهای سنتزی آن‌ها طبقه‌بندی می‌شوند. ترکیبات فنولی¹، ترین‌ها-استروئیدها و

1. Phenolics

نظر می‌رسد که دارای خاصیت گرده‌افشانی است. Berberine (e و d) به دست آمده از گیاه *Berberis wilsoniae* و DIMBOA به دست آمده از گیاه *Zea mays* نیز به عنوان توکسین‌های دفاعی عمل می‌کند. (f) Brassilexin به دست آمده از گونه *Brassica spp.* نیز به عنوان یک ترکیب ضدقارچی عمل می‌کند (Pichersky and Gang, 2000).

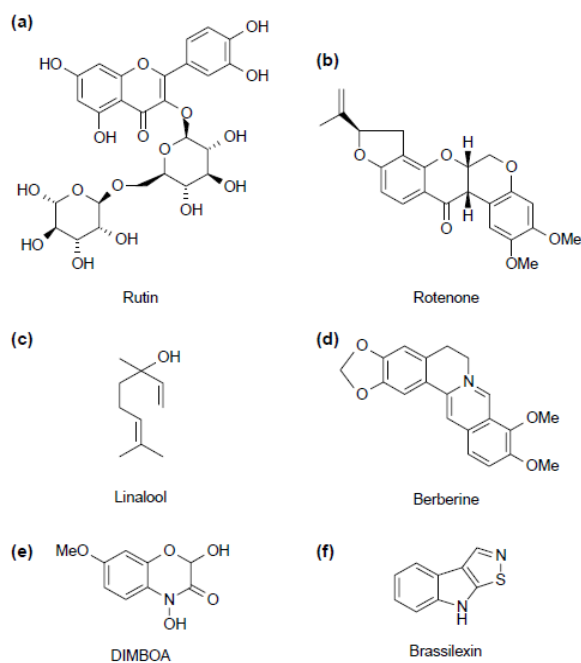
4. کشت سلول و اندام گیاهی جهت تولید متابولیت‌های ثانویه

راهکار اصلی برای تولید متابولیت‌های ثانویه در کشت‌های سلول گیاهی، در شکل 3 نشان داده شده است. همان‌گونه که در این شکل دیده می‌شود، هنگامی که یک گیاه تولید کننده‌ی متابولیت ثانویه مطلوب شناسایی می‌گردد، در اولین مرحله یک مجموعه‌ی ژنتیکی بزرگ از افراد تولید کننده‌ی این متابولیت تهیه می‌شود. این فرآیند این امکان را می‌دهد که بتوانیم گیاهان تولید کننده‌ی بیشترین مقدار متابولیت ثانویه را غربال‌گری نماییم (Bourgaud et al., 2001).



شکل 3، روش تولید متابولیت‌های ثانویه در سلول گیاهی (Bourgaud et al., 2001)

(مهارکننده‌ی استیل‌کولین استراز)، اسکوپولامین¹ (ضدتپوع)، بربرین² (برای درمان پسروریازیس)، کاپسایسن³ (برای درمان دردهای روماتیک)، کولشی‌سین⁴ (برای درمان نقرس) و بسیاری از ترکیبات دیگر، از جمله متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که به عنوان دارو مورد استفاده قرار می‌گیرند. امروزه با وجود تکنیک‌های بیوتکنولوژی به ویژه کشت سلول، اندام و بافت گیاه؛ این امکان وجود دارد که بتوانیم ترکیبات مفید و مورد نیاز خود را در گیاهان تولید نماییم (Rao & Ravishankar, 2002; Zhou & Wu, 2006). محققین با استفاده از این روش‌ها سعی می‌کنند تا تولید متابولیت‌های ثانویه را در گیاهان افزایش دهند (Bourgaud et al., 2001).



شکل 2. برخی از متابولیت‌های ثانویه گیاهان و فعالیت‌های مرتبط با آن‌ها. (a) Rutin یک ترکیب به دست آمده از گیاه *Forsythia intermedia* است که به عنوان یک گرده افشان جذب کننده‌ی ویروس‌ها شناخته شده است. (b) Rotenone از گیاه *Derris elliptica* به دست آمده و به نظر می‌رسد در دور کردن حشرات تغذیه کننده از گیاه دارای نقش است. (c) Linalool از گیاه *Clarkia breweri* به دست آمده و به

1. Scopolamine
2. Berberine
3. Capsaicin
4. Colchicine

از ایسیتورها¹ است. ایسیتورها عوامل فیزیکی، شیمیایی و یا زیستی هستند که می‌توانند سبب افزایش تولید یک متابولیت خاص و یا حتی تولید یک متابولیت جدید در گیاه شوند. همانگونه که در شکل 3 نشان داده شده است، آخرین مرحله‌ی تولید تجاری متابولیت‌های ثانویه، مطالعات بیوراکتوری می‌باشند (Bourgaud et al., 2001). روند تولید متابولیت‌های ثانویه از طریق کشت اندام‌های گیاهی نیز در شکل 4 نشان داده شده است. در ادامه کاربرد ایسیتورها به منظور افزایش میزان تولید متابولیت‌های ثانویه مورد بحث و بررسی قرار می‌گیرد.

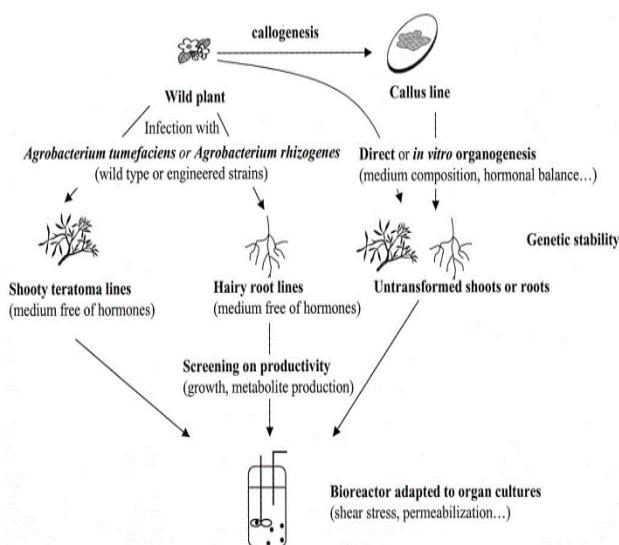
5. ایسیتورها

طبق تعریف رادمان²، ایسیتورها به دو گروه فیزیکی و شیمیایی تقسیم می‌شوند. براساس ماهیت نیز ایسیتورها به دو گروه ایسیتورهای زیستی و ایسیتورهای غیرزیستی تقسیم می‌شوند (شکل 5) (Patel & Krishnamurthy, 2013). ایسیتورها از طریق القای پاسخ‌های دفاعی باعث بیوسنتز و انباشت متابولیت‌های ثانوی می‌شوند (Zhao et al., 2005).

ایسیتورهای زیستی دارای منشأ بیولوژیکی هستند و از پاتوژن‌ها یا خود گیاه ایجاد می‌شوند. این ایسیتورها شامل پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، گلیکوپروتئین‌ها و یا قطعات دیواره سلول قارچ‌ها، گیاهان (سلولز و پکتین) و میکروارگانیسم‌ها (کیتین و گلوکان) می‌باشند (Vasconsuelo & Boland, 2007). ایسیتورهای زیستی ممکن است دارای ترکیب مشخص باشند مانند کیتین و کیتوزان و یا مانند همگنای قارچ و عصاره مخمر مجموعه‌ای از ترکیبات زیستی باشند. ایسیتورهای غیر زیستی، منشأ بیولوژیکی ندارند و در گروه فاکتورهای فیزیکی و ترکیبات شیمیایی قرار می‌گیرند (Patel & Krishnamurthy, 2013).

به طور کلی استفاده از ایسیتورها در مطالعات مربوط به زیست فناوری متابولیت‌های گیاهی دو هدف اصلی را دنبال می‌کند: 1- به دست آوردن اطلاعاتی در زمینه مسیرهای بیوسنتزی که منجر به تشکیل و تنظیم متابولیت‌های ثانویه می‌شود. 2- افزایش تولید متابولیت‌های ثانوی برای کاربرد تجاری (شکل 6) Patel & Krishnamurthy, 2013).

پس از انجام غربال‌گری، کشت کالوس آغاز می‌شود. در این مرحله، محیط کشت‌های متعددی مورد بررسی قرار می‌گیرد تا مطلوب‌ترین شرایط برای کشت گیاه و تولید متابولیت ثانویه مشخص شود. بهینه‌سازی محیط کشت با ایجاد یک ترکیب مناسب از مواد معدنی و آلی و نیز ایجاد یک تعادل هورمونی صورت می‌گیرد (Box, 1945).

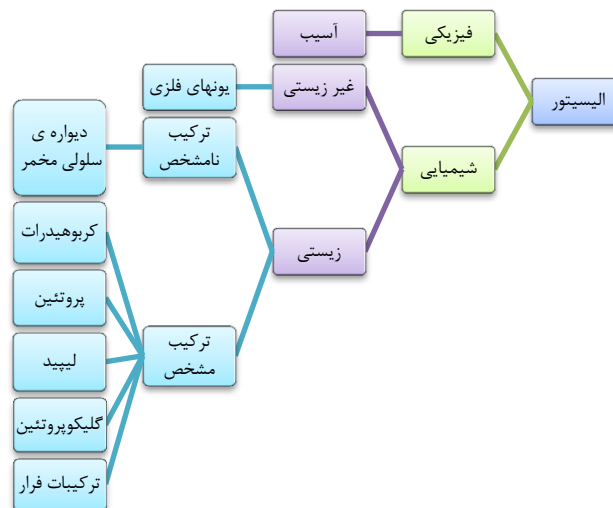


شکل 4. مسیر تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهی از طریق کشت اندام (Bonfante P 2009)

نتایج مطالعات نشان داده است که چرخه‌های انتقال سلول‌ها از یک محیط کشت به محیط کشت دیگر، سبب ایجاد تنوع در آن‌ها و در نتیجه تغییر میزان تولید متابولیت ثانویه می‌شود. با این حال، با گذشت زمان (از چند هفته تا چندین سال)، پایداری ژنتیکی ایجاد می‌شود و هر کالوس را می‌توان به عنوان مجموعه‌ای از سلول‌های هموژن در نظر گرفت. پس از ایجاد پایداری ژنتیکی، کالوس‌های مختلف از نظر تولید بهینه متابولیت ثانویه مورد بررسی و غربالگری قرار می‌گیرند. مرحله‌ی بعد مطالعه‌ی سوسپانسیون سلولی است که از طریق آن به خوبی می‌توان مسیرهای بیوسنتزی را مورد بررسی قرار داد. شناسایی مسیرهای بیوسنتزی مرتبط با تولید متابولیت‌های ثانویه این امکان را فراهم می‌آورد تا با تغییر تعدادی از آنزیم‌های درگیر، تولید متابولیت ثانویه را افزایش دهیم. امروزه روش‌های مختلفی برای افزایش میزان تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان عالی مورد استفاده قرار می‌گیرد که یکی از موفق‌ترین آن‌ها، استفاده

¹. Elicitors
². Radman

برای یک سیستم خاص برای تولید ترکیب مورد نیاز استفاده شود. همچنین، غلظت ایستورها و زمان انکوباسیون مورد نیاز برای حداکثر استخراج بر اساس نوع ایستور و سیستم کشت متفاوت است. بنابراین، به نظر می‌رسد برای رسیدن به یک ایستور مناسب و برای تعیین غلظت آن و زمان مورد نیاز برای رسیدن به حداکثر پاسخ برای تجمع متابولیت های ثانویه بسیار پراهمیت است. دیگر عامل مهم در این رابطه زمان اضافه کردن ایستورها به محیط کشت است. بهترین زمان القاء ایستور به محیط کشت در اواخر یا اوایل مراحل رشد سلول گیاهی می‌باشد. از آنجایی که تأثیر هر ایستور برای حداکثر پاسخ، به عمر محیط کشت، غلظت ایستور و زمان انکوباسیون با ایستور بستگی دارد. با این نگرش، نیاز شدیدی برای کشف ایستورهای مفید و روش‌های بصری کردن آن‌ها وجود دارد که توانایی استخراج مواد را با پایش مکرر و ساده امکان پذیر کند (Bonfante, 2009).

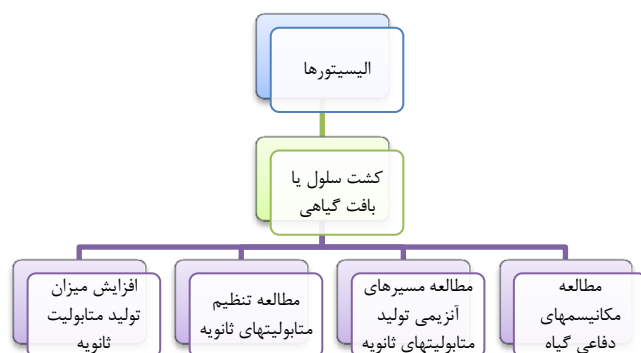


شکل 5. طبقه‌بندی ایستورها (Patel & Krishnamurthy, 2013).

1.5. مسیر سیگنال‌رسانی مرتبط با فعالیت ایستورها جهت

افزایش میزان متابولیت ثانویه در گیاه: به خوبی مشخص شده است که تیمار با استفاده از ایستورها و یا عوامل بیماری‌زا، سبب تجمع متابولیت‌های ثانویه دفاعی مانند فیتوالکسین‌ها در گیاه و یا کشت سلولی می‌شود (شکل 7). قبل از بروز پاسخ‌های دفاعی و یا تولید متابولیت ثانویه در گیاه، ایستور باید به یک رسپتور یا پروتئین R در سطح سلول گیاهی متصل شود. شناسایی مولکولی و برهمکنش فیزیکی میان مولکول ایستور و رسپتور اختصاصی گیاه، فرآیند پیچیده‌ای است، اما برای شروع سیگنال‌رسانی ایستور لازم است. تغییر شکل فضایی رسپتورهای کینازی پس از اتصال ایستورها، به طور مستقیم و یا غیر مستقیم سبب انتقال سیگنال ایستور و بروز مکانیسم‌های دفاعی می‌شود (Zhao et al., 2005).

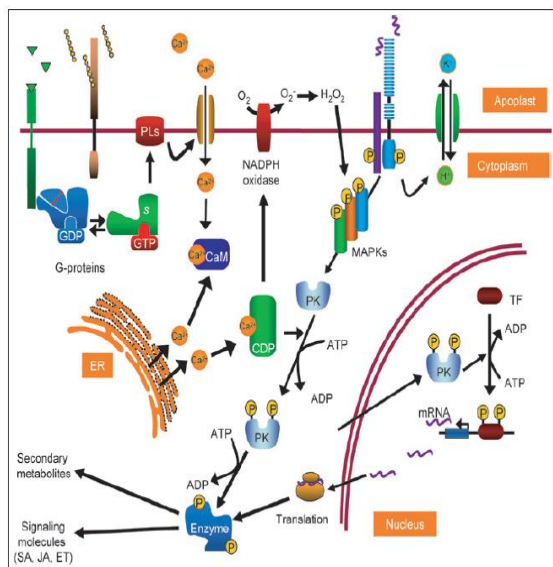
همانگونه که در شکل 7 نشان داده شده است، به دنبال اتصال ایستور، رسپتور فعال شده و سبب تحریک شدن مولکول‌های افکتور مانند کانال‌های یونی، پروتئین‌های متصل شونده به GTP (G-پروتئین‌ها) و پروتئین‌کینازها می‌گردد. مولکول‌های افکتور، سیگنال ایستور را به پیامبرهای ثانویه منتقل می‌کنند.



شکل 6. اهداف استفاده از ایستورها در مطالعات مربوط به زیست فناوری متابولیت‌های گیاهی (Patel & Krishnamurthy, 2013).

نتایج مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که هم ایستورهای زیستی و هم غیر زیستی سنتز متابولیت های ثانویه را در محیط کشت سلول‌های گیاهی افزایش می‌دهند. با این حال، هنوز ایستوری یافت نشده است که بر اکثر سیستم‌های کشت تأثیر کلی داشته باشد و هیچ سیستمی هم پیدا نشده است که به تمامی ایستورها پاسخ دهد. بنابراین لازم است که ایستورهای متعددی

- پروتئین کیناز فعال شونده توسط میتوزن¹ (MAPK) فعال می‌شود؛
- NADPH اکسیداز فعال شده و گونه‌های فعال اکسیژن تولید می‌نماید؛
- ژن‌های پاسخ‌دهنده‌ی اولیه بیان می‌شوند؛
- اتیلن² و جاسمونات³ تولید می‌شوند؛
- ژن‌های پاسخ‌دهنده‌ی تاخیری بیان می‌شوند؛
- متابولیت ثانویه تجمع پیدا می‌کند.

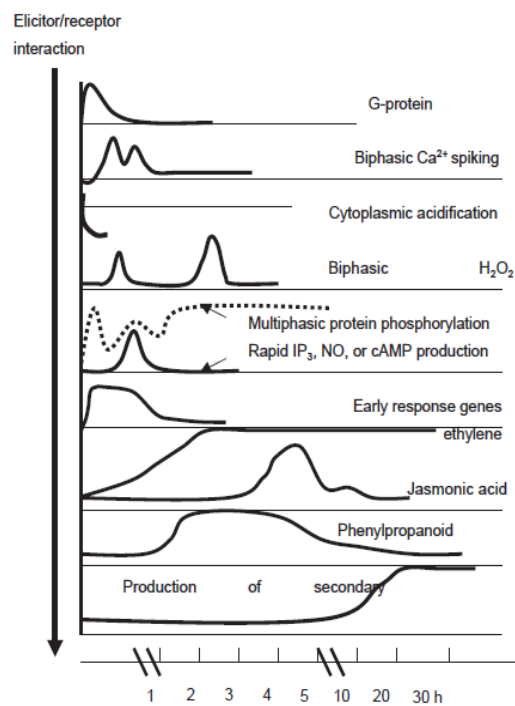


شکل 8. اولین رویدادهای فعال شده توسط ایستورها در گیاه (Wink et al. 2005).

باید توجه داشت که مسیر انتقال سیگنال ایستورها، یک فرآیند پیچیده است و ترکیبات مختلفی در آن درگیر هستند و سبب بروز پاسخ‌های متنوع می‌شوند (شکل 9) (Zhao et al., 2005).

2.5. استفاده از ایستورهای قارچی برای افزایش تولید متابولیت ثانویه در سوسپانسیون‌های کشت سلول گیاهی:

ایستورهای قارچی برای ارتقاء سنتز ترکیبات مهم تجاری از محیط کشت سلول‌های گیاهی به صورت وسیع تری مورد مطالعه شده‌اند. در اغلب مطالعاتی که داده‌ها، ارتقاء سنتز ترکیبات گیاهی مهم



شکل 7. تصویری شماتیک از مجموعه پاسخ‌های دفاعی مرتبط با تیمار گیاه توسط ایستورها (Zhao et al., 2005).

مولکول‌های پیامبر سبب تشدید سیگنال و بروز واکنش‌های پایین دست می‌شوند. مجموعه رویدادهایی که سبب القا پاسخ دفاعی در برابر ایستورها می‌شوند به این صورت است که (Zhao et al., 2005) (شکل 8):

- ایستور به رسپتور سطح سلولی متصل می‌شود؛
- پروتئین‌های غشا پلاسمایی و سیتوسولی به صورت برگشت‌پذیر فسفریله و دفسفریله می‌شوند؛
- غلظت Ca^{2+} درون سلولی به طور ناگهانی افزایش پیدا می‌کند؛
- غشا پلاسمایی دیپلاریزه می‌شود؛
- یون‌های K^+ و Cl^- خارج شده و یون‌های H^+ به درون سلول وارد می‌شوند؛
- محیط خارج سلولی قلیایی و محیط درون سیتوسولی اسیدی می‌شود؛

¹. Mitogen-activated protein kinase

². Ethylene

³. Jasmonate

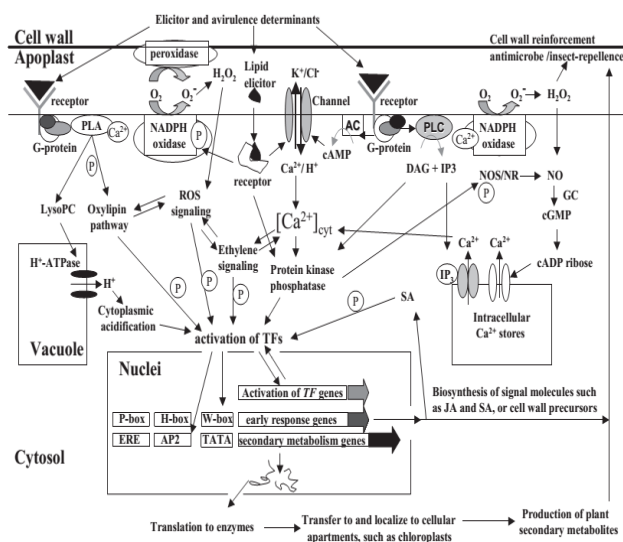
پودوفیلوتوکسین یکی از متابولیت های ثانویه مهم در مطالعات گیاهان دارویی است. این ماده به دلیل فعالیت سیتوتوکسین تولید می شود. از این ماده برای سنتز داروهای ضدسرطان مانند اتوپوساید^۲، تنی پوساید^۳ و اتوپوفوز^۴ که برای درمان سرطان های بیضه و کبد و اخیراً برای سرطان خون به کار برده می شوند، استفاده می شود (Stahelin & Wartburg, 1991; Imbert, 1998). جداسازی پودوفیلوتوکسین از ریزوم های *Podophyllum peltatum* و *P. hexandrum* (از رده Berberidaceae) سیستم تولیدکننده ایده آلی نیستند (Bonfante, 2009).

ریزوم های گونه *P. hexandrum* حاوی حداقل میزان پودوفیلوتوکسین می باشند. تأمین این ترکیب به دلیل برداشت زیاد، فقدان محیط های کشت، طولانی بودن مرحله نوجوانی و قابلیت تکثیر ضعیف، به طور افزایشی محدود شده است (van Uden, 1992). گونه گیاهی *P. hexandrum* همچنین در لیست کنوانسیون تهدیدهای بین المللی گونه های در معرض خطر^۵ (CITES) قرار دارد. در این لیست گونه هایی که هنوز به طور قطع در خطر انقراض نیستند آورده شده است، اما در شرایط بسیار کنترل شده این تهدید برطرف می شود (Bonfante, 2009).

سنتز شیمیایی پودوفیلوتوکسین امکان پذیر است (Hadimani, et al., 1996). با این حال، به دلیل چرخه های پیچیده استروشمیایی که برای تولید این ماده لازم است، تولید آن با موانع زیادی روبه رو است. بنابراین تولید سنتتیک تنها راه هر چند پرهزینه، برای بدست آوردن مقادیر محدود این ماده است (Bonfante, 2009).

یکی از راهکارهای ایده آل برای تولید پودوفیلوتوکسین، استفاده از سلول ها یا بافت های گیاهی با رشد سریع و راحت در محیط کشت حاوی لیگنن بالا می باشند. مشخص شده است که گونه قارچی *P. indica* (حاوی لیگنین) برای بهبود تولید پودوفیلوتوکسین در محیط کشت سلولی گیاه مناسب است. این امر می تواند تکنیک مناسبی در تولید تجاری متابولیت های ثانویه با منشأ گیاهی ایجاد کند (Bonfante, 2009).

تجاری را با استفاده از الیستورهای قارچی بدست آورده اند، از قارچ های بیماری زا استفاده کرده بودند. قارچ هایی که معمولاً باعث پاسخ های فوق حساسیتی در سلول های گیاهی می شوند، باعث فعال شدن مسیرهای دفاعی گیاهی شده و منجر به افزایش تولید فیتوآلکسین می شود (Bonfante, 2009).



شکل 9. شبکه سیگنال رسانی به هنگام پاسخ های دفاعی گیاه تحت تأثیر الفا توسط الیستورها (Zhao et al., 2005).

AC: AMP cyclase; DAG, diacylglycerol; GC: GMP cyclase; IP3: Inositol-1,4,5-trisphosphate; JA: jasmonic acid; NOS: nitric oxide synthase; NR: Nitrate reductase; PLA: phospholipase A; PLC: phospholipase C; PLD, phospholipase D; ROS, reactive oxygen species; SA: salicylic acid.

واکنش متقابل مهم دیگری که بین قارچ و گیاه گزارش شده است رابطه هم زیستی بین قارچ های آربوسکول میکوریزا و اندام ها یا سلول های گیاهی است. اما به دلیل ناتوانی این قارچ های هم زیست برای رشد در یک محیط کشت مصنوعی، مطالعه تأثیرات آن ها در استخراج ممکن نبوده است. با کشف *Piriformosporandica*، یک قارچ اندوفیت که توانایی کشت آگزنیکالی^۱ دارد، و توانایی قارچ های آربوسکول مایکوریزال را تقلید می کند، پنجره جدیدی برای افزایش تولید متابولیت های ثانویه با منشأ گیاهی در محیط کشتی که دارای این قارچ به عنوان الیستور می باشد، باز شده است (Bonfante, 2009).

2. Etoposide
3. Teniposide
4. Etopophos
5. Convention for International Trade in Endangered Species

1. Axenically

6. نتیجه‌گیری

hypersensitive to UV-B radiation. *Plant Cell*, 5: 171-179.

Oksman-Caldentey, K. M., and Inze, D., 2004. Plant cell factories in the post-genomic era: new ways to produce designer secondary metabolites. *Trends Plant Sci*, 9: 433-440.

Patel, H. and Krishnamurthy, R. 2013. Elicitors in Plant Tissue Culture. *Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2: 60-65.

Pichersky, E. and Gang, D.R. 2000. Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. *Trends In Plant Science*, 5: 439-445.

Rao, R.S. and Ravishankar, G.A. 2002. Plant tissue cultures; chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnol*, 20: 101-153.

Stahelin, H.F. and Wartburg, A.V. 1991. The chemical and biological route from podophyllotoxin glucoside to etoposide. *Cancer Res*, 51: 5-15.

Vasconsuelo, A. and Boland, R. 2007. Molecular aspects of the early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. *Plant Sci*, 172: 861-875.

Wink, M., Alfermann, A.W., Franke, R., Wetterauer, B., Distl, M., Windhovel, J., Krohn, O., Fuss, E., Garden, H., Mohagheghzaden, A., Wildi, E. and Ripplinger, P. 2005. Sustainable bioproduction of phytochemicals by plant in vitro cultures: anticancer agents. *Plant Genetic Resour*, 3: 90-100.

Zhao, J., Davis, L.C. and Verpoorte, R. 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnol Adv*, 23: 283-333.

Zhoua, L.G. and Wu, J.U. 2006. Development and application of medicinal plant tissue cultures for production of drugs and herbal medicinals in China. *Nat Prod Rep*, 23: 789-810.

گیاهان پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی مختلفی نسبت به عوامل فیزیکی و شیمیایی نشان می‌دهند. تولید متابولیت‌های ثانویه، از جمله مکانیسم‌های دفاعی گیاه در برابر این فاکتورهاست. امروزه متابولیت‌های ثانویه به طور مستقیم و یا غیرمستقیم، کاربرد بسیار وسیعی در صنعت داروسازی یافته‌اند. با این حال، دسترسی به این ترکیبات در گیاهان، اغلب با مشکلاتی روبرو است. سیستم‌های کشت سلول گیاهی برای تولید متابولیت‌های ثانویه ای که اهمیت تجاری در صنایع غذایی و دارویی دارند قابل جایگزینی می‌باشند. با این حال، تقریباً تعداد کمی از محیط‌های کشت این ترکیبات را سنتز می‌کنند و میزان این سنتز و مدت زمانی که صرف می‌کند قابل مقایسه با استفاده از یک گیاه کامل می‌باشد. در طول سال‌های اخیر، مشخص شده است که بسیاری از الیسیتورها می‌توانند منجر به تولید متابولیت‌های ثانویه جدید در گیاه شوند و یا میزان تولید این ترکیبات را در گیاهان افزایش دهند.

منابع

Bonfante, P. 2009. Symbiotic fungi: principles and practice. vol. 18. Springer Heidelberg Dordrecht London New York. pp 373

Bourgau, F., Gravot, A., Milesi, S. and Gontier, E. 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*, 161: 839-851.

Box, G.E.P. 1945. The exploration and exploitation of response surfaces: some general considerations and examples. *Biometrics*, 10: 16-60.

Dixon, R.A. 2001. Natural products and plant disease resistance. *Nature*, 411(6839): 843-847.

Hadimani, S.B., Tanpure, R.P. and Bhat, S.V. 1996. Asymmetric total synthesis of (-) Podophyllotoxin. *Tetrahedron Lett*, 37: 4791-4794.

Imbert, F. 1998. Discovery of podophyllotoxins. *Biochimie*, 80: 207-222.

Li, J., Ou-Lee, T.M., Raba, R., Amundson, R.G. and Last, R.L. 1993. Arabidopsis mutants are