زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس

اثر براسینواسترویید بر تحریک گل‌دهی و تغییر بیان ژن هم‌ساخت *APETALA1* (*AP1*) در اندام‌های مختلف منداب (*Eruca sativa*)

فرخنده رضانژاد*[۱]، الهه ابوالحسنی[۱]، فرزاد گنجعلیخانی حاکمی[۱]

۱–استاد، دانشگاه شهید باهنر کرمان، گروه زیست‌شناسی، کرمان، ایران
۲– دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید باهنر کرمان، گروه زیست‌شناسی، کرمان، ایران
۳– دانشجوی دکتری، دانشگاه شهید باهنر کرمان، گروه زیست‌شناسی، کرمان، ایران

*صندوق پستی ۷۶۱۶۹۱۳۳، کرمان، ایران
frezanejad@uk.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۲۲ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۰۲

چکیده

در چرخه زندگی نهاندانگان، گذر از فاز رویشی به زایشی یک مرحله نموی مهم است که تحت کنترل شدید ژنتیکی است. این تغییر فاز نیازمند فعال شدن مجموعه‌ای از ژن‌ها در مریستم رأس شاخساره است که بیان آن‌ها، مریستم را از رویشی به زایشی تبدیل می‌کند. ژن *APETALA1* (*AP1*) در پیشبرد مرحله گذر و نیز تعیین هویت مریستم گل نقش مهمی ایفا می‌کند. در این مطالعه، بیان این ژن در اندام‌های مختلف گیاه منداب (*Eruca sativa*) و نیز اثر براسینواستروئید بر گل‌دهی و بیان ژن، بررسی شد. RNA کل استخراج و برای ساخت cDNA استفاده شد. آغازگرهای اختصاصی براساس هم‌راستایی توالی ژن‌های هم ساخت *AP1* در گیاهان هم‌خانواده، طراحی و برای واکنش RT-PCR استفاده شدند. در مرحله رویشی، هیچ بیانی در اندام‌های مختلف مشاهده نشد. تیمار براسینواستروئید از ۲۸ روزگی (مرحله رویشی) تا ظهور غنچه‌های گل، سبب گل‌دهی زودرس و دوره رویشی کوتاه‌تر شد. به‌طوری که گیاهان تحت تیمار، حدود ۱۰ روز زودتر از شاهد گل دادند. همچنین، اندازه گیاه و اجزای آن در گیاهان تیمار شده با براسینواستروئید بزرگ‌تر بودند. بررسی بیان ژن *EvsAP1*، در فاز زایشی حاکی از بیان آن در غنچه گل، کاسبرگ و گلبرگ و عدم بیان آن در ریشه، ساقه، برگ، پرچم و مادگی بود. همچنین، شروع بیان این ژن، زودتر مشاهده شد که نشان‌دهنده این است که گذر به گل‌دهی و تشکیل غنچه گل در گیاهان تحت تیمار سریع‌تر رخ می‌دهد، در نتیجه، بیان هم زودتر رخ می‌دهد. اما آنالیز آماری نشان داد که میزان بیان، تحت تاثیر براسینواستروئید قرار ندارد و تفاوت معنی‌داری دیده نشد.

کلید واژگان: غنچه گل، گل بالغ، منداب، دوره رویشی

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-01-13]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.14.1.8.4]

۱-مقدمه

تولید مثل جنسی موفق و به‌دنبال آن نمو میوه و دانه در گیاهان گل‌دار به توانایی آن‌ها در نمو گل وابسته است. گیاهان گل‌دار براساس مکانیسم‌هایی برای به حداکثر رساندن موفقیت تولید مثلی تکامل یافته‌اند. یکی از بخش‌های بهینه شدن این موفقیت، زمان‌بندی مناسب گذر از فاز رویشی به زایشی است. گذر به گل‌دهی تحت کنترل شبکه ژنتیکی پیچیده‌ای است که متاثر از محرک‌های درونی و محیطی گوناگون است [۱، ۲]. در این گذر گیاهان از رشد رویشی به زایشی تغییر وضعیت داده و مریستم رویشی رأس شاخساره (SAM)[۱]،هویت مریستم گل‌آذین (IM)[۲]، را می‌پذیرد. در نهایت IM یا به مریستم گل (FM)[۳]، تبدیل می‌شود و یا تولید مریستم‌های جانبی می‌کند که می‌توانند به مریستم‌های گل تبدیل شوند. این فرایند نموی یک ویژگی گونه‌ای است که تعیین‌کننده نوع گل‌آذین می‌باشد [۳-۱]. تحریک گل‌دهی، الزام گیاه به آغاز تولید گل است که اغلب در نتیجه فرایندهای رخ داده در برگ‌ها اتفاق می‌افتد. با یک تحریک، گیاه در مسیر گل دهی قرار می‌گیرد، اگرچه هنوز هیچ گلی در این مرحله تولید نشده است. سپس، گیاه تحریک شده، از طریق راه اندازی تغییرات در بیان ژن در مریستم رأس ساقه (SAM) تولید گل‌ها را آغاز می‌کند. افزایش در میزان سنتز RNA یکی از اولین تغییراتی است که در مریستم رأس ساقه برای حمایت از رونویسی ژن‌های جدید رخ می‌دهد و میزان سنتز پروتئین نیز افزایش می‌یابد [٤].

ژن *APETALA1* (*AP1*) یکی از ژن‌های کلاس A است که چندین نقش مهم را در آرابیدوپسیس[٤] ایفا می‌کند. دخیل بودن در مرحله گذر، تعیین هویت مریستم گل، بنیان‌گذاری و مشخصات اندام‌های گل در دو حلقه بیرونی به‌عنوان ژن کلاس A و سرکوب مریستم‌های نابه‌جایی که اغلب در گل‌های جهش یافته *ap1* به وجود می‌آیند از این نقش‌ها هستند. بنابراین، شروع بیان این ژن که در مرحله گذر رخ می‌دهد یکی از نشانه‌های گذر به فاز زایشی می باشد [۵]. ژن *AP1* در آرابیدوپیس روی کروموزوم‌های شماره ۱، ۲، ۳ و ۵ قرار دارد و دارای ۸ اگزون و ۷ اینترون است و یک فاکتور رونویسی متعلق به MADS-box را کد می‌کند. طول ناحیه کدکننده آن در گیاهان مختلف از ۱۰۰۰-۷۵۰ نوکلئوتید متغیر می‌باشد [٦]. بیان *AP1* از مرحله گذر در مریستم رأسی آغاز می‌شود، بیان آن در پریموردیوم‌های گل به سطح بالایی می‌رسد و تا تشکیل اجزای گل (تشکیل کاسبرگ و گلبرگ) ادامه می‌یابد. در گل‌های نوع وحشی RNAی *AP1* در اولین مراحل رشدونمو مریستم گل به‌طور یکنواخت در سراسر آن تجمع می‌یابد. این نتایج نشان می‌دهد که *AP1* در تعیین هویت مریستم گل دخالت دارد اما در مراحل بعدی، بیان آن در مرکز گل کاهش می‌یابد و به دو حلقه‌ی بیرونی گل محدود می شود [۵]. غیرفعال شدن این ژن موجب تبدیل کاسبرگ به براکته و تشکیل هم‌زمان جوانه‌ی گل در محور هر کاسبرگ تغییر شکل یافته می شود. علاوه بر این، این گل‌ها فاقد گلبرگ هستند [۷]. گزارش‌های محدودی وجود دارد که بیان این ژن را در برخی اندام‌های رویشی، در فاز زایشی نیز نشان می‌دهد. برای مثال Wang و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که هومولوگ ژن *AP1* در گیلاس (*PaAP1*) در همه‌ی اندام‌های گیاه بالغ اعم از زایشی و رویشی به جز ریشه در فاز زایشی بیان می‌شود [۸]. همچنین، آزمایش‌های RT-PCR نشان می‌دهد که *CsAP1* (هومولوگ *AP1* در زعفران) در کاسبرگ، گلبرگ، پرچم، مادگی و برگ نیز بیان می‌شود.

براسینواستروئیدها[۵] گروهی از تنظیم‌کننده‌های گیاهی هستند که در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی و رشد و تکامل طبیعی

[۱] Shoot apical meristem
[۲] Inflorescence meristem
[۳] Floral meristem
[٤] Arabidopsis
[۵] Brassinosteroids

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-01-13]
[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.14.1.8.4]

سلول‌ها و گیاه کامل مورد نیاز هستند. اثرات فیزیولوژیک براسینواستروئیدها را می‌توان به دو بخش اثرات در سطح سلول و اثرات در سطح گیاه کامل تقسیم کرد. اثر در سطح سلول شامل تقویت رشد طولی و تقسیم سلولی، اثر بر تعادل سایر تنظیم‌کننده‌های گیاهی، اثر بر فعالیت آنزیم‌ها، تحریک سنتز DNA، RNA و پروتئین، افزایش فتوسنتز و انتقال مواد است. اثر در سطح گیاه کامل شامل تقویت رشد، افزایش باروری، افزایش تعداد، اندازه و کیفیت میوه، افزایش محصول و بذر، افزایش مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌باشد [۹].

استفاده از ۲۴- اپی‌براسینولید[1] در انگور باعث افزایش تعداد انگور در هر شاخه و بهبود کیفیت میوه و عملکرد شده است. اسپری درختان پرتقال در ۲۵ روز بعد از گل‌دهی باعث افزایش تولید محصول و بهبود کیفیت میوه شد [۱۲-۱۰]. مطالعات انجام شده روی رسیدن پریکارپ گوجه‌فرنگی با تیمار ۲۴- اپی براسینولید یا ۲۸-هموبراسینولید[2] نشان می‌دهد که سطح لیکوپن، کربوهیدرات و اتیلن افزایش می یابد، در حالی‌که سطح کلروفیل و آسکوربیک‌اسید کاهش یافته و منجر به افزایش سرعت رسیدن میوه می‌شود [۱۲-۱۰].

مطالعات نشان داده است که فیتوهورمون‌های مختلفی در تنظیم گذر به گل‌دهی دخیل هستند. این یافته که جهش در گیرنده‌های براسینواستروئید منجر به تاخیر گل‌دهی می‌شود، اثر مثبت براسینواستروئیدها را روی زمان گل‌دهی نشان می‌دهد. تضعیف سیگنال‌های براسینواستروئید بیان ژن *FLC* را افزایش می‌دهند و گل‌دهی را به‌تاخیر می‌اندازند. BRI1 به عنوان گیرنده اصلی براسینواستروئیدها است. نشان داده شده است که براسینواستروئیدها و BRI1 نقش مهمی را در تنظیم زمان گل‌دهی در آرابیدوپسیس ایفا می‌کند [۱۲-۱۰].

گیاه منداب (*Eruca sativa*) از خانواده شب‌بو[3] یک گیاه علفی، یکساله، به ارتفاع ۱۵-۱۰ سانتی‌متر با عطر و طعمی تند و نیز دارای میوه خورجین است. برگ و روغن این گیاه در تهیه سالاد استفاده می شود. روغن دانه منداب در صنایع غذایی، بهداشتی، دارویی و در صنعت برای ساخت صابون، مواد جلادهنده و ثابت‌کننده واکس کاربرد دارد. این گیاه دارویی بوده و دارای ترکیباتی است که آنزیم‌های ضد سرطان را فعال می‌کند [۱۳]. ژن *EvsAp1* در منداب، در مطالعات قبلی، شناسایی و در بانک ژن با نام *EvsAP1* و شماره‌ی دسترسی KX524132 با طول ۷۸۲ نوکلئوتید ثبت شده است [۱۴]. براساس جستجوهای انجام شده، مطالعه منتشر شده‌ای در رابطه با بررسی بیان *ژن EvsAP1* و مکانیسم‌های مربوط به این ژن در گل‌دهی گیاه منداب یافت نشد. در این پژوهش بیان ژن *EvsAP1* در بخش‌های مختلف گیاه در فاز زایشی گیاه دارویی منداب یا *Eruca sativa* و اثر براسینواستروئید بر تحریک گل‌دهی و بیان این ژن در اندام‌های مختلف گیاه، مطالعه شد.

۲-مواد و روش‌ها

بذرگیاه منداب از شرکت توسعه صادرات گیاهان دارویی ساغر رفسنجان خریداری شد. در اسفند ماه، بذرها در گلدان‌های حاوی پرلیت با محلول غذایی هوگلند [۱۵] در شرایط گلخانه‌ای با دمای ۲۵ سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی کشت داده شدند. در آزمایش اولیه، برای بررسی اثر تحریکی براسینواستروئید بر گل‌دهی سه گروه گلدان کاشته شد. یک گروه با ۰/۵ میکرومولار، گروه دیگر با ۱ میکرومولار براسینواستروئید (24-Epibrassinolid Sigma-Aldrich) اسپری شدند. تیمار دهی از ۲۸ روزگی که گیاه در مرحله رویشی است به‌صورت یک روز درمیان تا تشکیل غنچه گل و سپس گل بالغ انجام شد (روزهای ۲۸، ۳۰، ۳۲، ۳۴، ۳۶، ۳۸).

[1] 24-Epibrassinolide
[2] 28-Homobrassinolide
[3] Brassicaceae

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-01-13]
[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.14.1.8.4]

گروه سوم به‌عنوان گروه شاهد با آب مقطر اسپری شد که این کار نیز به‌صورت یک روز درمیان از ۲۸ روزگی (۲۸، ۳۰، ۳۲، ۳٤، ۳٦، ۳۸، ٤٠، ٤۲، ٤٤، ٤٦، ٤۸) تا تشکیل غنچه گل و سپس گل بالغ انجام شد. پس از آزمایشات اولیه و بهینه سازی اثر برا سینوا ستروئید روی گل‌دهی، به دلیل پاسخ بهتر غلظت ۰/۵ میکرومولار نسبت به غلظت دیگر، در آزمایش‌های بیان ژن مربوط به اثر براسینواستروئید روی زمان گذر به گل‌دهی و میزان بیان ژن *AP1*، از این غلظت استفاده شد. برای این کار، دو گروه گلدان ۱۵۰تایی کاشته شد. گروه اول با آب مقطر و گروه دوم با محلول ۰/۵ میکرومولار براسینواستروئید همانند روش قبل اسپری شدند. بنابراین، در این آزمایش نیز گیاهان از ۲۸ روزگی تا تشکیل اولین غنچه گل، در فواصل زمانی دو روزه (یک در میان) اسپری شدند (به گروه شاهد فقط آب مقطر اسپری شد).

برای برر سی زمان بیان ژن هم ساخت یا ارتولوگ *AP1* و میزان بیان آن در گیاهان شاهد و مقایسه آن با گیاهان تحت تیمار برا سینوا ستروئید، RNA کل مریستم را سی از همه مراحل تیمار شده (از ۲۸ روزگی تا تشکیل غنچه گل)، غنچه گل و گل بالغ (مرحله پایان) در گیاهان شاهد و تیمار شده با براسینواستروئید، استخراج شد. برای بررسی بیان ژن هم ساخت یا ارتولوگ *AP1* در بخش‌های مختلف گیاه، در فاز زایشی از ریشه، ساقه، برگ، غنچه گل، کاسبرگ، گلبرگ، پرچم و مادگی در شرایط شاهد استفاده شد. سپس، RNA کل استخراج، و میزان بیان اندام‌های مختلف بررسی و مقایسه شد. استخراج RNA با ا ستفاده از محلول ا ستخراج RNA (GeneAll, RiboEx, Total RNA isolation solution, Korea) و براساس دستورالعمل استفاده از این محلول استخراج شد. برای ارزیابی خلوص، تعیین غلظت و کیفیت RNA از روش‌های ا سپکتوفتومتری با ا ستفاده از د ستگاه بیوفتومتر مدل ٦١٣١ (Eppendorf AG Biophotometer, Germany) در طول موج‌های ۲٦۰ و ۲۸۰ نانومتر و الکتروفورز افقی روی ژل آگارز یک درصد استفاده شد [١٦]. آغازگرهای بیان *AP1* برا ساس قطعه ژن توالی شده در این گیاه طراحی شدند [١٤]. آغازگرهای ا ستفاده شده برای تکثیر قطعه‌ای از ژن هم ساخت *AP1* و نیز ژن مرجع *GAPDH* در جدول ۱ ذکر شده است.

در این مطالعه، RT-PCR، با استفاده از کیت ساخت cDNA شرکت فرمنتاز (RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit) انجام شد و طبق روش ذکر شده در آن از روی RNA، ر شته اول cDNA تهیه شد. در نهایت از این cDNA در PCR به‌عنوان DNA الگو ا ستفاده شد و همراه با آغازگرهای طراحی شده، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برای مطالعات بیان ژن به‌صورت نیمه کمی انجام شد. برای انجام PCR، ۱ میکرولیتر آغازگر پیش‌برنده و آغازگر برگرداننده (هر کدام به‌صورت جداگانه)، ۱ میکرولیتر cDNA با غلظت ۷۰۰ نانوگرم و ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس PCR شرکت سیناکلون (SinaClon PCR Master Mix, 2X) به تیوب لیوفیلیزه ۰/۲ میلی‌لیتری اضافه شد و در نهایت حجم نهایی با آب مقطر استریل به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد و با پیپت کردن به‌طور کامل مخلوط شد.

جدول ۱ نام، توالی و کاربرد آغازگرهای مورد استفاده

نام آغازگر	توالی (5' → 3')	کاربرد
Ex-frAP1	GGAGAGAAATCAGAGGCAC	آغازگر پیش‌برنده درRT-PCR
Ex-rvAP1	CCCTAAGAATCTTTTCCCT	آغازگر برگرداننده درRT-PCR
Fr-GAPDH	CAAGGACTGGAGAGGTGG	آغازگر پیش‌برنده ژن مرجع

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-01-13]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.14.1.8.4]

آغازگر برگرداننده ژن مرجع	TTCACTCGTTGTCGTACC	Rv-GAPDH

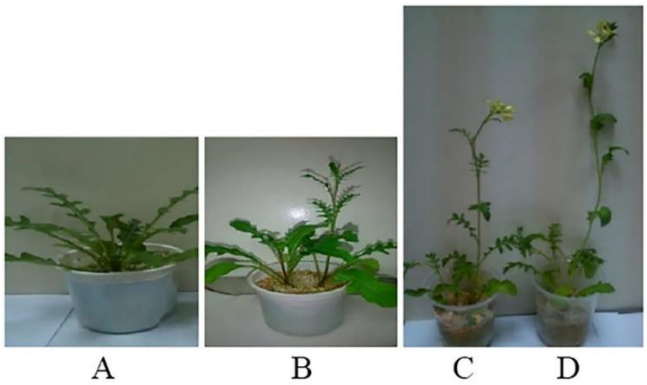
با ا ستفاده از د ستگاه ترمو سایکلر مدل PTC (1148 MJ Mini Personal Termal Cycler BioRad, USA) واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با برنامه زمانی و دمایی PCR، برنامه معمول برای تکثیر قطعه ژنی در جدول ۲ انجام شد. برای مشخص شدن بیان ژن هم‌ساخت *AP1* در بخش‌های مورد مطالعه و نیز کیفیت محصولات PCR، از الکتروفورز با ژل آگارز یک درصد استفاده شد. همچنین، برای سنجش نیمه کمی میزان شدت باندهای بیان ژن *AP1* و نرمال‌سازی آن‌ها با کنترل درونی از نرم‌افزار imagej (https://imagej.nih.gov/ij) ا ستفاده شد. آنالیز آماری داده‌ها با ا ستفاده از آزمون دانکن تو سط نرم‌افزار SPSS و با ضریب اطمینان ۹۵ درصد مقایسه شد و نمودار اندام‌های مختلف با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شد. در آزمایشات سنجش بیان سه تکرار در نظر گرفته شد [۱۶].

۳-نتایج

پس از تیمار گیاهان با براسینوا ستروئید و مقایسه آنها با شاهد از ۲۸ روزگی (مرحله رویشی) تا ظهور غنچه‌های گل مشاهده شد که گل‌دهی در نمونه‌های تیمار شده با براسینواستروئید حدود ۱۰ روز زودتر از گروه شاهد است؛ به این معنا که در نمونه‌های تیمار، ظهور اولین غنچه‌های گل در ٤٠ روزگی مشاهده شد. در صورتی‌که گل‌دهی در نمونه‌های شاهد تا ۵۰ روزگی ادامه داشت و اولین جوانه‌های گل در ۵۰ روزگی مشاهده شدند. بنابراین، گیاهان تحت اثر براسینواستروئید نسبت به گروه شاهد، دارای دوره‌ی رویشی کوتاه‌تری بودند، همچنین اندازه گیاه و اجزای آن در گیاهان تیمار شده با براسینوا ستروئید بزرگ‌تر بودند (شکل ۱).

جدول ۲. برنامه زمانی و دمایی برای انجام PCR

چرخه	زمان	دما (سانتی‌گراد)	برنامه واکنش PCR
۱	٤ دقیقه	۹۵	واسرشتگی اولیه
۳۲	۳۰ ثانیه	۹۵	واسرشتگی ثانویه
	۳۰ ثانیه	۵۵	اتصال
	۳۰ ثانیه	۷۲	طویل شدن
۱	۵ دقیقه	۷۲	طویل شدن نهایی

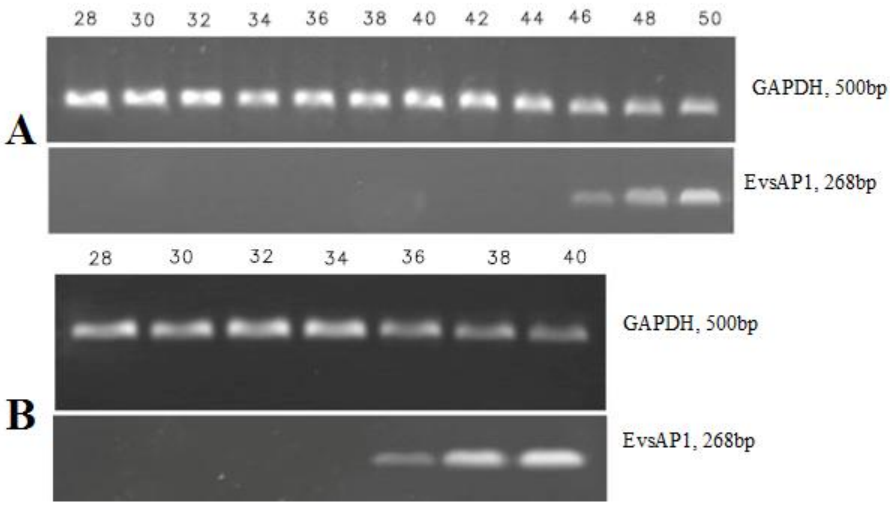


[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-01-13]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.14.1.8.4]

شکل ۱ اثر براسینواستروئید بر رشد و تحریک گل‌دهی گیاه منداب (*Eruca sativa*). A و C نمونه های شاهد بترتیب ٤۰ و ٥۰ روزگی، در ٤۰ روزگی، هیچ غنچه گلی تشکیل نشده است و گیاه در مرحله رویشی است. B و D، نمونه‌های در معرض براسینواستروئید. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود، جوانه‌های گل در ٤۰ روزگی تشکیل شده‌اند (B) و در ٥۰ روزگی گل‌ها به‌طور کامل بالغ شده‌اند (D).

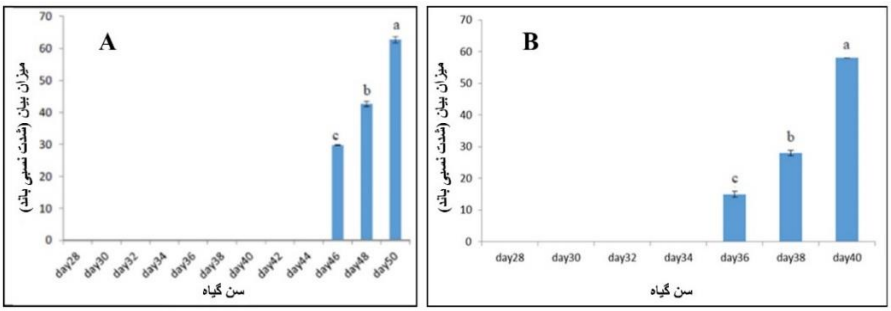
شروع بیان ژن *EvsAP1*، به‌عنوان یکی از نشانه‌های گذر به فاز زایشی که در مرحله‌ی گذر رخ می‌دهد، در گیاهان تحت اثر تیمار زودتر مشاهده شد. بر این اساس، زمان بیان ژن در نمونه های شاهد و تیمار متفاوت بود. بیان آن در گیاهان شاهد در دوره‌های زمانی ۲۸، ۳۰، ۳۲، ۳٤، ۳٦، ۳۸، ٤۰،٤۲، ٤٤، ٤٦، ٤۸، ٥۰ روزگی و در گیاهان تحت تیمار براسینواستروئید در ۲۸، ۳۰، ۳۲، ۳٤، ۳٦، ۳۸، ٤۰ روزگی، بررسی شد. نتایج حاصل از RT-PCR تکثیر قطعه‌ی ۲٦۸ نوکلئوتیدی را برای ژن *EvsAP1* و قطعه تقریبا ٥۰۰ نوکلئوتیدی را برای ژن مرجع *GAPDH* نشان داد. با توجه به نمو زودرس و تشکیل گل تحت اثر براسینواستروئید، شروع بیان از ۳٦ روزگی شروع شد، در حالی‌که در نمونه‌های شاهد از ٤٦ روزگی شروع شد. بیان در ٤٦، ٤۸ و٥۰ روزگی در نمونه های شاهد برابر با ۳٦، ۳۸ و٤۰ روزگی در نمونه‌های در معرض تیمار براسینواستروئید است که این زمان‌ها به‌ترتیب برابر با مرحله گذر، تشکیل جوانه (غنچه) گل و گل بالغ هستند. مطالعات میزان بیان ژن در این مراحل، تفاوت معنی‌داری را بین گروه شاهد و تیمار نشان نداد (شکل‌های ۲ و ۳). بنابراین، در گیاهان شاهد در ۲۸، ۳۰، ۳۲، ۳٤، ۳٦، ۳۸، ٤۰، ٤۲، ٤٤ روزگی که در مرحله رویشی بودند هیچ بیانی مشاهده نشد. در ٤٦ روزگی باند به نسبت کمرنگی (مرحله‌ی گذر) و در ٤۸ روزگی باندی درخشان مشاهده شد. در ٥۰ روزگی که گل‌های بالغ ظاهر شده‌اند باند درخشان تر از مراحل قبل مشاهده شد و همانطور که ذکر شد این باندها در گیاهان تیمار شده با براسینواستروئید بترتیب در ۳٦ (باند بسیار کمرنگ، مرحله‌ی گذر) ، ۳۸ (باند به نسبت درخشان، تشکیل غنچه گل) و٤۰ (باند درخشان، تشکیل گل بالغ) روزگی مشاهده شدند (شکل‌های ۲ و ۳).



شکل ۲ شدت نسبی بیان (میزان بیان) ژن *EvsAP1* در منداب (*Eruca sativa*) طی نمو در فاز رویشی و زایشی با استفاده از نرم‌افزار ImageJ. A، گیاهان شاهد، B، تیمار شده با براسینواستروئید، در فاز رویشی هیچ بیانی مشاهده نمی‌شود. بیان در ٤٦، ٤۸ و٥۰ روزگی در نمونه‌های شاهد برابر با ۳٦، ۳۸ و٤۰ روزگی در نمونه‌های در معرض تیمار براسینواستروئید است که این زمان‌ها به ترتیب برابر با مرحله

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-01-13]
[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.14.1.8.4]

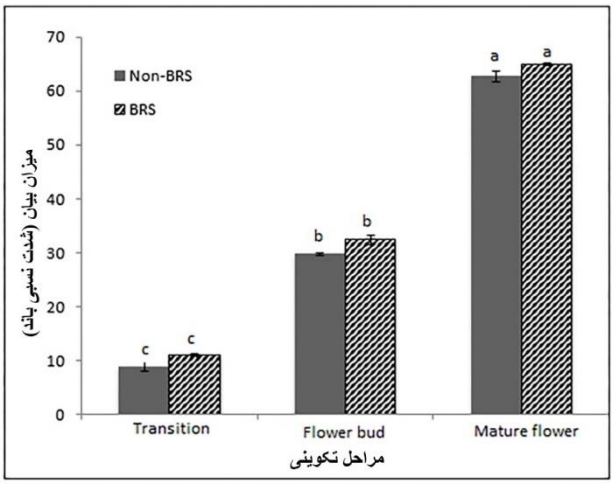
گذر، تشکیل جوانه (غنچه) گل و گل بالغ هستند. بیان ژن *GAPDH* به‌عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شده است.



شکل ۳ شدت نسبی بیان (میزان بیان) ژن EvsAP1 در منداب (*Eruca sativa*) طی نمو در فاز رویشی و زایشی با استفاده از نرم‌افزار ImageJ و آزمون دانکن، A. گیاهان شاهد، B. تیمار شده با براسینواستروئید، در فاز رویشی هیچ بیانی مشاهده نمی‌شود. بیان در ٤٦، ٤٨ و ٥٠ روزگی در نمونه‌های شاهد برابر با ٣٦، ٣٨ و ٤٠ روزگی در نمونه‌های در معرض تیمار براسینواستروئید است که این زمان‌ها به ترتیب برابر با مرحله گذر، تشکیل جوانه (غنچه) گل و گل بالغ هستند. برای هر آزمایش سه تکرار در نظر گرفته شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام گرفت و $P<0.05$ بیانگر اختلاف معنی‌دار است. میانگین‌های با حروف متفاوت، معنی‌داری را نشان می‌دهند.

مقایسه میزان شدت نسبی بیان این ژن در زمان‌های بیان شده یا دوره‌های نموی مختلف در گیاهان شاهد (٤٦، ٤٨ و ٥٠ روزگی) و تحت اثر براسینواستروئید (٣٦، ٣٨، ٤٠ روزگی)، تفاوت معنی‌داری نشان نداد (شکل ٤).

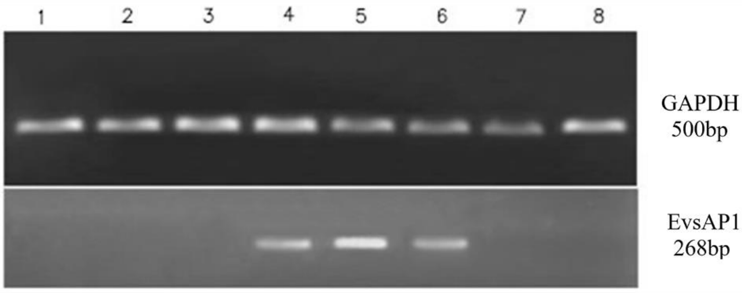
بیان EvsAP1 در بخش‌های مختلف گیاه در فاز زایشی بررسی شد. نتایج حاصل از RT-PCR تکثیر قطعه‌ی ٢٦٨ نوکلئوتیدی را برای ژن *EvsAP1* در برخی از اندام‌ها و قطعه تقریبا ٥٠٠ نوکلئوتیدی را برای ژن مرجع *GAPDH* در تمامی اندام‌ها، نشان داد. این ژن در غنچه گل، کاسبرگ و گلبرگ بیان می‌شود اما بیان آن در ساقه، ریشه، برگ، پرچم و مادگی مشاهده نشد (شکل‌های ٥ و ٦).



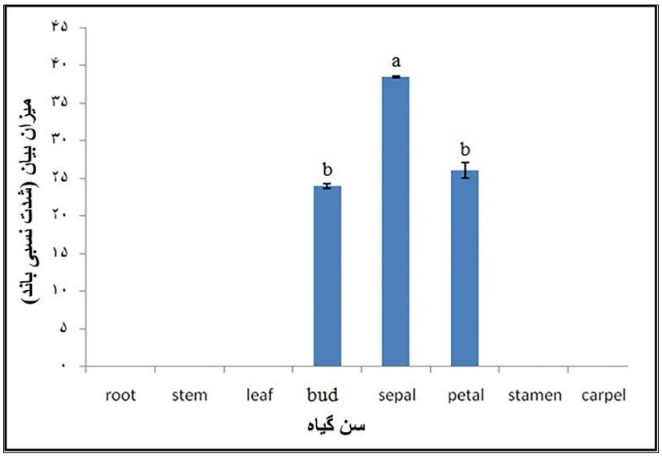
[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-01-13]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.14.1.8.4]

شکل ٤ مقایسه میزان بیان ژن *EvsAP1* در منداب در گیاهان گروه شاهد و تحت اثر براسینواستروئید از زمان شروع بیان این ژن (مرحله گذر) تا تشکیل گل بالغ. برای هر آزمایش سه تکرار در نظر گرفته شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام گرفت و $P<0.05$ بیانگر اختلاف معنی‌دار است. حروف مشابه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند.



شکل ٥. بیان ژن *EvsAP1* در اندام‌های مختلف در گیاه منداب (*Eruca sativa*). شماره های ١ تا ٨ به‌ترتیب عبارتند از: ریشه، ساقه، برگ، غنچه ی گل، کاسبرگ، گلبرگ، پرچم، مادگی. در تمامی واکنش‌ها بیان ژن *GAPDH* به‌عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شده است.



شکل ٦ بیان کمی و کیفی ژن *EvsAP1* در بخش‌های مختلف گیاه در مرحله‌ی زایشی درمنداب (*Eruca sativa*). برای هر آزمایش سه تکرار در نظر گرفته شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام گرفت و $P<0.05$ بیانگر اختلاف معنی‌دار است. حروف متفاوت نشانه معنی‌دار بودن و میانگین‌هایی با حروف مشابه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند.

٤-بحث و نتیجه‌گیری

گل به عنوان ساختار زایشی مؤثر، عامل اصلی موفقیت تکاملی گیاهان گل‌دار یا نهان‌دانگان است که بزرگ‌ترین گروه گیاهان را تشکیل می‌دهند. نمو گل به‌عنوان یک پدیده‌ی زیستی قابل اهمیت، در اثر بیان مجموعه‌ای از ژن ها اتفاق می‌افتد و گذر به گل‌دهی نیازمند فعال‌شدن مجموعه‌ای از ژن‌ها است که زمان گل‌دهی را تحت تأثیر قرار داده و قادر به کنترل ریخت‌شناسی گل و گل‌آذین هستند. با بیان این ژن‌های تنظیمی به‌نام ژن‌های تعیین هویت مریستم گل از جمله *FUL*، *AP1*، *LFY* در سلول‌های مریستم رأسی، مریستم را از حالت رویشی به حالت گل‌آذین (IM) تبدیل می‌کنند [١٧]. در سال‌های اخیر، ژن های هومولوگ *AP1* در بسیاری از گیا هان شناسایی شده‌اند که برای تنظیم نمو گل ضروری است که این مطلب به‌طور مثال در گل میمون و آرابیدوپسیس ثابت شده است. تحقیق روی مکانیسم مولکولی و کنترل ژنتیکی

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-01-13]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.14.1.8.4]

گل‌دهی در ارتولوگ‌های *AP1* آرابیدوپسیس، در دولپه‌ای های ا صلی که شامل اکثریت گونه‌های نهاندانگان هستند مشخص شده است که آن‌ها به‌صورت حفاظت شده وجود دارند و در تنوع ساختار گلپوش (دو حلقه‌ی بیرونی اندام های گل) در گیاهان گل‌دار نقش‌های مهمی ایفا می‌کنند [۱۸]. ژن *AP1* یک پروتئین MADS-box است و باعث تحریک گل‌دهی می‌شود. مهم ترین نقش *AP1*، به‌عنوان ژن کلاس A در تعیین هو یت مریستم گل و همچنین تعیین هویت دو حلقه‌ی بیرونی اندام‌های گل در مرحله‌ی گذر به گل‌دهی می‌باشد؛ از سویی یافته‌های اخیر نشان می د هد که *AP1* در بیان ژن های دخیل در بسیاری از فرایندهای سلولی و رشد از جمله پاسخ‌های هورمونی ایفای نقش می‌کند [۱۹].

بیان EvsAP1 از بخش های مورد مطالعه، تنها در غنچه گل، کاسبرگ و گلبرگ مشاهده شد. آزمایش‌های RT-PCR نشان می‌د هد که *CsAP1* (هومولوگ *AP1* در زعفران) در غنچه‌ی گل و گلبرگ و به‌میزان بیشتر در کاسبرگ بیان می‌شود. علاوه بر این، بیان *CsAP1* در پرچم و مادگی نیز دیده شده است [۲۰]. گزارشات ارائه شده در مورد آرابیدوپسیس [۵]، کلم (*Brassica oleraceae*) [۱۶]، گیلاس (*Crocus sativus*) [۸] و گل رز (*Rosa chinensis*) [۲]، نیز در غنچه‌ی گل، گلبرگ و به‌میزان بیشتر در کاسبرگ دیده شده است. به‌طور کلی اگرچه غنچه‌ی گل، کاسبرگ و گلبرگ مورد انتظارترین مکان برای بیان ژن *AP1* هستند، اما *PaAP1* که هومولوگ ژن *AP1* در گیلاس است، در همه‌ی اندام‌های گیاه بالغ در فاز زایشی به جز ریشه بیان می‌شود [۸]. با آنالیز بیان ژن *Ap1* در گونه‌ی گیاهی *Nelumbo nucifera* مشخص شده است که این ژن به‌طور مداوم طی تمایز اندام‌های گل و نیز در پریموردیوم پرچمی بیان می‌شود [۲۱]. بنابراین، بیان این ژن، در مراحل اولیه‌ی نمو گل دلالت بر آن دارد که این ژن در کنترل تعیین هویت مریستم گل و نیز شروع نمو اعضای زایشی، نقش عمده‌ای را ایفا می‌کند. از آنجایی که گذر به گل‌دهی به‌وسیله‌ی سیگنال‌های درونی و بیرونی و توسط مسیرهای ژنتیکی چندگانه زمان‌بندی می شود، نمو و ایجاد گل در گیاهان در زمان مشخص به خود اتفاق می افتد. اما مطالعات Jinhui و همکاران نشان داد زمانی که ژن هومولوگ *AP1* به گل داوودی انتقال می یابد، موجب تسریع فرایند گل‌دهی در این گیاه می‌شود [۲۲].

گیاهان توانایی بیوسنتز انواع زیادی از استروئیدهایی را دارند که عملکرد آن‌ها غالبا شبیه هورمون می‌با شد [۲۳]. براسینواستروئیدها گروهی از تنظیم‌کننده‌های گیاهی می‌باشند که در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی و رشد و تکامل طبیعی سلول‌ها و گیاه کامل مورد نیاز هستند. مطالعات جدید ثابت کرده ا ست که برا سینوا ستروئیدها از ترکیبات ضروری گیاه هستند. این ترکیبات در تمام بخش‌های گیاه مانند گرده، بساک، دانه، برگ، ساقه، ریشه و گل شناسایی شده‌اند. بیشترین غلظت آن‌ها در دانه گرده و دانه‌های نارس دیده شده است [۲٤].

در این مطالعه، اثر این هورمون باعث تحریک و تسریع گل دهی شد. مطابق نتایج، گیاهان تحت اثر برا سینوا ستروئید نسبت به گروه کنترل در حدود ۱۰ روز سریع‌تر وارد فاز زایشی شدند و دارای دوره رویشی کوتاه تری بودند. همچنین، اندازه گل و اندام‌های زایشی نسبت به گروه شاهد بزرگ تر شدند. از آنجایی که اثرات فیزیولوژیک براسینواستروئیدها بر رشد و تکامل گیاه موثر ا ست، می‌توان آن را به دو بخش اثرات در سطح سلول و اثرات در سطح گیاه کامل تقسیم کرد. اثرات در سطح سلول شامل تقویت رشد طولی و تقسیم سلولی، اثر برتعادل سایر تنظیم‌کننده های گیاهی، اثر بر فعالیت آنزیم‌ها، تحریک سنتز پروتئین، افزایش فتوسنتز و انتقال مواد ا ست. اثرات در سطح گیاه کامل شامل تقویت رشد، افزایش باروری، افزایش تعداد، ا ندازه و کیفیت میوه، افزایش محصول و بذر، افزایش مقاومت به تنش های

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-01-13]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.14.1.8.4]

زیستی و غیر زیستی می‌باشد [۱۲-۱۰]. با مطالعات روی گیاهان مشخص شده است که براسینواستروئید از طریق افزایش فعالیت اینورتاز[1] باعث افزایش سطح کربوهیدرات و جذب ساکارز می‌شود [۲۵]. اپی‌براسینولید با تنظیم متابولیسم قند از طریق افزایش فعالیت آنزیم اینورتاز و تقویت بیان ژن‌های کد کننده آنزیم‌های مربوطه باعث افزایش فتوسنتز می‌شود. تیمار ریشه‌های خیار با ۲۴- اپی‌براسینولید انتقال ساکارز از برگ اولیه به اپی‌کوتیل[2] را ترویج می‌دهد. گزارش شده است که ۲۴- اپی‌براسینولید باعث افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه کلزا شده است. اپی‌براسینولید با تنظیم متابولیسم قند و تقویت بیان ژن‌های کدکننده آنزیم‌های مربوطه باعث افزایش فتوسنتز می‌شود. در گیاه سویا اپی‌براسینولید با افزایش فعالیت روبیسکو موجب افزایش کارایی تثبیت کربن و با افزایش فعالیت سایر آنزیم‌های چرخه کلوین باعث افزایش سرعت بازسازی ریبولوز بیس فسفات و نیز با افزایش محتوای کلروفیل باعث بهبود فعالیت فتوسنتزی می‌شود [۲۶، ۲۷].

مطالعات نشان داده است که فیتوهورمون‌های مختلفی در تنظیم بیان ژن‌ها و گذر به گل‌دهی دخیل هستند. این یافته که جهش در گیرنده‌های براسینواستروئید منجر به تاخیر گل‌دهی می‌شود، اثر مثبت براسینواستروئیدها را روی زمان گل‌دهی نشان می‌دهد. تضعیف سیگنال‌های براسینواستروئید بیان ژن *FLC* را افزایش می‌دهد و گل‌دهی را به تاخیر می‌اندازد. نشان داده شده است که BRI1 و براسینواستروئیدها نقش مهمی را در تنظیم زمان گل‌دهی در آرابیدوپسیس ایفا می‌کنند. BRI1 یک گیرنده براسینواستروئید است که اثر منفی و بازدارندگی روی ژن *FLC* دارد و باعث کاهش بیان ژن FLC می‌شود. با کاهش بیان ژن FLC، ژن‌های تعیین هویت مریستم گل زودتر فعال می‌شوند و گذر به گل‌دهی انجام می‌شود [۱۲-۱۰، ۲۸]. سیگنال‌های براسینواستروئیدها اثر متقابلی با مسیر خودگردان دارند. ترکیب شدن bri1 با جهش‌یافته‌های ژن‌های مسیر خودگردان *ld* و *fca* منجر به تاخیر در گذر به گل‌دهی می‌شود. این تاخیر در گل‌دهی همراه با افزایش بیان سرکوب کننده گل‌دهی یعنی ژن *FLC* می‌شود. افزایش بیان ژن *FLC* منجر به کاهش بیان ژن‌های *SOC1*، *LFY* و *FT* می‌شود [۱۲-۱۰]. *AP1* یکی از ژن‌های دخیل در مرحله‌ی گذر و همچنین تعیین هویت مریستم گل می باشد و نقش مهمی را در مراحل اولیه نمو گل ایفا می‌کند. بنابراین BRI1 با اثر بازدارندگی روی *FLC* موجب می‌شود ژن‌های تعیین هویت مریستم گل فعال شده و گیاه سریع‌تر وارد فاز زایشی شود. بنابراین، چون *AP1* همانند *LFY* زودتر بیان شده و گیاه وارد فاز زایشی می‌شود. اگر چه بیان ژن *AP1* از طریق *LFY* کنترل می‌شود، اما به‌طور کامل به آن وابسته نیست و رونوشت‌های *AP1* درگل‌آذین جهش‌یافته‌های *lfy* قابل شناسایی هستند؛ در واقع عوامل متعدد دیگری در تنظیم بیان *AP1* دخالت دارند. مشخص شده است که در آرابیدوپسیس پروتئین FT، تحت دوره‌ی نوری روز بلند از برگ‌ها به سمت رأس شاخساره حرکت می‌کند و در آنجا با FLOWERING LOCUS D (FD) کمپلکس تشکیل می‌دهد. کمپلکس FT-FD به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم ژن‌های گل‌دهی از قبیل *AP1* را فعال می‌کند و سرانجام باعث تحریک گل‌دهی می‌شود [۴].

مطالعات نشان داده است بیان ژن *AP1* به تدریج پیش از شروع گل‌دهی افزایش می‌یابد و تا مراحل بعدی ریخت زایی گل (تشکیل کاسبرگ و گلبرگ) ادامه می‌یابد [۲۹]. مطالعات مروری انجام شده هیچ گزارش منتشر شده‌ای را در مورد اثر براسینواستروئید بر بیان ژن *AP1* نشان نداد. نتایج نشان داد که طی مراحل نموی در فاز رویشی، ژن

[1] Invertase
[2] Epicotyl

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-01-13]
[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.14.1.8.4]

EvsAP1 هیچ بیانی را ندارد. شروع بیان این ژن در مرحله گذر رخ داد. در مرحله زایشی، نتایج، نشان‌دهنده‌ی بیان این ژن در غنچه‌ی گل، کاسبرگ و گلبرگ و عدم بیان آن در پرچم و مادگی بود. علاوه بر این، در فاز زایشی، بیان این ژن در برگ، ساقه و ریشه مشاهده نشد. بنابراین، این الگوی بیانی می‌تواند تأیید کننده‌ی نقش این ژن در فرایند گل دهی باشد. شروع بیان *ژن EvsAP1*، که در مرحله‌ی گذر رخ می‌دهد و یکی از نشانه‌های گذر به فاز زایشی می‌باشد در گیاهان تحت اثر براسینواستروئید نسبت به گروه شاهد، ۱۰ روز زودتر مشاهده شد. به هرحال، میزان بیان این ژن در گروه کنترل و تحت اثر براسینواستروئید تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. بنابراین، به نظر می‌رسد که تیمار براسینواستروئید ارتباطی با میزان بیان ژن *EvsAP1* ندارد، اما بر زمان گذر به گل‌دهی و شروع بیان اثر دارد و آن‌ها را جلو می‌اندازد.

تشکر و قدردانی: این مقاله بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد سلولی تکوینی گیاهی دانشگاه شهید باهنر کرمان است که از بنیانگذاران دانشگاه مرحوم مهندس افضلی‌پور و خانم دکتر صبا و نیز حمایت‌های مختلف دانشگاه برای انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

۵-منابع

[1] Kim, D.H, Doyle, M.R, Sung, S., Amasino, R.M. (2009).Vernalization: winter and the timing of flowering in plants. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 25: 277-99.

[2] Han, Y., Tang, A., Yu, J., Cheng, T., Wang, J., Yang, W., et. al. (2019). RcAP1, a homolog of APETALA1, is associated with flower bud differentiation and floral organ morphogenesis in Rosa chinensis. Int J Mol Sci. 20 (14), 3557.

[3] Huijser, P., Schmid, M. (2011) The control of developmental phase transitions in plants. Development. 138(19):4117-29.

[4] Yamaguchi, N. (2021). LEAFY, a pioneer transcription factor in plants: A mini-review. Front. Plant Sci., 12, 1274.

[5] Mandel, M.A, Gustafson-Brown, C., Savidge, B., Yanofsky, M.F. (1992) Molecular characterization of the Arabidopsis floral homeotic gene APETALA1. Nature, 360(6401), 273-277.

[6] Sheikhbahaei, M., Rezanejad, F., Sasan, H. (2019). Sequencing and phylogenetic study of APETALA1 homologous gene in garden cress (Lepidium sativum L.), Nova Bio. Reperta. 5(4): 411-419.

[7] Irish, V.F. (2010) The flowering of Arabidopsis flower development. Plant J. 61(6):1014-28.

[8] Wang, J., Zhang, X., Yan, G., Zhou, Y., Zhang, K. (2013) Over-expression of the PaAP1 gene from sweet cherry (Prunus avium L.) causes early flowering in Arabidopsis thaliana. J. Plant Physiol.20-315:(3)170.

[9] Kim, T.W., Wang, Z.Y. (2010) Brassinosteroid signal transduction from receptor kinases to transcription factors. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 61:681-704.

[10] Li, Z., He, Y. (2020) Roles of brassinosteroids in plant reproduction. Inter. J. Mol. Sci. 21(3), 872.

[11] Vardhini, B.V., Rao, S.S.R. (2002) Acceleration of ripening of tomato pericarp discs by brassinosteroids. Phytochemistry 61(7):843-7.

[12] Domagalska, M.A., Schomburg, F.M., Amasino, R.M., et al. Attenuation of brassinosteroid signaling enhances FLC expression and delays flowering. Development 134(1):2841-50

[13] Morales, M., & Janick, J. (2002). Arugula: A promising specialty leaf vegetable. Reprinted from: Trends in new crops and new uses.

[14] Rezanejad, F., Ebolhassani, E., Sheikhbahaei, M. H. (2022). Identification, sequencing and phylogeny of APETALA1 ortholog gene (AP1) in Eruca sativa (Brassicaceae). Quat. J. Dev. Biol. 14: Accepted

[15]Spehia, R. S., Devi, M., Singh, J., Sharma, S., Negi, A., Singh, S., ... & Sharma, J. C. (2018). Lettuce growth and yield in hoagland solution with an organic concoction. Int. J. Veg. Sci., 24(6), 557-566.

[16] Ganjalikhani, H. F., Rezanejad, F., Asadi Khanouki, M. (2020). Identification and the survey of gene expression CURLY LEAF homologous during developmental stages in vegetative and reproductive organs of Brassica nigra L. Cel. Mol. Res. (Iranian J. B.), 33(3), 456-467.

[17]Wang, J. W. (2014). Regulation of flowering time by the miR156-mediated age pathway. J. Exp. Bot. 65:4723-4730

[18] Litt, A., Irish, V.F. (2003) Duplication and diversification in the APETALA1/FRUITFULL floral homeotic gene lineage: implications for the evolution of floral development. Genetics 165(2):821-33.

[19] Wellmer, F., Riechmann, J.L. (2010) Gene networks controlling the initiation of flower development. Trends Genet. 2010;26(12):519-27.

[20]Tsaftaris, A.S, Pasentsis, K., Iliopoulos, I., Polidoros, A.N.(2004) Isolation of three homologous AP1-like MADS-box genes in crocus (Crocus

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-01-13]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.14.1.8.4]

sativus L.) and characterization of their expression. Plant Sci. 166(5):1235-43.

[21] Kong, D. Z., Shen, X. Y., Guo, B., Dong, J. X., Li, Y. H., & Liu, Y. P. (2015). Cloning and expression of an APETALA1-like gene from Nelumbo nucifera. Genet. Mol. Res., 14(2), 6819-6829.

[22] Jinhui, L., Yueliang, W., & Lei, S. (2007). Genetic transformation of Chrysanthemum morifolium cv.Yu Ren Mian'with AP1 gene mediated by Agrobacterium tumefaciens. Sci. Sin., 43(9), 128.

[23] Haubrick, L., Assmann, S. (2006) Brassinosteroids and plant function: some clues, more puzzles. Plant, cell & environ. (3):446-57.

[24] Kim, T. W., & Wang, Z. Y. (2010). Brassinosteroid signal transduction from receptor kinases to transcription factors. Annu. Rev. Plant Biol., 61(1), 681-704.

[25] Goetz, M., Godt, D. E., & Roitsch, T. (2000). Tissue- specific induction of the mRNA for an extracellular invertase isoenzyme of tomato by brassinosteroids suggests a role for steroid hormones in assimilate partitioning. Plant J., 22(6), 515-522.

[26] Zhang, M., Zhai, Z., Tian, X., Duan, L., & Li, Z. (2008). Brassinolide alleviated the adverse effect of water deficits on photosynthesis and the antioxidant of soybean (Glycine max L.). Plant Growth Regul., 56(3), 257-264.

[27] Nakajima, N., & Toyama, S. (1999). Effects of epibrassinolide on sugar transport and allocation to the epicotyl in cucumber seedlings. Plant Prod. Sci., 2(3), 165-171.

[28] Morales, M., Janick, J. (2002) Arugula: A promising specialty leaf vegetable. Reprinted from: Trends in new crops and new uses

[29] Sridhar, V.V, Surendrarao, A., Liu, Z. (2006). APETALA1 and SEPALLATA3 interact with SEUSS to mediate transcription repression during flower development. dev., 133(16):3159-66.

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-01-13]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.14.1.8.4]

Effect of brassinosteroids on flowering and expression levels of APETALA1 (AP1) gene in different organs of *Eruca sativa*

Farkhondeh Rezanejad*1, Elahe Abolhassani2, Farzad Ganjalikhani Hakemi3

1. Professor, Department of Biology, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.
2. MSc graduate, Department of Biology, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.
3. PhD student, Department of Biology, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

frezanejad@uk.ac.ir

Receipt: 2022/04/11 Accepted: 2023/01/22

Abstract

Flowering transition is one of the most important developmental processes of higher plants, which is controlled by endogenous and external environmental signals. These signaling cues are perceived in leaves and shoot apical meristem (SAM) to induce flower formation. APETALA1 (AP1) is one of floral meristem identity genes that regulate the specification and formation of floral meristems and is required for sepals and petals formation. In this study, the expression of this gene in different organs of *Eruca sativa* as well as the effect of brassinosteroids (BRs) on flowering and the gene expression was investigated. RNA was extracted from different organs and first-strand cDNA was synthesized. Specific primers were designed based on the sequence alignment of AP1 isoform genes from other plants. In the vegetative stage, no expression was observed in different organs. Brassinosteroid treatment from 28 days (vegetative stage) to flower buds formation caused early flowering, so that the treated plants flower about 10 days earlier than the control. In addition, plant size and its organs were larger in plants treated with brassinosteroids. Evaluation of EvsAP1 gene expression in reproductive phase showed its expression in flower buds, sepals and petals but no was seen in roots, stems, leaves, stamen and gynocium. Also, the onset of expression of this gene was observed earlier, indicating that the transition to flowering and flower bud formation occurs faster in treated plants; therefore, expression occurs earlier. However, expression levels did not affected by brassinosteroids and no significant difference was observed between treated and control samples.

Keywords: Flower bud, adult flower, Arugula, vegetative period

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-01-13]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.14.1.8.4]