



## اثر اقلیم‌پذیری و اسموپرایمینگ بذر بر تحمل تنش شوری گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.)

فصلنامه بوم‌شناسی گیاهان زراعی

جلد ۱۷، شماره ۲، صفحات ۹۶-۷۵

(تابستان ۱۴۰۰)

آفاق یآوری<sup>✉</sup>، قادر حبیبی، معصومه عابدینی، غلامرضا بخشی خانیکی

گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

✉ [Yavari.afagh@pnu.ac.ir](mailto:Yavari.afagh@pnu.ac.ir) : نویسنده مسئول

### شناسه مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۱۵

### چکیده

شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که بر عملکرد بذر و تولید محصول تأثیر می‌گذارد. شوری باعث اثرات نامطلوب مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه گندم می‌شود. در این پژوهش، اثرات پرایمینگ بذر (پرویلین ۱ میلی‌مولار) بر پاسخ گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.) به تنش شوری در شرایط اقلیم‌پذیر و غیر اقلیم‌پذیر، مورد بررسی قرار گرفت. بذور گندم تحت اقلیم‌پذیری و پرایمینگ بذر با پرویلین (۱ میلی‌مولار) به مدت ۱۲ ساعت قرار گرفتند. سپس بذرها در گلدان‌های حاوی خاک شور (EC=26.5 دسی‌زیمنس بر متر) کاشته شدند و رشد گیاه و پارامترهای فیزیولوژیکی، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در شرایط بدون تنش، عملکرد بذر با تیمار پرویلین، افزایش یافت. پیش‌تیمار بذرها با پرویلین تحت تنش شوری، عملکرد فتوسنتزی آنها را در مقایسه با اقلیم‌پذیری، حفظ کرد. نتایج بررسی صفات وزن خشک اندام هوایی همراه با میزان مالون‌دی‌آلدئید نشان داد که اقلیم‌پذیری با غلظت کم نمک، نمی‌تواند اثر بازدارندگی شوری بالا (EC=26.5 دسی‌زیمنس بر متر) را کاهش دهد. بنابراین، تحقیقات بیشتری برای بهینه‌سازی پروتکل اقلیم‌پذیری، عوامل اسموپرایمینگ بذر و شرایط محیطی برای افزایش تحمل گیاه گندم به تنش شوری مورد نیاز است.

### واژه‌های کلیدی

- ✦ آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی
- ✦ املاح سازگار
- ✦ تنش شوری
- ✦ حافظه تنش‌القایی
- ✦ فلورسانس کلروفیل

این مقاله با دسترسی آزاد تحت شرایط و قوانین The Creative Commons of BY- NC- ND انتشار یافته است.



10.22034/AEJ.2021.705319

#### مقدمه

تنش شوری رشد، تولید، بهره‌وری و عملکرد گندم را با تأثیر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی تهدید می‌کند (Abid *et al.*, 20018). شوری باعث آسیب اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی غشاء و تخریب مولکول‌های زیستی حیاتی (DNA، رنگدانه‌های فتوسنتزی و غیره) می‌شود (Mansour *et al.*, 2019). رویکردهای مختلفی مانند شیوه‌های صحیح زراعی، اصلاح سنتی برای کاهش خسارات ناشی از شوری، استفاده شده است (Lei *et al.*, 2021). در میان این رویکردها، پرایمینگ برای توصیف پاسخ گیاه به تنش شوری، به‌خوبی شناخته شده است. پرایمینگ، منجر به حالتی فیزیولوژیکی می‌شود که در آن گیاهان قادرند پاسخ‌های دفاعی را سریع‌تر و بهتر فعال کنند (Zuo *et al.*, 2019). در شرایط تنش، گیاهان پرایم شده نسبت به گیاهان غیر پرایم، سازگاری بیشتری از خود نشان می‌دهند. پرایمینگ، منجر به افزایش محتوای آب، شروع سازوکارهای (مکانیسم‌های) بیوشیمیایی ترمیم سلولی، افزایش محتوای RNA و افزایش تکثیر DNA، افزایش سیستم دفاعی گیاه از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون ردوکتاز می‌گردد (Lemmens *et al.*, 2019). سناریوهای مبتنی بر پرایمینگ بذر و اقلیم‌پذیری، اغلب منجر به تحمل شوری گیاهان می‌شوند (Zuo *et al.*, 2019).

پرایمینگ بذر، خیساندن بذر در تیمارهای شیمیایی یا پرایم با تیمارهای فیزیکی (پلاسمای سرد) برای مدت معینی است. پرایمینگ بذر می‌تواند اثرات تنش را از طریق شاخص‌های جوانه‌زنی، بهبود مکانیسم‌های حفاظت اکسیداتیو و القای حافظه تنش قبلی، کاهش دهد (Tabassum *et al.*, 2018). یک تکنیک رایج پرایمینگ بذر، اسموپرایمینگ است که به رویدادهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی اجازه می‌دهد تا گیاه شرایط تنش غیرزیستی را تحمل کند. در فرآیند اسموپرایمینگ، دانه‌ها با ترکیبات اسمولیتی مانند  $\text{CaCl}_2$ ،  $\text{KNO}_3$ ،  $\text{KCl}$ ،  $\text{K}_3\text{PO}_4$ ،  $\text{NaCl}$  و PEG و مانیتول تیمار می‌شوند (Lei *et al.*, 2021). همچنین قرار گرفتن گیاهان در معرض سطح متوسطی از یک عامل استرس‌زا، ممکن است مکانیسم‌های محافظتی را برای تحمل تنش شدید بعدی، القا کند که به‌عنوان اقلیم‌پذیری شناخته می‌شود (Janda *et al.*, 2016). تیمار با عوامل شیمیایی می‌تواند یک نشانه شبه تنش خفیف، شبیه به واکنش اقلیم‌پذیری را آغاز کند (Antoniou *et al.*, 2016; Maswada *et al.*, 2018). تیمار گیاهان با غلظت کم نمک نیز به‌عنوان یک فرآیند موثر برای القای سطح بالاتری از تحمل به شوری، گزارش شده است (Pandolfi *et al.*, 2016; De Freitas *et al.*, 2019). تحقیقات نشان داده است که اقلیم‌پذیری با نمک، می‌تواند اثرات تنش شوری را در ذرت (Pandolfi *et al.*, 2016) *Vigna radiata* L. (Saha *et al.*, 2010) *Pisum sativum* L. (Yan *et al.*, 2006) *Oryza sativa* L. (Djanaguiraman *et al.*, 2006) *Glycine max* L. (Aksoy *et al.*, 2014) و گندم (Janda *et al.*, 2016; Antoniou *et al.*, 2016; Maswada *et al.*, 2018) کاهش دهد.

اگرچه مطالعات زیادی در مورد سازوکارهای (مکانیسم‌های) تحمل به شوری در اسموپرایمینگ بذر و اقلیم‌پذیری با نمک در گیاهان، مورد بررسی قرار گرفته است، اما اطلاعات کمتری در مورد زمینه فیزیولوژیکی و مولکولی فرآیندهای ترکیبی پرایمینگ بذر و اقلیم‌پذیری با نمک وجود دارد. در پژوهش حاضر، نشان داده شد که پرایمینگ بذرهای گندم با غلظت کم پرولین و اقلیم‌پذیری با نمک، ممکن است تحمل آنها به تنش شوری با دوز بالا را افزایش دهد.

## مواد و روش‌ها

بذرهای گندم با اندازه یکنواخت، به دقت انتخاب شدند. این بذرها تحت فرآیند اسموپرایمینگ در پرولین با غلظت ۱ میلی‌مولار قرار گرفته و پس از آن در گلخانه‌ای با دمای  $24 \pm 2$  درجه سلسیوس، نگهداری شدند. تیمارهای بذرها در جدول (۱)، ذکر شده است. در روز ۳۵ آزمایش، شاخص‌های مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی اندازه‌گیری شدند.

## تجزیه و تحلیل فلورسانس کلروفیل

تحلیلگر کارایی گیاه (Packet-PEA, Hansatech Instruments Ltd., England) برای انجام تجزیه و تحلیل فلورسانس کلروفیل (منحنی‌های OJIP)، استفاده شد. قبل از سنجش، برگ‌ها تحت یک دوره تاریکی حداقل ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. پارامترهای JIP-test، یعنی  $Fv/Fo$ ،  $Fv/Fm$  و PIabs، تعیین شدند (Tsimilli-Michael *et al.*, 2007).  $Fv/Fm$  مربوط به حداکثر بازده کوانتومی فتوسیستم II است،  $Fv/Fo$  مربوط به کارایی کمپلکس تجزیه‌کننده اکسیژن در سمت اهداکننده PSII است، در حالیکه PIabs مربوط به شاخص عملکرد (پتانسیل) برای حفظ انرژی از فوتون‌های جذب شده توسط آنتن PSII تا احیای QB است.

## سنجش رنگدانه‌های فتوسنتزی، پروتئین محلول و پرولین

برای سنجش محتوای کاروتنوئیدها و کلروفیل‌های a و b، مطابق با روش توصیف شده (Lichtenthaler *et al.*, 1983)، انجام شد. کمی‌سازی کل محتوای فلاونوئید و آنتوسیانین بر اساس روش (Meda *et al.*, 2005)، انجام شد. اندازه‌گیری محتوای پروتئین‌های محلول به روش (Bradford *et al.*, 1976) و با استفاده از آلبومین سرم گاوی (BSA) به‌عنوان استاندارد، انجام شد. محتوای پرولین مطابق با روش توصیف شده توسط (Bates *et al.*, 1973)، مورد سنجش قرار گرفت.

## سنجش فعالیت آنزیم فیل آلانین آمونیا لیاز (PAL) و متابولیت‌های مرتبط با آن

با همگن سازی نمونه برگ در بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار در (pH=7.0) حاوی ۲ درصد (w/v) پلی‌وینیل پلی‌پیرولیدون (PVPP)، ۱۸ میلی‌مولار  $\beta$ -مرکاپتواتانول، ۲ میلی‌مولار EDTA و ۰/۱ درصد تریتون X100، اندازه‌گیری شد. تشکیل اسید سینامیک، از طریق روش اسپکتروفتومتری و در طول موج ۲۹۰ نانومتر، تعیین شد.

آنتوسیانین نمونه‌های برگ با استفاده از حلال ۳ میلی‌لیتری HCl-متانول (۱:۹۹، v:v)، مطابق با روش (Krizek *et al.*, 1993) استخراج شد. مایع رویی، فیلتر شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵ درجه سلسیوس در تاریکی قرار گرفته و پس از آن جذب در طول موج ۵۵۰ نانومتر، ثبت شد. در نهایت، محتوای فنل مطابق با روش‌هایی که قبلاً توسط (Velioglu *et al.*, 1998)، توضیح داده شده، اندازه‌گیری گردید. غلظت ترکیبات فنلی بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک (GA) در هر گرم وزن تر (FW) اندازه‌گیری شد. محتوای فلاونوئید کل با مخلوط کردن ۵ میلی‌لیتر عصاره برگ (با غلظت ۰/۰۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) با ۵ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۲ درصد ( $AlCl_3$ ) در متانول، مورد سنجش قرار گرفت. پس از یک دوره انکوباسیون ۱۰ دقیقه‌ای، جذب مخلوط به‌دست آمده توسط اسپکتروفتومتری در طول موج ۴۱۵ نانومتر، با استفاده از یک نمونه شاهد که حاوی  $AlCl_3$  نبود، اندازه‌گیری شد. نتایج به صورت میلی‌گرم معادل کوئرستین (QE) در هر ۱۰۰ گرم عصاره بیان گردید.

### سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و متابولیت‌های مرتبط

فعالیت‌های آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) از طریق روش (Habibi and Hajiboland, 2012)، اندازه‌گیری شد. برای تعیین فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز (GPX)، از روش اصلاح شده (Flohé and Günzler, 1984)، استفاده شد که در آن پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) به عنوان سوپسترا استفاده می‌شود. محتوای مالون دی‌آلدئید (MDA) به منظور تعیین پراکسیداسیون لیپیدی غشاء، مورد بررسی قرار گرفت. مخلوط واکنش شامل تیوباربتوریک اسید (سیگما) بود و جذب در طول موج ۵۲۵ نانومتر ثبت شد. مالون دی‌آلدئید از طریق منحنی استاندارد ۱، ۳، ۳، ۱، ۳، ۳، ۱ تترائوکسی پروپان (سیگما) اندازه‌گیری شد. محتوای پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) موجود در برگ‌ها طبق روش (Velikova et al., 2000) اندازه‌گیری شد. محتوای  $H_2O_2$  بر اساس یک منحنی استاندارد، گزارش شد.

تعیین فعالیت سنتتاز دلتا-۱- پرولین-۵- کربوکسیلات سنتتاز از طریق مشاهده مصرف NADPH و اندازه‌گیری افزایش جذب در طول موج ۷۴۹ نانومتر، انجام شد. مخلوط واکنش حاوی ۳۲ میلی‌مولار گلوتامیک اسید، ۷/۲ میلی‌مولار اسید تریس با  $pH=7.2$  میلی‌مولار، ۵۹ میلی‌مولار کلرید منیزیم، ۲ میلی‌مولار ATP و ۴/۹ میلی‌مولار NADPH با ۲/۹ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی ترکیب شده و در دمای ۷۸ درجه سلسیوس، به مدت ۵۹ دقیقه نگهداری شد. به دنبال آن، جذب در ۷۴۹ نانومتر ثبت شد (Stines et al., 1999). فعالیت P5CS بر حسب واحد در میلی‌گرم پروتئین بیان شده و یک واحد آن به‌عنوان افزایش جذب ۰/۰۰۱ در دقیقه در طول موج ۷۴۹ نانومتر، تعریف شد.

### تعیین محتوای $Na^+$ و $K^+$

تمام نمونه‌ها پس از خشک‌شدن در دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۸ ساعت، پودر شده و پس از آن تحت فرآیند کانی‌سازی با اسید کلریدریک ۰/۵ مولار، قرار گرفتند. عصاره‌ها با آب مقطر رقیق شده و سطوح سدیم و پتاسیم با استفاده از طیف‌سنج نشر اتمی پلاسما جفت شده القایی (ICP-AES) از طریق دستگاه (INTEGRA XL2, GBC-Australia)، تعیین شد.

### تجزیه داده‌ها

آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل بر پایه طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار، انجام شد. تجزیه و تحلیل پارامترهای فلورسانس کلروفیل با استفاده از نرم افزار PEA Plus V1.10 انجام شد. تمامی داده‌ها با استفاده از نرم افزار OriginLab-9، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. تفاوت بین تیمارها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) با معنی‌داری آماری در  $P < 0.05$  ارزیابی شد.

### نتایج و بحث

#### اقلیم‌پذیری و اسموپرایمینگ، پارامترهای رشد را بهبود می‌بخشد

به طور کلی، تفاوت قابل ملاحظه‌ای در پارامترهای رشد بین گروه‌های تیماری، مشاهده شد. یافته‌ها نشان داد که پرایمینگ منجر به افزایش معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) درصد جوانه‌زنی در شرایط شوری و اقلیم‌پذیری با شوری، محتوای نسبی آب (RWC) در شرایط شوری و وزن خشک (DW) در شرایط بدون تنش و شوری شد (شکل ۱-A). شایان ذکر است که پرایمینگ در شرایط بدون تنش، تأثیر قابل توجهی بر RWC نداشته اما میزان RWC که در شرایط شوری کاهش یافته بود، با پرایمینگ افزایش یافت. هم اقلیم‌پذیری با نمک و

هم پرایمینگ بذر، اثر تنظیمی بر محتوای آب نسبی برگ داشتند (شکل A<sub>۱</sub>). علاوه بر این، پرایمینگ بذر و اقلیم‌پذیری با نمک به‌طور قابل توجهی تأثیر شوری بر وزن خشک (DW) را کاهش داد (شکل B<sub>۱</sub>). همچنین، پرایمینگ بذر به‌طور قابل توجهی، درصد جوانه زنی را بهبود بخشید (شکل C<sub>۱</sub>).

#### اقلیم‌پذیری و اسموپرایمینگ، برخی از عملکردهای فتوسنتزی را بهبود می‌بخشد

اندازه‌گیری شاخص عملکرد فتوسیستم (PIabs) و Fv/Fo، که کارایی کمپلکس تجزیه‌کننده آب را در فتوسیستم دو (PSII) نشان می‌دهد، نشان داد که کاربرد پرولین در سطوح PIabs و Fv/Fo معنی‌دار نبود (شکل A, B<sub>۲</sub>). همانطور که در شکل C<sub>۲</sub> نشان داده شده است، مقدار Fv/Fm حتی زمانی که تحت تنش نمک، اقلیم‌پذیری با نمک و پرایمینگ قرار می‌گیرد، بدون تغییر باقی می‌ماند. منحنی OJIP نشان داد که پرایمینگ بذر با پرولین، می‌تواند فلورسانس کلروفیل را در شرایط بدون تنش افزایش دهد، همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است. کاهش کلی در فاز I-P شوری و شرایط اقلیم‌پذیری نمک در مقایسه با بذره‌های پرایمینگ وجود داشت. همانطور که قبلاً توسط کلاچی و همکاران (۲۰۱۶)، گزارش شده است، می‌توان آن‌را به کاهش اجزای زنجیره انتقال الکترون مانند فرود و کسین و NADP نسبت داد (Kalaji et al., 2016).

همانطور که در شکل D-F<sub>۲</sub> نشان داده شده است، اقلیم‌پذیری با تنش شوری، هیچ تأثیر قابل توجهی بر محتویات رنگدانه‌های فتوسنتزی در گندم نداشته است. با این حال، زمانی که گندم با پرولین ۱ میلی مولار تیمار شد، محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت شرایط تنش شوری، افزایش یافت. محتوای کاروتنوئید بیشترین افزایش را تحت تنش شوری نشان داد که به اثر محافظتی کاروتنوئیدها در اتلاف انرژی در PSII و همچنین عملکرد آن به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی در دوره قرار داشتن در معرض تنش، نسبت داده شده است.

مشاهده شد که ترهالوز اگزوزن می‌تواند اثرات بازدارندگی تنش شوری را در گیاهان توت‌فرنگی کاهش دهد. فرآیند سازگاری منجر به بهبود عملکرد فتوسنتزی، از جمله نرخ انتقال الکترون در طرف دهنده و گیرنده PSI و PSII شد. همانطور که قبلاً گزارش شده است، تیمارهای اقلیم‌پذیری برای افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی و تجمع اسمولیت‌ها، مانند تنظیم اسمزی از طریق پرولین و قندهای محلول، منجر به افزایش پایداری غشاء، زیست توده و عملکرد دانه می‌شود (Maswada et al., 2018).

#### اقلیم‌پذیری و اسموپرایمینگ بر سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی، اثرگذار بوده است

گیاهان یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی برای کاهش اثرات مضر انواع رادیکال‌های فعال اکسیژن (ROS) ایجاد کرده‌اند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، از جمله سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POD) و کاتالاز (CAT) و همچنین ترکیبات غیر آنزیمی، شناسایی شده‌اند (Ibrahim, 2016). در شرایط بدون تنش، فعالیت SOD در بذرها پس از تیمار پرایمینگ کاهش می‌یابد، در حالی که پرایمینگ، باعث بهبود فعالیت SOD در شرایط تنش شوری و اقلیم‌پذیری می‌شود (شکل A<sub>۴</sub>). علاوه بر این، فعالیت آنزیم گلوکاتیون پراکسیداز (GPX) در بذرها پس از تیمار پرایمینگ، افزایش یافت (شکل B<sub>۴</sub>). برعکس، فعالیت آنزیم کاتالاز پس از تیمار پرایمینگ در همه گروه‌ها، کاهش یافت (شکل C<sub>۴</sub>). در شرایط تنش شوری، پرایمینگ بذر محتوای فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین را در مقایسه با

شرایط بدون تنش افزایش داد (شکل ۵-A-C). این یافته‌ها نشان می‌دهد که پرایمینگ، اقلیم‌پذیری و استفاده ترکیبی از آنها می‌تواند بر تحمل تنش شوری تأثیر مثبت بگذارد.

برای اندازه‌گیری محتوای مالوین دی‌آلدئید (MDA)، از شاخص پراکسیداسیون لیپیدی استفاده شد. مشاهده شد که در شرایط شوری و اقلیم‌پذیری با شوری، مقدار MDA افزایش یافت، در حالی که، در بذرهای تیمار شده با پرولین، کاهش محتوای MDA مشاهده شد (شکل ۶-A). این یافته‌ها با نتایج مصطفی و همکاران (۲۰۱۵)، مبنی بر اینکه تیمار ترهالوز، سطح MDA را در گیاهان برنج تحت تنش مس، کاهش داده است، همخوانی داشت (Mostofa et al., 2015).

تغییرات در سطوح پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) تحت شرایط شوری و بدون تنش، تشخیص داده نشد. با این حال، مشخص شد که در اقلیم‌پذیری نمک، قابل توجه است. در شرایط شوری، تیمار بذرها با پرولین، منجر به افزایش سطح  $H_2O_2$  در مقایسه با شرایط بدون تنش و اقلیم‌پذیری با نمک شده است (شکل ۶-B). فعالیت آنزیم PAL در بذرهای بدون پیش تیمار، بدون تغییر باقی مانده است. با این وجود، فعالیت PAL با تیمار پرولین در طول شرایط شوری، تقویت شد (شکل ۶-C). تشدید فعالیت آنزیم PAL، به‌عنوان یک نشانگر بیوشیمیایی تولید ترکیبات محافظ و ساختاری در شرایط تنش، در نظر گرفته می‌شود (Nadernejad et al., 2013). نتایج این پژوهش با یافته‌های بدست آمده مبنی بر اینکه ترهالوز فعالیت PAL را در *Pennisetum glaucum* و توت‌فرنگی افزایش می‌دهد، مطابقت داشته است (Samadi et al., 2019; Govind et al., 2016).

سطح پرولین در گیاهان تحت شرایط شوری و سازگاری با نمک، افزایش یافت. این پژوهش نشان داد که وجود ۱ میلی‌مولار پرولین، منجر به افزایش سطوح پرولین در شرایط بدون تنش، تنش شوری و اقلیم‌پذیری با نمک شده است (شکل ۷-A). در پاسخ به تنش شوری، گیاهان متعددی پرولین را انباشته می‌کنند که به‌عنوان یک جاذب انواع رادیکال‌های آزاد اکسیژن و تنظیم‌کننده اسمزی، عمل می‌کند. این پدیده قبلاً توسط چانگ و همکارانش ثبت شده است (Chang et al., 2014). فعالیت P5CS تحت شرایط نرمال و تنش توسط پرولین از طریق بازخورد منفی، تنظیم می‌شود. این پژوهشگران نشان دادند که غلظت پرولین، فعالیت P5CS را با مهار سنتز این پروتئیناز، تنظیم می‌کند (Bhaskara et al., 2015). پژوهش حاضر نشان می‌دهد که فعالیت P5CS در هر دو شرایط شوری و اقلیم‌پذیری با نمک، افزایش یافته است و پرایمینگ بذر، منجر به افزایش فعالیت P5CS می‌شود (شکل ۷-B). شوری منجر به کاهش قابل‌توجهی در محتوای پروتئین کل شد، در حالی که پرایمینگ بذر باعث افزایش سطح پروتئین گردید (شکل ۷-C).

پیشنهاد شده است که شوری، سبب تجمع یون سدیم ( $Na^+$ ) در برگ‌ها شده و منجر به کاهش بهره‌وری گیاه می‌شود (Hasanuzzaman et al., 2013). در این مطالعه، افزایش محتوای یون سدیم ( $Na^+$ ) در شرایط غیرپرایمینگ، مشاهده شد (شکل ۸-A). این نتایج با یافته‌های سایر پژوهشگران، مطابقت دارد (Hajiboland et al., 2014; Habibi et al., 2017; Jiang et al., 2017). نشان می‌دهد، تنش شوری منجر به افزایش غلظت یون سدیم ( $Na^+$ ) در اندام هوایی گیاهان تحت تنش می‌شود. برعکس، کاربرد پرولین به‌طور قابل‌توجهی باعث کاهش محتوای یون سدیم ( $Na^+$ ) در شرایط شوری شده است. تنش شوری باعث کاهش محتوای یون پتاسیم ( $K^+$ ) در شرایط شوری نسبت به شرایط بدون تنش، شده است. علاوه بر این، هم تیمار پرولین و هم اقلیم‌پذیری، محتوای یون پتاسیم ( $K^+$ ) را در هر دو شرایط تنش شوری و اقلیم‌پذیری با نمک، افزایش دادند (شکل ۸-B). پرایمینگ بذر، سبب افزایش محتوای یون کلسیم ( $Ca^{2+}$ ) در هر دو شرایط شوری و اقلیم‌پذیری با نمک شده است (شکل ۸-C).

اقلیم‌پذیری با نمک، فرآیندی تدریجی است که طی آن گیاهان به‌طور سیستماتیک در معرض سطوح فزاینده غلظت نمک در یک دوره زمانی معین قرار می‌گیرند. این قرار گرفتن عمدی در معرض نمک، گیاهان را قادر می‌سازد تا به تدریج خود را با سطوح نمک بالا وفق داده و در نتیجه تحمل خود را در چنین شرایطی، افزایش دهند. اسموپرایمینگ نیز یک روش مشابه است که شامل قرار دادن بذرها در معرض سطوح بالایی از عوامل اسمزی مانند نمک است. این تکنیک با هدف تسهیل جوانه‌زنی سریع‌تر و توانمندسازی بذرها برای تحمل بهتر شرایط محیطی تنش، انجام می‌شود. نشان داده شده است که اقلیم‌پذیری و اسموپرایمینگ تأثیر مفیدی در کاهش اثرات منفی تنش شوری بر گیاهان دارد (De Freitas *et al.*, 2019; Nakhaie *et al.*, 2022). در این مطالعه، با استفاده از بذر گندم به-عنوان یک مدل تجربی، شواهد قانع‌کننده‌ای برای سازوکارهای (مکانیسم‌های) پرایمینگ با پرولین و اقلیم‌پذیری با نمک، از جمله تنظیمات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ارائه شده است.

یافته‌های این پژوهش، نشان می‌دهد که تیمار پرولین در مقایسه با اقلیم‌پذیری با نمک، اثر محافظتی بیشتری در برابر اثرات تنش شوری دارد. در شرایط تنش شوری، بذرها گندم کاهش جوانه‌زنی، وزن خشک، محتوای آب نسبی و نیز کاهش محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها را نشان دادند. با این حال، پرایمینگ بذر با پرولین و اقلیم‌پذیری با نمک، تا حدی آسیب‌های ناشی از نمک را کاهش داده که نشان می‌دهد تیمار پرولین، نقش فعال‌تری در بهبود رشد گیاهان تحت تنش شوری نسبت به اقلیم‌پذیری با نمک داشته است.

گزارش‌های متعدد نشان داده‌اند که رشد گیاهان تحت کنترل انواع شبکه‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی است. از این رو، کارایی فتوسنتزی به‌عنوان یک فرآیند اساسی برای رشد و نمو گیاهان در شرایط تنش شوری، شناسایی شده است (De Freitas *et al.*, 2019; Ashraf and Harris, 2013).

پژوهش حاضر، نشان می‌دهد که پس از قرار گرفتن در معرض تنش شوری، بذرها تیمار شده با پرایمینگ پرولین، عملکرد فتوسنتزی را کاهش می‌دهند. به‌طور خاص، پرایمینگ بذر با ۱ میلی‌مولار پرولین، منجر به کاهش PIabs و بهبود قابل توجهی در Fv/Fm یا Fv/Fo نشد. کاهش PIabs در گندم ممکن است به کاهش یک یا چند جزء PIabs نسبت داده شود. این یافته با پژوهش‌های انجام شده روی واریته‌های گندم (S<sub>24</sub>, Sehar<sub>06</sub>, Pasban<sub>90</sub>)، مطابقت دارد (Ambreen *et al.*, 2021). علاوه بر این، افزایش فاز I-P از منحنی OJIP فلورسانس کلروفیل در بذرها پرایم شده و کاهش در شرایط تنش، ممکن است به ترتیب نشان‌دهنده کاهش اجزای زنجیره انتقال الکترون مانند فرودوکسین و NADP (Kalaji *et al.*, 2016) یا آسیب به دام انداختن الکترون (Kalaji *et al.*, 2011) باشد.

از این پس، توجه به این نکته مهم است که پرایمینگ بذر گندم پتانسیل افزایش کاروتنوئیدهای کل را دارد که به نوبه خود، می‌تواند تأثیر انرژی تحریک بیش از حد بر PSII را کاهش دهد، همان‌طور که در گزارش‌های مختلف نشان داده شده است (Gururani *et al.*, 2015). شایان ذکر است که تفاوت‌های مشاهده شده در جذب پرولین در بین دانه‌های محصولات مختلف و همچنین تغییرات ژنتیکی در ماشین‌های متابولیک بذر یا غلظت املاح سازگار، ممکن است دلیل این یافته‌ها، از جمله نتایج قبلی باشد (Ambreen *et al.*, 2010; Mehta *et al.*, 2021). علاوه بر این، پرایمینگ بذر با پرولین به‌طور قابل توجهی باعث افزایش محتوای کلروفیل a، b و کاروتنوئید در گیاهان تحت تنش شوری و اقلیم‌پذیری می‌شود که با نتایج به دست آمده از کشت گندم مطابقت دارد (Maswada *et al.*, 2018).

تحلیل تنش شوری بر گیاهچه‌های گندم، منجر به افزایش قابل توجه محتوای یون پتاسیم ( $K^+$ ) آنها شده است. علاوه بر این، مشاهده شده است که استفاده از پرایمینگ بذر بوسیله پرولین، پتانسیل افزایش محتوای یون پتاسیم ( $K^+$ ) را در گیاهان دارای تنش شوری و بدون تنش دارد. فرض بر این است که تجمع یون سدیم ( $Na^+$ ) ناشی از شوری در برگ‌ها، منجر به کاهش بهره‌وری گیاه می‌شود (Hasanuzzaman *et al.*, 2013). در پژوهشی، مشخص شد که محتوای یون سدیم ( $Na^+$ ) گیاهچه در بذرها ی پرایم شده با پرولین و گیاهان در معرض شوری، افزایش یافته است. این تجمع یون سدیم ( $Na^+$ ) تأثیر شدیدی بر عملکرد سلول داشته و فرآیندهای متابولیکی مهم را مختل می‌کند (De Freitas *et al.*, 2019; Ahanger *et al.*, 2017).

حفظ نسبت پتاسیم به سدیم ( $K^+/Na^+$ ) بالا برای عملکرد مؤثر بافت‌های برگ، از اهمیت بالایی برخوردار است و به‌عنوان یک سازوکار (مکانیسم) کلیدی برای تحمل به شوری گیاهان، عمل می‌کند. در شرایط شوری و اقلیم‌پذیری، هر دو دانه گندم پرایم شده و غیر پرایم شده نسبت  $Na^+/K^+$  بالایی را نشان دادند. مشاهدات ما نشان می‌دهد که گیاهان تیمار شده با پرولین، افزایش غلظت کلسیم را نشان دادند. فعال‌سازی مکانیسم‌های تنظیمی در برابر اثرات نمک نیاز به کلسیم دارد که نقش مهمی در تثبیت غشای سلولی، تنظیم pH درون سلولی، تسهیل جابه‌جایی منبع به سینک، ارتقاء طول و تقسیم سلولی، و تنظیم هدایت روزنه‌ای، در میان سایر فرآیندها دارد (Kader *et al.*, 2010; De Freitas *et al.*, 2019). رشد برتر بذرها ی پرایم شده در شرایط شوری و اقلیم‌پذیری با شوری را می‌توان به بهبود تجمع کلسیم نسبت داد. این تجمع احتمالاً در پایداری غشاء و حفظ محتوای آب عمل می‌کند، بنابراین هدایت روزنه‌ای و عملکرد فتوسنتزی را تنظیم می‌کند و در نهایت رشد بهتری را در شرایط شور ایجاد می‌کند (De Freitas *et al.*, 2019).

اسیدهای آمینه خاص (گلوتامین، آسپاراتات، آسپاراژین) چه به‌طور مستقیم یا غیر مستقیم، نقش برجسته‌ای در متابولیسم پرولین دارند (De Freitas *et al.*, 2019; Hildebrandt *et al.*, 2015). به‌منظور بررسی پتانسیل پرایمینگ بذر و اقلیم‌پذیری برای تعدیل متابولیسم ذاتی پرولین، سنجشی از فعالیت P5CS انجام شد. افزایش محتوای پرولین در تیمارهای گندم تحت شرایط شوری و اقلیم‌پذیری با نمک، با کاهش فعالیت P5CS، که یک آنزیم بیوسنتزی است، همراه بود. افزایش میزان فعالیت P5CS نشان‌دهنده افزایش تولید پرولین است که می‌تواند برای تنظیم اسمزی یا مسیرهای جذب نیتروژن استفاده شود (De Freitas *et al.*, 2019; Masclaux *et al.*, 2010). Daubresse *et al.*, 2010. پاسخ‌های مشابهی در گیاهانی مانند *Saussurea amara* (Wang *et al.*, 2011) و *Eurya emarginata* (Zheng *et al.*, 2015) و *Sorghum bicolor* (De Freitas *et al.*, 2019) مشاهده شد.

مشاهده شده است که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، CAT و GPX در طول دوره‌های تنش اکسیداتیو ناشی از تنش شوری، فعال و تنظیم می‌شوند (Naik and Devaraj, 2016; Sahin *et al.*, 2018). در مطالعه حاضر نشان داده شد که پرایمینگ بذر با پرولین منجر به افزایش فعالیت SOD می‌شود که با اثرات پرایمینگ بذر با اسید اسکوربیک (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و سالیسیلیک اسید (۵۰ میلی‌گرم در لیتر) در *Praecitrullus fistulosus* (Qamar *et al.*, 2022) و پرایمینگ بذر با NaCl (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار) در *Vigna radiata* L. قابل مقایسه است. برعکس، فعالیت کاتالاز در تمام گروه‌هایی که تحت پرایمینگ پرولین قرار گرفتند به‌طور قابل توجهی کاهش یافت، نتیجه‌ای که با اثرات اسموپرایمینگ و ترموپرایمینگ *Vigna radiata* L. تحت سطوح بالاتر NaCl (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار) مطابقت دارد (Ali *et al.*, 2022)، بنابراین، فعالیت SOD و GPX به میزان بیشتری در بذرها ی پرایم شده نسبت به بذرها ی



پرایم‌نشده در هر دو شرایط شوری و شوری + اقلیم پذیری، افزایش یافت. این یافته‌ها مطابق با نتایج تیمارهای اسمو پرایمینگ کلسیم در افزایش تحمل به تنش شوری بذرهای کینوا می‌باشد (Mamedi *et al.*, 2022).

در این پژوهش، مشاهده شده است که ترکیبات فنولیکی می‌توانند ابزار موثرتری برای حافظت نوری در شرایط تنش شوری، ارائه دهند (Burchard *et al.*, 2000). بنابراین، افزایش بیوسنتز این ترکیبات توسط پرولین (در غلظت ۱ میلی‌مولار) به‌طور بالقوه می‌تواند منجر به حفظ شاخص عملکرد فتوسیستم شود. برعکس، گزارش‌های اخیر نشان داده‌اند که تجمع آنتوسیانین قادر به تنظیم سطح انواع رادیکال‌های فعال اکسیژن<sup>۱</sup> (Burchard *et al.*, 2000) و حفظ ظرفیت فتوسنتزی (Xu and Rothstein, 2018) می‌باشد. مشخص است که کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها در از بین بردن انواع رادیکال آزاد، موثر هستند (Xu and Rothstein, 2018; Abdallah *et al.*, 2016). از این رو، افزایش بیوسنتز این رنگدانه‌ها در دانه‌های تیمار شده با پرولین، با کاهش قابل توجه آسیب به دستگاه فتوسنتزی، مطابقت دارد. شایان ذکر است که هم اقلیم‌پذیری با نمک و هم اسموپرایمینگ، برای بهبود سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاهان، ثابت شده است.

بسیار محتمل است که این تیمارها به گیاهان در تحمل تنش، کمک کنند. توجه به این نکته بسیار حائز اهمیت است که کارایی اقلیم‌پذیری با نمک و پرایمینگ بذر، در بهبود تحمل گیاه به تنش شوری بالا به عوامل مختلفی بستگی دارد که شامل مدت و شدت تنش، نوع و غلظت نمک مصرفی در فرآیند و پس‌زمینه ژنتیکی گونه‌های گیاهی می‌شود. بنابراین، پژوهش‌های بیشتری برای بهینه‌سازی پروتکل اقلیم‌پذیری با نمک، عوامل اسموپرایمینگ بذر و شرایط محیطی برای تقویت تحمل گیاه به تنش شوری، ضروری است.

### نتیجه‌گیری کلی

یافته‌های این پژوهش تأیید می‌کند که اقلیم‌پذیری با نمک و اسموپرایمینگ، قادر به القای حافظه تنش بذر در گیاه گندم در پاسخ به تنش شوری هستند. این حافظه تنش القایی، منجر به بهبود رشد و پارامترهای فیزیولوژیکی همراه با تغییراتی در بیان ژن و مسیرهای بیوشیمیایی که تحمل تنش را افزایش می‌دهد، در گیاهان گندم می‌شود. ماهیت پایدار و قابل انتقال حافظه تنش القایی، نشان می‌دهد که این روش یک رویکرد امیدوارکننده برای افزایش تحمل تنش شوری گندم در آینده ارائه می‌کند. تحقیقات بیشتر برای درک کامل سازوکارهایی (مکانیسم‌هایی) که زمینه‌ساز القای حافظه تنش بذر هستند و بهینه‌سازی استفاده از اقلیم‌پذیری نمک و اسموپرایمینگ در تولید محصول، ضروری است. با این وجود، دستاوردهای این پژوهش حاکی از پیشرفت قابل توجهی در توسعه محصولات متحمل به تنش است که برای تضمین امنیت غذایی در مواجهه با تغییرات آب و هوایی و سایر چالش‌های زیست محیطی، بسیار مهم هستند.

## References

- Abdallah M.S, Abdelgawad Z, El-Bassiouny H. Alleviation of the adverse effects of salinity stress using trehalose in two rice varieties. *South African Journal of Botany*. **2016**, 103: 275-282.
- Abid, M. Hakeem A, Shao Y, Liu Y, Zahoor R, Fan Y, Suyu J, Ata-Ul-Karim S.T, Tian Z, Jiang D. Seed osmopriming invokes stress memory against post-germinative drought stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Environmental and Experimental Botany*. **2018**, 145: 12-20.
- Ahanger M.A, Akram N.A, Ashraf M, Alyemeni M.N, Wijaya L, Ahmad P. Plant responses to environmental stresses- from gene to biotechnology. *AOB Plants*. **2017**, 9(4): 1-17.
- Aksoy M, Dinler B.S. Different responses in acclimated and non-acclimated processes of soybean leaves to salinity. *Fresenius Environmental Bulletin*. **2014**, 238: 1915-1919.
- Ali S, Ullah S, Khan M.N, Razak S.A, Wahab S, Hafeez A, Khan Bangash S.A, Poczai P. The effects of osmosis and thermo-priming on salinity stress tolerance in *Vigna radiata* L. *Sustainability*. **2022**, 14(19): 12924.
- Ambreen S, Athar H.U.R, Khan A, Zafar Z.U, Ayyaz A, Kalaji H.M. Seed priming with proline improved photosystem II efficiency and growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Plant Biology*. **2021**, 21(1): 1-12.
- Antoniou C, Svvides A, Christou A, Fotopoulos V. Unravelling chemical priming machinery in plants: the role of reactive oxygen-nitrogen-sulfur species in abiotic stress tolerance enhancement. *Current Opinion in Plant Biology*. **2016**, 33: 101-107.
- Ashraf M, Harris P.J. Photosynthesis under stressful environments: an overview. *Photosynthetica*. **2013**, 51: 163-190.
- Bates L, Waldren R.A, Teare I. Rapid determination of free proline for proline for water-stress studies. *Plant and Soil*. **1973**, 39: 205-207.
- Bhaskara G.B, Yang T. H, Verslues P.E. Dynamic proline metabolism: importance and regulation in water limited environments. *Frontiers in Plant Science*. **2015**, 6: 484.
- Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. **1976**, 72(1-2): 248-254.
- Burchard P, Bilger W, Weissenböck G. Contribution of hydroxyl cinnamates and flavonoids to epidermal shielding of UV-A and UV-B radiation in developing rye primary leaves as assessed by ultraviolet-induced chlorophyll fluorescence measurements. *Plant, Cell and Environment*. **2000**, 23(12): 1373-1380.
- Chang, Yang L, Cong W, Zu Y, Tang Z. The improved resistance to high salinity induced by trehalose is associated with ionic regulation and osmotic adjustment in *Catharanthus roseus*. *Plant Physiology and Biochemistry*. **2014**, 77: 140-148.
- de Freitas, P.A.F, de Carvalho H.H, Costa J.H, Miranda R.D.S, Saravia K.D.D.C, de Oliveira F.D.B, Coelho D.G, Prisco J.T, Gomes-Filho E. Salt acclimation in sorghum plants by exogenous proline: physiological and biochemical changes and regulation of proline metabolism. *Plant Cell Reports*. **2019**, 38: 403-416.
- Djanaguiraman M, Sheeba J.A, Shanker A.K, Devi D.D, Bangarusamy U. Rice can acclimate to lethal level of salinity by pretreatment with sublethal level of salinity through osmotic adjustment. *Plant and Soil*. **2006**, 284: 363-373.
- Flohé L, Günzler W.A. Assays of glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology*. **1984**, 114-120.
- Govind S.R, Jogaiah S, Abdelrahman M, Shetty H.S, Tran L.S.P. Exogenous trehalose treatment enhances the activities of defense-related enzymes and triggers resistance against downy mildew disease of pearl millet. *Frontiers in Plant Science*. **2016**, 7: 1593.
- Gururani M.A, Venkatesh J, Tran L.S.P. Regulation of photosynthesis during abiotic stress-induced photoinhibition. *Molecular Plant*. **2015**, 8(9): 1304-1320.
- Habibi G. Physiological, photochemical and ionic responses of sunflower seedlings to exogenous selenium supply under salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*. **2017**, 39: 1-9.
- Hajiboland R, Norouzi F, Poschenrieder C. Growth, physiological, biochemical and ionic responses of pistachio seedlings to mild and high salinity. *Trees*. **2014**, 28: 1065-1078.
- Hasanuzzaman M, Nahar K, Fujita M. Plant response to salt stress and role of exogenous protectants to mitigate salt-induced damages. *Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress*. **2013**, 25-87.

- Hildebrandt, T.M, Nesi A.N, Araujo W.L, Braum H.P. Amino acid catabolism in plants. *Molecular Plant*. **2015**, 8(11): 1563-1579.
- Habibi G, Hajiboland R. Comparison of photosynthesis and antioxidative protection in *Sedum album* and *Sedum stoloniferum* (Crassulaceae) under water stress. *Photosynthetica*. **2012**, 50: 508-518.
- Ibrahim E.A. Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. *Journal of Plant Physiology*. **2016**, 192: 38-46.
- Janda T, Darko E, Shehata S, Kovacs V, Pal M, Szalai G. Salt acclimation processes in wheat. *Plant Physiology and Biochemistry*. **2016**, 101: 68-75.
- Jiang C, Zu C, Lu D, Zheng Q, Shen J, Wang H, Li D. Effect of exogenous selenium supply on photosynthesis, Na<sup>+</sup> accumulation and antioxidative capacity of maize (*Zea mays* L.) under salinity stress. *Scientific Reports*. **2017**, 7(1): 42039.
- Kader, M.A. and S. Lindberg. Cytosolic calcium and pH signaling in plants under salinity stress. *Plant Signaling and Behavior*. **2010**, 5(3): 233-238.
- Kalaji H.M, Bosa K, Koscielniak J, Zuk-Golaszewska K. Effects of salt stress on photosystem II efficiency and CO<sub>2</sub> assimilation of two Syrian barley landraces. *Environmental and Experimental Botany*. **2011**, 73: 64-72.
- Kalaji H.M, Jajoo A, Oukarroum A, Brestic M, Zivcak M, Samborska I.A, Centner M.D, Lukasik I, Goltsev V, Ladle R.J. Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*. **2016**, 38: 1-11.
- Krizek D.T, Kramer G.F, Upadhyana A, Mirecki R.M. UV-B response of cucumber seedlings grown under metal halide and high pressure sodium/deluxe lamps. *Physiologia Plantarum*. **1993**, 88(2): 350-358.
- Lei C, Bagavathiannan M, Wang H, Sharpe S.M, Meng W, Yu J. Osmopriming with polyethylene glycol (PEG) for abiotic stress tolerance in germinating crop seeds: A review. *Agronomy*. **2021**, 11(11): 2194.
- Lemmens E, Deleu L.J, de Brier N, De Man W.L, de Profit M, Prinsen E, Delcour J.A. The impact of hydro-priming and osmo-priming on seedling characteristics, plant hormone concentrations, activity of selected hydrolytic enzymes, and cell wall and phytate hydrolysis in sprouted wheat (*Triticum aestivum* L.). *ACS Omega*. **2019**, 4(26): 22089-22100.
- Lichtenthaler H.K, A.R. Wellburn A.R. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transaction*. **1983**, 603: 591-592.
- Mamedì A, Sharifzadeh F, Maali-Amiri R, Divargar F, Rasoulnia A. Seed osmopriming with Ca<sup>2+</sup> and K<sup>+</sup> improves salt tolerance in quinoa seeds and seedlings by amplifying antioxidant defense and ameliorating the osmotic adjustment process. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. **2022**, 28(1): 251-274.
- Mansour M.M.F. Ali E.F, Salama K.H.A. Does seed priming play a role in regulating reactive oxygen species under saline conditions? Reactive oxygen, nitrogen and sulfur species in plants: production, metabolism, signaling and defense mechanisms. Chapter 18. *Willey Online Library*. **2019**, pp. 437- 488.
- Masclaux-Daubresse C, Daniel-Vedele F, Dechorgant J, Chardon F, Gaufichon L, Suzuki A. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture. *Annals of Botany*. **2010**, 105(7): 1141-1157.
- Maswada H.F, Djanaguiraman M, Prasad P. Response of photosynthetic performance, water relations and osmotic adjustment to salinity acclimation in two wheat cultivars. *Acta Physiologiae Plantarum*. **2018**, 40: 1-15.
- Meda A, Lamien C.E, Romito M, Millogo J, Nacoulma O.G. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*. **2005**, 91(3): 571-577.
- Mehta P, Jajoo A, Mathur S, Bharti S. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on Photosystem II in wheat leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*. **2010**, 48(1): p. 16-20.
- Mostofa M.G, Hossain M.A, Fujita M, Tran L.S.P. Physiological and biochemical mechanisms associated with trehalose-induced copper-stress tolerance in rice. *Scientific Reports*. **2015**, 5(1): 11433.
- Nadernejad N, Ahmadimoghadam A, Hossyinfard J, Poorseyedi S. Effect of different rootstocks on PAL activity and phenolic compounds in flowers, leaves, hulls and kernels of three pistachio (*Pistacia vera* L.) cultivars. *Trees*. **2013**, 27: 1681-1689.

- Naik H.N.K, Devaraj R. Effect of salinity stress on antioxidant defense system of Niger (*Guizotia abyssinica* Cass.). *American Journal of Plant Sciences*. **2016**, 7(6): 980-990.
- Nakhaie A, Habibi G, Vaziri A. Exogenous proline enhances salt tolerance in acclimated Aloe vera by modulating photosystem II efficiency and antioxidant defense. *South African Journal of Botany*. **2022**, 147: 1171-1180.
- Pandolfi C, Mancuso S, Shabala S. Physiology of acclimation to salinity stress in pea (*Pisum sativum*). *Environmental and Experimental Botany*. **2012**, 84: 44-51.
- Pandolfi C, Azzarello E, Mancuso S, Shabala S. Acclimation improves salt stress tolerance in *Zea mays* plants. *Journal of Plant Physiology*. **2016**, 201: 1-8.
- Qamar R, Khan S, Safdar M.E, Rehman A, Javeed H.M.R, Nadeem M.A, Al-Yahyai R, Alkahtani J. Seed priming with growth regulators modulates production, physiology and antioxidant defense of Indian squash (*Praecitrullus fistulosus*) under semi-arid conditions. *Plos One*. **2022**, 17(4): 0265694.
- Saha P, Chatterjee P, Biswas A.K. NaCl pretreatment alleviates salt stress by enhancement of antioxidant defense system and osmolyte accumulation in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). *Indian. J. Exp. Bio*. **2010**, 48 (6): 5593-600.
- Sahin U, Ekinci M, Ors S, Yuran M, Yildiz S, Yildirim E. Effects of individual and combined effects of salinity and drought on physiological, nutritional and biochemical properties of cabbage (*Brassica oleracea* var. capitata). *Scientia Horticulturae*. **2018**, 240: 196-204.
- Samadi S, Habibi G, Vaziri A. Exogenous trehalose alleviates the inhibitory effects of salt stress in strawberry plants. *Acta Physiologiae Plantarum*. **2019**, 41: 1-11.
- Stines A.P, Naylor D.J, Hoj P.B, Van Heeswijck R. Proline accumulation in developing grapevine fruit occurs independently of changes in the levels of  $\Delta$ -1-pyrroline-5-carboxylate synthetase mRNA or protein. *Plant Physiology*. **1999**, 120(3): 923-923.
- Tabassum T, Farooq M, Ahmad R, Zohaib A, Wahid A, Shahid M. Terminal drought and seed priming improves drought tolerance in wheat. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. **2018**, 24: 845-856.
- Tsimilli-Michael M. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis. **2007**, 19: 321.
- Velikova V, Yordanov I, Edreva A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*. 2000, 151(1): 59-66.
- Velioglu Y, Mazza G, Gao L, Oomah B. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **1998**, 46(10): 4113-4117.
- Wang, K., et al., The effect of NaCl on proline metabolism in *Saussurea amara* seedlings. *African Journal of Biotechnology*. **2011**, 10(15): 2886-2893.
- Xu Z, Mahmood K, Rothstein S.J. ROS induces anthocyanin production via late biosynthetic genes and anthocyanin deficiency confers the hypersensitivity to ROS-generating stresses in *Arabidopsis*. *Plant and Cell Physiology*. **2017**, 58(8): 1364-1377.
- Xu Z, Rothstein S.J. ROS-induced anthocyanin production provides feedback protection by scavenging ROS and maintaining photosynthetic capacity in *Arabidopsis*. *Plant Signaling and Behavior*. **2018**, 13(3): 1364-77.
- Yan K, Hu H, Cao W, Chen X. Salt priming improved salt tolerance in sweet sorghum by enhancing osmotic resistance and reducing root Na<sup>+</sup> uptake. *Acta Physiologiae Plantarum*. **2015**, 37: 1-10.
- Zheng J.L, Zhao L.Y, Wu C.W, Shen B, Zhu A.Y. Exogenous proline reduces NaCl-induced damage by mediating ionic and osmotic adjustment and enhancing antioxidant defense in *Eurya emarginata*. *Acta Physiologiae Plantarum*. **2015**, 37: 1-10.
- Zuo Z, Guo J, Xin C, Liu S, Mao H, Wang Y, Li X. Salt acclimation induced salt tolerance in wild-type and abscisic acid-deficient mutant barley. *Plant, Soil and Environment*. **2019**, 65(10): 516-521.

# The effect of acclimatization and osmopriming of seeds on salt stress tolerance in wheat plant (*Triticum aestivum* L.)



Agroecology Journal

Vol. 17, No. 2 (75-96)

(Summer 2021)

Afagh Yavari<sup>✉</sup>, Ghader Habibi, Masoumeh Abedini, Gholamreza Bakhshi Khaniki

Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran.

✉ Yavari.afagh@pnu.ac.ir (Corresponding author)

Received date: 02.05.2021

Accepted date: 06.09.2021

## Abstract

Salinity is one of the most important abiotic stresses that affects seed yield and crop production. Salinity causes adverse morphological, physiological and biochemical effects on wheat seedlings. In this research, the effects of seed priming (1 mM proline) on the response of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to salinity stress in acclimatized and non-acclimatized conditions were investigated. Wheat seeds were subjected to acclimatization and seed priming with proline (1 mM) for 12 hours. Then, the seeds were planted in pots containing saline soil (EC=26.5 dS/m) and plant growth and physiological parameters were investigated. The results showed that in non-stressed conditions, seed yield increased with proline treatment. Pretreatment of seeds with proline under salinity stress preserved their photosynthetic performance compared to acclimatization. The results of examining the characteristics of shoot dry weight along with the measurement of malondialdehyde showed that acclimatization with low salt concentration cannot reduce the inhibitory effect of high salinity (EC=26.5 dS/m). Therefore, more research is needed to optimize the acclimatization protocol, seed osmopriming factors and environmental conditions to increase plant tolerance to salinity stress.

## Keywords

- ❖ Antioxidant enzymes
- ❖ Chlorophyll fluorescence
- ❖ Compatible solutes
- ❖ Induced stress memory
- ❖ Salinity stress

This open-access article is distributed under the terms of the Creative Commons-BY-NC-ND which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



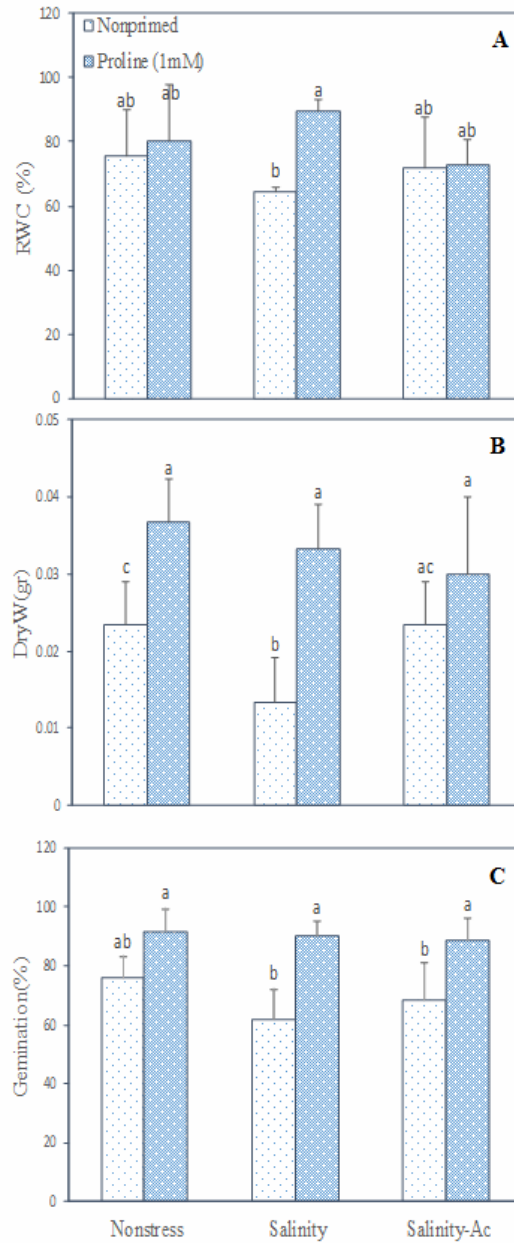
10.22034/AEJ.2021.705319



جدول ۱- تیمارهای آزمایشی.

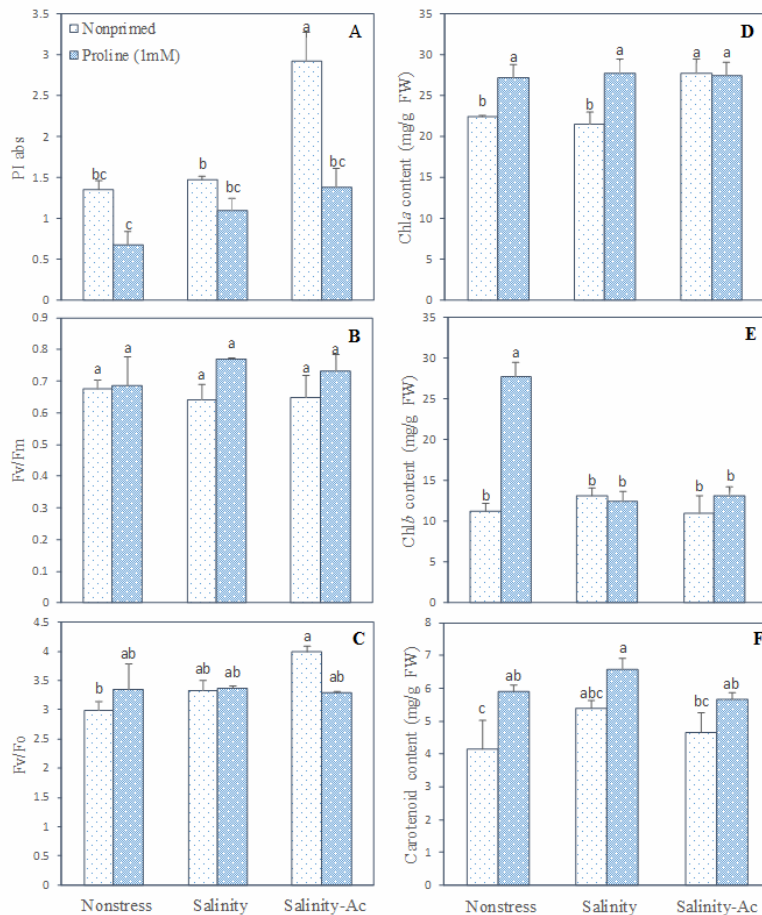
Table 1- Experimental treatments.

<b>Treatments</b>	<b>Osmopriming</b>	<b>Acclimatization</b>	<b>Salinity Stress</b>
(Control)	0	0	0
Osmopriming	Proline (1 mM)	0	0
Salinity	0	0	NaCl (EC=26.5 dS/m)
Salinity + Osmopriming	Proline (1 mM)	0	NaCl (EC=26.5 ds/m)
Acclimatization + Salinity	0	NaCl (EC=5 dS/m)	NaCl (EC=26.5 ds/m)
Osmopriming + Acclimatization + Salinity	Proline (1 mM)	NaCl (EC=5 dS/m)	NaCl (EC=26.5 ds/m)



شکل ۱- اثرات پرایمینگ بذر گندم با پرولین (۱ میلی مولار) بر A: محتوای نسبی آب، B: وزن خشک و C: درصد جوانه زنی در شرایط بدون تنش، تنش شوری و تنش شوری + اقلیم پذیری. مقادیر، میانگین سه تکرار بوده و حروف یکسان، نشان می دهد که تفاوت معنی داری بین میانگین ها در سطح احتمال  $P < 0.05$  آزمون توکی وجود ندارد.

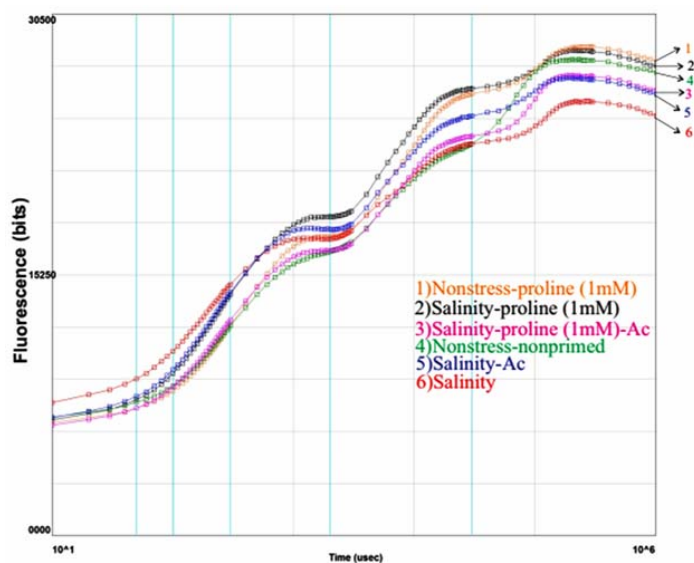
Figure 1- Effects of wheat seed priming with proline (1 mM) on A: relative water content, B: dry weight and C: germination percentage in non-stress, salt stress and salt stress + acclimatization conditions. The average values are 3 repetitions and the same letters indicate that there is no significant difference between the means at the  $P < 0.05$  level of Tukey's test.



شکل ۲- اثرات پرایمینگ بذر گندم با پرولین (۱ میلی مولار) بر A: شاخص عملکرد (PIabs)، B: حداکثر بازده کوانتومی PSII (Fv/Fm)، C: راندمان کمپلکس تجزیه کننده آب در سمت اهداکننده PSII (Fv/Fo)، D: محتوای کلروفیل a، E: محتوای کلروفیل b و F: محتوای کاروتنوئید در شرایط بدون تنش، تنش شوری و شوری + اقلیم پذیری. مقادیر، میانگین سه تکرار بوده و حروف یکسان، نشان می دهد که تفاوت معنی داری بین میانگین ها در سطح احتمال  $P < 0.05$  آزمون توکی، وجود ندارد.

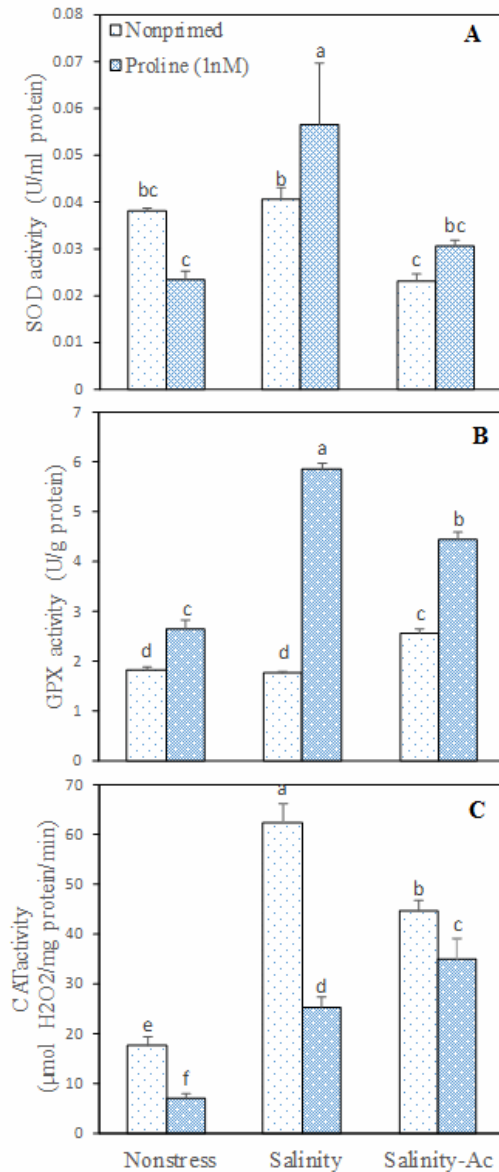
Figure 2- Effects of wheat seed priming with proline (1 mM) on A: yield index (PIabs), B: maximum quantum efficiency of PSII (Fv/Fm), C: water splitting complex efficiency on the donor side of PSII (Fv/Fo), D: chlorophyll a content, E: chlorophyll b content and F: carotenoid content under non-stress conditions, salt stress and salt + acclimatization. The average values are 3 repetitions and the same letters indicate that there is no significant difference between the means at the  $P < 0.05$  level of Tukey's test.





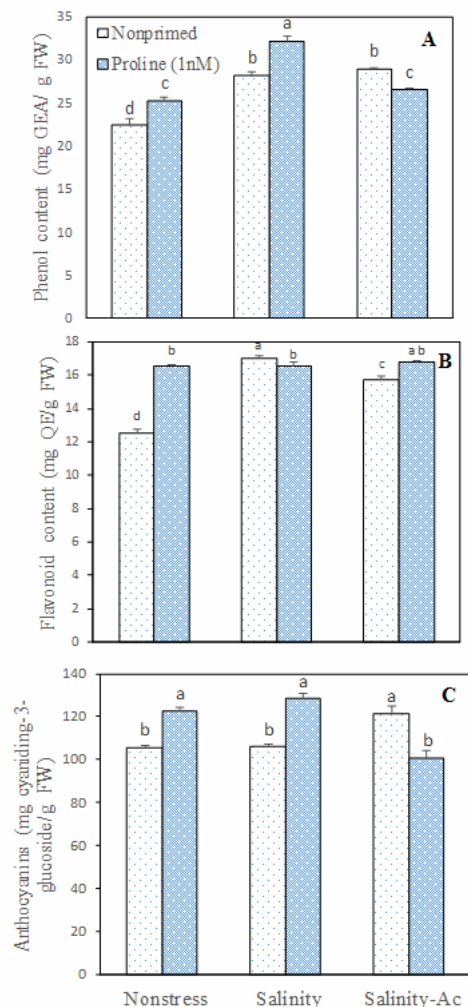
شکل ۳- اثرات پرایمینگ بذر گندم با پرولین (۱ میلی مولار) بر منحنی القای فلورسانس کلروفیل گیاه گندم در شرایط بدون تنش، تنش شوری و تنش شوری + اقلیم پذیری.

Figure 3- The effects of wheat seed priming with proline (1 mM) on the chlorophyll fluorescence induction curve of wheat plant under non- stress, salt stress and salt stress + acclimatization.



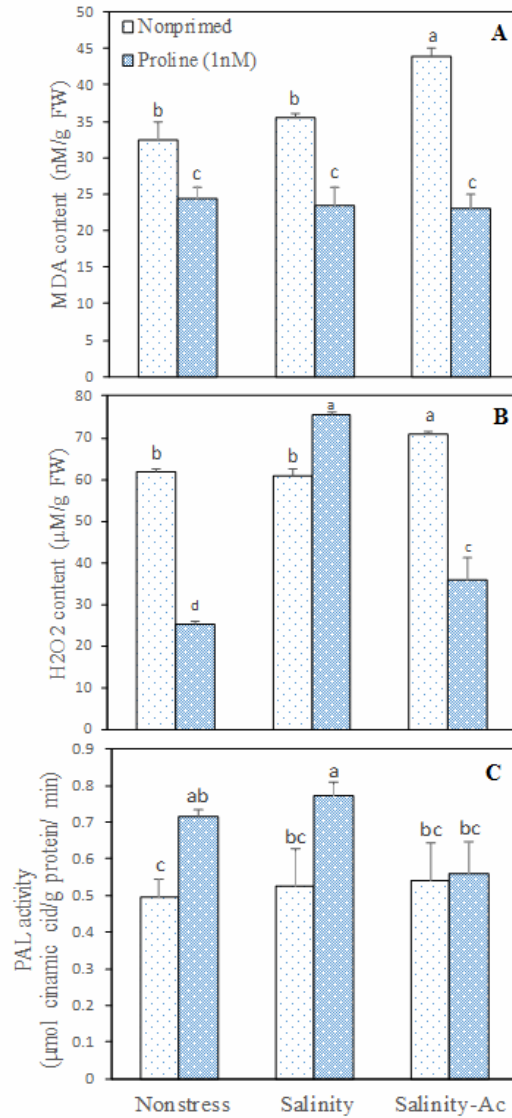
شکل ۴- اثرات پرایمینگ بذر گندم با پرولین (۱ میلی مولار) بر A: فعالیت اختصاصی سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، B: گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) و C: کاتالاز (CAT) در شرایط بدون تنش، تنش شوری و تنش شوری + اقلیم‌پذیری. مقادیر میانگین سه تکرار می‌باشد و حروف یکسان، نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین میانگین‌ها در سطح  $P < 0.05$ ، آزمون توکی وجود ندارد.

Figure 4- Effects of wheat seed priming with proline (1 mM) on A: specific activity of superoxide dismutase (SOD), B: glutathione peroxidase (GPX) and C: catalase (CAT) in non-stress, salt stress and salt stress + acclimatization conditions. The average values are 3 repetitions and the same letters indicate that there is no significant difference between the means at the level of  $P < 0.05$ , Tukey's test.



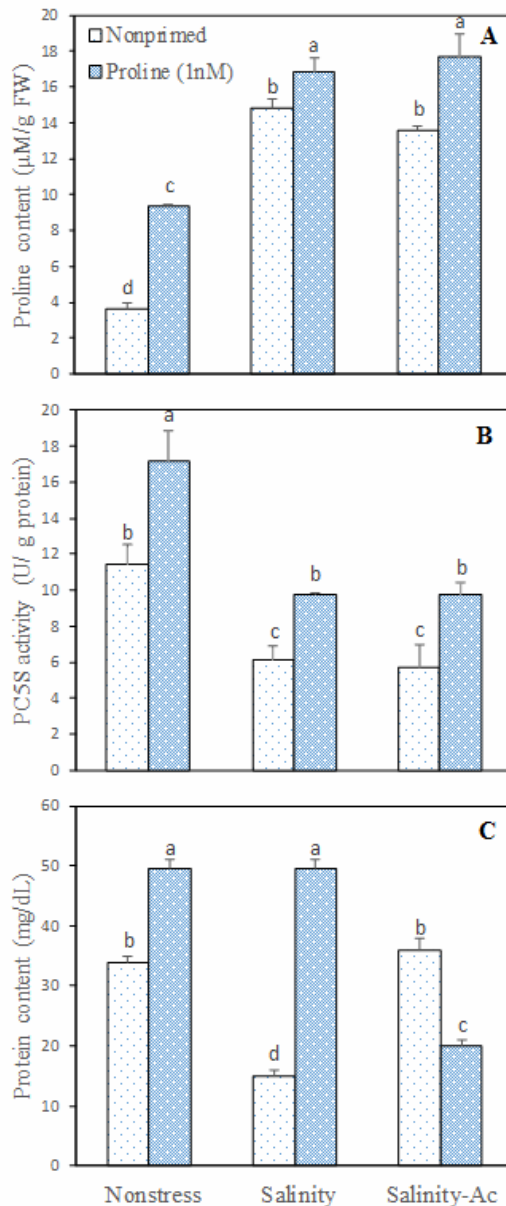
شکل ۵- اثرات پرایمینگ بذر گندم با پرولین (۱ میلی مولار) بر A: محتوای فنلی، B: محتوای فلاونوئید و C: آنتوسیانین بدون تنش، تنش شوری و تنش شوری + اقلیم‌پذیری. مقادیر میانگین سه تکرار می‌باشد و حروف یکسان نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین میانگین‌ها در سطح  $P < 0.05$ ، آزمون توکی وجود ندارد.

Figure 5- Effects of wheat seed priming with proline (1 mM) on A: phenolic content, B: flavonoid content and C: anthocyanin under non-stress, salt stress and salt stress + acclimatization conditions. The mean values are 3 repetitions and the same letters indicate that there is no significant difference between the means at the level of  $P < 0.05$ , Tukey's test.



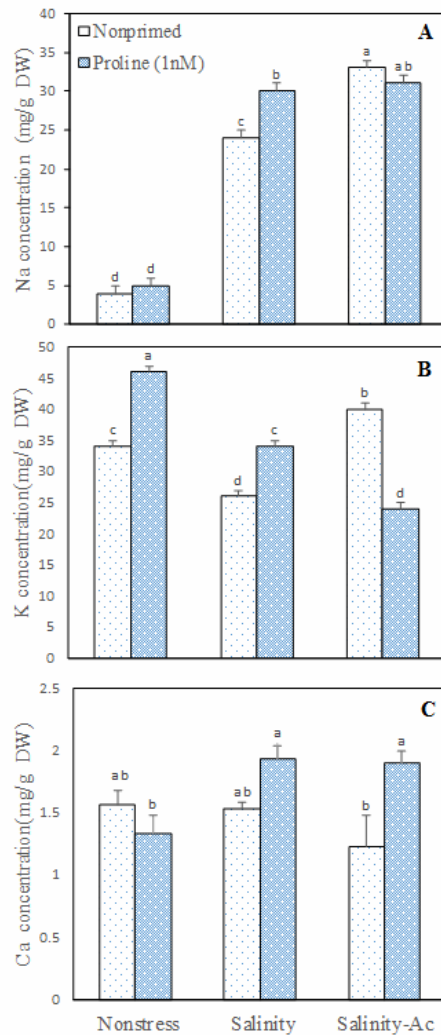
شکل ۶- اثرات پرایمینگ بذر گندم با پرولین (۱ میلی مولار) بر A: مالوندی آلدنید (MDA)، B: محتوای پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) و C: فعالیت فنیل آلانین آمونیالایز (PAL) در شرایط بدون تنش، تنش شوری و تنش شوری + اقلیم پذیری. مقادیر میانگین ۳ تکرار می باشد و حروف یکسان نشان می دهد که تفاوت معنی داری بین میانگین ها در سطح  $P < 0.05$ ، آزمون توکی وجود ندارد.

Figure 6- The effects of wheat seed priming with proline (1 mM) on A: malondialdehyde (MDA), B: hydrogen peroxide content ( $H_2O_2$ ) and C: phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity in non-stress, salt stress and salt + acclimatization conditions. The average values are 3 repetitions and the same letters indicate that there is no significant difference between the means at the level of  $P < 0.05$ , Tukey's test.



شکل ۷- اثرات پرایمینگ بذر گندم با پرولین (۱ میلی مولار) بر A: محتوای پرولین، B: دلتا ۱-پیرولین-۵-کربوکسیلات سنتتاز (P5CS) و C: محتوای پروتئین در شرایط بدون تنش، تنش شوری و تنش شوری + اقلیم پذیری. مقادیر میانگین ۳ تکرار می باشد و حروف یکسان نشان می دهد که تفاوت معنی داری بین میانگین ها در سطح  $P < 0.05$ ، آزمون توکی وجود ندارد.

Figure 7- Effects of wheat seed priming with proline (1 mM) on A: proline content, B: delta 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase (P5CS) and C: protein content in non-stress, salt stress and salt stress + acclimatization conditions. The average values are 3 repetitions and the same letters indicate that there is no significant difference between the means at the level of  $P < 0.05$ , Tukey's test.



شکل ۸- اثرات پرایمینگ بذر گندم با پرولین (۱ میلی مولار) بر محتوای A: Na<sup>+</sup>: B: K<sup>+</sup> و C: Ca<sup>2+</sup> در شرایط بدون تنش، تنش شوری و تنش شوری + اقلیم‌پذیری. مقادیر، میانگین سه تکرار بوده و حروف یکسان، نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین میانگین‌ها در سطح احتمال P<0.05، آزمون توکی، وجود ندارد.

Figure 8- The effects of wheat seed priming with proline (1 mM) on the content of K<sup>+</sup>: B, Na<sup>+</sup>: A and Ca<sup>2+</sup>: C in non-stress, salt stress and salt stress + acclimatization conditions. The average values are 3 repetitions and the same letters indicate that there is no significant difference between the means at the level of P<0.05, Tukey's test.