

اثر دما و غرقابی بر رشد و فعالیت‌های فیزیولوژیک گیاهچه کلزا

محمد خادم‌پیر^{۱*}، سرالله گالشی^۲، افشین سلطانی^۳، فرشید قادری‌فر^۴ و مهسا مظلوم^۵

(۱) دانشجوی دکتری گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

(۲ و ۳) استاد گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

(۴) دانشیار گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

(۵) دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

* نویسنده مسئول: M.khadempir87@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۰۱/۱۹

تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۴/۰۱

چکیده

غرقابی یکی از مشکلات عمده در زمان کاشت کلزا مخصوصاً در مناطق شمالی کشور می‌باشد، که باعث کاهش سبز شدن و خسارت به گیاهچه در مزرعه می‌شود. از طرف دیگر وقوع دماهای پایین در زمان کاشت کلزا باعث هم‌افزایی اثرات مخرب غرقابی می‌شود. بنابراین به منظور بررسی اثر دما و غرقابی بر رشد و فعالیت‌های فیزیولوژیک گیاهچه کلزا این آزمایش در شرایط گلخانه‌ای در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل در چهار تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل طول دوره غرقاب در ۵ سطح صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت و دما در چهار سطح ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود که گیاهچه‌های سه برگی کلزا رقم هایولا ۴۰۱ تحت این تیمارها قرار گرفتند. بعد از رسیدن گیاهچه‌ها به مرحله سه برگی صفاتی از جمله سطح برگ، زیست‌توده اندام هوایی، رنگیزه‌های برگ، آنزیم الکل‌دهیدروژناز و فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات آلدولاز اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که روند افزایش زیست‌توده برگ و ساقه طی تنش غرقاب نسبت به شاهد کند می‌شود. بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم الکل‌دهیدروژناز در دمای ۲۵ درجه و تیمار ۹۶ ساعت غرقاب و کم‌ترین میزان فعالیت آن در ۱۰ درجه و صفر ساعت غرقاب مشاهده گردید. بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات آلدولاز در ۷۲ ساعت غرقاب و ۲۵ درجه و کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات آلدولاز در صفر ساعت و ۱۰ درجه مشاهده شد. نتایج حاکی از روند افزایشی فعالیت این دو آنزیم با افزایش زمان غرقابی و دما می‌باشد، نتایج نشان می‌دهد با توجه به افزایش فعالیت این دو آنزیم آثار خسارات تنش غرقاب بر گیاهچه کلزا کاهش یافت.

کلمات کلیدی: آنزیم الکل‌دهیدروژناز، تنش غرقاب، دما، رنگیزه.

مقدمه

همواره تنش‌های محیطی یکی از مهم‌ترین عوامل کاهش‌دهنده عملکرد و تولید گیاهان زراعی به شمار رفته و مقابله و یا تخفیف اثرات تنش‌ها به‌عنوان راهکاری مفید در جهت افزایش عملکرد این محصولات مد نظر بوده است. وضعیت غرقابی به شرایطی گفته می‌شود که میزان آب در خاک به حدی افزایش یابد که از جریان اکسیژن در خاک ممانعت کند و میزان دی‌اکسیدکربن در خاک افزایش یابد. حالت آب‌ماندگی از حالت غرقاب متفاوت است. به عبارت دیگر غرقاب به شرایطی گفته می‌شود که قسمتی از ساقه گیاه نیز در زیر سطح آب باشد، اما در صورتی که فقط منافذ بزرگ خاک اشباع از آب باشد آب‌ماندگی اتفاق می‌افتد (کافی و همکاران، ۱۳۸۸). عوامل متعددی موجب غرقاب می‌شوند که برخی از آن‌ها عبارتند از بارندگی‌های شدید، طغیان رودخانه‌ها، آبیاری زیاد، نفوذپذیری کم، وجود لایه‌های غیر قابل نفوذ در خاک، عدم وجود زهکش مناسب و سیلاب‌های بهاره از جمله این عوامل هستند (Dennis *et al.*, 2000). وقتی در وضعیت غرقاب اکسیژن محدود می‌شود تنفس بی‌هوازی (مسیر تخمیر گلیکولیز) جایگزین تنفس هوازی می‌شود. پیرووات‌دکربوکسیلاز (PDC) واکنش تبدیل پیرووات به استال‌دئید را کاتالیز می‌کند که اولین گام در مسیر تخمیر می‌باشد. سپس الکل‌دهیدروژناز (ADH) استال‌دئید را به اتانول تبدیل می‌کند و NAD^+ تولید می‌گردد که یک فرآیند بسیار مهم برای گلیکولیز پایدار تحت شرایط کمبود اکسیژن می‌باشد. Christianson و همکاران (۲۰۰۹) گزارش نمودند که فعالیت آنزیم‌های الکل‌دهیدروژناز (ADH) و لاکتات‌دهیدروژناز و پیرووات‌دکربوکسیلاز (PDC) در شرایط عدم تنش غرقابی رو به کاهش و ثابت بوده، اما در شرایط اعمال تنش غرقابی سطوح فعالیت لاکتات‌دهیدروژناز (LDH)، الکل‌دهیدروژناز (ADH) و پیرووات‌دکربوکسیلاز (PDC) که آنزیم‌های دخیل در فرآیند تخمیر گلیکولیز می‌باشند به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. سطح فعالیت این آنزیم‌ها نشان‌دهنده‌ی ظرفیت تخمیر تحت تنش غرقابی است. فروکتوز ۱ و ۶ بیس‌فسفات‌آلدولاز جزء آنزیم‌های گلیکولیتیک است (طهماسبی و همکاران، ۱۳۹۰). سلامتی و گالشی (۱۳۸۹) گزارش کردند با افزایش دما و تنش غرقابی میزان فعالیت آنزیم فروکتوز ۱ و ۶ بیس‌فسفات‌آلدولاز افزایش پیدا کرد. آن‌ها دلیل این افزایش را افزایش فعالیت‌های بیوشیمیایی سلول‌ها در اثر افزایش دما بیان کردند. Singla و همکاران (۲۰۰۳) افزایش فعالیت فروکتوز ۱ و ۶ بیس‌فسفات‌آلدولاز را در ریشه‌های سورگوم با افزایش زمان تا ۷۲ ساعت گزارش کردند. Xu و Huang (۲۰۰۸) افزایش فعالیت فروکتوز ۱ و ۶ بیس‌فسفات‌آلدولاز را با افزایش دما تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد در دو رقم گراس گزارش کردند. هر دو آنزیم الکل‌دهیدروژناز و آنزیم فروکتوز ۱ و ۶ بیس‌فسفات‌آلدولاز جزء پروتئین‌هایی هستند که تحت شرایط اکسیژن پایین سنتر آن‌ها القا می‌شود (Denni *et al.*, 2000). با این تفاوت که آنزیم فروکتوز ۱ و ۶ بیس‌فسفات‌آلدولاز در ابتدای مسیر گلیکولیز باعث کاتالیز تبدیل فروکتوز ۱ و ۶ فسفات به فسفوکلیسروآلدئید می‌شود، که این فرایند در شرایط هوازی هم

صورت می‌گیرد، ولی فرایند تبدیل استالدئید به اتانول که توسط آنزیم الکل‌دهیدروژناز کاتالیز می‌شود، تحت اثر مستقیم کمبود یا فقدان اکسیژن است (طهماسبی و همکاران، ۱۳۹۰). تنش غرقابی باعث کاهش محتوای کلروفیل برگ‌ها به دلیل تخریب کلروپلاست گردید (Seefeldt *et al.*, 2002). زرد شدن و کاهش کلروفیل برگ‌های گندم در اثر تنش غرقابی به علت کاهش و زوال رنگدانه‌های فتوسنتزی بود (Zhang *et al.*, 2009). بررسی‌های انجام شده در گندم و ذرت نشان دادند که تنش غرقابی میزان کلروفیل‌های a و b به‌ویژه کلروفیل b را کاهش داد (Huang *et al.*, 1995; Younis *et al.*, 2004; Prasad *et al.*, 2004). کلزا یکی از مهم‌ترین گیاهان روغن‌کشور است که میزان تولید آن در کشور حدود ۱۹۰ هزار تن برآورد شده است (آمار و فناوری اطلاعات وزارت جهاد کشاورزی، ۱۳۹۱). با در نظر گرفتن جمعیت تقریباً ۷۵ میلیونی کشور سالانه بیش از یک میلیون و ۱۰۰ هزار تن روغن نباتی مورد نیاز می‌باشد، درحالی‌که کمتر از ۱۴ درصد این مقدار در کشور تولید می‌شود و بیش از ۸۶ درصد از روغن مورد نیاز از طریق واردات تأمین می‌شود، طبق آخرین ارزیابی‌ها در مورد اراضی‌های غرقاب در ایران و جهان حدود ۱۲ درصد از اراضی قابل‌کشت در دنیا با مشکل غرقابی مواجه هستند و این رقم برای ایران معادل یک میلیون هکتار از اراضی زیر کشت می‌باشد (قبادی و همکاران، ۱۳۸۵). بنابراین پژوهش در مورد عوامل کاهنده عملکرد گیاهان روغنی یکی از ضروریات کشور می‌باشد که باید در الویت قرار گیرد (مظفری و همکاران، ۱۳۸۹). تعیین پارامترهای حساسیت به تنش غرقابی و مکانیسم‌های مقاومت و بقای گیاهان و انتخاب روش‌های اصلاحی به توسعه بهتر فعالیت‌های مدیریتی در برابر تنش غرقابی کمک خواهد کرد. با شناخت دقیق این مسئله که تنش غرقابی در چه دمایی خسارت بیش‌تری وارد می‌نماید می‌توان با مدیریت بهتر در تمام مراحل رشد و نمو و یا حداقل در مراحل حساس‌تر به این تنش، خسارت آن را به حداقل ممکن رساند. بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی اثر تنش غرقابی و دما بر ویژگی‌های مورفولوژیک، میزان رنگیزه برگ و میزان فعالیت آنزیم‌های گلیکولیتیک - تخمیری کلزا (رقم هایولا ۴۰۱) انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در سال ۱۳۹۱ انجام شد. به منظور انجام این آزمایش ابتدا بذر کلزا رقم هایولا ۴۰۱ در گلدان کشت شد پس از رسیدن گیاهچه‌ها به مرحله سه برگی، گیاهچه‌ها به داخل اتاقک رشد انتقال یافتند و تیمارهای مورد نظر بر روی آن‌ها اعمال شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و به‌صورت فاکتوییل در ۴ تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل: طول دوره غرقاب در ۵ سطح (صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) و دما در چهار سطح (۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد) بود. پس اعمال تیمارها (طی شدن طول دوره غرقاب در دماهای مورد نظر)، نمونه‌برداری به‌صورت تخریبی صورت گرفت و از نمونه‌ها صفاتی از جمله سطح برگ، بیوماس اندام

هوایی، حجم ریشه و ماده خشک ریشه، اندازه‌گیری رنگیزه‌های برگ (کلروفیل a و b و کارتنوئید) و اندازه‌گیری آنزیم‌های الکل‌دهیدروژناز و فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات آلدولاز به روش اسپکتوفتومتری (بعد از اعمال تنش) اندازه‌گیری شد. زمان شروع اعمال تنش مرحله سه برگ (V3) بود.

برای اندازه‌گیری سطح برگ از دستگاه سطح برگ سنج مدل Delta-T استفاده شد، نمونه‌ها بعد از اندازه‌گیری سطح برگ به تفکیک اندام به مدت ۴۸ ساعت در خشک‌کن با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس با ترازوی مدل EK-200i با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شدند، تمام وزن خشک‌ها بعد از نمونه‌گیری با همین ترازو انجام شدند.

جهت سنجش میزان کلروفیل برگ از روش اردکانی و نادور (۱۳۸۸) استفاده گردید. برای این منظور ۰/۲۵ گرم وزن تر برگ از برگ کاملاً توسعه یافته بالایی برداشت شد و با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در هاون ساییده و هموژنیزه گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۶۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. بعد از سانتریفیوژ فاز بالایی (شفاف) نمونه‌ها جدا گشته و با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل S2000 UV/VIS در طول موج‌های ۴۸۰، ۵۱۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر قرائت شد. میزان کلروفیل a و b و کارتنوئید با استفاده از روابط ۱، ۲ و ۳ محاسبه گردید. قبل از قرائت این طول موج‌ها با شاهد (استون ۸۰ درصد) صفر شدند.

$$\text{Chl}_a = 12.7 (A_{663}) - 2.69 (A_{645}) \times \frac{V}{1000 \times w} \quad \text{رابطه ۱:}$$

$$\text{Chl}_b = 22.9 (A_{645}) - 4.68 (A_{663}) \times \frac{V}{1000 \times w} \quad \text{رابطه ۲:}$$

$$C = 7.6(A_{480}) - 1.49(A_{510}) \times \frac{V}{1000 \times w} \quad \text{رابطه ۳: (کارتنوئید)}$$

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم الکل‌دهیدروژناز به روش Fukao و همکاران (۲۰۰۳) انجام شد. در این روش ۱۰۵۰ میکرولیتر مخلوط واکنش حاوی ۰/۸ میلی‌لیتر بافر تریس ۶۲/۵ میلی‌مولار با pH معادل ۹، ۰/۱ میلی‌لیتر محلول پایه NAD ۱۰ میلی‌مولار، ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی و ۰/۰۵ میکرولیتر اتانول خالص بود. با اضافه کردن اتانول خالص به مخلوط واکنش فعالیت آنزیمی شروع شد. محلول بلانک فاقد اتانول خالص بود. تغییرات جذب نور در طول موج ۳۴۰ نانومتر برای مدت زمان ۳ دقیقه اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم الکل‌دهیدروژناز بر اساس اتانول تجزیه شده در هر دقیقه به ازای هر گرم بافت برگ با ضریب خاموشی (ε) برابر با ۶۲۲۰۰ (L/mm/cm) بیان شد. برای محاسبه فعالیت آنزیم از تغییرات جذب نور در یک دقیقه اول استفاده شد (رابطه ۴).

$$\text{Activity} = \frac{10^9}{\varepsilon} \left(\frac{V_3 \times V_1}{V_2} \right) \frac{da}{dt} \quad \text{رابطه ۴:}$$

که در این رابطه:

$$V_1 = \text{حجم بافر استخراج بر حسب میلی لیتر}$$

$$V_2 = \text{حجم کل مخلوط واکنش بر حسب میلی لیتر}$$

$$V_3 = \text{حجم عصاره آنزیم بر حسب میلی لیتر}$$

$$da/dt = \text{تغییرات جذب نور در واحد زمان}$$

اندازه گیری فعالیت آنزیم فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات آلدولاز به روش Fukao و همکاران (۲۰۰۳) انجام شد. در این روش مخلوط واکنش حاوی ۶۰۰ میکرولیتر بافر تریس ۸۵ میلی مولار با pH برابر ۸، ۱۰۰ میکرومتر محلول پایه فنیل هیدرازین، ۱۰۰ میکرومتر محلول پایه دی تیوتریتول، ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۱۰ میکرولیتر محلول پایه فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات به عنوان سوبسترا بود. با افزودن سوبسترا، واکنش تجزیه آنزیم آلدولاز آغاز شده و فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات به گلیسرید آلدهید ۳ فسفات و دی هیدروکسی استون فسفات تبدیل شد که گلیسرید آلدهید ۳ فسفات تولیدی مورد اندازه گیری قرار گرفت. افزایش جذب نور در طول موج ۳۲۴ نانومتر برای مدت زمان ۳ دقیقه اندازه گیری شد. برای محاسبه فعالیت آنزیم از تغییرات جذب نور در یک دقیقه اول واکنش استفاده شد و میزان فعالیت آنزیم بر حسب تغییر جذب نور بر گرم وزن تر بافت بیان گردید.

داده های به دست آمده از آزمایش به کمک نرم افزار SAS تجزیه و تحلیل شد (سلطانی، ۱۳۸۶). رسم نمودارها نیز با استفاده از برنامه Excel انجام شد.

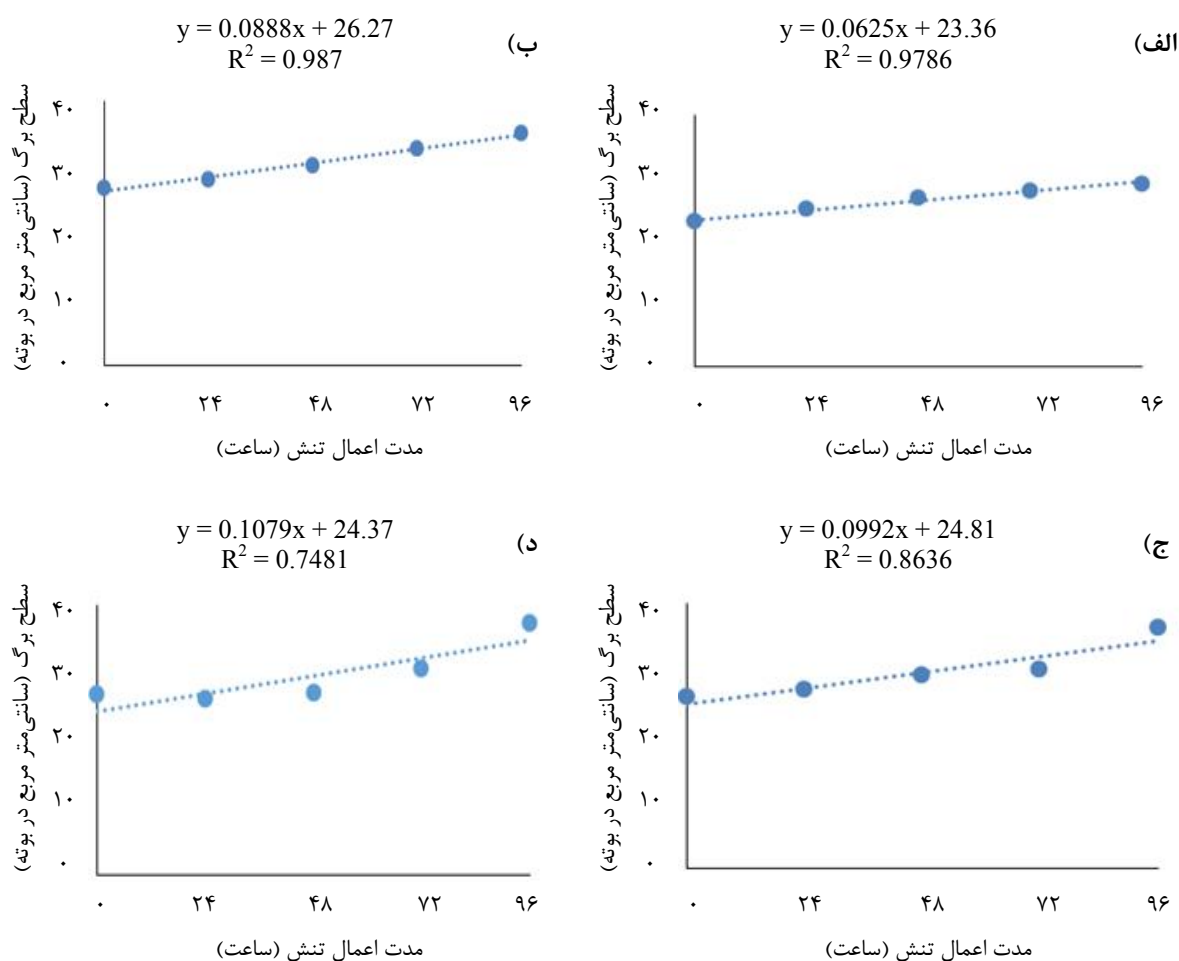
نتایج و بحث

برای کمی سازی اثر تنش غرقابی بر پارامترهای مورفولوژیک، آنزیم های گلیکولیتیک- تخمیری و رنگیزه های موجود در برگ از مدل خطی، زوال کاهشی و درجه ۲ استفاده شد. معیار انتخاب مدل برتر برای توصیف اثر تنش غرقابی بر صفات اندازه گیری شده در دماهای مختلف بر اساس ریشه جذر میانگین مربعات خطا (RMSE) و ضریب تبیین (R^2) بود.

سطح برگ

معادله ای که برای بیان تغییرات سطح برگ استفاده شد، معادله ی خطی ($y=ax+b$) بود که در این معادله مقدار ضریب b میزان سطح برگ را در آغاز تنش غرقاب و مقدار ضریب a سرعت نسبی افزایش را تحت اثر تنش غرقاب در ساعت نشان می دهد (شکل ۱). میزان سطح برگ در آغاز تنش غرقابی در دماهای ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه به ترتیب ۲۳/۰۰، ۲۶/۷۵، ۲۵/۷۵ و ۲۶/۷ سانتی مترمربع در بوته بود و در ۹۶ ساعت غرقاب به ترتیب ۲۹، ۳۵/۱، ۳۶/۲ و ۳۷/۴ سانتی مترمربع بود. همچنین سرعت نسبی افزایش سطح برگ نیز در چهار دمای ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه به ترتیب

۰/۰۶۲، ۰/۰۸۸، ۰/۰۹۹ و ۰/۱ بود. در همه‌ی تیمارها (چهار دما) کم‌ترین میزان سطح برگ در تیمار شاهد (صفر ساعت غرقاب) و بیش‌ترین میزان سطح برگ در تیمار ۹۶ ساعت غرقاب مشاهده شد که دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بود. با توجه به جدول ۱ شیب افزایش سطح برگ در کلزا در دماهای مختلف طی تنش غرقاب دارای اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد بود. بر اساس نتایج این تحقیق می‌توان گفت با افزایش دما میزان اثر تنش غرقاب کاهش یافته و بوته‌ها توانسته‌اند سطح برگ بیش‌تری در دمای بالاتر تولید کنند. رسولی (۱۳۹۰) گزارش کردند، گیاه کلزا در اوایل رشد سطح برگ کمی داشته و با طولانی شدن مدت غرقابی از صفر به ۹۶ ساعت گیاه برای تعدیل کمبود انرژی ناشی از شرایط بی‌هوایی (غرقاب) هورمون‌های آبسزیک اسید و اتیلن را تولید نموده که مانع رشد می‌شوند و در نتیجه روند افزایش سطح برگ با شیب کم‌تری ادامه پیدا می‌کند. هم‌چنین آن‌ها بیان داشتند در این مرحله به دلیل قرار گرفتن ریشه در شرایط غرقاب و متعاقب آن کاهش جذب عناصر غذایی توسط ریشه میزان افزایش رشد گیاه کاهش می‌یابد. مرعشی و چین‌چانیکار (۱۳۹۰) نیز کند شدن، افزایش سطح برگ در اثر تنش غرقاب را گزارش کردند.

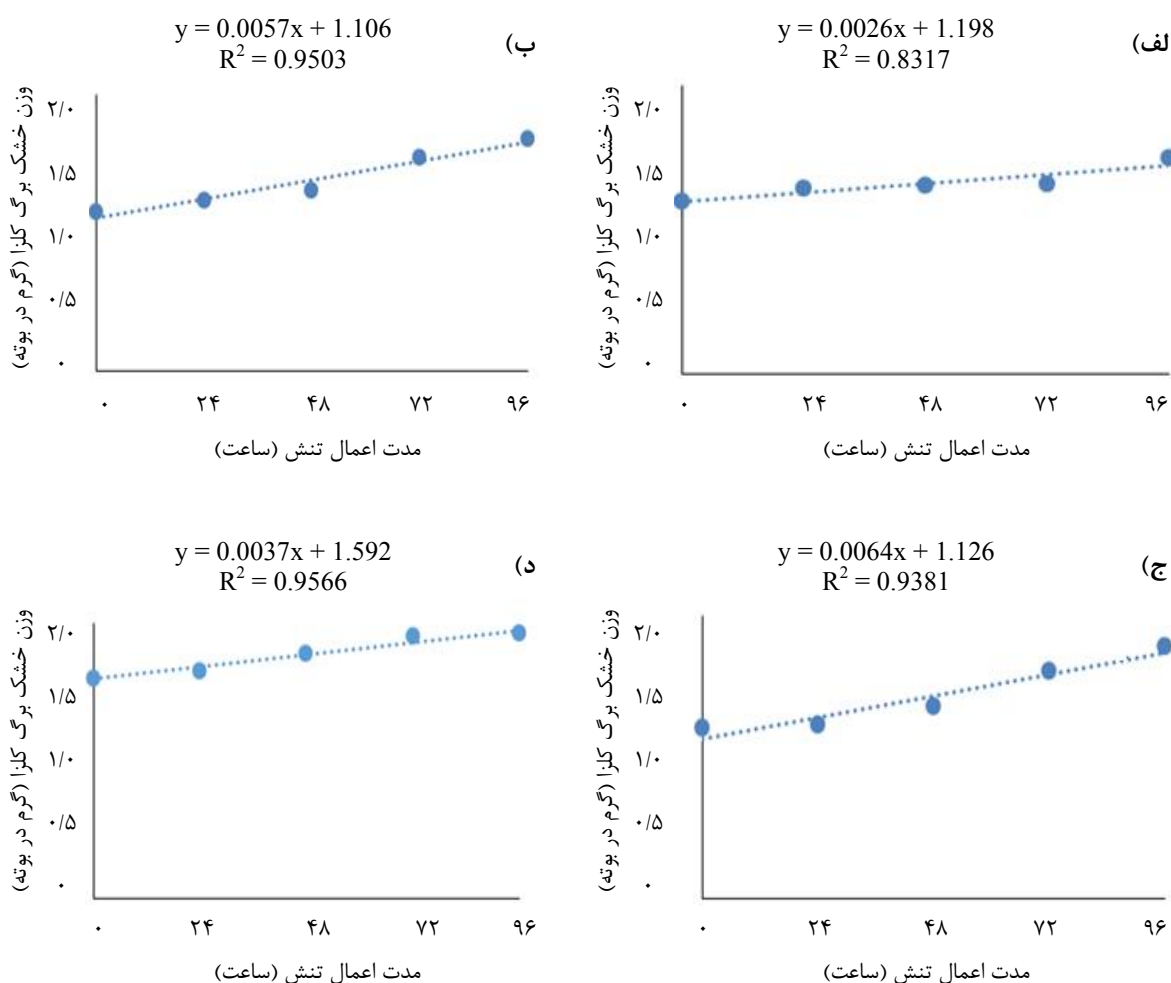


شکل ۱: تغییرات سطح برگ (سانتی‌متر مربع در بوته) کلزا طی دوره غرقابی (صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) بر اساس

مدل $y=ax+b$ در دماهای الف (۱۰ درجه، ب (۱۵ درجه، ج (۲۰ درجه و د (۲۵ درجه سانتی‌گراد

وزن خشک برگ

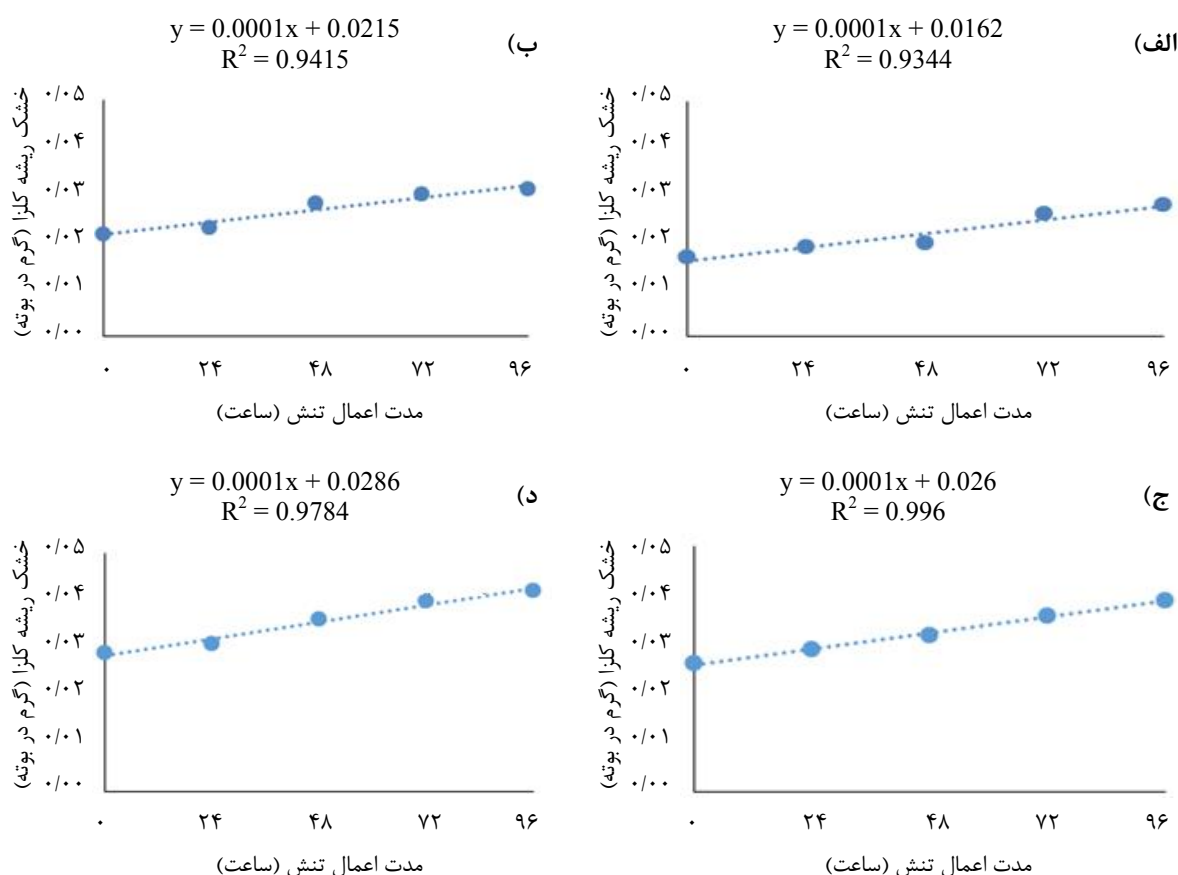
همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌گردد، به موازات افزایش سطح برگ تحت اثر تنش غرقابی، وزن خشک برگ نیز در هر چهار دما با افزایش تنش غرقاب افزایش یافت. برای بیان تغییرات وزن خشک برگ معادله‌ی خطی برازش داده شد. مقدار اولیه وزن خشک برگ در آغاز تنش غرقاب چهار دما ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه به ترتیب ۱/۲، ۱/۱۵، ۱/۲۲ و ۱/۵۳ گرم در بوته و شیب افزایش وزن خشک برگ نیز ۰/۰۰۲۶، ۰/۰۰۵۷، ۰/۰۰۶۴ و ۰/۰۰۳۷ بود. وزن خشک برگ در تیمار ۹۶ ساعت غرقاب و چهار دما ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه به ترتیب برابر ۱/۵، ۱/۶۸، ۱/۷۸ و ۱/۹۳ بود. افزایش وزن خشک برگ ناشی از افزایش سطح برگ می‌باشد، اما نکته مهم در اینجا اینست که بر اساس جدول ۱ شیب افزایش وزن خشک برگ شبیه سطح برگ بین ۴ دمای ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد دارای اختلاف معنی‌داری بود که نشان دهنده اثر دما در میزان رشد برگ طی تنش غرقاب می‌باشد.



شکل ۲: تغییرات وزن خشک برگ کلزا (گرم در بوته) طی دوره غرقابی (صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) بر اساس مدل $y=ax+b$ در دماهای (الف) ۱۰ درجه، (ب) ۱۵ درجه، (ج) ۲۰ درجه و (د) ۲۵ درجه سانتی‌گراد

وزن خشک ریشه

برای بیان تغییرات وزن خشک ریشه از معادله‌ی خطی استفاده گردید. کم‌ترین میزان وزن خشک ریشه مربوط به تیمار شاهد در هر چهار دما ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه بود که به ترتیب برابر ۰/۱۷، ۰/۰۲، ۰/۰۲ و ۰/۰۲ گرم در بوته و بیش‌ترین میزان وزن خشک ریشه مربوط به تیمار ۹۶ ساعت غرقاب بود که در هر چهار دما ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه به ترتیب ۰/۰۲۸، ۰/۰۳۱، ۰/۰۳۹ و ۰/۰۴۲ گرم در بوته بود (شکل ۳). سرعت نسبی افزایش وزن خشک ریشه طی تنش غرقاب در هر چهار دمای ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه به ترتیب نیز ۰/۰۰۰۱، ۰/۰۰۰۱، ۰/۰۰۰۱ و ۰/۰۰۰۱ در ساعت بود. نکته مهم این است که شیب افزایش وزن خشک ریشه در دماهای مختلف دارای اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد نداشت. محققان زیادی کاهش وزن خشک ریشه تحت تنش غرقابی (گنجعلی و همکاران، ۱۳۸۶؛ قبادی و همکاران، ۱۳۸۵؛ Palta *et al.*, 2010) را گزارش کرده‌اند. اما این که در این آزمایش میزان وزن خشک ریشه تحت تنش غرقاب افزایش پیدا کرده به این علت است که مرحله سه برگی کلزا ریشه‌ها بسیار فعال بوده و توانسته‌اند با وجود غرقابی میزان بسیار اندکی رشد داشته باشند.



شکل ۳: تغییرات وزن خشک ریشه کلزا (گرم در بوته) طی دوره غرقابی (صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) بر اساس مدل $y=ax+b$ در دماهای الف (۱۰ درجه، ب (۱۵ درجه، ج (۲۰ درجه و د (۲۵ درجه سانتی‌گراد

از طرف دیگر بیش تر محققان میزان وزن خشک ریشه را در مراحل بعد از مرحله گیاهچه‌ای اندازه‌گیری کرده‌اند و نیز زمان تنش غرقاب در تحقیقات آن‌ها مدت طولانی بوده است. با گذشت زمان گرسنگی، نیاز به کربوهیدرات در ریشه به تدریج افزایش بیش‌تری پیدا می‌کند، زیرا تولید کربوهیدرات در برگ و انتقال آن به ریشه کاهش می‌یابد، در این شرایط با افزایش زمان غرقاب حجم و وزن خشک ریشه ممکن است به شدت کاهش و در صورت تداوم دوره‌ی تنش ممکن است ریشه از بین برود (Visser and Voesenek, 2004). کاهش ذخایر ریشه در شرایط تنش غرقابی، زردشدن و ریزش برگ‌ها در این شرایط، نتیجه غیرفعال شدن ریشه‌ها برای جذب آب و مواد عناصر غذایی از خاک و انتقال آن‌ها به اندام هوایی است که محل سنتز مواد فتوسنتزی مورد نیاز برای فعل و انفعالات زیستی گیاه می‌باشند. بدیهی است که در این شرایط گیاه دچار ضعف عمومی شده و بیوماس ریشه و اندام هوایی به کندی افزایش می‌یابد.

جدول ۱: پارامترهای برآورد شده (a, b) با حدود اطمینان و ضریب تبیین (R^2) در معادلات برازش داده شده برای

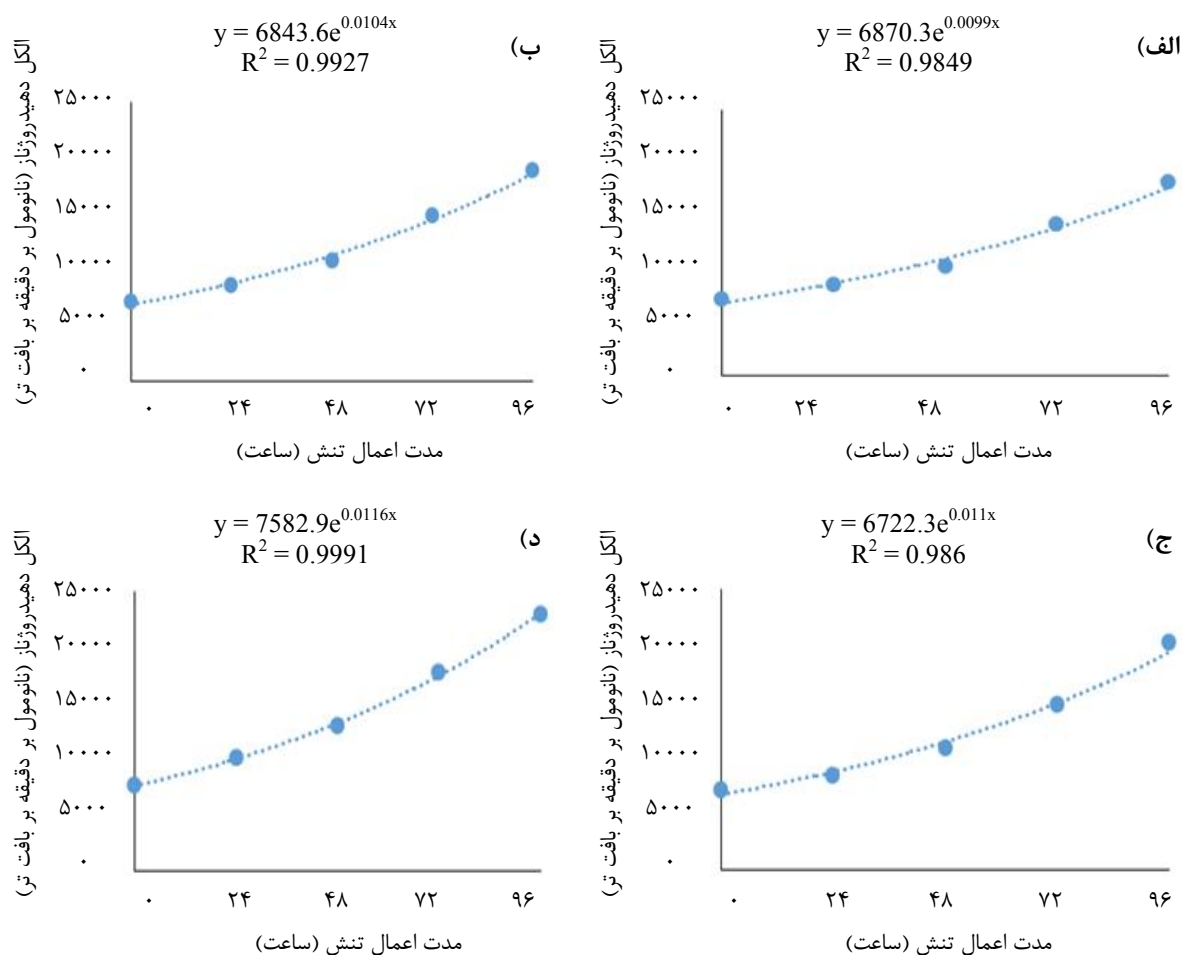
سطح برگ، وزن خشک برگ و وزن خشک ریشه

منبع تغییرات	a ± SE	b ± SE	R^2
سطح برگ			
دمای ۱۰ (سانتی‌گراد)	۰/۰۶۲±۰/۰۳	۲۳/۳۶±۰/۳	۰/۹۷
دمای ۱۵ (سانتی‌گراد)	۰/۰۸۸±۰/۰۹	۲۶/۲۷±۰/۸۶	۰/۹۸
دمای ۲۰ (سانتی‌گراد)	۰/۰۹۹±۰/۰۹	۲۴/۸۱±۰/۸۵	۰/۸۶
دمای ۲۵ (سانتی‌گراد)	۰/۱۰۷±۰/۰۸	۲۴/۳۷±۰/۷۵	۰/۷۴
وزن خشک برگ			
دمای ۱۰ (سانتی‌گراد)	۰/۰۰۲۶±۰/۰۵	۱/۱۹±۰/۰۸	۰/۸۳
دمای ۱۵ (سانتی‌گراد)	۰/۰۰۵۷±۰/۰۹	۱/۱±۰/۰۵	۰/۹۵
دمای ۲۰ (سانتی‌گراد)	۰/۰۰۶۴±۰/۰۲	۱/۱۲±۰/۰۵	۰/۹۳
دمای ۲۵ (سانتی‌گراد)	۰/۰۰۳۷±۰/۰۳	۱/۵۹±۰/۰۳	۰/۹۵
وزن خشک ریشه			
دمای ۱۰ (سانتی‌گراد)	۰/۰۰۰۱±۰/۰۰۳	۰/۰۱±۰/۰۰۳	۰/۹۳
دمای ۱۵ (سانتی‌گراد)	۰/۰۰۰۱±۰/۰۰۹	۰/۰۲±۰/۰۰۱	۰/۹۴
دمای ۲۰ (سانتی‌گراد)	۰/۰۰۰۱±۰/۰۰۴	۰/۰۲±۰/۰۰۱	۰/۹۹
دمای ۲۵ (سانتی‌گراد)	۰/۰۰۰۱±۰/۰۰۱	۰/۰۲±۰/۰۰۱	۰/۹۷

آنزیم الکل‌دهیدروژناز

میزان فعالیت آنزیم الکل‌دهیدروژناز در هر چهار دما ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه طی تنش غرقاب روندی افزایشی داشت و از تابعی نمایی تبعیت می‌کرد. همان‌طور که در شکل ۴ مشاهده می‌گردد، بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم الکل‌دهیدروژناز در دمای ۲۵ درجه و تیمار ۹۶ ساعت غرقاب (۲۲۰۰۰ نانومول بر دقیقه) و کم‌ترین میزان فعالیت آن در ۱۰ درجه سانتی‌گراد و صفر ساعت غرقاب (۷۱۷۵ نانومول بر دقیقه) مشاهده گردید. بر اساس معادله نمایی ($y=ae^{bx}$) که برای بیان تغییرات فعالیت آنزیم الکل‌دهیدروژناز استفاده شد مقدار ضریب a میزان فعالیت آنزیم الکل‌دهیدروژناز را در آغاز تنش غرقاب و مقدار ضریب b سرعت نسبی کاهش فعالیت آنزیم الکل‌دهیدروژناز را تحت اثر تنش غرقاب در ساعت نشان

می‌دهد. بر همین اساس شیب افزایش فعالیت آنزیم الکل‌دهیدروژناز طی تنش غرقاب در هر چهار دما ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ سانتی‌گراد به ترتیب برابر ۰/۰۰۹۹، ۰/۰۱۰۴، ۰/۰۱۱۰ و ۰/۰۱۱۶ بود.



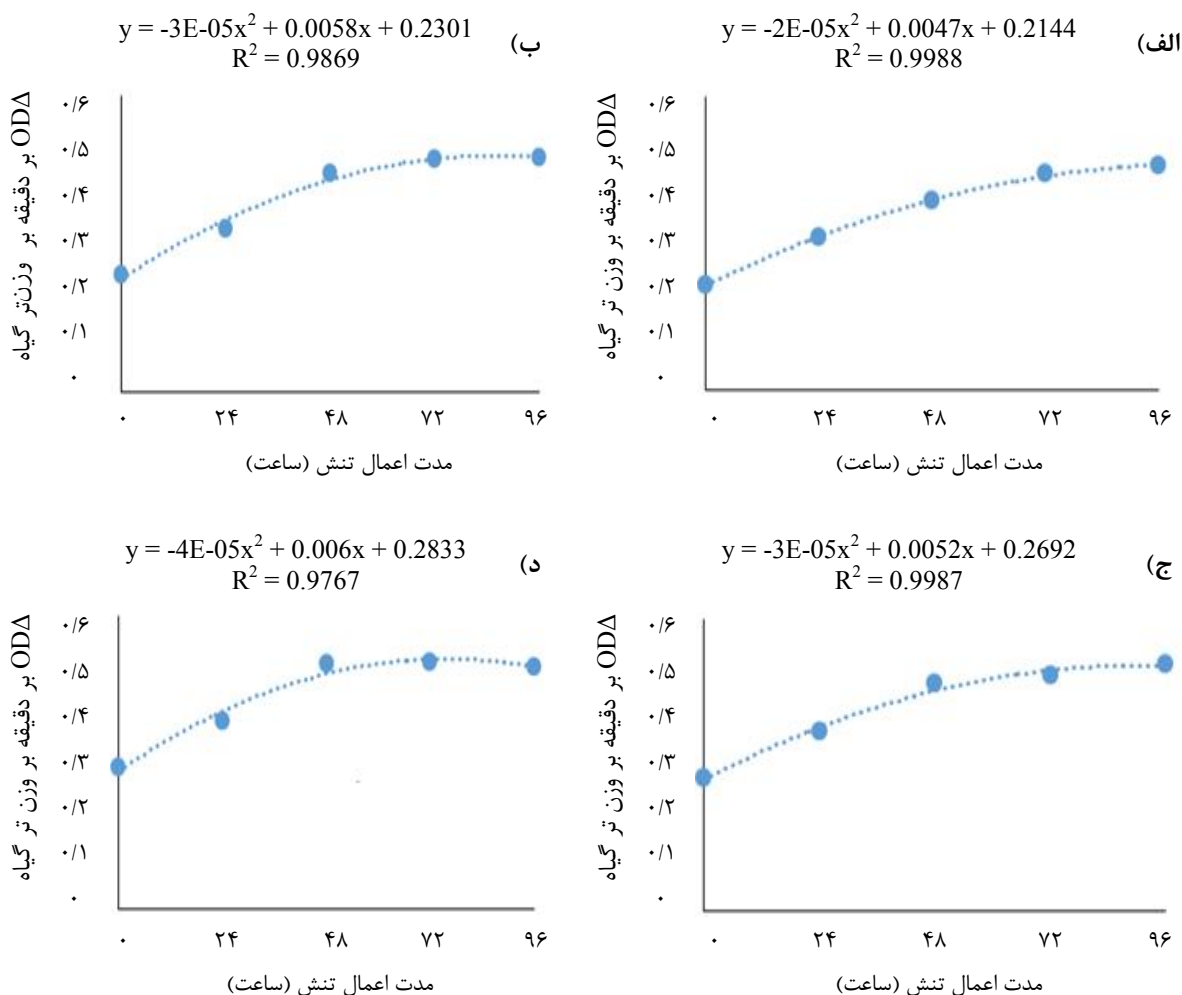
شکل ۴: تغییرات میزان تولید الکل‌دهیدروژناز (نانو مول بر دقیقه بر بافت تر) در ریشه کلزا طی دوره غرقابی (صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) بر اساس مدل $y=ae^{bx}$ در دماهای الف) ۱۰ درجه، ب) ۱۵ درجه، ج) ۲۰ درجه و د) ۲۵ درجه سانتی‌گراد

بر اساس جدول ۲ شیب افزایش فعالیت آنزیم الکل‌دهیدروژناز تحت تنش غرقاب در سطح احتمال پنج درصد دارای اختلاف معنی‌داری بود. تنش غرقابی از تنفس هوازی در ریشه‌ها جلوگیری می‌نماید در نتیجه کمبود اکسیژن بر بسیاری از فعالیت‌های حیاتی گیاه اثر می‌گذارد. در اثر کمبود اکسیژن تولید ATP کاهش می‌یابد بنابراین گیاه برای تأمین انرژی مورد نیاز خود از مسیر تخمیر استفاده می‌نماید. اتانول مهم‌ترین فرآورده فرآیند تخمیر می‌باشد و نیز آنزیم الکل‌دهیدروژناز (ADH) نقش محوری را در بازچرخش NADH به NAD^+ که برای ادامه مسیر گلیکولیز ضروری است ایفا می‌کند (Keyhani and Keyhani, 2004; Ismond *et al.*, 2003). در تأکید بر اهمیت ADH در تحمل به تنش غرقابی، Sairam و همکاران (۲۰۰۹) در موتانت ذرت که فاقد ژن ADH بود گزارش نمودند که گیاه قادر به تولید آنزیم ADH

نمود، در نتیجه موتانت نسبت به گیاه دارای ژن ADH به تنش غرقابی بسیار حساس تر بود و بعد از سه روز غرقاب از بین رفت. بنابراین میزان فعالیت ADH میزان تحمل به غرقابی را تعیین می کند. احتمال می رود یکی از دلایل آسیب کم تر گیاه در مرحله ی گیاهچه ای میزان فعالیت بالای ADH باشد.

آنزیم فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات آلدولاز

میزان فعالیت آنزیم فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات آلدولاز در طی تنش غرقاب روندی افزایشی در همه دماها داشت. برای بیان تغییرات میزان فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات آلدولاز در طی تنش غرقاب از معادله درجه ۲ استفاده شد. بیش ترین میزان فعالیت آنزیم فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات آلدولاز در ۷۲ ساعت غرقاب در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و کم ترین میزان فعالیت آنزیم فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات آلدولاز در صفر ساعت ۱۰ درجه سانتی گراد مشاهده شد.



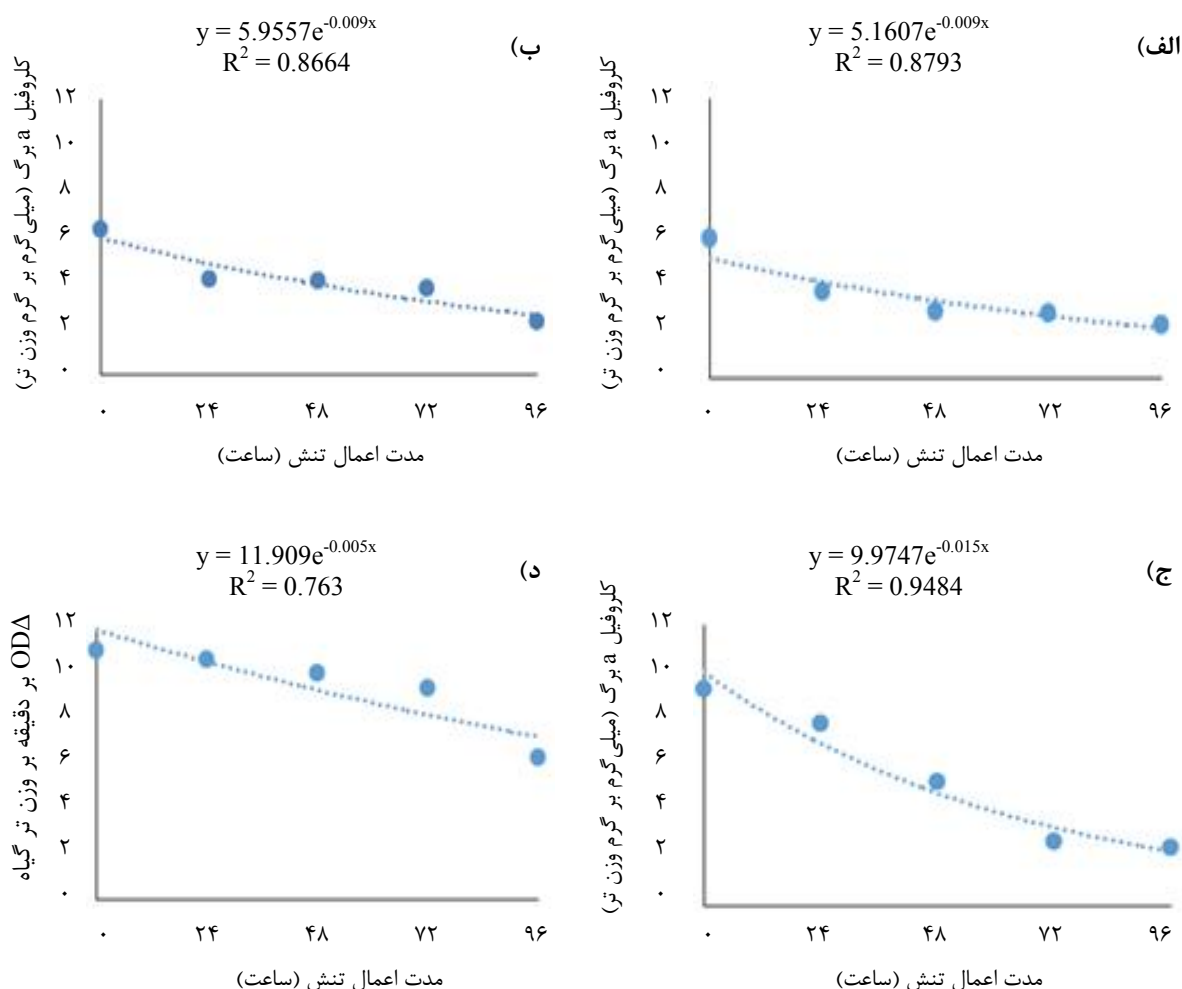
شکل ۵: تغییرات میزان تولید فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات آلدولاز (ODA بر دقیقه بر وزن تر گیاه) در برگ کلزا طی دوره غرقابی (صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) بر اساس مدل $y = ax^2 + bx + c$ در دماهای (الف) ۱۰ درجه، (ب) ۱۵ درجه، (ج) ۲۰ درجه و (د) ۲۵ درجه سانتی گراد

بر اساس مقایسه ضرایب معادلات درجه ۲ در جدول ۲ اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد بین دماهای مختلف از نظر میزان فعالیت آنزیم فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات‌آلدولاز مشاهده شد. با توجه به شکل ۱ در ابتدای تنش غرقاب شیب میزان تولید آنزیم فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات‌آلدولاز شدید است و با افزایش میزان مدت تنش غرقاب از شدت این شیب کاسته شده و میزان تولید آنزیم فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات‌آلدولاز نسبت به زمان کاهش پیدا می‌کند. بر اساس شکل ۱ در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد افت منحنی سریع‌تر اتفاق می‌افتد که به نظر می‌رسد دلیل این امر مرگ سریع‌تر سلول‌ها در دمای بالا نسبت به دماهای پایین باشد. فعالیت آنزیم فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات‌آلدولاز در ریشه‌های گیاهچه سورگوم غرقاب شده در حدود ۱۰ تا ۲۵ درصد افزایش یافت، هم‌چنین فعالیت آنزیم فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات‌آلدولاز پس از ۷۲ ساعت در ریشه این گیاهان در مقایسه با شاهد دو برابر شد (Singela *et al.*, 2003). Dennis و همکاران (۲۰۰۰) افزایش فعالیت آنزیم فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات‌آلدولاز را در ریشه‌های گیاهچه‌ای ذرت تحت شرایط بی‌هوایی گزارش کردند.

کلروفیل a

میزان کلروفیل a در تیمارهای مختلف دمایی و سطوح مختلف غرقاب در شکل ۶ نشان داده شده است. با افزایش سطوح غرقاب میزان کلروفیل a در سطوح مختلف دمایی روند کاهشی در طی تنش غرقاب را نشان داد. بیش‌ترین میزان کلروفیل a در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و صفر ساعت غرقاب (۱۱/۶۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کم‌ترین (۲/۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) آن مربوط به دمای ۱۰ درجه و ۹۶ ساعت غرقاب مشاهده شد. به نظر می‌رسد کاهش میزان کلروفیل a در طی تنش غرقاب در اثر تخریب کلروفیل a توسط رادیکال‌های آزاد باشد که باعث کاهش کلروفیل a می‌شود. در طی تنش غرقاب رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژن فعال به دلیل فتواکسیداسیون افزایش پیدا می‌کنند، که باعث تخریب غشاها و پروتئین‌ها می‌شود. رسولی (۱۳۹۰)، Haung و همکاران، (۱۹۹۵) و سلامتی و گالشی (۱۳۸۹) نیز به نتایج مشابهی دست یافتند. بررسی‌های انجام شده در گندم و ذرت نشان دادند که تنش غرقابی میزان کلروفیل‌های a و b به‌ویژه کلروفیل b را کاهش داد (Sairam و همکاران، ۲۰۰۹; Prasad *et al.*, 2004; Younis *et al.*, 2003; Haung *et al.*, 1994). در ماش تحت تنش غرقابی مشاهده نمودند که نسبت کلروفیل a به b تحت تنش غرقابی افزایش یافته بود. این افزایش به دلیل تخریب بیش‌تر کلروفیل b بود. در همین زمینه بررسی‌های متعددی، کاهش در محتوی کلروفیل را تحت تنش غرقابی گزارش نمودند (ملک‌محمدی و همکاران، ۱۳۸۴؛ Ashraf and Rehman, 1999; Haung *et al.*, 1995; McKevlin *et al.*, 1995; Lin *et al.*, 1984). کاهش محتوای کلروفیلی a و b تحت تنش غرقابی ممکن است به دلیل آهسته‌تر شدن سنتز و یا شکسته شدن و تخریب سریع رنگیزه‌های کلروفیلی باشد و در نتیجه باعث ایجاد اختلالات

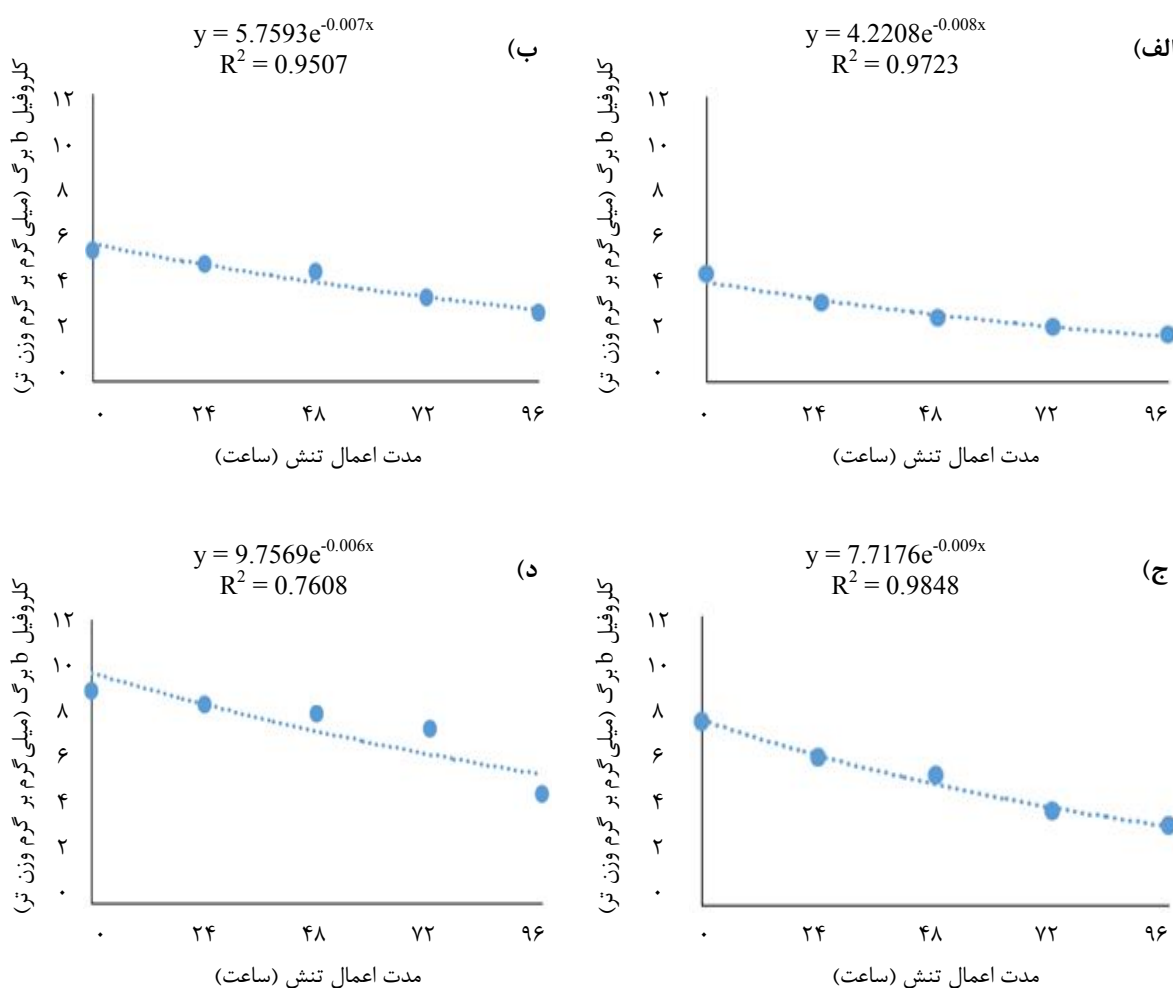
متابولیسمی در گیاه از طریق کاهش فعالیت آنزیم روبیسکو، کاهش فسفوریلاسیون نوری، تغییر نسبت کلروفیل *a* به کلروفیل *b* در فتوسیستم دو شوند و متعاقب آن میزان و سنتز مجدد کلروفیل کاهش یابد. کاهش در میزان کلروفیل همراه با کاهش غلظت نیتروژن در برگ می باشد (زیرا کلروفیل ها از جنس پروتئین می باشند که کاهش آن ها باعث کاهش غلظت نیتروژن در برگ ها می شود). همان طور که در شکل های ۶ و ۷ مشاهده می شود نسبت میزان افت کلروفیل *b* بیش تر از کلروفیل *a* می باشد. Ashraf و Rehman (۱۹۹۹) و ملک محمدی و همکاران (۱۳۸۴) تخریب بیش تر کلروفیل *b* نسبت به کلروفیل *a* را تحت تنش غرقابی گزارش نمودند. تخریب کلروفیل *b* که به عنوان یکی از اجزای کمپلکس دریافت کننده ی نور می باشد باعث می شود کارایی مراکز فتوشیمیایی به دلیل بازدارندگی نوری کاهش یابد. توانایی برگ در حفظ کلروفیل تحت شرایط غرقابی به عنوان یک مکانیسم مقاومت در گونه های علفی مورد توجه قرار گرفته است (Yan *et al.*, 1996).



شکل ۶: تغییرات میزان کلروفیل *a* برگ (میلی گرم بر گرم وزن تر) کلزا طی دوره غرقابی (صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) بر اساس مدل $y = ae^{bx}$ در دماهای الف) ۱۰ درجه، ب) ۱۵ درجه، ج) ۲۰ درجه و د) ۲۵ درجه سانتی گراد

کلروفیل b

میزان کلروفیل b در تیمارهای مختلف در شکل ۷ نشان داده شده است. با افزایش سطوح غرقاب میزان کلروفیل b در سطوح مختلف دمایی روند کاهشی را نشان داد. بیش‌ترین میزان کلروفیل b در تمام سطوح دمایی در تیمار صفر ساعت غرقاب مشاهده شد (بیش‌ترین میزان آن با ۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد) و کم‌ترین میزان کلروفیل b در تمام سطوح تغذیه‌ای در ۹۶ ساعت غرقاب مشاهده شد (کم‌ترین آن با ۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مربوط به دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد بود). به نظر می‌رسد کاهش میزان کلروفیل b در طی تنش غرقاب در اثر فعالیت گونه‌های اکسیژن فعال باشد که شبیه تخریب کلروفیل a که باعث کاهش کلروفیل b در طی تنش غرقاب می‌شود. تورانی و همکاران (۱۳۹۲)، Ashraf و Rehman (۱۹۹۹) و طهماسبی و همکاران (۱۳۹۰) نیز به نتایج مشابهی دست یافتند.

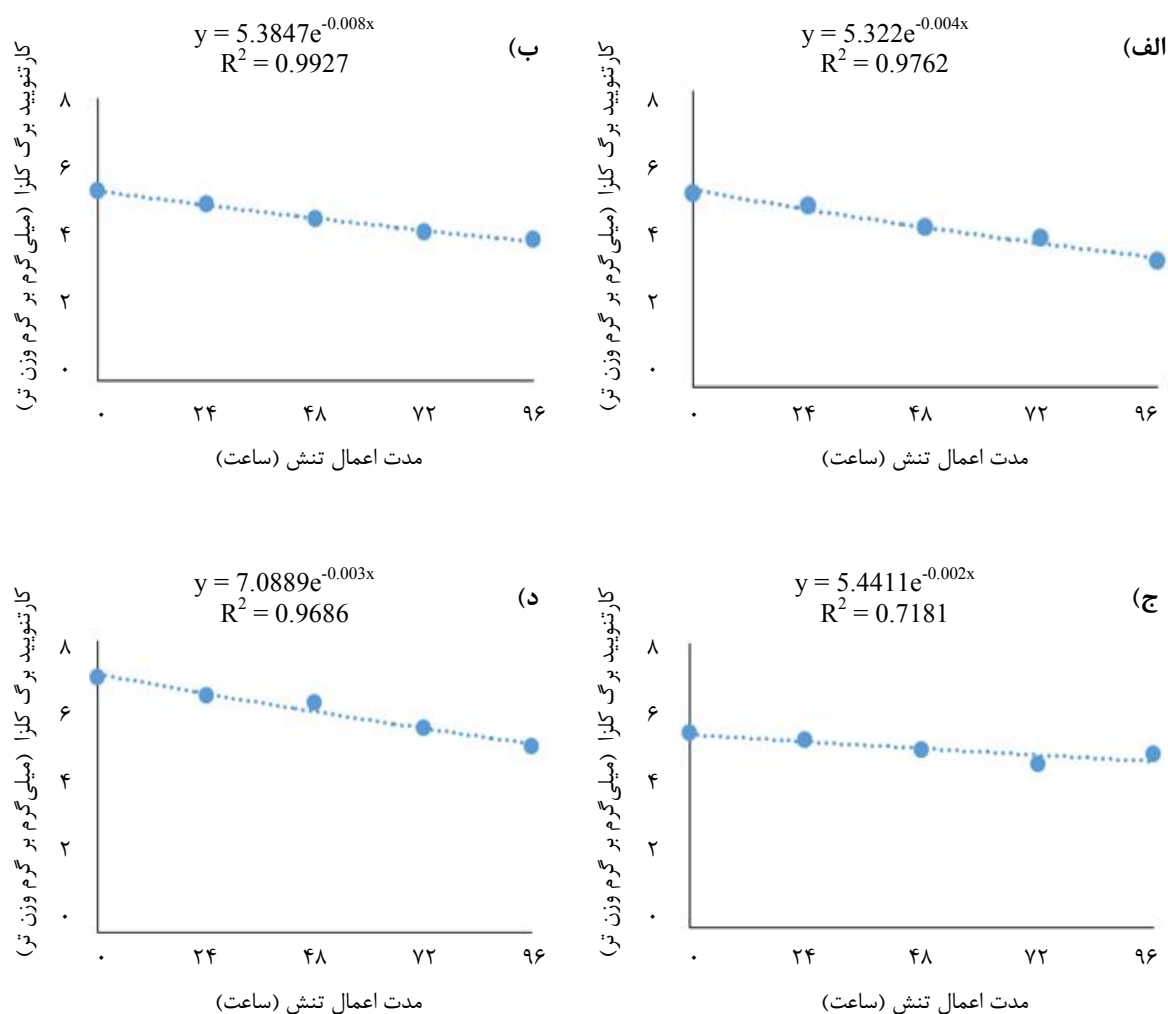


شکل ۷: تغییرات میزان کلروفیل b برگ (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) کلزا طی دوره غرقابی (صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) بر اساس مدل $y = ae^{bx}$ در دماهای الف) ۱۰ درجه، ب) ۱۵ درجه، ج) ۲۰ درجه و د) ۲۵ درجه سانتی‌گراد

تنش غرقابی باعث کاهش محتوی کلروفیل برگ‌ها به دلیل تخریب کلروپلاست گردید (Seefeldt *et al.*, 2002). زرد شدن و کاهش کلروفیل برگ‌های گندم در اثر تنش غرقابی به علت کاهش و زوال رنگدانه‌های فتوسنتزی بود (Zhang *et al.*, 2009). Lin و Zhou (۱۹۹۵) در کلزا در چهار مرحله رشدی گیاهچه‌ای، ساقه رفتن، گل‌دهی و پرشدن دانه طی ۳۰ روز غرقابی محتوی کلروفیل برگ به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. بیش‌ترین میزان کاهش کلروفیل برگ در برگ‌های پایین مشاهده شد. ملک‌محمدی و همکاران (۱۳۸۴) در گیاه لفل گزارش نمودند که میزان کلروفیل b در گیاهان تحت تیمار ۵ و ۷ روز تنش غرقابی در مرحله گیاهچه‌ای نسبت به شاهد در سطح پنج درصد کاهش نشان داد. هم‌چنین بیان نمودند که تنش غرقابی باعث کاهش معنی‌دار مقدار کارتنوئیدها نسبت به شاهد گردید. Yordanova و همکاران (۲۰۰۳) در گیاه ذرت نتیجه گرفتند که تنش غرقابی کلروفیل a و b و به‌ویژه کلروفیل b را کاهش می‌دهد.

کارتنوئید

میزان کارتنوئید در دماهای مختلف و سطوح مختلف غرقاب در شکل ۸ نشان داده شده است. با افزایش مدت غرقاب میزان کارتنوئید در سطوح مختلف دمایی روند کاهشی را نشان داد که از تابع زوال کاهشی تبعییت می‌کرد. بیش‌ترین میزان کارتنوئید در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد صفر ساعت غرقاب (۷/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کم‌ترین میزان کارتنوئید در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد ۹۶ ساعت غرقاب (۱/۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد. حفظ رنگیزه‌ها به خصوص کارتنوئیدها در طی تنش غرقاب به عنوان یک مکانیسم دفاعی است، که باعث می‌شود میزان فتوسنتز کم‌تر کاهش پیدا کند. کارتنوئیدها نقش آنتی اکسیدان را در تنش‌ها دارند. در بافت‌های فتوسنتزی کارتنوئیدها اختصاصاً وظیفه‌ی حفاظت از فتوسیستم‌ها را برعهده دارند، کارتنوئیدها از طریق فروکش کردن سریع وضعیت برانگیخته کلروفیل، حفاظت نوری را انجام می‌دهند. همان‌طور که در شکل ۸ مشاهده می‌گردد مقدار کارتنوئیدها کاهش یافته، ولی کاهش آن‌ها نسبت به کلروفیل‌ها کم‌تر است. کاهش محتوی کارتنوئیدی می‌تواند به دلیل اکسیده شدن آن‌ها توسط اکسیژن فعال و تخریب ساختار آن‌ها باشد. کاهش کارتنوئید به دلیل تنش می‌تواند کاهش کلروفیل را در پی داشته باشد (رسولی، ۱۳۹۰).



شکل ۸: تغییرات میزان کارتنوئید برگ کلزا (میلی گرم بر گرم وزن تر) طی دوره غرقابی (صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) بر اساس مدل $y = ae^{bx}$ در دماهای (الف) ۱۰ درجه، (ب) ۱۵ درجه، (ج) ۲۰ درجه و (د) ۲۵ درجه سانتی گراد

جدول ۲: پارامترهای برآورد شده (a, b, c) با حدود اطمینان و ضریب تبیین (R^2) در معادلات برازش داده شده برای

الکل دهیدروژناز و فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات آلدولاز

منابع تغییرات	a ± SE	b ± SE	c ± SE	R ²
الکل دهیدروژناز				
دمای ۱۰ (سانتی گراد)	۶۸۷۰±۴۵	۰/۰۰۹±۰/۰۰۱	-	۰/۹۸
دمای ۱۵ (سانتی گراد)	۶۸۴۳±۳۲	۰/۰۱±۰/۰۰۲	-	۰/۹۹
دمای ۲۰ (سانتی گراد)	۶۷۲۲±۲۳	۰/۰۱±۰/۰۰۲	-	۰/۹۸
دمای ۲۵ (سانتی گراد)	۷۵۸۲±۳۱	۰/۰۱±۰/۰۰۳	-	۰/۹۹
فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات آلدولاز				
دمای ۱۰ (سانتی گراد)	-۰/۰۰۰۰۰۲±۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۴۷±۰/۰۰۲	۰/۲۱±۰/۰۱	۰/۹۹
دمای ۱۵ (سانتی گراد)	-۰/۰۰۰۰۰۳±۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۵۸±۰/۰۰۱	۰/۲۳±۰/۰۰۹	۰/۹۸
دمای ۲۰ (سانتی گراد)	-۰/۰۰۰۰۰۳±۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۵۲±۰/۰۰۳	۰/۲۶±۰/۰۱	۰/۹۸
دمای ۲۵ (سانتی گراد)	-۰/۰۰۰۰۰۴±۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۶±۰/۰۰۴	۰/۲۸±۰/۰۰۷	۰/۹۷

نتیجه گیری

نتایج بررسی اثر تنش غرقابی بر پارامترهای فیزیولوژیک و مورفولوژیک در گیاهچه کلزا در مرحله گیاهچه‌ای نشان داد که تنش غرقاب باعث کاهش شیب افزایش در زیست توده (وزن خشک برگ و ریشه) گیاه نسبت به شرایط مطلوب شد. میزان کلروفیل (a, b و کارتنوئید) تحت اثر تنش غرقاب کاهش یافت، تیمار ۹۶ ساعت غرقاب کمترین میزان کلروفیل a, b و کارتنوئید را نشان داد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم الکل دهیدروژناز در دمای ۲۵ درجه و تیمار ۹۶ ساعت غرقاب و کمترین میزان فعالیت آن در ۱۰ درجه سانتی‌گراد و صفر ساعت غرقاب مشاهده گردید. بیشترین میزان فعالیت آنزیم فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات آلدولاز در ۷۲ ساعت غرقاب ۲۵ درجه سانتی‌گراد و کمترین میزان فعالیت آنزیم فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات آلدولاز در صفر ساعت ۱۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. نتایج حاکی از افزایش این دو آنزیم در طی تنش غرقاب جهت کاهش خسارات این تنش می‌باشد. با توجه به این که تنش غرقاب باعث خسارت به گیاهچه کلزا می‌شود و احتمال دارد درصد استقرار کلزا در مزرعه را کاهش دهد توصیه می‌شود تا حد امکان از کاشت در مزارع با خاک سنگین اجتناب شود و از مزارع با زهکش خاک مناسب استفاده شود.

منابع

- آمار و فناوری اطلاعات وزارت جهاد کشاورزی، ۱۳۹۱. آمارنامه کشاورزی، جلد اول: محصولات زراعی سال زراعی ۱۳۹۰-۹۱. انتشارات وزارت جهاد کشاورزی، معاونت برنامه‌ریزی و اقتصادی، دفتر آمار و فناوری اطلاعات. ۱۲۵ ص.
- اردکانی، م. و نادور، ا. ۱۳۸۸. اصول و فنون کاربردی برای متخصصان علوم گیاهی (ترجمه). انتشارات دانشگاه تهران. ۲۱۳ ص.
- تورانی، م.، گالشی، س.، زینلی، ا. و قادری‌فر، ف. ۱۳۹۲. بررسی اثر دوره غرقابی در مرحله رشد رویشی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی آناتومیکی و عملکرد سویا. پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۱۷ ص.
- رسولی، ف. ۱۳۹۰. بررسی اثر تنش غرقابی بر خصوصیات فیزیولوژیک، عملکرد و اجزای عملکرد در کلزا. پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۷۵ ص.
- سلامتی، ن. و گالشی، س. ۱۳۸۹. بررسی خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک پنبه در واکنش به اثرات غرقابی و دما. مجموعه مقالات سومین سمینار بین‌المللی دانه‌های روغنی و روغن‌های خوراکی. دانشگاه تهران. ۱-۲ دی ۱۳۸۹، تهران، ایران. ص: ۵۱-۳۲.
- سلطانی، ا. ۱۳۸۶. کاربرد نرم‌افزار SAS در تجزیه‌های آماری. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۱۸۲ ص.

- طهماسبی، م.، گالشی، س. و صادقی‌پور، ح. ۱۳۹۰. بررسی خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گندم در واکنش به اثرات غرقابی و دما. مجموعه مقالات اولین همایش تخصصی راهبردهای دستیابی به کشاورزی پایدار. دانشگاه اهواز. ۵-۷ خرداد ۱۳۹۰. اهواز، ایران. ۷۸-۱۰۰.
- قبادی، م.ا.، نادیان، ح.، بخشنده، ع.، فتحی، ق.، قرینه، م. ح.، و قبادی، م. ۱۳۸۵. بررسی رشد ریشه، عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه در ژنوتیپ‌های گندم در شرایط تنش غرقابی در مراحل مختلف رشد. نهال و بذر. ۴ (۲۲): ۵۲۵-۵۱۳.
- کافی، م.، برزوئی، ا.، کمندی، ع. و نباتی، ج. ۱۳۸۸. فیزیولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۲۳۵ ص.
- گنجعلی، ع.، پالتا، ه.، ترنر، ن. ۱۳۸۶. تأثیر تنش غرقابی بر رشد ریشه و اندام‌های هوایی ژنوتیپ نخود. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. ۳ (۱۵): ۳۴۳-۳۵۳.
- مرعشی، ک. و چانیکار، ج. ۱۳۹۰. ارزیابی شاخص‌های رشد در گندم تحت شرایط تنش غرقابی. مجله فیزیولوژی گیاهان زراعی. ۳ (۱۲): ۱۵-۲۶.
- مظفری، س.، پیردشتی، ه.، اسماعیلی، م.ع.، رامنه، و.، حیدرزاده، ا. و مصطفویان، ر. ۱۳۸۹. اثر تاریخ کاشت و محدودیت منبع و مخزن بر عملکرد دانه و اجزای عملکرد سه رقم کلزا (*Brassica napus* L). مجله‌ی علوم زراعی ایران. ۴ (۱۲): ۴۸۲-۴۹۸.
- ملک‌محمدی، ف.، منوچهری‌کلانتری، خ. و ترکزاده، م. ۱۳۸۴. اثر تنش غرقابی بر القاء تنش اکسیداتیو و غلظت عناصر در گیاه فلفل (*Capsicum annum* L.). مجله زیست‌شناسی ایران. ۲ (۱۸): ۱۱۹-۱۱۰.
- Ashraf, M. and Rehman, H. 1999. Interactive effects of nitrate and long-term water logging on growth, water signal-transduction. Plant and Soil 244: 197- 214.
- Christianson, J.A., Wilson, I., Lewellyn, W., Danny J. and Dennis, E. 2009. The low-Oxygen- Induced NAC Domain Transcription Factor ANAC102 Affects viability of Arabidopsis seeds following low- Oxygen treatment. American society of plant Biologists 149: 1724-1738.
- Dennis, E.S., Doferus, R., Ellis, M., Rahman, M., Wu, Y., Hoeren, F.U., Grover, A., smond, K.P., Good, A.G. and Peacock, W.J. 2000. Molecular strategies for improving water logging tolerance in plants. Journal of experimental botany 51: 89-97.
- 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. Journal of experimental botany 54 (386): 1421-1429.

Huang, B., Nesmith, D.S., Bridges, D.C. and Johnson, J.W. 1995. Responses of squash to salinity, waterlogging, and subsequent drainage: I. Gas exchange, water relations, and nitrogen status. *Journal of Plant Nutrition* 18: 127-140.

Ismond, K., Dolferus, R., DePauw, M., Dennis, E.S. and Good, A.G. 2003. Enhanced Low oxygen survival in *Arabidopsis* through increased metabolic flux in the fermentative pathway. *Plant Physiology* 132:1292-302.

Keyhani, E. and Keyhani, J. 2004. Hypoxia/anoxia signaling for increased alcohol-dehydrogenase activity in saffron (*Crocus sativus* L.) corm. *Annals The New York Academy of Sciences* 1030: 449-57.

McKevlin, M.R., Hook, D.D. and McKee, J.W.H. 1995. Growth and nutrient use efficiency of water tupelo seedlings in flooded and well-drained soil. *Tree Physiology* 15: 753-758.

Palta, J.A., Ganjeali, A., Turner, N.C. and Siddique, K.H.M. 2010. Effects of transient subsurface waterlogging on root growth, biomass and yield of chickpea. *Agricultural Water Management* 97: 1469-1476.

Prasad, S., Ram, P.C. and Uma, S. 2004. Effect of waterlogging duration on chlorophyll content, nitrate reductase activity, soluble sugar and grain yield of maize. *Annual Review of Plant Physiology* 18:1-5.

Sairam, R.K., Dharmar, K., Chinnusamy, V. and Meena, R. 2009. Waterlogging induced increase in sugar mobilization, fermentation, and related gene expression in the roots of mungbean (*Vigna radiata*). *Journal of Plant Physiology* 166: 602-616.

Seefeldt, S.S., Kidwell, K.K. and Waller, J.E. 2002. Base growth temperatures, germination rates and growth response of contemporary Spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars from the US Pacific Northwest. *Field Crop Research* 75: 47-52.

Singla, N.K., Jain, V.S. and Sawhney, S.K. 2003. Activities of glycolytic enzymes in leaves and root of contrasting cultivars of sorghum during flooding. *Biology Plant* 47: 335-343.

Visser, E.J.W. and Voisenek, L.A.C.J. 2004. Acclimation to soil flooding sensing and signal-transduction. *Plant and Soil* 244: 197-214.

Xu, C. and Huang, B. 2008. Root proteomic responses to heat stress in two *Agrostis* grass species contrasting in heat tolerance. *Journal of experimental botany* 59 (15): 4183-4194.

Yan, B., Dai, Q., Liu, X., Huang, Sh. and Wang, Z. 1996. Flooding induce membrane damage, lipid oxidation and activated oxygen generation in Corn leaves. *Plant and Soil* 179:261-268.

Yordanova, R., Christork, K. and popora, L.P. 2003. Antioxidative enzymes in barley plants subjected to soil flooding. *Environmental and Experimental Botany* 51: 93-101.

Younis, M.E., El-Shahaby, O.A., NematAlla, M.M. and Bastawisy, Z.M. 2003. Kinetin alleviates the influence of waterlogging and salinity on growth and affects the production of plant growth regulators in *V.sinensis* and *Zea mays*. *Agronomy* 23:277-85.

Zhang, H., Jing, L., Kui, W., Xinzheng, D. and Quanmin, L. 2009. A simple and sensitive assay for ascorbate using potassium ferricyanide as spectroscopic probe reagent. *Analytical Biochemistry* 388: 40-46

Zhou, W. and Lin, X. 1995. Effects of waterlogging at different growth stages on physiological characteristics and seed yield of winter rape (*Brassica napus* L.). *Field Crops* 44: 103-110.