دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

بررسی و مقایسه بیان ژن‌های ژرماکرن A سنتتاز (TpGas) و پارتنولید سنتتاز (TpPTs) در مسیر بیوسنتزی پارتنولید تحت سطوح مختلف شوری در دو مرحله رویشی برگ‌های گیاه بابونه کبیر (*Tanacetum parthenium*)

منصوره احمدی لیوانی[۱]، لطیفه پوراکبر[۲]، آرین ساطعی[۳]، مهدی عبادی[۴] و ابوالقاسم محمدی[۵]

۱- دانشجوی دکترای فیزیولوژی گیاهی گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه
۲- دانشیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، (نویسنده مسوول: l.pourakbar@urmia..ac.ir)
۳- دکترای فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۴- دکترای شیمی تجزیه گرایش الکتروشیمی، دانشگاه گرگان
۵- دکترای ژنتیک دانشگاه، علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
تاریخ دریافت: ۹۸/۹/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۲/۱۰
صفحه: ۱۸۴ تا ۱۹۱

چکیده

بابونه کبیر (*Tanacetum parthenium*) از خانواده آستراسه که در قدیم با عنوان داروی تب‌بر استفاده می‌شد و مهمترین ماده تشکیل دهنده آن پارتنولید یک سزکوئی ترپن لاکتون‌ها است. پارتنولید یک ژرماکرانولید لاکتون است، که به علت ارزش دارویی و فعالیت فارماکولوژی، عامل پیشگیری کننده میگرن بوده و در معالجه سرطان بسیار مهم است. این تحقیق به منظور مطالعه تغییرات بیان ژن‌های مسیر بیوسنتزی پارتنولید، ژرماکرن A سنتتاز (GAS) و پارتنولید سنتتاز (PTS) گیاه بابونه کبیر به روش روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی (Real Time PC) در سطوح مختلف شوری (شوری صفر EC=3.2، شوری ملایم EC=6.1، شوری متوسط EC=8.4 و شوری شدید EC=10.2) انجام شد و همچنین میزان پارتنولید تولید شده در برگ‌های جوان و بالغ گیاه با روش عصاره‌گیری HPLC به وسیله منحنی استاندرد پارتنولید و درصد اسانس توسط دستگاه GC/MS سنجیده شد. نتایج نشان داد که بیان ژن‌های مورد مطالعه در برگ‌های جوان و بالغ گیاهان تحت تنش شوری نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت. بیشترین میزان بیان ژن (TpPTS) در برگ‌های جوان در شرایط شوری شدید (Ec=۱۰/۲) و در برگ‌های بالغ هم در شوری شدید (Ec=۱۰/۲) و هم در شوری متوسط (Ec=۸/٤) مشاهده شد. بیشترین میزان بیان ژن TpGAS در برگ‌های جوان و بالغ مربوط به تیمارهای شوری شدید و متوسط بود. همچنین باتوجه به نتایج به دست آمده، بیشترین میزان پارتنولید در برگ‌های جوان به ترتیب در شرایط تیمار شوری شدید (۱/۵ میلی گرم در گرم اسانس) و کمترین آن در نمونه شاهد ۰/۲ میلی‌گرم در گرم اسانس مشاهده شد. در برگ‌های بالغ نیز بیشترین میزان تولید پارتنولید مربوط به تیمار شوری شدید (۱/۱۸ میلی‌گرم در گرم اسانس) و کمترین مربوط به شاهد(۰/۱ میلی گرم در گرم اسانس) گزارش گردید. نتایج همبستگی بین ژن‌های ژرماکرن A سنتتاز و پارتنولید سنتتاز با میزان پارتنولید نشان داد که همبستگی مثبتی بین ژن‌های ژرماکرن A سنتتاز و پارتنولید سنتتاز با میزان پارتنولید وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: گیاهان دارویی، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی، HPLC، اسانس

مقدمه

یکی از محورهای اصلی قابل دسترس در زمینه افزایش صادرات غیرنفتی، توسعه کشت و کار گیاهان دارویی و صنعتی است. گیاهان دارویی از ارزش و اهمیت خاصی در تأمین بهداشت و سلامتی جوامع هم از نظر درمان و همچنین پیشگیری از بیماریها برخوردارند (۷،۲،۴). در حال حاضر استفاده از داروهای سنتی در کشورهای در حال توسعه ۸۰ درصد مردم را تشکیل می دهد (۲۰،۱۹). افزایش جمعیت و نیاز صنایع داروسازی به گیاهان دارویی به عنوان مواد اولیه تولید دارو و همچنین اهمیت مواد مؤثره آن‌ها در صنایع مختلف، سبب توسعه کشت و تولید گیاهان دارویی شده است. یکی از مهمترین زمینه‌های تحقیقی در مورد گیاهان دارویی، بررسی شرایط مختلف محیطی تأثیرگذار بر میزان عملکرد کمی و کیفی این گیاهان است. شاید بتوان گفت یکی از مهمترین دغدغه‌های تولید کنندگان گیاهان دارویی علاوه بر میزان کمی محصول، کیفیت آن است. از آنجا که هدف نهایی از کشت گیاهان دارویی، استفاده از مواد مؤثره موجود در آن‌ها است و ً هرچه مقدار مواد مؤثره و متابولیت‌های ثانویه در واحد وزن گیاه بیشتر باشد، از نظر اقتصادی با ارزش‌تر خواهد بود (۹). شوری یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده رشد و تولید گیاهـان در سراسر دنیاست (۱۳،۱۴).

گیاهان خانواده آستراسه (Astracae) بزرگترین خانواده گیاهان گلدار هستند، که در گذشته و امروزه به عنوان گیاهان دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱). بابونه کبیر دارای فعالیت فارماکولوژی مانند ضدسرطان، ضدالتهاب و ضداسپاسم است این گیاه به عنوان یک دارو در طب سنتی که به خصوص برای کاهش تب و همچنین به عنوان دفع حشرات استفاده می‌شد (۸). ترپن‌ها دسته‌ای از مواد آلی هستند که در طبیعت به گستردگی فراوانی دارند. اکثرا در گیاهان به عنوان جز اصلی اسانس‌ها می‌باشند. سزکویی ترپن‌ها که از سه واحد ایزوپرن تشکیل شده است و فرمول مولکولی آن $C_{15}H_{24}$ می‌باشد. و باعث واکنش‌های حساسیتی (آلرژی) می‌شود. در خانواده آستراسه به فراوانی یافت می‌شوند و از نظر بیولوژیکی قابل توجه می‌باشند. پارتنولید یک ژرماکرنولئید از سزکوئی‌ترپن لاکتون‌ها است که یکی از ترکیبات اصلی و مهم برگ‌های بابونه کبیر می‌باشند (۶).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-02]
[DOI: 10.29252/jcb.12.33.184]

بیش از 12 درصد سزکوئی ترپن‌های بابونه کبیر را پارتنولید تشکیل می‌دهد و به عنوان مهم‌ترین ماده موثره این گیاه است که دارای فعالیت بیولوژیکی بسیاری می‌باشد (5). این ترکیب به علت ارزش پزشکی بالاو فعالیت فارماکولوژی که دارد، به عنوان عامل پیشگیری کننده میگرن و همچنین معالجه سرطان (6،19،۴) مسئول بیوسنتز ترپن‌ها در دو مسیر در پلاستید گیاهان مسیر متیل اریترول فسفات (MEP[1]) و در سیتوسول مسیر موالونیک اسید (MVA[2]) است بسیار مورد توجه قرار گرفته است (13،20). بسیاری از محققین هر دو عامل ژنتیک و محیط را در میزان مواد موثره فعال گیاهان دارویی (فنل، فلاونوئید، آلکالوئید ترپن) موثر می‌دانند (15،12). طبق نتایج Majdi و همکاران (9) در گیاه بابونه کبیر، بیشترین مقدار پارتنولید به ترتیب در گل، برگ و ساقه گیاه گزارش شد. و پارتنولیدی در ریشه بابونه کبیر تعیین نشد. همچنین عنوان شد که بیان ژن TpGAS دقیقاً در ارتباط با بیوسنتز پارتنولید است و بالاترین بیان ژن TpGAS در گل‌ها و کرک‌های ترشحی مشاهده شد و تمرکز پارتنولید در کرک‌ها نشان داد که کرک‌ها مکان ویژه‌ای برای سنتز و اسیمیلاسیون پارتنولید هستند. تحقیقات منصوری و همکاران (10) بر روی بیان ژن‌های بیوسنتزی مسیر پارتنولید در گیاه بابونه تحت تنش شوری نشان داد که شوری موجب افزایش بیان ژن‌های ژرماکرن A سنتتاز (TpGAS) و پارتنولید سنتتاز (TpPTS) نسبت به شاهد گردیده است. هدف از این تحقیق بررسی الگوی بیان ژن بر روی دو ژن کلیدی بیوسنتز پارتنولید (GAS) و (PTS) در برگ‌های مربوط به مرحله رویشی تحت تنش شوری در 4 سطوح مختلف (بدون تنش، ملایم، متوسط و شدید) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تیمار شوری و بیان ژن

این تحقیق به منظور بررسی اثر سطوح مختلف تنش شوری بر بیان دو ژن درگیر در مسیر بیوسنتزی پارتنولید در گیاه بابونه کبیر در سال 1395 در گلخانه به دو صورت در گلدان و زمین دانشگاه آزاد اسلامی گرگان انجام شد. تیمار شامل تنش شوری در چهار سطح (شوری صفر EC=3.2 (دسی زیمنس بر متر) ، شوری ملایم EC=6.1، شوری متوسط EC=8.4 و شوری شدید EC=10.2) بود با 3 تکرار اجرا گردید. بذر بابونه کبیر از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید و در گلدان‌های پلاستیکی با بستر کشت شامل ماسه، خاک برگ، کود حیوانی، خاک مزرعه انتقال یافت. در اوایل مرحله رویشی اعمال تنش شوری در چهار سطح (بدون تنش و تنش ملایم، تنش متوسط و تنش شدید) بود. که اعمال تنش به صورت یک روز در میان بود. بعد از گذشت 30 روز اعمال تنش، نمونه‌برداری از برگ‌های جوان و بالغ در اواخر شهریور انجام شد و نمونه‌های برگی در فریزر $80^{o}C$- نگهداری شدند. با توجه به اطلاعات ژنومی موجود در NCBI، به عنوان ژن های خانه دار برای گیاه بابونه کبیر با استفاده از نرم افزار BatchPrimeer3(http://probes.pw.usda.gov/batchprimer3/) طراحی (18) و توسط شرکت سیناژن ساخته شد (جدول 1). این پرایمرها از نظر تکثیر اختصاصی ژن‌های مزبور در بانک اطلاعاتی NCBI و به کمک Primer BLAST مورد بررسی و تایید قرار گرفتند و عملکرد آن‌ها با PCR نیز بررسی شد. برای انجام واکنش Real Time PCR از دستگاه Step-one شرکت ABI استفاده شد. هر مرحله تکثیری کامل توسط یک مرحله تفکیک که شامل $95^{o}C$ به مدت 5 دقیقه و 45 سیکل به صورت $95^{o}C$به مدت 15 ثانیه، $60^{o}C$ به مدت 60 ثانیه اجرا گردید. پس از اتمام چرخه‌های PCR منحنی ذوب با برنامه دمای $0/3^{o}C$ در هر چرخه و بین دمای $95^{o}C$-65 به منظور بررسی اختصاصی واکنش، PCR گردید.

نرخ بیان ژن‌های مورد مطالعه با استفاده از روش دلتا دلتا محاسبه شد. بر این اساس، ابتدا هر نمونه میانگین دوره آستانه ΔCT (حاصل از دو تکرار محاسبه) سپس همین عمل برای ژن‌های خانه‌دار(House Keeping) مربوط به هر نمونه اجرا شد و در نهایت میزان بیان ژن موردنظر با استفاده از فرمول زیر به دست آمد:

$$\text{Gene expression: } 2^{-\Delta CD\ (\text{House-Keeping Gene}) - \Delta CT\ (\text{Target Gene})}$$

همچنین برای شناسایی و تعیین درصد پارتنولید عصاره از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) استفاده شد. دستگاه HPLC مذکور دارای ستون Agilent zorbox xDB C_{18} (طول: 150 میلیمتر: قطر:4/6 میلیمتر) و Agilent 1200 series پمپ VWD agilent 1200, 210nm دتکتور می‌باشد. همچنین فاز متحرک با نسبت 60 به 40 به ترتیب آب و اتانول تهیه شد و با جریان 1ml/min وارد ستون گردید. بدین منظور 4 گرم از پودر خشک شده برگ‌های بابونه کبیر (برگ‌ها به مدت یک هفته در فضای آزاد و سایه خشک شدند) به مدت 24 ساعت درون دستگاه سوکسله قرار داده شد. در قسمت بالن دستگاه از 450 میلی لیتر پترلیوم اتر استفاده نموده و دما را بین ^{o}C 50-40 تنظیم کرده بعد از 24 ساعت، نتیجه استخراج را در روتاری در شرایط خلا و دمای 40 درجه به مدت 2 ساعت خشک نموده تا حلال پترلیوم اتر بخار شود و ماده استخراجی غلیظتر شود. عصاره استخراج شده با 20 سی‌سی استونیتریل حل نموده و با فیلتر 0/45 میکرومتر فیلتر کرده و بعد به دستگاه HPLC تزریق شد (5). بررسی آماری داده ها با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین داده ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن با نرم‌افزار spss 16 (نسخه Statistics) صورت گرفت. همبستگی میان مقدار پارتنولید و بیان ژن‌های TpGas و TpPTs با استفاده از آزمون پیرسون انجام شد.

اسانس‌گیری و روش استخراج:

در این آزمایش مقدار 100 گرم نمونه خشک شده از برگ گیاه هرقسمت از بابونه کبیر را وزن کرده و با استفاده از دستگاه اسانس‌گیری فارماکوپه به روش تقطیر با آب به مدت یک ساعت مورد اسانس‌گیری قرار دادیم. دبی آب خنک‌کننده 5 میلی‌لیتر در دقیقه محاسبه گردید و اسانس به صورت مخلوط با آب بود که بوسیله حلال (دی اتیل اتر) از آب جدا گردید و با راندمان 0/65 درصد بدست آمد (21).

1- Metil Eritrol Phosfate

2- Movalonic Acid

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.29252/jcb.12.33.184]

کروماتو گراف گازی (GC): مشخصات دستگاه شامل: ستون موئینه با نام تجاری DB-5 ساخت شرکت J&W به طول 30 متر و قطر داخلی 0/25 میلی‌لیتر که سطح داخلی آن با فاز ساکن از جنس 5.Dimethylsiloxane درصد phenyl به ضخامت 0/25 میکرون پوشیده شده است.
برای برنامه‌ریزی ستون: از دمای اولیه 60°C تا دمای نهایی 210°C استفاده شد که در هر دقیقه 3°C به آن افزوده می‌شد و سپس از دمای 210-240°C با سرعت 20 درجه در دقیقه و توقف در این دما به مدت 8/5 دقیقه انجام شد. آشکارساز و درجه حرارت آن، FID در دمای 280°C، حرارت محفظه تزریق، 300°C، نوع گاز حامل و فشار ورودی آن به ستون، هلیوم با درجه خلوص 99/999 درصد بود که فشار ورودی آن به ستون برابر 1/5 کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع تنظیم شد.

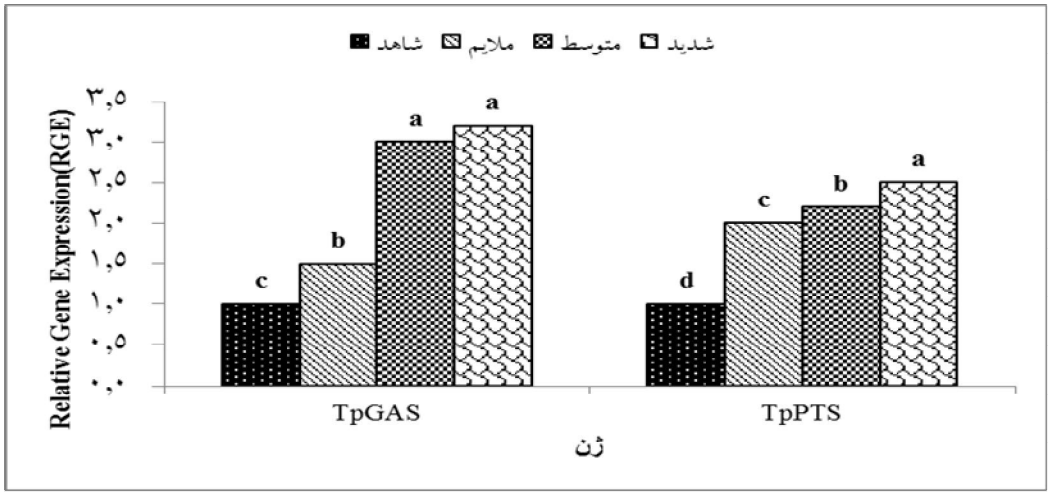
جدول 1- توالی آغازگرهای استفاده شده برای ژن‌های TpPTs و TpGas در *T. parthenium*
Table1. Primer pairs used to clone in Tp(PTS) and TpGAS in *T. parthenium*

ژن	توالی آغازگر	
Tp(PTS)	Forward primer:	AGACATTACGTTTACACCCTCCCG
	Reverse primer:	ATCACGACACAAGTCCCAGGG
TpGAS	Forward primer:	TGCTATCTCGGGTACTTTCAAGG
	Reverse primer:	TTCTCCTCTTATTCTCAACTGTGCG

دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS):
دستگاه گاز کروماتوگراف مدل Varian 3400 متصل شده به دستگاه طیف سنج جرمی مدل Saturn II، و ستون مورد استفاده همانند ستون مورد استفاده در دستگاه GC با فشار گاز سرستون 35 Psi، انرژی یونیزاسیون معادل 70 الکترون ولت بود. درجه حرارت ستون 40 تا 250 درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش 4 درجه سانتی‌گراد در دقیقه، درجه حرارت محفظه تزریق 260 درجه سانتی‌گراد و دمای ترانسفرلاین 270 درجه سانتیگراد تنظیم گردید. شناسایی طیف‌ها با استفاده از کروماتوگرام‌های بدست آمده از GC روی دو ستون DB–wax و DB-1 و به کمک شاخص‌های بازداری کواتس (7، 12، 16) و مقایسه آن‌ها با شاخص‌های بازداری استاندارد که در منابع مختلف منتشر گردیده است، انجام و مطالعه طیف‌های جرمی با مقایسه طیف جرمی ترکیب‌های استاندارد، استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه ترپنوئیدها در کامپیوتر دستگاه GC/MS تأیید گردیدند. محاسبات کمی (تعیین درصد هر یک از ترکیبات) به کمک داده پرداز Chromatopac C–R3A به روش نرمال کردن سطح 1 و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ 2 مربوط به طیف‌ها انجام شد.

نتایج و بحث

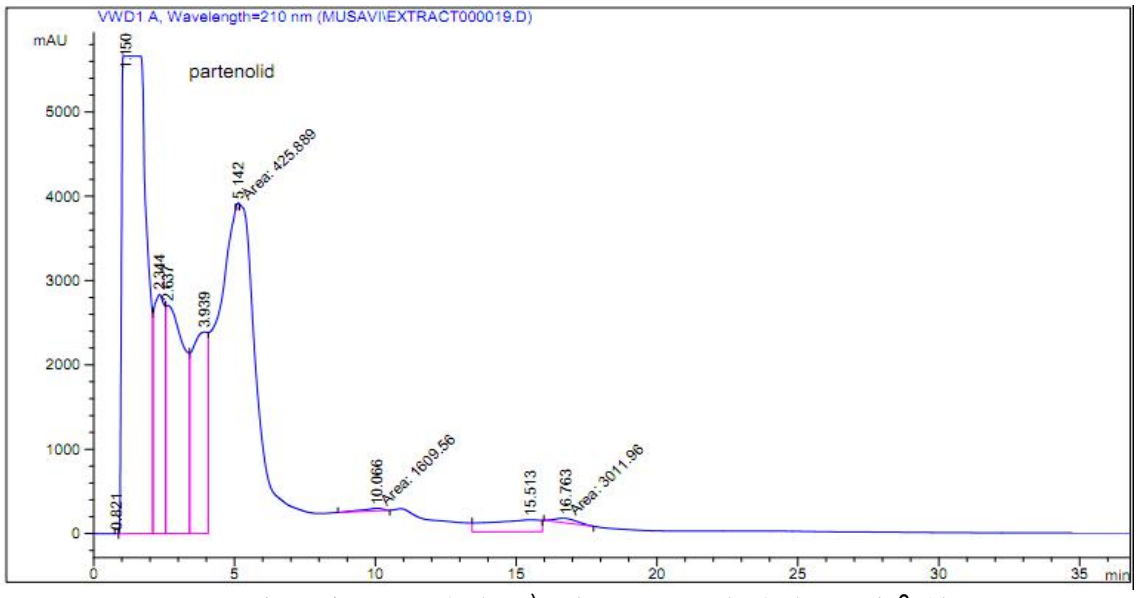
نتایج بررسی میزان بیان ژن‌های مسیر بیوسنتزی پارتنولید سنتتاز (TpPTS) و ژرماکرن A سنتتاز (TpGAS) در برگ‌های جوان بابونه کبیر نشان داد که بین تیمارهای مختلف (سطوح مختلف شوری) در سطح 1 درصد از نظر آمای تفاوت معنی‌داری وجود دارد. بیان ژن‌های TpPTS و TpGAS در برگ‌های جوان تحت سطوح مختلف شوری (ملایم، متوسط و شدید) نسبت به شاهد افزایش معنی داری را نشان داد. بیشترین میزان بیان ژن‌های TpGAS مربوط به تیمار شوری شدید (EC=10.2) و بیشترین میزان بیان ژن TpPTS مربوط به تیمارهای شوری متوسط و شدید بود (شکل 1).



شکل 1- الگوی بیان ژن‌های Tp PTS وTp GAS در مسیر بیوسنتزی پارتنولید در برگ‌های جوان بابونه کبیر (مرحله اول رویشی)
Figure 1. Expression pattern of TpPTS and TpGAS gene in biosynthetic pathway of Parthenolide in young leaves of Feverfew (first vegetative stage) under salinity stress.

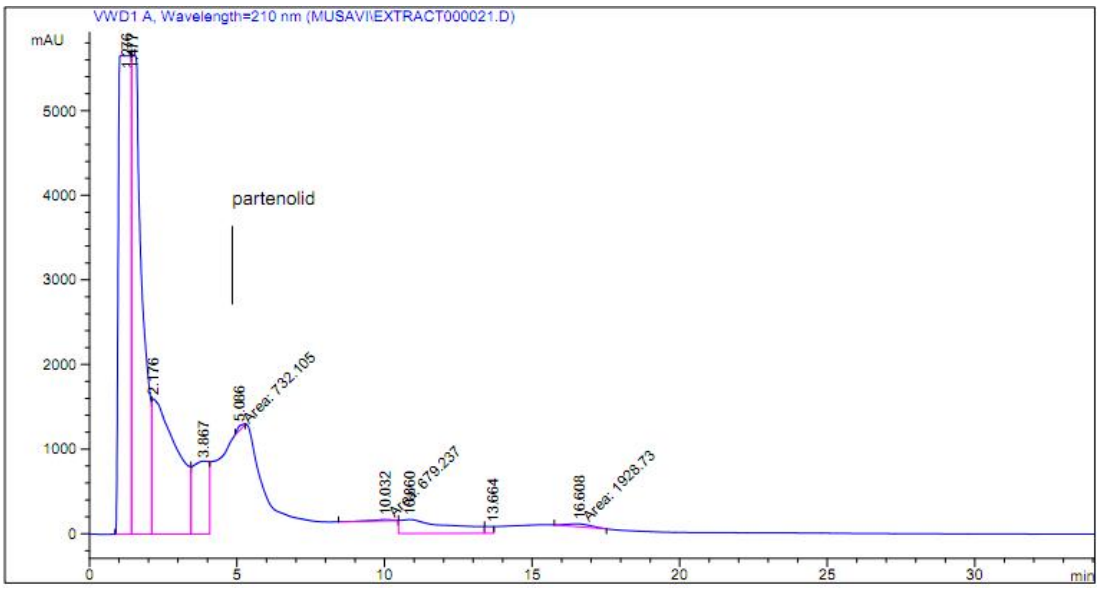
[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-02]
[DOI: 10.29252/jcb.12.33.184]

با توجه به نتایج حاصل از دستگاه HPLC، بیشترین میزان ماده موثره پارتنولید در برگ‌های جوانی که تحت تاثیر تنش شدید شوری (EC=10.2) بودند، مشاهده شد (0/53میلی‌گرم در گرم اسانس) و کمترین میزان پارتنولید مربوط به شاهد بود (0/2میلی گرم در گرم اسانس) (شکل 2 و 5). همچنین اختلاف معنی‌داری در میزان پارتنولید در برگ‌های جوان تحت تنش ملایم (EC=6.1) و تنش متوسط (EC=8.4) مشاهده نشد و میزان پارتنولید به ترتیب 0/30 میلی‌گرم در گرم اسانس و 0/35میلی گرم در گرم اسانس بود (شکل 3 و 4).



شکل 2- کروماتوگرام طیف اسانس برگ بابونه کبیر (بدون اعمال تنش شوری) در دستگاه HPLC

Figure 2. Chromatogram obtained from injection of Feverfew leaf Essence (No salt stress) in HPLC

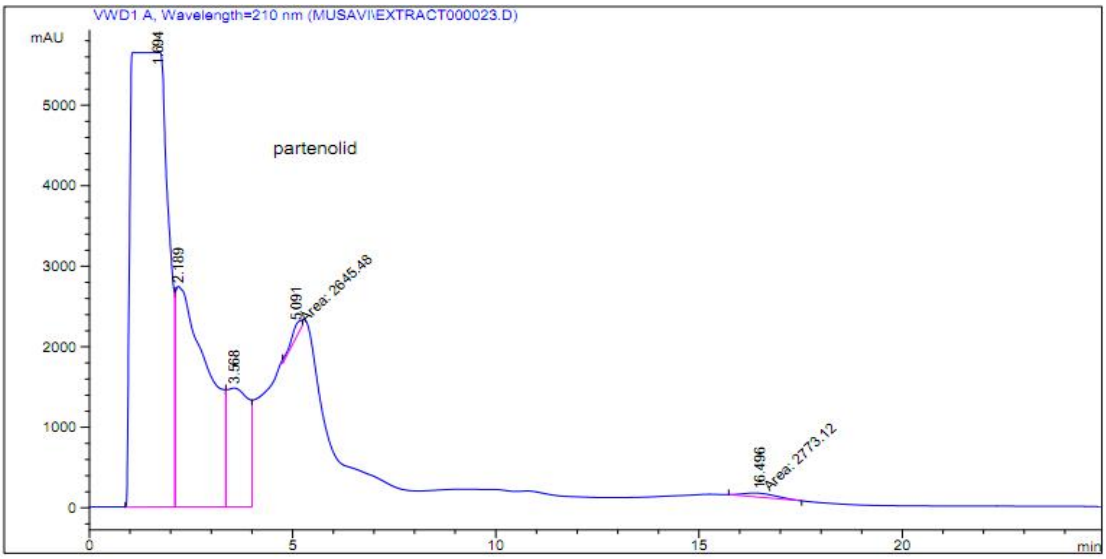


شکل 3- کروماتوگرام طیف اسانس برگ بابونه کبیر تحت تنش شوری ملایم در دستگاه HPLC

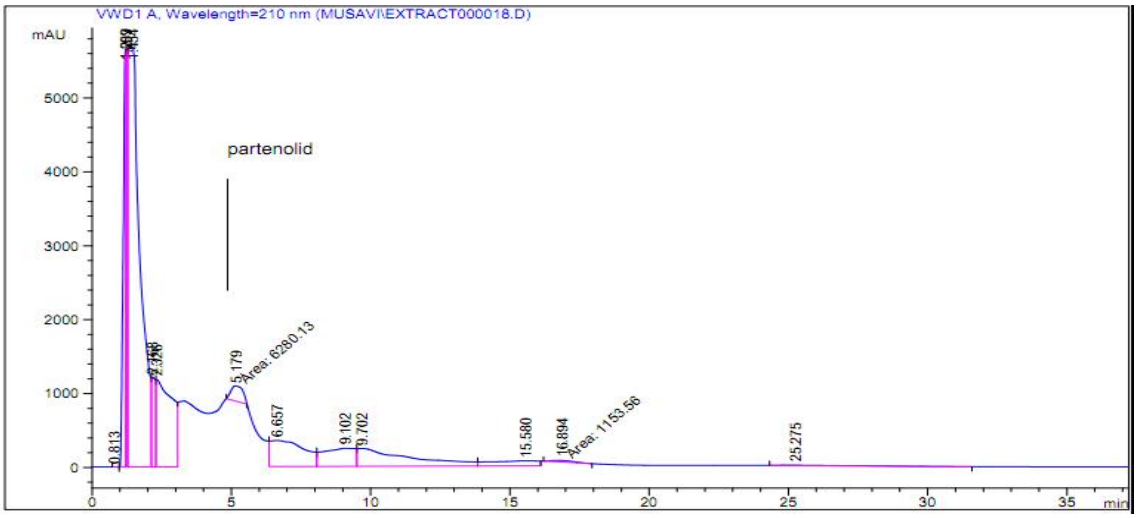
Figure 3. Chromatogram obtained from injection of Feverfew leaf Essence under mild salinity stress in HPLC

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-02]

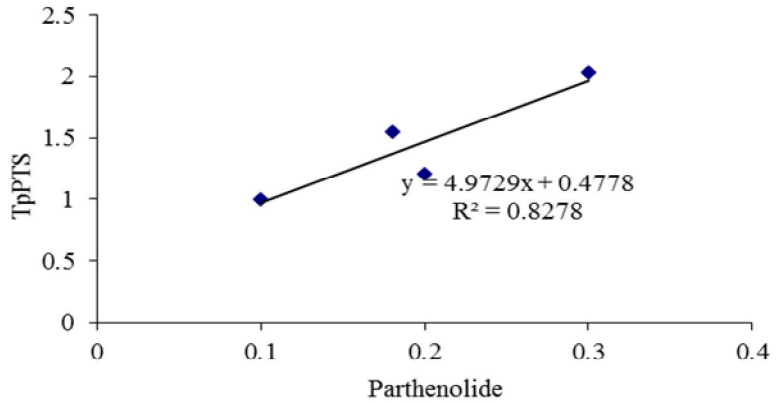
[DOI: 10.29252/jcb.12.33.184]



شکل 4- کروماتوگرام طیف اسانس برگ بابونه کبیر تحت تنش شوری متوسط در دستگاه HPLC
Figure4. Chromatogram obtained from injection of Feverfew leaf Essence under moderate salinity stress in HPLC



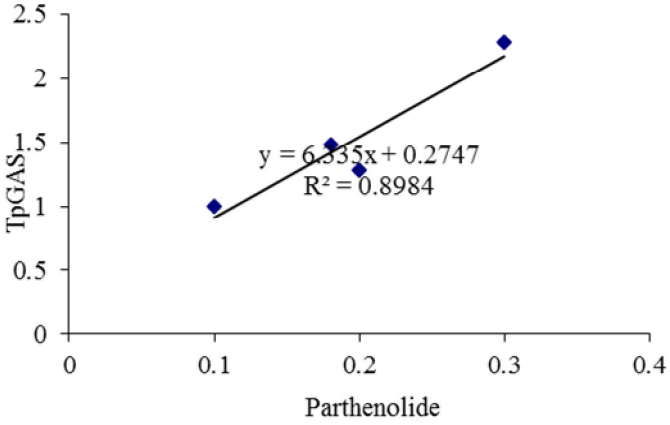
شکل 5- کروماتوگرام طیف اسانس برگ بابونه کبیر تحت تنش شوری شدید در دستگاه HPLC
Figure 5. Chromatogram obtained from injection of Feverfew leaf extract under severe salinity stress in HPLC



شکل 6- نمودار همبستگی پارتنولید با ژن TpPTS مرحله اول
Figure 6. Parthenolide correlation with TpPTS gene in first step

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.29252/jcb.12.33.184]



شکل 7- نمودار همبستگی پارتنولید با ژن TpGAS مرحله اول
Figure 7. Parthenolide correlation with TpGAS gene in first step

در تحقیق حاضر، روند تغییرات میزان بیان ژن با روند تغییرات میزان پارتنولید تولید شده در برگ‌ها مطابقت داشت، به طوری که بیشترین میزان بروز ژن مربوط به شوری شدید (Ec=10.2) و بیشترین مقدار پارتنولید تولید شده در برگ نیز در همین تیمار مشاهده شد و همبستگی مثبت بین بیان ژن‌های TpGAS و TpPTS و مقدار پارتنولید وجود داشت. بنابراین تنش شوری به عنوان القا کننده باعث افزایش بیان ژن‌های ژرماکرن A سنتتاز (TpGAS) و پارتنولید سنتتاز (TpPTS) و افزایش پارتنولید در گیاه بابونه کبیر می‌شود. محققین زیادی میزان مواد موثره فعال گیاهان دارویی (فنل، فلاونوئید، آلکالوئید ترپن) را به عوامل ژنتیک و محیط مربوط نمودند که میزان آن‌ها و عملکردهای دارویی آن‌ها نیز در رویشگاه‌های مختلف متغیر گزارش شده است (10). متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی نتیجه بارز تنش‌ها هستند. بنابراین محصولات دارویی برخلاف محصولات کشاورزی که در اوضاع تنشی از نظر تولید صدمه می‌بینند. در این شرایط تولید شیمیایی بیشتر و در نتیجه بازده اقتصادی برتری پیدا می‌کنند. بنابراین در پرورش این گیاهان همانقدر که وجود آب یکی از امکانات مهم زیست محیطی است کمبود آب هم یک واقعیت است که توان افزایش مواد موثره را دارا می‌باشد (3). ترپنوئیدها که از بزرگترین گروه متابولیت‌های ثانویه هستند، در بابونه کبیر به فراوانی وجود دارد، به صورتی که بیش از 12درصد سزکوئی ترپن‌های بابونه کبیر را پارتنولید تشکیل می‌دهد و به عنوان مهمترین ماده موثره این گیاه دارای فعالیت بیولوژیکی بسیاری است (5). در گزارشی از مجیدی و همکاران(9) در بررسی بیان ژن‌های مسیر بیوسنتزی پارتنولید در بابونه کبیر عنوان شد که میزان بیان ژن‌ها می‌تواند تحت تاثیر مرحله رشدی و ژنوتیپ تغییر کند. همچنین بیشترین میزان همبستگی بین میزان پارتنولید و میزان بیان ژن Tp GAS مشاهده شد. در تحقیقی دیگر شارپو و همکاران (17) در بررسی خود بر روی بابونه کبیر عنوان نمودند که تنش شوری به عنوان القا کننده باعث افزایش بیان ژن‌های ژرماکرن A سنتتاز (Tp GAS) و پارتنولید سنتتاز (Tp PTS) و افزایش پارتنولید در گیاه می‌شود. تحقیقات بر روی بیان ژن‌های بیوسنتزی مسیر پارتنولید در گیاه بابونه تحت تنش شوری نشان داده است که شوری موجب افزایش بیان ژن‌های ژرماکرن A سنتتاز (TpGAS) و پارتنولید سنتتاز (TpPTS) نسبت به شاهد گردیده است (10). بنابراین با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق می‌توان گفت که بیان ژن‌های GAS و PTS تحت تاثیر مراحل رشد و سطوح مختلف شوری قرار می‌گیرد و تنش موجب افزایش ماده موثره مهم این گیاه که پارتنولید می‌باشد، می‌شود، به طوری که با افزایش تنش ژن‌های مسیر بیوسنتزی پارتنولید به میزان بیشتری بیان شدند.

شرایط استرس می‌تواند کمیت و کیفیت اسانس را تغییر دهد (6). در گیاهان دارویی و معطر، شوری ممکن است در برخی از ترکیبات و عملکردهای متابولیت‌های ثانویه اثر معنی داری داشته باشد (11). نتایج این مطالعه نشان داد که همبستگی مثبت نسبتاً قوی بین تولید پارتنولید با بیان ژن TpPTS(R2= 0.8278) و ژن TpGAS(R2=8984) وجود داشت. در گزارش دیگری از پروین و همکاران (13) عنوان شده است که همبستگی مثبتی بین میزان پارتنولید و بیان ژن TpGAS وجود دارد به طوری که میزان بالای بیان ژن TpGAS به همراه بیشترین میزان پارتنولید در کرک‌های غده‌های بابونه کبیرمشاهده که این مورد با نتایج حاصل از این تحقیق مشابه است. این بافت‌های ترشحی به عنوان محل اصلی بیوسنتز و تجمع پارتنولید عمل می‌کنند. نتیجه-گیری کلی این تحقیق نشان داد که بیان ژن‌های GAS و PTS تحت تاثیر مراحل رشد و سطوح مختلف شوری قرار می‌گیرد و تنش موجب افزایش ماده پارتنولید می‌شود، به طوری که با افزایش تنش ژن‌های مسیر بیوسنتزی پارتنولید به میزان بیشتری بیان شدند.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-02]
[DOI: 10.29252/jcb.12.33.184]

منابع

1. Bernstein, N., M. Kravchik. and N. Dudai. 2009. Salinity-induced changes in essential oil, pigments and salts accumulation in sweet basil (*Osimumba silicum)* in relation to alteration of morphological development. Annals of Applied Biology, 156(2): 167-177.
2. Bettaieb, I., A. Zakhama, N. Wannes, W.A. Kchouk and M.E. Marzouk. B. 2008.Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition.Scientia Horticulturae, 120(2): 271-275
3. Brown, A.M.G., C.M, Edwards, M.R. Davey, J.B. Power and K.C. Lowe. 1997. Effects of extracts of *Tanacetum* species on human polymorpho nuclear leucocyte activity *in vitro*., Phytotherapy Research, 11: 479-484.
4. Cretnik, L., M.Skerget and Z. Knez. 2005. Separation of parthenolide from feverfew: performance of conventional and high-pressure extraction techniques. Separation and Purification Technology, 41: 13-20.
5. Dennis, V.C., A. Awang, B. Dowson and D. G. kindack. 1991. Parthenolide content of feverfew (*Tanacetum parthenium*) assessed by HPLC and H-NMR spectroscopy. Journal of Plant Production, 54(6): 1991. pp: 1516-1521.
6. Groenewegen, W.A. and S. Heptinstall. 1992. Progress in the medicinal chemistry of the herb, feverfew. Progress in Medicinal Chemistry, 29: 217-238.
7. Hay, R.K.M. 1993. Physiology In: Volatile Oil Crops: Their Biology, Biochemistry and Production, eds., Hay R.K.M. and P.G. Waterman. Longman, England.23-46.
8. Hendawy, S.F. and Kh.A. Khalid. 2005. Response of sage (*Salvia officinalis* L.) plants to zinc application under different salinity levels. Journal of Applied Sciences Research, 1: 147-155.
9. Majdi, M., G. Karimzadeh and M.A. Malboobi. 2014. Spatial and developmental expression of key genes of terpene biosynthesis in feverfew (*Tanacetum parthenium*), Biologiaplantarum, 58: 379-384.
10. Mansouri, I., H. Najafi Zarini, N.A. Babaian and A. Pakdedin. 2019. Evaluation of salinity tolerance of some rapeseed (*Brassica napus* L.) genotypes under normal and salinity stress conditions, Journal of Crop Breeding, 1(1): 4-5 (In Persian).
11. Mohammadzadeh Norouzi, M., S.A. Peyghambari, A.R. Nabipour and S. Fallah. 2009. Evaluation of response of rice genotypes to salinity stress at germination stage, Journal of Crop Breeding, 2(1): 4-5 (In Persian).
12. Pareek, A., M. Suthar, G.S. Rathore and V. Bansal. 2011. Feverfew (*Tanacetum parthenium* L.): A systematic review. Pharmacogn Rev, 5(9): 103-110.
13. Parvin, N., R.A. Samani, N. Shahinfard, S. Reissi, Z. Alibabaie and A. Asgari. 2012. Effect of alcoholic extract of Tanacetum parthenium on acute pain in rat. Journal of Qazvin University of Medical Sciences, 16(1): 15-21.
14. Petropoulos, S.A., D. Daferera, M.G. Polissiou and H.C. Passam. 2008. The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. Science Horticultural, 115: 393-397.
15. Ramakrishna, A. and G.A. Ravishankar. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. Plant Signaling and Behavior, 6: 1720-1731.
16. Rohmer, M., M. Knani, P.Simonin, B. Sutter and H. Sahm. 1993. Isoprenoid biosynthesis in bacteria: a novel pathway for the early steps leading to isopentenyldiphosphate- Biochem. Journal, 295: 517-524.
17. Sharopov, F.S., W.N. Setzer, S.J. Isupov and M. Wink. 2015. Composition and bioactivity of the essential oil of *Tanace tum parthenium* from a wild population growing in Tajikistan Pharmacogn Rev, 2(4): 4-32.
18. Singh, G., G. Singh, P. Singh, R. Parmar, N. Paul, R. Vashist, M. Kumar Swarnkar, A. Kumar, S. Singh, S. Kumar Singh and S. Kumar. 2017. Molecular dissection of transcriptional reprogramming of steviol glycosides synthesis in leaf tissue during developmental phase transitions in *Stevia rebaudiana* Bert. Scientific Reports, 7: 11835.
19. Williams, C.A., J.R.S. Hoult, J.B. Harborne, J. Greenham and J. Eagles. 1995. Biologically-active lipophilic flavonol from *Tanacetum parthenium*, Phytochemistry, 38: 267-270.
20. Zeng, Q.P., X.M. Zeng, R.Y. Yang and X.Q. Yang. 2011. Singlet oxygen as a signaling transducer for modulating artemisinin biosynthetic genes in *Artemisia annua.* - Plant Biology, 55: 669-674.
21. Zhao, C., Y. Zu and C.Li. 2009. Extraction of solanesol from tobacco (*Nicotiana tobaccum* L.) leaves by bubble column. Chemical Engineering and Processing, 48: 203-8.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.29252/jcb.12.33.184]

Evaluation and Comparison of Germline a Synthetase (TpGAS) and Parthenolide Synthetase (Tppts) Genes Expression in Parthenolide Biosynthetic Pathway under Different Salinity Levels in Two Vegetative Stages of Feverfew Leaves (*Tanacetum parthenium*)

Mansoreh Ahmadi Livani[1], Latifeh Pourakbar[2], Arian Sateei[3], Mahdi Ebadi[4] and Abolghasem Mohamadi[5]

1- Ph.D. Student of Plant Physiology, Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University
2- Associate Professor of Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University,
(Corresponding author: l.pourakbar@urmia.ac.ir)
3- Ph.D. of Plant Physiology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
34- Ph.D. In Chemistry Electrochemical Biodegradation, Gorgan University
5- Ph.D. of Genetics, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
Received: December 2, 2019 Accepted: February 29, 2020

Abstract

Feverfew (*Tanacetum parthenium*) is belonging to the Asteraceae family that was traditionally used as a fever and the most important constituent of the sesquiterpene lactones is Parthenolide. Parthenolide, a lactone germacranolide, is very important in preventing migraine and cancer treatment due to its medical value and pharmacological activity in particular. In the present study, young and mature leaves of Feverfew were at different salinity levels (control: EC = 3.2(Ds/m), mild salinity EC = 6.1, moderate salinity EC = 8.4 and severe salinity EC = 10.2). In order to study the changes in the expression of biosynthetic pathway genes, parthenolide, germinal A synthetase (GAS) and parthenolide synthetase (PTS) were evaluated by Real Time PCR method. The amount of parthenolide produced in the leaves was determined by HPLC extraction method using standard parthenolide curve and essential essence percentage by GC / MS. The results showed increased expression of the studied genes in young and mature leaves under salinity stress compared to control plants. The highest gene expression (TpPTS) was observed in young leaves in severe salinity (Ec = 10.2) and in adult leaves in severe salinity (Ec = 10.2) and moderate salinity (Ec = 8.4). Adult was related to severe and moderate salinity treatments. Also, according to the present study, the highest expression of TpGAS gene in young and adult leaves was related to severe and moderate salinity treatments. Also, according to the present study, the highest and lowest amount of parthenolide produced in young leaves belonged to severe salinity treatment (1.5mg / g essence) and control (0.2mg / g essence), respectively. In adult leaves, the highest amount of parthenolide belonged to severe salinity treatment (1.5mg / g essence) and lowest belonged to control (0.1mg / g essence). The results of correlation between partitioning of germakren A synthetase and parthenolide synthetase genes was a positive correlation between the partitioning of germakren A synthetase and parthenolide synthetase genes.

Keywords: Medicinal plants, Real Time PCR, HPLC, Essence

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.29252/jcb.12.33.184]