

تنش سرما و اثر آن بر سنتز هورمون اسید آبسزیک از طریق بررسی بیان ژن و تغییرات آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum* 'Red Cloud')

نیلوفر صمدی^۱، سکینه سعیدی سار^{۲*}، حسین عباسپور^۱، ناهید مسعودیان^۱

^۱گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

^۲گروه کشاورزی، دانشکده فنی و حرفه ای دکتر شریعتی، دانشگاه فنی و حرفه ای، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۷/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۳/۰۸

چکیده

گوجه فرنگی یکی از محصولات عمده کشاورزی در رده‌ی محصولات زراعی است که در بسیاری از کشورهای جهان و همچنین ایران از جنبه‌های مختلف دارای اهمیت می‌باشد. در این تحقیق تحت تنش سرما به بیان ژن *SINCE1* در مسیر بیوسنتز هورمون آبسزیک اسید به روش Real-Time qRT-PCR و اندازه‌گیری برخی خواص فیزیولوژیکی پرداخته شده است. بدین منظور پس از میوه‌دهی، بوته‌ها به مدت ۱۲ و ۲۴ ساعت در دمای ۲ و ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از این مدت میوه‌ها جهت سنجش آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی به روش DPPD و فنل کل به روش فولین سیکالتو و بیان ژن جدا شدند. نتایج حاکی از آن بود که بیشترین میزان بیان ژن *SINCE1* مربوط به دمای ۴ درجه به ترتیب در ساعات ۲۴ و ۱۲ بود. همچنین نتایج آنالیز مقایسه میانگین نشان داد که فعالیت معنی دار آنتی اکسیدان و فنل کل در دمای ۲ درجه و ۱۲ ساعت اتفاق افتاد. به‌طور کلی می‌توان گفت که از آنجایی که گوجه فرنگی رد کلود متعلق به نواحی گرمسیری است لذا در دماهای پایین‌تر از ۱۲ درجه سانتی‌گراد دچار تنش سرمایی شده و متعاقب آن تغییرات بیان ژن‌ها و آنتی اکسیدان‌ها را جهت حفاظت از خود در برابر تنش ایجاد می‌کند.

واژه‌های کلیدی: آبسزیک اسید، آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی، ریل تایم پی سی آر، *SINCE1*، *Solanum lycopersicum* L.

مقدمه

گیاه در میان سبزیجات بسیار پر کاربرد است و حساسیت بالایی به سرمازدگی داشته و نگهداری در دمای زیر ۱۲ درجه سانتی‌گراد موجب ایجاد سرمازدگی می‌شود (Zhao et al., 2009). دما ضروری ترین فاکتور برای رشد، متابولیسم و باروری گیاهان است. با توجه به اینکه آب داخل بافت‌ها و سلول‌های گیاه زیاد است، لذا رفتار آب در دماهای مختلف، فاکتور مهمی برای زنده ماندن سلول‌ها می‌باشد (Went, 1953). پاسخ به سرما (دماهای صفر تا ۱۵ درجه سانتی‌گراد) شامل مجموعه‌ای از تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی است که می‌توان به تغییر

گوجه فرنگی با نام علمی *Solanum lycopersicum* L. از خانواده سولاناسه^۱ و گیاهی است چند ساله و علفی ولی معمولاً به صورت یکساله کشت می‌گردد. توزیع و پراکندگی طبیعی گونه‌های وحشی این گیاه محدود به کوه‌های آند است. گوجه فرنگی معمولاً در مناطق بومی یا گرمسیری به صورت چند ساله است ولی در مناطق معتدله به صورت یکساله کشت می‌گردد. میوه‌ی این

*نویسنده مسئول: s.saeidisar@gmail.com

در سلول گیاهی پایین است و گیاه رشد طبیعی دارد و در زمان تنش‌های محیطی و در طول بلوغ دانه افزایش می‌یابد و پس از سنتز در ریشه برای رونویسی به ساقه منتقل شده و در نتیجه موجب سنتز پروتئین‌ها، لیپیدهای ذخیره‌ای و بسته شدن روزنه‌ها و... می‌شود (Grevinoveski et al., 2011). مسیر متابولیکی آبسزیک اسید بوسیله ژن‌ها کنترل می‌شود. به این صورت که در مسیر بیوسنتزی کاروتنوئید در اواسط مسیر ایزوپرنوئید، از دو مولکول دو مولکول ژرانیل ژرانیل دی فسفات (GGPP) مولکول فیتون تشکیل می‌شود که پس از گذر از چهار مرحله غیراشباع، لیکوپن ایجاد شده و سپس آلفا و بتاکاروتن ساخته می‌شود. هیدروکسیلاسیون و اپوکسیلاسیون موجب تشکیل گزانتوفیل، لوتئین و زناگزانتین و ویولاگزانتین می‌گردد. سپس ویولاگزانتین به ۹-سیس اپوکسی گزانتوفیل تبدیل می‌شود که با اکسیلاسیون بوسیله آنزیم ۹-سیس اپوکسی کاروتنوئید دی اکسیژناز (NCED) به گزانتوکسین تبدیل می‌گردد. گزانتوکسین موجود در پلاستید، به سیتوزول رفته و در آنجا طی مراحل به شکل آبسزیک اسید در می‌آید (Schwartz., 2003; Taylor et al., 2005). طبق تحقیقات NCED مرحله‌ی محدود کننده در تنظیم بیوسنتز این هورمون است (Qin and Ji et al., 2014; Zeevaar 2002; این امر در گیاهان و غلاتی مثل برنج (Oliver et al., 2007)، گندم (Ji et al., 2011; Nakamura et al., 2010) و لوبیا (Qin and Zeevaart, 1999) به اثبات رسیده است. این ژن در انطباق با تنش سرما در کنار جیبرلین اهمیت بسزایی دارد (Banerjee et al., 2014). به طوری که مشخص شده است که غلظت آن در بافت برگ در گیاهانی مثل گندم زمستانه، سیب‌زمینی و یونجه طی دوره‌ی انطباق سرمایی بشدت افزایش می‌یابد (Alscher and Cumming, 1990; Davies and Mansfield., 1983).

رنگ، کلروز، کاهش عمومی رشد، تخریب بافت‌های سلولی، عدم جوانه زنی بذور، عدم انتقال مواد فتوسنتزی، عدم جذب عناصر غذایی و افزایش یا کاهش بیان ژن، کاهش یا توقف رشد، افزایش تجمع اسید آسزیک، تغییر در ترکیب لیپیدی غشا و محلولهای سازگار، بهم خوردن تعادل متابولیسمی و افزایش آنتی اکسیدانهای سلولی اشاره کرد (Kalabil Sayyari et Munder, 2009; and Tafazolli 2002; Sepannen (al., 2011; گزارش کرد که نقطه‌ی مشترک همه‌ی تنش‌ها مثل دمای پایین، تولید گونه‌های اکسیژن فعال^۱ (ROS) می‌باشد، که موجب آسیب به ماکرومولکول‌های مختلف درون سلول و در نتیجه تولید پاسخ آنتی‌اکسیدانی شامل آنتی اکسیدان‌های غیرآنزیمی با وزن مولکولی پایین مثل فنل‌ها است که خود شامل آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها و تانن‌ها و... می‌باشند می‌شود (Chinnusamy et al., Hung et al., 2018; 2007; Jamshidi et al., 2010; Zheng et al., 2005; Raghavendra et al., 2010). در واقع سیستم آنتی‌اکسیدانی راهکاری به منظور تحمل شرایط تنش برای گیاه محسوب می‌شود (Asadi et al., 2018).

هورمون‌های گیاهی نقش اصلی را در ارتباط بین کمپلکس رشد و آبشار سیگنالی سازگاری به تنش دارند. در این بین فیتوهورمون آبسزیک اسید (ABA) نقش تنظیمی در رشد و فعال کردن سازگاری سلول‌های گیاهی به تنش خشکی و شوری دارد (Sangwan et al., 2002; Hoang et al., 2012). این هورمون نوعی سزکوئی ترپن است که به طور معمول در اکثر گیاهان آوندی و تقریباً در تمام سلول‌های دارای کلروپلاست و یا آمیلوپلاست، سنتز می‌شود. تعادل بیوسنتز و تجزیه این هورمون وابسته به تنش‌ها است به طوری که در شرایط عادی سطح این هورمون

1. Reactive Oxygen Species

عصاره ۳ بار تکرار و بعد از گذشتن ۳۰ دقیقه در دمای اتاق، در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر در برابر بلانک متانول قرائت گردید (Brand Williams et al., 1995).

اندازه‌گیری فنل کل: اندازه‌گیری فنل کل به روش فولین سیوکالتو انجام شد. ابتدا غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۱۵، ۰/۰۲، ۰/۰۲۵، میلی‌گرم از گالیک اسید در آب مقطر تهیه شد و پس از اینکه از هر غلظت مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر به همراه ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو و ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد به هر لوله اضافه شد، این امر سه بار برای هر نمونه تکرار شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. جذب نمونه‌ها بوسیله‌ی دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. از رسم منحنی کالیبراسیون گالیک اسید، با قرار دادن مقدار جذب عصاره در معادله خطی مربوط به منحنی استاندارد، مقدار فنل تام موجود در عصاره محاسبه شد. در نهایت، داده‌ها بر اساس معادل میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن تر بیان گردید (Salmanian et al., 2016; Mohammadi et al., 2016).

بررسی بیان ژن *SINCEDI*: بدین‌منظور ابتدا استخراج RNA و سپس ارزیابی کمی و کیفی و آن با استفاده از روش‌های اسپکتروفوتومتری و الکتروفورز افقی روی ژل آگارز انجام شد بدین صورت که واکنش تکثیر ژن مورد نظر در ۳۵ چرخه انجام گرفت. پس از پایان واکنش تکثیر، مقدار ۵ میکرولیتر از نمونه بر روی ژل آگاروز ۱ درصد برده شد و باندهای ۱۸s و ۲۸s مرتبط با RNA ریبوزومی به عنوان شاخص کیفیت RNA استخراج شده مد نظر قرار گرفت. در نهایت واکنش نسخه برداری معکوس، سنتز cDNA تک رشته از الگوی mRNA انجام و آغازگرهای مورد نیاز در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز

به‌طورکلی تنش سرما مهار جذب آب توسط گیاهان و کم شدن آب سلول‌های گیاهی منجر به تنش اسمزی و اکسیداتیو شده که همین امر موجب بیان ژن‌ها و در نتیجه افزایش تحمل گیاهان می‌گردد (Wang, 2017). بنابراین با توجه به توضیحات ذکر شده می‌توان به اهمیت بررسی تغییرات گیاهان در سطح بیان ژن زمانیکه تحت تنش‌های مختلف از جمله سرما قرار می‌گیرند، پی برد. با توجه به اینکه گوجه فرنگی رقم رد کلود به عنوان رقم گرمسیری شناخته می‌شود لذا بررسی تغییرات بیان ژن اصلی در سنتز هورمون آبسزیک اسید و آنتی اکسیدان‌های آن می‌تواند در جهت پیشبرد اهداف علوم مرتبط با گیاهی چه به لحاظ غذایی و چه دارویی و حتی تجاری اهمیت بسزایی داشته باشد.

روش کار

در اوایل اردیبهشت‌ماه ۱۳۹۶، گوجه‌های رقم رد کلود خریداری شد و به مدت یک ماه در گلدان‌های اولیه‌ی خود باقی ماندند و پس از رشد کافی، به گلدان‌های بزرگتر منتقل شدند. پس از میوه‌دهی، بوته‌ها به یخچال با دماهای ۲ و ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد منتقل شدند و پس از طی دوره ۱۲ و ۲۴ ساعته، میوه‌ها برای سنجش فنل کل، آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی و بیان ژن *SINCEDI* آماده شدند. سه بار تکرار بیولوژیکال در این مرحله انجام گرفت.

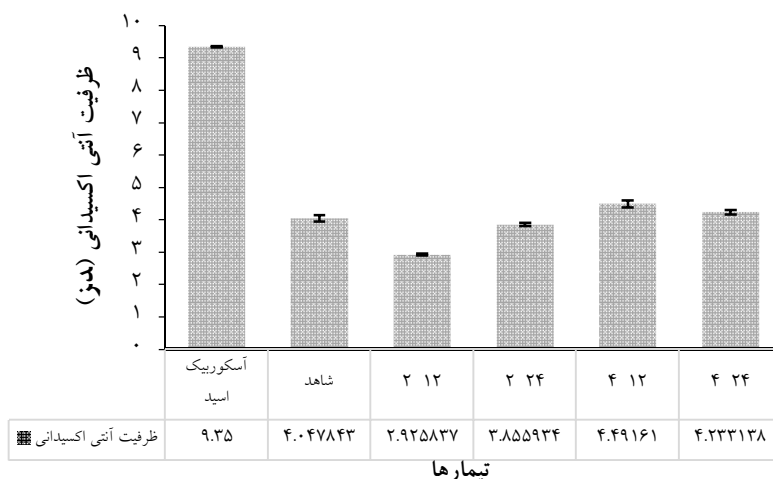
سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی: بدین منظور ابتدا میوه‌ها در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک و جهت آزمون، با آسیاب پودر شدند. سپس اگرگرم از پودر گوجه‌فرنگی با ۱۵ سی‌سی متانول مخلوط گردید. این عمل برای تمام تیمارها به‌طور جداگانه انجام گرفت. سپس مقدار ۵۰ میکرولیتر از این نمونه را برداشته و ۵ سی‌سی محلول DPPH به آن اضافه شد. این عمل برای هر

اکسیدانی کاهش یافت. به عبارت ساده‌تر با کاهش ارتفاع ستون IC_{50} در نمودارها خاصیت آنتی‌اکسیدانی افزایش پیدا کرد. هرچه طیف رنگ نمونه‌های آزمایش از بنفش به سمت رنگ زرد متمایل شود خاصیت آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال‌های آزاد بیشتری را داشته است. میانگین نتایج ۳ تکرار در تست DPPH به صورت درصد مهارکنندگی و IC_{50} به صورت میلی‌گرم گزارش شد. گوجه فرنگی‌های تحت تنش سرما در دمای ۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و زمان ۱۲ ساعت کمترین ستون ارتفاع را در نمودار IC_{50} به خود اختصاص داد که می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت که بیشترین میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به این دما و ساعت بوده است (جدول ۱؛ شکل ۱).

ریل تایم پی سی آر طراحی شدند. رنگ فلورسنت مورد استفاده سایبرگرین بود و به منظور افزایش دقت، دو بار تکرار تکنیکال در این مرحله انجام گرفت.

داده‌های تحقیق پس از جمع‌آوری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 24 بررسی و تحلیل شدند. همچنین نمودارها از طریق نرم‌افزار Excel 2016 بدست آمد. به‌منظور بررسی نتایج و مقایسه‌ی میانگین تیمارها از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی دانکن استفاده شد و مقادیر آن به صورت $Mean \pm SD$ گزارش گردید.

نتایج بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی: نمودارهای IC_{50} با خاصیت آنتی‌اکسیدانی رابطه معکوس دارد. به‌طوری‌که با افزایش میزان IC_{50} خاصیت آنتی



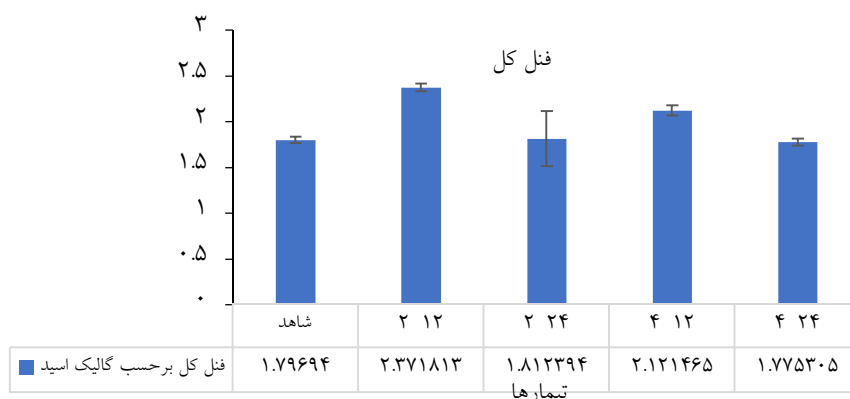
شکل ۱: نتایج IC_{50} نمونه‌های شاهد، ۲ درجه سانتی‌گراد، ۱۲ و ۲۴ ساعت؛ ۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۲ و ۲۴ ساعت و آسکوربیک اسید (مقادیر میانگین ۳ تکرار \pm انحراف استاندارد).

جدول ۱: مقایسه میانگین فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی. حروف متفاوت در هر گروه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی	فنل کل	تیمارها
$41,1874^b \pm 0,09976$	$1,7969^b \pm 0,035$	شاهد
$51,7975^a \pm 0,1528$	$2,3718^a \pm 0,0423$	۲-۱۲
$37,1086^b \pm 0,2902$	$1,8124^b \pm 0,030246$	۲-۲۴
$43,2474^b \pm 0,11092$	$2,1215^a \pm 0,05790$	۴-۱۲
$39,3800^b \pm 0,07440$	$1,7753^b \pm 0,03860$	۴-۲۴

میزان فنل بیشتر است. این مسئله در مورد نمونه‌ی ۲- ۱۲ مشاهده گردید (جدول ۱ و شکل ۲).

نتایج آنالیز فنل کل (TPC): با توجه به نتایج، هر چه مقدار عدد بدست آمده بزرگتر باشد نشان دهنده‌ی



شکل ۲: میزان فنل کل برای تیمارهای شاهد، ۲ درجه سانتی گراد، ۱۲ و ۲۴ ساعت؛ ۴ درجه سانتی گراد، ۱۲ و ۲۴ ساعت برحسب میلی گرم گالیک اسید در گرم خشک.

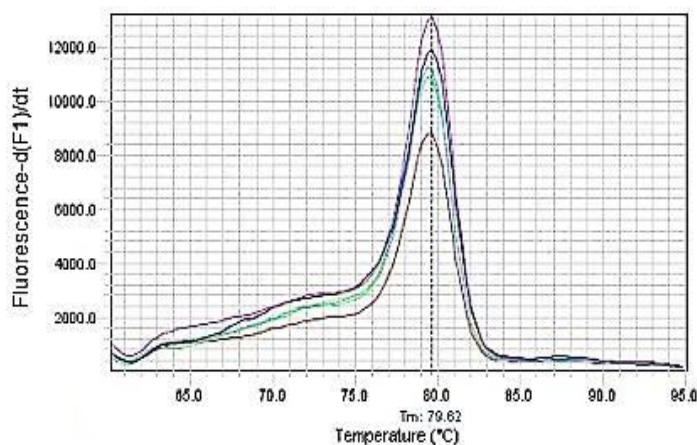
جدول ۲: ضریب تغییرات خواص بیوشیمیایی میوه‌های گوجه فرنگی رد کلود تحت تاثیر تیمارهای مختلف تنش سرما

سطح معنی داری	F	میانگین مربعات	مجموع مربعات	تغییرات واریانس	فنل کل بر حسب گالیک اسید
۰,۰۰۱*	۱۰,۴۳۷	۰,۲۰۸	۰,۸۳۱	تغییرات واریانس	ظرفیت آنتی اکسیدانی
۰,۰۰۰*	۳۰۴۰,۴۱۹	۱۵,۶۳۴	۷۸,۱۶۸	بین گروهی	

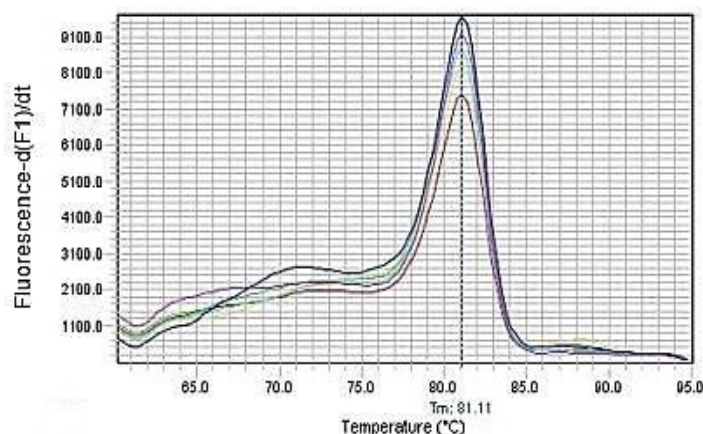
*معنی داری در سطح احتمال ۰/۰۵

غلظتی که در آن باند واحد در منحنی ذوب وجود داشته باشد بهینه شد و غلظتی از آغازگر که پایین ترین چرخه آستانه را نشان دهد انتخاب گردید. صحت انجام آزمایش در تک قله بودن نمودارهای بدست آمده است (شکل ۳ و ۴).

آنالیز منحنی ذوب ژن *SINCE1*: منحنی ذوب واحد بیانگر عدم وجود محصول غیر اختصاصی می‌باشد. به علت اینکه در این تحقیق از رنگ فلورسانتی سایبرگرین در واکنش پلیمرز کمی در زمان واقعی استفاده شد، غلظت آغازگرها و مقدار نمونه استفاده شده در این واکنش برای بدست آوردن



شکل ۳: منحنی ذوب ژن GAPDH



شکل ۴: منحنی ذوب ژن SINCEDI

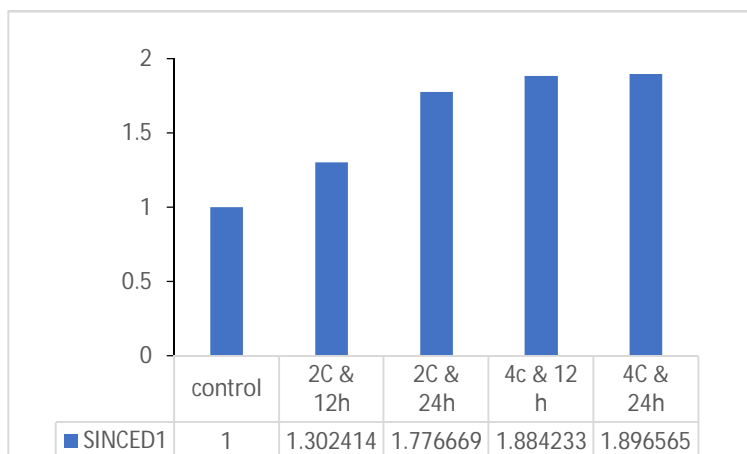
منظور محاسبه شاخص $\Delta\Delta Ct$ بکارگرفته شد (فرمول ۳). در ادامه نسبت تغییرات بیانی بین دو نمونه تست و کنترل با استفاده از فرمول ۴ تعیین گردید (شکل ۶):
فرمول ۱:

(کنترل) ژن مرجع mC_t - ژن مورد نظر mC_t $\Delta C_t =$ کنترل
فرمول ۲:

(تست) ژن مرجع mC_t - ژن مورد نظر mC_t $\Delta C_t =$ تست
فرمول ۳: $\Delta\Delta C_t = \Delta C_t$ (کنترل) - ΔC_t (تست)

فرمول ۴: (نسبت بیانی) $Ratio = 2^{-\Delta\Delta C_t}$

آنالیز داده‌ها با استفاده از روش ارزیابی نسبی: پس از محاسبه کارایی تکثیر آغازگرهای واکنش که به منظور استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ انجام شد، آنالیز داده‌های حاصل از ریل تایم پی سی آر بر اساس چرخه‌ی آستانه (Ct) بدست آمده برای ژن‌های هدف و مرجع انجام گرفت. تفاضل میانگین Ct ژن مرجع از میانگین Ct ژن هدف به‌عنوان شاخص ΔCt برای هر دو گروه تست و کنترل محاسبه گردید (فرمول ۱ و ۲). همچنین تفاضل Ct‌های گروه تست و کنترل به



شکل ۶: نتایج آنالیز داده‌ها با استفاده از روش ارزیابی نسبی با روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ برای نمونه‌های شاهد، ۲ درجه سانتی‌گراد، ۱۲ و ۲۴ ساعت؛ ۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۲ و ۲۴ ساعت.

بحث

بزرگی از ژن‌ها کاسته می‌گردد (Rivero et al., 2001; Xiong et al., 2006; Kilian et al., 2007; Shallan et al., 2009; Pakkish et al., 2012). افزایش ترکیبات فنلی به معنای عملکرد استرهای فنلی به عنوان سوبسترای پراکسیدازهای واکوئل در سیستم پراکسیداز-فنولیک-آسکوربات و در نتیجه حفاظت سلول در برابر تنش اکسیداتیو حاصل از تنش سرما می‌باشد (Weidner et al., 2009). سرما با افزایش فنل‌ها می‌تواند در افزایش خواص میوه گوجه فرنگی نقش بسزایی داشته باشد زیرا که فنل‌ها مقاومت پایینی به دمای بالا دارند و ممکن است تغییرات ساختاری موجب کاهش آنها گردد (Elhamirad et al., 2012).

افزایش بیان ژن *SINCE1* در رسیدگی میوه گوجه فرنگی نقش موثری دارد بدین صورت که در زمان رسیدگی میوه یک سری فرایندهای بیوشیمیایی از جمله فعال شدن آنزیم‌های تجزیه پکتین و سلولز در دیواره اتفاق می‌افتد. تجزیه بخشی از عملکرد هورمون اتیلن است که طی نرم شدن میوه‌ها آزاد می‌شود. با توجه به اینکه در زمان تنش سرما میزان گلوکز و سایر قندهای سلول افزایش می‌یابد و گلوکز منجر به افزایش بیوستنز این هورمون می‌شود، لذا رونویسی ژن‌های بیوستنزی آبسزیک اسید افزایش یافته و در نتیجه می‌توان به‌طور خلاصه گفت که در زمان تنش هورمون اتیلن با فعال سازی آنزیم‌های تجزیه کننده پلی ساکاریدهای دیواره مثل پلی گالاتکتوروناز، پکتین متیل استراز، گزیلوگلوکان اندوترانس گلیکوزیلاز، اندو-1،4-بتا-سلولاز و تبدیل آنها به قند، خود موجب افزایش سنتز آبسزیک اسید و در نتیجه رسیدگی میوه می‌شود (Schlegl 1996; Zhang et al., 2009; Huber 1983; Leon and Shin 2003; Sun et al., 2011; Hiwasa et al., 2003). برخی مطالعات گزارش کردند که آبسزیک اسید موجب افزایش ترکیبات فنلی و در نتیجه رسیدگی میوه‌ی توت فرنگی می‌شود (Ghorbanli et al.,

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تنش سرما از طریق پراکسیداسیون لیپیدها و فعال سازی گیرنده‌های حساس به تنش موجب افزایش هورمون آبسزیک اسید با تاثیر بر سطح بیان ژن و سنتز آنتی اکسیدان‌های غیرآنزیمی و فنل‌ها می‌گردد (Jajic et al., 2014; Bose et al., 2015). در تیمار دمای ۲ درجه به مدت ۱۲ ساعت عملکرد بهتر آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات فنلی قابل مشاهده بود به‌طوری‌که کمترین ستون ارتفاع را در نمودار IC50 و در نتیجه بیشترین میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی حاکی از همین موضوع بود و همین امر نشانگر وجود دمای بهینه جهت افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در گوجه فرنگی می‌باشد به‌طوری‌که در دمای ۴ درجه و مدت ۱۲ و ۲۴ ساعت تغییر چندانی در میزان این ترکیبات مشاهده شد. مطالعات انجام شده بر روی برنج، ذرت و سویا نیز بیانگر همین امر بود (Bunn et al., 2009). با توجه به نتایج، هر چقدر مقدار عدد بدست آمده بزرگتر باشد نشان‌دهنده میزان فنل بیشتر است. تنش سرما باعث افزایش ترکیبات مختلف از جمله فنل‌ها در گیاهان می‌شود که در تایید این نتایج می‌توان به بررسی اثر سرما بر گیاهان فلفل و تربچه و گندم توسط سایر محققین اشاره نمود (Koc et al., 2010; Hosseinzad et al., 2014; Liang et al., 2009).

تنش سرما با افزایش فعالیت آنزیم مسیر بیوستنز فنل‌ها یعنی آنزیم فنیل آمونیا لیاز و کاهش آنزیم‌های اکسید کننده‌ی فنل‌ها مثل پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز توانست میزان ترکیبات فنلی را در میوه گوجه فرنگی پس از ۱۲ ساعت افزایش دهد به این دلیل که تغییر در بیان ژن‌ها نیازمند انرژی درونی است که این امر پس از ۱۲ ساعت محقق شده و البته پس از ۲۴ ساعت با کاهش این انرژی به دلیل کاهش پیشسازهای فنل‌ها یعنی کربوهیدرات‌ها، از بیان بخش

اکسیداتیو می‌نمایند. طی این فرایند، پراکسیداسیون چربی‌ها اتفاق افتاده و یکپارچگی غشاهای سلولی آسیب می‌بیند و همین امر دلیل تجمع ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی است تا از اثرات گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده بکاهد. همچنین با افزایش بیان ژن *SINCE1* سرعت رسیدگی میوه افزایش یافت. لذا بررسی بیان ژن‌های ترکیبات آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی و همچنین فعالیت هورمون‌ها نیازمند بررسی است.

سپاسگزاری

این مقاله بخشی از رساله‌ی دکترای نیلوفر صمدی است و بدینوسیله از معاونت و امور پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان و سایر بزرگوارانی که شرایط این تحقیق را فراهم نمودند، سپاسگزاریم.

References

- Asadi, S., Moghaddam, M., Ghasemi pirbalouti, A. and Fotovat, A. (2018).** Evaluation of physiological characteristics and antioxidant activity of sweet basil (*Ocimum basilicum* cv. Keshkeni luvelou) under different levels of methyl jasmonate and lead toxicity. *Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research*. 13(51): 1-16.
- Alscher, R.G. and Cumming, J.R. (1990).** Stress responses in plants: adaptation and acclimation Mechanisms. John Wiley and Sons. INC Publication.
- Banerjee, S., Yuan, X., Germida, J.J. and Vujanovic V. (2014).** Gene expression patterns in wheat coleorhiza under cold-and biological stratification. *Microbiological research*. 169(7-8): 616-622.
- Bose, J., Rodrigo-Moreno A. and Shabala, S. (2014).** ROS homeostasis in halophytes in the context of salinity tolerance. *Journal of Experimental Botany*. 65: 1241-1257.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. (1995).** Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT- Food Science and Technology*. 28(1):25-30
- Bunn, R., Lekberg, Y. and Zabinski, C. (2009).** Arbuscular mycorrhizal fungi ameliorate temperature stress in thermophilic plants. *Ecology*. 90:1378-1388.
- Davies, P.J. and Mansfield, TA. (1983).** The role of abscisic acid in drought avoidance, In: *Abscisic acid* (ed. by F.T. Adicott). Praeger, New York, 237-268.
- Elhamirad, A.H. and Zamanipoor, M.H. (2012).** Thermal stability of some flavonoids and phenolic acids in sheep tallow olein. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 114(5): 602-606.
- Ghorbanli, M., Rostami Abousaiedi, M. and Bakhshi Khaniki, Gh.R. (2014).** Effect of naphthalene acetic acid (NAA) and abscisic acid (ABA) on quality and quantity of Strawberry Selva cultivar (*Fragaria ananassa* cv. Selva) and Paros cultivar (*Fragaria ananassa* cv. Paros). *Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research*. 9: 30-39.
- Großkinsky, D.K., Naseem, M., Abdelmohsen, U.R., Plickert, N., Engelke, T., Griebel, T., Zeier, J., Novák, O., Strnad, M., Pfeifhofer, H., Graaff, E.V.D. Simon, U. and Roitsch, T. (2011).** Cytokinins mediate resistance against *Pseudomonas syringae* in tobacco through increased antimicrobial phytoalexin

- synthesis independent of salicylic acid signaling. *Plant Physiol*, 157:815–830
- Hiwasa, K., Kinugasa, Y., Amano, S., Hashimoto, A., Nakano, R., Inaba, A. and Kubo, Y. (2003).** Ethylene is required for both the initiation and progression of softening in pear *Pyrus communis* L. fruit. *Journal of Experimental Botany*. 54: 771–779.
- Hosseinzad, B.E., Chaparzadeh N. and Dilmaghani K. (2014).** Effect of salicylic acid on growth parameters, osmolytes and osmotic potential in radish (*Raphanus sativus* L.) under salt stress. *Journal of Plant Research*. 27(1): 32–40. (In Persian)
- Huber, D.J. (1983).** Polyuronide degradation and hemicellulose modification on ripening tomato fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 108: 405–409.
- Jahan tigh haghghi, Z., Fahmideh, L., Fazeli nasab, B. (2018).** Evaluation and comparison of Leaf antioxidant properties and morphological traits of tomato varieties (*Lycopersicon esculentum* L). 13(50): 63–76.
- Jajic, I., Sarna, T. and Strzalka, K. (2015).** Senescence, Stress, and Reactive Oxygen Species. *Plants*. 4(3): 393–411.
- Jamshidi, M., Ahmadi, H.R., Rezazadeh, Sh., Fathi, F. and Mazanderani, M. (2010).** Study on phenolic and antioxidant activity of some selected plant of Mazandaran province. *Medic Plan*. 934:177–183. (In Persian).
- Ji, K., Kai, W., Zhao, B., Sun, Y. and Yuan, B. (2014).** SINCED1 and SICYP707A2: key genes involved in ABA metabolism during tomato fruit ripening. *Journal of Experimental Botany*. 6518: 5243–5255.
- Kilian, J., Whitehead, D., Horak, J., Wanke, D., Weigl, S., Batistic, O.D., Angelo, C., Bornberg-Bauer, E., Kudla, J. and Harter, K. (2007).** The AtGen Express global stress expression data set: protocols, evolution and model data analysis of UV-B light, drought and cold stress responses. *The Plant Journal*. 50:347–363.
- Kok, E., Islek, C. and Sulun Ustun A. (2010).** Effect of Cold on Protein, Proline, Phenolic Compounds and Chlorophyll Content of Two Pepper *Capsicum annum* L. Varieties. *G.U. Journal of Science*. 231: 1–6.
- Leon, P. and Sheen, J. (2003).** Sugar and hormone connections. *Trends Plant Science*. 8: 110–116.
- Liang, L.H., Mei, X., Lin, F., Xia, J., Liu, S.J. and Wang, J.H. (2009).** Effect of low temperature stress on tissue structure and physiological index of cashew young leaves. *Journal of Ecology and Environmental Sciences*. 18: 317–320.
- Mohammadi, B., Zia Jahromi, N., Sadeghi, H. and Mirzaei, A. (2016).** Compare the amount of phenols, flavonoids and antioxidant activity of five varieties of Iranian olive leaf hydroalcoholic extract. *Bringing Knowledge*, 20 (10): 888–898. (In Persian).
- Munder, M. (2009).** Arginase: an emerging key player in the mammalian immune system: review. *British Journal of Pharmacology*. 158: 638–651.
- Nakamura, S., Chono, M., Abe, F. and Miura, H. (2010).** Mapping a diploid wheat abscisic acid 8'-hydroxylase homologue in the seed dormancy QTL region on chromosome 5Am. *Euphytica*. 171(1):111.
- Oliver, S.N., Dennis, E.S. and Dolferus, R. (2007).** ABA regulates apoplastic sugar transport and is a potential signal for cold-induced pollen sterility in rice. *Plant and Cell physiology*. 48(9): 1319–1330.
- Pakkish, Z., Rahemi, M. and Baghizadeh, A. (2009).** Seasonal changes of peroxidase, polyphenol oxidase enzyme activity and phenol content during and after rest in pistachio *Pistacia vera* L. *Flower Buds*. *World Applied Sciences*. 69: 1193–1199.
- Qin, X.Q. and Zeevaart J.A. (1999).** The 9-cis-epoxycarotenoid cleavage reaction is the key regulatory step of abscisic acid biosynthesis in water-stressed bean. *Proceedings of the National Academy of sciences*. 96(26): 15354–15361.
- Qin, X.Q. and Zeevaart, J.A.D. (2002).** Overexpression of a 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase gene in *Nicotiana glauca* increases abscisic acid and phenolic levels and enhances drought tolerance. *Plant Physiology*. 128: 544–551.
- Raghavendra, A.S., Gonugunta, V.K., Christmann, A. and Grill, E. (2010).** ABA perception and signaling. *Trends Plant Science*. 15:395–401.
- Rivero, R.M., Ruiz, J.M., Garcia, P.C., Lopez-Lefebvre, L.R., Sanchez, E. and Romero, L. (2001).** Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. *Plant science*. 160: 315–321.
- Salmanian, S., Sadeghi Mahoonak, A. Alami, M. and Ghorbani, M. (2014).** Evaluation of Total Phenolic, Flavonoid, Anthocyanin Compounds, Antibacterial and Antioxidant Activity of Hawthorn (*Crataegus Elbursensis*) Fruit Acetonic Extract. *Journal*

- of Rafsanjan University of Medical Sciences. 13 (1): 53-66. (In Persian)
- Sangwan, V. and Dhindsa, R.S. (2002).** In vivo and in vitro activation of temperature-responsive plant map kinases. *FEBS Letters*. 531:561-564.
- Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., MartinezRomero, D., Guillen, F., Serrano, M. and 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: 964-970.
- Schlegl, Z. (1996).** Photo assimilate distribution in plants and crops, source-sink relationships. *Environmental Control in Biology*. 323-330.
- Schwartz, S.H., Qin, X.Q. and Zeevaert, J.A.D. (2003).** Elucidation of the indirect pathway of abscisic acid biosynthesis by mutants, genes, and enzymes. *Plant Physiology*. 131:1591-1601.
- Seppanen, M.M. (2000).** Characterize of freezing tolerance in *Solanum commersonioides*. with special reference of the relationship between and oxidative stress. University of Helsinki department of production section of crop husbandry. 56:4-44.
- Sun, L., Wang, Y.P., Chen, P., Ren, J., Ji, K., Li, Q., Li, P., Dai, S.J. and Leng, P. (2011).** Transcriptional regulation of SIPYL, SIPP2C, and SLSnRK2 gene families encoding ABA signal core components during tomato fruit development and drought stress. *Journal of Experimental Botany*. 62: 5659-5669.
- Taffazoli, A.A., and Kalabil, R. (2002).** Increasing sugars and cold resistance in Kiwi fruit by ABA hormone. *Iran Agricultural Research*. 11. (In Persian)
- Taylor, I.B., Sonneveld, T., Bugg, T.D.H. and Thompson, A.J. (2005).** Regulation and manipulation of the biosynthesis of abscisic acid, including the supply of xanthophyll precursors. *Journal of Plant Growth Regulation*. 24: 253-273.
- Van kiet, H., Nose, A. and Shao, H. (2016).** Effect of Cold Stress on Root Growth, Accumulation of Soluble Proteins and Free Amino Acids of Sheath Blight-Resistant Rice Genotype 32R. *Tropical Agriculture and Development*. 60(3): 191-194.
- Wang, G.D., Liu, Q., Shang, X.T., Chen, C., Xu, N., Guan, J. and Meng, Q.T. (2017).** Overexpression of transcription factor SINAC35 enhances the chilling tolerance of transgenic tomato. *Biologia Plantarum*. 62(3):479-488.
- Weidner, S., Kordala, E., Brosowska-Arendt, W., Karamac, M., Kosinska, A. and Amarowicz, R. (2009).** Phenolic compounds and properties of antioxidants in grapevine roots *Vitis vinifera* L. under low temperature stress followed by recovery. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. 78: 279-286.
- Went, F.W. (1953).** The effect of temperature on plant growth. *Annual Review of Plant Physiology*. 4:347-362.
- Xiong, L., Wangm R.G., Mao, G. and Koczan, J.M. (2006).** Identification of drought tolerance determinants by genetic analysis of root response to drought stress and abscisic acid. *Plant Physiology*. 142: 1065-1074.
- Zhang, M., Yuan, B. and Leng, P. (2009).** The role of ABA in triggering ethylene biosynthesis and ripening of tomato fruit. *Journal of Experimental Botany*. 60: 1579-1588.
- Zhao, D.Y., Shen, L., Fan, B., Liu, K.L., Yu, M.M., Zheng, Y., Ding, Y. and Sheng, J.P. (2009).** Physiological and genetic properties of tomato fruits from 2 cultivars differing in chilling tolerance at cold storage. *Food Chemistry*. 74: 348-352.