مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی
جلد پنجم، شماره سوم، پاییز ۹۱
۱۵۶-۱۴۵
http://ejcp.gau.ac.ir

اثرات طول دوره غرقابی و دما بر خصوصیات رویشی و فعالیت آنزیم‌های گلیکولیتیک- تخمیری در گیاهچه پنبه (*Gossypium hirsutum* L.)

***نیلوفر سلامتی[۱]، سراله گالشی[۲]، افشین سلطانی[۲] و حمیدرضا صادقی‌پور[۳]**

[۱]دانش‌آموخته کارشناس‌ارشد رشته زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۲]استاد گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع‌طبیعی گرگان، [۳]دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه گلستان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۶/۲۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۵/۰۴

چکیده

تنش غرقابی یکی از مشکلات کشت پنبه در مناطق پرباران می‌باشد که در مراحل اولیه تأثیر نامطلوبی بر رشد گیاه می‌گذارد. به‌طوری‌که با وقوع بارندگی در اوایل تا اواسط فصل بهار در مزارع بدون زه‌کش مناسب، حالت غرقابی ایجاد می‌گردد. همچنین با وقوع بارش دمای خاک و محیط نیز کاهش می‌یابد. به‌منظور بررسی اثرات طول دوره غرقابی و دما بر خصوصیات رویشی و فعالیت آنزیم‌های گلیکولیتیک- تخمیری در پنبه، آزمایشی در آزمایشگاه و گلخانه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل طول دوره غرقابی (۰، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت) و دما (۱۶، ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد) بودند. نتایج نشان داد که سطح برگ، ارتفاع و وزن خشک بوته، کلروفیل و نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس حداکثر با افزایش طول دوره غرقابی از ۰ به ۹۶ ساعت و کاهش دما از ۲۵ به ۱۶ درجه سانتی‌گراد کاهش یافتند؛ گرچه اثر متقابل طول دوره غرقابی و دما تنها بر سطح برگ، ارتفاع و وزن خشک بوته معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که آنزیم‌های الکل دهیدروژناز و فروکتوز ۱و۶ بیس فسفات آلدولاز تحت‌تأثیر طول دوره غرقابی و دما قرار گرفتند؛ اما اثر متقابل طول دوره غرقابی و دما تنها بر فعالیت آنزیم فروکتوز ۱و۶ بیس فسفات آلدولاز معنی‌دار بود. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری نمود که در شرایط غرقابی، با کاهش دما رشد پنبه نیز کاهش می‌یابد. همچنین با توجه به این‌که فعالیت آنزیم‌های الکل دهیدروژناز و فروکتوز ۱و۶ بیس فسفات آلدولاز در شرایط غرقابی روند افزایشی را نشان می‌دهند می‌توانیم از این دو آنزیم به‌عنوان مارکر و نشانگر مناسب برای تعیین ارقام و ژنوتیپ‌های مقاوم به غرقابی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های گلیکولیتیک- تخمیری، پنبه، خصوصیات رویشی، دما، غرقابی

* مسئول مکاتبه: niloofarsalamati@yahoo.com

مقدمه

غرقابی یکی از محدودیت‌های اصلی تولید پنبه محسوب می‌شود. پنبه از جمله گیاهانی است که حساسیت زیادی به شرایط غرقابی از خود نشان می‌دهد به‌گونه‌ای که عملکرد آن در خاک‌های غرقاب، از ٤٠-١٠ درصد کاهش می‌یابد (بنگ و همکاران، ٢٠٠٤). کشت پنبه بیش‌تر در اراضی دارای خاک‌های سنگین انجام می‌شود. به همین دلیل با وقوع بارندگی و یا انجام آبیاری، تنش غرقابی در این اراضی اتفاق می‌افتد. حدود ١١ درصد از عملکرد پنبه هر ساله در اثر تنش غرقابی از بین می‌رود (سقیب و همکاران، ٢٠٠٤). همچنین بالا آمدن سطح آب از عمق ٣-١ متر به کم‌تر از ١ متر، عملکرد محصول پنبه را به‌میزان ٦٠-١١ درصد کاهش می‌دهد (کافی و همکاران، ٢٠٠٩). حساسیت پنبه به دماهای پایین نیز زیاد می‌باشد و وقوع یخبندان به‌شدت به محصول آسیب می‌زند. به‌طوری‌که دماهای پایین به‌ویژه در مراحل اولیه جذب آب و آماس بذر اثرات نامطلوبی بر جوانه‌زنی بذر و رشد و نمو پنبه دارد. بولک (٢٠٠٦) گزارش نمود در صورتی‌که تولیدکنندگان پنبه کشت این محصول را تا زمان مساعد شدن دمای خاک برای سبز شدن و استقرار گیاهچه به تاخیر بیاندازند با کاهش کیفیت بذر و کاهش الیاف مواجه می‌گردند و برعکس در صورتی‌که تولیدکنندگان کشت زودهنگام این محصول را انجام دهند سبز شدن و استقرار گیاهچه به‌دلیل کاهش دمای خاک با خطرات زیادی مواجه می‌شود. تنش غرقابی همچنین موجب کاهش تعداد و سطح برگ، کاهش سرعت فتوسنتز و تولید ماده خشک در بافت‌های گیاهی می‌گردد (گالشی و همکاران، ٢٠٠٠). ادمیستن (٢٠٠١) نیز کاهش رشد پنبه در شرایط غرقابی را گزارش نموده است. همچنین در مطالعه‌ای کاهش توسعه بخش هوایی گیاه در اثر کاهش اکسیژن در شرایط غرقابی گزارش شده است (بریسون و همکاران، ٢٠٠٢). سطح برگ (بنگ و همکاران، ٢٠٠٤) و وزن خشک بوته پنبه (کریستیانسون و همکاران، ٢٠١٠) در شرایط غرقابی به‌میزان قابل‌توجهی کاهش می‌یابد. علت جلوگیری از رشد بخش هوایی و طویل شدن ساقه در شرایط بی‌هوازی، کمبود نیتروژن و سایر مواد غذایی و نیز اثر بازدارندگی اتیلن گزارش شده است (گالشی و همکاران، ٢٠٠٩). همچنین کاهش تولید کربوهیدرات‌ها و انرژی مورد نیاز برای طویل شدن ساقه در شرایط غرقابی گزارش شده است (کافی و همکاران، ٢٠٠٩). علت کاهش سطح برگ در دماهای پایین، کاهش فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی و کاهش فتوسنتز خالص گزارش شده است (شارکی و همکاران، ٢٠٠١). کوناتی و همکاران (٢٠٠٨) کاهش بیان ژن‌های مسئول فتوسنتز و سنتز کلروفیل در شرایط غرقابی در برگ‌های پنبه را پس از دوره غرقابی ٢٤ ساعت گزارش نموده‌اند. همچنین در شرایط غرقابی روزنه‌ها بسته شده و کارآیی کوانتومی فتوسیستم II کاهش می‌یابد (الس و همکاران،

۲۰۰۹). کاهش دما نیز موجب کاهش کارآیی کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m) در اثر کاهش انتقال الکترون در فتوستز می‌گردد. زیرا کاهش دما با از بین رفتن استحکام غشای تیلاکوئید، انتقال الکترون در فتوسیستم II و نسبت F_v/F_m ارتباط مستقیم دارد (نتو و همکاران، ۲۰۰۵). در شرایط غرقابی به‌دلیل کمبود اکسیژن و محدود شدن فسفوریلاسیون ATP، تنفس بی‌هوازی به‌واسطه مسیر گلیکولیز و نیز فعالیت آنزیم‌های گلیکولیتیک افزایش می‌یابند. فوکو و همکاران (۲۰۰۳) افزایش فعالیت آنزیم الکل دهیدروژناز را در گیاهان تحت شرایط غرقابی گزارش نموده‌اند. وارتاپتیان (۲۰۰٦) نیز افزایش تولید اتانول در سلول‌های گیاهی را برای افزایش مقاومت به شرایط بی‌هوازی گزارش نموده است. افزایش بیان ژن آنزیم الکل دهیدروژناز در پنبه تا ٤٨ ساعت غرقاب توسط کریستیانسون و همکاران (۲۰۱۰) گزارش شده است. همچنین سینگلا و همکاران (۲۰۰۳) گزارش نمودند که فعالیت آنزیم فروکتوز ۱ و ٦ بیس فسفات آلدولاز در ریشه‌های گیاهچه‌های سورگوم غرقاب شده در حدود ۲۵-۱۰ درصد افزایش می‌یابد. فعالیت این آنزیم پس از ۷۲ ساعت در ریشه‌های این گیاهان در مقایسه با شاهد ۲ برابر می‌شود. همچنین غرقابی موجب افزایش قابل‌توجه فعالیت این آنزیم در برگ‌های این گیاهان می‌گردد. افزایش فعالیت آنزیم فروکتوز ۱و٦ بیس فسفات آلدولاز با افزایش دما نیز توسط زو و هانگ (۲۰۰۸) گزارش شده است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات طول دوره غرقابی و دما بر خصوصیات رویشی و فعالیت آنزیم‌های گلیکولیتیک- تخمیری (آنزیم‌های الکل دهیدروژناز و فروکتوز ۱و٦ بیس فسفات آلدولاز) در گیاهچه پنبه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در آزمایشگاه فیزیولوژی و گلخانه دانشکده علوم زراعی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در قالب تجزیه مرکب با طرح پایه کاملاً تصادفی در ٤ تکرار انجام گرفت. تیمارهای مورد مطالعه شامل طول دوره غرقابی (۰، ۲٤، ٤٨ و ۹٦ ساعت) و دما (۱٦، ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد) بودند. در این آزمایش هر دما به‌عنوان یک مکان در نظر گرفته شد. برای انجام این آزمایش ابتدا بذور پنبه از مؤسسه تحقیقات پنبه کشور تهیه شد. سپس برای تهیه خاک مورد نیاز، از پرلیت و خاک (به نسبت ۱ به ۲) استفاده گردید. این خاک دارای ۲۸ درصد رس، ٦۲ درصد سیلت و ۱۰ درصد شن بود. همچنین درصد رطوبت اشباع خاک (٤۹ درصد)، هدایت الکتریکی (۰/۸ دسی‌زیمنس بر متر) و وزن مخصوص ظاهری خاک (۱/۷ گرم در سانتی‌مترمکعب) توسط آزمون خاک تعیین گردید. سپس بذور پنبه که قبلاً جوانه‌دار شده بودند به تعداد ۱۰ بذر در گلدان‌هایی با قطر دهانه ۲۵ سانتی‌متر و و

ارتفاع ۱۷ سانتی‌متر کشت شدند. پس از رسیدن بوته‌ها به مرحله ٤ برگ حقیقی، گلدان‌ها برای اعمال تیمارهای طول دوره غرقابی (۰، ٢٤، ٤٨ و ٩٦ ساعت) و دما (١٦، ٢٠ و ٢٥ درجه سانتی‌گراد) در اتاقک رشد مدل WEISS TECHNIK-QS قرار داده شدند. پس از اعمال تیمارهای موردنظر گلدان‌ها خارج شده و سپس شاخص کلروفیل آن‌ها با دستگاه کلروفیل‌متر مدل SPAD-502 اندازه‌گیری شد. به این منظور پس از اعمال تیمارهای طول دوره غرقابی و دما، ابتدا دستگاه کلروفیل‌متر کالیبره شده و سپس شاخص کلروفیل از برگ بالایی هر تیمار براساس واحد اسپاد از دستگاه قرائت شد. برای اندازه‌گیری پارامترهای فلورسانس کلروفیل نیز از دستگاه کلروفیل فلئوریمتر مدل OS-30 استفاده گردید. به این منظور پس از اعمال تیمارهای موردنظر، قسمتی از پهنک‌برگ بالایی هر تیمار با استفاده از گیره‌های مخصوصی به‌مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی نگهداری شدند. پس از آن با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری فلورسانس، نور قرمزی به طول موج کم‌تر از ٦٢٠ نانومتر به برگ تابیده شد. سپس مقادیر F_0 و F_m توسط دستگاه اندازه‌گیری شده و با استفاده از آن‌ها مقادیر F_v/F_m از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$F_v / F_m = (F_m - F_0) / F_m \qquad (۱)$$

که در آن، F_0: فلورسانس اولیه، F_m: فلورسانس حداکثر و F_v: فلورسانس متغیر می‌باشد.

همچنین برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های الکل دهیدروژناز و فروکتوز ۱و٦ بیس فسفات آلدولاز به روش فوکو و همکاران (۲۰۰۳)، پس از اعمال تیمارهای غرقابی و دما، چند برگ از گیاه به‌عنوان نمونه از تیمارهای مختلف برداشت شد. سپس برگ‌ها به‌سرعت در نیتروژن مایع فریز شده و به دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. در زمان اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم‌ها پس از خارج نمودن نمونه‌ها از فریزر، آن‌ها را توسط هاون سرد خرد کرده و پس از افزودن بافر استخراج به آن‌ها به درون سانتریفیوژ با دمای ٤ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس از فاز شفاف محلول‌های موردنظر برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد. افزایش جذب نور در طول موج‌های ٣٤٠ و ٣٢٤ نانومتر به‌ترتیب برای آنزیم‌های الکل دهیدروژناز و فروکتوز ۱و٦ بیس فسفات آلدولاز در مدت زمان ۳ دقیقه اندازه‌گیری شد. برای محاسبه فعالیت آنزیم‌ها از تغییرات جذب نور در یک دقیقه اول واکنش استفاده شد. فعالیت آنزیم الکل دهیدروژناز با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (صادقی‌پور، ۲۰۰۲):

$$\text{فعالیت} = \frac{10^9}{\varepsilon}\left(\frac{V_3 \times V_1}{V_2}\right)\frac{dA}{dt} \qquad (۲)$$

که در آن، فعالیت: آنزیم الکل دهیدروژناز بر حسب نانومول بر دقیقه بر گرم وزن تر برگ، ε: ضریب خاموشی آنزیم الکل دهیدروژناز (برابر با ٦٢٢٠٠) بر حسب لیتر در میلی‌مول در سانتی‌متر، V_1: حجم کل عصاره آنزیمی استخراج شده بر حسب میلی‌لیتر، V_2: حجم عصاره آنزیمی به‌کار رفته در مخلوط واکنش بر حسب میلی‌لیتر، V_3: حجم مخلوط واکنش بر حسب میلی‌لیتر، dA: تغییرات جذب نور و dt: تغییرات زمان بر حسب دقیقه می‌باشند. فعالیت آنزیم فروکتوز ١و٦ بیس فسفات آلدولاز نیز با استفاده از رابطه dA/dt (تغییرات جذب در برابر زمان) محاسبه گردید.

در پایان آزمایش (مرحله ٦ برگ حقیقی) نیز، سطح برگ، ارتفاع و وزن خشک بوته‌ها مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و در قالب طرح آماری موردنظر انجام شد. میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون حداقل اختلافات معنی‌دار (LSD) در سطح ٥ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس (جدول ١) نشان داد که اثر هر دو تیمار طول دوره غرقابی و دما بر سطح برگ، ارتفاع بوته، وزن خشک بوته، کلروفیل و نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس حداکثر (F_v/F_m) و در سطح ٥ و ١ درصد معنی‌دار بود اما اثر متقابل طول دوره غرقابی و دما تنها بر سطح برگ، ارتفاع بوته و وزن خشک بوته و در سطح ١ درصد معنی‌دار نشان داد.

جدول ١- تجزیه واریانس سطح برگ، ارتفاع بوته، وزن خشک بوته، کلروفیل و نسبت F_v/F_m در سطوح مختلف غرقابی و دما.

منابع تغییر	درجه آزادی	سطح برگ	ارتفاع بوته	وزن خشک بوته	کلروفیل	نسبت F_v/F_m
دما	٢	٣٣٧١/٤٢**	١٧٤/٤٨**	٠/٢٣٩٣٠**	٩/٩٩*	٠/٠٠٠٧٦**
اشتباه ١	٩	١/٧٩^{ns}	٠/٠٢^{ns}	٠/٠٠٠٠٥^{ns}	٢/٤٩^{ns}	٠/٠٠٠٠٩*
طول دوره غرقابی	٣	١١٠/٤٦**	٢٣/٩٢**	٠/٠٢٢٨**	١٠/٤٥**	٠/٠٠٠٩٢**
طول دوره غرقابی × دما	٦	٤٥/٠٩**	٣/٩٩**	٠/٠٠٥٨٠**	١/٠١^{ns}	٠/٠٠٠٠٢^{ns}
اشتباه ٢	٢٧	٤/٤٧	٠/٠٣	٠/٠٠٠٠٤	١/٩٠	٠/٠٠٠٠٣
ضریب تغییرات (درصد)		١/٤٥	٠/٦٤	٠/٥٢	٤/٢٨	٠/٧٩

*معنی‌دار در سطح احتمال ٥ درصد، **معنی‌دار در سطح احتمال ١ درصد و ^{ns}غیرمعنی‌دار.

نتایج مقایسه میانگین (جدول ۲) نشان داد که با افزایش طول دوره غرقابی در دمای ۱٦ درجه سانتی‌گراد اختلاف معنی‌داری در سطح برگ پنبه مشاهده نشد. در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش طول دوره غرقابی از سطح برگ پنبه کاسته گردید به‌طوری‌که تیمار شاهد با میانگین ۷۸/۷٦ سانتی‌مترمربع در بوته بیش‌ترین سطح برگ را نشان داد که اختلاف آن از نظر آماری با تیمار ۲٤ ساعت غرقاب معنی‌دار نبود. همچنین تیمارهای ٤۸ و ۹٦ ساعت غرقاب کم‌ترین میزان سطح برگ را نشان دادند. یکی از دلایل فیزیولوژیک کاهش رشد در شرایط غرقابی، ممکن است اختلال در سیستم فتوسنتزی گیاه باشد. کاهش سطح برگ با افزایش طول دوره غرقابی را می‌توان به‌دلیل بسته شدن روزنه‌ها، کاهش کارآیی فتوسیستم II و نیز کاهش فتوسنتز در شرایط بی‌هوازی بیان نمود. همچنین علت بسته شدن روزنه‌ها و کاهش کارآیی کوانتومی فتوسیستم II در شرایط غرقابی می‌تواند در اثر کاهش انتقال هورمون‌های سیتوکینین و ژیبرلین از ریشه‌ها به بخش‌های هوایی باشد زیرا میزان این هورمون‌ها که موجب تحریک باز شدن روزنه‌ها می‌گردند در شرایط غرقابی کاهش می‌یابد. در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نیز، تیمارهای شاهد و ۹٦ ساعت غرقاب با میانگین‌های ۹۰/۰۳ سانتی‌مترمربع در بوته و ۷٤/۸۰ سانتی‌مترمربع در بوته به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین سطح برگ را نشان دادند.

علت جلوگیری از رشد بخش هوایی و کاهش سطح برگ در دمای پایین را می‌توان به‌دلیل کاهش فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی و کاهش فتوسنتز خالص در این شرایط بیان نمود. زیرا با کاهش دما کارآیی کوانتومی فتوسیستم II و انتقال الکترون در فتوسنتزکاهش می‌یابد. همچنین کاهش دما با از بین رفتن استحکام غشای تیلاکوئید و انتقال الکترون در فتوسیستم II ارتباط مستقیم دارد.

در این آزمایش مشخص شد که طول دوره غرقابی اثرات نامطلوبی بر سطح برگ، تولید و انتقال کربوهیدرات‌ها و در نتیجه تولید ماده خشک در بافت‌های گیاهی می‌گذارد. این نتایج با یافته‌های سالووسی و کرافت‌براندنر (۲۰۰٤) و بنگ و همکاران (۲۰۰٤) مطابقت داشت. نتایج مقایسه میانگین به‌دست آمده از اثر طول دوره غرقابی و دما بر ارتفاع بوته پنبه نشان داد که با افزایش طول دوره غرقابی از ۰ به ۹٦ ساعت ارتفاع بوته پنبه نیز کاهش یافت و این کاهش در هر سه دمای ۱٦، ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد معنی‌دار بود. به‌طوری‌که در دمای ۱٦ درجه سانتی‌گراد، بیش‌ترین ارتفاع بوته به تیمار شاهد و با میانگین ۲۷/۷۵ سانتی‌متر و کم‌ترین آن به تیمار ۹٦ ساعت غرقاب و با میانگین ۲٤/۰۳ سانتی‌متر تعلق داشت. در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نیز بیش‌ترین ارتفاع بوته به تیمارهای شاهد و ۲٤ ساعت و کم‌ترین آن نیز به تیمار ۹٦ ساعت و با میانگین ۲۷/۷۲ سانتی‌متر تعلق داشت. همچنین در

دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، بیش‌ترین ارتفاع بوته در تیمار شاهد مشاهده شد (۳۲/۸۷ سانتی‌متر) که اختلافش با تیمار ۲٤ ساعت غرقاب معنی‌دار نبود. کم‌ترین ارتفاع بوته نیز در این دما در تیمار ۹٦ ساعت و با میانگین ۳۰/۰۱ سانتی‌متر مشاهده گردید. علت جلوگیری از رشد بخش هوایی و طویل شدن ساقه در شرایط بی‌هوازی را می‌توان به کمبود نیتروژن و سایر مواد غذایی و نیز اثر بازدارندگی اتیلن در این شرایط نسبت داد. همچنین نتایج نشان داد که افزایش طول دوره غرقابی و کاهش دما موجب کاهش وزن خشک بوته پنبه شد. نتایج نشان داد که در دمای ۱٦ درجه سانتی‌گراد، بیش‌ترین وزن خشک بوته به تیمار شاهد و با میانگین ۱/۱۷۱ گرم در بوته و کم‌ترین آن به تیمار ۹٦ ساعت غرقاب و با میانگین ۰/۹۹۳ گرم در بوته تعلق داشت. در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نیز بیش‌ترین وزن خشک بوته در تیمار شاهد و با میانگین ۱/۳٤ گرم در بوته و کم‌ترین آن در تیمار ۹٦ ساعت غرقاب و با میانگین ۱/۲۹ گرم در بوته مشاهده گردید. همچنین وزن خشک بوته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد همانند دو دمای دیگر در تیمارهای شاهد و ۹٦ ساعت غرقاب با میانگین‌های ۱/۳۸ و ۱/۰۳ گرم در بوته بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار را نشان داد. کاهش وزن خشک بوته پنبه در شرایط غرقابی توسط کریستیانسون و همکاران (۲۰۱۰) گزارش شده است.

دلیل کاهش وزن خشک بوته پنبه به‌دنبال کاهش سطح برگ و کاهش ارتفاع بوته با افزایش طول دوره غرقابی را می‌توان به‌علت کاهش توان فتوسنتزی و کارایی استفاده از نور درگیاه بیان نمود. به‌طوری‌که در شرایط غرقابی با کاهش توان فتوسنتزی گیاه و سرعت فتوسنتز از سطح برگ گیاه کاسته شده که این امر با تأثیر بر تولید و انتقال کربوهیدرات‌ها، در نهایت موجب کاهش وزن خشک بوته این گیاه شده است.

جدول ۲- مقایسه میانگین سطح برگ، ارتفاع و وزن خشک بوته در سطوح مختلف غرقابی و دما.

		سطح برگ (سانتی‌مترمربع در بوته)			ارتفاع بوته (سانتی‌متر)			وزن خشک بوته (گرم در بوته)		
	دما (درجه سانتی‌گراد)	۱٦	۲۰	۲۵	۱٦	۲۰	۲۵	۱٦	۲۰	۲۵
غرقابی (ساعت)	۰	۵۷/٤۲^{a}	۷۸/۷٦^{a}	۹۰/۰۳^{a}	۲۷/۷۵^{a}	۳۲/۷۳^{a}	۳۲/۸۷^{a}	۱/۱۷۱^{a}	۱/۳٤^{a}	۱/۳۸^{a}
	۲٤	۵٦/۷٤^{a}	۷۸/۵۹^{a}	۸۷/۹۹^{b}	۲٦/۲۷^{b}	۳۲/۷۲^{a}	۳۲/۸۵^{a}	۱/۱۵۷^{b}	۱/۳۳^{b}	۱/۳۳^{b}
	٤۸	۵۵/۹٦^{a}	۷۵/۸^{b}	۸٤/۸٤^{c}	۲٦/۰۷^{b}	۳۰/۷۲^{b}	۳۲/٦^{b}	۱/۱۵۳^{b}	۱/۳۰^{c}	۱/۳۳^{b}
	۹٦	۵۵/۸۹^{a}	۷٤/۷۸^{b}	۷٤/۸^{d}	۲٤/۰۳^{c}	۲۷/۷۲^{c}	۳۰/۰۱^{c}	۰/۹۹۳^{c}	۱/۲۹^{d}	۱/۰۳^{c}

*براساس آزمون LSD میانگین‌های هر ستون دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌دار ندارند.

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر طول دوره غرقابی و دما بر فعالیت آنزیم‌های الکل دهیدروژناز و فروکتوز ۱و٦ بیس فسفات آلدولاز در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود اما اثر متقابل طول دوره غرقابی و دما تنها بر فعالیت آنزیم فروکتوز ۱و٦ بیس فسفات آلدولاز در سطح ۱ درصد معنی‌دار نشان داد.

جدول ۳- تجزیه واریانس فعالیت آنزیم‌های الکل دهیدروژناز و فروکتوز ۱و٦ بیس فسفات آلدولاز در سطوح مختلف غرقابی و دما.

منابع تغییر	درجه آزادی	فعالیت آنزیم الکل دهیدروژناز	فعالیت آنزیم فروکتوز۱و٦ بیس فسفات
دما	۲	۰/۱۷۳**	۰/۰٦۷**
اشتباه ۱	۹	۰/۰۰۳^{ns}	۰/۰۰۰۷^{ns}
طول دوره غرقابی	۳	۰/۳۷٤**	۰/۰۵۷**
طول دوره غرقابی × دما	٦	۰/۰۰۱^{ns}	۰/۰۰۷**
اشتباه ۲	۲۷	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰٤
ضریب تغییرات (درصد)		۵/٦۲	۷/۵۹

* معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و ^{ns} غیرمعنی‌دار.

نتایج مقایسه میانگین (جدول ٤) فعالیت آنزیم فروکتوز ۱و٦ بیس فسفات آلدولاز در سطوح مختلف غرقابی و دما نشان داد که با افزایش طول دوره غرقابی فعالیت این آنزیم افزایش یافت و این افزایش در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نسبت به دو دمای دیگر بیش‌تر قابل مشاهده بود. علت افزایش فعالیت این آنزیم در دمای بالاتر نسبت به دماهای پایین‌تر را می‌توان به‌دلیل افزایش سرعت واکنش‌های شیمیایی و نیز افزایش تقاضای گیاه برای کسب انرژی در اثر افزایش دما بیان نمود. نتایج نشان داد که در دمای ۱٦ درجه سانتی‌گراد میزان فعالیت آنزیم فروکتوز ۱و٦ بیس فسفات آلدولاز در تیمار شاهد ۰/۱۷٦ (ΔOD بر دقیقه بر گرم) بود که با افزایش طول دوره غرقابی فعالیت آنزیم نیز افزایش یافت به‌طوری‌که در تیمار ٤۸ ساعت طول دوره غرقابی فعالیت این آنزیم به حداکثر میزان خود (۰/۲۵۰ ΔOD بر دقیقه بر گرم) رسید. در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نیز با افزایش طول دوره غرقابی میزان فعالیت این آنزیم افزایش یافت به‌طوری‌که میزان فعالیت آن همانند دمای ۱٦ درجه

سانتی‌گراد در تیمار ٤٨ ساعت غرقابی به حداکثر میزان خود (ΔOD ۰/۳٤۳ بر دقیقه بر گرم) رسید اما با افزایش طول دوره غرقابی تا ۹٦ ساعت افزایش بیش‌تری در میزان آن مشاهده نشد. همچنین در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد میزان فعالیت این آنزیم از ۰/۲۰۲ (ΔOD بر دقیقه بر گرم) در تیمار شاهد به ۰/٤۳۸ (ΔOD بر دقیقه بر گرم) در تیمار ۹٦ ساعت غرقاب رسید. سینگلا و همکاران (۲۰۰۳) گزارش نمودند که فعالیت آنزیم فروکتوز ۱و٦ بیس فسفات آلدولاز در ریشه‌های گیاهچه‌های سورگوم غرقاب شده در حدود ۲۵-۱۰ درصد افزایش می‌یابد. فعالیت این آنزیم پس از ۷۲ ساعت در ریشه‌های این گیاهان در مقایسه با شاهد دو برابر می‌شود. همچنین غرقابی موجب افزایش قابل‌توجه فعالیت این آنزیم در برگ‌های این گیاهان می‌گردد. بر خلاف آنزیم الکل دهیدروژناز، اثرات متقابل دما و طول دوره غرقابی بر فعالیت آنزیم فروکتوز ۱و٦ بیس فسفات آلدولاز معنی‌دار بود. به‌عبارتی افزایش فعالیت آنزیم در شرایط غرقابی به‌خصوص در درجه حرارت‌های بالاتر چشم‌گیرتر بود. این امر می‌تواند ناشی از این باشد که این آنزیم صرفاً یک آنزیم تخمیری نبوده و در سایر شرایط فیزیولوژیکی غیر از شرایط بی‌هوازی نیز در سوخت‌وساز سلولی ایفای نقش می‌کند. به‌عبارتی اثر دما بر فعالیت این آنزیم نه تنها از طریق تأثیرات آن بر سوخت‌وساز بی‌هوازی بلکه از طریق اثرات مستقیم دما بر سایر فرآیندهایی که این آنزیم در آن ایفای نقش می‌کند نیز اعمال می‌گردد. همچنین افزایش فعالیت آنزیم فروکتوز ۱و٦ بیس فسفات آلدولاز با افزایش دما توسط زو و همکاران (۲۰۰۸) گزارش شده است.

جدول ٤- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم فروکتوز ۱و٦ بیس فسفات آلدولاز در سطوح مختلف غرقابی و دما.

		فعالیت آنزیم فروکتوز ۱ و٦ بیس فسفات آلدولاز (ΔOD بر دقیقه بر گرم)		
	دما (درجه سانتی‌گراد)	۱٦	۲۰	۲۵
غرقابی (ساعت)	۰	۰/۱۷٦^{b} ± ۰/۰۱۵۳	۰/۱۹۳^{b} ± ۰/۰۰۲۱	۰/۲۰۲^{c} ± ۰/۰۰٦٤
	۲٤	۰/۲۳۳^{a} ± ۰/۰۰۹۵	۰/۳۳۵^{a} ± ۰/۰۰٦۱	۰/۳۳۷^{b} ± ۰/۰۰۹۸
	٤۸	۰/۲۵۰^{a} ± ۰/۰۰٦۱	۰/۳٤۳^{a} ± ۰/۰۰٦۳	۰/٤۲۵^{a} ± ۰/۰۲۹۰
	۹٦	۰/۲۲۹^{a} ± ۰/۰۰۳۳	۰/۳۳٤^{a} ± ۰/۰۰۹۹	۰/٤۳۸^{a} ± ۰/۰۱۰۹

*براساس آزمون LSD میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌دار ندارند.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج، غرقابی و دمای پایین بر فاکتورهای رویشی پنبه اثرات منفی داشته است. بنابراین، در شرایط غرقابی در صورتی که دما کاهش یابد (دمای ١٦ درجه سانتی‌گراد) رشد پنبه بیش‌تر از زمانی‌که دما افزایش یابد (دماهای ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد) کاهش می‌یابد که دلیل این امر را می‌توان به‌علت کاهش جذب آب در دمای پایین توسط گیاه نسبت داد. همچنین با توجه به این‌که در حالت غرقابی، شرایط بی‌هوازی ایجاد می‌گردد میزان اکسیژن مورد نیاز گیاه به‌شدت کاهش می‌یابد. با توجه به حساسیت بالای پنبه به وقوع آب گرفتگی و ایجاد حالت غرقابی، محدودیت تهویه طولانی‌مدت منجر به کاهش فتوسنتز و در نتیجه کاهش رشد گیاه می‌گردد. کاهش فاکتورهای اندازه‌گیری شده (سطح برگ، ارتفاع و وزن خشک بوته) با افزایش طول دوره غرقابی نشان‌دهنده این امر می‌باشد. همچنین نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش طول دوره غرقابی فعالیت آنزیم الکل دهیدروژناز نیز افزایش یافت؛ اما اثرات متقابل طول دوره غرقابی و دما تنها بر فعالیت آنزیم فروکتوز ١و٦ بیس فسفات آلدولاز معنی‌دار بود زیرا این آنزیم صرفاً یک آنزیم تخمیری نبوده و در سایر شرایط فیزیولوژیکی غیر از شرایط بی‌هوازی نیز در متابولیسم سلولی ایفای نقش می‌کند. با توجه به این‌که آنزیم‌های الکل دهیدروژناز و فروکتوز ١و٦ بیس فسفات آلدولاز در شرایط غرقابی روند افزایشی را نشان می‌دهند می‌توان از این دو آنزیم به‌عنوان مارکر و نشانگر مناسب برای تعیین ارقام و ژنوتیپ‌های مقاوم به غرقابی استفاده نمود.

منابع

1.Bange, M.P., Milroy, S.P., and Thongbai, P. 2004. Growth and yield of cotton in response to waterlogging. Field Crop. Res., 88: 129-142.
2.Bolek, Y. 2006. Predicting cotton seedling emergence for cold tolerance: *Gossypium barbadense*. J. Agron. 5: 461-465.
3.Brisson, N., Rebiere, B., Zimmer, D., and Renalt, D. 2002. Response of the root system of winter wheat crop to waterlogging. Plant. Soil. 243: 43-55.
4.Christianson, J.A., Llewellyn, D.J., Dennis, E.S., and Wilson, L.W. 2010. Global Gene Expression Responses to Waterlogging in Roots and Leaves of Cotton (*Gossypium hirsutum* L.). Plant Cell Physiol. 51: 21-37.
5.Conaty, W.C., Tan, D.K.Y., Constable, G.A., Sutton, B.G., Field, D.J., and Mamum, E.A. 2008. Genetic Variation for Waterlogging Tolerance in Cotton. J. Cotton. Sci. 12: 53-61.

6.Edmisten, K. 2001. Planting Decision. North Carolina Cotton Production Guide. Web. Center for IPM NC State University.
7.Else, M.A., Franciszek, J., Atkinson, C.J., and Jackson, M.B. 2009. Root signals and stomatal closure in relation to photosynthesis, chlorophyll a fluorescence and adventitious rooting of flooded tomato plants. Ann. Bot. 103: 313-323.
8.Fukao, T., Kennedy, R.A., Yamasue, Y., and Rumpho, M.E. 2003. Genetic and biochemical analysis of anaerobically induced enzymes during seed germination of *Echinochloa crus-galli* varieties tolerant and intolerant of anoxia. J. Exp. Bot. 54: 1421-1429.
9.Galeshi, S., Modarres Sanavi, A.M., Heidari Sharifabad, H., and Tahmasebi Sarvestani, Z. 2000. Effect of waterlogging stress on biologic growth and stabilization of nitrogen in *Trifolium subterraneum*. J. Agric. Sci. and Natur. Res. 4: 107-112.
10.Galeshi, S., Torabi, B., Rassam, Gh., Rahemi, A., and Barzegar, A.B. 2009. Stress and stress coping in cultivated plants, 307p. (Translated in Persian)
11.Kafi, M., Borzooie, A., Salehi, M., Kamandi, A., Masoomi, A., and Nabati, J. 2009. Physiology of Environmental Stresses in Plants, 502p. (Translated in Persian)
12.Netto, A., Campostrini, E., Oliveira, J., and Bressan-Smith, R. 2005. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. Sci. Hortic. 104: 199-209.
13.Sadeghipour, H.R. 2002. Lypolysis and related phototransductive events in germinating sunflower seedlings. Ph.D. Thesis, Delhi University.
14.Salvucci, M.E., and Crafts-Brandner, S.J. 2004. Inhibition of photosynthesis by heat stress: the activation state of Rubisco as a limiting factor in photosynthesis. Physiol. Plant. 120: 179-186.
15.Saqub, M., Akhtar, J., and Qureshi, R.H. 2004. Pot study on wheat growth in saline and waterlogged compacted soil. Root growth and leaf ionic relations. Soil.Tillage Res. 77: 179-187.
16.Sharkey, T.D., Badger, M.R., Caemmerer, S., and Andrews, T.J. 2001. Increased heat sensitivity of photosynthesis in tobacco plants with reduced Rubisco activase. Photosynth. Res. 67: 147-156.
17.Singla, N.K., Jain, V., Jain, S., and Sawhney, S.K. 2003. Activities of glycolytic enzymes in leaves and roots of contrasting cultivars of sorghum during flooding. Biol. Plant. 47: 555-560.
18.Vartapetian, B.B. 2006. Plant anaerobic stress as a novel trend in ecological physiology, biochemistry, and molecular biology: 2. further development of the problem. Russ. J. Plant Physiol. 53: 711-738.
19.Xu, C., and Huang, B. 2008. Root proteomic responses to heat stress in two Agrostis grass species contrasting in heat tolerance. J. Exp. Bot. 59: 4183-4194.

EJCP., Vol. 5 (3): 145-156
http://ejcp.gau.ac.ir

Waterlogging period duration and temperature effects on vegetative properties and glycolytic-fermentative enzymes activity in cotton seedling (*Gossypium hirsutum* L.)

***N. Salamati[1], S. Galeshi[2], A. Soltani[2] and H.R. Sadeghipour[3]**
[1]M.Sc., Graduated of Agronomy, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, [2]Professor, Dept. of Agronomy, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, [3]Associate Prof., Dept. of Biology, Golestan University
Received: 2011-09-13 ; Accepted: 2012-07-25

Abstract

Waterlogging is one of the problems of cotton-growing in rainy regions which affects adversely plant growth in the early stages. So that rainfall causes waterlogging in early to mid spring in the fields without proper drainage. Also, rainfall declines soil and environment temperatures. To investigate the effects of waterlogging period duration and temperature on vegetative properties and glycolytic-fermentative enzymes activity in cotton, an experiment was carried out in laboratory and green house at Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. Experimental treatments were the waterlogging period duration (0, 24, 48 and 96 h) and temperature (16, 20 and 25 ˚C). The results showed that increasing waterlogging period duration from 0 to 96 h and decreasing temperature from 25 to 16 ˚C led to decrease of leaf area, plant height and dry weight, chlorophyll and F_v/F_m ratio. However, the interaction of waterlogging period duration and temperature was significant only on leaf area, plant height and dry weight. The results showed that alcohol dehydrogenase and fructose-1,6-bisphosphate aldolase enzymes was affected by waterlogging period duration and temperature; but the interaction of waterlogging period duration and temperature was significant only on fructose-1,6-bisphosphate aldolase activity. So it can be concluded that in waterlogging conditions, decreasing temperature led to decrease cotton growth. Also, according to that alcohol dehydrogenate and fructose-1,6-bisphosphate aldolase enzymes activity show an increasing trend in waterlogging conditions, we can use from both enzymes as proper marker in order to determination of tolerant genotypes to waterlogging.

Keywords: Glycolytic-fermentative enzymes; Cotton; Vegetative properties; Temperature; Waterlogging

* Corresponding author; Email: niloofarsalamati@yahoo.com