ژنتیک نوین
دوره چهاردهم، شماره ٤، زمستان ١٣٩٨
صفحه ٣٣٦ - ٣٢٧

# اثر تنش خشکی و کیتوزان بر بیان ژن سینئول سنتاز و ماده ۱و۸–سینئول در گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.)

# The effect of drought stress and chitosan on cineole synthase gene expression and 1,8-cineole content in sage (*Salvia officinalis* L.)

**نجمه وثوقی[۱]، مسعود گماریان*[۲]، عبدالله قاسمی پیربلوطی[۳]، شهاب خاقانی[٤]، فاطمه ملک پور[٥]**

۱- دانش‌آموخته دکتری، گروه گیاهان دارویی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران

۲- استادیار، گروه ژنتیک و به نژادی گیاهی، مرکز تحقیقات علوم گیاهی کاربردی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران

۳- استاد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

٤- دانشیار، گروه ژنتیک و به نژادی گیاهی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران

٥- استادیار، گروه گیاهان دارویی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

**Vosoughi N[1], Gomarian M[*2], Ghasemi Pirbalouti A[3], Khaghani Sh[4], Malekpoor F[5]**

1.PhD Graduated, Department of Medicinal Plants, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran

2. Assistant Professor, Department of Genetics and Plant Breeding, Research Center for Applied Plant Sciences, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran

3. Professor, Research Center for Medicinal Plants, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

4. Associate Professor, Department of Genetics and Plant Breeding, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran

5. Assistant Professor, Department of Medicinal Plants, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, P O Box: 166, Shahrekord, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: M-gomarian@iau-arak.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۷/۹/۱۱ - تاریخ پذیرش: ۹۸/۹/۲۷)

## چکیده

**مریم‌گلی یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی و معطر و دارای اثرات ضدسرطانی، آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی می‌باشد. یکی از اجزای اصلی اسانس این گیاه، مونوترپن ۱و۸-سینئول است که مسئول برخی از این اثرات می‌باشد. در این تحقیق، اثر تنش خشکی در سه سطح ٦٠ (ملایم)، ٧٥ (جزئی) و ١٠٠ (کنترل) درصد ظرفیت زراعی مزرعه و محلول پاشی برگی کیتوزان در چهار سطح آب‌مقطر (کنترل)، اسید استیک (کنترل)، ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم در لیتر کیتوزان بر بیان ژن سینئول سنتاز در ریشه و محصول نهایی این ژن، ۱و۸-سینئول، در شاخساره‌های گیاه مریم‌گلی در یک آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی در ۳ تکرار در شرایط گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. بیان ژن نسبی سینئول سنتاز و مقدار ۱و۸-سینئول به ترتیب با استفاده از روش Real-Time PCR و دستگاه کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC-MS) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که تنش خشکی بیان ژن مورد مطالعه و ماده ۱و۸-سینئول را به شدت افزایش می‌دهد. همچنین محلول پاشی کیتوزان، به‌ویژه در مقدار ۰/۵ گرم در لیتر موجب افزایش بیان ژن سینئول سنتاز در ریشه و ماده ۱و۸-سینئول در شاخساره‌های این گیاه شد. در کل، تنش خشکی مؤثرتر از کیتوزان در افزایش میزان بیان ژن سینئول سنتاز و مقدار ۱و۸-سینئول بود. بیشترین میزان بیان ژن سینئول سنتاز و مقدار ۱و۸ سینئول در حضور همزمان تنش خشکی (ملایم) و کیتوزان (۰/۵ گرم در لیتر) به‌دست آمد. در شرایط تنش خشکی جزئی، بیان ژن مورد مطالعه افزایشی نداشت اما افزایش محصول نهایی آن در شاخساره‌ها مشاهده شد. این نتایج برای اولین بار نشان داد که تنش خشکی و کیتوزان می‌توانند باعث افزایش بیان ژن سینئول سنتاز در سطح رونوشت‌برداری در ریشه‌های گیاه مریم‌گلی شوند. بنابراین، با اعمال تنش رطوبتی همراه با کیتوزان، متابولیت ۱و۸-سینئول می‌تواند در گیاه مریم‌گلی افزایش یابد.**

**واژه‌های کلیدی**

**اسانس**
**مونوترپن**
**real time- PCR**
**GC-MS**

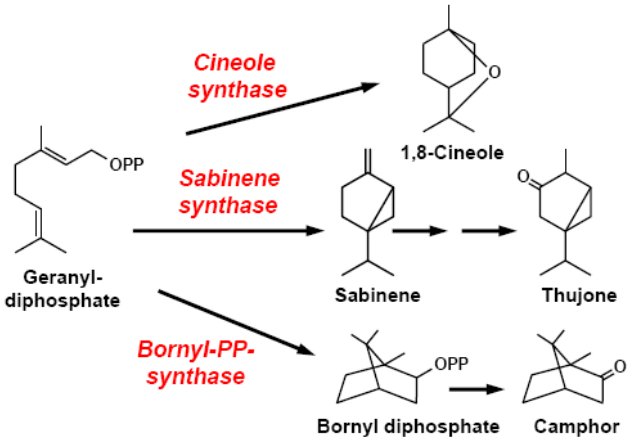
[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.8.8 ]

## مقدمه

مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان معطر و دارویی، متعلق به خانواده Lamiaceae می‌باشد (Boszormenyi et al. 2009). این گیاه بوته‌ای کوچک و چندساله و بومی منطقه مدیترانه می‌باشد اما در حال حاضر در سراسر جهان کشت می‌شود (Grdisa et al. 2015). مریم‌گلی دارای طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های دارویی شامل اثرات ضد سرطان، ضد التهابی، ضد انعقادی، آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد درد، هیپوگلیسمی و هیپولیپیدی می‌باشد (Ghorbani and Esmaeilizadeh 2017).

برگ‌های این گیاه غنی از اسانس می‌باشند و کشت آن نیز عمدتا به‌منظور برداشت برگ‌های آن انجام می‌شود (Nowak et al. 2010). از مهم‌ترین اجزای اسانس گیاه مریم‌گلی می‌توان به مونوترپن‌ها اشاره کرد. در این بین، مونوترپن‌های حلقوی مانند ۱و۸-سینئول، کامفور و α و β-توژان، اکثر اسانس برگ گیاه مریم‌گلی را تشکیل می‌دهند (Bakkali et al. 2008). ژن سینئول سنتاز، آنزیم سینئول سنتاز را رمز می‌کند و این آنزیم به‌طور مستقیم از پیش ماده ژرانیل دی فسفات، محصول نهایی ۱و۸-سینئول را سنتز می‌کند (شکل ۱) (Shaw et al. 2015).




شکل ۱- ماده ۱و۸-سینئول به طور مستقیم از ژرانیل دی فسفات توسط آنزیم سینئول سنتاز تولید می‌شود (برگرفته از منبع Radwan et al. 2017)

این ماده به سبب داشتن اثرات دارویی به‌خوبی شناخته شده است (Lima et al. 2013; Selmar and Kleinwächter 2013b). از این ماده در درمان سرفه، روماتیسم، آسیب‌شناسی مرتبط با سپتیک و آسم برونشیت استفاده می‌شود (Lahlou et al. 2002). تحقیقات نشان داده‌اند که ماده ۱و۸-سینئول اثر ضد سرطانی علیه سرطان کولورکتال دارد (Yamazaki et al. 2013) و در بسیاری از گیاهان مانند ریحان، رزماری، هل، نارنج، زنجبیل و نعناع نیز یافت می‌شود (Vincenzi et al. 2002).

گزارش شده‌است که عوامل محیطی متعددی می‌توانند سبب افزایش غلظت متابولیت‌های ثانویه و افزایش بیان ژن‌های دخیل در سنتز این متابولیت‌ها در گیاهان دارویی شوند (Leite Sampaio et al 2016; Radwan et al. 2017). از میان این عوامل، تنش رطوبتی یکی از مهم‌ترین عوامل است (Kleinwächter and Selmar, 2014). تا کنون سه فرضیه در ارتباط با افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان در شرایط تنش خشکی بیان شده است. در یک فرضیه میزان تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان تحت تنش و تنش ندیده یکسان می‌باشد اما به‌دلیل اینکه در گیاهان تنش دیده میزان بیوماس تولیدی کم می‌باشد در نتیجه غلظت این مواد در این گیاهان بیشتر می‌شود (Paulsen and Selmar 2016). در فرضیه ی دیگر تنش، فعالیت آنزیم‌های تولید کننده متابولیت‌های ثانویه را افزایش می‌دهد (Radwan et al. 2017). در فرضیه ی سوم تنش خشکی سبب بسته شدن روزنه‌های گیاه می‌شود در نتیجه جذب $CO_2$ کاهش می‌یابد. در این شرایط NADPH با همان سرعتی که در سمت احیاء کننده فتوسیستم I تولید می‌شود در سیکل کالوین برای تثبیت $CO_2$ مصرف نمی‌شود و در نتیجه شروع به تجمع می‌کند. تجمع NADPH موجب انتقال الکترون‌های مازاد به اکسیژن می‌شود و در نتیجه گونه‌های آزاد اکسیژن تولید می‌شوند. در این شرایط فرایندهای متابولیکی به سمت سنتز ترکیبات بسیار احیاء شده‌ای مانند مونوترپن‌ها سوق پیدا می‌کند تا از تجمع NADPH کاسته شود. تولید ترکیبات بسیار احیاء شده ممکن است به صورت غیر فعال در سطوحی غیر از رونویسی یا به‌صورت فعال در اثر افزایش بیان یکسری از ژن‌ها که در مسیر تولید متابولیت‌های ثانویه قرار گرفته‌اند صورت بگیرد (Selmar and Kleinwächter 2013a).

الیسیتورها ترکیباتی با منشا زیستی و غیر زیستی هستند که از طریق تحریک سیستم دفاعی باعث بیوسنتز و انباشت



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.8.8 ]

متابولیت‌های ثانویه در گیاهان می‌شوند (Malekpoor et al. 2017). از جمله الیسیتورهای با منشا زیستی می‌توان به کیتوزان اشاره نمود که در سال‌های اخیر مورد توجه محققین قرار گرفته است (Naderi et al. 2014; Malekpoor et al. 2016; Vosoughi et al. 2017). کیتوزان یک پلی ساکارید دریایی مشتق شده از کیتین می‌باشد (Malerba and Cerana 2016). کاربرد اولیه این ماده بر روی گیاهان عمدتاً به‌منظور تحریک یا افزایش بیان ژن‌های مختلف درگیر در پاسخ‌های دفاعی گیاه بوده است و در برخی موارد افزایش سنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان نیز گزارش شده‌است (Deschamps and Simon 2006; Wiktorowska et al., 2010; Marchev et al. 2014). همچنین گزارش شده‌است که کیتوزان تا حدودی می‌تواند اثرات منفی تنش خشکی بر گیاهان را تعدیل کند (Emami Bistgani et al. 2017).

تا کنون تحقیقات معدودی، بیان ژن‌های مونوترپن سنتاز در گیاه مریم‌گلی را مورد مطالعه قرار داده‌اند. Schmiderer et al. (2010) گزارش کردند که کاربرد خارجی اسید جیبرلیک در گیاه مریم‌گلی باعث تقویت بیان ژن مونوترپن سنتازها می‌شود و در نتیجه محتوای ۱و۸-سینئول و کامفور نیز در گیاه افزایش می‌یابد. Grausgruber-Gröger et al. (2012) تاثیر تغییرات فصلی را در برگ های دو رقم مریم‌گلی بر روی بیان سه ژن ۱و۸-سینئول، کامفور و α و β-توژان بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که بیان دو ژن سینئول و کامفور سنتاز هماهنگی بالایی با میزان محصول نهایی آن‌ها دارد. در پژوهشی Radwan et al. (2017) گزارش کردند که تنها دو روز پس از اعمال تنش خشکی بر گیاه مریم‌گلی میزان بیان ژن‌های مونوترپن سنتاز به شدت افزایش می‌یابد و مقدار مونوترپن‌ها دو برابر می‌شود.

تحقیقاتی که تا کنون بر بیان ژن سینئول سنتاز در گیاه مریم‌گلی صورت گرفته‌اند تاثیر تنش خشکی بر بیان این ژن در برگ‌های این گیاه را مورد بررسی قرار داده‌اند و گزارشی از بررسی بیان این ژن در ریشه‌های این گیاه در دست نمی‌باشد. همچنین، تاثیر کیتوزان بر بیان این ژن و مقدار نهایی محصول این ژن یعنی ماده ۱و۸-سینئول در گیاه مریم‌گلی تا کنون مورد مطالعه قرار نگرفته است. بنابراین هدف از انجام این تحقیق بررسی بیان ژن سینئول سنتاز در ریشه با تجمع و افزایش محصول نهایی این ژن در شاخساره‌های گیاه مریم‌گلی تحت تنش رطوبتی همراه با کاربرد محلول‌پاشی برگی کیتوزان بود.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه مرکز تحقیقات کشاورزی شهرکرد در سال ۹۶-۱۳۹۵ اجرا شد. نشاءهای گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه شهید بهشتی تهران دریافت شد. نشاءها در گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۲۵ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر و وزن خالی ۲۵۰ گرم کشت شدند. جهت زهکشی مناسب کف گلدان‌ها به ارتفاع ٤ سانتی‌متر شن ریخته شد. گلدان‌ها با ۷ کیلوگرم از خاک مناسب (خاک مورد نظر و شن به نسبت ۲ به ۱) پر شدند. خاک مورد استفاده از نظر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مورد آنالیز قرار گرفت.

نشاءهای ۱۰ سانتی‌متری که داری دو گره به همراه چهار برگ متقابل بودند در داخل ۳٦ گلدان کشت شدند (در هر گلدان ۳ نشاء کاشته شد). تا یک ماه بعد از کاشت گلدان‌ها به‌طور مساوی آبیاری شدند تا نشاءها استقرار یابند. سپس گلدان‌ها به سه تکرار ۱۲ تایی تقسیم شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی در ۳ تکرار اجرا شد. تیمارها شامل تنش خشکی (در ۳ سطح ٦۰ (ملایم)، ۷۵ (جزئی) و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی مزرعه) و محلول‌پاشی برگی کیتوزان (در ٤ سطح ۰ (آب مقطر)، ۰ (اسید استیک)، ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم در لیتر) بود (Najmeh et al. 2017). انتخاب تیمار اسید استیک به‌عنوان کنترل به دلیل انحلال کیتوزان در آن بود. به‌منظور اعمال تنش خشکی ابتدا ۱۰ گلدان مشابه با گلدان‌های آزمایشی تا حد اشباع، آبیاری و پس از گذشت ٤۸ ساعت گلدان‌ها هر دو ساعت یکبار توزین شدند. در زمان ثابت شدن وزن گلدان‌ها از هر گلدان یک نمونه خاک تهیه شد و پس از توزین، جهت تعیین وزن خشک به آون به مدت ٤۸ ساعت منتقل شدند. درصد آب خاک در حالت ظرفیت زراعی به صورت زیر اندازه گیری شد.

۱۰۰ × (وزن خشک خاک / وزن خشک خاک – وزن تر خاک) = درصد آب خاک



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.8.8 ]

اعمال تیمارها یک ماه بعد از استقرار نشاءهای کاشته شده در گلدان آغاز شد. محلول پاشی برگی کیتوزان ۵ بار در مرحله رویشی گیاه با استفاده از یک اسپری دستی (در حدود ۱۰۰ میلی لیتر در هر بوته) با فواصل ۱۵ روز یک‌بار انجام شد. پس از دو هفته از آخرین اسپری کیتوزان، ریشه گیاهان نمونه‌برداری شدند و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای تجزیه و تحلیل real- PCR time منجمد شدند. نمونه‌برداری از ریشه‌ها در ساعت ۵ الی ٦ بعدازظهر انجام شد. ابتدا ریشه‌ها با آب‌مقطر شسته شدند و سپس حدود ۳ سانتی‌متر از قسمت وسط ریشه‌ها با استفاده از چاقوی تیز بریده شد و در داخل فویل آلمینیومی پیچیده شدند و در داخل ازت مایع به فریزر ۸۰- انتقال داده شدند. برگ‌ها و قسمت‌های هوایی نرم گیاهان نیز در همین زمان برای تجزیه و تحلیل اسانس برداشت شدند.

جهت استخراج اسانس از برگ‌ها و قسمت‌های هوایی هر گیاه (به مقدار ۵۰ گرم) از روش تقطیر با آب و دستگاه اسانس‌گیر کلونجر استفاده شد. به این ترتیب که عمل اسانس‌گیری در مورد همه تیمارها به مدت سه ساعت ادامه یافت. حجم اسانس بدست آمده به دقت یادداشت شد و در ظرف‌های مخصوص تا زمان تجزیه در یخچال نگهداری شد (British Pharmacopoeia 1993).

RNA کل از ریشه‌های گیاهان مریم‌گلی با استفاده از کیت استخراج RNAX-plus™ (سیناژن، ایران) و دستورالعمل سازنده انجام شد. جهت حذف آلودگی‌های احتمالی DNA از آنزیم DNase I استفاده شد. پس از انجام مراحل استخراج در نهایت ۳۰ میکرولیتر آب دپس (DEPC) به رسوب به‌دست آمده اضافه و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. کیفیت RNA با استفاده از ژل آگارز ۱/۲ درصد تعیین و کمیت آن با دستگاه نانودرآپ (NanoDrop 2000, Thermo, USA) در طول موج‌های ۲٦۰ و ۲۸۰ نانومتر تعیین شد. نمونه‌های RNA قبل از انجام RT-PCR با رقت یکسان (۵۰ ng/µL) تهیه و آماده شدند. جهت ساخت cDNA از آغازگرهای تصادفی هگزامری و کیت Prime Script RT (تاکارا، ژاپن) با توجه به دستورالعمل کارخانه سازنده استفاده شد. توالی‌های رمز کننده ژن سینئول سنتاز از پایگاه GenBankدر سایت NCBI تهیه شد و آغازگرهای اختصاصی با استفاده از نرم‌افزار Oligo 7 طراحی شدند. آغازگرها در برابر توالی‌های نوکلئوتیدی در NCBI به‌منظور اطمینان از صحت آن‌ها مورد جستجوی BLAST قرار گرفتند. از ژن خانه‌دار *GAPDH* به‌عنوان ژن مرجع جهت نرمال‌سازی استفاده شد. میزان بیان ژن‌ها با استفاده از دستگاه real time PCR (Corbot 6000, Qiagen, Germany) بررسی شد. واکنش‌های real time PCR با در نظر گرفتن دو تکرار بیولوژیک برای هر نمونه در حجم ۱۵ میکرولیتر با استفاده از کیت Maxima SYBER Green/Flourescein qPCR Master Mix (فرمنتاز، آلمان) با توجه به دستورالعمل کارخانه سازنده انجام شد.

ترکیب محلول واکنش real time PCR برای هر نمونه شامل ۷/۵ میکرولیتر از SYBR$^{R}$ Premix Ex Taq $^{TM}$ (شرکت تاکارا-ژاپن)، آغازگرهای رفت و برگشتی (سنتز شده در شرکت GENEray) به مقدار هر کدام ۱ میکرولیتر (با غلظت ۱۰ پیکومول)، آب عاری از نوکلئاز (شرکت Fermentas) به‌میزان ٤/۵ میکرولیتر و ۱ میکرولیتر از cDNA مورد نظر (با غلظت ng/µl ۱۰۰۰) بود. دوره‌های زمانی جهت تکثیر ژن مورد نظر با توجه به توالی آغازگر و محصول حاصل از تکثیر ژن شامل فعال‌سازی ابتدایی آنزیم در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۰ دقیقه در یک سیکل و بعد ٤۰ سیکل شامل مراحل واسرشته‌سازی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۱۰ ثانیه، اتصال آغازگر به الگو در دماهای اتصال مربوط به هر ژن به مدت ۱۵ ثانیه و دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۲۰ ثانیه بود. به‌منظور بررسی صحت تکثیر از آنالیز منحنی ذوب استفاده شد. شناسایی ترکیبات اسانس به کمک دستگاه کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC-MS) در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی شهرکرد انجام گرفت. تجزیه اسانس با دستگاه GC مدلA Agilent 7890 و نوع ستون 5% HP-5 MS (طول ستون ۳۰m، قطر داخلی ستون µm ۰/۲۵، قطر بیرونی ستون mm ۰/۲۵) انجام شد. گاز هلیوم با سرعت ml/min ۰/۸ جریان داشت. دمای اولیه ستون $^{\circ}$C ٦۰ و دمای نهایی ستون $^{\circ}$C ۲۸۰ بود. برنامه‌ریزی دمایی به صورت $^{\circ}$C/min ٤ انجام شد. نسبت جداسازی ۱۰۰:۱ تنظیم شد. دمای تزریق کننده $^{\circ}$C ۳۰۰ بود. خلوص گاز هلیوم ۹۹/۹۹۹٪ بود.



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.8.8 ]

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در واکنش real-time PCR

| نام ژن | شماره دسترسی | توالی آغازگر | اندازه محصول (جفت باز) | دمای اتصال |
|---|---|---|---|---|
| *CIN* (*Cineole Synthase*) | AF051899.1 | F: ATCCAAACTGGACGACGAAC<br>R: GCCCTCATCAAGTGCTTCTC | ۱۰۶ | ۶۰ |
| *GAPDH* | Q2I0H4 | F: ATGGCATTCCGTGTTCCTAC<br>R: CCTTCAACTTGCCCTCTGAC | ۱۱۲ | ۶۱ |

جدول ۲- تجزیه واریانس بیان نسبی ژن سینئول سنتاز و مقدار ۱و۸-سینئول تحت تنش خشکی و کاربرد برگی کیتوزان در مریم‌گلی

| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات | |
|---|---|---|---|
| | | بیان نسبی ژن سینئول سنتاز | محتوای ۱و۸-سینئول |
| تنش خشکی | ۲ | ۱۳/۸۴$^{**}$ | ۳۷/۸۰$^{**}$ |
| کیتوزان | ۳ | ۰/۴۴$^{**}$ | ۵/۸۴$^{**}$ |
| تنش خشکی ×کیتوزان | ۶ | ۰/۰۵$^{n.s.}$ | ۰/۲۳$^{n.s.}$ |
| خطا | ۲۴ | ۰/۰۲۱ | ۰/۱۳۲ |
| ضریب تغییرات (٪) | | ۶/۶۶ | ۳/۹۲ |

$^{n.s.}$، * و ** به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار درسطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

جهت تزریق نمونه‌ها از میزان ۰/۱ میکرولیتر اسانس با استفاده از سرنگ همیلتون استفاده شد. تجزیه MS توسط دستگاه Agilent 5975 C انجام شد. انرژی یونیزاسیون در طیف‌سنج جرمی ۷۰ الکترون ولت انتخاب شد. طیف جرمی از m/z۵۵۰-۵۰ بود. شاخص‌های بازداری (IR) برای تمام اجزا با استفاده از یکسری هومولوگ از ان – الکان‌ها ($C_5$ - $C_{25}$) که در شرایط مشابه نمونه‌ها تزریق شدند، محاسبه شد. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آن‌ها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع (Adams 2007) و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری (Wiley and NIST) صورت گرفت.

بیان نسبی ژن‌های مورد مطالعه با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ اندازه‌گیری شد (Livak et al. 2001; Rao et al. 2013). تجزیه واریانس داده‌های حاصل و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام شد. همبستگی بین سطوح بیان ژن سینئول سنتاز در ریشه و تجمع ماده ۱و۸-سینئول در شاخساره با استفاده از نرم‌افزار MINITAB 14 اندازه‌گیری شد.

## نتایج و بحث

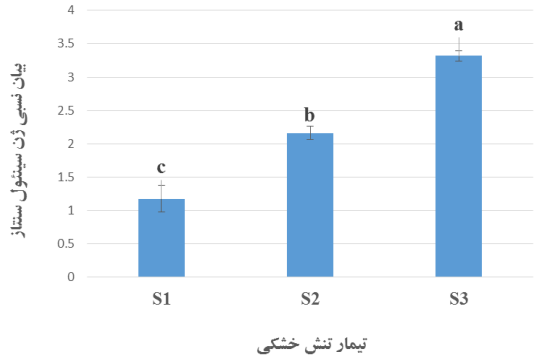
بیان ژن سینئول سنتاز در ریشه‌ها و مقدار ۱و۸-سینئول در شاخساره‌های گیاه مریم‌گلی تحت تاثیر تنش خشکی ($P \leq$ ۰/۰۱) و کیتوزان ($P \leq$ ۰/۰۱) قرار گرفت (جدول ۲).

تیمار تنش خشکی به طور معنی‌داری سطح بیان ژن سینئول سنتاز را افزایش داد و بالاترین سطح بیان این ژن در شرایط تنش خشکی ملایم به‌دست آمد (شکل ۲). اثرات مثبت تنش خشکی بر افزایش بیان ژن به‌همراه کاربرد برگی کیتوزان برای محصولات دیگر نیز گزارش شده‌است (Malerba and Cerena 2016). همچنین همبستگی مثبت و معنی‌داری ($P \leq 0.01$, $r = 0.99$) بین بیان این ژن در ریشه‌ها (شکل ۲) و مقدار ۱و۸-سینئول در شاخساره‌های گیاه مریم‌گلی مشاهده شد (شکل ۳).

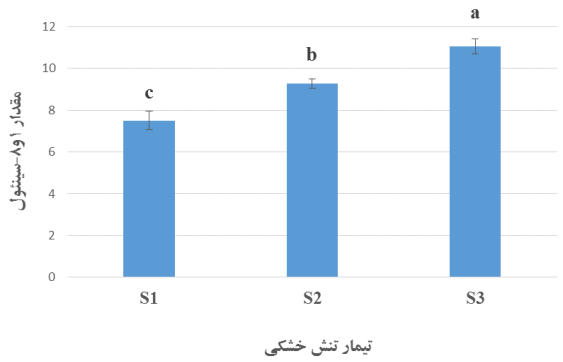
این در حالی‌است که، در مطالعه‌ای Radwan et al. (2017) گزارش کردند که بیان ژن مونوترپن سنتازها در سطح رونویسی به‌طور متفاوت و معنی‌داری تحت تاثیر تنش خشکی در برگ‌های مریم‌گلی قرار می‌گیرند. این محققین دریافتند که تنش خشکی سطح mRNA ژن سینئول سنتاز را کاهش می‌دهد، اما در این شرایط مقدار ۱و۸-سینئول در برگ‌ها افزایش می‌یابد.



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.8.8 ]




شکل ۲- نمودار مقایسه میانگین بیان نسبی ژن سینئول سنتاز در تیمارهای مختلف تنش خشکی. تیمارهای خشکی شامل S1: ۱۰۰ (کنترل)، S2: ۷۵ (تنش جزئی) و S3: ۶۰ (تنش ملایم) درصد ظرفیت زراعی مزرعه می‌باشد. محور عمودی نمودار میزان نسبی بیان ژن را نشان می‌دهد. حروف مختلف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.




شکل ۳ – نمودار مقایسه میانگین مقدار ۱و۸-سینئول در تیمارهای مختلف تنش خشکی. تیمارهای خشکی شامل S1: ۱۰۰ (کنترل)، S2: ۷۵ (تنش جزئی) و S3: ۶۰ (تنش ملایم) درصد ظرفیت زراعی مزرعه می‌باشد. محور عمودی نمودار میزان نسبی بیان ژن را نشان می‌دهد. حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

بنابراین این محققان نتیجه گرفتند که افزایش محتوای ۱و۸ – سینئول در شرایط تنش خشکی ممکن است در سطوح دیگری به غیر از رونویسی انجام شود. تحقیقات متعددی نشان داده‌اند که مقدار مونوترپن‌ها به‌طور عمده در سطح رونویسی کنترل و تنظیم می‌شوند (Mahmoud and Croteau 2003; Mahmoud et al. 2004; Xie et al. 2008; Lane et al. 2010; Schmiderer et al. 2010) هر چند تنظیم مقدار برخی از آن‌ها ممکن است در سطوح دیگری مانند سطوح پس از رونویسی و یا پس از ترجمه انجام شود (Schmiderer et al. 2010; Xie et al. 2008).

از طرف دیگر، نتایج تحقیق حاضر نشان‌دهنده آن بود که افزایش مقدار ۱و۸–سینئول در برگ و قسمت‌های هوایی گیاه مریم‌گلی می‌تواند حداقل قسمتی مربوط به افزایش رونویسی ژن مربوطه در ریشه‌های این گیاه باشد. گزارش شده است که ترپنوئید سنتازها توسط خانواده‌های چند ژنی که آنزیم‌های عملکردی مشابه یا بسیار مشابه را رمز می‌کنند تولید می‌شوند (Bohlmann et al. 1998). تحقیقات نشان داده است که ژنوم *Arabidopsis* به‌عنوان یک سیستم مدل برای مطالعه تکامل متابولیسم ثانویه ترپن‌های گیاهی حاوی بیش از ۳۰ ژن است که پروتئین‌هایی با توالی مشابه با خانواده ترپن‌سنتازها را رمز می‌کنند (Aubourg et al. 2002). Chen et al. 2004 گزارش کردند که رونوشت برخی از ژن‌های مونوترپن سنتاز، تقریبا منحصرا در ریشه‌های گیاه Arabidopsis بیان می‌شوند. همچنین گزارش شده‌است که مونوترپن‌ها و سزکویی ترپن‌های فرار، در ریشه‌ها و ریزوم‌های مختلف گیاهان سنتز و انباشته می‌شوند (Bos et al. 2002; Kovacevic et al. 2002). بنابراین، به‌نظر می‌رسد جهت داشتن تصویر روشن‌تری از تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه‌ای مانند ماده ۱و۸–سینئول بهتر است رونویسی ژن‌های مربوطه هم‌زمان در بافت‌های مختلف مورد مطالعه قرار گیرد.

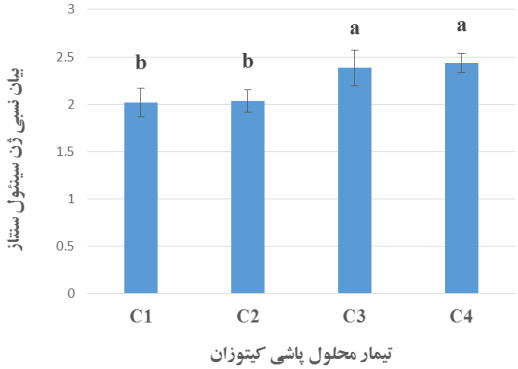
تحقیقات متعددی، اثر کیتوزان بر بیان ژن‌ها در گیاهان را مورد بررسی قرار داده‌اند (Emami Limpanavech et al. 2008; Xoca-Orozco et al 2017; Bistgani et al. 2017). مطالعات نشان می‌دهند که مهم‌ترین نقش کیتوزان، تحریک پاسخ دفاعی گیاهان به طیف گسترده‌ای از فیتوپاتوژن‌ها احتمالا از طریق بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه‌ای مانند ترپنوئیدها می‌باشد (Voggeli and Chappell, 1998; Terry and Joyce 2004; Xoca-Orozco et al 2017).

علاوه بر این تحقیقات نشان داده‌اند که مونوترپن‌هایی مانند ۱و۸–سینئول در پاسخ دفاعی گیاهان دخیل هستند (Deschamps and Simon 2006). اما تاکنون مطالعه‌ای جهت ارزیابی اثر کیتوزان بر بیان ژن سینئول سنتاز و مقدار محصول نهایی آن، ۱و۸–سینئول،



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.8.8 ]

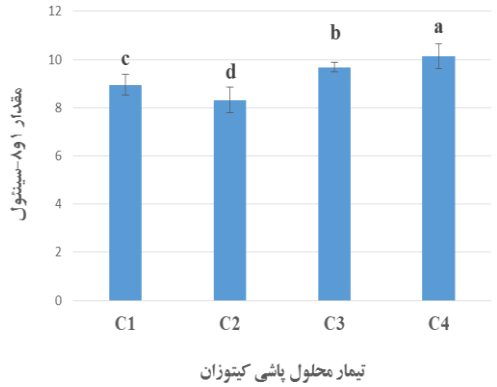
در گیاه مریم‌گلی انجام نشده است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کیتوزان به‌ویژه در غلظت ۰/۵ گرم در لیتر می‌تواند موجب افزایش رونویسی ژن سینئول سنتاز در ریشه گیاه مریم‌گلی (شکل ٤) و تجمع ماده ۱و۸-سینئول در شاخساره‌های این گیاه شود. گزارش شده‌است که کاربرد کیتوزان در قسمت‌های هوایی گیاه ممکن است از طریق بیوسنتز ABA موجب تحریک بسته شدن روزنه‌ها شود (Katiyar et al. 2015). بنابراین، اثر کیتوزان بر بیان ژن‌ها نیز ممکن است به‌طور غیر مستقیم از طریق پیام رسان ثانویه‌ای مانند ABA باشد که احتیاج به تحقیقات بیشتر در این زمینه می‌باشد.




شکل ٤– نمودار مقایسه میانگین بیان نسبی ژن سینئول سنتاز در تیمارهای مختلف محلول پاشی برگی کیتوزان. تیمارهای کیتوزان شامل چهار سطح C1: آب مقطر (کنترل)، C2: اسید استیک (کنترل)، C3: ۰/۲۵ و C4: ۰/۵ گرم در لیتر کیتوزان می‌باشد. محور عمودی نمودار مقدار ۱و۸-سینئول را نشان می‌دهد. حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

در این مطالعه هر چند اثر متقابل تنش خشکی و کیتوزان بر بیان ژن سینئول سنتاز و مقدار ماده ۱و۸-سینئول معنی‌دار نبود (جدول ۳) اما نمودار مقایسه میانگین اثرات متقابل آن‌ها (شکل ٦) برای ژن سینئول سنتاز و مقدر ماده ۱و۸-سینئول سنتاز حاوی نکات ارزشمندی بود.

همان‌طور که در شکل ٦ مشاهده می‌شود میزان بیان ژن سینئول سنتاز در شرایط بدون تنش در مقایسه با شرایط تنش جزئی و ملایم در سطوح مختلف تیمار کیتوزان کمتر می‌باشد. بنابراین به‌نظر می‌رسد که تنش خشکی نسبت به کیتوزان میزان بیان این ژن را بیشتر تحت تاثیر قرار داده و آن را افزایش داده است. برای مقدار ماده ۱و۸-سینئول نیز همین نتایج مشاهده شد (شکل ۷). اعمال تنش خشکی جزئی به‌همراه اعمال کیتوزان بر افزایش بیان ژن سینئول سنتاز اثر معنی‌داری نداشت (شکل ٦) اما محصول نهایی این ژن در همین شرایط در شاخساره‌های گیاه مریم‌گلی افزایش یافت (شکل ۷). بنابراین به‌نظر می‌رسد که مقدار ماده ۱و۸-سینئول در سطوح دیگری غیر از سطوح رونوشت برداری ژن تولید کننده آنزیم این متابولیت ممکن است تنظیم شود.

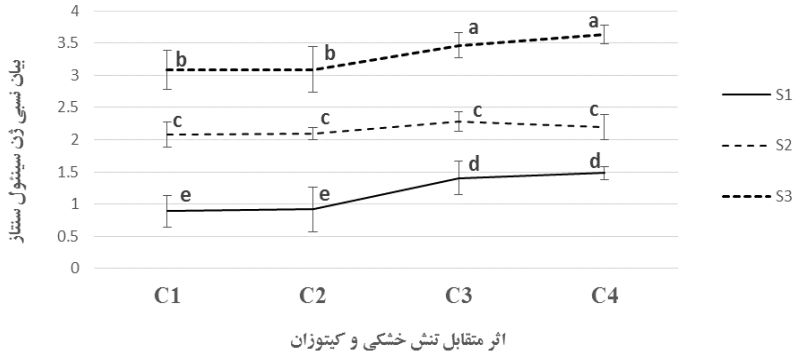



شکل ۵– نمودار مقایسه میانگین مقدار ۱و۸-سینئول در تیمارهای مختلف محلول پاشی برگی کیتوزان. تیمارهای کیتوزان شامل چهار سطح C1: آب مقطر (کنترل)، C2: اسید استیک (کنترل)، C3: ۰/۲۵ و C4: ۰/۵ گرم در لیتر کیتوزان می‌باشد. محور عمودی نمودار مقدار ۱و۸-سینئول را نشان می‌دهد. حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

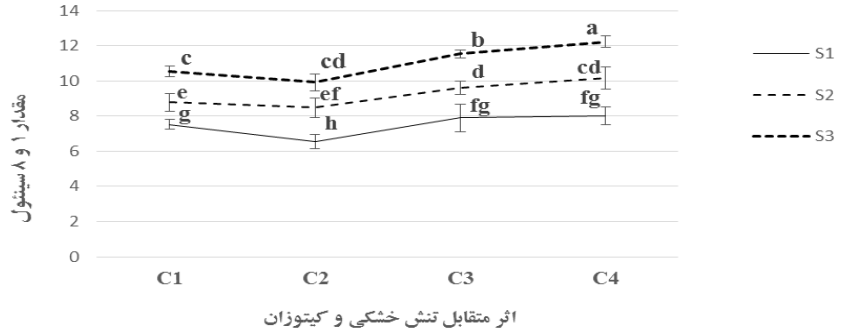
Xia et al. (2008) در مسیرهای شیکیمات/فنیل پروپانوئید و ترپنوئید در گیاه ریحان، بیان برخی ژن‌ها، آنزیم‌های مربوط به آن ژن‌ها و متابولیت‌های مربوط به این آنزیم‌ها را به‌ترتیب در سطوح مختلف به روش ترانسکریپتئومیکس، پروتئومیکس و متابولومیکس بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که افزایش مقدار برخی از آنزیم‌ها و متابولیت‌های حاصل از این آنزیم‌ها ارتباطی به افزایش بیان ژن مربوط به آن‌ها در سطح رونویسی ندارد و تنظیم بیان آن‌ها احتمالا در سطوح دیگری مانند سطوح بعد از رونوشت‌برداری و یا سطوح پس از ترجمه انجام می‌شود. چنین نتایجی در مطالعه Schmiderer et al. (2010) نیز مورد تاکید قرار گرفته است.



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.8.8 ]




شکل ٦– نمودار مقایسه میانگین اثر متقابل کیتوزان و تنش خشکی بر بیان نسبی ژن سینئول سنتاز. تیمارهای کیتوزان شامل چهار سطح C1: آب‌مقطر (کنترل)، C2: اسید استیک (کنترل)، C3: ۰/۲۵ و C4: ۰/۵ گرم در لیتر کیتوزان و تیمارهای تنش خشکی شامل S1: ۱۰۰ (کنترل)، S2: ۷۵ (تنش جزئی) و S3: ٦۰ (تنش ملایم) درصد ظرفیت زراعی مزرعه می‌باشد. محور عمودی نمودار بیان نسبی ژن سینئول سنتاز را نشان می‌دهد. حروف مختلف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.




شکل ۷ – نمودار مقایسه میانگین مقدار ۱و۸- سینئول در تیمارهای مختلف محلول پاشی برگی کیتوزان و تنش خشکی. تیمارهای کیتوزان شامل چهار سطح C1: آب‌مقطر (کنترل)، C2: اسید استیک (کنترل)، C3: ۰/۲۵ و C4: ۰/۵ گرم در لیتر کیتوزان و تیمارهای تنش خشکی شامل S1: ۱۰۰ (کنترل)، S2: ۷۵ (تنش جزئی) و S3: ٦۰ (تنش ملایم) درصد ظرفیت زراعی مزرعه می‌باشد. محور عمودی نمودار بیان نسبی ژن سینئول سنتاز را نشان می‌دهد. حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

## نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق به‌همراه نتایج تحقیقات دیگر نشان می‌دهد در مطالعه تاثیر محرک‌های محیطی بر افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان، بیان ژن‌های مربوطه در بافت‌های مختلف ممکن است به‌طور متفاوتی تحت تاثیر قرار گیرند. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که اثر کیتوزان بر ژن سینئول سنتاز بستگی به قابلیت دسترسی به آب دارد. اثر تحریک کنندگی تنش خشکی بر افزایش بیان ژن سینئول سنتاز ممکن است با کاربرد برگی کیتوزان تشدید شود. با تغییر میزان آب در دسترس گیاه همراه با کاربرد کیتوزان می‌توان مقدار متابولیت ثانویه‌ای مانند ۱و۸- سینئول را از طریق بیوسنتز آن در سطح رونویسی در ریشه‌های گیاه مریم‌گلی افزایش داد.



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.8.8 ]

## منابع


Adams RP (2007) Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/mass Spectrometry. 4th edn. Allured Publishing Corporation.

Aubourg S, Lecharny A, Bohlmann J (2002) Genomic analysis of the terpenoid synthase (AtTPS) gene family of *Arabidopsis thaliana*. Molecular Genetics and Genomics 267:730-745.

Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M (2008) Biological effects of essential oils–A review. Food and Chemical Toxicology 46:446-475.

Bohlmann J, Meyer-Gauen G, Croteau R (1998) Plant terpenoid synthases: molecular biology and phylogenetic analysis. Proceedings of the National Acadmy of Sciences USA, 95:4126-4133.

Bos R, Koulman A, Woerdenbag HJ, Quax WJ, Pras N (2002) Volatile components of *Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm. Journal of Chromatography A 966:233-238.

Boszormenyi A, Hethelyi E, Farkas A, Horvath G, Papp N, Lemberkovics E, Szoke E (2009) Chemical and Genetic Relationships among Sage (*Salvia officinalis* L.) Cultivars and Judean Sage (*Salvia judaica* Boiss.). journal of Agricultural and Food Chemistry 57:4663-4667.

British Pharmacopoeia (1993) HMSO Publication, International edition, London.

Chen F, Ro DK, Petri J, Gershenzon J, Bohlmann J, Pichersky E, Tholl D (2004) Characterization of a root-specific Arabidopsis terpene synthase responsible for the formation of the volatile monoterpene 1,8-cineole. Plant Physiology 135:1956-1966.

Deschamps C, Simon JE (2006) Terpenoid Essential Oil Metabolism in Basil (*Ocimum basilicum* L.) Following Elicitation**.** Journal of Essential Oil Research 18:618-621.

Emami-Bistgani Z, Siadat SA, Bakhshandeh A, Ghasemi-Pirbalouti A, Hashemi M (2017) Interactive effects of drought stress and chitosan application on physiological characteristics and essential oil yield of *Thymus daenensis* Celak. Crop Journal 5:407-415.

Ghorbani A, Esmaeilizadeh M (2017) Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. Journal of Traditional Complementary Medicine 7:433-440.

Grausgruber-Groger S, Schmiderer C, Steinborn R, Novak J (2012) Seasonal influence on gene expression of monoterpene synthases in *Salvia officinalis* (Lamiaceae). Journal of Plant Physiology 169:353-359.

Grdisa M, Jug-dujakovic M, Loncaric M, Carovic-Stanko K, Nincevic T, Liber Z, Radosavljevic I, Satovic Z (2015) Dalmatian Sage (*Salvia officinalis* L.): A Review of Biochemical Contents, Medical Properties and Genetic Diversity. Agricultuae Conspectus Scientificus, 80:69-78.

Katiyar D, Hemantaranjan A, Singh B (2015) Chitosan as a promising natural compound to enhance potential physiological responses in plant: a review. Indian Journal of Plant Physiology 20:1-9.

Kleinwächter M, Selmar D (2014) New insights explain that drought stress enhances the quality of spice and medicinal plants: potential applications. Agronomy for Sustainable Development 35:121-131.

Kovacevic N, Pavlovic M, Menkovic N, Tzakou O, Couladis M (2012) Composition of the essential oil from roots and rhizomes of *Valeriana pancicii* Halácsy & Bald. Flavour Fragrance Journal 17:355-357.

Lahlou S, Figueiredo AF, Magalhães PJ, Leal-Cardoso JH (2002) Cardiovascular effects of 1,8-cineole, a terpenoid oxide present in many plant essential oils, in normotensive rats. the Canadian Journal of Physiology Pharmacology 80:1125-1131.

Leite-Sampaio B, Edrada-Ebel R, Batista-Da-Costa F (2016) Effect of the environment on the secondary metabolic profile of *Tithonia diversifolia*: a model for environmental metabolomics of plants. Scientific Reports 6:1-11.

Lima PR, Sousa de Melo T, Bezerra Carvalho KMM, Bonfim de Oliveira L, Arruda BR, Anne de Castro Brito G, Rao VS, Santos FA (2013) 1,8-cineole (eucalyptol) ameliorates cerulein-induced acute pancreatitis via modulation of cytokines, oxidative stress and NF-κB activity in mice. Life Sciences 92:1195-1201.

Limpanavech P, Chaiyasuta S, Vongpromek R, Pichyangkura R, Khunwasi C, Chadchawan S, Lotrakul P, Bunjongrat R, Chaidee A, Bangyeekhun T (2008) Chitosan effects on floral production, gene expression, and anatomical changes in the Dendrobium orchid. Scientia Horticulturae 116**:**65-72.

Loschke DC, Hadwiger LA, Wagoner W (1983) Comparison of mRNA populations coding for phenylalanine ammonia lyase and other peptides from pea tissue treated with biotic and abiotic phytoalexin inducers. Physiological Plant Pathology 23:163-173.

Mahmoud S, Croteau B (2003) Menthofuran regulates essential oil biosynthesis in peppermint by controlling a downstream monoterpene reductase. Proceedings of the National Acadmy of Sciences USA, 100:14481–14486.

Mahmoud S, Williams M, Croteau R (2004) Cosuppression of limonene-3-hydroxylase in peppermint promotes accumulation of limonene in the essential oil. Phytochemistry 65:547-554.

Malekpoor F, Ghasemi Pirbalouti A, Salimi A, Momtaz H (2017) Effects of chitosan on gene expression of chavicol-O-methyl transferase and phenylpropanoid components of Ocimum basilicum (purple cultivar) under water deficit. journal of Cellular and Molecular Researches 30:391-401. (In Farsi).

Malekpoor F, Salimi A, Ghasemi Pirbalouti A (2016) Effect of bioelicitor of chitosan on physiological and morphological properties in purpule basil (*Ocimum basilicum* L.) under water deficit. Journal of Plant Ecophysiology 27:56-71. (In Farsi).

Malerba M, Cerana R (2016) Chitosan Effects on Plant Systems. International Journal of Molecular Sciences 17:1-15.

Marchev A, Haas C, Schulz S, Georgiev V, Steingroewer J, Bley T, Pavlov A (2014) Sage in vitro cultures: a promising tool for the production of bioactive terpenes and phenolic substances. Biotechnology Letters 36:211-221.




[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.8.8 ]

Naderi S, Fakheri BA, Esmaeilzadeh Bahabadi S, Kamaladini H (2014) Increasing of phenyl alanine ammonia lyase (PAL) gene expression and phenylpropanoid compounds of basil (*Ocimum basilicum*) by chitosan. Modern Genetics Journal 9:259-266. (In Farsi).

Najmeh V, Gomarian M, Ghasemi Pirbalouti A, Khaghani S, Malekpoor F (2017) Essential oil composition and total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* L.) extract under chitosan application and irrigation frequencies. Industrial Crops & Products 117:366-374.

Nowak M, Manderscheid R, Weigel HJ, Kleinw€achter M, Selmar D (2010) Drought stress increases the accumulation of monoterpenes in sage (*Salvia officinalis*), an effect that is compensated by elevated carbon dioxide concentration. Journal of Applied Botany and Food Quality 83:133-136.

Paulsen J, Selmar D (2016) The difficulty of correct refrence values when evaluating the effects of drought stress: a case study with Thymus vulgaris. Journal of Applied Botany and Food Quality 89:287-289.

Radwan A, Kleinwächter M, Selmar D (2017) Impact of drought stress on specialised metabolism: Biosynthesis and the expression of monoterpene synthases in sage (*Salvia officinalis*). Phytochemistry 141:20-26.

Schmiderer C, Grausgruber-Groger S, Grassi P, Steinborn R, Novak J (2010) Influence of gibberellins and daminozide on the expression of terpene synthases in common sage (*Salvia officinalis*). Journal of Plant Physiology 167:779-786.

Selmar D, Kleinwächter M (2013a) Stress Enhances the Synthesis of Secondary Plant Products: The Impact of Stress-Related Over-Reduction on the Accumulation of Natural Products. Plant and Cell Physiology 54:817-826.

Selmar D, Kleinwächter M (2013b) Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. Industrial Crops and Products 42:558-566.

Shaw JJ, Berbasova T, Sasaki T, Jefferson-George K, Spakowicz DJ, Dunican BF, Portero CE, Narváez-Trujillo A, Strobel SA (2015) Identification of a Fungal 1,8-Cineole Synthase from *Hypoxylon* sp. with Specificity Determinants in Common with the Plant Synthases. Journal of Biological Chemistry 290:8511-8526.

Terry LA, Joyce DC (2004) Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief review. Postharvest Biology and Technology 32:1-13.

Vincenzi MD, Silano M, Vincenzi MD, Maialetti F, Scazzocchio B (2002) Constituents of aromatic plants: eucalyptol. Fitoterapia 73:269-275.

Vögeli U, Chappell J (1998) Induction of sesquiterpene cyclase and suppression of squalene synthetase activities in plant cell cultures treated with fungal elicitor. Plant Physiology 88:1291-1296.

Wiktorowska E, Dlugosz M, Janiszowska W (2010) Significant enhancement of oleanolic acid accumulate ion by biotic elicitors in cell suspension cultures of *Calendula officinalis* L. Enzyme and Microbial Technolgy 46:14-20

Xie Z, Kapteyn J, Gang DR (2008) A systems biology investigation of the MEP/terpenoid and shikimate/phenylpropanoid pathways points to multiple levels of metabolic control in sweet basil glandular trichomes. Plant Journal 54:349-361.

Xoca-Orozco LA, Cuellar-Torres, EA, González-Morales S, Gutiérrez-Martínez P, López-García U, Herrera-Estrella L, Vega-Arreguín J, Chacón-López A (2017) Transcriptomic Analysis of Avocado Hass (*Persea americana* Mill) in the Interaction System Fruit-Chitosan-Colletotrichum. Frontiers in Plant Sciences 8:1-13.

Yamazaki M, Hirano A, Yoshimura Y, Suzuki M, Shuto K, Ohkohchi N, Koda K (2013) Antitumor effect of 1,8-cineole against colon cancer. Oncology Reports 30:2647-2652.

[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.8.8 ]