مقاله پژوهشی ـ مروری

مجله سلول و بافت (علمی - پژوهشی)
جلد ۷، شماره ٤، زمستان ۱۳۹۵

الیسیتورهای غیرزیستی و بیوتکنولوژی گیاهان دارویی

منا راعی .M.Sc[۱]، محمود اثنی‌عشری .Ph.D[۲*]، مهدیه خدایاری .Ph.D

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۲- دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی، همدان، ایران
۳- دانش‌آموخته اصلاح‌نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
* پست الکترونیک نویسنده مسئول:

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۳/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۲/۲

چکیده

گیاهان دارویی از هزاران سال پیش به‌عنوان یکی از مهم‌ترین منابع درمان بیماری‌های مختلف کاربرد داشته‌اند. این گیاهان، گروه بزرگ و متنوعی از ترکیبات آلی به‌نام متابولیت‌های ثانویه را تولید می‌کنند. متابولیت‌های ثانویه ترکیباتی هستند که از متابولیت‌های اولیه (متابولیت‌های مربوط به تغذیه و بقا) که برای حفظ حیات گیاه ضروری هستند تولید می‌شوند. دست‌ورزی محیط‌های کشت سلول گیاهی با استفاده از الیسیتورهای غیرزیستی یکی از راه‌کارهای مهم جهت القای تولید متابولیسم‌های ثانویه و افزایش عملکرد این ترکیبات ارزشمند می‌باشد، زیرا پتانسیل تولید این مواد در شرایط طبیعی بسیار محدود است. الیسیتورها از طریق فعال کردن مکانسیم‌های دفاعی باعث القای تشکیل متابولیت‌های ثانویه و پاسخ‌های دفاعی سریع در سلول گیاهی نظیر افزایش جریانات یونی از عرض غشای پلاسمایی، تولید گونه‌های اکسیژن واکنشگر، فعال‌سازی ژن‌های مربوط به دفاع، تغییرات ساختاری در دیواره سلولی و سنتز فیتوالکسین‌ها می‌شوند. در این نوشتار جنبه‌های مختلف امکان تولید متابولیت‌های ثانویه در کشت سلول گیاهی با استفاده از الیسیتورهای غیرزیستی مرور گردیده است.

واژگان کلیدی: فیتوالکسین‌ها، کشت سلول گیاهی، پاسخ‌های دفاعی

مقدمه

گیاهان دارویی به‌عنوان سرمایه‌های ژنتیکی ارزشمند در شمار میراث‌های بومی کشورها محسوب می‌شوند و دارای اهمیت جهانی هستند. این گیاهان در طول تاریخ جز منابع اصلی پزشکی و داروسازی در اکثر نقاط جهان بوده‌اند. امروزه برای درمان و حفظ سلامتی انسان تأکید زیادی بر استفاده از داروهایی با منشا طبیعی می‌شوند (۱). داروهای گیاهی به‌دلیل نزدیکی و سازگاری با فیزیولوژی بدن انسان در مقایسه با داروهای شیمیایی خطرات و عوارض جانبی کمتری دارند. این ویژگی یکی از دلایل اصلی رویکرد و تمایل دوباره مردم جهان به گیاهان دارویی و استفاده از آن‌ها در قیاس با داروهای شیمیایی و مرکب از مواد مصنوعی (Synthetic) شده است (۲و۳).

خواص دارویی این گیاهان، به ترکیباتی به‌نام متابولیت‌های ثانویه نسبت داده می‌شود. متابولیت‌های ثانویه ترکیباتی هستند که تنها از متابولیت‌های اولیه (متابولیت‌های مربوط به تغذیه و بقا) که برای حفظ حیات موجود ضروری هستند تولید می‌شوند. نشان داده شده است که این محصولات ثانویه برای گیاهان و جانورانی که آنها را سنتز می‌کنند بسیار مفیدند (۴). متابولیت‌های ثانویه منحصر به گونه یا حتی نژاد خاص بوده و اغلب طی یک دوره خاص رشد و نمو در گیاه تولید می‌شوند. این ترکیبات دارای عملکردهای اکولوژیکی مهم در گیاهان هستند و نقش حفاظتی در مقابل گیاه‌خواران و عوامل بیماری‌زای میکروبی و همچنین جذب گرده افشان‌ها ایفا می‌کنند. این ترکیبات به گروه‌های مختلفی از جمله آلکالوئیدها، آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها، کوئینون‌ها، استروئیدها و ترپنوئیدها تقسیم می‌شوند و کاربردهای تجاری متنوعی به‌عنوان دارو، رنگ، حشره‌کش و چاشنی از نقطه نظر طعم، بو و غیره دارند (۵).

بر اساس برخی از گزارش‌ها تاکنون حداقل ۱۰۰/۰۰۰ متابولیت ثانویه از ۵۰/۰۰۰ گونه گیاهی شناسایی شده است و هرسال نیز ۴۰۰۰ متابولیت جدید از گونه‌ها و واریته‌های مختلف گیاهی کشف می‌شوند (۶). برخی از این ترکیبات مانند دیجیتوکسین، شیکونین، عطر جاسمین و داروهای ضد سرطان مانند وین‌بلاستین، وین‌کریستین و تاکسول از ارزش اقتصادی بالایی برخوردارند و قیمت آنها از چند دلار تا چند هزار دلار به‌ازای هر کیلوگرم تغییر می‌کند. تولید انبوه و سریع این مواد پیچیده در مقیاس زیاد از طریق روش‌های طبیعی عمدتا مشکل و یا تقریبا غیرممکن است و از سوی دیگر محدودیت‌های مختلف مانع تأمین این مواد از طبیعت می‌شوند. با توجه به این که به‌طور طبیعی سرعت تولید متابولیت‌های ثانویه غالبا بسیار کند بوده و مستلزم مدت زمان طولانی است، استفاده از روش‌های بیوتکنولوژی برای تولید سریع و انبوه متابولیت‌های ثانویه و مواد دارویی گیاهی امری ضروری به نظر می‌رسد (۷).

محصولات طبیعی گیاهان به‌عنوان منابع ارزشمندی از دارو در خدمت بشر می‌باشند، به‌طوری‌که امروزه این محصولات و مشتقات و آنالوگ‌های آن‌ها بیش از ۵۰ درصد از مواد اولیه داروها را در مصارف کلینیکی مهیا می‌کنند. حدود ۸۵ درصد از داروهای سنتی مورد استفاده شامل عصاره‌های گیاهی می‌شوند و محصولات طبیعی مشتق شده از گیاهان عالی ۲۵ درصد از کل را تشکیل می‌دهند. عامل ضد سرطان پاکلی‌تاکسول (Taxol) و وین‌کریستین (Oncovin) و مسکن اسکوپولامین و سست کننده عضلات توبوکورارین بعضی از داروهایی هستند که از متابولیت‌های ثانویه مشتق شده‌اند و مصرف کلینیکی دارند (۸). در این نوشتار ضمن اشاره به مسیرهای اصلی بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه، روش‌های بیوتکنولوژی گیاهی در تولید این متابولیت‌ها مرور می‌شوند.

مسیرهای بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه

با وجود اینکه متابولیت‌های ثانویه بسیار متنوعند، اما تعداد مسیرهای اصلی بیوسنتزی آنها محدود و مشخص است. پیش‌ماده‌های ساختاری متابولیت‌های ثانویه به‌عنوان منابع تولید این متابولیت‌ها در سه مسیر اصلی شامل مسیرهای استات ـ مالونات، استات ـ موالونات و اسید شیکمیک وارد می‌شوند(۹). سه گروه از محصولات ثانویه براساس ویژگی‌های بیوسنتزی وجود دارند که به ترپن‌ها، ترکیبات فنولی و ترکیبات نیتروژن‌دار تقسیم می‌شوند.

الف) ترپن‌ها: ترپن‌ها یا ترپنوئیدها بزرگترین گروه محصولات ثانویه را شامل می‌شوند. مواد متنوع این گروه معمولا در آب غیرمحلولند. ترپن‌ها از پیوستن واحدهای پنج کربنی ساخته شده از طریق مسیر موالونیک اسید تشکیل می‌شوند. بیشتر ترپن‌ها اعمال مشخصی در رشد و نمو گیاه به عهده دارند. به‌عنوان مثال پیش ماده آبسزیک اسید، یک سزکوئی‌ترپن است. استروئیدها مشتقات تری‌ترپن‌ها بوده و از اجزای ضروری غشای پلاسمایی به‌حساب می‌آیند. بدین ترتیب بعضی از ترپن‌ها نقش‌های اولیه مهمی در گیاه به عهده دارند. این مواد سمی بوده و در بسیاری از گیاهان

به‌عنوان ترکیبات دفاعی ضدگیاه‌خواری ایفای نقش می‌کنند (۱۰ و ۱۱).

ب) ترکیبات نیتروژن‌دار: در ساختمان بسیاری از محصولات ثانویه گیاهان نیتروژن وجود دارد. این ترکیبات شامل آلکالوئیدها و گلیکوزیدهای سیانوژنیک می‌باشند. آلکالوئیدها محصولات طبیعی هستند که در ساختمان خود دارای نیتروژن بوده و معمولاً ساختار حلقوی دارند. بسیاری از داروهای رایج بر پایه ترکیبات آلکالوئیدی شکل گرفته‌اند که از جمله آنها مسکالین (Mescaline)، نیکوتین (Nicotine)، کوکائین (Cocaine) و مورفین (Morphine) می‌باشند. گلیکوزیدهای سیانوژنیک و گلیکوزینولیت‌ها نیز گروهی دیگر از ترکیبات نیتروژن‌دار را شامل می‌شوند. آمیگدالین (Amygdaline) و پروناسین (Prunasin) از مهم‌ترین گلیکوزیدهای سیانوژنیکی هستند که در خانواده گندمیان (Poaceae) و گل‌سرخ (Rosaceae) قرار دارند (۱۲).

ج) ترکیبات فنولی: گیاهان طیف وسیعی از محصولات ثانویه را تولید می‌کنند که دارای یک گروه فنولی بوده و به‌نام ترکیبات فنولی طبقه‌بندی می‌شوند و شامل فنول‌های ساده، لیگنین‌ها، فلاونوئیدها و تانن‌های فشرده می‌باشند. باتوجه به تنوع زیاد شیمیایی، ترکیبات فنولی نقش‌های متفاوتی را در گیاهان بازی می‌کنند. در گیاهان اکثر ترکیبات فنولی از فنیل‌آلانین و تیروزین مشتق شده‌اند. از متابولیت‌های ثانویه این گروه می‌توان به مشتقات فنیل-پروپان ساده مثل اسید فرولیک (Ferulic acid) و اسید کافئیک (Caffeic acid)، کومارین‌ها مثل آمبلیفرون (Umbeliferon) و سورالن (Psoralen)) و مشتقات اسید بنزوئیک نظیر اسید سالیسیلیک و وانیلین (Vanillin) اشاره نمود (۱۳).

بیوتکنولوژی گیاهان دارویی

امروزه بیوتکنولوژی گیاهان دارویی به‌عنوان ابزاری نوین برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه به‌کار گرفته می‌شود که از طریق انتخاب، ازدیاد در شرایط درون شیشه‌ای (*in vitro*)، نگه‌داری ژنوتیپ‌های در حال انقراض توسط روش-های حفاظت انجمادی (Cryopreservation) و تولید گیاهان تراریخت صورت می‌گیرد. کشت سلول گیاهی (Plant cell culture) و کشت اندام (Organ culture) که شامل کشت جوانه، جنین، ساقه، ریشه و ریشه‌های مویین می‌باشد از جمله روش‌های بیوتکنولوژی هستند که به‌منظور تولید متابولیت‌های ثانویه مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱۴). با این حال، به‌دلیل عدم تمایز بافت‌های کشت شده در اغلب کشت‌های سوسپانسیون سلولی (کشت سلول‌های معلق در محیط مایع)، مقدار تولید متابولیت‌های ثانویه در این سیستم کم است و برخی متابولیت‌ها نیز فقط در بافت‌های خاص دارای تمایز مورفولوژیکی تجمع می‌یابند (۱۵ و ۱۶). لذا تولید متابولیت‌های ثانویه با استفاده از تکنولوژی کشت بافت گیاهی هنوز دچار محدودیت‌های بیولوژیکی و بیوتکنولوژیکی است. به‌همین منظور روش‌های متعددی برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در کشت بافت استفاده می‌شوند که عبارتند از:

بهینه‌سازی ترکیبات محیط کشت

بسیاری از اجزای محیط کشت تعیین‌کننده رشد سلول و تولید متابولیت‌ها می‌باشد. بهینه‌کردن نوع و غلظت هورمون‌های گیاهی غالبا موثر بوده و تغییر فاکتورهای محیطی چون سطوح موادغذایی، نور و منبع کربن نیز ممکن است در افزایش تولید تاثیرگذار باشند. همچنین منبع نیتروژن می‌تواند در عملکرد محصول نقش با اهمیتی داشته باشد. برای نمونه کاهش سطح NH_4 و افزایش میزان NO، تولید آرتمیزین را در ریشه‌های موئین گیاه گندواش یا خاراگوش شیرین (*Artemisia annua*) تقویت کرده و مقادیر بالای نیتروژن نیز موجب بازدارندگی رشد و تولید این گیاه می‌شوند (۱۷).

غیرمتحرک‌سازی (تثبیت) سلول‌ها

در بیشتر موارد محصولات تشکیل شده در سیستم سوسپانسیون سلولی در واکوئل سلول ذخیره می‌شوند. برای این‌که این محصولات از واکوئل سلول‌های گیاهی خارج شوند باید از دو غشای پلاسمایی و تونوپلاست عبور کنند. کارهای زیادی انجام شده است تا سلول گیاهی را برای مدتی کوتاه نفوذپذیر کند، به گونه‌ای که سلول توانایی خود را حفظ نموده و مقدار انتقال متابولیت‌ها از سلول افزایش یابد. نفوذپذیری غشا به تشکیل منافذ در یک یا بیشتر سیستم‌های غشایی سلول‌های گیاهی که عبور مولکول‌ها را به‌داخل و خارج سلول ممکن سازد بستگی دارد. نفوذپذیری سلول‌ها را می‌توان به وسیله اندازه‌گرفتن آنزیم‌های متابولیسم اولیه شامل هگزوکیناز، گلوکز ۶ فسفات

دهیدروژناز، ایزوسیترات دهیدروژناز و مالیک و سیترات سینتتاز کنترل کرد. دامنه گسترده‌ای از عوامل نفوذپذیرکننده برای افزایش تحریک‌پذیری و رها سازی محصولات ذخیره شده در درون سلول به محیط کشت اضافه می‌شود. انواع نمک‌ها، حلال‌های آلی مثل ایزوپروپانول و دی‌متیل-سولفوکساید، پلی‌ساکاریدهایی چون کیتوزان و سطح-دهنده‌هایی نظیر توئین۲۰ به‌عنوان عوامل نفوذپذیرکننده استفاده شده‌اند. روش‌هایی مثل اولتراسونیک و الکتروپوریشن نیز برای القای نفوذپذیری سلول‌ها به‌کار گرفته شده‌اند (۱۸، ۱۹ و ۲۰).

کاربرد مهندسی متابولیک

مهندسی متابولیک به‌طور معمول به‌عنوان تکنیکی برای هدایت یک یا چند واکنش آنزیمی به‌منظور تولید ترکیبات جدید در سلول و بهبود تولید ترکیبات خروجی تعریف می-شود. مهندسی متابولیک همچنین به استفاده از تکنولوژی DNA نوترکیب برای اصلاح فعالیت‌های درون سلولی از طریق دست‌کاری عملکردهای آنزیمی و تنظیمات داخلی سلول اطلاق می‌شود. قسمت اعظمی از تحقیقات در زمینه متابولیت‌های ثانویه، روی شناسایی و دستکاری ژنتیکی آنزیم‌های دخیل در مسیر متابولیکی سنتز یک متابولیت ثانویه، متمرکز شده است. ابزار طبیعی که در فرآیند مهندسی ژنتیک و در اکثر گونه‌های گیاهی و بخصوص گیاهان دولپه به‌کار می‌رود، یک باکتری خاکزی به‌نام آگروباکتریوم تیومفاسینس (*Agrobacterium tumefacience*) است. تولید متابولیتهای ثانویه عموما تحت کنترل بیش از یک ژن می‌باشد. اگرچه تحقیقات فراوانی طی سی سال گذشته در زمینه تولید متابولیت‌های ثانویه انجام شده است، لیکن به‌دلیل فقدان اطلاعات پایه در رابطه با مسیرهای بیوسنتزی تولید مواد مذکور و کنترل چند آنزیمی این مسیرها و همچنین عدم آشنایی و دسترسی کافی به بیورآکتورها، تولید اقتصادی آن‌ها به جز در موارد خاص امکان‌پذیر نشده است (۲۱).

در بیوسنتز مونوترپن‌ها در گیاه آویشن (*Thymus vulgaris*) و نعناع فلفلی (*Mentha piperita*)، یک سیستم چندژنی با برهم‌کنش اپیستاتیک (برهمکنش ژن‌های غیرآلل) نقش دارد، اما در پونه آبی (*Mentha aquatica*) همه ژن‌های دخیل در مسیرهای بیوشیمیایی مونوترپن‌ها به صورت دو آللی با وراثت ساده غالب و مغلوبی است. بنابراین مهندسی ژنتیک می‌تواند به‌عنوان ابزاری قدرتمند جهت تولید متابولیت‌های ثانویه جدید و همچنین افزایش مقدار متابولیت‌های ثانویه موجود در یک گیاه به کار گرفته شود.

استفاده از پلی‌پلوئیدی

پلی‌پلوئیدی به افزایش تعداد سری کروموزوم‌های یک موجود تا چند برابر تعداد کروموزوم‌های اصلی (X) آن گفته می‌شود. پلی پلوئیدی مکانیسم هایی را در سلول فعال کرده و در نتیجه میزان DNA الگو و به‌دنبال آن نسخه برداری و ترجمه نیز تحت تاثیر قرار گرفته و منجر به افزایش، کاهش و حتی خاموشی برخی ژن‌ها می‌شود، و به این صورات بسیاری از صفات فیزیولوژیکی و ریخت شناسی گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۲۲).

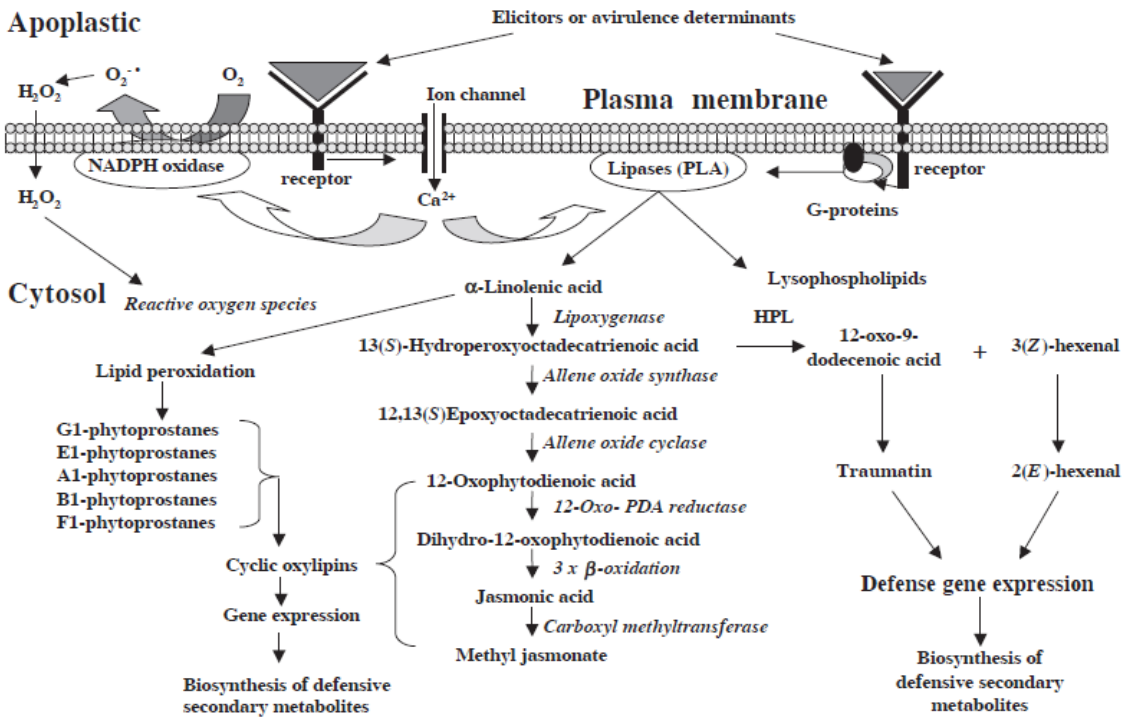
اگرچه پلی‌پلوئیدی مصنوعی به‌عنوان روشی برای اصلاح گیاهان زراعی به‌کاربرده شده است، اما در مورد گیاهان دارویی نیز برای افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان اصلاح شده به‌کار می‌رود. غالب گیاهان تتراپلوئید به‌خاطر داشتن تعداد کروموزوم‌های دوبرابر، اندازه بزرگتری دارند و از آن‌ها متابولیت ثانویه بیشتری به‌دست می‌آید. برای مثال در گیاه گندواش، ریشه‌های موئین تتراپلوئید ایجاد شده در مقایسه با ریشه‌های موئین دیپلوئید پنج برابر آرتمیزین تولید کرده‌اند (۲۳). با این‌حال افزایش سطح پلوئیدی در گیاهان همواره تولید متابولیت‌های ثانویه را ارتقا نداده بلکه در مواردی باعث کاهش آن‌ها نیز شده است. به‌طور مثال این پدیده در یکی از گونه‌های داتوره (*Datura innoxia*) دیده شده است (۲۴).

کاربرد الیسیتورها

الیسیتور (Elicitor) از ریشه Elicit به‌معنای بیرون کشیدن یا استخراج کردن مشتق گردیده و معادل "استخراج‌گر" یک واژه تعریف شده علمی برای فاکتورهایی است که به‌طور مستقیم یا غیر مستقیم تغییرات دفاعی قابل القا را در سیستم گیاهی مورد هدف قرار می‌دهد و منجر به فعال سازی دسته‌ای از مکانیزم‌های دفاعی و بیوسنتز مواد شیمیایی مفیدی می‌شود که در سازگاری گیاهان نسبت به شرایط پرتنش گیاه نقش اساسی دارند. به‌طور خلاصه الیسیتورها محرک‌های فیزیکی یا ترکیبات شیمیایی با منشا زیستی و غیرزیستی هستند که می‌توانند

پاسخ‌هایی را در گیاه القا کنند که باعث سنتز و تجمع متابولیت‌های ثانویه مشابه و جدید در سلول‌ها شوند. الیسیتورها برای گیاه یک‌سری از پیام‌های شیمیایی را می‌فرستند که سبب رها شدن پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مرفولوژیکی و تجمع فیتوالکسین می‌شود. طی پاسخ به سیگنال الیسیتور، سیستم دفاعی گیاه فعال می‌شود و در نتیجه بیان ژن‌های دفاعی، متابولیت‌های ثانویه تجمع می‌یابند (۲۵). کاربرد الیسیتورها به‌میزان محدود و در غلظت‌های پایین، بیوسنتز ترکیبات خاصی را در سیستم سلولی زنده تحریک یا بهبود بخشیده و به‌طور کلی زمان دستیابی به مقادیر بالای متابولیت‌ها را کاهش می‌دهد (۲۶ و ۲۷).

استخراج‌گری (Elicitation) تقریبا موثرترین راه‌کار عملی برای افزایش تولید ترکیبات ثانویه مطلوب در سیستم‌های گیاه، اندام و سلول است (۲۶ و ۲۷). الیسیتورها ممکن است ژن جدیدی را فعال کنند که می‌تواند آنزیم‌ها و در نهایت مسیرهای بیوسنتزی مختلفی را راه‌اندازی نموده و باعث تشکیل متابولیت‌های ثانویه شود (۲۸ و ۲۹). شروع پاسخ‌های دفاعی در گیاه شبکه‌ای از انتقال سیگنال (Signal transduction) را القا می‌کند که با تشخیص الیسیتور توسط پذیرنده‌های سطح سلول شروع می‌شود (۳۰). مسیرهای انتقال سیگنال در پاسخ‌های دفاعی گیاه در شکل ۱ نشان داده شده‌اند.



شکل ۱: مسیرهای انتقال سیگنال در پاسخ‌های دفاعی گیاه (اژائو و همکاران (۲۴))

استفاده از الیسیتورها در پژوهش‌های مربوط به زیست فناوری متابولیت‌های ثانوی گیاهی دو هدف اصلی را دنبال می‌کند: نخست کسب یافته‌هایی در زمینه مسیرهای بیوسنتزی که منجر به تشکیل و تنظیم متابولیت‌های ثانوی می‌شود. دوم افزایش تولید متابولیت‌های ثانوی برای کاربرد تجاری.

در منابع مختلف تقسیم بندی‌های متفاوتی برای الیسیتورها آمده است که در ادامه به آنها اشاره می‌شود.

الیسیتورهای بیرونی: الیسیتورهایی هستند که از مواد ترشح شده به بیرون سلول مانند پلی‌ساکاریدها، پلی‌آمین‌ها و اسیدهای چرب به‌دست می‌آیند.

الیسیتورهای درونی: شامل مواد ترشح شده از درون سلول مانند گالاکتورونید و هپتا ـ بتا ـ گلوکوزید هستند.

الیسیتورها بر اساس برهم کنش الیسیتور-گیاه به دو گروه الیسیتورهای عمومی و الیسیتورهای ویژه نژادی تقسیم‌بندی می‌شوند. الیسیتورهای عمومی باعث القا پاسخ‌های دفاعی هم در گیاه میزبان و هم در گیاه غیرمیزبان می‌شوند، در حالی‌که الیسیتورهای ویژه نژادی پاسخ‌های

دفاعی مقاومت به بیماری را تنها در میزبان‌های ویژه بسته به حضور هم‌زمان ژن‌های غیربیماری‌زا (Avirulence Genes "avr genes") در پاتوژن و ژن‌های مقاومت (Resistance Genes "R genes") در گیاه القا می‌کنند (۲۸ و ۳۰).

در دیگر دسته‌بندی رایج، الیسیتورها براساس طبیعت‌شان به الیسیتورهای زیستی (Biotic) و الیسیتورهای غیرزیستی (Abiotic) طبقه‌بندی می‌شوند:

الف) الیسیتورهای زیستی

الیسیتورهای زیستی مولکول‌هایی از پاتوژن‌ها یا خود میزبان می‌باشند که می‌توانند باعث القای پاسخ‌های دفاعی شوند. این مولکول‌ها به ترکیباتی اطلاق می‌شود که به‌وسیله عمل آنزیم‌های گیاهی روی دیواره سلولی میکروارگانیسم‌ها ساخته می‌شوند. الیسیتورهای زیستی همچنین شامل ترکیبات طبیعی هستند که به‌وسیله سلول‌های گیاهی در پاسخ به تحریک کننده‌های مختلف تولید می‌شوند. به‌عنوان نمونه می‌توان از عصاره مخمر، ترکیبات پلی ساکاریدی دیواره سلولی، الیگوساکاریدها، پروتئین‌ها، گلیکوپروتئین‌ها و اسیدهای چرب نام برد (۳۱).

ب) الیسیتورهای غیرزیستی

الیسیتورهای غیرزیستی شامل پرتو فرابنفش، فلزات سنگین، ترکیبات غیرضروری محیط کشت و بسیاری از موارد دیگر می‌گردند. الیسیتورهای غیرزیستی تحریک کننده‌های تولید فیتوآلکسین‌ها بوده و از آن‌ها در گیاهان زیادی به منظور افزایش متابولیت‌های ثانویه استفاده گردیده است (۲۵ و ۳۱). در این مقاله افزایش تولید برخی از متابولیت‌های ثانویه در کشت سلول گیاهی با استفاده از الیسیتورهای غیرزیستی مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مکانیسم تحریک در سلول‌های گیاهی

الیسیتور برای یک گیاه به‌عنوان محرک عمل می‌کند که می‌تواند پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی و تجمع فیتوالکسین‌ها را در گیاه باعث شود. به‌خوبی معلوم شده است که تیمار گیاهان با الیسیتورها مشابه حمله پاتوژن-های ناسازگار موجب بروز آرایشی از عکس العمل‌های دفاعی، از قبیل تجمع مجموعه‌ای از متابولیت‌های ثانویه دفاعی در گیاه سالم یا در کشت‌های سلول گیاهی می‌شوند. مکانیسم دقیق تحریک هنوز به‌طور کامل شناخته نشده است، اما مکانسیم‌های مختلفی در این خصوص مانند Ca^{+2} پیک، فاکتورهای موثر در پیوستگی غشا سلول، ممانعت یا فعالیت مسیرهای بین سلولی و تغییرات در استرس اسموتیکی پیشنهاد شده‌اند. بعضی محققان فرض کرده‌اند که الیسیتورها به یک گیرنده غشای پلاسمایی برای فرآیند تحریک متصل می‌شوند. کنش‌های اصلی در تحریک سلول توسط الیسیتورها، اتصال به گیرنده‌های پروتئینی خاص در غشای پلاسمایی، کاهش pH سیتوزول و تولید گونه‌های اکسیژن واکنشگر و در نهایت فعال شدن رونویسی از ژن‌های دخیل در فرآیندهای پاسخ دفاعی سلول است (۳۲) .

انتقال الیسیتورها یا سیگنال‌ها در سلول‌های گیاهی می-تواند مکانیسم‌های سودمندی در تولید متابولیت‌های ثانویه را القا کند. در این مکانیسم‌ها پیامبرهای ثانویه‌ای تولید می‌شوند که منجر به فعال‌سازی آبشارهای پروتئین کیناز می‌شوند که آن‌ها نیز به‌نوبه خود قادرند توانایی بیوسنتزی تولیدات گیاهی خاصی را فعال کنند. یک مکانیسم ممکن است برای تحریک زیستی در گیاهان براساس میان‌کنش-های گیرنده الیسیتور خلاصه شود. زمانی‌که گیاه یا سلول گیاهی توسط الیسیتور تحریک می‌شود، دسته‌ای از واکنش‌های بیوشیمیایی در چندین مرحله اتفاق می‌افتند که در زیر اشاره می‌شوند.

۱- اتصال الیسیتور به گیرنده غشای پلاسمایی

۲- تغییر در جریانات یونی در طول غشا: جریان یون-های K^+، Cl^- و Ca^{+2} از فضای خارج سلول یا از ذخایر درون سلولی به سیتوپلاسم

۳- تغییر سریع در الگوهای فسفریلاسیون پروتئینی، فعالیت پروتئین کیناز، فعالیت پروتئین G و تحریک پروتئین کیناز فعال شده میتوژن (Mitogen Activated Protein Kinase)

۴- سنتز فسفولیپازهای A، C و D (PLA، PLCو PLD) و تولید پیامبرهای ثانویه، اینوسیتول ۱ و۴ و ۵ تری فسفات (Inositol 1,4,5 triphosphate) و دی‌اسیل-گلیسرول (Diacylglycerol) که از طریق آزادسازی Ca^{+2} درون سلولی و مسیر سیگنالی، اکتادکانوئید و نیتریک‌اکساید را واسطه‌گری می‌کنند.

۵- تولید گونه‌های اکسیژن واکنشگر مانند یون سوپراکسید و پراکسید هیدروژن که ممکن است دارای اثرات مستقیم

ضدمیکروبی باشند و نیز منجر به تولید مشتقات اسیدچرب فعال زیستی شوند و در اتصال عرضی پروتئین-های غنی از پرولین متصل به دیواره سلول شرکت کنند. پراکسید هیدروژن می‌تواند به‌عنوان یک پیام رسان ثانویه عمل کند و در فعال سازی رونویسی ژن‌های دفاعی نقش داشته باشد.

۶- اسیدی شدن سیتوپلاسم در اثر غیر فعال شدن H^+-ATPase، کاهش در قطبیت غشا و افزایش pH خارج سلولی

۷- فعال سازیNADPH اکسیداز که باعث تولید ROS و اسیدی شدن سیتوسول می‌شود.

۸- سازماندهی مجدد غشای سلولی

۹- تجمع پروتئین‌های مربوط به دفاع یا پروتئین‌های مربوط به بیماری‌زایی مانند کینازها، گلوکونازها، اندوپلی-گالاکتورونازهایی که منجر به آزاد سازی الیگومرهای پکتیکی پیام دهی می‌شوند، گلیکوپروتئین‌های غنی از هیدروکسی پرولین و بازدارندهای پروتئازی

۱۰- واکنش حساسیت فوق‌العاده (Hypersensitivity) و مرگ سلولی

۱۱- تغییرات ساختمانی در دیواره سلولی (چوبی شدن دیواره سلولی، رسوب کالوس)

۱۲- فعالیت رونویسی ژن‌های مربوط به پاسخ دفاعی مانند فنیل‌آلانین آمونیالاز (Phenylalanine Ammonialyase)، گلوتاتیون ترانسفراز (Glutathione S-transferase) و چالکون سنتاز (Chalcone Synthases). ضمناً مولکول‌های دفاعی گیاه مانند تانن‌ها و فیتوالکسین ۴-۲ بعد از تحریک توسط محرک کشف شده‌اند.

۱۳- سنتز اسید جاسمونیک و اسید سالیسیک به‌عنوان پیام‌رسان‌های ثانویه

۱۴- مقاومت اکتسابی سیستمیک (Systemic Acquired Resistance)

آنچه مشخص شده این است که الیسیتورها از طریق گیرنده‌های موجود در غشای پلاسمایی دریافت می‌شوند و از طریق سیستم‌های سیگنالینگ نسخه‌برداری و ترجمه (بیان) ژن‌های دخیل در بیوسنتز متابولیت‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۳۳).

نمونه‌هایی از کاربرد الیسیتورهای غیرزیستی در تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهی

عوامل مختلفی مانند غلظت الیسیتور، سن سلول‌ها، نوع محیط کشت، زمان در معرض قراردهی یا افزودن الیسیتور به محیط کشت و مدت زمانی که محیط کشت در معرض الیسیتور قرار می‌گیرد، بر تولید متابولیت‌های ثانویه تاثیر می-گذارند (۳۴). در بین الیسیتورهای غیرزیستی، الیسیتورهایی که در مقیاس نانو به‌منظور تولید متابولیت‌های ثانوی در کشت سلول‌های گیاهی به‌کار رفته‌اند دارای جایگاه ارزشمندی می‌باشند.

به‌منظور تولید سنگوئینارین و تبائین در سوسپانسیون سلولی مریستم و ریشه گیاه خشخاش از نانو دی-اکسیدتیتانیوم استفاده شد که نتایج حاصل از آن طی ۲۴ ساعت پس از اعمال تیمار افزایش دو آلکالوئید مزبور را تا ۲/۱ برابر نسبت به شاهد نشان داد (۳۵). همچنین جهت تولید آلوئین در گیاه آلوئه‌ورا از دو نانوالیسیتور نقره و دی-اکسیدتیتانیوم استفاده شد و نتایج حاکی از آن بود که دو نانوالیسیتور مذکور طی ۴۸ ساعت پس از اعمال تیمار به-ترتیب باعث افزایش آلوئین به‌میزان ۴۳/۷ و ۱۱/۶ درصد شدند، اما پس از آن تولید آلوئین تا رسیدن به سطح کنترل کاهش نشان داد (۳۶). اثر نانو نقره بر تقسیم سلولی و شاخص‌های میتوزی که خود بر میزان تولید متابولیت‌ها موثر می‌باشد نیز مورد بررسی قرارگرفته است. در این رابطه محققین از گونه‌های گیاهی جنس *Allium* استفاده کردند و دریافتند که نانونقره به‌صورت معنی‌داری شاخص میتوزی را کاهش و دگرگونی ساختاری در کروموزوم را افزایش داد (۳۴ و ۳۵).

اگرچه نانو ذرات به‌راحتی به سیستم بافت گیاهی نفوذ کرده و روی میزان تولید متابولیت‌های ثانویه تاثیر مثبت می‌گذارند، اما در غلظت‌های بالا و حضور طولانی مدت در محیط، به‌واسطه کاهش شاخص میتوزی و آزاد کردن یون-های سمی باعث ایجاد مسمومیت سلولی (cytocyctic) می-شوند. چنانکه پیش‌تر گفته شد، الیسیتورها در محیط کشت از طریق فعال کردن ژن‌های مربوط به مکانیسم‌های دفاعی باعث القای تشکیل متابولیت‌های ثانویه می‌شوند، اما پس از آن پاسخ سلولی نسبت به حضور الیسیتورها (نانوالیسیتورها) منفی بوده و با از بین رفتن نیروی محرک پروتون‌ها (Proton-motive force) در عرض غشا، ناپایدار شدن غشا خارجی و آزاد کردن گونه‌های اکسیژن

واکنش‌گر همراه است. گونه‌های اکسیژن واکنشگر تولید شده ممکن است جزئی از مکانیسم سمیت ژنی (Genotoxic) نانو الیسیتورها باشد که به صورت مستقیم پروتئین‌ها را تخریب کرده و یا آنها را برای تجزیه حساس می‌کند. در صورت حضور طولانی مدت نانوالیسیتورها در محیط، گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر روی DNA اثر مخرب داشته و منجر به کاهش تولید مواد موثره می‌شود (۳۷).

تابش پرتو فرابنفش به‌طور معنی‌داری باعث افزایش تولید رسوراترول در برگ و میوه و کالوس حاصل از آن‌ها و همچنین سوسپانسیون سلولی تعدادی از ارقام انگور گردیده است (۳۸ و ۳۹).

استفاده از اسید سالیسیلیک و محرک‌های قارچی روی تولید تاکسول در سوسپانسیون سلولی گیاه سرخدار (*Taxus bacata*) موثر بوده است. نتایج مطالعات در این خصوص نشان داده است که ترکیب اسید سالیسیک و محرک قارچی روی بیوماس سلول‌های گیاه مزبور تاثیر نداشته، اما موجب تولید بیشترین میزان تاکسول شده‌اند (۴۰). همچنین در آزمایش دیگری با افزودن پیش‌ماده-های موالونات و ان-بنزوئیل گلیسین به کشت سوسپانسیون سلولی گیاه سرخدار میزان تولید تاکسول تا ۳ برابر افزایش یافت (۴۱).

تولید ۶-متوکسی پودوفیلوتوکسین در کشت سلول یکی از گونه‌های وحشی جنس کتان (*Linum nodiflorum*) تحت تاثیر متیل جاسمونات به‌میزان ده برابر افزایش یافت (۳۶). کاربرد متیل جازمونات همچنین توانسته است تولید رسوراترول را در برگ و میوه و کالوس حاصل از آن‌ها و همچنین سوسپانسیون سلولی تعدادی از ارقام انگور به‌میزان قابل توجهی افزایش دهد (۴۲ و ۴۳).

نیترات نقره ($AgNO_3$) و کلرید کادمیوم ($CdCl_2$) موجب تحریک تولید تروپان‌آلکالوئیدهای اسکوپولامین و هیوسیامین از طریق کشت ریشه‌های موئین گیاه تاتوره معطر (*Bragmansia candida*) شده و باعث افزایش تولید این آلکالوئیدها شده‌اند (۴۴).

در آزمایشی از سطوح مختلف نیتروژن و بنزیل آدنین به‌منظور تولید آلوئین از گیاه آلوئه‌ورا استفاده شد و پس از ۱۲ ماه میزان آلوئین نه تنها با کاربرد هر یک از دو الیسیتور فوق به‌تنهایی افزایش یافت، بلکه کاربرد هم‌زمان آن‌ها نیز دارای اثرات متقابل مثبت بود و موجب افزایش بیشتر میزان آلوئین شد (۴۵).

گزارش‌ها نشان داده‌اند که با اضافه کردن قندها به‌منظور بهینه‌سازی عناصر غذایی محیط کشت، میزان تولید متابولیت ثانویه بالا رفته است (۴۶). در این رابطه، وقتی به‌جای ۲/۵ درصد ساکارز در کشت سلولی گیاه حسن یوسف به‌میزان ۷/۵ درصد استفاده شد، عملکرد رزمارینیک اسید معادل ۴ برابر افزایش یافت.

به‌دلیل اهمیت اقتصادی و افزایش تقاضا برای تولید متابولیت‌های ثانویه، محققین به‌دنبال روش‌هایی برای تولید هرچه بیشتر و با کیفیت‌تر این ترکیبات هستند. بیوتکنولوژی قادر است کارآیی گیاهان دارویی را جهت تولید دارو افزایش دهد. کشت سلول، بافت و اندام‌های گیاهی و بهره‌گیری از الیسیتورها امکان تولید سریع و انبوه متابولیت‌های با اهمیت را فراهم می‌سازد. استفاده از الیسیتورها روش مناسبی به‌منظور تولید هر چه بیشتر متابولیت‌های ثانوی در شرایط درون شیشه‌ای می‌باشد. به‌نظر می‌رسد ترکیبات فعال الیسیتورها نقش موثری در القای پاسخ‌های دفاعی و افزایش تولید متابولیت‌های ثانوی دارند. الیسیتورها بیان ژن را در گیاهان تحت تاثیر قرار داده و با از بین بردن سدهای مهارآنزیمی یا دست‌کاری مسیر آنزیم‌ها باعث تغییر در سطح تولید متابولیت‌ها می-گردند. همچنین از این طریق می‌توان سطح آنزیم‌های موثر در مسیر بیوسنتز را اندازه‌گیری و جهت کنترل مسیرهای بیوسنتز آنها را شناسایی کرد و روش‌های جدیدی در کنترل و تولید متابولیت‌ها ارائه نمود.

منابع

1. Sarin R. Useful Metabolites from plant tissue cultures. Biotechnol. 2005; (4): 79-93.

2. Patel H, Krishnamurthy R. Elicitors in plant tissue culture. J. Pharmacog & Phytochem. 2013; 2(2): 60-65.

3. Reynolds, T. Aloe chemistry. In Reynolds T(Ed), the genus Aloe, CRC Press, Boca Raton. Florida, USA. 2004; 39-74.

4. Facchini PJ, St-Pierre B. Synthesis and trafficking of alkaloid biosynthetic enzymes. Curropin in Plant Biol. 2005; 8: 657-666.

5. Zaho J, Davis LC, Verpoorte R. Elicitor signal transduction leading to production of

plant secondary metabolites. Biotech Advances. 2005; 23(4), 283-333.

6. Furze JM, Rhodes MJ, Parr AJ, Robins RJ, et al. Abiotic factors elicit sesquiterpenoid phytoalexin production but not alkaloid production in transformed root cultures of *Datura stramonium*. Plant Cell Reports. 1991; 10(3): 111-114.

7. Smetanska I. Production of secondary metabolites using plant cell culture. Advances in Biochem Eng Biotech. 2008; 111: 187-228.

8. Rao SR, Ravishankar GA. Plant cell cultures: chemical factories of secondary metabolites. Biotech Advances. 2002; 20 (2): 101-153.

9. Dewick PM.Medicinal natural products. A biosynthetic approach. Second edition,Wiley. 2002; 7: 121-140.

10. Taiz L, Zeiger E. Plant physiology, 4th Ed. Sinauer Associates Inc. Sunderland, Massachusetts.USA; 2006; 260-287.

11. Sangwan NS, Farooqi AH, Shabih F, Sangwan RS. Regulation of essential oil production in plants. Plant Growth Regul. 2011; 34:21-34.

12. Yin L, Cheng Ying w, Espinasse B, Colman A, et al. More than the Irons: The effects of silver nanoparticles on *Lolium multiform*. Environ Sci & Technol. 2011; 45(1): 2360-2367.

13. Anterola AM, Jeon JH, Davin LB.Transcriptional control of monolignol biosynthesis in *Pinus taeda*. J Biol Chem. 2002; 227(21): 18272-18280.

14. Zhao JL, Zhou LG, Wu JY. Effects of biotic and abiotic elicitors on cell growth and tanshinone accumulation in *Salvia miltiorrhiza* cell cultures. Applied Microb & Biotech. 2010; 87(1): 137-144.

15. Mulabagal V, Tsay HS. Plant cell cultures, an alternative and efficient source for the production of biologically important secondary metabolites. Int J of Applied Sci & Eng. 2004; 2(1): 29-48.

16. Bladi A, Dixit VK. Yield enhancement Strategies for artemisinin production by suspension culture of *Artemisia annua*. Bioresource Technol. 2008; (99): 4609-4614.

17. Roberts SC, Shuler ML. Large-scale plant cell culture. Current Opinion in Biotech. 1997; (8): 154-159.

18. Matkowski A. Plant in vitro culture for the production of antioxidants. A review. Biotech Advance. 2008; (26): 548-560.

19. Saadat SS, Piri Kh, Esna-Ashari M, Gholami M, et al. Production and Realease of Tropane Alkaloids from Deadly Nighushade (*Atropa belladonna* L.) in Hydroponic Condition. Plant Production Tech. 2011; (11): 25-32.

20.Dellapenna D. Plant Metabolic Engineering . Plant Physiol. 2000; 125:160-163.

21. Bourgaud F, Gravot A, Goniter E. Production of plant secondary metabolites. Plant Science. 2002; 161(5): 839-851.

22. Dhawan OP, Lavania UC. Enhancing the productivity of secondary metabolites via induced polyploidy: a review. Euphytica. 1996; 87: 81 - 9.

23. Jasus-Gonzalez LDE, Weathers PJ. Tetraploid *Artemisia annua* hairy roots produce more artemisinin than diploid. Plant Cell Reports. 2003; 21(8): 809-813.

24. Niimi H, Watenabe M, Serizawa H, et al. Amiprophosmethyl- induced efficient in vitro production of polyploids in Raphano brassica with the aid of aminoethoxyvinylyglycine (AVG) in the culture medium. Breeding Science.2015; 65(5):396-402.

25. Zhao DX, Fu CX, Han YS, Lu DP. Effects of elicitation on jaceosidin and hispidulin production in cell suspension cultures of *Saussurea medusa*. Process Biochem. 2005; 40(2): 739-745.

26. Radman R, Saez T, Bucke C, Keshavarz T. Elicitation of plants and microbial cell systems. Biotech & Applied Biochem. 2003; 37(1): 91-102.

27. Ramachandra CT, Srinivasa Rao P. Processing of Aloe vera Leaf Gel :A Review . Am J Agric & Bio Sci. 2008; 3(2): 502-51.

27. Zhang C, Yan Q, Cheuk WK, Wu J. Enhancement of tanshinone production in *Salvia miltiorrhiza* hairy root culture by Ag+

elicitation and nutrient feeding. Planta Medica. 2004; 70(2): 147-151.

28. Zhang C, Yan Q, Cheuk WK, Wu J. Enhancement of tanshinone production in Salvia miltiorrhiza hairy root culture by Ag+ elicitation and nutrient feeding. Planta Medica. 2004; 70(2): 147-151.

29. Howlett B. Secondary metabolites toxins and nutrition of plant pathogenic Fungi. Current Opinion in Biotech. 2006; 9(4): 371-375.

30. Zhang Y, Mian MR, Bouton JH. Recent Molecular and Genomics Studies on Stress Tolerance of Forage and Turf Grasses. Crop Science. 2006; 46: 497-511.

31. Choi HK, Yun JH, Kim SL, Son JS, et al. Enhanced production of paclitaxel by semi-continuous batch process (SCBP) in suspension culture of *Taxus chinensis*. Enzyme and Micro Tech. 2001; 29: 583-586.

32. Pitta-Alvarez SI, Spollansky TC, Giulietti AM. The influence of different biotic and abiotic nitrogen metabolism of growing spinach. Biol Trace Element Res. 2000; 110(2): 179-190.

33. Lee-Sae N, Kerdchoechuen O, Laohakunjit N. Effect of ammonium nitrate on cell growth and production of phenolic compounds in cell suspension cultures of *Vitis vinifera*. *Aric Sci l*. 2011; 42(2): 249-252.

34. Bota C, Deliu C. The effect of copper sulphate on the production of flavonoids in *Digitalis lanata* cell cultures. Farmacia. 2011; 59(1): 113-118.

35. Khodayari M, Omidi M, Boushehri AK, Yazdani D, et al. Effect of biotic and nano elicitors on enhancement of alkaloids in *Papaver somniferum* L. Iranian J Hort Sci. 2014; 14(45): 287-295.

36. Raei M, Angaji SAH, Omidi M, Khodayari M. Effect of abiotic elicitors on tissue culture of *Aloe vera*. Int J Biosci. 2014; 5(1): 74-81.

37. Lok CN, Ho C, Chen R, He QY, et al. Proteomics analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles. J Proteomic Res. 2007; 5(4): 916-24.

38. Esna-Ashari M, Mahmoudi Pour A. Ultra violet irradiation enhances resveratrol production in organs and cell suspension cultures of two Iranian grape cultivars. Food. 2010; 1: 23-26.

39. Esna-Ashari A, Mahmoudi Pour A, Karami O. The effect of UV irradiation on resveratrol production in leaf and fruit of two Iranian grape (*Vitis vinifera* L.) cultivars. Iranian J Hort Sci. 2008; 1: 2-10.

40. Long-Jiang Y, Wen-Zhi L, Wen-Min Q, Hui-Bi Xu. Effects of Salicylic acid on fungal elicitor-induced membrane-lipid peroxidation and Taxol production in cell suspension cultures of *TaxusChinensis*. J Process Biochem. 2010; 370: 477-482.

41. Cusido RM, Palazon J, Bonfill M, Navia Osorio A, et al. Improved paclitaxel and baccatin III production suspension culture of *Taxus media*. Biotech Progress. 2002; 18(3): 418-423.

42. Esna-Ashari M, Mahmoudi Pour A. Effect of methyl jasmonate on resveratrol production in organs and cell suspension cultures of two Iranian grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars. J Hort Sci & Biotech. 2011; 6(8): 557-562.

43. Esna-Ashari M, Mahmoudi Pour A, Karami O, Hesari M. Changes in the amount of resveratrol in leaf and fruit and the possible effect of methyl jasmonate on it in two Iranian grape (*Vitis vinifera* L.) cultivars. J Sci & Tech Agric & Nat Reso. 2008; (45): 571-579.

44. Radman R, Saez T, Bucke C, Keshavarz T. Elicitation of plant and microbial systems. Biotech & Applied Biochem. 2003; 37: 91-102.

45. Hazrati S, Tahmasebi Z, Babaei A. Enhancaing yield and aloin concentration of *Aloe vera* plants by stimutaneous application of N and benzyladenine. J Med Plant Res. 2010; 6(10): 1834-1841.

46. Misava M. Production of useful plant metabolites. In: Flechter A, editors. Adv. Biochem.Eng.Biotechnol. Berlin:springer-verlag. 1985; 59-88.

Journal of Cell & Tissue (JCT)
Winter 2017; 7(4)

Original Article

Abiotic Elicitors and Medicinal Plants Biotechnology

Raei M. M.Sc.[1], Esna-Ashari M. Ph.D.[2]*, Khodayari M. Ph.D.[3]

1. MSc graduated, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran
2. Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
3. University College of Agriculture and Natural Resources of Tehran, Karaj, Iran

* Email corresponding author: m.esnaashari@basu.ac.ir

Received: 6 Jun. 2016 Accepted: 22 Apr. 2017

Abstract

Medicinal plants, as one of the important sources for the treatment of diseases, have been used from thousands years ago. These plants produce a major and diverse group of secondary metabolites. Secondary metabolites are the compounds derived from the primary metabolites (metabolites associated with the plant nutrition and survival) essential to sustain plant life. Manipulation of the cell culture media by the abiotic elicitors is one of the important strategies for the induction and production of valuable metabolites, because the potential of natural producing of these compounds is very limited. Elicitors induce secondary metabolites by the activation of defense mechanisms and genes through the increasing ionic flow across the plasma membrane, reactive oxygen production, structural changes in the cell wall as well as phytoalexin production. In this paper, various aspects of increasing secondary metabolites production have been reviewed in the plant cell culture systems using abiotic elicitors.

Key words: Defense mechanisms, Phytoalexines, Plant cell culture