مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲۳ شماره ۳ صفحه های ۴۶۳ تا ۴۷۲ (۱۴۰۱)
مقاله پژوهشی

اثر تنش دمای بالا بر فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و الگوی بیان ژن‌های مربوطه در دو رقم زیتون[1]

The Impact of High Temperature Stress on the Activity of Some Antioxidant Enzymes and the Expression Pattern of Relevant Genes in Two Olive Cultivars

سپیده قنبرنژاد، علی سلیمانی*، ابراهیم دستکار و احمد اجنی[2]

چکیده

با توجه به نقش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در کنترل تاثیرات نامطلوب تنش‌های غیرزیستی، اثر تنش دمای بالا بر فعالیت و الگوی بیان ژن‌های برخی از این آنزیم‌ها، در نهال‌های یکساله رقم‌های زیتون دیره و زرد مطالعه شد. پاسخ نهال‌ها پس از انتقال به اتاقک رشد مصنوعی در سه تیمار دمایی ۳۲، ۴۵ و ۳۶ درجه سلسیوس، به‌ترتیب برای مرحله قبل، همزمان و بعد از تنش، به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح به‌طورکامل تصادفی، ارزیابی شد. تحت تنش دمایی، درصد رشد رویشی تجمعی در رقم زرد و تجمع پرولین در بافت برگ رقم دیره بالا بود. در این شرایط، در هر دو رقم میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز (POD) و سوپراکسیددیسموتاز (SOD) افزایش یافت. در مرحله بعد از تنش، تنها در رقم زرد میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) افزایش یافت. تغییر الگوی بیان ژن‌های کدکننده آنزیم‌های POD و SOD، تحت شرایط تنش در هر دو رقم مشابه فعالیت این آنزیم‌ها بود، اما شدت این تغییرها در رقم دیره، در حدود دو برابر بیشتر از رقم زرد بود. الگوی بیان ژن APX تحت تنش و بعد از تنش در هر دو رقم کاهشی بود. در کل، نوسانات بیان ژن و فعالیت آنزیم‌ها در رقم زرد کمتر بوده و این رقم بازیابی فیزیولوژیکی سریع‌تری به دنبال رفع تنش دمایی داشت.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، بیان ژن، تنش دمایی، زیتون.

مقدمه

به‌طور کلی، به گیاهی که تحت تنش دمای بالا توانایی رشد و تولید اقتصادی خوبی داشته باشد، گیاه متحمل به تنش دمایی گفته می‌شود. میزان تحمل در بین ارقام یک گیاه متفاوت بوده و راهکارهای مختلف آنزیمی و تجمع ترکیب‌های اسمزی، در این فرایند دخیل می‌باشد (۳۷). زیتون (*Olea europaea* L.) درختی نیمه‌گرمسیری است که بهترین دمای سالیانه برای رشد و نمو مناسب آن، ۲۵ تا ۲۸ درجه سلسیوس بوده و دماهای بالای ۳۸ درجه سلسیوس، با اثر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی، رشد این گیاه را کاهش می‌دهد (۲۵). طبق گزارش موسسه IPCC[3]، پیش‌بینی شده است که دمای کره زمین در هر ۱۰ سال ۰/۳ درجه سلسیوس افزایش و تا پایان قرن کنونی حدود ۳ درجه سلسیوس افزایش خواهد داشت (۲۰). چنین افزایشی، باعث تاثیرات فیزیولوژیک و رشدی گوناگونی در گونه‌ها و ارقام مختلف گیاهی خواهد شد. در این بین، بررسی تغییرهای شاخص‌های فیزیولوژیک زیتون، با توجه به اهمیت اقتصادی آن برای باغداران، صنایع غذایی و سلامت تغذیه افراد جامعه، از اهمیت فراوانی برخوردار است.

۱- تاریخ دریافت: ۹۹/۹/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۳

۲- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار و دانشجویان پیشین دکتری گروه علوم باغبانی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.
* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (asoleimani@znu.ac.ir).

۳- Intergovernmental Panel on Climate Change

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.4.6]

در گیاه زیتون، بررسی‌های کمی در خصوص تغییرهای زیست‌شیمیایی و الگوی بیان ژن‌ها تحت شرایط تنش دمایی وجود دارد. نتایج تیمارهای دمایی روی نهال‌های سه ساله ارقام مختلف زیتون با دمای اولیه ۲۵ درجه سلسیوس و افزایش ۲ درجه سلسیوس در هر ساعت تا دمای نهایی ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۴ ساعت، نشان داد که میزان تحمل بافت ساقه به تنش دمایی از بافت برگ بیشتر بود، به‌طوری‌که آسیب دما به بافت ساقه و برگ به ترتیب در دماهای ۵۰ و ۴۸ درجه سلسیوس، تعیین و ثبت شد (۲۳). آزمایش دیگر، روی نهال‌های دو ساله زیتون رقم لچینو[1] نشان داد که تحت تنش دمای بالا، میزان متغیرهای فتوسنتزی شامل هدایت روزنه‌ای و میزان فلورسانس کلروفیل در مقایسه با گیاهان شاهد کاهش نشان داد (۱۹).

گیاهان در پاسخ به تنش دمای بالا، مواد فتوسنتزی را برای تولید ترکیب‌های دفاعی از قبیل متابولیت‌های اولیه، ثانویه، آنتی‌اکسیدان‌ها، اسمولیت‌ها و هورمون‌های گیاهی اختصاص می‌دهند، که جهت ترمیم و بهبود وضعیت فیزیولوژیکی آنها ضروری است. پرولین، گلایسین‌بتائین و کربوهیدرات‌های محلول، از متابولیت‌های گیاهی حائز اهمیت بوده که اندازه‌گیری سطح تغییرهای آنها، از شاخص‌های مهم ارزیابی گیاهان در پاسخ به انواع تنش‌های غیرزیستی محسوب می‌شوند (۱۷، ۸).

گیاهان متحمل به تنش دمایی، با سنتز انواع ترکیب‌های آنزیمی آنتی‌اکسیدان شامل آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز و ترکیب‌های غیرآنزیمی، گیاهان را از صدمه گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)[2]حفاظت می‌کنند (۲). افزایش بیان ژن‌ها و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در رفتگری[3] ترکیب‌های ROS از قبیل H_2O_2 و O_2^- موثر بوده و به افزایش ظرفیت تحمل گیاه در طی بروز تنش‌های مختلف از جمله تنش دمایی کمک می‌کند. تولید بیش از حد ROS در شرایط تنش‌زا منجر به اکسیداسیون پروتئین‌ها، لیپیدها، ایجاد اختلال در متابولیسم طبیعی یاخته‌ای، جهش DNA و در نهایت مرگ یاخته‌ای می‌شود (۳۵). مطالعه اثرات تنش دمای بالا بر میزان فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی پلی‌فنول اکسیداز در گیاه هندوانه[4] () نشان داده است که فعالیت این آنزیم در دماهای بالا و در مقایسه با دمای ۲۵ درجه سلسیوس افزایش معنی‌داری داشته است (۲۸). میزان فعالیت و سطح بیان ژن‌های مربوط به آنزیم‌های SOD و POD در پاسخ به تنش دمای بالا در گیاه علف باغی *Dactylis glomerata* L. افزایش معنی‌داری نشان داده است (۳۹).

ارقام متعددی از زیتون در ایستگاه تحقیقات زیتون طارم استان زنجان به منظور ارزیابی سازگاری و برنامه به‌نژادی زیتون کشت شده است. به‌نظر می‌رسد تفاوت‌هایی در واکنش به تنش دمایی در بین این ارقام وجود دارد. به ویژه طبق بررسی‌های اولیه، تفاوت‌های بیشتری در پاسخ به تنش دمایی در شرایط ماه‌های گرم منطقه طارم در بین ارقام زرد و دیره مشاهده شده است. زیتون رقم زرد، رقمی دو منظوره و از ارقام برتر منطقه طارم می‌باشد و به‌صورت گسترده در این منطقه کشت می‌شود. رقم دیره، به تازگی در منطقه دشت دیره شهرستان سرپل ذهاب استان کرمانشاه شناسایی شده و تحت بررسی‌های مزرعه‌ای جهت معرفی رقم، در منطقه کشت شده است (۳۸). آزمایش حاضر به‌منظور بررسی تفاوت در برخی از پاسخ‌های فیزیولوژیکی و ملکولی نهال‌های این دو رقم به تنش دمایی در شرایط دمایی کنترل شده، طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش طی سال ۱۳۹۷ با هدایت دانشگاه زنجان و با همکاری موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج در بخش باغبانی اجرا شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح به‌طورکامل تصادفی، روی نهال‌های یک‌ساله حاصل از قلمه ریشه‌دار شده ارقام زیتون زرد و دیره انجام شد. فاکتور اول رقم (A) در دو سطح رقم‌های زرد و دیره و فاکتور دوم زمان (B) در سه سطح قبل، همزمان و بعد از تنش دمایی با سه تکرار اجرا شد. نهال‌های ریشه‌دار شده به گلدان‌های پلاستیکی سه لیتری با ترکیب خاک، کوکوپیت و پرلیت با نسبت حجمی ۱:۱:۱ منتقل شدند. سپس نهال‌ها آبیاری شده و کوددهی با عناصر پرمصرف و کم‌مصرف ۲۰-۲۰-۲۰ (Grow more, USA) سه بار و با فاصله هر ماه یکبار انجام شد. جهت جلوگیری از تنش خشکی احتمالی و کاهش تبخیر آب، سطح گلدان‌ها با ورقه آلومینیومی پوشانده شدند. گلدان‌ها به اتاقک رشد با شدت نور ۴۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه، ۱۲/۱۲ ساعت فتوپریود روز و شب منتقل شدند. دمای اتاقک رشد در ابتدا به ترتیب روی عدد ۲۶ و ۱۸ درجه سلسیوس روز و شب تنظیم و در ادامه به‌تدریج در طی سه ماه به ترتیب ۳۲ و ۲۴ درجه سلسیوس روز و

۱- Leccino ۲- Reactive oxygen species (ROS) ۳- Scavenging ۴- *Citrulus lanatus* Thomb. cv. Dulc marvilla

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.4.6]

شب افزایش داده شد (۰/۵ درجه سلسیوس در هر هفته). در دوره تنش، دما در طی یک ماه به ترتیب ۴۵ و ۳۷ درجه سلسیوس روز و شب افزایش داده شد. پایان مرحله‌ی تنش با بروز نشانه‌های پژمردگی برگ‌ها در انتهای نوک شاخساره‌ها مشخص شد. پس از آن در مرحله بازیابی رشد، دما در طی چهار روز با شیب نسبتاً تندی به ترتیب ۲۲ و ۳۲ درجه سلسیوس روز و شب کاهش داده شد (۱۶). جهت بررسی ویژگی‌های مورفولوژیکی، زیست‌شیمیایی و بیان ژن، نمونه‌های برگ از گره‌های پنجم و ششم از نوک شاخساره در انتهای هر مرحله دمایی تهیه و در مجاورت نیتروژن مایع، منجمد و به آزمایشگاه بیوتکنولوژی و ژنتیک مولکولی دانشگاه زنجان منتقل شدند. نمونه‌ها تا زمان اندازه‌گیری متغیرهای مورد نظر در فریزر دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

برای اندازه‌گیری رشد طولی تجمعی شاخساره‌ها و تعداد برگ‌ها، گره انتهایی شاخساره‌ها علامت‌گذاری و سپس میزان رشد بوسیله خط‌کش بر حسب سانتی‌متر و تعداد برگ‌های جدید در مراحل مختلف تیمار شمارش شدند. برای سنجش غلظت پرولین برگ از اسید سولفوسالیسیلیک، اسید استیک گلایسال و معرف ناین‌دهیدرین و تولوئن استفاده و میزان جذب رنگی نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICO UV/VIS 2800, USA) در طول موج ۵۲۰ نانومتر ارزیابی و مقدار پرولین (بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر برگ) محاسبه شد (۶).

مقدار H_2O_2 بر اساس واکنش این ملکول با یدید پتاسیم تعیین شد (۱). در این روش ۰/۵ گرم از بافت تازهٔ برگ در TCA ۰/۱ درصد سرد سائیده و عصارهٔ حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲ هزار دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس به ۵۰۰ میکرولیتر از محلول رویی، ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (Ph=۷) و ۲ میلی‌لیتر یدور پتاسیم یک مولار اضافه شد. مخلوط واکنش به مدت یک ساعت در تاریکی در دمای اتاق قرار داده شده، سپس جذب نمونه‌ها در ۳۹۰ نانومتر اندازه‌گیری و از طریق ترسیم منحنی استاندارد، مقدار H_2O_2 بر حسب میکرومول بر گرم بر وزن‌تر محاسبه شد.

برای سنجش فعالیت آنزیم POD، از مخلوط ویژه برای واکنش این آنزیم استفاده شد. این مخلوط شامل ۷۵۰ میکرولیتر پراکسیدهیدروژن ۷۰ میلی‌مولار محلول در فسفات‌پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۷۵۰ میکرولیتر بافر فسفات‌پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۷۵۰ میکرولیتر آب دوبار تقطیر شده و ۷۵۰ میکرولیتر گایاکول ۱۰ میلی‌مولار محلول در آب دوبار تقطیر شده بود. مخلوط واکنش به اضافه ۲۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به کیووت شیشه‌ای منتقل و میزان جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر و طی مدت زمان واکنش ۱۸۰ ثانیه بررسی و مقدار فعالیت آنزیم POD بر حسب واحد بر دقیقه بر گرم وزن‌تر تعیین شد (۱۰).

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم SOD، بافت برگ در هاون و در حضور نیتروژن مایع پودر و عصاره آنزیمی به شرح خلاصه زیر تهیه شد (۲۷). مقدار ۰/۵ گرم پودر در ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار سرد (pH=۷)، حاوی ۰/۵ میلی مول EDTA مخلوط شد. سپس میزان ۰/۵ گرم پودر در ۱۰ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار سرد (pH=۷) حاوی ۰/۵ میلی‌مول اسید آسکوربیک به هم زده شد. مخلوط به دست آمده، با پارچه نرم صاف و محلول حاصل به میکروتیوب‌های ویژه سانتریفیوژ یخچال‌دار منتقل و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سلسیوس و با دور ۲۰ هزار در دقیقه سانتریفیوژ شدند. بعد از این مراحل، قسمت رویی محلول برای سنجش میزان فعالیت آنزیم SOD برداشته شده و میزان جذب نمونه¬ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر بر حسب واحد بر گرم بر وزن‌تر تعیین شد (۲۴). همچنین برای ارزیابی فعالیت آنزیم APX، ۰/۲ گرم از بافت تازه برگ وزن شد و سپس ۴ میلی‌لیتر بافر extraction cold -Ice به آن اضافه و در هاون سرد به‌طورکامل ساییده شده و به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۶ هزار دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس فاز بالایی محلول سانتریفوژ شده به عنوان عصاره پروتئینی برای سنجش فعالیت آنزیمی استفاده شد (۵). در نهایت میزان فعالیت آنزیم APX بر حسب واحد بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد (۲۴).

برای انجام بررسی‌های مولکولی و به‌منظور جداسازی، کمی‌سنجی، تهیه cDNA و qRT-PCR، مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بافت برگی تازه برای جداسازی RNA کل با استفاده از RNeasy Mini Kit (Qiagen) استفاده شد. مقدار پنج میکروگرم از RNase-free DNase (Promega Biotech Iberica, SL. Madrid, Spain) برای حذف آلودگی‌های احتمالی DNA استفاده شد. کمیت و کیفیت سنجی RNA به‌ترتیب بوسیله اسپکتروفتومتر و الکتروفورز ژل افقی انجام شد. نسخه‌برداری معکوس با استفاده از آنزیم رونوشت‌بردار معکوس و با استفاده از آغازگرهای الیگو (dt) (Takara, Inc., Japan) انجام شد. آغازگر ژن‌های مربوط به

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.4.6]

آنزیم‌های SOD و POD و APX بوسیله نرم‌افزار Allel ID 7 و با استفاده توالی‌های حفاظت شده موجود از این ژن‌ها در NCBI طراحی شدند (جدول ۱). از آغازگر ژن خانگی اکتین برای کنترل و استانداردسازی نتایج حاصل از qRT-PCR استفاده شد.

آنالیز PCR ریل تایم توسط سیستم Step One Real-Time PCR (Applied Bio systems, CA, USA) انجام شد. محلول واکنش حاوی یک میکرولیتر از cDNA، پنج میکرولیتر SYBR Green و یک میکرومول جفت آغازگر ویژه بود که با آب دوبار تقطیر به حجم نهایی ده میکرولیتر رسانده شد. محدوده دمایی برای تکثیر به شرح ۹۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۳۰ ثانیه همراه با ۴۰ دور در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به‌مدت پنج ثانیه و ۶۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۳۰ ثانیه تنظیم شد. الکتروفورز قطعات تکثیر یافته در ژل آگارز انجام و اندازه قطعات تعیین شد. منحنی ذوب برای همه نمونه‌ها به صورت تک پیک و نقطه پیک منحنی در محدوده دمای ذوب [1](TM) پیش‌بینی شده برای هر یک از قطعات قرار داشت. برای محاسبه TM هر قطعه از تارنمای برخط https://www.dna.utah.edu/umelt /umelt.html استفاده شد. بیان همه ژن‌ها در مقابل بیان ژن خانگی اکتین استانداردسازی شدند (۳۹).

پژوهش حاضر به‌صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح به‌طورکامل تصادفی و سه تکرار (سه اصله نهال در هر تکرار) و در مجموعً با ۵۴ واحد آزمایشی (نهال‌های یک‌ساله زیتون رقم‌های زرد و دیره) انجام شد. فاکتور اول شامل رقم در دو سطح و فاکتور دوم شامل زمان در سه سطح قبل، هزمان و مرحله بعد از تنش بودند. آنالیز واریانس داده‌ها به کمک نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) انجام و مقایسه میانگین ویژگی‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار میانگین‌های فیشر [2](LSD) انجام شدند.

جدول ۱- توالی آغازگرهای مورد استفاده برای RT-qPCR ژن‌های کدکننده آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و پروتئین اکتین.

Table 1. Primers sequence of the coding genes for SOD, POD and APX enzymes and actin protein which were used for RT-qPCR.

نام ژن Gene name	شماره دسترسی Gene Bank Accession No.	آغازگر رفت Forward primer (5`-3`)	آغازگر برگشت Reverse primer (5`-3`)	اندازه قطعه Band size (bp)
سوپراکسید دیسموتاز (SOD)	AF427107.1	GGTCATGTCAATCACTCAA	CACCTTCTGCATTCATTTTC	148
پراکسیداز (POD)	JX266209.1	CTCTTCTCACAATTCCAA	TTACCACTCTACAATCCT	147
آسکوربات پراکسیداز (APX)	NC_036247	ATTGCTGTTAGGTTGTTGGA	GATTCTGTCTTGTCTGGTCTC	149
آکتین (Actin)	AF545569.1	GAATTGCCAGATGGACAGGT	GAACCACCACTGAGGACGAT	188

نتایج

شاخص‌های رشد رویشی

با توجه به نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها، درصد رشد رویشی تجمعی زیتون رقم زرد نسبت به رقم دیره با اختلاف معنی‌داری زیادتر بود. تفاوت معنی‌داری از نظر رشد در مرحله تنش و دوره برگشت از تنش، مشاهده نشد. همچنین، بیشترین تعداد تجمعی برگ‌های رشد یافته متعلق به رقم زرد بود و در دوره بعد از تنش، نسبت به دوره تنش تفاوت محسوسی بین دو رقم مشاهده نشد (شکل ۱).

۱- Melt Temperature

۲- Least significance differnces

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.4.6]

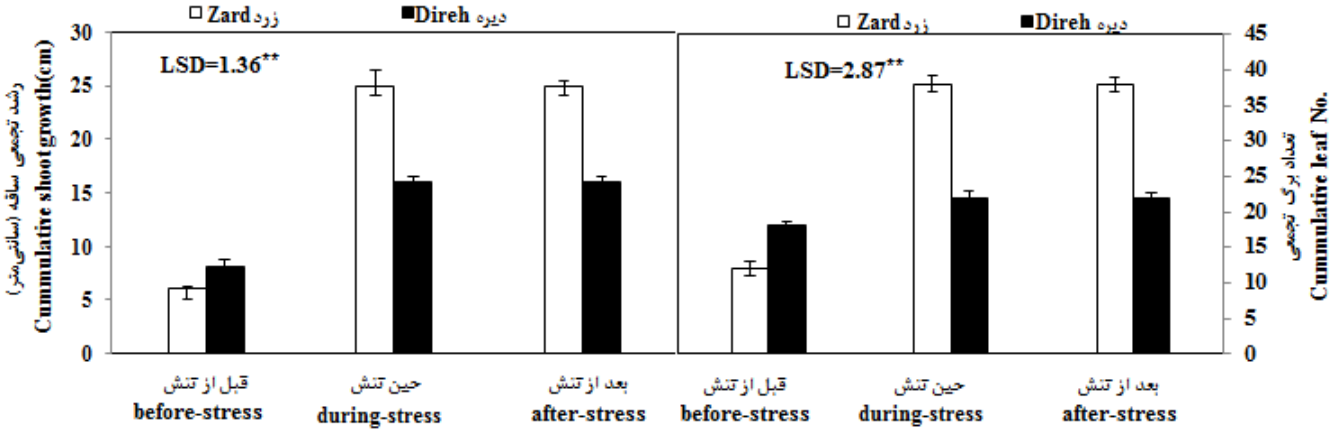

Fig. 1. The effect of high temperature stress on commulative shoot growth and commulative leaf number of olive cultivars 'Zard' and 'Direh' ($P \leq 0.01$).

شکل ۱- تاثیر تنش دمای بالا بر رشد تجمعی ساقه، تعداد تجمعی برگ در زیتون ارقام زرد و دیره ($P \leq 0.01$).

شاخص پرولین و پراکسیدهیدروژن

به موازات افزایش تنش دمایی، میزان پرولین بافت برگ ارقام زیتون نیز افزایش یافت. این افزایش در رقم دیره در حدود دو برابر رقم زرد بود. همچنین در ادامه و در طول دوره بعد از تنش مقدار پرولین کاهش یافت، با اینحال از مقدار آن در سطح شاهد باز هم بالاتر بود (شکل ۲). محتوای گونه فعال اکسیژن H_2O_2 تحت تاثیر تنش دمای بالا در هر دو رقم افزایش یافت، اما مقدار افزایش در رقم دیره بطور معنی‌داری از رقم زرد بیشتر بود. در دوره بعد از تنش دمایی، مقدار فعالیت در هر دو رقم کاهش یافت. با اینحال در این دوره هم مقدار آن در مقایسه با دوره قبل از تنش بیشتر بود (شکل ۲).

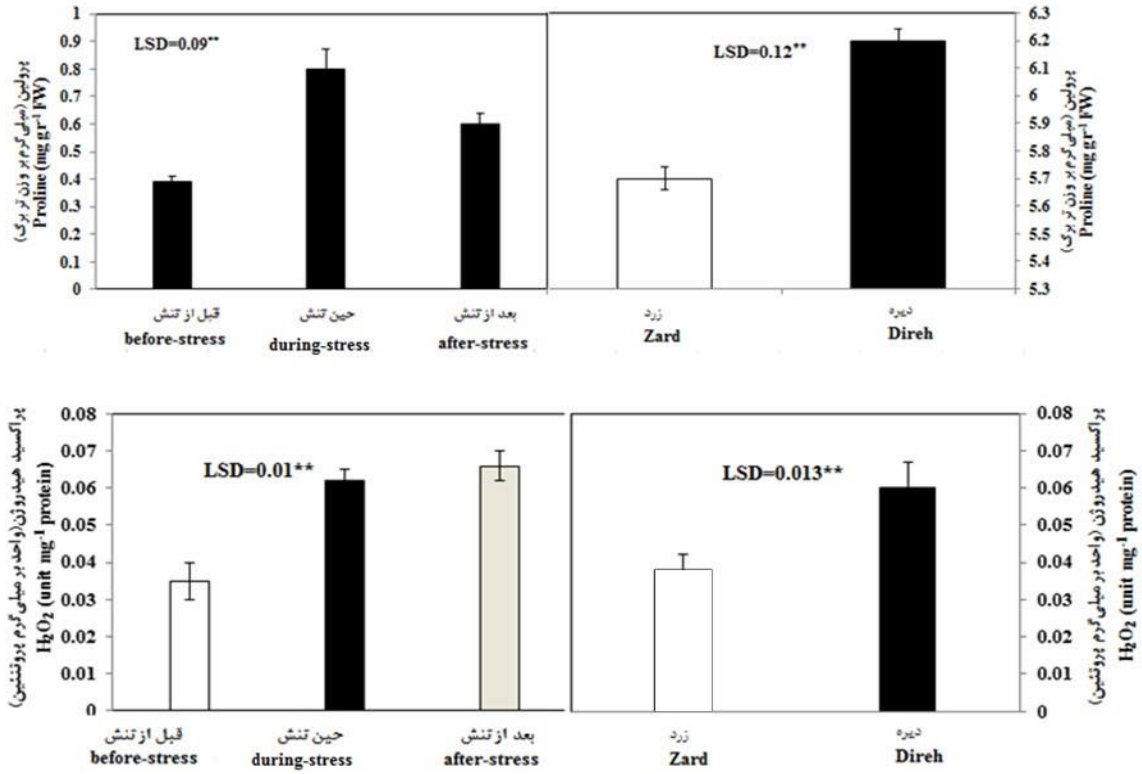

Fig. 2. The effect of high temperature stress and cultivar on proline and hydrogen peroxide (H_2O_2) accumulation in the leaves of olive cultivars 'Zard' and 'Direh' ($p \leq 0.01$).

شکل ۲- تاثیر تنش دمای بالا و رقم بر تجمع پرولین و پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) بافت برگ زیتون رقم‌های زرد و دیره ($p \leq 0.01$).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.4.6]

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت

تنش دمایی باعث افزایش فعالیت آنزیم SOD در بافت برگ هر دو رقم زیتون زرد و دیره نسبت به شاهد شد. مقدار افزایش در رقم دیره نسبت به رقم زرد بیشتر بود. در ادامه و با کاهش دما در دوره بعد از تنش، کاهش فعالیت آنزیم در هر دو رقم، با مقدار کاهش بیشتر در رقم دیره، مشاهد شد (شکل ۳). میزان فعالیت آنزیم POD در رقم زرد تحت تنش دمای بالا و در مقایسه با شاهد، حدود سه برابر و در رقم دیره حدود چهار برابر افزایش یافت. با کاهش دما در مرحله بعد از تنش، در هر دو رقم میزان فعالیت این آنزیم سیرکاهشی داشت (شکل ۳). تنش دمایی تاثیر منفی بر فعالیت آنزیم APX داشته و با افزایش دما میزان فعالیت این آنزیم در هر دو رقم زرد و دیره کاهش یافت. میزان کاهش در رقم زرد با اختلاف معنی‌داری نسبت به رقم دیره بیشتر بود. در مرحله بعد از تنش، علی‌رغم افزایش سطح این آنزیم در رقم زرد، میزان فعالیت آن در رقم دیره به روند کاهشی خود، تا ۵۰٪ سطح شاهد این رقم، ادامه داد (شکل ۳).

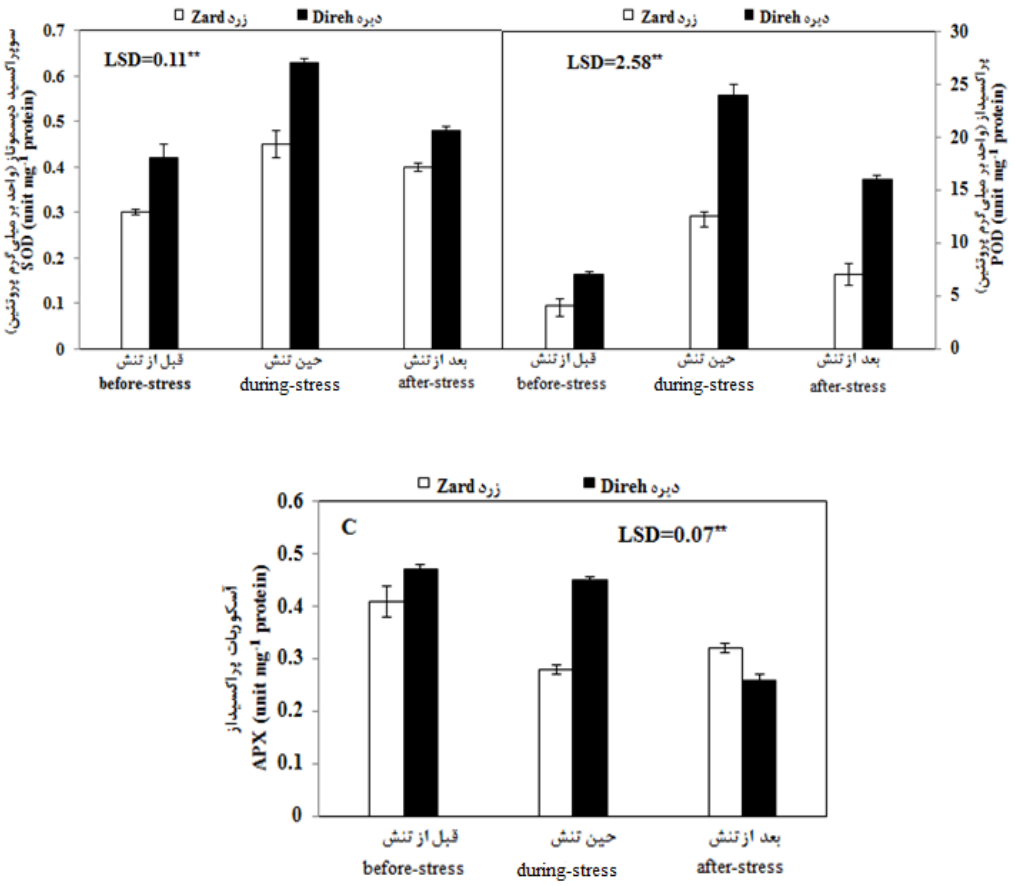

Fig. 3. The effect of high temperature stress on superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and ascorbate peroxidase (APX) enzymes activity in olive leaf, cultivars 'Zard' and 'Direh' ($p \leq 0.01$).

شکل ۳- تاثیر تنش دمای بالا بر میزان فعالیت سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POD) و آسکوربات پراکسیداز (APX) در بافت برگ زیتون ارقام زرد و دیره ($p \leq 0.01$).

الگوی بیان ژن‌ها

نتایج نشان داد که تحت تاثیر دمای بالا، بیان نسبی ژن (های) مربوط به آنزیم POD در هر دو رقم مورد مطالعه به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد (مرحله قبل از تنش) افزایش داشت. این افزایش در رقم دیره بیش از دو برابر رقم زرد بود. در مرحله بعد از تنش، الگوی بیان در رقم دیره در مقایسه با دوره تنش کاهشی بوده، اما در رقم زرد تغییر معنی‌داری نشان نداد (شکل ۴). میزان بیان ژن SOD نیز روندی مشابه آنزیم POD داشته و در هر دو رقم مورد مطالعه در زمان تنش به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد (مرحله قبل تنش) بود. این مقدار در رقم دیره نسبت به زرد بیش از دو برابر بود. همچنین در مرحله

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.4.6]

بعد از تنش، سطح بیان در هر دو رقم در مقایسه با دوره تنش کاهش یافت، با این حال میزان بیان نسبی در رقم دیره بیشتر از رقم زرد بود (شکل ۴). تغییرهای الگوی بیان ژن در مورد آنزیم APX متفاوت از دو آنزیم قبلی بود، به‌طوری‌که، روند تغییرهای بیان این ژن به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد (مرحله قبل تنش)، کاهشی بود. مقایسه سطح بیان ژن(های) مربوط به این آنزیم در دو رقم زیتون نشان داد که در پاسخ به تنش دمایی، کاهش بیان در رقم زرد بیش از رقم دیره بود (شکل ۴).

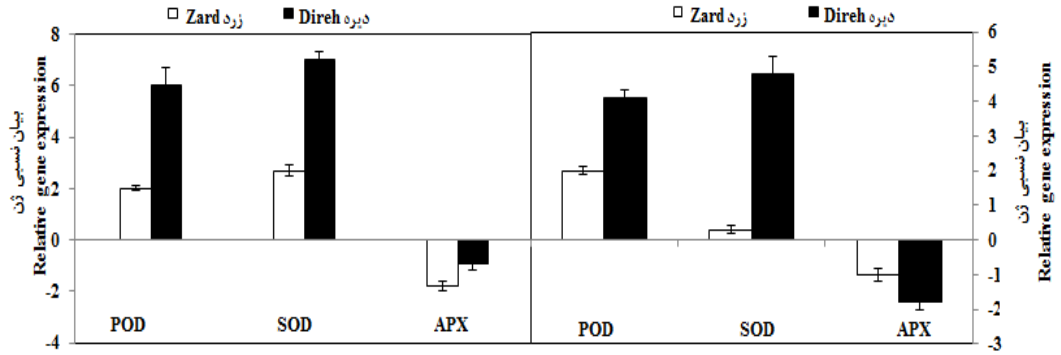

Fig.4. The relative expression of genes related to peroxidase (POD), superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX) enzymes under high temperature stress (left) and after-stress stage (right) in the leaves of olive cultivars 'Zard' and 'Direh' ($p \leq 0.01$).

شکل ۴- بیان نسبی ژن‌های مربوط به آنزیم‌های پراکسیداز (POD)، سوپراکسیددیسموتاز (SOD) و آسکوربات پراکسیداز (APX) تحت تنش دمای بالا (چپ) و مرحله بعد از تنش (راست) در بافت برگ رقم‌های زیتون ارقام زرد و دیره. ($p \leq 0.01$).

بحث

شاخص‌های رشد اندازه‌گیری شده در این مطالعه، رشد تجمعی شاخساره و تعداد برگ، در هر دو رقم در پاسخ به تنش دمای بالا کاهش نشان داد. تنش دمای بالا با اثر منفی روی فرآیند فتوسنتز، باعث سوختگی، پیری برگ و در نهایت کاهش رشد ریشه و ساقه می‌شود (۳۶). تنش دمای ۴۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۲۴ ساعت در دو گونه مرکبات شامل کاریزو سیترنج[۱] و نارنگی کلئوپاترا[۲] و مقایسه آن با تیمار دمای شاهد ۲۵ و ۱۸ درجه سلسیوس (روز و شب) نشان داد که تنش دمای بالا باعث کاهش رشد شاخساره هر دو گونه در مقایسه با گیاهان شاهد شد (۳۷). کاهش در میزان رشد شاخساره‌های برخی ارقام زیتون تحت تنش دمای بالا گزارش شده است (۱۶) که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. بروز دماهای بالا در شرایط طبیعی معمولاً همراه با تنش آبی بوده و درصد رطوبت خاک و هوا در چنین شرایطی پایین می‌باشد. رشد برگ به تنش آب خیلی حساس می‌باشد و تنش ملایم آب می‌تواند از رشد آن جلوگیری کرده و همچنین بر فتوسنتز گیاه تاثیرگذار باشد (۱۹). در گیاهان، تنش دمای بالا به‌طور قابل توجهی باعث کاهش تقسیم یاخته‌ای و در نهایت باعث کاهش رشد می‌شود که بر اندازه و وزن برگ تاثیر می‌گذارد. افزایش دما تا محدوده بهینه هر گیاه باعث افزایش در تعداد گره و برگ شده و با افزایش دما از حد بهینه از تعداد آنها کاسته می‌شود (۱۸). در مطالعه تاثیر سایر تنش‌های غیرزیستی در زیتون نیز، برای مثال تنش خشکی، نتایج نشان داده است که تنش باعث کاهش شاخص‌های رشدی مانند میزان رشد طولی شاخساره و تعداد برگ‌ها از طریق کاهش آماس یاخته‌ای، تقسیم یاخته‌ای و رشد یاخته‌ای در ارقام مختلف می‌شود (۴). این نتایج با یافته‌های این پروژه منطبق بود، با اینحال گزارش‌های زیادی از تاثیر تنش دمایی بر این ویژگی‌ها در ارقام زیتون در منابع علمی موجود نیست.

پرولین به‌عنوان یک عامل اسمزی تحت شرایط انواع تنش مانند خشکی، سرما، شوری، دمای بالا و غیره تولید شده و باعث حفظ سیالیت و یکپارچگی غشاء، ساختار پروتئین‌ها و آنزیم‌ها، جاروبی ترکیب‌های ROS و حفظ ترکیب‌های کربن و نیتروژن برای دوره بعد از تنش در گیاهان می‌شود (۹). در پژوهش حاضر، میزان پرولین بافت برگ ارقام زیتون، با شدت بیشتر در رقم دیره، افزایش یافت. در انطباق با نتایج حاضر، تجمع پرولین در دمای بالا و در پاسخ به تنش دمایی در مرکبات و گندم نیز

۱- Carrizo citrange (*Poncirus trifoliata* L. Raf. × *Citrus sinensis* L. Osb.)

۲- *Cleopatra mandarin* (*Citrus reshni* Hort. Ex Tan)

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.4.6]

گزارش شده است (۳۹، ۱۷). تولید گونه‌های فعال اکسیژن از جمله H_2O_2، در پاسخ به انواع تنش‌های زیستی و غیرزیستی در گیاهان و به خاطر اختلال در فرآیندهای متابولیکی یاخته‌ای و کاهش بازده انتقال انرژی در زنجیره انتقال الکترون افزایش می‌یابد (۳۳). در این پژوهش نیز محتوای گونه فعال اکسیژن H_2O_2 تحت تاثیر تنش دمایی، در هر دو رقم افزایش یافته و با کاهش تنش دما به زیر آستانه تنش، دوباره مقدار آن کاهش یافت. تفاوت در پاسخ رقم از نظر این متغیر زیست‌شیمیایی نیز مورد تایید قرار گرفت، به طوری که مقدار افزایش در زیتون رقم دیره بیشتر از رقم زرد مشاهده شد. به طور کلی مولکول پراکسیدهیدروژن بسیار واکنش‌پذیر بوده و می‌تواند در سراسر غشای یاخته‌ای منتقل و پخش شود. تجمع بیش از این گونه فعال اکسیژن موجب آسیب اکسیداتیو به لیپیدهای غشایی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (۷، ۳۳). گزارش مشابهی در این مورد در گیاه صنوبر و در پاسخ به تنش دمای بالا وجود دارد. به طوری که تولید H_2O_2 در این گیاه پس از شش ساعت قرار گرفتن در تنش دمای بالا تغییر کم و در ادامه و پس از ۱۲ و ۲۴ ساعت، به ترتیب سه و چهار برابر افزایش یافت (۳۲).

یکی از راهکارهای موثر در رفتگری رادیکال‌های آزاد اکسیژن و مولکول‌های پراکسید هیدروژن، حضور و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در بافت‌های گیاهی است. در این بین، آنزیم سوپراکسیددیسموتاز از نخستین ساختارهای دفاع آنزیمی گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو است که باعث تبدیل گونه فعال اکسیژن سوپراکسید ($O_2^{\bullet-}$) به H_2O_2 می‌شود (۱۵). در این پژوهش نیز میزان فعالیت آنزیم SOD و همچنین آنزیم POD، البته با شدت‌های متفاوت بین دو رقم زیتون مورد مطالعه، با بالا رفتن دما افزایش و با پایین آمدن دما کاهش نشان داد. در انطباق با این نتایج، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شامل SOD، POD و APX در گیاه صنوبر[1] تحت تنش دمایی کوتاه مدت و در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش و با افزایش مدت تنش از میزان فعالیت آن‌ها کاسته شد (۳۲). افزایش فعالیت آنزیم POD باعث حفظ یکپارچگی غشای یاخته‌ای و بهبود عملکرد یاخته‌های گیاهی از طریق جاروبی رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود (۳۲). تفاوت در پاسخ ارقام حساس و متحمل گونه‌های گیاهی به تنش دمای بالا از نظر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، برای مثال گیاه چمن (۱۲) و نهال‌های گلابی (۲۱)، در مطالعات دیگر گزارش شده است. گزارشاتی از افزایش فعالیت آنزیم POD در نهال‌های زیتون در پاسخ به تنش خشکی توام با دمای بالا وجود دارند (۳۱، ۱۴). آنزیم APX با استفاده از آسکوربات به عنوان دهنده الکترون در داخل یاخته، گونه فعال اکسیژن H_2O_2 را تخریب و سطح آن را کاهش می‌دهد (۹). میزان فعالیت APX در گونه درخت سیب (*Malus domestica* Borkh.)، در شرایط تنش دمایی کوتاه مدت افزایش یافته و سپس از میزان فعالیت این آنزیم کاسته شد (۲۲). این نتایج با یافته‌های پژوهش حاضر در دوره تنش متضاد و در دوره بعد از تنش مطابقت داشت. تفاوت در گونه گیاهی، سطح و طول دوره تیمار دمایی مختلف و وجود ایزوفروم‌های مختلف آنزیمی می‌تواند از دلایل تضاد نتایج مطالعه حاضر با گزارش موجود در درخت سیب باشد. همچنین کاهش فعالیت و بیان این ژن می‌تواند با سطح پایین اسکوربیک اسید در بافت برگ گیاه زیتون تحت تنش دمایی در ارتباط باشد. به این دلیل که اسکوربیک اسید به عنوان پیش‌نیاز فعالیت آنزیم APX بوده و در مسیرهای متابولیکی دیگر از قبیل چرخه آسکوربات-گلوتاتیون و چرخه محافظت نوری گزانتوفیل[2] هم این آنزیم دارای نقش کلیدی است (۲۹). همین موضوع می‌تواند نقش محوری APX را در جاروبی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در بافت برگ زیتون تحت تنش دمای بالا کمرنگ کند.

ایزوفرم‌های مختلفی از آنزیم پراکسیداز در اندامک‌های مختلف درون‌یاخته‌ای گیاهان از جمله کلروپلاست، سیتوزول، واکوئل، دیواره یاخته‌ای و آپوپلاست وجود دارد که سطوح مختلف آنها متاثر از بیان ژن‌های مربوطه در ارتباط با شرایط زیستی گیاه می‌باشد (۹). مطالعه سطوح بیان ژن POD در درختان زیتون رقم فرانتویو[3] نشان داده که فعالیت این آنزیم طی ۳۵ روز از مرحله گلدهی افزایش و در طی ۱۴۶ روز از مرحله تمام گل،هم‌زمان با دمای بالا در تابستان، کاهش داشت (۱۱). در مورد پاسخ گیاهان دیگر به تنش دمایی نیز الگوی مشابهی گزارش شده است. برای مثال در گیاهان کدو (*Cucurbita maxima* and *Cucurbita moschata*) بررسی‌ها نشان داده‌اند که میزان بیان ژن آنزیم POD در پاسخ به تنش دمای بالا در هر دو اندام ساقه و ریشه افزایش نشان داده است (۳). در مورد هر دو آنزیم پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز، روند تغییرهای میزان سطوح آنزیمی، با تغییرهای بیان نسبی ژن‌های مربوطه همسو بود. آنزیم سوپراکسیددیسموتاز دارای ایزوآنزیم‌های مختلف Cu/ZnSOD در سیتوزول و کلروپلاست، MnSOD در میتوکندری و پراکسی‌زوم و FeSOD عمدتا در کلروپلاست می‌باشد که

۱- *Populus euphratica* ۲- Photoprotective Xanthophyll Cycle ۳- Frantoio

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.4.6]

در شرایط تنش‌های مختلف محیطی از جمله تنش دمای بالا و در واکنش به تولید ترکیب‌های ROS و و جاروبی آنها در گیاهان تولید می‌شوند (۳۰). گزارشی از تاثیر تنش دمایی بر الگوی بیان ژن(های) SOD در زیتون وجود ندارد، اما در گیاه مدل آرابیدوپسیس نتایج نشان داده است که بیان ژن‌های ZnSOD، MnSOD و CuSOD در ۱۰ اکوتیپ مختلف این گیاه در واکنش به تنش دمای ۳۸ درجه سلسیوس افزایش نشان داده است (۱۳) که با نتایج پژوهش کنونی همسویی دارد. در مطالعه حاضر، تغییرهای الگوی بیان ژن در مورد آنزیم APX در مرحله تنش و مرحله بعد از تنش در مقایسه با دمای شاهد روند کاهشی داشته و این کاهش در رقم زرد بیش از رقم دیره بود. تفاوت در میزان بیان ژن(های) مربوطه به آنزیم APX در گونه‌های متحمل و حساس کدو در پاسخ به تنش درجه دمای بالا نیز گزارش شده است (۳) که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت.

نتیجه‌گیری

رشد طولی شاخساره و تولید برگ‌های جدید در مراحل اولیه تنش دمایی (افزایش تدریجی دما) در ارقام مورد مطالعه ادامه داشت. اما در انتهای دوره تنش (دمای بالا) رشد متوقف شده و در مرحله بعد از تنش (بازه زمانی محدود در نظر گرفته شده بین دمای بالای تنش و دمای نسبتاً کم مرحله بعد از تنش) هم تفاوت رشدی مشاهده نشد. رقم زرد بیشترین رشد تجمعی و افزایش تعداد برگ را نسبت به رقم دیره نشان داد. میزان تغییرهای پرولین و سایر متغیرهای زیست‌شیمیایی در رقم دیره با اختلاف معنی‌داری از رقم زرد بیشتر بود. تغییرهای الگوی بیان ژن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مورد مطالعه منطبق با فعالیت آنزیم‌های مربوطه بود و نکته قابل تامل در این خصوص کاهش فعالیت و همچنین کاهش سطح بیان ژن (های) آنزیم APX در مواجهه با تنش دمای بالا بود. در کل، چنین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که رقم دیره بیشتر از رقم زرد تحت تاثیر تنش دمایی قرار گرفته و تغییرهای زیست‌شیمیایی بیشتری را در مواجهه و مقابله با تنش دمای بالا از خود نشان می‌دهد. اگرچه ویژگی‌های مورد بررسی تا حدود زیادی توانستند تفاوت دو رقم را از نظر میزان تحمل به تنش دمای بالا نشان دهند، اما بررسی متغیرهای بیشتر برای غربالگری ارقام، به‌ویژه اگر تعداد ارقام بیشتری مورد بررسی قرار گیرند، می‌تواند بسیار کمک‌کننده باشد. نتایج به دست آمده از این پژوهش می‌تواند به عنوان الگویی کمکی، از نظر تیمارهای دمایی به کار برده شده در اتاقک رشد مصنوعی و ارزیابی متغیرهای مرتبط با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، در پیشبرد برنامه‌های به‌نژادی زیتون و در راستای غربالگری نهال‌های حاصل از تلاقی‌های هدفمند جهت توسعه ارقام متحمل به تنش دمای بالا مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از زحمات دکتر علی‌اصغر زینانلو از موسسه تحقیقات علوم باغبانی و دکتر عباسعلی بهاری از پژوهشکده فناوری‌های نوین زیستی دانشگاه زنجان به‌خاطر حمایت‌های ایشان در انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌نماید.

منابع References

1. Alexieva, V., I. Sergei, S. Mapelli and E. Karanov. 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. Plant Cell Environ. 24: 1337-1344.
2. Apel, K. and H. Hirt. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. Annu. Rev. Plant Biol. 55: 373-399.
3. Ara, N., K. Nakkanong, W. Lv, J. Yang, Z. Hu and M. Zh. 2013. Antioxidant enzymatic activities and gene expression associated with heat tolerance in the stems and roots of two cucurbit speices (*Cucurbita maxima* and *Cucurbita moschata*) and their interspecific inbred line 'Maxchata'. Int. J. Mol. Sci.14: 24008-24028.
4. Arzani, K. and I. Arji. 2000. The effect of water stress and deficit irrigation on young potted olive cv. 'Local-Roghani Roodbar. Acta Hort. 537: 879-85.
5. Neto, A.D., J.T. Prico, J. Eneas-Filho, C.E. Braga de Abreu and E. Gomes-Filho. 2006. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. Environ. Exp. Bot. 56: 235-241.
6. Bates, L.S., R.P. Waldern and I.D. Tear. 1973. Rapid determination of proline for water stress studies. Plant Soil. 39: 205-208.
7. Binert, G.P., A.B. Moller, K.A., Kristiansen, A. Schulz, I.M. Moller, J.K. Schjoerring and T.P. Jahn. 2007. Specific aquaporins facilitate the diffusion of hydrogen peroxide across membranes. J. Biol. Chem. 282: 1183-1192.
8. Bita, C. and T. Gerates. 2013. Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. Front. Plant Sci. 4: 1-18.
9. Blokhina, O., E. Virolainen and K.V. Fagerstedt. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Ann. Bot. 91: 179-194.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.4.6]

10. Chance, B. and A.C. Maehly. 1955. Assay of catalases and peroxidases. Meth. Enzymol. 11: 764-755.
11. Cirilli, M., G. Caruso, C. Gennai, S. Urban, E. Frioni, M. Ruzzi, M. Servili, R. Gucci, E. Poerio and R. Muleo. 2017. The role of polyphenoloxidase, peroxidase and β- Glucosidase in phenolics accumulation in *Olea europaea* L. fruits under different water regimes. Front. Plant Sci. 8: 1-13.
12. Cui, L., J. Li, Y. Fan, S. Xu and Z. Zhang. 2006. High temperature effects on photosynthesis, PSII functionally and antioxidant activity of two *Festuca arundinacea* cultivars with different heat susceptibility. Bot. Studi. 47: 61-69.
13. Filiz, E., I.I. Ozyigit, I.A. Saracoglu, E.M. Uras, U. Sen and B. Yalcin. 2019. Abiotic stress-induced regulation of antioxidant genes in different Arabidopsis ecotypes: microarray data evaluation. Biotechnol. Equip. 33: 128–143.
14. Gholami, R. and M.S. Zahedi. 2019. Identifying superior drought-tolerant olive genotypes and their biochemical and some physiological responses to various irrigation levels. J. Plant Nut. 42: 2057-2069.
15. Gratao, P.L., A. Polle, P.J. Lea and R.A. Azvedo. 2005. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. Funct. Plant Biol. 32: 481-494.
16. Grisafi, F., E. Bonafede, F.F. Vecchia and N. Rascio. 2004. Some morphological, anatomical, physiological responses of different olive cultivars to high temperatures and drought stress. Acta Bot. Gallica. 151: 241-253.
17. Hameed, A., M. Goher and N. Iqbal. 2012. Heat stress-induced cell death, changes in antioxidants, lipid peroxidation and protease activity in wheat leaves. J. Plant Growth Regul. 31: 283-291.
18. Hatfield, J.L. and J.H. Prueger. 2015. Temperature extremes: effect on plant growth and development. Weather Clim. Extrem. 10: 4-10.
19. Haworth, M., G. Marino, C. Brunetti, D. Killi, A. Del Carlo and M. Centritto. 2018. The impact of heat stress and water deficit on the photosynthetic and stomatal physiology of olive (*Olea europaea* L) - a case study of the 2017 heat wave. Plants. 7: 1-13.
20. Fields, B.C., V. Barros, T.F. Stocker, D. Qin, D.J. Dokken, K.L. Ebi and P.M. Midgley. 2012. A special report of working groups I and II of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 582p.
21. Liu, D.F., D. Zhang, G. Liu, S. Hussain and Y.W. Teng. 2013. Influence of heat stress on leaf ultrastructure, photosynthetic performance, and ascorbate peroxidase gene expression of two pear cultivars (*Pyrus pyrifolia*). J. Zhejiang Univ. Sci. B (Biomed & Biotechnol). 14: 1070-1083.
22. Ma, Y.H., F.W. Ma, J.K. Zhang, M.J. Li, Y.H. Wang and D. Liang. 2008. Effects of high temperature and gene expression of enzymes involved in ascorbate-glutathion cycle in apple leaves. Plant Sci. 175: 761-766.
23. Mancuso, S. and E. Azarello. 2002. Heat tolerance in olive. Adv. Hort. Sci. 16: 125-130.
24. Nakano, Y. and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiol. 22: 867-880.
25. Mohammadi, H. and A.A. Zeinanloo. 2008. Modeling the thermal adapability of the olive (*Olea europaea* L.). in Iran. Phys. Geogr. Res. 64: 37-51 (In Persian)
26. Rivero, M.R., M.J. Ruiz, C.P. Garcia, R.L. Lopez-Lefebre, E. Sanchez and L. Romero. 2001. Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. Plant Sci. 160: 315-321.
27. Sairam, R.K., P.S. Deshmukh and D.C. Saxena. 1998. Role of antioxidant systems in wheat genotype tolerance to water stress. Biol. Plant. 41: 387-394.
28. Sharma, P., A.B. Jha, R.S. Dubey and M. Pessarakli. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage and antioxidative defence mechanisms in plants under stressful conditions. J. Bot. 2012: 1-26.
29. Smirnoff, N. 1996. The function and metabolism of ascorbic acid in plants. Ann. Bot. 78: 661-669.
30. Sofo, A., B. Dichio, C. Xiloyannis and A. Msia. 2005. Antioxidant defences in olive trees during drought stress: changes in activity of some antioxidant enzymes. Funct. Plant Biol. 32: 45-53.
31. Song, Y., Q. Chen, D. Ci, X. Shao and D. Zhang. 2014. Effects of high temperature on photosynthesis and related gene expression in poplar. Plant Biol. 14: 1-20.
32. Sreenivasulu, N., K. Ramanjulu, H.S. Ramachandra-Kini, H. Shekar-Shetty, H.S. Savithri and C. Sudhakar. 1999. Total peroxidase activity and peroxidase isoforms as modified by salt stress in two cultivars of fox-tail millet with differential salt tolerance. Plant Sci. 141: 1-9.
33. Van Ruyskensvelde, F.B. and K. Van Der Kelen. 2018. Post-transcriptional regulation of the oxidative stress response in plants. Free Radic. Biol. Med. 122: 181-192.
34. Volkov, R.A., I.I. Panchuk, P.M. Mullineaux and F. Schoffle. 2006. Heat stress-induced H_2O_2 is required for effective expression of heat shock genes in Arabidopsis. Plant Mol. Biol. 61: 733- 746.
35. Vollenweider, P. and M.S. Günthardt-Goerg. 2005. Diagnosis of abiotic and biotic stress factors using the visible symptoms in foliage. Environ. Pollut. 137: 455-465.
36. Wang, W., B. Vinocur, O. Shoseyov and A. Altman. 2004. Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. Trends Plant Sci. 9: 244-252.
37. Zandalinas, S.I., M.R. Rivero, V. Martin, A. Gomez-Cadenas and V. Arbona. 2016. Tolerance of *Citrus* plants to the combination of high temperatures and drought is associated to the increase in transpiration modulated by a reduction in absicic acid levels. BMC Plant Biol. 16: 2-16.
38. Zeinanloo, A.A. 2018. Evaluation and selection of superior olive genotypes with high oil and yield. Iranian J. Hort. Sci. Technol. 19: 171-184. (In Persian)
39. Zhao, X., L.K. Huang, X.Q. Zhang, Z. Li, and Y. Peng. 2014. Effects of heat acclimation on photosynthesis, antioxidant enzyme activities and gene expression in Orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.). Molecules, 19: 13564-13576.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.4.6]

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 23 (3): 463-472 (2022)
Research article

The Impact of High Temperature Stress on the Activity of Some Antioxidant Enzymes and the Expression Pattern of Relevant Genes in Two Olive Cultivars

S. Ghanbarnejad, A. Soleimani*, E. Dastkar and A. Ajenni[1]

Referring to the alleviating role of antioxidant enzymes in various abiotic stresses, the impact of high temperature (heat) stress on the activity of some antioxidant enzymes as well as their gene expression patterns were evaluated in one-year-old olive cultivars “Zard” and “Direh”. For this, potted olive seedlings were transferred to the artificial growth chamber and exposed to three different temperature regimes including 32°C (before-stress), 45°C (during-stress) and 36°C (after-stress) through a completely randomized factorial design. Based on the results, cumulative shoot growth (%) in “Zard”, and proline accumulation in “Direh” were dominant in response to the heat stress. The activity of peroxidase (POD) and superoxide dismutase (SOD) enzymes increased by high temperature stress in both cultivars. In after-stress stage, the activity of ascorbate oxidase (APX) enzyme was soared just in “Zard” in comparison with during-stress stage. The patterns of expression of POD and SOD coding genes were in coordinate with their relevant enzymes activities, though the expression level in cultivar “Direh” was about two times more than in that of “Zard”. With compared to the before-stress stage, the expression of APX gene(s) was down regulated at both during-stress and after-stress stages. Generally, olive cultivars “Zard” showed fewer fluctuations in terms of the studied activities of the antioxidant enzymes and their relevant genes expression patterns. Also, cultivar “Zard” had relatively quick recovery ability from heat stress based on the analyzed traits.

Keywords: Antioxidant enzymes, Gene expression, Heat stress, Olive (*Olea europaea* L.)

1. M.Sc. Student, Associated Professor and former Ph.D Students, Department of Horticulture, University of Zanjan, Zanjan, Iran, respectively.
* Coressponiding author: asoleimani@znu.ac.ir

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.4.6]