

## EFEKAT HORMOPRAJMINGA NA POBOLJŠANJE OTPORNOSTI KLIJANACA KUKURUZA NA USLOVE SLANOG STRESA

*Milica Kanjevac, Biljana Bojović, Marija Todorović, Dragana Jakovljević,  
Jovana Momčilović, Milan Stanković*

**Izvod:** U radu je ispitivan uticaj različitih koncentracija salicilne kiseline na procenat klijavosti, dinamiku i uniformnost klijanja, elongaciju i biomasu klijanaca kukuruza (*Zea mays* L.) u ranoj fazi rastenja i razvića, kao i efekat hormoprajminga salicilnom kiselinom na prevazilaženje uslova slanog stresa izazvanog povećanom koncentracijom soli. Prema dobijenim rezultatima, potvrđen je stimulativni efekat salicilne kiseline na parametre klijavosti i rastenja klijanaca kukuruza, kao i njen protektivni uticaj u uslovima slanog stresa, pri čemu su najveći efekat na ispitivane parametre ispoljile koncentracije  $10^{-4}$  i  $10^{-5}$  M.

**Ključne reči:** salicilna kiselina, prajming, NaCl, klijanje, rastenje

### Uvod

Globalne klimatske promene dovode do povećanja saliniteta zemljišta, sa posebno štetnim efektima na agroekosisteme. Povećana koncentracija soli u podlozi dovodi do promena u vodnom režimu biljaka, pH vrednosti i dostupnosti mineralnih elemenata, što za posledicu ima promene u lipidno-proteinskom sistemu ćelijskih membrana i odvijanju metaboličkih procesa. Zbog svega ovoga, razvoj biotehnoloških pristupa koji povećavaju toleranciju biljaka na uslove slanog stresa i osiguravaju održavanje produktivnosti biljaka u ovakvim uslovima, primarni je cilj mnogobrojnih istraživanja. Prajming je efikasna metoda u kojoj se seme tretira određenim agensima neposredno pre klijanja, pa su prajmirana semena, za razliku od neprajmiranih, u stanju da reaguju na veoma niske koncentracije specifičnih stimulansa i da prilagode svoj metabolizam ublažavajući efekte stresa (Conrath, 2011; Paparella i sar., 2015). Na taj način prajming poboljšava performanse semena, obezbeđuje bržu i bolju sinhronizaciju procesa klijanja i poboljšava parametre rastenja (Ibrahim, 2016). Hormoprajming se sastoji u egzogenoj primeni regulatora rastenja biljaka (fitohormona) koji mogu da stimulišu apsorpciju i modifikuju metabolizam semena. Salicilna kiselina (eng. salicylic acid – SA) je jedan od fenolnih regulatora rastenja sa značajnom ulogom u procesima fotosinteze, transpiracije i apsorpcije i transporta jona. Takođe, učestvuje i u endogenoj signalizaciji kao posrednik u povećanju tolerancije biljaka na uslove abiotičkog i biotičkog stresa.

### Materijal i metode rada

Semena kukuruza (*Zea mays* L.), dobijena iz komercijalnih izvora, su površinski sterilisana 4% rastvorom natrijum hipohlorita (NaClO). Eksperiment se sastojao iz dva dela: u prvom delu, semena su tretirana različitim koncentracijama salicilne kiseline (SA), a drugi deo eksperimenta je urađen u uslovima slanog stresa, metodom hormoprajminga. U prvom delu eksperimenta semena su tretirana sa 7 ml SA u koncentraciji  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  M. Semena tretirana destilovanom vodom postavljena su kao kontrola. U drugom delu eksperimenta, semena su najpre prajmovana sa po 10 ml SA (iste koncentracije) tokom 24 h, nakon čega su sušena 48 h na sobnoj temperaturi. Posle sušenja, semena su tretirana sa 75 mM rastvorom NaCl. Sva semena su inkubirana u klima komori (fotoperiod 16/8 h, temperatura  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ , vlažnost vazduha 60%) 10 dana. Procenat klijanja (GP), srednje vreme klijanja (MTG), brzina klijanja (RG) i uniformnost klijanja (U) su izračunavani prema Espanany i sar. (2016). Karakteristike rasta procenjene su merenjem dužine izdanka i korena, kao i sveže mase klijanaca. Izračunavanje vigor indeksa vršeno je prema Kharb i sar. (1994). Rezultati dobijeni korišćenjem SPSS softverskog paketa za statističku obradu podataka, izraženi su kao srednja vrednost tri ponavljanja  $\pm$  standardna greška (SE). Prikupljeni podaci analizirani su putem ANOVA testa ( $p \leq 0,05$ ) i LSD post-hoc testa ( $p \leq 0,05$ ).

### Rezultati istraživanja i diskusija

**Karakteristike klijanja.** Tretman sa  $10^{-2}$  M SA ispoljio je inhibitorni uticaj na sve karakteristike klijanja sa statistički značajnim razlikama u odnosu na kontrolu (Tabela 1). Maksimalni procenat klijanja zabeležen je u kontroli i koncentraciji  $10^{-4}$  M SA, dok su u ostalim koncentracijama zabeležene nešto niže vrednosti. Vremenski posmatrano, najpovoljnija koncentracija SA za klijanje bila je  $10^{-4}$  M, gde su istovremeno zabeležene i najveća brzina i uniformnost klijanja (Tabela 1).

Tabela 1. Uticaj različitih koncentracija salicilne kiseline na karakteristike klijanja kukuruza (*Z. mays*)

Table 1. Effect of different concentration of salicylic acid on germination characteristics of maize (*Z. mays*)

Tretman <i>Treatment</i>	GP	MTG	RG	U	
SA	$10^{-2}$ M	$44.00 \pm 8.33$ *	$3.39 \pm 0.16$ *	$16.76 \pm 4.24$ *	$13.26 \pm 3.19$ *
	$10^{-3}$ M	$98.67 \pm 1.33$	$2.63 \pm 0.04$	$29.03 \pm 5.09$	$37.56 \pm 0.17$
	$10^{-4}$ M	$100.00 \pm 0.00$	$2.30 \pm 0.07$ *	$38.86 \pm 1.14$	$43.49 \pm 1.32$ *
	$10^{-5}$ M	$98.67 \pm 1.33$	$2.38 \pm 0.05$	$36.76 \pm 1.33$	$41.57 \pm 1.35$
Kontrola <i>Control</i>	$100.00 \pm 0.00$	$2.64 \pm 0.08$	$33.72 \pm 1.19$	$37.95 \pm 1.17$	

\* statistički značajna razlika ( $p \leq 0.05$ ) u odnosu na kontrolu

\* a statistically significant difference ( $p \leq 0.05$ ) in relation to the values in control

Može se konstatovati da je SA u potpunosti povećala toleranciju semena na slani stres, jer su dobijene vrednosti za sve karakteristike klijanja bile veoma povoljne, bez obzira što su semena tretirana velikom koncentracijom soli (Tabela 2). Inhibitorski efekat na procenat i dinamiku klijanja semena kukuruza ispoljila je jedino najveća koncentracija SA, što su zaključili i Miura i Tada (2014). SA učestvuje u procesima rastenja i razvića biljaka, u poboljšanju klijavosti semena i adaptivnim odgovorima na uslove spoljašnje sredine (Rajjou i sar., 2006). Značaj SA u razvijanju tolerancije na slani stres, potvrdili su i Khan i sar. (2015). Niže koncentracije SA u prajming metodi poboljšavaju performanse klijanja, smanjujući oksidativno oštećenje ćelija izazvano toksičnim efektom soli (Rivas-San Vicente i Plasencia 2011; Hongna i sar., 2021).

Tabela 2. Uticaj hormoprajminga na karakteristike klijanja kukuruza (*Z. mays*) u uslovima slanog stresa

Table 2. Effect of hormopriming on germination characteristics of maize (*Z. mays*) under salt stress

Tretman <i>Treatment</i>		GP	MTG	RG	U
SA + NaCl	10 <sup>-2</sup> M + 75 mM NaCl	42.67 ± 2.67 *	3.06 ± 0.18	13.71 ± 0.87	14.02 ± 0.96 *
	10 <sup>-3</sup> M+ 75 mM NaCl	100.00 ± 0.00	2.16 ± 0.04 *	31.24 ± 4.38	46.33 ± 0.84 *
	10 <sup>-4</sup> M + 75 mM NaCl	98.67 ± 1.33	2.02 ± 0.04 *	28.19 ± 0.83	48.98 ± 1.44 *
	10 <sup>-5</sup> M + 75 mM NaCl	100.00 ± 0.00	2.27 ± 0.31 *	30.00 ± 7.34	45.56 ± 5.51*
Kontrola <i>Control</i>		98.67 ± 1.33	2.77 ± 0.05	22.10 ± 4.74	35.65 ± 0.98

\* statistički značajna razlika ( $p \leq 0.05$ ) u odnosu na kontrolu

\* a statistically significant difference ( $p \leq 0.05$ ) in relation to the values in control

**Karakteristike rasta.** Vrednosti dobijene za elongaciju i svežu masu klijanaca kukuruza varirale su u zavisnosti od primenjene koncentracije SA (Tabela 3). U slučaju dužine korena, svi primenjeni tretmani (osim 10<sup>-2</sup> M SA) su ostvarili stimulativni efekat, pri čemu je najveća vrednosti zabeležena kod 10<sup>-4</sup> M SA. Isti tretman je ispoljio najznačajniji efekat i na dužinu izdanka, dok su ostali tretmani imali inhibitorski uticaj. Kada je reč o svežoj masi biljaka, primenjeni tretmani su pokazali iste ili niže vrednosti u poređenju sa kontrolom.

U uslovima povećane koncentracije soli, kod semena koja su prethodno prajmovana SA, utvrđeno je da su vrednosti svih ispitivanih karakteristika rasta bile veće nego u kontroli (osim kod 10<sup>-2</sup> M SA). Najistaknutiji efekat na dužinu korena, dužinu izdanka i svežu masu klijanaca zabeležen je nakon prajming tretmana sa 10<sup>-5</sup> M SA (Tabela 4). Poznato je da SA omogućava biljkama da prevaziđu faktore abiotskog stresa, a njena efikasnost zavisi od primenjene doze (Kahveci i sar., 2021) i povezan je sa njenim regulatornim efektima na fiziološke i

biohemijske procese u biljkama, na taj način što sprečava pad nivoa fitohormona auksina i citokinina, dovodeći do povećane deobe ćelija apikalnog meristema korena, čime direktno promoviše rast i produktivnost biljaka, apsorpciju jona, izduživanje, deobu i diferencijaciju ćelija, enzimsku aktivnost, fotosintetičku aktivnost i antioksidativni kapacitet biljaka (Osama i sar., 2019).

Tabela 3. Uticaj različitih koncentracija salicilne kiseline na karakteristike rasta kukuruza (*Z. mays*)

Table 3. Effect of different concentration of salicylic acid on growth characteristics of maize (*Z. mays*)

Tretman <i>Treatment</i>	Dužina korena (mm) <i>Root length (mm)</i>	Dužina izdanka (mm) <i>Shoot length (mm)</i>	Sveža masa(g) <i>Fresh weight (g)</i>	Vigor indeks <i>Vigour index</i>	
SA	10 <sup>-2</sup> M	1.43 ± 0.26 *	5.40 ± 0.32 *	0.712 ± 0.62	300.52 ± 58.87 *
	10 <sup>-3</sup> M	12.85 ± 1.42	9.72 ± 0.63	0.615 ± 0.05	2226.91 ± 30.09 *
	10 <sup>-4</sup> M	14.26 ± 2.46	12.16 ± 0.84	0.557 ± 0.04	2642.00 ± 0.00 *
	10 <sup>-5</sup> M	14.10 ± 0.58	10.54 ± 0.65	0.637 ± 0.08	2431.15 ± 32.85 *
Kontrola <i>Control</i>	10.23 ± 1.37	10.55 ± 0.46	0.712 ± 0.06	2078.00 ± 0.00	

\* statistički značajna razlika ( $p \leq 0.05$ ) u odnosu na kontrolu

\* a statistically significant difference ( $p \leq 0.05$ ) in relation to the values in control

Tabela 4. Uticaj hormopraininga na karakteristike rasta kukuruza (*Z. mays*) u uslovima slanog stresa

Table 4. Effect of hormopriming on growth characteristics of maize (*Z. mays*) under salt stress

Tretman <i>Treatment</i>	Dužina korena (mm) <i>Root length (mm)</i>	Dužina izdanka (mm) <i>Shoot length (mm)</i>	Sveža masa (g) <i>Fresh weight (g)</i>	Vigor indeks <i>Vigour index</i>	
SA+ NaCl	10 <sup>-2</sup> M + 75 mM NaCl	6.57 ± 0.96	4.00 ± 0.15	0.242 ± 0.05 *	450.99 ± 28.19 *
	10 <sup>-3</sup> M + 75 mM NaCl	9.53 ± 0.57	5.23 ± 0.28 *	0.362 ± 0.05	1476.00 ± 0.00 *
	10 <sup>-4</sup> M + 75 mM NaCl	10.17 ± 0.58	6.30 ± 0.35 *	0.467 ± 0.01	1625.04 ± 21.96 *
	10 <sup>-5</sup> M + 75 mM NaCl	10.93 ± 0.62 *	7.07 ± 0.67 *	0.475 ± 0.03	1800.00 ± 0.00 *
Kontrola <i>Control</i>	8.23 ± 1.13	4.20 ± 0.47	0.376 ± 0.03	1226.43 ± 16.57	

\* statistički značajna razlika ( $p \leq 0.05$ ) u odnosu na kontrolu

\* a statistically significant difference ( $p \leq 0.05$ ) in relation to the values in control

Kod rezultata vigor testa uočava se statistički značajan efekat za svaki od primenjenih tretmana u slučaju obe metode, pri čemu su tretmani sa  $10^{-4}$  M SA (pri tretmanu sa SA) i  $10^{-5}$  M SA (pri tretmanu SA+NaCl) bili najpovoljniji za klijavost i ranu fazu razvića kukuruza. Uzimajući u obzir da se SA smatra velikim agronomskim potencijalom čija egzogena primena dovodi do poboljšanja otpornosti biljaka na uslove stresa i da hormoprajming sa SA poboljšava vitalnost semena pri optimalnim i stresnim uslovima, dobijeni podaci ukazuju da bi SA mogla da se koristi kao regulatorni agens, čiji bi efekat zavisio od koncentracije i vrste biljke što je u saglasnosti sa Miura i Tada (2014).

### Zaključak

Slani stres predstavlja jednu od najvećih opasnosti po antropogene ekosisteme. Sprovedena istraživanja su pokazala da se salicilna kiselina može uspešno koristiti u hormoprajmingu kukuruza kao sredstvo u razvijanju odbrambenih mehanizama i eliminaciji ili ublažavanju štetnih efekata povećane koncentracije soli u zemljištu.

### Napomena

Istraživanja sprovedena u ovom radu finansiralo je Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja (ev. br. 451-03-68/2022-14/ 200122).

### Literatura

- Conarath, U. (2011). Molecular aspects of defense priming. Trends Plant Science. 16, 524-531
- Espanany A., Fallah S., Tadayyon A. (2016). Seed priming improves seed germination and reduces oxidative stress in black cumin (*Nigella sativa*) in presence of cadmium. Industrial Crops and Products. 79, 195-204.
- Hongna C., Leyuan T., Junmei S., Xiaori H., Xianguo C. (2021). Exogenous salicylic acid signal reveals an osmotic regulatory role in priming the seed germination of *leymus chinensis* under salt-alkali stress. Environmental and Experimental Botany, 188, 104498.
- Ibrahim E.A. (2016). Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. Journal of Plant Physiology. 192, 38-46.
- Kahveci H., Bilginer N., Diraz-Yildirim E., Kulak M., Yazar E., Kocacinar F., Karaman S. (2021). Priming with salicylic acid,  $\beta$ -carotene and tryptophan modulates growth, phenolics and essential oil components of *Ocimum basilicum* L. grown under salinity. Scientia Horticulturae, 281, 109964.
- Khan M.I.R., Fatma M., Per T.S., Anjum N.A., Khan N.A. (2015). Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. Frontiers in Plant Science, 6, 462.

- Kharb R.P.S., Lather B.P.S., Deswal D.P. (1994). Prediction of field emergence through heritability and genetic advance of vigour parameters. *Seed Science and Technology*, 22, 461-466.
- Miura K., Tada Y. (2014). Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. *Frontiers in Plant Science*, 5, 4.
- Osama S., El Sherei M., Al-Mahdy D.A., Bishr M., Salama O. (2019). Effect of salicylic acid foliar spraying on growth parameters,  $\gamma$ -pyrones, phenolic content and radical scavenging activity of drought stressed *Ammi visnaga* L. plant. *Industrial Crops and Products*, 134, 1-10.
- Paparella S., Araújo, S. S., Rossi, G., Wijayasinghe, M., Carbonera, D., Balestrazzi, A. (2015). Seed priming: state of the art and new perspectives. *Plant Cell Reports*. 34, 1281–1293.
- Rajjou L., Belghazi M., Huguet R., Robin C., Moreau A., Job C., Job D. (2006). Proteomic investigation of the effect of salicylic acid on Arabidopsis seed germination and establishment of early defense mechanisms. *Plant Physiology*. 141, 910–923.
- Rivas-San Vicente M., Plasencia J. (2011). Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. *Journal of experimental botany*, 62(10), 3321-3338.

## EFFECT OF HORMOPRIMING ON IMPROVEMENT OF THE RESISTANCE OF MAIZE SEEDLINGS TO SALT STRESS

*Milica Kanjevac, Biljana Bojović, Marija Todorović, Dragana Jakovljević, Jovana Momčilović, Milan Stanković*

### Abstract

The paper examines the influence of different salicylic acid concentrations on germination percentage, dynamics and uniformity of germination, elongation and biomass of maize (*Zea mays* L.) seedlings in the early phase of growth and development, as well as the effect of hormoprimering by salicylic acid on overcoming salt stress. According to the obtained results, the stimulating effect of salicylic acid on the germination and growth parameters of maize seedlings was confirmed, as well as its protective effect in conditions of salt stress. The concentrations of 10<sup>-4</sup> and 10<sup>-5</sup> M had the greatest effect on the examined parameters.

**Key words:** salicylic acid, priming, NaCl, germination, growth