

اثرات تنش شوری بر محتوی ترکیبات سازگار در ریشه‌چه و ساقه‌چه برخی از ارقام کلزای پاییزه

سهیلا رجبی^۱، قاسم کریم زاده^{۱*} و فائزه قناتی^۲

^۱ تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی

^۲ تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم گیاهی

تاریخ پذیرش: ۹۴/۵/۱۳

تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۵

چکیده

به منظور مطالعه تحمل به تنش شوری در سه رقم کلزای پاییزه (*Brassica napus* L.) با نام‌های Agat و Symbol، Colvert تغییرات مقدار پرولین، پروتیین و قندهای کل محلول در ریشه‌چه و ساقه‌چه در چهار تیمار شوری شامل صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ میلی مولار از NaCl و سه زمان ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت در شرایط هیدروپونیک بررسی شد. آزمایش به صورت فاکتوریل سه عاملی در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین ارقام و سطوح تیمار شوری وجود دارد. مقایسه میانگین‌ها به روش LSD نشان داد که بیشترین مقدار تجمع پرولین و پروتیین در ریشه‌چه و ساقه‌چه رقم Colvert و تیمار شوری ۱۵۰ میلی مولار از NaCl بود و دو رقم دیگر در رده‌های بعدی قرار گرفتند. بیشترین انباشت قندهای کل در ریشه‌چه و ساقه‌چه رقم Colvert به شکل مشابه در غلظت ۱۰۰ میلی مولار از NaCl مشاهده شد. نتایج به دست آمده نشان داد که افزایش اسمولیت‌های سازگار مانند پرولین، پروتیین و قندهای کل محلول بر روی تحمل به تنش شوری در ارقام کلزای پاییزه تأثیر گذار بوده است.

واژه‌های کلیدی: کلزای پاییزه، تنش شوری، پروتیین، پرولین، قندهای محلول

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۴۸۲۹۲۱۰۳، پست الکترونیکی: karimzadeh_g@modares.ac.ir

مقدمه

پاسخ به تنش مکانیسم‌های مختلفی مانند تنظیم هموستازی یون‌ها (۲، ۱۱)، انباشت پروتیین‌ها در طی فرآیند تنش (۲۶) و بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در از بین بردن رادیکال‌های اکسیژن (۲۵) در گیاهان وجود دارد که باعث تحمل به تنش در آنها می‌گردد. یکی از مهمترین راه‌هایی که گیاه برای منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی سلول‌هایش انجام می‌دهد، سنتز مواد آلی اسموپروتکتانت (۱۰) با نام ترکیبات سازگار می‌باشد (۲۵) که به این فرآیند تعدیل اسمزی گفته می‌شود. این تعدیل به عنوان یک سازگاری مهم در گیاهان متحمل به شوری می‌باشد. زیرا این امر به نگهداری فشار تورژانس و حجم سلول کمک

تنش شوری یکی از مهمترین تنش‌های غیرزنده می‌باشد. پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۵۰ بیشتر از ۵۰٪ از زمین‌های زراعی دنیا شور شوند (۱۹). مراحل جوانه زنی، رشد گیاهچه، رشد رویشی، گلدهی و میوه‌دهی به شدت تحت تأثیر اثرات زیانبار تنش شوری می‌باشند که در نهایت موجب کاهش کمی و کیفی محصولات زراعی می‌گردد (۲۵). دانستن پاسخ ملکولی گیاهان طی تنش‌های غیرزنده بسیار مهم است تا از طریق آن بتوان تغییرات ژنتیکی را برای تحمل به شرایط تنش ایجاد کرد. گیاهان بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و ژنتیکی شان واکنش‌های مختلفی را به تنش شوری نشان می‌دهند. در

با تعویض محلول و تهیه محلول هوگلند حاوی تیمارهای شوری شامل صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ میلی مولار از NaCl در ۳ تکرار به مدت ۲۴ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌برداری در سه زمان ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت انجام و ریشه‌چه از ساقه‌چه جدا گردید و نمونه‌ها پس از منجمد شدن با نیتروژن مایع در دمای $^{\circ}\text{C} -80$ نگهداری شدند.

سنجش مقدار پرولین: استخراج پرولین از روش اسپکتوفتومتری (۹، ۷) انجام گرفت. مقدار 0.2 g بافت ریشه‌چه و ساقه‌چه به صورت جدا برای هر تکرار وزن شد و در 10 ml سولفوسالیسیلیک اسید $3/3\%$ (v/v) همگن شد. سپس همگنای حاصل در 2000 g در $^{\circ}\text{C} 4$ به مدت 10 min سانتریفیوژ شد. بخش روشناور جدا شده و در لوله 15 ml ریخته شد. 2 ml از عصاره در لوله آزمایش ریخته و به هر کدام از لوله‌ها معرف ناین هیدرین و اسید استیک گلاسیال خالص اضافه شد و درب لوله‌ها محکم بسته شدند. لوله‌ها به مدت ۱ ساعت در حمام آب جوش قرار گرفته و پس از بیرون آوردن به منظور خنک شدن در درون ظرف آب یخ قرار گرفتند. به هر کدام از لوله‌ها 4 ml تولوئن اضافه شد و پس از بستن در لوله‌ها، به مدت 15 s تا 20 بار ورتکس شدند. پس از تشکیل دو فاز جداگانه، فاز بالایی رنگی تولوئنی که حاوی اسید آمینه پرولین می‌باشد با دقت جدا گردید و در طول موج 520 nm اسپکتروفتومتر (Cintra6, GBC, Australia) خوانده شد.

سنجش مقدار پروتئین:

استخراج پروتئین با روش برادفورد (۸) و استفاده از آلبومین سرم گاوی به عنوان استاندارد انجام گرفت و نمونه‌ها در طول موج 595 nm اسپکتوفتومتر خوانده شد.

سنجش قندهای کل محلول: استخراج قندهای کل با استفاده از روش فنل-سولفوریک (۱۲) صورت گرفت. مقدار 0.2 g از نمونه‌های تازه منجمد شده با 2 ml بافر سدیم فسفات ($\text{pH} = 7$) ساییده شد. همگنای حاصل در 13000 به مدت 20 min سانتریفیوژ شد. محلول رویی

می‌کند. استفاده از مهندسی ژنتیک و تولید گیاهان ترانسژنیک جهت بالا بردن بیان ژنهای درگیر در سنتز محلول‌های سازگار در گیاهان مانند آرابیدوپسیس، برنج، گندم و جنس *Brassica* منجر به ایجاد تحمل به تنش شوری در مراحل مختلف رشد مانند جوانه زنی، رشد گیاهچه، بقاء و باززایی و عملکردشان شده است (۱۱)، (۱۳). تجمع ترکیبات سازگار به سم زدایی گونه‌های اکسیژن واکنشی کمک نموده و فعالیت‌های چپرون مانند این ترکیبات موجب حفظ و پایداری ساختار و عملکرد پروتئین‌ها و ساختارهای سلولی می‌شوند. قندها، انواع اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها و اسیدهای آلی جزء اسمو لیت‌های سازگار می‌باشند. این مواد دارای وزن ملکولی پایین و غیر سمی می‌باشند (۵). دانه‌های روغنی پس از غلات دومین ذخایر غذایی دنیا را تشکیل می‌دهند. گیاه کلزا یکی از مهم‌ترین گیاهان روغنی در سطح جهان است به طوریکه بعد از سویا و پنبه سومین دانه روغنی دنیا مطرح است و در کشور ما نیز به طور مستمر کشت و کار می‌شود (۲). در تحقیق حاضر، به منظور بررسی تحمل به تنش شوری در سه رقم کلزای پاییزه، تغییرات برخی از اسمولیت‌های آلی مانند پرولین، پروتئین و قندهای کل محلول در شرایط تنش شوری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

تهیه بذور گیاهی، شرایط کاشت و نمونه‌برداری: بذور ارقام مورد نظر کلزا از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه گردید. بذور با استفاده از هیپوکلریت سدیم 5% (v/v) به مدت 5 min ضد عفونی شدند و سپس ۳ بار و هر بار به مدت 5 min با آب مقطر شستشو داده شدند. بعد از جوانه زنی، گیاهچه‌های شش روزه به محلول هوگلند هوادهی شده منتقل شدند. به منظور استقرار گیاهچه‌ها در ظروف حاوی هوگلند هوادهی شده به مدت دو روز در اتاق رشد با دمای $^{\circ}\text{C} 22$ و فتوپریود ۱۶ ساعت تاریکی و ۸ ساعت روشنایی قرار گرفتند و بعد از دو روز

نتایج

- پرولین: نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول‌های ۱ و ۲) نشان داد که اثرات ساده زمان تیمار، تیمار شوری و رقم بر روی پرولین ریشه چه و ساقه چه معنی دار شد و اثر متقابل سه عاملی تیمار در رقم در زمان معنی دار نبود. اثر متقابل دو عاملی تیمار در رقم در سطح احتمال ۱٪ در ریشه‌چه و ساقه چه معنی دار شد. نتایج نشان داد که حداکثر مقدار تجمع پرولین در ریشه‌چه و ساقه‌چه رقم متحمل Colvert (شکل‌های ۱ و ۲) و پس آن رقم Symbol و Agat می‌باشد.

جدا شده و به آن فنل ۵٪ (محلول آبی) و اسیدسولفوریک بسیار غلیظ (۹۸٪) اضافه گردید. این واکنش گرمازا و رنگ‌زا است. پس از تثبیت رنگ (۱۵-۱۰ min) در دمای °C ۳۰-۲۷ به منظور اندازه‌گیری قندهای کل محلول و با استفاده از گلوکز به عنوان استاندارد با غلظت‌های $\mu\text{g ml}^{-1}$ ۳۰-۰، جذب محلول‌ها در طول موج ۴۹۰ nm اسپکتروفنومتر خوانده شد.

داده‌های حاصل از سنجش کمی پرولین، پروتیین و قندهای محلول در قالب آزمایش فاکتوریل سه عاملی با طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار با استفاده از نرم افزار Minitab 14 و افزاز MSTATC بررسی گردید.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تیمارها بر روی مقدار پرولین، پروتیین، قندهای کل در ریشه‌چه در سه رقم کلزای پاییزه

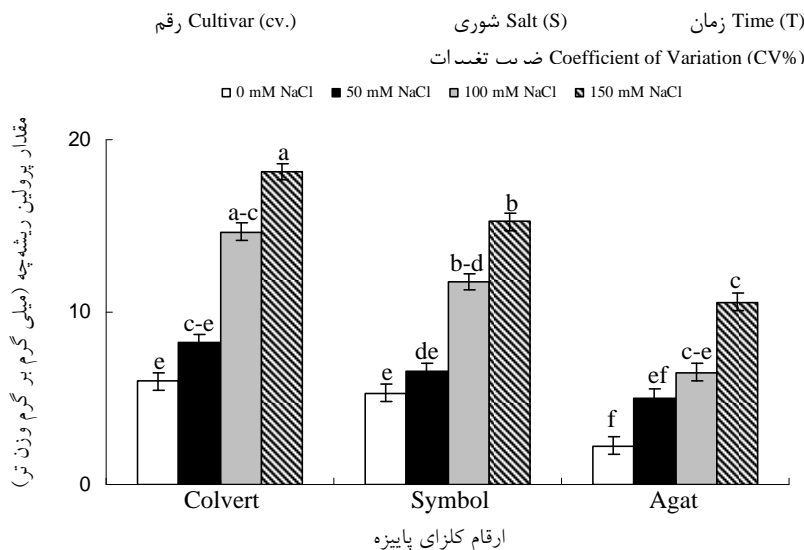
S.O.V.	DF	MS		
		Proline	Protein	Carbohydrates
Time (T)	2	0.858***	1.563***	1.133***
Salt (S)	3	21.777***	10.944***	21.345***
Cultivar (cv.)	1	12.926***	29.178***	7.188***
T × S	6	0.046 ^{ns}	0.053 ^{ns}	0.474***
T × cv.	2	0.165 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.404***
S × cv.	3	0.326**	0.085 ^{ns}	1.168***
T × S × cv.	6	0.080 ^{ns}	0.143*	0.578***
Error	48	0.112	0.051	0.080
CV%		11.2	7.5	9.4

S.O.V (Sources of variation) منابع تغییرات
 DF (Degrees of freedom) درجه آزادی
 MS (Mean squares) میانگین مربعات
 CV% (Coefficient of Variation) ضریب تغییرات
 *، **، *** اختلاف معنی دار به ترتیب در سطوح احتمال ۵٪، ۱٪ و ۰/۱٪
 *، **، *** Non-significant at 0.05 probability level = اختلاف غیر معنی دار در سطح احتمال ۵٪
 Time (T) زمان
 Salt (S) شوری
 Cultivar (cv.) رقم

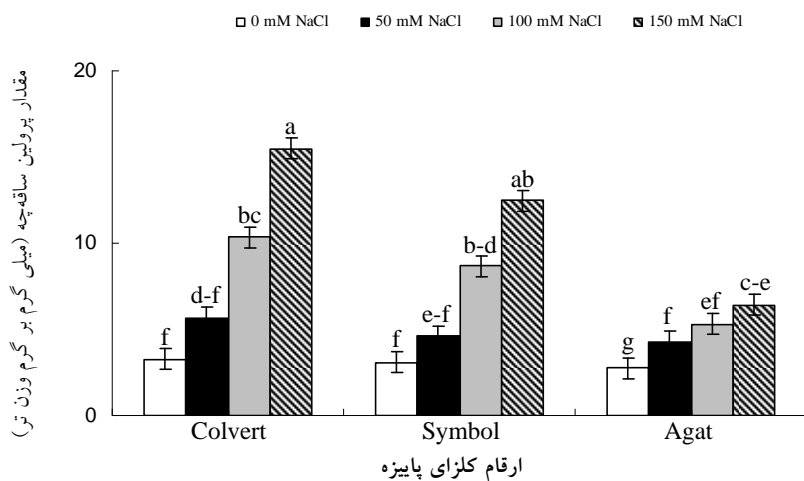
جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمارها بر روی مقدار پرولین، پروتیین و قندهای کل محلول در ساقه‌چه در سه رقم کلزای پاییزه

S.O.V.	DF	MS		
		Proline	Protein	Carbohydrates
Time (T)	2	1.516**	0.593***	2.596***
Salt (S)	3	10.415***	20.222***	6.418***
Cultivar (cv.)	1	11.568***	17.226***	12.470***
T × S	6	0.308 ^{ns}	0.157*	2.358***
T × cv.	2	0.211 ^{ns}	0.203*	0.756***
S × cv.	3	1.439**	0.149*	1.809***
T × S × cv.	6	0.443 ^{ns}	0.096 ^{ns}	1.434***
Error	48	0.290	0.066	0.142
CV%		17.9	8.5	12.50

S.O.V (Sources of variation) منابع تغییرات
 DF (Degrees of freedom) درجه آزادی
 MS (Mean squares) میانگین مربعات
 *، **، *** اختلاف معنی دار به ترتیب در سطوح احتمال ۵٪، ۱٪ و ۰/۱٪
 *، **، *** Non-significant at 0.05 probability level = اختلاف غیر معنی دار در سطح احتمال ۵٪



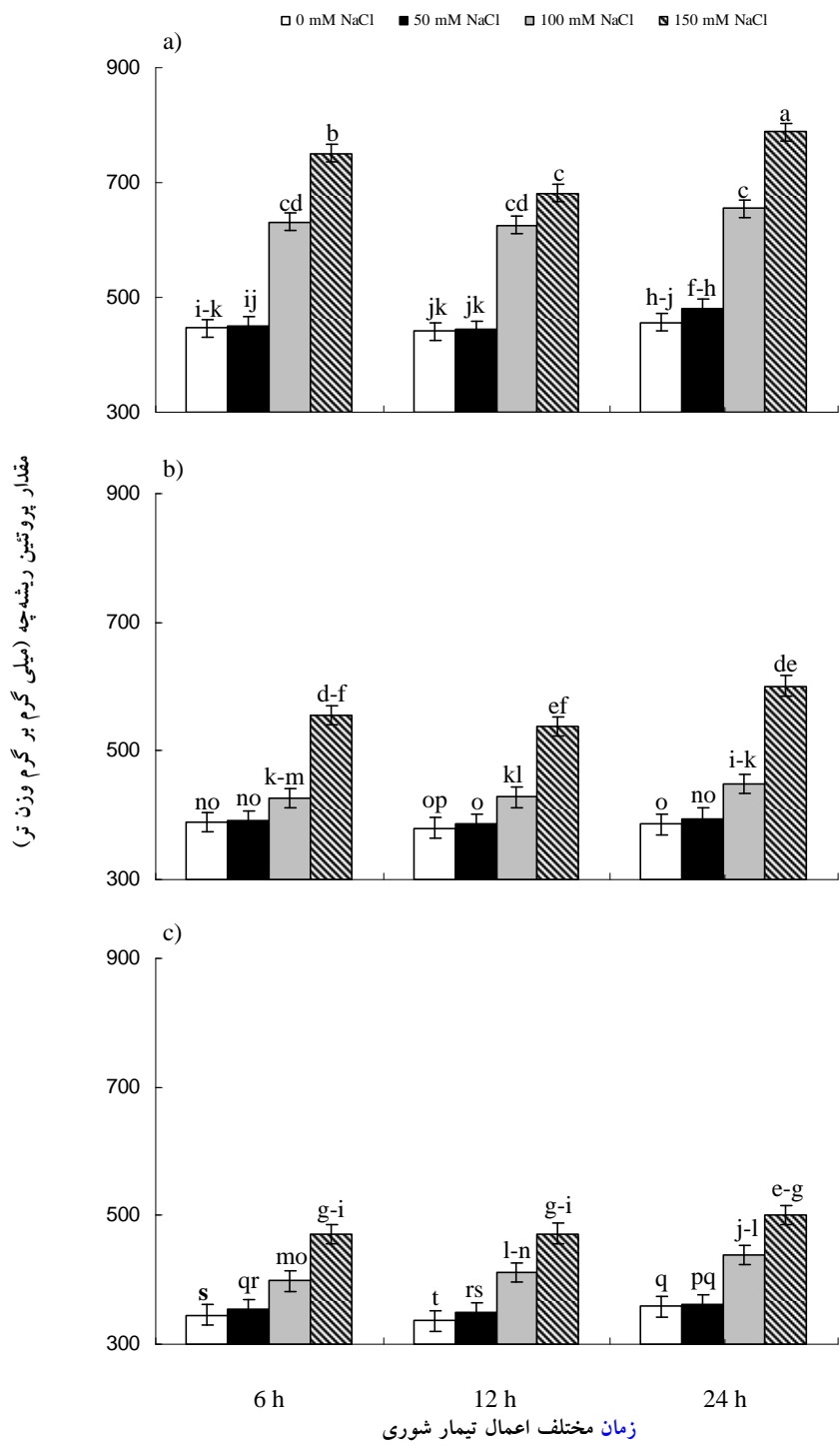
شکل ۱- اثر تیمار شوری بر مقدار پرولین (میلی گرم بر گرم وزن تر) ریشه‌چه ارقام کلزای پاییزه



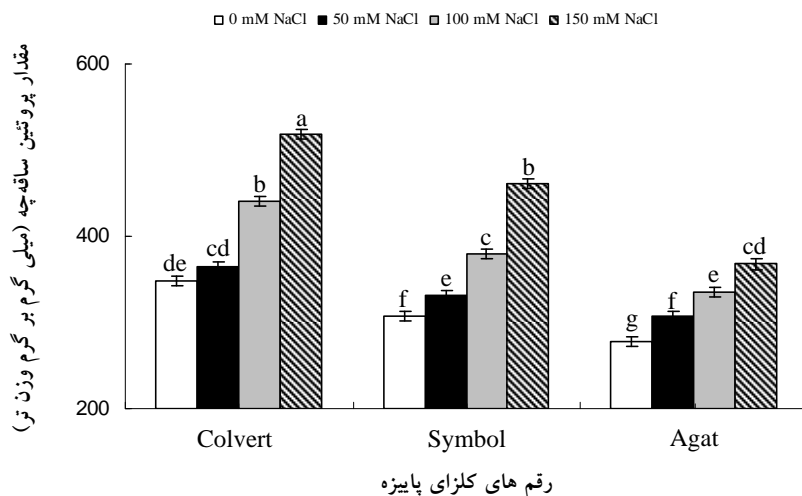
شکل ۲- اثر تیمار شوری بر مقدار پرولین (میلی گرم بر گرم وزن تر) ساقه‌چه ارقام کلزای پاییزه

پروتئین: نتایج حاصل از دو جدول تجزیه واریانس ۱ و ۲ و بررسی مقدار تغییرات پروتئین محلول در شرایط تنش شوری نشان داد که اثرات ساده زمان تیمار، تیمار شوری و رقم بر روی پروتئین ریشه‌چه و ساقه‌چه معنی دار شد و اثر متقابل سه عاملی تیمار در رقم در زمان در ریشه‌چه در سطح احتمال ۵٪ معنی دار شده است اما در ساقه‌چه معنی دار نبود. در ساقه‌چه اثرات دو عاملی زمان تیمار در تیمار شوری، زمان تیمار در رقم و تیمار شوری در رقم معنی دار بود. نتایج حاصل از سنجش مقدار پروتئین در ریشه‌چه و ساقه‌چه نشان می‌دهد که با افزایش سطح تنش شوری مقدار تجمع پروتئین نیز بیشتر شده است که بیشترین مقدار آن در رقم متحمل Colvert، تیمار چهارم ۱۵۰ میلی مولار از NaCl و زمان سوم (۲۴ h) بود و پس از آن رقم نیمه متحمل Symbol و حساس Agat قرار گرفت. (شکل‌های ۳ و ۴).

پروتئین: نتایج حاصل از دو جدول تجزیه واریانس ۱ و ۲ و بررسی مقدار تغییرات پروتئین محلول در شرایط تنش شوری نشان داد که اثرات ساده زمان تیمار، تیمار شوری و رقم بر روی پروتئین ریشه‌چه و ساقه‌چه معنی دار شد و اثر متقابل سه عاملی تیمار در رقم در زمان در ریشه‌چه در سطح احتمال ۵٪ معنی دار شده است اما در ساقه‌چه معنی دار نبود. در ساقه‌چه اثرات دو عاملی زمان تیمار در تیمار شوری، زمان تیمار در رقم و تیمار شوری در رقم معنی دار بود. نتایج حاصل از سنجش مقدار پروتئین در ریشه‌چه و ساقه‌چه نشان می‌دهد که با افزایش سطح تنش شوری مقدار تجمع پروتئین نیز بیشتر شده است که بیشترین مقدار آن در رقم متحمل Colvert، تیمار چهارم ۱۵۰ میلی مولار از NaCl و زمان سوم (۲۴ h) بود و پس از آن رقم نیمه متحمل Symbol و حساس Agat قرار گرفت. (شکل‌های ۳ و ۴).



شکل ۳- اثر تیمار شوری و زمان (۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت (h)) بر مقدار پروتئین (میلی گرم بر گرم وزن تر) ریشه‌چه ارقام کلزای پائیزه Agat (c) و Symbol (b) و Colvert (a)



شکل ۴- اثر تیمار شوری بر مقدار پروتئین (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) ساقچه رقم های کلزای پاییزه

شوری (0، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ mM NaCl و شاهد) بر روی دو رقم حساس و متحمل کلزا بررسی و مشخص شد که میزان تجمع پروتئین در رقم متحمل Dunkeld بیشتر از رقم حساس Cyclon بود. به عبارت دیگر، میزان تجمع پروتئین در رقم متحمل ۱/۲ برابر رقم حساس بود. این نتایج با یافته‌های تحقیقات برخی دیگر از محققین در رابطه با تغییرات مقدار پروتئین در اثر اعمال تنش شوری مطابقت دارد (۴، ۶، ۱۴، ۱۵، ۱۶ و ۱۷). همچنین گزارشات نشان می‌دهد تنش خشکی نیز منجر به افزایش تجمع پروتئین می‌گردد (۱ و ۳).

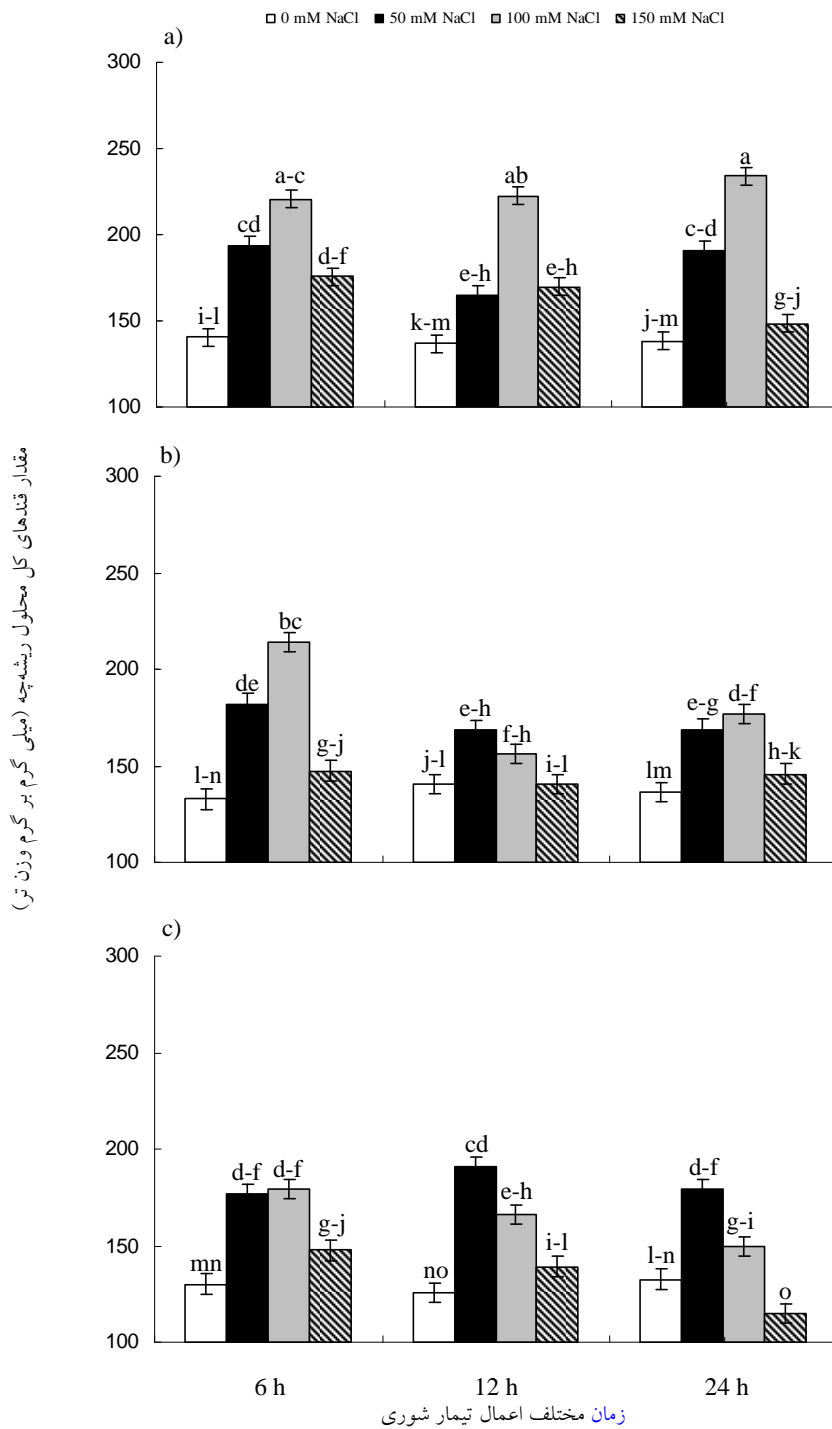
در تحقیق حاضر مشاهده شد که با افزایش تنش شوری مقدار تجمع پروتئین نیز افزایش یافت که بیشترین میزان تجمع پروتئین در رقم Colvert اتفاق افتاد. مقدار انباشت پروتئین در ریشه‌چه این رقم ۱/۷۲ برابر و برای ساقچه‌چه ۱/۵ برابر در مقایسه با شاهد می‌باشد. در ارقام متحمل به تنش، انباشت پروتئین نیز بیشتر است. در یک بررسی (۲۶) بر روی اثر تنش شوری بر خردل (*Brassica juncea*) مشخص شد که افزایش تنش شوری (50 mM NaCl) منجر به انباشت بیشتر پروتئین شد، به عبارت دیگر تنش

قندهای کل محلول: بر طبق جدول تجزیه واریانس ۱ و ۲ اثرات ساده زمان تیمار، تیمار شوری و رقم بر روی مقدار قند های محلول ریشه‌چه و ساقه‌چه معنی دار شد. همچنین اثر متقابل سه عاملی تیمار در رقم در زمان برای مقدار قندهای کل محلول ریشه‌چه و ساقه‌چه در سطح احتمال ۰/۱٪ بسیار معنی دار بود. بیشترین مقدار تجمع قندهای کل محلول در تیمار ۳، زمان ۳ و ریشه‌چه و ساقه‌چه رقم متحمل Colvert (شکل های ۵ و ۶) می‌باشد.

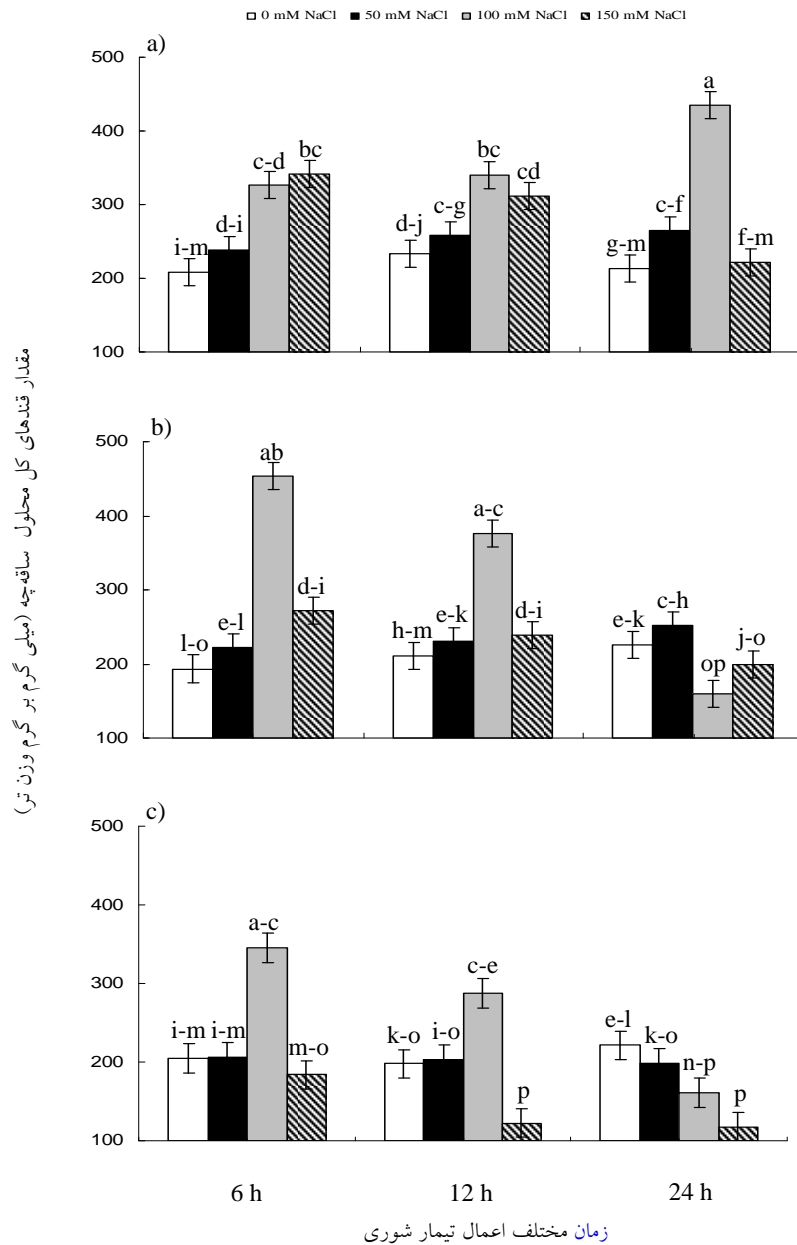
بحث

یکی از مهمترین راه کارهای تحمل به شرایط تنش افزایش مقدار پروتئین می‌باشد (۲۵). داده های حاصل از سنجش مقدار کمی پروتئین تحت تنش شوری در سه رقم مورد نظر نشان می‌دهد که بیشترین مقدار تجمع پروتئین در ریشه‌چه و ساقه‌چه رقم متحمل Colvert و پس آن رقم Symbol و Agat می‌باشد. به بیان دیگر، تنش شوری باعث افزایش مقدار پروتئین به میزان ۳/۱ برابر در ریشه‌چه و ۴/۲ برابر برای ساقه‌چه رقم متحمل Colvert بود. طبق بررسی های انجام شده میزان انباشت پروتئین تحت شرایط تنش در رقم متحمل بیشتر می‌باشد. در یک بررسی (۲۱) اثر تنش

شوری منجر به انباشت پروتئین به میزان ۱/۲۱ برابر در مقایسه با شاهد شد.



شکل ۵- اثر تیمار شوری و زمان (۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت (h)) بر مقدار قندهای کل محلول (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) ریشه‌چه ارقام کلزای پائیزه (a) Colvert (b) Symbol و (c) Agat



شکل ۶- اثر تیمار شوری و زمان (۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت (h)) بر مقدار قندهای کل محلول (میلی گرم بر گرم وزن تر) ساقه‌چه ارقام کلزای پائیزه (a)

Agat (c) و Symbol (b, Colvert)

نسبت به شاهد افزایش پیدا کرده است. در یک بررسی که بر روی اثر تنش شوری بر روی مقدار کربوهیدرات‌ها بر روی برنج انجام گرفت، مشخص شد که تنش شوری منجر به افزایش تجمع قندهای گلوکز، فروکتوز، ساکاروز و تر هالوز می‌شود (۲۰). نتایج به دست آمده در این تحقیق

کربوهیدرات‌ها به عنوان اسمولیت‌های سازگار نقش بسیار مهمی را در افزایش تحمل گیاهان در شرایط تنش به خصوص تنش شوری بر عهده دارند و بیشترین تجمع قند گلوکز در ریشه‌چه رقم Colvert می‌باشد مقدار تجمع قندهای کل در رقم متحمل Colvert در حدود ۱/۶۳ برابر

تعدیل اسمزی و کمک به نگهداری فشار تورژسانس و حجم سلول و در نهایت تحمل به شرایط تنش شوری می‌نماید. شرایط تنش موجب تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی (Reactive Oxygen Species or ROS) شامل رادیکال سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل ($OH\cdot$) می‌باشد (۱۸). گیاهان دارای انواع مکانیسم‌های آنزیمی و غیر آنزیمی برای از بین بردن ROS ها هستند (۱۱). اثر تنش شوری بر روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در سه رقم مورد نظر کلزای پاییزه توسط محققین (۲۳) بررسی شده است که بیشترین فعالیت این آنزیم‌ها در رقم متحمل Colvert گزارش شده است.

با تحقیقات برخی دیگر از محققان در رابطه با تجمع کربوهیدرات‌ها در شرایط تنش شوری، مطابقت دارد (۲۲ و ۲۴).

از مکانیسم‌های تحمل به تنش شوری در گیاهان تجمع اسمولیت‌های سازگار می‌باشد. با توجه به پارامترهای مورد مطالعه در مرحله گیاهچه‌ای که شامل سنجش برخی از مکانیسم‌های تحمل به تنش شوری مانند سنجش ترکیبات سازگار مانند پرولین، پروتئین‌ها، قندهای کل محلول در ریشه‌چه و ساقه‌چه بر روی سه رقم کلزا مشاهده می‌شود، رقم Colvert متحمل تر از دو رقم دیگر بوده است. رقم Symbol نیمه متحمل و رقم Agat به عنوان رقم حساس شناخته شدند انباشت این مواد منجر به

منابع

- ۱- امینی، ز، معلمی، ن. و سعادت، ص. ۱۳۹۳. مقایسه اثر تنش کم آبی بر تغییرات میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در سه رقم زیتون (*Olea europaea* L.). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران). جلد ۲۷: ص ۱۶۷-۱۵۶.
- ۲- شریعتی، ش و قاضی‌شهنی زاده، پ (۱۳۷۹). کلزا، اداره کل آمار و اطلاعات در امور کشاورزی، معاونت برنامه‌ریزی و بودجه، ۸۱ ص.
- ۳- میرزایی، م، معینی، ا. و قناتی، ف. ۱۳۹۲. اثر تنش شوری بر میزان پرولین و قندهای محلول گیاهچه‌های کلزا (*Brassica napus*) مجله زیست‌شناسی ایران. جلد ۲۶: ص ۹۸-۹۰.
- 4- Abdul Jaleel, C., Manivannan, P., Lakshmanan, G. M. A., Sridharan, R. and Panneerselvam, A. 2007. NaCl as a physiological modulator of proline metabolism and antioxidant potential in *Phyllanthus amarus*. Critical in Research Biologies, 330: 806-813.
- 5- Apse, M. A. and Blumwald, E. 2002. Engineering salt tolerance in plants. Current Opinion in Biotechnology, 13: 146-150.
- 6- Ashraf, M. and Foolad, M. R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany, 59: 206-216.
- 7- Bates, L. S., Walderen R. D. and Taere, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil, 39: 205-207.
- 8- Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of "protein-dye binding". Analytical Biochemistry, 72: 248-254.
- 9- Chakraborty, U. and Tongden, C. 2005. Evaluation of heat acclimation and salicylic acid treatment as potent inducers of thermo tolerance in *Cicer artinum* L. Current Science, 89: 384-388.
- 10- Chen, T. H. H. and Murata, N. 2000. Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. Current Opinion in Plant Biology, 5: 250-257.
- 11- Chinnusamy, V., Jagendorf, A. and Zhu, J. K. 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. Crop Science, 45: 437-448.
- 12- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebes, P. A. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of green-type annual blugrass ecotype. Crop Science, 41: 1862-1870.
- 13- Garg, A. K., Kim, J. K., Owens, T. G., Ranwala, A. P., Choi, Y. D., Kochian L. V. and Wu, R. J. 2002. Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic

- stresses. Proceedings National Academy of Sciences online USA, 99: 15898-15903.
- 14- Hoque, A., Okuma, E., Akhter Banu, N., Nakamura, Y., Shimoishi, Y. and Murata, Y. 2007. Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than exogenous betaine by increasing antioxidant enzyme activities. *Plant Physiology*, 164: 553-561.
 - 15- Kattab, H. 2007. Role of glutathione and polyadenylic acid on the oxidative defense systems of two different cultivars of canola seedlings grown under saline condition. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3: 323-334.
 - 16- Kavi Kishor, P. B., Hong, Z., Miao, G., Hu, C. A. and Verma, D. P. S. 1995. Over expression of D1-pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline overproduction and confers osmotic tolerance in transgenic plants. *Plant Physiology*, 108: 1387-1394.
 - 17- Liu, R., Shi, H., Wang, Y., Chen, S., Deng, J., Liu, Y., Li, S. and Chan, Z. 2014. Comparative physiological analysis of lotus (*Nelumbo nucifera*) cultivars in response to salt stress and cloning of Nn CIPK genes. *Scientia Horticulturae*, 173: 29-36.
 - 18- Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7: 405-410.
 - 19- Mokhamed, A. M., Raldugina, G. N., Kholodova V. P. and Kozneto, V. V. 2006. Osmolyte accumulation in different rape genotypes under sodium chloride salinity. *Russian Journal of Plant Physiology*, 53: 649-655.
 - 20- Morsya, M., Jouveb, L., Hausmanb, J. F., Hoffmannb L. and Stewarta. J. 2007. Alteration of oxidative and carbohydrate metabolism under abiotic stress in two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes contrasting in chilling tolerance. *Plant Physiology*, 164: 157-167.
 - 21- Qasim, M., Ashraf, M., Ashraf, M. Y., Rehman, S. U. and Rha, E. S. 2003. Salt-induced changes in two canola cultivars differing in salt tolerance. *Biologia Plantarum*, 4: 629-632.
 - 22- Rahdari, P., Tavakoli, S. and Hosseini, S. M. 2012. Studying of salinity stress effect on germination, proline, sugar, protein, lipid and chlorophyll content in purslane (*Portulaca oleracea* L.) leaves. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 8: 182-193.
 - 23- Rajabi, S., Karimzadeh, G. and Ghanati, F. 2012. Salt-induced changes of antioxidant enzymes activity in winter canola (*Brassica napus*) cultivars in growth chamber. *Journal of Plant Physiology and Breeding*, 2(1): 11-21.
 - 24- Riahy, M. and Ehsanpour, A. A. 2012. Effect of salinity on growth, chlorophyll, carbohydrate and protein contents of transgenic *Nicotiana glauca* over expressing P5CS gene E3. *Journal of Environmental Research and Management*, 4: 0164-0170.
 - 25- Sairam, P. K. and Tyagi, A. 2004. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science*, 86: 407-421.
 - 26- Shah, S. H. 2007. Effects of salt stress on mustard as affected by gibberellic acid application. *Plant Physiology*, 33: 97-106.

Effects of Salt Stress on Compatible Solutes Content in Seedlings Roots and Shoots of some Winter Canola (*Brassica napus* L.) Cultivars

Rajabi S.¹, Karimzadeh G.¹ and Ghanati F.²

¹ Plant Breeding and Biotechnology Dept., Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R. of Iran

² Plant Biology Dept., Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

To study salt stress tolerance, changes of some solutes such as proline, soluble total proteins and carbohydrate contents in canola seedling's roots and shoots were studied. Three winter cultivars of canola (*Brassica napus* L.), including Colvert, Symbol and Agat were treated with 0 (control), 50, 100, and 150 mM NaCl for 6, 12 and 24 h in hydropoic conditions. The data were first tested for normality and then were analyzed according to 3-factorial balanced CRD with three replications. The ANOVA results showed that significant differences between cultivars and salt treatments. Physiological parameters showed significant differences in salinity treatment levels in either roots or shoots. LSD mean comparisons showed the highest accumulation of proline and protein in Colvert roots and shoots at 150 mM NaCl while the highest amount of soluble carbohydrate contents were identified in Colvert roots and shoots in 100 mM NaCl. The results suggest that solutes enhanced in response to salt in salt tolerant canola cultivar.

Key words: Winter canola, Salt stress, Protein, Proline, Soluble Carbohydrates