

## **Identification of pathways and lncRNAs involved in date palm flowering using RNA-Seq technique**

**Shahin Madadi** 

Ph.D. Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran. E-mail address: shahinmadadi@uoz.ac.ir

**Salehe Ganjali** 

\*Corresponding author. Assistant Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran. E-mail address: saleheganjali@uoz.ac.ir

**Leila Fahmideh** 

Associate Professor of the Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Plant Productions, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail address: l.fahmideh@gau.ac.ir

**Hamed Hassanzadeh Khankahdani** 

Horticultural Management, Fars Agricultural Organization, Shiraz, Iran. E-mail address: Hamed51h@gmail.com

**Hadis Kord** 

Post-Doctoral Research, Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben, DE, Germany. E-mail address: kord@ipk-gatersleben.de

**Reza Haghi Dareh Deh** 

Post-Doctoral Research, Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben, DE, Germany. E-mail address: haghi@ipk-gatersleben.de

---

### **Abstract**

#### **Objective**

The date palm, known scientifically as *Phoenix dactylifera* L, grows well in tropical and subtropical regions. The process of flower development initiates sexual reproduction in plants. Specific genes regulate this process in the floral meristem, cycle, organ identity, and certain lncRNAs. Studies on animals have shown that lncRNAs are notably active in reproductive organs.

#### **Materials and methods**

We aimed to explore the pathways and lncRNAs involved in date palm flowering. Minab date palm flower bud samples were collected from the Tropical Fruit Research Station in Hormozgan Province, Iran. The samples were then transferred to the Tabaristan Agricultural Biotechnology Research Institute for analysis. RNA was extracted from various cultivars' male and female flower

buds and combined equally. Two replicates were produced for each mixed sample. Subsequently, it was sent for sequencing.

## Results

We scrutinized the sequencing outcomes to delve into the mechanisms of plant flowering which is dependent on seasonal cues and is influenced by environmental factors and specific genes. Our research focused on four key pathways: photoperiod, vernalization, self-stimulation, and gibberellin. Our investigation uncovered long non-coding RNAs (lncRNAs) associated with date palm flowering. We identified 13 lncRNAs in the photoperiod pathway, one in the self-stimulation, and four in the gibberellin pathway. Interestingly, no lncRNAs were detected in the vernalization pathway. We proceeded to compare these lncRNAs with those found in other plant species. The lncRNAs in the photoperiod pathway resembled those in oil palm, red clover, olive, and wheat. Their increased expression leads to accelerated flowering, irrespective of photoperiod. Moreover, we pinpointed a lncRNA in the gibberellin pathway that is similar to the one found in cotton which is linked to the LFY gene. Furthermore, our study revealed four lncRNAs in the self-stimulation pathway, resembling lncRNAs in apple, millet, and pea, all of which are associated with the FCA gene.

## Conclusions

The flowering process in plants occurs only in certain seasons of the year, through regulatory networks resulting from environmental signals and involving the genes associated with the four regulatory pathways of flowering: photoperiod, vernalization, self-stimulation, and gibberellin. The identification and comparison of lncRNAs involved in different flowering pathways and related genes provide the basis for future applied research in this valuable plant.

**Keywords:** Gibberellin pathway, Long non-coding RNAs, Next-generation sequencing

**Paper Type:** Research Paper.

**Citation:** Madadi SH, Ganjali S, Fahmideh L, Hassanzadeh HK, Kord H, Haghj Dareh Deh R (2024) Identification of pathways and lncRNAs involved in date palm flowering using RNA-Seq technique. *Agricultural Biotechnology Journal* 16 (4), 139-166.

---

*Agricultural Biotechnology Journal* 16 (4), 139-166.

DOI: 10.22103/jab.2024.23423.1568

Received: July 22, 2024.

Received in revised form: August 31, 2024.

Accepted: September 01, 2024.


Published online: December 30, 2024.



Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.

© the authors

## بررسی شناسایی مسیره‌ها و lncRNAهای دخیل در گل‌دهی نخل خرما با استفاده از تکنیک RNA-Seq


شهبین مددی 

دانشجوی دکتری گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه زابل، زابل، ایران. رایانامه: shahinmadadi@uoz.ac.ir

صالحه گنجعلی 


\* نویسنده مسئول: استادیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران. رایانامه:

saleheganjali@uoz.ac.ir


لیلا فهمیده 

دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.


رایانامه: l.fahmideh@gau.ac.ir

حامد حسن‌زاده خانکهدانی 

مدیریت باغبانی، سازمان جهاد کشاورزی فارس، شیراز، ایران. رایانامه: Hamed51h@gmail.com

حدیث کرد 

محقق پست دکتری، گروه بیوتکنولوژی، موسسه تحقیقاتی آپیک آلمان، آلمان. رایانامه: kord@ipk-gatersleben.de

رضا حقی دره ده 

محقق پست دکتری، گروه بیوتکنولوژی، موسسه تحقیقاتی آپیک آلمان، آلمان. رایانامه: haghi@ipk-gatersleben.de

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۰۱ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۳/۰۶/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۱۱

### چکیده

**هدف:** نخل خرما با نام علمی (*Phoenix dactylifera* L) گیاهی تک‌لپه و سازگار به نواحی گرمسیری و نیمه‌گرمسیری می‌باشد. رشد گل یکی از مراحل اصلی در ظهور ارگان متمرکز به تولیدمثل جنسی در گیاهان گل‌دار بوده و فرایندهای گلدهی توسط مجموعه‌ای بسیار پیچیده از مسیره‌های کنترل شده توسط ژن‌های هویت مریستم گل، چرخه گل، هویت اندام گل و برخی lncRNAها حفاظت شده تکاملی تنظیم می‌شود. مطالعات مختلف روی موجودات به طور مداوم بیان بالایی از lncRNAها را در اندام‌های تولیدمثلی نشان می‌دهد.

**مواد و روش‌ها:** به منظور دستیابی به شناسایی مسیرها و lncRNAهای دخیل در گل‌دهی نخل خرما با استفاده از تکنیک RNA-Seq، نمونه‌های جوانه گل از نخل‌های خرما ایستگاه تحقیقاتی میناب (استان هرمزگان) جمع‌آوری و به پژوهشکده زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان منتقل شدند. RNA کل از نمونه‌های جمع‌آوری شده از جوانه گل ارقام مختلف نر و ماده استخراج و به نسبت مساوی با یکدیگر مخلوط شده و در انتها، دو تکرار از هر نمونه ادغام شده به دست آمد و برای توالی‌یابی ارسال شد. پس از دریافت نتایج توالی‌یابی آنالیزهای موردنیاز با استفاده از نرم‌افزارهای مناسب انجام شد.

**نتایج:** نتایج تحقیق حاضر نشان داد که lncRNAهای زیادی در مسیرهای گلدهی نخل خرما در سه مسیر تناوب نوری (سیزده مورد)، خودانگیزی (یک مورد) و مسیر جیبرلین (چهار مورد) نقش داشتند درحالی‌که در مسیر بهاره‌سازی هیچ lncRNA شناسایی نشد. در ادامه lncRNAهای شناسایی شده بر اساس توالی با lncRNAهای گزارش شده در سایر گیاهان مورد مقایسه قرار گرفتند که نتایج نشان داد که lncRNA شناسایی شده مرتبط با مسیر تناوب نوری، با موارد گزارش شده در گیاهانی چون نخل روغنی، شیدر قرمز، زیتون و گندم مشابه بودند و افزایش بیان آن منجر به گلدهی سریع و مستقل از تناوب نوری در گیاهان می‌شود. یک lncRNA شناسایی شده مرتبط با مسیر جیبرلین، با lncRNA گزارش شده در پنبه که مرتبط با ژن LFY بود، مشابهت داشت. چهار lncRNA شناسایی شده مرتبط با مسیر خودانگیزی، با lncRNAهای موجود در سیب، ارزن و نخودفرنگی مشابه بود و با ژن FCA دخیل در مسیر خودانگیزی مرتبط بود.

**نتیجه‌گیری:** فرایند گلدهی در گیاهان تنها در فصل‌های معینی از سال، به واسطه شبکه‌های تنظیمی حاصل از سیگنال‌های محیطی و منتج از فرایند ژن‌های دخیل در چهار مسیر تنظیمی گلدهی، شامل تناوب نوری، بهاره‌سازی، خودانگیزی و جیبرلین صورت می‌گیرد. شناسایی و مقایسه lncRNAهای دخیل در مسیرهای مختلف گلدهی و شناسایی ژن‌های مرتبط با آنها زمینه را برای انجام تحقیقات آتی کاربردی در این گیاه ارزشمند فراهم می‌نماید.

**کلیدواژه‌ها:** RNA غیر کد کننده بلند، توالی‌یابی نسل جدید، مسیر جیبرلین

**نوع مقاله:** پژوهشی.

**استناد:** مددی شهین، گنجعلی صالحه، فهمیده لیلا، حسن زاده خانکهدانی حامد، کرد حدیث، حقی دره ده رضا (۱۴۰۳) بررسی شناسایی مسیرها و lncRNAهای دخیل در گل‌دهی نخل خرما با استفاده از تکنیک RNA-Seq. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۶(۴)، ۱۳۹-۱۶۶.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant  
Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian  
Biotechnology Society.



© the authors

مطالعات و بررسی‌های به عمل آمده در اواخر دهه ۸۰ میلادی روشن نمود که مکانیسم‌های مولکولی در زمره مهمترین فرایندهای ژنتیکی (مشمول بر همانندسازی DNA، رونویسی، ترجمه و حتی نحوه تنظیم ژن‌ها) هستند (Barazandeh et al. 2022; Safaei et al. 2016). ماده ژنتیکی یک سلول از تعداد زیادی ژن تشکیل شده است که هیچ گاه همه به طور همزمان بیان نمیشوند و در هر لحظه فقط تعداد کمی از آنها بیان شده و پروتئین یا آنزیم مورد نیاز سلول را تولید مینمایند (Barazandeh et al. 2023; Mohammadabadi et al. 2016). محیطی که موجود در آن رشد می‌کند مشخص می‌کند که آیا نیاز است که ژن بیان شود و یا این که باید غیرفعال و یا خاموش شود (Bordbar et al. 2022; Jafari Ahmadabadi et al. 2023). ساز و کار بیان ژن اولین بار در باکتری E.coli کشف شد (Mohamadipoor et al. 2023). بیان ژن‌های یوکاریوتی تحت کنترل موقت و چندبعدی است. در هر یک از انواع بافت‌ها تنها یک مجموعه نسبتاً کوچک از تمام ژنوم بیان می‌شود و نیز بیان ژن‌ها به مرحله نمو بستگی دارد (Masoudzadeh et al. 2020; Shahsavari et al. 2023). بنابراین، بیان ژن در یوکاریوتها برای هر بافت اختصاصی است. همچنین مقدار محصولات ژن که در همان بافت و نیز در سایر بافت‌هایی که آن محصول را میسازند، ساخته شده سبب تنظیم بیان آن ژن میشود (Shokri et al. 2023). یکی از اقدامات اساسی در به نژادی ملکولی مطالعه ژن‌ها و پروتئین‌های مرتبط با صفات مهم و مطالعه آن‌ها در سطح سلولی یا کروموزومی است (Mohammadinejad et al. 2022; Shahsavari et al. 2023). بنابراین در دسترس بودن ابزارهای ژنومی می‌تواند اصلاح موجودات را در زمان کوتاه‌تر تا حد زیادی افزایش دهد. این ابزارها از جمله آنالیز بیان ژن برای تسهیل شناسایی ژن‌های مقاوم در حال توسعه هستند و بررسی الگوی بیان ژن‌ها و مشخص کردن ژن‌های مقاوم به بیماری در این راستا انجام می‌گیرد (Mohammadabadi et al. 2023). بررسی بیان ژن می‌تواند بررسی یک ژن خاص با استفاده از روش‌هایی مثل Real-Time PCR و یا بررسی تعداد زیادی از ژن‌ها باشد (Mohammadabadi et al. 2023). rRNA به عنوان جزئی از سلول‌ها نقش‌های متفاوتی در سلول دارند و بر همین اساس انواع مختلفی از rRNA در سلول‌ها وجود دارد. اولین بار در اواخر دهه ۱۹۵۰ انواع مختلف tRNA و rRNA معرفی شد که دلیل کشف زود هنگام این مولکول‌ها را می‌توان به خاطر نقشی که آن‌ها در فرآیند پروتئین‌سازی سلول دارند مرتبط دانست. در ادامه در سال ۱۹۶۰ mRNA کشف و به دنبال آن اشکال دیگری از RNA معرفی شدند. حدود بیست سال بعد، اولین RNAهای غیرکدکننده ابتدا در باکتری‌ها و سپس در بیشتر ارگانیسم‌های یوکاریوتی شناسایی شدند. تقریباً ۹۰ درصد از ژنوم یوکاریوت‌ها به RNA رونویسی می‌شوند که بیشتر آن‌ها از نوع RNA غیر کدکننده هستند و توسط تکنیک‌های نسل جدید توالی‌یابی قابل شناسایی می‌باشند (Song et al. 2016). مولکول‌های RNA غیر کدکننده به دو دسته RNA با توالی‌های بلند و کوتاه طبقه‌بندی می‌شوند. مولکول‌های RNA غیر کدکننده بلند (lncRNAs<sup>1</sup>) بیش از ۲۰۰ bp طول دارند و گروه مهمی از مولکول‌های RNA غیر

<sup>1</sup> Long non-coding RNA (lncRNA)

کدکننده را تشکیل می‌دهند (Perry et al. 2016). و بر اساس مبداء ژنتیکی به پنج گروه بین ژنی، اینترونی، سنس<sup>1</sup> و آنتی سنس<sup>2</sup> و دو طرفه<sup>3</sup>، طبقه‌بندی می‌شوند (Rinn et al. 2012) مکانیسم‌های مولکولی عملکردهای lncRNA عبارتند از: تنظیم بیان ژن، با کنترل رونویسی توسط RNA پلی مرز (Bhatia et al. 2017; Nejat et al. 2018) II، تنظیم عملکرد miRNAs، از طریق اتصال lncRNAs به mRNAs هدف (Wu et al. 2013)، تغییر در ساختار کروماتین<sup>4</sup> با تشکیل کمپلکس پروتئین-RNA و ایجاد ساختار داربست<sup>5</sup> (Li et al. 2016)، تنظیم متیلاسیون DNA وابسته به RNA<sup>6</sup>، از طریق اتصال lncRNA و RNA کوچک به مکان‌های خاص در DNA (Rowley et al. 2017)، تغییرات اپی ژنتیک به واسطه اصلاح هیستون‌ها<sup>7</sup> (Sun et al. 2013) و سنتز lncRNAهای کوتاه‌تر مانند miRNAs<sup>8</sup> و siRNA<sup>9</sup> با پردازش lncRNA (Hirsch et al. 2006). مطالعات مختلف روی گیاهان و حیوانات به طور مداوم بیان بالایی از lncRNAها را در اندام‌های تولید مثلی به شیوه‌های خاص سلولی و بافتی نشان می‌دهد و در بافت‌های تولیدمثلی گیاهی و حیوانی lncRNAهای بیشتری نسبت به هر نوع بافت دیگری وجود دارد. بر این اساس، پیشنهاد شده است که فرآیندهای مرتبط با تولید مثل جنسی، به ویژه میوز و گامتوژنز، تا حد زیادی توسط lncRNAها کنترل می‌شوند و lncRNAهای گیاهی و حیوانی به طور مستقل برای انجام عملکردهای مشابه در گیاهان و حیوانات تکامل یافته‌اند (Golick et al. 2016).

درخت خرما با نام علمی *Phoenix dactylifera* L یک درخت دائمی، تک لپه، دوپایه، هتروزویگوت، با سرعت رشد بسیار اندک و فاز تولید مثل دیر هنگام است (Adawy et al. 2004) و با قدمت بیش از چهار هزار سال در ایران یکی از محصولات مهم و استراتژیک در کشور است. ایران با داشتن بیش از ۴۰۰ رقم خرما (در برخی منابع ۶۰۰ رقم را هم ذکر کرده‌اند) دارای غنی‌ترین ژرم پلاسسم در جهان می‌باشد (Pezhman 2002). رشد گل یکی از مراحل اصلی است که منجر به ظهور ارگان متمرکز به تولید مثل جنسی در چرخه زندگی گیاهان گلدار می‌شود (Blazquez and Weigel 2000). فرآیندهای گلدهی توسط مجموعه‌ای بسیار پیچیده از مسیرهای کنترل شده توسط ژن‌های هویت مریستم گل<sup>10</sup>، ژن‌های هویت اندام گل<sup>11</sup> و برخی lncRNAهای حفاظت شده تکاملی تنظیم می‌شود (Amasino 2010; Iris 2010; Nag and Jack 2010; Posé et al. 2011; Srikanth and Schmid 2012). سلول‌های بنیادی<sup>12</sup> در گیاه خرما یک دوره رویشی طولانی را تجربه می‌کنند و سپس

<sup>1</sup> Sense

<sup>2</sup> Antisense

<sup>3</sup> Bidirectional

<sup>4</sup> Chromatin modifying

<sup>5</sup> Scaffolding

<sup>6</sup> RNA-dependent DNA methylation

<sup>7</sup> Histone modification

<sup>8</sup> microRNA

<sup>9</sup> small interfering RNAs

<sup>10</sup> Floral meristem identity genes

<sup>11</sup> Floral organ identity genes

<sup>12</sup> Totipotent Meristematic

مرحله تولید مثلی را برای تشکیل گل‌ها که اندام‌های جنسی پیچیده‌ای هستند، می‌گذرانند (Walbot and Evans 2003). اندام گل در نهاندانگان شامل چهار نوع اندام شامل کاسبرگ‌ها در حلقه اول، گلبرگ‌ها در حلقه دوم، پرچم‌ها در حلقه سوم و نهایتاً مادگی در حلقه چهارم (Krizek et al. 1996) می‌باشد. انتقال از رشد رویشی به فاز زایشی که آغاز گلدهی است یک مرحله مهم و حیاتی در چرخه زندگی گیاهان گلدار همچون خرما محسوب می‌شود (Amasino 2010). مطالعات گسترده‌ای بر روی فرآیند گلدهی در گیاهان انجام شده است که در برخی گیاهان به واسطه‌ی ژن‌های ایجادکننده گل، انتقال به مرحله گلدهی انجام می‌شود. ژن‌های ایجاد کننده گل، شناسایی ژن‌های مریستم گل را از طریق نتایج عملکرد ژن‌های دو مسیر وابسته به عوامل محیطی شامل تناوب نوری، بهاره‌سازی و دو مسیر مستقل از عوامل محیطی شامل خودانگیزی و جیبرلین القا کرده و تحت شرایط مطلوب، انتقال به گلدهی را القا می‌نمایند. این فرایند با افزایش بیان مجموعه‌ای از ژن‌های میانجی گل دهی از قبیل *FLOWERING (FT)*، *LOCUS T*، *TWIN SISTER OF FT (TSF)*، *SIPPERESSOR OF CONSTANS 1 (SOC1)*، *AGAMOUS-LIKE (AGL24)* (۲۴ و *LEAFY (LFY)* و کاهش بیان بازدارنده‌های گلدهی از قبیل *FLOWERING (TFL1)*، *TERMINAL FLOWER 1 (TFL1)* و *SHORT (SVP) VEGETATIVE PHASE*، *LOCUS C (FLC)* کنترل می‌شود (Turck et al. 2008; Jung & Müller 2009). *GAI*، *RGA1*، *RGL1* و *RGL2* متعلق به خانواده فوق‌العاده ژن‌های تنظیم‌کننده *GRAS DELLA* هستند که قبلاً به عنوان تنظیم‌کننده‌های منفی پاسخ‌های جیبرلیک اسید شناسایی شده‌اند. در این مطالعه مشخص شد که این ژن‌ها توسط *lncRNA XLOC\_0\_1101* کاهش می‌یابند. بنابراین؛ *XLOC\_0\_1101* ممکن است توسعه گل را ترویج کند (Ooi et al. 2019; Shojaei et al. 2022). مسیرهای اصلی و RNAهای غیر کد کننده برای کنترل زمان گلدهی شناسایی شده‌اند. برای مثال مشخص شده است که چهار مسیر اصلی برای کنترل زمان گلدهی در آرابیدوپسیس وجود دارد که شامل مسیر خودمختار، بهاره سازی، دوره نوری و جیبرلین می‌باشد. عملکرد مستقل و مسیرهای بهاره سازی برای سرکوب فعالیت *FLC* که یک مهارکننده گلدهی است، از طریق تغییرات کروماتین در مکان *FLC* می‌باشد. اهداف سرکوب توسط *FLC* عبارتند از *FT (FLOWERING LOCUS T)* و *SUPPRESSOR OF (Overexpression OF CO1)* که عمدتاً مسیر بیان *LEAFY (LFY)* را تنظیم می‌کند. مسیرها از دو طریق بر زمان گلدهی تاثیر می‌گذارد. اولاً فعالیت سرکوبگرهای گلدهی را سرکوب می‌کند و به گیاهان اجازه می‌دهد به محرک‌های گلدهی پاسخ دهند، ثانیاً مستقیماً یکپارچه‌کننده‌های مسیر گل و تنظیم‌کننده‌های هویت مریستم را تنظیم می‌کند. دو RNA غیر کد کننده طولانی (*lncRNAs*) در تنظیم *FLC* نقش دارند (Zhan et al. 2019; Perry et al. 2016). شناسایی سیستماتیک و طبقه‌بندی *lncRNA*ها در برخی گیاهان مانند آرابیدوپسیس تالیانا، برنج و ذرت، برنج آسیایی، گل انگشتانه، گوجه فرنگی، ارزن ایتالیایی، سپیدار، صنوبر، مانیوک و مریم گلی انجام شده که در پایگاه داده *central RNA* ثبت شده است به طور مثال در برنج آسیایی ۴۳ عدد، در ذرت ۲۶ عدد و در صنوبر و سپیدار به ترتیب ۱۷ و ۱۸ عدد *lncRNA* ثبت شده است و گزارش شده که در تنظیم بیان ژن‌ها در عملکردهای بیولوژیکی مانند رشد، تکثیر جنسی و گل‌دهی گیاهان دخیل هستند (Chen et al. 2016; Javdan et al. 2016).

2020). گزارش‌هایی مبنی بر اینکه lncRNAها در گلدهی گیاهانی چون آرابیدوبسیس، برنج، صنوبر و کلزا نقش داشتند وجود دارد. به طور مثال در گیاه برنج lncRNA با کد nTCONS\_00057811 گزارش شده که باعث تنظیم مکانیسم‌های ژنتیکی در سرکوب گلدهی می‌شود (Li et al. 2020). در گیاه برنج گزارش شده که lncRNA با کد LDMAR با افزایش متیلاسیون در منطقه پرموتری، در فرآیند گلدهی نقش بسزایی دارد (Ding et al. 2012) و LAIR و RIFLA و Ef-cd سه کد lncRNAهای گزارش شده توسط محققین است که منجر به گلدهی زودرس در گیاه برنج می‌شود (Fang et al. 2019; Shin et al. 2018; Wang et al. 2022). همچنین گزارش شده که lncRNA با کد شناسایی شده PtlinC-NAC72 از طریق کنترل و تنظیم تنش نمک در فرآیند گلدهی گیاه صنوبر نقش ایفا می‌کند (Wang et al. 2022). شروع زمان گلدهی در گیاهان پدیده‌ای است کاملاً هدایت شده که به پارامترهای محیطی گیاه وابسته است و توسط شبکه تنظیمی ژن‌های زیادی کنترل می‌شود. گرچه این مسیرها مستقل از یکدیگر عمل می‌کنند اما میانکنش‌هایی بین آن‌ها رخ می‌دهد که سبب فعالسازی یک سری از ژن‌های همپوشان معروف به «یکپارچه سازهای مسیر گل» همگرا می‌شوند، که به نوبت، محصولات این ژن‌ها، ژن‌های هویت مریستم گل را فعال یا تنظیم می‌کنند. از این رو شناسایی این عوامل یکی از اهداف مهم در اصلاح بسیاری از گیاهان می‌باشد. از آنجا که تاکنون اطلاعات کافی در خصوص مسیرها و lncRNAهای مرتبط با ژن‌های دخیل در مسیرهای گلدهی نخل خرما وجود ندارد، لذا با توجه به اهمیت نخل خرما و همچنین نقش‌های گزارش شده از lncRNAها در فرایندهای تشکیل گل و گلدهی در گیاهان، تحقیق حاضر با هدف بررسی و شناسایی lncRNAهای مرتبط با مسیرهای گلدهی نخل خرما با استفاده از تکنیک RNA-Seq انجام شد.

## مواد و روش‌ها

به طور کلی یک آزمایش مطالعات بیوانفورماتیکی<sup>1</sup> به دویبخش آنالیز مواد شیمیایی<sup>2</sup> و حوزه محاسباتی و کامپیوتری<sup>3</sup> تقسیم می‌شود که بخش آنالیز مواد شیمیایی در این آزمایش شامل مراحل نمونه‌برداری از مواد گیاهی، استخراج RNA و ارسال برای توالی‌یابی می‌باشد.

**نمونه‌برداری و استخراج RNA:** اولین مرحله در نمونه‌برداری، انتخاب نخل‌های خرما مناسب است که شرایط رشدی یکسانی داشته باشند. بدین منظور از درختان نخل خرما موجود در ایستگاه تحقیقات کشاورزی میناب (واقع در استان هرمزگان) استفاده شد. در این تحقیق نمونه‌برداری از جوانه‌های گل ۲۵ رقم نخل خرما (شامل ۱۳ رقم نر و ۱۲ رقم ماده) که در ابتدای مرحله‌ی ظهور گل بودند، انجام شد. نمونه‌ها پس از برداشت در فویل آلومینیوم بسته‌بندی و فوراً در فلاسک حاوی نیتروژن مایع (با

<sup>1</sup> High-throughput

<sup>2</sup> wet lab

<sup>3</sup> Dry lab



دمای ۱۹۶- (درجه سانتی‌گراد) قرار گرفته و به پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان منتقل و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در ادامه از نمونه‌های هر رقم به صورت جداگانه استخراج RNA انجام شد و سپس با استفاده از دستگاه نانودراپ و الکتروفورز بر روی ژل آگارز، کمیت و کیفیت RNA استخراج شده بررسی شد (Wang et al. 2020; Li et al. 2017). به منظور استخراج RNA کل، نمونه‌های جمع‌آوری شده بصورت جداگانه طبق روش (Channuntapipat et al. 2001) با کمی تغییرات استخراج شدند. بدین منظور ابتدا ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر لیتیم کلراید (شامل Ethylene Mercaptoethanol، Diamine Tetraacetic Acid، Polyvinylpyrrolidon و Tris-Hydrochloride) به اضافه ۸۰۰ میکرولیتر از مخلوط فنل اشباع با بافر تریس (Tris-HCl، pH=8) به همراه کلروفرم-ایزوامیل الکل (نسبت ۱:۲۴) به هر نمونه پودر شده (۱۰۰ میلی‌گرم) در فالكون ۱۵ میلی‌لیتری به ترتیب اضافه شد. سپس مخلوط حاصل به مدت یک دقیقه تکان داده شد. در مرحله بعد محتویات داخل فالكون را به داخل ۱۰ تیوب دو میلی‌لیتری منتقل و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. مایع رویی جداسازی و به حجم آن ۴ مولار به هر ویال اضافه شده و هم حجم آن لیتیم کلراید ۴ مولار اضافه شد. پس از قرار دادن نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه با ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. به رسوب حاصله ۴۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل و اتانول سرد (۷۰ درصد) به مقدار ۸۰۰ میکرولیتر و ۴۰۰ میکرولیتر استات سدیم سه مولار با pH برابر با ۴/۵ اضافه شد. پس از سانتریفیوژ کردن تیوب‌ها، مایع رویی دور ریخته شده و رسوب حاصله با اتانول ۷۰ درصد سرد شستشو داده شد. در مرحله بعد، پس از خارج کردن مایع شناور رویی و خشک شدن تیوب‌ها، رسوب حاوی RNA در ۴۰ میکرولیتر آب فاقد RNase حل و برای نگهداری به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

**تیمار DNase و پروتئیناز K برای حذف آلودگی در RNA:** برای حذف DNA و پروتئین از RNA استخراج شده، از آنزیم DNase و پروتئیناز K (طبق دستورالعمل شرکت یکتا تجهیز آزما) استفاده شد و کمیت و کیفیت RNA استخراج شده نیز با استفاده از دستگاه نانودراپ (NanoDrop 3300) که سازنده آن شرکت Thermo Scientific می‌باشد بررسی شد که اساس کار دستگاه، شکست نور و محاسبات حاصل از بررسی ضرایب شکست نور در محیط مایع برای مواد گوناگون به ویژه اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها می‌باشد. با الکتروفورز محصولات بر روی ژل آگارز نیز کیفیت استخراج بررسی و تایید شد. برای انجام الکتروفورز روی ژل آگارز یک درصد، ابتدا مقدار پنج میکرولیتر از RNA با دو میکرولیتر بافر بارگذاری مخلوط شد و در داخل چاهک تزریق شده و الکتروفورز با ولتاژ ۹۰ ولت به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. سپس توسط دستگاه ژل داکيومنتیشن مدل (UVItec) باند RNA به وسیله پرتو فرابنفش مشاهده و تصویربرداری از آن انجام شد. برای بررسی غلظت RNA از روش اسپکتروفتومتری استفاده شد. پس از کالیبره کردن دستگاه با استفاده از آب فاقد RNase، به نسبت ۹۸ میکرولیتر آب مقطر استریل و ۲ میکرولیتر از RNA ژنومی با سمپلر به آرامی مخلوط و با استفاده از نسبت طول موج‌های A260/A280 و A260/A230، کمیت و کیفیت RNA استخراج شده تعیین شد (Javdan Asl et al. 2016; Rouholamin et al. 2015).

**آماده سازی نمونه های RNA برای توالی یابی:** در ادامه نمونه RNA استخراجی از جوانه گل های نر و گل های ماده ارقام مختلف به نسبت مساوی با یکدیگر مخلوط شدند و در انتها، دو تکرار از هر نمونه ادغام شده (Pooled) بدست آمد. جهت انجام توالی یابی به شرکت Novogene انگلیس ارسال و توالی یابی با دستگاه Illumina Hiseq 2000 انجام شد.

**آنالیز داده های حاصل از توالی یابی:** پس از دریافت نتایج توالی یابی، کیفیت توالی خوانش های خام با استفاده از نرم افزار Fastqc (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects>) قبل از انجام همترازی (Alignment) بررسی شدند. از نرم افزار Trimmomatic برای حذف خوانش های با کیفیت پایین و یا خوانش های خام حاوی توالی های مربوط به آدپتور و پرایمر و Poly-N استفاده شد. جهت تایید کیفیت خوانش های پیرایش شده، مجدداً از نرم افزار Fastqc استفاده گردید (Li et al. 2018).

**سرهم بندی دی نووو<sup>۱</sup>، شناسایی و بررسی lncRNAها از پپیلاین Trinity:** برای انجام سرهم بندی دی نووو خوانش های پیرایش شده و ایجاد یک ترانسکرپتوم رفرنس استفاده شد (Grabherr et al. 2011). از ترانسکرپتوم به دست آمده در مرحله سرهم بندی دی نووو برای شناسایی تمام lncRNAهای بیان شده در نمونه های مورد مطالعه استفاده شد. با استفاده از ابزار getorf همه ORFهای<sup>۲</sup> احتمالی موجود شناسایی و ترجمه شدند و سپس بلندترین ORFها انتخاب و بقیه ORFها فیلتر شدند. در ادامه تمام ORFهای کدکننده پروتئین شناسایی و در مرحله بعد تمامی ORFهای کدکننده پروتئین فیلتر و حذف شدند. برای این منظور از ابزارهای BLASTX، BLASTP، HMMER و اسکریپت bash به نام lncRNA\_pipeline.sh استفاده شد. lncRNAهای شناسایی شده بر اساس احتمال کدکنندگی فیلتر و استخراج شدند. به منظور شناسایی عملکرد lncRNAهای شناسایی شده، توالی آن ها در پایگاه داده های مختلفی از جمله <https://rnacentral.org/sequence-search/> مورد بررسی قرار گرفت و اگر توالی هر کدام از آنها با یکی از lncRNAهای موجود در این پایگاه داده ها مشابهت داشت، اطلاعات مربوطه جمع آوری گردید (Gonzalez-Mendoza et al. 2008).

## نتایج و بحث

با بررسی انجام شده بین lncRNAهای شناسایی شده در این تحقیق و lncRNAهای گزارش شده در گیاهان مختلف، lncRNAهای مرتبط با سه مسیر تناوب نوری، خود انگیزی و جیبرلیک اسید در نخل خرما شناسایی شدند. چرخه زندگی گیاهان گلدار پس از رویش دانه شامل دو فاز نموی رویشی و زایشی است که در این میان فرآیند گلدهی برای گیاه ضروری و مهم می باشد.

**مسیر تناوب نوری:** مسیر تناوب نوری یکی از عمده ترین شرایط محیطی موثر در انتقال به گلدهی به شمار می آید

<sup>1</sup> Denovo assembly

<sup>2</sup> Open reading frame

(Kircher et al. 2019; Abou-Elwafa et al. 2011) بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، تعداد سیزده lncRNA مرتبط با مسیر تناوب نوری در نخل خرما شناسایی شد (جدول ۱). lncRNAهای شناسایی شده با lncRNAهای مشابه ثبت شده در پایگاه داده‌های مربوطه بررسی و مقایسه شدند و مشاهده شد که با lncRNAهای گیاهانی همچون نخل روغنی، شیدر قرمز، زیتون، کتان، خیار، گندم، ارزن، برنج، آناناس، سیب و پنبه مشابهت داشتند. در گیاهان، تنها تعداد کمی lncRNA شناسایی و از نظر عملکردی روی فرایند گلدهی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، از جمله آراییدوبسیس (Kim et al. 2017)، ذرت (Lu et al. 2020) و گوجه فرنگی (Zhu et al. 2015). شناسایی سیستماتیک و طبقه‌بندی lncRNAها تا سال ۲۰۱۲ فقط در چند گونه گیاهی مانند آراییدوبسیس، برنج و ذرت محدود شده بود و حدود ۶۴۸۰ توالی lncRNA برای این گیاهان در پایگاه RNAcentral شناسایی شده است که از طریق تنظیم بیان ژن در عملکردهای بیولوژیکی مانند فرآیند گل‌دهی و در رشد گیاهان و تکثیر جنسی موثر هستند (Kim et al. 2012). دو lncRNA از Arabidopsis به نام‌های COOLAIR و COLDAIR که به عنوان سرکوب کننده گل عمل می‌کنند و مرتبط با ژن FLOWERING LOCUS C مشخص شده‌اند (Li et al. 2020). در ذرت از طریق تجزیه و تحلیل lncRNAها تعداد ۱۷ توالی lncRNA و miRNAهای شناخته شده از کل ژنوم، شناسایی شده است که هفت lncRNA جدید را به عنوان lncRNA عملکردی، برای تنظیم گل‌دهی معرفی کرده است (Li et al. 2015). گزارش شده که lncRNAها در برنج و ذرت نقش حفاظت کننده به‌سزایی در رشد و گلدهی گیاه در محیط‌های مختلف در مقابله با استرس دارند. بررسی پروفایل بیانی و نقش عملکردی lncRNAs در طول دوره گلدهی گوجه‌فرنگی نشان داد، lncRNAs بیان mRNAها را با ایجاد RNAs درونزای رقابت کننده، در طول دوره گلدهی گوجه‌فرنگی تنظیم می‌کنند (Wang et al. 2018). در مطالعه‌ی دیگر تعدادی lncRNA در انگور با استفاده از داده‌های RNA-seq در مراحل رشدی انگور ثبت شد و lncRNAهای موجود در گل آذین انگور به نام‌های lncRNA115، lncRNA560، lncRNA133 در فرآیند گلدهی و تعیین جنسیت ارقام ماده انگور معرفی گردید (Gorshkiva et al. 2019).

بر اساس نتایج تحقیق حاضر که در جدول ۱ نشان داده شده است، lncRNAهای شناسایی شده با کدهای TRINITY\_DN94210\_c4\_g2\_i3 و TRINITY\_DN91701\_c2\_g7\_i1 که در ارقام نر نسبت به ارقام ماده افزایش بیان داشتند و همچنین lncRNA شناسایی شده با کد TRINITY\_DN91182\_c1\_g1\_i20 که در ارقام ماده نسبت به ارقام نر افزایش بیان داشت با lncRNAهای گزارش شده در نخل روغنی (کدهای 1، PDAC\_LNC018433، PDAC\_LNC008864. 1 و EGUI\_LNC025766. 1) مشابهت داشتند که این lncRNAها با ژن‌های *FT* و *CO* که در مسیر تناوب نوری نقش دارند مرتبط بوده و همچنین در رشد گل‌های نر و سرکوب گل‌های ماده نخل روغنی نقش داشتند (جدول ۱). lncRNAهای شناسایی شده با کد TRINITY\_DN91082\_c1\_g1\_i20 که در ارقام نر نسبت به ارقام ماده

افزایش بیان داشت با lncRNA گزارش شده در زیتون (کد 1. OEUR\_LNC008344) که با ژن *CB23* که در مسیر تناوب نوری نقش دارد مرتبط بوده و در تنظیم و کنترل فعالیت جنسی و تعیین جنسیت اندام گل زیتون نقش دارد، مشابهت داشت.

lncRNA شناسایی شده در تحقیق حاضر با کد TRINITY\_DN98502\_c5\_g2\_i1 که در ارقام ماده نسبت به ارقام نر افزایش بیان نشان داد با lncRNA گزارش شده در گیاه شبدر قرمز (کد 1. TPRA\_LNC008362) مشابه بود. این lncRNA گزارش شده در گیاه شبدر قرمز با ژن *FT* که در مسیر تناوب نوری نقش دارد، مرتبط بوده و همچنین در بهبود پتانسیل تشکیل بذر ارقام تتراپلوئید برای استفاده از کیفیت علوفه بالا و شناسایی ژن‌های کاندید درگیر در تنظیم تولید بذر از مراحل اولیه تا اواخر رشد گل و گلدهی نقش دارد (جدول ۱). توالی lncRNA شناسایی شده با کد TRINITY\_DN99420\_c3\_g1\_i4 که در ارقام نر نسبت به ارقام ماده افزایش بیان داشت با lncRNA گزارش شده در گیاه کتان (کد 1. LUSI\_LNC003301) که با ژن‌های *CB22* و *CB23* که در مسیر تناوب نوری و در تنظیم مرحله رشد و فرآیند گلدهی نقش دارند مرتبط بوده، شباهت داشت. lncRNA گزارش شده در گیاه خیار (کد 9. CSAT\_LNC000685) که با ژن‌های *FT* و *CO* که در مسیر تناوب نوری نقش دارند مرتبط بوده و نقش مهمی در فرآیند گلدهی خیار دارد، با lncRNA شناسایی شده در تحقیق حاضر با کد TRINITY\_DN96322\_c2\_g1\_i9 که در ارقام نر نسبت به ارقام ماده افزایش نشان داد، مشابه بود.

در گیاه گندم lncRNA گزارش شده با کد 1. TAES\_LNC012499 از طریق تاثیر روی ژن *CB4A* که در مسیر تناوب نوری نقش دارد و با تنظیم یون‌های روی و آهن در زودرس شدن گندم در مراحل گل‌دهی مرتبط می‌باشد. این توالی با lncRNA شناسایی شده با کد TRINITY\_DN63276\_c0\_g1\_i1 مطالعه حاضر که در ارقام نر نسبت به ارقام ماده افزایش بیان داشت، شبیه بود (جدول ۱). lncRNA شناسایی شده با کد TRINITY\_DN93727\_c4\_g1\_i5 با lncRNA که در ارقام ماده نسبت به ارقام نر افزایش بیان نشان داد، با lncRNA گزارش شده در ارزن (کد 1. SVIR\_LNC009025) که با ژن‌های *FT* و *CO* که در مسیر تناوب نوری نقش دارند، مرتبط بوده و همچنین در رشد اولیه گل آذین و کنترل فرآیند گلدهی ارزن دخالت دارد، مشابه بود. lncRNA شناسایی شده با کد TRINITY\_DN94210\_c4\_g2\_i3 که در ارقام نر نسبت به ارقام ماده افزایش بیان داشت، با lncRNA گزارش شده در برنج (کد 1. OSAT\_LNC001137) که با ژن *FT* که در مسیر تناوب نوری نقش دارد، مرتبط بوده و در رشد تخمک و جنین و در فرآیند گلدهی برنج دخالت دارد، مشابهت داشت. همچنین تشابه lncRNA گزارش شده در گیاه آناناس (کد 1. ACOM\_LNC029444) که با ژن *PHY* در مسیر تناوب نوری مرتبط بوده و نقش مهمی در مسیر گلدهی آناناس دارد، با lncRNA شناسایی شده با کد TRINITY\_DN91701\_c2\_g7\_i1 تحقیق حاضر که در ارقام نر نسبت به ارقام ماده افزایش بیان داشت، مشابه بود (جدول ۱). علاوه بر این lncRNA گزارش شده در گیاه سیب (کد 4. MDOM\_LNC001130) مرتبط با ژن‌های *FT* و *CO* و *PHY* در مسیر تناوب نوری که در مکانیسم‌های ژنتیکی

سرکوب گلدهی سیب نقش دارد، با lncRNA شناسایی شده با کد TRINITY\_DN98502\_c5\_g2\_i1 در مطالعه حاضر که در ارقام نر نسبت به ارقام ماده افزایش بیان نشان داد، مشابهت داشت. lncRNA شناسایی شده با کد TRINITY\_DN99420\_c3\_g1\_i4 که در ارقام ماده نسبت به ارقام نر افزایش بیان نشان داد، با lncRNA گزارش شده در گیاه پنبه (با کد 1. GRAI\_LNC007716) که با ژن *FT* که در مسیر تناوب نوری نقش دارد، مرتبط بوده و در شناسایی گلبرگ، تشکیل مادگی و گلدهی پنبه نقش دارد، مشابه بود (جدول ۱).

**ژن CO:** در تحقیقات گزارش شده از سایر گیاهان، ژن *CO* یکی از ژن‌های اصلی در مسیر تناوب نوری است که باعث آغاز گل‌دهی در پاسخ به افزایش طول روز می‌شود. عملکرد موثر ژن *CO* سبب عدم تشکیل گل در فصل و شرایط محیطی نامساعد می‌گردد (Wu et al. 2017). اهمیت گیرنده‌های نوری و ساعت شبانه روزی در تنظیم *CO* در طول روز، یکی از ویژگی‌های کلیدی مسیر گلدهی تناوب نوری در گیاهان است. پروتئین *CO* حاوی دمین متصل شونده به مولکول DNA است که با فاکتورهای رونویسی نوع GATA1 خانواده مشترکی دارد (Koornneef et al. 1991). عملکرد *CO* روزانه قبل از رونویسی و در سطح رونویسی تنظیم می‌شود و در گیاهان روز بلند، در انتهای فاز نوری بیشترین سطح رونویسی *CO* صورت می‌گیرد (Zhu et al. 2018). آغاز رونویسی ژن *FT* در بافت آوندی با تجمع پروتئین *CO* همراه است که منجر به شروع فرآیند گلدهی می‌شود و از طریق تنظیم بیان *CO* منجر به فنوتیپ گلدهی زود هنگام می‌شود. lncRNA‌های گزارش شده از طریق تنظیم بیان ژن *CO* منجر به بروز فنوتیپ زود گل‌ده در گیاهان می‌شوند (Inigo et al. 2012).

**گیرنده‌های نوری:** یکی دیگر از ژن‌های اصلی شناسایی شده در مسیر تناوب نوری، ژن *PHY* می‌باشد که در پاسخ موثر به سیگنال‌های نوری در گیاهانی که تکامل یافته‌اند دارای سه گروه: فیتوکروم‌های جذب‌کننده نور قرمز/مادون قرمز، کریپتوکروم‌های جذب نور آبی و فتوتروپین‌های جذب UV-A/آبی می‌باشند (Sheerin et al. 2017). مطالعات گسترده انجام شده توسط محققان نشان داد که نقش گیرنده‌های نوری در گیاهان تاحدودی مشابه هم بوده است. از این رو بر اساس مطالعات انجام شده بر روی گیاهان مختلف تک‌لپه و دولپه‌ای، مشخص گردیده است که آپروپروتئین‌های فیتوکروم توسط پنج ژن مختلف به نام‌های *phyA* تا *phyE* کدگذاری می‌شود که ژن‌های *phyA*، *phyB* و *phyC* تنها فیتوکروم‌های موجود در گیاهان تک‌لپه‌ای می‌باشد (Inigo et al. 2012)؛ در حالی که دو شکل دیگر یعنی ژن‌های *phyD* و *phyE* که از تکثیر ژن *phyB* به دست می‌آیند محدود به گیاهان دولپه‌ای هستند (Imaizumi et al. 2010)، ولی اعضای غالب این خانواده ژنی در تک‌لپه‌ای‌ها و دولپه‌ای‌ها *phyA* و *phyB* هستند که پویایی متفاوتی از خود نشان می‌دهند و تحت تاثیر نورهای قرمز و مادون قرمز سبب آغاز گلدهی می‌شوند. *PhyA* همراه با ژن‌های *Cry1* و *Cry2* تحت تاثیر نور آبی باعث تحریک گلدهی می‌شود درحالی که به طور غیر مستقیم و به واسطه‌ی عمل ژن *Cry2* تحت تاثیر نور آبی، مانع فعالیت *PhyB* می‌شوند (Srikanth & Schmid 2011). گیرنده نوری *phy* قرمز باعث آغاز گلدهی تحت تاثیر نور مادون قرمز می‌شود، *phy* آبی باعث تحریک گلدهی می‌شود. lncRNA‌های گزارش شده با کنترل نقش گیرنده‌های نوری در تنظیم زمان گلدهی و با برهم کنش متقابل آن باعث گلدهی در گیاهان می‌شوند (Song et al. 2016).

**ژن FT:** ژن *FT* یکی دیگر از ژن‌های اصلی گزارش شده در مسیر تناوب نوری می‌باشد. زمان گلدهی به شدت با مقدار نسبی *FT* در ارتباط است. سطوح بالای رونوشت *FT* در دوره‌های نوری طولانی‌تر باعث گلدهی سریعتر در مقایسه با سایر ژن‌های مسیر تناوب نوری می‌شود (Corbesier et al. 2007). پروتئین *FT* عضوی از خانواده پروتئینی با ساختار دمین‌های مشابه PEBP بوده است که عملکرد دقیق بیوشیمیایی مولکول‌های آن در مطالعات امروزی همچنان ادامه دارد. بیان ژن *FT* در تناوب نوری افزایش یافته و موجب گلدهی زود هنگام می‌شود و در شرایط طول روز بلند تحت تاثیر ژن *CO* در برگ‌ها فعال شده و پس از انتقال به مریستم انتهایی نقش کلیدی در تولید جوانه گل بازی می‌کند و به عنوان ژن هدف مسیر تناوب نوری، گلدهی را تحریک می‌کند (Melzer et al. 2014). یکی از اهداف اولیه پایین دست فعالیت ژن *CO*، ژن *FT* است که طی بیان شدن ژن *CO*، در فلوئم برگ بیان و از راه آوند آبکش به مکان تشکیل گل (مریستم انتهایی) منتقل می‌شود و در آنجا با اتصال به *FD* سبب تشکیل کمپلس *FT-FD* می‌شود و کمپلکس فوق با اتصال به پیشبرنده *SOC1* و سایر توسعه دهنده‌های گلدهی از جمله *API* باعث تغییر برنامه توسعه رشدی و آغاز گلدهی می‌شوند (Turck et al. 2008). *lncRNA*‌های گزارش شده نقش مهمی در تنظیم بیان ژن *FT* ایفا می‌کنند، به طوری که افزایش بیان *FT* منجر به گلدهی سریع و مستقل از تناوب نوری در گیاهان می‌شود (Jung et al. 2009).

دو ژن *FT* و *CO* و همچنین ژن *PHY* یا همان گیرنده‌های نوری فیتوکروم و کریپتوکروم، از جمله عوامل مهم و تاثیرگذار برای انتقال به مرحله گلدهی در گیاهان از طریق مسیر تناوب نوری هستند. دوره تناوب نوری یا مدت زمان نور در یک روز مشخص، نشانه مهمی است که گیاهان گلدار از آن برای ارزیابی موثر اطلاعات فصلی و هماهنگ کردن رشد، پاسخ به گلدهی و تکامل تولیدمثلی خود در هماهنگی با محیط خارجی استفاده می‌کنند. *lncRNA*‌ها برای بلوغ، عملکرد و بقای گیرنده نوری ضروری هستند. آن‌ها از طریق مکانسیم‌های قدرتمندی با حفاظت از ژن‌های موثر در گیرنده‌های نوری قبل از رونویسی عمل می‌کنند و امکان تنظیم مسیرهای مرتبط گیرنده‌های نوری را فراهم می‌کنند و به فرآیندهای بیولوژیکی استحکام می‌بخشند (Abou-Elwafaet al. 2011). این مکانسیم با فعال‌سازی *FT* (*FLOWERING (LOCUS T)*) توسط فاکتور رونویسی *CO* تحت شرایط القایی طولانی بودن روز در گیاهان مشخص می‌شود. اهمیت گیرنده‌های نوری و ساعت شبانه روزی در تنظیم *CO* در طول روز یکی از ویژگی‌های کلیدی مسیر گلدهی دوره نوری در گیاهان است.

جدول ۱. lncRNAهای شناسایی شده نخل خرما و مرتبط با مسیر تناوب نوری

Table 1. Identified date palm lncRNAs related to photoperiodic pathway

وضعیت up در نر و ماده UP status in Male and Female	کد lncRNAهای شناسایی شده The code of lncRNAs identified	ردیف Number	P. Value And FDR	Log2 Fold Chan ge	کد lncRNAهای گزارش شده مشابه در سایر گیاهان، گزارش عملکرد و منبع Code of similarly reported lncRNAs in other plants, function reported and reference
up در نر Male _up	TRINITY_DN94 210_c4_g2_i3	1	$1.75 \times 10^{-6}$ 0.000528	3.47	1 PDAC_LNC018433. (نخل روغنی)، با ژنهای <i>FT</i> و <i>CO</i> که در مسیر تناوب نوری نقش دارند مرتبط بوده و در گل دهی و رشد گل های نر و سرکوب گل های ماده نخل روغنی نقش دارد (Torres et al. 2018). PDAC_LNC018433. 1 (oil palm), is related to CO and FT genes that play a role in photoperiodic pathway and is involved in flowering and growth of male flowers and suppression of female flowers of oil palm (Torres et al. 2018).
up در نر Male _up	TRINITY_DN91 701_c2_g7_i1	2	$1.99 \times 10^{-22}$ $4.81 \times 10^{-17}$	8.66	1 PDAC_LNC008864. (نخل روغنی)، برای رشد گل های نر و در سرکوب گل های ماده نخل روغنی نقش دارد. (Torres et al. 2018). PDAC_LNC008864. 1 (oil palm), plays a role in the development of male flowers and suppressing female flowers of oil palm. (Torres et al. 2018).
up در ماده Female _up	TRINITY_DN91 182_c1_g1_i20	3	$1.99 \times 10^{-21}$ $4.81 \times 10^{-17}$	-3.66	1 EGUI_LNC025766. (نخل روغنی)، در تنظیم کننده گل آذین ماده و در شناسایی ژن های مسیر تناوب نوری نخل روغنی نقش دارد (Ooi et al. 2019). EGUI_LNC025766. 1 (oil palm), is involved in the regulation of female inflorescence and in the identification of photoperiodic pathway genes of oil palm (Ooi et al. 2019).
up در ماده Female _up	TRINITY_DN98 502_c5_g2_i1	4	$3.59 \times 10^{-7}$ 0.000155	-3.75	1 TPRA_LNC008362. (شبدر قرمز)، با ژن <i>FT</i> که در مسیر تناوب نوری نقش دارد مرتبط بوده در بهبود پتانسیل تشکیل بذر ارقام تتراپلوئید برای استفاده از کیفیت علوفه بالا، شناسایی ژن های کاندید درگیر در تنظیم بذر از مراحل اولیه تا اواخر رشد گل و گل دهی شبدر قرمز نقش دارد (Kovi et al. 2017). TPRA_LNC008362. 1 (red clover), has been associated with the FT gene, which is involved in the photoperiodic pathway, in improving the seed formation potential of tetraploid cultivars for using high fodder quality, identifying candidate genes involved in seed regulation from early to late stages of flower development and flowering of clover. Red plays a role (Kovi et al. 2017).

<p>OEUR_LNC008344. 1 (زیتون)، با ژن <i>CB23</i> که در مسیر تناوب نوری نقش دارد مرتبط بوده و در تنظیم و کنترل فعالیت جنسی و تعیین جنسیت اندام گل زیتون نقش دارد (Ramírez-Tejero et al. 2020).</p> <p>OEUR_LNC008344. 1 (olive), is related to the <i>CB23</i> gene, which is involved in the photoperiodic pathway, and is involved in regulating and controlling sexual activity and determining the sex of olive flower organs (Ramírez-Tejero et al. 2020).</p>	3.03	3.03	Male_up	TRINITY_DN91_182_c1_g1_i20	5
<p>LUSI_LNC003301. 1 (کتان)، با ژنهای <i>CB22</i> و <i>CB23</i> که در مسیر تناوب نوری نقش دارند مرتبط بوده و در تنظیم مراحل رشد و فرآیند گل دهی کتان نقش دارد (Gorshkova et al. 2018).</p> <p>LUSI_LNC003301. 1 (flax), is related to the <i>CB22</i> and <i>CB23</i> genes that play a role in the photoperiod pathway and plays a role in regulating the growth stages and flowering process of flax (Gorshkova et al. 2018).</p>	3.24	3.24	Male_up	TRINITY_DN99_420_c3_g1_i4	6
<p>CSAT_LNC000685. 9 (خیار)، با ژنهای <i>FT</i> و <i>CO</i> که در مسیر تناوب نوری نقش دارند مرتبط بوده و نقش مهمی در فرآیند گل دهی گونه خیار جدید دارد (Han et al. 2018).</p> <p>CSAT_LNC000685. 9 (cucumber), is related to the <i>FT</i> and <i>CO</i> genes that play a role in the photoperiod pathway and plays an important role in the flowering process of a new cucumber variety (Han et al. 2018).</p>	3.83	3.83	Male_up	TRINITY_DN96_322_c2_g1_i9	7
<p>TAES_LNC012499. 1 (گندم)، بر ژن <i>CB4A</i> که در مسیر تناوب نوری نقش دارد، مرتبط بوده و با تنظیم یونهای روی و آهن در زودرس شدن گندم در مراحل گل دهی نیز موثر است (Pearce et al. 2014).</p> <p>TAES_LNC012499. 1 (wheat), is related to the <i>CB4A</i> gene, which plays a role in the photoperiodic pathway, and is also effective by regulating zinc and iron ions in early ripening of wheat in the flowering stages (Pearce et al. 2014).</p>	4.57	4.57	Male_up	TRINITY_DN6_3276_c0_g1_i1	8
<p>SVIR_LNC009025. 1 (ارزن)، با ژنهای <i>FT</i> و <i>CO</i> که در مسیر تناوب نوری نقش دارند مرتبط بوده و در رشد اولیه گل آذین و کنترل فرآیند گل دهی ارزن دخالت دارد (Zhu et al. 2018).</p> <p>SVIR_LNC009025. 1 (millet), is related to the <i>FT</i> and <i>CO</i> genes that play a role in the photoperiodic pathway and is involved in the initial growth of the inflorescence and the control of the flowering process of millet (Zhu et al. 2018).</p>	-3.44	-3.44	Female_up	TRINITY_DN9_3727_c4_g1_i5	9



OSAT_LNC001137. 1 (برنج)، با ژن <i>FT</i> که در مسیر تناوب نوری نقش دارد مرتبط بوده و در رشد تخمک و جنین گامتوفیت ماده برنج و همچنین در فرآیند گل دهی برنج نقش دارد (Liu et al. 2018).	7. $4 \times 10^{-7}$ 0. 0002 73	3. 74	Male _up	TRINITY_DN9 4210_c4_g2_i3	10
ACOM_LNC029444. 1 (آناناس)، با ژن <i>PHY</i> که در مسیر تناوب نوری نقش دارد مرتبط بوده و در مسیر گلدهی آناناس نقش دارد (Wang et al. 2017).	$\times 10^{-6}$ 4.3 0. 0019 26	3. 19	Male _up	TRINITY_DN9 1701_c2_g7_i1	11
MDOM_LNC001130. 4 (سیب)، با ژنهای <i>FT</i> ، <i>CO</i> و <i>PHY</i> که در مسیر تناوب نوری نقش دارند مرتبط بوده و در مکانیسمهای ژنتیکی سرکوب گلدهی سیب نقش دارد (Zhang et al. 2019).	1. $75 \times 10^{-6}$ 0. 0005 28	3. 47	Male _up	TRINITY_DN9 8502_c5_g2_i1	12
GRAI_LNC007716. 1 (پنبه)، با ژن <i>FT</i> که در مسیر تناوب نوری مرتبط بوده و در شناسایی گلبرگ، تشکیل مادگی و گل دهی پنبه نقش دارد (Zhang et al. 2019).	3. $59 \times 10^{-7}$ 0. 0001 55	-3. 75	Female _up	TRINITY_DN9 9420_c3_g1_i4	13

سیزده lncRNA شناسایی شده در پژوهش حاضر که براساس مقایسه توالی با lncRNAهای گزارش شده در گیاهانی چون

نخل روغنی، شبدر قرمز، زیتون، کتان، خیار، گندم، ارزن، برنج، آناناس، سیب و پنبه مشابه بودند، گزارش شده که آن lncRNAها

بر ژنهای *PHYA*، *FT*، *CO* که دخیل در مسیر تناوب نوری فرایند گلدهی می‌باشند، مرتبط هستند.

**مسیر خود انگیزی:** بر اساس نتایج حاصله، تعداد چهار lncRNA مرتبط با مسیر خود انگیزی در تحقیق حاضر شناسایی شد که در همه آنها ارقام نر نسبت به ارقام ماده افزایش بیان نشان دادند و با کدهای TRINITY\_DN97746\_c6\_g1\_i12، TRINITY\_DN80636\_c1\_g1\_i1 و TRINITY\_DN96617\_c1\_g1\_i4، TRINITY\_DN98372\_c0\_g1\_i1 در جدول ۲ ارائه شده‌اند و پس از بررسی و مقایسه، lncRNAهای شناسایی شده با lncRNAهای گزارش شده در گیاهانی همچون نخود فرنگی، ارزن و سیب مشابه بود. lncRNAهای شناسایی شده (کد TRINITY\_DN98372\_c0\_g1\_i1 و MDOM\_LNC017364.2) با lncRNAهای گزارش شده در سیب (MDOM\_LNC007288.1) که با تاثیر بر ژن *FLC* در مکانیسم‌های ژنتیکی سرکوب گلدهی سیب نقش دارند، مشابهت داشتند. lncRNA شناسایی شده با کد TRINITY\_DN80636\_c1\_g1\_i10 مشابه lncRNA گزارش شده در گیاه ارزن (با کد SVIR\_LNC004409.1) است که در مکانیسم‌های موثر در رشد اولیه گل آذین ارزن نقش داشته و همچنین با ژن *FLC* مرتبط می‌باشد. گزارشات حاکی از آن است که همه ژن‌های مسیر خودانگیزی عملکرد مانع شونده برای بیان ژن *FLC* دارند. lncRNA شناسایی شده با کد TRINITY\_DN97746\_c6\_g1\_i12 با lncRNA گزارش شده در نخود فرنگی (کد PSAT\_LNC005767.1) که با ژن *FCA* در مسیر خود انگیزی و مکانیسم‌های موثر رشد گل در نخود فرنگی مرتبط است، مشابهت دارد (جدول ۲).

**ژن *FCA*:** ژن‌های مسیر خودانگیزی عمدتاً مستقل از شرایط محیطی‌اند و به واسطه عواملی از جمله RNA-binding proteins، RNA 3' processing factors و Chromatin modifiers یا lncRNAها از طریق خاموشی RNA در سطح رونویسی و تشکیل کمپلکس پروتئینی و یا تغییرات کروماتینی سبب سرکوب فعالیت ژن *FLC* و در نتیجه گلدهی می‌شوند (Cheng et al. 2017). مهمترین آن‌ها شامل ژن‌های *FCA*، *FY*، *FLD*، *FVE*، *FPA*، *FLK* و *LD* می‌باشد (Song et al. 2016; Srikanth et al. 2011) که در صورت جهش در آن‌ها، فنوتیپ‌های دیرگل‌ده تولید می‌شود. ژن‌های *FCA* و *FPA* یک پروتئین ویژه متصل شونده به RNA گیاهی با موتیف‌های تشخیص RNA چندگانه (RRMs) هستند (Cheng et al. 2017). پروتئین *FCA* برای کاهش بیان *FLC* با پروتئین *FY* که یک فاکتور پردازش انتهایی ۳ در RNA است، برهمکنش دارد (Song et al. 2016). lncRNAهای گزارش شده در گیاه اسفناج از طریق فعال کردن ژن *LFY* که یکی از ژن‌های اصلی تعیین هویت گل است، باعث گلدهی در گیاهان می‌شوند (Lee & Lee 2010). خودالقایی به مجموعه فرآیندهایی اطلاق می‌شود که از طریق نسخه برداری و بیان ژن‌ها منتهی به گلدهی خواهد شد. به عبارت دیگر در خودالقایی جوانه‌ها که پیش از گل‌انگیزی اتفاق می‌افتد، شرایط فیزیولوژیکی در بافت‌ها ایجاد خواهد شد که با کمک تأثیر عوامل خارجی مانند طول روز موجبات پیشروی جوانه‌ها را در مسیر تبدیل شدن آنها به گل فراهم خواهد کرد (Zhu et al. 2018). جوانه‌هایی که خودالقایی در آنها اتفاق افتاده باشد حتی در شرایط غیرانگیزشی بعد از آن نیز توانایی برگشت از مسیر خود را نخواهند داشت.

جدول ۲. lncRNAهای شناسایی شده نخل خرما مرتبط با مسیر خود انگیزی

Table 2. Identified date palm lncRNAs related to the autonomic pathway

ردیف Nu mbe r	کد lncRNAهای شناسایی شده The code of lncRNAs identified	وضعیت در نر و ماده UP status in Male and Femal e	Lo g <sub>2</sub> Fo ld Ch an ge	P. Value And FDR	کد lncRNAهای گزارش شده مشابه در سایر گیاهان، گزارش عملکرد و منبع Code of similarly reported lncRNAs in other plants, function reported and reference
1	TRINITY_D N97746_c6_g 1_i12	Male -up	4. 20	3. 76 ×10 <sup>-5</sup> 2. 47E- 05	<i>FCA</i> PSAT_LNC005767. 1 (pea), affects the FCA gene related to the self-stimulation pathway and the effective mechanisms of flower growth in peas (Jiao et al. 2017). مرتبط با مسیر خود انگیزی و مکانسیمهای موثر رشد گل در خود فرنگی نقش دارد (Jiao et al. 2017).
2	TRINITY_D N96617_c1_g 1_i4	Male -up	3. 35	3. 59×10 <sup>-7</sup> 0. 00139 7	MDOM_LNC007288. 1 (apple), the FLC gene related to the self-stimulation pathway and the genetic mechanisms of repression are involved in apple flowering (Zhang et al. 2019). با مسیر خود انگیزی و مکانسیمهای ژنتیکی سرکوب در گلدهی سیب نقش دارند (Zhang et al. 2019).
3	TRINITY_D N98372_c0_g 1_i1	Male -up	5. 97	1. 99×10 <sup>-21</sup> 9. 04E- 10	MDOM_LNC017364. 2 (apple), plays a role in apple flowering (Kumar et al. 2016). نقش دارد (Kumar et al. 2016). در گل دهی سیب
4	TRINITY_D N80636_c1_g 1_i10	Male -up	3. 40	3. 55×10 <sup>-5</sup> 0. 00096 4	SVIR_LNC004409. 1 (millet), is involved in the FLC gene related to the self-stimulation pathway and effective mechanisms in the early growth of millet inflorescence (Zhu et al. 2018). مسیر خود انگیزی و مکانسیمهای موثر در رشد اولیه گل آذین ارزن نقش دارد (Zhu et al. 2018).

بنابراین خودالتقایی را میتوان مشتمل بر وقایعی دانست که جوانه را از رشد رویشی به طرف تولید گل هدایت کرده و لازمه آن بروز توقفی در رشد رویشی است. بدیهی است که شدت خودالتقایی با شدت و طول دوره تنش اعمال شده متناسب خواهد بود (Cheng et al. 2017). ژنهای مسیر خود انگیزی، انتقال به گلدهی را القاء می کنند که عمدتاً مستقل از شرایط محیطی اند و باعث

ممانعت از بیان FLC توسط فرآیند کنترل مبتنی بر RNA یا تغییر کروماتین می‌شوند. جهش در این ژن‌ها افزایش سطح mRNA FLC را در پی دارد که در حقیقت باعث کاهش سطح بیان SOC1 و FT می‌شود، در نتیجه تأخیر در گلدهی را در پی دارد (Kim et al. 2017). ژنهای *FPA* و *FCA* پروتئین متصل شونده به RNA مخصوص گیاهی را کد می‌کنند و هر دو حامل موتیفهای تشخیصی RNA چندگانه هستند (Schwab et al. 2005).

**مسیر جیبرلین:** بر اساس نتایج حاصله، تعداد یک lncRNA مرتبط با مسیر جیبرلین در این مطالعه شناسایی شد که lncRNA گزارش شده با کد 1. GRAI\_LNC007716 می‌باشد (جدول ۳) و در ادامه با lncRNAهای مشابه بررسی و مقایسه شد. همچنان که مشاهده می‌شود lncRNA شناسایی شده در مطالعه حاضر که در ارقام نر نسبت به ارقام ماده افزایش بیان داشت، فقط با lncRNA گزارش شده در گیاه پنبه (با کد TRINITY\_DN92253\_c8\_g2\_i10) که نقش موثری در شناسایی گلبرگ و تعیین جنسیت پنبه دارد و با ژن *LFY* که یکی از ژنهای مرتبط با مسیر جیبرلین می‌باشد، مشابهت داشت.

### جدول ۳. lncRNA شناسایی شده نخل خرما و مرتبط با مسیر جیبرلین

Table 3. Identified lncRNA of date palm and associated with gibberellin pathway

کد lncRNAهای گزارش شده مشابه در سایر گیاهان، گزارش عملکرد و منبع Code of similarly reported lncRNAs in other plants, function reported and reference	P. Value And FDR	Log2 Fold Change	وضعیت up در نر و ماده UP status in Male and Female		کد شناسایی شده lncRNAهای The code of lncRNAs identified	ردیف Number
GRAI_LNC007716. 1 (پنبه)، با ژن <i>LFY</i> که در مسیر جیبرلین نقش دارد مرتبط بوده و در شناسایی گلبرگ و تعیین جنسیت پنبه نقش دارد (Rambani et al. 2014). GRAI_LNC007716. 1 (cotton), is related to the LFY gene, which is involved in the gibberellin pathway, and is involved in petal identification and sex determination in cotton (Rambani et al. 2014).	1.17×10 <sup>-7</sup> 0.00039	3.57	Male_up		TRINITY_DN92253_c8_g2_i10	1

**ژن *LFY*:** ژن *LFY* برای نخستین بار در گیاه آرابیدوسیس شناسایی شد و نقش محوری و دوگانه در تمایز بافت مریستمی به گل دارد. علاوه بر این که به عنوان کلیدی‌ترین هماهنگ کننده فرایند القاء گلدهی عمل می‌کند، با فعال‌سازی ژنهای مسیر

ABCDE، نقش اصلی در تنظیم ژن‌های هویت مریستم گل دارد (Lee & Lee 2010). یک فاکتور رونویسی خاص با دو دمین حفاظت شده در ناحیه N ترمینال و C ترمینال و یک موتیف ساختاری Helix-turn-Helix است که به ژن‌های هدف خود متصل می‌شود (Yamaguchi et al. 2021) و به طور مستقیم بیان ژن‌های پایین دست خود از جمله ژن‌های هویت مریستم گل و اندام گل مانند AP1، AP3، CAL، AG، SEP و TFL1 را تنظیم می‌کند (Li et al. 2016). وجود یک ناحیه cis-element در پروموتور ژن *LFY*، پاسخ به GA را بدون تاثیر بر القای *LFY* توسط دوره نوری فعال می‌کند که این نشان‌دهنده دو مسیر مختلف در سطح پروموتور *LFY* می‌باشد (Blazquez et al. 2000). این cis-element شبیه یک محل اتصال فاکتور MYB است و با پروتئین AtMYB33 تعامل دارد. بنابراین جیبرلین‌ها یک مسیر اضافی غیرمستقیم برای تنظیم فرادست *LFY* از طریق *SOC1* دارند و احتمالاً سطوح *LFY* را به وسیله تنظیم *miRNA159* که وابسته به *DELLA* است، کنترل می‌کنند. *lncRNA*های گزارش شده از طریق فعال کردن *LFY* که یکی از ژن‌های اصلی تعیین هویت مریستم گل است، باعث گلدهی در گیاهان می‌شوند (Immink, et al. 2012). مطالعات بر روی جهش در مسیر ساخت یا سیگنال جیبرلین نشان می‌دهد که جیبرلین در زمانی که مسیر تناوب نوری غیرفعال است، به عنوان تسریع کننده گلدهی عمل می‌کند (Hu et al. 2020). استفاده از تیمار جیبرلین به ویژه در گیاهان روزبلند که در شرایط غیر القایی به شکل روزت هستند، سبب تحریک بولتینگ و گلدهی می‌شود (Zhu et al. 2018). در آرابیدوپسیس، واکنش به جیبرلین در ارتباط با تنظیم زمان گلدهی تماماً توسط دو ژن *SOC1* و *LFY* تنظیم می‌شود. بیان *LFY* مستقیماً توسط پروتئین فعال جیبرلین تنظیم می‌شود، از طرف دیگر، *SOC1* بیان *LFY* را از طریق پیوند مستقیم با پیش‌برنده فعال می‌کند. بنابراین، جیبرلین *LFY* را هم از طریق مسیر مستقل و هم مسیر وابسته به *SOC1* تنظیم می‌کند (Lee & Lee 2010). ارتباطی هماهنگ بین جیبرلین و مسیرهای تناوب نوری مشاهده شده است. ژن *CO* در فرآیندهای مرتبط با جیبرلین درگیر بوده و برای افزایش سطح زیست ساخت جیبرلین در آرابیدوپسیس نیاز می‌باشد. همچنین نشان داده شده که اثر جیبرلین در نور قرمز نسبت به تاریکی بیشتر است. در مطالعه حاضر تعداد یک *lncRNA* شناسایی شده مرتبط با مسیر جیبرلین، با *lncRNA* گزارش شده در پنبه مشابه بود که گزارش شده بود *lncRNA* مذکور با ژن *LFY* دخیل در مسیر جیبرلین مرتبط است.

**مسیر بهاره‌سازی:** بر اساس نتایج مطالعه حاضر هیچ *lncRNA* مرتبط با مسیر بهاره‌سازی در نخل خرما شناسایی نشد. مسیر بهاره‌سازی فرآیند انتقال به گلدهی در واکنش به اعمال دوره طولانی سرما در طی زمستان می‌باشد. پس از بهاره‌سازی، گیاهان دارای توانایی گل‌دهی خواهند بود. بهاره‌سازی شامل دو مرحله مجزا درک سرما (احساس و میزان مدت اعمال سرما در طی زمستان) و تبدیل شرایط محیطی به جریان تنظیم کننده داخلی در القاء گلدهی (یک سری تغییر بیان ژن که در واکنش به مدت کافی از اعمال سرما اتفاق می‌افتد) می‌باشد که در نهایت واکنش کاهش موانع گلدهی صورت می‌گیرد (Molecular et al. 2013). در مسیر بهاره‌سازی ژن‌های متعددی دخیل هستند اما از اجزای اصلی این مسیر دو ژن مهم تنظیم کننده یعنی ژن‌های *FRI* و *FLC* می‌باشد که عملکرد این ژن‌ها توسط پروتئین *FRIGIDA* کنترل می‌شود (Li et al. 2015). بهاره‌سازی در بسیاری از گونه‌های

گیاهی برای گلدهی لازم است، اما به تنهایی سبب القای گلدهی نمی‌شود (Baurle et al. 2007). گیاهانی مانند گندم، آرابیدوسیس، ذرت و بابونه برای رسیدن به مرحله گلدهی نیازی به بهاره‌سازی ندارند (Luo et al. 2020). فرایند گلدهی در گیاهان تنها در طی فصل‌های معینی از سال به واسطه شبکه‌های تنظیمی حاصل از سیگنال‌های محیطی (دما و طول روز) (Kim & Sung 2001) و نتایج فرآیند ژن‌های دخیل در چهار مسیر تنظیمی گلدهی، شامل تناوب نوری، بهاره‌سازی، خودانگیزی و جیبرلین می‌باشد (Wang et al. 2017; Wang et al. 2018). به عبارتی این فرآیند یک عمل چند فاکتوری و تحت تاثیر عوامل ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی بوده و بسیاری از عوامل فیزیولوژیکی مانند درجه حرارت، نور، قندها، کلسیم، پلی‌آمین‌ها، استرول‌ها و هورمون‌ها در این انتقال وضعیت موثر هستند (Kim & Sung 2017). گرچه این مسیرها مستقل از یکدیگر عمل می‌کنند اما احتمالاً میان‌کنش‌هایی که بین آنها رخ می‌دهد سبب فعال‌سازی یک سری از lncRNA‌های همپوشان معروف به «یکپارچه سازهای مسیر گلدهی» می‌شوند که به نوبت، محصولات این lncRNA‌ها می‌تواند هم هویت مریستم گل را فعال یا تنظیم کند و هم زمان گلدهی را نیز در گیاهان کنترل نماید (Ogiso et al. 2010; Ogiso-Tanaka et al. 2013; Shibaya et al. 2016). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که lncRNA‌های شناسایی شده در نخل خرما با سه مسیر تناوب نوری، خود انگیزی و جیبرلین اسید مرتبط بودند، ولی با مسیر بهاره‌سازی هیچ ارتباطی شناسایی نشد. لذا براساس نتایج حاصله از این تحقیق در رابطه با گلدهی نخل خرما سه مسیر مذکور دخیل هستند و از آنجا که هر مسیر گلدهی عمدتاً تحت تاثیر یک سری از ژن‌ها و lncRNA‌ها مخصوص همان مسیر است، احتمالاً این lncRNA‌ها از طریق کنترل ژن‌های پایین دست خود بر فرآیند گلدهی تاثیر می‌گذارند (Amasino 2010; Yokoo et al. 2014; Zheng et al 2015).

**نتیجه‌گیری:** نتایج تحقیق حاضر نشان داد که lncRNA‌های زیادی در مسیرهای گلدهی نخل خرما شناسایی شدند که در سه مسیر تناوب نوری (با تعداد سیزده lncRNA)، خودانگیزی (با تعداد یک lncRNA) و مسیر جیبرلین (با تعداد چهار lncRNA) نقش داشتند در حالیکه در مسیر بهاره‌سازی هیچ lncRNA شناسایی نشد. در ادامه lncRNA‌های شناسایی شده براساس مقایسه توالی با lncRNA‌های گزارش شده در سایر گیاهان و تاثیراتی که آن lncRNA‌ها بر برخی ژن‌های مسیرهای مختلف گلدهی داشتند، مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند که نتایج مقایسه انجام شده نشان داد که سیزده lncRNA شناسایی شده مرتبط با مسیر تناوب نوری، با lncRNA‌های گزارش شده در گیاهانی چون نخل روغنی، شبدر قرمز، زیتون، کتان، خیار، گندم، ارزن، برنج، آناناس، سیب و پنبه مشابه بودند و گزارش شده بود که آن lncRNA‌ها بر ژن‌های *PHYA*، *FT*، *CO* دخیل در مسیر تناوب نوری مرتبط هستند. یک lncRNA شناسایی شده مرتبط با مسیر جیبرلین، با lncRNA گزارش شده در پنبه که مرتبط با ژن *LFY* بود، مشابهت داشت. چهار lncRNA شناسایی شده مرتبط با مسیر خودانگیزی، با lncRNA‌های گزارش شده در سیب، ارزن و نخود فرنگی مشابه بود که گزارش شده بود lncRNA‌های مذکور بر ژن *FCA* دخیل در مسیر خودانگیزی مرتبط بوده و همچنین سرکوب کننده ژن *FLC* بودند. از آنجا که پژوهش حاضر به نوبه خود جزو اولین پروژه‌های تحقیقاتی در راستای شناسایی مسیرها و lncRNA‌های دخیل در مسیرهای گلدهی نخل خرما می‌باشد، امید است که بتوان با شناسایی و مقایسه lncRNA‌های دخیل

در مسیرهای مختلف گلدهی و شناسایی ژن‌های مرتبط با آنها، زمینه را برای انجام تحقیقات آتی کاربردی در این گیاه ارزشمند فراهم نمود.

**سپاسگزاری:** از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه زابل به خاطر حمایت مالی با کد گرنت ۷۰۹۲ و همکاری در اجرای پژوهش حاضر سپاسگزاری می‌شود.

## منابع

- جاودان اصل مریم، رجبی معماری حمید، نباتی احمدی داریوش، رهنما افراسیاب (۱۳۹۵) مقایسه روش‌های مختلف استخراج RNA ژنومی از گیاه دارویی بومادران (*Achillea millefolium*). مجله تولیدات گیاهی ۳۹ (۲)، ۱۱۴-۱۰۵.
- جعفری احمدآبادی سید علی اصغر، عسکریه‌همت حشمتاله، محمدآبادی محمدرضا (۱۴۰۲) تاثیر شاهدانه بر بیان ژن DLK1 در بافت قلب بره‌های کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۵ (۱)، ۲۳۴-۲۱۷.
- روح الامین سپیده، زاهدی بهمن، نظریان-فیروزآبادی فرهاد، ساعی علی (۱۳۹۴) تجزیه و تحلیل بیان ژن‌های تنظیم کننده کلیدی بیوستنژ آنتوسیانین در انار. مجله علوم باغبانی ۱۸۶، ۸۶-۸۴.
- شکری سمیرا، خضری امین، محمدآبادی محمدرضا، خیرالدین حمید (۱۴۰۲) بررسی بیان ژن MYH7 در بافت‌های ران، دست و راسته بره‌های پرواری نژاد کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۵ (۲)، ۲۳۶-۲۱۷.
- شجاعی سیدحبيب، مصطفوی خداداد، بی‌همتا محمدرضا و همکاران (۱۴۰۰) پایداری در هیبریدهای ذرت بر اساس تکنیک گرافیکی بای پلات GGE. مجله زراعت ۱۲ (۲)، ۳۹۴.
- محمدآبادی محمدرضا، گلکار افروز، عسکری حسنی مجید (۱۴۰۲) اثر رازیانه (*Foeniculum vulgare*) بر بیان ژن فاکتور ۱ رشد شبه انسولین در بافت شکمبه گوسفند کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۵ (۴)، ۲۵۶-۲۳۹.

## References

- Adawy SS, Hussein HAE, Ismail E S EL-Itiby H A, et al. (2004) Genotyping Egyptian Date palm cultivars using RAPD, ISSR, and AFLP markers and estimation of genetic stability among tissue culture-derived plants. Arab J Biotechnol 8(1), 99-114.
- Abou-Elwafa SF, Büttner, B, Chia T, et al. (2011) Conservation and divergence of autonomous pathway genes in the flowering regulatory network of *Beta vulgaris*. J Exp Bot 62(10), 3359-3374.
- Amasino R (2010) Seasonal and developmental timing of flowering. Plant J 61, 1001-1013.
- Azadi Ahmadabadi G (2023) Examining the effects of various scientific collaborations on the quality of Iranian scientific publications in biotechnology. Cas J Sci 10(2), 65-76 (In Persian).
- Barazandeh A, Mohammadabadi MR, Ghaderi-Zefrehei M, Nezamabadipour H (2016) Predicting CpG Islands and Their Relationship with Genomic Feature in Cattle by Hidden Markov Model Algorithm. Iran J Appl Anim Sci 6 (3), 571-579.
- Bordbar F, Mohammadabadi M, Jensen J, et al. (2022) Identification of candidate genes regulating carcass depth and hind leg circumference in Simmental beef cattle using Illumina Bovine Beadchip and next-generation sequencing. J Anim Sci 12 (9), e1103.

- Blazquez MA, Weigel D (2000) I of floral inductive signals in Arabidopsis. *J Nat* 404, 889-892.
- Bhatia D, Sharma NR, Singh J, Kanwar RS (2017) Biological methods for textile dye removal from wastewater: A review. *Crit. Rev. Environ Sci Technol* 47(19), 1836-1876.
- Bäurle I, Smith L, Baulcombe DC, Dean C (2007) The widespread role of the flowering-time regulators FCA and FPA in RNA-mediated chromatin silencing. *Science* 318(5847), 109-112.
- Channuntapipat C, Sedgley M, Collins G (2001) Sequences of the cDNAs and genomic DNAs encoding the S1, S7, S8, and Sf alleles from almond, *Prunus dulcis*. *Thero Appl Genet* 103, 1115-22.
- Cheng JZ, Zhou YP, Lv TX, et al. (2017) Research progress on the autonomous flowering time pathway in Arabidopsis. *Physiol Mol Biol Plants* 23, 477-485.
- Chen N, Zhou M, Dong X, et al. (2020) Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *The Lancet*, UK, 507-513.
- Corbesier L, Vincent C, Jang S, et al. (2007) FT protein movement contributes to long-distance signaling in the floral induction of Arabidopsis. *Science* 316(5827), 1030-1033.
- Ding J, Shen J, Mao H, et al. (2012) RNA-directed DNA methylation is involved in regulating photoperiod-sensitive male sterility in rice. *Mol Plant* 5, 1210-1216.
- Fang J, Zhang F, Wang H, et al. (2019) Ef-cd locus shortens rice maturity duration without yield penalty. *Proc Natl Acad Sci U S A* 116, 18717-18722.
- Golicz AA, Bayer PE, Barker GC, et al. (2016) The pangenome of an agronomically important crop plant *Brassica oleracea*. *Nat Commun* 7(1), e13390.
- Gonzalez-Mendoza D, Moreno AQ, Zapata-Perez O, et al. (2008) An improved method for the isolation of total RNA from *Avicennia germinans* leaves. *Z Naturforsch* 63(1-2), 124-126.
- Glazińska P, Zienkiewicz A, Wojciechowski W, Kopcewicz J (2009) The putative miR172 target gene *InAPETALA2*-like is involved in the photoperiodic flower induction of *Ipomoea nil*. *J Plant Physiol* 166(16), 1801-1813.
- Gorshkova T, Chernova T, Mokshina N, et al. (2018) Transcriptome analysis of intrusively growing flax fibers isolated by laser microdissection. *Sci Rep* 8(1), e14570.
- Han J, Jentzen A, Weinan E (2018) Solving high-dimensional partial differential equations using deep learning. *Proc Nat Acad Sci* 115(34), 8505-8510.
- Hirsch CR, Clark DM, Mathews A (2006) Imagery and interpretations in social phobia: Support for the combined cognitive biases hypothesis. *Behav Ther* 37(3), 223-236.
- Hu J, Jin Q, Ma Y (2020) *AfLFY*, a *LEAFY* homolog in *Argyranthemum frutescens*, controls flowering time and leaf development. *Sci Rep* 10(1), 1-11.
- Irish V F (2010) The flowering of Arabidopsis flower development. *Plant J* 611014, e1028.
- Inigo S, Alvarez MJ, Strasser B, et al. (2012) PFT1, the MED25 subunit of the plant Mediator complex, promotes flowering through *CONSTANS* dependent and independent mechanisms in Arabidopsis. *Plant J* 69, 601-612.
- Immink RG, Posé D, Ferrario S, et al. (2012) Characterization of *SOC1*'s central role in flowering



- by the identification of its upstream and downstream regulators. *Plant Physio* 160(1), 433-449.
- Imaizumi T (2010) *Arabidopsis* circadian clock and photoperiodism: time to think about location. *Curr Opin Plant Biol* 13, 83-89.
- Jafari Ahmadabadi SAA, Askari-Hemmat H, Mohammadabadi M, et al. (2023) The effect of Cannabis seed on DLK1 gene expression in heart tissue of Kermani lambs. *Agric Biotechnol J* 15 (1), 217-234 (In Persian).
- Jung JH, Seo PJ, Park CM (2009) MicroRNA biogenesis and function in higher plants. *Plant Biotechnol Rep* 3, 111-126.
- Javdan Asl M, Rajabi Memari H, Nabati Ahmadi D, Rahnama A (2016) Comparison of Different Genomic RNAs Extraction Methods From the Medicinal Plant Yarrow (*Achillea millefolium* L.). *Plant Prod* 39(2), 105-114 (In Persian).
- Jiao K, Li X, Guo W, et al. (2017) High-Throughput RNA-Seq data analysis of the single nucleotide polymorphisms (SNPs) and Zygomorphic Flower Development in Pea (*Pisum sativum* L.) *Int J Mol Sci* 18(12), e2710.
- Krizek BA (1999) Ectopic expression of AINTEGUMENTA in *Arabidopsis* plants results in increased growth of floral organs. *Dev Genet* 25(3), 224-236.
- Kim SM, Kang SW, Kwon ON, et al. (2012) Fucoxanthin as a major carotenoid in *Isochrysis* aff. *galbana*: Characterization of extraction for commercial application. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 55, 477-483.
- Kim DH, Xi Y, Sung S (2017) Modular function of long noncoding RNA, COLDAIR, in the vernalization response. *Plant Genet* 13, 1–18.
- Kovi MR, Amdahl H, Alsheikh M, et al. (2017) De novo and reference transcriptome assembly of transcripts expressed during flowering provide insight into seed setting in tetraploid red clover. *Sci Rep* 7(1), e44383.
- Kircher M, Xiong C, Martin B, et al. (2019) Saturation mutagenesis of twenty disease-associated regulatory elements at single base-pair resolution. *Nat Com* 10(1), e3583.
- Kim S (2001). International transmission of US monetary policy shocks: Evidence from VAR's. *J Monet Econ* 48(2), 339-372.
- Koornneef M, Hanhart C, Van der Veen J (1991) A genetic and physiological analysis of late flowering mutants in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Gen Genet* 229, 57-66.
- Kumar G, Arya P, Gupta K, et al. (2016) Comparative phylogenetic analysis and transcriptional profiling of MADS-box gene family identified DAM and FLC-like genes in apple (*Malus x domestica*). *Sci Rep* 6(1), e20695.
- Li L, Eichten SR, Shimizu R, et al. (2016) Genome-wide discovery and characterization of maize long non-coding RNAs. *Genet Biol* 15, 1-15.
- Li R, Fu D, Zhu B, et al. (2018) CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of lncRNA1459 alters tomato fruit ripening. *Plant J* 94 513–524.
- Li F, Melkonian M, Rothfels CJ, et al. (2015) Phytochrome diversity in green plants and the origin of standard plant phytochromes. *Nat Com* 6(1), e7852.
- Li Y, Wang N, Liu J, et al. (2017) Demystifying neural style transfer. arXiv preprint

arXiv:1701.01036.

- Li C, Yang Y, Ren L, et al. (2020) Genetic evolution analysis of 2019 novel coronavirus and coronavirus from other species. *Infection, Genet Evol* 20, e104285.
- Li F W, Melkonian M, Rothfels C J, et al. (2017) Phytochrome diversity in green plants and the origin of standard plant phytochromes. *Nat Commun* 8(1), e7852.
- Luo X, He Y (2020) Experiencing winter for spring flowering: A molecular epigenetic perspective on vernalization. *J Integr Plant Biol* 62(1), 104-117.
- Lee J, Lee I (2010) Regulation and function of SOC1, a flowering pathway integrator. *J Exp Bot* 61, 2247-2254.
- Liu H, Wang R, Mao B, et al. (2019) Identification of lncRNAs involved in rice ovule development and female gametophyte abortion by genome-wide screening and functional analysis. *BMC Genet* 20, 1-16.
- Mohammadabadi M, Golkar A, Askari Hesni M (2023) The effect of fennel (*Foeniculum vulgare*) on insulin-like growth factor 1 gene expression in the rumen tissue of Kermani sheep. *Agric Biotechnol J* 15 (4), 239-256 (In Persian).
- Mohamadipoor L, Mohammadabadi M, Amiri Z, et al. (2021) Signature selection analysis reveals candidate genes associated with production traits in Iranian sheep breeds. *BMC Vet Res* 17 (1), 1-9.
- Mohammadinejad F, Mohammadabadi M, Roudbari Z, et al. (2022) Identification of Key Genes and Biological Pathways Associated with Skeletal Muscle Maturation and Hypertrophy in *Bos taurus*, *Ovis aries*, and *Sus scrofa*. *Animals* 12 (24), e3471.
- Mockler T, Yang H, Yu X, et al. (2003) Regulation of photoperiodic flowering by Arabidopsis photoreceptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(4), 2140-2145.
- Masoudzadeh N, Östensson M, Persson J, et al. (2020) Molecular signatures of anthroponotic cutaneous leishmaniasis in the lesions of patients infected with *Leishmania tropica*. *Sci Rep* 10(1), E16198.
- Melzer S, Müller AE, Jung C (2014) Genetics and Genomics of Flowering Time Regulation in Sugar Beet. *Genomics of Plant Genetic UK*. 3-26.
- Nag A, Jack T (2010) Chapter twelve—sculpting the flower; the role of microRNAs in flower development. *Curr Top Dev Biol* 91 349–378.
- Nejat N, Mantri N (2018) Emerging roles of long non-coding RNAs in plant response to biotic and abiotic stresses *Crit Rev Biotechnol* 38(1), 93-105.
- Ogiso E, Takahashi Y, Sasaki T, et al. (2010) The role of casein kinase II in flowering time regulation has diversified during evolution. *Plant Physiol* 152(2), 808-820.
- Ogiso E, Matsubara K, Yamamoto S, et al. (2013) Natural variation of the rice flowering locus T1 contributes to flowering time divergence in rice. *Plos One* 8(10), e75959.
- Ooi S E, Sarpan N, Abdul Aziz N, et al. (2019) Differential expression of heat shock and floral regulatory genes in pseudocarpel initials of mantled female inflorescences from *Elaeis guineensis* Jacq. *Plant Rep* 32, 167-179.
- Perry KI, Herms DA (2016) Response of the forest floor invertebrate community to canopy gap

- formation caused by early stages of emerald ash borer-induced ash mortality. *Ecol Manag* 375, 259-267.
- Pezhman H (2002) A view on date palm situation and its research program in Iran. *Proceeding of Date Palm Global Network Establishment Meeting*, UAE University, Al Ain. 71-80.
- Posé S, Kirby AR, Mercado JA, et al. (2012) Structural characterization of cell wall pectin fractions in ripe strawberry fruits using AFM. *Carbohydr Polym* 88(3), 882-890.
- Pearce S, Tabbita F, Cantu D, et al. (2014) "Regulation of Zn and Fe transporters by the GPC1 gene during early wheat monocarpic senescence. *BMC Plant Biology* 14, 1-23.
- Rinn J L, Chang H Y (2012) Genome regulation by long noncoding RNAs. *Annu Rev Biochem* 81, 145-166.
- Rowley CW, Dawson ST (2017) Model reduction for flow analysis and control. *Annu Rev Fluid Mech* 49, 387-417.
- Rouholamin S, Zahedi B, Nazarian-Firouzabadi F, Saei A (2015) Expression analysis of anthocyanin biosynthesis key regulatory genes involved in pomegranate (*Punica granatum* L). *Sci Hortic* 186, 84-88 (In Persian).
- Ramírez-Tejero JA, Jiménez-Ruiz J, Leyva-Pérez M, et al. (2020) Gene expression pattern in olive tree organs (*Olea europaea* L). *Genet* 11(5), e544.
- Rambani A, Page JT, Udall JA (2014) Polyploidy and the petal transcriptome of *Gossypium*. *BMC Plant Biol* 14, 1-14.
- Safaei SMH, Dadpasand M, Mohammadabadi M, et al. (2022) An *Origanum majorana* Leaf Diet Influences Myogenin Gene Expression, Performance, and Carcass Characteristics in Lambs. *Animals* 13 (1), e14.
- Shahsavari M, Mohammadabadi M, Khezri A, et al. (2022) Effect of Fennel (*Foeniculum Vulgare*) Seed Powder Consumption on Insulin-like Growth Factor 1 Gene Expression in the Liver Tissue of Growing Lambs. *Gene Expr* 21 (2), 21-26.
- Shojaei SH, Mostafavi K, Bihamta MR, et al. (2022) Stability on maize hybrids based on GGE biplot graphical technique. *Agron* 12(2), e394 (In Persian).
- Shokri S, Khezri A, Mohammadabadi M, Kheyrodin H (2023) The expression of MYH7 gene in femur, humeral muscle and back muscle tissues of fattening lambs of the Kermani breed. *J Agric Biotechnol* 15 (2), 217-236 (In Persian).
- Sun K, Tordjman J, Clément K, Scherer PE (2013) Fibrosis and adipose tissue dysfunction. *Cell Metab* 18(4), 470-477.
- Srikanth A, Schmid M (2011) Regulation of flowering time: all roads lead to Rome. *Cell Mol Life Sci* 68(12), 2013-2037.
- Song X, Sun L, Luo H, et al. (2016) Genome-wide identification and characterization of long non-coding RNAs from mulberry (*Morus notabilis*) RNA-seq data. *Genetics* 7(3), e11.
- Schwab R, Palatnik JF, Riester M, et al. (2005) Specific effects of microRNAs on the plant transcriptome. *Dev cell* 8(4), 517-527.
- Shin WJ, Nam AH, Kim JY, et al. (2022) Intronic long noncoding RNA, RICE FLOWERING ASSOCIATED (RIFLA), regulates OsMADS56-mediated flowering in rice. *Plant Sci* 320, e111278.

- Shibaya T, Hori K, Ogiso-Tanaka E, et al. (2016) Hd18, encoding histone acetylase related to Arabidopsis FLOWERING LOCUS D, is involved in the control of flowering time in rice. *Plant Cell Physiol* 57(9), 1828-1838.
- Sheerin DJ, Hiltbrunner A (2017) Molecular mechanisms and ecological function of far-red light signaling. *Plant Cell Environ* 40(11), 2509-2529.
- Turck F, Fornara F, Coupland G (2008) Regulation and identity of florigen: FLOWERING LOCUS T moves center stage. *Annu Rev Plant Biol* 59, 573-594.
- Torres MF, Mathew LS, Ahmed I, et al. (2018) Genus-wide sequencing supports a two-locus model for sex determination in Phoenix. *Nat Com* 9(1), e3969.
- Wu X, Zhu X (2013) Data mining with big data. *IEEE transactions on knowledge and data engineering*, UK, 97-107.
- Wu W1, Zheng XM, Chena D, et al. (2017) OsCOL16, encoding a CONSTANS-like protein, represses flowering by up-regulating Ghd7 expression in rice. *Plant Sci* 260, 60-69.
- Walbot V, Evans MM (2003) Unique features of the plant life cycle and their consequences. *Nat Rev Genet* 4(5), 369-379.
- Wang J, Meng X, Dobrovolskaya OB, et al. (2017) Non-coding RNAs and their roles in stress response in plants. *Genom Proteom Bioinform* 15, 301-312.
- Wang Y, Luo X, Sun F, et al (2020) Overexpressing lncRNA LAIR increases grain yield and regulates neighboring gene cluster expression in rice. *Nat Com* 9, 1-9.
- Wang Y, Luo X, Sun F, et al (2018) Overexpressing lncRNA LAIR increases grain yield and regulates neighboring gene cluster expression in rice. *Nat Com* 9, 1-9.
- Yamaguchi N (2021) LEAFY, a pioneer transcription factor in plants: A mini-review. *Front Plant Sci* 12, e701406.
- Yokoo A, Suzuki YJ, Iguchi M, et al (2014) Dual infrasound sources from a vulcanian eruption of Sakurajima volcano inferred from cross-array observation. *Seismol Res Lett* 85(6), 1212-1222.
- Zhang P, Du H, Wang J, et al. (2019) Multiplex CRISPR/Cas9-mediated metabolic engineering increases soya bean isoflavone content and resistance to soya bean mosaic virus. *Plant Biotechnol J* 87, 1384-1395.
- Zhu C, Yang J, Box MS, et al. (2018) A dynamic co-expression map of early inflorescence development in *Setaria viridis* provides a resource for gene discovery and comparative genomics. *Front Plant Sci* 9, e1309.
- Zhu Z, Woodcock CE, Holden C, et al. (2015) Generating synthetic Landsat images based on all available Landsat data: Predicting Landsat surface reflectance at any given time. *Remote Sens. Environ* 162, 67-83.