

مقاله پژوهشی

تأثیر هرس بر شاخص‌های فتوسنتزی، صفات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و الگوی بیان برخی ژن‌های دخیل در متابولیسم فنل در زیتون رقم زرد

احمد قلی‌یان^۱، علی سلیمانی^{۲*}، زهرا یوسفی^۳ و اسماعیل فلاحی^۴

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۶/۳۰ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۶)

چکیده

درخت زیتون از محصولات کشاورزی خیلی مهم در ایران می‌باشد. برای افزایش بهره‌وری عملکرد آن، توجه به مسائل مدیریتی درختان از جمله هرس اهمیت فراوانی دارد. به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف هرس بر شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی درختان زیتون رقم زرد، آزمایشی در ایستگاه تحقیقات زیتون رودبار در طی دو سال متوالی (۱۳۹۹-۱۳۹۸) انجام شد. برای این منظور تیمارهای هرس در چهار سطح شاهد (بدون هرس)، کاهش ۱۵، ۳۰ و ۴۵ درصد از حجم تاج پوششی به ترتیب شامل هرس سبک، متوسط و سنگین در بهمن ماه سال اول روی درختان اعمال شد. نتایج نشان داد بیشترین مقدار بیان ژن فنیل-آلانیل‌آمونیا لایاز (PAL) و سطح فعالیت آنزیم مرتبط و کمترین مقدار بیان ژن پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO) و سطح فعالیت آنزیم آن در بافت برگ تحت تیمار هرس متوسط به‌دست آمد. افزایش محتوای فنل کل تحت شدت هرس ۳۰٪، ارتباط مستقیمی با افزایش بیان ژن PAL و فعالیت آنزیم مربوطه داشت. مقدار شاخص فتوسنتز در تیر ماه، هم‌زمان با گل‌انگیزی درختان زیتون در تیمار هرس متوسط و سبک به‌دلیل افزایش بیان ژن روبیسکو بالاتر بود. هرس شدید تأثیر نامطلوب بر فعالیت آنزیم‌های PAL و PPO و همچنین بیان ژن‌های مربوط به این آنزیم‌ها و ژن‌های مربوط به آنزیم روبیسکو نشان داد. به‌طور کلی و با توجه به متغیرهای بررسی شده، بویژه متابولیسم فتوسنتز و ترکیبات فنلی، هرس با کاهش ۳۰ درصد کانوپی، شدت هرس مناسب برای مدیریت باغات زیتون قابل توصیه است.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، روبیسکو، زیتون، فنیل‌آلانیل‌آمونیا لایاز

۱- کارشناس ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

۲- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

۳- استادیار گروه تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گیلان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.

۴- استاد مرکز تحقیقات و توسعه پارما، دانشگاه آیداهو، آمریکا.

* پست الکترونیک: asoleimani@znu.ac.ir

مقدمه

زیتون با نام علمی *Olea europaea* L. متعلق به خانواده Oleaceae، یک گیاه همیشه‌سبز و با اهمیت اقتصادی در مناطق مدیترانه‌ای می‌باشد. میوه و روغن زیتون یکی از محصولات مهم از نظر سلامت تغذیه، اقتصاد باغداران و صنعت باغبانی کشور بوده و از اقلام مهم صادراتی-وارداتی کشاورزی می‌باشد. در سال‌های گذشته به دلیل افزایش تقاضا برای میوه و روغن زیتون، کاشت این درخت در اکثر نقاط ایران افزایش یافته است (محمدیان و همکاران، ۱۳۹۱). بیشتر باغ‌های اقتصادی زیتون ایران از رقم زرد تشکیل شده که رقمی دو منظوره بوده و به منظور کنسروسازی و روغن‌کشی کشت می‌شود (هاشم‌پور^۱ و همکاران، ۲۰۱۰).

درخت زیتون در شرایط مناسب سال‌ها ادامه حیات و محصول می‌دهد و برای بهره‌برداری مناسب در طی این عمر طولانی توجه کافی به مسائل مدیریتی باغ و درختان اهمیت فراوانی دارد. مشابه با درختان میوه دیگر در زیتون نیز با افزایش سن درخت، مقدار تولید بافت آوند چوب به تدریج بیشتر شده و در نتیجه نسبت برگ به چوب کاهش می‌یابد. این مسئله باعث کاهش عملکرد، تشدید سال‌آوری و کاهش کیفیت میوه خواهد شد (یوسفی و همکاران، ۱۳۹۷). در بین عوامل مدیریتی درختان، هرس، تغذیه، آبیاری، کنترل آفات و بیماری‌ها از جمله عوامل موثر در افزایش کمیت و کیفیت محصولات تولیدی مختلف از جمله میوه و روغن زیتون هستند (لاوی^۲، ۲۰۰۶؛ داورپناه^۳ و همکاران، ۲۰۱۸). هرس مناسب و اصولی در زیتون باعث باردهی زودتر و تولید محصول یکنواخت‌تر (کاهش سال-آوری) شده و از طریق افزایش عمر مفید درختان طول دوره بهره‌دهی آن‌ها را افزایش خواهد داد (کامرینی^۴ و همکاران، ۱۹۹۹). در درختان بالغ زیتون هرس با هدف دریافت نور کافی و حفظ تعادل بین رشد رویشی و زایشی انجام می‌شود (رودریگو^۵ و همکاران، ۲۰۱۸؛ گارسیا-اورتیز^۶ و همکاران، ۲۰۰۸). مطالعه هرس در درختان انگور نشان داد هرس باعث افزایش میزان نورگیری و تغییر میکروکلیمای داخل تاج شده و در نتیجه به میزان زیادی بر رشد، عملکرد و

کیفیت انگور تأثیر می‌گذارد (کاووسی و همکاران، ۱۳۸۸). مطالعه مشابه بر روی درختان سیب نشان داد که هرس با تأثیر بر کانوپی گیاه و نفوذ نور به داخل آن قویاً بر بهره‌وری فتوسنتزی و رشد گیاه اثرگذار بوده است (لائوزیک^۷ و همکاران، ۲۰۲۰). بعلاوه، افزایش متابولیت‌های ثانویه از جمله محتوای فنل در برگ‌های آلوده شاخ‌بزی بعد از اعمال هرس برگ گزارش شد (چاسر-ولفسون و گاترمن^۸، ۲۰۰۴). در تحقیقی دیگر، تأثیر هرس بر الگوی بیان ژن و سنتز متابولیت‌های مختلف در درختان انگور نشان داد هرس با افزایش نفوذ نور به تاج پوششی گیاه منجر به افزایش تجمع هیدروکسی‌سینامیک اسید، فلاونوئیدها و بیان ژن آن‌ها گردید (سان^۹ و همکاران، ۲۰۱۷).

علاوه بر فواید زیاد هرس، برش شاخه‌های درختان به‌عنوان نوعی تنش محیطی برای گیاه محسوب شده و منجر به فعال شدن مسیرهای متابولیسمی و فیزیولوژیکی مرتبط با تنش‌های غیرزیستی در گیاهان می‌شود. تغییر در فیزیولوژی رشد، بسته شدن روزنه‌ها، تغییر در الگوی تنظیم‌کننده‌های رشد و تجمع متابولیت‌ها مواردی از سازگاری با شرایط تنش‌زا می‌باشند (خاوری‌نژاد، ۱۳۸۴). بعلاوه تغییرات مولکولی در سطح الگوی بیان ژن و فعالیت آنزیم‌های مرتبط با متابولیسم ترکیبات فنلی در گیاهان مختلف و در ارتباط با تنش‌های غیرزیستی گزارش شده است (اجنی و همکاران، ۱۴۰۰).

اینکه هرس با چه سازوکارهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی باعث بروز تغییرات مفید یا تنش‌زا می‌شود، موضوع مورد علاقه پژوهشگران حوزه درختان میوه به‌ویژه زیتون می‌باشد. لذا پژوهش حاضر به منظور دستیابی به شدت هرس مناسب زیتون و بررسی تأثیر هرس بر شاخص‌های فتوسنتزی و الگوی بیان برخی از ژن‌های موثر در متابولیسم فنل روی رقم زرد اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در طی دو سال متوالی (۱۳۹۸-۱۳۹۹) روی درختان ۱۲ ساله زیتون رقم زرد در ایستگاه تحقیقات زیتون رودبار، استان گیلان اجرا شد. موقعیت جغرافیایی شهرستان

6. Garcia-Ortiz

7. Laužik

8. Chauser-Volfson and Gutterman

9. Sun

1. Hashempour

2. Lavee

3. Davarpanah

4. Camerini

5. Rodrigues

استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر به ترتیب در طول موج‌های ۲۹۰ و ۴۳۰ نانومتر سنجیده شد و نتایج بر حسب واحد نانومول بر گرم پروتئین در دقیقه بیان شد (بودوئین-اگان و تراپ^۵، ۱۹۸۵؛ ریموند^۶ و همکاران، ۱۹۹۳). مقدار فنل کل با استفاده از روش فولین سیکالچو^۷ تعیین و بر حسب میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم وزن خشک گیاه بیان شد (سینگلتون و روسی^۸، ۱۹۵۶).

به‌منظور بررسی الگوی بیان برخی از ژن‌های موثر بر متابولیسم ترکیبات فنلی شامل ژن‌های مربوط به آنزیم‌های PAL و PPO و همچنین آنزیم روبیسکو، ابتدا حدود ۱۰۰ میلی‌گرم بافت برگ تازه برای جداسازی RNA کل با استفاده از Qiagen RNeasy Mini Kit (طبق دستورالعمل کارخانه استفاده شد. سپس میزان پنج میکروگرم از DNase free RNase (Promega Biotech Iberica, SL., Madrid, Spain) برای حذف آلودگی DNA استفاده گردید. کمی‌سنجی و کیفی‌سنجی RNA به ترتیب بوسیله اسپکتروفتومتر و الکتروفورز ژل افقی انجام شد (Nanodrop, Thermo Scientific, Wilmington, DE, USA). ساخت cDNA توسط کیت سنتز cDNA (Takara, Inc, Japan) با استفاده از آنزیم رونوشت‌بردار معکوس و آغازگرهای الیگو انجام شد. طراحی آغازگرهای اختصاصی ژن‌های مربوطه با استفاده از نرم‌افزار Allel ID7 و توالی‌های ارتولوگ ژنوم زیتون انجام شد. آنالیز PCR معکوس 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 ذیل بود: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه همراه با ۴۰ دور در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی-گراد به مدت ۳۰ ثانیه. تکثیر اختصاصی بوسیله ژل آگارز الکتروفورز و آنالیز منحنی ذوب ارزیابی شد. منحنی ذوب برای همه نمونه‌ها به صورت تک پیک و نقطه پیک منحنی در محدوده دمای ذوب (Melt Temperature (TM) پیش‌بینی شده برای هر یک از فراگمنت‌ها قرار داشت. برای

رودبار از نظر طول و عرض جغرافیایی به ترتیب ۳۶°۰۸' شمالی و ۴۹°۰۴' شرقی است. فاصله کشت درختان ۶×۷ متر بوده و درختان در شرایط یکسان از نظر باردهی، کنترل آفات، امراض و علف‌های هرز بودند. تیمار هرس در چهار سطح شاهد (بدون هرس)، کاهش ۱۵، ۳۰ و ۴۵ درصد حجم تاج درخت به ترتیب شامل هرس سبک، متوسط و سنگین و در اواخر بهمن ماه سال اول اعمال شد. برای کاهش حجم درخت، ابتدا حجم تاج درخت با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (فائو^۱، ۲۰۱۰).

$$\text{ارتفاع} \times (\text{قطر})^2 \times \frac{3.14}{4} = \text{حجم}$$

برای محاسبه قطر، متوسط دو قطر عمود بر هم درخت (زمانی که از بالا به تاج نگاه می‌شود) در نظر گرفته شد. برای بدست آوردن رابطه بین کاهش حجم تاج و وزن شاخه‌های جدا شده، حجم تعدادی از درختان خارج از پروژه با فرمول بالا تعیین و سپس درختان در مقادیر و شدت‌های مختلف هرس و شاخه‌های جدا شده توزین شدند. سپس براساس رابطه رگرسیونی، مقدار وزن شاخه‌های جدا شده بر اساس کاهش حجم درخت مشخص گردید.

سطح برگ در مهرماه با استفاده از اسکنر و نرم‌افزار Digimizer برحسب سانتی‌متر مربع محاسبه گردید. اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی شامل دمای برگ (درجه سانتی‌گراد)، هدایت‌روزنه‌ای (مول CO₂ بر مترمربع بر ثانیه)، میزان تعرق (میلی‌مول H₂O بر مترمربع بر ثانیه)، غلظت دی‌اکسیدکربن زیر روزنه‌ای (میلی‌مول CO₂ بر مترمربع بر ثانیه) و فتوسنتز خالص (میکرومول CO₂ بر مترمربع بر ثانیه) با استفاده از دستگاه فتوسنتز متر قابل حمل IRGA، در طی ماه‌های اردیبهشت، تیر و شهریور انجام شد (آنجلوپولوس^۲ و همکاران، ۱۹۹۶). محتوای کربوهیدرات محلول کل برگ در مهرماه بر حسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه برگ در طول موج ۶۲۰ نانومتر با استفاده از منحنی گلوکز تعیین شد (ایریگوین^۳ و همکاران، ۱۹۹۲). جهت استخراج و اندازه‌گیری پروتئین محلول در تیرماه از روش برادفورد استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر بیان شد (برادفورد^۴، ۱۹۷۶).

صفات بیوشیمیایی مانند فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیا لیاز (PAL) و پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO) در تیر ماه با

5. Beaudoin-Eagan and Throp
6. Raymond
7. Folin – Cicalteu
8. Singleton and Rossi

1. FAO
2. Angelopoulos
3. Irigoyen
4. Bradford

مشابه در ماه‌های اردیبهشت و شهریور عامل روند مشابه بین تیمارها در این شاخص باشد. تفاوت هدایت‌روزنه‌ای در تیمارها احتمالاً به دلیل تغییر عوامل محیطی همچون دمای برگ، نور، رطوبت هوا، باد و به عبارت دیگر تغییر میکروکلیمای درخت بعد از اعمال هرس با شدت‌های مختلف باشد. در همین راستا گزارش شده است هدایت روزنه‌ای گیاه تابعی از محرک‌های محیطی است (کاتوال^۴ و همکاران، ۲۰۱۰). به عبارت دیگر، افزایش دما تحت تیمار هرس شدید در تیر ماه می‌تواند دلیل کاهش هدایت روزنه‌ای درختان زیتون باشد. در انطباق با نتایج حاضر، گزارش شده است با قرار گرفتن درختان زیتون در معرض دمای بالا هدایت روزنه‌ای کاهش یافته است (هورث^۵ و همکاران، ۲۰۱۸). علاوه بر نقش عوامل محیطی بر این شاخص، دلیل احتمالی دیگر می‌تواند ناشی از تحریک سنتز فیتوهورمون‌ها باشد. هورمون‌های گیاهی، تنظیم‌کننده‌های اصلی مسیرهای علامت‌رسانی تنش و نیز رشد و نمو گیاه هستند، در بین انواع هورمون‌ها، آبسزیک اسید (ABA) نقش مهمی در مسیرهای علامت‌رسانی تنش غیرزیستی بازی می‌کند (سئو^۶ و همکاران، ۲۰۰۰). در این تحقیق به نظر می‌رسد شدت هرس ۴۵٪ در درختان زیتون به گونه‌ای بوده است که منجر به ایجاد شرایط تنش و فعال شدن مکانیسم‌های پاسخ‌دهی شده باشد. گزارش شده است در درختان انبه هرس منجر به افزایش سطح هورمون ABA گردید (سینگ^۷ و همکاران، ۲۰۰۹). مطالعات گسترده نشان داده است که کاهش در هدایت روزنه‌ای برگ تا حد زیادی به افزایش سطح ABA در آوند چوبی بستگی دارد (وزان و همکاران، ۱۳۸۱). در خصوص افزایش هدایت روزنه‌ای در تیمارهای هرس سبک و متوسط علاوه بر پایین‌تر بودن دمای برگ احتمالاً مقدار هورمون آبسزیک اسید در آوندها به حدی نبوده که منجر به فعال شدن پاسخ فیزیولوژیک و بسته شدن روزنه‌ها گردد.

مقایسه میانگین جدول ۱ مویید این مطلب است که تغییرات تعرق در اردیبهشت ماه، حاکی از عدم اختلاف بین تیمارهای هرس با درختان شاهد می‌باشد، تعرق در تیمارها در تیمار هرس متوسط و سبک بالاتر بود. در شهریور ماه میزان این متغیر در همه تیمارها مجدداً یکسان بود. تعرق

محاسبه TM هر فراگمنت از سایت آنلاین <https://www.dna.utah.edu/umelt/umelt.html> کمک گرفته شد. TM محاسبه شده برای قطعات تکثیری ژن‌های کدکننده آنزیم‌های PAL و PPO به ترتیب ۸۷/۵ و ۸۳ درجه سانتی‌گراد بود و پیک منحنی ذوب همه واکنش‌های RT-qPCR در محدوده پیش‌بینی شده قرار داشت. از ژن مرجع اکتین برای نرمال‌سازی داده‌ها استفاده شد. سطوح بیان نسبی ژن‌ها و مقادیر تغییرات ژن‌های اختصاصی و اکتین در مرحله تنش تعیین شدند (زندالیناز^۱ و همکاران، ۲۰۱۶).

این پژوهش در قالب طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار مشتمل بر ۱۲ اصله درخت زیتون رقم زرد اجرا شد. تجزیه آماری به کمک نرم‌افزار SPSS و مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی دار میانگین‌ها (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد تیمار با شدت‌های مختلف هرس در اردیبهشت و شهریور ماه بالاترین دمای برگ را به خود اختصاص دادند. در تیر ماه مقدار این شاخص در تیمار هرس شدید نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود. در هر سه زمان اندازه‌گیری درختان شاهد دمای برگ کمتری را نشان دادند (جدول ۱). در تحلیل این پدیده می‌توان گفت با اعمال هرس، کاهش حجم و تراکم تاج، نفوذ بیشتر نور خورشید و کاهش سایه‌اندازی در مقایسه با اندازه بزرگ‌تر تاج در درختان بدون هرس مقدار دمای برگ افزایش یافت. منطبق با این نتایج گزارش شده است در طی فصل بهار و تابستان برگ‌های درختان افرا تحت تیمار هرس دمای بالاتری از درختان شاهد نشان دادند (فینی^۲ و همکاران، ۲۰۱۵).

مطالعه تغییرات هدایت روزنه‌ای در ماه‌های اردیبهشت و شهریور نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری معنی‌دار بین تیمارها بود. اما در تیمار برتری معنی‌دار در شدت‌های هرس ۱۵٪ و ۳۰٪ نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد (جدول ۱). هدایت روزنه‌ای میزان انتشار CO₂ در درون برگ برای فتوسنتز و تعرق بخار آب از برگ را مشخص می‌کند (کامجو^۳ و همکاران، ۲۰۰۵). به نظر می‌رسد شرایط دمایی

5. Haworth
6. Seo
7. Singh

1. Zandalinas
2. Fini
3. Camejo
4. Katul

داخلی از قبیل ویژگی‌های برگ (ساختار، محتوای کلروفیل)، تجمع مواد تولید شده در کلروپلاست برگ‌ها، در دسترس بودن آب، عناصر غذایی و آنزیم‌ها و از جمله مهمترین عوامل خارجی می‌توان به دریافت تابش در سطح برگ (کمیت و کیفیت)، دمای برگ، تعرق، رطوبت محیط و غلظت دی‌اکسیدکربن و اکسیژن هوای اطراف اشاره کرد (بونگی^۲ و همکاران، ۱۹۸۷؛ دیاز-اسپجو^۳ و همکاران، ۲۰۰۶). داده‌های حاضر نشان داد درختان زیتون تحت تیمار هرس قادر به کسب عملکرد فتوسنتزی مشابه با درختان بدون هرس در ماه‌های اردیبهشت و شهریور شدند. این موضوع احتمالاً نشان‌دهنده انعطاف پذیری بالای درختان زیتون در پاسخ به هرس، بازیابی و رشد شاخساره‌های جدید سریع در این گونه درختی باشد. در همین راستا گزارش شده است هرس در درختان زیتون منجر به رشد سریع‌تر تاج و القاء رشد شاخساره بوسيله افزایش دسترسی به مواد غذایی می‌شود (رودریگو^۴ و همکاران، ۲۰۱۸). بعلاوه در این بررسی ارتباط مشخصی بین پارامترهای فیزیولوژیکی هدایت‌روزنه‌ای، تعرق و دی‌اکسیدکربن زیرروزنه‌ای با سرعت فتوسنتز در ماه‌های اردیبهشت و شهریور در درختان با شدت‌های مختلف هرس و شاهد مشاهده شد. در تیر ماه همزمان با تغییرات فنولوژیکی مهم در درختان زیتون شامل گل‌انگیزی برای تولید محصول سال بعد و همچنین سنتز روغن در میوه‌های در حال رشد، مقدار فتوسنتز در تیمارهای هرس با شدت ۱۵٪ و ۳۰٪ افزایش یافت. این پدیده علاوه بر عوامل روزنه‌ای که با افزایش هدایت روزنه‌ای منجر به انتشار دی‌اکسیدکربن به فضای بین سلولی شد به تغییرات بیوشیمیایی دیگر از جمله افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو نیز می‌تواند مرتبط باشد. چرا که مطالعه الگوی بیان ژن مربوط به این آنزیم در این مطالعه نشان داد که در این تیمارها بیان نسبی این ژن(ها) افزایش قابل توجهی نسبت به سایر تیمارها نشان داد. کاهش فتوسنتز در هرس شدید در تیمارها از طریق محدودیت‌های روزنه‌ای (کاهش هدایت روزنه‌ای، تعرق و انتشار دی‌اکسیدکربن) یا مکانیسم‌های غیرروزنه‌ای (کاهش بیان ژن آنزیم روبیسکو) قابل توجهی است. حفظ شدت فتوسنتز در حد مطلوب بستگی به وجود آب، دی‌اکسیدکربن و نور کافی دارد. اگر هر یک از این مواد

عمدتاً از طریق روزنه‌های برگ با از دست دادن آب به صورت بخار آب انجام می‌شود. نیروی لازم برای تعرق از تشعشع‌های خورشیدی تأمین می‌شود. بررسی تغییرات تعرق نشان داد در ماه‌های اردیبهشت و شهریور این شاخص در بین درختان با شدت‌های مختلف هرس و درختان شاهد مشابه بوده است. با این وجود در تیر ماه نتایج متفاوتی حاصل گردید. تیمارهای هرس سبک و متوسط سرعت تعرق بالاتری نشان دادند. احتمالاً هرس با تأثیر بر هدایت روزنه‌ای و با بازکردن روزنه‌ها تعرق را افزایش داده است. بعلاوه این نتایج ممکن است وابسته به ایام سال و شرایط محیطی و با توجه به تغییرات مورفوفیزیولوژیکی القاء شده بعد از هرس مرتبط باشد. منطبق با نتایج ما گزارش شده است که در درختان عنب مقدار تعرق بعد از هرس در ماه‌های مختلف با توجه به شرایط آب و هوا، رطوبت خاک و سایر فاکتورهای محیطی دچار تغییر گردید (نای^۱ و همکاران، ۲۰۱۷).

با توجه به جدول ۲ مقایسه میانگین، غلظت دی‌اکسید کربن، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف در اردیبهشت ماه نشان نداد. در تیمارها در درختان با هرس متوسط بالاترین و در درختان با تیمار هرس شدید و شاهد کمترین مقدار بود. محتوای دی‌اکسیدکربن در شهریور ماه تفاوتی در تیمارهای شاهد، هرس سبک و متوسط نشان نداد، کمترین مقدار نیز مربوط به تیمار هرس شدید بود. افزایش دی‌اکسیدکربن به طور مستقیم می‌تواند به تغییر رشد گیاه از طریق اثرگذاری بر تبادلات گازی و افزایش مداوم فتوسنتز منجر شود (کریم‌زاده و همکاران، ۱۳۹۵). به نظر می‌رسد باز شدن روزنه‌ها عامل اصلی افزایش انتشار دی‌اکسیدکربن به فضای زیرروزنه بوده باشد. ارتباط هدایت روزنه‌ای و دی‌اکسیدکربن در گزارشات مختلف اشاره شده است (احمدی و بیکر، ۱۳۷۹؛ سی و سه مرده و همکاران، ۱۳۸۳).

چنانچه از نتایج مقایسه میانگین جدول ۲ بر می‌آید میزان فتوسنتز در اردیبهشت و شهریور بین تیمارها از نظر آماری یکسان و در تیر ماه مقدار این صفت در تیمار هرس متوسط و سبک بالاتر بود. فتوسنتز فعالیت متابولیکی ضروری تأمین‌کننده انرژی برای رشد و نمو گیاه است و به مجموعه‌ای از عوامل داخلی و محیطی بستگی دارد. عوامل

3. Díaz-Espejo
4. Rodrigues

1. Nie
2. Bonggi

جدول ۱- تأثیر شدت‌های مختلف هرس بر شاخص‌های فیزیولوژیکی درختان زیتون رقم زرد. داده‌ها نشان‌دهنده میانگین دو سال متوالی می‌باشد.

تیمار	دمای برگ (°C)	هدایت‌روزنه‌ای (mol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	تعرق (mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	شهریور	اردیبهشت	شهریور	اردیبهشت	شهریور	اردیبهشت
شاهد	۲۹/۸۳±۰/۳۱ ^b	۰/۰۹±۰/۰۱ ^a	۰/۱۲±۰/۰۱ ^b	۰/۱۵±۰/۰۰ ^a	۰/۱۵±۰/۰۰ ^a	۲/۳۰±۰/۲۶ ^a	۲/۳۰±۰/۲۶ ^a	۲/۴۸±۰/۲۵ ^b	۳/۰۲±۰/۳۱ ^a
۱۵٪	۳۳/۷۵±۰/۱۹ ^a	۰/۰۹±۰/۰۱ ^a	۰/۱۷±۰/۰۲ ^a	۰/۱۸±۰/۰۲ ^a	۰/۱۷±۰/۰۲ ^a	۲/۲۴±۰/۳۱ ^a	۲/۲۴±۰/۳۱ ^a	۳/۳۸±۰/۳۱ ^a	۳/۴۹±۰/۴۲ ^a
۳۰٪	۳۴/۰۵±۰/۲۵ ^a	۰/۰۹±۰/۰۱ ^a	۰/۱۶±۰/۰۲ ^a	۰/۱۶±۰/۰۲ ^a	۰/۱۶±۰/۰۲ ^a	۲/۳۶±۰/۳۹ ^a	۲/۳۶±۰/۳۹ ^a	۳/۵۵±۰/۲۹ ^a	۳/۸۴±۰/۴۴ ^a
۴۵٪	۳۴/۴۲±۰/۵۰ ^a	۰/۰۸±۰/۰۱ ^a	۰/۰۸±۰/۰۲ ^c	۰/۱۵±۰/۰۱ ^a	۰/۱۵±۰/۰۱ ^a	۲/۳۶±۰/۴۰ ^a	۲/۳۶±۰/۴۰ ^a	۲/۱۵±۰/۴۰ ^b	۳/۴۶±۰/۲۷ ^a
سال	*	ns	**	**	**	**	**	**	**
تیمار	**	**	ns	ns	ns	ns	ns	**	ns
سال*تیمار	*	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns

شاهد (بدون هرس) و (۱۵٪، ۳۰٪، ۴۵٪) به ترتیب شامل هرس سبک، متوسط و سنگین تاج درخت می‌باشند. میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشابه هستند، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال $p \leq 0.05$ اختلاف معنی‌داری ندارند. ns، ** و * به ترتیب نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال $p \leq 0.01$ و معنی‌دار در سطح احتمال $p \leq 0.05$ است.

به معنی تغییر سطح آسیمیلاسیون می‌باشد (آمبروسکی^۵ و همکاران، ۲۰۰۸). با توجه به اینکه برگ حساس‌ترین مولفه برای پاسخ به عوامل تنش‌زای مختلف محیطی است. در این بررسی احتمالاً هرس شدید و متوسط درختان به عنوان عامل تنش منجر به کاهش مساحت برگ گردید. منطبق با این نتایج گزارش شده است هرس منجر به کاهش مساحت برگ در درختان اکالیپتوس و کهور شد (الفادل و لوکانن^۶، ۲۰۰۳؛ تورنبل و همکاران، ۲۰۰۷). همچنین گزارش شده است پاسخ درخت بسته به گونه و شدت هرس متفاوت می‌باشد (ریچ^۷ و همکاران، ۱۹۹۳؛ آلکورن^۸ و همکاران، ۲۰۰۸). سیف‌پور و همکاران (۱۳۹۵) گزارش کردند هرس متوسط و شدید در مقایسه با هرس سبک سطح برگ را در درختان زیتون کاهش داد. به نظر می‌رسد بعد از اعمال هرس به‌ویژه در هرس متوسط جبران گردید، به‌طوریکه کاهش سطح برگ منجر به کاهش فتوسنتز نشد.

نتایج نشان داد مقدار کربوهیدرات محلول بین تیمارها از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۲). کربوهیدرات منبع ضروری انرژی در گیاهان می‌باشد و می‌تواند طی فرایند متابولیسم مصرف یا به اندام‌های دیگر انتقال یابند. غلظت کربوهیدرات به وسیله فاکتورهای مختلفی از جمله دما، رطوبت، نور و هرس تأثیر می‌پذیرد (دای^۹، ۱۹۸۵). در این پژوهش با وجود حذف سایت‌های تولید و ذخیره کربوهیدرات در تیمارهای هرس تفاوتی در

کمتر یا بیشتر از حد مطلوب باشد همان عامل محدودکننده خواهد بود. احتمال می‌رود در شدت هرس ۴۵٪ با افزایش دما در تیرماه منطبق با جدول ۱ از محلولیت گازها کاسته و منجر به افزایش تنفس نوری شده باشد. بعلاوه نور فوق‌العاده شدید نیز بر فتوسنتز اثر بازدارنده دارد. در پدیده تنفس نوری آنزیم روبیسکو در معرض اکسیژن زیاد به عنوان ریبولوزی فسفات‌اکسیژناز نیز عمل می‌کند که موجب اتلاف انرژی و پائین آوردن کارایی ترمودینامیکی فتوسنتز می‌گردد (ویسنت^۱ و همکاران، ۲۰۱۱). تغییر در محتوای فتوسنتز در درختان اکالیپتوس، انبه و گلابی تحت تیمار هرس در ماه‌های مختلف سال در مقایسه با درختان شاهد در نتایج سایر محققان هم گزارش شده است (تورنبل^۲ و همکاران، ۲۰۰۷؛ لال و میشر^۳، ۲۰۰۷؛ منده^۴ و همکاران، ۲۰۲۰). نتایج این تحقیق نشان داد که اندازه برگ تحت تأثیر شدت‌های مختلف هرس قرار گرفت. درختان زیتون مورد مطالعه در تیمار با شدت هرس سبک و تیمار بدون هرس دارای مساحت برگی بالاتری نسبت به تیمارهای با شدت هرس متوسط و شدید بودند (جدول ۲). مساحت برگ، شاخص فیزیولوژیکی مهمی به شمار می‌رود که محل دریافت تابش خورشید برای تبدیل انرژی به زیست توده (بیوماس) محسوب می‌شود. با تغییر شدت هرس، تغییرات مهمی در مورفولوژی و آناتومی برگ اتفاق می‌افتد. اولین تغییر اساسی، تفاوت در سطح برگ گیاه است که این تغییر

6. Elfadl and Luukkanen
7. Reich
8. Alcorn
9. Daie

1. Vicente
2. Turnbull
3. Lal and Mishra
4. Mende
5. Ambroszczyk

جدول ۲- تأثیر شدت‌های مختلف هرس بر شاخص‌های فتوسنتزی، مساحت برگ و محتوای کربوهیدرات محلول درختان زیتون رقم زرد. داده‌ها نشان‌دهنده میانگین دو سال متوالی می‌باشد.

محتوای کربوهیدرات محلول (mg g ⁻¹ FW)	مساحت برگ (Cm ²)	فتوسنتز (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)			غازت دی‌اکسیدکربن (mmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)			تیمار
		شهریور	تیر	اردیبهشت	شهریور	تیر	اردیبهشت	
۵/۱۳±۰/۶۶ ^a	۵/۴۸±۰/۰۸ ^a	۱۰/۲۹±۰/۹۷ ^a	۸/۶۴±۰/۶۴ ^b	۶/۶۷±۰/۶۶ ^a	۲۳۶/۷۱±۴/۲۱ ^a	۲۳۳/۶۰±۷/۰۳ ^c	۲۶۸/۰۰±۱۰/۹۴ ^a	شاهد
۴/۰۰±۰/۳۵ ^a	۵/۹۲±۰/۱۷ ^a	۱۰/۹۹±۱/۱۴ ^a	۱۰/۹۱±۱/۰۷ ^a	۶/۰۶±۰/۷۹ ^a	۲۳۸/۰۵±۴/۲۱ ^a	۲۵۰/۹۹±۴/۶۱ ^b	۲۶۲/۸۹±۱۱/۷۸ ^a	۱۵٪
۵/۰۲±۰/۴۲ ^a	۴/۹۳±۰/۰۹ ^b	۱۱/۱۲±۱/۳۰ ^a	۱۰/۵۴±۱/۱۳ ^a	۵/۳۸±۰/۹۰ ^a	۲۴۲/۷۷±۲/۴۵ ^a	۲۷۰/۸۸±۴/۴۸ ^a	۲۹۱/۶۱±۱۱/۳۷ ^a	۳۰٪
۵/۶۳±۰/۴۹ ^a	۵/۱۴±۰/۱۳ ^b	۹/۷۰±۰/۶۳ ^a	۷/۶۴±۰/۸۹ ^c	۵/۸۴±۰/۹۶ ^a	۲۲۰/۴۹±۴/۴۲ ^b	۲۲۱/۴۴±۹/۹۱ ^c	۲۴۰/۵۵±۱۱/۰ ^a	۴۵٪
**	ns	*	**	**	*	**	*	سال
ns	**	ns	**	ns	**	**	ns	تیمار
ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	سال*تیمار

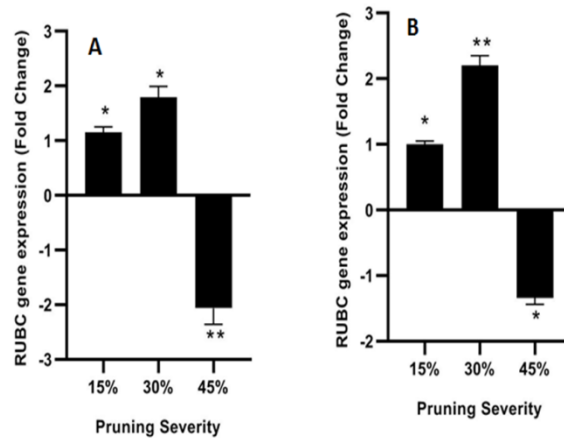
شاهد (بدون هرس) و (۱۵٪، ۳۰٪، ۴۵٪) به ترتیب شامل هرس سبک، متوسط و سنگین تاج درخت می‌باشند. میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشابه هستند، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۰/۰۵ p ≤ اختلاف معنی‌داری ندارند. ns، ** و * به ترتیب نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱ p ≤ و معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ p ≤

تأثیر مستقیم هرس بر بیان ژن در سطح نسخه‌برداری می‌باشد. مطالعه هرس در درختان شاه‌توت نشان داد که هرس منجر به افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو گردید (یاماشیتا و فوزینو^۳، ۱۹۸۶). بعلاوه به نظر می‌رسد بعد از اعمال هرس تشکیل برگ‌های جوان‌تر دلیلی بر افزایش بیان ژن باشد. در همین راستا گزارش شده است سنتز و بیان ژن آنزیم روبیسکو در برگ‌های در حال توسعه و جوان‌تر افزایش می‌یابد (ایمای^۴ و همکاران، ۲۰۰۸؛ سوزوکی^۵ و همکاران، ۲۰۱۰). اما در هرس ۴۵٪ احتمالاً شدت هرس به اندازه‌ای بوده که منجر به تغییرات تنش‌زا در درختان زیتون گردید و باعث کاهش شدید بیان ژن شد. مطالعات در گیاهان دیگر نیز نشان داده است که تنش‌های محیطی اثرات سوء بر فعالیت آنزیم روبیسکو داشته که به صورت کاهش سنتز یا فعالیت زیر واحدها، تخریب آن‌ها و در نهایت کاهش فتوسنتز تظاهر می‌یابد (مورنو^۶ و همکاران، ۲۰۰۸). بررسی بیان ژن رمزکننده آنزیم‌های فنیل‌آلانین‌آمونیا لیاز و آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز نشان‌دهنده تغییر الگوی بیان آن‌ها در تیمارهای مختلف هرس می‌باشد (شکل ۲). تحت تیمار هرس متوسط، میزان بیان ژن PAL در هر دو سال نسبت به شاهد بالاتر و در هرس شدید پایین‌تر بود و در خصوص بیان ژن آنزیم PPO در طی دو سال آزمایش در تیمارهای هرس روند مشابهی نشان داد و همواره نسبت به شاهد

محتوای کربوهیدرات در درختان تحت تیمار هرس و بدون هرس مشاهده نشد. با توجه به فتوسنتز مشابه در ماه‌های اردیبهشت و شهریور این پدیده قابل توجیه است. منطبق با این نتایج گزارش شد در درختان انگور، اکالیپتوس و گلابی بعد از اعمال هرس محتوای کربوهیدرات در مقایسه با درختان بدون هرس مشابه بود (تورنبل و همکاران، ۲۰۰۷؛ جونز^۱ و همکاران، ۲۰۱۸؛ مندز و همکاران، ۲۰۲۰). سیف‌پور و همکاران (۱۳۹۵) گزارش کردند درختان هرس شده زیتون دیرتر از درختان شاهد شروع به ساخت کربوهیدرات می‌کنند اما در پایان تابستان هر دو این درختان محتوای قندی یکسانی دارند. بیان ژن رمزکننده آنزیم روبیسکو در طی دو سال و در همه تیمارها روند مشابهی نشان داد و با اعمال هرس متوسط افزایش و در هرس شدید نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل ۱). روبیسکو یکی از آنزیم‌های مهم برای تثبیت دی‌اکسیدکربن در فعالیت فتوسنتزی گیاه بوده که در حدود ۵۰ درصد پروتئین‌های برگ را شامل می‌شود (سانتوس^۲ و همکاران، ۲۰۰۴). این پروتئین از زیر واحدهای بزرگ و کوچک تشکیل شده که به ترتیب بوسیله ژنوم کلروپلاست و هسته سنتز می‌شوند. در این پژوهش، میزان رونوشت ژن روبیسکو به عنوان آنزیم مهم دخیل در فتوسنتز و تولید انرژی با هرس متوسط و سبک افزایش یافت که نشان‌دهنده

4. Imai
5. Suzuki
6. Moreno

1. Jones
2. Santos
3. Yamashita and Fuzino



شکل ۱- تأثیر شدت‌های مختلف هرس بر سطوح نسبی بیان ژن آنزیم فتوسنتزی Rubisco در زیتون رقم زرد در دو فصل متوالی (A) سال اول (B) سال دوم. ns، * و ** به ترتیب نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪.

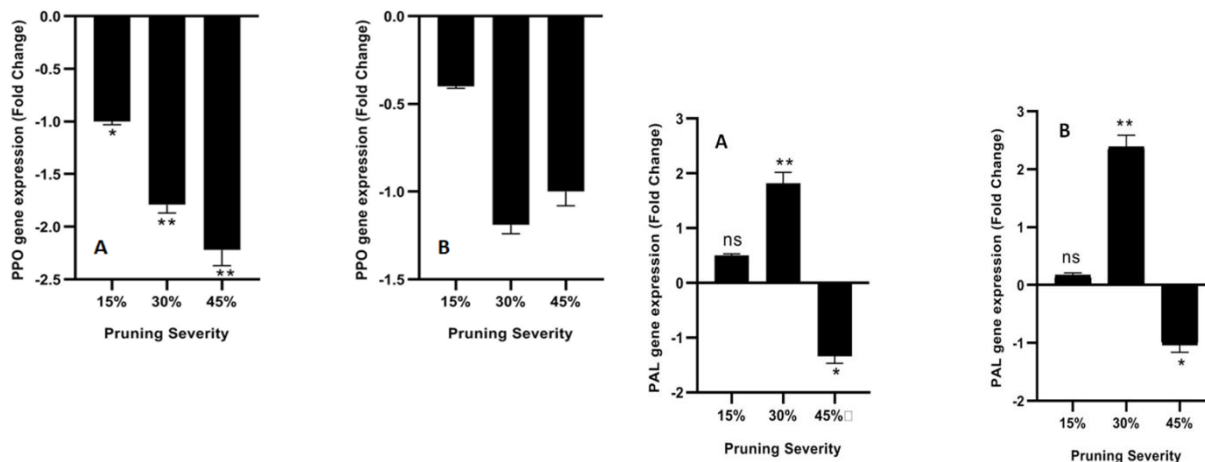
براساس مقایسه میانگین داده‌های جدول ۳، فعالیت آنزیم‌های PAL و PPO منطبق با بیان ژن بعد از اعمال هرس روند یکسویه‌ای نشان نداد. به طوری که در تیمار هرس متوسط برخلاف افزایش در فعالیت آنزیم PAL با کاهش در فعالیت آنزیم PPO همراه بود. آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز شروع‌کننده مسیر سنتزی ترکیبات فنلی و مسیر فنیل پروپانویید است و آنزیم پلی‌فنل اکسیداز عامل تبدیل ترکیبات فنلی به کوئینون‌هاست (اردکانی و نادور، ۱۳۸۸؛ تالهاو^۳ و همکاران، ۲۰۱۵). در این تحقیق منطبق با افزایش بیان ژن، افزایش فعالیت آنزیم متناظر نیز مشاهده شد که نشان‌دهنده نقش مستقیم ژن‌های دفاعی در فعالیت‌های سیستم دفاعی گیاه است. همچنین نتایج نشان داد می‌توان با اعمال تکنیک‌های ویژه مدیریتی در باغ از جمله هرس متوسط منجر به افزایش قابل توجهی در فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز در درختان زیتون شد. دلیل احتمالی این پدیده می‌تواند به اثراتی که هرس روی جنبه‌های مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی از جمله توازن هورمونی ایجاد می‌کند، نسبت داده شود. مطالعات نشان داده است سنتز و فعالیت آنزیم‌ها تحت تأثیر فیتوهورمون‌ها قرار می‌گیرد. گزارش شده است هرس متوسط منجر به افزایش هورمون ایندول استیک اسید گردید و از این طریق منجر به افزایش تجمع فنل در درختان انبه شد (مورتی و اپرتی^۴، ۲۰۰۳؛ سینگ و شارما، ۲۰۰۹). همچنین تأثیر اکسین خارجی بر محتوای ترکیبات فنلی در گیاه Vigna به اثبات

کاهش یافت.

ژن‌های فراوانی در پاسخ گیاه به محرک‌ها، فعال یا خاموش می‌شوند. همچنین ممکن است بیان آن‌ها افزایش یا کاهش یابد. PAL به عنوان آنزیمی القاء شونده می‌باشد که در پاسخ به عوامل زنده و غیرزنده فعال می‌شود (غلام‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۵). به نظر می‌رسد هرس متوسط منجر به فعال شدن مکانیسم خود دفاعی در درختان زیتون گردید و از این طریق بیان ژن مرتبط با سیستم دفاعی را فعال نمود. در تأیید این نتایج مطالعه هرس در درختان گواوا نشان داده است که هرس منجر به تحریک مکانیسم خودالقایی با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد (باغچی^۱ و همکاران، ۲۰۰۸). همچنین نتایج نشان داد بیان بالاتر ژن PAL با بیان کمتر ژن PPO در هرس متوسط همراه بود. گیاهان در مواجهه با محرک‌های بیرونی از ساز و کارهای مختلفی استفاده می‌نمایند و باعث بروز دامنه وسیعی از واکنش‌ها از تغییر بیان ژن تا تغییر در سرعت رشد و عملکرد گیاهان می‌شوند. این تغییرات متعدد در سطوح بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مولکولی در گیاه اتفاق می‌افتد که به وسیله ژن‌های تنظیمی متعددی کنترل می‌شوند (دو^۲ و همکاران، ۲۰۱۱). تصور بر این است که افزایش القاء بیان یک ژن تحت هرس با تغییر یا کاهش در الگوی بیان ژن‌های دیگر همراه باشد. با این وجود دانش حاضر در مورد ژن‌های درگیر در مکانیسم پاسخ به هرس هنوز دارای محدودیت‌هایی است.

3. Talhaou
4. Murti and Upreti

1. Bagchi
2. Due



شکل (۲) - تأثیر شدت‌های مختلف هرس بر سطوح نسبی بیان ژن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل PAL و PPO در زیتون رقم زرد در دو فصل متوالی (A) سال اول (B) سال دوم. ns، ** و * به ترتیب نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪.

آنتی‌اکسیدانی آن‌ها است، فنل‌ها گیاهان را در مقابل تنش‌های زیستی و غیرزیستی حفظ می‌کنند (روی-گارسیا و گومز-پلازا^۵، ۲۰۱۳). در این تحقیق، ترکیبات فیتوشیمیایی با افزایش بیان ژن و فعالیت آنزیم PAL در تیمار هرس متوسط افزایش یافت. در تطابق با این نتایج در تحقیقی به تأثیر شدت هرس متوسط بر محتوای فنل کل در درختان انبه در مقایسه با تیمار بدون هرس اشاره شده است (سینگ و شارما، ۲۰۰۹). اما علت کاهش محتوای فنل تحت هرس با شدت ۴۵٪ می‌تواند مربوط به یک سری از تغییرات شیمیایی و آنزیمی با افزایش دمای هوا در تیرماه، مانند اکسید شدن ترکیبات فنلی توسط فنل-اکسیدازها و پلیمریزه شدن ترکیبات فنلی آزاد نسبت داده شود. در همین رابطه تحقیقات انجام شده روی برخی ترکیبات فنلی در مرکبات نشان داد که تولید آن‌ها در مناطقی با آب و هوای خنک بیشتر از مناطق گرم می‌باشد (دویس و آلبریگو^۶، ۱۹۹۴).

مقایسه میانگین جدول ۳ نشان داد بیشترین و کمترین غلظت پروتئین محلول در تیمار هرس متوسط و هرس شدید به ترتیب با میانگین‌های ۱/۲۹ و ۰/۹۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ به دست آمد. از آنجا که روبیسکو فراوان‌ترین پروتئین برگی در گیاهان محسوب می‌شود، بنابراین تغییر در پروتئین‌های برگ با تغییر در محتوای این

رسیده است (واتس^۱ و همکاران، ۲۰۱۲). به نقش هرس در افزایش سطح هورمون اتیلن و ارتباط آن بر فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیلایز نیز اشاره شده است (هومن و بیدوم^۲، ۲۰۰۸؛ سینگ و شارما، ۲۰۰۹). بخشی و همکاران (۱۳۸۹) بیان کردند که بیوسنتز فنل‌ها با زمینه ژنتیکی و محیطی تعیین می‌شود. در همین راستا کاهش فعالیت آنزیم PAL در تیمار هرس شدید احتمالاً در ارتباط با تأثیر شدت نور و دما بر سنتز فنل می‌باشد، به‌طوری‌که در این پژوهش با کاهش تراکم تاج بعد از هرس، دمای برگ در تیرماه افزایش یافت. در تأیید نتایج این تحقیق برخی محققین گزارش کردند که قرار گرفتن درختان انگور در معرض نور خورشید و بالا رفتن دما تأثیر منفی بر فعالیت آنزیم PAL داشته است (برکویست^۳ و همکاران، ۲۰۰۱؛ اسپاید^۴ و همکاران، ۲۰۰۲). با افزایش شدت هرس فعالیت آنزیم PPO کاهش یافت که احتمالاً به دلایل اثرات زیست-شیمیایی قابل توجه باشد به‌طوری‌که گزارش شده است کاهش فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با افزایش فعالیت آنزیم‌های دیگر جبران می‌گردد.

تیمار با شدت هرس ۳۰٪ بیشترین افزایش را نسبت به سایر تیمارها در محتوای فنل کل نشان داد (جدول ۳). ترکیبات فنلی جزء متابولیت‌های ثانویه بوده و برای گیاهان و انسان‌ها بسیار مهم هستند. دلیل اهمیت این ترکیبات، فعالیت

4. Spayd
5. Ruiz-García and Gómez-Plaza
6. Davise and Albrigo

1. Vats
2. Human and Bidom
3. Bergqvist

جدول ۳- تاثیر شدت‌های مختلف هرس بر فعالیت آنزیم‌های PAL، PPO و محتوای پروتئین برگ درختان زیتون رقم زرد در تیر ماه. داده‌ها نشان‌دهنده میانگین دو سال متوالی می‌باشد.

پروتئین محلول (mg g ⁻¹ FW)	محتوای فنل کل (mg GAE g ⁻¹ dried weight)	آنزیم پلی فنل اکسیداز (n mol min ⁻¹ g ⁻¹ FW)	آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیا‌لیاز (n mol min ⁻¹ g ⁻¹ FW)	تیمار
c./۰.۲±۱/۱۱	b./۵۳±۷/۹۷	a./۱۶±۱/۹۵	b./۱۷±۰/۸۶	شاهد
b./۰.۱±۱/۱۹	b./۸۰±۸/۴۰	b./۱۲±۱/۲۵	b./۱۱±۰/۹۲	٪۱۵
a./۰.۴±۱/۲۹	a./۷۳±۱۴/۴۱	c./۰.۸±۰/۴۷	a./۰.۹±۱/۳۳	٪۳۰
d./۰.۳±۰/۹۴	c./۶۰±۵/۹۱	c./۰.۷±۰/۷۵	c./۰.۸±۰/۵۰	٪۴۵
**	*	ns	*	سال
**	**	**	**	تیمار
ns	ns	ns	*	سال*تیمار

شاهد (بدون هرس) و (۱۵٪، ۳۰٪ و ۴۵٪) به ترتیب شامل هرس سبک، متوسط و سنگین تاج درخت می‌باشند. میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشابه هستند، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال $p \leq 0.05$ اختلاف معنی‌داری ندارند. ns، ** و * به ترتیب نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال $0.01 \leq p$ و معنی‌دار در سطح احتمال $p \leq 0.05$

درختان زیتون افزایش داد. این امر می‌تواند بر پالایش مؤثر گونه‌های فعال اکسیژن، به تأخیر انداختن پیری و افزایش فتوسنتز دلالت داشته باشد. افزایش بیان ژن مربوط به آنزیم روبیسکو با افزایش فتوسنتز در تیرماه که همزمان با تغییرات فنولوژیکی مهم در درختان زیتون می‌باشد، همراه بود، اهمیت روبیسکو را به عنوان یکی از ژن‌های مؤثر در فرآیند پاسخ سلولی نشان داد. در این تحقیق، تأثیر شدت هرس بر فعالیت و بیان ژن فنیل‌آلانین‌آمونیا‌لیاز که آنزیم مهم در متابولیسم ترکیبات فنلی است، مورد توجه قرار گرفت. به‌ویژه این که حضور ترکیبات فنلی در بافت برگ، میوه و روغن زیتون باعث افزایش خواص غذایی و دارویی آن‌ها می‌شود. بنابراین می‌توان با اعمال تکنیک‌های ویژه مدیریتی در باغ از جمله هرس متوسط منجر به تغییر محتوای آن‌ها در درختان زیتون گردید. علی‌رغم اثرات مفید هرس متوسط، هرس شدید باعث اثرات تنش‌زا در سیستم بیولوژیکی درخت شد. در این تحقیق تغییر در الگوی بیان ژن‌های مؤثر در متابولیسم فنل (PAL و PPO) و محتوای فنل کل به‌عنوان بخشی از راهکارهای پاسخ گیاه به هرس تأیید شد. در کل بر اساس شاخص‌های مطالعه شده به نظر می‌رسد انجام هرس متوسط در بهمن ماه (به‌جای هرس سبک یا شدید) اثرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مفید بیشتری روی درختان زیتون داشته باشد.

آنزیم همراه است (هانسون و هیتز^۱، ۱۹۸۲). بیان بالاتر ژن‌های کدکننده آنزیم روبیسکو به‌ویژه در هرس متوسط، می‌تواند یکی از دلایل مهم تجمع پروتئین در برگ باشد. بعلاوه، بعد از اعمال هرس تشکیل برگ‌های جدید افزایش می‌یابد که گزارش شده است مقدار پروتئین در برگ‌های در حال رشد و توسعه بالاتر می‌باشد (ایمای و همکاران، ۲۰۰۸). در تأیید نتایج این تحقیق گزارش شده است هرس محتوای پروتئین محلول را در درختان شاه‌توت افزایش داد (یاماشیتا و فوینو، ۱۹۹۴). در ادامه به نظر می‌رسد در هرس شدید با افزایش شدت نور، ظرفیت زنجیره انتقال الکترونی تکمیل شده و احتمال اکسیداسیون نوری افزایش یافته و این فرایند باعث آسیب و تجزیه پروتئین‌ها شده باشد (ازبی^۲ و همکاران، ۲۰۱۲).

نتیجه‌گیری کلی

هرس یک روش مدیریتی مفید در صنعت پرورش زیتون می‌باشد که در شرایط فعلی باغداران تنها بر اساس سلیقه شخصی خود اقدام به هرس می‌نمایند. در این تحقیق با تغییر در ساختار کانوپی درختان به واسطه شدت‌های مختلف هرس، پاسخ‌های متفاوتی مشاهده شد. هرس متوسط فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و فتوسنتزی را در

منابع

- اجنی، ا.، سلیمانی، ع.، زینانلو، ع.ا.، سیفی، ا. و طاهری، م. ۱۴۰۰. نمایش افتراقی تحمل به تنش حرارتی ارقام زیتون زرد و دیره بر اساس شاخص‌های فیزیولوژیکی، زیست-شیمیایی و الگوی بیان ژن‌های PAL و PPO. نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی، ۲۸(۱): ۶۵-۷۹.
- احمدی، ع. و بیکر، د.ا. ۱۳۷۹. عوامل روزنه‌ای و غیرروزنه‌ای محدودکننده فتوسنتز در گندم در شرایط تنش خشکی. مجله علوم کشاورزی ایران، ۳۱(۴): ۸۱۳-۸۲۵.
- اردکانی، م.ر. و نادور، ا.ر. ۱۳۸۸. کتاب اصول و فنون کاربردی برای متخصصان علوم گیاهی. موسسه چاپ و انتشارات دانشگاه تهران، ۵۰۴ ص.
- بخشی، د.، فتح‌اللهی، س. و آراکوا، ا. ۱۳۸۹. بررسی ارتباط بین ترکیبات فنلی و رنگ پوست در ۳ رقم سیب قرمز در ژاپن. مجله علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)، ۲۴(۲): ۲۵۱-۲۵۸.
- خاوری‌نژاد، ر. ۱۳۸۴. فیزیولوژی گیاهی (سلول، تنفس و فتوسنتز). انتشارات دانشگاه خوارزمی، ۳۷۰ ص.
- سی و سه مرده، ع.، احمدی، ع.، پوستینی، ک. و ابراهیم‌زاده، ح. ۱۳۸۳. عوامل روزنه‌ای و غیرروزنه‌ای کنترل‌کننده فتوسنتز و ارتباط آن با مقاومت به خشکی در ارقام گندم. مجله علوم کشاورزی ایران، ۳۵(۱): ۹۳-۱۰۶.
- سیف‌پور، ک.، قاسم‌نژاد، م.، نیری، ف. و محمدصالحی، م. ۱۳۹۵. روش‌های تولید در مناطق کشت زیتون. انتشارات حق‌شناس، ۴۶۲ ص.
- غلام‌نژاد، ج.، سنجریان، ف.، محمدی‌گل‌تپه، ا.، صفایی، ن. و رضوی، خ. ۱۳۹۵. بررسی تغییرات بیان ژن‌های دفاعی گیاه گندم در پاسخ به آلودگی به *Mycosphaerella graminicola* زیست‌شناسی گیاهی ایران، ۸(۳۰): ۴۳-۵۴.
- کاوسی، ب.، عشقی، س. و تفضلی، ع. ۱۳۸۸. تأثیر تنک خوشه و سطوح مختلف سربرداری شاخه‌های بارور بر عملکرد متعادل و بهبود کیفیت میوه انگور عسکری. مجله علوم و خاک، ۱۳(۴۸): ۱۵-۲۷.
- کریم‌زاد، ه.، نظامی، ا.، کافی، م. و تدین، م.ر. ۱۳۹۵. بررسی تغییرات هدایت روزنه‌ای، دمای سایه‌انداز گیاهی و آب برگ ژنوتیپ‌های لوبیا چیتی در شرایط کم آبیاری. فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی گیاهان زراعی، ۸(۳۰): ۱۰۵-۱۲۰.
- محمدیان، م.ا.، رضایی، ش.، رضایی‌ملک‌رودی، م. ۱۳۹۱. بررسی مقاومت دو رقم زیتون به تنش سرما. فرایند و کارکرد گیاهی، ۲(۱): ۱-۱۱.
- وزان، س.، رنجی، ا.، هوشدارتهرانی، م.ح.، قلاوند، ا. و صانعی‌شریعت‌پناهی، م. ۱۳۸۱. اثر تنش خشکی بر میزان تجمع اسید آسبیزیک و هدایت‌روزنه‌ای برگ چغندر قند. مجله علوم زراعی ایران، ۴(۳): ۱۷۶-۱۸۳.
- یوسفی، ز.، قلی‌یان، ا. و زینانلو، ع.ا. ۱۳۹۷. هرس بازجوان‌سازی درختان مسن زیتون. مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، دفتر شبکه دانش و رسانه‌های ترویج، ۱۰ ص.
- Alcorn, P.J., Bauhus, J., Thomas, D.S., James, R.N., Smith, R.G.B. and Nicotra, A.B., 2008. Photosynthetic response to green crown pruning in young plantation-grown *Eucalyptus pilularis* and *E. cloeziana*. *Forest Ecology and Management*, 255(11): 3827-3838.
- Ambroszczyk, A., Cebula, S. and Sękara, A., 2008. The Effect of Plant Pruning on the Light Conditions and Vegetative Development of Eggplant (*L.*) in Greenhouse Cultivation. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 68(1): 57-70.
- Angelopoulos, K., Dichio, B. and Xiloyannis, C., 1996. Inhibition of photosynthesis in olive trees (*Olea europaea* L.) during water stress and rewatering. *Journal of experimental botany*, 47(8), 1093-1100.
- Azzabi, G., Pinnola, A., Betterle, N., Bassi, R. and Alboresi, A., 2012. Enhancement of non-photochemical quenching in the bryophyte *Physcomitrella patens* during acclimation to salt and osmotic stress. *Plant and cell physiology*, 53(10): 1815-1825.
- Bagchi, T.B., Sukul, P. and Ghosh, B., 2008. Biochemical changes during off-season flowering in guava (*Psidium guajava* L.) induced by bending and pruning. *Journal of Tropical Agriculture*, 46 :64-66.
- Beaudoin-Eagan, L.D. and Thorpe, T.A., 1985. Tyrosine and phenylalanine ammonia lyase activities during shoot initiation in tobacco callus cultures. *Plant Physiology*, 78(3): 438-441.

- Bergqvist, J., Dokoozlian, N. and Ebisuda, N., 2001. Sunlight exposure and temperature effects on berry growth and composition of Cabernet Sauvignon and Grenache in the Central San Joaquin Valley of California. *American journal of Enology and Viticulture*, 52(1): 1-7.
- Bongi, G., Mencuccini, M. and Fontanazza, G., 1987. Photosynthesis of olive leaves: effect of light flux density, leaf age, temperature, peltates, and H₂O vapor pressure deficit on gas exchange. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 112(1):143-148.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2): 248-254.
- Camejo, D., Rodríguez, P., Morales, M.A., Dell'Amico, J.M., Torrecillas, A. and Alarcón, J.J., 2005. High temperature effects on photosynthetic activity of two tomato cultivars with different heat susceptibility. *Journal of plant physiology*, 162(3): 281-289.
- Camerini, F., Bartolozzi, F., Vergari, G. and Fontanazza, G., 1997, September. Analysis of the effects of ten years of mechanical pruning on the yield and certain morphological indexes in an olive orchard. In III International Symposium on Olive Growing 474: 203-208.
- Chausser-Volfson, E., Gutterman, Y. and Scott, P.D., 2004. Influences of leaf pruning on the content of the secondary phenolic metabolites barbaloin, aloeresin and aloenin, in the leaves of *Aloe arborescens*. *South African Journal of Botany*, 70(4): 82-586.
- Daie, J., 1985. Carbohydrate Partitioning and Metabolism in Crops!. *Horticultural Reviews*, 69-108.
- Davarpanah, S., Tehranifar, A., Abadía, J., Val, J., Davarynejad, G., Aran, M. and Khorassani, R., 2018. Foliar calcium fertilization reduces fruit cracking in pomegranate (*Punica granatum* cv. Ardestani). *Scientia Horticulturae*, 230: 86-91.
- Davise, F.S. and Albrigo, L.G. 1994. Citrus. CAB international press, wallington, UK. P. 9814.
- Diaz-Espejo, A., Walcroft, A.S., Fernández, J.E., Hafidi, B., Palomo, M.J. and Girón, I.F., 2006. Modeling photosynthesis in olive leaves under drought conditions. *Tree Physiology*, 26(11): 1445-1456.
- Du, J.B., Yuan, S., Chen, Y.E., Sun, X., Zhang, Z.W., Xu, F., Yuan, M., Shang, J. and Lin, H.H., 2011. Comparative expression analysis of dehydrins between two barley varieties, wild barley and Tibetan hulless barley associated with different stress resistance. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(2): 567-574.
- Elfadl, M.A. and Luukkanen, O., 2003. Effect of pruning on *Prosopis juliflora*: considerations for tropical dryland agroforestry. *Journal of Arid Environments*, 53(4): 441-455.
- Fao. 2010. Olive gap manual good agricultural practices for the near east north Africa countries.
- Fini, A., Frangi, P., Faoro, M., Piatti, R., Amoroso, G. and Ferrini, F., 2015. Effects of different pruning methods on an urban tree species: A four-year-experiment scaling down from the whole tree to the chloroplasts. *Urban Forestry and Urban Greening*, 14(3): 664-674.
- García-Ortiz, A., Humanes, J., Pastor, M., Morales, J. and Fernández, A., 2008. Poda. El cultivo del olivo, 6: 240-295.
- Hanson, A.D. and Hitz, W.D., 1982. Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. *Annual Review of plant physiology*, 33(1):163-203.
- Hashempour, A., Ghazvini, R.F., Bakhshi, D., Aliakbar, A., Papachatzis, A. and Kalorizou, H., 2010. Characterization of virgin olive oils (*Olea europaea* L.) from three main Iranian cultivars, 'Zard', 'Roghani' and 'Mari' in Kazeroon Region. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 24(4): 2080-2084.
- Haworth, M., Marino, G., Brunetti, C., Killi, D., De Carlo, A. and Centritto, M., 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(4): 76.
- Human, M.A. and Bindon, K.A., 2008. Interactive effect of ethephon and shading on the anthocyanin composition of *Vitis vinifera* L. cv. Crimson Seedless. *South African journal for enology and viticulture*, 29(1): 50.
- Imai, K., Suzuki, Y., Mae, T. and Makino, A., 2008. Changes in the synthesis of Rubisco in rice leaves in relation to senescence and N influx. *Annals of Botany*, 101(1): 135-144.
- Irigoyen, J.J., Einerich, D.W. and Sánchez-Díaz, M., 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia plantarum*, 84(1): 55-60.

- Jones, F., Kerslake, L., Damberg, R.G. and D.C. Close, J.E. 2018. Spur pruning leads to distinctly different phenolic profiles of base sparkling wines than cane pruning. *Vitis*, 57: 103-109.
- Katul, G., Manzoni, S., Palmroth, S. and Oren, R., 2010. A stomatal optimization theory to describe the effects of atmospheric CO₂ on leaf photosynthesis and transpiration. *Annals of botany*, 105(3): 431-442.
- Lal, B. and Mishra, D., 2007. Effect of pruning on growth and bearing behaviour of mango cv. Chausa. *Indian Journal of Horticulture*, 64(3): 268-270.
- Lavee, S. 2006. Biennial bearing in olive (*Olea europaea* L.). *Annales Series Historia Naturalis*, 25: 5-13.
- Laužikė, K., Sirgedaitė-Šėžienė, V., Uselis, N. and Samuolienė, G., 2020. the impact of Stress caused By Light penetration and Agrotechnological tools on photosynthetic Behavior of Apple trees. *Scientific Reports*, 10(1): 9177.
- Mendes, R.J., Mariz-Ponte, N., Correia, C.V., Dias, M.C., De Sousa, M.L., Tavares, F. and Santos, C., 2020. Fire blight management: Physiological assessment of cultural control by pruning in pear orchards. *Agriculture*, 66(3): 128-136.
- Moreno, J., García-Murria, M.J. and Marín-Navarro, J., 2008. Redox modulation of Rubisco conformation and activity through its cysteine residues. *Journal of Experimental Botany*, 59(7): 1605-1614.
- Murti, G.S.R. and Upreti, K.K., 2003. Endogenous hormones and phenols in rootstock seedlings of mango cultivars and their relationship with seedling vigour. *European Journal of Horticultural Science*, 68(1): 2-7.
- Nie, Z., Wang, X., Wang, Y., Ma, J., Wei, X. and Chen, D., 2017. Effects of pruning intensity on jujube transpiration and soil moisture of plantation in the Loess Plateau. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 52, No. 1, p. 012048). IOP Publishing.
- Raymond, J., Rakariyatham, N. and Azanza, J.L., 1993. Purification and some properties of polyphenoloxidase from sunflower seeds. *Phytochemistry*, 34(4): 927-931.
- Reich, P.B., Walters, M.B., Krause, S.C., Vanderklein, D.W., Raffe, K.F. and Tabone, T., 1993. Growth, nutrition and gas exchange of *Pinus resinosa* following artificial defoliation. *Trees*, 7: 67-77.
- Ruiz-García, Y. and Gómez-Plaza, E., 2013. Elicitors: A tool for improving fruit phenolic content. *Agriculture*, 3(1): 33-52.
- Rodrigues, M.Â., Lopes, J.I., Ferreira, I.Q. and Arrobas, M., 2018. Olive tree response to the severity of pruning. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 42(2): 103-113.
- Santos, C., Pereira, A., Pereira, S. and Teixeira, J., 2004. Regulation of glutamine synthetase expression in sunflower cells exposed to salt and osmotic stress. *Scientia Horticulturae*, 103(1): 101-111.
- Seo, M., Peeters, A.J., Koiwai, H., Oritani, T., Marion-Poll, A., Zeevaert, J.A., Koornneef, M., Kamiya, Y. and Koshiwa, T., 2000. The Arabidopsis aldehyde oxidase 3 (AAO3) gene product catalyzes the final step in abscisic acid biosynthesis in leaves. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(23): 12908-12913.
- Singh, S.K. and Sharma, R.R., 2009. Endogenous phytohormones after pruning in three mango cultivars planted under high density. *Indian Journal of Plant Physiology*, 14(4): 392-396.
- Singleton, V.L. and Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3): 144-158.
- Spayd, S.E., Tarara, J.M., Mee, D.L. and Ferguson, J.C., 2002. Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot berries. *American journal of enology and viticulture*, 53(3): 171-182.
- Sun, R.Z., Cheng, G., Li, Q., He, Y.N., Wang, Y., Lan, Y.B., Li, S.Y., Zhu, Y.R., Song, W.F., Zhang, X. and Cui, X.D., 2017. Light-induced variation in phenolic compounds in Cabernet Sauvignon grapes (*Vitis vinifera* L.) involves extensive transcriptome reprogramming of biosynthetic enzymes, transcription factors, and phytohormonal regulators. *Frontiers in Plant Science*, 8: 547.
- Suzuki, Y., Kihara-Doi, T.O.M.O.N.O.R.I., Kawazu, T., Miyake, C. and Makino, A., 2010. Differences in Rubisco content and its synthesis in leaves at different positions in *Eucalyptus globulus* seedlings. *Plant, cell & environment*, 33(8): 1314-1323.
- Talhaoui, N., Taamalli, A., Gómez-Caravaca, A.M., Fernández-Gutiérrez, A. and Segura-Carretero, A., 2015. Phenolic compounds in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. *Food Research International*, 77: 92-108.

- Turnbull, T.L., Adams, M.A. and Warren, C.R., 2007. Increased photosynthesis following partial defoliation of field-grown *Eucalyptus globulus* seedlings is not caused by increased leaf nitrogen. *Tree Physiology*, 27(10): 1481-1492.
- Vats, S., Tiwari, R., Alam, A., Behera, K.K. and Pareek, R., 2012. Evaluation of phytochemicals, antioxidant and antimicrobial activity of *in vitro* culture of *Vigna unguiculata* (L.) walp. *Researcher*, 4: 70-74.
- Vicente, R., Morcuende, R. and Babiano, J., 2011. Differences in rubisco and chlorophyll content among tissues and growth stages in two tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) varieties. *Agronomy Research*, 9: 501-507.
- Yamashita, T. and Fuzino, A. 1986. Effects of pruning of young and old shoots on ribulose biphosphate carboxylase and other constituents in leaves of the mulberry tree (*Morus alba* L.). *Journal of Experimental Botany*, 37: 1836-1841.
- Zandalinas, S.I., Rivero, R.M., Martínez, V., Gómez-Cadenas, A. and Arbona, V., 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 abscisic acid levels. *BMC plant biology*, 16: 1-16.