

外源诱导子影响植物悬浮细胞次生代谢产物积累的研究进展

王铭¹, 宋跃¹, 安慧¹, 庞秋颖^{1,*}, 阎秀峰^{2,*}

¹东北林业大学生命科学学院, 东北盐碱植被恢复与重建教育部重点实验室, 哈尔滨150040

²温州大学生命与环境科学学院, 浙江温州325035

*共同通信作者: 庞秋颖(qiuying@nefu.edu.cn)、阎秀峰(yanxiufeng@wzu.edu.cn)

摘要: 植物次生代谢产物不仅与植物防御反应息息相关, 还对植物生长发育有重要的调节作用。大部分植物次生代谢产物具有重要的经济价值, 特别是药用价值。通过代谢工程等手段提高某些植物次生代谢产物的产量, 一直是植物代谢领域的研究热点。培养植物悬浮细胞是生产次生代谢产物常用的手段之一, 而外源诱导子能够显著提高植物细胞相关次生代谢产物的积累。本文针对目前常用的生物及非生物诱导子, 系统总结了它们影响植物悬浮细胞次生代谢产物积累的研究进展。

关键词: 诱导子; 悬浮细胞; 次生代谢产物

Research progress on the effect of exogenous elicitors on the accumulation of secondary metabolites in plant suspension cells

WANG Ming¹, SONG Yue¹, AN Hui¹, PANG Qiuying^{1,*}, YAN Xiufeng^{2,*}

¹Key Laboratory of Saline-alkali Vegetation Ecology Restoration, Ministry of Education, College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

²College of Life and Environmental Science, Wenzhou University, Wenzhou, Zhejiang 325035, China

*Co-corresponding authors: Pang QY (qiuying@nefu.edu.cn), Yan XF (yanxiufeng@wzu.edu.cn)

Abstract: Plant secondary metabolites are not only closely related to plant defense responses, but also have important regulatory effects on plant growth and development. The secondary metabolites of most plants have important economic value, especially medicinal value. To increase the yield of plant secondary metabolites through metabolic engineering has become a hotspot in the field of plant metabolism research. The plant suspension cells culture is one of the commonly used approaches to produce secondary metabolites, and exogenous elicitors can significantly increase the accumulation of secondary metabolites of plant cells. Here, based on the well-studied biological and non-biological elicitors, the current investigations about the influence of the elicitors on the accumulation of secondary metabolites in plant suspension cells were systematically reviewed, expecting to provide references for systematic cognition and in-depth analysis of exogenous elicitors for increasing the yield of plant secondary metabolites.

Key words: elicitor; suspension cells; secondary metabolites

收稿 2020-12-22 修定 2021-03-04

资助 中央高校基本科研业务费专项资金(2572016DA05)和国家自然科学基金(31770433)。

植物能够生产成千上万的低分子量有机化合物, 这些有机化合物按功能大致可以分为三类: 植物生长发育必需的初生代谢产物(primary metabolites)、介导植物与环境相互作用的次生代谢产物(secondary or specialized metabolites)和对机体新陈代谢有重要调节作用的植物激素(plant hormones) (Erb和Kliebenstein 2020)。早先研究认为植物次生代谢产物不是植物生存必需的化合物(Kutchan 2001)。随着研究的不断深入, 人们发现它们不仅与植物防御反应息息相关, 还对植物生长发育有重要调节作用, 比如硫代葡萄糖苷、萜类、芳香烃类等, 都在植物生命活动中有着重要的意义(Katz等2020; Yu等2020; Li等2020)。大部分植物次生代谢产物具有重要的经济价值, 特别是药用价值, 比如人参皂苷(Wang和Zhong 2002)、青蒿素(Salehi等2019a)、喜树碱(Wang等2020)、紫杉醇(Zhou和Zhong 2011b)等。然而, 大多数经济价值高的、重要的次生代谢产物往往在植物体内产量很低。近年来, 如何通过代谢工程等手段提高某些植物次生代谢产物的产量, 成为植物代谢领域的研究热点。

利用代谢工程手段获得植物次生代谢产物的途径有很多, 培养植物悬浮细胞是生产次生代谢产物常用的手段之一。悬浮细胞体系是一个连续生产系统, 培养周期短, 均一性良好, 筛选到的高产细胞系具有遗传稳定性, 可以获得产量稳定和高质量的产物, 比如培养日本黄连(*Coptis japonica*)悬浮细胞生产小檗碱(Verpoorte等1999)。在悬浮细胞培养体系中, 利用外源诱导子诱导细胞积累次生代谢产物是一种重要策略。诱导子是天然或合成的化合物, 能通过激活并开启植物代谢过程中相关基因的应答, 促使植物细胞积累相关次生代谢物。根据其来源可分为非生物诱导子和生物诱导子, 非生物诱导子主要包括茉莉酸类、水杨酸、一氧化氮、重金属盐类以及电场等, 生物诱导子主要包括真菌类诱导子、细菌类诱导子、酵母提取物等。本文对目前用途比较广泛的非生物和生物诱导子影响植物悬浮细胞次生代谢产物积累的研究进行系统综述, 以期对系统认知和深入探索外源诱导子提高植物次生代谢产物的产量提供参考。

1 非生物诱导子对植物悬浮细胞次生代谢产物的影响

1.1 茉莉酸类

茉莉酸类(jasmonic acids, JAs)诱导子是目前悬浮细胞培养体系常用的一类非生物诱导子(Giri和Zaheer 2016)。JAs是具有信号分子生理功能的 α -亚麻酸衍生的环戊酮化合物, 包括茉莉酸(jasmonic acid, JA)及其衍生物, 比如茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)和茉莉酸异亮氨酸复合物(jasmonoyl-isoleucine, JA-Ile)等(Ho等2020)。研究发现外源JAs能显著增强植物悬浮细胞中次生代谢产物的积累, 被广泛用于悬浮细胞培养系统中, 如MeJA能诱导西兰花(*Brassica oleracea*)细胞积累硫化物(Sánchez-Pujante等2020), 促进染色茜草(*Rubia tinctorum*)细胞内积累蒽醌(Perassolo等2011), 增加白花丹属植物*Plumbago rosea*细胞中羟基蒽醌的积累(Silja等2014)。外源JAs可能激活内源JA作为信号介导次生代谢产物的积累, 如外源2-羟乙基茉莉酸(2-hydroxyethyl jasmonate, HEJA)诱导增强了内源JA生物合成酶活性, 提高了内源性JA水平, 从而增强了人参属植物三七(*Panax notoginseng*)悬浮细胞内人参皂苷的积累(Hu和Zhong 2008)。

不同结构的茉莉酸衍生物作用于植物细胞时, 对次生代谢产物积累诱导效果是不一样的, 其羟基数和亲脂性是两个重要因素。羟基既是氢键供体, 又是受体, 可以促进茉莉酸衍生物与定位在植物细胞质膜上的JA受体相互作用与偶联; 但是羟基数目太多, 亲脂性就会降低, 促进了茉莉酸衍生物从水相向相互作用位点的转移, 不利于其活性的发挥。例如, 相比于含有4个羟基的D-葡萄糖基茉莉酸(D-glucosyljasmonate, GJA), 含有2个羟基的2,3-二羟丙基茉莉酸(2,3-dihydroxypropyl jasmonate, DHPJA)的诱导活性更大, 处理红豆杉(*Taxus chinensis*)悬浮细胞能积累更多的紫杉醇(Qian等2004a)。然而, 亲脂性太高诱导活性也不好, 如MeJA比HEJA和DHPJA的羟基数少、亲脂性高, 但后两者的诱导活性更强, 能够积累更多的次生代谢产物(Qian等2004b; Shen等2012)。除此之外, MeJA结构侧链中的双键也有重要作用, 相比HEJA, MeJA

对三七悬浮细胞内人参皂苷的积累有显著的诱导作用, 并且改变了人参皂苷不同组分含量的比例, 在添加外源MeJA时积累的二醇皂苷含量显著高于三醇皂苷(Wang和Zhong 2002)。诱导子的浓度和孵化时间也是重要影响因素, JA处理蓼属植物*Polygonum minus*细胞时, 会增加细胞中萜烯类、内酯类等次生代谢产物的量, 但是有一些次生代谢产物只出现在一定浓度JA处理的细胞里, 比如2-呋喃甲醇只存在于25或50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ JA处理的细胞里; 还有某些代谢物的浓度随着孵化时间的延长而增加, 例如用50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ JA处理蓼属植物*P. minus*细胞, 2-羟基- γ -丁内酯的相对含量由1 d时的2.41%升高到2 d后的2.88%, 在3 d后相对含量达到5.11%, 而用25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ JA处理时糖醛只能在孵化4 d后被检测到(Shukor等2013)。

JAs对植物悬浮细胞次生代谢产物的诱导效应主要表现在上调次生代谢产物生物合成途径相关酶基因表达和引发防御反应。角鲨烯合成酶(squalene synthase, SQS)和角鲨烯环氧化酶(squalene epoxidase, SE)是三萜和甾醇生物合成途径中的两种常见酶, HEJA和MeJA在处理三七悬浮细胞时SQS和SE的表达上调, 进而促进了三萜化合物的生物合成(Hu和Zhong 2008)。JAs能识别、结合存在于质膜中的相应受体, 进而导致细胞内的活性氧增加, 随后细胞为了应对这种氧化爆发, 引发防御反应来增强细胞的抗氧化能力。对丹东玄参(*Scrophularia kakudensis*)的悬浮细胞施加MeJA处理后, 细胞内会产生一种类黄酮物质(acacetin), 这种次生代谢产物通过增加悬浮细胞的自由基清除潜力来增强细胞的抗氧化能力(Manivannan等2016)。苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia lyase, PAL)是苯丙烷途径中重要的酶, 能参与清除细胞内过量产生的活性氧, PAL的上调还导致具有抗氧化性的次生代谢产物积累增多, 导致植物细胞内的一系列防御反应, 是一种植物细胞防御标志(Qian等2004a; Manivannan等2016)。MeJA作用于西兰花悬浮细胞时细胞内PAL活性增强, 促进了酚类和黄酮类次生代谢物质的合成, 细胞内的多酚氧化酶能够将酚类化合物氧化成醌, 醌能共价结合相关蛋白质形成聚合物, 这种聚合物对病原菌具有抗

菌和细胞毒活性, 并且可以防御食草动物(Sánchez-Pujante等2020)。

1.2 水杨酸

水杨酸(salicylic acid, SA)是一种普遍存在的植物激素, 它能够参与调节植物的生长发育以及植物生命活动中的许多过程, 被认为是诱导次生代谢物生物合成的信号分子(Yu等2001)。外源SA能够诱导植物悬浮细胞萜类化合物的积累, 如外源SA增加了红豆杉悬浮细胞中紫杉醇(Zhou和Zhong 2011b)、印楝(*Azadirachta indica*)悬浮细胞内印楝素(Prakash和Srivastava 2008)以及唇萼薄荷(*Mentha pulegium*)悬浮细胞中柠檬烯、薄荷酮、薄荷醇和 α -蒎烯的积累(Darvishi等2016)。酚类化合物的产量也受到外源SA的显著诱导, 研究表明SA能够增强亚麻(*Linum usitatissimum*)细胞内总黄酮、总酚(主要为木质素类和新木质素类)(Nadeem等2019)和蓼科沙拐枣属植物*Calligonum polygonoides*悬浮细胞中没食子酸、儿茶素、槲皮素等(Owis等2016)以及染色茜草悬浮细胞中茜草素(Orbán等2008)的积累。外源SA的诱导作用也表现在对其他化合物的积累上, 如外源SA能增加假马齿苋(*Bacopa monnieri*)悬浮细胞内的巴可苷(bacoside)(Koul和Mallubhotla 2020)和孜然芹(*Cuminum cyminum*)悬浮细胞中芳樟醇的含量(Kazemi等2016)。

目前的研究表明, 外源SA能够刺激悬浮细胞内源性SA合成, 或外源SA直接被细胞摄取来增加细胞内整体SA的水平进而诱导植物次生代谢产物生成。细胞内SA是植物细胞应对各种生物和非生物胁迫信号转导的重要信使, 可显著增加悬浮细胞内次生代谢产物的含量, 如外源性SA增加了红豆杉细胞内内源性SA水平进而诱导了紫杉醇的生物合成(Zhou和Zhong 2011a)。外源SA的作用还表现在诱导了参与次生代谢的基因, 如外源SA能使丹参(*Salvia miltiorrhiza*)细胞中PAL、酪氨酸氨基转移酶和迷迭香酸合成酶基因的表达增加, 它们是酚酸生物合成途径关键酶(Li等2016)。红豆杉悬浮细胞内紫杉醇生物合成途径的关键酶香叶草二磷酸合成酶和紫杉二烯合酶的转录水平也受外源SA诱导, 从而增加了紫杉醇的生物合成(Zhou和Zhong 2011b)。外源SA也能通过增强次生代谢产

物含量来提高细胞的抗氧化潜力, 比如亚麻产生的木质素和新木质素, 已被认为具有良好的抗氧化潜力, 它们的生物合成随着外源SA浓度的升高和处理时间的延长而增强(Nadeem等2019)。除此之外, 外源SA还能通过抑制质膜H⁺-ATP酶的活性而增加细胞质中的H⁺、降低细胞质的pH, 导致细胞酸化进而调节特定次生代谢产物的合成(Li等2016; Sakano 2001)。

1.3 其他植物激素及其合成类似物

除了应用比较广泛的JAs和SA, 其他植物激素及其合成类似物也被用作诱导植物次生代谢产物产生的外源非生物诱导子, 它们是一种简单的分子, 能调控植物基本生长和发育过程, 还能调节植物悬浮细胞中次生代谢产物的产生(Jamwal等2018)。如 β -吲哚乙酸(β -indoleacetic acid, IAA)、 α -萘乙酸(α -naphthalene acetic acid, NAA)和6-苄基腺嘌呤(6-benzylaminopurine, 6-BA)共同作用提高了狭叶毛地黄(*Digitalis lanata*)悬浮细胞中黄酮类化合物的含量(Bota和Deliu 2015); 脱落酸(abscisic acid, ABA)诱导了红豆杉悬浮细胞中紫杉醇的产生(Luo等2001); 2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 2,4-D)和6-BA联合使用增强了伞形科大阿米芹(*Ammi majus*)悬浮细胞中三萜的积累(Tahmasebi等2018)。由于乙烯利在水溶液中能分解释放乙烯(Linden等2001), 所以通常在植物悬浮培养中添加乙烯利溶液来进行诱导, 如乙烯利可以诱导豆科植物胡卢巴(*Trigonella foenum-graecum*)悬浮细胞内薯蓣皂苷元的产生(Gómez等2004)。有文献表明, 参与次生代谢物生物合成的基因的表达可能受到植物激素相关基因的调控, 而激素信号与次级代谢物产生之间的密切联系往往是由乙烯、ABA、生长素、2,4-D等植物激素及其合成类似物触发的(Tahmasebi等2018)。

1.4 其他非生物诱导子

除了植物激素, 还有一些其他的非生物诱导子也能诱导植物次生代谢产物的积累, 包括一氧化氮(NO)、一氧化碳(CO)、过氧化氢、脉冲电场(pulsed electric field, PEF)等。

NO被认为是一种潜在的化学诱导子, 它的供体硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)可以增加丹东

玄参悬浮细胞内总酚和总黄酮的含量(Manivannan等2016)。研究表明NO能通过调控次生代谢产物生物合成中关键酶的表达来诱导次生代谢, 如SNP可刺激滇紫草(*Onosma paniculatum*)细胞中参与紫草醌生物合成的三种关键酶——羟基苯甲酸酯间香叶基转移酶(phydroxybenzoate geranyltransferase, PGT)、PAL和3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A还原酶的表达水平, 增加紫草醌的含量(Wu等2009)。施加外源的NO能够立即增强细胞内蛋白激酶活性, 并且保持在较高水平, 进而使相关蛋白磷酸化, 从而增强次生代谢产物积累, 如NO处理长春花(*Catharanthus roseus*)悬浮细胞时细胞内相关蛋白磷酸化, 增强了吲哚生物碱的含量(Xu和Dong 2005)。

过氧化氢能上调盐生肉苁蓉(*Cistanche salsa*)悬浮细胞中苯乙醇苷类生物合成途径基因的转录水平, 进而诱导苯乙醇苷类的生物合成(Chen等2015a)。甲基- β -环糊精能诱导欧洲红豆杉(*Taxus baccata*)悬浮细胞内紫杉醇的积累(Kashani等2018)。另外, 外源CO能诱导多花筋骨草(*Ajuga multiflora*)和匍枝筋骨草(*Ajuga lobata*)悬浮细胞中 β -蜕皮甾酮的积累(孙菲菲等2015)。还有新型合成吡啶衍生物2-(2-氟-6-硝基苄硫基)吡啶-4-碳硫酰胺诱导了红车轴草(*Trifolium pratense*)细胞内苯生异黄酮和黄酮类化合物的积累(Kašparova等2012)。两种合成诱导子吲哚-异亮氨酸(In-Ile)、N-亚油酰基-1-谷氨酰胺(Lin-Gln)能有效诱导葡萄(*Vitis vinifera*)细胞内花青素的产生(Cai等2012b)。青蒿素酸通过提高次生代谢产物合成途径相关的酶的表达水平诱导长春花细胞中萜类吲哚生物碱的产生(Liu等2014)。硝酸银和谷胱甘肽诱导水母雪兔子(*Saussurea medusa*)细胞辣椒素(jaceosidin)和高车前素(hispidulin)的产生(Zhao等2005)。重金属离子(Co²⁺、Ag⁺、Cd²⁺)能显著增强葡萄悬浮细胞中花青素和酚酸类化合物的积累(Cai等2013)。低浓度的稀土元素Ce³⁺能增加银杏悬浮细胞中黄酮类化合物的产生, 但是高剂量的Ce³⁺会导致细胞死亡(Chen等2015b)。微量元素Γ能提高喜树(*Camptotheca acuminata*)悬浮细胞内喜树碱的含量(Pan等2004)。金属盐(氯化镉、氯化汞、硝酸银、氯化铜、氯化钴和氯化钙)会增强匙羹藤(*Gymnema sylvestre*)悬浮细胞产酸

(如皂苷)能力(Ch等2012)。

以上的非生物诱导子都是直接影响植物悬浮细胞内的一系列代谢反应来诱导次生代谢产物, 还有一些非生物诱导子可能对悬浮细胞结构产生影响, 这种影响导致细胞内的一些化学反应进而诱导次生代谢产物。如PEF可以改变膜的介电性能, 能诱导红豆杉悬浮细胞内云南紫杉烷C (Ye等2004)和葡萄悬浮细胞内花青素和酚酸的积累(Cai等2011; Saw等2012)。玻璃珠产生的机械压力会导致细胞损伤, Shukor等(2013)发现玻璃珠处理蓼属植物*P. minus*悬浮细胞能增加2-呋喃甲醛、5-羟甲基等次生代谢物的含量。低能超声(low-energy ultrasound, US)对植物细胞会产生机械应力, 主要是流体运动和流体动力学事件(特别是声空化和空化诱导的微流), 而US会诱导红豆杉细胞内紫杉醇的生产(Wu和Lin 2003)及提高人参(*Panax ginseng*)细胞内皂苷的含量(Wu和Lin 2002)。很多实验也表明纳米粒子对细胞有一定的毒性作用, 因为纳米粒子的直径小于细胞壁孔直径, 可以很容易穿透细胞壁并到达质膜, 然后利用离子转运通道和转运蛋白穿过膜, 这样纳米粒子就可以与膜结合, 干扰不同的细胞器, Karimzadeh等(2019)发现纳米粒子ZnO能有效增强亚麻细胞内PAL和肉桂醇脱氢酶的活性, ZnO和TiO₂还会增强细胞内木质素和总酚的含量。随着科技的发展, 人们将会发现更多的非生物诱导子, 而对于已知非生物诱导子的诱导机制也需要进一步探索与完善。

2 生物诱导子对植物悬浮细胞次生代谢产物的影响

2.1 真菌类诱导子

真菌诱导子能有效诱导植物悬浮细胞体系中次生代谢产物的积累。不同的真菌类型诱导植物悬浮细胞产生的次生代谢产物大多是不同的。比如黑曲霉(*Aspergillus niger*)使长春花悬浮细胞内生物碱含量增加(Valluri 2009), 内生真菌印度梨形孢菌(*Piriformospora indica*)能够增强马缨丹(*Lantana camara*)悬浮细胞内五环三萜类化合物的含量(Kumar等2015), 真菌木霉(*Trichoderma viride*)使金

盏花(*Calendula officinalis*)悬浮细胞内齐墩果酸的积累增强(Wiktorowska等2010)。不同的真菌类型也可以对悬浮细胞次生代谢产物积累产生相同的诱导效果。比如来源于欧洲红豆杉细胞内的球形毛壳菌(*Chaetomium globosum*)和来源于欧榛(*Corylus avellana*)细胞内的类壳小圆孢菌(*Paraconiothyrium brasiliense*)都能增加欧榛细胞内紫杉醇的含量(Salehi等2019b)。另外, 外源真菌诱导子的利用形式也是多样的, 比如球形黑孢菌(*Nigrospora sphaerica*)的干细胞粉末可以增加红厚壳(*Calophyllum inophyllum*)悬浮细胞内二吡喃香豆素类(inophyllum)的含量(Pawar等2011), 黑曲霉的细胞壁可以诱导贯叶连翘(*Hypericum perforatum*)悬浮细胞内金丝桃素的产生(Xu等2005)。

真菌诱导子的诱导机制包括诱导子的识别、信号转导、基因表达以及关键酶的激活等, 内生真菌能够合成保守分子, 称为微生物相关分子模式(microbe-associated molecular patterns, MAMPs), 植物细胞表面有特定的受体识别MAMPs, 进而引发植物细胞内的防御反应从而促进了次生代谢产物的积累(Salehi等2020b)。MAMPs的种类以及浓度的不同会导致真菌诱导子诱导效果的多样性。从欧榛中分离到内生真菌黄曲霉菌株(HEF17)的细胞提取物(cell extract, CE)和培养滤液(culture filtrate, CF)中存在不同的真菌MAMPs, 实验证明促进欧榛悬浮细胞内紫杉醇生物合成, CE和CF的联合处理比单独使用的效果更好(Salehi等2020a)。印度梨形孢菌和木霉属*Trichoderma tomentosum*提取物能使长春花悬浮细胞内长春碱(vindoline)生物合成途径中的相关基因*DAT*和*D4H*的表达水平升高, 并影响长春花碱(vinblastine)的去甲基化和甲酰化, 而长春新碱(vincristine)的合成与长春花碱的去甲基化和甲酰化有关, 所以内生真菌提取物增加了长春花细胞内长春花碱的含量, 减少了长春新碱的产生(Ramezani等2018)。用来源于灰霉菌(*Botrytis cinerea*)的内聚半乳糖醛酸酶1 (endopolygalacturonase 1, BcPG1)处理葡萄悬浮细胞时会激活次生代谢产物合成途径中的关键酶PAL和二苯乙烯合成酶的转录, 进而提高了白藜芦醇等苯丙烷类化合物的积累(Vandelle等2006)。

2.2 细菌类诱导子

因为细菌比真菌的培养时间短,所以优化细菌作为诱导子的诱导方案显然更经济。细菌也能诱导植物悬浮细胞次生代谢产物的产生。如白色念珠菌(*Candida albicans*)和金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)诱导银杏(*Ginkgo biloba*)悬浮细胞内白果内酯(bilobalide)、银杏内酯A(ginkgolide A)和银杏内酯B(ginkgolide B)的增加(Kang等2009)。发根农杆菌(*Agrobacterium rhizogenes*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)和大肠杆菌(*Escherichia coli*)能诱导匙羹藤悬浮细胞中三萜皂苷匙羹藤酸(gymnemic acid)的积累(Chodisetti等2013)。丁香假单胞丁香致病种(*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*)和烟草野火病原细菌(*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*)侵染烟草(*Nicotiana tabacum*)悬浮细胞时使乙酰香草醛(acetovanillone)增加,乙酰香草醛是氧化还原敏感的,而细菌的鞭毛蛋白或热杀菌悬液能引起悬浮细胞中的氧化爆发进而增加次生代谢产物(Baker等2019)。

2.3 酵母提取物

酵母提取物(yeast extract, YE)是一类重要的诱导子,能诱导植物悬浮细胞次生代谢产物的积累。研究表明, YE能使白花丹属植物悬浮细胞内白花丹素(Silja等2014)、水母雪兔子悬浮细胞内丁香脂素(Xu等2007)、以及亚麻悬浮细胞内生物活性成分木质素(异豆香脂素二葡萄糖苷和芹菜素二糖苷)和新木质素(脱氢二芳基醇葡萄糖苷和桂酰甘油- β -异氰醇醚苷)的含量增加(Nadeem等2018)。YE对次生代谢的影响非常复杂,可能是因为它是多种化合物的混合物。Cho等(2008)证明YE由甲壳素、 β -葡聚糖、麦角甾醇、*N*-乙酰氨基葡萄糖和糖肽组成。较高的YE浓度会引起培养物的褐变进而影响次生代谢产物的产生(Sánchez-Sampedro等2005),因此YE的处理浓度是一个重要的诱导因素。适当浓度的YE会增强嘉兰(*Gloriosa superba*)悬浮细胞内秋水仙碱的含量,如果YE浓度过高则降低秋水仙碱的含量(Mahendran等2018)。这种情况与YE处理亚麻悬浮细胞所观察到的情况一致(Nadeem等2018)。YE与细胞的接触时间也具有重要意义,如YE诱导夹竹桃科植物(*Decalepis salicifolia*)悬浮细

胞总黄酮和总酚积累的最适诱导时间是72 h (Ahmad等2019)。YE还可以作为氮源,在嘉兰悬浮细胞秋水仙碱和硫代秋水仙碱的生物合成中发挥重要的作用(Mahendran等2018)。

2.4 其他生物诱导子

对于大多数生物诱导子来说,具有诱导活性的成分主要是多糖,如来源于酵母提取物中的甲壳素能显著增加花菱草(*Eschscholtzia californica*)悬浮细胞内血根碱的积累(Cho等2008)。还有来源于真菌细胞壁的甲壳素和壳聚糖、来自柑橘类水果的果胶和来自褐藻的海藻酸钠能够增强葡萄悬浮细胞中花青素和酚酸的含量(Cai等2012a)。多糖诱导子活性受不同结构特征的影响,包括聚合度、分子量、分支特性、官能团、构象、糖苷键和单糖组成等(Zheng等2020)。

冠菌素(coronatine)是一种由丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)产生的植物毒素,能诱导西兰花悬浮培养细胞中酚类化合物的积累(Sánchez-Pujante等2020)。山梨醇和冠菌素单独或者联合作用都能诱导黄花蒿(*Artemisia annua*)悬浮细胞青蒿素生物合成基因的表达进而使细胞内积累青蒿素(Salehi等2019a)。来自烟草天蛾(*Manduca sexta*)幼虫的昆虫唾液,能有效诱导葡萄细胞内花青素的产生以及细胞外3-*O*-葡萄糖基-白藜芦醇的积累,具体是唾液中的哪种成分产生的诱导作用还需要进一步的研究(Cai等2012b)。

3 不同诱导子之间的相互作用对植物悬浮细胞次生代谢产物的影响

不同诱导子对植物悬浮细胞次生代谢产物的诱导大多是具有协同作用的。研究表明,联合诱导子(YE、壳聚糖、 Ag^+)处理比单一诱导子处理显著提高了水母雪兔子悬浮细胞内丁香脂素的含量(Xu等2007)。MeJA和环糊精联合处理也显著增加了长春花悬浮细胞内生物碱的含量(Almagro等2014)。与其他非生物诱导子相比,乙烯诱导悬浮细胞次生代谢产物积累的机制尚不清楚,目前研究表明乙烯可以增强其他诱导子的作用,如乙烯利和PEF共同作用可以刺激葡萄细胞内产生更多的花色素(Saw等2012),并且乙烯利还能增强MeJA

对红豆杉悬浮细胞内紫杉醇的诱导(Tabata 2004)。不同诱导子诱导的信号通路也存在相互联系, 比如MeJA和YE都能够增加花菱草悬浮细胞中苯并菲啶生物碱含量, 但是MeJA和YE介导了苯并菲啶生物碱生物合成途径的不同阶段, MeJA诱导了较早阶段的代谢物二氢血红素的积累, 而YE促进了苯并菲啶生物碱生物合成途径中后续代谢物血红素的转化, 并且以MeJA、SA、YE顺序处理细胞时, 细胞内的苯并呋喃吡啶生物碱积累要比单一诱导子或同时处理时积累的更多(Cho等2008)。

除了诱导子之间的作用, 诱导子和其他物质的共同作用也会加强植物次生代谢产物的产生, 比如相比单一使用MeJA, MeJA和苯丙氨酸组合作用会使葡萄悬浮细胞产生更多的花青素(Qu等2011)。为了能有效地获得想要的次生代谢产物, 用诱导子和其他物质的共同作用提高植物细胞培养中次生代谢物产量时, 不同细胞系及其特性需要单独考虑(Qu等2006), 比如MeJA与其他诱导子组合对低产细胞系有协同作用, 而对高产的细胞系则没有(Qu等2011)。目前, 对于不同诱导子协同作用于植物悬浮细胞时诱导次生代谢产物积累的条件和作用机制的了解还很有限, 有待于深入研究。

4 结语

次生代谢产物是植物在长期进化中对生态环境适应的结果, 在植物生命活动中有重要意义, 还是许多药物、染料、香料等化合物的重要来源。次生代谢产物在植物中含量通常很低, 利用细胞工程等手段大规模生产次生代谢产物成为植物代谢领域的研究热点。利用外源诱导子能够显著提高植物悬浮细胞次生代谢产物的积累, 对外源诱导子种类和作用机制的研究, 尤其是对其参与不同类型次生代谢产物合成机理的深入了解, 能够提供科学的理论依据, 有助于建立高效的诱导方法。

外源诱导子提高植物悬浮细胞次生代谢物产量取决于诱导子与植物细胞间复杂的相互作用。目前的研究表明, 无论是非生物诱导子还是生物诱导子, 多是通过激活植物代谢过程中防御相关基因, 诱导植物细胞代谢过程发生变化, 产生一系列的生理生化反应, 最终致使植物积累相关次生

代谢产物来抵御不良环境(Vandelle等2006; Sánchez-Pujante等2020)。已有研究虽让我们对外源诱导子种类及其生物学功能、甚至作用机制有了一定认识, 但仍有很多研究工作有待深入和完善, 比如外源诱导子的其他类型、诱导子的作用机制、诱导子之间的相互作用、诱导子诱导的代谢通路之间的相互作用等等。此外, 诱导子特异性、诱导子浓度、诱导时间、诱导子处理时培养物的发育阶段是影响细胞生物量和生物活性物质积累的重要因素(Vasconsuelo和Boland 2007)。对外源诱导子影响植物悬浮细胞次生代谢产物积累的深入研究, 将有效解决植物悬浮细胞培养次生代谢物产量低不稳定的问题, 加速植物次生代谢产物商品化和产业化的进程。

参考文献(References)

- Ahmad Z, Shahzad A, Sharma S (2019). Chitosan versus yeast extract driven elicitation for enhanced production of fragrant compound 2-hydroxy-4-methoxybenzaldehyde (2H4MB) in root tuber derived callus of *Decalepis salicifolia* (Bedd. ex Hook. f.) Venter. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 136: 29–40
- Almagro L, Gutierrez J, Pedreño MA, et al (2014). Synergistic and additive influence of cyclodextrins and methyl jasmonate on the expression of the terpenoid indole alkaloid pathway genes and metabolites in *Catharanthus roseus* cell cultures. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 119: 543–551
- Baker CJ, Mock NM, Averyanov AA (2019). Redox- and bio-activity of apocynin (acetovanillone) in tobacco, a plant phenolic that alleviates symptoms of autoimmune diseases in animals. *Physiol Mol Plant Pathol*, 106: 145–156
- Bota C, Deliu C (2015). Effect of plant growth regulators on the production of flavonoids by cell suspension cultures of *Digitalis lanata*. *Farmacia*, 63: 716–719
- Cai ZZ, Kastell A, Mewis I, et al (2012a). Polysaccharide elicitors enhance anthocyanin and phenolic acid accumulation in cell suspension cultures of *Vitis vinifera*. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 108: 401–409
- Cai ZZ, Knorr D, Smetanska I (2012b). Enhanced anthocyanins and resveratrol production in *Vitis vinifera* cell suspension culture by indanoyl-isoleucine, N-linolenoyl-L-glutamine and insect saliva. *Enzyme Microb Technol*, 50: 29–34
- Cai ZZ, Kastell A, Speiser C, et al (2013). Enhanced resveratrol production in *Vitis vinifera* cell suspension cultures

- by heavy metals without loss of cell viability. *Appl Biochem Biotechnol*, 171: 330–340
- Cai ZZ, Riedel H, Saw NMMT, et al (2011). Effects of pulsed electric field on secondary metabolism of *Vitis vinifera* L. cv. Gamay Fréaux suspension culture and exudates. *Appl Biochem Biotechnol*, 164: 443–453
- Ch B, Rao K, Gandhi S, et al (2012). Abiotic elicitation of gymnemic acid in the suspension cultures of *Gymnema sylvestre*. *World J Microbiol Biotechnol*, 28: 741–747
- Chen J, Yan YX, Guo ZG (2015a). Identification of hydrogen peroxide responsive ESTs involved in phenylethanoid glycoside biosynthesis in *Cistanche salsa* cell culture. *Biol Plant*, 59: 695–700
- Chen Y, Luo YY, Qiu NF, et al (2015b). Ce^{3+} induces flavonoids accumulation by regulation of pigments, ions, chlorophyll fluorescence and antioxidant enzymes in suspension cells of *Ginkgo biloba* L. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 123: 283–296
- Cho HY, Rhee HS, Yoon SYH, et al (2008). Differential induction of protein expression and benzophenanthridine alkaloid accumulation in *Eschscholtzia californica* suspension cultures by methyl jasmonate and yeast extract. *J Microbiol Biotechnol*, 18: 255–262
- Chodiseti B, Rao K, Gandhi S, et al (2013). Improved gymnemic acid production in the suspension cultures of *Gymnema sylvestre* through biotic elicitation. *Plant Biotechnol Rep*, 7: 519–525
- Darvishi E, Kahrizi D, Bahraminejad S, et al (2016). *In vitro* induction of α -pinene, pulegone, menthol, menthone and limonene in cell suspension culture of pennyroyal (*Mentha pulegium*). *Cell Mol Biol*, 62: 7–9
- Erb M, Kliebenstein DJ (2020). Plant secondary metabolites as defenses, regulators, and primary metabolites: the blurred functional trichotomy. *Plant Physiol*, 184: 39–52
- Giri CC, Zaheer M (2016). Chemical elicitors versus secondary metabolite production *in vitro* using plant cell, tissue and organ cultures: recent trends and a sky eye view appraisal. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 126: 1–18
- Gómez P, Ortuño A, Del Río JA (2004). Ultrastructural changes and diosgenin content in cell suspensions of *Trigonella foenum-graecum* L. by ethylene treatment. *Plant Growth Regul*, 44: 93–99
- Ho TT, Murthy HN, Park SY (2020). Methyl jasmonate induced oxidative stress and accumulation of secondary metabolites in plant cell and organ cultures. *Int J Mol Sci*, 21: 716
- Hu FX, Zhong JJ (2008). Jasmonic acid mediates gene transcription of ginsenoside biosynthesis in cell cultures of *Panax notoginseng* treated with chemically synthesized 2-hydroxyethyl jasmonate. *Proc Biochem*, 43: 113–118
- Jamwal K, Bhattacharya S, Puri S (2018). Plant growth regulator mediated consequences of secondary metabolites in medicinal plants. *J Appl Res Med Aromat Plants*, 9: 26–38
- Kang SM, Min JY, Kim YD, et al (2009). Effect of biotic elicitors on the accumulation of bilobalide and ginkgolides in *Ginkgo biloba* cell cultures. *J Biotechnol*, 139: 84–88
- Karimzadeh F, Haddad R, Garoosi GH, et al (2019). Effects of nanoparticles on activity of lignan biosynthesis enzymes in cell suspension culture of *Linum usitatissimum* L. *Russ J Plant Physiol*, 66: 756–762
- Kashani K, Javaran MJ, Sabet MS, et al (2018). Identification of rate-limiting enzymes involved in paclitaxel biosynthesis pathway affected by coronatine and methyl- β -cyclodextrin in *Taxus baccata* L. cell suspension cultures. *DARU J Pharm Sci*, 26: 129–142
- Kašparova M, Siatka T, Klimešová V, et al (2012). New synthetic pyridine derivate as potential elicitor in production of isoflavonoids and flavonoids in *Trifolium pratense* L. suspension culture. *Sci World J*, 2012: 746412
- Katz E, Bagchi R, Jeschke V, et al (2020). Diverse ally glucosinolate catabolites independently influence root growth and development. *Plant Physiol*, 183: 1376–1390
- Kazemi N, Kahrizi D, Mansouri M, et al (2016). Induction of linalool as a pharmaceutical and medicinal metabolite via cell suspension culture of cumin (*Cuminum cyminum* L.). *Cell Mol Biol*, 62: 65–68
- Koul A, Mallubhotla S (2020). Elicitation and enhancement of bacoside production using suspension cultures of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. *3 Biotech*, 10: 256
- Kumar P, Chaturvedi R, Sundar D, et al (2015). *Piriformospora indica* enhances the production of pentacyclic triterpenoids in *Lantana camara* L. suspension cultures. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 125: 23–29
- Kutchan TM (2001). Ecological arsenal and developmental dispatcher. The paradigm of secondary metabolism. *Plant Physiol*, 125: 58–60
- Li D, Zhang XC, Qu HX, et al (2020). Delaying the biosynthesis of aromatic secondary metabolites in postharvest strawberry fruit exposed to elevated CO_2 atmosphere. *Food Chem*, 306: 125611
- Li XH, Guo HB, Qi YX, et al (2016). Salicylic acid-induced cytosolic acidification increases the accumulation of phenolic acids in *Salvia miltiorrhiza* cells. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 126: 333–341
- Linden JC, Haigh JR, Mirjalili N, et al (2001). Gas concentration effects on secondary metabolite production by plant cell cultures. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 72: 27–62
- Liu JW, Zhu JH, Tang L, et al (2014). Enhancement of vin-

- doline and vinblastine production in suspension-cultured cells of *Catharanthus roseus* by artemisinic acid elicitation. *World J Microbiol Biotechnol*, 30: 175–180
- Luo J, Liu L, Wu CD (2001). Enhancement of paclitaxel production by abscisic acid in cells suspension cultures of *Taxus chinensis*. *Biotechnol Lett*, 23: 1345–1348
- Mahendran D, Kavi Kishor PB, Sreeramanan S, et al (2018). Enhanced biosynthesis of colchicine and thiocolchicoside contents in cell suspension cultures of *Gloriosa superba* L. exposed to ethylene inhibitor and elicitors. *Ind Crops Prod*, 120: 123–130
- Manivannan A, Soundararajan P, Park YG, et al (2016). Chemical elicitor-induced modulation of antioxidant metabolism and enhancement of secondary metabolite accumulation in cell suspension cultures of *Scrophularia kakudensis* Franch. *Int J Mol Sci*, 17: 399
- Nadeem M, Abbasi BH, Garros L, et al (2018). Yeast-extract improved biosynthesis of lignans and neolignans in cell suspension cultures of *Linum usitatissimum* L. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 135: 347–355
- Nadeem M, Ahmad W, Zahir A, et al (2019). Salicylic acid-enhanced biosynthesis of pharmacologically important lignans and neo lignans in cell suspension culture of *Linum usitatissimum* L. *Eng Life Sci*, 19: 168–174
- Orbán N, Boldizsár I, Szűcs Z, et al (2008). Influence of different elicitors on the synthesis of anthraquinone derivatives in *Rubia tinctorum* L. cell suspension cultures. *Dyes Pigments*, 77: 249–257
- Owis AI, Abdelwahab NS, Abul-Soad AA (2016). Elicitation of phenolics from the micropropagated endangered medicinal plant *Calligonum polygonoides* L. (Polygonaceae). *Pharmacogn Mag*, 12: S465–S470
- Pan XW, Shi YY, Liu X, et al (2004). Influence of inorganic microelements on the production of camptothecin with suspension cultures of *Camptotheca acuminata*. *Plant Growth Regul*, 44: 59–63
- Pawar KD, Yadav AV, Shouche YS, et al (2011). Influence of endophytic fungal elicitation on production of inophyllum in suspension cultures of *Calophyllum inophyllum* L. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 106: 345–352
- Perassolo M, Quevedo CV, Busto VD, et al (2011). Role of reactive oxygen species and proline cycle in anthraquinone accumulation in *Rubia tinctorum* cell suspension cultures subjected to methyl jasmonate elicitation. *Plant Physiol Biochem*, 49: 758–763
- Prakash G, Srivastava AK (2008). Statistical elicitor optimization studies for the enhancement of azadirachtin production in bioreactor *Azadirachta indica* cell cultivation. *Biochem Eng J*, 40: 218–226
- Qian ZG, Zhao ZJ, Tian WH, et al (2004b). Novel synthetic jasmonates as highly efficient elicitors for taxoid production by suspension cultures of *Taxus chinensis*. *Biotechnol Bioeng*, 86: 595–599
- Qian ZG, Zhao ZJ, Xu YF, et al (2004a). Novel chemically synthesized hydroxyl-containing jasmonates as powerful inducing signals for plant secondary metabolism. *Biotechnol Bioeng*, 86: 809–816
- Qu JG, Zhang W, Jin MF, et al (2006). Effect of homogeneity on cell growth and anthocyanin biosynthesis in suspension cultures of *Vitis vinifera*. *Chin J Biotechnol*, 22: 805–810
- Qu JG, Zhang W, Yu XJ (2011). A combination of elicitation and precursor feeding leads to increased anthocyanin synthesis in cell suspension cultures of *Vitis vinifera*. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 107: 261–269
- Ramezani A, Haddad R, Sedaghati B, et al (2018). Effects of fungal extracts on vinblastine and vincristine production and their biosynthesis pathway genes in *Catharanthus roseus*. *South Afr J Bot*, 119: 163–171
- Sakano K (2001). Metabolic regulation of pH in plant cells: role of cytoplasmic pH in defense reaction and secondary metabolism. *Int Rev Cytol*, 206: 1–44
- Salehi M, Karimzadeh G, Naghavi MR (2019a). Synergistic effect of coronatine and sorbitol on artemisinin production in cell suspension culture of *Artemisia annua* L. cv. Anamed. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 137: 587–597
- Salehi M, Moieni A, Safaie N, et al (2019b). Elicitors derived from endophytic fungi *Chaetomium globosum* and *Paraconiothyrium brasiliense* enhance paclitaxel production in *Corylus avellana* cell suspension culture. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 136: 161–171
- Salehi M, Moieni A, Safaie N, et al (2020a). Whole fungal elicitors boost paclitaxel biosynthesis induction in *Corylus avellana* cell culture. *PLOS One*, 15: e023619
- Salehi M, Farhadi S, Moieni A, et al (2020b). Mathematical modeling of growth and paclitaxel biosynthesis in *Corylus avellana* cell culture responding to fungal elicitors using multilayer perceptron-genetic algorithm. *Front Plant Sci*, 11: 1148
- Sánchez-Pujante PJ, Gionfriddo M, Sabater-Jara AB, et al (2020). Enhanced bioactive compound production in broccoli cells due to coronatine and methyl jasmonate is linked to antioxidative metabolism. *J Plant Physiol*, 248: 153136
- Sánchez-Sampedro MA, Fernández-Tárrago J, Corchete P (2005). Yeast extract and methyl jasmonate-induced silymarin production in cell cultures of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. *J Biotechnol*, 119: 60–69
- Saw NMMT, Riedel H, Cai ZZ, et al (2012). Stimulation of anthocyanin synthesis in grape (*Vitis vinifera*) cell cul-

- tures by pulsed electric fields and ethephon. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 108: 47–54
- Shen X, Du QS, Xu YF, et al (2012). Stimulation of *trans*-resveratrol biosynthesis in *Vitis vinifera* cv. Kyoho cell suspension cultures by 2,3-dihydroxypropyl jasmonate elicitation. *Electron J Biotechnol*, 15: 3
- Shukor MFA, Ismail I, Zainal Z, et al (2013). Development of a *Polygonum minus* cell suspension culture system and analysis of secondary metabolites enhanced by elicitation. *Acta Physiol Plant*, 35: 1675–1689
- Silja PK, Gisha GP, Satheeshkumar K (2014). Enhanced plumbagin accumulation in embryogenic cell suspension cultures of *Plumbago rosea* L. following elicitation. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 119: 469–477
- Sun FF, Li CX, Fan GZ (2015). Effects of exogenous CO on the accumulation of β -ecdysterone in *Ajuga* sp. *Pratacul Sci*, 32: 1438–1443 (in Chinese with English abstract) [孙菲菲, 李春雪, 范桂枝(2015). 外源CO对筋骨草 β -蜕皮甾酮积累的影响. *草业科学*, 32: 1438–1443]
- Tabata H (2004). Paclitaxel production by plant-cell-culture technology. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 87: 1–23
- Tahmasebi A, Ebrahimie E, Pakniyat H, et al (2018). Tissue-specific transcriptional biomarkers in medicinal plants: application of large-scale meta-analysis and computational systems biology. *Gene*, 691: 114–124
- Valluri JV (2009). Bioreactor production of secondary metabolites from cell cultures of periwinkle and sandalwood. *Methods Mol Biol*, 547: 325–335
- Vandelle E, Poinssot B, Wendehenne D, et al (2006). Integrated signaling network involving calcium, nitric oxide, and active oxygen species but not mitogen-activated protein kinases in BcPG1-elicited grapevine defenses. *Mol Plant Microbe Interact*, 19: 429–440
- Vasconsuelo A, Boland R (2007). Molecular aspects of the early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. *Plant Sci*, 172: 861–875
- Verpoorte R, van der Heijden R, ten Hoopen HJG, et al (1999). Metabolic engineering of plant secondary metabolite pathways for the production of fine chemicals. *Biotechnol Lett*, 21: 467–479
- Wang W, Zhong JJ (2002). Manipulation of ginsenoside heterogeneity in cell cultures of *Panax notoginseng* by addition of jasmonates. *J Biosci Bioeng*, 93: 48–53
- Wang XD, Bian SN, Chang PJ, et al (2020). The effects of different nitrogen sources on camptothecin content and related gene expression in *Camptotheca acuminata* seedlings. *J For Res*, 31: 1347–1357
- Wiktorowska E, Dlugosz M, Janiszowska W (2010). Significant enhancement of oleanolic acid accumulation by biotic elicitors in cell suspension cultures of *Calendula officinalis* L. *Enzyme Microb Technol*, 46: 14–20
- Wu J, Lin L (2002). Elicitor-like effects of low-energy ultrasound on plant (*Panax ginseng*) cells: induction of plant defense responses and secondary metabolite production. *Appl Microbiol Biotechnol*, 59: 51–57
- Wu J, Lin L (2003). Enhancement of taxol production and release in *Taxus chinensis* cell cultures by ultrasound, methyl jasmonate and *in situ* solvent extraction. *Appl Microbiol Biotechnol*, 62: 151–155
- Wu SJ, Qi JL, Zhang WJ, et al (2009). Nitric oxide regulates shikonin formation in suspension-cultured *Onosma paniculatum* cells. *Plant Cell Physiol*, 50: 118–128
- Xu CM, Zhao B, Ou Y, et al (2007). Elicitor-enhanced syringin production in suspension cultures of *Saussurea medusa*. *World J Microbiol Biotechnol*, 23: 965–970
- Xu MJ, Dong JF, Zhu MY (2005). Nitric oxide mediates the fungal elicitor-induced hypericin production of *Hypericum perforatum* cell suspension cultures through a jasmonic-acid-dependent signal pathway. *Plant Physiol*, 139: 991–998
- Xu MJ, Dong JF (2005). Nitric oxide stimulates indole alkaloid production in *Catharanthus roseus* cell suspension cultures through a protein kinase-dependent signal pathway. *Enzyme Microb Technol*, 37: 49–53
- Ye H, Huang LL, Chen SD, et al (2004). Pulsed electric field stimulates plant secondary metabolism in suspension cultures of *Taxus chinensis*. *Biotechnol Bioeng*, 88: 788–795
- Yu LJ, Lan WZ, Qin WM, et al (2001). Effects of salicylic acid on fungal elicitor-induced membrane-lipid peroxidation and taxol production in cell suspension cultures of *Taxus chinensis*. *Process Biochem*, 37: 477–482
- Yu ZM, Zhao CH, Zhang GH, et al (2020). Genome-Wide identification and expression profile of *TPS* gene family in *Dendrobium officinale* and the role of *DoTPS10* in linacool biosynthesis. *Int J Mol Sci*, 21: 5419
- Zhao DX, Fu CX, Han YS, et al (2005). Effects of elicitation on jaceosidin and hispidulin production in cell suspension cultures of *Saussurea medusa*. *Proc Biochem*, 40: 739–745
- Zheng F, Chen L, Zhang P, et al (2020). Carbohydrate polymers exhibit great potential as effective elicitors in organic agriculture: a review. *Carbohydr Polym*, 230: 115637
- Zhou X, Zhong JJ (2011a). Intracellular salicylic acid is involved in signal cascade regulating low ammonium-induced taxoid biosynthesis in suspension cultures of *Taxus chinensis*. *Appl Microbiol Biot*, 90: 1027–1036
- Zhou X, Zhong JJ (2011b). Quantitative influence of endogenous salicylic acid level on taxuyunnanin C biosynthesis in suspension cultures of *Taxus chinensis*. *Biotechnol Bioeng*, 108: 216–221