Summer (2024) 13(45): 1-14.
DOI: 10.30473/cb.2024.70288.1948
Received: 15, Jan. 2024 Accepted: 8, Apr. 2024

in Press

Crop Biotechnology Open Access

REVIEW ARTICLE

Investigating factors affecting the diversity and production of secondary metabolites from mysterious genes of rhizosphere microbes

Maryam Sajedmarani[1], Soheila Talesh Sasani[2], Shohrehi Ariaeenejad[3], Akram Sadeghi[4*]

[1]Molecular genetics, Gilan campus faculty, Rasht, Iran.
[2]Biology Department, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran.
[3]Department of Systems and Synthetic Biology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.
[4]Department of Microbial Biotechnology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

Correspondence
Akram Sadeghi
Email: aksadeghi@abrii.ac.ir

How to cite
Sajedmarani, M., Talesh Sasani, S., Ariaeenejad, Sh., & Sadeghi, A. (2024). Investigating factors affecting the diversity and production of secondary metabolites from mysterious genes of rhizosphere microbes. *Crop Biotechnology*, *13*(45), 1-14.

ABSTRACT

Plants with special compounds in their root exudates can strengthen a specific microbial community in the rhizosphere and prevent harmful microbial community from forming. The rhizosphere is a dynamic region around the plant root that is governed by the interaction between the plant and microorganisms. Plant root secretions can be influenced by plant species, plant growth stages and stress conditions and can be different; therefore, each microbial strain can regulate the expression of its genes at each stage of plant growth. Microbes are an unknown and huge source of secondary metabolites that play a very important role in the field of medicine and other industries. The present review focuses on factors inducing the production of new secondary metabolites from rhizosphere microbes. Each microbial strain has the potential to produce several compounds, but considering that the production of secondary metabolites is very costly for the cell, their synthesis is highly controlled by the cell. Studies have shown that changing the growth conditions of microbes, such as: temperature, salinity, co-cultivation (bacteria-bacteria, fungi-fungi, bacteria-fungi), change in oxygen concentration, aeration speed, addition of soil elements and rare metal ions, light radiation and also genetic engineering methods such as: insertion of strong inducible promoters, ribosome engineering, chromatin rearrangement, overexpression of pathway-specific regulatory genes and small molecules and chemical stimuli can help to discover new compounds. In this study, the above cases are explained in detail.

KEYWORDS

Induction, Plant root secretions, Rhizosphere microbes, Secondary metabolite.

© 2024, by the author(s). Published by Payame Noor University, Tehran, Iran.
This is an open access article under the CC BY 4.0 license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

سال سیزدهم، شماره چهارم، پیاپی چهل و پنجم، تابستان ۱۴۰۳ (۱۴-۱)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۱/۲۰

DOI: 10.30473/cb.2024.70288.1948

آماده انتشار

نشریه علمی

زیست‌فناوری گیاهان زراعی

«مقاله مروری»

بررسی عوامل موثر بر تنوع و تولید متابولیت‌های ثانویه از ژن‌های مرموز میکروب‌های ریزوسفری

مریم ساجدمرنی[۱]، سهیلا طالش‌ساسانی[۲]، شهره آریائی‌نژاد[۳]، اکرم صادقی[۴*]

[۱]ژنتیک مولکولی، دانشکده پردیس گیلان، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

[۲]گروه زیست‌شناسی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

[۳]بخش زیست‌شناسی سامانه‌ها، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

[۴]بخش بیوتکنولوژی میکروبی، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

نویسنده مسئول:
اکرم صادقی
رایانامه: aksadeghi@abrii.ac.ir

چکیده

گیاهان با ترکیبات خاص در ترشحات ریشه خود می‌توانند جامعه میکروبی خاصی را در ریزوسفر تقویت کنند و از اجتماع جامعه میکروبی مضر برای خود جلوگیری کنند. ریزوسفر منطقه‌ای پویا اطراف ریشه گیاه است که توسط برهمکنش بین گیاه و میکروارگانیسم‌ها اداره می‌شود. ترشحات ریشه گیاه می‌تواند تحت تاثیر گونه گیاه، مراحل رشد گیاه و شرایط تنش قرار گیرد و متفاوت باشد؛ بنابراین هر سویه میکروبی می‌تواند بیان ژن‌های خود را در هر مرحله از رشد گیاه تنظیم کند. میکروب‌ها منبع ناشناخته و عظیمی از متابولیت‌های ثانویه هستند که نقش بسیار مهمی در عرصه درمانی و دیگر صنایع دارند. مطالعه مروری حاضر بر روی عوامل القا کننده تولید متابولیت‌های ثانویه جدید از میکروب‌های ریزوسفری تمرکز دارد. هر سویه میکروبی پتانسیل تولید چندین ترکیب را دارد اما با توجه به این‌که تولید متایولیت‌های ثانویه برای سلول بسیار هزینه بر است، سنتز آن‌ها توسط سلول بسیار کنترل شده است. مطالعات نشان داده که تغییر شرایط رشد میکروب‌ها، مانند: دما، شوری، کشت توام (باکتری-باکتری، قارچ-قارچ، باکتری-قارچ)، تغییر غلظت اکسیژن، سرعت هوادهی، افزودن عناصر خاکی و یون‌های فلزی کمیاب، تابش نور و همچنین روش‌های مهندسی ژنتیک مانند: قرار دادن پروموترهای قوی القایی، مهندسی ریبوزوم، بازآرایی کروماتین و بیان بیش از حد ژن‌های تنظیم کننده خاص مسیر و مولکول‌های کوچک و محرک شیمیایی می‌تواند به کشف ترکیبات جدید کمک کند. در این مطالعه موارد فوق به تفضیل تشریح شده است.

واژه‌های کلیدی

القا، ترشحات ریشه گیاه، میکروب‌های ریزوسفری، متابولیت‌های ثانویه.

استناد به این مقاله:

ساجدمرنی، مریم؛ طالش ساسانی، سهیلا؛ آریائی‌نژاد، شهره و صادقی، اکرم (۱۴۰۳). بررسی عوامل موثر بر تنوع و تولید متابولیت‌های ثانویه از ژن‌های مرموز میکروب‌های ریزوسفری. فصلنامه علمی زیست فناوری گیاهان زراعی، ۱۳(۴۵)، ۱۴-۱.

https://cropbiotech.journals.pnu.ac.ir/

مقدمه

در سال‌های اخیر محققان روی تاثیر مثبت و منفی میکروب‌ها بر گیاهان مانند تاثیرات محرک رشدی و بیوکنترلی مطالعات گسترده‌ای داشته‌اند، این درحالیست که مطالعه روی تاثیر گیاهان بر میکروب‌های رایزوسفری کمتر مورد توجه قرار گرفته‌است (Sadeghi *et al*., 2017; Abbasi *et al*., 2019). ترشحات ریشه با توجه به ژنوتیپ گیاه حاوی ترکیبات متنوعی مانند قندها، پپتیدها، اسیدهای آمینه، اسیدهای نوکلئیک، نوکلئوتیدها و اسیدهای چرب است. همچنین، گیاهان می‌توانند DNA خارج سلولی (exDNA) را از طریق سلول‌های مرزی خود آزاد کنند (Sheng *et al*., 2023).

یکی از انواع مهم اسیدهای نوکلئیک، MiRNAها هستند که از طریق ریشه‌ها تراوش و به عنوان یک منبع زیستی، مواد مغذی و انرژی را برای رشد میکروب‌ها فراهم کرده و همچنین یک سیگنال (پیام) برای شکل دادن به میکروبیوم ریزوسفر باشند (Sheng *et al*., 2023; Wu *et al*., 2023). متابولیت های میکروبی، منبع عظیمی از مواد شیمیایی زیست فعال، برای کشف دارو و آنزیم‌ها هستند (Rutledge and Challis, 2015, Kouroshnia *et al*., 2022) و گیاهان می‌توانند با ترشحات خود بر فراوانی و تنوع میکروب‌های ریزوسفری تاثیر گذاشته و خوشه‌های ژنی تولید کننده این متابولیت‌های ثانویه را در میکروب‌ها فعال کنند (Lyu and Smith, 2022). داده‌های ژنومی با استفاده از روش‌های بیوانفورماتیک اغلب ناسازگاری بین تعداد خوشه‌های ژنی شناسایی شده به‌عنوان تولید کننده‌های متابولیت‌های ثانویه و تعداد متابولیت‌های ثانویه شیمیایی تولیدشده توسط هر میکروارگانیسم را نشان می‌دهند (Bentley *et al*., 2002).

بر این اساس برخی از خوشه‌های ژنی به طور کلی به عنوان (خاموش) در نظر گرفته می‌شوند، یعنی آن‌ها در شرایط آزمایشگاهی بیان نمی‌شوند. بیان این خوشه‌های خاموش می‌تواند امکان کشف مولکول‌های جدید را فراهم کند؛ حتی نشان داده شده است که عوامل محیطی و فراوانی پیش سازهای درون سلولی می‌تواند سبب مشتق شدن ترکیبات متعدد از یک مسیر ژنی منفرد شود (Bentley *et al*., 2002).

تولید این متابولیت‌های ثانویه برای سلول بی هزینه نیست؛ برای تولید آنها، فعالیت آنزیم‌های بیوسنتزی، وجود پیش سازهای مولکولی و برای بالغ شدن و ساخت ترکیب نهایی انرژی و منابع مورد نیاز دیگر لازم هستند؛ بنابراین، سنتز متابولیت‌های ثانویه به شدت تنظیم می‌شود و اعتقاد بر این است که سنتز آن‌ها در پاسخ به شرایط محیطی خاص فعال خواهد شد (van Wezel and McDowall, 2011). یکی از راه های کشف متابولیت‌های ثانیه جدید، کشت باکتری‌های به اصطلاح غیر قابل کشت می‌باشد؛ اصطلاح غیرقابل کشت برای توصیف ارگانیسم‌ها، به ویژه باکتری‌هایی که در محیط‌های مصنوعی رشد نمی‌کنند، استفاده می‌شود؛ به عبارت دیگر، ما اطلاعات زیستی (بیولوژیکی) کافی برای کشت این باکتری‌ها در شرایط آزمایشگاهی نداریم و پیشنهاد شده است که این سلول ها زنده نیستند و بنابراین هرگز در آزمایشگاه رشد نمی کنند؛ اما در واقع، نشان داده شده که بسیاری از این سلول ها از نظر متابولیکی فعال هستند و یک تخمین نشان می‌دهد که تعداد آنتی‌بیوتیک‌های این منابع کشت نشده دو تا سه مرتبه بیشتر از منابع کشت شده است (Nichols *et al*., 2010; Dos Santos *et al*., 2023).

با گسترش دانش یک استراتژی برای این باکتری‌های غیر قابل کشت پیدا شده، و آن تقلید از محیط میکروارگانیسم هدف است (جایگزینی رشد *in vitro* با کشت *in vivo* در زیستگاه طبیعی)؛ به عنوان مثال کشف یک آنتی بیوتیک جدید با نام تیکسوباکتین (Teixobactin) از یک باکتری خاک که پیش از این کشت نشده و متعلق به β _ پروتئوباکتری‌ها است، با استفاده از isolation chip (iChip) method انجام شده است (Nichols *et al*., 2010, Piddock, 2015).

iChip از یک تراشه جداسازی و صدها چاهک تشکیل شده است؛ این روش توانایی بالایی برای کشت گونه‌های باکتریایی غیر قابل کشت در شرایط آزمایشگاهی را دارد؛ در این روش گونه‌های باکتری در محیط طبیعی خود رشد می‌کنند، بدین صورت که نمونه خاک در آگار مذاب و مواد مغذی رقیق می‌شود و به طوری که تنها یک سلول در هر یک از چاهک‌های ichip رشد کند، تراشه را در یک غشای پلاستیکی نیمه تراوا محصور شده قرار داده و دوباره در خاک دفن می‌کنند تا مواد مغذی را که در آزمایشگاه وجود ندارد و برای ما شناخته شده نیست جذب کرده و رشد کند (Nichols *et al*., 2010, Dos Santos *et al*., 2022).

ریزوسفر نقطه داغ انتقال اطلاعات

ریزوسفر (محیط اطراف ریشه گیاهان) یک منطقه پویا است که توسط ارتباطات پیچیده بین گیاهان و میکرو ارگانیسم‌هایی که در ارتباط نزدیک با ریشه هستند اداره می‌شود؛ ترشحات ریشه باعث

ایجاد ریزوسفر غنی از مواد مغذی می‌شود که فعالیت میکروبی را تحریک می‌کند؛ همچنین ترکیب و الگوی ترشحات ریشه بر فعالیت، تعداد و تنوع جمعیت میکروبی تأثیر می‌گذارد (Buhian and Bensmihen, 2018; Lyu *et al*., 2020; Akbari *et al*., 2016).

انتقال اطلاعات در تعاملات میکروب – گیاه، میکروب–میکروب و گیاه– گیاه از طریق سیگنال‌هایی از جمله هورمون‌های گیاهی و سایر متابولیت‌های ثانویه ترشح شده از ریشه اتفاق می‌افتد؛ برقراری چنین ارتباطی به سیگنال‌های ریشه و سیگنال‌های میکروبی متکی است؛ سیگنال تولید شده توسط گیاه می‌تواند سیگنالی را که توسط یک میکروب منتشر می‌شود را القاء یا از تولید آن جلوگیری کند، به این صورت می‌تواند ماهیت مثبت و یا منفی داشته باشد (Desurmont *et al*., 2014).

OSMAC (one strain many compounds)

میکروب‌ها نمی‌توانند در شرایط کشت استاندارد به طور کامل پتانسیل بیوسنتزی خود را نشان دهند (Martín-Aragón *et al*., 2023). هر سویه میکروبی پتانسیل تولید چندین ترکیب را دارد، اما تنها برخی از این ترکیبات را تحت شرایط رشدی خاص تولید می‌کند. بنابراین، تغییر در پارامترهای کشت مانند محتوای مواد مغذی، دما و سرعت هوادهی، شرایط نور، pH، منبع کربن و منبع نیتروژن می‌تواند فیزیولوژی یک سویه میکروبی را تغییر دهد و به نوبه خود به طور قابل توجهی بر متابولیسم ثانویه آن تأثیر بگذارد و در نتیجه باعث تولید و کشف متابولیت‌های ثانویه جدید شود (Bode *et al*., 2002; Abdelwahab *et al*., 2018). در مطالعه‌ای با تغییر پارامترهای کشت، مانند دما، شوری، هوادهی و حتی شکل فلاسک‌ها نشان داده شد که قارچ *Aspergillus ochraceus*، که تصور می‌شد فقط متابولیت آسپینونن (Aspinonene) را تولید می‌کند، قادر به تولید ۱۵ متابولیت دیگر هم است (Hemphill *et al*., 2017).

نور، یک محرک خارجی ضروری برای اکثر میکروارگانیسم‌ها است و می‌تواند برای دستکاری فرآیندهای فیزیولوژیکی آنها مورد استفاده قرار گیرد. در مطالعه‌ای دیده شد که تابش نور سبز تک رنگ با شدت بالا منجر به تولید اکتینورودین (Actinorhodin) شد. تحریک با نور سبز بیان ActII-ORF4، یک تنظیم کننده مسیر خاص بیوسنتز ACT در *Streptomyces coelicolor* A3 را تسریع می‌کند. این رویکرد تحریک مسیرهای بیوسنتز متابولیت ثانویه در اکتینومیست‌ها با تابش نور سبز تک رنگ با شدت بالا، کشف آنتی بیوتیک های مرموز را که معمولاً در شرایط کشت تاریک معمولی تولید نمی‌شوند تسهیل می‌کند. با این حال، شدت و مدت تابش موثر نور سبز که برای فعال کردن مسیر تولید متابولیت‌های ثانویه مورد نیاز است، ممکن است در بین اکتینومیست‌ها به طور قابل توجهی متفاوت باشد (Kanchanabanca *et al*., 2024).

تاثیر ترشحات ریشه بر تنوع جمعیت میکروب‌های ریزوسفر

در گیاهان، مسیرهای متابولیک ثانویه، تنوعی از ترکیبات به نام متابولیت‌های ثانویه گیاهی (PSMs) را تولید می‌کنند؛ PSMها حاوی گروه بزرگی از ترکیبات ساختاری متنوع هستند که از متابولیت‌های اولیه یا واسطه‌های موجود در مسیرهای بیوسنتزی این متابولیت ای اولیه منشأ می‌گیرند؛ PSMها با توجه به مسیرهای بیوسنتزی خود، به طور کلی به چندین خانواده مولکولی بزرگ شامل فنولیک‌ها، ترپن‌ها، استروئیدها، آلکالوئیدها و فلاوانوئیدها طبقه بندی می‌شوند (Tholl *et al*., 2005).

ترکیب ترشحات گیاهی می‌تواند تحت تاثیر گونه گیاهی، مراحل رشد گیاه، قرار گرفتن در شرایط تنش و گاهی اوقات تنوع در گیاهان همان گونه قرار گیرد؛ به عنوان مثال، در گیاه *آرابیدوپسیس تالیانا* (*Arabidopsis thaliana*)، بیش از ۵۰۰ ترکیب در مراحل مختلف رشد تولید می‌شود؛ در نتیجه جمعیت‌های باکتریایی می‌توانند با استفاده از ترشحات ریشه در هر مرحله گیاهی، بیان ژن‌های خود را تنظیم کنند (Zhao *et al*., 2021, Mönchgesang *et al*., 2016).

انتشار ترشحات ریشه در ریزوسفر توسط گیاهان، جامعه میکروبی متناسب با آن را حمایت می‌کند و در عین حال از تنوع و گسترش جوامع میکروبی مضر برای گیاهان جلوگیری می‌کند، که به نوبه خود به گیاهان امکان سازگاری را می‌دهد (Zhao *et al*., 2021). در کل، تنوع میکروب‌ها در ریزوسفر مستقیماً به خواص خاک، نوع خاک و متابولیت‌های ترشح شده از گیاه بستگی دارد، ژنوتیپ‌های گیاهی مختلف و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک، محیط خاصی را برای تشکیل یک میکروبیوم ایجاد می‌کنند (Lareen *et al*., 2016). عباسی و همکاران تاثیر باکتری‌های محرک رشد با قابلیت بیوکنترل بیمارگرهای گیاهی را بر جمعیت باکتریایی خاک نشان دادند. نتایج این پژوهشگران

نشان داد که برخی از باکتری ها در تعامل با گیاه می توانند برخی از جمعیت های باکتریایی مانند سیانوباکتری‌ها را تقویت کنند (Abbasi *et al*., 2021).

در ذرت، متابولیت‌های ثانویه‌ای مانند بنزوکسازینوئیدها، باکتری کلروفلکسی (*Chloroflexi*) را جذب کرده و بر تجمع میکروبیوم‌های ذرت تأثیر می‌گذارند که متعاقباً ظرفیت این گیاه را برای سازگاری با محیط افزایش می‌دهند (Cotton *et al*., 2019).

ترکیبات غیرفرار مانند کومارین‌ها (Coumarin) (زیر گروهی از ترکیبات فنلی) و فلاونوئیدها توسط بسیاری از گونه‌های گیاهی تولید می‌شوند و در ریزوسفر رایج هستند؛ کومارین‌ها از طریق مسیر فنیل پروپانوئید تولید می‌شوند و در پاسخ گیاهان دو لپه‌ای به کمبود آهن نقش دارند (Knudsen *et al*., 2006). مطالعات اخیر نشان می‌دهند که کومارین‌ها، می‌توانند بر ترکیب میکروبیوم ریزوسفر تأثیر بگذارند و سمیت متفاوتی برای میکروارگانیسم‌های مفید و بیماری زا دارند. به عنوان مثال، یک جهش حذفی *آ. تالیانا* در ژن بتا گلوکوزیداز BGLU42، با کاهش تولید کومارین موجب افزایش فراوانی نسبی پروتئوباکتری‌ها و کاهش فیرمیکوت‌ها *Firmicutes* در اطراف ریشه می‌شود. آزمایش‌های بیشتر نشان داد که یک ترکیب کومارین خاص به نام اسکوپولتین (Scopoletin) رشد پاتوژن‌های موجود در خاک را مهار می‌کند در حالی که بر سایر ریزوباکتری‌ها تأثیری ندارد (Ahn *et al*., 2010; Stringlis *et al*., 2018). در مطالعه‌ای دیگر از ذرت جهش یافته در ژن bx1 که موجب کاهش بنزوکسازینوئید می‌شود استفاده شد. نتایج تجمع بیشتر جوامع مختلف باکتریایی و قارچی را در ریشه در مقایسه با ذرت جهش نیافته نشان داد. چنین اثراتی را می‌توان در چندین نسل از محصول ذرت شناسایی کرد، که نشان دهنده این است که این مولکول‌ها احتمالاً عوامل کلیدی در تعاملات میکروب – گیاه– ریزوسفر هستند (Kudjordjie *et al*., 2019).

فلاونوئیدها متابولیت‌های ثانویه گیاهی دیگری هستند که از ریشه آزاد می‌شوند. فلاونوئیدها به طور مستقیم بیان ژن‌های باکتری‌های موجود در نودول (گره) ریشه را تحریک کرده و سبب تولید لیپو کیتو الیگوساکارید (LCO) می‌شوند که برای تشکیل گره‌ها ضروری است (Ma *et al*., 2016, Mhlongo *et al*., 2018).

مطالعه‌ای دیگر بر روی ذرت مکزیکی نشان داد که موسیلاژ مرتبط با ریشه‌های هوایی ذرت می‌تواند میکروبیوم پیچیده دیازوتروف را تغذیه کند؛ میکروبیوم دیازوتروفیک شامل میکروب‌های حاوی نیتروژناز فعال است که به جذب ازت هوا توسط گیاه کمک می‌کند. این مکانیسم به ذرت اجازه می‌دهد تا ۸۲ درصد از نیتروژن مورد نیاز خود را از جو تامین کند؛ موسیلاژ ذرت سرشار از مونوساکاریدهایی مانند آرابینوز، فوکوز، گالاکتوز، زایلوز، اسید گلوکورونیک و مانوز می‌باشد. برخلاف بسیاری از انواع ذرت اصلاح شده، یک واریته ذرت در منطقه Sierra Mixe Oaxaca می‌تواند ریشه‌های هوایی گسترده‌ای ایجاد کند و مقادیر زیادی موسیلاژ را پس از باران ترشح کند (Van Deynze *et al*., 2018).

نقش گیاهان در تغییر ژنتیکی میکروب‌ها

تعامل بین گیاهان و میکروب‌های ریزوسفری می‌تواند علاوه بر پپتیدهای ترشحی، تحت تاثیر Mobile Genetic Element (MGEs) از جمله DNA و RNA هم قرار گیرد؛ نمونه‌هایی از MGEها شامل پلاسمیدها، ترانسپوزون‌ها و پروفاژها هستند، اما انتقال کلاسیک MGE معمولا شامل انتقال DNA می‌باشد (Frost *et al*., 2005).

ریزوسفر، کانون انتقال MGE است؛ علاوه برعوامل محیطی، ترشحات ریشه نیز در تنظیم انتقال MGE بین میکروب‌ها در ریزوسفر نقش دارند؛ میکروب‌ها (باکتری‌ها، قارچ‌ها و اومیست‌ها) و گیاهان در کنار هم، در ریزوسفر وجود دارند، این موجودات زنده برای انطباق با حضور یکدیگر و محیطی که دائما در حال تغییر است، ارتباطات گسترده‌ای با یکدیگر دارند (Venturi and Keel, 2016).

مطالعات نشان می‌دهد که انتقال MGEs در ریزوسفر باعث تکامل سازگاری گونه‌ها با محیط اطراف می‌شود؛ به عنوان مثال انتقالMGE بین باکتری‌ها برای تخریب مواد سمی موجود در خاک به عنوان یک استراتژی بقا برای باکتری‌ها شناخته شده است (Zeng *et al*., 2021).

انتقال MGE می‌تواند در یک قلمرو مشابه، مانند بین باکتری‌ها، یا بین قارچ‌ها و یا بین میکروب‌ها و گیاهان رخ دهد؛ این انتقالات تحت تأثیر ترشحات ریشه و عوامل محیطی، مانند: دما، ترکیب خاک و ترشحات ریشه گیاه قرار می‌گیرد (Hashimoto *et al*., 2019; Banerjee *et al*., 2016). به عنوان مثال دما یک عامل محیطی مهم است که بر انتقال MGEتأثیر می‌گذارد و مشخص شده است که در محدوده دمایی بین ۳۵-۱۰ درجه سلسیوس، فرکانس انتقال MGE با افزایش

دما، افزایش خواهد داشت (Wang *et al*., 2014). انتقال موفقیت‌آمیز DNA به روی غشای باکتری ممکن است به توالی DNAبستگی داشته باشد، برخی از گونه‌های باکتریایی فقط قادر به گرفتن DNA از گونه خود یا خویشاوندان نزدیک خود (DNA همولوگ) هستند، در حالی که به نظر می‌رسد باکتری‌های دیگر بین DNA همولوگ و DNA گونه‌های دورتر (DNA هترولوگ یا واگرا) تمایز قائل نمی‌شوند؛ ادغام ژن‌ها در ژنوم باکتری‌های گیرنده به همسانی توالی بین DNA گرفته شده و DNA باکتری گیرنده وابسته است و به نظر می‌رسد که درجه هترولوژی بین این توالی‌ها، عامل اصلی تعیین کننده است؛ به عنوان مثال، در مطالعه‌ای شواهد نشان می‌دهد که باکتری خاکزی *Acinetobacter* sp. BD413، DNA ژن‌های وارد شده به گیاهان تراریخته را جذب می‌کند (Gebhard and Smalla, 1998). باکتری‌های پذیرنده از پیلی نوع IV خود برای اتصال و کشیدن DNA دو رشته‌ای خارج سلولی از طریق غشاء یا لایه پپتیدوگلیکان خود استفاده می‌کنند اما برخی باکتری‌ها ممکن است DNA خارجی را از طریق vesiduction، یعنی همجوشی غشایی با یک وزیکول حاوی DNA یا RNA جذب کنند (Middleton *et al*., 2022).

نقش miRNA های ترشح شده از ریشه گیاه بر میکروب‌های ریزوسفر

یک کلاس مهم از اسیدهای نوکلئیک miRNAها هستند. این عوامل ژنتیکی RNAهای غیر کد کننده کوچکی هستند که بیان ژن هدف را از طریق مکمل بودن توالی، کنترل می‌کنند. miRNAها، از طریق ریشه‌ها تراوش شده و به عنوان ابزاری برای مهندسی میکروبیوتای ریزوسفر عمل کنند (Mhlongo *et al*., 2018). حضور miRNAهای خاص گیاهی در ریزوسفر و همچنین وجود آن‌ها در باکتری‌های ریزوسفری و عدم وجود آن‌ها در خاک‌های کشت نشده (بایر)، نشان دهنده جذب miRNA توسط باکتری‌های ریزوسفری است (Middleton *et al*., 2022).

بسیاری از miRNAها در نوک ریشه یا همان ناحیه مریستمی اولیه تجمع دارند؛ بنابراین نوک ریشه می‌تواند کانون باکتری‌های فعال باشد؛ جالب توجه اینکه در ریشه‌ها، miRNAها الگوهای بیانی خاصی دارند، برخی تنها توسط سلول‌های ریشه تراوش می‌شوند؛ همچنین تصور بر این است که miRNAهای گیاهی جذب شده توسط ریزوباکتری‌ها، عمدتا ژن‌های مربوط به انتقال و متابولیسم اسیدهای آمینه، به ویژه در باکتری‌های خانواده‌های *Bacillaceae* و *Paenibacillaceae* را هدف قرار می‌دهند؛ برای مثال، به نظر می‌رسد، miR159c بیشتر mRNA های مرتبط با سرین را هدف قرار می‌دهد، در حالی که miR158a- 3p، ژن‌های بیوسنتز ایزولوسین، لوسین و والین را هدف قرار می‌دهد؛ بر این اساس، گیاهان جهش یافته برای RNAهای کوچک، جوامع میکروبی متفاوتی را در ریزوسفر خود جای می‌دهند (Middleton *et al*., 2022).

نقش گیاهان در انتقال پلاسمید بین میکروب‌های ریزوسفر

کاشت گیاه به خودی خود فرایندی است که موجب افزایش فرکانس انتقال MGE بین باکتری‌های خاک می‌شود؛ به عنوان مثال، مشخص شده که کاشت گوجه فرنگی، ذرت و گندم باعث افزایش انتقال پلاسمید بین باکتری‌های خاک می‌شود (Wang *et al*., 2014; Hui *et al*., 2017). هر چند گیاهان مختلف تأثیر متفاوتی بر فرکانس انتقال پلاسمید دارند، احتمالا محتویات ترشحی ریشه گونه‌های گیاهی دلیل این تفاوت‌ها هستند. به عنوان مثال در میان گیاهان گوجه فرنگی، ذرت و گندم، گوجه فرنگی بیشترین تأثیر را بر فرکانس انتقال پلاسمید بین باکتری‌های خاک دارد؛ طبق مطالعات انجام شده، اسیدهای آلی شناسایی شده در ترشحات ریشه گیاه گوجه فرنگی، می‌تواند تحرک و پاسخ کموتاکسی باکتری‌ها را تحریک کند؛ همچنین مشخص شده که فرکانس انتقال پلاسمید در ریزوسفر نخود بیشتر از ریزوسفر جو است (Rajkumar *et al*., 2010; Tan *et al*., 2013).

در مطالعه‌ای دیگر مشخص شده است که محدوده معینی از غلظت فنل در خاک بر انتقال پلاسمید بین باکتری‌ها تاثیر گذار است؛ زیرا، زمانی که خاک با فنل تیمار شد، کاشت ذرت باعث افزایش انتقال پلاسمید در بین باکتری‌های خاک شد؛ بر این اساس ترشحات ریشه گیاه ذرت همراه با تیمار فنل برای تسهیل انتقال MGE پیشنهاد شده است (Rajkumar *et al*., 2010; Jin *et al*., 2019).

عوامل موثر بر القاء ژن‌های تولید کننده متابولیت‌های ثانویه در میکروب‌های ریزوسفری

پروموترهای قوی و مصنوعی

قرار دادن پروموترهای قوی القائی منجر به فعال شدن خوشه‌های ژنی مرموز رمز کننده آنتی بیوتیک‌ها می‌شود؛ ژن‌های بیوسنتز کننده متابولیت‌های ثانویه را که معمولاً خاموش هستند و یا حداقل بیان را دارند را می‌توان، با استفاده از پروموترهای قوی در ناقل‌های پلاسمیدی مناسب کلون کرد (Shao *et al*., 2013).

مسیرخاموش spectinabilin در *Streptomyces orinoci* و مسیر تارومایسین (Taromycin) در *Saccharomonospora* sp. با استفاده از این روش شناسایی شده‌اند؛ همچنین به طور مشابه، یک خوشه ژنی مرموز بیوسنتز کننده آنتی بیوتیک در *Streptomyces griseus* گزارش شده که تولید سه ماکرولاکتام ترامات چند حلقه‌ای جدید را القاء می‌کند. در *Escherichia coli*، لیپوپپتیدهای آلتروکرومید با منشاء *Pseudoalteromonas piscicida* به صورت هترولوگ و با استفاده از پروموتر *E. coli* T7 بومی بیان می‌شود؛ بیان یک خوشه ژن آنتی بیوتیکی خاموش در *Streptomyces* نیز با استفاده از پروموتر قوی ermE به دست آمده است (Ross *et al*., 2015).

بیان بیش از حد ژن‌های تنظیم کننده خاص مسیر

در طی انتقال باکتری از فاز رشد تاخیری به فاز ثابت رشد، بیان بیش از حد یک پروتئین تنظیم کننده سنتز آنتی بیوتیک در *Streptomyces* گزارش شده است که عملکرد تولید آنتی بیوتیک را افزایش می‌دهد. همچنین، بیان یک تنظیم کننده LAL (یک کلاس منحصر به فرد از ژن رمز کننده پروتئین شبیه به تنظیم کننده‌های بزرگ ATPBinding خانواده LuxR) خاص مسیر، از خوشه ژنی پلی‌کتید سنتاز مدولار نوع I (PKS) در *Streptomyces ambofaciens* منجر به تولید استامبومایسین (Stambomycin) می‌شود (Laureti *et al*., 2011).

به طور مشابه مشاهده شده است که بیان بیش از حد afsS (یک پروتئین ۶۳ اسید آمینه‌ای) باعث تولید آنتی بیوتیک انتخابی در *Streptomyces coelicolor*، *S. lividans* و *S. avermitilis* می‌شود. همچنین، بیان بیش از حد afsR می‌تواند باعث تولید آنتی بیوتیک در *S. coelicolor*، *S. peucetius* و *S. venezuelae*شود. بیان بیش از حد ژن‌های تنظیم کننده پروتئین تنظیم کننده آنتی بیوتیک *استرپتومایسس* (SARP) که بیان PapR2 را در *S. lividans* تنظیم می‌کند، منجر به بهبود قابل توجه تولید آنتی بیوتیکBGC می‌شوند (Maharjan *et al*., 2009).

مهندسی ریبوزوم یا RNA پلیمراز

گروه Ochi روشی به نام "مهندسی ریبوزوم" را توسعه دادند که در آن پروتئین ریبوزومی S12 یا RNA پلیمراز (RNAP) برای افزایش تولید آنتی بیوتیک در باکتری‌ها، مورد هدف قرار گرفت. در این آزمایش اعمال جهش‌های ریبوزومی، برای ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی، سپس، انتخاب آن‌ها روی محیط آگار حاوی آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین انجام شد. به طور مشابه، جهش‌یافته‌های RNA پلیمراز (RNAP) با رشد سلول‌ها روی محیط آگار حاوی Rifampicin که به RNAP متصل می شود، تا سنتزRNA را مهار کند نیز شناسایی شدند؛ این جهش‌یافته‌ها نه تنها به دلیل توانایی‌شان در تولید مقادیر زیاد آنتی‌بیوتیک‌ها انتخاب شدند، بلکه منجر به تولید آنتی‌بیوتیک‌های جدید نیز شدند (Ochi *et al*., 2004).

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۲ انجام شد، از میان ۱۰۶۸ باکتری تولیدکننده آنتی بیوتیک جدا شده از خاک (۶ درصد اکتینومیست‌ها و ۴۳ درصد گونه‌های *استرپتومایسس*) تعدادی که کمتر از حد بهینه آنتی بیوتیک تولید می‌کردند و یا اصلا تولید نداشتند، برای القاء تولید آنتی بیوتیک، انتخاب شدند. مطالعه دقیق‌تر نشان داد که افزایش تولید آنتی‌بیوتیک به دلیل جهش Lys-88 به Glu یا Arg در پروتئین ریبوزومی S12 ایجاد می‌شودکه سنتز پروتئین را در شرایط رشد فاز ثابت افزایش می‌دهد. همچنین، یک جهش His 437 به Asp یا Leu در زیرواحدRNAP β نیز یافت شد که میل پیوند به پروموتور را در آن افزایش می‌دهد (Chai *et al*., 2012).

آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند Erythromycin و Gentamicin که ریبوزوم را هدف قرار می‌دهند نیز سطح یکسانی از افزایش در تولید آنتی‌بیوتیک را ایجاد می‌کنند (Imai *et al*., 2012).

فعال کننده‌ها و سرکوب کننده‌های رونویسی

خوشه‌های ژنی تولید کننده متابولیت‌های ثانویه حاوی یک یا چند ژن هستند که فاکتورهای رونویسی را رمزگذاری می‌کنند. مشخص شده که خانواده تنظیم‌کننده رونویسی LysR-Type (LTTR) که در میان اکتینوباکتری‌ها، پروتئوباکتری‌ها و

فیرمیکوت‌ها فراوان هستند، معمولاً دارای دو دومین هستند. دومین N- ترمینال مرتبط با اتصال به DNA و دومین C- ترمینال مرتبط با اتصال به لیگاند است، که فعال شدن آن، سنتز آنتی بیوتیک β-لاکتام thienamycin در *cattleya* *Streptomyces* را آغاز می‌کند (Maddocks and Oyston, 2008). به طور مشابه، پروتئین LysR که به عنوان ORF-L16 نامگذاری شده است، بیوسنتز Spinomycin را در *Saccharopolyspora spinosa* القاء می‌کند (Waldron *et al*., 2001). مثال دیگر، پروتئین گیرنده‌AMP حلقوی (Crp) است، که تولید آنتی بیوتیک را در *Streptomyces* تنظیم می‌کند. بیان بیش از حد Crp منجر به تولید آنتی‌بیوتیک‌های جدید در گونه‌های *Streptomyces* شده است. از سوی دیگر، غیرفعال شدن پروتئین‌های سرکوبگر (پروتئین‌های رونویسی که در تنظیم منفی نقش دارند) نیز برای فعال کردن خوشه‌های ژنی آنتی‌بیوتیک‌های خاموش مشاهده شده است که بهترین مثال در این دسته، تولید ursolic acid مرموز در *Aspergillus nidolans* است (Bok *et al*., 2013).

بازآرایی کروماتین

گزارش شده که خوشه‌های ژنی فرضی برای سنتز آنتی بیوتیک در نواحی دیستال کروموزوم ژنوم‌های قارچی وجود دارند. این مناطق معمولاً در حالت هتروکروماتین هستند و بیان آن‌ها نیاز به کنترل اپی‌ژنتیکی دارد. Bok and Keller (2004) روشی به نام بازسازی کروماتین را برای القاء ژن‌های متابولیت‌های ثانویه در میکروارگانیسم‌ها ایجاد کردند. آنها در حین بررسی مسیر تنظیمی استریگماتوسیستین (Sterigmatocystin) سمی در *A. nidulans*، چندین سویه جهش یافته را شناسایی کردند که تولید سرکوب شده سم را نشان می‌دادند. در این مطالعه، جهش در LaeA (متیل ترانسفراز)، که در تنظیم تولید Sterigmatocystin نقش دارد شناسایی شد. علاوه بر این مشخص شد که حذف LaeAبیان چندین خوشه ژن بیوسنتزی را مسدود می‌کند، در حالی که بیان بیش از حد آن باعث تولید Penicillin و Lovastatin می‌شود.

همچنین حذف hdaA (هیستون داستیلاز) در *Aspergillus*، منجر به افزایش تولید محصول دو خوشه ژن متابولیت ثانویه واقع در ناحیه پروگزیمال تلومر شد، اما رونویسی یک خوشه دیگر در ناحیه تلومر- دیستال بدون تغییر باقی ماند (Shwab *et al*., 2007). همچنین به طور مشابه، ۱۲ قارچ در مواجهه با غلظت‌های مختلف مهارکننده‌های هیستون داستیلاز قرار گرفتند و ۱۱ سویه با افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه متنوع انتخاب شدند (Shwab *et al*., 2014).

در مطالعه‌ای دیگر Oberlies *et al*. (2012) از بازدارنده پروتئازوم بورتزومیب (Bortezomib proteasome) برای القاء یک قارچ رشته‌ای در جهت تولید متابولیت‌های مرموز استفاده کردند (Moore *et al*., 2012).

این مشاهدات همگی به وضوح اهمیت مولکول‌های کوچک اصلاح‌کننده اپی‌ژنتیکی را در دستیابی به خوشه‌های ژنی خاموش برای کشف متابولیت‌های جدید نشان می‌دهند.

کشت توام

کشت مشترک به یکی از استراتژی‌های اصلی و موفقیت آمیز برای شناسایی متابولیت‌های ثانویه جدید از میکروارگانیسم‌ها تبدیل شده است. چندین گزارش در مورد فعل و انفعالات زیستی قارچ‌ها نشان داده که، تولید بسیاری از متابولیت‌های ثانویه مرموز را می‌توان با کشت همزمان قارچ‌ها با قارچ‌ها و یا قارچ‌ها با باکتری‌های دیگر القاء کرد. همچنین نشان داده شده که کشت مشترک میکروب‌ها و برهمکنش‌های مؤثر بین میکروارگانیسم‌های هم‌کشت شده مانند انتقال افقی ژن، جهش‌های ژنی، فعل و انفعالات فیزیکی سلول به سلول و تولید آنزیم‌ها، می‌تواند به کشف متابولیت‌های ثانویه مرموز و ضعیف کمک کند. با این حال، یافتن شرکای مناسب برای کشت مشترک همچنان چالش برانگیزاست. به عنوان مثال در مطالعه‌ای دیده شد که کشت همزمان *Aspergillus fumigatus* با باکتری، پس از افزودن یک تعدیل کننده اپی ژنتیکی منجر به فعال شدن یک مسیر خاموش سنتز متابولیت ثانویه شد (Moody, 2014).

مورد دیگر پستالون (Pestalon)، یک آنتی بیوتیک قوی علیه *Staphylococcus aureus* مقاوم به متی سیلین (Methicillin) و *Enterococcus faecium* مقاوم به وانکومایسین (Vancomycin) است (Cueto *et al*., 2001) که محصول کشت مشترک جلبک قهوه‌ای *Pestalotia* sp. CNL-365 و یک باکتری ناشناخته می‌باشد (Xu *et al*., 2023). همچنین گزارش شده که *Bacillus subtilisis* باعث القاء ماکروکارپون، ۲-کربوکسی متیل آمینو بنزوئیک اسید و سیترئوایزوکومارینول (macrocarpon, ۲-carboxymethylamino benzoic acid, citreoisocoumarinol) در *Fusarium tricinctum* می‌شود (Ola *et al*., 2013).

شرایط محیط کشت

دما

دما یکی از مهم‌ترین عوامل موثر بر رشد، اسپورزایی و بقای میکروارگانیسم‌ها است. در دمای بهینه معین، میکروارگانیسم‌ها به طور طبیعی رشد کرده و آنتی بیوتیک تولید می‌کنند، شوک حرارتی باعث تولید جادومایسین (Jadomycin) و افزایش بازده والیدامایسین (validamycin) می‌شود، در حالی که محدودیت مواد مغذی مانند آلانین و یا شوک pH اسیدی، منجر به تولید متیلنومایسین (methylenomycin) در *S. coelicolor* می‌شود (Feller *et al*., 1994). دمایی که برای رشد استفاده می‌شود، هم بر سرعت تکثیر سلولی و هم بر متابولیسم ثانویه تأثیر می‌گذارد. به عنوان مثال، *Arthrinium saccharicola* در دمای ۳۰ درجه سلسیوس سریعتر رشد می‌کند، اما تولید متابولیت‌های ثانویه آن در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در بالاترین مقدار است (Cui *et al*., 1996). تولید آنتی‌بیوتیک antiMRSA توسط *P. piscicida* PG-02 در هفت دمای مختلف آزمایش شد و نتایج نشان داد که حداکثر مقدار آنتی بیوتیک در دمای ۲۸ درجه سلسیوس تولید می‌شود (Darabpour *et al*., 2012).

شوری (نمک NaCl)

مقادیر مناسبی از نمک، برای رشد طبیعی میکروب‌ها مورد نیاز است. فشار اسمزی بالا سلول‌ها را کم آب می‌کند و بر واکنش‌های بیوشیمیایی میکروبی تأثیر می‌گذارد. میکروارگانیسم‌هایی که در معرض انواع مختلف محیط‌های تکمیل شده با هالوژن‌های مختلف قرار می‌گیرند، ممکن است مسیر سنتز خود را برای رسیدن به تعادل اسمزی تغییر دهند. بنابراین، خوشه‌های مختلف ژن‌های بیوسنتزی Microbial secondary metabolite (متابولیت ثانویه میکروبی) را فعال می‌کنند (Jensen and Fenical, 1996).

به عنوان مثال، یک اندوفیت با نام *Wallemia sebi* PXP-89که در محیط کشت حاوی ۱۰ درصد NaCl کشت داده شد آلکالوئید سیکلوپنتانول پیریدین (Cyclo pentanol pyridine alkaloid) جدیدی را تولید کرد که در محیط فاقد نمک شناسایی نشده بود (Peng *et al*., 2011). همچنین، هنگامی که KLA-03 *Spicaria elegans* در محیط حاوی ۱۰ درصد نمک دریا کشت داده شد، یک اسید دیاکریلیک (Diacrylic acid) ضد میکروبی جدید را بیوسنتز کرد (Wang *et al*., 2011).

غلظت اکسیژن

تغییرات در عرضه اکسیژن می‌تواند بر واکنش‌های بیوشیمیایی و فعال کردن خوشه‌های ژن‌های عملکردی برای تولید متابولیت‌های ثانویه مختلف تأثیر بگذارد. به عنوان مثال آسپیرون (aspyrone) با افزایش غلظت اکسیژن محلول در طی تخمیر *A. ochraceus* DSM-7428، تولید می‌شود (Fuchser *et al*., 1995).

ترکیبات محیط کشت

به طور کلی، منابع کربن و نیتروژن اجزای اصلی در محیط کشت هستند. منبع کربن نه تنها اساس ساخت زیست توده را فراهم می‌کند و منبع انرژی برای همه هتروتروف‌ها است، بلکه واحدهای کربن را برای ساخت متابولیت‌های ثانویه ارائه می‌دهد. منبع نیتروژن برای سنتز پروتئین‌های ضروری و اسیدهای نوکلئیک مورد نیاز است، همچنین واحدهای نیتروژن (N) برای ساخت متابولیت‌های ثانویه نیز مورد نیاز است. نوع منابع کربن و نیتروژن مورد استفاده، تأثیر قابل توجهی بر متابولیسم ثانویه میکروبی دارند. علاوه براین، نسبت کربن به نیتروژن، یکی از عوامل مهمی است که بر القاء متابولیت‌های ثانویه تأثیر می‌گذارد. مصرف اجزای محیط مبتنی بر کربن و نیتروژن، می‌تواند با تشکیل اسیدهای آلی یا تجمع آمونیوم بازی، تا حد زیادی بر pH محیط کشت تأثیر بگذارد. بنابراین، میکروارگانیسم‌ها در محیط‌های حاوی اجزای مختلف ممکن است متابولیسم متفاوتی را نشان دهند و مجموعه‌های خاصی از ژن‌های بیوسنتزی را بیان کنند که بیوسنتز متفاوتی از متابولیت‌های خاص را ایجاد می‌کند (Dinarvand *et al*., 2013).

در مطالعه‌ای دیده شد که یک سویه قارچ *F. tricinctum* جدا شده از منطقه Beni-Mellal، روی محیط کشت جامد برنج همراه با آب‌میوه و سبزیجات، توانست سه نوع متابولیت فوزاریلین (fusarielin) جدید تولید کند. اما این متابولیت‌ها هنگام کشت در محیط برنج معمولی بدون آب میوه و سبزیجات شناسایی نشدند (Hemphill *et al*., 2017).

همچنین یک دیکتوپی پرازین (diketopiperazine) جدید از*Eurotium rubrum* MPUC136 کشت شده در محیط کشت بر پایه گندم جدا شد، که زیست فعالی قوی‌تری

نسبت به محیط Czapek-Dox آگار نشان داد (Kamauchi *et al*., 2016).

قارچ ریزوسفری به نام *Paraphaeosphaeria quadriseptata* یک پلی کتید شناخته شده با نام مونوسیلین I (Monocillin I) را همراه با چندین آنالوگ هنگامی که در محیط PDA (potato dexterous agar) تهیه شده با آب شیر انکوبه شد، تولید کرد. با این حال، همان سویه قارچی می‌تواند شش لاکتون تری هیدروکسی بنزن جدید به نام سیتوسپورون‌های F-I (Cytoporons F-I) را زمانی که محیط کشت با آب مقطر تهیه شده تولید کند (Wijeratne *et al*., 2004).

عناصر خاکی کمیاب و یون‌های فلزی

عناصر خاکی کمیاب نه تنها در فعال کردن ژن‌های مرموز موثر هستند، بلکه در تولید آنتی‌بیوتیک‌ها نیز نقش دارند. عناصر خاکی کمیاب شامل اسکاندیم، ایتریم و لانتانیدها (Scandium, yttrium and lanthanides) هستند. محیط کشت حاوی ۱۰۰-۱۰ میکرومولار اسکاندیم یا لانتانیم، تولید آنتی‌بیوتیک را در *Streptomyces* sp. افزایش می‌دهد. در واقع شواهد نشان دهنده این است که تاثیر اسکاندیم در القاء تولید آنتی بیوتیک در *S. Coelicolor* در سطح رونویسی ژن act II-ORF4 است (Inaoka and Ochi, 2011, Kawai *et al*., 2007).

تولید آنتی بیوتیک در محیط کشت حاوی غلظت‌های پایین اسکاندیم نشان می‌دهد که این عنصر می‌تواند یک عامل مهم برای القاء تولید متابولیت‌های ثانویه و همچنین رنگدانه‌ها، سموم و آنتی بیوتیک‌ها باشد. عناصر خاکی کمیاب در تمام اکوسیستم، در سطوح پایین توزیع شده‌اند و این امکان وجود دارد که میکروب‌ها، توانایی واکنش به این سطوح پایین از عناصر را برای القاء خوشه‌های ژن‌های بیوسنتز آنتی بیوتیک‌ها در طول دوره تکامل به دست آورده باشند. افزودن اسکاندیم به محیط کشت *B. subtilis* برای افزایش تولید α-آمیلاز (α-amylase) و باسیلیسین (Bacilysin) گزارش شده‌است. مزیت اصلی استفاده از عناصر خاکی کمیاب در محیط‌های کشت برای افزایش تولید آنتی بیوتیک این است که، این رویکرد به دانش قبلی در رابطه با مهندسی ژنتیک نیاز ندارد (Inaoka and Ochi, 2011).

سیدروفورها متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که توسط باکتری‌ها و گیاهان تولید می‌شوند. سیدروفورهای گیاهی فیتوسیدروفور نامیده می‌شوند. این مواد می‌توانند جذب آهن را که یک ریز مغذی ضروری است افزایش دهند. سیدروفورها نه تنها در تامین مواد مغذی ضروری مانند آهن نقش دارند بلکه در شرایط تنش نیز به گیاهان کمک می‌کنند. همچنین، در سم زدایی خاک از فلزات سنگین نیز برای آنها نقشی در نظر گرفته شده است. به عنوان مثال سیدروفورها می‌توانند به چندین فلز مانند Cr^{+3}، Al^{+3}، Cu^{+2}، Pb^{+2}، Zn^{+2} و Cd^{+2} متصل شوند (Ma *et al*., 2016).

گزارش شده که در غیاب گیاهان، فلزات می توانند تولید سیدروفور را در باکتری‌های مختلف تحریک کنند. این مسئله نشان دهنده ظرفیت بالای باکتری‌ها برای مقاومت در برابر استرس فلزی است (Fashola *et al*., 2016). از طرفی گلوکز و سرب نیز موجب تحریک تولید سیدروفور در برخی از باکتری‌ها مانند *Bacillus sp*. PZ-1 می‌شود (Złoch *et al*., 2016; Rajkumar *et al*., 2010) که باید در طراحی محیط کشت برای تولید آنتی بیوتیک های جدید در نظر گرفته شود.

دسته دیگری از متابولیت‌های ثانویه که در سم زدایی فلزات سنگین نقش دارند متالوتیونین‌ها (Metallothionein) هستند که توسط طیف وسیعی از موجودات از جمله گیاهان و باکتری‌ها تولید می‌شوند. آن‌ها پروتئین‌های کوچک غنی از سیستئین هستند، که ظرفیت اتصال فلزی بالایی دارند و در واقع در سم زدایی و ذخیره فلزات نقش دارند. تولید Metallothionein توسط فلزات سنگینی مانند Cd، Zn، Pb، Cu و Cd تحریک می‌شود. Metallothionein‌های باکتریایی متعددی همراه با مسیرهای ژنتیکی آن‌ها در باکتری‌های مختلف شناسایی شده است. تفاوت زیاد آنها در توالی‌های آمینواسیدی، نشان دهنده تنوع بالای مسیرهای تکامل این مواد است، با این حال، بسیاری از Metallothionein‌ها هنوز ناشناخته هستند و تحقیقات بیشتر، مولکول‌های دیگری را آشکار خواهد کرد. از آنجا که متالوتیونین‌های باکتریایی می‌توانند جذب فلزات را افزایش داده و سمیت آنها را کاهش دهند، می‌توانند راه حلی کارآمد برای بهبود زیست پالایی فلزات سنگین باشند (Chatterjee *et al*., 2020; Rono *et al*., 2021).

مولکول‌های کوچک و محرک شیمیایی

در *S. coelicolor*، یک آبشار سیگنالینگ (پیام رسانی) متشکل از N –استیل گلوکزامین (N-acetylglucosamine) (جزء دیواره سلولی باکتری) و ژن تنظیم کننده DasR می‌تواند تولید آنتی‌بیوتیک را فعال کند. غلظت بالای N-acetylglucosamine

باعث تولید آنتی بیوتیک در شرایط رشد با مواد مغذی ضعیف می‌شود. این ماده به محل اتصال خود یعنی DasR متصل می‌شود و به عنوان لیگاند میل پروتئین را به DNA کاهش می‌دهد (Rigali *et al*., 2008). به نظر می‌رسد یک پروتئین دیگر، AtrA، با داشتن اثرات مخالف در مسیر سیگنالینگ، با DasR مقابله می‌کند، DasR همچنین تولید سیدروفور را کنترل می‌کند (Nothaft *et al*., 2010).

رونویسی افزایش یافته از خوشه‌های بیوسنتزی آنتی‌بیوتیکی مرموز (act، cda، red و cpk) در جهش DasR باکتری *S. coelicolor* مشاهده شده است. بیان DasR با القاء ژن‌های آنتی‌بیوتیک در بسیاری از اکتینومیست‌ها مرتبط است، مشروط بر اینکه از N-acetylglucosamine به عنوان منبع کربن استفاده شود (Rigali *et al*., 2008).

نتیجه‌گیری

در شرایط کنونی و با ظهور بیماری‌های ناشناخته و عفونی، پیدا کردن آنتی بیوتیک‌های جدید بسیار مهم است، همچنین آنزیم‌های جدید و کارآمد در pH متغیر و دمای بالا در بسیاری از صنایع مانند دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی، زیست پالایی مورد نیاز است. میکروب‌ها با داشتن ژنوم وسیع و مرموز خود توانایی رمز کردن طیف وسیعی از متابولیت‌های ثانویه را دارند؛ اما تحت شرایط رشد استاندارد همه توانایی خود را نشان نمی‌دهند. شناخت این سیستم مرموز و پیدا کردن راه‌هایی برای فعال کردن خوشه‌های ژنی تولید کننده متابولیت‌های ثانویه ناشناخته جهت دستیابی به این گنجینه بزرگ می‌تواند کمک بزرگی به نیازهای دارویی و دیگر صنایع کند.

References

Abbasi, S., Safaie, N., Sadeghi, A., Shamsbakhsh, M. (2019). *Streptomyces* strains induce resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 in tomato through different molecular mechanisms. *Frontiers in Microbiology*, 10:1505.

Abbasi, S., Spor, A., Sadeghi, A., & Safaie, N. (2021). *Streptomyces* strains modulate dynamics of soil bacterial communities and their efficacy in disease suppression caused by *Phytophthora capsici*. *Scientific reports*, 11: 9317.

Abdelwahab, M. F., Kurtán, T., Mándi, A., Müller, W. E., Fouad, M. A., Kamel, M. S., ... & Proksch, P. (2018). Induced secondary metabolites from the endophytic fungus Aspergillus versicolor through bacterial co-culture and OSMAC approaches. *Tetrahedron Letters*, 59 (27), 2647-2652.

Ahn, Y. O., Shimizu, B. I., Sakata, K., Gantulga, D., Zhou, Z., Bevan, D. R., & Esen, A. (2010). Scopolin-hydrolyzing β-glucosidases in roots of Arabidopsis. *Plant and Cell Physiology*, 51 (1), 132-143.

Akbari, A. R., Gharanjik, S., Koobaz, P., Karimi, E., & Sadeghi, A. (2016). 'Evaluation of Mutual Effect of Ectoine(s) producing Streptomyces and wheat at salt conditions', *Crop Biotechnology*, 6 (13), 57-68.

Buhian, W. P., & Bensmihen, S. (2018). Mini-review: nod factor regulation of phytohormone signaling and homeostasis during rhizobia-legume symbiosis. *Frontiers in plant science*, 9, 1247.

Bentley, S. D., Chater, K. F., Cerdeño-Tárraga, A. M., Challis, G. L., Thomson, N. R., James, K.

Bode, H. B., Bethe, B., Höfs, R., & Zeeck, A. (2002). Big effects from small changes: possible ways to explore nature's chemical diversity. *ChemBioChem*, 3 (7), 619-627.

Banerjee, G., Ray, A. K., & Kumar, R. (2016). Effect of temperature on lateral gene transfer efficiency of multi-antibiotics resistant bacterium, Alcaligenes faecalis. *Sains Malays*, 45, 909-914.

Bok, J. W., Soukup, A. A., Chadwick, E., Chiang, Y. M., Wang, C. C., & Keller, N. P. (2013). VeA and MvlA repression of the cryptic orsellinic acid gene cluster in Aspergillus nidulans involves histone 3 acetylation. *Molecular microbiology*, 89 (5), 963-974.

Bok, J. W., & Keller, N. P. (2004). LaeA, a regulator of secondary metabolism in *Aspergillus* spp. *Eukaryotic cell*, 3 (2), 527-535.

Cotton, T. A., Pétriacq, P., Cameron, D. D., Meselmani, M. A., Schwarzenbacher, R., Rolfe, S. A., & Ton, J. (2019). Metabolic regulation of the maize rhizobiome by benzoxazinoids. *The ISME journal*, 13 (7), 1647-1658.

Chai, Y. J., Cui, C. B., Li, C. W., Wu, C. J., Tian, C. K., & Hua, W. (2012). Activation of the dormant secondary metabolite production by introducing gentamicin-resistance in a marine-derived *Penicillium purpurogenum* G59. *Marine drugs*, 10 (3), 559-582.

Cueto, M., Jensen, P. R., Kauffman, C., Fenical, W., Lobkovsky, E., & Clardy, J. (2001). Pestalone, a new antibiotic produced by a marine fungus in response to bacterial challenge. *Journal of Natural Products*, 64 (11), 1444-1446.

Cui, C. B., Kakeya, H., & Osada, H. (1996). Novel mammalian cell cycle inhibitors, spirotryprostatins A and B, produced by Aspergillus fumigatus, which inhibit mammalian cell cycle at G2/M phase. *Tetrahedron*, 52 (39), 12651-12666.

Chatterjee, S., Kumari, S., Rath, S., Priyadarshanee, M., & Das, S. (2020). Diversity, structure and regulation of microbial metallothionein: Metal resistance and

possible applications in sequestration of toxic metals. *Metallomics*, 12 (11), 1637-1655.

Desurmont, G. A., Harvey, J., van Dam, N. M., Cristescu, S. M., Schiestl, F. P., Cozzolino, S., ... & Turlings, T. C. (2014). Alien interference: disruption of infochemical networks by invasive insect herbivores. *Plant, Cell & Environment*, 37 (8), 1854-1865.

Darabpour, E. M. R. A., Ardakani, M. R., Motamed, H., Ronagh, M. T., & Najafzadeh, H. (2012). Purification and optimization of production conditions of a marine-derived antibiotic and ultra-structural study on the effect of this antibiotic against MRSA. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*, 16 (2).

Dinarvand, M., Rezaee, M., Masomian, M., Jazayeri, S. D., Zareian, M., Abbasi, S., & Ariff, A. B. (2013). Effect of C/N ratio and media optimization through response surface methodology on simultaneous productions of intra-and extracellular inulinase and invertase from Aspergillus niger ATCC 20611. *BioMed research international*, *2013*.

Dos Santos, J. D. N., João, S. A., Martín, J., Vicente, F., Reyes, F., & Lage, O. M. (2022). iChip-inspired isolation, bioactivities and Dereplication of Actinomycetota from Portuguese Beach sediments. *Microorganisms*, *10*(7), 1471.

Frost, L. S., Leplae, R., Summers, A. O., & Toussaint, A. (2005). Mobile genetic elements: the agents of open source evolution. *Nature Reviews Microbiology*, *3*(9), 722-732.

Feller, G., Narinx, E., Arpigny, J. L., Zekhnini, Z., Swings, J., & Gerday, C. (1994). Temperature dependence of growth, enzyme secretion and activity of psychrophilic Antarctic bacteria. *Applied microbiology and biotechnology*, *41*, 477-479.

Fuchser, J., Thiericke, R., & Zeeck, A. (1995). Biosynthesis of aspinonene, a branched pentaketide produced by *Aspergillus ochraceus*, related to aspyrone. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, (13), 1663-1666.

Fashola, M. O., Ngole-Jeme, V. M., & Babalola, O. O. (2016). Heavy metal pollution from gold mines: environmental effects and bacterial strategies for resistance. *International journal of environmental research and public health*, *13*(11), 1047.

Gebhard, F., & Smalla, K. (1998). Transformation of *Acinetobacter* sp. strain BD413 by transgenic sugar beet DNA. *Applied and Environmental Microbiology*, *64*(4), 1550-1554.

Hashimoto, M., Hasegawa, H., & Maeda, S. (2019). High temperatures promote cell-to-cell plasmid transformation in *Escherichia coli*. *Biochemical and biophysical research communications*, *515*(1), 196-200.

Hemphill, C. F. P., Sureechatchaiyan, P., Kassack, M. U., Orfali, R. S., Lin, W., Daletos, G., & Proksch, P. (2017). OSMAC approach leads to new fusarielin metabolites from Fusarium tricinctum. *The Journal of antibiotics*, *70*(6), 726-732.

Hui, N., Jumpponen, A., Francini, G., Kotze, D. J., Liu, X., Romantschuk, M., ... & Setälä, H. (2017). Soil microbial communities are shaped by vegetation type and park age in cities under cold climate. *Environmental microbiology*, *19*(3), 1281-1295.

Imai, Y., Fujiwara, T., Ochi, K., & Hosaka, T. (2012). Development of the ability to produce secondary metabolites in Streptomyces through the acquisition of erythromycin resistance. *The Journal of Antibiotics*, *65*(6), 323-326.

Inaoka, T., & Ochi, K. (2011). Scandium stimulates the production of amylase and bacilysin in Bacillus subtilis. *Applied and environmental microbiology*, *77*(22), 8181-8183.

Jensen, P. R., & Fenical, W. (1996). Marine bacterial diversity as a resource for novel microbial products. *Journal of industrial microbiology*, *17*, 346-351.

Jin, J., Wang, M., Lu, W., Zhang, L., Jiang, Q., Jin, Y., ... & Xiao, M. (2019). Effect of plants and their root exudate on bacterial activities during rhizobacterium–plant remediation of phenol from water. *Environment international*, *127*, 114-124.

Kanchanabanca, C., Hosaka, T., & Kojima, M. (2024). High-intensity green light potentially activates the actinorhodin biosynthetic pathway in Streptomyces coelicolor A3 (2). *Archives of Microbiology*, *206*(1), 8.

Knudsen, J. T., Eriksson, R., Gershenzon, J., & Ståhl, B. (2006). Diversity and distribution of floral scent. *The botanical review*, *72*(1), 1-120.

Kouroshnia, A., Zeinali, S., Irani, S., & Sadeghi, A. (2022) . Induction of apoptosis and cell cycle arrest in colorectal cancer cells by novel anticancer metabolites of *Streptomyces* sp. 801. *Cancer Cell International*, 22, 235.

Kudjordjie, E. N., Sapkota, R., Steffensen, S. K., Fomsgaard, I. S., & Nicolaisen, M. (2019). Maize synthesized benzoxazinoids affect the host associated microbiome. *Microbiome*, *7*(1), 1-17.

Kamauchi, H., Kinoshita, K., Sugita, T., & Koyama, K. (2016). Conditional changes enhanced production of bioactive metabolites of marine derived fungus *Eurotium rubrum*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, *26*(20), 4911-4914.

Kawai, K., Wang, G., Okamoto, S., & Ochi, K. (2007). The rare earth, scandium, causes antibiotic overproduction in Streptomyces spp. *FEMS microbiology letters*, *274*(2), 311-315.

Lyu, D., & Smith, D. L. (2022). The root signals in rhizospheric inter-organismal communications. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 5328.

Lyu, D., Backer, R., Subramanian, S., & Smith, D. L. (2020). Phytomicrobiome coordination signals hold potential for climate change-resilient agriculture. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 634.

Lareen, A., Burton, F., & Schäfer, P. (2016). Plant root-microbe communication in shaping root microbiomes. *Plant molecular biology*, *90*, 575-587.

Lorenz, M. G., Reipschläger, K., & Wackernagel, W. (1992). Plasmid transformation of naturally competent Acinetobacter calcoaceticus in non-sterile soil extract and groundwater. *Archives of microbiology*, *157*, 355-360.

Laureti, L., Song, L., Huang, S., Corre, C., Leblond, P., Challis, G. L., & Aigle, B. (2011). Identification of a bioactive 51-membered macrolide complex by activation of a silent polyketide synthase in Streptomyces ambofaciens. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *108*(15), 6258-6263.

Martín-Aragón, V. R., Millán, F. R., Cuadrado, C., Daranas, A. H., Medarde, A. F., & López, J. M. S. (2023). Induction of new aromatic polyketides from the marine actinobacterium Streptomyces griseorubiginosus through an OSMAC approach. *Marine Drugs*, *21*(10), 526.

Mönchgesang, S., Strehmel, N., Schmidt, S., Westphal, L., Taruttis, F., Müller, E., ... & Scheel, D. (2016). Natural variation of root exudates in Arabidopsis thaliana-linking metabolomic and genomic data. *Scientific Reports*, *6*(1), 29033.

Ma, Y., Rajkumar, M., Zhang, C., & Freitas, H. (2016). Beneficial role of bacterial endophytes in heavy metal phytoremediation. *Journal of environmental management*, *174*, 14-25.

Mhlongo, M. I., Piater, L. A., Madala, N. E., Labuschagne, N., & Dubery, I. A. (2018). The chemistry of plant–microbe interactions in the rhizosphere and the potential for metabolomics to reveal signaling related to defense priming and induced systemic resistance. *Frontiers in Plant Science*, *9*, 112.

Maharjan, S., Oh, T. J., Lee, H. C., & Sohng, J. K. (2009). Identification and functional characterization of an afsR homolog regulatory gene from Streptomyces venezuelae ATCC 15439. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, *19*(2), 121-127.

Maddocks, S. E., & Oyston, P. C. (2008). Structure and function of the LysR-type transcriptional regulator (LTTR) family proteins. *Microbiology*, *154*(12), 3609-3623.

Moore, J. M., Bradshaw, E., Seipke, R. F., Hutchings, M. I., & McArthur, M. (2012). Use and discovery of chemical elicitors that stimulate biosynthetic gene clusters in Streptomyces bacteria. In *Methods in enzymology* (Vol. 517, pp. 367-385). Academic Press.

Moody, S. C. (2014). Microbial co-culture: harnessing intermicrobial signaling for the production of novel antimicrobials. *Future Microbiology*, 9(5), 575-578.

Ma, Y., Rajkumar, M., Zhang, C., & Freitas, H. (2016). Beneficial role of bacterial endophytes in heavy metal phytoremediation. *Journal of environmental management*, *174*, 14-25.

Middleton, H., Monard, C., Daburon, V., Clostres, E., Tremblay, J., Yergeau, É., & Amrani, A. E. (2022). Plants release miRNAs in the rhizosphere, targeting microbial genes. *BioRxiv*, 2022-07.

Nothaft, H., Rigali, S., Boomsma, B., Swiatek, M., McDowall, K. J., Van Wezel, G. P., & Titgemeyer, F. (2010). The permease gene nagE2 is the key to N-acetylglucosamine sensing and utilization in *Streptomyces coelicolor* and is subject to multi-level control. *Molecular microbiology*, *75*(5), 1133-1144.

Nichols, D., Cahoon, N., Trakhtenberg, E. M., Pham, L., Mehta, A., Belanger, A., ... & Epstein, S. (2010). Use of ichip for high-throughput in situ cultivation of "uncultivable" microbial species. *Applied and environmental microbiology*, *76*(8), 2445-2450.

Ochi, K., Okamoto, S., Tozawa, Y., Inaoka, T., Hosaka, T., Xu, J., & Kurosawa, K. (2004). Ribosome engineering and secondary metabolite production. *Advances in applied microbiology*, *56*(56), 155-179.

Ola A. R, Thomy D., Lai D., Brotz-Oesterhelt H., & Proksch P. (2013). Inducing secondary metabolite production by the endophytic fungus *Fusarium tricinctum* through coculture with *Bacillus subtilis.* *Journal of Natural Products*, 76(11):2094–2099

Piddock, L. J. (2015). Teixobactin, the first of a new class of antibiotics discovered by iChip technology?. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *70*(10), 2679-2680.

Peng, X. P., Wang, Y., Liu, P. P., Hong, K., Chen, H., Yin, X., & Zhu, W. M. (2011). Aromatic compounds from the halotolerant fungal strain of *Wallemia sebi* PXP-89 in a hypersaline medium. *Archives of pharmacal research*, *34*, 907-912.

Rutledge, P. J., & Challis, G. L. (2015). Discovery of microbial natural products by activation of silent biosynthetic gene clusters. *Nature reviews microbiology*, *13*(8), 509-523.

Ross, A. C., Gulland, L. E., Dorrestein, P. C., & Moore, B. S. (2015). Targeted capture and heterologous expression of the Pseudoalteromonas alterochromide gene cluster in *Escherichia coli* represents a promising natural product exploratory platform. *ACS synthetic biology*, *4*(4), 414-420.

Rajkumar, M., Ae, N., Prasad, M. N. V., & Freitas, H. (2010). Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. *Trends in biotechnology*, *28*(3), 142-149.

Rono, J. K., Le Wang, L., Wu, X. C., Cao, H. W., Zhao, Y. N., Khan, I. U., & Yang, Z. M. (2021). Identification of a new function of metallothionein-like gene OsMT1e for cadmium detoxification and potential phytoremediation. *Chemosphere*, *265*, 129136.

Rigali, S., Titgemeyer, F., Barends, S., Mulder, S., Thomae, A. W., Hopwood, D. A., & Van Wezel, G. P. (2008). Feast or famine: the global regulator DasR links nutrient stress to antibiotic production by Streptomyces. *EMBO reports*, *9*(7), 670-675.

Sadeghi, A., Koobaz, P., Azimi, H., Karimi, E., & Akbari, A. R. (2017). Plant growth promotion and suppression of Phytophthora drechsleri damping-off

in cucumber by cellulase-producing Streptomyces. *BioControl*, *62*, 805-819.

Sheng, L., Zhao, W., Yang, X., Mao, H., & Zhu, S. (2023). Response characteristics of rhizosphere microbial community and metabolites of Iris tectorum to Cr stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *263*, 115218.

Stringlis, I. A., Yu, K., Feussner, K., de Jonge, R., Van Bentum, S., Van Verk, M. C., ... & Pieterse, C. M. (2018). MYB72-dependent coumarin exudation shapes root microbiome assembly to promote plant health. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *115*(22), E5213-E5222.

Stewart, G. J. (1989). The mechanism of natural transfomiation. In" Gene Transfer in the Environment."(Levy, SB, and Miller, RV eds.).

Shao, Z., Rao, G., Li, C., Abil, Z., Luo, Y., & Zhao, H. (2013). Refactoring the silent spectinabilin gene cluster using a plug-and-play scaffold. *ACS synthetic biology*, *2*(11), 662-669.

Shwab, E. K., Bok, J. W., Tribus, M., Galehr, J., Graessle, S., & Keller, N. P. (2007). Histone deacetylase activity regulates chemical diversity in Aspergillus. *Eukaryotic cell*, *6*(9), 1656-1664.

Tholl, D., Chen, F., Petri, J., Gershenzon, J., & Pichersky, E. (2005). Two sesquiterpene synthases are responsible for the complex mixture of sesquiterpenes emitted from Arabidopsis flowers. *The Plant Journal*, *42*(5), 757-771.

Tan, S., Yang, C., Mei, X., Shen, S., Raza, W., Shen, Q., & Xu, Y. (2013). The effect of organic acids from tomato root exudates on rhizosphere colonization of Bacillus amyloliquefaciens T-5. *Applied Soil Ecology*, *64*, 15-22.

van Wezel, G. P., & McDowall, K. J. (2011). The regulation of the secondary metabolism of Streptomyces: new links and experimental advances. *Natural product reports*, *28*(7), 1311-1333.

Van Deynze, A., Zamora, P., Delaux, P. M., Heitmann, C., Jayaraman, D., Rajasekar, S., ... & Bennett, A. B. (2018). Nitrogen fixation in a landrace of maize is supported by a mucilage-associated diazotrophic microbiota. *PLoS biology*, *16*(8), e2006352.

Venturi, V., & Keel, C. (2016). Signaling in the rhizosphere. *Trends in plant science*, *21*(3), 187-198.

VanderMolen, K. M., Darveaux, B. A., Chen, W. L., Swanson, S. M., Pearce, C. J., & Oberlies, N. H. (2014). Epigenetic manipulation of a filamentous fungus by the proteasome-inhibitor bortezomib induces the production of an additional secondary metabolite. *RSC advances*, *4*(35), 18329-18335.

Wu, L., Weston, L. A., Zhu, S., & Zhou, X. (2023). Rhizosphere Interactions: Root Exudates and Rhizosphere Microbiome. *Frontiers in Plant Science*, *14*, 1281010.

D., ... & Hopwood, D. A. (2002). Complete genome sequence of the model actinomycete Streptomyces coelicolor A3 (2). *nature*, *417*(6885), 141-147.

Wang, Y., Kou, S., Jiang, Q., Xu, B., Liu, X., Xiao, J., ... & Xiao, M. (2014). Factors affecting transfer of degradative plasmids between bacteria in soils. *Applied soil ecology*, *84*, 254-261.

Waldron, C., Matsushima, P., Rosteck, P. R., Broughton, M. C., Turner, J., Madduri, K., ... & Baltz, R. H. (2001). Cloning and analysis of the spinosad biosynthetic gene cluster of Saccharopolyspora spinosa1. *Chemistry & biology*, *8*(5), 487-499.

Wang, F. Z., Wei, H. J., Zhu, T. J., Li, D. H., Lin, Z. J., & Gu, Q. Q. (2011). Three new cytochalasins from the marine-derived fungus *Spicaria elegans* kla03 by supplementing the cultures with L-and D-tryptophan. *Chemistry & Biodiversity*, *8*(5), 887-894.

Wijeratne, E. K., Carbonezi, C. A., Takahashi, J. A., Seliga, C. J., Turbyville, T. J., Pierson, E. E., ... & Gunatilaka, A. L. (2004). Isolation, optimization of production and structure-activity relationship studies of monocillin I, the cytotoxic constituent of *Paraphaeosphaeria quadriseptata*. *The Journal of Antibiotics*, *57*(8), 541-546.

Wang, Y., Kou, S., Jiang, Q., Xu, B., Liu, X., Xiao, J., ... & Xiao, M. (2014). Factors affecting transfer of degradative plasmids between bacteria in soils. *Applied soil ecology*, *84*, 254-261.

Zhao, M., Zhao, J., Yuan, J., Hale, L., Wen, T., Huang, Q., ... & Shen, Q. (2021). Root exudates drive soil-microbe-nutrient feedbacks in response to plant growth. *Plant, Cell & Environment*, *44*(2), 613-628.

Zeng, H., Xu, H., Liu, G., Wei, Y., Zhang, J., & Shi, H. (2021). Physiological and metagenomic strategies uncover the rhizosphere bacterial microbiome succession underlying three common environmental stresses in cassava. *Journal of Hazardous Materials*, *411*, 125143.

Złoch, M., Thiem, D., Gadzała-Kopciuch, R., & Hrynkiewicz, K. (2016). Synthesis of siderophores by plant-associated metallotolerant bacteria under exposure to Cd2+. *Chemosphere*, *156*, 312-325.

Xu, S., Li, M., Hu, Z., Shao, Y., Ying, J., & Zhang, H. (2023). The potential use of fungal co-culture strategy for discovery of new secondary metabolites. *Microorganisms*, *11*, 464.