Journal of Medicinal Plants Biotechnology

JMPB

Review Article

Biotechnological approaches for inducing secondary metabolites in medicinal plants under abiotic stresses

Mohsen Sabzi Nojadeh [1*] ***Mina Amani*** [2] ***Mohammad Reza Jalali*** [3]

1. Associate Professor, Department of Natural Resources and Forestry, Faculty of Agriculture and Natural Resources of Ahar, University of Tabriz, Iran*

2. Ph.D. Student, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran

3. Master's Graduate, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran

ARTICLE INFO

Article history

Submitted: 2026-09-23

Revised: 2026-08-03

Accepted: 2026-09-30

KEYWORDS

Bioactive compounds, Metabolic pathways, Plant physiology, Sustainable agriculture.

ABSTRACT

A large proportion of the medicines used by humans are extracted directly or indirectly from plant secondary metabolites. These complex compounds, which include groups such as alkaloids, flavonoids, terpenes, and phenolic compounds, have demonstrated significant therapeutic properties, including anticancer, antibacterial, anti-inflammatory, and potent antioxidant effects. However, the increasing pressures of environmental stressors, climate change, and overexploitation of natural resources have placed many plant speciesespecially valuable medicinal plantsat risk of extinction. Under these critical conditions, traditional and direct extraction of these compounds from nature has become an unsustainable and unreliable approach. In such a scenario, plant biotechnology knowledge-particularly tissue culture techniques-has emerged as a promising solution. Methods such as suspension culture of plant cells, callus culture, production of hairy roots using *Agrobacterium rhizogenes*, genetic metabolic engineering of plants, and the use of advanced bioreactor systems enable the large-scale, controlled, and sustainable production of secondary metabolites in laboratory settings. In addition, these approaches provide precise control over the quality and purity of the final product and help prevent potential contaminants that may occur during traditional extraction processes. Overall, the development and application of these biotechnological strategies not only contribute significantly to the conservation of biodiversity, but also ensure a sustainable and cost-effective supply of materials to meet pharmaceutical and industrial needs for future societies. They offer a clear pathway toward the responsible use of plant resources.

* Corresponding author: Mohsen Sabzi Nojadeh

✉ E-mail: *m.sabzi@tabrizu.ac.ir*

CC BY

مجله زیست فناوری گیاهان دارویی

JMPB

مقاله مروری

راهکارهای زیست‌فناورانه در القای متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی تحت تنش‌های غیرزیستی

محسن سبزی نوجه ده *۱ ، مینا امانی ، محمدرضا جلالی .

*۱. دکترای تخصصی ، دانشیار گروه منابع طبیعی و جنگلداری، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، ایران.

۲. دانشجوی دکترای تخصصی ، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ایران.

۳. دانش آموخته کارشناسی ارشد ، مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۴۰۵-۰۵-۱۲

بازنگری: ۱۴۰۵-۰۷-۰۱

پذیرش: ۱۴۰۵-۰۷-۰۸

چکیده: بخش عظیمی از داروهای مورد استفاده بشر، به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم از متابولیت‌های ثانویه گیاهی استخراج می‌شوند. این ترکیبات پیچیده که شامل دسته‌هایی چون آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، ترپن‌ها و ترکیبات فنولی هستند، خواص درمانی قابل توجهی از خود نشان داده‌اند؛ ازجمله اثرات ضدسرطانی، ضدباکتریایی، ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی قدرتمند. با این حال، روند افزایشی فشارهای محیطی، تغییرات اقلیمی و بهره‌برداری بی‌رویه از منابع طبیعی، بسیاری از گونه‌های گیاهی، به‌ویژه گیاهان دارویی ارزشمند را در معرض خطر انقراض قرار داده است. این وضعیت، استخراج سنتی و مستقیم این ترکیبات از طبیعت را به رویکردی ناپایدار و اتکاناپذیر تبدیل کرده است. در چنین شرایط بحرانی، دانش زیست‌فناوری گیاهی، به‌ویژه تکنیک‌های کشت بافت، به‌عنوان راهکاری نویدبخش ظهور کرده است. روش‌هایی مانند کشت تعلیقی سلول‌های گیاهی، کشت کالوس، تولید ریشه‌های مویین توسط باکتری *Agrobacterium rhizogenes*، مهندسی متابولیک ژنتیکی گیاهان و استفاده از سیستم‌های بیوراکتور پیشرفته، امکان تولید انبوه، کنترل‌شده و پایدار این متابولیت‌های ثانویه را در محیط آزمایشگاهی فراهم می‌کنند؛ علاوه بر این، این روش‌ها کنترل دقیقی بر کیفیت و خلوص محصول نهایی ارائه می‌دهند و از آلودگی‌های احتمالی که در فرایندهای استخراج سنتی رخ می‌دهند، جلوگیری می‌کنند. در مجموع، توسعه و به‌کارگیری این استراتژی‌های زیست‌فناوری نه‌تنها به حفظ تنوع زیستی کمک شایانی می‌کند، بلکه می‌تواند برای تأمین پایدار و اقتصادی نیازهای دارویی و صنعتی جوامع در آینده استفاده شود.

واژگان کلیدی:

ترکیبات زیست‌فعال، فیزیولوژی گیاهی، کشاورزی پایدار، مسیرهای متابولیکی.

*نویسنده مسئول: محسن سبزی نوجه ده

✉ m.sabzi@tabrizu.ac.ir

Journal homepage: jmpb.znu.ac.ir

CC BY

مقدمه

گیاهان به‌عنوان مخازن طبیعی ترکیبات زیست‌فعال، همواره نقش کلیدی در تأمین نیازهای بشر ایفا کرده‌اند. افزایش روزافزون توجه به داروهای گیاهی، اهمیت این منابع طبیعی را دوچندان نموده است. متابولیت‌های ثانویه گیاهی که منبع غنی ترکیبات دارویی هستند(Jose and Thomas, 2014)، با روش‌های زیست‌فناوری، ازجمله کشت بافت، قابل استحصال پایدارند. با این حال، محدودیت در دسترسی به مواد خام گیاهی، مانعی برای کاربرد وسیع این ترکیبات در صنعت داروسازی است (Amani *et al*., 2025a). مهندسی متابولیک و بهینه‌سازی فرایندهای کشت بافت با هدف افزایش تولید زیست‌توده، راهکارهای مؤثری برای غلبه بر این محدودیت و تأمین پایدار ترکیبات زیست‌فعال مورد نیاز برای تحقیقات دارویی ارائه می‌دهند(Yarmohammadi *et al*., 2024).

گیاهان گیاهان قادر به سنتز طیف وسیعی از ترکیبات آلی هستند که به دو دسته اصلی متابولیت‌های اولیه و ثانویه تقسیم می‌شوند. متابولیت‌های اولیه، مولکول‌های حیاتی برای فرایندهای فیزیولوژیکی اساسی گیاه، ازجمله رشد، تکامل، فتوسنتز و تنفس، محسوب می‌شوند. در مقابل، متابولیت‌های ثانویه که در حفظ فرایندهای پایه‌ای حیات گیاه نقش مستقیمی ندارند، عمدتاً در سازوکارهای دفاعی و مقابله با تنش‌های محیطی دخیل و مسئول ویژگی‌هایی چون رنگ، عطر و طعم در گیاهان هستند (Amani *et al*., 2025a). ترکیبات زیست‌فعال گیاهی که زیرمجموعه‌ای از متابولیت‌های ثانویه هستند، در کشاورزی برای حفاظت از محصولات در برابر عوامل بیماری‌زا و آفات و همچنین در فرایندهای ارتباطی، مانند جذب گرده و پراکنش بذر، نقش ایفا می‌کنند(Wink, 2003). این ترکیبات منبع ارزشمندی برای صنایع دارویی (مانند مورفین، کدئین، کوکائین و کینین)، تولید حشره‌کش‌ها، مواد طعم‌دهنده و سایر ترکیبات بیوشیمیایی به‌شمار می‌روند؛ علاوه بر این، دسته‌های مهمی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی، نظیر ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها، ترپنوئیدها و مشتقات گوگرد و نیتروژن، در پیشگیری از بروز بسیاری از بیماری‌های انسانی تأثیرگذار هستند (Leicach and Chludil, 2014). تجمع و تولید متابولیت‌های ثانویه در گونه‌های مختلف گیاهی به‌شدت تحت تأثیر تنش‌های زیستی و غیرزیستی قرار دارد (Pavarini *et al*., 2012). به‌طور کلی، متابولیت‌های ثانویه گیاهی به سه دسته اصلی شامل ترپن‌ها، ترکیبات فنولی و ترکیبات نیتروژن‌دار طبقه‌بندی می‌شوند (Taiz and Zeiger, 2004).

در سال‌های اخیر، افزایش تقاضا برای محصولات ارگانیک و طبیعی، توجه بسیاری از پژوهشگران را به استفاده از تنش‌های غیرزیستی برای افزایش تولید این ترکیبات جلب کرده است. تنش‌های غیرزیستی مانند کم‌آبی، شوری و دماهای نامناسب می‌توانند به‌عنوان محرک‌هایی برای تولید متابولیت‌های ثانویه عمل کنند (Amani *et al*., 2023a). این تنش‌ها به گیاهان این امکان را می‌دهند که به‌طور طبیعی برای مقابله با شرایط سخت محیطی، مکانیزم‌های دفاعی خود را فعال کنند (Amani *et al*., 2023a)؛ برای مثال، در شرایط کم‌آبی، گیاهان ممکن است تولید آنتی‌اکسیدان‌ها را افزایش دهند که به آن‌ها در جلوگیری از آسیب‌های ناشی از اکسیداسیون کمک می‌کند (Akula & Ravishankar, 2011).

عوامل تنش غیرزیستی نه‌تنها به افزایش کیفیت گیاهان کمک می‌کنند، بلکه به گیاهان در مقابله با تنش غیرزیستی محیطی نیز یاری می‌رسانند (Amani *et al*., 2025b). این تنش‌ها می‌توانند باعث تحریک تولید ترکیباتی شوند که به‌عنوان دفاع طبیعی گیاهان در برابر آفات و بیماری‌ها عمل می‌کنند؛ به‌علاوه، این متابولیت‌های ثانویه می‌توانند به بهبود طعم و عطر گیاهان نیز کمک کنند که این امر به‌ویژه در صنعت غذایی حائز اهمیت است (Yeshi *et al*., 2022).

با توجه به تغییرات اقلیمی و نیاز به بهبود روش‌های کشاورزی، بررسی روش‌های مؤثر برای افزایش تولید ترکیبات زیست‌فعال در گیاهان می‌تواند به توسعه پایدار کشاورزی و افزایش تولید محصولات با کیفیت بالا منجر شود. استفاده از تنش‌های غیرزیستی به‌عنوان استراتژی مؤثر می‌تواند به کشاورزان کمک کند تا با چالش‌های

ناشی از تغییرات آب‌وهوایی مقابله کنند و در عین حال، کیفیت محصولات خود را افزایش دهند (Jan *et al*., 2021).

تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهی

متابولیت‌های ثانویه گیاهی دارای خواص آنتی‌بیوتیکی، ضدقارچی و ضدویروسی هستند و نقش اساسی در حفاظت گیاه در برابر پاتوژن‌ها و سایر عوامل بیماری‌زا ایفا می‌کنند. این ترکیبات نه‌تنه ابرای بقای گیاه ضروری هستند، بلکه در صنایعمختلف، مانند داروسازی، تولید رنگ‌های طبیعی، طعم‌دهنده‌ها، عطرها و شیرین‌کننده‌ها، کاربردگسترده‌ای دارند. در جوامع امروزی، بخش قابل توجهی از داروها یا مشتقات دارویی مبتنی بر ترکیبات فعال گیاهی هستند؛ به‌طوری که مواد واسطه گیاهی حدود ۲۵ درصد از کل داروهای تجویزی را تشکیل می‌دهند. رویکردهای زیست‌فناوری، به‌ویژه روش‌های کشت بافت گیاهی، ظرفیت بالایی برای تولید ترکیبات دارویی باارزش مانند آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، استروئیدها، ساپونین‌ها، ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها و اسیدهای آمینه نشان داده‌اند (Amani *et al*., 2023a). برخی از متابولیت‌های ثانویه مهم، مانند شیکونین و تاکسول، از طریق این روش‌ها در مقیاس صنعتی قابل تولید هستند. در شرایط طبیعی، تولید و تجمع این ترکیبات معمولاً محدود است و به دلایل مختلف امکان دسترسی پایدار به آن‌ها وجود ندارد. با این حال، کشت سلول‌ها یا بافت‌های گیاهی در بیوراکتورهای استریل می‌تواند تولید مداوم، باکیفیت و قابل کنترل متابولیت‌های ثانویه را فراهم سازد (Fowler, 1985; Akula & Ravishankar, 2011; Yeshi *et al*., 2022).

به‌منظور افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهی، راهبردهای متعددی به کار گرفته شده‌اند. این راهبردها شامل غربالگری و انتخاب لاین‌های سلولی با بازده بالا، استفاده از کشت سلول‌های اندام‌های مختلف (مانند اندام‌های هوایی، ریشه، برگ و کالوس)، کشت سوسپانسیون سلولی، القای تولید با فاکتورهای رشد، مهندسی متابولیک و بهینه‌سازی محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی است (Anand, 2010).

کشت سلول و بافت گیاهی به دلیل قابلیت تولید کنترل‌شده متابولیت‌های ثانویه، پتانسیل بالایی برای کاربردهای مختلف دارویی و صنعتی دارد. تولید متابولیت‌های ثانویه در شرایط کنترل‌شده، از نوسانات محیطی مصون بوده و از نظر اقتصادی مقرون‌به‌صرفه است (Rao and Ravishankar, 2002). این روش‌ها به تولید ترکیبات زیست‌فعال مهم کمک کرده و پیشرفت‌های حاصل در این زمینه منجر به افزایش چشمگیر تولید این ترکیبات شده است. جالب توجه است که متابولیت‌های ثانویه تولیدشده از طریق کشت بافت و اندام گیاهی، از نظر ساختار و خواص، شباهت بالایی به متابولیت‌های طبیعی موجود در گیاهان رشدیافته در طبیعت دارند. شیکونین و تاکسول، دو نمونه از این متابولیت‌های ثانویه، به‌صورت تجاری تولید و عرضه می‌شوند؛ علاوه بر این، کشت بافت به تولید حدود ۲۰ نوع پروتئین نوترکیب، ازجمله آنزیم‌ها، آنتی‌بادی‌ها، فاکتورهای رشد و واکسن‌های خوراکی نیز کمک کرده است. تولید انبوه متابولیت‌های ثانویه را می‌توان از طریق کشت سوسپانسیون سلولی، با انتقال کالوس به محیط کشت مناسب، به دست آورد. یکی از مزایای کلیدی استفاده از کشت سوسپانسیون سلولی نسبت به کشت اندام‌های گیاهی در شرایط مزرعه‌ای، کنترل تولید ترکیبات ناخواسته و مزاحم است. تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان عالی از طریق ریزنمونه‌های مختلف و در شرایط استریل امکان‌پذیر است. روش کشت سلول و بافت گیاهی به‌طور گسترده برای استخراج متابولیت‌های ثانویه از گونه‌های گیاهی متنوع، مورد استفاده قرار می‌گیرد (جدول ۱). این متابولیت‌ها که حدود ۱۰۰,۰۰۰ ترکیب از گیاهان عالی شناسایی شده است (Jeong and Park, 2006; Ahlawat and Abdin, 2017). معمولاً در مقادیر کمتری نسبت به متابولیت‌های اولیه سنتز می‌شوند. از این رو، بهینه‌سازی فرایند تولید برای افزایش بازده محصولات ضروری است. در بسیاری از موارد، روش‌هایی نظیر کشت سوسپانسیون، کشت اندام، کشت جنین و کالوس، در افزایش بازده متابولیت‌های ثانویه موفق بوده‌اند. این

متابولیت‌ها گاهی اوقات از بافت‌ها یـا انـدام‌های تخصصـی گیاه سنتز می‌شوند؛ برای مثال، سـاپونین‌ها از ریشـه گیـاه *Panax ginseng* تولید می‌شوند؛ بنـابراین، بـرای افـزایش تولید سـاپونین در محـیط کشـت آزمایشـگاهی، از کشـت ریشـه مـویین (*P. ginseng*) اسـتفاده می‌شـود. در حـال حاضر، سیستم‌های کشت مختلفـی ماننـد کشـت کـالوس، کشت اندام، کشـت ریشـه مـویین و کشـت سوسپانسـیون برای گیاهان دارویی متعدد توسـعه یافته‌انـد. همان‌طورکـه در جـدول ۱ بـه‌طور خلاصـه توضـیح داده شـده اسـت، روش‌هـای زیسـت‌فناوری گونـاگونی بـرای تولیـد اجـزای زیست‌فعال وجود دارد.

جدول ۱. مطالعات اخیر درمورد تولید متابولیت‌های ثانویه با استفاده از کشت سلول و بافت گیاهی

گیاه	ترکیبات	منابع
Anoectochilus roxburghii	Kinsenoside	(Jin *et al*., 2017)
Withania somnifera	Withanolides	(Ahlawat and Abdin, 2017)
Stevia rebaudiana	Antioxidants	(Ahmad *et al*., 2016)
Vitis species	Monoterpene and sesquiterpene	(Alonso *et al*., 2015)
Dysoxylum binectariferum	Rohitukine	(Mahajan *et al*., 2015)
Prunella vulgaris	Antioxidants	(Fazal *et al*., 2014)
Withania somnifera	Withanolides	(Sabir *et al*., 2013)
Vitis species	Nerolidol	(Escoriaza *et al*., 2013)
Solanum tuberosum	Chlorogenic acid	(Navarre *et al*., 2013)
Ruta graveolens	Umbelliferone	(Vialart *et al*., 2012)
Nicotiana tabacum	Withanolides	(Huang *et al*., 2012)
Senecio species	Pyrrolizidine alkaloid	(Karam *et al*., 2011)
Medicago sativa	Saponins	(Szakiel *et al*., 2011)
Brachiaria species	Protodioscin	(Barbosa-Ferreria *et al*., 2011)
Malus species	Anthocyanins	(Lin-Wang *et al*., 2011)
Eugenia uniflora	Tannins and flavonoids	(Santos *et al*., 2011)
Crotalaria retusa	Pyrrolizidine and Monocrotaline	(Anjos *et al*., 2010)
Echium plantagineum	Pyrrolizidine alkaloid	(Lucena *et al*., 2010)
Vernonia species	Lactones and flavonoids	(Keles *et al*., 2010)
Lychnophora species	Lactones and flavonoids	(Gobbo-Neto *et al*., 2010)
Angelica gigas	Decursinol angelate ،Decursin	(Rhee *et al*., 2010)
Lavandula officinalis	Deoxyartemisinin	(Patel *et al*., 2010)
Lavandula pedunculata	Essential oils	(Zuzarte *et al*., 2010)
Lavandula vera	Volatiles	(Georgiev *et al*., 2010)
Lithospermum erythrorhizon	Shikonin	(Zhang *et al*., 2010)
Argemone Mexicana	Sanguinarine	(Trujillo – Villanueva *et al*., 2010)
Picrorhiza kurroa	Picoside–I	(Sood and Chauhan, 2010)
Thevetia peruviana	Peruvoside	(Zabala *et al*., 2010)
Abrus precatorius	Glycyrrhizin	(Karwasara *et al*., 2010)

گیاه	ترکیبات	منابع
Silybum marianum	Silymarin	(Khalili *et al*., 2010)
Artemisia species	Artemisin	(Brown, 2010)
Lavandula pedunculata	Camphor and 1,8- cineole	(Zuzarte *et a*l., 2010)

کشت کالوس

کالوس توده‌ای از سلول‌های تمایز نیافته و بی‌شکل گیاهی است که بر اثر تقسیم و تکثیر سلولی، معمولاً در محل زخم یا در پاسخ به شرایط کشت درون‌شیشه‌ای، تشکیل می‌شود. در کشت بافت، کالوس معمولاً از قطعه‌ای از گیاه (ریزنمونه گیاهی) روی محیط غذایی حاوی تنظیم‌کننده‌های رشد، به‌ویژه نسبت‌های مساوی اکسین و سیتوکینین، پدید می‌آید. بسته به شرایط محیط کشت و ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد، کالوس می‌تواند برای باززایی اندام‌های گیاهی یا تشکیل جنین‌های رویشی به کار رود (Bhojwani and Dantu, 2013). با این حال، برخی محققان ممکن است از ترکیب اکسین و سیتوکینین یا غلظت‌های بالاتری از اکسین برای القای کالوس بهره ببرند. رایج‌ترین اکسین مورد استفاده برای القای کالوس از ریزنمونه‌ها، 2,4-D و NAA و رایج‌ترین سیتوکینین مورد استفاده، کینتین و BA یا BAP است. برای تولید متابولیت‌های ثانویه، کالوس‌های غیرجنینی که از توده‌های همگن سلول‌های تمایززدایی‌شده تشکیل شده‌اند، انتخاب می‌شوند. گرچه اکسین‌ها برای رشد و تکثیر کالوس ضروری هستند، لزوماً برای تولید متابولیت‌های ثانویه بهینه نیستند. از این رو، استراتژی‌هایی مانند غربالگری و انتخاب لاین‌های سلولی با بازده بالا و استانداردسازی محیط کشت، در بهبود تولید متابولیت‌های ثانویه نقش کلیدی ایفا می‌کنند. کشت سوسپانسیون به‌عنوان استراتژی جایگزین، برای تولید انبوه متابولیت‌های ثانویه به کار می‌رود. در این روش، توده‌های کوچک کالوس به محیط کشت مایع در فلاسک‌ها منتقل می‌شوند و تحت هم زدن مداوم قرار می‌گیرند. این هم زدن علاوه بر شکستن توده‌های سلولی بزرگ به قطعات کوچک‌تر، به توزیع یکنواخت سلول‌ها و هوادهی بهتر آن‌ها کمک می‌کند. سرعت تقسیم سلولی در کشت سوسپانسیونی معمولاً بالاتر از کشت کالوس است (Yarmohammadi *et al*., 2024).

کشت ریشه مویین

کشت ریشه مویین گیاهی به‌عنوان روشی مناسب برای تولید متابولیت‌های ثانویه شناخته شده است. ویژگی‌های بارز ریشه‌های مویین شامل سرعت رشد بالا، عدم نیاز به هورمون، پایداری ژنتیکی و توانایی انشعاب جانبی است. تلقیح با سویه *Agrobacterium rhizogenes* به سنتز متابولیت‌های ثانویه در ریشه‌های مویین کمک می‌کند (Karuppusamy, 2009). *A. rhizogenes* دارای پلاسمید القاکننده ریشه (Ri plasmid) است که حاوی ناحیه T-DNA است. در فرایند آلودگی، T-DNA به نواحی TL و TR تقسیم می‌شود. دو مجموعه ژنی مرتبط با پلاسمید Ri، شامل ژن‌های *aux* (در ناحیه TR) و ژن‌های *rol* (در ناحیه TL)، در این فرایند دخیل هستند (Jouanin, 1984). کشت ریشه مویین نه‌تنها باعث تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شود، بلکه از تخریب آن‌ها در محیط کشت نیز جلوگیری می‌کند (Chandra and Chandra, 2011). در بسیاری از گونه‌های گیاهی، ریشه‌های مویین کشت‌شده در معرض نور مداوم، سبز و دچار تنش اکسیداتیو نوری می‌شوند (Mukherjee *et al*., 2014). این تنش منجر به تولید پراکسید هیدروژن (H_2O_2) اضافی در ریشه‌ها می‌شود (Behnke *et al*., 2010)؛ برای مثال، در ریشه‌های مویین سبزشده هویج، تبدیل فنولیک‌ها به ترپنوئیدهای فرار مشاهده شده است که ناشی از تبدیل متابولیت‌های اولیه به ایزوپرنوئیدهای فرار است (Mukherjee *et al*., 2016).

کشت اندام

تکنیک‌های کشت اندام گیاهی، روشی مؤثر برای تکثیر سریع گیاهان محسوب می‌شوند که در مقایسه با گیاهان

رشدیافته در شرایط طبیعی، قادر به تولید مقادیر بیشتری از ترکیبات زیست‌فعال و رشد فزاینده هستند؛ برای مثال، در گونه *Fritillaria unibracteata*، تکثیر سریع از طریق پیازهای کوچک منجر به افزایش قابل توجه محتوای آلکالوئیدها در پیازها شده است (Gao *et al*., 1999). مطالعات نشان داده‌اند که آلکالوئیدهای تروپان، هیوسیامین و اسکوپولامین، به میزان بالایی در کشت ریشه تولید می‌شوند (Fazilatun *et al*., 2004) و ترکیبات دارویی ارزشمند متعددی از طریق این روش به دست آمده‌اند (Pence, 2011). همچنین شواهد متعددی نشان‌دهنده آن است که متابولیت‌های ثانویه تولیدشده در اندام‌های هوایی گیاه، از طریق کشت ریشه نیز قابل دستیابی هستند (Smith et al., 2002; Kaimoyo *et al*., 2008). اگرچه کشت اندام در مقایسه با سایر روش‌های کشت بافت (مانند کشت سلول یا کشت کالوس)، حساسیت کمتری نسبت به آلودگی و تنش‌های محیطی از خود نشان می‌دهد، میزان تولید زیست‌توده در تکرارهای مختلف این روش، از یکنواختی و پایداری کمتری برخوردار است. با این حال، این روش در برخی موارد بسیار کارآمد است (Hibino and Ushiyama, 1999).

القاگرها

القاگرها موادی هستند که با ایجاد سیگنال‌های ویژه، موجب افزایش تجمع متابولیت‌های ثانویه در گیاهان می‌شوند و با ورود به سیستم سلولی زنده می‌توانند مسیرهای بیوسنتزی را تقویت کنند(Radman *et al*., 2003). در فرایند القاسازی، سلول‌های زنده در معرض عوامل زیستی یا غیرزیستی قرار می‌گیرند تا میزان تولید متابولیت‌های ثانویه افزایش یابد (Rao and Ravishankar, 2002). رایج‌ترین القاگرهای زیستی شامل پلی‌ساکاریدها، گلیکوپروتئین‌ها، عصاره مخمر و برخی قارچ‌ها، مانند *Fusarium oxysporum*، *Aspergillus niger* و *Rhizopus oryzae* هستند. القاگرهای غیرزیستی نیز منشأ غیرآلی دارند و موادی مانند نمک‌های معدنی، اسیدجاسمونیک، اسیدسالیسیلیک، pH بالا و انواع تنش‌های محیطی، ازجمله فلزات سنگین، تابش UV و شوک اسمزی را شامل می‌شوند (Naik and Al-Khayri, 2015). در بررسی‌های انجام‌شده، Arora و همکاران (Arora *et al*., 2009) افزایش چشمگیر استیلبن را در کشت‌های ریشه *Cayratia trifolia* گزارش کردند. در مطالعه‌ای دیگر، افزودن N-dimethylamino succinamic acid همراه با اسیدسالیسیلیک منجر به افزایش ۱۲ برابری استیلبن‌ها شد (Arora *et al*., 2009). افزودن دو میلی‌مولار ایزولوسین نیز باعث افزایش تولید هایپرفورین در *Hypericum perforatum* شد (Karppinen *et al*., 2007). بر این اساس، استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد به‌عنوان یکی از کارآمدترین شیوه‌ها برای تقویت تولید متابولیت‌های ثانویه شناخته می‌شود (Oksman-Caldentey and Inze, 2004)؛ افزون بر این، تنش‌های محیطی مانند فلزات سنگین و افزایش دما نیز نقش مهمی در تنظیم این ترکیبات دارند؛ به‌طور مثال، در نهال‌های *Robinia pseudoacacia* تیمار با دی‌اکسیدکربن زیاد، دمای بالا و فلزات سنگین Pb-Cd موجب افزایش متابولیت‌های ثانویه شد (Zhao *et al*., 2016).

اکسید نیتریک یکی از مولکول‌های کلیدی در تنظیم فرایندهای مختلف سلولی گیاه است و در تولید برخی ترکیبات شیمیایی نقش اساسی ایفا می‌کند. این مولکول در اثر اعمال تنش‌های زیستی و غیرزیستی در گیاه تجمع می‌یابد و مطالعات متعدد نشان داده‌اند که در رشد، نمو و واکنش‌های دفاعی گیاه مشارکت مهمی دارد (Hong *et al*., 2008). به کمک اکسید نیتریک می‌توان تولید گروهی از متابولیت‌های ثانویه با ارزش دارویی را افزایش داد (Xu and Dong, 2008). از این رو، بهره‌گیری از این مولکول در فناوری‌های زیستی مختلف می‌تواند رویکردی سودمند

اندوفیت‌ها[1]

میکروارگانیسم‌هایی مانند باکتری‌ها و قارچ‌هایی که بدون ایجاد هرگونه نشانه بیماری درون گیاه زندگی می‌کنند، اندوفیت نام دارند. بسیاری از ترکیبات ارزشمند گیاهی از گیاهانی به دست می‌آیند که دارای همزیستان درونی هستند؛ برای نمونه، تاکسول (ترکیبی ضدسرطان) در *Taxus brevifolia* آلوده‌شده با قارچ *Taxomyces andreanae* تولید می‌شود (Strobel *et al*., 1993). در

[1] Endophytes

بسیاری از گیاهان، تولید متابولیت‌های ارزشمند حاصل قارچ‌های اندوفیت موجود در گیاهانی مانند Pinus sylvestris و Rhododendron tomentosum، قادر به تولید متابولیت‌های ثانویه‌ای با فعالیت ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی هستند (Kajula *et al*., 2010). همچنین گزارش شده است که برخی اندوفیت‌های قارچی در تیره Leguminosae، طیف متنوعی از مواد فعال گیاهی را تولید می‌کنند (Wink, 2013). در مواردی، حضور اندوفیت‌ها در گیاه سبب تولید آلکالوئیدهای ایندولیزیدینی می‌شود (Ralphs *et al*., 2008). قارچ اندوفیت Phoma medicaginis نیز ترکیبی به نام ۶-هیدروکسی‌متیل اسیدبنزوئیک می‌سازد که دارای فعالیت ضدمیکروبی قابل توجه است (Yang *et al*., 1994)؛ افزون بر این، ترکیباتی مانند فنیل‌پروپانوئیدها، لیگنین‌ها، فنول‌ها، آلکالوئیدها و استروئیدها، از تعداد زیادی مایکواندوفیت استخراج شده‌اند (Herre *et al*., 2007). متابولیت‌های جدید تولیدشده توسط اندوفیت‌ها نقش مهمی در درمان انواع بیماری‌های عفونی دارند (Rai *et al*., 2012). همچنین تعامل هم‌افزای گیاه و اندوفیت‌ها است (Engels *et al*., 2008). شواهدی نشان می‌دهد که برخی ژن‌ها و پروتئین‌های گیاهی در قارچ‌ها و باکتری‌ها نیز وجود دارند که می‌تواند ناشی از انتقال افقی ژن بین آن‌ها باشد (Wink and Schimmer, 2010). تلقیح قارچ‌های میکوریزای آربوسکولار موجب افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در بسیاری از گیاهان اقتصادی می‌شود (Maier *et al*., 1995). حضور قارچ‌های میکوریزای آربوسکولار علاوه بر بهبود رشد و افزایش زیست‌توده گیاه، توانایی جذب عناصر معدنی را نیز تقویت می‌کند (Chu *et al*., 2001; Matsubara *et al*., 2009). تحقیقات اخیر نیز کارایی قارچ‌های میکوریزای آربوسکولار در افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه را تأیید کرده‌اند (جدول ۲). شواهد نشان می‌دهد که در بسیاری از گیاهان، وجود قارچ‌های میکوریزای آربوسکولار به بهبود کمی و کیفی متابولیت‌های ثانویه منجر می‌شود (Ceccarelli *et al*., 2010) و افزون بر آن، کیفیت سبزی‌ها را نیز ارتقا می‌دهد (Baslam *et al*., 2013).

جدول ۲. گزارش‌های اخیر درمورد تأثیر تلقیح قارچ‌های میکوریزای آربوسکولار بر تولید متابولیت‌های ثانویه

گیاه میزبان	اندام	ارزیابی مواد شیمیایی گیاهی	Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF)	تأثیر	منابع
Moringa oleifera	برگ	گلوکوزینولات‌ها	*Rhizophagus intraradices*	+ ve	(Cosme *et al*., 2014)
			Funneliformis mosseae	+ ve	
Helianthus annuus	بذر	روغن	*Funneliformis mosseae*	+ ve	(Heidari and Karami, 2014)
Passiflora alata	برگ	فنول و فلاونوئید کل	*Gigaspora albida*	+ ve	(Oliveira *et al*., 2015)
Stevia rebaudiana	برگ	استویوزید و ریبائودیوزید A	*Rhizophagus fasciculatus*	+ ve	(Mandal *et al*., 2013)
Anadenanthera colubrine	برگ	فنول کل، فلاونوئید کل و تانن کل	*Acaulospora longula* + *Gigaspora albida*	+ ve	(Pedone-Bonfm *et al*., 2013)
Cucumis sativus	برگ	فنول‌ها، فلاونوئیدها و لیگنین	*Funneliformis mosseae*	+ ve	(Chen *et al*., 2013)

بیوراکتور

بیوراکتورها ابزارهای کلیدی در تولید تجاری متابولیت‌های ثانویه هستند و با فراهم کردن کنترل دقیق شرایط محیطی، امکان افزایش بازده تولید را فراهم می‌کنند. از میان انواع مختلف بیوراکتورها، بیوراکتور

ستون حبابی (Huang and McDonald, 2009) و مخازن همزن‌دار (Su, 2007)، از رایج‌ترین سامانه‌ها برای کشت سلول‌های گیاهی به‌شمار می‌روند. در *Eurycoma longifolia*، کشت ریشه‌های نابجایی در بیوراکتور حبابی از نوع بالونی توسعه یافت و به تولید زیست‌توده و ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در مقیاس بزرگ‌تر کمک کرد (Lulu *et al*., 2015). همچنین در کشت سوسپانسیون سلولی *Lavandula vera*، بهینه‌سازی غلظت اکسیژن محلول، سرعت هم زدن و دما در بیوراکتور ۳ لیتری موجب دستیابی به حداکثر تولید اسیدرزمارینیک شد که حدود دو برابر کشت فلاسکی بود (Pavlov *et al*., 2005). همچنین تولید متابولیت‌های ثانویه از سلول‌های گیاهانی مانند *Digitalis lanata*، *Catharanthus roseus*، *Hypericum perforatum*، *Panax ginseng* و *Sophora flavescens*، در بیوراکتورهای مختلف با موفقیت انجام شده است. در مطالعه Sharma *et al*., 2011، تجمع پورارین در *Pueraria tuberosa* طی کشت شاخساره‌ها در محیط‌های ساکن و مایع با شرایط هوادهی متفاوت بررسی شد. بیشترین میزان پورارین، ۱۴۸۴ میکروگرم بر گرم وزن خشک، در بیوراکتور هوادهی‌شده به دست آمد که حدود دوسوم بیشتر از نمونه‌های شاهد بود؛ افزون بر این، در *Withania somnifera*، تنظیم ژن‌های مرتبط با تولید ویتانولیدها در بیوراکتور موجب افزایش حدود ۱/۵ برابری این ترکیبات نسبت به ظروف شیکردار شد (Ahlawat and Abdin, 2017). بیوراکتورهای جدیدی مانند غوطه‌وری پیوسته با شبکه، غوطه‌وری پیوسته، غوطه‌وری موقت و غوطه‌وری موقت با شبکه، به‌طور گسترده برای تولید ترکیبات فعال زیستی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Jang *et al*., 2016; Georgiev *et al*., 2014; Watt, 2012). در این سامانه‌ها، سامانه‌های غوطه‌وری موقت در مقایسه با غوطه‌وری پیوسته، کیفیت بالاتر و بازده بهتری در تولید ترکیبات فنولی و آلکالوئیدها در بسیاری از گونه‌ها نشان داده‌اند (Georgiev *et al*., 2014; De Carlo *et al*., 2021). مطالعات جدید نشان می‌دهند که کارایی سامانه‌های غوطه‌وری موقت به گونه گیاهی و هدف کشت بستگی دارد؛ برای نمونه، در گونه‌های مختلف *Drosera*، استفاده از بیوراکتور غوطه‌وری موقت در برخی موارد موجب افزایش رشد و تجمع ترکیبات فنولی شد، در حالی که پاسخ به نوع سامانه در گونه‌های مختلف یکسان نبود (Makowski *et al*., 2024). در *Reynoutria japonica* نیز سامانه‌های غوطه‌وری موقت و کشت‌های همزن‌دار، در مقایسه با کشت روی محیط جامد، موجب افزایش زیست‌توده و تغییر در تجمع ترکیبات فنولی شدند. با این حال، میزان این پاسخ به شرایط کشت و بافت مورد استفاده وابسته بود (Makowski *et al*., 2024). در *Anoectochilus roxburghii* نیز کشت ریزوم در بیوراکتورهای غوطه‌وری پیوسته موجب افزایش زیست‌توده و تجمع ترکیبات زیست‌فعال، به‌ویژه کینسینوزید (kinsenoside) و پلی‌ساکاریدها شد (Jin *et al*., 2017). این یافته‌ها نشان می‌دهند که انتخاب نوع بیوراکتور باید بر اساس ویژگی‌های زیستی گونه، نوع کشت، نیازهای انتقال اکسیژن و مواد غذایی، حساسیت بافت به نیروهای برشی و هدف نهایی تولید انجام شود

مهندسی متابولیک

مهندسی متابولیک در گیاهان، به‌ویژه برای تولید متابولیت‌های ثانویه باارزش، به‌عنوان یکی از مؤثرترین رویکردهای زیست‌فناورانه شناخته می‌شود. با استفاده از فناوری‌های تراریخته و سیستم‌های بیان نوترکیب، امکان تغییر هدفمند مسیرهای بیوسنتزی و هدایت متابولیت‌ها به‌سوی تولید ترکیبات مطلوب فراهم شده است. این روش علاوه بر افزایش بازده، می‌تواند تولید ترکیبات جانبی نامطلوب را نیز مهار کند و حتی منجر به ایجاد ترکیبات جدید با کاربردهای دارویی شود. ترپنوئیدها از مهم‌ترین گروه‌های متابولیت‌های ثانویه هستند که ارزش دارویی و اقتصادی بالایی دارند و تولید آن‌ها از طریق مهندسی متابولیک، پیشرفت چشمگیری داشته است. مهندسی متابولیک همچنین امکان دست‌کاری هدفمند مسیرهای بیوسنتزی و تولید ترپنوئیدهای دارای ویژگی‌های مطلوب را در میزبان‌های هترولوگ فراهم کرده است (Elgar, 2017).

نمونه بارز این رویکرد در Withania somnifera، مهندسی مسیر بیوسنتزی ایزوپرنوئیدها از طریق بیش‌بیان ژن اسکوآلن سنتاز (WsSQS) است (Patel *et al*., 2016). Patel و همکاران (۲۰۱۵) با انتقال و بیش‌بیان ژن WsSQS در گیاه W. somnifera نشان دادند که میزان کل ویتانولیدها در بافت‌های تراریخته حدود ۱/۵ تا دو برابر افزایش یافت. همچنین در بافت برگ، مقدار ویتافرین A و ویتانولیدA ،

به‌ترتیب تا حدود ۴ تا ۴/۵ برابر افزایش یافت. این نتایج نشان می‌دهد که دست‌کاری هدفمند مسیر ایزوپرنوئیدی از طریق افزایش بیان WsSQS می‌تواند راهکاری مؤثر برای افزایش تولید ویتانولیدها در *W. somnifera* باشد (Patel *et al.*, 2015). مطالعه مشابهی توسط Grover و همکاران (۲۰۱۳) نیز افزایش ۴ برابری فعالیت اسکوآلن سنتاز و ۲/۵ برابری محتوای ویتانولید A را در کشت‌های تعلیقی گزارش کرد.

علاوه بر این، در *Artemisia annua*، بیش‌بیان ژن HMG-CoAردوکتاز *(HMGR)*، به‌ویژه *CrHMGR* از *Catharanthus roseus*، موجب افزایش محتوای آرتمیزینین شد (Aquil *et al.*, 2009; Nafis *et al.*, 2011). راهبردهای چندژنی نیز برای تقویت این مسیر به کار گرفته شده‌اند؛ برای مثال، هم‌بیان ژن‌های FPS، CYP71AV1 و CPR در *A. annua* موجب افزایش محتوای آرتمیزینین تا ۳//۶ برابر نسبت به شاهد شد (Chen *et al.*, 2013). همچنین هم‌بیان *ADS*، *CYP71AV1* و CPR در مطالعه‌ای دیگر موجب افزایش محتوای آرتمیزینین تا حدود ۲/۴ برابر شد (Lu *et al.*, 2013). در *Catharanthus roseus*، بیش‌بیان فاکتورهای رونویسی خانواده *ORCA* می‌تواند تولید آلکالوئیدهای ایندولی ترپنوئیدی را تنظیم کند؛ برای مثال، بیش‌بیان *ORCA3* موجب افزایش تجمع برخی آلکالوئیدهای ایندولی، ازجمله ویندولین و کاتارانتین شد (Pan *et al.*, 2012). همچنین بیش‌بیان *ORCA4* در ریشه‌های مویین *C. roseus* موجب افزایش چشمگیر تجمع برخی آلکالوئیدهای ایندولی، به‌ویژه تابرسونین شد (Paul *et al.*, 2017).

تثبیت‌سازی

تثبیت سلول‌های گیاهی (immobilization) به معنای نگه داشتن سلول‌ها درون یا روی ماتریکسی جامد یا نیمه‌جامد، مانند آلژینات کلسیم، آگاروز، پلی‌اکریلامید یا الیاف شیشه‌ای است؛ به‌گونه‌ای که سلول‌ها از محیط کشت به‌صورت آزاد جدا شوند، در حالی که تبادل سوبسترا و محصولات متابولیکی همچنان امکان‌پذیر باشد. این روش می‌تواند راهکاری مؤثر برای افزایش تولید یا بهره‌وری تولید برخی متابولیت‌های ثانویه باشد (Brodelius, 1985; Smetanska, 2008).

تثبیت سلول‌ها می‌تواند از آن‌ها در برابر اثرات نامطلوب نیروهای برشی محافظت کند و امکان استفاده از تراکم سلولی بالاتر و جداسازی آسان‌تر سلول‌ها از محیط کشت را فراهم آورد. در سامانه‌هایی که متابولیت مورد نظر به محیط کشت ترشح می‌شود، تجمع محصول در محیط می‌تواند بازیابی و جداسازی آن را تسهیل کند. همچنین سلول‌های تثبیت‌شده به‌عنوان زیست‌کاتالیزگرهای فعال می‌توانند در واکنش‌های زیست‌تبدیلی و تولید برخی متابولیت‌های ثانویه مورد استفاده قرار گیرند (Brodelius, 1985; Smetanska, 2008).

روش‌های تثبیت سطحی نیز توسعه یافته‌اند؛ برای مثال، سلول‌های *Capsicum frutescens* در فوم پلی‌یورتان تثبیت شدند و توانستند در طول دوره‌های نسبتاً طولانی کشت، فعالیت زیستی و توانایی تولید کپسایسین را حفظ کنند. در برخی شرایط نیز مقدار کپسایسین تولیدشده از سلول‌های تثبیت‌شده بیشتر از سلول‌های آزاد بود (Lindsey & Yeoman, 1984a, 1984b)؛ افزون بر این، تثبیت سلول‌ها در سامانه‌های مختلف می‌تواند امکان استفاده از زیست‌کاتالیزگرها را در راکتورهای بستر ثابت و سامانه‌های پیوسته فراهم کند؛ هرچند موفقیت این فرایند به ترشح محصول، انتقال جرم و نوع سلول و ماتریکس وابسته است (Prenosil & Pedersen, 1983; Smetanska, 2008).

تنش‌های غیرزیستی و تأثیر آن‌ها بر گیاهان

تنش کم‌آبی

تنش کم‌آبی می‌تواند باعث تغییرات متابولیکی در گیاهان شود که به تولید متابولیت‌های ثانویه منجر می‌گردد (Amani and Sabzi-Nojadeh, 2025). این متابولیت‌ها که شامل ترکیباتی مانند فلاونوئیدها، فنول‌ها، آلکالوئیدها و ترپنوئیدها می‌شوند، نه‌تنها سیستم دفاعی گیاه را در برابر آفات و بیماری‌ها تقویت می‌کنند، بلکه می‌توانند کیفیت و ارزش دارویی محصولات نهایی را نیز بهبود بخشند. تحقیقات نشان داده‌اند که گیاهان در شرایط کم‌آبی معمولاً قادر به افزایش تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و متابولیت‌های ثانویه هستند و این امر می‌تواند به‌عنوان استراتژی مؤثر برای افزایش کیفیت محصولات کشاورزی در مناطق خشک و نیمه‌خشک مورد استفاده قرار گیرد (Bashir *et al.*, 2021; Kapoor *et al.*, 2020).

با توجه به اینکه امروزه نقش دفاعی متابولیت‌های ثانویه برای همه تقریباً پذیرفته شده است، هنوز بررسی

سازوکار تأثیر تنش‌های محیطی بر تولید این موارد تصویر پیچیده و پرابهامی پیش روی ما می‌گذارد. شواهد زیادی نشان می‌دهند که تحت شرایط تنش، تولید برخی از این ترکیب‌ها تا چندین برابر افزایش می‌یابد؛ اما دلایل زیادی نیز وجود دارد که این تأثیر همیشگی نیست. در موارد زیادی نیز کاهش میزان متابولیت‌های ثانویه در شرایط تنش دیده می‌شود. کمبود هر منبعی که رشد را بیش از فتوسنتز محدود کند، تولید متابولیت‌های ثانویه را می‌تواند افزایش دهد. از طرفی، تأثیر تنش خشکی بر تولید متابولیت‌های ثانویه یکسان نیست؛ بنابراین، کیفیت مواد مؤثره نیز تحت تأثیر قرار می‌گیرد و به‌علاوه، تأثیر تنش بر زیست‌توده کل نیز عموماً منفی است (Yadav *et al.*,2021). عواملی همچون زمان وقوع و مدت‌زمان دوام تنش، فراوانی وقوع خشکی، خصوصیات ذاتی خاک، تغییرات و نوسان‌های بارندگی، بر مقاومت به خشکی گیاه اثر دارند و این نشان‌دهنده واکنش متفاوت ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی از سالی به سال دیگر است (Amani and Sabzi-Nojadeh, 2025).

شواهد تجربی نشان می‌دهند که تعدیل کنترل‌شده وضعیت آبی می‌تواند در برخی کشت‌های سلولی و بافتی، تجمع متابولیت‌های ثانویه را افزایش دهد؛ برای مثال، در کشت سلولی Taxus baccata، اعمال تنش اسمزی با مانیتول و سوربیتول موجب افزایش تولید برخی تاکسان‌ها، ازجمله پاکلی‌تاکسل و ۱۰--دی‌استیل‌باکاتین III، شد (Sarmadi *et al.*, 2025). همچنین در کشت سوسپانسیون سلولی Glycyrrhiza inflata، کمبود آب مناسب موجب افزایش زیست‌توده و تولید فلاونوئیدها شد (Yang *et al.*, 2007). در گیاهان Salvia miltiorrhiza نیز تنش خشکی موجب افزایش برخی ترکیبات فعال، ازجمله اسیدسالویانولیک B، گزارش شده است (Liu *et al.*, 2011). در *Bupleurum chinense* نیز افزایش محتوای سایکوساپونین‌ها، به‌ویژه سایکوساپونین‌های a و d، تحت تنش خشکی در ریشه‌ها گزارش شده است (Zhu *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2020).

تنش شوری

شوری خاک، خطری جهانی برای کشاورزی است؛ زیرا باعث کاهش عملکرد محصول و در نهایت، بهره‌وری محصول می‌شود. شوری ناشی از تجمع نمک در خاک یا آب‌های زیرزمینی در دوره زمانی طولانی، در نتیجه فرایندهای طبیعی (هوازدگی سنگ‌ها) و فعالیت‌های انسانی (استفاده از آب شور و زهکشی ناکافی) به وجود می‌آید(Amani and Sabzi-Nojadeh, 2025b). وجود نمک در آب آبیاری و خاک، دو اثر عمده تنش اسمزی و سمیت یونی برای گیاهان زراعی دارد که این اثرات اولیه تنش شوری باعث ایجاد برخی اثرات ثانویه مانند کاهش تولید جذب، کاهش انبساط سلولی و عملکرد غشا و همچنین کاهش متابولیسم سیتوزولی می‌شود. گیاهان به‌وسیله خروج یون‌ها از برگ یا به‌وسیله جایگزینی یون‌ها در واکوئل، از خسارت شوری اجتناب می‌کنند. در گیاهانی که به شوری حساس هستند، مقاومت به سطح متوسط شوری خاک، بستگی به توانایی ریشه‌ها برای جلوگیری از رسیدن یون‌های خسارت‌زا به برگ‌ها دارد (Sabzi-Nojadeh *et al.*, 2024). یون‌های سدیم می‌توانند به‌طور غیرمعمول با حرکت در جهت شیب پتانسیل الکتروشیمیایی منفی، وارد ریشه‌ها شوند؛ لذا سلول‌های ریشه باید برای انتقال فعال یون سدیم به خارج از محیط ریشه، یعنی محلول خاک، از انرژی استفاده کنند. حرکت سدیم به داخل برگ‌ها با جذب سدیم از جریان تعرق در طول حرکت آن‌ها از ریشه‌ها به اندام هوایی به حداقل می‌رسد. تنش شوری با افزایش گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن در سلول‌های گیاه سبب ایجاد تنش اکسایشی در گیاه می‌شود و با افزایش فشار اسمزی محلول خاک، تعرق، فتوسنتز و جذب عناصر غذایی توسط گیاه را مختل می‌کند (Alizadeh-salteh *et al.*, 2024). استفاده از ترکیباتی که باعث هومئوستازی متابولیسم سلول و پایداری غشاهای زیستی در شرایط تنش می‌شوند، یکی از روش‌های مدیریت گیاهان در معرض تنش شوری است. تنش‌های محیطی از عوامل محدودکننده تولیدات گیاهان هستند که با مختل ساختن متابولیسم طبیعی گیاه، رشد آن را محدود می‌کنند و در نهایت، محصول را کاهش می‌دهند (Amani and Sabzi-Nojadeh, 2025b). شوری یکی از مشکلات اصلی در تولید محصولات کشاورزی و تعیین‌کننده پراکنش گیاهان در

طبیعت است که از طریق ایجاد سمیت یونی، کمبود عناصر غذایی و خشکی فیزیولوژیکی، بر جنبه‌های مختلف فیزیولوژیکی گیاهان تأثیر می‌گذارد (Parihar *et al*., 2015; Qados, 2011).

گیاهان طی چرخه زندگی معمولاً در معرض انواع زیادی از تنش‌های محیطی قرار می‌گیرند. یکی از راهکارها برای درک توانایی گیاهان در تحمل تنش‌های محیطی، شناسایی تغییرات القاشده با تنش در میزان پروتئین آن‌ها است؛ با این اندیشه که سازش به تنش، ناشی از تغییر بیان ژن‌ها است. سنتز پروتئین در پاسخ به تنش‌های محیطی نظیر شوک گرمایی، شرایط بی‌هوازی، تنش خشکی، شوک اسمزی، زخم، تنش سرما و شوری، تغییر می‌کند. چنین تنش‌هایی سبب افزایش سنتز برخی از پروتئین‌ها و کاهش سنتز عده‌ای دیگر از آن‌ها می‌شود. به نظر می‌رسد که پروتئین‌های القاشده با شوری می‌توانند در تحمل این تنش مؤثر باشند (Alizadeh-salteh *et al*., 2024). تاکنون یک‌سری از پروتئین‌هایی که در ژنوتیپ‌های مقاوم به شوری وجود دارند، شناسایی شده‌اند. مقاومت به شوری حاصل همکاری چند عامل فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی است. یکی از این عوامل ممکن است توانایی اتصال یون‌ها به پروتئین‌ها باشد (Amani and Sabzi-Nojadeh, 2025b). در تنش شوری، گیاهان از ترکیبات غیرآنزیمی، مانند فنول‌ها و فلاونوئیدها، آسکوربات، کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها، گلوتاتیون و آلفاتوکوفرول، برای جذب گونه‌های فعال اکسیژن استفاده می‌کنند. در شرایط تنش، بافت‌های گیاهی ممکن است پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌های مؤثر در تنظیم اسمزی سلول‌های گیاهی را انباشته کنند. در بسیاری از گونه‌های گیاهی، تنش شوری می‌تواند با تغییر محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی کلروفیل و کاروتنوئید، بازده فتوسنتز را تحت تأثیر قرار دهد. کاروتنوئیدهای موجود در کلروپلاست‌ها، با از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن، نقش مهمی در حفاظت از سیستم فتوسنتزی در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی دارند. فلاونوئیدها در حذف گونه‌های فعال اکسیژن نقش مهمی در محافظت از تنش بازی می‌کنند (Sabzi-Nojadeh *et al*., 2024).

شوری نیز در غلظت‌های مناسب می‌تواند پاسخ‌های متابولیکی کشت‌های درون‌شیشه‌ای را تغییر دهد و تولید برخی متابولیت‌های ثانویه را تحریک کند (Humbal & Pathak, 2023)؛ برای مثال، در کشت سوسپانسیون سلولی *Salvia miltiorrhiza*، تیمار با NaCl موجب تغییرات وابسته به زمان در پروفایل متابولیت‌های ثانویه و افزایش برخی از آن‌ها، ازجمله اسیدرزمارینیک و اسیدهای سالویانولیک شد. مقدار اسیدرزمارینیک در روز هفتم پس از تیمار با NaCl، حدود ۹/۰۸ برابر شاهد بود؛ با این حال، پاسخ متابولیت‌های مختلف یکسان نبود و برخی ترکیبات، ازجمله دی‌هیدروتانشینون، کریپتوتانشینون و تانشینون IIA، کاهش یافتند (Yu *et al*., 2019). همچنین در کشت ریشه درون‌شیشه‌ای *Azadirachta indica*، تیمار با NaCl موجب افزایش محتوای آزادیراختین شد. بیشترین مقدار آزادیراختین پس از تیمار با ۱/۵ درصد NaCl به مدت چهار هفته مشاهده شد؛ هرچند پاسخ به شوری به غلظت و مدت تیمار وابسته بود (Omar *et al*., 2023). در کشت کالوس *Mentha longifolia* نیز افزودن NaCl به محیط کشت در برخی غلظت‌ها موجب افزایش محتوای ترکیبات فنولی کل و اسیدرزمارینیک شد (El-Shennawy *et al*., 2017). این یافته‌ها نشان می‌دهند که اعمال کنترل‌شده تنش شوری در شرایط درون‌شیشه‌ای می‌تواند در برخی گونه‌ها به‌عنوان ابزاری برای تحریک تولید متابولیت‌های ثانویه با ارزش زیستی و دارویی، مورد استفاده قرار گیرد (Omar *et al*., 2023; El-Shennawy *et al*., 2017).

تنش دمایی

تغییرات دما به‌خصوص در فصل‌های مختلف سال می‌تواند تأثیرات قابل توجهی بر تولید ترکیبات زیست‌فعال در گیاهان داشته باشد. دما به‌عنوان یکی از عوامل کلیدی محیطی، نقش اساسی در فرایندهای فیزیولوژیکی و

متابولیکی گیاهان ایفا می‌کند (Islam *et al*., 2021; Lam *et al*., 2020). دماهای مناسب معمولاً به تحریک متابولیسم و فعالیت‌های بیوشیمیایی در گیاهان کمک می‌کنند که می‌تواند منجر به افزایش تولید ترکیبات مفید، مانند فلاونوئیدها، فنول‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها شود. این ترکیبات، به‌ویژه به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی خود، در بهبود سلامت انسان و پیشگیری از بیماری‌ها اهمیت دارند. با این حال، دماهای بسیار بالا یا پایین می‌توانند منجر به آسیب‌های جدی به گیاهان شوند. دماهای بالاتر از حد نرمال باعث تنش حرارتی می‌شوند که این می‌تواند به تخریب پروتئین‌ها، غشای سلولی و دیگر اجزای مهم سلولی منجر شود. این آسیب‌ها می‌توانند عملکرد گیاه را به‌شدت تحت تأثیر قرار دهند و در نتیجه، تولید ترکیبات زیست‌فعال را کاهش دهند (Lam *et al*., 2020)؛ به‌علاوه، دماهای پایین می‌توانند باعث کاهش فعالیت متابولیکی شوند و به رشد و توسعه گیاهان آسیب برسانند؛ بنابراین، مدیریت دما و استفاده از روش‌های مناسب برای کنترل دما در گلخانه‌ها و مزارع می‌تواند به بهبود کیفیت و تولید ترکیبات زیست‌فعال در گیاهان کمک کند. به‌کارگیری تکنیک‌های مدرن مانند کنترل هوشمند دما، استفاده از پوشش‌های خاص گلخانه‌ای و تنظیم شرایط محیطی می‌تواند به ایجاد محیطی مناسب برای رشد گیاهان کمک کند (Islam *et al*., 2021). این اقدامات نه‌تنها به حفظ دما در محدوده مطلوب کمک می‌کنند، بلکه می‌توانند به بهینه‌سازی تولید متابولیت‌های ثانویه و بهبود کیفیت محصولات نهایی منجر شوند؛ علاوه بر این، استفاده از تنوع ژنتیکی در انتخاب گیاهان می‌تواند به پرورش گونه‌های مقاوم در برابر تغییرات دما کمک کند. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که برخی از گونه‌های گیاهی دارای توانایی بالاتری در تولید ترکیبات زیست‌فعال در دماهای مختلف هستند. شناسایی و انتخاب این گونه‌ها می‌تواند به کشاورزان در مواجهه با چالش‌های ناشی از تغییرات اقلیمی کمک کند(Islam *et al*., 2021; Lam *et al*., 2020).

اثر دما بر رشد و مسیرهای بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه در برخی کشت‌های سلولی و بافتی به‌خوبی نشان داده شده است؛ برای مثال، در *Artemisia annua*، پیش‌تیمار سرمایی کوتاه‌مدت موجب افزایش محتوای آرتمیزینین و افزایش بیان ژن‌های کلیدی مسیر زیست‌ساخت آن، ازجمله ADS و CYP71AV1، شد (Yin *et al*., 2008). در کشت سوسپانسیون سلولی *Melastoma malabathricum* نیز کشت در دمای پایین‌تر، حدود ۲۰ درجه سانتی‌گراد، در مقایسه با ۲۶ و ۲۹ درجه سانتی‌گراد، موجب افزایش رشد سلولی و تجمع آنتوسیانین شد. همچنین در کشت ریشه‌های نابجای *Panax ginseng*، تیمار با دمای پایین موجب افزایش تجمع جینسنوزیدها شد؛ به‌طوری که تیمار ۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز، پیش از انتقال کشت به ۲۵ درجه سانتی‌گراد، مقدار کل جینسنوزیدها را حدود ۲/۵۳ برابر نسبت به تیمار ثابت ۲۵ درجه سانتی‌گراد افزایش داد (Wang *et al., 2019*). این یافته‌ها نشان می‌دهند که تنظیم کنترل‌شده دما، به‌ویژه اعمال تیمارهای سرمایی، می‌تواند در برخی سامانه‌های درون‌شیشه‌ای به‌عنوان ابزاری برای تحریک تولید متابولیت‌های ثانویه با ارزش دارویی مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

گیاهان منبع قوی مواد شیمیایی مفید مختلف هستند که می‌توان آن‌ها را از قسمت‌های مختلف گیاه استخراج کرد. در سال‌های اخیر، استفاده از ابزارهای زیست‌فناوری برای به دست آوردن منبع مداوم و قابل اعتماد متابولیت-های ثانویه افزایش یافته است. در تکنیک‌های مختلف، فناوری کشت سلول و بافت گیاهی، در تولید متابولیت‌های ثانویه نقش مهمی دارد. مزیت اصلی استفاده از این فناوری این است که می‌توان متابولیت‌های ثانویه زیست‌فعال را در شرایط کنترل‌شده، بدون توجه به فصل و شرایط خاک، افزایش داد. با این حال، بسیاری از چالش‌ها، مانند مشکلات در مقیاس‌بندی، پایداری کشت و بازیابی فیتوشیمیایی و غیره، هنوز به‌عنوان عوامل چالش‌برانگیز در این زمینه باقی مانده‌اند. اصلاح مداوم این تکنیک‌ها برای غلبه بر این محدودیت‌ها ضروری است.

منابع

A EL-Shennawy, O., G El-Torky, M., E El- Mokadem, H., & I Abass, B. (2017). Effect of NaCl and Phenylalanine on the Production of some Secondary Metabolites in In Vitro Cultures of Mentha longifolia. Alexandria Science Exchange Journal, 38(July-September), 577-587.

Ahlawat, S., & Abdin, M. Z. (2017). Comparative study of withanolide production and the related transcriptional responses of biosynthetic genes in fungi elicited cell suspension culture of Withania somnifera in shake flask and bioreactor. Plant Physiology and Biochemistry, 114, 19–28.

Ahmad, N., Rab, A., & Ahmad, N. (2016). Light- induced biochemical variations in secondary metabolite production and antioxidant activity in callus cultures of Stevia rebaudiana (Bert). Journal of Photochemistry and Photobiology, 154, 51–56.

Akula. R., & Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. Plant Signaling & Behavior, 6, 1720-1731.

Alizadeh-salteh, S., Nourizad Ahmedabad, A., Bolandnazar, S., & Amani, M. (2024). The effect of sodium nitroprusside on some morphological and physiological traits of evening primrose (Oenothera biennis L.) under salt stress. Plant Productions. [In Persian] https://doi.org/10.22055/ppd.2024.47316.2186

Alonso, R., Berli, F. J., Bottini, R., & Piccoli, P. (2015). Acclimation mechanisms elicited by sprayed abscisic acid, solar UV-B and water defcit in leaf tissues of feld-grown grapevines. Plant Physiology and Biochemistry, 91, 56–60.

Amani, M., & Sabzi-Nojadeh, M. (2025a). Investigating the effect of melatonin on Moldavian balm (Dracocephalum moldavica L.) under different irrigation levels. Journal of Crops Improvement, 27, 467-484. [In Persian]

Amani, M., & Sabzi-Nojadeh, M. (2025b). Improvement of morphophysiological characteristics and essential oil percentage of Iranian Borage (Echium amoenum Fisch. & C.A. Mey.) under salinity stress with foliar application of salicylic acid. Plant Productions. [In Persian] https://doi.org/10.22055/ppd.2025.47735.2195

Amani, M., Alizadeh Salteh, S., Sabzi-Nojadeh, M., & Younessi Hamzekhanlu, M. (2023b). The effect of Trichoderma fungus on the morphophysiological traits of the basil medicinal plant (Ocimum basilicum L.) under water stress conditions. Journal of Horticultural Science, 38, 117-131. [In Persian]

Amani, M., Sabzi-Nojadeh, M., Alizadeh Salteh, S., Younessi Hamzekhanlu, M., Farmani, B., Hatef Heris, H., Mohammadian, S., & Piretarighat, S. (2023a). Improving the antioxidant activities of sweet basil (Ocimum basilicum L.) under the influence of different species of mycorrhiza under water stress. Journal of Horticultural Science, 37, 377-389. [In Persian]

Anand. (2010). Various approaches for the secondary metabolite production through plant tissue culture. Pharmacia, 1, 1–7.

Anjos, B. L., Nobre, V. M., Dantas, A. F., Medeiros, R. M., Neto, T. S. O., Molyneux, R. J., & RietCorrea, F. (2010). Poisoning of sheep by seeds of Crotalaria retusa: Acquired resistance by continuous administration of low doses. Toxicon, 55, 28–32.

Aquil, S., Husaini, A. M., Abdin, M. Z., & Rather, G. M. (2009). Overexpression of the HMG-CoA reductase gene leads to enhanced artemisinin biosynthesis in transgenic *Artemisia annua* plants. *Planta medica*, 75(13), 1453-1458.

Arora, J., Roat, C., Goyal, S., & Ramawat, K. G. (2009). High stilbenes accumulation in root cultures of Cayratia trifolia (L.) Domin grown in shake flasks. Acta Physiologiae Plantarum, 31, 1307–1312.

Barbosa-Ferreria, M., Brum, K. B., Oliveira, N. M., do Valle, C. B., Ferreira, V. B., Garcez, V. S., Riet-Correa, F., & de Lemos, R. A. (2011). Steroidal saponin protodioscin concentration in different species and cultivars of Brachiaria spp. Veterinaria e Zootecnia, 18, 98–103.

Bashir, S., Hussain, A., Hussain, S. J., Wani, O. A., Zahid Nabi, S., Dar, N.A., & Mansoor, S.

secondary metabolism in cucumber subjected to low temperature stress. Scientia Horticulturae, 160, 222–229.

Chu, E. Y., Möller, M. D., & Carvalho, J. G. (2001). Effects of mycorrhizal inoculation on soursop seedlings in fumigated and not fumigated soil. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 36, 671–680.

Cosme, M., Franken, P., Mewis, I., Baldermann, S., & Wurst, S. (2014). *Arbuscular mycorrhizal* fungi affect glucosinolate and mineral element composition in leaves of *Moringa oleifera*. Mycorrhiza, 24, 565–570.

De Carlo A, Tarraf W, Lambardi M, Benelli C. Temporary Immersion System for Production of Biomass and Bioactive Compounds from Medicinal Plants. Agronomy. 2021; 11(12):2414.

Elgar, S. M. (2017). Metabolic engineering for the production of functionalized terpenoids in heterologous hosts. Doctoral dissertation, Massachusetts Institute of Technology, USA.

Engels, B., Dahm, P., & Jennewein, S. (2008). Metabolic engineering of taxadiene biosynthesis in yeast as a frst step towards Taxol (Paclitaxel) production. Metabolic Engineering, 10, 201–206.

Escoriaza, G., Sansberro, P., Garcia-Lampasona, S., Gatica, M., Bottini, R., & Piccoli, P. (2013). In vitro cultures of Vitis vinifera L. cv. Chardonnay synthesize the phytoalexin nerolidol upon infection by Phaeoacremonium parasiticum. Phytopathologia Mediterranea, 52, 289–297.

Fazal, H., Abbasi, B. H., & Ahmad, N. (2014). Optimization of adventitious root culture for production of biomass and secondary metabolites in Prunella vulgaris L. Applied Biochemistry and Biotechnology, 74, 2086–2095.

Fazilatun, N., Nornisah, M., & Zhari, I. (2004). Superoxide radical scavenging properties of extracts and flavonoids isolated from the leaves of Blumea balsamifera. Pharmaceutical Biology, 42, 404–408.

Fowler, M. W. (1985). Problems in commercial

(2021). Plant drought stress tolerance: Understanding its physiological, biochemical and molecular mechanisms. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 35, 1912-1925.

Baslam, M., Esteban, R., García-Plazaola, J. I., & Goicoechea, N. (2013). Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) for inducing the accumulation of major carotenoids, chlorophylls and tocopherol in green and red leaf lettuces. Applied Microbiology and Biotechnology, 97, 3119–3128.

Behnke, K., Kaiser, A., Zimmer, I., Bru¨ggemann, N., Janz, D., Polle, A., Hampp, R., Ha¨nsch, R., Popko, J., Schmitt-Kopplin, P., Ehlting, B., Rennenberg, H., Barta, C., Loreto, F., & Schnitzler, J. (2010). RNAi-mediated suppression of isoprene emission in poplar transiently impacts phenolic metabolism under high temperature and highlight intensities: A transcriptomic and metabolomic analysis. Plant Molecular Biology, 74, 61–75.

Bhojwani, S. S., & Dantu, P. K. (2013). Micropropagation. In Plant tissue culture: An introductory text (pp. 245–274). London: Springer.

Brodelius, P. (1985). The potential role of immobilization in plant cell biotechnology. Trends in Biotechnology, 3, 280–285.

Brown, G. D. (2010). The biosynthesis of artemisinin (Qinghaosu) and the phytochemistry of Artemisia annua L. (Qinghao). Molecules, 15, 7603–7698.

Ceccarelli, N., Curadi, M., Martelloni, L., Sbrana, C., Picciarelli, P., & iovannetti, M. (2010). Mycorrhizal colonization impacts on phenolic content and antioxidant properties of artichoke leaves and flower heads two years after feld transplant. Plant and Soil, 335, 311–323.

Chandra, S., & Chandra, R. (2011). Engineering secondary metabolite production in hairy roots. Phytochemistry Reviews, 10, 371–395.

Chen, S., Jin, W., Liu, A., Zhang, S., Liu, D., Wang, F., Lin, X., & He, C. (2013). Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) increase growth and

Curtis (Eds.), Plant cell and tissue culture for the production of food ingredients (Vol. 30, pp. 215–224). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

Hong, J. K., Yun, B. W., Kang, J. G., Raja, M. U., Kwon, E., Sorhagen, K., Chu, C., Wang, Y., & Loake, G. J. (2008). Nitric oxide function and signalling in plant disease resistance. Journal of Experimental Botany, 59, 147–154.

Huang, T. K., & McDonald, K. A. (2009). Bioreactor engineering for recombinant protein production in plant cell suspension cultures. Biochemical Engineering Journal, 45, 168–184.

Huang, Z. A., Zhao, T., Fan, H. J., Wang, N., Zheng, S. S., & Ling, H. Q. (2012). The upregulation of NtAN2 expression at low temperature is required for anthocyanin accumulation in juvenile leaves of Lc-transgenic tobacco (Nicotiana tabacum L.). Journal of Genetics and Genomics, 39, 149–156.

Humbal, A., & Pathak, B. (2023). Influence of exogenous elicitors on the production of secondary metabolite in plants: A review ("VSI: secondary metabolites"). Plant Stress, 8, 100166.

Islam, M. Z., Park, B. J., & Lee, Y. T. (2021). Influence of temperature conditions during growth on bioactive compounds and antioxidant potential of wheat and barley grasses. Foods, 10, 2742.

Jan, R., Asaf, S., Numan, M., & Kim, K. M. (2021). Plant secondary metabolite biosynthesis and transcriptional regulation in response to biotic and abiotic stress conditions. Agronomy, 11, 968.

Jang, H. R., Lee, H. J., Shohael, A. M., Park, B. J., Paek, K. Y., & Park, S. Y. (2016). Production of biomass and bioactive compounds from shoot cultures of Rosa rugosa using a bioreactor culture system. Horticulture, Environment and Biotechnology, 57, 79–87.

Jeong, G. T., & Park, D. H. (2006). Enhanced secondary metabolite biosynthesis by elicitation in transformed plant root system. In M. M. JD, W. S. Adney, J. R. Mielenz, & T. Klasson exploitation of plant tissue cultures. In K. H. Neumann, W. Barz, & E. Reinhardt (Eds.), Primary and secondary metabolism of plant cell cultures (pp. 362–378). Berlin: Springer.

Gao, S. L., Zhu, D. N., Cai, Z. H., Jiang, Y., & Xu, D. R. (1999). Organ culture of a precious Chinese medicinal plant – Fritillaria unibracteata. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 59, 197–201.

Georgiev, M., Georgiev, V., Penchev, P., Antonova, D., Pavlov, A., Ilieva, M., & Popov, S. (2010). Volatile metabolic profles of cell suspension cultures of Lavandula vera, Nicotiana tabacum and Helianthus annuus, cultivated under different regimes. Engineering in Life Sciences, 10, 148–157.

Georgiev, V., Schumann, A., Pavlov, A., & Bley, T. (2014). Temporary immersion systems in plant biotechnology. Engineering in Life Sciences, 14(6), 607–621.

Gobbo-Neto, L., Guaratini, T., Pessoa, C., Moraes, M. O. D., Costa-Lotufo, L. V., Vieira, R. F., & Lopes, N. P. (2010). Differential metabolic and biological profles of Lychnophora ericoides mart. (Asteraceae) from different localities in the Brazilian" campos rupestres". Journal of the Brazilian Chemical Society, 21, 750–759.

Grover, A., Samuel, G., Bisaria, V. S., & Sundar, D. (2013). Enhanced withanolide production by overexpression of squalene synthase in Withania somnifera. Journal of Bioscience and Bioengineering, 115(6), 680–685.

Heidari, M., & Karami, V. (2014). Effects of different mycorrhiza species on grain yield, nutrient uptake and oil content of sunflower under water stress. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 13, 9–13.

Herre, E. A., Mejia, l C., Kyllo, D. A., Rojas, E., Maynard, Z., Butler, L., & Van bael, S. A. (2007). Ecological implications of anti-pathogen effects of tropical fungal endophytes and mycorrhizae. Ecology, 88, 550–558.

Hibino, K., & Ushiyama, K. (1999). Commercial production of ginseng by plant tissue culture technology. In T.-J. Fu, G. Singh, & W. R.

Karuppusamy, S. (2009). A review on trends in production of secondary metabolites from higher plants by in vitro tissue, organ and cell cultures. Journal of Medicinal Plant Research, 3, 1222–1239.

Karwasara, V. S., Jain, R., Tomar, P., & Dixit, V. K. (2010). Elicitation as yield enhancement strategy for glycyrrhizin production by cell cultures of Abrus precatorius Linn. In Vitro Cellular and Development Biology – Plant, 46, 354–362.

Keles, L. C., Melo, N. I. D., Aguiar, G. D. P., Wakabayashi, K. A. L., Carvalho, C. E. D., Cunha, W. R., & Lopes, N. P. (2010). Lychnophorinae (Asteraceae): A survey of its chemical constituents and biological activities. Quim Nova, 33, 2245–2260.

Khalili, M., Hasanloo, T., & Kazemi Tabar, S. K. (2010). Ag {+} enhanced silymarin production in hairy root cultures of Silybum marianum (L.) gaertn. Plant Omics, 3, 109.

Lam, V. P., Kim, S. J., Bok, G. J., Lee, J. W., & Park, J. S. (2020). The effects of root temperature on growth, physiology, and accumulation of bioactive compounds of Agastache rugosa. Agriculture, 10, 162.

Leicach, S. R., & Chludil, H. D. (2014). Plant secondary metabolites: Structure–activity relationships in human health prevention and treatment of common diseases. In Atta-ur-Rahman (Ed.), Studies in natural products chemistry (pp. 267–270). Amsterdam: Elsevier.

LIN-WANG, K. U., Micheletti, D., Palmer, J., Volz, R., Lozano, L., Espley, R., & Iglesias. (2011). High temperature reduces apple fruit colour via modulation of the anthocyanin regulatory complex. Plant, Cell & Environment, 34, 1176–1190.

Lindsey, K., & Yeoman, M. M. (1984a). The viability and biosynthetic activity of cells of Capsicum frutescens Mill. cv. annuum immobilized in reticulate polyurethane. Journal of experimental botany, 35(11), 1684-1696.

Lindsey, K., & Yeoman, M. M. (1984b). The synthetic potential of immobilised cells of (Eds.), Applied biochemistry and biotechnology (pp. 436–446). New York: Humana Press.

Jin, M. Y., Han, L., Li, H., Wang, H. Q., Piao, X. C., & Lian, M. L. (2017). Kinsenoside and polysaccharide production by rhizome culture of Anoectochilus roxburghii in continuous immersion bioreactor systems. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 131, 527.

Jose, S. & Thomas, T. D. (2014). Comparative phytochemical and antibacterial studies of two indigenous medicinal plants Curcuma caesia Roxb. and Curcuma aeruginosa. International Journal of Green Pharmacy, 8, 65–71.

Jouanin, L. (1984). Restriction map of an agropine-type Ri plasmid and its homologies with Ti plasmids. Plasmid, 12, 91–102.

Kaimoyo, E., Farag, M. A., Sumner, L. W., Wasmann, C., Cuello, J. L., & VanEtten, H. (2008). Sub-lethal levels of electric current elicit the biosynthesis of plant secondary metabolites. Biotechnology Progress, 24, 377–384.

Kajula, M., Tejesvi, M. V., Kolehmainen, S., Mäkinen, A., Hokkanen, J., Mattila, S., & Pirttilä, A. M. (2010). The siderophore ferricrocin produced by specifc foliar endophytic fungi in vitro. Fungal Biology, 114, 248–254.

Kapoor, D., Bhardwaj, S., Landi, M., Sharma, A., Ramakrishnan, M., & Sharma, A. (2020). The impact of drought in plant metabolism: How to exploit tolerance mechanisms to increase crop production. Applied Science, 10, 5692.

Karam, F. S., Haraguchi, M., & Gardner, D. (2011). Seasonal variation in pyrrolizidine alkaloid concentration and plant development in Senecio madagascariensis Poir. (Asteraceae) in Brazil. In F. Riet-Correa (Ed.), Poisoning by plants, mycotoxins and related toxins (pp. 179–185). Wallingford: CAB International.

Karppinen, K., Hokkanen, J., Tolonen, A., Mattila, S., & Hohtola, A. (2007). Biosynthesis of hyperforin and adhyperforin from amino acid precursors in shoot cultures of Hypericum perforatum. Phytochemistry, 68, 1038–1045.

Kapoor, R. (2013). Arbuscular mycorrhiza enhances the production of stevioside and rebaudioside-A in Stevia rebaudiana via nutritional and nonnutritional mechanisms. Applied Soil Ecology, 72, 187–194.

Matsubara, Y., Ishigaki, T., & Koshikawa, K. (2009). Changes in free amino acid concentrations in mycorrhizal strawberry plants. Scientia Horticulturae, 119, 392–396.

Mukherjee, C., Samanta, T., & Mitra, A. (2016). Redirection of metabolite biosynthesis from hydroxybenzoate to volatile terpenoids in green hairy roots in Daucus carota. Planta, 243, 305–320.

Mukherjee, C., Sircar, D., Chatterjee, M., Das, S., & Mitra, A. (2014). Combating photo oxidative stress in green hairy roots of Daucus carota cultivated under light irradiation. Journal of Plant Physiology, 171, 179–187.

Nafis, T., Akmal, M., Ram, M., Alam, P., Ahlawat, S., Mohd, A., & Abdin, M. Z. (2011). Enhancement of artemisinin content by constitutive expression of the HMG-CoA reductase gene in high-yielding strain of Artemisia annua L. Plant Biotechnology Reports, 5(1), 53-60.

Naik, P. M., & Al-Khayri, J. M. (2015). Impact of abiotic elicitors on in vitro production of plant secondary metabolites: A review. Journal of Advanced Research in Biotechnology, 1, 1–7.

Navarre, D. A., Payyavula, R. S., Shakya, R., Knowles, N. R., & Pillai, S. S. (2013). Changes in potato phenylpropanoid metabolism during tuber development. Plant Physiology and Biochemistry, 65, 89–101.

Oksman-Caldentey, K. M., & Inzé, D. (2004). Plant cell factories in the post-genomic era: New ways to produce designer secondary metabolites. Trends in Plant Science, 9, 433–440.

Oliveira, M. S., Campos, M. A., & Silva, F. S. (2015). Arbuscular mycorrhizal fungi and vermi compost to maximize the production of foliar biomolecules in Passiflora alata Curtis seedlings. Journal of the Science of Food and Capsicum frutescens Mill cv. annuum. Planta, 162(6), 495-501.

Liu, H., Wang, X., Wang, D., Zou, Z., & Liang, Z. (2011). Effect of drought stress on growth and accumulation of active constituents in Salvia miltiorrhiza Bunge. Industrial Crops and Products, 33(1), 84-88.

Lu, X., Shen, Q., Zhang, L., Zhang, F., Jiang, W., Lv, Z., ... & Tang, K. (2013). Promotion of artemisinin biosynthesis in transgenic Artemisia annua by overexpressing ADS, CYP71AV1 and CPR genes. Industrial Crops and Products, 49, 380-385.

Lucena, R. B., Rissi, D. R., Maia, L. A., Flores, M. M., Dantas, A. F. M., Nobre, V. M. D. T., & Barros, C. S. (2010). Poisoning by pyrrolizidine alkaloids in ruminants and horses in Brazil. Pesquisa Veterinaria Brasileira, 30, 447–452.

Lulu, T., Park, S. Y., Ibrahim, R., & Paek, K. Y. (2015). Production of biomass and bioactive compounds from adventitious roots by optimization of culturing conditions of Eurycoma longifolia in balloon-type bubble bioreactor system. Journal of Bioscience and Bioengineering, 119, 712–717.

Mahajan, V., Sharma, N., Kumar, S., Bhardwaj, V., Ali, A., Khajuria, R. K., Bedi, Y. S., Vishwakarma, R. A., & Gandhi, S. G. (2015). Production of rohitukine in leaves and seeds of Dysoxylum binectariferum: An alternate renewable resource. Pharmaceutical Biology, 53, 446–450.

Maier, W., Peipp, H., Schimidt, J., Wray, V., & Strack, D. (1995). Levels ofterpenoid glycoside (blumenin) and cell wall-bound phenolics in some cereal mycorrhizas. Plant Physiology, 109, 465–470.

Makowski, W., Mrzygłód, K., Szopa, A., Kubica, P., Krychowiak-Maśnicka, M., Tokarz, K. M., Tokarz, B., Ryngwelska, I., Paluszkiewicz, E., & Królicka, A. (2024). Effect of Agitation and Temporary Immersion on Growth and Synthesis of Antibacterial Phenolic Compounds in Genus Drosera. Biomolecules, 14(9), 1132.

Mandal, S., Evelin, H., Giri, B., Singh, V. P., &

Science and Technology, 176, 5–16.

Pavlov, A. I., Georgiev, M. I., Panchev, I. N., & Ilieva, M. P. (2005). Optimization of rosmarinic acid production by Lavandula vera MM plant cell suspension in a laboratory bioreactor. Biotechnology Progress, 21, 394–396.

Pedone-Bonfm, M. V., Lins, M. A., Coelho, I. R., Santana, A. S., Silva, F. S., & Maia, L. C. (2013). Mycorrhizal technology and phosphorus in the production of primary and secondary metabolites in cebil (Anadenanthera colubrina (Vell.) Brenan) seedlings. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93, 1479–1484.

Pence, V. C. (2011). Evaluating costs for the in vitro propagation and preservation of endangered plants. In Vitro Cellular & Development Biology – Plant, 47, 176–187.

Prenosil, J. E., & Pedersen, H. (1983). Immobilized plant cell reactors. Enzyme and Microbial Technology, 5(5), 323–331.

Qados, A. M. A. (2011). Effect of salt stress on plant growth and metabolism of bean plant Vicia faba (L.). Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 10, 7-15.

Radman, R., Saez, T., Bucke, C. & Keshavarz, T. (2003). Elicitation of plants and microbial cell systems. Biotechnology and Applied Biochemistry, 37: 91–102.

Rai, M. A., Gade, A. N., Rathod, D., Dar, M. U., & Varma, A. (2012). Mycoendophytes in medicinal plants: Diversity and bioactivities. Bioscience, 4, 86–96.

Ralphs, M. H., Creamer, R., Baucom, D., Gardner, D. R., Welsh, S. L., Graham, J. D., & Stegelmeier, B. L. (2008). Relationship between the endophyte Embellisia spp. and the toxic alkaloid swainsonine in major locoweed species (Astragalus and Oxytropis). Journal of Chemical Ecology, 34, 32–38.

Rao, S. R., & Ravishankar, G. A. (2002). Plant cell cultures: Chemical factories of secondary metabolities. Biotechnology Advances, 20, 101–153.

griculture, 95, 522–528.

Omar, S. A., Ashokhan, S., & Yaacob, J. S. (2023). Salinity-induced modulation of growth and accumulation of phytochemicals composition in in vitro root cultures of Azadirachta indica. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 50, 102748.

Pan, Q., Wang, Q., Yuan, F., Xing, S., Zhao, J., Choi, Y. H., ... & Tang, K. (2012). Overexpression of ORCA3 and G10H in Catharanthus roseus plants regulated alkaloid biosynthesis and metabolism revealed by NMR-metabolomics.

Parihar, P., Singh, S., Singh, R., Singh, V. P., & Prasad, S. M. (2015). Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: A review. Environmental Science and Pollution Research, 22, 4056-4075.

Patel, N., Patel, P., & Khan, B. M. (2016). Metabolic engineering: Achieving new insights to ameliorate metabolic profles in Withania somnifera. In H. S. Tsay, L. F. Shyur, D. Agrawal, Y. C. Wu, & S. Y. Wang (Eds.), Medicinal plants- recent advances in research and development (pp. 191–214). Singapore: Springer.

Patel, N., Patel, P., Kendurkar, S. V., Thulasiram, H. V., & Khan, B. M. (2015). Overexpression of squalene synthase in Withania somnifera leads to enhanced withanolide biosynthesis. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 122(2), 409–420.

Patel, S., Gaur, R., Verma, P., Bhakuni, R. S., & Mathur, A. (2010). Biotransformation of artemisinin using cell suspension cultures of Catharanthus roseus (L.) G. Don and Lavandula offcinalis L. Biotechnology Letters, 32, 1167–1171.

Paul, P., Singh, S. K., Patra, B., Sui, X., Pattanaik, S., & Yuan, L. (2017). A differentially regulated AP 2/ERF transcription factor gene cluster acts downstream of a MAP kinase cascade to modulate terpenoid indole alkaloid biosynthesis in Catharanthus roseus. New Phytologist, 213(3), 1107-1123.

Pavarini, D. P., Pavarini, S. P., Niehues, M., & Lopes, N. P. (2012). Exogenous influences on plant secondary metabolite levels. Animal Feed

and accumulation of a medicinal compound, Picroside-I, in cultures of Picrorhiza kurroa Royle ex Benth. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 100, 113.

Strobel, G., Stierle, A., Stierle, D., & Hess, W. M. (1993). Taxomyces andreanae, a proposed new taxon for a Bulbilliferous hyphomycete associated with Pacifc yew (Taxus brevifolia). Mycotaxon, 47, 71–80.

Su, W. W. (2007). Bioreactor engineering for recombinant protein production using plant cell suspension culture. In S. D. Gupta & Y. Ibaraki (Eds.), Plant tissue culture engineering (pp. 135–159). Dordrecht: Springer.

Szakiel, A., Pączkowski, C., & Henry, M. (2011). Influence of environmental abiotic factors on the content of saponins in plants. Phytochemistry Reviews, 10, 471–491.

Taiz, L., & Zeiger, E. (2004). Plant physiology (3rd ed.pp. 286–287). Sunderland: Sinauer Associates Publishers.

Trujillo-Villanueva, K., Rubio-Piña, J., Monforte-González, M., & Vázquez-Flota, F. (2010). Fusarium oxysporum homogenates and jasmonate induce limited sanguinarine accumulation in Argemone mexicana cell cultures. Biotechnology Letters, 32, 1005–1009.

Vialart, G., Hehn, A., Olry, A., Ito, K., Krieger, C., Larbat, R., Paris, C., Shimizu, B. I., Sugimoto, Y., Mizutani, M., & Bourgaud, F. (2012). A 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase from Ruta graveolens L. exhibits p-coumaroyl CoA 2′-hydroxylase activity (C2′ H): A missing step in the synthesis of umbelliferone in plants. The Plant Journal, 70, 460–470.

Wang, S., Liang, W., Yao, L., Wang, J., & Gao, W. (2019). Effect of temperature on morphology, ginsenosides biosynthesis, functional genes, and transcriptional factors expression in Panax ginseng adventitious roots. Journal of Food Biochemistry, 43(4), e12794.

Watt, M. P. (2012). The status of temporary immersion system (TIS) technology for plant micropropagation. African Journal of

Rhee, H. S., Cho, H. Y., Son, S. Y., Yoon, S. Y. H., & Park, J. M. (2010). Enhanced accumulation of decursin and decursinol angelate in root cultures and intact roots of Angelica gigas Nakai following elicitation. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 101, 295–302.

Sabir, F., Mishra, S., Sangwan, R. S., Jadaun, J. S., & Sangwan, N. S. (2013). Qualitative and quantitative variations in withanolides and expression of some pathway genes during different stages of morphogenesis in Withania somnifera Dunal. Protoplasma, 250, 539–549.

Sabzi-Nojadeh, M., Pouresmaeil, M., Amani, M., Younessi-Hamzekhanlu, M., & Maggi, F. (2024). Colonization of Satureja hortensis L. (Summer savory) with Trichoderma harzianum alleviates salinity stress via improving physio-biochemical traits and biosynthesis of secondary metabolites. Industrial Crops & Products, 208. [In Persian]

Santos, R. M., Fortes, G. A., Ferri, P. H., & Santos, S. C. (2011). Influence of foliar nutrients on phenol levels in leaves of Eugenia uniflora. Revista Brasileira de Farmacognosia, 21, 581–586.

Sarmadi, M., Karimi, N., Mirjalili, M. H., Ghassempour, A., Cusido, R. M., & Palazón, J. (2025). Osmotic stress modulates physio-biochemical traits and the expression of key genes involved in taxane biosynthesis in Taxus baccata L. cell cultures. Plant Stress, 101128.

Sharma, V., Goyal, S., & Ramawat, K. G. (2011). Increased puerarin biosynthesis during in vitro shoot formation in Pueraria tuberosa grown in growtek bioreactor with aeration. Physiology and Molecular Biology of Plants, 17, 87–92.

Smetanska, I. (2008). Production of secondary metabolites using plant cell cultures. Food Biotechnology, 111, 187–228.

Smith, M. A. L., Kobayashi, H., Gawienowski, M., & Briskin, D. P. (2002). An in-vitro approach to investigate medicinal chemical synthesis by three herbal plants. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 70, 105–111.

Sood, H., & Chauhan, R. S. (2010). Biosynthesis

Yeshi, K., Crayn, D., Ritmejerytė, E., & Wangchuk, P. (2022). Plant secondary metabolites produced in response to abiotic stresses has potential application in pharmaceutical product development. Molecules, 27, 313.

Yin, L., Zhao, C., Huang, Y., Yang, R. Y., & Zeng, Q. P. (2008). Abiotic stress-induced expression of artemisinin biosynthesis genes in Artemisia annua L. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 14(1), 1.

Yu, Y., Wang, T., Wu, Y., Zhou, Y., Jiang, Y., & Zhang, L. (2019). Effect of elicitors on the metabolites in the suspension cell culture of Salvia miltiorrhiza Bunge. Physiology and Molecular Biology of Plants, 25(1), 229-242.

Zabala, M. A., Angarita, M., Restrepo, J. M., Caicedo, L. A., & Perea, M. (2010). Elicitation with methyl-jasmonate stimulates peruvoside production in cell suspension cultures of Thevetia peruviana. In Vitro Cellular and Developmental Biology, 46, 233–238.

Zhang, W. J., Su, J., Tan, M. Y., Liu, G. L., Pang, Y. J., Shen, H. G., & Yang, Y. (2010). Expression analysis of shikonin-biosynthetic genes in response to M9 medium and light in Lithospermum erythrorhizon cell cultures. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 101, 135–142.

Zhao, Y. H., Jia, X., Wang, W. K., Liu, T., Huang, S. P., & Yang, M. Y. (2016). Growth under elevated air temperature alters secondary metabolites in Robinia pseudoacacia L. seedlings in Cd-and Pb-contaminated soils. Science of The Total Environment, 565, 586–594.

Zhu, Z., Liang, Z., & Han, R. (2009). Saikosaponin accumulation and antioxidative protection in drought-stressed Bupleurum chinense DC. plants. Environmental and experimental botany, 66(2), 326-333.

Zuzarte, M. R., Dinis, A. M., Cavaleiro, C., Salgueiro, L. R., & Canhoto, J. M. (2010). Trichomes, essential oils and in vitro propagation of Lavandula pedunculata (Lamiaceae). Industrial Crops and Products, 32, 580–587.

Biotechnology, 11(76), 14025-14035.

Wink, M. (2003). Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. Phytochemistry, 64, 3–19.

Wink, M. (2013). Evolution of secondary metabolites in legumes (Fabaceae). South African Journal of Botany, 89, 164–175.

Wink, M., & Schimmer, O. (2010). Molecular modes of action of defensive secondary metabolites. In M. Wink (Ed.), Functions and biotechnology of plant secondary metabolites (pp. 21–161). Hoboken: Wiley.

Xu, M., & Dong, J. (2008). Synergistic action between jasmonic acid and nitric oxide in inducing matrine accumulation of Sophora flavescens suspension cells. Journal of Integrative Plant Biology, 50, 92–101.

Yadav, B., Jogawat, A., Rahman, M. S., & Narayan, O. P. (2021). Secondary metabolites in the drought stress tolerance of crop plants: A review. Gene Reports, 23, 101040.

Yang, L. L., Yang, L., Yang, X., Zhang, T., Lan, Y. M., Zhao, Y., ... & Yang, L. M. (2020). Drought stress induces biosynthesis of flavonoids in leaves and saikosaponins in roots of Bupleurum chinense DC. Phytochemistry, 177, 112434.

Yang, X., Strobel, G., Stierle, A., Hess, W. M., Lee, J., & Clardy, J. (1994). A fungal endophytetree relationship: Phoma sp. in Taxus wallachiana. Plant Science, 102, 1–9.

Yang, Y., He, F., Yu, L., Chen, X., Lei, J., & Ji, J. (2007). Influence of drought on oxidative stress and flavonoid production in cell suspension culture of Glycyrrhiza inflata Batal. Zeitschrift Für Naturforschung C, 62(5-6), 410-416.

Yarmohammadi, F., Motallebi-Azar, A., Kazemiani, S., & Amani, M. (2024). Investigating the Effect of Different Concentrations of Murashige and Skoog (MS) Medium and Sucrose on the Production of Potato (Solanum tuberosum L.) Microtubers in vitro. Journal of Horticultural Science, 38, 762-745. [In Persian]