E-ISSN: 2538-2187 | P-ISSN: 2251-7901

The Quarterly Scientific Journal of Applied Biology

https://jab.alzahra.ac.ir/
Vol. 37, No.4. (2024) Winter, 35-53
https://doi.org/10.22051/jab.2024.46210.1609

Paper Type: Original Article

The Impact of Selenium Nanoparticles and Endophytic Fungus of *Piriformospora indica* in Drought Stress Tolerance in Two Barley Genotypes

Mohammad Saeid Pazirandeh[1], Roya Karamian[*1]

[1]Plant Physiology, Bu-Ali Sina University, Hamedan , Iran;(Professor: Corresponding author: karamian.roya@gmail.com).*

Citation:

Pazirandeh, M. S. & Karamian, R. (2024). The impact of selenium nanoparticles and endophytic fungus of *Piriformospora indica* in drought stress tolerance in two barley genotypes. *The quarterly scientific journal of applied biology, Volume* 37 (Issue No. 4), PP. 35-53

Received: 2023.12.28 Accepted: 2024.06.05

Abstract

Introduction: Water deficit is one of the most important abiotic stresses that reduces crop productivity. Biotic and abiotic elicitors such as nanoparticles and mycorrhyzal fungi are the useful sterategies to reduce the harmful effects of drough stress in crops.

Methods: In order to investigate the effects of selenium nanoparticles and the mycorrhizal fungus *Piriformospora indica* on drought tolerance in two selected barley genotypes (Yousef as the tolerant genotype and Morocco as the sensitive genotype) during the vegetative stage, a greenhouse experiment was conducted in a factorial design within completely randomized blocks with three replicates per sample. The emphasis was on evaluating several growth-related traits and antioxidant indices. Experimental treatments were designed with three irrigation levels (70 %, 30 %, and 10 % of field capacity), three levels of selenium nanoparticles (0, 3, and 6 mg/l), and two levels of fungal treatment (inoculated and non-inoculated).

Results: Drought stress led to a reduction in growth-related traits in both genotypes, especially in the sensitive genotype, and a significant increase in hydrogen peroxide and malondialdehyde contents. Selenium nanoparticles especialy at 6 mg/l concentration and *Piriformospora indica* inoculation caused increase in growth indices and antioxidant enzymes activities, but decrease in hydrogen peroxide and malondialdehyde contents.

Conclusion: Drought stress increased the content of malondialdehyde as a product of peroxidation of membrane lipids, especially in the sensitive genotype, by increasing oxygen free radicals. The application of selenium nanoparticles, and the inoculation of *Piriformospora indica* resulted in improved growth and antioxidant traits in the studied genotypes under drought stress.

Keywords: Antioxidantive response, Drought stress, Barley, Growth indices

فصلنامه علمی زیست‌شناسی کاربردی دانشگاه الزهرا(س)
دوره ۳۷، شماره ۴، پیاپی ۸۲، زمستان ۱۴۰۳، صفحات ۵۳-۳۵
https://jab.alzahra.ac.ir
https://doi.org/10.22051/jab.2024.46210.1609

نوع مقاله: پژوهشی

اثر نانوذره سلنیوم و قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر تحمل تنش خشکی در ژنوتیپ‌های منتخب جو

محمد سعید پذیرنده[۱]، رویا کرمیان*[۲]
[۱]دانشجو دکتری فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.
[۲]استاد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.
(*نویسنده مسئول: *karamian.roya@gmail.com*)

تاریخ دریافت : ۱۴۰۲/۱۰/۰۷ تاریخ پذیرش : ۱۴۰۳/۰۳/۱۶

چکیده

مقدمه: تنش خشکی یکی از مهمترین تنش‌های غیرزیستی است که بازدهی محصولات زراعی را کاهش می‌دهد. استفاده از الیسیتورهای زیستی و غیرزیستی، استراتژی‌هایی مفید جهت تخفیف آثار زیانبار تنش در گیاهان زراعی است.

روش‌ها: با هدف بررسی اثر کاربرد نانوذرات سلنیوم و تلقیح قارچ *Piriformospora indica* بر تحمل خشکی در دو ژنوتیپ منتخب جو زارعی (یوسف ژنوتیپ متحمل و موروکو ژنوتیپ حساس) در مرحله رویشی، آزمایشی گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و با تأکید بر ارزیابی شاخص‌های رشدی و پاداکسایندگی انجام گرفت. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح آبیاری (۷۰، ۳۰ و ۱۰ درصد ظرفیت زراعی)، سه سطح نانوذرات سلنیوم (صفر، ۳ و ۶ میلی گرم در لیتر) و دو سطح تیمار قارچ (تلقیح و عدم تلقیح) بود.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تنش خشکی سبب کاهش شاخص‌های رشدی (محتوای نسبی آب برگ، وزن خشک، سرعت رشد نسبی و سطح برگ)، لیکن افزایش معنی‌دار محتوای پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدئید شد. کاربرد نانوذره سلنیوم به ویژه در غلظت ۶ میلی‌گرم در لیتر و تلقیح قارچ *Piriformospora indica*، سبب افزایش شاخص‌های رشدی، افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و گلوتاتیون S- ترانسفراز، سوپراکسید دیسموتاز) و کاهش محتوای پراکسید هیدروژن گردید.

نتیجه‌گیری: تنش خشکی با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، سبب افزایش محتوای مالون‌دی‌آلدئید به عنوان محصول لیپید پراکسیداسیون غشاء به‌ویژه در ژنوتیپ حساس گردید. نانوذره سلنیوم و تلقیح قارچ، سبب بهبود شاخص‌های رشدی و پاداکسایندگی در ژنوتیپ‌های جو تحت تنش خشکی گردید.

کلیدواژه‌ها: پاسخ پاداکسایندگی، تنش خشکی، جو زراعی، شاخص‌های رشدی

مقدمه

تنش آبی زمانی رخ می‌دهد که از دست دادن آب به صورت تعرق بر میزان آب جذب شده از خاک پیشی می‌گیرد یا وقتی که جذب آب به وسیله ریشه مشکل می‌شود و این دو شرایط اغلب در محیط‌های خشک و نیمه‌خشک رخ می‌دهد [1]. واژه خشکی بیانگر یک رویداد اقلیمی و محیطی و نشانگر دوره بدون بارندگی است که طی آن مقدار رطوبت خاک کاهش می‌یابد. تنش خشکی و خشکسالی، ۴۰ تا ۶۰ درصد از زمین‌های کشاورزی جهان را تحت تأثیر قرار داده‌است [2]. بنابراین خشکی به عنوان مهم‌ترین تنش محیطی در کشاورزی جهان، کاهش رشد و تغییرات مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی وسیعی را در گیاهان زراعی در پی دارد. اگرچه در گیاهان عالی راهکارهایی چندگانه، تحول یافته تا آن‌ها را قادر به زنده ماندن در شرایط تنش نماید، این راهکارها در اکثر گیاهان زراعی به خوبی توسعه نیافته است. به طوری که تخمین زده شده‌است که تنش‌های غیرزیستی بازدهی محصولات کشاورزی سراسر جهان را به کم‌تر از نیمی از آن چه در شرایط بهینه متصور است، کاهش می‌دهند [3]. علاوه بر این، آنزیم‌های پاداکساینده گیاهان را قادر می‌سازد تا با تولید فزاینده گونه‌های اکسیژن فعال مقابله نموده و در شرایط تنش خشکی به بقای خود ادامه دهد.

نانوذرات، ذراتی هستند که اندازه آن‌ها در محدوده ۱ تا ۱۰۰ نانومتر است. به دلیل اندازه کوچک آن‌ها، خواص فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی نانوذرات با ذرات بزرگتر متفاوت است و این ذرات می‌توانند به عنوان مواد پیشرفته در بسیاری از صنایع مورد استفاده قرار گیرند. استفاده از نانوذرات در صنایع مختلف از جمله صنایع الکترونیکی، پزشکی، کشاورزی، غذایی، محیط زیست و صنایع نفت و گاز مورد توجه قرار گرفته‌است [4]. نانوذرات سلنیوم (Se) از جمله نانوذراتی هستند که در کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرد. سلنیوم یک عنصر مهم برای گیاهان است که در فرآیندهای متابولیسمی، رشد و توسعه گیاهان نقش دارد. همچنین، سلنیوم به عنوان یک عنصر غذایی برای انسان‌ها و حیوانات نیز بسیار حائز اهمیت است [5]. یافته‌های پژوهشگران نشان داده است که یکی از مؤثرترین روش‌ها برای افزایش غلظت سلنیوم در گیاهان به صورت محلول‌پاشی است [6]. همچنین استفاده از ذرات نانو به دلیل نسبت بالای سطح به حجم و اندازه کوچک برای محلول‌پاشی مؤثرتر است [7]. مشاهدات نشان داده‌است که سلنیوم در کاهش اثرات زیان‌بار تنش‌های غیر زیستی نقش مؤثری در گیاهان دارد. سلنیوم در گیاه سورگوم با افزایش توان پاداکسایندگی گیاه از طریق فعال‌کردن آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز، سبب کاهش مقدار مالون‌دی‌آلدئید حاصل از تخریب غشاهای سلولی و افزایش مقاومت به تنش می‌شود [8]. همچنین در مطالعه‌ای که روی گندم انجام شده‌است، مشاهده شد که سلنیوم سبب کاهش گونه‌های آزاد اکسیژن، بازسازی غشاهای سلولی، بهبود سیستم فتوسنتزی و افزایش ظرفیت جذب آب توسط ریشه می‌گردد [9]. همچنین، نانوذرات سلنیوم می‌توانند به عنوان افزودنی‌های غذایی برای گیاهان استفاده شوند. برای مثال، مصرف نانوذرات سلنیوم برای تقویت مقاومت گیاهان به شرایط تنشی نظیر کمبود آب، شوری خاک و دمای بالا مفید است [10].

قارچ *Piriformospora indica* در ریشه گیاهان مختلف به خصوص گیاهان زراعی رشد می‌کند و در واقع به گیاهان کمک می‌کند تا با جذب عناصر غذایی بیشتر از خاک، رشد و عملکرد خود را بهبود بخشیده و نسبت به تنش‌های محیطی مانند خشکی، شوری و بیماری‌های گیاهی مقاومت بیشتری پیدا کنند. با توجه به خواص مفیدی که قارچ *Piriformospora indica* دارد، این قارچ به عنوان یک نوع مفید از قارچ‌های رشدی در کشت و کار مورد توجه قرار گرفته‌است. همچنین، نتایج برخی مطالعات نشان داده‌اند که این قارچ می‌تواند به عنوان یک سد دفاعی در گیاهان عمل نموده و مقاومت بیشتری در برابر حشرات و بیماری‌های گیاهی و نیز تنش‌های غیر زیستی به گیاهان ببخشد [11]. همچنین، برخی از قارچ‌های شبه مایکوریزا می‌توانند به گیاهان کمک کنند تا عناصر غذایی بیش‌تری را از خاک جذب کنند و از این طریق به بهبود رشد و عملکرد گیاه کمک کنند [12]. بسیاری از قارچ‌های شبه مایکوریزا، به دلیل نیاز کم‌تری به انرژی در مقایسه با قارچ‌های مایکوریزا، می‌توانند به عنوان یک نوع مفید از قارچ‌های رشدی در کشت و کار استفاده شوند. همچنین، برخی از این قارچ‌ها می‌توانند به عنوان یک نوع دفاعی برای گیاهان عمل کنند و در برابر حشرات و بیماری‌های گیاهی مقاومت بیشتری به گیاهان بخشید. به طور کلی، قارچ‌های شبه مایکوریزا از نظر زیستی بسیار قابل توجه هستند و به عنوان یک نوع مفید از قارچ‌های رشدی شناخته می‌شوند [13].

قارچ *Piriformospora indica* قادر است مقاومت گیاهان به تنش خشکی را بهبود بخشد. یعقوبیان و همکاران (۲۰۱۴)، تأثیر قارچ *Piriformospora indica* بر روی گیاه گندم در شرایط تنش خشکی بررسی و نشان دادند که استفاده از این قارچ باعث افزایش رشد و عملکرد گندم (*Triticum aestivum* L.) در شرایط خشکی شدید شده‌است [14]. در یک مطالعه دیگر نیز، تأثیر قارچ

Piriformospora indica بر گیاهان سویا در شرایط تنش خشکی بررسی شده‌است. نتایج این مطالعه نشان داد که این قارچ باعث افزایش رشد و عملکرد گیاهان سویا (*Glycine max* L. Merrill) در شرایط خشکی می‌شود. همچنین، با استفاده از این قارچ، میزان فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده (کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز) در گیاهان افزایش یافته‌است که نشان‌دهنده مقاومت بیشتر گیاهان در برابر تنش‌های اکسیداتیو است [15]. به علاوه، تأثیر قارچ *Piriformospora indica* بر روی گیاهان زراعی دیگر نیز بررسی شده‌است. نتایج مطالعه انجام شده در گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) نشان داد که استفاده از این قارچ باعث افزایش رشد در تنش خشکی شده‌است. همچنین، این قارچ میزان فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز را افزایش داده‌است [16].

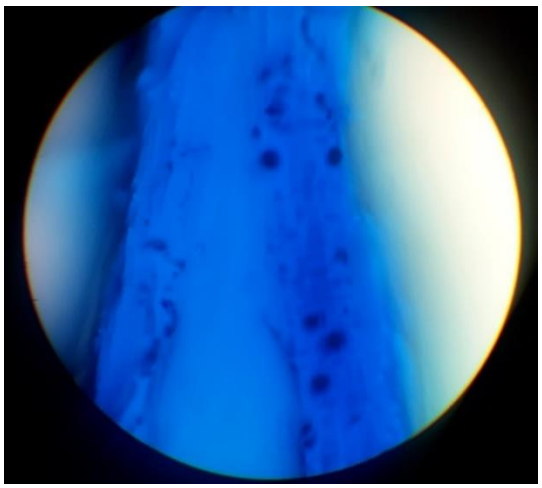
جو یکی از غلات مهم در کشورهای در حال توسعه است، به ویژه مناطقی که خشکی شدید یکی از عوامل موثر در کاهش تولید گیاهان زارعی است [17]. جو پس از گندم، برنج و ذرت بیش‌ترین سطح زیر کشت غلات را در جهان به خود اختصاص داده‌است و در ایران پس از گندم بیش‌ترین سطح زیر کشت را دارد [18]. جو نسبت به غلات دیگر دارای سازوکارهای محافظه کارانه‌تری در برابر کمبود آب است، هرچند عملکرد این گیاه در شرایط خشکی و دمای بالا و پائین محدود می‌شود [19]. مطالعه سازوکارهای تحمل تنش در گیاه جو می‌تواند به درک بهتر اساس ژنتیکی تحمل خشکی و استفاده مؤثر از روش‌های ژنتیکی و فیزیولوژیکی در بهبود تحمل خشکی در گیاهان، کمک نماید [3]. لذا در پژوهش حاضر اثر نانوذره سلنیوم و قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر تحمل تنش خشکی در ژنوتیپ‌های حساس (موروکو) و متحمل (یوسف) جو با تاکید بر شاخص‌های پاداکسایندگی مورد مطالعه قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش گیاه جو زراعی (*Hordeum vulgare* L.) رقم یوسف که دارای تحمل خشکی، پتانسیل عملکرد بالا، زودرسی، تحمل بادزدگی و بهره‌وری بالای مصرف آب و نیز پایداری عملکرد با حداکثر خصوصیات مطلوب بوده و در سال ۱۳۸۸ جهت کشت در مناطق معتدل کشور معرفی شد و نیز رقم جو زراعی حساس موروکو طبق مقالات مرور شده، انتخاب شدند [20]. بذور جو زراعی متحمل خشکی یوسف از بانک ژن ملی ایران و بذور جو زراعی حساس به خشکی موروکو از موسسه تحقیقات بین المللی ایکاردا با همکاری پژوهشگاه بذر و غله جهاد کشاورزی استان همدان تهیه شد. نانوذره سلنیوم از شرکت نانومواد ایرانیان و اسپور قارچ *Piriformospora indica* از گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه بوعلی‌سینا تهیه شد. اعمال تنش خشکی در مرحله دو برگی با قطع آبیاری و اندازه‌گیری میزان ظرفیت نگهداری آب خاک با استفاده از توزین گلدان‌ها انجام گرفت. جدایه قارچ *Piriformospora indica* در محیط کشت مایع اختصاصی کشت شد و پس از ۲۰ روز کلامیدوسپورها جمع‌آوری شدند. در نهایت کلامیدوسپورها با ماسه بادی استریل مخلوط و به عنوان مایه تلقیح بذر استفاده شد. تیمار نانوذرات سلنیوم به صورت محلول‌پاشی سه بار در دو سطح برگ و ۱۰ روز پس از مرحله سه‌برگی انجام شد. پس از اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی، برگ‌های کاملاً باز شده و سالم برداشت و سپس انتقال سریع آن‌ها در ازت مایع به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد، جهت انجام آنالیزهای بیوشیمیایی انجام شد.

ارزیابی میزان کلونیزاسیون قارچ در ریشه

جهت ارزیابی میزان کلونیزاسیون قارچ در ریشه گیاهان جو، ابتدا با استفاده از یک دستمال پارچه‌ای تمیز رطوبت اضافی ریشه‌ها گرفته شد. سپس از هر ریشه، ۱۰ قطعه به طول ۱ تا ۲ سانتی‌متر جدا شد. این قطعات در محلول FAA (فرمالین: استیک اسید: اتانول به نسبت حجمی ۵:۵:۹۰) قرار گرفته و سپس با استفاده از روش Kormanik (۱۹۸۲) رنگ‌آمیزی شدند. بدین منظور قطعات ریشه پس از خروج از محلول FAA، سه بار با آب مقطر شستشو داده شدند. آنگاه قطعات ریشه در محلول KOH ده درصد قرار گرفته و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵ پاسکال اتوکلاو شدند. سپس محلول KOH خارج و ریشه‌ها سه بار با آب مقطر شستشو و به مدت ۱۰ دقیقه در محلول اسید کلریدریک ۱ درصد قرار گرفتند تا آماده رنگ‌پذیری شوند. در مرحله بعد ریشه‌ها از اسید خارج و بدون شستشو، وارد محلول رنگی فوشین در اسید لاکتیک ۰/۱ درصد شدند. پس از گذشت ۳۰ دقیقه ریشه‌ها در محلول رنگ‌بر (اسید لاکتیک) قرار داده شدند، تا رنگ اضافی آن‌ها حذف شود و در نهایت با استفاده از میکروسکوپ نوری در بزرگنمایی‌های ۱۰۰ و ۴۰۰ مورد مطالعه قرار گرفتند (**شکل ۱**) [21].



شکل ۱- کلامیدوسپورهای قارچ *Piriformospora indica* در بافت ریشه گیاه جو

Figure 1- Chlamydospores of the fungus *Piriformospora indica* in the root tissue of barley plant

ارزیابی محتوای آب نسبی (RWC)

جهت ارزیابی محتوای آب نسبی، برگ‌های کاملاً توسعه‌یافته پس از برداشت بلافاصله توزین و وزن آن‌ها ثبت شد. سپس برگ‌ها در ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد غوطه‌ور شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت، برگ‌ها از آب مقطر خارج و دوباره توزین شدند. سپس نمونه‌های توزین شده، به مدت ۴۸ ساعت در پاکت‌های کاغذی در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند، تا به طور کامل خشک شوند. در نهایت وزن نمونه‌های خشک شده ثبت و درصد محتوای آب نسبی با استفاده از رابطه ذیل محاسبه شد [22].

$$RWC\ (\%) = [(\text{fresh weight- dry weight})/(\text{turgid weight- dry weight})] \times 100$$

ارزیابی وزن خشک

جهت ارزیابی وزن خشک، بافت گیاهی (بخش هوایی و ریشه) پس از برداشت به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار شد. سپس وزن خشک ماده گیاهی پس از عدم مشاهده تغییر، اندازه‌گیری شد.

ارزیابی سرعت رشد نسبی (RGR)

RGR اساسی‌ترین بخش آنالیز رشد است، زیرا می‌توان بدون نیاز به اندازه سطح همگون ساز مقدار ماده افزایش‌یافته را در گیاه طی مدت زمان مشخص (t_2-t_1) که t_1 زمان شروع تیمار و t_2 هنگام برداشت است، اندازه گرفت.

$$RGR = \frac{LnW_2 - LnW_1}{t_2 - t_1}$$

Ln بیانگر لگاریتم نپری، W_1و W_2: به ترتیب وزن خشک ماده گیاهی در ابتدا و انتهای آزمایش می‌باشد. RGR بر حسب $mg\ g^{-1}\ d^{-1}$ (g: گرم، mg: میلی‌گرم و d: روز) بیان شد [23].

ارزیابی سطح برگ (LA)

سطح برگ با توجه به رابطه زیر محاسبه شد:

$$LA = L \times W \times 0.75$$

L: طول برگ، W: عرض برگ و ۰/۷۵ ضریب ویژه جو است. سطح برگ بر حسب $cm^2\ plant^{-1}$ بیان گردید [24].

ارزیابی محتوای پراکسید هیدروژن

برای اندازه‌گیری محتوای پراکسید هیدروژن، ابتدا دستگاه اسپکتروفتومتر در محیط خنک و نیمه تاریک مستقر و سپس با استفاده از محلول شاهد صفر شد. سپس جذب غلظت‌های مختلف محلول استاندارد پراکسید هیدروژن در طول موج ۳۹۰ نانومتر قرائت و ضمن تعریف معادله رگرسیون، منحنی استاندارد رسم شد. سپس جذب در نمونه‌های گیاه، قرائت شد و با استفاده از معادله منحنی، محتوای پراکسید هیدروژن هر نمونه به دست آمد. محتوای پراکسید هیدروژن بر حسب میکرومول بر گرم نمونه تر و با در نظر گرفتن ضریب رقت (۴ × ۵ × ۲/۸۶) بیان شد [25].

ارزیابی محتوای مالون‌دی‌آلدئید (MDA)

جهت ارزیابی محتوای مالون‌دی‌آلدئید، مقدار ۰/۲ گرم نمونه گیاهی در ۲ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک‌اسید (TCA) ۰/۱ درصد، هموژنیزه شد. عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای آزمایشگاه سانتریفیوژ شد. ۲ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک‌اسید ۲۰ درصد حاوی تیوباربیوتوریک اسید (TBA)، به ۱ میلی‌لیتر روشناور اضافه شد. جذب محلول روشناور در ۵۳۲ نانومتر قرائت و مقدار جذب غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. محتوای مالون‌دی‌آلدئید با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$\text{MDA} = \frac{(532\text{nm} - 600\text{nm})}{(\text{quvete diameter} \times \text{quenching factor})} \times \text{dilution factor}$$

محتوای مالون‌دی‌آلدئید بر حسب نانومول بر گرم وزن تر برگ محاسبه شد. بعلاوه، قطر کووت ۱ سانتی‌متر، ضریب خاموشی ۱۵۵ میلی‌مول بر سانتی‌متر و فاکتور رقت ۲۰= ۵ × ۲ × ۲ بود. با عنایت به واحد اندازه‌گیری بر حسب نانومول بر گرم وزن تر، عدد حاصل در ۱۰۰ ضرب شد [26].

ارزیابی فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده

به ۳/. ماده گیاهی پودر شده مقدار ۱/۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH ۷) حاوی سدیم متابی‌سولفیت یک میلی‌مولار و پلی وینیل پیرولیدین اضافه، نمونه‌ها ابتدا ۱۰ دقیقه و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت rpm ۱۳۵۰۰ سانتریفیوژ شدند. از این عصاره برای سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز استفاده شد [27].

کاتالاز

فعالیت کاتالاز به روش Chaoui (۱۹۹۷) اندازه‌گیری شد. بدین منظور ابتدا ۲۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار به همراه ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل و ۲۵۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۷۰ میلی‌مولار (در بافر فسفات پتاسیم) درون کووت کوارتز ۱ میلی‌لیتری ریخته و در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر بعنوان بلانک ثبت شد. سپس ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی استخراج شده از برگ به کووت حاوی محلول بالا اضافه و در مدت زمان ۱۸۰ ثانیه، فعالیت کاتالاز بر حسب Δ Abs/min ترسیم شد [28].

آسکوربات پراکسیداز

فعالیت آسکوربات پراکسیداز به روش Nakano و Asada (۱۹۸۷) اندازه‌گیری شد. ابتدا ۸۵۰ میکرولیتر آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار (در بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار) به همراه ۱۵۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۲ میلی‌مولار (در آب مقطر دو بار تقطیر)

درون کووت کوارتز ۱ میلی‌لیتری ریخته و به عنوان شاهد در طول موج ۲۹۰ نانومتر در نظر گرفته شد. سپس ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی استخراج شده از برگ به مخلوط واکنش فوق اضافه و فعالیت آسکوربات پراکسیداز در مدت زمان ۱۸۰ ثانیه و بر حسب Δ Abs/min ترسیم شد. فعالیت آسکوربات پراکسیداز بر اساس میزان تجزیه H_2O_2 در طول موج۲۹۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی ۲/۸ mM/cm تعیین شد [29].

پراکسیداز

فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش Abeles و Biles (۱۹۹۱) اندازه‌گیری شد. ابتدا ۲۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم به ۲۵۰ میکرولیتر گایاکول ۱۰ میلی‌مولار و ۳۳ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۷۰ میلی‌مولار (در بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار) و ۴۶۶ میکرولیتر آب مقطر استریل اضافه و از آن به عنوان شاهد در دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. سپس ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی استخراج شده از برگ به مخلوط واکنش اضافه شد و فعالیت پراکسیداز در مدت زمان ۱۸۰ ثانیه و در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید [30].

گلوتاتیون - S ترانسفراز (GST)

جهت استخراج آنزیم، ۰/۵-۰/۲ گرم برگ در ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار فسفات (pH ۷) (۰/۱ میلی‌مولار فنیل متیل سولفونیل‌فلوراید و پلی‌وینیل پیرولیدین ۱ درصد) سائیده شد و با سرعت g× ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس مایع رویی جدا و جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم مذکور استفاده گردید. کمپلکس واکنشی شامل ۹۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH ۷/۴) ۴۵۰ میکرولیتر گلوتاتیون احیاشده ۳/۵ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر ۱-کلرو ۲ و ۴ دی‌نیتروبنزن ۳۰ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر محلول آنزیمی استخراج شده بود. تغییرات جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت و میزان فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی $cm^{-1}\ mmol^{-1}$ ۰/۰۰۹۶ محاسبه گردید [31].

سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

ارزیابی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از روش Beauchamp & Fridovich (۱۹۷۱) انجام شد. ابتدا محلول بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با (pH ۷/۵) تهیه شد. برای تهیه مخلوط واکنش، EDTA ۰/۱ مولار، نیتروبلوتترازولیوم (NBT) ۷۵ میکرومولار، متیونین ۱۳ میلی‌مولار و ریبوفلاوین ۴ میلی‌مولار به ترتیب اضافه شد. جهت جلوگیری از نفوذ نور، ظرف حاوی مخلوط با فویل آلومینیوم به خوبی پوشانده شد. پس از افزودن ۴۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی در حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر، لوله‌ها در معرض روشنایی لامپ (۴۰ وات) در فاصله ۵۰ سانتی‌متری قرار گرفتند، تا واکنش آغاز گردد. پس از ۱۵ دقیقه میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از سنجش مهار نوری NBT در برابر نور توسط اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد [32].

تجزیه و تحلیل آماری

تحلیل آماری داده‌ها در ۳ تکرار و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطوح ۱ و ۵ درصد انجام شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث

ارزیابی شاخص‌های رشدی

محتوای نسبی آب برگ: محتوای نسبی آب برگ، به عنوان شاخصی برای نشان دادن آسیب‌های ناشی از تنش خشکی معرفی شده‌است. محتوای نسبی آب بیشتر باعث افزایش میزان فتوسنتز و در نتیجه افزایش عملکرد گیاه در شرایط تنش می‌شود [33]. نتایج تجزیه واریانس شاخص محتوای نسبی آب برگ حاکی از معنی‌دار بودن اثر تنش خشکی در سطح ۱ درصد بود. به طوری که در تنش خشکی به ویژه خشکی شدید، در هر دو ژنوتیپ جو کاهش معنی‌داری در این شاخص مشاهده شد. جدول تجزیه واریانس در مقایسه دو ژنوتیپ، نشان داد که ژنوتیپ حساس و مقاوم در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری دارند. مقایسه میانگین مربعات تکرارها نیز نشان داد که در خشکی ملایم، در ژنوتیپ مقاوم کاهش معنی‌داری در محتوای نسبی آب برگ مشاهده نشد، ولی در خشکی شدید هر دو ژنوتیپ کاهش معنی‌داری نشان دادند، هرچند این کاهش در ژنوتیپ حساس بیش‌تر بود. جدول تجزیه واریانس شاخص محتوای نسبی آب برگ نشان داد که اثر قارچ *Piriformospora indica* در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (**جدول ۱**). تلقیح قارچ مذکور اگرچه در آبیاری بهینه تغییر معنی‌داری در شاخص محتوای نسبی آب برگ ایجاد نکرد، ولی در تنش خشکی به ویژه خشکی شدید در هر دو ژنوتیپ به ویژه در ژنوتیپ حساس، سبب نزدیک‌شدن تیمارهای تحت تنش به تیمارهای آبیاری بهینه شد. نانوذره سلنیوم نیز بر طبق جدول تجزیه واریانس در سطح ۱ درصد، مؤثر بود. در شرایط آبیاری بهینه اثر نانوذره سلنیوم معنی‌دار نبود، ولی در تنش خشکی به ویژه خشکی شدید، سبب افزایش شاخص محتوای نسبی آب برگ به ویژه در ژنوتیپ حساس شد و آن را به شرایط آبیاری مطلوب نزدیک نمود. اثر متقابل قارچ و نانوذره سلنیوم سبب هم‌افزایی در افزایش معنی‌دار این شاخص در هر دو ژنوتیپ به ویژه ژنوتیپ حساس شد (**شکل ۲-A**).

وزن خشک بخش هوایی: جدول تجزیه واریانس وزن خشک اندام هوایی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه حاکی از معنی‌دار بودن اثر تنش خشکی در هر دو ژنوتیپ بود (**جدول ۱**). تنش خشکی سبب کاهش معنی‌دار وزن خشک گیاه (در سطح ۱ درصد) به ویژه در ژنوتیپ حساس شد. این کاهش در تنش خشکی شدید به طور معنی‌داری بیشتر بود. نانوذره سلنیوم به ویژه در غلظت بالاتر (۶ میلی‌گرم در لیتر) سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک بخش هوایی در شرایط تنش خشکی و نزدیک‌شدن آن به شرایط آبیاری بهینه در هر دو ژنوتیپ شد. به ویژه این افزایش در ژنوتیپ حساس تحت تنش خشکی بیش‌تر بود. لیکن اثر نانوذره در ژنوتیپ‌های تحت آبیاری بهینه معنی‌دار نبود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که نانوذره سلنیوم تحت شرایط تنش بر گیاهان جو موثر بوده و این اثر در ژنوتیپ حساس بیش‌تر از ژنوتیپ مقاوم بوده‌است. تلقیح قارچ *Piriformospora indica* سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک بخش هوایی در تنش خشکی و نزدیک شدن آن به شرایط آبیاری بهینه در هر دو ژنوتیپ شد. به ویژه این افزایش در ژنوتیپ حساس تحت تنش خشکی (به ویژه تنش خشکی ملایم) بیش‌تر مشاهده شد. اما اثر قارچ مذکور بر ژنوتیپ‌های تحت آبیاری بهینه معنی‌دار نبود (**شکل ۲-B**). بنابراین قارچ *Piriformospora indica* هنگامی بر گیاهان جو مورد مطالعه مؤثر بوده‌است که در شرایط تنش بوده و این اثر در ژنوتیپ حساس بیش‌تر از ژنوتیپ مقاوم بود. به نظر می‌رسد قارچ مذکور با کمک به افزایش سطح ریشه و جذب آب و املاح مورد نیاز گیاه، سبب این افزایش به ویژه در شرایط تنش خشکی شده‌است. قارچ‌های مایکوریز در خاک‌های غنی از آب و مواد معدنی کمک چندانی به گیاهان نمی‌کنند و حتی ممکن است رابطه آن‌ها به شکل انگلی تبدیل گردد. لذا بیش‌ترین اثر همزیستی در هنگام کمبود آب و مواد مغذی خاک، برای گیاه مشاهده می‌شود [34].

سرعت رشد نسبی (RGR): جدول تجزیه واریانس داده‌های سرعت رشد نسبی نشان داد که اختلاف معنی‌داری (در سطح ۵ درصد) میان ژنوتیپ مقاوم و حساس وجود دارد و همان طور که انتظار می‌رفت سرعت رشد نسبی ژنوتیپ مقاوم به ویژه در شرایط تنش خشکی به طور معنی‌داری بیش‌تر بود. تلقیح قارچ *Piriformospora indica* سبب افزایش معنی‌دار سرعت رشد نسبی بخش هوایی در شرایط تنش خشکی و نزدیک شدن آن به شرایط آبیاری بهینه در هر دو ژنوتیپ شد. این افزایش به ویژه در ژنوتیپ حساس تحت تنش خشکی (به ویژه تنش خشکی ملایم) بیش‌تر بود. اما اثر قارچ مذکور در ژنوتیپ‌های تحت آبیاری بهینه معنی‌دار نبود. بنابراین قارچ *Piriformospora indica* هنگامی در سرعت رشد نسبی گیاهان جو مورد مطالعه مؤثر بوده‌است که آن‌ها در شرایط تنش بوده و این اثر در ژنوتیپ حساس بیش‌تر از ژنوتیپ مقاوم بود (**جدول ۱**). به نظر می‌رسد قارچ مذکور با کمک به افزایش سطح ریشه و جذب آب و املاح مورد نیاز گیاه، سبب افزایش سرعت رشد نسبی به ویژه در شرایط تنش خشکی شده‌است. جدول تجزیه واریانس و میانگین مربعات تکرارها نشان داد که هیچ یک از غلظت‌های نانوذره سلنیوم بکار رفته، اثر معنی‌داری بر سرعت رشد نسبی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه جو نداشته‌است (**شکل ۲-C**).

جدول ۱- میانگین مربعات شاخص‌های رشدی و بیوشیمیایی در ژنوتیپ‌های منتخب جو در پاسخ به تیمار نانوذره سلنیوم و تلقیح قارچ *Piriformospora indica* تحت تنش خشکی

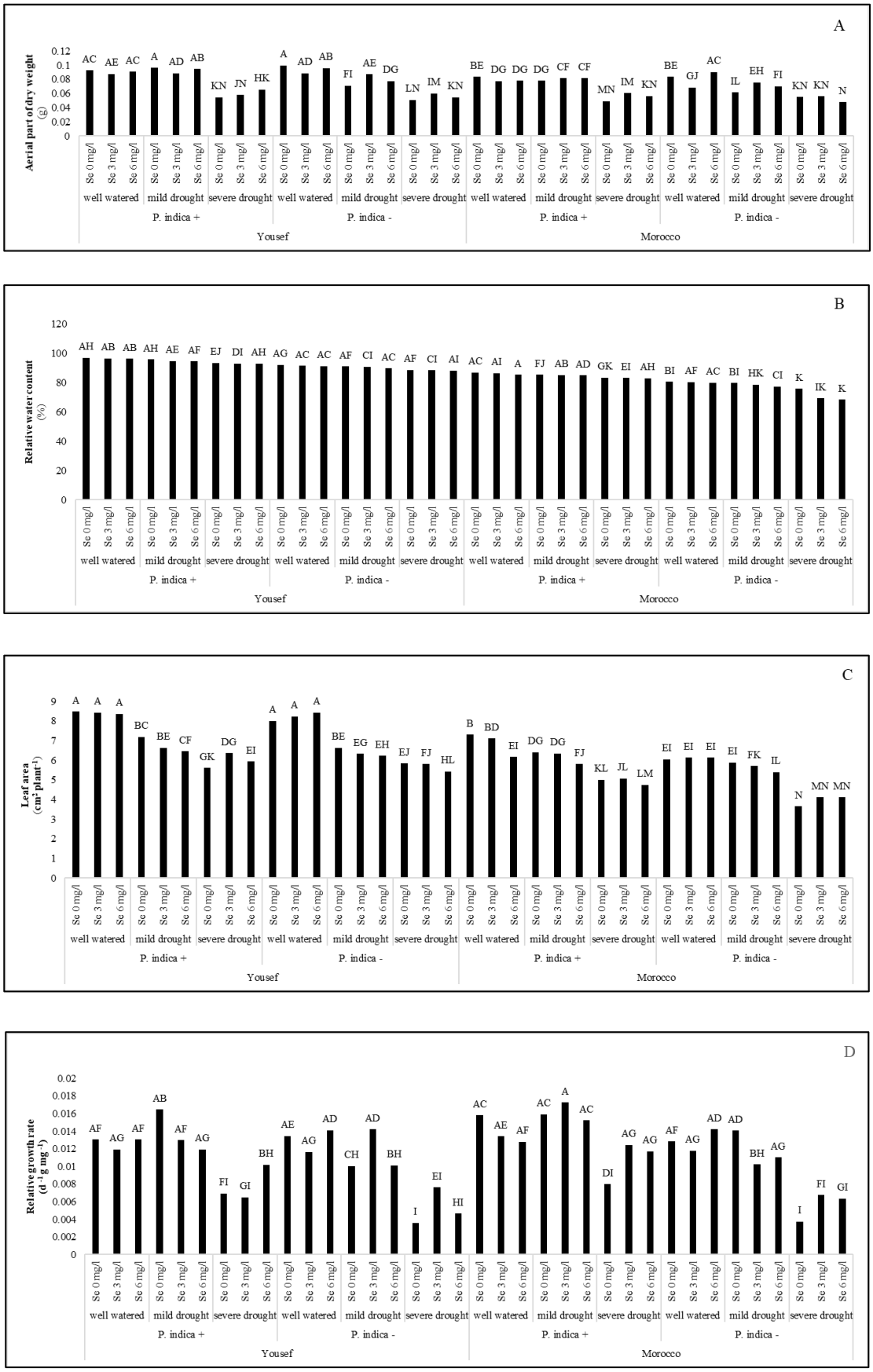
Table 1- Mean square of growth and biochemical indices in selected barley genotypes in response to selenium nanoparticle treatment and *Piriformospora indica* fungus inoculation under drought stress

	Mean square												
S.O.V	GST	SOD	MDA	H_2O_2	APX	POX	CAT	Root DW	RGR	Arial part DW	RWC	LA	df
Genotype	2.936**	0.099	20.89**	3869**	0.002**	1.025**	1.23**	31.80**	0.37*	20.96**	147.55*	45.01**	1
P. indica	33.12**	6.955**	330.8**	47103**	0.031**	3.477**	0.15	326.5**	1.70**	5.38**	357.91**	7.25**	1
Genotype × *P. indica*	1.906**	0.21**	9.648**	3.232	0.005**	0.313**	0.204	0.43	0.27*	0.04	77.90	1.53**	1
Drought	26.84**	10.37**	348.2**	150917**	0.024**	2.334**	1.34**	632.0**	4.12**	95.24**	1248.91**	45.91**	2
Genotype × Drought	2.082**	0.239**	0.159	1879**	0.002**	0.898**	0.876**	14.71**	0.02	2.18	24.08	3.22**	2
P. indica × Drought	3.986**	0.265**	27.44**	16901**	0.002**	1.074**	0.144	69.29**	0.32*	5.53**	27.96	0.09	2
Genotype × *P. indica* × Drought	1.384**	0.045	3.038	5.269	0.004**	0.267**	0.156	7.67**	0.01	0.24	14.24	0.18	2
SeNPs	8.051**	3.469**	32.45**	8297**	0.048**	0.455**	0.978**	0.27	0.01	0.46	510.91**	0.73*	2
Genotype × SeNPs	0.151	0.04	2.566	245.06	0.0003	0.099**	0.563*	0.46	0.02	0.01*	12.91	0.11	2
P. indica × SeNPs	0.405*	0.094	16.51**	1090**	0.044**	0.405**	0.031	0.27	0.02	0.17	2.58	0.36	2
Genotype × *P. indica* × SeNPs	0.045	0.12*	2.889	241.609	0.0002	0.082*	0.111	0.53	0.21*	0.96	1.67	0.23	2
Drought × SeNPs	0.213	0.601**	7.926**	8047**	0.014**	0.053*	1.98**	0.87	0.26**	2.59**	65.31	0.35	4
Genotype × Drought × SeNPs	0.084	0.008	0.513	361.59*	0.001**	0.084**	0.202	0.29	0.04	0.50	45.26	0.21	4
P. indica × Drought × SeNPs	0.51**	0.075	2.348	970.2**	0.012**	0.023	0.198	0.31	0.06	2.19**	159.51**	0.17	4
Drought × *P. indica* × Genotype × SeNPs	0.13	0.036	0.441	237.486	0.0001	0.111**	0.187	0.39	0.12	0.26	63.33	0.18	4
Error	0.109	0.034	1.198	113.63	0.0002	0.02	0.134	1.58	0.07	0.48	34.28	0.17	72
CV	16.09	23.4	20.5	18.9	22.45	29	26	15.30	23.00	9.34	6.76	6.48	

Significant at 0.01, *Significant at 0.05 ** df: degree of freedom; SOV: source of variation

** و * به ترتیب معنی‌داری در سطح یک و پنج درصد است.

سطح برگ: کاهش سطح برگ یک پاسخ سازشی اولیه به کمبود آب است و کمک می‌کند گیاه آب کم‌تری را از راه تعرق از دست بدهد [34]. تجزیه واریانس و سطح معنی‌دار بودن میانگین مربعات تکرار و تیمارها حاکی از معنی‌دار بودن اثر تنش خشکی در کاهش سطح برگ بود. به طوری که در تنش شدید (۱۰ درصد ظرفیت زراعی)، این کاهش در هر دو ژنوتیپ نسبت به تیمارهای آبیاری بهینه (۷۰ درصد ظرفیت زارعی) و تنش ملایم (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) به طور معنی‌داری (در سطح ۱ درصد) بیش‌تر بود. در مقایسه ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم مشخص شد که اگرچه در شرایط آبیاری بهینه تفاوت معنی‌داری میان دو ژنوتیپ مشاهده نشد، در تنش خشکی به ویژه خشکی شدید سطح برگ در ژنوتیپ حساس به طور معنی‌داری نسبت به ژنوتیپ مقاوم کاهش یافت. جدول تجزیه واریانس در مورد شاخص سطح برگ نشان داد که تلقیح قارچ *Piriformospora indica* سبب اثر معنی‌داری در سطح ۱ درصد شد (**جدول ۱**). تلقیح قارچ سبب افزایش معنی‌دار سطح برگ به ویژه در تنش خشکی شد. اثر نانوذره سلنیوم نیز به ویژه در تنش خشکی شدید و غلظت بالای نانوذره (۶ میلی‌گرم در لیتر) سبب افزایش معنی‌دار سطح برگ (در سطح ۵ درصد) شد (**شکل ۲-D**). افزایش سطح برگ در ژنوتیپ حساس مشخص‌تر بود و نشان داد که نانوذره سبب حمایت این ژنوتیپ در شرایط تنش خشکی شده‌است. سطح کل برگ گیاه پس از بلوغ تمام برگ‌های گیاه ثابت باقی نمی‌ماند. اگر یک گیاه پس از این که سطح برگی قابل توجهی به دست آورد تحت تنش آبی قرار گیرد، برگ‌ها دچار پیری شده و در نهایت می‌ریزند. چنین تنظیمی در سطح برگ یک تغییر بلند مدت است که تطابق گیاه با محیط کم آب را بهبود می‌بخشد. کاهش میزان آب گیاه سبب چروکیدگی سلول و سست‌شدن دیواره سلولی می‌شود. با افزایش تلفات آب و انقباض سلول‌ها، غلظت شیره سلولی افزایش یافته و غشای پلاسمایی چون سطح کم‌تری را نسبت به قبل پوشش می‌دهد، ضخیم‌تر و فشرده‌تر می‌شود. به طور کلی، تنش خشکی با ممانعت از رشد و توسعه سلولی سبب کاهش توسعه برگ‌ها می‌شود و این امر موجب کاهش تعرق و جذب کم‌تر آب از خاک می‌شود. در نتیجه، مقداری آب جهت استفاده در یک دوره طولانی‌تر در خاک نگهداری می‌شود. از این رو، محدودیت سطح برگ می‌تواند یکی از اولین پاسخ‌های دفاعی گیاه جهت مقابله با خشکی باشد [35]. اگر چه کاهش سطح برگ با افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های غیرزیستی همراه است، لیکن سبب کاهش رشد نیز می‌شود. بنابراین به نظر می‌رسد تیمار نانوذره و تلقیح قارچ با سازوکارهای فیزیولوژیکی مقتضی، سبب افزایش مقاومت گیاه به تنش خشکی شده و تا حدی نیاز آن به کاهش سطح برگ را مرتفع می‌سازند. کاهش سطح برگ در اثر تنش خشکی با نتایج پژوهش انجام شده توسط Zhang و همکاران (۲۰۱۷) در گیاه تمشک (*Rubus fruticus* L.) همخوانی دارد [36].



شکل ۲- اثر تنش خشکی ملایم (۳۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش خشکی شدید (۱۰درصد ظرفیت زراعی)، نانوذره سلنیوم (Se) و قارچ *Piriformospora indica* بر محتوای نسبی آب برگ (A)، وزن خشک بخش هوایی (B)، سرعت رشد نسبی (C) و سطح برگ (D) در ژنوتیپ‌های مقاوم (یوسف) و حساس (موروکو) جو

Figure 2- Effect of mild (30% FC), severe (10% FC) water stress, selenium nanoparticle (Se) and *Piriformospora indica* fungus on relative water content (A), dry weight of aerial part (B), relative growth rate (C) and leaf area (D) in resistant (Yousef) and sensitive (Morocco) genotypes of barley

وزن خشک ریشه

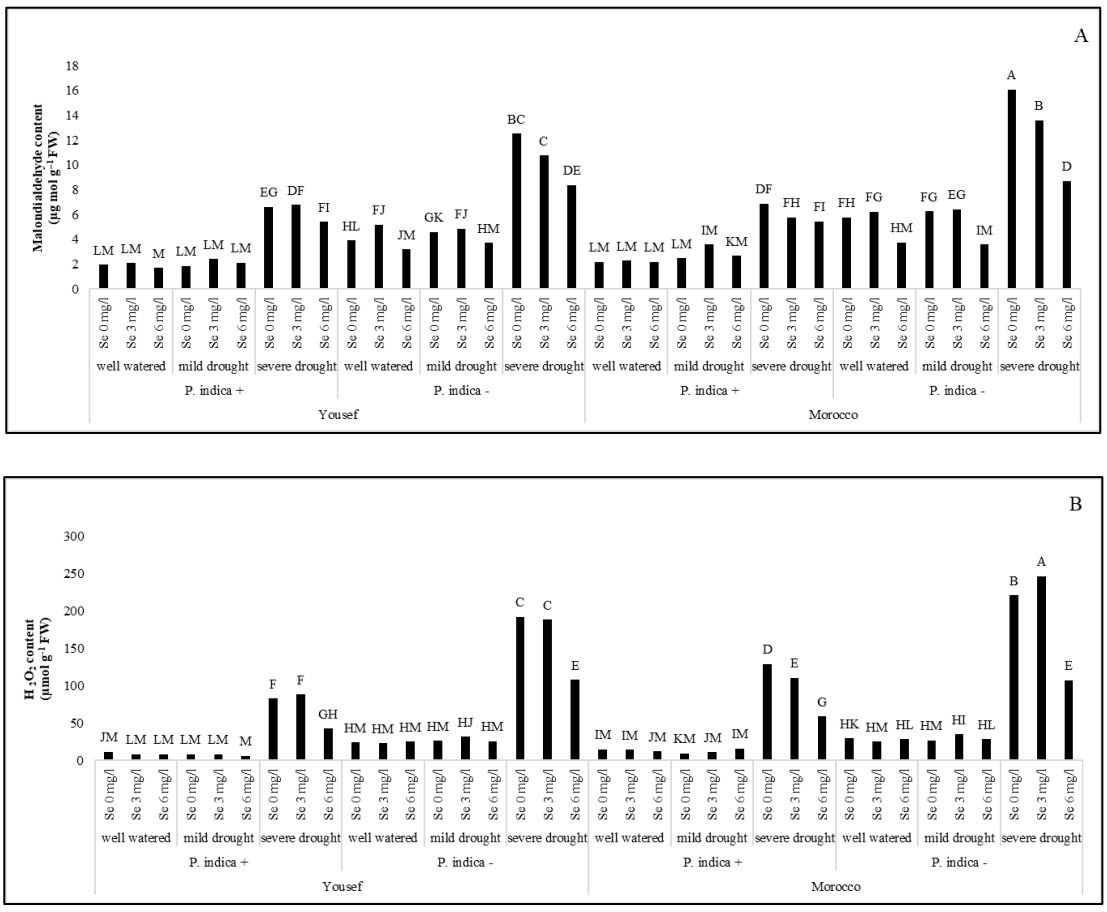
تجزیه واریانس وزن خشک ریشه حاکی از معنی‌دار بودن (در سطح ۱ درصد) اثر تنش خشکی در وزن خشک ریشه بود (**جدول ۱**). در شرایط تنش خشکی هر دو ژنوتیپ به ویژه ژنوتیپ مقاوم، به طور معنی‌داری دارای وزن خشک ریشه بیشتری در تنش خشکی بود. افزایش سطح ریشه یکی از راهکارهای گیاه برای جذب آب و املاح بیش‌تر در تنش‌های غیرزیستی به ویژه تنش خشکی محسوب می‌شود [34]. در مورد اثر قارچ *Piriformospora indica* در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه جو، مشاهده شد که قارچ مذکور در هر دو ژنوتیپ و در تمام شرایط آبیاری، سبب افزایش وزن خشک ریشه شد. به نظر می‌رسد این قارچ با افزایش جذب آب و املاح سبب افزایش رشد ریشه شده‌است. تحلیل داده‌ها نشان داد که هیچ یک از غلظت‌های نانوذره سلنیوم اثر معنی‌داری بر وزن خشک ریشه در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نداشت که دلیل آن ممکن است به نحوه تیمار نانوذره (کاربرد برگی) مربوط باشد (**شکل ۳-A**). Neysanian و همکاران (۲۰۲۳) مشاهده نمودند که استفاده از نانوذرات سلنیوم سبب افزایش شاخص‌های رشدی گوجه گیلاسی (*Solanum lycopersicum* L. var. *cerasiforme*) شامل وزن تر، طول ساقه و طول ریشه در شرایط تنش خشکی گردید [37]. در توت فرنگی، اسپری برگی نانوذرات سلنیوم سبب افزایش هورمون اکسین، وزن تر ریشه و متعاقباً بهبود عملکرد گیاه با جذب آب و مواد مغذی شد [38]. به نظر می‌رسد تلقیح قارچ *Piriformospora indica* با القای تقسیمات یاخته‌های ریشه و ساخت کانال‌های aquaporin و ناقل‌های یون‌ها، با جذب آب و مواد معدنی سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه و در نتیجه کاهش نسبت وزن خشک بخش هوایی به ریشه می‌گردد [39]. همچنین استفاده از سلنیوم در گندم سبب افزایش شاخص‌های رشدی شامل سطح برگ، محتوای نسبی آب برگ و سرعت رشد نسبی در شرایط تنش خشکی شد [40]. این یافته‌ها همگی همسو با نتایج مطالعه حاضر بود.

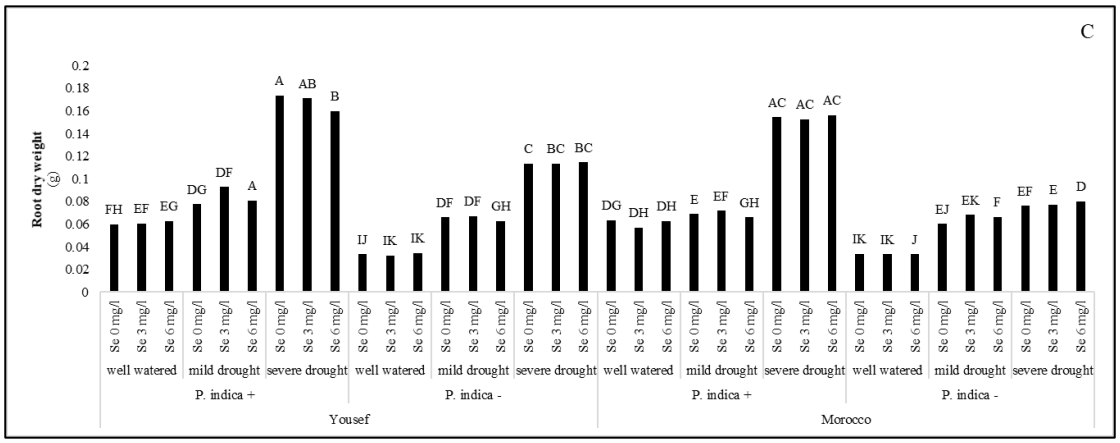
محتوای پراکسید هیدروژن (H_2O_2)

پراکسید هیدروژن یکی از پایدارترین تولیدات میانی احیای اکسیژن است که ممکن است به طور مستقیم از احیای دو ظرفیتی اکسیژن و یا احیای یک ظرفیتی آنیون سوپراکسید به وسیله سوپراکسید دیسموتاز تولید شود. پراکسید هیدروژن از فعالیت واکنش محدودی برخوردار است و نیمه عمری حدود یک میلی ثانیه دارد. پراکسید هیدروژن یک رادیکال آزاد نیست، اما در واکنش‌های اکسیداسیون احیا در بسیاری از واکنش‌های سلولی مشارکت دارد. برخلاف رادیکال سوپراکسید، دارای قابلیت انتشار زیادی از طریق غشاها و محیط‌های آبی است. تولید این رادیکال در کلروپلاست، میتوکندری و بافت‌های یکنواخت در بخش‌های زنده صورت می‌گیرد [41]. جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل میان ژنوتیپ و آبیاری، قارچ و آبیاری، قارچ و نانوذره و آبیاری و نانوذره نیز همگی در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (**جدول ۱**). اثر متقابل سه‌گانه ژنوتیپ، قارچ و آبیاری در سطح ۵ درصد و اثر متقابل سه‌گانه قارچ، آبیاری و نانوذره در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. تنش خشکی شدید در هر دو ژنوتیپ، سبب افزایش محتوای پراکسید هیدروژن به ویژه در ژنوتیپ حساس تا ۱۰ برابر شد. در مقایسه ژنوتیپ‌های تنش‌دیده و تلقیح‌شده با قارچ *Piriformospora indica* با شرایط یکسان اما بدون تلقیح، مشاهده شد که این افزایش تا ۴۲ درصد کم‌تر بود. به عبارت دیگر تلقیح قارچ سبب حفظ حالت پایدار گیاهان مورد مطالعه در شرایط تنش شدید خشکی و نزدیک شدن شرایط فیزیولوژیک آن‌ها به آبیاری بهینه شد. اگرچه نانوذره سلنیوم در غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری ایجاد نکرد، اما در غلظت ۶ میلی‌گرم در لیتر سبب کاهش معنی‌دار محتوای پراکسید هیدروژن در هر دو ژنوتیپ و در تمام شرایط آبیاری به ویژه تنش شدید خشکی شد (**شکل ۳-B**). مقایسه میانگین مربعات تیمارها نشان داد که کاربرد همزمان نانوذره سلنیوم و تلقیح قارچ *Piriformospora indica* سبب اثر هم‌افزایی در کاهش معنی‌دار محتوای پراکسید هیدروژن گردید. با توجه به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو (کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز) که سبب تجزیه پراکسید هیدروژن می‌شوند، به نظر می‌رسد افزایش فعالیت آنزیم‌های مذکور سبب کاهش محتوای پراکسید هیدروژن در گیاهان جو مورد مطالعه شده‌است. نتایج به دست آمده با مطالعات صورت گرفته اثر تنش خشکی و قارچ *Piriformospora indica* روی گیاه جو در سال ۲۰۲۲ مطابقت دارد [42]. اثر متقابل چهارگانه ژنوتیپ، آبیاری، تیمار نانوذره و تلقیح قارچ بر محتوای پراکسید هیدروژن معنی‌دار نبود.

محتوای مالون‌دی‌آلدئید (MDA)

مالون‌دی‌آلدئید یک ترکیب آلی با فرمول شیمیایی $CH_2(CHO)_2$ است. مالون‌دی‌آلدئید یک ترکیب بسیار واکنش‌پذیر است که به‌صورت انول وجود دارد. این ماده به‌طور طبیعی شکل می‌گیرد و نشانگر تنش اکسیداتیو است [43]. تنش خشکی با افزایش محتوای رادیکال‌های آزاد اکسیژن، سبب افزایش محتوای مالون‌دی‌آلدئید، که محصول پراکسیداسیون چربی‌های غشاء است، می‌شود [44]. تخریب غشاهای سلولی تحت تأثیر تنش‌های غیر زیستی و تولید مالون‌دی‌آلدئید برگ که ناشی از تخریب و تجزیه چربی‌های غشاهای سلولی است می‌تواند به عنوان یک معیار مناسب جهت بررسی واکنش گیاه به تنش مورد ارزیابی قرار گیرد [45]. جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل ژنوتیپ و قارچ، قارچ و آبیاری، قارچ و نانوذره، و آبیاری و نانوذره نیز همگی در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل سه‌گانه ژنوتیپ، قارچ و آبیاری و اثر متقابل سه‌گانه قارچ، آبیاری و نانوذره نیز در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (**جدول ۱**). تنش خشکی شدید در هر دو ژنوتیپ سبب افزایش شدید غلظت مالون‌دی‌آلدئید در هر دو ژنوتیپ به ویژه ژنوتیپ حساس شد. در مقایسه ژنوتیپ‌های تنش‌دیده و تلقیح شده با قارچ *Piriformospora indica* با شرایط یکسان اما بدون تلقیح، مشاهده شد که این افزایش در هر دو ژنوتیپ تا ۶۳ درصد کم‌تر بود. به عبارت دیگر تلقیح قارچ سبب حفظ حالت پایدار گیاهان مورد مطالعه در شرایط تنش شدید خشکی و نزدیک‌شدن شرایط فیزیولوژیک آن‌ها به آبیاری بهینه شد. اگرچه نانوذره سلنیوم در غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری ایجاد نکرد، اما در غلظت ۶ میلی‌گرم در لیتر باعث کاهش معنی‌دار محتوای مالون‌دی‌آلدئید در هر دو ژنوتیپ و در تمام شرایط آبیاری به ویژه تنش شدید خشکی شد (**شکل ۳-C**). کاربرد همزمان نانوذره سلنیوم و تلقیح قارچ *Piriformospora indica*، باعث هم‌افزایی در کاهش معنی‌دار محتوای مالون‌دی‌آلدئید شد. با توجه به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون S-ترانسفراز و آسکوربات پراکسیداز) که سبب تجزیه گونه‌های آزاد اکسیژن می‌شوند، به نظر می‌رسد افزایش فعالیت آنزیم‌های مذکور سبب کاهش گونه‌های آزاد اکسیژن و در نتیجه کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدئید در ژنوتیپ‌های جو مورد مطالعه شده‌است. اثر متقابل چهارگانه ژنوتیپ، آبیاری، تیمار نانوذره و تلقیح قارچ در محتوای مالون‌دی‌آلدئید معنی‌دار نبود.





شکل ۳- اثر تنش خشکی ملایم (۳۰درصد ظرفیت زراعی)، تنش خشکی شدید (۱۰درصد ظرفیت زراعی)، نانوذره سلنیوم (Se) و قارچ *Piriformospora indica* بر وزن خشک ریشه (A)، محتوای پراکسید هیدروژن (B) و محتوای مالون‌دی‌آلدئید (C) در ژنوتیپ‌های مقاوم (یوسف) و حساس (موروکو) جو

Figure 3- Effect of mild (30% FC), severe (10% FC) water stress, selenium nanoparticle (Se) and *Piriformospora indica* fungus on root dry weight (A), hydrogen peroxide content (B) and malondialdehyde content (C) in resistant (Yousef) and sensitive (Morocco) genotypes of barley

فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده

کاتالاز (CAT): کاتالاز آنزیمی است که پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تجزیه می‌کند. این آنزیم از نظر عملکرد مشابه پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز است، اما ویژگی مهم آن فعالیت آن در پراکسی‌زوم است [41]. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنش خشکی سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در دو ژنوتیپ شده و این افزایش در تنش خشکی به طور معنی‌داری (در سطح ۱ درصد) بالاتر بود (**جدول ۱**). در شرایط آبیاری مطلوب، اختلاف معنی‌داری میان دو ژنوتیپ وجود نداشت، اما در تنش خشکی به ویژه خشکی شدید، فعالیت آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ مقاوم به طور معنی‌داری (در سطح ۱ درصد) بالاتر بود که این می‌تواند یکی از دلایل کم‌تر بودن میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن و تخریب غشاء در این ژنوتیپ در شرایط تنش خشکی باشد. تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تلقیح قارچ *Piriformospora indica* در هیچ یک از سطوح آبیاری و هیچ یک از ژنوتیپ‌ها، اختلاف معنی‌داری در فعالیت آنزیم کاتالاز ایجاد نکرد. اما تیمار نانوذره سلنیوم به ویژه غلظت ۶ میلی‌گرم در لیتر، سبب افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم، به ویژه در ژنوتیپ حساس شد. به طوری که تا بیش از ۴۰۰ درصد افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شرایط بدون تیمار نانوذره مشاهده گردید (**شکل ۴-A**). اثر متقابل چهارگانه ژنوتیپ، آبیاری، تیمار نانوذره و تلقیح قارچ در فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار نبود.

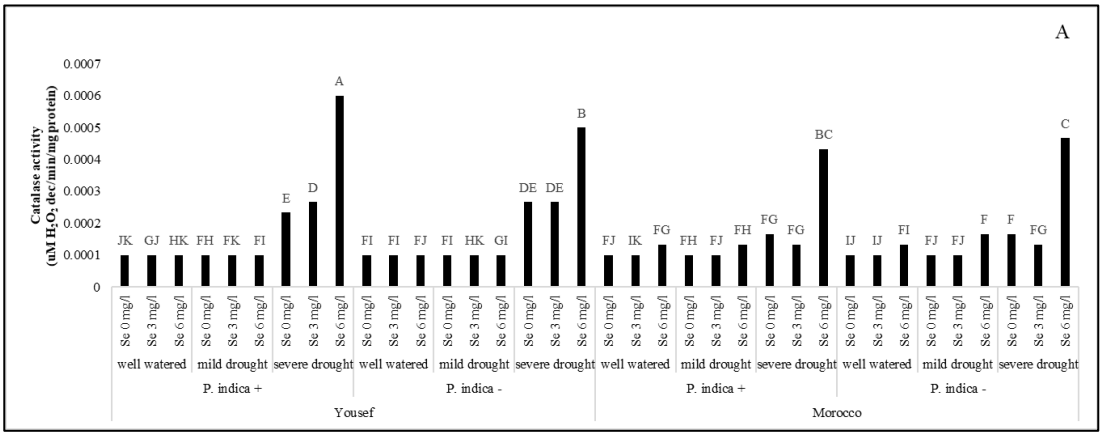
آسکوربات پراکسیداز (APX): جدول تجزیه واریانس اثر تیمارها در فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نشان داد که تنش خشکی، ژنوتیپ‌ها، تیمار نانوذره و تلقیح قارچ شبه میکوریز *Piriformospora indica* همگی در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. اما اثر متقابل چهارگانه ژنوتیپ، آبیاری، تیمار نانوذره و تلقیح قارچ در فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار نبود (**جدول ۱**). خشکی شدید سبب افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز شد و این افزایش در ژنوتیپ مقاوم و به ویژه در تنش خشکی شدید بیش‌تر بود. تیمار قارچ *Piriformospora indica* سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در هر دو ژنوتیپ شد. تیمار نانوذره سلنیوم به ویژه در غلظت ۶ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به ویژه در ژنوتیپ حساس شد. به طوری که تا بیش از ۳۵۰ درصد افزایش فعالیت نسبت به شرایط بدون تیمار نانوذره مشاهده گردید. بیش‌ترین نقش تیمار قارچ و نانوذره در افزایش فعالیت آنزیم در شرایطی رخ داده‌است که گیاهان مورد مطالعه تحت تنش شدید خشکی بوده‌اند. نتیجه قابل توجه اثر هم‌افزایی معنی‌دار تیمار نانوذره سلنیوم در غلظت ۶ میلی‌گرم در لیتر و تلقیح قارچ *Piriformospora indica* در شرایط تنش شدید خشکی در هر دو ژنوتیپ بود، بطوری که در ژنوتیپ حساس سبب افزایش فعالیت این آنزیم تا بیش از ۵۰۰ درصد شد (**شکل ۴-B**).

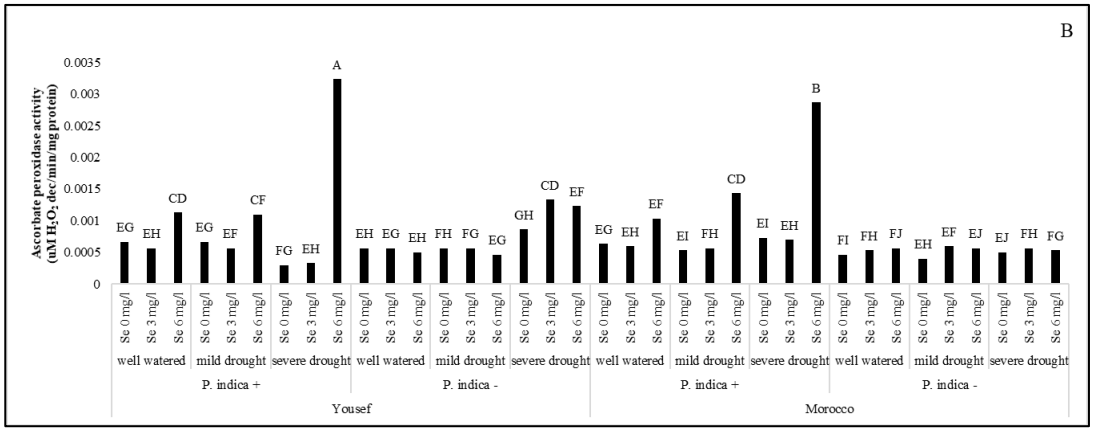
پراکسیداز (POX): آنزیم پراکسیداز تجزیه پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن را کاتالیز می‌کند. علاوه بر پاک‌سازی پراکسید هیدروژن از کلروپلاست و سیتوسل، پراکسیداز در چوبی‌شدن و استحکام دیواره سلولی، پاسخ‌های دفاعی در برابر تنش‌ها و تولید اتیلن دخالت دارد [46]. پراکسیداز را اغلب آنزیم منعکس‌کننده تنش‌های محیطی می‌دانند. همچنین شواهد نشان داده‌است که فعالیت پراکسیداز با کاهش رشد در ارتباط است، زیرا افزایش فعالیت این آنزیم تحت تنش فرایندهای چوبی‌شدن را افزایش داده و در پی آن کاهش رشد مشاهده می‌شود [41]. جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنش خشکی سبب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در دو ژنوتیپ جو شده و این افزایش در تنش خشکی به طور معنی‌داری (در سطح ۱ درصد) بالاتر بود (**جدول ۱**). در شرایط آبیاری مطلوب، اختلاف معنی‌داری میان دو ژنوتیپ وجود نداشت، اما در تنش خشکی به ویژه خشکی شدید، فعالیت آنزیم پراکسیداز در ژنوتیپ مقاوم به طور معنی‌داری (در سطح ۱ درصد) بالاتر بود که این می‌تواند یکی از دلایل کاهش میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن و تخریب غشاء در این ژنوتیپ تحت تنش خشکی باشد. تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تلقیح قارچ *Piriformospora indica* سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم پراکسیداز در هر دو ژنوتیپ شد. به ویژه این افزایش در ژنوتیپ حساس به طور معنی‌داری بالاتر بود و نسبت به عدم تلقیح قارچ تا بیش از ۴۵۰ درصد بیشتر بود. تیمار نانوذره سلنیوم به ویژه غلظت ۶ میلی‌گرم در لیتر، سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم پراکسیداز، به ویژه در ژنوتیپ حساس شد. به طوری که تا بیش از ۴۳۰ درصد افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به شرایط بدون تیمار نانوذره مشاهده گردید. بیش‌ترین اثر تلقیح قارچ و تیمار نانوذره در افزایش فعالیت آنزیم در شرایط تنش شدید خشکی بود (**شکل ۴-C**). اثر متقابل چهارگانه ژنوتیپ، آبیاری، تیمار نانوذره و تلقیح قارچ در فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار نبود.

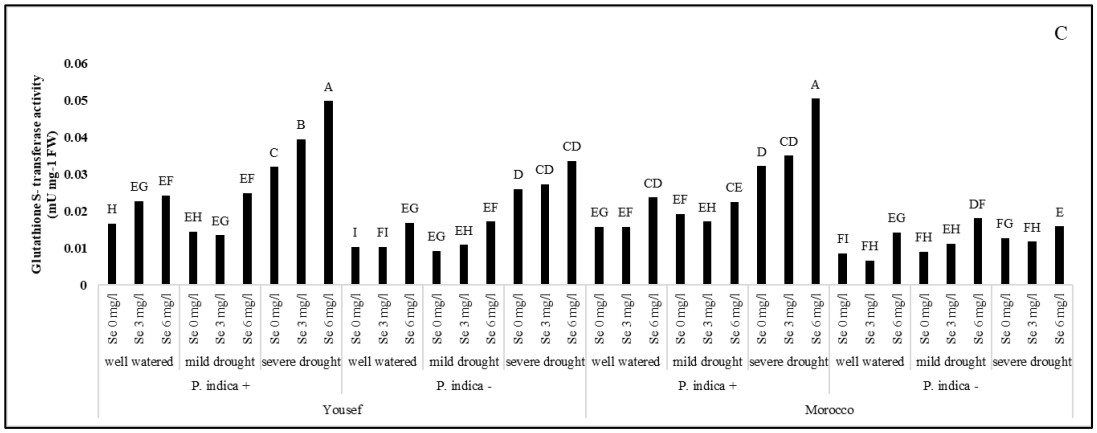
گلوتاتیون S-ترانسفراز (GST): جدول تجزیه واریانس نشان داد که علاوه بر معنی‌دار بودن اثرات ساده تیمارهای فوق در سطح ۱ درصد، اثر متقابل ژنوتیپ و قارچ، ژنوتیپ و آبیاری، قارچ و آبیاری و اثر متقابل ژنوتیپ و نانوذره نیز همگی در سطح ۱ درصد و همچنین اثر متقابل قارچ و نانوذره در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. اثرات متقابل سه‌گانه قارچ - آبیاری- نانوذره و ژنوتیپ - قارچ - آبیاری نیز در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (**جدول ۱**). تیمار نانوذره سلنیوم (۶ میلی‌گرم در لیتر)، تلقیح قارچ و آبیاری (تنش خشکی شدید)، اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون S-ترانسفراز در ژنوتیپ‌های جو مورد مطالعه داشت. همچنین در مقایسه میان ژنوتیپ‌ها مشاهده شد که در شرایط آبیاری بهینه اختلاف معنی‌داری در فعالیت آنزیم گلوتاتیون S-ترانسفراز وجود نداشت، اما در تنش خشکی به ویژه خشکی شدید افزایش فعالیت این آنزیم در ژنوتیپ مقاوم به طور معنی‌داری بیش‌تر بود. تلقیح قارچ *Piriformospora indica* سبب افزایش فعالیت این آنزیم در تنش خشکی شد و نکته قابل توجه این که تلقیح قارچ در شرایط آبیاری بهینه نیز سبب افزایش فعالیت آنزیم مذکور در هر دو ژنوتیپ گردید. نانوذره سلنیوم در غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری در فعالیت آنزیم ایجاد نکرد، اما در غلظت ۶ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون S-ترانسفراز در هر دو ژنوتیپ شد. همچنین در تیمارهای همزمان تیمار نانوذره (۶ میلی‌گرم در لیتر) و تلقیح قارچ، مشاهده شد که فعالیت آنزیم در بالاترین میزان بود که حاکی از اثر هم‌افزایی تیمارهای فوق می‌باشد (**شکل ۴-D**). با توجه به نقش گسترده گلوتاتیون S-ترانسفراز در شرایط تنش‌های غیرزیستی به ویژه مهار اثرات مخرب تنش‌های اکسیداتیو و از طرفی همبستگی منفی میان افزایش محتوای پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدئید و افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون S-ترانسفراز در تیمارهای مورد مطالعه، می‌توان نتیجه گرفت که این آنزیم در کاهش اثرات مخرب تنش خشکی به طور معنی‌داری مؤثر بوده‌است.

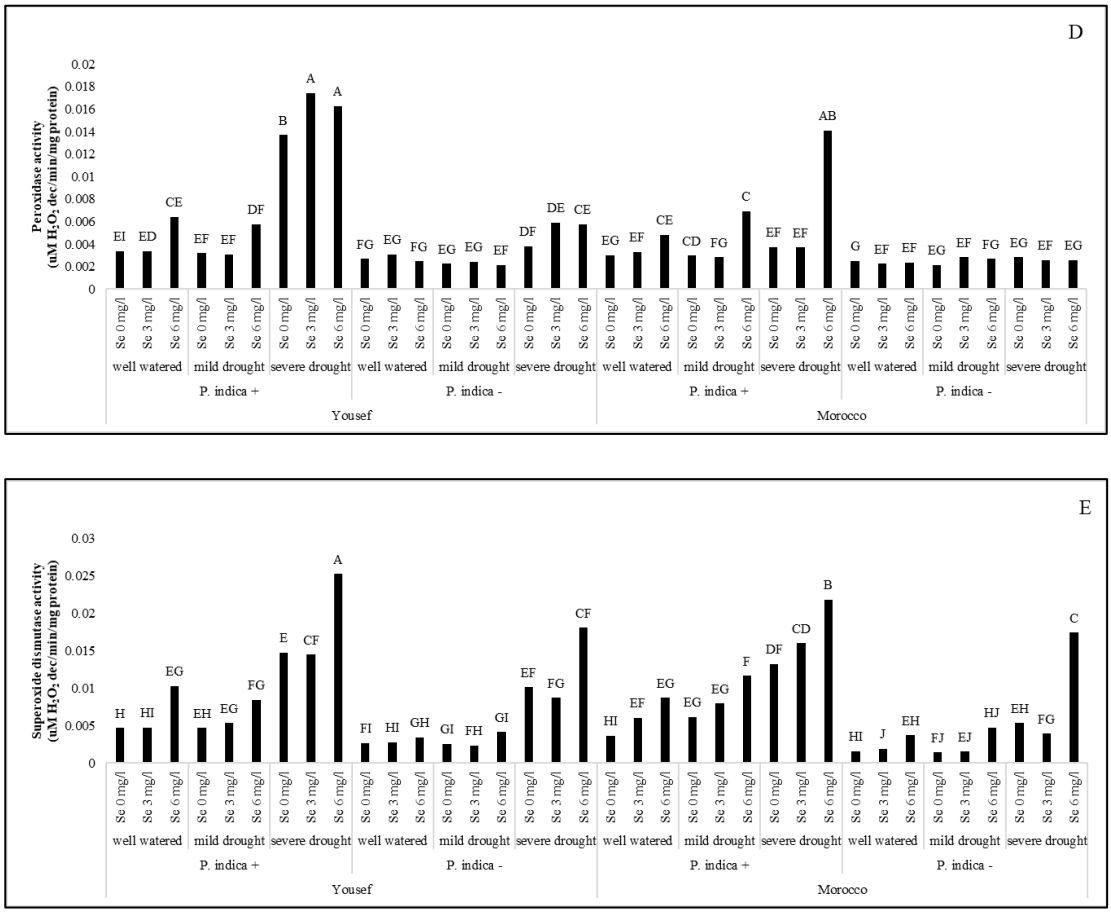
سوپراکسید دیسموتاز (SOD): سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase) آنزیمی است که واکنش گسست ناهمگن رادیکال سوپراکسید (O_2^-) به مولکول اکسیژن مولکولی (O_2) یا پراکسید هیدروژن (H_2O_2) را کاتالیز می‌کند. سوپراکسید یک محصول فرعی و ثانویه متابولیسم اکسیژن است که اگر تحت کنترل نباشد، موجب بروز انواع مختلفی از آسیب‌های سلولی می‌گردد. بنابراین سوپراکسید دیسموتاز، یکی از انواع مهم سیستم دفاعی پاداکسایندگی است و تقریباً در تمام سلول‌هایی که در معرض اکسیژن قرار دارند، وجود دارد [۴۷]. جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر قارچ، نانوذره و آبیاری در سطح ۱ درصد در هر دو ژنوتیپ معنی‌دار بوده، ولی اختلاف معنی‌داری میان ژنوتیپ‌ها در سطوح ۱ و ۵ درصد مشاهده نشد. همچنین اثرات متقابل نانوذره و آبیاری و همچنین نانوذره و قارچ نیز به ترتیب در سطوح ۱ و ۵ درصد معنی‌دار بود (**جدول ۱**). تنش خشکی، به ویژه خشکی شدید، سبب بالا رفتن فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در هر دو ژنوتیپ شد، حال آن که تفاوت معنی‌داری میان دو ژنوتیپ وجود نداشت. تلقیح قارچ *Piriformospora indica* سبب افزایش بیش‌تر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به ویژه در خشکی شدید شد، به طوری که فعالیت

آنزیم تا ۳۰۰ درصد افزایش یافت. تیمار نانوذره سلنیوم (۶ میلی‌گرم در لیتر) نیز سبب افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تمام شرایط آبیاری شد. از سوی دیگر تیمار همزمان نانوذره سلنیوم در غلظت ۶ میلی‌گرم در لیتر و تلقیح قارچ *Piriformospora indica*، سبب بیش‌ترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در هر دو ژنوتیپ شد (**شکل ۴-E**). ارزیابی محتوای مالون‌دی‌آلدئید نشان داد که با افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، محتوای مالون‌دی‌آلدئید کاهش یافت و یک همبستگی منفی میان این دو پارامتر وجود داشت. از آنجا که رادیکال سوپراکسید (O_2^-) بسیار واکنش‌زا بوده و سبب پراکسیداسیون غشاء می‌شود، می‌توان نتیجه گرفت که آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با حذف رادیکال سوپراکسید در کاهش غلظت مالون‌دی‌آلدئید به عنوان یک شاخص تخریب غشاء مؤثر بوده‌است. نتایج حاصل همسو با نتایج بدست آمده از مطالعه اثر تنش خشکی و قارچ *Piriformospora indica* در گیاه جو توسط Bonab و همکاران (۲۰۲۲) بود [42].









شکل ۴- اثر تنش خشکی ملایم (۳۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش خشکی شدید (۱۰ درصد ظرفیت زراعی)، نانوذره سلنیوم (Se) و قارچ *Piriformospora indica* بر فعالیت آنزیم کاتالاز (A)، آسکوربات پراکسیداز (B)، پراکسیداز (C)، گلوتاتیون S-ترانسفراز (D) و سوپراکسید دیسموتاز (E) در ژنوتیپ‌های مقاوم (یوسف) و حساس (موروکو) جو

Figure 4- Effect of mild (30 % FC), severe (10 % FC) water stress, selenium nanoparticle (Se) and *Piriformospora indica* fungus on catalase (A), ascorbate peroxidase (B), peroxidase (C), Glutathione S- transferase (D) and Superoxide dismutase (D) enzyme activity in resistant (Yousef) and sensitive (Morocco) genotypes of barley

نتیجه‌گیری

یکی از آثار زیانبار جانبی تنش خشکی، تنش اکسیداتیو است که با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن از جمله آنیون‌های سوپراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل سبب پراکسیداسیون غشاء سلولی شده و آسیب‌های سلولی مختلفی را در پی دارد. تنش خشکی با افزایش محتوای رادیکال‌های آزاد اکسیژن، سبب افزایش محتوای مالون‌دی‌آلدئید بعنوان محصول پراکسیداسیون چربی‌های غشاء، می‌شود. تخریب غشاهای سلولی تحت تأثیر تنش‌های غیرزیستی و تولید مالون‌دی‌آلدئید که ناشی از تخریب و تجزیه چربی‌های غشاهای سلولی است، یک معیار مناسب جهت بررسی واکنش گیاه نسبت به تنش است. این وضعیت در ژنوتیپ حساس جو به ویژه در تنش شدید خشکی به طور معنی‌داری بالاتر بود. نتایج حاصل از این پژوهش حاکی از آن است که تیمار نانوذره سلنیوم و تلقیح قارچ شبه مایکوریز *Piriformospora indica* هر یک با سازوکار خاص خود، سبب مهار تولید گونه‌های آزاد اکسیژن می‌گردد. سوپراکسید دیسموتاز تجزیه رادیکال سوپراکسید به مولکول اکسیژن مولکولی یا پراکسید هیدروژن را کاتالیز نموده و سایر آنزیم‌های پاداکسایندگی مورد مطالعه مانند کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز نیز با تجزیه پراکسید هیدروژن تولید شده توسط سوپراکسید دیسموتاز، سبب تجزیه گونه‌های آزاد اکسیژن می‌گردند. همچنین نتایج نشان داد که تیمار نانوذره سلنیوم و تلقیح قارچ شبه مایکوریز *Piriformospora indica*، سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های مذکور شده و میزان گونه‌های آزاد اکسیژن به طور معنی‌داری کاهش یافت. در نتیجه به نظر می‌رسد الیسیتورهای مذکور، محتوای مالون‌دی‌آلدئید که محصول پراکسیداسیون چربی‌های غشاء است، را نیز به طور معنی‌دار کاهش دادند. مطالعات Wang و همکاران بر روی ژنوتیپ‌های گیاه یونجه (۲۰۰۹) نشان داد که فعالیت آنزیم‌های پاد اکساینده (کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز) در ژنوتیپ‌های مقاوم یونجه، به طور معنی‌داری بیش‌تر از ژنوتیپ‌های حساس بود و هنگامی که گیاهان مورد مطالعه در معرض تنش‌های شوری و خشکی قرار گرفتند،

افزایش آنزیم‌های پاد اکسایندہ مذکور در ژنوتیپ‌های مقاوم به طور معنی‌داری بیش‌تر از ژنوتیپ‌های حساس بود که کاملاً همسو با نتایج این پژوهش است [48]. بعلاوه پژوهش حاضر نشان داد که استفاده از نانوذرات سلنیوم و تلقیح قارچ *Piriformospora indica* سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های پاد اکسایندہ در هر دو ژنوتیپ به ویژه ژنوتیپ حساس شد. به عبارت دیگر استفاده از نانوذره و قارچ مذکور سبب کاهش حساسیت ژنوتیپ‌های حساس در شرایط تنش خشکی نسبت به ژنوتیپ مقاوم شد. در مطالعه‌ای که توسط Xu و همکاران (۲۰۱۷) بر روی اثر خشکی بر گیاه ذرت انجام شد، مشاهده گردید که تنش خشکی سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های پاد اکسایندہ (کاتالاز، پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز) و محتوای مالون‌دی‌آلدئید گردید [49].

اعلام تعارض منافع

در مقاله ارائه شده به طور کامل از اخلاق نشر، از جمله سرقت ادبی، سوء رفتار، جعل داده‌ها و یا ارسال و انتشار دوگانه پرهیز شده است و منافع تجاری در این راستا وجود ندارد.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی دانشکده علوم پایه دانشگاه بوعلی سینا همدان انجام شده است.

منابع

[1] Parkash, V. & Singh, S. (2020). A review on potential plant-based water stress indicators for vegetable crops. *Sustainability 12* (10), 3945.

[2] Fazeli, F., Ghorbanli, M. & Niknam, V. (2007). Effect of drought on biomass, protein content, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in two sesame cultivars. *Biologia Plantarum 51*, 98-103

[3] Pazirandeh, M., Hasanloo, T., Niknam, V., Shahbazi, M., Mabood, H. & Ghaffari, A. (2013). Effects of drought and methyl jasmonate on antioxidant activities of selected barley genotypes. *Journal of Agrobiology, 30* (2), 71-82.

[4] Mohanraj, V. & Chen, Y. (2006). Nanoparticles-a review. *Tropical journal of pharmaceutical research, 5* (1), 561-573.

[5] Zhou, X., Yang, J., Kronzucker, H.J. & Shi, W. (2020). Selenium biofortification and interaction with other elements in plants: a review. *Frontiers in Plant Science, 11*, 586421

[6] Rios, J.J., Blasco, B., Rosales, M.A., Sanchez-Rodriguez, E., Leyva, R., Cervilla, L.M., Romero, L. & Ruiz, J.M. (2010). Response of nitrogen metabolism in lettuce plants subjected to different doses and forms of selenium. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 90* (11), 1914-1919.

[7] DeRosa, M.C., Monreal, C., Schnitzer, M., Walsh, R. & Sultan, Y. (2010). Nanotechnology in fertilizers. *Nature nanotechnology, 5* (2), 91-91.

[8] Djanaguiraman, M., Prasad, P.V. & Seppanen, M, (2010). Selenium protects sorghum leaves from oxidative damage under high temperature stress by enhancing antioxidant defense system. *Plant Physiology and Biochemistry, 48* (12), 999-1007.

[9] Ahmadi, A. & Siosemardeh, A. (2005). Investigation on the physiological basis of grain yield and drought resistance in wheat: leaf photosynthetic rate, stomatal conductance, and non-stomatal limitations. *International journal of agriculture and biology, 7* (5), 807-811.

[10] Khan, Z., Thounaojam, T.C., Chowdhury, D. & Upadhyaya, H. (2023). The role of selenium and nano selenium on physiological responses in plant: a review. *Plant Growth Regulation*, 1-25.

[11] Shrivastava, S. & Varma, A. (2014). From Piriformospora indica to rootonic: a review. *Afr J Microbiol Res, 8* (32), 2984-2992.

[12] Devi, R., Verma, R., Dhalaria, R., Kumar, A., Kumar, D., Puri, S., Thakur, M., Chauhan, S., Chauhan, P.P. & Nepovimova, E. (2023). A systematic review on endophytic fungi and its role in the commercial applications. *Planta, 257* (4), 70.

[13] Zheng, J., Xie, X., Li, C., Wang, H., Yu, Y. & Huang, B. (2023). Regulation mechanism of plant response to heavy metal stress mediated by endophytic fungi. *International Journal of Phytoremediation*, 1-18.

[14] Yaghoubian, Y., Goltapeh, E.M., Pirdashti, H., Esfandiari, E., Feiziasl, V., Dolatabadi, H.K., Varma, A. & Hassim, M.H. (2014). Effect of *Glomus* mosseae and *Piriformospora indica* on growth and antioxidant defense responses of wheat plants under drought stress. *Agricultural Research, 3*, 239-245.

[15] Bajaj, R., Hu, W., Huang, Y., Chen, S., Prasad, R., Varma, A. & Bushley, K.E. (2015) The beneficial root endophyte *Piriformospora indica* reduces egg density of the soybean cyst nematode. *Biological control, 90*, 193-199

[16] Sedaghatkish, A., Gossen, B.D. & McDonald, M.R. (2020). Seed treatment of canola (*Brassica napus*) with the endomycorrhizal fungus *Piriformospora indica* does not reduce clubroot. *Canadian Journal of Plant Science, 101* (3), 408-411.

[17] Ceccarelli, S. & Grando, S. (2007). Decentralized-participatory plant breeding: an example of demand driven research. *Euphytica, 155*, 349-360.

[18] Ghahremaninejad, F., Hoseini, E. & Jalali, S. (2021). The cultivation and domestication of wheat and barley in Iran, brief review of a long history. *The Botanical Review, 87* (1), 1-22.

[19] Gonzalez, W., Dal Lago, A., Clua de Gonzalez, A., Vieira, L. & Tsurutani, B. (2004). Prediction of peak-Dst from halo CME/magnetic cloud-speed observations. *Journal of Atmospheric and Solar-Terrestrial Physics, 66* (2), 161-165.

[20] Zhu, B., Choi, D.W., Fenton, R. & Close, T. (2000). Expression of the barley dehydrin multigene family and the development of freezing tolerance. *Molecular and General Genetics MGG, 264* (1), 145-153.

[21] Kormanik, P.P. (1982). Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots. *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*, 37-46.

[22] Dhanda, S. & Sethi, G. (1998). Inheritance of excised-leaf water loss and relative water content in bread wheat (*Triticum aestivum*). *Euphytica, 104* (1), 39-47.

[23] Poorter, H. & Remkes, C. (1990). Leaf area ratio and net assimilation rate of 24 wild species differing in relative growth rate. *Oecologia, 83* (4), 553-559.

[24] Johnson, D.A. & Wilcoxson, R. (1978). Components of slow-rusting in barley infected with *Puccinia hordei*. *Phytopathology, 68*, 1470-1474.

[25] Loreto, F. & Velikova, V. (2001). Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. *Plant Physiology, 127* (4), 1781-1787.

[26] Stewart, R.R.C. & Bewley, J.D. (1980). Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiology, 65* (2), 245.

[27] Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry, 72* (1), 248-254.

[28] Chaoui, A., Mazhoudi, S., Ghorbal, M.H. & El Ferjani, E. (1997) Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Science, 127* (2), 139-147.

[29] Nakano, Y. & Asada, K. (1987). Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant and Cell Physiology, 28* (1), 131.

[30] Abeles, F.B. & Biles, C.L. (1991). Characterization of peroxidases in lignifying peach fruit endocarp. *Plant Physiology, 95* (1), 269.

[31] Carmagnol, F., Sinet, P.M., Rapin, J. & Jerome, H. (1981). Glutathione-S-transferase of human red blood cells; assay, values in normal subjects and in two pathological circumstances: hyperbilirubinemia and impaired renal function. *Clinica Chimica Acta, 117* (2), 209-217.

[32] Beauchamp, C. & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical biochemistry, 44* (1), 276-287.

[33] Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. & Basra, S. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development, 29*, 185-212.

[34] Taiz, L. & Zeiger, E. (2010). Plant Physiology, Ed Fifth. Sinauer Associates, USA.

[35] Machado, S. & Paulsen, G.M. (2001). Combined effects of drought and high temperature on water relations of wheat and sorghum. *Plant and soil, 233* (2), 179-187.

[36] Zhang, C., Yang, H., Wu, W. & Li, W. (2017). Effect of drought stress on physiological changes and leaf surface morphology in the blackberry. *Brazilian Journal of Botany, 40*, 625-634.

[37] Neysanian, M., Iranbakhsh, A., Ahmadvand, R., Oraghi, A.Z. & Ebadi, M. (2023). The effect of nano selenium on germination of cherry tomato seeds (*Solanum lycopersicum* L. var. *cerasiforme*) under irrigation and water stress conditions. Iranian *Journal of Plant and Biotechnology, 18*, 59-75.

[38] Zahedi, S.M., Abdelrahman, M., Hosseini, M.S., Hoveizeh, N.F. & Tran, L.S.P. (2019) Alleviation of the effect of salinity on growth and yield of strawberry by foliar spray of selenium-nanoparticles. *Environmental Pollution, 253*, 246-258.

[39] Li, L., Hao, R., Yang, X., Feng, Y. & Bi, Z. (2023). *Piriformospora indica* increases resistance to *Fusarium pseudograminearum* in wheat by Inducing phenylpropanoid pathway. *International Journal of Molecular Sciences, 24* (10), 8797.

[40] Teimouri, S., Hasanpour, J. & Tajali, A.A. (2014). Effect of Selenium spraying on yield and growth indices of wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought stress condition. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research, 2* (6), 2091-2103.

[41] Smirnoff, N. (2005). Antioxidants and reactive oxygen species in plants, vol 17. Wiley-Blackwell.

[42] Bonab, B.F., Roveshti, A.A. & Abbasi, A. (2022). Changes in antioxidant enzymes of barley (*Hordeum vulgare* L.) using the endophytic fungus *Piriformospora indica* and the bacterium *Azospirillum* spp. under drought stress. *Agriculture and Forestry, 68* (1) 261-283.

[43] Saslaw, I. & Waravdekar, V. (1957). Preparation of malonaldehyde bis-bisulfide, sodium salt. *The Journal of Organic Chemistry, 22* (7), 843-844.

[44] Liang, Y., Chen, Q., Liu, Q., Zhang, W. & Ding, R. (2003.) Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Plant Physiology, 160* (10), 1157-1164.

[45] Bandeoğlu, E., Eyidoğan, F., Yücel, M. & Avni Öktem, H. (2004). Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl-salinity stress. *Plant Growth Regulation, 42*, 69-77.

[46] Özdemir, F., Bor, M., Demiral, T. & Türkan, I. (2004). Effects of 24-epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid peroxidation, proline content and antioxidative system of rice (*Oryza sativa* L.) under salinity stress. *Plant growth regulation, 42* (3), 203-211.

[47] Hayyan, M., Hashim, M.A. & AlNashef, I.M. (2016). Superoxide ion: generation and chemical implications. *Chemical Reviews, 116* (5), 3029-3085.

[48] Wang, W.B., Kim, Y.H., Lee, H.S., Kim, K.Y., Deng, X.P. & Kwak, S.S. (2009). Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant physiology and Biochemistry, 47* (7), 570-577.

[49] Xu, L., Wang, A., Wang, J., Wei, Q. & Zhang, W. (2017). *Piriformospora indica* confers drought tolerance on *Zea mays* L. through enhancement of antioxidant activity and expression of drought-related genes. *The Crop Journal, 5* (3), 251-258.