ژنتیک نوین
دوره پانزدهم ، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹
صفحه ۱۸۱ - ۱۷۱

جداسازی و شناسایی ژن *FEH1* در گیاه کنگر فرنگی خاردار (*Cynara cardunculus*) و بررسی بیان نسبی آن تحت تاثیرتنش‌های غیر زیستی

Separation and identification of *FEH1* gene in thorny artichoke plant (*Cynara cardunculus*) and its relative expression under the influence of abiotic stresses

هانیه شهرکی[۱] ،نفیسه مهدی نژاد*[۱]، براتعلی فاخری[۱]، فاطمه حدادی[۲]

۱- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار، استاد گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران

۲- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل، ایران

Shahraki H[1], Mahdinezhad N[*1], Fakheri B[1], Haddadi F[2]

1- MSc Student, Associate Professor, Professor, Departement of Plant Breeding and Biotechnology, University of Zabol, Iran
2- Assistant Professor, Departement of Biology, University of Zabol. Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: nmahdinezhad@uoz.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۸/۰۱ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۶/۰۲)

چکیده

گیاه کنگرفرنگی خاردار (*Cynara cardunculus L*) یک گیاه علفی دیپلوئید و چند ساله می‌باشد. قند کنگر فرنگی فروکتان می‌باشد که کمترین اثر بر قند خون را دارد و از این نظر برای دیابتی‌ها بسیار مفید می‌باشد. هدف از تحقیق حاضر جدا سازی، شناسایی و ارزیابی بیان نسبی ژن فروکتان ۱-اگزوهیدرولاز (*FEH1*) در گیاه کنگر فرنگی بود. در راستای شناسایی و ارزیابی روند تکامل مولکولی ژن *FEH1* از نمونه‌های برگی گیاه کنگر فرنگی خاردار DNA استخراج و پس از تکثیر توسط تکنیک PCR توالی‌یابی شد .همچنین جهت بررسی اثرات شوری، نانو ذرات نقره سنتز سبز و سالسیلیک اسید بر تغییر بیان نسبی ژن *FEH1*، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در گلخانه اجرا شد. الگوی بیان نسبی این ژن به روش Real Time PCR سنجیده شد. نتایج تجزیه و تحلیل توالی‌های نوکلئوتیدی ژن *FEH1* نشان داد که بیشترین فراوانی متعلق به باز گوانین (۳۱/۵٦) و کمترین فراوانی مربوط به باز تیمین (۱۲/٤) می‌باشد. همچنین نتایج تست Neutrality انتخاب جهت دار بر روی این ژن را در طول تکامل نشان داد. بررسی فیلوژنتیکی توالی ژن *FEH-1* و مقایسه آن با سایر توالی‌های مشابه در گیاهان مختلف، ثابت کرد که میزان شباهت در میان توالی‌های مورد مطالعه بالاست (بالای نود درصد) و گیاهان از نظر فاصله ژنتیکی با همدیگر اختلاف ناچیزی دارند. نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت‌های اسید سالسیلیک و شوری نشان داد که کاربرد تیمار ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر شوری به تنهایی باعث افزایش معنی‌دار بیان ژن *FEH1* در سطح احتمال یک درصد شده است. کاربرد اسید سالسیلیک تواما با شوری باعث تعدیل اثرات شوری و همچنین کاهش بیان ژن *FEH1* شد. همچنین نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت‌های اسید سالسیلیک و نانو نقره نشان داد که در تیمار ۲۰۰ و ٤۰۰ میلی‌مولار اسید سالسیلیک با ٤۰ میلی‌مولار نانو نقره در سطح احتمال ۱ درصد بیان ژن *FEH1* در گیاه کنگر فرنگی افزایش معنی‌داری داشته است. مشخصاً در این گیاه معلوم شد که هم از نظر میزان بیان و هم از نظر شدت بیان ژن *FEH1* استعداد بالایی جهت تمرکز روی آن جهت افزایش قندهای محلول و نهایتاً افزایش تحمل گیاه به تنش شوری وجود دارد.

واژه‌های کلیدی

کنگر فرنگی خاردار
اسید سالسیلیک
نانو نقره
تکامل
روابط فیلوژنی
توالی‌یابی

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-05-23]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.9.2]

مقدمه

گیاه کنگرفرنگی خاردار (*Cynara cardunculus* L) یک گیاه دیپلویید (2N=2X=34) و با نام انگلیسی Cardoon متعلق به خانواده کاسنی (Composite) می‌باشد و در زبان فارسی به آرتشیو خاردار معروف است. کنگر فرنگی، گیاه علفی چند ساله می‌باشد که به‌صورت وسیع در نواحی مدیترانه‌ای کشت می‌شود (Cravero et al. 2010). برگ‌های کنگر فرنگی محتوی ترکیبات فنولی، اسیدی و فلاونوئیدی می‌باشند. اسید کافئیک، کلروژنیک، سینارین، سیناروپکتین، اینولین، قندها، استرهای اسید کینیک و نئوکلروژنیک اسید ترکیبات عمده این گیاه محسوب می‌شوند. از مهم‌ترین اثرات درمانی این گیاه می‌توان به آزاد شدن انرژی ذخیره شده، جلوگیری از افزایش کلسترول، بهبود و گسترش کارایی دستگاه گردش خون، خاصیت ضد قارچی و ضد باکتریایی اشاره کرد. از دیگر مصارف آن در درمان ناراحتی‌های کبدی است به طوری‌که مردم اروپا این گیاه را به‌عنوان محافظت کننده کبد، کاهنده کلسترول و ادرارآور می‌شناختند. همچنین مصرف آرتیشو موجب افزایش فعالیت آنزیم آلفا گلوکوزیداز شده و باعث کاهش قند خون بالا می‌شود. قند کنگر فرنگی فروکتان می‌باشد که کمترین اثر بر قند خون را دارد و از این نظر برای دیابتی‌ها بسیار مفید می‌باشد (Gatto et al. 2013; Zhu and Zhang 2004; Li et al. 2004; Lupattelli et al. 2004; Koubaa Wittemer et al. 2005; Schutz et al. 2004; et al.1999).

فروکتان‌ها علاوه بر گیاهان دولپه‌ای متعلق به خانواده آستراسه (Asteraceae) در خانواده‌های گیاهی چون پوآسه (Poaceae) و لیلیاسه (Liliaceae) نیز وجود دارند، ولی منبع اصلی استخراج آن‌ها همان خانواده آستراسه است. پنج گروه عمده از فروکتان‌ها در طبیعت وجود دارند که شامل اینولین، لوان، گرامینان، اینولین نئوسری و لوان نئو سری هستند. اینولین به‌عنوان پلی ساکارید ذخیره‌ای در ریشه و غده گیاهانی چون کاسنی، سیب‌زمینی‌ترشی، قاصدک و قاعده نهنج کاپیتول‌های کنگرفرنگی ذخیره می‌شود و نقش محافظت از گیاه در مقابل کمبود آب و تحمل به سرما را بر عهده دارد (Pilon –Smits et al. 1995). امروزه کاربرد اینولین و مشتقات آن به‌دلیل خصوصیات طبیعی و عملگرای آن در بسیاری از فرآورده‌های صنایع غذایی و دارویی رو به گسترش است. اینولین یک آنتی‌اکسیدان قوی است که در مهار رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از اثرات مضر آن نقش دارد. ترکیب پری‌بیوتیک اینولین فیزیولوژی روده بزرگ را بهبود بخشیده و فعالیت اکوسیستم میکروبی آن را افزایش می‌دهد. همچنین باعث افزایش جذب کلسیم و آهن شده و به‌عنوان یک ضد سرطان و ضد دیابت هم مطرح است (van Arkel et al. 2013). یکی از اقداماتی که می‌تواند در تغییر بیان ژن و تولید متابولیت‌های ثانویه مؤثر باشد افزودن الیسیتورهای غیرزنده و زنده می‌باشد. تحت این شرایط، طیفی از پاسخ‌ها در کل گیاه و در سطوح سلولی و مولکولی مشاهده می‌شود و الگوی بیان بسیاری از ژن‌ها از جمله ژن‌های مربوط به پروتئین‌های درگیر در مسیرهای سیگنالی و پروتئین‌های عملکردی در پاسخ به تنش تغییر می‌کند (Salekdeh et al. 2002; Hasegawa 2000; Zhao et al. 2016).

به‌دلیل تنش اسمزی و یونی ناشی از شوری، گیاه از سازوکارهای مختلفی نظیر تنظیم اسمزی و کده‌بندی سدیم و کلر در واکوئل برای تداوم جذب آب و حفظ کارایی فتوسنتز استفاده می‌کند (Jenks 2007). تنظیم اسمزی تحت تاثیر عوامل محیطی بوده و باعث افزایش انواع اسمولیت‌ها مانند کربوهیدرات‌های محلول شامل فروکتان‌ها، ساکارز، گلوکز و فروکتوز طی شوری می‌شود. تجمع هر یک از اسمولیت‌ها مستلزم افزایش بیان ژن‌های مربوط به آنزیم‌های درگیر در مسیرهای متابولیکی این ترکیبات می‌باشد. تولید فروکتان با هدف افزایش تحمل تنش‌های غیر زیستی طی دو دهه اخیر مورد توجه محققین بوده است. ژن‌هایی که در مسیر بیوسنتز فروکتان دخالت دارند شامل ژن *SST-1* (sucrose:sucrose 1-fructosyltransferase 1-SST; fructan synthesis) مربوط به آنزیم ۱ -فروکتوزیل ترانسفراز، ژن *SFT-6* (Sucrose:fructan 6-fructosyltransferase(6-SFT) مربوط به آنزیم -3 فروکتوزیل ترانسفراز و ژن *FFT-1* (fructan:fructan-1-fructosyltransferase *1-FFT*; fructan synthesis and degradation) مربوط به آنزیم ۱ و ۲ –بتافروکتان ۱–فروکتوزیل ترانسفراز افزایش می‌باشند فروکتان نوع اینولین خود به دو دسته تقسیم می‌شود: نوع اینولین منظم یا GFn که دارای گلوکز انتهایی به‌همراه n فروکتوز است و نوع اینولونوز یا Fn که فاقد

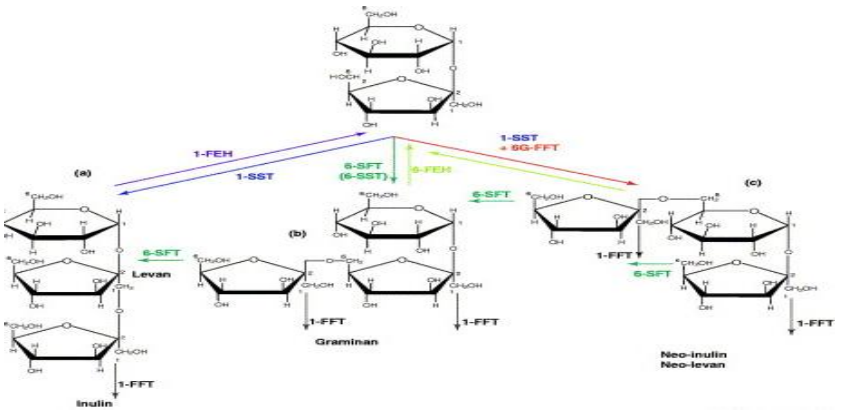
[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-05-23]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.9.2]

گلوکز انتهایی است (Xue et al. 2008; Kawakami and Yoshida, 2005). سنتز اینولین نیازمند دو آنزیم متفاوت است که در ابتدا یک تری ساکارید ۱-کتوز و یک گلوکز آزاد از دو مولکول ساکاروز توسط آنزیم ساکاروز یعنی ساکاروز 1-فروکتوترانسفراز 1-SST, EC (2.4.1.99) به‌وجود می‌آید. سپس آنزیم فروکتان یعنی فروکتان1-فروکتوسیل ترانسفراز (1-FFT, EC 2.4.1.100) در یک واکنش برگشت پذیر طویل شدن زنجیره را بوسیله انتقال واحدهای فروکتوسیل (رادیکال فروکتوز) به -۱کتوز (یا یک اینولین بزرگتر) از یک ملکول اینولین دیگر فرآهم می‌آورد.

ژن (*1-FEH*) (fructan 1-exohydrolases 1-FEH1/2a/2b; fructan degradation) در بیوسنتز آنزیم فروکتان اگزوهیدرولاز دخالت دارد. تجزیه پذیری بالای قند فروکتان به ساکاروز و فروکتوز طی هیدرولیز توسط آنزیم هیدرولیز کننده فروکتان اگزو هیدرولاز در شرایط تنش و محدودیت برای داشتن عملکرد بالا صورت می‌گیرد. این هیدرولیز کننده در گیاهان فقط هیدرولیز نوع بیرونی فروکتان (FEH) را انجام می‌دهد که واحدهای فروکتوز را از انتهای زنجیره آزاد می‌کنند. افزایش بیان ژن *FEH1* آن طی تنش‌های زیستی و غیر زیستی موجب تجزیه فروکتان و افزایش ذخایر کربوهیدرات‌های ساکاروز و فروکتوز در گیاه می‌شود. شباهت زیادی در سطوح ملکولی و بیوشیمیایی بین آنزیم‌های بیوسنتز کننده فروکتان وآنزیم‌های تخریب کننده فروکتان وجود دارد. آنزیم FFTواحد فروکتوسیل را از یک فروکتان دهنده به انتهای یک گیرنده منتقل کرده که منجر به طویل شدن پذیرنده‌ها و تخریب دهنده‌ها می‌شود. ویژگی‌های FFTتعیین کننده نوع پیوند گلیکوزیدی و الگوی ساختاری فروکتان است. FEH در گیاهان منجر به تخریب فروکتان‌ها و آزادسازی فروکتوز آزاد از انتهای زنجیره می‌شود. بنابراین تعادل بین FFT-1 و FEH-1 بر تغییرات طول فروکتان یا درجه پلیمریزاسیون (DP) آن‌ها اثرگذار است (Narai-kanayama et al. 2007). در انتهای فصل رشد گیاه به‌دلیل وقوع سرما کیفیت اینولین افت می‌کند که علت اصلی آن فعالیت زیاد آنزیم‌های FFT-1 و FEH-1 است (van Arkel et al. 2013).

امروزه، استفاده از ترکیباتی که مقاومت گیاهان را به تنش‌های محیطی افزایش داده و موجب بهبود فعالیت‌های متابولیکی گیاه می‌شوند، توصیه می‌شود. یکی از این ترکیبات نانو ذرات نقره است. با توجه به مزایای نانوذرات، می‌توان با تحقیقات بیشتر به افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی با راهکارهای مقرون به صرفه نظیر استفاده از نانوذرات امیدوار بود. از طرفی نانوذرات نقره سبز تولید شده توسط گیاهان دارویی با ریسک کمتری می‌تواند در موارد متعددی از جمله محلول پاشی بر روی گیاهان کاربرد داشته باشد و همچنین به‌دلیل ارزان و سهل الوصول بودن روش‌های زیستی مخصوصا گیاهی نسبت به سایر روش‌ها از منظر اقتصادی نیز می‌تواند حائز اهمیت باشد (Mousavi et al. 2017).



شکل ۱_ مسیر سنتز و تجزیه یک نوع از انواع قند فروکتان به نام اینولین

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-05-23]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.9.2]

بدین منظور برای اولین بار نانو نقره سبز سنتز شده با استفاده از بستر گیاهی رزماری که یک روش نو ظهور و طبق اصول شیمی سبز است، در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. ترکیب دیگری که باعث افزایش مقاومت گیاه به تنش‌ها می‌شود، اسیدسالیسیلیک است. گیاهان در پاسخ به شوری، پروتئین‌هایی تولید می‌کنند که سنتز بسیاری از این پروتئین‌های به‌وسیله‌ی سالیسیلیک اسید تحریک می‌شود. سالیسیلیک اسید همچنین به‌عنوان یک آنتی اکسیدان غیرآنزیمی موجب کاهش گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (Pirasteh-Anosheh et al. 2012).

بنابراین با توجه با اهمیت گیاه کنگر فرنگی و همچنین نقش ژن *FEH1* به‌عنوان ژن کلیدی در روند تغییرات قند فروکتان، جداسازی، شناسایی این ژن و بررسی روابط فیلوژنتیکی آن و همچنین بررسی میزان تغییر بیان نسبی آن تحت الیسیتورهای شوری، نانو نقره و اسید سالسیلیک مهم به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

در راستای بررسی اثرات شوری، نانو ذرات نقره و سالسیلیک اسید بر تغییر بیان نسبی ژن *FEH1* در کنگر فرنگی، آزمایشی به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی درسال ۱۳۹۷ در گلخانه‌ی پژوهشکده دانشگاه زابل اجرا شد. در این بررسی تنش شوری در سه سطح ۰ (شاهد)، تنش در آستانه تحمل گیاه کنگر فرنگی (٦ دسی زیمنس بر متر) و ۱۲ تنش شدید (۱۲ دسی زیمنس بر متر) و محلول‌پاشی با نانو ذرات نقره سنتز سبز تهیه شده در آزمایشگاه بیوسنتر دانشگاه زابل در سه سطح شاهد، ٤۰ و ۸۰ میلی‌مولار و اسید سالیسیلیک (۰، ۲۰۰ و ٤۰۰ میلی‌مولار) به‌عنوان تیمارهای مورد آزمایش در نظر گرفته شد. محلول‌پاشی با نانو ذرات نقره واسید سالسیلیک ساخته شده توسط شرکت داروسازی فاران شیمی در مرحله گیاهچه‌ای (مرحله ۸-٦ برگی) روی گیاه کنگر فرنگی انجام شد. برای تیمار صفر یا شاهد از آب‌مقطر استفاده شد. در مرحله ٦-٤ برگی اعمال تنش شوری شروع شد وتا زمان نمونه‌گیری (به مدت دو ماه) ادامه داشت. منبع شوری نمک NaCl آزمایشگاهی ساخت شرکت مرک (آلمان) بود. گلدان‌ها یک روز در میان با ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول هوگلند حاوی تیمار شوری آبیاری شد. همچنین هر ده روز یکبار محیط ریشه گیاهان با آب معمولی به‌طور کامل شستشو داده می‌شد تا تغییرات pH و هدایت الکتریکی ناشی از تجمع نمک‌ها در بستر کاشت در اثر انجام عمل آب‌شویی به حداقل برسد. نانو ذرات نقره کروی با میانگین قطر ۱۳ نانومتر و با غلظت 500 ppm در آزمایشگاه دانشگاه زابل به روش سبز و در بستر گیاهی رزماری سنتز شد. سپس با روش سری رقت (Serial dilution) از محلول‌های مادر، رقت‌های مورد نظر تهیه گشت.

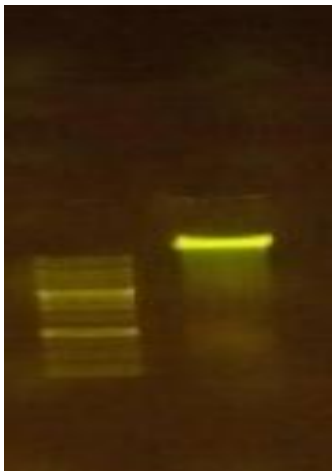
استخراج DNA از نمونه‌های برگی گیاه کنگر فرنگی خاردار به روش دلاپورتا و به‌صورت دستی با کمی تغییر صورت گرفت (Dellaporta et al. 1993). طراحی و سنتز پرایمرمورد نیاز بر اساس توالی‌های شناخته شده از فروکتان ۱-اگزوهیدرولاز در گیاهان مختلف و به‌طور خاص، از گیاهان نزدیک به لحاظ ساختار ژنتیکی و هم‌خانواده به گیاه کنگر فرنگی، با استفاده از اطلاعات بانک‌های ژن و با کمک نرم‌افزار پرایمر ۳ (primer3-ver 0.4.0) طراحی (Forward: 5- TGCCGTATCATACGACCTGG -3 و Reverse: 5- GCATCCTTCATACTCCAAGCAC -3) شدند. جهت اطمینان از اینکه آیا رشته DNA مرتبط با فروکتان ۱-اگزوهیدرولاز در طی واکنش تکثیر می‌شود یا خیر، تکنیک معادل PCR انجام شد.

واکنش PCR با حجم ۲۰ میکرولیتر، شامل ۲۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۲ میلی‌مولار $MgCL_2$، ۲۰۰ میکرو مول dNTP 1x، ۰/۲ میکرومول از هر آغازگر رفت‌وبرگشت، یک واحد آنزیم Taq DNA پلیمراز (همه مواد ساخت شرکت سیناژن، ایران) و حجم واکنش با آب استریل دیونیزه به ۲۰ میکرولیتر رسید. پس از انجام واکنش PCR، به‌منظور اطمینان از تکثیر صحیح قطعه مورد نظر و تعیین اندازه باند محصول PCR، ۵ میکرولیتر از هر محصول روی ژل آگارز یک درصد در بافر 0.5x TBE با ولتاژ ۸۰ به مدت ٦۰ دقیقه الکتروفورز شد. عکس‌برداری از ژل با دستگاه ژل داک انجام شد. در مرحله بعد قطعات به‌دست‌آمده با طول مورد نظر از روی ژل آگارز به‌وسیله کیت خالص‌سازی جداسازی شد و محصولات تکثیری جهت توالی‌یابی به شرکت Bionner کره

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-05-23]

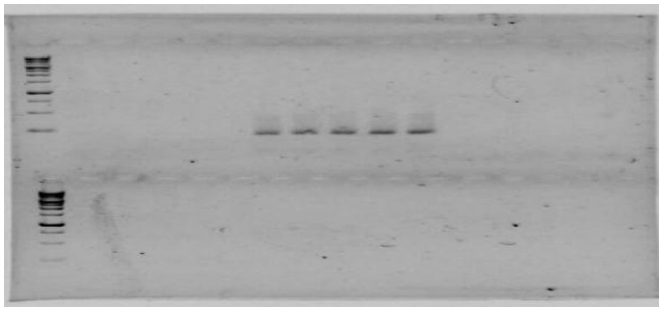
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.9.2]

ارسال شد. توالی‌یابی بر اساس هر دو قطعه تکثیری رفت‌وبرگشت انجام گرفت. استخراج توالی از کروماتوگرام‌های دریافتی از شرکت با استفاده از نرم‌افزار Chromas ver. 2 صورت گرفت. پس از دریافت توالی‌ها، با به‌کارگیری نرم‌افزار Blast در بانک ژنی، اختصاصی بودن قطعه موردنظر به گونه کنگر فرنگی تائید شد. توالی‌های دریافتی با توالی‌های ژن *FEH1* در پایگاه اطلاعاتی NCBI مقایسه و با استفاده از برنامه Clustal W هم‌ردیف سازی (Alignment) شدند. سپس با استفاده از نرم‌افزارهای MEGA 5 شاخص‌های ژنتیکی مورد بررسی قرار گرفتند.



شکل۲- عکس ژل الکتروفورز مربوط به استخراج DNA

RNA کل برگ‌ها (در تیمارهای مختلف) با استفاده از محلول RNX-PLUS (سیناکلون) استخراج شد. سپس برای اطمینان از حذف کامل DNA ژنومی، نمونه‌های RNA با آنزیم DNase I (RQl RNase- free DNase, Promega) تیمار شد. همچنین کمیت و کیفیت RNA استخراجی با استفاده از نانودراپ و الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ درصد سنجیده شد و و به‌عنوان الگوی واکنش PCR قرار گرفت. پس از همسان‌سازی غلظت RNAهای مختلف، واکنش سنتز cDNA با استفاده از کیت (Geneall) iScript cDNA synthesis kit انجام شد و ارزیابی cDNA روی ژل آگارز ۱/۵ درصد برای اطمینان از ساخت آن صورت گرفت. الگوی بیان ژن با استفاده از (Eva Green Master)-Real time PCR بررسی شد. میزان بیان ژن با روش Efficiency adjusted ΔΔCT محاسبه شد (Yuan et al. 2006). در این روش، میزان بیان ژن *FEH1* براساس ژن *18S* (ژن خانه‌دار) با بیان ثابت نرمال شده، سپس میزان تغییرات بیان ژن در همه تیمارها نسبت به شاهد سنجیده شد.



شکل ۳- الکتروفورز محصول واکنش PCR مربوط به پنج تکرار ژن *FEH-1* به طول 200bp در دمای ٥٦ درجه سانتی‌گراد

در نهایت آنالیز تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین صفات مختلف و نتایج به‌دست آمده از Real time-PCR با آزمون توکی در سطح خطای ۰/۰۵ و ۰/۰۱ با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد.

نتایج و بحث

وجود تنها یک باند در نیم رخ الکتروفورزی، دلیلی بر کیفیت مطلوب DNA استخراج شده است. الکتروفورز محصول PCR نشان داد که قطعات اختصاصی ژن *FEH1* به طول تقریبی بین ١٤٤٠ جفت‌باز کنگر فرنگی به‌خوبی تکثیر شده است. این مطلب نشان‌دهنده طراحی و عملکرد صحیح آغازگرها و برنامه PCR مناسب (به‌خصوص دمای اتصال) می‌باشد. در مرحله بعد نتایج PCR توالی‌یابی شدند. کیفیت گراف‌ها نشان‌دهنده میزان دقت در تعیین توالی می‌باشد. با استفاده از نرم‌افزار Chromas کیفیت توالی‌های به‌دست آمده مورد بازنگری قرار گرفت (Lopez and Bonasora 2017). سپس جهت آنالیزهای بیوانفورماتیکی از نتایج حاصل از توالی نمونه‌ها استفاده شد. شاخص‌های ژنتیکی توسط نرم‌افزارهای DNA SP MEGA, BLAST مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج تجزیه‌وتحلیل توالی‌های نوکلئوتیدی ژن

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-05-23]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.9.2]

FEH1 نشان داد که بیشترین فراوانی متعلق به باز گوانین (۳۱/۵۶) و کمترین فراوانی مربوط به باز تیمین (۱۲/٤) می‌باشد (جدول ۱). در برآورد جایگزینی نوکلئوتیدی در گیاه کنگر فرنگی، مقادیر بالای جایگزینی پیریمیدینی بود به‌طوری‌که این مقدار برای تبدیل تیمین به سیتوزین۱۳/۷۵ درصد و برای تبدیل سیتوزین به تیمین ۱۵/۰٤درصد دست‌آمده است. این مقادیر برای بازهای پورینی کمتر و به‌ترتیب برای تبدیل آدنین به گوانین و گوانین به آدنین ۱۱/٦۳ درصد و ۱۲/۰۸ درصد بود (جدول ۲). نتایج این بررسی با نتایج سایر محققین که بیشتر جانشینی را جانشینی پیریمیدینی گزارش کرده‌اند، مطابقت دارد. علت این تغییرات احتمالاً می‌توان به متیله شدن سیتوزین نسبت داد (Picoult et al. 1999).

جدول ۱- فراوانی نوکلئوتیدهای حاصل از توالی نوکلئوتیدی ژن *FEH1* در گیاه کنگر فرنگی

نوکلئوتید	A	T/U	C	G
فراوانی	۲۷/٤	۱۲/٤	۲۸/٦٤	۳۱/۵٦

جدول ۲- ماتریس برآورد الگوی جایگزینی نوکلئوتیدی ژن *FEH1* در گیاه کنگر فرنگی

From/To	A	T	C	G
A	-	۵/۹۲	۵/٤۲	۱۱/٦۲
T	٦/۳۳	-	۱۳/۷۵	٦/۰۹
C	٦/۳۳	۱۵/۰٤	-	٦/۰۹
G	۱۲/۰۸	۵/۹۲	۵/٤۲	-

احتمال جایگزینی هر ورودی از یک‌پایه (ردیف) به پایه دیگر (ستون) است. در این جدول درصد جهش‌های انتقالی (جایگزینی پورین به پورین دیگر و یا پیریمیدین به پیریمیدین دیگر) به‌صورت ضخیم و جهش تقاطعی (جایگزینی پورین به پیریمیدین و برعکس) به‌صورت ساده نشان داده شده‌اند. جهت شناسایی هر گونه انحراف از فرضیه صفر تکامل خنثی و شناسایی اثرات انتخاب طبیعی بر این ژن تست Neutrality در گیاه مورد مطالعه کنگر فرنگی محاسبه شد (جدول ۳). جمعیت‌هایی که دچار افزایش معنی‌دار در اندازه جمعیت شده باشند و یا انتخاب جهت‌دار بر روی آن‌ها عمل کرده باشد، مقادیر D معنی‌دار و منفی تولید می‌کنند در حالی‌که مقادیر مثبت و معنی‌دار D، نشان‌دهنده اثرات مربوط به رانش ژنتیکی، تنگناهای ژنتیکی و یا اثر متعادل کننده در طول تاریخ تکاملی جمعیت است. نتایج این مطالعه نشان داد که مقدار مثبت بود که نشان‌دهنده تفاوت پایین میان فراوانی چندشکلی‌ها است. نتایج این مطالعه اثر انتخاب جهت‌دار بر روی این ژن در طول تکامل را نشان می‌دهد.

جدول ۳- بررسی تست Neutrality

D	Π	Θ	Ps	S	M
/۰٤۵٤٦٦	۰/۱۸۹۱۹۷	۰/۱۵٤۲۵۱	۰/٤۷۸٦۷۳	۵۰۵	۱۳

M: تعداد توالی، S: تعداد نواحی جداشده، Ps: S/m، θ: Ps/a1، π: تنوع نوکلئوتیدی، D: تست Neutrality با استفاده از روش Tajima.

هم‌ردیف سازی چند توالی، به روش مرتب کردن توالی‌های بیولوژیکی، موقعیت دقیق نوکلئوتیدها را در مکان‌های مشابه مشخص می‌کند. این مکان‌های مشابه بین دو یا چند توالی می‌تواند نشانگر ارتباط ساختاری، عملکردی یا تکاملی بین توالی‌ها باشد. در بسیاری از حالات، فرض شده است که مجموعه ورودی از توالی‌های درخواستی یک رابطه تکاملی با هم دارند به طوریکه همه آن‌ها دارای یک جد مشترک هستند.

در این پژوهش شناسایی و تعیین موقعیت دامین‌های ژن *FEH1* از گیاه کنگر فرنگی با گیاهان مشابه توسط نرم‌افزارMeme و ترسیم درخت فیلوژنتیکی توسط MEGA5 و به روش Neighbour joining صورت گرفت. شکل ٤ نمایی از هم‌ردیفی دامین‌های ژن *FEH1* همراه با سایر ژن‌های خانواده کاسنی را نشان می‌دهد که نقاط مشابه با رنگ‌های یکسان در هر ستون مشخص شده است.

شناسائی ژن و همولوگ‌های آن در گونه‌های گیاهی مختلف، ثابت می‌کند که این ژن‌ها از اجداد مشترکی منشعب گشته‌اند. این امر می‌تواند در درک بهتر سیر تحول گونه‌ها کمک کند و به‌منظور مطالعه بهتر ژن‌ها در آینده، سیستم‌های نوین و پیشرفته تری ایجاد شود. به‌نظر می‌رسد وجود شباهت و همولوژی زیاد توالی‌های مورد مطالعه می‌تواند در ارتباط با عملکرد و ساختار مشابه پروتئین‌های تشکیل دهنده ارتباط داشته باشد. نتایج حاصل از بررسی شباهت به‌دست آمده از نمونه کنگر فرنگی با سایر ژن‌های

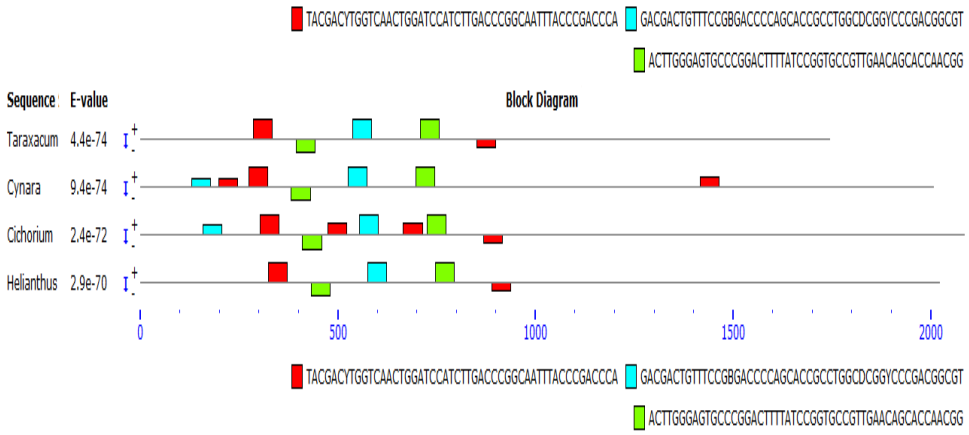
[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-05-23]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.9.2]

خانواده کاسنی نشان داد که این توالی از درصد شباهت قابل قبولی برخوردار است.

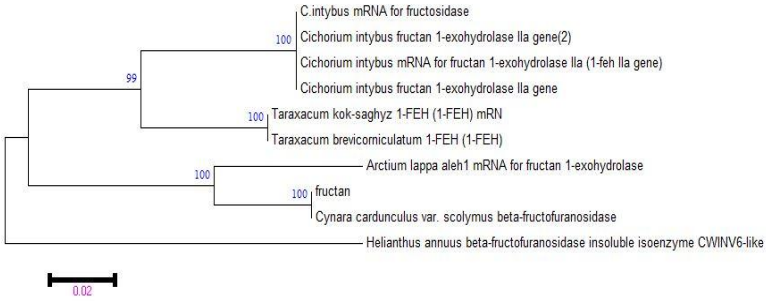
شناسائی ژن و همولوگ‌های آن در گونه‌های گیاهی مختلف، ثابت می‌کند که این ژن‌ها از اجداد مشترکی منشعب شده‌اند. این امر می‌تواند در درک بهتر سیر تحول گونه‌ها کمک کند و به‌منظور مطالعه بهتر ژن‌ها در آینده، سیستم‌های نوین و پیشرفته‌تری ایجاد شود. به‌نظر می‌رسد وجود شباهت و همولوژی زیاد توالی‌های مورد مطالعه می‌تواند در ارتباط با عملکرد و ساختار مشابه پروتئین‌های تشکیل دهنده ارتباط داشته باشد. نتایج حاصل از بررسی شباهت به‌دست آمده از نمونه کنگر فرنگی با سایر ژن‌های خانواده کاسنی نشان داد که این توالی از درصد شباهت قابل قبولی برخوردار است.

به‌منظور بررسی فیلوژنتیکی توالی به‌دست آمده از ژن *FEH1* در گیاه کنگر فرنگی، تعداد ۸ توالی دیگر از گیاهان مختلف انتخاب شد. بررسی فیلوژنتیکی توالی ژن *FEH1* و مقایسه آن با سایر توالی‌های مشابه در گونه‌های مختلف، ثابت کرد که میزان شباهت در میان توالی‌های مورد مطالعه بالاست و گیاهان از نظر فاصله ژنتیکی با همدیگر اختلاف ناچیزی دارند. وجود شاخه‌ها و دسته‌های مختلف در تجزیه خوشه‌ای نشان از وجود شباهت در میان گونه‌هاست. رسم درخت فیلوژنی برای توالی‌ها ثابت کرد ارتباط نزدیکی بین توالی نوکلئوتیدی و پروتئینی برای ژن *FEH1* وجود دارد. رسم درخت فیلوژنی، توالی‌های مورد مطالعه را در دو گروه اصلی قرار داد که توالی ژن *FEH1* در گروه اول و در شاخه‌ای منشعب از سایر توالی‌ها و همراه با گیاه کنگر فرنگی واریته Scolymus مشاهده شد (شکل ۵). طی مطالعات ثابت شده است که آنالیز فیلوژنتیکی ابزار قدرتمندی برای نشانی‌یابی بسیاری از ابهامات و مسائل مختلف مرحله تکامل است (Elliott et al. 2006). نتایج بررسی فیلوژنی نشان داد که گیاه کنگر فرنگی مورد مطالعه بیشترین شباهت یا به عبارتی کمترین فاصله ژنتیکی را با گیاه کنگر فرنگی واریته Scolymus (XM0251076.1) و گیاه آراقیطون (*Arctium lappa*) و بیشترین فاصله ژنتیکی با گیاه کاسنی (*Cichorium intybus*) دارد. بعد ازآراقیطون، گیاه کنگر فرنگی بیشترین شباهت را با گیاه قاصدک (*taraxacum brevicomiculatum*) داشت. همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود از گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus*) به‌عنوان Outgroup استفاده شده است و در یک شاخه مجزا نسبت به بقیه قرارگرفته است و درخت فیلوژنی را ریشه‌دار نموده است. با توجه به نتایج به‌دست آمده از مقایسه توالی ژن *FEH-1* در رقم کنگر فرنگی و وجود درصد شباهت بسیار زیاد آن با سایر توالی‌های مورد مطالعه، انتظار می‌رود جهت دست‌ورزی و انتقال ژنتیکی به‌منظور افزایش تحمل گیاه به تنش‌های اسمزی مانند شوری از ژن مورد مطالعه *FEH-1* در گیاهان تراریخت استفاده کرد.



شکل ٤- هم‌ردیفی مقایسه‌ای دامین‌های حفاظت‌شده ژن *FHE1* گیاه کنگر فرنگی با سایر ژن‌های خانواده کاسنی

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-05-23]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.9.2]



شکل ۵- درخت فیلوژنی توالی‌های مربوط به ژن *FEH1* بر اساس روش NJ در کنگر فرنگی با سایر گونه‌های هم‌خانواده در NCBI

جدول ٤- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف تنش شوری، سالسیلیک اسید و نانو نقره برروی میزان بیان نسبی ژن *FEH1*

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
سالسیلیک اسید	۲	۰/۸٤**
نانو نقره سبز	۲	۱۰٤/۰۹**
شوری	۲	۷۳/۵۲۵**
سالسیلک اسید× نانو نقره سبز	٤	۲۲/۵۱**
سالسیلیک اسید ×شوری	٤	۸/۷٤**
نانو نقره سبز× شوری	٤	۳/۷۱ns
سالسیلک اسید× نانو نقره سبز×شوری	۸	۱/۰۸ns
اشتباه	۲۷	۰/۰۰۷
کل	۵۳	
ضریب تغییرات (CV%)		٤/٤۲

**,ns: نشان‌دهنده در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودن و عدم معنی‌دار بودن می‌باشد.

نتایج بررسی بیان ژن *FEH1*

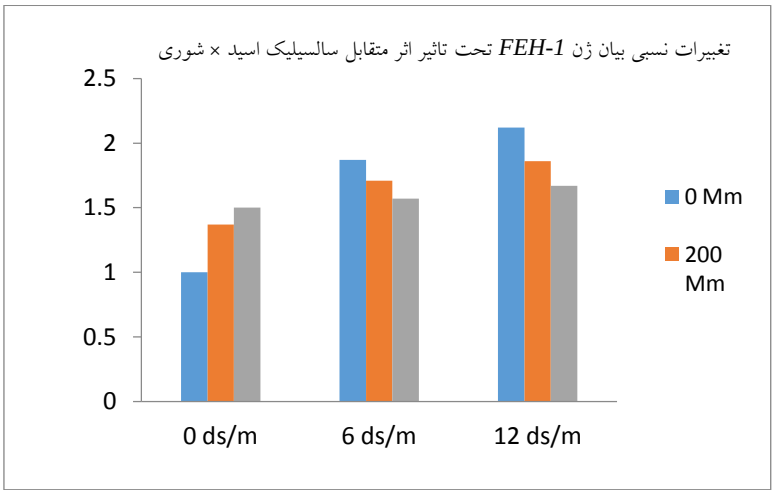
در مطالعه حاضر، تیمار تنش شوری و محلول پاشی سالسیلیک اسید و نانو نقره سبب تغییر در میزان بیان ژن *FEH1* شد. بررسی داده‌های حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که بین سطوح مختلف تیمارها و اثر متقابل سالسیلیک اسید با شوری و نانو نقره سبز در سطح یک درصد از نظر آماری تفاوت معنی‌دار وجود دارد (جدول ٤). نتایج این آزمایش حکایت از افزایش معنی‌دار بیان ژن *FEH1* در گیاهان تیمار شده با شوری، سالسیلیک اسید و نانو ذره نقره در سطح ۰/۰۱ درصد بود و بیان ژن وقتی تحت تنش شوری بود بیشترین مقدار را داشت. معنی‌دار شدن اثر متقابل دوگانه تنش شوری با سالسیلیک اسید و نانو نقره و نتایج مقایسه میانگین دانکن نشان داد عمل تنش‌های گوناگون در محلول پاشی‌های مختلف یکسان نبوده و بر حسب نوع و یا سطح تنش و الیسیتور مورد نظر تغییرات متنوعی رخ داده است. دراثر افزایش سطوح شوری بیان ژن *FEH 1* نیز افزایش یافت. افزایش بیان ژن *FEH1* طی تنش شوری موجب تجزیه فروکتان و افزایش ذخایر کربوهیدرات‌های ساکاروز و فروکتوز در گیاه و کاهش عملکرد و رشد گیاه می‌شود. کاربرد سالسیک اسید و نانو نقره هم‌زمان با تنش شوری باعث تعدیل اثرات مخرب شوری و کاهش بیان ژن

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-05-23]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.9.2]

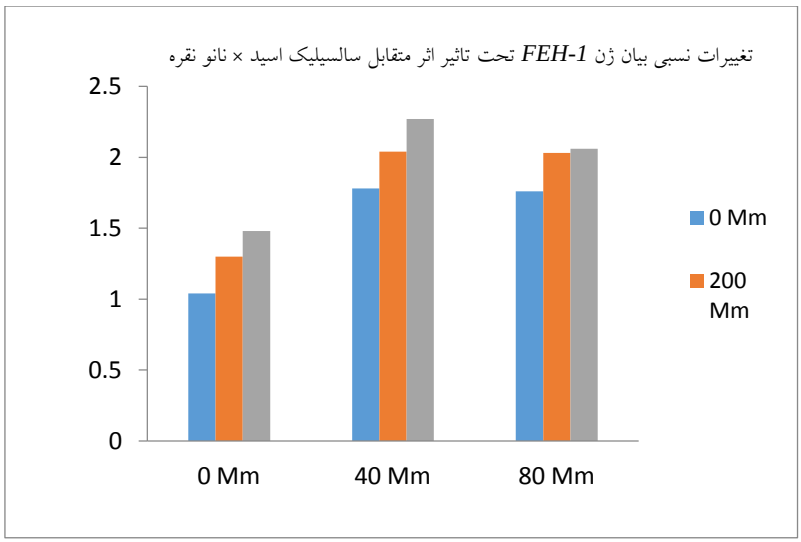
FEH1 شد و علاوه بر ایجاد یک مقاومت نسبی به تنش شوری باعث بهبود رشد گیاه نیز شد.

برهمکنش بین غلظت‌های اسید سالسیلیک و شدت تنش بر روی مقدار بیان ژن در سطح ۰/۰۱ و ۰/۰۵ بسیار معنی‌دار بود. نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت‌های اسید سالسیلیک و شوری نشان داد که تیمار ۱۲ دسی زیمنس بر متر شوری در سطح صفر سالسیلیک اسید باعث بیشترین افزایش بیان ژن *FEH1* شده است (شکل ٦). بررسی نتایج نشان داد که کاربرد اسید سالسیلیک در حالت نرمال نیز باعث افزایش معنی‌دار بیان ژن *FEH1* شده است، اما کمتر از زمانی بود تیمار شوری به تنهایی به‌کار گرفته شد.

از نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت‌های اسید سالسیلیک و نانو نقره چنین بر می‌آید که در تیمار ٤٠٠ میلی‌مولار اسید سالسیلیک با ٤٠ میلی‌مولار نانو نقره در سطح احتمال یک درصد بیان ژن *FEH1* در گیاه کنگر فرنگی افزایش معنی‌داری داشته است (شکل ۷). همچنین نتایج نشان می‌دهد که میزان بیان ژن تفاوت چندانی در ترکیب ۸۰ میلی‌مولار نانو نقره و ۲۰۰ میلی‌مولار سالسیلیک اسید با ترکیب ۸۰ میلی‌مولار نانو نقره و ٤٠٠ میلی‌مولار سالسیلیک اسید ندارد.



شکل ٦- بیان نسبی ژن *FEH-1* تحت تاثیر اثر متقابل سطوح مختلف سالسیلیک اسید × شوری



شکل ۷- بیان نسبی ژن *FEH-1* تحت تاثیر اثر متقابل سطوح مختلف سالسیلیک اسید × نانو نقره

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-05-23]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.9.2]

یکی از رایج‌ترین فرم‌های ذخیره‌ای قندهای محلول فروکتان‌ها می‌باشند. فروکتان‌ها پلیمرهای فروکتوزی هستند که در کنار ایفای نقش کربوهیدرات ذخیره‌ای در گیاه، به ایفای نقش در مراحل متابولیک متاثر از تنش نیز می‌پردازد. افزایش غلظت فروکتان‌ها معمولاً با کاهش غلظت سایر قندهای محلول در آب مانند گلوکز، فروکتوز و ساکارز می‌شود. فروکتوز و ساکارز به‌عنوان سوبسترای اصلی برای سنتز فروکتان‌ها عمل می‌کنند. افزایش فروکتان‌ها در شرایط تنش ممکن است به‌واسطه کاهش تقاضای محصولات فتوسنتزی ناشی از رکود گیاه در شرایط تنش باشد. هر چند رابطه بین متابولیسم فروکتان‌ها و تنظیم اسمزی سلول هنوز در هاله‌ای از ابهام قرار دارد اما حضور قندهای ساختاری پایه یعنی گلوکز، فروکتوزوساکارز در تشکیل دیگر قندها طی فرایند متابولیسم فروکتان ممکن است دال بر نقش محوری این قند در فرایند سازگاری گیاه به شرایط تنش قلمداد شود. تنش بلند مدت منجر به افزایش غلظت قندهای محلول و کاهش مقادیر نشاسته در گیاه می‌شود (Silva and Arrabaka 2004). کاهش غلظت فروکتان‌های در مرحله تنش شدید همراه با افزایش فعالیت آنزیم‌های فروکتان اگزوهیدرولاز است. در تحقیق جاری نیز تنش شدید شوری باعث افزایش بیان ژن *FEH1* شد و اثر برهمکنش دو فاکتور سالسیلیک اسید و محلول پاشی نانوذرات بر افزایش بیان ژن *FEH1* معنی‌دار بود. معنی‌دار بودن اثر متقابل بدین معناست که استفاده یا عدم استفاده از یک فاکتور به سطوح فاکتور دیگر بستگی داشته است. نتایج مقایسه میانگین ترکیب‌های تیماری نشان داد که بیشترین افزایش بیان ژن به‌ترتیب از ترکیب تیماری ۱۲ دسی زیمنس بر متر تنش شوری با ٤٠٠ میلی‌مولار سالسیلیک اسید (۱/٦٧) به‌دست آمده است. این مقدار افزایش بیان ژن کمتر از زمانی هست که تیمار شوری به تنهایی به‌کار رفته است.

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج این تحقیق، بررسی روند انتخاب طبیعی در گیاه کنگر فرنگی از ژن *FEH1* در طی تکامل مثبت نشان داده شد. همچنین، نواحی حفاظت‌شده بخش زیادی از توالی ژن *FEH1* را تشکیل می‌دهد که این امر نشان‌دهنده چندشکلی پایین این ژن و همچنین مستعد نبودن آن به تغییرهای نوکلئوتیدی و جهش می‌باشد. نتایج نشان داد بیشترین نوکلئوتید مربوط به باز گوانین است و بیشترین میزان جانشینی بازها مربوط به بازهای پیریمیدینی بود که در تمامی قسمت‌های ژن پراکنده‌اند. توالی گیاه کنگر فرنگی با گیاه آراقیطون به میزان ۹۳ درصد شباهت، بیشترین درصد شباهت (کمترین فاصله ژنتیکی) را دارد. کمترین میزان شباهت (بیشترین فاصله ژنتیکی) توالی هدف گیاه کنگر فرنگی با گیاه کاسنی مشاهده شد. مشخصاً در این گیاه ژن *FEH1* هم از نظر میزان بیان و هم از نظر شدت بیان استعداد بالایی جهت تمرکز روی آن جهت افزایش قندهای محلول و نهایتاً افزایش تحمل گیاه به تنش شوری دارد. در این پژوهش مشخص شد که غلظت ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر تیمار شوری و بعد از آن غلظت ۸۰ میلی‌مولار نانو نقره سبز و در نهایت غلظت ٤٠٠ میلی‌مولار سالسیلیک اسید یشترین تاثیر در بیان ژن *FEH1* دارند که این میزان بیان با توجه به استعداد ذاتی و تاثیرگذاری آن در گیاه کنگر فرنگی و الگوهای بررسی شده انطباق دارد. لیکن به جهت جلوگیری از مضرات ترکیبات نقره شیمیایی در خاک، که استفاده از آن می‌تواند مشکلاتی را در آینده پدید آورد، استفاده از نانو نقره سنتز سبز با غلظت ٤٠ میلی‌مولار و سالسیلیک اسید ۲۰۰ میلی‌مولار برای محققین و زارعین محترم کشور در مناطقی که دارای آب و خاک شور هستند به‌صورت محلول‌پاشی توصیه می‌شود. به‌نظر می‌رسد بتوان این الیسیتورها را به‌عنوان القاء کننده کارآمد در بسیاری از گیاهان دارویی معرفی نمود و گامی با ارزش در جهت مهندسی متابولیت و تولید داروهای گیاهی باشد.

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه زابل برای حمایت مالی آن‌ها در انجام این پروژه با شماره UOZ-GR-۱۵۸-۹٦۱۸ تشکر و قدردانی می‌شود.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-05-23]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.9.2]

منابع

Cravero V, Martin E, Lopez Anido F, Cointry E (2010) Stability through years in a non-balanced trial of globe artichoke varietal types. Scientia Horticulturae 126: 73-79.

Dellaporta SL, Wood J, Hicks J.B (1983) A plant DNA minipreparation: version II. Plant molecular biology reporter 1: 19-21.

Elliott M B Irwin D M Diamandis E P (2006) In silico identification and Bayesian phylogenetic analysis of multiple new mammalian kallikrein gene families. Genomics 88: 591-599.

Gatto A, De Paola D, Bagnoli F, Vendramin GG, Sonnante G (2013) Population structure of *Cynara cardunculus* complex and the origin of the conspecific crops artichoke and cardoon. Ann Bot 112: 855-865. https://doi.org/10.1093/aob/mct150 PMID: 23877076 9.

Hasegawa PM, Bressan RA, Pardo JM (2000) The dawn of plant salt tolerance genetics. Trends Plant Scientia 5:317-319.

Jenks MA, Hasegawa PM, Jain SM (2007) Advances in Molecular Breeding Toward Drought and Salt Tolerant Crops. Springer. The Netherlands Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 310: 926-932.

Kawakami A, Yoshida M (2005) Fructan:fructan 1-fructosyltransferase, a key enzyme for biosynthesis of graminan oligomers in hardened wheat. Planta 223:90-104.

López A, Bonasora M G (2017) Phylogeography, genetic diversity and population structure in a Patagonian endemic plant. Aob Plants 9.

Lupattelli G, Marchesi S, Lombardini R (2004) Artichoke juice improves endothelial function in hyperlipemia. Life Sciences 76: 775-782.

Mousavi H, Mahdi Nezhad N, Fakheri B A, Majdi M and Heidari F (2017) The Effect of Some Nanoparticles on Expression of A- Synthase Germacron Genes (TpGAS) and Parthenolide Synthase (TpPTS) in *Tanacetum Parthenium* Plant Under Water dificit Stress. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 33:314-325.(In Farsi).

Narai-kanayama A, Tokita N, Aso K (2007) Dependence of fructooligosaccharide content on activity of fructooligosaccharide-metabolizing enzymes in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tuberous roots during storage. Journal of Food Science 72: 381-387. 7

Picoult-Newberg L, Ideker TE, Pohl MG, Taylor SL, Donaldson M A, Nickerson D A, Boyce-Jacino M (1999) Mining SNPs from EST databases. Genome research 9:167-174.

Pilon-Smits E A H, Ebskamp M J M, Paul, M J, Jeuken M J W, Weisbeek P J, Smeekens S C M (1995) Evaluation of safety on inulin and oligofructose as dietary fiber. Plant Physiology 107: 125-130. 9

Pirasteh-Anosheh H, Emam Y, Ashraf M, Foolad MR (2012) Exogenous application of salicylic acid and chlormequat chloride alleviates negative effects of drought stress in wheat. Advanced Studies in Biology 11: 501-520.

Salekdeh GH, Siopongco J, Wade L J, Ghareyazie B, Bennett J (2002) Proteomic analysis of rice leaves during drought stress and recovery. Proteomics 2: 1131-1145.

Schütz K, Kammerer D, Carle R, Schieber A (2004) Identification and quantification of caffeoylquinic acids and flavonoids from artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads, juice, and pomace by HPLC-DAD-ESI/MS(n). Journal of Agricultural Food Chemistry 52(13): 4090-4096

Silva M A, Jifon J L, Da Silva J A g, Sharma V (2007) Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. Brazilian Journal of Plant Physiology19:193-201.

Van Arkela J, Séveniera R, Hakkerta J C, Bouwmeesterc H J, Koopsa A J, Vander Meera I M (2013) Tailor-made fructan synthesis in plants: A review. Carbohydrate Polymers 93: 48-56.

Wittemer SM (2005) Bioavailability and pharmacokinetics of caffeolquinic acids and flavonoids after oral administration of artichoke leaf extract in humans Phytomedicine 12: 28-38.

Xue GP, McIntyre CL, Jenkins CL, Glassop D, Herwaarden AF, Shorter R (2008) Molecular dissection of variation in carbohydrate metabolism related to water-soluble carbohydrate accumulation in stems of wheat. Plant Physiology146:441-454.

Zhao P, Zhang Z, Lv X, Zhao X, Suehiro Y, Jiang Y, Wang X, Mitani S, Gong H, Xue D (2016) One-step homozygosity in precise gene editing by an improved CRISPR/Cas9 system. Cell Research 26: 633-6.

Zhu XF, Zhang HX (2004) Flavonoids of *Cynara Scolymus.* Chemistry of Natural Compound 40:600-601.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-05-23]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.9.2]