فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱، شماره ۲، سال ۱۳۹۱
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۰۴/۱۴
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۱/۰۸/۱۸

بررسی مقاومت دو رقم زیتون به تنش سرما

منصور افشار محمدیان[۱*]، شیوا رضایی[۱]، محمد رمضانی ملک رودی[۲]

[۱] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گیلان، [۲] ایستگاه تحقیقات زیتون رودبار، رشت، گیلان، ایران

چکیده:

زیتون (*Olea europaea* L.) از گیاهان همیشه سبز و بومی نواحی مدیترانه‌ای است. این گیاه متحمل به شوری و خشکی است، اما در دماهای پایین مقاومت کمی دارد. در سال‌های اخیر به علت افزایش تقاضا برای روغن و میوه‌ی زیتون، کاشت درخت زیتون در ایران گسترش یافته است. ارقام مختلف زیتون واکنش‌های متفاوتی نسبت به سرما دارند و بنابراین انتخاب ارقام مقاوم، مؤثرترین روش برای اجتناب از خسارات سرما به شمار می‌رود. بدین منظور برای مقایسه تاثیر تنش سرما بر میزان پروتئین کل، پراکسیداسیون لیپیدی و محتوای کلروفیل دو رقم زیتون (سویلانا و فرانتوئیو)، نهال‌های ۱ ساله، در معرض ۷ دمای ۱۰، ۵، ۰، ۵-، ۱۰-، ۱۵-، ۲۰- و دمای شاهد (۲۰ °C) به تدریج و برای ۱۲ ساعت قرار گرفتند. پس از هر مرحله‌ی دمایی، نمونه برداری از برگ گیاهان انجام شد. نتایج نشان داد که تا دمای صفر، تنش معنی‌داری به نمونه‌ها وارد نشد وهر دو رقم تا این دما مقاومت نشان دادند، اما وقتی دما به زیر صفر رسید، رقم فرانتوئیو حتی تا دمای ۱۵- قادر به حفظ ساختارهای فتوسنتزی خود بود و میزان مالون دی آلدهید نیز در آن افزایش چندانی در مقایسه با شاهد (دمای ۲۰ °C)، نداشت. میزان پروتئین کل در فرانتوئیو از دمای ۱۰- به پایین کاهش معنی‌داری نشان داد، اما در رقم سویلانا این کاهش از دمای ۵- به پایین دیده شد. بنابراین می توان نتیجه گرفت که رقم فرانتوئیو نسبت به سویلانا، رقم مقاوم‌تری نسبت به تنش سرمایی است.

کلمات کلیدی: زیتون، تنش سرمایی، پروتئین کل، پراکسیداسیون لیپیدی، رنگدانه ها

مقدمه:

حدود دو سوم از مساحت زمین‌های جهان، سالانه در معرض دماهای زیر نقطه‌ی یخ زدگی قرار می‌گیرند. به علت افزایش تقاضا برای روغن و میوه‌ی زیتون، در سال های اخیر کاشت درخت زیتون به نواحی فراتر از نواحی معمول گسترش یافته است. همچنین دیده شده است که در مناطقی که در فصل پاییز هوا سردتر است، روغن زیتون با کیفیت بالاتری بدست می‌آید (Palliotti and Bongi, 1996). درخت زیتون از جمله گیاهان همیشه سبز و پایا بوده که در نواحی با آب و هوای گرم و یا معتدل رشد می‌کند. دمای کمتر از ۱۲- درجه سانتی‌گراد می‌تواند آسیب‌های جدی به گیاه وارد کرده و حیات گیاه را مورد تهدید قرار دهد (Larcher, 1970). آسیب ناشی از پدیده‌ی یخ زدگی در دماهای زیر ۷- درجه سانتی‌گراد در زیتون رخ می‌دهد و باعث کاهش تولید محصول آن می شود (Palliotti and Bongi, 1996). یخ زدگی در ابتدا سبب تشکیل بلورهای یخ در آوندهای گیاهان شده و سپس این بلورها به سرعت به همه‌ی قسمت‌های گیاه رسیده، به نواحی بین سلولی نفوذ کرده و باعث ایجاد اختلاف فشار اسمزی در بیرون و درون سلول شده و در

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی:afshar@guilan.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-06-21]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.1.0]

نهایت منجر به نشت آب و پلاسمولیز شدید سلول‌ها می شود. کمبود آب مهمترین تنشی است که سلول‌های یخ زده از آن رنج می‌برند (Wisniewski *et al*, 2003). ژنوتیپ‌های مقاوم به یخ زدگی، به تنش خشکی نیز مقاومت نشان می‌دهند (Chen *et al*, 1975). افزایش غلظت ترکیبات سلولی، رسوب پروتئین، تغییر در نفوذ پذیری غشای سلولی، کاهش حجم سلول و تغییر pH از جمله نتایج مستقیم یخ زدگی سلولی محسوب می‌شوند (Levitt, 1980). البته آسیب ناشی از تشکیل یخ، در مزرعه، به ندرت در سلول‌های گیاهان مقاوم به یخ زدگی رخ می‌دهد (Burke *et al*, 1976). ارقام مختلف زیتون واکنش‌های متفاوتی نسبت به سرما دارند (Barranco *et al*., 2005). انتخاب ارقام مقاوم به سرما، مؤثرترین روش برای اجتناب از خسارات سرما به شمار می‌رود. این مسأله، به‌ویژه در مناطقی مثل ایران که کشت زیتون به سرعت در حال گسترش است، اهمیت ویژه‌ای دارد (Bartolozzi *et al*., 1999). اندام‌های مختلف زیتون مقاومت متفاوتی نسبت به یخ زدگی از خود نشان می‌دهند. طی یک مطالعه، Mancuso (۲۰۰۰)، نشان داد که ریشه و جوانه به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین اندام نسبت به یخ زدگی هستند. ریشه‌ها به دلیل اثر حفاظتی خاک، به ندرت در معرض یخ زدگی قرار می‌گیرند. آسیب برگی به صورت: انقباض و پیچش متقاطع صفحه‌ی برگ به سمت سطح زیرین، ظهور مناطق کلروزه شده در نتیجه‌ی مرگ سلول‌های پارانشیم نردبانی و خشکی جزئی یا کلی همراه با ایجاد رنگ قهوه ای در برگ ایجاد می‌شود (Pezzarossa, 1985; Denney *et al*., 1993). درباره‌ی مکانیسم‌های پاسخ بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در درختان زیتون تحت تنش شدید سرما، برخی مطالعات یک روند افزایشی در غلظت کلی قندهای محلول و پروتئین کل را در طی سازگاری مزرعه‌ای به سرما، در پاییز و زمستان نشان داده‌اند (Bartolozzi *et al*., 1999). سیم‌کش‌زاده و همکاران (۱۳۸۹)، طی پژوهشی به بررسی مقاومت برخی ارقام زیتون به تنش سرما، با استفاده از بررسی آسیب‌های ظاهری و فلورسانس کلروفیل پرداختند و دو دمای ۰ و ۵- درجه سانتی گراد، تنشی به نمونه‌ها وارد نکرده و همه ارقام در این دو دما مقاومت نشان می‌دهند. طی مطالعه‌ای، Palliotti و Bongi (۱۹۹۴)، درختان زیتون را به مدت ۴ هفته در معرض تنش دمای پایین قرار دادند و متوجه شدند که آنها می‌توانند در دماهای بالای دمای صفر درجه سانتی‌گراد مقاومت کنند. طی یک بررسی Gomez-del- Campo و Barranco (۲۰۰۷)، با ارزیابی ۱۰ رقم زیتون به وجود تفاوت‌های زیادی بین ارقام، از لحاظ میزان مقاومت به سرما اشاره کردند. Li و همکاران (۲۰۰۸) پاسخ فیزیولوژیکی ارقام مختلف Croftonweed (*Eupatorium adenophorum*) را در تنش دمای پایین مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از تحقیق آنها نشان داد که میزان مالون دی آلدهید در ارقام مختلف متفاوت بود. بدین ترتیب که در برخی ارقام ابتدا روند کاهشی و سپس افزایشی داشت، اما در پاره‌ای دیگر روند از ابتدا صعودی بود که این موضوع حاکی از متفاوت بودن مقاومت ارقام مختلف به تنش سرما است. سویلانا درخت زیتون زود رشد بومی اسپانیا است که به علت داشتن میوه‌های بسیار بزرگ مشهور بوده و تحت عنوان زیتون ملکه فروخته می‌شود. هسته‌ی میوه‌ی سویلانا (Sevillana) چسبنده و به علت داشتن محتوای روغن پایین، بیشتر برای ترشی استفاده می‌شود. رقم فرانتوئیو (Frantoio)، مورد توجه ترین رقم زیتون در منطقه‌ی توسکانی ایتالیا است. این رقم زود رشد و سازگار به طیف وسیعی از خاک‌ها است و محصول زیتون قابل قبولی تولید می‌کند. سایز میوه‌ی آن متوسط (۲ تا ۳ گرم) و غنی از روغن (۱۸ تا ۲۲ درصد) می‌باشد و کیفیت بسیار مطلوبی دارد و هنگام چیدن، عطر دلپذیری دارد. این رقم خودلقاحی انجام می‌دهد، اما وقتی که توسط رقم

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-06-21]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.1.0]

دیگری لقاح انجام می‌دهد، میوه‌ی فراوان‌تری تولید می کند. از عوامل محدود کننده رشد زیتون در مناطق معتدله و سردسیر، دماهای کم در زمستان و اوایل بهار است (Bartolozzi *et al*., 1999). با توجه به خصوصیات مطلوب ذکر شده از دو رقم فرانتوئیو و سویلانا، هدف این تحقیق بررسی مقاومت این دو رقم در مقابل تنش سرما بود تا رقم مقاوم‌تر جهت استفاده در نواحی سردتر معرفی شود.

مواد و روش‌ها:

در این پژوهش اثر تنش سرما بر روی برگ‌های ۲ رقم زیتون (سویلانا و فرانتوئیو) به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در ۳ تکرار با ۷ تیمار دمایی ۱۰، ۵، ۰، ۵-، ۱۰-، ۱۵- و ۲۰- درجه سانتی‌گراد همراه با شاهد (دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد) در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه گیلان بررسی شد. این نحوه‌ی اعمال تنش، بر طبق روش Cansev و همکاران (۲۰۰۹)، با اندکی تغییرات بود. در این پژوهش از هر رقم تعداد ۶ نهال یک ساله از ایستگاه تحقیقات زیتون شمال کشور واقع در منطقه‌ی رودبار تهیه شد. نهال‌ها ابتدا به مدت ۲ ماه در شرایط گلخانه با متوسط دمای شب و روز به ترتیب ۱۴ و ۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفتند. نهال‌ها سپس جهت اعمال تیمار سرما به اتاقک رشد (Test Chamber) منتقل شدند و تیمار دمایی به ترتیب زیر اعمال شد: پس از انتقال نهال‌ها به اتاقک رشد، ابتدا دما در عرض ۶ ساعت از ۲۰ درجه به ۱۰ درجه سانتی‌گراد رسید و سپس به مدت ۱۲ ساعت در ۱۰ درجه سانتی‌گراد باقی ماند؛ پس از آن دما در طی ۲ ساعت به تدریج به ۵ درجه سانتی‌گراد رسید و دوباره ۱۲ ساعت در این دما باقی ماند. همین روند کاهش دما تا رسیدن به دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد اعمال شد. پس از پایان هر دوره‌ی ۱۲ ساعته، نمونه برداری از برگ گیاهان صورت گرفت و نمونه‌ها به کمک نیتروژن مایع شوک فریز شده و بلافاصله به فریزر ۷۰- منتقل و تا زمان انجام آزمایش‌ها در آنجا نگهداری شدند.

برای سنجش میزان پروتئین کل ابتدا ۰/۱ گرم بافت تازه‌ی برگ به کمک نیتروژن مایع پودر شد و به آن بافر استخراج فسفات اضافه شد. سپس نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور rpm ۱۴۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. بعد از سانتریفیوژ، محلول رویی با دقت برداشته شده به میکروتیوب دیگری انتقال داده و به مدت ۵ دقیقه به روش قبلی مجدا سانتریفیوژ و عصاره‌های تهیه شده، جهت انجام آزمایش سنجش پروتئین کل استفاده شدند. سنجش پروتئین کل، برطبق روش Bradford (۱۹۷۶) و با استفاده از آلبومین سرم گاوی به عنوان استاندارد انجام شد.

اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدی براساس سنجش میزان مالون دی آلدهید با استفاده از روش Heath و Packer (۱۹۶۸) انجام شد. بدین منظور ۰/۵ گرم بافت تازه برگ با ازت مایع پودر شد و به آن ۵ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید (TCA) ۵ درصد اضافه شد. عصاره به دست آمده با سرعت (rpm)۱۲۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس میزان محلول شناور اندازه گرفته و حجم مساوی از محلول TCA ۲۰ درصد حاوی ۰/۵ درصد TBA به آن افزوده شد. مخلوط به مدت ۲۵ دقیقه در۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و بلافاصله در یخ سرد شد. سپس نمونه‌ها برای مدت ۵ دقیقه در (rpm)۷۵۰۰ سانتریفیوژ و پس از اندازه‌گیری میزان جذب در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر، غلظت MDA بر حسب رابطه ی ریر بدست آمد.

$$\text{غلظت MDA} = [(A_{532} - A_{600})] \times 1000$$

برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل $155 mM^{-1}cm^{-1}$ استفاده شد و در نهایت مقدار MDA برحسب میکرومول در گرم وزن تر محاسبه شد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-06-21]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.1.0]

برای سنجش کلروفیل از نمونه‌های برگ بدست آمده از موقعیت میانی برگ کنار رگبرگ اصلی، دیسک برگی با مساحت معین تهیه و با ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی آسیاب شد. عصاره‌ی حاصل به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ (rpm) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. در نهایت عصاره استونی شفاف جدا و حجم آن با استون خالص به ۵ میلی‌لیتر (حجم اولیه) رسانده شد. سپس شدت جذب محلول در طول موج های ۴۷۰، ۶۴۶/۸ و ۶۶۳/۲ با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، در مقابل شاهد قرائت شد و میزان کلروفیل a و b و همچنین کلروفیل کل با استفاده از روابط زیر بدست آمد (Lichtenthaler, 1994).

$$Chl.a = (12.25\ A_{663.2} - 2.79\ A_{646.8}) \times V/A$$
$$Ch1.b = (21.50\ A_{646.8} - 5.1\ A_{663.2}) \times V/A$$
$$Chl.T = Chl.a + Chl.b$$

که در روابط بالا V حجم استون به میلی‌لیتر و A سطح دیسک بر حسب سانتی‌متر مربع می‌باشد. غلظت کلروفیل برحسب میکروگرم در سانتی‌متر مربع سطح برگ بدست آمد.

کلیه‌ی آزمایش‌ها با سه تکرار انجام شد و سپس آنالیزهای آماری مربوطه با استفاده از آزمون دانکن و نرم افزار SAS صورت گرفت. برای رسم نمودارها از برنامه‌ی Excel استفاده شد.

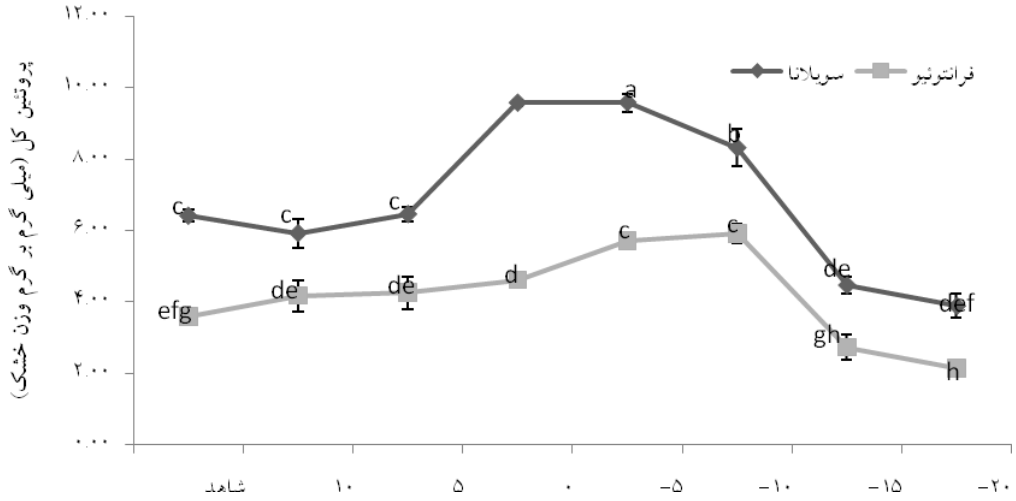
نتایج و بحث:

پروتئین کل:

در هر دو رقم مورد آزمایش، مقدار پروتئین کل در طی تنش سرما به طور معنی‌داری، در مقایسه با تیمار شاهد تغییر نشان داده است (شکل۱). روند تغییرات در ارقام آزمایش شده، تقریبا مشابه بود؛ با این تفاوت که در رقم سویلانا این روند از دمای ۵ تا دمای ۰ درجه‌ی سانتی گراد به‌طور معنی‌داری افزایشی و از دمای ۵- تا ۲۰- به طور معنی‌دار کاهشی بود. اما در رقم فرانتوئیو، روند افزایشی تا دمای ۱۰- حفظ شد و سپس کاهش معنی‌دار مشاهده شد. نظیر همین نتایج، در گیاه سویا نیز گزارش شده است (Zeinali Yadegari *et al*., 2007).

همچنین نتایج این بررسی با نتایج حاصل از بررسی‌های دیگر مطابقت داشت (Li *et al*., 2008). تغییر محتوای پروتئین محلول برای درک تاثیر تنش بر روی پروتئولیز و سنتز پروتئین مهم است (Santos and Caldeira, 1999). در طی تنش، گیاهان متحمل تغییرات فیزیولوژیکی بسیاری شده و ژن های متعددی جهت سازگاری در آنها فعال می شود (Ingram and Bartels, 1996). افزایش غلظت پروتئین در تنش سرما ممکن است حاکی از افزایش فعالیت آنزیم های دفاعی دخیل در استرس اکسیداتیو باشد. تجمع پروتئین بعد از تنش سرما در برگ ممکن است به علت ذخیره پروتئین برای برگشت مجدد به حالت طبیعی باشد (Millard, 1988). کاهش غلظت پروتئین در گیاهان تحت تنش خشکی نیز گزارش شده است (Moren *et al*., 1994; Seel *et al*., 1992). حمله‌ی ROS تولید شده تحت تنش سرما به پروتئین، تولید کربونیل و دیگر آمینواسیدهای تغییر یافته می‌کند (Halliwell and Gutteridge, 1999). این تغییرات منجر به تغییر عملکرد متابولیسم سلول شده و سلول را با مشکل مواجه می‌کند. در هر دو رقم مورد آزمایش روند تغییرات پروتئین کل در ابتدا افزایشی بود و سپس رو به کاهش گذاشت. می‌توان چنین استنباط کرد که گیاه پس از رویارویی با تنش شروع به افزایش بیان ژن‌های دخیل در سنتز آنزیم‌های دفاعی می‌کند. DNA نیز یک هدف اصلی برای ROSهاست که هر آسیبی به تمامیت آن می‌تواند باعث عدم سنتز پروتئین‌هایی که برای عملکرد مناسب گیاه ضروری هستند شود (Mundree *et al*., 2002). نتایج ما نشان داد که پس از افزایش ابتدایی، غلظت پروتئین

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-06-21]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.1.0]



شکل ۱- اثرمتقابل تیمارهای دمایی مختلف بر میزان پروتئین کل برگ ۲ رقم زیتون(میانگین ±SE).

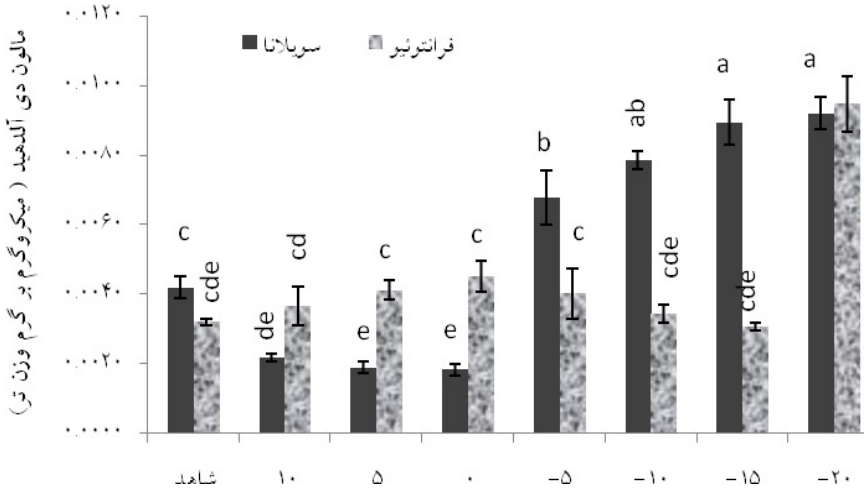
تفاوت‌های معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن با حروف مختلف نشان داده شده است (P<0.05)

سیر نزولی داشت که این کاهش می‌تواند به علت آسیب رادیکال‌های آزاد به ساختارهای سلولی باشد. در این حالت آنزیم‌های دفاعی و نیز ترکیبات آنتی‌اکسیدانی سلولی قادر به مهار آسیب نیستند. با توجه به این که افزایش میزان پروتئین، در رقم فرانتوئیو نسبت به سویلانا تا دمای پایین‌تری ادامه داشته است، بنابراین می‌توان گفت احتمالارقم فرانتوئیو با اتخاذ چنین روشی سعی در مقاومت و سازگاری بیش‌تری نسبت به تنش سرما داشته و مکانیسم‌های مقابله با تنش در آن فعال‌تر بوده است.

سنجش میزان مالون دی آلدهید:

محتوای مالون دی آلدهید در پاسخ به تنش سرما بین دو رقم مورد مطالعه و در تیمارهای مختلف، تفاوت معنی داری نشان داد (شکل ۲)؛ به طوری‌که میزان MDA در رقم سویلانا، تا دمای ۵ و ۰ درجه روند کاهشی و سپس تا دمای ۲۰- به طور معنی‌داری روند افزایشی داشت. در رقم فرانتویئو، MDA در دمای ۱۰- و ۱۵- درجه سانتی گراد، تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت، ولی در دمای ۲۰- ناگهان افزایش شدید و معنی‌داری نشان داد. با این حال همان طور که شکل ۱ نشان می‌دهد، با وجود تفاوت بین دو رقم، مشاهده می‌شود که میزان مالون دی آلدهید با شروع تیمار به تدریج کاهش و ناگهان در دمای خاصی افزایش شدید نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که اثر متقابل رقم و تیمار دمایی در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری داشتند. مشابه با این نتایج توسط Li و همکاران (۲۰۰۸) بدست آمد. یکی از نشانه‌های استرس اکسیداتیو افزایش پراکسیداسیون لیپیدی است. پراکسیداسیون لیپیدی یک فرآیند متابولیکی طبیعی در شرایط هوازی معمول است و یکی از بیشترین موارد بررسی شده در مورد عمل ROSها بر روی ساختار و عملکرد غشا است (Blokhina *et al*., 2003). به علت آن که غشاهای سلولی تمامیت و پایداری تحت شرایط تنش یکی از مهمترین مولفه‌ها در مقاومت گیاه محسوب می‌شود. در سلول‌های گیاهی اکسیژن‌های فعال اغلب در اثر قرار گرفتن گیاه در دماهای پایین ایجاد می‌شوند. در طی سرمازدگی ممکن است در شروع آسیب، شدت تنفس بالا رفته و در نتیجه با

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-06-21]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.1.0]



شکل ۲- اثرمتقابل تیمارهای دمایی مختلف بر میزان مالون دی آلدهید برگ ۲ رقم زیتون(میانگین ±SE).

تفاوت‌های معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن با حروف مختلف نشان داده شده است ($P<0.05$).

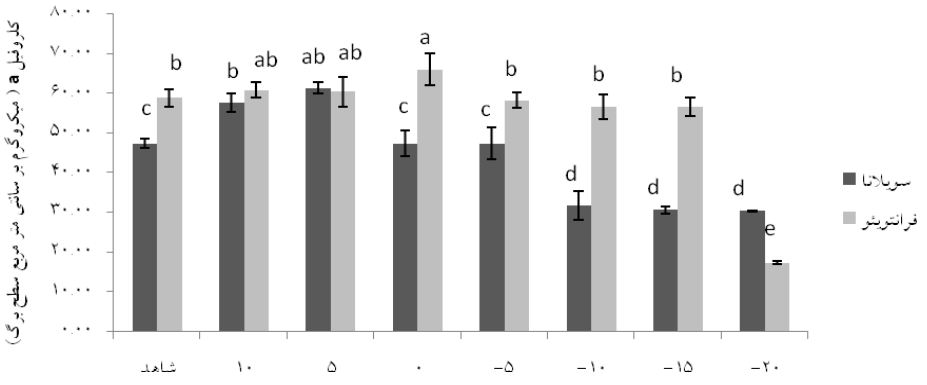
افزایش تنفس، جذب اکسیژن در ساعات اولیه سرما بسیار بالا رود، در حالی که خروج دی اکسید کربن به مقدار کمتری افزایش می‌یابد. به عبارتی در اثر سرمازدگی میزان تنفس بالاتر رفته و سطح اکسیژن زیاد می‌شود (McKersie *et al*., 1988; McKersie, 1991; Hausladen., 1994). سوپراکسید یک اکسنده بسیار قوی است و می‌تواند لیپید ها و اسیدهای چرب غیراشباع را پراکسیده کند که این منجر به خسارت سریع و برگشت ناپذیر غشا می‌شود (Kaniuga *et al*., 1979; Taylor *et al*., 1979). با توجه به نتایج حاصله از این آزمایش و با نظر به این که میزان مالون دی آلدهید که شاخصی از تنش محسوب می‌شود، در رقم فرانتوئیو نسبت به سویلانا در دمای پایین‌تری افزایش ناگهانی داشته‌است، بنابراین می‌توان چنین در نظر گرفت که رقم فرانتوئیو قابلیت مقاومت و سازگاری بیشتری تحت تنش سرما از خود نشان می دهد. غلظت MDA بالاتر در برگ‌های رقم سویلانا نشانه‌های آسیب اکسیداتیو را نمایان می‌کند.

محتوای کلروفیل برگ:

بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش، اختلاف معنی داری در غلظت کروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل بین دو رقم زیتون مورد مطالعه مشاهده شد (شکل ۳، ۴ و ۵).در رقم سویلانا از دمای ۱۰- درجه سانتی‌گراد، کاهش معنی‌داری در مقایسه با گیاهان کنترل دیده شد؛ اما در رقم فرانتوئیو، مشاهده شد که در دماهای ۵-، ۱۰- و ۱۵- میزان کلروفیل کل در مقایسه با گیاهان کنترل کاهش نیافت. نتایج مشابه در گیاه (*Lactuca sativa* L.) تحت تنش سرما (Giannakoula *et al*., 2006) و نیز در دو رقم زیتون و در گیاهان آفتاب‌گردان تحت تنش کم آبی مشاهده شد(Manivannan *et al*., 2007; Guerfel *et al*., 2009).

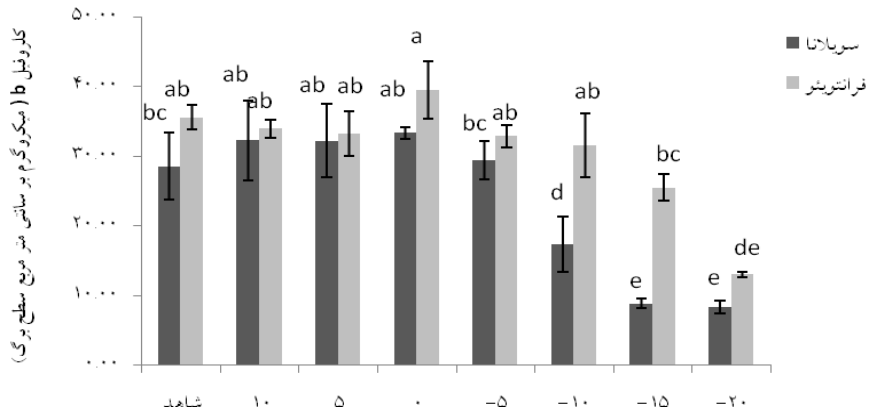
رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان نقش مهمی در به دام انداختن نور برعهده دارند. هر دو کلروفیل a و b نسبت به تنش‌های محیطی حساس می‌باشند (Farooq *et al*., 2009; Anjum *et al*., 2011). همان طور که فتوسنتز تحت تنش سرما کاهش می‌یابد، احیا شدن

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-06-21]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.1.0]



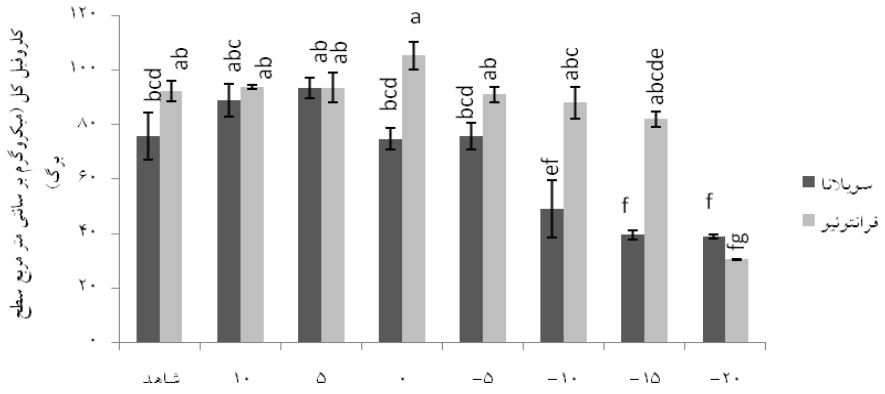
شکل ۳- اثرمتقابل تیمارهای دمایی مختلف بر میزان کلروفیل a برگ ۲ رقم زیتون(میانگین ±SE).

تفاوت‌های معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن با حروف مختلف نشان داده شده است (P<0.05).



شکل ۴- اثرمتقابل تیمارهای دمایی مختلف بر میزان کلروفیل b برگ ۲ رقم زیتون(میانگین ±SE).

تفاوت‌های معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن با حروف مختلف نشان داده شده است (P<0.05).



شکل ۵- اثرمتقابل تیمارهای دمایی مختلف بر میزان کلروفیل کل برگ ۲ رقم زیتون (میانگین ±SE).

تفاوت‌های معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن با حروف مختلف نشان داده شده است (P<0.05).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-06-21]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.1.0]

بیش از حد زنجیره‌ی انتقال الکترون فتوسنتزی منجر به تشکیل ROS شده که ممکن است آسیب اکسیداتیو ایجاد کند. در این آزمایش، برگ‌های تحت تنش سرما نشانه‌های تنش اکسیداتیو را نشان می‌دهند. یکی از این نشانه‌ها کاهش شدید کلروفیل a و کلروفیل کل بود. بر طبق گفته‌ی Ashworth (۱۹۹۳)، کاهش محتوای کلروفیل، یک نشانه‌ی شاخص تنش اکسیداتیو بوده و ممکن است در نتیجه‌ی تخریب کلروفیل و یا در نتیجه‌ی نقص در سنتز کلروفیل همراه با تغییر ساختار غشایی تیلاکوئیدی باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که کاهش فتوسنتز در دو رقم متفاوت بود که می‌تواند به ژنوتیپ متفاوت دو رقم نسبت داده شود. شرایط محیطی از قبیل تنش سرما ممکن است رشد گیاه را نسبت به کاهش سرعت فتوسنتز محدود کند. تحت چنین شرایطی ترکیبات فنلی بیشتری تولید می‌شود (Bryant *et al*., 1983). احتمالا رقم فرانتویئو، به علت دارا بودن مکانیسم‌های دفاعی مقاوم تری در مقایسه با رقم سویلانا، تا دماهای پایین تری قادر به حفظ ساختار کلروفیل خود بوده است. طی مطالعه‌ای Fontanazza (۱۹۸۶) گزارش کرد که با کاهش دمای زمستان کمتر از ۱۰- درجه سانتی‌گراد، بخش‌های هوایی درختان زیتون می‌توانند به درجات متفاوتی آسیب ببینند. گزارشات نشان داده است که در گیاهان نواحی مدیترانه، در شرایط زمستان، با تخریب ساختارهای فتوسنتزی، فرآیند بازدارندگی نوری رخ داده و مقدار فتوسنتز کاهش می‌یابد. مقدار این بازدارندگی، در روزهای سردتر افزایش یافته که همین امر باعث تشدید کاهش فتوسنتز می‌شود Oliveira (and Penuelas, 2000). سیم کش زاده و همکاران (۱۳۸۹)، گزارش کردند که دمای ۰ درجه سانتی‌گراد، تنشی به گیاهان زیتون وارد نمی‌کند که پژوهش ما نیز چنین نتیجه‌ای را تایید کرد.

نتیجه‌گیری:

بررسی اثر متقابل دما و رقم در مقدار تنش وارده به گیاه، نشان دهنده‌ی مقاومت دو رقم زیتون مورد بررسی به سرما تا دمای ۰ درجه سانتی‌گراد بود. آسیب ناشی از سرمازدگی در رقم سویلانا از دمای ۵- درجه سانتی‌گراد شروع شده و در دمای ۱۰- درجه سانتی‌گراد تشدید شد، اما در رقم فرانتوئیو آسیب سرمازدگی از دمای ۱۰- شروع شد در واقع غلظت بالای کلروفیل و پراکسیداسیون لیپیدی کمتر در رقم فرانتوئیو نشان دهنده آسیب کمتر ناشی از تنش اکسیداتیو نسبت به رقم سویلانای تحت تنش سرما است. غلظت MDA بالاتر در برگ‌های رقم سویلانا در مقایسه با گیاهان شاهد، نشانه‌های آسیب اکسیداتیو را نشان می دهد. بنابراین، با وجود این‌که زیتون به عنوان گیاهی نیمه گرمسیری شناخته می‌شود اما، برخی از ارقام زیتون قادر به تحمل دماهای پائین می‌باشند. با توجه به این که رقم فرانتوئیو در مقایسه با رقم سویلانا نشانه‌های آسیب اکسیداتیو کمتری نشان داد، می‌توان نتیجه گرفت که رقم مقاوم‌تری نسبت به تنش سرمایی است. جهت کاهش خسارات ناشی از سرما در مناطقی که با خطر سرمازدگی مواجه هستند، می‌توان از ارقام مقاوم‌تر از جمله فرانتوئیو استفاده کرد. در مجموع، می‌توان بیان کرد که تحمل ارقام نسبت به سرما متفاوت بوده و رقم فرانتوئیو نسبت به سویلانا، دمای ۵- درجه سانتی‌گراد و پائین‌تر را بهتر تحمل می‌کند.

منابع:

سیم کش زاده، ن.، مبلی، م.، اعتمادی، ن. و بانی نسب، ب. (۱۳۸۹) ارزیابی میزان مقاومت به سرما در برخی ارقام زیتون با اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل و آسیب های ظاهری، نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی) ۲: ۱۶۹-۱۶۳.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-06-21]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.1.0]

at chilling temperatures on the function of the photosynthetic apparatus under high and low irradiance in leaves of lettuce (*Lactuca sativa* L.), Proceedings of the 5th WSEAS International Conference on Environment, Ecosystems and Development, Venice, Italy.

Gomez-del- Campo, M. and Barranco, D. (2007) Field evaluation of frost tolerance in 10 olive cultivars. Plant Genetics Resours 3: 385-390.

Guerfel, M., Boujnah, D. and Zarrouk, M. (2009) Photosynthesis parameters and activities of enzymes of oxidative stress in two young 'Chemlali' and 'Chetoui' olive trees under water deficit. Photosynthetica 47: 340-346.

Guerfel, M., Baccouri, O., Boujnah, D., Chaibi, W., and Zarrouk, M. (2009) Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. Science Horticulturae 119: 257-263.

Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. (1999) Free Radicals in Biology and Medicine, 3rd edition. Oxford University Press, Oxford, 936 p.

Hausladen, A. and Alscher, R. G. (1994) Cold-hardiness-specific glutathione reductase isozymes in red spruce. Thermal dependence of kinetic parameters and possible regulatory mechanisms. Plant Physiology 105: 215-223.

Heath, R.L. and Packer, L. (1969). Photoperoxidation in isolated chloroplast.I Kinetics and stochiometry of fatty acid peroxidation. Archves of Biochemistry and Biophysics. 125:189- 198.

Ingram, J. and Bartels, D. (1996). The molecular basis of dehydration tolerance in plants. Annual Review of Plant Physiology 47: 377–403.

Kaniuga, Z., Zabek, J. and Michalski, W. P. (1979) Photosynthetic apparatus in chilling sensitive plants. VI. Cold and dark induced change in superoxide dismutase activity in relation to loose la bound manganese content. Planta 145: 145-150.

Larcher, W. (1970) Okophysiologie der Pflanzen. Oecologia Plantarum 5: 267–286.

Levit, J. (1980) Response of plant to environmental stress; chilling, freezing a hightemperatures. 2nd ed. Vol. 1. Academic, New York.520.

Levitt, J. (1980) Response of plants to environmental stress, Vol. 1, 2nd edn. New York: Academic Press.

Li, H., Qiang, S. and Qian, Y. (2008) Physiological response of different croftonweed (*Eupatorium adenophorum*) populations to low temperature. Weed Science 56:196–202.

Lichtenthaler, K.H. (1994) Chlorophyll and carotenoids pigments of photosynthetic

Anjum, S. A., Xie, X., Wang, L., Saleem, M. F., Man, C. and Lei, W. (2011) Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. African Journal of Agricultural Research 6: 2026-2032.

Ashworth, E.N. (1993) Deep supercooling in woody plant tissues. In: li, ph and christersson, l (eds. Boca Raton, F.L.) 203–213. Advances in Plant Cold Hardiness: CRC Press, Boca Raton, pp 203–213.

Barranco, D., Ruiz, N., and Gomez-del Campo, M. (2005) Frost tolerance of eight olive cultivars. Horticultural Sciences 40: 558-560.

Bartolozzi, F. and Fontanazza, G. (1999) Assessment of frost tolerance in olive (*Olea europaea* L.). Science Horticulturae - Amsterdam 81: 309-319.

Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K.V., 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Annual Biochemistry 91: 179–194.

Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram of protein utilizing of protein– day binding. Annual Biochemistry 72: 248–54.

Bryant, J.P., Chapin, F.S. and Klein, D.R. (1983) Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivore. Oikos 40: 357–368.

Burke, M. J., Gusta, L.V., Quamme. H. A., Weiser. C. J., and Li, P. H. (1976) Freezing and injury in plants. Annual Review of Plant Physiology 27: 507–528.

Cansev, A., Gulen Hand Eris, A. (2009) Cold-hardiness ofolive (Olea europaea L.) cultivars in cold-acclimated and non-acclimated stages: seasonal alteration of antioxidative enzymes and dehydrin-like proteins. Journal of Agricultural Science 147: 51–61

Chen, P., Li, P.H. and Weiser, C.J. (1975) Induction of frost hardiness in red-osiler dogwood stems by water stress. Horticultural Sciences 10: 372–374.

Denney, J.O., Martin, G.C., Kammereck, R., Ketchie, D.O., Connell, J.H., Krueger. W.H., Osgood, J.W., Sibbett, G.S. and Nour, G.A. (1993) Some olives show damage; many, coldhardiness. California Agriculture 47: 2–12.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. AND Basra, S.M.A. (2009) Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development 29: 185-212.

Fontanazza, G. (1986) Rinnovamento dell olivi coltura. Colita da freddo: orientamenti tecnici-In L olivo dopo la gelata. Science Horticulturae Amsterdam. 81: 309-319.

Giannakoula, A., Ilias I., Papastergiou, A. and Hatzigaidas. (2006) The effects of development

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-06-21]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.1.0]

Oliveira, G. and Penuelas, J. (2000) Comparative photochemical and phenomorphological responses towinter stress of an evergreen (*Quercus ilex* L.) and a semi-deciduous (*Cistus albidus* L.) Mediterranean woody species. Acta Oecologica 21: 97-107.

Palliotti, A. and Bongi, G. (1996) Freezing injury in the olive leaf and effects of mefluidide treatment. Journal of American Society for Horticultural Science 71:57-63.

Pezzarossa, B. (1985) Danni da freddo all'olivo nei vivai del pesciantino. Rivista di Frutticoltura 8: 68–70.

Santos, C.V. and Caldeira, G. (1999) Comparative responses of Helianthus annuus plants and calli exposed to NaCl. I. Growth rate and osmotic adjustment in intact plants and calli. Journal of Plant Physiology 155: 769–777.

Seel, W. E., Hendry, G. A. F. and Lee, J. A. (1992) The combined effect of desiccation and irradiance on mosses from xeric and hydric habitats. Journal of Experimental Botany 43: 1023–1030.

Taylor, A. O., Slack, C. R. and McPherson, H. G (1979) Plant under climatic stress.VI. chilling and light effects on photosynthetic enzymes of sorghum and maize. Plant Physiology 54: 696-701.

Wisniewski, M., Carole, B. and Gusta, L.V. (2003) An overview of cold hardiness in woody plants: seeing the forest through the trees. Horticultural Science 38: 952–959.

Zeinali Yadegari, L., Heidari, R. and Carapetian, J. (2007) The Tnfluence of cold acclimatiom on proline, malondialdehyde (9MDA), total protein and pigments in soybean (*glycine max*) seedlings. Journal of Biological Sciences 7: 1436-1441.

biomembrances. Methods in Enzymology. 148: 350–382

Mancuso, S. (2000) Electrical resistance in olive tree. Plant Cell and Environment 23: 291-299

Manivannan, P., Jaleel, C. A., Sankar, B., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Alagu Lakshmanan ,G. M. and Panneerselvam, R. (2007). Growth, biochemical modifications and proline metabolism in Helianthus annuus L. as induced by drought stress. Colloids Surf. B: Biointerfaces 59: 141-149.

McKersie, B.D. (1991) The role of oxygen free radicals in mediating freezing and desiccation stress in plants. In: activ oxygen/oxidative stress and plant metabolism. (Eds. Pell, E. and Steffen, K.) 107-118. American Society of Plant Physiology.

McKersie, B.D., Senaratna, T., Walter, M.A., Kendall, E.J. and Hetherington, P.R. (1988) Deterioration of membranes during aging in plants: Evidence of free radical mediation. In: Senescence and Aging in Plants (Eds L.D. Nooden and A.C. Leopold). 441-464. Academic Press.

Millard, P. (1988) The accumulation and storage of nitrogen by herbaceous plants. Plant Cell and Environment 11:1–8.

Moran, J.F., Becana, M., Iturbe-Ormaetxe, I., Frechilla, S., Klucas, R.V. and Aparicio-Tejo, P. (1994). Drought induces oxidative stress in pea plants. Planta 194: 346–352.

Mundree, S.G., Baker, B., Mowla, S., Peters, S., Marais, S., Willigen, C.V., Govender, K., Maredza, A., Muyanga, S., Farrant, J.M. and Thomson, J.A. (2002) Physiological and molecular insights into drought tolerance. African Journal of Biotechnoly 1: 28–38.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-06-21]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.1.0]

The impact of cold stress on two olive cultivars

[1*]Mansour Afshar Mohammadian, [1]Shiva Rezaei and [2]Mohammd Ramezani Malekroudi
[1] Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Guilan, Iran
[2] Olive Research Station, Rudbar, Guilan, Rasht, Iran
[*]Corresponding Author: afshar@guilan.ac.ir

Abstract:

Olive (*Olea europaea* L.) is an evergreen tree traditionally cultivated in the Mediterranean area, relativelytolerant to salinity and drought conditions. However, olive trees are not so resistant to low temperatures. In recent years, because of high demands for olive oil and its fruit, the cultivation of olive trees has been widly spread in Iran. Different cultivars of olives show diverse reactions to cold stress and so, the selection of cold resistant cultivars is the most effective method to avoid frost damages. In order to compare the impact of cold stress on the content of total protein, lipid peroxidation and photosynthetic pigments, one-years old olive cultivars of Sevillana and Frantoio, were exposed to low temperatures of 10, 5, 0, -5, -10, -15, -20 and the control to 20 °C for 12 h. The results indicated that both cultivars were resistant to 0 °C temperature with no adverse effects. The photosynthetic pigments of Frantoio did not change even at -15 °C and malondialdehyde levels were slightly increased compared with the control (20 °C). Total protein content in Frantoio showed significant decrease below -10 °C, while in Sevillana cultivar there was significant decline of total protein content from -5 °C. Therefore, it could be concluded that the Frantoio cultivar was more resistant to cold stress than Sevillana.

Keywords: cold stress, lipid peroxidation, olive, pigment, protein.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-06-21]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.1.0]