

## مقایسه سطح بیان برخی ژن‌های مسیر بیوستتزی آنتوسیانین در سه رقم انار با رنگ‌های مختلف

اورنگ خادمی<sup>۱\*</sup>، امیرمحمد ناجی<sup>۱</sup>، عبدالکریم زارعی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>به ترتیب دانشیار گروه باغبانی و استادیار گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد، تهران

<sup>۲</sup>دانشیار گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی دانشگاه چهرم

\*نویسنده مسئول: o.khademi@shahed.ac.ir

### چکیده:

ایران موطن اصلی انار در جهان محسوب می‌گردد و ارقامی با رنگ‌های متنوع در کشور یافت می‌شود که ناشی از وجود رنگدانه آنتوسیانین می‌باشد. با وجود این، بررسی‌های چندانی در زمینه تفاوت بین انارهایی با رنگ‌های متنوع در سطح بیان ژن‌های آنتوسیانین صورت نگرفته است. در این پژوهش به منظور مقایسه سه رقم انار با رنگ‌های متفاوت، میوه‌های ارقام ملس‌ساره، نادری و پوست‌سفید از کلکسیون انار دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد در سه تاریخ مختلف در شهر یور و مهر ۱۳۹۹ برداشت و از نظر بیان برخی ژن‌های دخیل در مسیر بیوستتزی آنتوسیانین و همچنین خصوصیات رنگی مقایسه شدند. نتایج نشان داد که در زمان برداشت اول تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین این سه رقم از نظر شاخص رنگ  $a^*$  و همچنین مقدار آنتوسیانین وجود نداشت، ولی در دو رقم ملس‌ساره و نادری در زمان‌های برداشت دوم و سوم شاخص رنگ  $a^*$  و همچنین مقدار آنتوسیانین میوه‌ها افزایش قابل توجهی نشان داد، در نهایت نیز رقم ملس‌ساره دارای رنگدانه قرمز بیشتری از رقم نادری بود. در همین حال در رقم پوست‌سفید خصوصیات رنگ تغییر معنی‌داری با گذشت زمان برداشت نشان نداد. نتایج همچنین نشان داد که همبستگی مثبت معنی‌داری بین سطح بیان ژن‌های فنیل‌آلانین‌آمونیا‌لیاز، چالکون-ستناز، آنتوسیانیدین‌ستناز و UFGT با رنگ‌گیری میوه انار وجود داشت، منتهی در رقم پوست سفید سطح پایین بیان دو ژن چالکون‌ستناز و آنتوسیانیدین‌ستناز عامل اصلی عدم رنگ‌گیری در این میوه بود. رقم ملس‌ساره نیز در مقایسه با رقم نادری دارای سطح بیان ژن UFGT بالاتری بود.

**واژگان کلیدی:** آریل انار، آنتوسیانین، بیان ژن، شاخص رنگ

### مقدمه:

انار به عنوان یکی از قدیمی‌ترین میوه‌های شناخته شده در سطح جهان می‌باشد که به دلیل خواص دارویی و ارزش تغذیه‌ای روز به روز بر مصرف آن در سطح جهان افزوده می‌شود (Meighani *et al.*, 2014). ایران به عنوان موطن اصلی انار، بزرگترین تولیدکننده و صادرکننده این میوه محسوب شده و دارای ارقامی با خصوصیات متنوع می‌باشد. یکی از مهمترین ویژگی‌های کیفی میوه انار وجود رنگ‌های متنوع در ارقام مختلف آن است که ناشی از وجود رنگدانه‌های آنتوسیانین می‌باشد (Zhao *et al.*, 2015). در ایران ارقامی با رنگ‌های متنوع از سفید، صورتی، زرد، قرمز تا حتی قرمز تیره (سیاه) یافت می‌شود (Alighourchi *et al.*, 2008). با وجود این تنوع رنگی، بررسی‌های چندانی در زمینه مسیر بیوستتزی آنتوسیانین در انار و مشخص نمودن تفاوت انارهایی با رنگ‌های متنوع در سطح بیان ژن در کشور صورت نگرفته است. تفاوت بین میوه‌هایی با رنگ‌های متنوع از نظر سطح بیان ژن‌های درگیر در مسیر بیوستتزی آنتوسیانین در شماری از میوه‌ها از قبیل انگور، گلابی و پوست انار قبلاً نشان داده شده است (Boss *et al.*, 1996؛ Pierantoni *et al.*, 2010؛ Zhao *et al.*, 2015). آنتوسیانین‌ها، فلاوونوئیدهای گلیکوزیده‌ای هستند که رنگ‌های قرمز، آبی و بنفش را در گیاهان ایجاد می‌کنند و رنگدانه‌های اصلی گل و میوه انار می‌باشند (Ben-Simhon *et al.*, 2015). فلاوونوئیدها از جمله ترکیبات فنلی بوده و ترکیبات فنلی نیز از اسید آمینه حلقوی فنیل‌آلانین و تحت تاثیر فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیا‌لیاز (PAL) تولید می‌گردند. در ادامه، با فعالیت آنزیم چالکون‌ستناز (CHS) ترکیب فنلی کوماریل کوآنزیم-آ با مالونیل کوآنزیم-آ ترکیب شده و ترکیبی موسوم به چالکون را

ایجاد می‌کند. ترکیب چالکون توسط فعالیت آنزیم چالکون ایزومراز تبدیل به ترکیب فعال شیمیایی فلاونون می‌گردد. ترکیب فلاونون نیز توسط آنزیم فلاونون ۳- هیدروکسیلاز تبدیل به دی‌هیدروفلوونول می‌شود. در ادامه ترکیب دی‌هیدروفلوونول توسط فعالیت آنزیم دی‌هیدروفلوونول ریدوکتاز احیا شده و تبدیل به ترکیب لوکوآنتوسیانیدین می‌شود. این ترکیب با فعالیت آنزیم آنتوسیانیدین سنتاز (ANS) یا لوکوآنتوسیانیدین دی‌اکسیژناز (LDOX) به آنتوسیانیدین تبدیل می‌گردد. آنتوسیانیدین با فعالیت آنزیم UFGT (UDP glucose: flavonoid 3-O-glucosyl transferase) با قند ترکیب شده و تبدیل به ماده رنگی آنتوسیانین می‌گردد (Ben-Simhon *et al.*, 2015). هرگونه تفاوت بین ارقام با رنگ‌های متنوع از یک گونه، به سطح بیان یک یا چند مورد از این ژن‌ها مرتبط می‌باشد (Boss *et al.*, 1996; Pierantoni *et al.*, 2010; Jaakola *et al.*, 2002). در این آزمایش تفاوت بین سه رقم انار با رنگ‌های مختلف در سطح بیان برخی ژن‌های درگیر در مسیر بیوسنتزی آنتوسیانین بررسی گردید.

### مواد و روش‌ها

به‌منظور مطالعه مکانیزم رنگ‌گیری در میوه انار، میوه‌های سه رقم شامل: ملس‌ساره (قرمز رنگ)، نادری (قرمز رنگ ولی با شدت کمتر از ملس‌ساره) و پوست‌سفید (رنگ طبیعی سفید) از کلکسیون انار دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد در تاریخ‌های ۹۹/۷/۵، ۹۹/۶/۱۵ و ۹۹/۷/۲۵ برداشت و بلافاصله فریز و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند. همچنین در هر مرحله تعدادی میوه از هر رقم برداشت و آرپل آنها استخراج و برای تعیین خصوصیات رنگ و مقدار آنتوسیانین تام اختصاص یافت. خصوصیات رنگی  $L^*$ ،  $a^*$ ،  $b^*$  CIE آرپل با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج (مدل Test-300 ساخت کشور تایوان) اندازه‌گیری شد. عصاره آرپل نمونه‌ها با استفاده از هاون چینی استخراج و سپس در ۱۰۰۰۰ دور و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانترفیوژ (سیگما، مدل 3-30-k)، شد. مایع رویی جمع‌آوری و مقدار آنتوسیانین تام عصاره با استفاده از روش تغییر pH اندازه‌گیری شد (Ashtari *et al.*, 2019). استخراج RNA از آرپل‌ها با استفاده از کیت مخصوص بافت گیاهی شرکت Biotechrabbit انجام شد. کیفیت و کمیت RNA حاصل توسط دستگاه نانودراپ و همچنین بر مبنای تشکیل نوار RNA ریوزومی روی ژل آگاروز (۱٪) از طریق الکتروفورز ارزیابی شد. سپس cDNA مربوطه با استفاده از کیت مخصوص (Biotechrabbit cDNA Synthesis) و در حضور آنزیم نسخه‌برداری معکوس و آغازگرهای الیگو (dT) و هگزامر سنتز گردید. آغازگرهای اختصاصی چهار ژن کلیدی مسیر بیوسنتزی آنتوسیانین شامل: CHS، PAL، ANS (LDOX) و UFGT بر اساس توالی‌های گزارش شده برای میوه انار از روی سایت NCBI طراحی و ساخته شد. به‌عنوان ژن مرجع نیز از آغازگرهای اختصاصی ژن اکیتین استفاده شد. در ادامه، واکنش qRT-PCR روی نمونه‌ها انجام گردید و شدت فلورسانت گسیلش یافته از نمونه‌ها اندازه‌گیری و داده‌های حاصل توسط نرم افزار Rotor-Gene 6000 Series Software 1.7 تجزیه شد (روح‌الامین و همکاران، ۲۰۱۵). میزان بیان ژن‌های مورد مطالعه بر اساس روابط ذیل محاسبه گردید:

$$\Delta C_T = C_T \text{ Target Gene} - C_T \text{ Reference Gen}$$

$$EFC = 2^{-\Delta C_T}$$

آزمایش به صورت طرح خرد شده در زمان در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. عامل اصلی رقم (سه رقم مورد بررسی) و عامل فرعی زمان نمونه‌برداری (سه زمان نمونه‌برداری) بودند. برای مقایسه اختلاف بین میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ استفاده شد. ضرایب همبستگی (پیرسون) بین خصوصیات رنگ و ژن‌های مرتبط با رنگ‌گیری در میوه انار با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۱۶) محاسبه گردید.

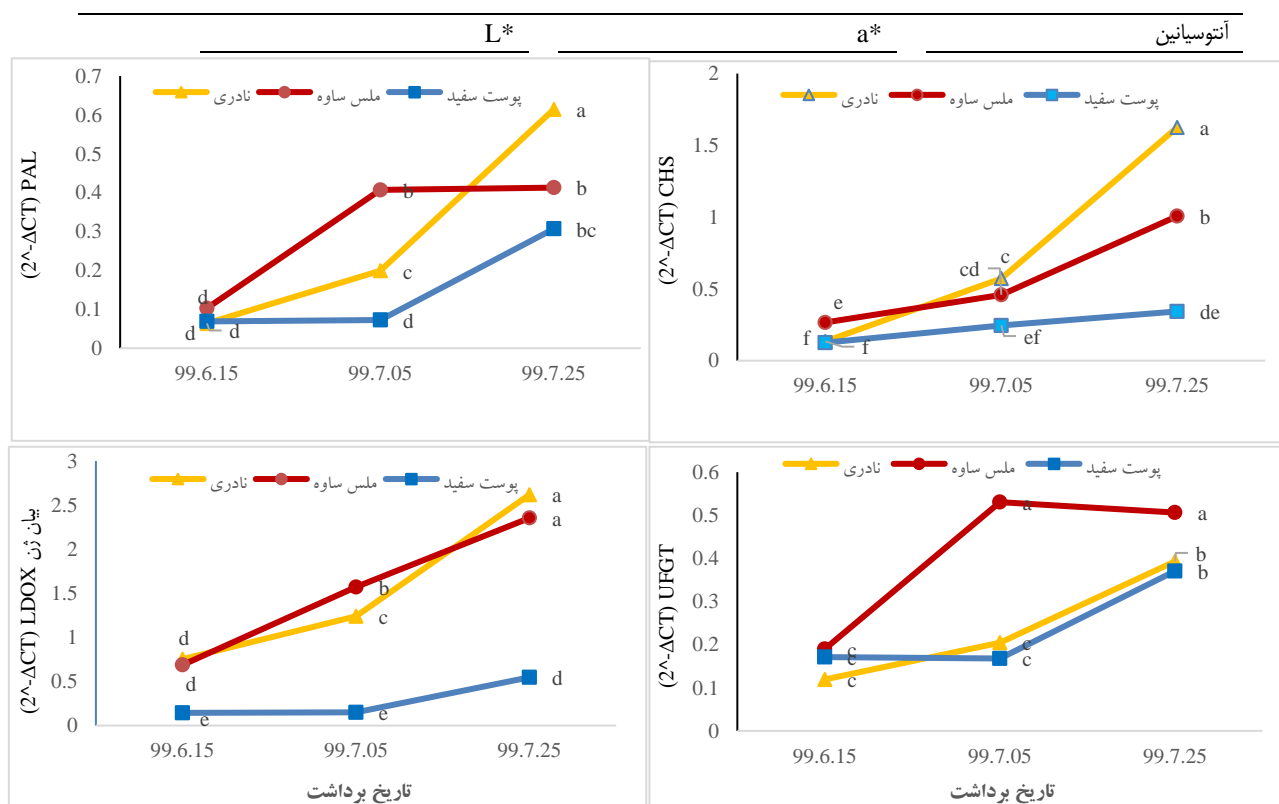
### نتایج:

نتایج آزمایش نشان داد که هر سه رقم در زمان نمونه‌برداری اول شاخص  $L^*$  نسبتاً مشابهی داشتند، ولی با گذشت زمان نمونه‌برداری شاخص  $L^*$  در هر سه رقم کاهش نشان داد. در این بین، کاهش شاخص  $L^*$  در دو رقم نادری و ملس‌ساره مشهودتر از رقم پوست‌سفید بود. از طرفی، با وجودیکه در زمان نمونه‌برداری دوم رقم ملس‌ساره دارای شاخص  $L^*$  بیشتری از رقم نادری بود، ولی در زمان نمونه‌برداری سوم بین این دو رقم اختلاف معنی‌داری از نظر شاخص  $L^*$  در جدول ۱ مشاهده نشد. نتایج همچنین نشان داد که در زمان نمونه‌برداری اول بین ۳ رقم نادری، ملس‌ساره و پوست‌سفید، اختلاف معنی‌داری از نظر شاخص  $a^*$  وجود نداشت. متثی با گذشت زمان نمونه‌برداری

شاخص  $a^*$  در دو رقم ملس ساوه و نادری افزایش نشان داد، در حالیکه در رقم پوست سفید تغییر معنی داری در شاخص  $a^*$  مشاهده نشد. بین دو رقم نادری و ملس ساوه تفاوت معنی داری از نظر شاخص  $a^*$  در طول این آزمایش مشاهده نشد. از طرفی نتایج نشان داد بین ارقام اختلاف آماری معنی داری از نظر شاخص  $b^*$  در طول آزمایش مشاهده نشد، جدول ۱. در زمان نمونه برداری اول سه رقم مورد مطالعه دارای مقدار آنتوسیانین نسبتاً مشابهی بودند. در ارقام ملس ساوه و نادری در زمان نمونه برداری دوم در مقایسه با زمان نمونه برداری اول مقدار آنتوسیانین به طور معنی داری افزایش یافته و این افزایش در زمان نمونه برداری سوم بیشتر نیز شد. در حالیکه در رقم پوست سفید تا پایان آزمایش تغییر معنی داری در مقدار آنتوسیانین مشاهده نشد. در زمان بررسی دوم اختلاف معنی داری بین دو رقم نادری و ملس ساوه از نظر مقدار آنتوسیانین مشاهده نشد، ولی در زمان بررسی سوم رقم ملس ساوه دارای مقدار آنتوسیانین بیشتری بود جدول ۱.

جدول ۱. اثر برهمکنش رقم و زمان نمونه برداری بر خصوصیات رنگ ارقام مورد مطالعه انار.

میانگین‌ها با حروف مشترک تفاوت معنی دار نسبت به یکدیگر بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ ندارند.



نمودار ۱- اثر برهمکنش رقم و زمان نمونه برداری بر سطح بیان ژن PAL در ارقام مورد مطالعه انار.

میانگین‌ها با حروف مشترک تفاوت معنی دار نسبت به یکدیگر بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ ندارند.

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در زمان بررسی اول، تفاوت معنی داری بین سه رقم پوست سفید، ملس ساوه و نادری از نظر سطح بیان ژن PAL وجود نداشت. در رقم ملس ساوه بیان این ژن در زمان بررسی دوم به طور قابل توجهی در مقایسه با زمان بررسی اول افزایش یافت ولی در زمان بررسی سوم تفاوتی با زمان بررسی دوم نشان نداد. در رقم نادری با گذشت زمان نمونه برداری بیان ژن PAL به طور معنی داری افزایش یافته، و در زمان بررسی سوم به بیشترین سطح خود رسید. در رقم پوست سفید بیان ژن PAL در زمان بررسی دوم نسبت به زمان اول تغییری نشان نداد ولی در زمان بررسی سوم به طور معنی داری افزایش داشت. به طور کلی نیز رقم پوست سفید دارای سطح بیان ژن PAL کمتری از دو رقم دیگر بود. در زمان بررسی دوم رقم ملس ساوه و در زمان بررسی سوم رقم نادری دارای

بیشترین سطح بیان ژن PAL بودند. بر اساس نتایج در زمان نمونه برداری اول، رقم ملس ساوه دارای بیان ژن CHS بیشتری از دو رقم نادری و پوست سفید بود، در حالی که بین دو رقم نادری و پوست سفید اختلاف معنی داری از نظر بیان ژن CHS مشاهده نشد. بیان ژن CHS در هر سه رقم با گذشت زمان آزمایش افزایش نشان داد، منتهی این افزایش در دو رقم ملس ساوه و نادری بسیار بیشتر از رقم پوست سفید بود. همچنین افزایش سطح بیان این ژن در رقم نادری در مقایسه با رقم ملس ساوه بیشتر بود، به طوری که، در پایان آزمایش رقم نادری دارای بیشتری سطح بیان ژن CHS بود. در حالت کلی ارقام ملس ساوه و نادری دارای سطح بیان ژن CHS بیشتری در مقایسه با رقم پوست سفید بودند.

نتایج آزمایش نشان داد که در هر سه زمان نمونه برداری، سطح بیان ژن LDOX در ارقام ملس ساوه و نادری به طور معنی داری بیشتر از سطح بیان این ژن در رقم پوست سفید بود. در ارقام ملس ساوه و نادری با گذشت زمان نمونه برداری سطح بیان این ژن به طور قابل توجهی افزایش نیز نشان داد. هرچند در رقم پوست سفید نیز سطح بیان این ژن در زمان برداشت سوم افزایش معنی داری نشان داد ولی سطح بیان این ژن در این رقم به طور کلی بسیار کمتر از دو رقم دیگر بود.

بررسی سطح بیان ژن UFGT نشان داد که در زمان بررسی اول اختلاف معنی داری بین سه رقم مورد مطالعه از نظر سطح بیان این ژن وجود نداشت. سطح بیان این ژن در ارقام نادری و پوست سفید در زمان بررسی دوم نسبت به زمان بررسی اول تغییر چندانی نشان نداد ولی در زمان بررسی سوم به طور معنی داری افزایش سطح بیان ژن UFGT در زمان بررسی دوم رخ داده ولی در زمان بررسی سوم تغییر قابل ملاحظه‌ای نسبت به زمان بررسی دوم نشان نداد. در هر دو زمان بررسی دوم و سوم رقم ملس ساوه دارای سطح بیان ژن UFGT در طول این آزمایش مشاهده نشد. بررسی ضرایب همبستگی نشان داد همبستگی مثبت و معنی داری بین سطح بیان ژن‌های PAL، CHS، LDOX و UFGT با مقدار آنتوسیانین و شاخص  $a^*$  وجود داشت. در حالی که، بین سطح بیان این ژن‌ها با مقدار شاخص  $L^*$  همبستگی منفی و معنی داری مشاهده شد. رابطه مشخصی بین سطح بیان ژن‌های PAL، LDOX و UFGT با شاخص  $b^*$  مشاهده نشد، ولی همبستگی مثبت و معنی داری بین شاخص  $b^*$  و سطح بیان ژن CHS مشاهده گردید.

## بحث

در بین محصولات کشاورزی، میوه انار از اهمیت اقتصادی زیادی برای کشور برخوردار است. به خصوص با مشخص شدن اهمیت دارویی و تغذیه‌ای این میوه، مصرف آن روز به روز در حال گسترش در بین مردم جهان بوده و صادرات میوه انار اهمیت زیادی پیدا نموده است. یکی از مولفه‌های اصلی کیفیت در میوه انار رنگ آریل آن می‌باشد. بررسی‌ها نشان داده است ارقام مختلف انار دارای شش نوع آنتوسیانین شامل: سیانیدین ۳-گلوکوزید، سیانیدین ۳ و ۵-دی گلوکوزید، دلفینیدین ۳-گلوکوزید، دلفینیدین ۳ و ۵-دی گلوکوزید، پلارگونیدین ۳-گلوکوزید، پلارگونیدین ۳ و ۵-دی گلوکوزید هستند. بر اساس نوع و مقدار آنتوسیانین‌ها انواع رنگ در پوست و آریل انار شکل می‌گیرد (علی‌گورجی و همکاران، ۲۰۰۸). در مسیر بیوسنتزی آنتوسیانین ژن‌های متعددی فعال هستند که در بسیاری از گیاهان شناسایی و ارزیابی شده‌اند (جاکولا و همکاران، ۲۰۰۲)، ولی در خصوص ارقام انار ایرانی پژوهش‌چندانی در این زمینه ارائه نشده است. نتایج آزمایش حاضر به وضوح نشان داد که تجمع رنگدانه آنتوسیانین و تشکیل رنگ قرمز در میوه انار به دنبال خنک شدن هوا و در اواخر شهریور آغاز گردید و در زمان برداشت اول تمامی نمونه‌ها فاقد رنگ قرمز بودند. علاوه از مقدار آنتوسیانین، افزایش شاخص رنگ  $a^*$  (نشانه‌گر رنگ قرمز) و کاهش شاخص رنگ  $L^*$  (نشانه‌گر رنگ‌گیری میوه) نیز موید همین امر بود. بنابراین به نظر می‌رسد خنک شدن هوا محرک اصلی آغاز تشکیل رنگ در میوه انار بوده و این امر در سطح بیان ژن رخ می‌دهد، در پژوهش‌های دیگر نیز نشان داده شده است که تشکیل رنگدانه آنتوسیانین در میوه انار تحت تأثیر دمای کم القا می‌گردد (Sayyari et al., 2010)، احتمالاً خنک شدن هوا به‌عنوان سیگنال محیطی با تأثیر بر فاکتورهای رونوشت‌برداری، منجر به افزایش سطح بیان ژن‌های درگیر در تولید آنتوسیانین شده و بدین طریق تشکیل رنگدانه قرمز در میوه انار را تحریک می‌نماید (Rouholamin et al., 2015). در این آزمایش به وضوح همبستگی مثبتی بین صفات رنگ و سطح بیان ژن‌های درگیر در مسیر تولید آنتوسیانین مشاهده شد.

نتایج آزمایش حاضر همچنین به وضوح نشان داد در رقم پوست سفید سطح بیان دو ژن چالکون سنتاز و به‌خصوص آنتوسیانیدین سنتاز عامل عدم رنگ‌گیری در این رقم در مقایسه با ارقام قرمز رنگ بود. مشابه با این نتایج Ben-Simhon و همکاران (۲۰۱۵) و Zhao

همکاران (۲۰۱۵) در مقایسه بین ارقام سفید و قرمز انار نشان دادند که عامل اصلی سفید ماندن پوست و یا آریل رقم سفید، سطح پایین بیان ژن آنتوسیانیدین سنتاز در این رقم در مقایسه با رقم قرمز می‌باشد. نتایج آزمایش حاضر همچنین نشان داد در پایان آزمایش رقم ملس ساوه دارای شدت رنگ و تجمع آنتوسیانین بیشتری از رقم نادری بود، تفاوت عمده بین این دو رقم در سطح بیان ژن، مرتبط به ژن UFGT ارزیابی شد، در پژوهشی مشابه Pierantoni و همکاران (۲۰۱۰) در مقایسه بین انواع گلابی زرد و قرمز رنگ مشخص نمودند سطح بیان ژن آنزیم‌های UFGT در گلابی زرد کمتر از گلابی قرمز است. بنابراین هرگونه اختلاف در رنگ بین ارقام مختلف انار در سطح بیان ژن رخ می‌دهد.

### منابع:

- Alighourchi, H., Barzegar, M., Abbasi, S. 2008. Anthocyanins characterization of 15 Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) varieties and their variation after cold storage and pasteurization. *European Food Research and Technology*, 227: 881–887.
- Ashtari, M., Khademi, O., Soufbaf, M., Afsharmanesh, H., Sarcheshmeh, M. A. A. 2019. Effect of gamma irradiation on antioxidants, microbiological properties and shelf life of pomegranate arils cv. 'Malas Saveh'. *Scientia Horticulturae*, 244: 365-371.
- Ben-Simhon, Z., Judeinstein, S., Trainin, T., Harel-Beja, R., Bar-Ya'akov, I., Borochoy-Neori, H., Holland, D. 2015. A "White" anthocyanin-less pomegranate (*Punica granatum* L.) caused by an insertion in the coding region of the Leucoanthocyanidin Dioxygenase (LDOX; ANS) gene. *PLoS One*, 10(11): e0142777.
- Boss, P. K., Davies, C., Robinson, S. P. 1996. Expression of anthocyanin biosynthesis pathway genes in red and white grapes. *Plant Molecular Biology*, 32:565-569.
- Jaakola, L., Maatta, K., Pirttila, A. M., Torronen, R., Karenlampi, S., Hohtola, A. 2002. Expression of genes involved in anthocyanin biosynthesis in relation to anthocyanin, proanthocyanidin, and flavonol levels during Bilberry fruit development. *Plant Physiology*, 130:729-739.
- Meighani, H., Ghasemnezhad, M., Bakshi, D. 2014. Evaluation of biochemical composition and enzyme activities in browned arils of pomegranate fruits. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 1(1):53-65.
- Pierantoni, L., Dondini, L., De Franceschi, P., Musacchi, S., Winkel, B.S.J., Sansavini, S. 2010. Mapping of an anthocyanin-regulating MYB transcription factor and its expression in red and green pear, *Pyrus communis*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48: 1020–1026.
- Rouholamin, S., Zahedi, B., Nazarian-Firouzabadi, F., Saei, A. 2015. Expression analysis of anthocyanin biosynthesis key regulatory genes involved in pomegranate (*Punica granatum* L.). *Scientia Horticulturae*, 186: 84-88.
- Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Serrano, M., Valero, D. 2011. Vapour treatments with methyl salicylate or methyl jasmonate alleviated chilling injury and enhanced antioxidant potential during postharvest storage of pomegranates. *Food Chemistry*, 124(3): 964-970.
- Zhao, X., Yuan, Z., Feng, L. Fang, Y. 2015. Cloning and expression of anthocyanin biosynthetic genes in red and white pomegranate. *Journal of Plant Research*, 128: 687–696.

## Comparison of expression levels of some genes involved in anthocyanin biosynthetic pathway in three pomegranate cultivars with different colors

Orang Khademi\*<sup>1</sup>, Amirmohammad Naji<sup>1</sup>, Abdolkarim Zarei<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Respectively Associate Professor of Department of Horticulture and Assistant Professor of Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran

<sup>2</sup>Associate Professor of Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Jahrom University

\* Corresponding author: o.khademi@shahed.ac.ir

### Abstract

Iran is the main producer of pomegranate in the world and different cultivars with various colors can be found in the country, which is due to the presence of anthocyanin pigments. However, there is negligible information about the differences between the pomegranates with different colors at the expression level of anthocyanin genes. In this study, in order to compare three pomegranate cultivars with different colors, fruits of Malas Saveh, Naderi and Post Sefid cultivars were harvested from the pomegranate collection of the Faculty of Agriculture, Shahed University on three different dates in September and October in 2020 and in terms of expression levels of some genes involved in the anthocyanin biosynthetic pathway as well as color characteristics were analyzed. The results showed that in the first harvest time there were no significant differences among the cultivars regarding a\* value and anthocyanin content. However, in the second and third harvest times, a\* value and anthocyanin content significantly increased in Malas Saveh and Naderi cultivars. Meanwhile, Malas Saveh cultivar had more red pigment than the Naderi cultivar at the end of the experiment. However, no significant changes in color characteristics were observed in Post Sefid cultivar over time. The results also showed that there was a significant and positive correlation between the expression levels of phenylalanine ammonia lyase, chalcone synthase, anthocyanidin synthase and UFGT genes with coloration in the pomegranate fruit. In Post Sefid cultivar, low expression levels of chalcone synthase and anthocyanidin synthase were the main causes of less coloration in this cultivar. In the other hand, Malas Saveh cultivar had more expression level of UFGT gene than the Naderi cultivar.

**Keywords:** Anthocyanin, color index, gene expression, Pomegranate aril