ژنتیک نوین
دوره یازدهم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۵
صفحه ۱۵٤-۱٤۹

تاثیر هورمون اسیدآبسزیک و سیتوکینین بر بیان ژن فلاونول سنتاز (*FLS*) در گیاه علف مورچه (*Cressa cretica*)

Influence of abscisic acid and cytokinin hormones on flavonol synthase (*FLS*) gene expression in alkali weed (*Cressa cretica*)

داود نادری*[۱]، محمود سلوکی[۱]، براتعلی فاخری[۱]
۱- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیاران، دانشگاه زابل، ایران

Naderi D*[1], Solouki M[1], Fakheri B[1]

1- MSc Student, Associate Professors, University of Zabol, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:naderi.davoud02@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۳/۵/۱۲- تاریخ پذیرش: ۹٤/۲/۱۵)

چکیده

در این مطالعه، بیان ژن فلاونول سنتاز (*FLS*) در نمونه‌های تیمار شده با کاربرد خارجی هورمون اسید آبسزیک با غلظت ppm ۳۰۰ در مرحله رویشی و پس از گذشت ٤ ماه از رشد گیاه اسپری در دو زمان به فاصله ۸ روز و غلظت ppm۵۰۰ ABA و BAP با استفاده از روش Real Time PCR، بررسی شد. هدف از بررسی اثر هورمون اسیدآبسزیک در دو زمان، بررسی اثر غلظت و مدت زمان ماندگاری هورمون اسید آبسزیک در گیاه علف مورچه بر روی بیان ژن *FLS* بود. تجزیه داده‌ها با روش «پافل و REST» انجام شد. ارزیابی داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و از طریق آزمون دانکن نشان داد که میانگین تغییرات بیان ژن فلاونول سنتاز برای تیمارها در مقایسه با شاهد ۲/٤ - ۱/٤ برابر شد. تیمار دوم که به‌کارگیری مرحله دوم هورمون اسیدآبسزیک با غلظت ppm ۳۰۰ است، بیش‌ترین تاثیر را در بیان ژن فلاونول سنتاز داشت و در سطح یک درصد معنی‌دار شد ($p<۰/۰۱$). مرحله اول به‌کارگیری هورمون اسیدآبسزیک در بیان ژن فلاونول سنتاز نیز تاثیر داشت اما میزان بیان ژن ناچیز بود. تحلیل نتایج و مقایسه میزان بیان ژن *FLS* در دو زمان نشان داد که هر چه هورمون اسید آبسزیک در گیاه بیشتر باقی بماند میزان بیان ژن فلاونول سنتاز بیشتر خواهد بود. بیان ژن *FLS* طی به کارگیری ppm ۵۰۰ هورمون سیتوکینین افزایش می‌یابد. طی مقایسه دو روش پافل و نرم افزار REST، روش پافل به‌منظور تجزیه داده‌ها پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی

روش پافل
طب سنتی *Cressa cretica*
علف مورچه
REST

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.16.9]

علف مورچه (*Cressa cretica*)، گیاهی از خانواده پیچک با چرخه زندگی دائمی و همیشگی است و در فرهنگ عربی به نام "نوادا Nevada" (Tackholm 1974) و در گویش محلی زابل به عنوان "سْوَجْگْ Svajg" شناخته می‌شود. علف مورچه گیاه متحمل به شوری قابل توجهی است که در سخت‌ترین شرایط تابستان و خاک‌های شور با غلظت‌های بالای نمک به زندگی خود ادامه می‌دهد و شرایط طبیعی رشد و نمو را انجام می‌دهد (Satakopan and Karandiker 1961). تحقیقات انجام شده بر روی این گیاه نشان می‌دهد که بخش‌های هوایی آن دارای تعدادی ترکیب فلاونوئیدی می‌باشد (Abdelaaty et al. 2005) که از آن جمله می‌توان به کوئرستین (Tackholm 1974)، کائمپفرول و روتین (Purushothaman and Kalyani 1974) اشاره کرد. کورستین (پنتا هیدروکسی فلاون) به رده بزرگ ترکیبات فلاونوئیدی پلی فنل تعلق دارد و یکی از آنتی اکسیدان‌های طبیعی مهم است. ویژگی ضد سرطان بودن آن، از طریق آزمایش‌های *In vitro* و *In vivo* ثابت شده‌است (Baghel et al. 2012). ترکیب کورستین طی یک مسیر بیوسنتزی، از دی‌هیدروکسی کوئرستین توسط آنزیم فلاونول سنتاز به دست می‌آید (Abdelaaty 2005). آنزیم فلاونول سنتاز که واکنش تشکیل دی هیدروفلاونول را به فلاونول کاتالیز می‌کند، یکی از کلیدی‌ترین آنزیم‌های موثر در بیوسنتز فلاونوئیدها می‌باشد. فلاونول سنتاز به خانواده ۲- اگزوگلوتارات دی اکسیژناز تعلق دارد. ژن کدکننده این آنزیم، فلاونول سنتاز (*FLS*) می‌باشد (Forkmann 1991). (2004) .Shahat et al، پنج نوع فلاونوئید از قسمت‌های هوایی گیاه *C.cretica* شناسایی کردند که یکی از آن‌ها کوئرستین می‌باشد. (2011) .Amandeep et al، اثر کاربرد خارجی هورمون اسید-آبسزیک را از طریق دو بار اعمال در اولین مرحله رسیدگی و ۱۳ روز پس از مرحله اول، بر روی میزان و ظرفیت تولید محتویات فنولی در گونه‌ای از انگور به نام Muscadonia grape بررسی کردند. طبق این آزمایش مشخص شد که محتویات فنولی و ظرفیت تولید ترکیبات آنتی اکسیدانی گونه مورد نظر در اثر به کار بردن هورمون اسید آبسزیک افزایش یافت (یادآوری می‌شود که کوئرستین نوعی ترکیب فنولی است). همچنین مشخص شد که میزان ماده کوئرستین و مایریستین (Myricetin) تنها در مرحله اول به کارگیری هورمون افزایش یافت.

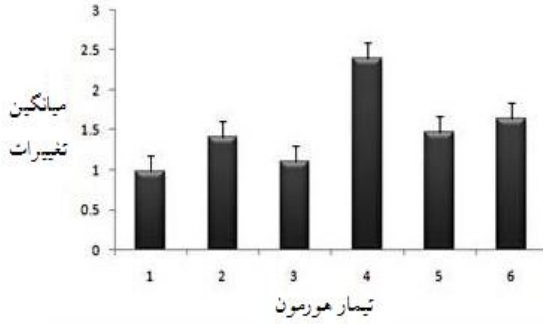
این تحقیق در پژوهشکده زیست فناوری (بیوسنتر) دانشگاه زابل انجام شد. بذور گیاه علف مورچه (*Cressa cretic*a) از طریق جمع‌آوری از محیط طبیعی آماده و در تعدادی گلدان کشت داده شد. پژوهش حاضر به صورت یک طرح کامل تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار انجام گرفت. تیمارها شامل اسپری هورمون اسید آبسزیک در دو زمان و هر زمان با فاصله ۸ روز با غلظت ppm ۳۰۰ (Amandeep et al. 2011) و همچنین غلظت ppm ۵۰۰ از هورمون اسید آبسزیک و سیتوکینین به صورت تک مرحله‌ای انجام شد (Waterland et al. 2010). استخراج RNA کل از برگ‌های تازه و فعال در مرحله رویشی و پس از گذشت ٤ ماه از رشد گیاه انجام شد. این عمل به تعداد ۳ تکرار برای هریک از نمونه‌های شاهد و تیمار بر اساس دستورالعمل کیت Cinna Pure RNA Kit (سیناژن) صورت گرفت. درصد خلوص و میزان RNA استخراجی از طریق دستگاه بیوفتومتر تعیین و نسبت جذب نوری در طول موج‌های ۲٦۰ و ۲۸۰ نانومتر تعیین شد. نمونه‌هایی که دارای ۲٦۰/۲۸۰ OD در محدوده ۱/۷ تا ۲/۱ بودند، جهت سنتز cDNA به کار گرفته شد. به منظور اثبات عدم آلودگی نمونه‌ها به DNA ژنومی، از نمونه کنترل منفی استفاده شد. به منظور انجام واکنش رونویسی معکوس (سنتز cDNA)، از Total RNA و غلظت g ۱۰ بر اساس دستورالعمل کیت سنتز cDNA استفاده شد. این عمل با استفاده از کیت دو مرحله‌ای 2- Step RT-PCR kit (Vivantis) و آغازگر Random Hexamer انجام گرفت. واکنش رونویسی معکوس در حضور MuLV Reverse transcriptase در دمای ٤۲°C به مدت ٦۰ دقیقه انجام شد. طراحی آغازگر برای تکثیر اختصاصی ژن فلاونول سنتاز از طریق PCR، از مناطق حفاظت شده (Conserved region annotated) در پایگاه‌های بانک ژن صورت گرفت. توالی آغازگر ژن فلاونول سنتاز و کنترل داخلی در جدول ۱ نشان داده شده‌است. به‌منظور بررسی سطح رونویسی ژن فلاونول سنتاز در گیاه علف مورچه، واکنش PCR برای ژن کنترل و ژن فلاونول سنتاز به تعداد ۳۵ چرخه به صورت ۹٤ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه، ٥٦ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٤٥ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.16.9]

و با حجم ۲۵ میکرولیتر و دو میکرولیتر نمونه cDNA با غلظت g ۱ بر اساس دستورالعمل انجام شد.

به‌منظور بررسی کمی بیان ژن، از طریق به کارگیری دستگاه Real Time PCR (شرکت Corbett research – RG 3000)، تمام cDNAهای سنتز شده از طریق Real Time PCR مورد مطالعه قرار گرفت. در این آزمایش از Hot Taq Eva Green qPCR Mix (no ROX) (شرکت سیناژن) استفاده شد. جهت تجزیه و تحلیل، نسبت بیان ژن هدف (ژن فلاونول سنتاز FLS) در مقایسه با ژن کنترل 18S rRNA برای تمام تیمارها از روش Pfaffle و REST استفاده شد. برای رسم منحنی استاندارد، یکی از cDNAهای تیمار با غلظت مناسب، انتخاب شد و متعاقب آن رقت‌های سریالی ۱۰ برابری (10- fold dilution) از cDNA مورد نظر تهیه شد. برای هر یک از رقت‌ها، چرخه آستانه (Ct) از طریق قرارگیری هریک از سریال‌ها در دستگاه Real Time PCR به دست آمد و در نهایت دستگاه منحنی استاندارد را بر اساس لگاریتم غلظت cDNA و چرخه آستانه ترسیم کرد. میزان بازده PCR برای هر ژن به دلیل اینکه از روش پافل (=Pfaffle = Ratio Rest method) جهت تجزیه داده‌ها استفاده شد، از فرمول =E $10^{(-1/slope)}$ به دست آمد.

جهت مشخص نمودن ضریب همبستگی و تعیین بازدهی سیستم (Efficiency) از cDNA نمونه مناسب، رقت سریالی تهیه و استفاده شد. همچنین جهت بررسی و تایید عدم وجود آلودگی ژنومی از نمونه کنترل منفی (No RT Control) نیز استفاده شد. پس از تهیه رقت‌های سریالی و بررسی میزان تکثیر از طریق Real Time PCR، تجزیه توسط نرم‌افزار دستگاه (Corbett) RG-3000 محاسبه شد و پس از به دست آوردن بازده، ضریب همبستگی، چرخه آستانه و میزان دقیق غلظت، نتایج توسط نرم‌افزار اکسل به صورت زیر مورد تجزیه قرار گرفت و نشان داد که میزان پراکندگی بین نمونه‌ها ناچیز است. نتایج تجزیه واریانس و تاثیر هورمون اسید آبسزیک و سیتوکینین در غلظت‌های مختلف بر بیان ژن فلاونول سنتاز در گیاه علف مورچه، مشخص کرد که تفاوت معنی‌داری از لحاظ میزان بیان ژن *FLS* بین تیمارهای به کار گرفته شده وجود دارد. تجزیه داده‌ها از طریق روش پافل با استفاده از نرم‌افزار SAS مورد محاسبه قرار گرفت. پس از بررسی تجزیه واریانس و مشاهده این‌که بین تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی‌دار وجود دارد، مقایسه میانگین برای هر یک از نمونه‌ها انجام شد و مشاهده شد که میانگین تغییرات بیان ژن فلاونول سنتاز برای هر یک از تیمارها به‌ترتیب برای تیمار ۱، ۲، ۳ و ٤، به میزان ۱/٤۱، ۲/۳۹۷، ۱/٤۷۲ و ۱/٦۳۵ واحد به دست آمد (شکل ۱).



شکل ۱- تجزیه اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر بیان ژن فلاونول سنتاز با فرمول پافل. محور افقی مربوط به تیمارهای مختلف و محور عمودی میانگین تغییرات می‌باشد. ۱) نمونه شاهد برای زمان اول؛ ۲) نمونه تیمار آبسزیک اسید با غلظت ppm ۳۰۰ در زمان اول؛ ۳) نمونه شاهد برای زمان دوم؛ ٤) نمونه تیمار با هورمون آبسزیک اسید در زمان دوم؛ ۵) تیمار ABA با غلظت ppm ۵۰۰؛ ٦) تیمار سیتوکینین با غلظت ppm ۵۰۰.

نتایج نشان داد که تیمار دوم که به کارگیری مرحله دوم هورمون اسیدآبسزیک با غلظت ppm ۳۰۰ است، بیش‌ترین تاثیر را در بیان ژن فلاونول سنتاز داشته و در سطح یک درصد، معنی‌دار شده است ($p<$ ۰/۰۱). مرحله اول بکارگیری هورمون اسیدآبسزیک در بیان ژن فلاونول سنتاز نیز تاثیر داشته اما میزان بیان ناچیز است و با توجه به مشاهده افزایش بیان ژن فلاونول سنتاز در اثر تیمار با هورمون آبسزیک اسید با غلظت ppm ۳۰۰ در زمان دوم و به مدت ۸ روز، استنباط می‌شود که هر چه هورمون اسیدآبسزیک درون بافت گیاهی بیش‌تر بماند، بیان ژن فلاونول سنتاز بیش‌تر می‌شود. همچنین با بررسی نتایج برای تیمار نمونه‌ها با هورمون سیتوکینین (تیمار شماره ٤)، مشاهده شد که این تیمار در بیان ژن فلاونول سنتاز تاثیر داشته و در سطح پنج درصد ($p<$۰/۰۵)، معنی دار شده‌است. در روش پافل (Pfaffl = Ratio) سرعت تکثیر بیان نسبی بر اساس کارایی و بازده ژن هدف برای نمونه تیمار و کنترل در مقایسه با یک ژن استاندارد محاسبه می‌شود.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.16.9]

جدول ۱- توالی آغازگرهای ژن فلاونول سنتاز و کنترل

Gene name	Forward (5′-3′)	Reverse (5′-3′)
FLS	GAAATGATGGAGGCAGCAGG	ATTGGCCCAACTTCATGCTC
18S rRNA	GGACAGGATTGACAGATTGATAG	CTCGTTCGTTATCGGAATTAAC

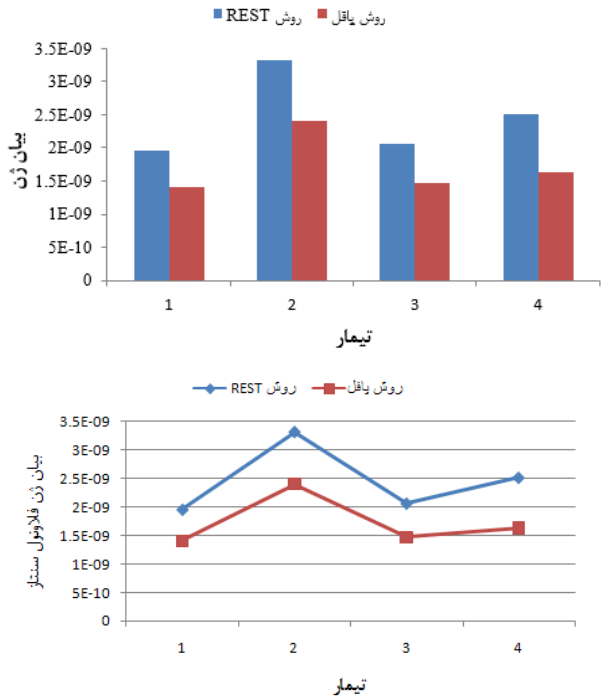
در نرم‌افزار REST ابتدا میزان چرخه آستانه برای هر یک از نمونه‌ها و میزان بازده PCR به برنامه وارد و پردازش داده‌ها بر اساس نمودار BOX Plot نمایش داده شد. همانند تجزیه با روش پافل، در این روش هم تیمار ۲ بیش‌ترین میزان را داشته و در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). جهت تعیین این‌که کدام تیمار در مرحله اول بیش‌ترین تاثیر را در بیان ژن فلاونول سنتاز دارد، تیمارهای ۱، ۳ و ٤ در کنار هم قرار گرفتند. یافته‌ها نشان داد که غلظت ppm ۵۰۰ هورمون سیتوکینین نسبت به دو تیمار دیگر که ۳۰۰ و ppm ۵۰۰ هورمون آبسزیک اسید هستند، تاثیر چشمگیرتری بر بیان ژن داشت (p<۰/۰۵).

پس از بررسی مستقل دو روش تجزیه آماری و به منظور دستیابی به بهترین روش جهت تجزیه آماری، مقایسه همزمان روش‌ها صورت گرفت. همان‌طور که مشاهده می‌شود هر دو روش الگوی مشابهی را برای بیان ژن نشان می‌دهند، هر چند از نظر نمودار بیان ژن دارای تغییراتی هستند (شکل ۲). در هر دو روش در مرحله دوم به کارگیری غلظت ppm ۳۰۰ هورمون اسیدآبسزیک، ژن فلاونول سنتاز بیش‌ترین بیان را از خود نشان می‌دهد که با توجه به تولید بیش‌تر ماده کوئرستین (پروتئین سازنده این آنزیم) و تایید آن از طریق بررسی با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، بیان بالای ژن *FLS* تحت تاثیر این تیمار، دور از انتظار نیست. به‌منظور تایید نتایج حاصل از RT-PCR و qPCR، اطمینان از بازده واکنش (Efficiency) امری ضروری است. روش موثر جهت اطمینان از انجام واکنش دقیق qPCR، تهیه رقت سریالی است. ابتدا رقت سریالی برای دو ژن *FLS* و 18S rRNA تهیه و پس از رسم منحنی استاندارد، بازده واکنش تعیین شد. نتایج صحت آزمایشات و بازده واکنش برای هر دو ژن *FLS* و 18S rRNA، در حد استاندارد قرار داشت. پس از رسم منحنی استاندارد برای هر یک از دو ژن هدف و استاندارد مشاهده شد که شیب خط هر یک از رقت‌های سریالی، مناسب بود. در نتیجه تکثیر نسخه‌ها توسط PCR درست صورت گرفته‌است. اطلاعات حاصل از بررسی بیان ژن فلاونول سنتاز نشان داد که تیمار دوم بیش‌ترین تاثیر را بر بیان ژن فلاونول سنتاز داشته است. پیشرفت‌های تکنولوژیکی از قبیل توسعه سیستم حساس Real Time PCR، اندازه‌گیری کمی سریع و دقیق مقدارهای اندکی از mRNA را فراهم می‌کند (Lu et al. 2011).

جدول ۲- مطالعه اثر تیمارهای هورمونی بر بیان ژن *FLS* از طریق به کارگیری نرم افزار REST جهت تجزیه داده‌ها

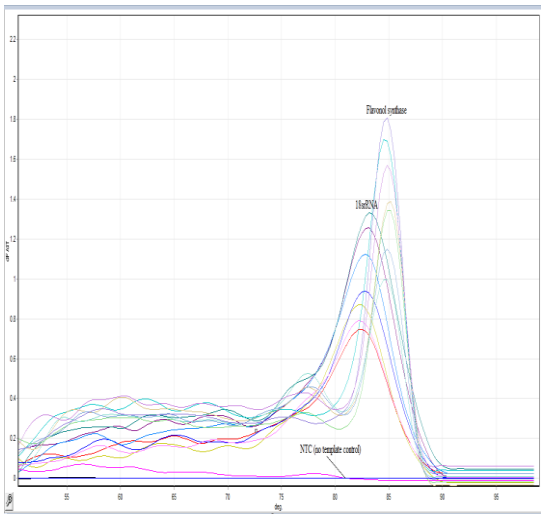
ژن	نوع	بازده واکنش	بیان ژن	خطای استاندارد	95% C.I	P (H1)	نتیجه
فلاونول سنتاز. تیمار ۱	هدف	۰/۹۹	۱/۹۵۹	۱/۰۹۹ – ۲/۸۱۹	۰/۹۸۱–۲/۸۱۹	۰/۱۲۵	
18S rRNA تیمار ۱	استاندارد	۰/۹۸	۰/۸۷۱				
فلاونول سنتاز. تیمار ۱	هدف	۰/۹۹	۳/۳۱۳	۱/٤۳۷–۳/٦۵۸	۱/۲۸۲–٤/۹۱۱	۰/۰۲۹	بالا
18S rRNA تیمار ۱	استاندارد	۰/۹۸	۰/۹۵۱				
فلاونول سنتاز. تیمار ۱	هدف	۰/۹۹	۲/۰٦۵	۱/۳۲۳–۳/۳۳۱	۱/۱۸۱–۳/۸۷۵	۰/۰۱۲	بالا
18S rRNA تیمار ۱	استاندارد	۰/۹۸	۱/۰۰۳				
فلاونول سنتاز. تیمار ۱	هدف	۰/۹۹	۲/۵۱٦	۲/۰۱۹–۳/۱۵۲	۱/۸٤۷–۳/٦٦۸	۰/۰۱۲	بالا
18S rRNA تیمار ۱	استاندارد	۰/۹۸	۱/۲۹۲				

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.16.9]

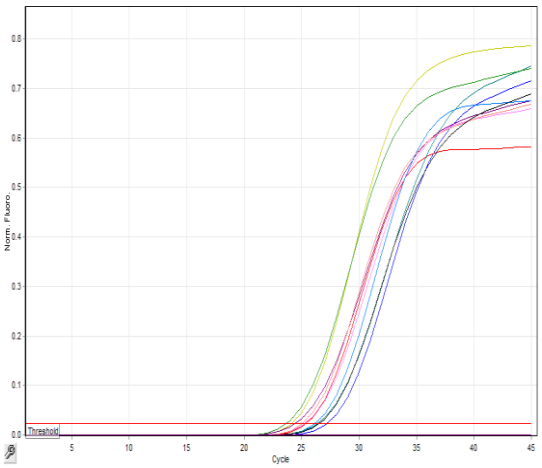


شکل ۲- مقایسه دو روش Pfaffl و REST جهت بررسی میزان بیان ژن فلاونول سنتاز در گیاه *Cressa cretica*.

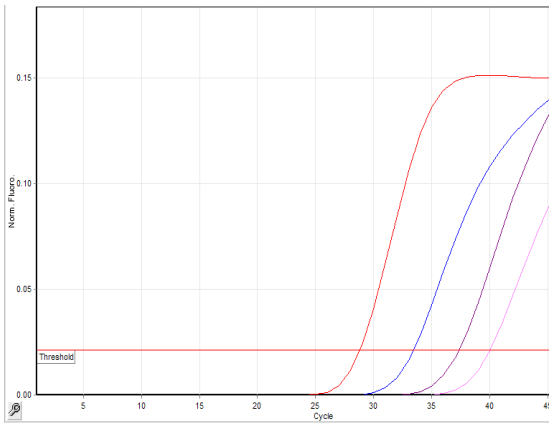
کاربرد خارجی هورمون آبسزیک اسید، نقش مهمی در رشد گیاه ایفا می کند. به عنوان مثال آبسزیک اسید باعث آغاز رسیدن سریع بذر و میوه می‌شود و سبب پیام‌رسانی و ایجاد پیام به بخش‌های مختلف گیاه در زمانی که در معرض تنش‌هایی از قبیل شوری، خشکی، سرما و آلودگی‌های میکروبی قرار می‌گیرد، می‌شود (Leung et al. 1998; Deytieux 2007; wheeler et al. 2009). بیان نسبی ژن بر اساس نسبت تکثیر ژن هدف به ژن استاندارد و رسیدگی به تغییرات فیزیولوژیکی در سطوح بیان ژن پایه‌ریزی شده‌است. برخی از مدل‌های آماری مطالعه بیان ژن جهت محاسبه نسبت بیان نسبی نمونه‌های منفرد با بررسی کارایی یا بدون آن گسترش یافته‌است (soong et al. 2000; Pfaffl 2001). ثابت شده که تفاوت‌های جزئی در تنظیم بیان برخی ژن‌ها از طریق راه‌کارهای تحمل به تنش، سبب ایجاد تنوع در رفتار به سازگاری به این شرایط از تحمل بالا تا کاملا حساس شده است. از این‌رو بروز چنین تفاوت‌هایی در میزان بیان ژن‌ها منشا ایجاد واریته‌های متحمل و حساس می‌شود (Huang et al. 2008). به نظر می‌رسد.



شکل ۳- منحنی ذوب ژن فلاونول سنتاز و ژن استاندارد 18s rRNA

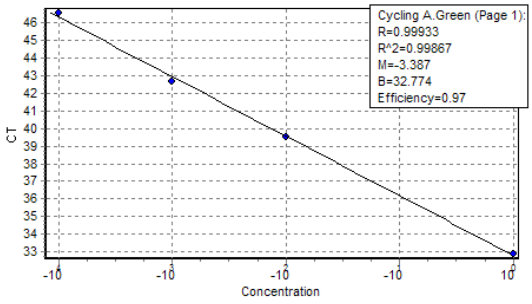


شکل ٤- تکثیر تیمارها و نمونه شاهد از طریق Real Time PCR با ژن فلاونول سنتاز



شکل۵- تکثیر رقت‌های سریالی برای ژن فلاونول سنتاز

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.16.9]



شکل٦- منحنی استاندارد حاصل از رقت‌های سریالی برای ژن فلاونول سنتاز

در هر دو ژنوتیپ متحمل و حساس بیان ژن‌های دخیل در تحمل به تنش بیان می‌شوند ولی از نظر زمان و میزان بیان این ژن‌ها تفاوت وجود دارد (Rodrigues et al. 2009). ما در این تحقیق ثابت کردیم که مدت زمان قرارگیری گیاه در شرایط تنش با غلظت معین سبب تغییر و افزایش در بیان ژن شد. به نظر می‌رسد باقی ماندن بیشتر هورمون اسیدآبسزیک در سطح سبب افزایش فعالیت مکانیسم تنظیم بیان ژن باشد. متعاقب آن هورمون زمان کافی را جهت ایجاد و صدور پیام های فیزیولوژیکی در گیاه داشته و سیگنال‌های ایجاد شده باعث تغییرات در میزان بیان ژن-های مختلف از جمله فلاونول سنتاز شده است.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از رئیس محترم پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه زابل و کارکنان محترم این واحد به دلیل پشتیبانی تجهیزاتی این تحقیق و همچنین همه دوستانی که در انجام این پژوهش همکاری داشتند، سپاسگزاری می‌شود.

منابع

Abdelaaty A, Naglaa MN, Luc P, Arnold JV (2005) Flavonoids from *Cressa cretica*. Pharmaceutical Biology. Information Healthcare 25: 72- 77.

Amandeep K.S, Dennis J, Jiang Lu (2011) Effects of exogenous abscisic acid on antioxidant capacities, anthocyanins, and flavonol contents of muscadine grape (Vitisrotun difolia) skins. Journal of Food Chemistry 126: 982- 988.

Baghel1 SS, Shrivastava N, Baghel RS, Agrawal P, Rajput S (2012) A Review of quercetin: Antioxidant and anticancer properties. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science 1: 146- 160.

Deytieux-Belleau C, Gagne S, L'Hyvernay A, Doneche B, Geny L (2007) Possible roles of both abscisic acid and indoleacetic acid in controlling grapeberry ripening process. Journal International des Sciences de la Vigneet du Vin 41:141-148.

Forkmann G (1991) Flavonoids as flower pigments: the formation of the natural spectrum and ist extension by genetic engineering. Plant Breed 106: 1- 26.

Huang B, Yi B, Duan Y, Sun L, Yu X, Guo J, et al. (2008) Characterization and expression profiling of tyrosine aminotransferase gene from *Salvia miltiorrhiza* (Dan-shen) in rosmarinic acid biosynthesis pathway. Molecular Biology Reports 35: 601-612.

Leung J, Giraudat J (1998) Abscisic acid signal transduction. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 49: 199-222.

Lu X, Straaten T, Tiller M, Li X (2011) Evidence for Qualified Quantitative mRNA Analysis in Formalin-Fixed and Paraffin-Embedded Colorectal Carcinoma Cells and Tissue. Clinical Laboratory Analysis 25: 166-173.

Pfaffl MW (2001) A new mathematical model for relative quantification in real-time RT- PCR. Nucleic Acids Res 29: 2002- 2007.

Purushothaman K, Kalyani K (1974) The falvonoids of Rudanti (Cressa cretica Linn). Indian Journal of Medical Research 9: 109-110.

Rodrigues FA, de Laia ML, Zingaretti SM (2009) Analysis of gene expression profiles under water stress in tolerantand sensitive sugarcane plants. Plant Science 176: 286-302

Satakopan S, Karandikar G K (1961) Rudanti: A pharmacognostic study Cressa cretica linn. Journal of Scientific and Industrial Research 20: 156-160.

Shahat AA, Abdel-Azim NS, Pieters L, Vlietinck AJ (2004) Flavonoids from Cressa cretica. Pharmaceutical Biology 42:349-52.

Soong R, Ruschoff J, Tabiti K (2000) Detection of colorectal micrometastasis by quantitative RT–PCR of cytokeratin 20 mRNA. Roche Molecular Biochemicals Internal Publication 41: 391. XP002149389

Waterland NL, Campbell CA, Finer JJ, Jone ML (2010) Abscisic Acid Application Enhances Drought Stress Tolerance in Bedding Plants. Journal of HortScience 45: 409- 413.

Wheeler S, Loveys B, Ford C, Davies C (2009) The relationship between the expression of abscisic acid biosynthesis genes, accumulation of abscisic acid and the promotion of Vitis vinifera L. berry ripening by abscisic acid. Australian Journal of Grape and Wine Research 15: 195-204.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.16.9]