

مطالعه تنوع مورفو-فنولوژیکی و بررسی بیان ژن‌های دخیل در بیوسنتر γ -Terpinene و Linalool در توده‌های گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) بومی ایران

آزاده خاکشور^۱، قاسم کریم زاده^{۲*}، محمد صادق ثابت^۳ و وحید صیادی^۴

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، پردیس کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۲- نویسنده مسئول مکاتبات، استاد، گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، پردیس کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

پست الکترونیک: karimzadeh_g@modares.ac.ir

۳- استادیار، گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، پردیس کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۴- دانش آموخته دکتری، گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، پردیس کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۵/۳

چکیده

گشنیز با نام علمی (*Coriandrum sativum* L.) گیاهی نوریستند و بومی جنوب غربی آسیا و مدیترانه می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی تنوع مورفولوژیکی، مطالعه خصوصیات فنولوژی و همچنین بررسی بیان دو ژن مهم دخیل در بیوسنتر γ -Terpinene و Linalool در تعداد ۱۴ توده مختلف گیاه دارویی گشنیز بومی ایران بود. بذرها در اتاقک رشد دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس در سه تکرار در سال ۹۵-۱۳۹۴ کشت شدند. صفات مورد بررسی شامل تعداد روز تا جوانه‌زنی، تعداد روز تا سبز شدن، تعداد روز تا ساقه‌دهی، تعداد روز تا شروع گلدهی، تعداد روز تا خاتمه گلدهی، تعداد روز تا بذردهی، ارتفاع ساقه، وزن خشک تک بوته، عملکرد تک بوته و وزن هزار دانه بودند. نتایج نشان داد توده‌های تهران و ارومیه با میانگین به‌ترتیب با عملکرد ۸/۴۵ و ۸/۱۵ گرم بیشترین وزن هزار دانه را به خود اختصاص دادند. توده تهران از نظر تعداد روز تا جوانه‌زنی و تعداد روز تا سبز شدن دارای کمترین تعداد روز و جمعیت زودرس بود. بعد از دسته‌بندی ۱۴ توده مورد مطالعه از لحاظ شاخص اندازه ژنوم از سه گروه به دست آمده هر گروه، دو توده به منظور مطالعه بررسی بیان ژن انتخاب شدند. نتایج بررسی بیان دو ژن Cs γ TRPS و CsLINS در شش توده منتخب گیاه گشنیز نشان داد که ژن CsLINS در دو توده مشهد و تهران و ژن Cs γ TRPS در دو توده تبریز و زنجان دارای بیشترین مقدار بیان نسبی بودند. دو توده یزد و استهبان برای هر دو ژن مورد بررسی میزان متوسطی از بیان نسبی را نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: بیان ژن، تربیوتید، تنوع مورفو-فنولوژیکی، گشنیز، گیاه دارویی

مقدمه

و منشعب که برگ‌ها متناوب و به طور شانهای قرار گرفته‌اند. ارتفاع این گیاه تا ۵۰ سانتی‌متر هم می‌رسد، گل‌های سفید یا صورتی آن به صورت چترهای مرکب در انتهای شاخه‌ها قرار دارند. میوه‌ها فندقه و دو قسمتی بوده و قبل از رسیدگی کامل

گشنیز با نام علمی (*Coriandrum sativum* L.) از خانواده چتریان (Apiaceae)، گیاهی است علفی، یکساله، دگرگشن (۶۰٪-۷۰)، دارای ۲۲ کروموزوم، با ساقه‌های افراشته، شیاردار

می‌باشند. به علاوه افزایش این پیش‌سازها به نوبه خود باعث افزایش در میزان ترپن‌ها می‌شوند. این دو ماده بیشترین میزان را در اسانس به دست آمده از گشنیز دارند. گشنیز به طور گسترده در طب سنتی در درمان اختلالات گوارشی، بیماری‌های سیستم تنفسی و ادراری، تسکین اضطراب و بی‌خوابی، آلرژی‌ها، اسهال خونی، سوختگی‌ها، سرفه، التهاب ممانه، سرگیجه، تب، سردرد، بواسیر، جوش، عفونت‌های دستگاه ادراری و استفراغ مورد استفاده قرار گرفته است (Aissaoui, 2011). همچنین، در تحقیقات فارماکولوژیک اثرات کاهش‌دهنده قند و چربی خون (Chithra and Leelamma, 1997)، ضد فشار خون (Qaiser, 2009)، ضد اضطراب (Emamghoreishi and Aazam, 2005)، بهبود ادراک (Mani et al., 2011)، ضد باکتریایی و قارچی (Silva et al., 2011) و ضد التهابی (Zanusso-Junior et al., 2011)، این گیاه به اثبات رسیده است. در تحقیقی که به منظور بررسی تنوع فنوتیپی، بیوشیمیایی و مولکولی بر روی ژرم‌پلاسم‌های گشنیز، مشخص شده که تنوع بین زیر گروه و گروه‌ها کم (حدود ۴-۶٪)، بین جمعیت‌ها متوسط (حدود ۲۶-۲۴٪) و در داخل جمعیت‌ها زیاد (۷۰-۶۹٪) می‌باشد (Lopez et al., 2007). گیاه گشنیز تحت تأثیر شرایط جغرافیایی و وضعیت اکولوژیکی محل رویش قرار می‌گیرد. لذا بررسی نقش عوامل مذکور و ارتباط آن‌ها با ویژگی‌های مورفولوژیکی و فنولوژی ضروری است در نتیجه هدف از این مطالعه کشت توده‌های مورد نظر برای بررسی تنوع مورفولوژیک و مطالعه وضعیت فنولوژی، همچنین بررسی بیان دو ژن مهم دخیل در بیوسنتز γ -Terpinene و Linalool در توده‌های گشنیز بومی ایران به منظور بررسی تنوع در سطح توده‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد ژنتیکی مورد استفاده

در این تحقیق تعداد ۱۴ توده مختلف گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) از مرکز ملی ذخائر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه شدند (جدول ۳-۱). نقشه مکان‌های جمع‌آوری توده‌های گیاه گشنیز مورد مطالعه در شکل ۱ آمده است.

بوی تند از خود متصاعد می‌کنند (Msaada et al., 2007; Reuter-Lorenz and Cappell, 2008). گیاهان این خانواده عمدتاً در نواحی معتدل در دوره رویشی خود نیاز چندانی به آب ندارند. گشنیز گیاهی نورپسند بوده و بومی جنوب غربی آسیا و مدیترانه می‌باشد (Msaada et al., 2007). خاک‌های مناسب برای کاشت این گیاه خاکی‌هایی با بافت لومی است و pH مناسب برای آن بین ۸/۲-۴/۹ می‌باشد (Dağeri et al., 2007). کشت گشنیز در ایران در بسیاری از نقاط از جمله: همدان، قزوین، آذربایجان، کرمان، کرمانشاه، بوشهر، سیستان و بلوچستان و یزد صورت می‌گیرد. گشنیز ادویه‌ای بوده و به علت دارا بودن خواص درمانی از جمله مسکن بودن و تقویت‌کننده معده در داروسازی بسیار کاربرد دارد (Illes et al., 2000). اسانس این گیاه ترکیبی رایج در مواد شوینده، عطرسازی و آرایشی است (Coskuner et al., 2007; Sefidkon et al., 2007; Karababa, 2007). کنگاله گشنیز غنی از ترکیبات نشاسته‌ای، پروتئینی و چربی است که غذای مناسبی برای دام و طیور می‌باشد (Omid Beigi, 2009). گشنیز فعالیت آنزیم‌های گوارشی در دام به ویژه در طیور را افزایش داده که منجر به افزایش جذب، بهبود ضریب تبدیل خوراک و سرعت رشد می‌گردد (Cabuk et al., 2006). دانه‌های گشنیز حاوی ۰/۵ تا ۱٪ روغن است (Sabahat and Tariq, 2007). ترکیب عمده روغن گشنیز لینالول می‌باشد که بیش از دو سوم آن را تشکیل می‌دهد (Burdock and Ioana, 2009). در بررسی Galata و همکاران (2014) ژن‌های دخیل در بیان ترکیبات اصلی اسانس شناخته شدند که از مهم‌ترین ژن‌های مسیر سازنده مونوترپن‌ها در گشنیز، دو ژن *CsγTRPS* و *CsLINS* می‌باشند که به ترتیب باعث تولید Cymene و Linalool می‌شوند. ترپنوئیدهای طبیعی از طریق دو مسیر مجزا در بخش‌های مجزا در سلول سنتز می‌شوند (Rodriguez-Concepcion, 2010). مسیر مالونات (MVA) در سیتوسول انجام می‌شود که مسئول تولید *tri- sesqui-* و *poly-terpenes* می‌باشد و مسیر DXS در پلاستید انجام می‌شود و مسئول تولید *Di, Tetra-* و *Monoterpen* می‌باشد (Ganjewala et al., 2009). هر کدام از این مسیرها پیش‌ساز تولید انواع ترپن‌ها

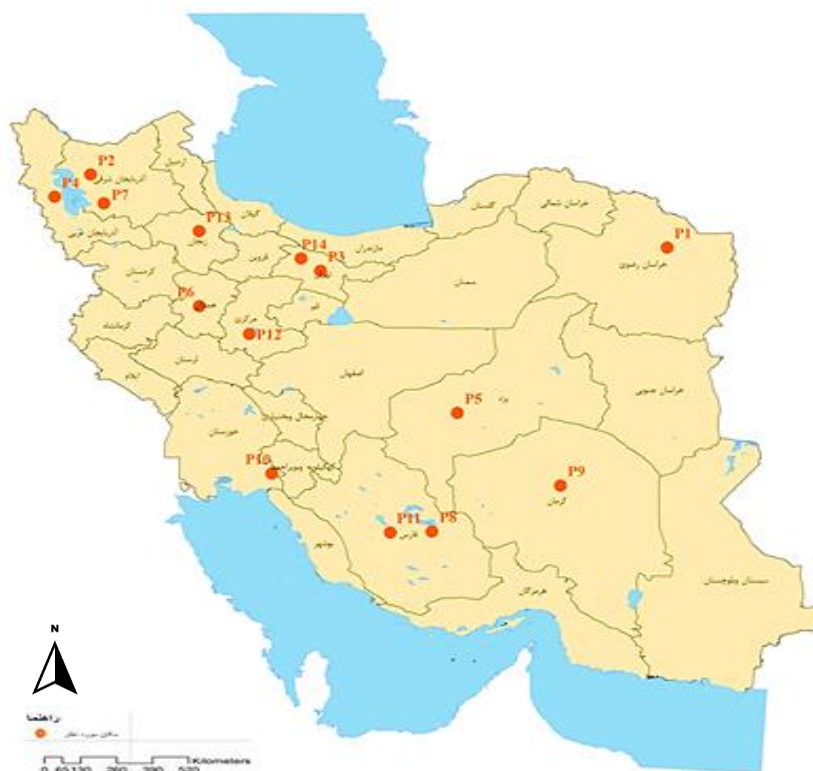
جدول ۱- مشخصات توده‌های گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum*) بومی ایران مورد استفاده در مطالعه حاضر

کد توده‌ها	منشاء	محل جمع‌آوری	عرض	طول	ارتفاع از سطح	میانگین دمای سالانه	میانگین بارندگی سالانه
codes	Locality	Province	Latitude N	Longitude E	Altitude (m)	Mean Temp (°C)	Annual rainfall (mm)
P۱	مشهد	خراسان رضوی	۳۶°۱۶' ۱۸.۴۲"	۵۹°۳۷' ۶.۷۶"	۳۵۵۹	۲۲.۹۱	۵.۵۴
P۲	تبریز	آذربایجان شرقی	۳۸° ۶' ۱۳.۵۶"	۴۵°۵۵' ۴۵.۰۹"	۵۴۶۶	۱۰.۵۰	۲۰.۸۰
P۳	تهران	تهران	۳۵°۴۱' ۲۱.۱۱"	۵۱°۲۳' ۲۰.۳۰"	۷۱۲۷	۱۷.۷۴	۱۵.۰۸
P۴	ارومیه	آذربایجان غربی	۳۷°۳۲' ۵۹.۳۰"	۴۵° ۴' ۴۳.۰۶"	۴۴۱۶	۹.۸۰	۲۱.۳۲
P۵	یزد	یزد	۳۲° ۶' ۴۳.۴۰"	۵۴°۳۸' ۲۳.۸۰"	۲۱۵۸	۲۰.۴۲	۴.۳۲
P۶	همدان	همدان	۳۴°۴۷' ۵۵.۸۹"	۴۸°۳۰' ۵۴.۰۸"	۶۰۶۹	۱۲.۳۰	۲۱.۸۷
P۷	مراغه	آذربایجان شرقی	۳۷°۲۳' ۲۱.۱۱"	۴۶°۱۵' ۲.۲۰"	۴۸۷۹	۱۱.۴۵	۱۹.۷۲
P۸	استهبان	فارس	۲۹° ۷' ۴۴.۷۹"	۵۴° ۲' ۸.۸۰"	۷۱۷۰	۱۸.۴۴	۲۲.۳۲
P۹	کرمان	کرمان	۳۰°۱۷' ۲.۱۸"	۵۷° ۵' ۰.۱۱"	۵۸۰۳	۲۰.۰۰	۹.۰۴
P۱۰	بهبهان	خوزستان	۳۰°۳۵' ۲۸.۱۷"	۵۰°۱۴' ۵.۰۸"	۱۷۲۲	۲۵.۳۰	۱۰.۵
P۱۱	فارس	فارس	۲۹° ۶' ۱۵.۷۷"	۵۳°۲' ۴۵.۲۲"	۶۰۱۳	۲۰.۸۲	۱۵.۸۷
P۱۲	اراک	اراک	۳۴° ۵' ۴۳.۲۸"	۴۹°۴۲' ۴.۸۵"	۵۸۱۲	۱۳.۶۹	۳۱.۸۳
P۱۳	زنجان	زنجان	۳۶°۴۰' ۵۸.۸۲"	۴۸°۳۰' ۳۱.۴۰"	۶۸۰۰	۱۱.۱۹	۱۶.۸۰
P۱۴	البرز	البرز	۳۵°۵۹' ۴۵.۷۷"	۵۰°۵۵' ۴۴.۱۳"	۶۷۲۰	۲۰.۲۴	۱۸.۳۵

روش تحقیق و جمع‌آوری داده‌ها

پس از ضد عفونی بذور توده‌های مورد مطالعه با استفاده از الکل ۷۰٪ (حجمی/حجمی)، چند بار آب‌شویی و سپس در سینی‌های مخصوص نشاء کشت انجام گردید. در ادامه گلدان‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در تاریخ ۹۵-۱۳۹۴ به حجم پنج کیلوگرم توسط کوکوبیت، پرلیت، خاک مزرعه به مقدار مساوی و مقدار کمی نیز خاک برگ پُر و در اتاق رشد دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس قرار گرفتند. یک عدد نشاء در داخل هر گلدان قرار داده شد. بعد از استقرار هر سه روز یک بار آبیاری صورت گرفت. صفات تعداد روز تا جوانه‌زنی پس از مشاهده حدود ۵۰٪ از جوانه‌زنی تمامی تکرارهای توده مورد نظر، تعداد روز تا سبز شدن پس از مشاهده برگ‌های اولیه در ۵۰٪ از تکرارهای

توده مورد نظر، تعداد روز تا ساقه‌دهی پس از رویت ساقه از مرکز گیاه، تعداد روز تا شروع گلدهی پس از مشاهده به گل رفتن ۵۰٪ از سه تکرار توده مورد نظر، تعداد روز تا خاتمه گلدهی پس از مشاهده اولین علائم بذردهی در ۵۰٪ از تمامی تکرارهای توده مورد نظر، تعداد روز تا بذردهی پس از مشاهده بذور تشکیل شده در ۵۰٪ از تمامی تکرارهای توده مورد نظر، ارتفاع ساقه را پس از مشاهده عدم رشد هر کدام از تکرارهای توده‌ها، وزن خشک تک بوته را پس از مشاهده خشک شدن کامل بوته و قرار دادن در آون در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت، عملکرد تک بوته را به وسیله جدا نمودن و وزن نمودن بذور هر تکرار به طور جداگانه و وزن هزار دانه را با اندازه‌گیری وزن هزار عدد از بذور تولیدی هر تکرار، ثبت گردیدند.



شکل ۱- نقشه مکان‌های جمع‌آوری توده‌های گیاه گشنیز مورد مطالعه در کشور با استفاده از نرم افزار GIS

آگارز ۱٪ در بافر TAEIX به منظور تعیین کمیت و کیفیت RNA استخراج شده استفاده گردید. ساخت cDNA با استفاده از کیت Thermo Scientific Revert-Aid™ First-Strand cDNA Synthesis (Fermentas, K1622, Thermo Fisher Scientific, Hudson, NH, USA) مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. آغازگرهای qRT-PCR (واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز رونویسی معکوس کمی) با استفاده از نرم‌افزار آنالیز آغازگر Oligo 7 طراحی شد و سپس با Oligo Analyzer (eu.idtdna.com/calc/analyzer) و NCBI/Primer-BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi?LINK_LOC=BlastHome) بررسی شدند. ژن *Actin* به عنوان ژن مرجع استفاده شد (جدول ۲).

بررسی بیان ژن در تحقیق حاضر از روش CTAB^۱ جهت استخراج RNA کل از بافت برگ استفاده شد (Ghangel *et al.*, 2009). به منظور حذف بقایای DNA موجود در استخراج، از DNase I مطابق دستورالعمل شرکت سازنده پیشنهاد شده بود، استفاده گردید. استخراج RNA کل از شش توده منتخب (گروه یک شامل دو توده P1 (مشهد) و P3 (تهران) (بیشترین مقدار 2Cx DNA)، گروه دوم شامل دو توده P5 (یزد) و P8 (استهبان) (متوسط میزان 2Cx DNA) و گروه سوم شامل دو توده P2 (تبریز) و P13 (زنجان) (کمترین میزان 2Cx DNA) بر اساس داده‌های اندازه ژنوم (داده‌های منتشر نشده) از ۱۴ توده صورت پذیرفت. از دستگاه نانودراپ مدل (Thermo Scientific NanoDrop) و روش الکتروفوروز RNA با ژل (Lite, Wilmington, USA) و روش الکتروفوروز RNA با ژل

1 Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide

جدول ۲- توالی آغازگرهای مورد استفاده برای Real-Time -PCR در توده‌های گشنیز

نام ژن	آغازگر پیش‌رو	آغازگر پس‌رو	اندازه توالی
Gama	CGAAATGGTGGGAAGGACACAGA	GTAATAGCAGCGAGCACCTT	۱۵۳
Linalool	GAGAAGGACTTGCATGCTACTG	GACATCTGCACGGATACCT	۱۸۶
Actin (Control)	GACGAGGATGAGGCAGAGTT	TGGAGCATCAGAAACAGAGG	۱۰۵

در جدول تجزیه واریانس معنی‌دار بود، با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) و نرم افزار SAS 9.1 انجام شد. تجزیه کلاستر بر اساس میانگین داده‌های اصلی پارامترهای مورد بررسی در هر توده انجام گرفت. ضریب کوفنتیک در نرم‌افزار NTSYS 2.02e محاسبه شد و بر اساس آن نوع روش ادغام کلاسترها تعیین گردید. برای این کار از نرم‌افزار Minitab 17 استفاده گردید. به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از بررسی بیان ژن‌های مورد مطالعه از نرم‌افزار REST استفاده گردید.

نتایج

مورفولوژی و فنولوژی

نتایج تجزیه واریانس مربوط به ۱۰ صفت مورفولوژیکی و فنولوژیکی در ۱۴ توده گشنیز مورد مطالعه وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ را بین توده‌های گشنیز از نظر همه صفات مورد بررسی نشان داد (جدول ۳) بر اساس نتایج مقایسه میانگین مشخص شد توده‌های P3 (تهران) و P4 (ارومیه) با میانگین عملکرد دانه در واحد بوته به ترتیب ۱۴/۳۷ و ۱۴/۴۷ گرم بیشترین عملکرد را در بین توده‌های مورد مطالعه به خود اختصاص دادند. از نظر وزن هزار دانه دو توده P12 (اراک) و P3 (تهران) به ترتیب با میانگین ۸/۴۵ و ۸/۱۵ گرم بیشترین مقدار را در بین توده‌های مورد مطالعه به خود اختصاص دادند (جدول ۴). به طور کلی توده P3 (تهران) از نظر عملکرد تک بوته و وزن هزار دانه بهترین رتبه را به خود اختصاص داده است. همچنین، این توده از نظر تعداد روز تا جوانه‌زنی و تعداد روز تا سبز شدن دارای کمترین تعداد روز بود.

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز رونویسی معکوس کمی با استفاده از آغازگرهای اختصاصی در دستگاه BioRad (MiniOpticon Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) با مستر میکس 2X سایبرگرین (Ampliqon, CA, USA) طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. میزان بیان نسبی با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد (Sehringer *et al.*, 2005; Schmittgen and Livak, 2008). ترکیب مواد واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در زمان واقعی شامل یک میکروگرم cDNA، ۱۰ میکروگرم مخلوط واکنش سایبرگرین، ۰/۲ میکروگرم از هر کدام از آغازگرهای اختصاصی (پیش‌رو و پس‌رو) با غلظت ۱۰ پیکومول در میکرولیتر و ۸/۶ میکرولیتر آب دوبار تقطیر شده فاقد نوکلئاز بود. برنامه حرارتی برای تکثیر ژن شامل ۱۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس و ۴۰ چرخه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس و ۲۰ ثانیه برای هر چرخه (واسرشت)، ۲۰ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سلسیوس (اتصال آغازگر) و ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس (سنتز) بود. در پایان مراحل واکنش، یک شیب ۹۵-۶۰ درجه سلسیوس به مدت پنج دقیقه برای شناسایی آغازگر دایمرهای احتمالی انجام شد. از کنترل منفی تمامی مواد واکنش به غیر از cDNA جهت بررسی احتمال آلودگی خارجی، در واکنش استفاده شد.

روش تجزیه آماری

تجزیه واریانس پارامترها پس از انجام آزمون نرمال بودن داده‌ها بر اساس طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به وسیله نرم‌افزار Minitab 17 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین هر کدام از پارامترهایی که مقدار F مربوطه

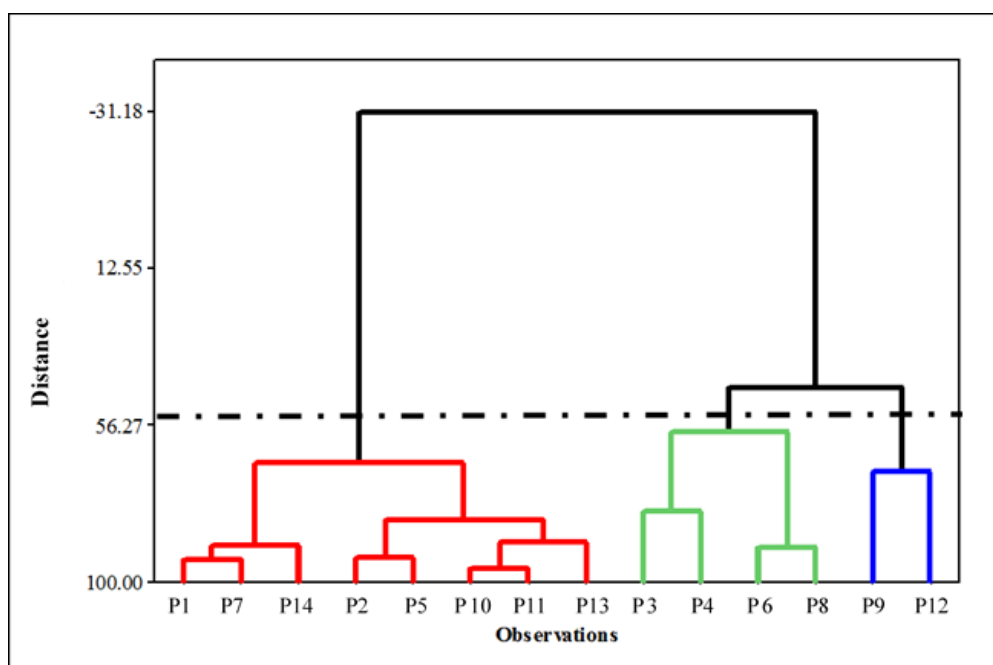
جدول ۳- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های (\pm SE) صفات مورفولوژیک و فنولوژیک توده‌های گشنیز مورد مطالعه

منبع درجه	MS									
	تغییرات آزادی زمان تا جوانه‌زنی زمان تا سبز شدن زمان تا ساقه‌دهی زمان تا شروع	زمان تا اتمام	زمان تا بذردهی	ارتفاع گیاه	وزن خشک	عملکرد بذر	وزن هزار دانه	توده	خطا	CV%
	(روز)	(روز)	(روز)	(سانتی متر)	اندام هوایی (گرم)	تک بوته (گرم)	(گرم)			
	۲۸/۴۳**	۲۴/۴۰**	۵۵۶/۳۲**	۹۱۷/۰۳**	۵۴۸/۹۰**	۴۴۲/۲۶**	۷۷۲/۸۴**	۷۶/۲۳**	۵/۸۴**	۱۳/۶۷**
	۰/۷۹	۱/۱۱	۱/۸۱	۴/۲۹	۴/۱۴	۴/۰۴	۹۳/۸۲	۳/۹۸	۰/۰۳	۰/۰۹
	۹/۸۲	۸/۸۲	۱/۵۴	۱/۹۹	۱/۷۴	۱/۵۹	۱۳/۳۸	۹/۹۲	۱/۳۴	۵/۵۹
کد توده منشاء	میانگین									
P1 مشهد	۶/۵۰±۰/۵۰ ^f	۱۱/۵۰±۰/۵۰ ^{cd}	۹۱/۵۰±۰/۶۴ ^e	۱۲۲/۰۰±۰/۴۰ ^b	۱۲۹/۰۰±۰/۹۱ ^b	۱۳۶/۵±۰/۶۴ ^{bc}	۵۹/۷۵±۴/۳۸ ^{de}	۱۳/۲۲±۰/۷۱ ^f	۱۲/۳۲±۰/۰۹ ^d	۴/۷۷±۰/۱۳ ^e
P2 تبریز	۱۱/۰۰±۰/۵۷ ^{bc}	۱۴/۲۵±۰/۴۷ ^{ab}	۱۰۹/۵۰±۰/۶۴ ^b	۱۰۹/۲۵±۰/۴۷ ^f	۱۱۳/۷۵±۰/۴۷ ^e	۱۲۰/۷۵±۰/۷۵ ^{ef}	۶۸/۷۵±۳/۹۸ ^{bcd}	۱۸/۷۵±۰/۵۶ ^e	۱۱/۵۳±۰/۰۴ ^{gh}	۶/۰۰±۰/۱۱ ^e
P3 تهران	۳/۵±۰/۲۸ ^g	۶/۵۰±۰/۲۸ ^f	۶۷/۲۵±۰/۹۴ ⁱ	۷۷/۰۰±۰/۵۷ ^k	۹۷/۵۰±۰/۲۸ ^h	۱۰۷/۲۵±۰/۲۵ ^e	۴۸/۵۰±۲/۵۰ ^e	۲۱/۹۲±۲/۲۱ ^{cd}	۱۴/۳۷±۰/۱۲ ^a	۸/۱۵±۰/۱۳ ^a
P4 ارومیه	۷/۲۵±۰/۲۵ ^{ef}	۱۰/۲۵±۰/۲۵ ^{de}	۷۷/۰۰±۱/۰۸ ^h	۹۲/۷۵±۰/۴۷ ^{hi}	۱۰۱/۰۰±۱/۷۷ ^g	۱۱۰/۰۰±۲/۰۴ ^g	۸۳/۰۰±۵/۱۹ ^{ab}	۲۷/۷۲±۰/۶۲ ^a	۱۴/۴۷±۰/۱۲ ^a	۴/۸۰±۰/۲۱ ^e
P5 یزد	۹/۰۰±۰/۷۰ ^d	۱۱/۵۰±۰/۹۵ ^{cd}	۹۳/۷۵±۰/۴۷ ^d	۱۰۰/۵۰±۰/۲۸ ^g	۱۱۱/۷۵±۱/۰۳ ^e	۱۲۲/۲۵±۱/۶۰ ^e	۸۰/۰۰±۵/۲۵ ^{ab}	۲۲/۶۲±۰/۹۸ ^{bc}	۱۲/۷۰±۰/۰۴ ^e	۶/۰۲±۰/۲۱ ^e
P6 همدان	۷/۲۵±۰/۸۵ ^{ef}	۹/۵۰±۰/۶۴ ^e	۷۸/۰۰±۰/۷۰ ^h	۹۵/۲۵±۰/۴۷ ^h	۱۲۲/۷۵±۱/۳۱ ^c	۱۲۸/۷۵±۰/۷۵ ^d	۸۹/۵۰±۳/۷۹ ^a	۲۵/۶۲±۰/۶۹ ^a	۱۳/۰۵±۰/۰۶ ^b	۳/۱۷±۰/۱۱ ^f
P7 مراغه	۸/۰۰±۰/۴۰ ^{de}	۱۱/۵۰±۰/۶۴ ^{cd}	۹۰/۲۵±۰/۲۵ ^e	۹۰/۰۰±۰/۴۰ ^g	۱۲۰/۰۰±۰/۴۰ ^{cd}	۱۳۳/۷۵±۰/۴۷ ^f	۶۴/۷۵±۳/۶۸ ^{cd}	۱۵/۴۷±۰/۵۴ ^f	۱۱/۷۵±۰/۱۵ ^{fg}	۳/۲۰±۰/۰۹ ^f
P8 استهبان	۶/۷۵±۰/۴۷ ^{ef}	۹/۲۵±۰/۲۵ ^e	۸۶/۵۰±۰/۶۴ ^f	۱۱۱/۷۵±۰/۸۵ ^{ef}	۱۲۲/۷۵±۰/۲۵ ^c	۱۲۸/۷۵±۰/۷۵ ^d	۸۷/۵۰±۵/۲۳ ^a	۲۵/۲۷±۰/۵۴ ^{ab}	۱۲/۱۰±۰/۰۷ ^{de}	۷/۰۵±۰/۱۰ ^b
P9 کرمان	۱۲/۲۵±۰/۲۵ ^{ab}	۱۴/۵۰±۰/۲۸ ^{ab}	۸۲/۷۵±۱/۰۳ ^g	۹۰/۲۵±۰/۲۵ ^h	۱۰۰/۲۵±۰/۲۵ ^{gh}	۱۱۷/۷۵±۰/۴۷ ^f	۶۲/۲۵±۴/۰۹ ^{cde}	۲۱/۹۷±۱/۲۰ ^{cd}	۱۲/۷۷±۰/۰۴ ^e	۴/۸۲±۰/۱۲ ^e
P10 بهبهان	۱۰/۷۵±۰/۲۵ ^c	۱۳/۰۰±۰/۴۰ ^{bc}	۹۵/۰۰±۰/۴۰ ^d	۱۱۵/۰۰±۱/۷۷ ^{cd}	۱۲۷/۰۰±۱/۴۷ ^b	۱۳۹/۲۵±۰/۷۵ ^{ab}	۶۳/۲۵±۶/۷۳ ^{cde}	۱۹/۵۲±۰/۷۳ ^{de}	۱۰/۹۳±۰/۰۶ ⁱ	۵/۵۵±۰/۱۰ ^d
P11 فارس	۱۳/۰۰±۰/۴۰ ^a	۱۵/۰۰±۰/۴۰ ^a	۹۹/۰۰±۰/۴۰ ^c	۱۱۶/۷۵±۰/۸۵ ^c	۱۲۷/۷۵±۱/۲۵ ^b	۱۳۶/۰۰±۱/۴۷ ^c	۷۷/۵۰±۳/۲۷ ^{abc}	۱۸/۵۵±۰/۷۳ ^e	۱۱/۴۲±۰/۰۴ ^h	۶/۴۲±۰/۱۲ ^e
P12 اراک	۱۱/۲۵±۰/۲۵ ^{bc}	۱۴/۲۵±۰/۶۲ ^{ab}	۶۶/۰۰±۰/۷۰ ⁱ	۸۲/۵۰±۲/۱۷ ^j	۱۰۵/۷۵±۱/۱۰ ^f	۱۱۸/۵۰±۰/۶۴ ^f	۸۹/۵۰±۵/۵۶ ^a	۱۸/۳۷±۰/۹۱ ^e	۱۱/۹۷±۰/۰۴ ^{ef}	۸/۴۵±۰/۱۳ ^a
P13 زنجان	۱۱/۲۵±۰/۲۵ ^{bc}	۱۴/۲۵±۰/۶۲ ^{ab}	۹۰/۵۰±۰/۲۸ ^e	۱۱۳/۲۵±۱/۶۵ ^{de}	۱۱۹/۵۰±۰/۸۶ ^d	۱۲۶/۲۵±۰/۴۷ ^d	۸۵/۲۵±۶/۸۳ ^a	۱۸/۷۰±۰/۹۳ ^e	۱۰/۵۱±۰/۰۵ ^j	۲/۸۷±۰/۱۹ ^f
P14 البرز	۹/۰۰±۰/۰۰ ^d	۱۱/۷۵±۰/۴۷ ^{cd}	۱۰۳/۵۰±۰/۵۰ ^a	۱۲۸/۲۵±۱/۱۸ ^a	۱۳۳/۲۵±۱/۱۸ ^a	۱۴۰/۲۵±۱/۱۸ ^a	۵۳/۷۵±۵/۱۵ ^{de}	۱۳/۷۰±۰/۶۳ ^f	۱۰/۷۷±۰/۰۴ ⁱ	۲/۹۷±۰/۱۹ ^f

** وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ در هر ستون میانگین‌های دارای حرف لاتین مشترک از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ با هم ندارند و در یک گروه قرار می‌گیرند

تهران، ارومیه، همدان، استهبان) و دسته سوم شامل دو توده (P12, P9) به ترتیب کرمان، اراک) بودند (شکل ۲). ویژگی شاخص دسته ها به این صورت بود که توده های دسته اول دارای وزن خشک اندام هوایی و همچنین وزن هزار دانه کمتری در مقایسه با سایر دسته ها را دارا بودند. توده های دسته دوم نسبت به سایر دسته ها دیررس تر هستند و زمان بیشتری تا بذر دهی را به خود اختصاص دادند. دسته سوم نسبت به سایر توده ها در دو دسته اول و دوم زمان شروع گلدهی و به دنبال آن زمان تا اتمام گلدهی دیرتری را دارا بود.

در تحقیق حاضر، توده های مورد مطالعه از لحاظ صفات مورد بررسی با استفاده از تجزیه کلاستر طبقه بندی شدند که برای تعیین فاصله بین توده ها از فاصله اقلیدسی، برای ادغام کلاسترها از روش اتصال Ward ($r = ۰/۸۷$) استفاده شد. برای کارایی روش طبقه بندی، ضریب کوفنتیک با استفاده از نرم افزار NTSYS 2.02e محاسبه شد. با توجه به نتایج حاصل از دندروگرام توده ها به سه دسته تقسیم شدند. دسته اول شامل هشت توده P14, P13, P11, P10, P7, P5, P2, P1) به ترتیب مشهد، تبریز، یزد، مراغه، بهبهان، فارس، زنجان، البرز)، دسته دوم شامل چهار توده (P8, P6, P4, P3) به ترتیب،

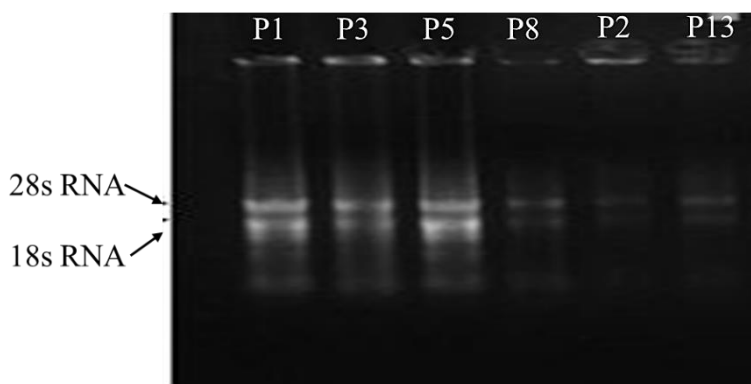


شکل ۲- دندروگرام مربوط به کلیه صفات مورفولوژیکی در توده های گیاه گشنیز با استفاده از فاصله اقلیدسی و روش اتصال Ward ($r = ۰/۸۷$) (منشاء Pها در جدول ۱ ذکر شده اند)

(متوسط میزان 2Cx DNA) و گروه سوم شامل دو توده P2 (تبریز) و P13 (زنجان) (کمترین میزان 2Cx DNA) بودند که از لحاظ آماری تفاوت معنی داری نداشتند (داده های فلوسایتومتری منتشر نشده). اولین مرحله به منظور بررسی تغییرات الگوی بیان ژن، استخراج RNA می باشد. باندهای RNA ریبوزومی ۱۸ s و ۲۸ s به صورت مشخص و بدون

بررسی بیان نسبی ژن های مسیر بیوسنتز ترپن ها بعد از دسته بندی ۱۴ توده مورد مطالعه از لحاظ شاخص اندازه ژنوم از سه گروه به دست آمده هر گروه، دو توده به منظور مطالعه بررسی بیان ژن انتخاب شدند. گروه یک شامل دو توده P1 (مشهد) و P3 (تهران) (بیشترین مقدار 2Cx DNA)، گروه دوم شامل دو توده P5 (یزد) و P8 (استهبان)

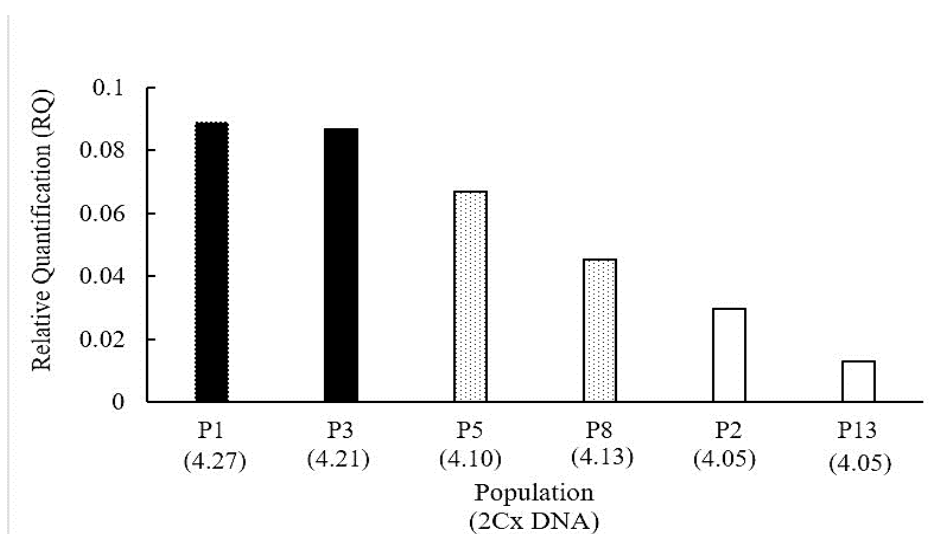
شکستگی، بر روی ژل آگارز ۱٪، نشان‌دهنده کیفیت مناسب RNA استخراج شده بودند (شکل ۳).



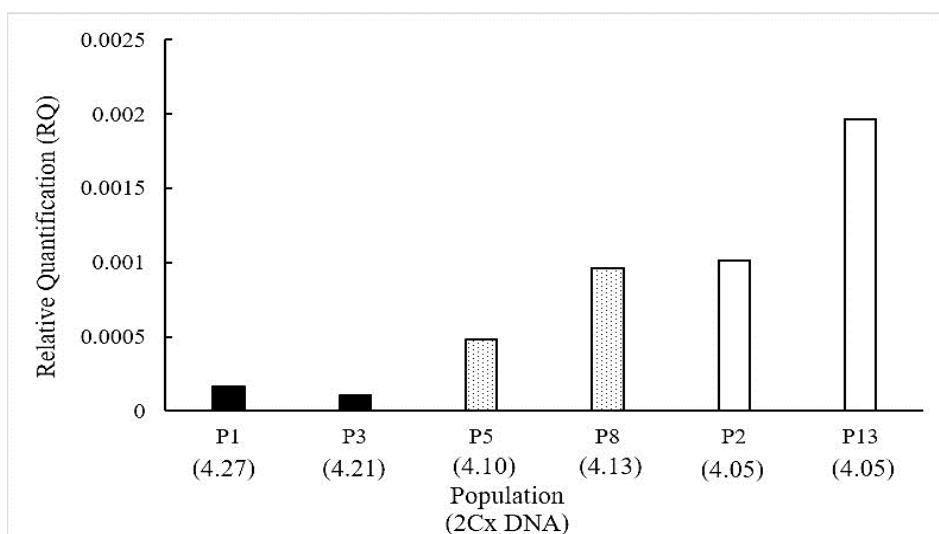
شکل ۳- الگوی الکتروفورز نمونه‌های RNA استخراج شده از بذور شش توده بر روی ژل آگارز ۱٪، رنگ‌آمیزی شده با **Safe stain** به منظور ارزیابی کیفیت RNA استخراجی (منشاء Pها در جدول ۱ ذکر شده‌اند)

بررسی بیان دو ژن *CsLINS* و *CsγTRPS* در شش توده منتخب گیاه گشنیز به همراه ژن رفرنس اکتین صورت گرفت و نتایج نشان داد که *CsLINS* در توده‌های P1 و P3 (دارای بیشترین میزان 2Cx DNA) دارای بیشترین میزان نسبی بود (شکل ۴). ژن *CsγTRPS* در دو توده P2 و P13 (دارای کمترین میزان 2Cx DNA) دارای بیشترین مقدار بیان نسبی بود (شکل ۵). دو توده P5 و P8 (دارای متوسط میزان 2Cx DNA) و میزان بیان این دو ژن می‌باشد.

بررسی بیان دو ژن *CsLINS* و *CsγTRPS* در شش توده منتخب گیاه گشنیز به همراه ژن رفرنس اکتین صورت گرفت و نتایج نشان داد که *CsLINS* در توده‌های P1 و P3 (دارای بیشترین میزان 2Cx DNA) دارای بیشترین میزان نسبی بود (شکل ۴). ژن *CsγTRPS* در دو توده P2 و P13 (دارای کمترین میزان 2Cx DNA) دارای بیشترین مقدار بیان نسبی بود (شکل ۵). دو توده P5 و P8 (دارای متوسط میزان 2Cx



شکل ۴- تغییرات بیان نسبی ژن *CsLINS* در توده‌های منتخب گیاه گشنیز (RQ: میزان بیان نسبی) (منشاء Pها در جدول ۱ ذکر شده‌اند)



شکل ۵- تغییرات بیان نسبی ژن *CsγTRPS* در توده‌های انتخابی گیاه گشنیز (RQ: میزان بیان نسبی) (منشاء Pها در جدول ۱ ذکر شده‌اند)

بحث

نتایج تجزیه واریانس مربوط صفات مورفولوژیکی و فنولوژیکی در ۱۴ توده گشنیز نشان دهنده تفاوت بین توده‌های گشنیز از نظر همه صفات مورد بررسی بود به صورتی که در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شدند این وضعیت نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بالا بین توده‌های مورد مطالعه است که به نظر می‌رسد دگرگشتی در گشنیز شرایط را برای ایجاد تنوع فراهم ساخته است. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر روی این صفات سه گروه را نشان داد که دسته اول شامل هشت توده (مشهد (P1)، تبریز (P2)، یزد (P5)، مراغه (P7)، بهبهان (P10)، فارس (P11)، زنجان (P13) و البرز (P14))، دسته دوم شامل چهار توده (تهران (P3)، ارومیه (P4)، همدان (P6)، استهبان (P8)) و دسته سوم شامل دو توده (کرمان (P9)، اراک (P12)) بودند. از آن جایی که گشنیز گیاهی دگرگشتی (درصد دگرگشتی ۷۰-۶۰٪) می‌باشد که این دگرگشتی توسط حشرات انجام می‌گیرد، لذا شناسایی والدین برای انجام تلاقی‌های بعدی بسیار حائز اهمیت می‌باشد. به همین علت محققین جهت انتخاب بهترین والدین در هر تلاقی در پی تودها یا ژنوتیپ‌هایی هستند که از نظر ژنتیکی از هم دور باشند تا مولد تنوع ژنتیکی بیشتری باشند. در اصلاح نباتات

انجام تلاقی و دورگ‌گیری بین والدین جهت ایجاد تنوع ژنتیکی و تجمع صفات مطلوب در یک ژنوتیپ بسیار رایج است (Khodadadi *et al.*, 2017). در مطالعه حاضر، اندازه ژنوم مبنای انتخاب توده‌ها به منظور بررسی بیان ژن بود. گزارش شده است که اندازه سلول با میزان رونویسی همبسته است و بیان ژنوم می‌تواند برای تغییرات در اندازه سلول تنظیم شود (Marguerat and Bähler, 2012). سلول‌های بزرگ‌تر می‌توانند بیوماس بیشتر خود را از طریق داشتن تعداد کمی ژن بیشتر که منطبق با پروتئین و RNA بیشتر است، حفظ کنند (Kobayashi, 2011). در پژوهش حاضر، تمرکز بر روی دو ژن *CsLINS* و *CsγTRPS* صورت گرفت که به ترتیب تولید کننده ترکیبات γ -Terpinene و Linalool می‌باشند که بیشترین بخش اسانس گیاه گشنیز را تشکیل می‌دهند (Ganjewala *et al.*, 2009). به همین دلیل به عنوان کاندید به منظور بررسی بیان ژن در توده‌های مورد مطالعه انتخاب شدند. این دو ژن از GPP^1 به عنوان سوبسترا برای تولید مونوترپن‌ها استفاده می‌کند (Ganjewala *et al.*, 2009). کاهش ترکیب ترپن‌ها در طی زرد شدن بذور می‌تواند دلیل محکم‌تری برای ارتباط بین ژنوم گیاه و میزان بیان دو ژن مذکور باشد (Galata *et al.*, 2014). تولید متابولیت‌های

¹ Geranyl diphosphate

ژنتیک و جنبه‌های شیمیایی می‌باشد؛ لذا با آگاهی از تنوع فنوتیپی و یافتن سایر ویژگی‌های گونه‌های دارویی سرعت و کارایی انتخاب افزایش پیدا خواهد کرد (Najafzadeh *et al.*, 2019; Noormand Moaied *et al.*, 2020). در مجموع این مطالعه با شناخت ویژگی‌های مورفو-فنولوژیکی و میزان بیان ژن‌های دخیل در تولید متابولیت‌های مهم در توده‌های بومی گیاه دارویی گشنیز می‌تواند ضمن کمک به شناخت درست از ذخایر ژنتیکی و گیاهان بومی کشور به عنوان یک بررسی پایه‌ای، اطلاعات ارزشمندی جهت برنامه‌ریزی و انتخاب توده‌های دارای پتانسیل مناسب را برای سایر مطالعات ژنتیکی و اهداف اصلاحی فراهم نماید.

منابع مورد استفاده

- Abedini, D., Rashidi Monfared, S., and Abbasi, A. 2018. The effects of promoter variations of the N-Methylcanadine 1-Hydroxylase (CYP82Y1) gene on the noscapine production in opium poppy. *Scientific Reports*, 8(1): 1-11.
- Aissaoui, A. 2011. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of *Coriandrum sativum* L. in *Meriones shawi* rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 137: 652-661.
- Bhuiyan, M.N.I., Begum, J., and Sultana, M. 2009. Chemical composition of leaf and seed essential oil of *Coriandrum sativum* L. from Bangladesh. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 4(2): 150-153.
- Burdock, G.A. and Ioana, G.C. 2009. Safety assessment of coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil as a food ingredient. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 22-34.
- Cabuk, M., Bozkurt, M., Alcicek, A., Akbas, Y., and Kucukyilmaz, Y. 2006. Effect of herbal essential oil mixture on growth and intestinal organs weight of broilers from young and old breeder flocks. *South African Journal of Animal Science*, 36(2): 135-141.
- Chithra, V. and Leelamma, S. 1997. Hypolipidemic effect of coriander seeds (*Coriandrum sativum*): mechanism of action. *Plant Foods for Human Nutrition*, 51: 167-172.
- Cortijo, S., Aydin, Z., Ahnert, S., and Locke, J.C.W. 2019. Widespread inter-individual gene expression variability in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Systems Biology*, 15: 1-16.
- Coskuner, Y. and Karababa, E. 2007. Physical properties of coriander seeds (*Coriandrum sativum* L.) *Journal of Food Engineering*, 80(2): 408-416.
- Dağeri, A., Martin, E., and Şahin, A. 2007.

ثانویه در میان اکوتیپ‌ها به دلیل تأثیر شرایط اکولوژیکی و اقلیمی مختلف از جمله منطقه جغرافیایی، میزان دسترسی به آب، نور و وضعیت خاک، متفاوت است. همچنین، میزان بیان ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه از عوامل مهم تأثیرگذار در میزان تولید آن‌ها هستند (Salehi *et al.*, 2018; Abedini *et al.*, 2018; Sayadi *et al.*, 2020). مطالعه حاضر برای کاهش اثرات محیطی، گیاهان مورد مطالعه در شرایط یکسان کشت شدند. محدود کردن اثرات محیطی با کشت در شرایط یکسان در مطالعات مشابه توسط دیگر محققین گزارش شده است (Wang *et al.*, 2014; Cortijo *et al.*, 2019; Sayadi *et al.*, 2020). همکاران (2014) نیز وجود ترکیب Linalool را به عنوان ماده اصلی موجود در اسانس تایید می‌کند که بر اساس آن اکثر ترین‌های موجود در اسانس مونوترپن‌ها هستند. عملکرد و محتویات اسانس در طول رشد و توسعه دچار تغییر می‌شود بنابراین محتویات بذر با محتویات شاخ و برگ کاملاً متفاوت خواهد شد (Bhuiyan *et al.*, 2009). متابولیت‌های ثانویه نقش ضدباکتریایی، آنتی‌اکسیدانی، ضد دیابت، ضد سرطان و آنتی‌موتازنیک دارند. خاصیت ضد باکتریایی اسانس گشنیز بسیار مورد توجه است و Linalool به عنوان ماده اصلی موجود در اسانس گشنیز بیشترین خاصیت ضد باکتریایی را دارا می‌باشد (Mandal and Mandal, 2015). غلظت و ترکیبات موجود در اسانس گشنیز بسته به شرایط رشدی و محیط رشد و ژنوتیپ ارقام متفاوت است با این حال این تغییرات در داخل کولتیوارهای گشنیز ناشی از تغییرات شیموتایپ می‌باشد (افرادی که از نظر مورفولوژی با یکدیگر زیاد تفاوتی ندارند یعنی تغییرات ژنتیک یا اپی‌ژنتیک آن‌ها خیلی جزئی بوده است به طوری که اثر کمی بر روی فنوتیپ گذاشته است اما بر روی ترکیبات ثانویه آن‌ها اثر گذار بوده است) (Bhuiyan *et al.*, 2009). کشت گیاهان برای مصارف غذایی و دارویی در بسیاری از کشورهای دنیا از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد (Narimani *et al.*, 2021). کشت اهلی کردن گیاهان دارویی فرآیندی زمانبر بوده و مستلزم مطالعه و شناخت جنبه‌های مختلف از جمله اکوفیزیولوژی،

- essential oil composition of coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruits during three stages of maturity. *Food Chemistry*, 102(4): 1131-1134.
- Najafzadeh, R., Rashidi, Z., Shokri, B., and Abdi, H. 2019. Investigation of morphological and ecological and essential oil content variation of some populations of Thyme species (*Thymus* spp.) in the Northwest and West of Iran. *Iranian Journal of Rangelands Forests Plant Breeding and Genetic Research*. 27(2): 291-306. In Persian.
- Narimani R., Moghaddam, M., Mahmoodi Soresani, M., and Samiei, L. 2021. Investigation of some autecological, ecophysiological, and morphological characteristics of *Ferulago subvelutina* Rech.f. as an endangered medicinal-rangeland species. *Iranian Journal of Rangelands Forests Plant Breeding and Genetic Research*. 28(2): 325-338. In Persian.
- Noormand Moaied, F., Bihanta, M.R., Tabaei Aghdaei, S.R., and Naghavi, M.R. 2020. Study of morphological and phytochemical diversity among six (*Satureja* spp.) in East Azerbaijan province. *Iranian Journal of Rangelands Forests Plant Breeding and Genetic Research*. 27(2): 252-266. In Persian.
- Omidbeigi, R. 2009. *Production and Processing of Medicinal Plants*. Astan Ghods Razavi. Publications, 347p. In Persian.
- Qaiser, J. 2009. Coriander fruit exhibits gut modulatory, blood pressure lowering and diuretic activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 122: 123-130.
- Reuter-Lorenz, P.A. and Cappell, K.A. 2008. Neurocognitive aging and the compensation hypothesis. *Current Directions in Psychological Science*, 17(3): 177-182.
- Rodriguez-Concepcion, M. 2010. Supply of precursors for carotenoid biosynthesis in plants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 504: 118-122.
- Sabahat, S. and Tariq, P. 2007. Antimicrobial activities of *Embllica officinalis* and *Coriandrum sativum* against gram positive bacteria and *Candida albicans*. *Pakistan Journal of Botany*, 35: 22-31.
- Salehi, M., Karimzadeh, G., Naghavi, M.R., Naghdi Badi, H., and Rashidi Monfared, S. 2018. Expression of artemisinin biosynthesis and trichome formation genes in five *Artemisia* species. *Industrial Crops and Products*, 112: 130-140.
- Sayadi, V., Karimzadeh, G., Rashidi Monfared, S., and Naghavi, M.R. 2020. Identification and expression analysis of S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxide lyase isoform genes and determination of allicin contents in *Allium* species. *PLoS ONE*, 15(2): 1-16.
- Schmittgen, T.D. and Livak, K.J. 2008. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. *Nature Protocols*, 3(6): 1101-1108.
- Cytogenetics of some of the Turkish drogs. *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, 1(3): 49-53.
- Emamghoreishi, M., Khasaki, M., and Aazam, M.F. 2005. *Coriandrum sativum* L.: evaluation of its anxiolytic effect in the elevated plus-maze. *Journal of Ethnopharmacology*, 96(3): 365-370.
- Galata, M., Sarker, L.S., and Mahmoud, S.S. 2014. Transcriptome profiling, and cloning and characterization of the main monoterpene synthases of *Coriandrum sativum* L. *Phytochemistry*, 102: 64-73.
- Ganjewala, D., Kumar, S., and Luthra, R. 2009. An account of cloned genes of methyl-erythritol-4-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants. *Current Issues in Molecular Biology*, 11: 35-45.
- Ghangal, R., Raghuvanshi, S., and Sharma, P.C. 2009. Isolation of good quality RNA from a medicinal plant Seabuckthorn, rich in secondary metabolites. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47:113-115.
- Illes, V., Daood, H.G., Perneczki, S., Szokonya, L., and Then, M. 2000. Extraction of coriander seed oil by and propane at super and subcritical conditions. *Journal of Supercritical Fluids*, 17(2): 177-186.
- Khodadadi, M., Dehghani, H., and Jalali-Javaran, M. 2017. Quantitative genetic analysis reveals potential to genetically improve fruit yield and drought resistance simultaneously in coriander. *Frontiers in Plant Science*, 8: 1-16.
- Kobayashi, T. 2011. Regulation of ribosomal RNA gene copy number and its role in modulating genome integrity and evolutionary adaptability in yeast. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 68(8):1395-1403.
- Lopez, P., Widrechner, M., Simon, P., Rai, S., Boylston, T., Isbel, T., Bailey, T., Gardner, C., and Wilson, L. 2007. Assessing phenotypic, biological, and molecular diversity in coriander (*Coriandrum sativum* L.) germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55(4): 247-275.
- Mani, V., Parle, M., Ramasamy, K., Majeed, A., and Bakar, A. 2011. Reversal of memory deficits by *Coriandrum sativum* leaves in mice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(1): 186-192.
- Mandal, S. and Mandal, M. 2015. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: Chemistry and biological activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(6): 421-428.
- Marguerat, S. and Bähler, J. 2012. Coordinating genome expression with cell size. *Trends in Genetics*, 28: 560-565.
- Msaada, K., Hosni, K., Taarit, M.B., Chahed, T., Kchouk, M., and Marzouk, B. 2007. Changes on

- Coriandrum sativum essential oil, its mode of action against *Candida* species and potential synergism with amphotericin B. *Phytomedicine*, 19(1): 42-47.
- Wang, H., Li, X., Shen, D., Oiu, Y., and Song, J. 2014. Diversity evaluation of morphological traits and allicin content in garlic (*Allium sativum* L.) from China. *Euphytica*, 198: 243-254.
 - Zanusso-Junior, G., Melo, J.O., Romero, A.L., Dantas, J.A., Caparroz-Assef, S.M., Bersani-Amado, C.A., and Cuman, R.K.N. 2011. Evaluation of the anti-inflammatory activity of coriander (*Coriandrum sativum* L.) in rodents. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 13(1): 17-23.
 - Sefidkon, F., Abbasi, K., Jamzad, Z., and Ahmadi, S. 2007. The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* Jamzad. *Food Chemistry*, 100: 1054-1058.
 - Sehringer, B., Zahradnik, H.P., Deppert, W.R., Simon, M., Noethling, C., and Schaefer, W.R. 2005. Evaluation of different strategies for real-time RT-PCR expression analysis of corticotropin-releasing hormone and related proteins in human gestational tissues. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 383: 768-775.
 - Silva, F., Ferreira, S., Duarte, A., Mendonça, D.I., and Domingues, F.C. 2011. Antifungal activity of

Study of Morpho-phenological diversity and expression of genes involved in γ -Terpinene and Linalool biosynthesis in Iranian endemic populations of coriander (*Coriandrum sativum* L.)

A. Khakshour¹, G. Karimzadeh^{2*}, M. S. Sabet³, and V. Sayadi⁴

1- M.Sc. graduated, Dept. Plant Genetics and Breeding, College of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R. Iran.

2- Corresponding author, Prof. Dept. Plant Genetics and Breeding, College of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R. Iran. Email: karimzadeh_g@modares.ac.ir

3- Assistant professor, Dept. Plant Genetics and Breeding, College of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R. Iran.

4- Ph.D. graduated, Dept. Plant Genetics and Breeding, College of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R. Iran.

Received: 04.04.2021

Accepted: 25.07.2021

Abstract

Coriander (*Coriandrum sativum* L.) is a heliophytic plant and native to southwestern Asia and the Mediterranean regions. This study was aimed to study the morphological diversity, phenological characteristics, and also expression of two important genes involved in the γ -Terpinene and Linalool biosynthesis pathways in the 14 different Iranian endemic populations of coriander as a medicinal plant. The seeds were planted in the growth chamber in the College of Agriculture, Tarbiat Modares University in three replications in 2015-2016. The studied traits were included number of days to germination, number of days to emergence, number of days to stem, number of days to beginning of flowering, number of days to end of flowering, number of days to sowing, stem height, dry weight of single plant, single plant yield and one thousand seed weight. The results showed that the average seed yield obtained per plant with 14.37 and 14.47 g, was belong to populations of Tehran and Urmia, respectively. Markazi and Tehran populations had the highest weight of 1000 seeds with the average of 8.45 and 8.15 g, respectively. Tehran population had the lowest in terms of the number of days to germination and the number of days to emergence. After classifying the 14 populations in terms of genome size, from the three groups obtained and in each group, two populations were selected for the gene expression analysis. The results of expressions of *CsLINS* and *Cs γ TRPS* genes in six selected coriander populations showed that *CsLINS* in Mashhad and Tehran populations and *Cs γ TRPS* in Tabriz and Zanjan populations had the highest relative gene expressions. Yazd and Estahban populations showed moderate relative gene expression for both genes.

Keywords: Coriander, Gene expression, Medicinal plant, Morpho-phenological diversity, Terpenoids