ایلیسیتورها و نقش آنها در سنتز متابولیت‌های ثانویه در شرایط درون شیشه‌ای

عظیم قاسم نژاد

استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

چکیده

الیسیتورها ترکیباتی با منشا زیستی و یا غیر زیستی هستند که از طریق القای پاسخ‌های دفاعی بیوسنتز و انباشت متابولیت‌های ثانویه را تحریک می‌کنند. 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 می‌شوند. دوم افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه برای کاربرد تجاری. ایلیسیتورها به‌طورکلی به دو دسته زیستی و غیر زیستی طبقه‌بندی می‌شوند: الیسیتورهای زیستی پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، گلیکوپروتئین‌ها و یا قطعات دیواره سلول قارچها، گیاهان (سلولز و پکتین) و میکروارگانیسم‌ها (کیتین و گلوکان)را شامل می‌شوند. ایلیسیتور با منشا غیرزیستی عمدتا نمک‌های معدنی یون‌های مس و کادمیوم، کلسیم و فاکتورهای فیزیکی مانند PH بالا را در بر می‌گیرند. ایلیسیتورها اغلب از طریق تاثیر مستقیم بر فعالیت ژنهای مسئول و یا آنزیم‌های دخیل در سنتز ترکیبات، سبب تسهیل و یا افزایش تولید متابولیت ثانویه گیاهی می‌شوند. یکی از مباحث مهم زیستی در رابطه با ایلیسیتورهاکه امروزه توجه دانشمندان را به خود جلب نموده است وجود ایندوفیت‌ها میباشد. بررسی‌ها نشان داده است که بسیاری از ترکیبات موثره موجود در گیاهان مستقیما تحت تاثیر ایندوفیت‌ها تولید شده و یا ایندوفیت‌ها در تولید آنها نقش محرک دارند. برای اولین بار توانایی تولید تاکسول توسط قارچ *T. andreanae* پس از ارزیابی کشت مایع قارچ با طیف الکتروسکوپی جرمی مشخص شد. اسید سالیسلیک و جاسمونات‌ها از ایلیسیتورهای کارامد و پرکاربرد بوده که در تحقیقات متعددی مورد استفاده قرار گرفتند. بررسیها نشان داده که کاربرد این ترکیبات سبب افزایش متابولیت‌های ثانویه گیاه در شرایط کشت بافت می‌شود. بررسی‌های انجام شده توسط مولف نشان داد که تغییرات ترکیبات موثره کالوس کنگرفرنگی تحت تاثیر ایلیسیتورهای مختلف از جمله شوری، اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک قابل توجه است. نکته مهم در مورد این واکنشها، این است که تجمع ترکیبات متابولیتی تحت تاثیر ایلیستور مورد استفاده با یکدیگر متفاوت است. لازم به ذکر است که واکنش سلولهای گیاهی به این ترکیبات و سایر ایلیسیتورها از گیاهی به گیاه دیگر متفاوت بوده و درک بهتر آنها نیازمند بررسی‌های بیشتر است.

کلمات کلیدی: ایلیسیتور،ایندوفیت، متابولیت ثانویه، اسید سالیسیلیک، اسید جاسمونیک،

مقدمه

در طبیعت گیاهان به حمله پاتوژن‌ها، حشرات، علفخواران و دیگر تنش‌های زیستی و غیرزیستی از طریق فعال کردن مکانیسم‌های دفاعی شامل القای تشکیل متابولیت‌های ثانویه نظیر فیتوالکسین‌ها، پاسخ‌های فوق حساسیتی و ایجاد سدهای دفاعی ساختاری مانند رسوب لیگنین در دیواره سلول پاسخ می‌دهند. الیسیتورها ترکیباتی با منشا زیستی و یا غیر زیستی هستند که از طریق القای پاسخ‌های دفاعی باعث بیوسنتز و انباشت متابولیت‌های ثانوی می‌شوند. 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 می‌شوند. دوم افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه برای کاربرد تجاری. ایلیسیتورها به‌طورکلی به دو دسته زیستی و غیر زیستی طبقه‌بندی می‌شوند: الیسیتورهای زیستی پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، گلیکوپروتئین‌ها و یا قطعات دیواره سلول قارچها، گیاهان (سلولز و پکتین) و میکروارگانیسم‌ها (کیتین و گلوکان) را شامل می‌شوند. ایلیسیتور با منشا غیرزیستی عمدتا نمک‌های معدنی و فاکتورهای فیزیکی، عناصر سنگین (مثل مس و کادمیوم)، کلسیم، pH بالا و.... را در بر می‌گیرند. با این وجود در کشت بافت اصطلاح ایلیسیتور در دامنه وسیعی استفاده شده و می‌تواند به هر مادهٔ شیمیایی (بیولوژیکی یا غیرآلی) یا

رفتاری که به افزایش تولید متابولیت ثانویه می‌انجامد، اطلاق شود. الیسیتورها ممکن است ژن‌های جدیدی را فعال کنند که آنزیم‌ها و در نهایت مسیرهای بیوسنتزی مختلفی را راه اندازی نموده و باعث تشکیل متابولیت‌های ثانویه شوند. شروع پاسخ‌های دفاعی در گیاه، شبکه‌ای از علائم هشدار دهنده را القاء می‌کند که با تشخیص مولکول‌های الیسیتور توسط پذیرنده‌ها انجام می‌شود. الیسیتورهای قارچی و ترکیبات اصلی دیواره سلول بسیاری از گونه‌های قارچی مانند کیتین و کیتوزان باعث افزایش میزان متابولیتهای ثانویه، بویژه ترکیبات دخیل در سیستم دفاعی گیاه می‌شوند. فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) آغازگر نخستین مرحله بیوسنتز فنیل پروپانوئیدها، پل ارتباطی بین متابولیت‌های اولیه و برخی از متابولیت‌های ثانویه است. مهمترین مرحله در بیوسنتز فنل-ها، دی‌آمیناسیون فنیل آلانین و تولید سینامیک اسید است. بیان و فعالیت این آنزیم تحت تاثیر عوامل زیستی (باکتری، ویروس و قارچ) و غیر زیستی (کاهش یا افزایش دما، زخم و اشعه ماورای بنفش) القا می‌شود. افزایش فعالیت PAL و دیگر آنزیم‌های مسیر فنیل پروپانوئیدی که منجر به افزایش ترکیبات فنلی می‌شوند، از نخستین پاسخ‌های گیاه به تنش است.

ایلیسیتورها و بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه

رابطه بین نقش یک ایلیسیتور در واکنش دفاعی بر علیه پاتوژن و پتانسیل القاء متابولیسم متابولیت‌های ثانویه، به وضوح در مطالعات فانک نشان داده شده است. ایلیسیتوری از قارچ توانسته بیوسنتز گلیسئولین در سویا را تحریک کند و همچنین بیوسنتز بربرین را در کشت سوسپانسیون سلولی *Thalictrum regosam* به چهار برابر افزایش دهد. تولید فیتوآلکسین، گلی‌سئولین به عنوان پاسخ دفاعی اولیه شناخته شده در سویا به حمله پاتوژن قارچی با شناسایی ایلیسیتور شروع می‌شود. مطالعات متعددی اثر ایلیسیتورهای قارچی در تحریک بیوسسنتز مادهٔ ضد توموری پاکلیتاکسل در کشت‌های سلولی سرخدار را نشان داده و این ایلیسیتورها از منابع میکروبی گوناگون مشتق شده‌اند. بررسی‌های اخیر نشان داده است که بیوسنتز پاکلیتاکسل در شرایط درون شیشه‌ای تحت تاثیر ایلیسیتور افزایش قابل توجهی نشان میدهد. به عنوان مثال جیدی و همکارانش دریافتند که همهٔ انواع ایلیسیتورهای قارچی استفاده شده، بیوسنتز پاکلیتاکسل را در کشت سلول افزایش می‌دهند. همچنین بیوسنتز پاکلیتاکسل در کشت سلولی *Taxus chinensis* با افزودن نسبتی از ایلیسیتور تولید شده از *Aspergilus nigar*، قارچ ایندوفیتی که در شرایط طبیعی پوست داخلی گیاه را آلوده می‌کند، افزایش یافت. ایلیسیتورهای قارچی هچنین جهت افزایش تولید جینسنوزید در سوسپانسیون سلولی جنسینگ استفاده شده‌اند. در مطالعاتی که توسط لو و همکاران انجام شد، مشخص گردید که عصارهٔ مخمر کارایی ایلیسیتور را داشته، و سبب افزایش 20 برابری تحریک تولید جینسنوزید شده‌است. همین طور آرچامبائولت و همکاران(1996) توانستند به تحریک دو برابری تولید ترکیب ضد میکروبی سنگوئنارین در کشت سلولی خشخاش با استفاده از ایلیسیتور کیتوزان دست یابند. برایند مطالعات انجام شده در مورد نقش ایندوفیتها در سنتز ترکیبات دارویی گیاهی بیان می‌کند که تولید متابولیت در هر گیاه با مشارکت ایندوفیت اختصاصی انجام شده حتی اگر برخی از آنها هنوز شناخته نشده باشند.

اسید جاسمونیک و مشتقات آن از جمله متیل جاسمونات (که مجموعاًبه‌عنوان جاسمونات‌ها شناخته می‌شوند) به عنوان ملکول‌های مهم انتقال سیگنال گیاهی در پاسخ به حملهٔ پاتوژن عمل می‌کنند. تعجب آور نیست که این ملکولها سبب القاء متابولیسم ترکیبات ثانویه در کشت‌های سلولی شوند. گوندلاچ و همکاران نشان داده‌اند که جاسمونات‌ها در افزایش تولید متابولیت ثانویه مبتنی بر ایلیسیتورها در دامنه وسیعی از کشت‌های سلولی دخالت دارند. ایلیسیتورهای قارچی همچنین جهت افزایش تولید جینسنوزید در سوسپانسیون سلولی جنسینگ استفاده شده‌اند. در مطالعاتی که توسط لو و همکاران(2001) انجام شد، مشخص گردید که عصارهٔ مخمر کارایی ایلیسیتور را داشته، و سبب افزایش 20 برابری تحریک تولید جینسنوزید شده‌است. آرچامبائولت و همکاران(1996) توانستند به تحریک دو برابری تولید سنگوئنارین (ترکیب ضد میکروبی) در کشت سلولی خشخاش با استفاده از ایلیسیتور چیتوزان دست یابند.

نقش کلی جاسمونات‌ها در رابطه با تشخیص ایلیسیتورهای مرتبط به تولید متابولیت‌های ثانویه در مطالعات سنجش بیوسنتز فیتوالکسین در کشت سلولی برنج ثابت شد. نشان داده شد که بین میزان جاسمونات با بیوسنتز ترکیبات فیتوالکسین ارتباط مستقیم وجود داشته، بصورتی که با ممانعت از تولید جاسمونات با استفاده از ایبوپروفن، میزان جاسمونات و فیتوالکسین کاهش یافت.

مشابه تحقیق بالا، اثر اسید جاسمونیک و استرهای متیلی آن (متیل‌جاسمونات) بر تشکیل متابولیت‌های ثانویه بطور وسیعی در کشت‌های سلولی تعدادی از گیاهان دارویی مورد آزمایش و بررسی قرارگرفته است. با توجه به تأثیرات ایلیسیتورهای قارچی، مطالعات متعددی نشان داد که جاسمونات‌ها برای تحریک بیوسنتز پاکلیتاکسل در کشت سلولی گونه‌های سرخدار (*Taxus sp*) مؤثر است. یاکیمون و همکاران(1996) نشان دادند که افزودن متیل جاسمونات به کشت‌های سلولی *Taxus media* سبب افزایش قابل توجه متابولیت‌های ثانویه شده، که از میان آنها پاکلیتاکسل نسبت به دیگر تاکسوئیدها افزایش بیشتری نشان داد.

نتیجهٔ مشابه‌ای نیز در کشت‌های *Taxus candensis* و *Taxus cuspidate* مشاهده شد، اگرچه تحت تاثیر تیمار اعمال شده، تاکسوئیدها نسبت به پاکلیتاکسل افزایش بیشتری داشت. جالب اینکه میرجلیلی و لیندن(1996) دریافتند تیمار ترکیبی متیل جاسمونات و اتیلن سبب افزایش نوزده برابری پاکلیتاکسل شده‌است. در مقابل، این مؤلفان گزارش نمودند که در سیستم مشابه، اضافه نمودن متیل جاسمونات تنها سبب افزایش سه برابری تشکیل پاکلیتاکسل شد. این واکنش سینرژیست ظاهری [بین جاسمونات و اتیلن] ممکن است بیانگر اثر متقابلی باشد که در طول مسیرهای چندگانه انتقال سیگنال درگیرند. جاسمونات‌ها همچنین برای افزایش جینسینوزیدها در کشت سلولی جینسینگ مؤثر واقع شده‌اند. استفاده از متیل جاسمونات در کشت‌های سلولی *Panax ginseng* بدون اثرگذاری بر تکثیر سلولی سبب افزایش تولید جینسینوزید شده‌است. همچنین گزارش شد که بین متیل جاسمونات و 2ـ4ـدی‌کلروفنوکسی‌استیک اسید(2,4.D) اثر متقابل آنتاگونیستی وجود داشته و بهترین اثر در محیط کشت‌های فاقد این تنظیم کنندهٔ رشد بدست می‌آید. در *Panax notoginseng*، متیل جاسمونات نه تنها میزان جینسنوزید را افزایش (بیش از 9 برابر) می‌دهد، بلکه همچنین بر نسبت و نوع جینسنوزیدها نیز مؤثر است. این مورد می‌تواند به‌عنوان یک مساله برای استفاده در سیستم تولید ترکیبات دارویی گیاهی مطرح شود. به نحوی‌که تاثیر آن ممکن است به نسبت هر یک از انواع جینسنوزیدهای موجود مربوط باشد. نشان داده شد که اسیدجاسمونیک سبب افزایش تولید هایپرسین و تسریع تکثیر سلولی در کشت‌های سلولی علف چای (*Hypericum perforatum*) شده‌است. هایپریسین‌ها ترکیبات نفتودیانترونی هستند که اهمیت فعالیت ضدافسردگی عصاره علف چای در وجود این ترکیبات است.

مواد خارجی

نشان داده شده‌است که انواع مختلفی از مواد غیرآلی سبب افزایش سنتز متابولیت‌های ثانویه شده و می‌توانند برای تحریک تولید ترکیبات دارویی گیاهی در شرایط کشت سلولی مورد استفاده قرار گیرند. افزودن سدیم ارتووانادات به کشت‌های *Eschscholtzia californica* به اندازه ایلیسیتورهای قارچی سبب افزایش تولید آلکالوئیدهای بنزوفنانترید شده‌است. همین طور افزودن وانادیل‌سولفات به کشت‌های سلولی *Cathranthus roseuse* تولید مادهٔ ضدتومور وینبلاستین را افزایش داد.

وانادات یک بازدارندهٔ پمپ پروتونی غشاء پلاسمایی و دیگر فسفوهیدرلازها بوده، و این افزایش‌ها در متابولیت‌های ثانویه ممکن است پاسخ سلول به استرس باشد. از دیگر مواد مورد استفاده در این روش می‌توان به استفاده از یون نقره (+Ag) و لانتانوم (+La3) اشاره کرد. برای مثال در کشت سلولی *Salvia miltiorrhiza* افزودن یون‌های نقره افزایش بیوسنتز دی‌ترپنوئیدهای تانشینون را سبب شده که مشابه تحریک ناشی از کاربرد ایلیسیتور در تشکیل متابولیت ثانویه است. بعلاوه نشان داده شد که بیوسنتز پاکلیتاکسل در کشت سوسپانسیون سلولی *Taxus yunanensis* حاوی لانتانوم افزایش یافت.

استرس‌های فیزیکی

قرار گرفتن کشت‌های سلولی گیاهی در معرض استرس‌های فیزیکی در نفوذپذیری غشاء اثر داشته و در جهت افزایش تولید متابولیت ثانویه موثر است. علاوه بر این، هرگونه افزایش نفوذپذیری غشاء می‌تواند به آزادسازی بیشتر متابولیت ثانویه به محیط رشد منجر شود. در کشت سوسپانسیون *Lithospermum erythrorhizon* نشان داده شد که قرار دادن سلول‌ها در معرض انرژی مافوق صوت، تولید شیکونین را 70% افزایش داد. افزایش بیوسنتز تاکسویانانین c در *T. chinensis* بطور مشابهی به‌دلیل قرار گرفتن کشت‌های سوسپانسیونی در معرض میدان الکتریکی متناوب بدست آمد. به نظر می‌رسد که اعمال اینگونه تیمارها سبب القاء و فعال کردن نوعی سیستم دفاعی شده که سبب افزایش بیوسنتز متابولیت ثانویه می‌شود.

افزایش تولید متابولیت ثانویه از طریق انتقال *Agrobacterium rhizogenes*

دستاورد جایگزین دیگر جهت حصول بیوسنتز متابولیت‌ها در کشت بافت گیاهان دارویی، آلوده کردن سلول‌های گیاهی با باکتری *خاکزی Agrobacterium rhizogenes* است. در این روش با تحریک رشد ریشه تولید متابولیت‌های ثانویه افزایش می‌یابد. این نوع کشت‌های ریشه به‌دلیل فراوانی ریشه‌های موئی، اصطلاحاً «ریشه مویین» گفته می‌شود. کشت‌های ریشه موئی اغلب بوسیلهٔ آلوده کردن ریز نمونه‌های گیاهی استریل از جمله برگ و دمبرگ به *Agrobacterium rhizogenes* ایجاد می‌شود. آلوده‌سازی (انتقال) عبارت است از انتقال پلاسمید باکتریایی و ترکیب بخش‌های کلیدی DNA پلاسمید با ژنوم گیاه میزبان است. کشت‌های ریشه موئین سریع الرشد بوده و در یک محیط کشت بسیار ساده، بدون هورمون گیاهی قابل نگهداری است. با در نظر گرفتن متابولیسم متابولیت ثانویه، یکی از فواید کشت ریشه‌های موئین این است که نسبت به گیاه مادری رشد یافته در شرایط طبیعی سطوح بیوسنتزی مساوی و حتی بیشتری دارد. همزیست کردن ریشه گیاهان با قارچ *Piriformospora indica* مشابه باکتری فوق عمل می‌کند. این قارچ با تحریک تولید ریشه‌های مویین در گیاهان آلوده سبب افزایش رشد، متابولیت و مقاومت گیاه به پاتوژن می‌شود. در تحقیقی که توسط نویسنده انجام شد، نشان داده شد که میزان اسید کلروجنیک عصاره متانولی برگ کنگرفرنگی در گیاهان همزیست شده با قارچ مذکور نسبت به انواع فاقد قارچ در سطح بالاتری بود.

اثر متیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید بر تجمع متابولیت‌های ثانویه: مطالعه موردی در کنگر فرنگی

به منظور بررسی اثر دو ایلیسیتور پرکاربرد متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک بر تولید متابولیت‌های ثانویه گیاه کنگرفرنگی، کالوس‌های این گیاه در محیط کشت جامد MS با اسیدسالیسیلیک و متیل‌جاسمونات در غلظت‌های 0، 25، 50، 100 و 200 میکرو مولار در دو آزمایش مستقل از هم تیمار شدند و پس از 4 هفته صفات فیزیولوژیکی کالوس به همراه برخی از ترکیبات بیوشیمیایی آن مورد مطالعه قرار گرفت. محتوی فنل کل کالوس به طور معنی‌داری با افزایش اسید سالیسیلیک، افزایش یافت به طوری‌که محیط حاوی 200 میکرومولار اسید سالیسیلیک حداکثر مقدار تجمع (2/56 میلی‌گرم بر گرم در کالوس تر و 25/69 میلی‌گرم بر گرم در وزن خشک کالوس) را نشان داد. اسید سالیسیلیک اثر معنی‌داری بر محتوی فلاونوئید کل نیز داشت. بیشترین میزان فلاونوئید در تیمار 100 میکرومولار (3/06 میلی‌گرم در گرم کالوس تر) و (27/6 میلی‌گرم در کالوس خشک) دیده شد و سپس با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک به 200 میکرومولار از میزان آن کاسته شد. همچنین کمترین مقدار فلاونوئید در تیمار شاهد مشاهده شد. کالوس تیمار شده با غلظت 100 میکرومولار اسید سالیسیلیک بیشترین توانمندی مهار رادیکال را نسبت به سایر تیمارها نشان داد. بین فلاونوئید، فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی همبستگی مثبت مشاهده شد. سیر افزایشی درصد مهار رادیکال‌های آزاد تا غلظت 100 میکرومولار مطابق با روند افزایش غلظت ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بوده ولی کاهش درصد مهار رادیکال‌آزاد همسو با کاهش ترکیبات فلاونوئیدی، بیانگر نقش بیشتر ترکیبات فلاونوئیدی در قابلیت آنتی‌اکسیدانی است.

نتایج نشان داد که بین تیمارهای اسید سالیسیلیک و میزان اسید کلروجنیک و اسید کافئیک اختلاف معنی‌داری وجود دارد. میزان اسید کلروجنیک با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک تا میزان مشخص افزایش یافت. بیشترین میزان اسید کلروجنیک در غلظت 100 میکرومولار (90/40 میکروگرم در گرم) مشاهده شد، ولی با افزایش بیشتر غلظت اسید سالیسیلیک، میزان اسید کلروجنیک

کاهش یافت، به طوری‌که میزان این متابولیت در غلظت 200 میکرومولار در حدود یک سوم مقدار تولید شده آن در غلظت 100 میکرو مولار بود. همچنین بررسی میزان اسید کافئیک سنتز شده در هر تیمار نشان داد که بیشترین میزان اسید کافئیک در غلظت 100 میکرومولار (13/04 میکروگرم در گرم) ثبت شد. مشابه اسید کلروجنیک افزایش بیشتر غلظت این ترکیب در محیط سبب کاهش سنتز اسید کافئیک شد. البته حداقل میزان تولید شده کافئیک اسید در کالوس‌های رشد یافته در محیط فاقد اسید سالیسیلیک که به عنوان شاهد تیمار شده بودند، مشاهده شد.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار فنل کل در کالوس پس از تیمار با متیل‌جاسمونات نشان داد که میزان این ترکیب با افزایش غلظت متیل‌جاسمونات افزایش می‌یابد. حداکثر مقدار آن در تیمار 200 میکرومولار (1/86میلی‌گرم برگرم کالوس تر و 35/75 میلی‌گرم برگرم کالوس خشک) و حداقل آن در محیط فاقد متیل‌جاسمونات با 4 برابر کاهش در مقایسه با تیمار 200 میکرومولار مشاهده شد.

نتایج نشان داد که تیمار متیل‌جاسمونات تأثیر معنی‌داری در سطح (0/001) بر محتوای فلاونوئید کالوس دارد. بیشترین میزان فلاونوئید کالوس‌تر در تیمار 100 میکرومولار (0/7 میلی‌گرم برگرم) مشاهده شد. در مقابل کمترین مقدار فلاونوئید در تیمار 25 میکرومولار مشاهده شد. بیشترین درصد مهار رادیکال آزاد (DPPH) 0/5 گرم کالوس تازه کنگرفرنگی، در تیمار 200 میکرومولار مشاهده شد و در مقابل کمترین درصد مهار رادیکال آزاد در شاهد مشاهده گردید. بین مقدار فلاونوئیدها و ترکیبات پلی‌فنلی و درصد مهار رادیکال آزاد همبستگی مثبت مشاهده شد. میزان اسید کلروجنیک و اسید کافئیک تحت تاثیر سطوح مختلف متیل‌جاسمونات نسبت به هم تفاوت معنی‌داری داشتند. بدین صورت که بیشترین سطح اسید کلروجنیک در غلظت 200 میکرومولار (168/93میکروگرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد. متیل‌جاسمونات تا غلظت 25 میکرومولار باعث افزایش تجمع اسید کافئیک شد، ولی با افزایش غلظت از سقف 25 میکرومولار از مقدار آن کاسته شد. با نتایج به‌دست آمده از بررسی سطوح اسید کافئیک و اسید کلروجنیک به نظر می‌رسد که با افزایش تنش ناشی از متیل‌جاسمونات، اسید کافئیک به عنوان یک پیش‌ساز به دیگر ترکیبات فنلی چون اسید کلرجنیک و سینارین تبدیل می‌شود و به همین دلیل از مقادیر این ترکیب کاسته می‌شود. کاهش تدریجی اسید کافئیک و افزایش اسید کلروجنیک پس از 25 میکرومولار و در غلظت‌های بالاتر متیل‌جاسمونات می‌تواند یکی از شواهد این احتمال باشد.

مقایسه تحقیقات انجام شده و تحقیق حاضر که توسط مولف انجام شده است بیان می‌کند که اگرچه در شرایط درون شیشه‌ای فاکتورهای محیطی(نور، دما، اکسیژن) و تغذیه ای(ترکیب مواد غذایی و نوع کشت) در راندمان تولید متابولیت های ثانویه به ویژه ترکیباتی که در مقادیر ناچیز تولید می شوند(مثل: پودوفیلوتوکسین‌ها و مشتقات تاکسول)از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند، استفاده از محرک‌ها(ایلیسیتورها) مسیر جدیدی در بهینه سازی تولید این ترکیبات فراهم آورده است. با این وجود نوع محرک و نقش محرک در تولید متابولیت ثانویه به نوع گیاه و ترکیب ارتباط تنگاتنگ داشته و لازم است که برای هر ترکیب مطالعات جداگانه صورت گیرد.

1- Walton, N.J., Alfermann, A.W., Rhodes, M.J.C. In: Wink, M. (Ed.), CRC Press, USA, 1999, pp. 311–345.

2- Vanisree, M., Lee, CY., Lo, SF., Nalawade, M.S, Lin, C.Y., Tsay, T.S. Bot. Bull. Acad. Sing. 2004, 45, 1–22.

3- Shanks, J.V., Morgan, J. Curr. Opin. Biotechnol. 1999, 10, 151–155.

4- Giru, A., Narasu, M.L. Biotechnol. Adv. 2000, 18, 1–22.

5- Oksman-Caldentey, K.-M., Inze, D. Trends Plant Sci. 2004, 9, 433–440.

6- Verpoorte, R., Memelink, J. Curr. Opin. Biotechnol. 2002, 13, 181–187.

7- Smith, J.I., Smart, N.J., Misawa, W.G.W., Kurtz, S.G. Plant Cell Rep. 1987, 58, 142–145.

8- Tal, B., Rokem, J.S., Goldberg, I. Plant Cell Rep. 1983, 2, 219–222.

9- Zhao, J., Davis, L.C., Verpoorte, R. Biotech. Adv. 2005, 23, 283–333.

10- Benhamou, N. Trends Plant Sci. 1996, 1, 233–240.

11- Funk, C., G□gler, K., Brodelius, P. Phytochemistry 1987, 26, 401–405.

12- Ciddi, V., Srinivasan, V., Shuler, M.L. Biotechnol. Lett. 1995, 17, 1343–1346.

13- Wang, C.G., Wu, J.Y., Mei, X.G. Appl. Microbiol. Biotech. 2001, 55, 404–410.

14- Lu, M.B., Wong, H.L., Teng, W.L. Plant Cell Rep. 2001, 20, 674–677.

15- Archambault, J., Williams, R.D., Bedard, C., Chavarie, C. J. Biotech. 1996, 46, 95–106.

16- Pozo, M.J., Van Loon, L.C. J. Plant Growth Reg. 2004, 23, 211–222.

17- Gundlach, H., Muller, M.J., Kuchan, T.M., Jenk, M.H. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1992, 89, 2389–2393.

18- Nojiri, H., Sugimori, M., Yamanhe, H., Nishimura, Y., Yamada, A. Plant Physiol. 1996, 110, 387–392.

19-Yukimune, Y., Tabata, H., Higashi, Y., Hara, Y. Nature Biotech. 1996, 14, 1129–1132.

20-Ketchum, R.E.B., Gibson, D.M., Croteau, R.B., Shuler, M.L. Biotechnol. Bioeng. 1999, 62, 97–105.

21- Mirjalili, N., Linden, J.C. Biotech. Prog. 1996, 12, 110–118.

22-Wang, W., Zhong, J.J. J. Biosci. Bioeng. 2002, 93, 48–53.

23- Ghasemnezhad, A, Babaiizad, V, J. Plant Prod. Res. 2011, 1, 133-140.

24- Walker, T.S., Bais, H.P., Vivanco, J.M.. Phytochemistry 2002, 60, 289–293.

24- Briskin, D.P. Plant Physiol. 2000, 124, 507–514.

25-Villegas, M., Sommarin, M., Brodelius, P.E. Plant Physiol. Biochem. 2000, 38, 233–241.

26- Briskin, D.P., Hanson, J.B. J. Exp. Bot. 1992, 43, 269–289.

27- Zhang, C.H., Yan, Q., Cheukl, W.K., Wu, J.Y. Planta Med. 2004, 70, 147–151.

28- Lin, L.D., Wu, J.Y. Biotechnol. Bioeng. 2002, 78, 81–88.

29- Ye, H., Huang, L.L., Chen, S.D., Zhong, J.J. Biotechnol. Bioeng. 2004, 89, 788–795.

30- Archambault, J., Williams, R.D., Bedard, C., Chavarie, C. J. Biotech. 1996, 46, 95–106.