

بررسی اثر پرایمینگ توأم بذرها با اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن برای القاء

تحمل به شوری

قادر حبیبی* و عدرا حسینی نژاد

ایران، تهران، دانشگاه پیام نور، گروه زیست‌شناسی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۶/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۲۸

چکیده

در این پژوهش، اثر پرایمینگ اسید سالیسیلیک، پراکسید هیدروژن و پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن بر بهبود تحمل به شوری دانه‌رست‌های گندم (*Triticum aestivum* L. cv Mihan) بررسی شد. بذرها به مدت ۲۴ ساعت داخل آب مقطر (شاهد)، غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک (۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی مولار) و پراکسید هیدروژن (۱، ۲۰ و ۲۰۰ میلی مولار) خیس‌انده شدند. پس از گذشت یک هفته، دانه رست‌ها به محیط کشت هیدروپونیک حاوی محلول غذایی هوگلد منتقل شدند. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. شوری ۲۰۰ میلی مولار وزن خشک اندام هوایی دانه رست‌های گندم را ۲۵ درصد کاهش داد. پرایمینگ بذر و با پراکسید هیدروژن ۲۰ میلی مولار باعث کاهش تولید مالون دی آلدئید در شرایط تنش شوری گردید. با کاهش مالون دی آلدئید در دانه‌رست‌های حاصل از پرایمینگ پراکسید هیدروژن، آسیب شوری بر ظرفیت فتوسنتزی و وزن خشک تخفیف یافت. با اینکه تیمار پرایمینگ اسید سالیسیلیک نتوانست باعث تخفیف اثرات تنش شوری بر رشد و فتوسنتز گندم شود، دانه‌رست‌های رشد یافته از پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن مقاومت بیشتری به تنش شوری نشان دادند. این افزایش مقاومت با افزایش ۴۵ درصدی (نسبت به شاهد) مقدار فنل کل و ارتقاء ۳۷ درصدی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز همراه بود. در نتیجه شاخص پراکسیداسیون لیپیدها در تیمار توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن کاهش معنی‌دار نشان داد. همچنین پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن باعث تخفیف اثرات تنش شوری بر ظرفیت فتوشیمیایی فتوسیستم II گردید.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداسیون لیپید، ظرفیت فتوشیمیایی فتوسیستم II، پرایمینگ، تنش شوری، گندم

* نویسنده مسئول، تلفن: ۳۷۸۲۸۰۴۱، پست الکترونیکی: gader.habibi@gmail.com

مقدمه

شوری یکی از مهم‌ترین عوامل تنش‌زای محدود کننده بهره‌وری گیاهان زراعی است. اثر تنش شوری بر گیاهان به غلظت نمک و زمان قرارگرفتن در معرض نمک، ژنوتیپ گیاه و عوامل محیطی بستگی دارد. سازوکارهای تحمل به شوری هنوز به‌طور کامل شناخته نشده و تلاش برای بهبود عملکرد در شرایط تنش شوری، به دلیل منشأ چند ژنی پاسخ‌های سازگاری، تا حد زیادی ناموفق بوده است. شوری می‌تواند با آسیب رساندن به مرکز تولید اکسیژن و تجزیه اجزاء پلی‌پپتیدی فتوسیستم II در نهایت منجر به غیرفعال شدن PSII شود (۲۴). این تغییر با تحریک تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) باعث مهار فتوسیستم II و بروز آسیب اکسیداتیو در اجزای داخلی سلول‌ها می‌شود (۴). سنجش فلورسانس کلروفیل و انجام آزمون جیب (JIP) می‌تواند به‌عنوان ابزاری تعیین‌کننده در ارزیابی عملکرد فتوسیستم II در شرایط تنش شوری به کار رود (۱۸ و ۳۸). گیاهان برای جلوگیری از آسیب رسیدن به فتوسیستم II و همچنین جاروب کردن گونه‌های فعال

این‌رو مهمترین فرضیه این تحقیق این است که پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن بهتر از پرایمینگ اسید سالیسیلیک به‌تنهایی و پراکسید هیدروژن به‌تنهایی باعث تخفیف اثرات مضر شوری می‌شود. در نتیجه برای اولین بار در این تحقیق تأثیر پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن بر دانه‌رست‌های گندم در شرایط شوری مورد بررسی قرار گرفت. مهمترین هدف این تحقیق یافتن غلظت‌های بهینه پرایمینگ اسید سالیسیلیک به‌تنهایی، پراکسید هیدروژن به‌تنهایی و پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن به‌منظور تخفیف اثرات مضر شوری در دانه‌رست‌های گندم بود. ازجمله اهداف دیگر این تحقیق یافتن اطلاعات جدیدی درباره سازوکارهای فیزیولوژیک تخفیف شوری توسط پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن و اثرات متقابل اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن بود.

مواد و روشها

اعمال تیمارها: بذرهای گندم رقم میهن (*Triticum aestivum* L. cv Mihan) پس از ضدعفونی، به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (۱۱) در آب مقطر (شاهد) و یا در محلول‌های حاوی غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک (۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی مولار) و پراکسید هیدروژن (۱، ۲۰ و ۲۰۰ میلی مولار) خیس‌انده شدند. سپس بذرهای پرایمینگ شده با آب مقطر یا غلظت‌های مختلف پراکسید هیدروژن و اسید سالیسیلیک به روی کاغذ صافی مرطوب منتقل شدند تا جوانه بزنند. پس از انتخاب غلظت‌های مناسب اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن از روی شاخص درصد جوانه‌زنی بذرها، در ادامه تحقیق از این غلظت‌های بهینه اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن جهت پرایمینگ بذرها استفاده گردید. پس از گذشت یک هفته دانه رست‌ها به محیط کشت هیدروپونیک حاوی محلول غذایی هوگلدن تغییر یافته (۲۳)، منتقل و در شرایط کنترل شده آزمایشگاه (فتوپریود

اکسیژن در تنش شوری، از سازوکارهای دفاع آنتی‌اکسیدانت آنزیمی و غیرآنزیمی بهره می‌برند (۱۷).

در دهه‌های اخیر اثر تخفیف دهنده‌های مهمی ازجمله ترکیبات سازگار اسمزی (پرولین، گلاسیسین بتائین و تره-هالوز)، هورمون‌های گیاهی (اسید جیبرلیک، جاسمونیک اسید، براسینواستروئیدها و سالیسیلیک اسید)، آنتی‌اکسیدانها (اسید آسکوربیک، گلوتاتیون و توکوفرول)، مولکول‌های علامت دهنده (نیتریک اکسید و پراکسید هیدروژن)، پلی آمین‌ها (اسپرمیدین، اسپرمین و پوترسین) و عناصر مفید (سولیم و یدات) برای کاهش آسیب‌های ناشی از شوری در گیاه مورد مطالعه قرار گرفته است (۲۲). یکی از روش‌های مرسوم و مؤثر برای کاهش آسیب‌های ناشی از تنش شوری در گیاهان، روش پرایمینگ می‌باشد (۳۰). در این روش بذر گیاهان در داخل محلول مواد شیمیایی خاص مثل پرولین، پراکسید هیدروژن، هورمون‌ها و نیتریک اکسید خیس‌انده می‌شود. پرایمینگ باعث ایجاد یک آمادگی اولیه در گیاه برای روبه رو شدن با تنش می‌شود و متناسب با آن تغییرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در دانه‌رست‌های حاصل از پرایمینگ ایجاد می‌کند (۳۰).

مشخص شده است که پرایمینگ بذر گیاهان با پراکسید هیدروژن باعث تغییرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در دانه‌رست‌های حاصل از پرایمینگ می‌شود و دانه‌رست‌های رشد یافته از بذرهای پرایمینگ شده با پراکسید هیدروژن مقاومت بالایی به تنش‌ها نشان می‌دهند (۱۱). در پژوهش‌های متعدد نقش پرایمینگ پراکسید هیدروژن در کاهش آسیب‌های اکسیداتیو از طریق افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانت در گیاه ذرت (۱۴) و *Panax ginseng* (۲۹) نشان داده شده است. همچنین تحقیقات زیادی درباره تأثیر پرایمینگ بذر گیاهان با اسید سالیسیلیک به‌منظور تخفیف تنش شوری انجام شده است. ولی درباره تأثیر تیمار پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن در شرایط شوری تحقیقات کمی وجود دارد. از

فتوسیستم‌ها (PI_{ABS}) و بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m) انجام شد (۳۳).

اندازه‌گیری پروتئین کل: عصاره پروتئینی در بافر فسفات سدیم با غلظت ۵۰ mM و pH=۶/۸ استخراج شده و به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰g سانتریفوژ شد. از رو شناور حاصل برای سنجش پروتئین کل به روش برادفورد (۸) استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز: فعالیت فنیل آلانین آمونیلایز (PAL) مطابق روش زوکر (۳۸) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. ابتدا عصاره آنزیمی در بافر mM ۵۰ بافر فسفات سدیم با pH=۷/۸ و حاوی اتیلن دی‌آمین تترااستیک اسید (EDTA) با غلظت ۲ mM، ۱۸ mM مرکاپتواتانول و ۰/۱ درصد تریتون X-100 استخراج شد. عصاره‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰۰ g سانتریفوژ شده و رو شناور برای سنجش فعالیت مورد استفاده قرار گرفت. ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره به یک میلی‌لیتر از محلول واکنشی شامل ۵۰ mM بافر سدیم بورات (pH=۸/۸) و ۵ mM L-فنیل آلانین اضافه شده و مخلوط حاصل به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه به منظور انجام واکنش قرار گرفت. جذب نمونه‌ها در ۲۹۰ nm توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیم بر اساس غلظت پروتئین آنزیمی لازم برای تولید یک نانومول سینامیک اسید محاسبه شد.

سنجش فنل کل: از آنجایی که بیشترین ترکیبات فنلی گیاهان از نوع پلی‌فنل‌ها می‌باشد، برای سنجش فنل کل از روش معرف فنلی فولین سیوکالتو استفاده شد (۲۶). برای این منظور، ۵ گرم بافت سبز برگ یا ژل برگ جداسازی شده و پس از پودر شدن توسط هاون در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۳۰ دقیقه جوشانده شد و با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۴۲ صاف گردید. غلظت ۲۵۰ میکرولیتر معرف فولین با ۲۵ میکرولیتر عصاره و ۵۰۰ میکرولیتر محلول آبی کربنات سدیم ۲۰ درصد مخلوط شد. نمونه

۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی، دمای روزانه ۲۴ درجه سانتی‌گراد و شبانه ۱۸ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۶۸ درصد و شدت نور ۲۱۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه کشت شدند. pH محلول غذایی در ۶/۵ تنظیم گردید. پس از گذشت دو هفته، نمک NaCl در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار در محلول غذایی هوگلدن تغییر یافته حل شد و در دو مرحله به تیمارهای شوری داده شد. در نهایت پس از گذشت ۷ روز از اعمال شوری برداشت نمونه‌ها انجام شد.

سنجش شاخص فلورسانس کلروفیل و آزمون جیب (JIP): جهت تعیین فلورسانس کلروفیل، از دستگاه فلورسانس‌سنج (PEA, Hansatech Instruments Ltd., (King's Lynn, Norfolk, PE 32 1JL, England استفاده شد. شاخص فلورسانس کلروفیل در برگ‌های سازش یافته با تاریکی (به مدت حداقل ۲۰ دقیقه) شامل F_0 (فلورسانس پایه) و F_m (فلورسانس بیشینه) اندازه‌گیری شد. برای رسم منحنی فلورسانس از آزمون جیب بهره گرفته شد. آزمون جیب داده‌های ثبت شده اولیه توسط دستگاه فلورسانس‌سنج را به شاخص بیوفیزیکی تبدیل می‌کند و کمیت مراحل جریان انرژی را طی فتوسیستم II تعیین می‌کند. برای تولید منحنی فلورسانس OJIP، از نور قرمز با طول موج ۶۲۷ نانومتر و شدت ۳۵۰۰ میکرومول/مترمربع/ثانیه (برای اطمینان از رسیدن به پیک F_m) استفاده به عمل آمد. شاخص‌های زیر در اندازه‌گیری‌های فلورسانس اولیه مورد استفاده قرار گرفت: شدت فلورسانس بیشینه (F_m)، شدت فلورسانس در (به‌عنوان F_0 در نظر گرفته شود)، شدت فلورسانس در $300\mu s$ ($F_{300\mu s}$) جهت محاسبه شیب اولیه (M_0) از نسبت فلورسانس متغیر (V) و شدت فلورسانس در ۲ms (مرحله J) که نشانگر F_1 است به کار برده می‌شود. سپس محاسبات لازم برای به دست آوردن سایر پارامترها از جمله شدت فلورسانس بیشینه (F_m)، شدت فلورسانس در ۵۰ میکروثانیه (به‌عنوان F_0 در نظر گرفته شد)، شدت فلورسانس در ۳۰۰ میکروثانیه ($F_{300\mu s}$)، شاخص کارایی

۱۵۰ میکرومول/ مترمربع/ثانیه به‌منظور انجام واکنش قرار گرفت. برای تهیه نمونه‌های شاهد مخلوط فوق بدون افزودن عصاره آنزیمی تهیه گردید و جذب نمونه‌ها در ۵۶۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیم بر اساس غلظت پروتئین آنزیمی لازم برای القاء ۵۰ درصد ممانعت از احیاء NBT در مقایسه با نمونه‌های شاهد بدون عصاره آنزیمی محاسبه شده و به‌صورت واحد فعالیت بر میلی‌گرم پروتئین بیان گردید.

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) مطابق روش سایمون و همکارانش (۳۲) و بر اساس کاهش جذب پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در ۲۴۰ nm مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. عصاره آنزیمی پس از پودر شدن نمونه‌ها در ازت مایع، در بافر فسفات با غلظت ۵۰ mM و pH=۷ استخراج شده و به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید. برای سنجش فعالیت آنزیم غلظت مناسبی از عصاره به محلول واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=۷) و ۱۰ میلی مولار از H_2O_2 افزوده شده و تغییرات جذب به مدت دو دقیقه توسط اسپکتروفتومتر مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. در نهایت فعالیت آنزیم بر اساس ضریب خاموشی H_2O_2 ($0.041 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) برحسب میکرومول پراکسید هیدروژن بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه محاسبه گردید.

سنجش پراکسیداسیون لیپیدها و مقدار پراکسید هیدروژن (H_2O_2): سنجش مالون دی آلدئید (MDA) به‌عنوان معیاری برای بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدها براساس روش بومیناتان و دوران (۷) صورت گرفت. عصاره برگ در محلول ۰/۱ درصد تری کلرواستیک اسید (TCA) استخراج شده و به مدت پنج دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید. نسبت ۱ به ۴ از رو شناور با محلول ۲۰ درصد از تری کلرواستیک اسید حاوی ۰/۵ درصد تیوباریتوریک اسید در لوله آزمایش باهم مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه

های شاهد فاقد عصاره بودند. پس از قرار دادن نمونه‌ها در دمای آزمایشگاه به مدت ۳۰ دقیقه جذب آنها در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و غلظت فنل کل بر اساس منحنی استاندارد اسید گالیک به دست آمد. برای هر عصاره این سنجش ۴ بار تکرار شد و میانگین فنل کل موجود در عصاره تیمارها به‌صورت میلی‌گرم اسید گالیک در گرم بافت بیان شد.

سنجش فلاونوئیدها: برای سنجش غلظت فلاونوئیدها، نمونه‌های برگ در متانول حاوی آلومینیوم کلراید دو درصد استخراج شده و پس از سانتریفوژ، رو شناور برداشت و جذب آن در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت شد. از غلظت های مختلف کوئرستین (صفر تا ۱۶ میلی‌گرم در لیتر) به-عنوان استاندارد استفاده گردید و غلظت فلاونوئیدها براساس واحد $mg \text{ quercetin g}^{-1} \text{ FW}$ محاسبه شد (۳۲).

سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت: فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز (SOD) مطابق روش جیانوپولیتیس و رایس (۱۶ و ۱۳) و براساس درصد ممانعت از احیاء NBT به ترکیب ارغوانی رنگ دی فورمازان بوسیله رادیکال سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$) حاصل از فتولیز ریبوفلاوین، توسط آنزیم موجود در عصاره مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. نمونه‌ها بلافاصله پس از برداشت در ازت مایع، پودر شده و عصاره آنزیمی در بافر ۲۵ mM از هیدروکسی اتیل پیرازین اتان سولفونیک اسید (HEPES) با pH=۷/۸ و حاوی اتیلن دی آمین تتر استیک اسید (EDTA) با غلظت ۰/۱ میلی مولار استخراج شد. عصاره‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور سانتریفوژ شده و رو شناور برای سنجش فعالیت مورد استفاده قرار گرفت. ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره به یک میلی‌لیتر از محلول واکنشی شامل ۲۵ میلی مولار HEPES با pH=۷/۶، ۰/۱ میلی مولار EDTA، ۵۰ میلی مولار Na_2CO_3 (pH=۱۰/۲)، ۱۲ میلی مولار L-متیونین، ۷۵ میکرومولار NBT و ۱ میکرومولار ریبوفلاوین اضافه شده و مخلوط حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در شدت نور

طرح آزمایشی و تجزیه داده‌ها: آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با کمک نرم‌افزار سیگما استات (نسخه ۳/۵) با استفاده از تست توکی در سطح پنج درصد انجام گردید.

نتایج

تعیین غلظت مناسب اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن جهت پرایمینگ بذرها: برای تعیین غلظت مناسب اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن جهت پرایمینگ بذرها، تأثیر سطوح مختلف اسید سالیسیلیک (۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی مولار) و پراکسید هیدروژن (۱، ۲۰ و ۲۰۰ میلی مولار) بر جوانه‌زنی بذرها مطالعه شد. نتایج نشان داد که پرایمینگ بذرها با ۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک یا ۲۰۰ میلی مولار پراکسید هیدروژن باعث کاهش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی بذرها گردید (جدول ۱). درصد جوانه‌زنی بذرها در تیمار ۰/۵ میلی مولار اسید سالیسیلیک یا ۲۰ میلی مولار پراکسید هیدروژن با درصد جوانه‌زنی بذرها در تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار نشان نداد. بنابراین در ادامه تحقیق از این غلظت‌های اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن جهت پرایمینگ بذرها استفاده گردید.

جدول ۱- تأثیر پرایمینگ اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن بر درصد جوانه‌زنی بذرهای گندم. تفاوت بین اعداد که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند معنی‌دار می‌باشد ($P \leq 0.05$).

تیمار	درصد جوانه‌زنی بذرها	
شاهد	91±2.5 ^a	
اسید سالیسیلیک	۰/۱ میلی مولار	87±4.3 ^a
	۰/۵ میلی مولار	95±3.2 ^a
	۱ میلی مولار	74±4.1 ^b
پراکسید هیدروژن	۱ میلی مولار	90±5.7 ^a
	۲۰ میلی مولار	96±4.0 ^a
	۲۰۰ میلی مولار	35±6.9 ^b

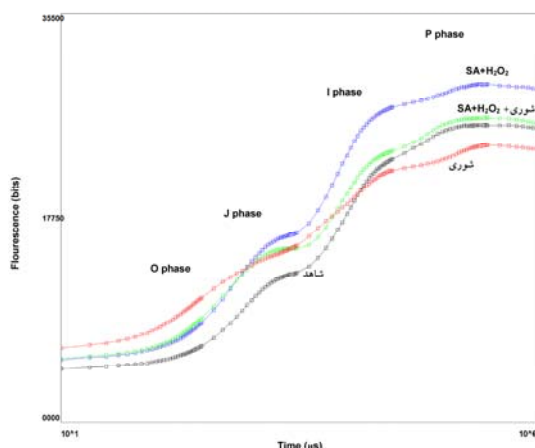
شاهد شد (شکل ۱). هرچند پرایمینگ پراکسید هیدروژن در غلظت ۲۰ میلی مولار مانع از افت معنی‌دار وزن خشک ساقه در شرایط شوری شد. بررسی تأثیر پرایمینگ بذرهای

سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس لوله‌ها به سرعت در یخ سرد شده و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ شدند. هم‌زمان با عصاره‌های برگ محلول‌های استاندارد در محدوده صفر تا ۱۰۰ نانومول از ۱،۳،۳-، تترا اتوکسی پروپان تهیه شده و جذب نمونه‌ها در ۵۳۲ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. در نهایت غلظت مالون دی آلدئید نمونه‌ها برحسب نانومول بر گرم وزن‌تر محاسبه شد.

غلظت پراکسید هیدروژن (H_2O_2) براساس روش ولیکوا و همکاران (۳۵) به دست آمد. محلول استخراج برگ‌ها محلول‌تری کلرواستیک اسید (۰/۱ درصد وزنی به حجمی) بود. عصاره‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور سانتریفوژ شده و رو شناور مورد استفاده قرار گرفت. ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره به یک میلی‌لیتر از محلول واکنشی شامل ۱۰ میلی مولار بافر فسفات پتاسیم (pH=۷) و یک مولار یدید پتاسیم اضافه شده و مخلوط حاصل به مدت ۶۰ دقیقه در تاریکی به منظور انجام واکنش قرار گرفت. جذب نمونه‌ها در ۳۹۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. مقادیر براساس منحنی استاندارد H_2O_2 در محدوده صفر تا ۵۰ نانومول محاسبه شد.

تأثیر پرایمینگ بذرها با اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن بر شاخص رشد در شرایط شوری: شوری باعث افت معنی‌دار وزن‌تر و خشک ساقه نسبت به

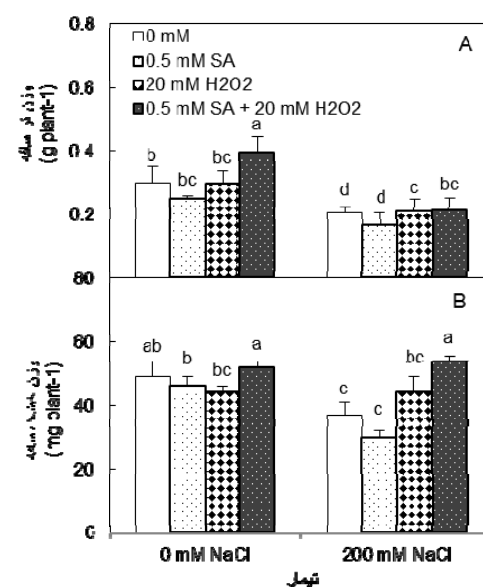
فلورسانس در فاز OJ افزایش چشمگیری یافته است. پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن به تنهایی شدت فلورسانس در فاز OJ را به صورت چشمگیری افزایش داد (شکل ۲). پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن توانست باعث تخفیف اثرات شوری بر منحنی فلورسانس گردد و شدت فلورسانس در فاز IP را نسبت به شاهد افزایش دهد.



شکل ۲- تأثیر پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن بر تغییرات منحنی فلورسانس OJIP (محور عمودی شدت فلورسانس و محور افقی زمان براساس میکروثانیه است) برگ‌های گندم در شرایط شوری. برای تولید منحنی فلورسانس OJIP، از نور قرمز با طول‌موج ۶۲۷ نانومتر و شدت ۳۵۰۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه (برای اطمینان از رسیدن به پیک F_m) استفاده شد.

بررسی شاخص فلورسانس کلروفیل در برگ‌های شوری دیده نشان داد که هرچند مقدار بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II در برگ‌های شوری دیده تفاوت معنی‌داری در مقایسه با برگ‌های شاهد نشان نداد ولی شاخص کارآیی فتوسیستم‌های برگ‌های شوری دیده در مقایسه با برگ‌های شاهد کاهش معنی‌دار نشان داد (شکل ۳). همچنین شاخص بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II تحت تأثیر هیچ‌کدام از تیمارهای پرایمینگ پراکسید هیدروژن به تنهایی و اسید سالیسیلیک به تنهایی و پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن قرار نگرفت. کارآیی فتوسیستم‌های برگ‌های تیمار شده با

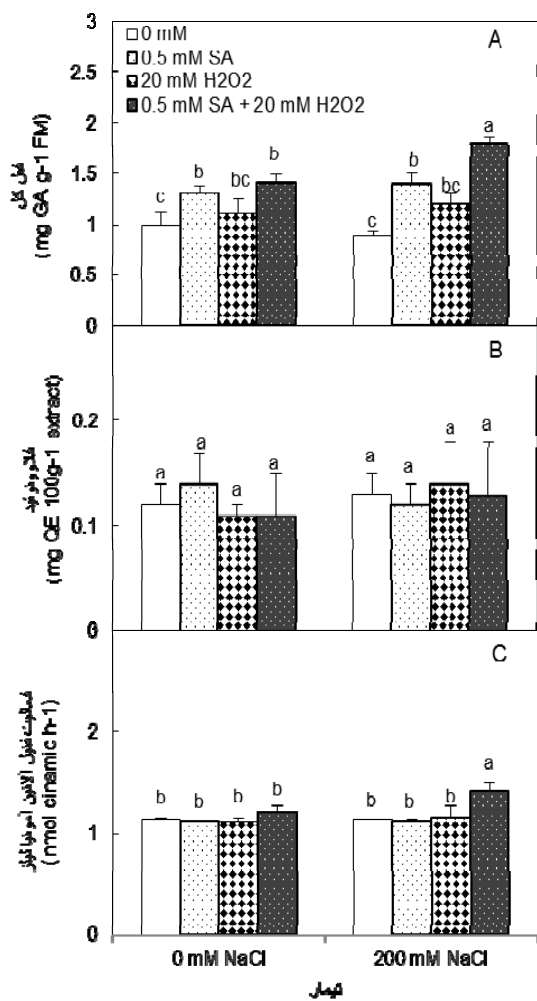
گندم با اسید سالیسیلیک بر شاخص رشد دانه رست‌های گندم نشان داد که هرچند پرایمینگ اسید سالیسیلیک به تنهایی اثری بر وزن خشک ساقه در شرایط شوری نداشت ولی پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن مانع از افت معنی‌دار وزن‌تر و خشک ساقه در شرایط شوری شد و توانست اثر شوری را تخفیف دهد. همچنین پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن در شرایط غیرشور باعث افزایش معنی‌دار وزن‌تر نسبت به شاهد شد (شکل ۱).



شکل ۳- تأثیر پرایمینگ اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن بر شاخص رشد دانه رست‌های گندم در شرایط شوری. تفاوت بین اعداد مربوط به ستون‌ها که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند معنی‌دار می‌باشد ($P \leq 0.05$).

تأثیر پرایمینگ بر تغییرات منحنی فلورسانس OJIP برگ‌ها در شرایط شوری: برای رسم منحنی فلورسانس از تست JIP بهره گرفته شد. تست JIP داده‌های ثبت شده اولیه توسط دستگاه فلورسانس‌سنج را به شاخص بیوفیزیکی تبدیل می‌کند و کمیت مراحل جریان انرژی را طی فتوسیستم II تعیین می‌کند. بررسی تغییرات منحنی فلورسانس در شرایط شوری نشان داد که شدت

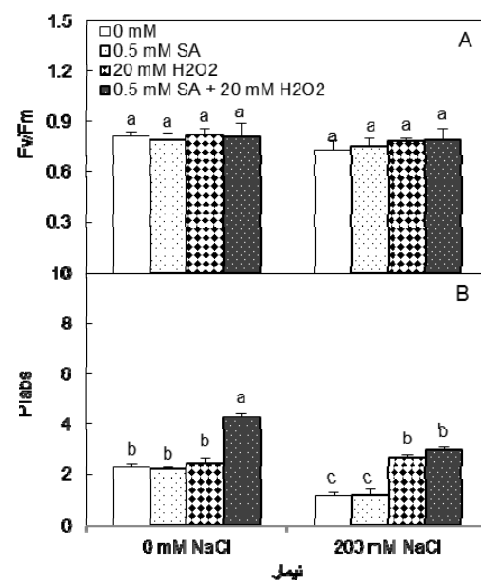
نسبت به شاهد گردید (شکل ۴). تیمار پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن توانست فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز و غلظت فنل کل برگ‌های گندم را در شرایط شور افزایش دهد.



شکل ۴- تأثیر پرایمینگ اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز و غلظت فنل کل و فلاونوئید برگ‌های گندم در شرایط شوری. تفاوت بین اعداد مربوط به ستون‌ها که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند معنی‌دار می‌باشد ($P \leq 0.05$).

اثر پرایمینگ بر فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانت در شرایط شوری: هیچ‌کدام از تیمارهای شوری، تیمارهای پرایمینگ پراکسید هیدروژن به تنهایی و اسید سالیسیلیک به تنهایی و پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اثر نداشتند (شکل ۵).

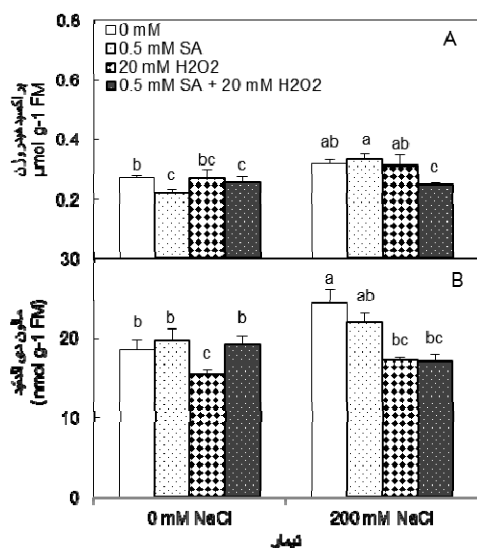
پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن در شرایط غیرشور افزایش معنی‌داری در مقایسه با برگ‌های شاهد نشان داد. با اعمال تیمار پرایمینگ پراکسید هیدروژن به تنهایی و پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن در شرایط شور، تأثیر منفی شوری بر کارایی فتوسیستم‌ها تخفیف یافت (شکل ۳). هرچند تیمار پرایمینگ اسید سالیسیلیک به تنهایی در شرایط شور، نتوانست تأثیر منفی شوری بر کارایی فتوسیستم‌ها را تخفیف دهد.



شکل ۳- تأثیر پرایمینگ اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن بر بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m) و شاخص کارایی فتوسیستم‌ها (PI_{abs}) در برگ‌های گندم در شرایط شوری. تفاوت بین اعداد مربوط به ستون‌ها که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند معنی‌دار می‌باشد ($P \leq 0.05$).

تأثیر پرایمینگ بر متابولیسم فنلی در شرایط شوری: شوری به تنهایی بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز و غلظت فنل کل و فلاونوئید اثر نداشت (شکل ۴). تیمار پرایمینگ پراکسید هیدروژن به تنهایی در شرایط شور و غیرشور، نتوانست تغییری در فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز و غلظت فنل کل ایجاد کند. ولی پرایمینگ بذرها با اسید سالیسیلیک باعث افزایش معنی‌دار غلظت فنل کل

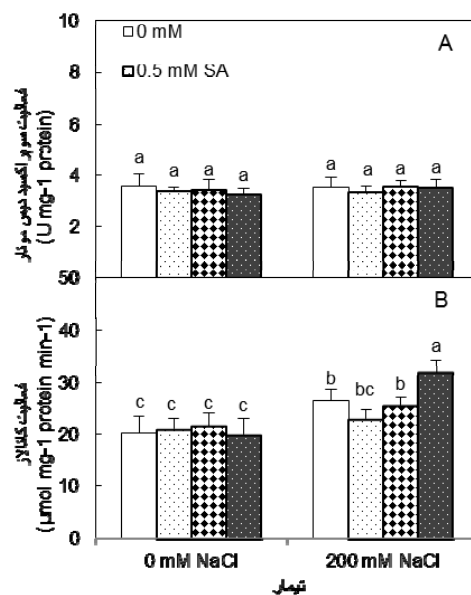
کاهش رشد پس از اعمال شوری بالا در مطالعات مختلف و در گیاهان مختلف به اثبات رسیده است (۱۸ و ۱۹).



شکل ۶- تأثیر پرایمینگ اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن خارجی بر غلظت مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن برگ‌های گندم در شرایط شوری. تفاوت بین اعداد مربوط به ستون‌ها که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند معنی‌دار می‌باشد ($P \leq 0.05$)

در همین راستا، تیمار شوری ۲۰۰ میلی مولار باعث کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک گندم شد. پرایمینگ بذره‌های گندم با پراکسید هیدروژن (۲۰ میلی مولار) باعث تخفیف اثرات مضر شوری بر شاخص رشد شد. تخفیف اثرات مضر شوری بر شاخص رشد در بذره‌های ذرت (۹) و جو (۲۵) پرایم شده با پراکسید هیدروژن، گزارش شده است. با در نظر گرفتن شاخص رشد، پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن توانست اثر تنش شوری را تخفیف دهد، بطوری که مقدار وزن خشک ساقه‌های شوری دیده در تیمار پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن افت نکرد. مشابه اثر کاربرد سایر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه، که بستگی زیادی به گونه و نیز تعادل هورمونی آن‌گونه در شرایط شاهد و یا تنشی دارد (۲۰)، کاربرد اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک ترکیب هورمونی نیز به عوامل علامت‌دهی و تعادل سایر

بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمارهای شوری مشهود بود. پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن توانست فعالیت آنزیم کاتالاز برگ‌های گندم را در شرایط شور به‌شدت افزایش دهد.



شکل ۵- تأثیر پرایمینگ اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز برگ‌های گندم در شرایط شوری. تفاوت بین اعداد مربوط به ستون‌ها که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند معنی‌دار می‌باشد ($P \leq 0.05$)

اعمال شوری باعث افزایش معنی‌دار غلظت پراکسید هیدروژن (H₂O₂) و مالون دی آلدئید در برگ‌های گندم گردید (شکل ۶). با اعمال پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن در شرایط شور، تأثیر منفی شوری تخفیف یافت و غلظت پراکسید هیدروژن (H₂O₂) و مالون دی آلدئید در برگ‌های گندم کاهش نشان داد. هرچند تیمار پرایمینگ اسید سالیسیلیک در شرایط شور، توانست غلظت مالون دی آلدئید حاصل از پراکسیداسیون غشاها را بکاهد.

بحث

تأثیر پرایمینگ بر شاخص رشد در شرایط شوری:

دی‌اکسید کربن در برگ‌ها همبستگی دارد (۳۴). درباره نقش پرایمینگ بذرها در تخفیف اثر مضر شوری بر واکنش‌های فتوشیمیایی گیاهی اطلاعات اندکی در دست است و تنها تأثیر مثبت پرایمینگ نیتریک اکسید بر واکنش‌های فتوشیمیایی چغندر قند مطالعه شده است (۳۱). در این تحقیق، افزایش پارامتر PI_{abs} در برگ‌های شوری دیده تیمار شده با پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن نسبت به برگ‌های شوری دیده تیمار نشده با پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن نشان داد که کاربرد پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن توانست باعث ترمیم ظرفیت فتوسنتزی و سرعت تثبیت دی‌اکسید کربن در برگ‌های شوری دیده شود و تأثیر منفی شوری بر کارایی فتوسیستم‌ها را تخفیف دهد.

تأثیر پرایمینگ بر پتانسیل آنتی‌اکسیدانتی و متابولیسم فنلی در شرایط شوری: وقتی گیاهان در معرض تنش شوری قرار می‌گیرند تولید مولکول‌های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species, ROS) در آنها افزایش می‌یابد (۲۷). تنش شوری باعث تجمع انباشت انواع اکسیژن فعال در سلول و آسیب رساندن به لیپیدهای غشا و انباشت مالون دی‌آلدئید، آسیب به پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (۱). افزایش مولکول‌های H_2O_2 و مالون دی‌آلدئید می‌تواند باعث مهار رشد و کاهش توان سازگاری گیاه در برابر تنش شوری شود (۱۷). فدینا و همکاران (۱۲) گزارش کردند که استفاده از تیمار پرایمینگ بذور با پراکسید هیدروژن با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت باعث کاهش غلظت H_2O_2 و مالون دی‌آلدئید می‌شود. در توافق با یافته فوق، در این آزمایش نیز کاهش غلظت مالون دی‌آلدئید به‌عنوان معیاری از پراکسیداسیون لیپیدها در تیمار توأم شوری و پرایمینگ پراکسید هیدروژن نسبت به تیمار شوری نشان داده شد. بر اساس گزارش کیم و همکاران (۲۷) در گیاه کاهو تیمار کوتاه مدت شوری باعث افزایش انباشت فنل‌ها می‌گردد.

تنظیم‌کننده‌ها بستگی دارد (۱۵) و در گندم کاربرد سالیسیلیک اسید فقط در حضور پراکسید هیدروژن باعث تخفیف تنش شوری شد.

تأثیر پرایمینگ بر شاخص فلورسانس کلروفیل در شرایط شوری: با اعمال شوری، منحنی فلورسانس برگ‌های گندم شکل مسطحی را نشان داد و شدت فلورسانس در فاز IP کاهش شدیدی را نشان داد. کاهش فاز IP که با کاهش شدت فلورسانس بیشینه (F_m) در ارتباط می‌باشد نشان‌دهنده غیرفعال شدن پروتئین‌ها در ساختار فتوسیستم II می‌باشد که در همه برگ‌های گندم در پاسخ به شوری مشاهده شد (۲۱). پرایمینگ بذور با پراکسید هیدروژن ۲۰ میلی‌مولار باعث تخفیف اثرات شوری بر شدت فلورسانس در فاز IP شد و شکل منحنی فلورسانس را به شکل منحنی فلورسانس شاهد نزدیک ساخت. پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن باعث تخفیف اثرات شوری بر شدت فلورسانس در فاز IP شد و شکل منحنی فلورسانس را به شکل منحنی شاهد نزدیک ساخت. با این حال شدت فلورسانس در فاز J در برگ‌های تیمار شده با شوری و پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن بالا بود. افزایش شدت فلورسانس در فاز J با کاهش ذخایر کوئینون A احیاء (QA_{H2}) و پلاستوکوئینون احیاء (PQH₂) مرتبط می‌باشد (۱۸).

شاخص F_v/F_m یکی از شاخص‌های مهم جهت تعیین مقاومت به انواع تنش‌ها از جمله پاتوژن‌ها (۲۸)، خشکی و دما (۱۰) می‌باشد سنجش F_v/F_m برگ‌های گیاه گندم نشان داد که این پارامتر در پاسخ به شوری تغییری نشان نداد. هرچند شاخص PI_{abs} در برگ‌های این گیاه در پاسخ به شوری کاهش معنی‌دار نشان داد. این یافته با نتایج تحقیق زیوسک و همکاران (۳۶) که نشان دادند پارامتر PI_{abs} در مقایسه با پارامتر F_v/F_m به تنش‌های محیطی حساس‌تر است، در انطباق می‌باشد. پارامتر PI_{abs} یک پارامتر کمپلکس است که با ظرفیت فتوسنتزی و میزان تثبیت

مقاوم نبوده و شوری میزان پراکسیداسیون لیپیدها را افزایش داده و رشد را مهار کرده است. با کاهش مالون دی آلدئید در دانه رست‌های حاصل از پرایمینگ پراکسید هیدروژن ۲۰ میلی مولار، آسیب شوری بر ظرفیت فتوسنتزی و وزن خشک تخفیف یافت و ظرفیت فتوشیمیایی فتوسیستم‌ها در شرایط شوری حفظ گردید. نتایج بررسی اثر پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن نشان داد که اثرات متقابل اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن بر روی اکثریت شاخص سنجش شده معنی‌دار می‌باشد. با اینکه تیمار پرایمینگ اسید سالیسیلیک نتوانست باعث تخفیف اثرات تنش شوری بر رشد و فتوسنتز گندم شود، دانه‌رست‌های رشد یافته از پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن مقاومت بیشتری به تنش شوری نشان دادند. این افزایش مقاومت با افزایش قابل ملاحظه توان آنتی‌اکسیدانت (بخاطر افزایش فنل کل و فعالیت کاتالاز) و در نتیجه کاهش شاخص پراکسیداسیون لیپیدها (MDA) مرتبط بود. در نتیجه ظرفیت فتوشیمیایی فتوسیستم‌ها در دانه‌رست‌های حاصل از پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن در شرایط شوری حفظ گردید. اینکه چرا پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن توانست باعث تخفیف اثرات تنش شوری بر رشد و فتوسنتز گندم شود ولی تیمار پرایمینگ اسید سالیسیلیک به تنهایی نتوانست، نیازمند تحقیقات بیشتری است تا ابعاد برهم‌کنش اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن در فرآیند پرایمینگ روشن شود.

هرچند در این تحقیق، تیمار شوری تغییری در فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز (آنزیم کلیدی بیوستتاز فنل‌ها) و غلظت فلاونونوئید و فنل کل ایجاد نکرد. مطالعات حاکی از نقش اسید سالیسیلیک در کاهش آسیب‌های اکسیداتیو از طریق افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانت و کاهش مقدار مالون دی آلدئید و پراکسیداسیون غشاها می‌باشد (۳). در این تحقیق، پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدانت بویژه آنزیم کاتالاز را افزایش داد. کاتالاز یکی از آنزیم‌های مهم جارو کننده H_2O_2 محسوب می‌شود (۲). نتایج این تحقیق با نتایج سایر محققان که نقش پرایمینگ پراکسید هیدروژن در کاهش آسیب‌های اکسیداتیو از طریق افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانت در گیاه ذرت (۱۴) و *Panax ginseng* (۲۹) را نشان داده‌اند، در توافق می‌باشد. پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن باعث افزایش معنی‌دار غلظت فنل کل و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز نسبت به شاهد گردید. با عنایت به اینکه نقش افزایش فنل‌ها در افزایش توان آنتی‌اکسیدانت به اثبات رسیده است (۵ و ۶)، افزایش قابل ملاحظه فعالیت کاتالاز و فنل کل در تیمار پرایمینگ توأم اسید سالیسیلیک و پراکسید هیدروژن از انباشت مقادیر بالای H_2O_2 و پراکسیداسیون لیپیدها در شرایط شوری جلوگیری کرد.

نتیجه‌گیری

بررسی شاخص‌های فلورسانس کلروفیل و پراکسیداسیون لیپیدها در گیاه گندم تیمار شده با شوری ۲۰۰ میلی مولار نشان داد که این رقم گندم در برابر این سطح از شوری

منابع

۲- ابراهیم‌زاده، م.، و ابراهیم‌زاده، ح.، ۱۳۹۲ رویانزایی بدنی و آنزیم‌های پاداکساینده در بنگ سیاه (*Hyoscyamus niger* L.). مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۶، شماره ۲، صفحات ۱۶۷-۱۵۴.

۱- آریان، ز.، مرآتی، م. ج.، ابراهیم‌زاده معبود، ح.، هادیان، ج.، و میر معصومی، م.، ۱۳۹۷. تحلیل اثر تنش شوری و سالیسیلیک اسید بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica* Jamzad). مجله پژوهش‌های گیاهی جلد ۳۱، شماره ۱، صفحات ۱۱۵-۱۰۴.

- 3- Alam, M. M., Hasanuzzaman, M., Nahar, K., and Fujita, M., 2013. Exogenous salicylic acid ameliorates short-term drought stress in mustard (*Brassica juncea* L.) seedlings by up-regulating the antioxidant defense and glyoxalase system, *Australian Journal of Crop Science*, 7(7), PP:1053-1063.
- 4- Anjum, S. A., Xie, X. Y., Wang, L. C., Saleem, M. F., Man, C., and Lei, W., 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress, *African Journal of Agricultural Research* ,6, PP: 2026-2032.
- 5- Blasco, B., Leyva, R., Romero, L., and Ruiz, J. M., 2013. Iodine effects on phenolic metabolism in lettuce plants under salt stress, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(11), PP: 2591-2596.
- 6- Blasco, B., Ríos, J. J., Leyva, R., Cervilla, L. M., Sánchez-Rodríguez, E., Rubio-Wilhelmi, M. M., Rosales, M. A., Ruiz, J. M., and Romero, L., 2011. Does iodine biofortification affect oxidative metabolism in lettuce plants? *Biological Trace Element Research*, 142(3), PP: 831-842.
- 7- Boominathan, R., and Doran, P. M., 2002. Ni induced oxidative stress in roots of the Ni hyperaccumulator, *Alyssum bertoloni*, *New Phytologist*, 156, PP: 202-205.
- 8- Bradford, M. M., 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, PP: 248-254.
- 9- de Azevedo Neto, A. D., Prisco, J. T., Enéas-Filho, J., Medeiros, J. V., and Gomes-Filho, E., 2005. Hydrogen peroxide pre-treatment induces salt-stress acclimation in maize plants, *Journal of Plant Physiology*, 162, (10), PP: 1114-1122.
- 10- Ehlert, B., and Hinch, D. K., 2008. Chlorophyll fluorescence imaging accurately quantifies freezing damage and cold acclimation responses in *Arabidopsis* leaves, *Plant Methods*, 4(1), PP:1-12.
- 11- Ellouzi, H., Sghayar, S., and Abdelly, C., 2017. H₂O₂ seed priming improves tolerance to salinity; drought and their combined effect more than mannitol in *Cakile maritima* when compared to *Eutrema salsugineum*. *Journal of Plant Physiology*, 210, PP: 38-50.
- 12- Fedina, I. S., Nedeva, D., and Cicek, N., 2009. Pre-treatment with H₂O₂ induces salt tolerance in barley seedling, *Biologia Plantarum*, 53, PP: 32-324.
- 13- Giannopolitis, C. N., and Ries, S. K., 1977. Superoxide dismutase: occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59, PP: 309-314.
- 14- Gondim, F. A., Miranda, R. D., Gomes-Filho, E., and Prisco, J. T., 2013. Enhanced salt tolerance in maize plants induced by H₂O₂ leaf spraying is associated with improved gas exchange rather than with non-enzymatic antioxidant system. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 25, PP: 251-260.
- 15- Habibi, G., 2012. Exogenous salicylic acid alleviates oxidative damage of barley plants in pots under drought, *Acta Biologica Szegediensis*, 56(1), PP: 57-63.
- 16- Habibi, G., and Hajiboland, R., 2012. Comparison of photosynthesis and antioxidative protection in *Sedum album* and *Sedum stoloniferum* (Crassulaceae) under water stress, *Photosynthetica*, 50, (4), PP: 508-518.
- 17- Habibi, G., 2014. Hydrogen peroxide (H₂O₂) generation, scavenging and signaling in plants. In: *Oxidative Damage to Plants*, ed. P., Ahmad (Amsterdam: Elsevier), PP: 557-574.
- 18- Habibi, G., 2017. Physiological, photochemical and ionic responses of sunflower seedlings to exogenous selenium supply under salt stress, *Acta Physiologiae Plantarum*, 39(10), 213 p.
- 19- Hasanuzzaman, M., Hossain, M. A., da Silva, J. A., and Fujita, M., 2012. Plant responses and tolerance to abiotic oxidative stress: Antioxidant defenses is a key factors, In: *Crop stress and its management: Perspectives and strategies* (Eds), PP: 261-316. Springer, Berlin.
- 20- Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M., and Ahmad, A., 2010. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: a review. *Environmental and Experimental Botany*, 68, PP: 14-25.
- 21- Hazrati, S., Tahmasebi-Sarvestani, Z., Modarres-Sanavy, S. A., Mokhtassi-Bidgoli, A., and Nicola, S., 2016. Effects of water stress and light intensity on chlorophyll fluorescence parameters and pigments of *Aloe vera* L., *Plant Physiology and Biochemistry*, 106, PP: 141-148.
- 22- Iqbal, N., Masood, A., and Khan, N. A., 2012. Phytohormones in Salinity Tolerance: Ethylene and Gibberellins Cross Talk. In: Khan NA, Nazar R, Iqbal N, Anjum NA (Eds), *Phytohormones and Abiotic Stress Tolerance in Plants*, Springer, Berlin, PP:112-142.

- 23- Johnson, C. M., Stout, P. R., Broyer, T. C., and Carlton, A. B., 1957. Comparative chlorine requirements of different plant species, *Plant Soil*, 8, PP: 337-353.
- 24- Kawakami, K., Umena, Y., Kamiya, N., and Shen, J. R., 2009. Location of chloride and its possible functions in oxygen-evolving photosystem II revealed by X-ray crystallography, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 106, PP: 8567-8572.
- 25- Kilic, S., and Kahraman, A., 2016. The Mitigation Effects of Exogenous Hydrogen Peroxide when Alleviating Seed Germination and Seedling Growth Inhibition on Salinity-Induced Stress in Barley, *Polish Journal of Environmental Studies*, 25, 3 p.
- 26- Mavi, A., Terzi, Z., and Ozgen, U., 2004. Antioxidant properties of some medicinal plants: *Prangos ferulacea* (Apiaceae), *Sedum sempervivoides* (Crassulaceae), *Malva neglecta* (Malvaceae), *Cruciata taurica* (Rubiaceae), *Rosa pimpinellifolia* (Rosaceae), *Galium verum* subsp. *Verum* (Rubiaceae), *Urtica dioica* (Urticaceae), *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27, PP: 702-705.
- 27- Munns, R., James, R. A., and Läuchli, A., 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany*, 57(5), PP: 1025-1043.
- 28- Rousseau, C., Belin, E., Bove, E., Rousseau, D., Fabre, F., Berruyer, R., Guillaumès, J., Manceau, C., Jacques, M. A., and Boureau, T., 2013. High throughput quantitative phenotyping of plant resistance using chlorophyll fluorescence image analysis, *Plant Methods*, 9, 17 p.
- 29- Sathiyaraj, G., Srinivasan, S., Kim, Y. J., Lee, O. R., Parvin, S., Balusamy, S. R., Khorolragchaa, A., and Yang, D. C., 2014. Acclimation of hydrogen peroxide enhances salt tolerance by activating defense-related proteins in *Panax ginseng* CA, Meyer. *Molecular Biology Reports*, 41, PP: 3761-3771.
- 30- Savvides, A., Ali, S., Tester, M., and Fotopoulos, V., 2016. Chemical priming of plants against multiple abiotic stresses: mission possible? *Trends in Plant Science*, 21(4), PP: 329-340.
- 31- Shi, H., Jiang, C., Ye, T., Tan, D.X., Reiter, R. J., Zhang, H., Liu, R., and Chan, Z., 2014. Comparative physiological, metabolomic, and transcriptomic analyses reveal mechanisms of improved abiotic stress resistance in bermudagrass (*Cynodon dactylon* L. Pers.) by exogenous melatonin, *Journal of Experimental Botany*, 66(3), PP: 681-694.
- 32- Simon, L. M., Fatrai, Z., Jonas, D. E., and Matkovic, B., 1974. Study of Peroxide Metabolism Enzymes during the Development of *Phaseolus vulgaris*. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 166(5-6), PP: 387-392.
- 33- Strasser, R. J., Tsimilli-Michael, M., and Srivastava, A., 2004. Analysis of the chlorophyll *a* fluorescence transient. In: *Chlorophyll *a* Fluorescence: A Signature of Photosynthesis* (Ed. Papageorgiou GC), PP: 321-362. Springer, Dordrecht.
- 34- Van Heerden, P. D. R., Swanepoel, J. W., and Krüger, G. H. J., 2007. Modulation of photosynthesis by drought in two desert scrub species exhibiting C₃-mode CO₂ assimilation, *Environmental and Experimental Botany*, 61(2), PP: 124-136.
- 35- Velikova, V., Yordanov, I., and Edreva, A., 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants-protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151, PP: 59-66.
- 36- Živčák, M., Brestič, M., Olšovská, K., and Slamka, P., 2008. Performance index as a sensitive indicator of water stress in *Triticum aestivum* L., *Plant Soil and Environment*, 54(4), PP: 133-139.
- 37- Živčák, M., Olšovská, K., Slamka, P., Galambošová, J., Rataj, V., Shao, H. B., and Brestič, M., 2015. Application of chlorophyll fluorescence performance indices to assess the wheat photosynthetic functions influenced by nitrogen deficiency. *Plant Soil and Environment*, 60(5), PP: 210-215.
- 38- Zucker, M., 1965. Induction of phenylalanine deaminase by light, its relation to chlorogenic acid synthesis in potato tuber tissue, *Physiologia Plantarum* 40, PP: 779-784.

Salicylic acid and hydrogen peroxide priming as a means to induce salt stress tolerance of wheat

Habibi G. and Hosseini Nejad O.

Dept. of Biology, Payame Noor University (PNU), Tehran, I.R. of Iran.

Abstract

In this study, we investigated the role of salicylic acid (SA) and hydrogen peroxide (H_2O_2) priming in ameliorating salinity stress on wheat (*Triticum aestivum* L. cv Mihan) grown under hydroponic culture. Seeds of wheat were primed in distilled water (control), as well as different solutions of salicylic acid (0.1, 0.5 and 1 mM) and/or H_2O_2 (1, 20 and 200 mM) for 24 h at 25° C. Seven-day-old seedlings were transferred to Hoagland nutrient solution. Experiments were undertaken in complete randomized block design using 4 independent replications. Salinity stress drastically affected the plants as indicated by decreased biomass of shoots (about 25%). However, H_2O_2 priming at 20 mM raised free radical scavenging activities of wheat leaf, as evaluated by decrease in malondialdehyde (MDA) levels. These results indicated that H_2O_2 priming could prevent negative effects of salinity stress on the biomass and photosystem performance. While SA priming could not ameliorate the negative effect of salt on wheat seedlings, the use of both SA and H_2O_2 as priming agents had the most significant alleviating effect against NaCl stress. This ameliorative effect was achieved through stimulation of catalase activity (about 37%) and non-enzymatic (phenols) antioxidants (about 45%) and lowering tissue MDA contents. These results further confirm that the use of both SA and H_2O_2 as priming agents participated in the protection of membranes against the destabilizing effect of salt stress. Additionally, the use of both SA and H_2O_2 as priming agents mitigated the negative effects of salinity on the photochemical efficiency of PSII.

Key words: lipid peroxidation, photochemical efficiency of PSII, priming, salt stress, *Triticum aestivum* L.