مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲۲ شماره ۲ صفحه های ۱۳۹ تا ۱۵۰ (۱۴۰۰)
مقاله پژوهشی

تغییرهای الگوی فعالیت و بیان ژن‌های برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در درختان زیتون رقم کنسروالیا در ارتباط با تناوب باردهی[1]

Changes in Gene Expression and Activity Pattern of Some Antioxidant Enzymes in Olive Trees (*Olea europaea* L. cv. Conservalia) in Relation to Alternate Bearing

ابراهیم دستکار، علی سلیمانی*، حسین جعفری، عباس بهاری و مهرشاد زین‌العابدینی[2]

چکیده

تناوب باردهی، به مفهوم نوسان شدید در عملکرد سالیانه، باعث ایجاد نوعی تنش غیرزیستی در درختان زیتون در سال پرمحصول می‌شود. بنابراین می‌توان فرضیه تغییر در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برگ گیاه را در ارتباط با این پدیده ارزیابی کرد. هدف از بررسی حاضر، آزمون این فرض در درختان ۱۲ ساله آور و نیآور زیتون رقم کنسروالیا در زمان گل‌انگیزی و در طی دو سال، از راه بررسی الگوی فعالیت و بیان ژن‌های برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بود. از بین متغیرهای ارزیابی شده مانند ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، مقدار فنول، فلاونوئید و پروتئین کل، تنها فنول کل به‌صورت معنی‌داری در درختان نیآور بیشتر از درختان آور بود. از بین آنزیم‌های پراکسیداز (POD)، سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز (PAL) و پلی‌فنول‌اکسیداز (PPO)، فعالیت‌های سه آنزیم اول تفاوت معنی‌دار نشان دادند. مقدار فعالیت آنزیم POD در درختان آور نسبت به نیآور و آنزیم‌های SOD و PAL در درختان نیآور نسبت به آور فعالیت بیشتری داشتند. بیان نسبی ژن‌های مربوط به آنزیم‌های POD و PPO در درختان آور و SOD و PAL در درختان نیآور به صورت معنی‌داری بیشتر بود. کاهش میزان فعالیت و بیان ژن(های) آنزیم SOD در درختان آور، با افزایش این شاخص‌ها در مورد آنزیم POD همرا بود. در کل ساخت ترکیب‌های فنولی در درختان نیآور و متابولیسم و مصرف آن در درختان آور زیادتر بود.

واژه‌های کلیدی: تنش غیرزیستی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، تناوب باردهی، زیتون، ترکیب‌های فنولی.

مقدمه

تناوب باردهی[3] یا دو سال‌آوری[4] پدیده‌ای است که به لحاظ مدیریت فنی و اقتصادی، در بسیاری از درختان میوه از اهمیت بالایی برخوردار است. این پدیده که عبارت است از نوسان در عملکرد سالیانه درخت به این صورت اتفاق می‌افتد که به دنبال عملکرد سنگین در سال اول (سال آور) در سال پس از آن (سال نیآور) عملکرد ضعیف یا ناچیز است (۲۰). این ناهنجاری در زیتون (*Olea europaea* L.) نمود گسترده‌ای داشته به طوری که بسیاری از رقم‌های زیتون به طور ژنتیکی به شدت دارای تناوب باردهی می‌باشند (۴). تاکنون عوامل درونی و بیرونی متعددی مسئول بروز پدیده سال‌آوری در زیتون

۱- تاریخ دریافت: ۹۸/۹/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۹/۳/۱۱

۲- به‌ترتیب دانشجوی پیشین دکتری و دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، دانشیار، بخش تحقیقات گیاه پزشکی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان زنجان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، زنجان، استادیار پژوهشکده فناوری‌های نوین زیستی، دانشگاه زنجان و دانشیار موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و توسعه کشاورزی، کرج، ایران.
* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (asoleimani@znu.ac.ir).

۳- Alternate bearing ۴- Biennial bearing

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.2.2.5]

شناخته شده است. از آن جمله می‌توان به نوع رقم، میزان محصول سال قبل، برداشت دیر هنگام میوه، شرایط اقلیمی منطقه، شرایط تغذیه‌ای درخت و بروز تنش‌های زیستی و غیرزیستی مانند سرمازدگی و حمله سنگین آفات اشاره کرد (۲۳ ، ۳۷). از آنجا که نوسان عملکرد سالانه در شرایط تناوب باردهی بسیار بالاست، این پدیده در زیتون که یک محصول صنعتی است از اهمیت اقتصادی بالایی برخوردار است (۲۰).

گونه‌های اکسیژن فعال[۱](ROS)، از جمله پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال سوپراکسید ($O2^{\bullet-}$)، رادیکال هیدروکسیل ($OH^{\bullet}$) و اکسیژن منفرد ($^1O_2$) و غیره، محصول‌هایی هستند که طی فرایندهای متابولیکی تنفس و فتوسنتز در میتوکندری‌ها، کلروپلاست‌ها و پراکسی‌زوم‌ها تولید می‌شوند (۳، ۱۷). از جمله عوامل مهم در افزایش تولید ROS داخل یاخته‌ای، بروز تنش‌های مختلف غیرزیستی در بافت‌های گیاهی است، چرا که افزایش سطح ROS و تنش اکسیداتیو ناشی از آن به عنوان نقطه اشتراک بسیاری از فرایندهای زیست‌شیمیایی مرتبط با تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌باشد (۴۰). در این بین بررسی‌ها نشان می‌دهد که در سال آور درختان میوه در شرایط تنش غیرزیستی ناشی از وجود محصول سنگین می‌باشند (۲۶). بنابراین می‌توان فرضیه تغییر در پروفایل ترکیب‌های زیست‌شیمیایی و آنزیمی مرتبط با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت گیاهی زیتون در زمان گل‌انگیزی و در ارتباط با مقدار محصول (آور یا نیآور بودن درختان) را مطرح و مورد ارزیابی قرار داد. در همین چهارچوب، مطالعه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت برگ و میوه سه رقم زیتون در ارتباط با تناوب باردهی نشان داده است که سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی در سال نیآور به‌صورت معنی‌داری نسبت به سال آور پایین بود و هم‌چنین اختلاف معنی‌داری بین رقم‌های مورد مطالعه وجود داشت (۶).

اگرچه تغییر و تنظیم سطح تولید گونه‌های فعال اکسیژن در بروز واکنش‌های زیست‌شیمیایی و مسیرهای مختلف پیام‌رسانی یاخته‌ای در مراحل گوناگون رشدی گیاهان حائز اهمیت می‌باشد (۵)، اما تولید بیش از حد آن‌ها در شرایط تنش برای پروتئین‌ها، چربی‌ها و نوکلئیک اسید بسیار واکنش‌پذیر و سمی بوده و در نهایت باعث آسیب و مرگ یاخته می‌شود (۱۷). بنابراین گیاهان یک سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی کارآمد برای حفظ مقادیر مطلوب گونه‌های فعال اکسیژن دارند تا از یک سو از اثرهای منفی آن‌ها بر سیستم‌های زیستی خود جلوگیری نمایند و از طرفی از ظرفیت پیام‌رسانی این ملکول‌ها در ارتباط‌های ملکولی و مسیرهای زیست‌شیمیایی مرتبط با فرایندهای مختلف رشد رویشی و زایشی استفاده نمایند. سوپراکسیددیسموتاز، آسکوربات‌پراکسیداز (APX)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز از جمله ترکیب‌های آنزیمی و گلوتاتیون، اسکوربیک اسید، کاروتنوئیدها، توکوفرول‌ها، ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدها از ترکیب‌های غیرآنزیمی موثر در جاروب[۲] ROS می‌باشند (۴۲). هم‌چنین، متابولیسم ترکیب‌های فنولی که بیشتر در کنترل ایزوفرم‌های مختلف آنزیم‌های پلی‌فنول‌اکسیداز و فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز می‌باشد، نقش مهمی در کیفیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارد (۳۳).

در شرایط تناوب باردهی فعالیت بسیاری از فرآیندهای مولکولی و زیست‌شیمیایی مرتبط با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی درونی بین سال آور و نیآور متغیر است. درک کامل و صحیح از این تغییرها در زمان گل‌انگیزی در زیتون، که سرنوشت محصول سال بعد در این زمان رقم می‌خورد، از اهمیت زیادی برخوردار است. بدیهی است که بیشتر فعل و انفعال‌های یاخته‌ای در گیاه بازخورد تفاوت‌ها در سطح DNA و الگوی بیان ژن‌های مربوطه می‌باشد. بر همین اساس فرآیند گل‌انگیزی نیز حاصل بیان ژن‌های تحریک‌کننده و بازدارنده‌ای می‌باشد که متاثر از برخی عوامل درونی یا بیرونی و در یک چهارچوب یکپارچه اتفاق می‌افتد (۲۳). گزارش‌هایی در خصوص فعال‌شدن مسیرهای پیام‌رسانی هورمونی، قندی و سایر مسیرهای ناشناخته احتمالی در زمان گل‌انگیزی درختان میوه و نقش این مسیرها در ایجاد یا عدم ایجاد انگیزش گل برای تولید محصول سال بعد وجود دارد (۲، ۳۸). بر این اساس هدف از مطالعه حاضر درک بیشتر تغییرها در ترکیب‌های زیست‌شیمیایی مرتبط با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و الگوی بیان ژن‌های برخی از آنزیم‌های مرتبط با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و متابولیسم ترکیب‌های فنولی در زمان گل‌انگیزی در ارتباط با الگوی تناوب باردهی درختان زیتون بود. این امر می‌تواند در ادامه مسیر پژوهش‌های علمی، به درک نقش احتمالی سیستم آنتی‌اکسیدانی یاخته در تعامل‌های موجود در مسیرهای پیام‌رسانی هورمونی و قندی منتهی به گل‌انگیزی در زیتون کمک نماید.

۱- Reactive Oxygen Species ۲- Scavenging

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.2.2.5]

مواد و روش‌ها

ماده‌های گیاهی و مختصات جغرافیایی محل اجرای آزمایش

آزمایش حاضر طی دو سال (۱۳۹۶- ۱۳۹۵) روی درختان ۱۲ ساله زیتون رقم کنسروالیا، رقمی با تناوب باردهی شدید (۴)، واقع در باغ کلکسیون ایستگاه تحقیقات زیتون طارم با مختصات جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴۷ دقیقه شمالی و ۴۹ درجه و ۵ دقیقه شرقی، انجام شد. تمامی درختان مورد استفاده در آزمایش حاصل افزایش رویشی به روش قلمه‌گیری از یک همگروه بودند. پنج درخت در شرایط باردهی آور و پنج درخت در شرایط نیآور با وضعیت رشد یکسان و زیر شرایط مدیریتی مشابه انتخاب و در زمان گل انگیزی (مرداد ماه) که همزمان با سخت‌شدن هسته میوه (۱۴) بود، نمونه‌برداری شد. با توجه به اینکه محل اجرای آزمایش مجهز به ایستگاه ثبت داده‌های هواشناسی بود، داده‌های مربوط به دوره اجرای آزمایش دریافت و بررسی شد که بیانگر شرایط محیطی به‌تقریب یکسان یا دستکم عدم بروز شرایط محیطی حاد در طی دو سال اجرای طرح به خصوص در زمان نمونه‌برداری بود (جدول ۱). میانگین عملکرد میوه برای درختان آور و نیآور طی دو سال آزمایش به ترتیب ۶۵/۴۲ و ۷/۳۱ کیلوگرم/درخت ثبت شد. از هر تکرار به میزان کافی نمونه برگ از قسمت میانی شاخه‌های رشد سال جاری (گره‌های پنج و شش از نوک شاخه)، که جوانه‌های کنار آن‌ها مسئول تولید میوه برای سال بعد می‌باشند (۱۹)، جمع‌آوری و پس از تیمار سطحی با اتانول ۷۰ درصد (به منظور شست و شوی نمونه‌ها)، در مجاورت نیتروژن مایع به آزمایشگاه منتقل و در فریزر ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. با توجه به متغیر بودن باردهی روی درخت در سوهای مختلف جغرافیایی (۲۰)، نمونه‌برداری در تمام تکرارها تنها از سمت جنوب شرقی درخت و از ارتفاع ۱/۵ متری درختان انجام شد.

جدول ۱- داده‌های هواشناسی ایستگاه تحقیقات زیتون طارم (محل اجرای آزمایش).

Table 1. Meteorological data in Tarom Olive Research Station (the experiment location).

	دمای هوا (درجه سلسیوس) Air temperature (°C)						رطوبت نسبی هوا (درصد) Relative humidity (%)					
	سالیانه Annually			مردادماه 23 July-22 August			سالیانه Annually			مردادماه 23 July-22 August		
	کمینه Min	بیشینه Max	میانگین Avg	کمینه Min	بیشینه Max	میانگین Avg	کمینه Min	بیشینه Max	میانگین Avg	کمینه Min	بیشینه Max	میانگین Avg
سال ۱۳۹۵ Year 2016	-8.6	43.0	17.2	16.5	40.7	28.8	27.5	100.0	67.2	39.0	70.8	52.7
سال ۱۳۹۶ Year 2017	-7.7	44.6	17.6	18.3	43.3	29.9	22.7	98.9	63.9	31.4	99.0	50.9

اندازه‌گیری ویژگی‌های زیست‌شیمیایی

برای استخراج ترکیب‌های فنولی، ۵۰ میلی‌گرم بافت برگ درون نیتروژن مایع پودر شد و به آن یک میلی‌لیتر حلال متانول- استیک اسید (به نسبت ۸۵:۱۵) اضافه گردید. پس از یک ورتکس کوتاه، ترکیب بالا به مدت ۲۴ ساعت در شرایط تاریکی و دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس لوله‌های آزمایش به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه در دمای خنک سانتریفیوژ شدند. محلول روشناور در لوله‌های متعدد تقسیم و از این عصاره برای اندازه‌گیری محتوای فنول و فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی استفاده شد.

فنول کل به روش واکنش با معرف Folin-Ciocalteu اندازه‌گیری و از گالیک اسید به عنوان استاندارد استفاده گردید (۳۰). نتیجه‌ها بر اساس میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن تر بیان شد. فلاونوئید کل به روش واکنش با $AlCl_3$ انجام و از کوئرستین به عنوان استاندارد استفاده شد (۱۰). نتیجه‌ها بر حسب میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم وزن تر بیان گردید. جهت ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، به روش مهار فعالیت رادیکال آزاد DPPH (۲۹) عمل شد. نتیجه‌های این واکاوی برحسب درصد مهار رادیکال آزاد DPPH بیان شد.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.2.2.5]

استخراج عصاره آنزیمی برای اندازه‌گیری میزان پروتئین محلول کل و سنجش فعالیت آنزیم‌های POD، SOD و PPO، به کمک بافر فسفات‌پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با پی‌اچ ۷ انجام شد. پروتئین محلول کل به روش Bradford (۸) اندازه‌گیری و از سرم آلبومین گاوی (BSA) برای رسم منحنی استاندارد استفاده گردید. در نهایت، محتوای پروتئین محلول کل هر نمونه بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر بیان شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم POD به روش Chance and Maehly (۹) و به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر انجام گردید. مخلوط واکنش شامل ۲۷۵۰ میکرولیتر بافر فسفات‌پتاسیم (pH=7.0)، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول، ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. تغییرهای جذب طی ۱۲۰ ثانیه و در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری و فعالیت آنزیم به صورت میکرمول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

فعالیت آنزیم SOD به روش Giannopolitis and Ries (۱۶) با تغییرهای کمی و به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۲۶۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=7.8)، ۲۰۰ میکرولیتر EDTA ۰/۱ مولار، ۱۰۰ میکرولیتر NBT، ۵۰ میکرولیتر معرف ریبوفلاوین همراه با ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. نتیجه‌های فعالیت این آنزیم بر حسب واحد در میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

فعالیت PPO به روش Fujita و همکاران (۱۵) و به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۷۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار بدون EDTA (pH=7.0)، ۷۵۰ میکرولیتر سوبسترای پیروکاتکول و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. میزان جذب هر ۱۰ ثانیه یک‌بار و به مدت ۱۲۰ ثانیه در شرایط دمایی اتاق و طول موج ۴۲۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت آنزیم بر حسب میکرمول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

برای بررسی فعالیت آنزیم PAL، به ۵۰ میلی‌گرم بافت برگ پودر شده درون نیتروژن مایع یک میلی‌لیتر بافر فسفات‌سدیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=7.0) حاوی ۵٪ پلی‌وینیل‌پلی‌پیرولیدون اضافه و پس از یک ورتکس کوتاه و همگن‌سازی ترکیب، به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ گردید. محلول روشناور به آرامی به میکروتیوپ‌های جدید منتقل و تا استفاده بعدی در فریزر ۸۰°C- نگهداری شد. فعالیت آنزیم PAL به روش Saunders and Mcclure (۲۵) به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۷۵۰ میکرولیتر بافر بورات‌سدیم ۱۰ میلی‌مولار (pH=8.8)، ۷۵۰ میکرولیتر سوبسترای اسیدآمینه ال-فنیل‌آلانین ۵۰ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. از سینامیک اسید برای رسم منحنی استاندارد استفاده و نتیجه‌ها بر حسب میکرومول ترانس سینامیک اسید تولید شده در هر میلی‌گرم پروتئین در مدت یک ساعت بیان گردید.

بررسی الگوی بیان ژن (استخراج RNA کل، ساخت کتابخانه cDNA، طراحی آغازگرها و انجام واکنش RT-qPCR)

استخراج RNA کل از نمونه‌های برگ به کمک RiboExTM Total RNA isolation solution (GeneAll) و بر اساس روش پیشنهادی شرکت سازنده انجام شد. جهت حذف هرگونه آلودگی DNA، نمونه‌های استخراجی با DNaseI تیمار شدند. پس از بررسی کمیت و کیفیت RNA استخراجی به کمک دستگاه نانودراپ (مدل NANODROP 2000 ساخت شرکت Thermo SCIENTIFIC) و ژل آگارز، به کمک HyperscrjptTM RT master mix (GeneAll) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده، ساخت کتابخانه cDNA برای هر یک از نمونه‌ها انجام شد. طراحی جفت آغازگرهای پیش‌رونده و پس‌رونده برای هر یک از ژن‌های کدکننده آنزیم‌های POD، SOD، PAL و PPO به کمک سایت آنلاین (http://primer3.ut.ee/) Primer3 و براساس توالی CDS ژن‌های مورد مطالعه در پایگاه داده NCBI انجام شد. از ژن actin به عنوان ژن کنترل داخلی برای واکنش‌های RT-qPCR استفاده شد (جدول ۲). واکنش PCR برای هر نمونه با دو تکرار تکنیکی و هر واکنش به حجم ۲۰ میکرولیتر شامل نیم میکرولیتر از هر آغازگر پیش‌رونده و پس‌رونده، دو میکرولیتر cDNA، چهار میکرولیتر HOT FIREPol® EvaGreen® qPCR Mix Plus (Solis BioDyne)، و ۱۳ میکرولیتر آب دیونیزه انجام شد. واکنش به کمک دستگاه Rotor-Gene 3000 (Qiagen) و مطابق با برنامه چرخه دمایی به شرح فعال کردن آنزیم Taq به مدت پنج دقیقه و دمای ۹۵ درجه سلسیوس، سپس ۳۵ سیکل شامل سه مرحله واسرشته سازی[۱] در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ ثانیه، اتصال[۲] در

۱- Denaturation ۲- Annealing

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.2.2.5]

دمای ۵۷-۵۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ ثانیه و گسترش[۲]در دمای ۷۲°C به مدت ۱۲ ثانیه صورت گرفت. مرحله ذوب[۲] شامل دامنه تغییر دما از ۵۰ تا ۹۹ درجه سلسیوس بود که در هر پنج ثانیه یک درجه دما افزایش داده شد.

جدول ۲- ویژگی‌های آغازگرهای مورد استفاده در واکنش RT-qPCR مربوط به ژن‌های پراکسیداز (POD)، سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز (PAL)، پلی‌فنول‌اکسیداز (PPO) و ژن خانگی اکتین در بافت برگ زیتون رقم کنسروالیا.

Table 2. Characterization of primers used in the RT-qPCR reaction related to peroxidase (POD), superoxide dismutase (SOD), phenylalanine ammonia-lyase (PAL), polyphenoloxidase (PPO) and actin-housekeeping genes in olive (cv. Conservalia) leaf tissue.

نام ژن Gene name	شماره پایگاه داده GenBank Accession No.	آغازگر پیش‌رونده Forward primer (5`-3`)	آغازگر پس‌رونده Reverse primer (5`-3`)	طول قطعه محصول Amplicon size (bp)	دمای ذوب محصول Amplicon Tm (°C)
POD	JX266209.1	CTCTTCTCACAATTCCAA	TTACCACTCTACAATCCT	147	84.5
Mn-SOD	AF427107.1	GGTCATGTCAATCACTCAA	CACCTTCTGCATTCATTTTC	148	88
PAL	KJ511867.1	TGATTGGGTTATGGAGAGT	TGCTCTTGTTGCTGAATG	193	87.5
PPO	KP968843	CAACTCCCACACAAAACTAA	ACAGTGTCATCATCAGCAA	101	83
actin	AF545569.1	GAATTGCCAGATGGACAGGT	GAACCACCACTGAGGACGAT	188	-

واکاوی آماری

آزمایش در قالب طرح به طور کامل تصادفی اجرا شد و تجزیه آماری داده‌های مزرعه‌ای به کمک نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۲ در قالب تجزیه مرکب در زمان صورت گرفت. تیمارها شامل وضعیت باردهی در دو سطح "آور" و "نیآور" (هر کدام پنج تکرار) و اثر سال (دو سال متوالی) بود. برای مقایسه میانگین داده‌های مزرعه‌ای از روش آزمون کمینه اختلاف معنی‌دار[۳] (LSD) استفاده شد. در مورد داده‌های مولکولی، سطح بیان نسبی ژن‌ها به روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ (۲۱) و به کمک نرم افزار GenEx نسخه ۵ محاسبه و واکاوی‌های آماری این بخش به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ و در قالب آزمون t-Test انجام شد. نمودارهای مربوطه به کمک نرم‌افزار GraphPad Prims 8 نسخه ۶ ترسیم گردید.

نتایج

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که وضعیت باردهی درخت، حالت‌های آور و نیآور، تاثیر معنی‌داری بر مولفه‌های زیست‌شیمیایی ظرفیت آنتی اکسیدانی، میزان فلاونوئید کل و میزان پروتئین محلول ندارد، اما روی میزان فنول کل بافت برگ در سطح احتمال ۱٪ تاثیر معنی‌داری داشت. این در حالی است که اثر سال و اثر متقابل سال و شرایط باردهی بر این مولفه‌ها برای هیچ کدام از ویژگی‌های مورد ارزیابی معنی‌دار نبود. نتیجه‌های آنالیز تجزیه واریانس برای فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد بین سال آور و نیآور برای آنزیم‌های SOD، POD و PAL و عدم وجود تفاوت معنی‌دار از نظر فعالیت آنزیم PPO بین درختان زیتون است. اثر سال و اثر متقابل سال و شرایط باردهی برای آنزیم‌های آنتی اکسیدان نیز در هیچ یک معنی‌دار نبود.

نتیجه‌های مقایسه میانگین برای محتوای فنول کل بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد بین سال آور و نیآور است. بر این اساس، میزان فنول کل در برگ درختان زیتون نیآور حدود دو برابر بیشتر از درختان آور است (۶۹/۰۷±۱/۰و ۰/۸۱±۰/۰۵ میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن تر به ترتیب در سال نیآور و آور) (شکل ۱).

۳- Least Significant Difference ۲- Melting ۲- Extension

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.2.2.5]

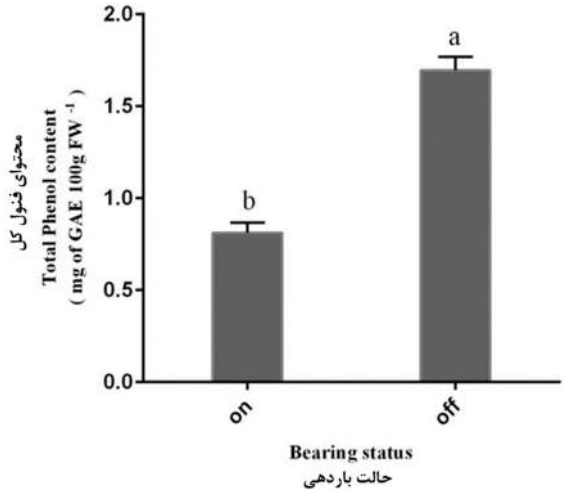


Fig. 1. Two-year average of total phenol content in olive (cv. Conservalia) leaves under alternate bearing status based on LSD ($P \leq 0.01$).

شکل ۱- میانگین دو ساله محتوای فنول کل بافت برگ درختان زیتون رقم کنسروالیا در شرایط تناوب باردهی بر اساس مقایسه میانگین کمینه اختلاف معنی‌دار (LSD) ($P \leq 0.01$).

در حالی که مقایسه میانگین در سطح احتمال یک درصد برای میزان فعالیت آنزیم POD حاکی از فعالیت بیشتر این آنزیم در سال آور (۰/۰۳±۰/۴۶ میکرومول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) نسبت به نیآور (۰/۰۲ ±۰/۲۹ میکرومول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) است (شکلA-۲)، برای آنزیم‌های SOD (۱±/۹۷ ۸۹/۴۹ و ۱/۴۵± ۹۶/۶۸ واحد در میلی‌گرم پروتئین به ترتیب در سال آور و نیآور) (شکل B-۲) و PAL (۱۳±/۸۴ ۵۶۸/۱۵ و ۱۱/۷۸± ۶۳۶/۸۱ میکرومول ترانس اسید سینامیک در میلی‌گرم پروتئین در ساعت به ترتیب در سال آور و نیآور) (شکل ۳) میزان فعالیت به طور معنی‌داری در سال نیآور بیشتر بود.

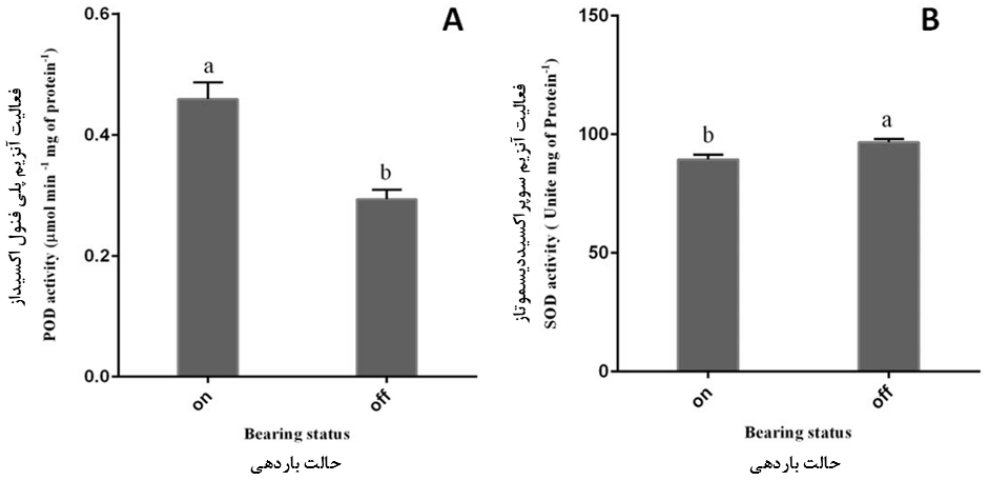


Fig. 2. Two-year average of A; peroxidase (POD) and B; superoxide dismutase (SOD), enzymes activity changes in olive (cv. Conservalia) leaves under alternate bearing status based on LSD ($P \leq 0.01$).

شکل ۲- میانگین دو ساله فعالیت آنزیم‌های A: پراکسیداز (POD) و B: سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، در بافت برگ درختان زیتون رقم کنسروالیا در شرایط تناوب باردهی بر اساس مقایسه میانگین کمینه اختلاف معنی‌دار (LSD) ($P \leq 0.01$).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.2.2.5]

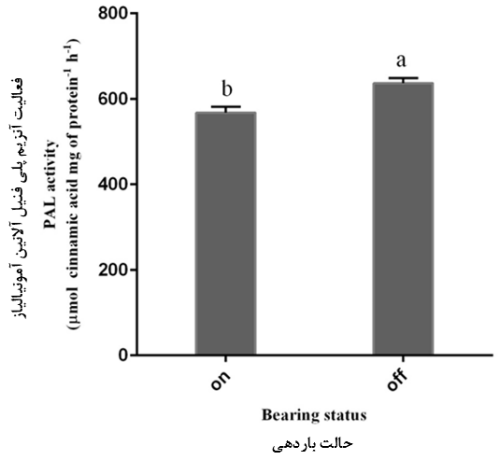


Fig. 3. Two-year average of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) enzyme activity changes in olive (cv. Conservalia) leaves under alternate bearing status based on LSD ($P \leq 0.01$).

شکل ۳- میانگین دو ساله فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز (PAL) در بافت برگ درختان زیتون رقم کنسروالیا در شرایط تناوب باردهی بر اساس مقایسه میانگین کمینه اختلاف معنی‌دار (LSD) ($P \leq 0.01$).

بررسی الگوی بیان نسبی ژن‌های کدکننده آنزیم‌های مورد مطالعه، تفاوت بیان معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد ($p \leq 0.01$) برای ژن‌های POD، PAL و PPO و نیز در سطح احتمال پنج درصد ($p \leq 0.05$) برای ژن SOD را نشان داد. بدین ترتیب که در حالت مقایسه‌ای شرایط باردهی آور نسبت به نیآور، بیان نسبی دو ژن POD و PPO دارای افزایش بود، در حالی که دو ژن SOD و PAL کاهش بیان را نشان دادند (شکل ۴).

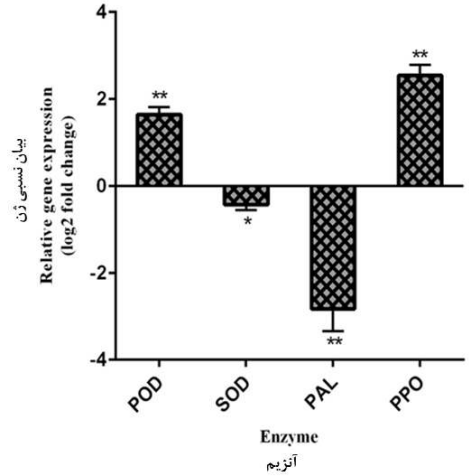


Fig. 4. Relative expression of genes encoding peroxidase (POD), superoxide dismutase (SOD), phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and polyphenol oxidase (PPO) enzymes in olive (cv. Conservalia) leaves under alternate bearing status (ON vs. OFF). * & **, statistical significance at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$, respectively.

شکل ۴- بیان نسبی ژن‌های کدکننده آنزیم‌های پراکسیداز (POD)، سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز (PAL) و پلی‌فنول‌اکسیداز (PPO) در بافت برگ درختان زیتون رقم کنسروالیا در شرایط تناوب باردهی (آور نسبت به نیآور). * و ** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ($P \leq 0.05$) و یک درصد ($P \leq 0.01$).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.2.2.5]

بحث

نتیجه‌های مطالعه حاضر نشان داد که تنها زیر تاثیر وضعیت باردهی، بین برخی مولفه‌های مورد مطالعه تفاوت بیان مشاهده شد. در حالی که سال و اثر متقابل سال و وضعیت باردهی تاثیر معنی‌داری بر هیچ یک از مولفه‌های مورد مطالعه نداشت. با استناد به داده‌های هواشناسی ثبت شده در محل اجرای طرح، علت احتمالی این موضوع شرایط آب و هوایی به‌تقریب یکسان منطقه یا دستکم عدم بروز شرایط حاد طی دو سال اجرای طرح به ویژه در زمان نمونه‌برداری در اوایل مرداد ماه می‌باشد. این در حالی است که نقش شرایط محیطی متغیر و نامساعد در شروع چرخه تناوب باردهی در بررسی‌های پیشین ثابت شده است (۲۰).

مولفه‌های فلاونوئید کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و پروتئین محلول کل در مطالعه حاضر زیر تاثیر وضعیت باردهی قرار نگرفته و تغییرهای معنی‌داری نداشتند. متغیر محتوای فنول کل برگ بین سال آور و نیآور تفاوت معنی‌داری داشته و تغییرهای آن با تغییرهای فعالیت آنزیم PAL همخوانی داشت. همسویی تعییرات میزان فنول کل با فعالیت و بیان ژن PAL، مبنی بر سطوح بالاتر آنها در درختان نیآور، به احتمال به دلیل نقش این آنزیم در مسیر زیست‌ساخت ترکیب‌های فنولی است. نکته قابل توجه در این مورد اینکه بر خلاف انتظار، این رابطه با محتوای فلاونوئید کل برگ برقرار نشد. در حالی که منابع، PAL را یک آنزیم حد واسط بین متابولیسم اولیه و ثانویه معرفی می‌کنند و این آنزیم آغازگر مسیر زیست‌ساخت متابولیت‌هایی مانند فلاونوئیدها، کومارین‌ها، لیگنین، تانن و برخی ترکیب‌های فنولی دیگر شناخته می‌شود (۳۳). این شاید به دلیل هدایت مسیر زیست‌ساخت زیتون به سمت برخی ترکیب‌های ثانویه ویژه در شرایط تناوب باردهی باشد. مقدار فنول کل و ترکیب‌های مختلف فنولی شامل اولئوروپین، هیدروکسی تیروزول و اسید کافیول‌کوئینیک در اندام و زمان‌های مختلف زیتون و در شرایط تناوب باردهی متغیر می‌باشد (۲۴). هم‌چنین، نتیجه مطالعه حاضر درباره میزان فنول کل با نتایج به دست آمده روی زیتون که نشان می‌دهد سطوح فنول کل و برخی ترکیب‌های فنولی مانند کافئیک اسید و کلروژنیک اسید در سال نیآور در زیتون بیشتر است (۲۲)، همخوانی نشان داد.

نتیجه‌های به دست آمده برای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان متفاوت بود. درحالیکه از بین چهار آنزیم مورد مطالعه، میزان فعالیت سه آنزیم POD، SOD و PAL در شرایط باردهی متغیر بود، بیان نسبی ژن‌های هر چهار نوع آنزیم در شرایط باردهی بین سال آور و نیآور تفاوت معنی‌داری را نشان دادند. ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی در محل‌های مختلف یاخته‌های گیاهی قرار گرفته و مقدار و سطح فعالیت هر یک به اندام و نوع تنش بستگی دارد و با همکاری یکدیگر در سم‌زدایی ROS عمل می‌کنند. گیاهان در شرایط تنشی متفاوت استراتژی دفاع آنتی‌اکسیدانی متفاوتی برای کاهش آسیب‌های درونی انتخاب می‌کنند (۱۸). در این بین SOD به عنوان اولین خط دفاعی عمل کرده و $O2^{\bullet-}$ را به H_2O_2 تبدیل می‌کند. آنزیم POD ها کمتر اختصاصی هستند و می‌توانند دامنه گسترده‌ای از ماده‌های زمینه را به عنوان دهنده الکترون استفاده کنند (۳۱). در مطالعه حاضر، فعالیت و بیان نه چندان بیشتر ژن SOD در شرایط باردهی نیآور نسبت به آور را می‌توان اینگونه شرح داد که حضور مقدار کمینه میوه روی درخت در هر دو شرایط باردهی، خط مقدم دفاع آنتی‌اکسیدانی را، که فعالیت آنزیم SOD می‌باشد، فعال می‌کند؛ اما در درختان آور که بار درخت و به تناسب آن شدت تنش شدیدتر می‌شود، فازهای بعدی دفاع آنتی‌اکسیدانی مانند فعالیت POD نیز فعال می‌گردد. شدت تغییرهای بزرگ‌تر فعالیت و بیان ژن POD نسبت به SOD نیز به احتمال به عمومی‌تر بودن ماده‌های زمینه POD مربوط باشد. تفسیر دیگری که می‌توان درباره پایین بودن فعالیت و نیز بیان ژن (های) SOD در درختان آور نسبت به نیآور داشت، وضعیت تغذیه‌ای و توزیع عناصر غذایی بین ساختارهای رویشی و میوه‌های در حال رشد درختان آور می‌باشد؛ به طوریکه عمده اندوخته عناصر غذایی درون گیاه متوجه حفظ و به سرانجام رساندن میوه روی درخت می‌شود (۳۶). در چنین شرایطی به احتمال تامین برخی از عناصر غذایی برای فرایندهای فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی از جمله فعالیت آنزیم SOD، که ایزوفرم‌های مختلف آن عناصر غذایی مثل آهن، مس و روی را به عنوان کوفاکتور خود لازم دارند، محدود شود. دخالت microRNAهای وابسته به عنصر مس در کاهش بیان ژن مسئول ساخت آنزیم Cu/Zn-SOD در گیاه آرابیدوپسیس در پاسخ به کمبود این عنصر غذایی پیش از این گزارش شده است (۱). با تکیه بر نتیجه‌های گزارش بالا

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.2.2.5]

می‌توان احتمال داد که سیستم microRNAای مشابه و وابسته به مقدار عناصر غذایی در ژنتیک گیاه زیتون نیز وجود داشته باشد که زیر تاثیر کمبود برخی عناصر غذایی ناشی از بار سنگین درخت قرار می‌گیرد (۳۷ ، ۴۱).

فعالیت و بیان ژن کمتر مربوط به آنزیم PAL به همراه سطح پایین محتوای فنول کل در درختان آور نسبت به نیآور را می‌توان بر اساس اصل وجود رقابت بین فرایندهای متابولیکی اولیه و ثانویه در شرایط محدودیت دسترسی به عناصر غذایی (۱۳) توضیح داد. بر این اساس، به احتمال محدودیت عناصر غذایی ناشی از بار سنگین درخت (به عنوان سینک قوی)، گیاه را در شرایط انتخاب قرار داده و ساخت و تولید ترکیب‌های فنولی را به نفع سایر متابولیت‌های اولیه مورد نیاز برای رشد میوه‌ها محدودتر نموده است. وجود ارتباط بین سطح فعالیت PAL و محتوای فنول کل با سطح عناصر غذایی قابل دسترس در زیتون گزارش شده است (۱۱). از طرفی، ممکن است فعالیت و بیان ژن بیشتر مربوط به آنزیم PAL در شرایط باردهی نیآور، مربوط به فرآیندهای پس از تنش ناشی از محصول زیاد در سال آور باشد. در تایید این تفسیر، انباشت پروتئین PAL در گیاهان پس از شرایط تنش‌زای غیر زیستی مانند سرما و یخزدگی گزارش شده و این انباشت را به نقش این آنزیم در ترمیم و بهبود آسیب ناشی از چنین تنش‌هایی نسبت داده‌اند (۳۲، ۳۴). در چنین شرایطی می‌توان بخشی از قدرت نمو جوانه‌ها و بهبود گل‌انگیزی برای تولید جوانه بارده برای محصول سال بعد در درختان نیآور (که سال پیش از آن تنش ناشی از باردهی زیاد را تجربه کرده‌اند) به سطح بالای این پروتئین نسبت داد. نتیجه‌های مطالعه روی گونه‌ای نیلوفر (*Ipomoea nil*) نشان داد که PAL از راه تاثیر بر ساخت سالیسیلیک اسید گلدهی را زیر تاثیر قرار می‌دهد (۳۹). به نظر می‌رسد بخشی از تاثیر تنک‌کردن میوه، پیش از سخت شدن هسته (زمان گل‌انگیزی)، بر اصلاح روند تناوب باردهی زیتون (۱۴) ممکن است مربوط به تغییر در متابولیسم ترکیب‌های فنولی باشد که دو آنزیم مهم در این خصوص در مطالعه حاضر مورد بررسی قرار گرفت. البته، در کنار تفاسیر بالا این مطلب نیز قابل تامل است که براساس گزارش علمی موجود تفاوت معنی‌داری در سطوح بیان رونوشت‌های ژن PAL در مرکبات بین سال آور و نیآور مشاهده نشده است (۲۷).

در مطالعه حاضر، برخلاف همسویی نتیجه‌های مربوط به میزان فعالیت و بیان ژن‌های مربوط به سه آنزیم POD، SOD و PAL، چنین همخوانی در مورد آنزیم PPO مشاهد نشد؛ به طوری که با وجود عدم تفاوت معنی‌دار در میزان فعالیت این آنزیم در بین سال‌های آور و نیآور، الگوی بیان ژن (های) مربوطه نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در بروز و ظهور آن‌ها در ارتباط با سطح باردهی درختان بود. این ناهمخوانی به احتمال به دلیل عدم ترجمه توالی(های) ژن بیان شده به پروتئین و یا تغییرهای پس از ترجمه‌ای پروتئین و یا تغییر مسیر به مسیرهای زیست‌ساختی دیگر باشد. در مرحله بعد این ناهمخوانی به احتمال ناشی از تفاوت دقت و حساسیت بین دو نوع سیستم ارزیابی فاکتورهای زیست‌شیمیایی و ملکولی باشد، به طوری که اندازه‌گیری فعالیت آنزیم از حساسیت بالایی در مراحل مختلف آزمایش اعم از تهیه نمونه، نگهداری، حین آزمایش و هم‌چنین کیفیت مواد برخوردار است و بنابراین احتمال وجود خطاهای کوچک وجود دارد؛ در صورتی که بررسی بیان نسبی ژن، در صورت دقت در انتخاب قطعه الگو و طراحی آغازگر، از دقت بسیار بالاتری برخوردار است. بنابراین، چنانچه مبنا را نتیجه‌های بیان ژن قرار دهیم، بیان نسبی بالاتر ژن بیان‌شده در شرایط باردهی آور به احتمال مربوط به درک شرایط تنش ناشی از حضور بار میوه سنگین روی درخت است (۷، ۳۵). وجود رابطه منفی بین محتوای فنول کل و بیان ژن PPO نیز به احتمال مربوط به اکسیداسیون ترکیب‌های فنولی توسط این آنزیم است. همبستگی منفی بین محتوای فنول و فعالیت PPO در زعفران (*Crocus sativus* L.) نیز گزارش شده است (۱۲). هم‌چنین بیان نسبی بالاتر این ژن در شرایط باردهی آور نسبت به نیآور، به احتمال تایید کننده تاثیر منفی این آنزیم بر فرایند گل‌دهی باشد. چرا که وجود همبستگی منفی بین میزان فعالیت PPO و تعداد خوشه در انبه (*Mangifera indica* L.) نیز گزارش شده است (۲۸).

نتیجه‌گیری

به طور کلی، به‌نظر می‌رسد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت برگ درختان زیتون در زمان گل‌انگیزی جوانه‌های جانبی برای تولید محصول سال بعد خیلی زیاد زیر تاثیر حالت باردهی درخت (آور و نیآور بودن) قرار نمی‌گیرد. کاهش میزان فعالیت و بیان ژن (های) آنزیم SOD در درختان آور، که خود این موضوع می‌تواند به خاطر وجود محدودیت عناصر غذایی در اثر رقابت بین اندام‌های رویشی و میوه‌های در حال رشد باشد، با افزایش میزان فعالیت و بیان ژن (های) آنزیم POD جبران شده و

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.2.2.5]

متعادل‌تر می‌شود. به نظر نمی‌رسد که تغییر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در زمان گل‌انگیزی زیتون برای تاثیرگذاری در پدیده پیچیده تناوب باردهی محوریت موضوعی داشته باشد و بیشتر فرایندهای مرتبط با متابولیسم ترکیب‌های فنولی در این زمینه تاثیرگذار باشند. چرا که مقدار این ترکیب‌ها در زمان گل‌انگیزی در درختان نیآور بیش از دو برابر مقدار آن در درختان آور بود.

References منابع

1. Abdel-Ghany, S.E. and M. Pilon. 2008. MicroRNA-mediated systemic down-regulation of copper protein expression in response to low copper availability in Arabidopsis. J. Biol. Chem. 283: 15932-15945.
2. Al-Shdiefat, S.M. and M.M. Qrunfleh. 2008. Alternate bearing of the olive (*Olea europaea* L.) as related to endogenous hormonal content. Int. J. Agr. Sci. 4: 11-25.
3. Apel, K. and H. Hirt. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annu. Rev. Plant Biol. 55: 373-399.
4. Barranco, D., A. Cimato, P. Fiorino, L. Rallo, A. Touzani, C. Castañeda, F. Serafín, and I. Trujillo. 2000. World catalogue of olive varieties. International Olive Oil Council, Madrid.
5. Baxter, A., R. Mittler, and N. Suzuki. 2013. ROS as key players in plant stress signalling. J. Exp. Bot. 65 (5): 1229-1240.
6. Benjeddou, H., C.B. Ahmed, and B.B. Rouina. 2019. Influence of antioxidative enzymes, phytohormones and pigments in alternate bearing of three olive cultivars. Sci. Hort. 253: 17-23.
7. Boeckx, T., R. Webster, A.L. Winters, K.J. Webb, A. Gay, and A.H. Kingston-Smith. 2015. Polyphenol oxidase-mediated protection against oxidative stress is not associated with enhanced photosynthetic efficiency. Ann. Bot. 116: 529-540.
8. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254.
9. Chance, B. and A. Maehly. 1955. Assay of catalases and peroxidases. Methods Enzymol. 2: 764-775.
10. Chang, C.C., M.H. Yang, H.M. Wen, and J.C. Chern. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. J. Food Drug Anal. 10 (3).
11. Dabbaghi, O., M. Tekaya, N. M'barki, S. Ouled ali, S. Öden, M.A. Mezghani, F. Attia, F. Labidi, E. Prinsen, and M. Hammami. 2018. Effect of foliar bio-fertilization on growth and biochemical parameters of olive trees at flowering. J. Plant Nutr. 41: 2281-2297.
12. Esmaeili, N., H. Ebrahimzadeh, and K. Abdi. 2017. Correlation between polyphenol oxidase (PPO) activity and total phenolic contents in *Crocus sativus* L. corms during dormancy and sprouting stages. Pharmacogn. Mag. 13 (3): S519-S524.
13. Fernández-Escobar, R., G. Beltrán, M. Sánchez-Zamora, J. García-Novelo, M. Aguilera, and M. Uceda. 2006. Olive oil quality decreases with nitrogen over-fertilization. HortScience, 41: 215-219.
14. Fernandez-Escobar, R., M. Benlloch, C. Navarro, and G. Martin. 1992 .The time of floral induction in the olive. J. Am. Soc. Hort. Sci. 117: 304-307.
15. Fujita, S., N.b. Saari, M. Maegawa, T. Tetsuka, N. Hayashi, and T. Tono. 1995. Purification and properties of polyphenol oxidase from cabbage (*Brassica oleracea* L.). J. Agric. Food. Chem. 43: 1138-1142.
16. Giannopolitis, C.N. and S.K. Ries. 1977. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. Plant Physiol. 59: 309-314.
17. Gill, S.S. and N. Tuteja. 2010. Polyamines and abiotic stress tolerance in plants. Plant Signal Behav. 5: 26-33.
18. Kanta, C. and I.P. Sharma. *Chapter-7 Antioxidant Defense System in Medicinal Plants against Abiotic Stress*. 145-160.
19. Kitsaki, C.K., E. Andreadis, and D.L. Bouranis. 2010. Developmental events in differentiating floral buds of four olive (*Olea europaea* L.) cultivars during late winter to early spring. Flora. 205: 599-607.
20. Lavee, S. 2007. Biennial bearing in olive (*Olea europaea* L.). Ann. Ser. His. Nat. 17: 101-112.
21. Livak, K. and T .Schmittgen. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. Methods. 25 (4): 402-408.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.2.2.5]

22. Mert, C., E. Barut, and A. Ipek. 2013. Quantitative seasonal changes in the leaf phenolic content related to the alternate-bearing patterns of olive (*Olea europaea* L. cv. Gemlik). J Agr. Sci. Tech. 15 (5): 995-1006.
23. Munoz-Fambuena, N., C. Mesejo, M.C. Gonzalez-Mas, E. Primo-Millo, M. Agustí, and D.J. Iglesias. 2012. Fruit load modulates flowering-related gene expression in buds of alternate-bearing 'Moncada' mandarin. Ann. Bot. 110: 1109-1118.
24. Ryan, D., P.D. Prenzler, S. Lavee, M. Antolovich, and K. Robards. 2003. Quantitative changes in phenolic content during physiological development of the olive (*Olea europaea* L.) cultivar Hardy's Mammoth. J. Agric. Food. Chem. 51: 2532-2538.
25. Saunders, J.A. and J.W. McClure. 1974. The suitability of a quantitative spectrophotometric assay for phenylalanine ammonia-lyase activity in barley, buckwheat, and pea seedlings. Plant Physiol. 54: 412-413.
26. Shalom, L., S. Samuels, N. Zur, L. Shlizerman, A. Doron-Faigenboim, E. Blumwald, and A. Sadka. 2014. Fruit load induces changes in global gene expression and in abscisic acid (ABA) and indole acetic acid (IAA) homeostasis in citrus buds. J. Exp. Bot. 65: 3029-3044.
27. Shalom, L., S. Samuels, N. Zur, L. Shlizerman, H. Zemach, M. Weissberg, R. Ophir, E .Blumwald, and A. Sadka. 2012. Alternate bearing in citrus: changes in the expression of flowering control genes and in global gene expression in on-versus off-crop trees. PLoS One. 7: e46930.
28. Sharma, R.R., C.N. Singh, and A.M. Goswami. 2001. Polyphenol oxidase activity in mango (*Mangifera indica* L.) in relation to flowering behaviour and the malformation incidence. Fruits. 56: 219-224.
29. Shimada, K., K. Fujikawa, and K. Yahara. 1992. Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. J. Agric. Food Chem. 40: 945-948.
30. Singleton, V.L. and J.A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Viticult. 16: 144-158.
31. Sofo, A., B. Dichio, C. Xiloyannis, and A. Masia. 2005. Antioxidant defences in olive trees during drought stress: changes in activity of some antioxidant enzymes. Funct. Plant Biol. 32: 45-53.
32. Solecka, D. and A. Kacperska. 2003. Phenylpropanoid deficiency affects the course of plant acclimation to cold. Physiol. Plant. 119: 253-262.
33. Taiz, L. and E. Zeiger. 2006. *Plant Physiology 4. ed Sinauer Associates Inc*. Sunderland, USA.
34. Teklemariam, T.A. and T.J. Blake. 2004. Phenylalanine ammonia-lyase-induced freezing tolerance in jack pine (*Pinus banksiana*) seedlings treated with low, ambient levels of ultraviolet-B radiation. Physiol. Plant. 122: 244-253.
35. Thipyapong, P., J. Melkonian, D.W. Wolfe ,and J.C. Steffens. 2004. Suppression of polyphenol oxidases increases stress tolerance in tomato. Plant Sci. 167: 693-703.
36. Troncoso, A., J. Garcia, and S. Lavee. 2008. Evaluation of the present information on the mechanisms leading to flower bud induction, evocation and differentiation in Olea europaea. in VI International Symposium on Olive Growing. Acta Hort. 949. 93-98.
37. Turktas, M., B. Inal, S. Okay, E.G. Erkilic, E. Dundar, P. Hernandez, G. Dorado, and T. Unver. 2013. Nutrition metabolism plays an important role in the alternate bearing of the olive tree (*Olea europaea* L.). PloSOne. 8 (3): e59876.
38. Ulger, S., S. Sonmez, M. Karkacier, N. Ertoy, O. Akdesir, and M. Aksu. 2004. Determination of endogenous hormones, sugars and mineral nutrition levels during the induction, initiation and differentiation stage and their effects on flower formation in olive. Plant Growth Regul. 42: 89-95.
39. Wada, K.C., K. Mizuuchi, A. Koshio, K. Kaneko, T. Mitsui, and K. Takeno. 2014. Stress enhances the gene expression and enzyme activity of phenylalanine ammonia-lyase and the endogenous content of salicylic acid to induce flowering in pharbitis. J. Plant Physiol. 171: 895-902.
40. Xie, X., Z. He ,N. Chen, Z. Tang, Q. Wang, and Y. Cai. 2019. The roles of environmental factors in regulation of oxidative stress in plant. Biomed Res. Int. 2019: 1-11.
41. Yanik, H., M. Turktas, E. Dundar, P. Hernandez, G. Dorado, and T. Unver. 2013. Genome-wide identification of alternate bearing-associated microRNAs (miRNAs) in olive (*Olea europaea* L.). BMC Plant Biol. 13:10

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.2.2.5]

42. You, J. and Z. Chan. 2015. ROS regulation during abiotic stress responses in crop plants. Front. Plant Sci. 6: 1092.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.2.2.5]

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 22 (2): 139- 150 (2021)
Research article

Changes in Gene Expression and Activity Pattern of Some Antioxidant Enzymes in Olive Trees (*Olea europaea* L. cv. Conservalia) in Relation to Alternate Bearing

E. Dastkar, A. Soleimani*, H. Jafary, A. Bahari and M. Zeinolabedini[1]

The alternate bearing, severe fluctuation in annual fruit yield, causes a type of abiotic stress in olive trees during ON-year, i.e. the year with high fruit load. Hence, one could assume a hypothesis in variation of leaves antioxidant capacity in this regard. The current study was conducted aimed at assaying this hypothesis through analyzing some antioxidant enzymes activities and their gene expression patterns. For this, leaves samples were collected from 12-year-old olive (cv. Conservalia) trees, both ON- and OFF-type, at flower bud induction phase during two successive years. Among studied criteria such as antioxidant capacity, phenol, flavonoid and total protein contents, the amount of phenol in OFF-trees was substantially higher than ON-trees. The activity of peroxidase (POD), superoxide dismutase (SOD) and phenylalanine ammonia-lyase (PAL) was considerably influenced by bearing status. In comparison to OFF-trees, the activity of the POD enzyme was higher in ON-trees, and the opposite trend was revealed in terms of SOD and PAL activities. The relative gene(s) expression of POD and polyphenol oxidase (PPO) in ON-trees, and SOD and PAL in OFF-trees was significantly high. While the SOD showed downward trends, the POD witnessed an upward pattern in terms of its activity and gene(s) expression profile in ON-trees. In general, the phenolic compounds synthesis and their consumption are the dominant metabolic process in OFF- and ON-trees, respectively.

Keywords: Abiotic stress, Antioxidant capacity, Biannual bearing, *Olea europaea* L. Phenolic compounds.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.2.2.5]

1. Former Ph.D. Student and Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Associate Professor, Department of Plant Protection, Zanjan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Zanjan,, Assistant Professor, Research Institute of Modern Biological Techniques (RIMBT), University of Zanjan, Zanjan and Associate Professor, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran, respectively.
* Corresponding Author, Email: (asoleimani@znu.ac.ir).