فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۳، شماره ۶۰، خرداد و تیرماه ۱۴۰۳ صفحه: ۳۰۳-۳۲۵
https://doi.org/10.22034/13.60.303

مقاله پژوهشی

# تأثیر محلول‌پاشی برگی ترکیبات کاهنده تنش بر شاخص‌های فتوسنتزی و ماده خشک ارزن معمولی (*Panicum miliaceum*) تحت تنش روی و قارچ *Piriformospora indica*

مریم ثمن[۱] و علی سپهری[۲*]

[۱] گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان؛ گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام‌نور، تهران، ایران

[۲] گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۰۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۱۰/۰۴)

## چکیده

آلودگی اراضی زراعی به فلزات سنگین یکی از مشکلات مهم زیست محیطی است که رشد و عملکرد گیاهان را به مخاطره می‌اندازد. به منظور بررسی امکان استفاده از پتانسیل زیستی قارچ *Piriformospora indica* به همراه بهره‌گیری از ترکیبات بیوشیمیایی کاهنده تنش اکسیداتیو در جهت کاهش اثرات منفی تنش سمیت روی در گیاه ارزن معمولی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. عوامل مورد بررسی شامل چهار غلظت روی (صفر، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)، قارچ *P. indica* در دو سطح (تلقیح و عدم‌تلقیح) و محلول‌پاشی برگی سلنات سدیم، نیتروپروساید سدیم (SNP) و آب (شاهد) بود. نتایج نشان داد که شاخص سبزینگی برگ، سرعت فتوسنتز خالص، هدایت روزنه‌ای، غلظت دی‌اکسید کربن زیرروزنه‌ای و سرعت تعرق گیاهان در معرض تنش روی به‌طور معنی‌داری کمتر از شاهد بود. علاوه‌براین، طی تنش سمیت روی، ماده خشک کل و ماده خشک دانه گیاهان نیز کاهش یافت. تلقیح با قارچ و همچنین تیمار با سلنیوم و یا SNP سبب بهبود محتوی کلروفیل، پارامترهای فتوسنتزی، رشد و عملکرد گیاهان گردید. بیشترین مقادیر مربوط به پارامترهای فوق در شرایط حضور قارچ و استفاده همزمان از سلنیوم و یا SNP حاصل شد. محلول‌پاشی برگی ترکیبات تعدیل‌کننده تنش با افزایش محتوی پرولین گیاهان همراه بود. با توجه به این‌که بیشترین مقدار پارامترهای فتوسنتزی، ماده خشک کل و ماده خشک دانه به همراه کمترین مقدار فاکتور انتقال عنصر روی در حضور قارچ و استفاده از سلنیوم و یا SNP حاصل شد، به نظر می‌رسد بهره‌گیری از هم‌افزایی ترکیبات کاهنده تنش مورد استفاده به خصوص SNP در حضور قارچ *P. indica* می‌تواند در جهت کاهش اثرات منفی تنش فزونی روی و افزایش تحمل گیاه ارزن مورد توجه قرار گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** ارزن معمولی، اکسید نیتریک، سلنیوم، فتوسنتز، قارچ اندوفیت

## مقدمه

امروزه تنش فلزات سنگین به عنوان یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی، تهدیدی جدی برای رشد و نمو گیاهان محسوب می‌شود. سمیت فلزات سنگین نه تنها سبب کاهش رشد گیاهان می‌گردد بلکه کیفیت مواد غذایی را نیز کاهش می‌دهد (Feng, *et al.*, 2023). در طی چند دهه گذشته، فعالیت‌های مختلف

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: a_sepehri@basu.ac.ir

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]

انسانی با سرعت نگران‌کننده‌ای غلظت روی در محیط را افزایش داده است. کاربرد گسترده انواع مختلف کودهای تجاری و همچنین مصرف ترکیبات آهکی و سموم دفع آفات از جمله مهم‌ترین عملیات کشاورزی هستند که سبب افزایش غلظت روی در اراضی زراعی می‌گردند (Sidhu, 2016). مقادیر بیش از حد روی از طریق برهم‌ریختن ساختار کلروپلاست، ممانعت از سنتز کلروفیل و کاروتنوئیدها، تداخل در فعالیت آنزیم‌های مربوط به چرخه کالوین، ممانعت از انتقال الکترون و بستن روزنه‌ها سبب کاهش فتوسنتز می‌شود (dos Santos *et al*., 2020). علاوه‌براین، سمیت روی سبب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن گردیده و در نتیجه تنش اکسیداتیو ایجاد می‌کند که در نهایت منجر به کاهش رشد و عملکرد می‌گردد (Sidhu, 2016).

در حال حاضر مشخص شده است که استقرار برخی از روابط همزیستی بین گیاهان و میکروارگانیسم‌ها سبب افزایش مقاومت گیاهان نسبت به پاتوژن‌ها، آفات و تنش‌های غیرزیستی می‌گردد. بنابراین، به‌نظر می‌رسد بهره‌گیری از برهمکنش گیاهان با این میکروارگانیسم‌های مفید، می‌تواند به عنوان یکی از رویکردهای مطرح برای افزایش تحمل گیاهان نسبت به تنش‌ها مورد توجه قرار گیرد (Ghorbani *et al*., 2021b; Khanna *et al*., 2018). قارچ اندوفیت *Piriformospora* (*Serendipita*) *indica* که به راسته سباسینالز تعلق دارد از جمله این میکروارگانیسم‌ها است که قادر است ریشه طیف وسیعی از گیاهان تک‌لپه‌ای و دولپه‌ای را کلونیزه نماید (Oelmuller *et al*., 2009). هیف‌های این قارچ درون بافت کورتکس ریشه گسترش می‌یابند و وارد آندودرم نمی‌شوند. علاوه‌براین، این قارچ قادر به نفوذ به بخش هوایی گیاه نیست (Oelmuller *et al*., 2009). تأثیر مثبت قارچ *P. indica* بر جذب عناصر غذایی، بهبود رشد و نمو و افزایش تحمل نسبت به تنش‌های محیطی در مطالعات چند سال اخیر به اثبات رسیده است (Sagonda *et al*., 2021; Aslam *et al*., 2019). تحریک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و افزایش بیان ژن‌های مرتبط با تنش از جمله دلایل افزایش تحمل نسبت به تنش‌ها در گیاهان کلونیزه شده محسوب می‌گردد (Gill *et al*., 2016). در کنار بهره‌گیری از پتانسیل زیستی میکروارگانیسم‌های مفید، استفاده از ترکیبات بیوشیمیایی کاهنده تنش اکسیداتیو نظیر اکسید نیتریک و سلنیوم نیز از جمله راه‌کارهایی است که می‌تواند در کاهش سمیت فلزات سنگین و افزایش تحمل گیاهان به تنش و کاهش خسارات، مفید باشد. توانایی اکسید نیتریک برای از دست دادن الکترون و قابلیت واکنش با فلزات واسطه نظیر آهن، مس و روی و به دنبال آن تشکیل کمپلکس نیتروزیل- فلز می‌تواند سبب کاهش محتوی یون آزاد این دسته از فلزات سنگین و در نتیجه کاهش سمیت آنها گردد (Saxena and Shekhawat, 2013; Sahay and Gupta, 2017; Wei *et al*., 2020). سم‌زدایی مستقیم گونه‌های فعال اکسیژن و توقف مرحله دوم فرآیند پراکسیداسیون لیپیدها از جمله دیگر اثرات این ترکیب است (Wei *et al*., 2020). مطالعات متعدد نشان داده‌اند که اکسید نیتریک قادر است از طریق مقابله با اثرات منفی فلزات سنگین بر وضعیت اکسایش-کاهش سلول، عملکرد فتوسنتزی گیاهان در این شرایط را بهبود بخشد (Khairy *et al*., 2016; Chen *et al*., 2018). نیتروپروساید سدیم (SNP) یکی از ترکیباتی است که به عنوان منبع اکسید نیتریک خارجی در مطالعات گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد و هزینه اثربخشی زیاد و توانایی رهاسازی پیوسته اکسید نیتریک توسط آن باعث شده تا در مقایسه با سایر منابع اکسید نیتریک خارجی کاربرد بیشتری داشته باشد (Gupta *et al*., 2020; Mur *et al*., 2013). بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که سلنیوم به عنوان یک عنصر شبه ضروری (quasi-essential) سبب تقویت سیستم دفاعی گیاهان می‌گردد (Yusuf *et al*., 2016; Handa *et al*., 2018). نقش حفاظتی سلنیوم در تنش فلزات سنگین می‌تواند به دلیل کاهش جذب و انتقال این فلزات، تشکیل کمپلکس‌های غیر سمی سلنیوم- فلزات، تقویت سیستم دفاعی وحفاظت از دستگاه فتوسنتزی باشد (Filek *et al*., 2008; Feng *et al*., 2011; Lanza and Dos Reis, 2021).

ارزن معمولی (*Panicum miliaceum*) از نظر تولید دانه در

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]

ایران و جهان مهم‌ترین نوع ارزن محسوب می‌شود و امروزه در کشورهای آسیایی و آفریقایی به‌طور گسترده‌ای کشت می‌گردد (خواجه‌پور، ۱۳۹۲). دانه ارزن معمولی به‌طور متوسط ۱۴/۴ درصد پروتئین دارد و غنی ازاسیدهای آمینه ضروری لوسین، ایزولوسین و متیونین است. ترکیبات فیتوشیمیایی مختلفی نیز در ترکیب دانه وجود دارد که آن را به یک غذای فراسودمند (functional food) تبدیل نموده است. (Habiyaremye *et al*., 2017). با توجه به اینکه در ارتباط با واکنش ارزن معمولی نسبت به سمیت عنصر روی اطلاعاتی در دسترس نیست، پژوهش حاضر با هدف بررسی پارامترهای فتوسنتزی، رشد و عملکرد این گیاه طی سمیت روی و تحت تأثیر همزیستی با قارچ *P. indica* و محلول‌پاشی برگی نیتروپروساید سدیم و سلنیوم انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی و آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا (34.7922° N, 48.4884° E) اجرا شد. عوامل مورد بررسی عبارت بودند از: افزودن چهار غلظت روی (صفر، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)، قارچ *P. indica* در دو سطح (تلقیح و عدم تلقیح) و محلول‌پاشی برگی در سه سطح سلنات سدیم، نیتروپروساید سدیم (SNP) و آب (شاهد). انتخاب غلظت‌های روی براساس یک آزمایش مقدماتی با غلظت‌های مختلف روی و در حد تحمل گیاه صورت گرفت بر این اساس، حداکثر غلظت مورد بررسی ۷۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک در نظر گرفته شد. خاک مورد استفاده از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی تهیه و پس از عبور از الک ۲ میلی‌متری به نسبت ۲ به ۱ با ماسه مخلوط گردید. بافت خاک لوم شنی رسی بود و اسیدیته معادل ۷/۵ و هدایت الکتریکی ۱/۰۸ دسی‌زیمنس بر متر داشت. مقدار فسفر، پتاسیم، مس و روی قابل استفاده خاک به ترتیب ۷، ۲۷۴، ۲/۹ و ۲/۶ میلی‌گرم در کیلوگرم بود. به منظور حذف اثرات ناخواسته میکروارگانیسم‌های موجود، خاک مورد استفاده توسط اتوکلاو طی دو مرحله و هر مرحله به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس استریل شد. آلوده نمودن خاک به عنصر روی با استفاده از سولفات روی انجام گرفت (Ibiang *et al*., 2017; Sidhu *et al*., 2020). ابتدا مقدار سولفات روی مورد نیاز برای هر گلدان (با ظرفیت ۳ کیلوگرم خاک) توزین و پس از حل‌نمودن در حجمی از آب که خاک را به نقطه ظرفیت زراعی می‌رساند، به خاک اضافه گردید. به منظور نفوذ بهتر روی، خاک‌های آلوده به مدت ۱۵ روز در دمای اتاق نگهداری شده، سپس مورد استفاده قرار گرفتند. طی این مدت، رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی حفظ گردید.

جدایه اولیه قارچ *P. indica* از گروه گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا تهیه شد. این قارچ به راسته *Sebacinales* (*Basidiomycota*) تعلق دارد و دارای کلامیدوسپورهای گلابی شکل بوده و به همین دلیل پیریفورموسپورا نامیده می‌شود و می‌تواند ریشه طیف وسیعی از گیاهان تک لپه‌ای و دو لپه‌ای را کلونیزه نماید. پس از کشت جدایه اولیه، قارچ در محیط PDA (Potato Dextrose Agar) به مدت ۱۰ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس سوسپانسیون اسپور با غلظت $۵\times۱۰^{۵}$ اسپور در میلی‌لیتر حاوی ۰/۰۲ درصد توئین تهیه شد (Dabral *et al*., 2019). بذور اصلاح‌شده ارزن معمولی رقم پیشاهنگ از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر واقع در کرج تهیه و پس از ضدعفونی به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در دستگاه ژرمیناتور قرار گرفته و جوانه‌دار شدند. سپس بذور جوانه‌زده در سوسپانسیون اسپور غوطه‌ور شده و به مدت چهار ساعت بر روی شیکر با سرعت چرخش ۵۰ دور در دقیقه قرار گرفتند (Mohd *et al*., 2017). همچنین قبل از کشت بذور در گلدان، حدود ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون به محل کشت هر بذر در عمق ۱ سانتی‌متری اضافه و بلافاصله پس از کشت بذور آبیاری صورت گرفت. گلدان‌ها در گلخانه با دمای ۲± ۲۲/۳۲ درجه سلسیوس (روز/شب) قرار گرفتند. در هر گلدان ۱۲ بذر کشت شد که در نهایت پس از گذشت ۱۰ روز

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]

و اطمینان از استقرار کامل گیاهچه‌ها، تعداد بوته‌ها به ۷ بوته در هر گلدان کاهش یافت. در طول دوره رشد، گلدان‌ها به صورت روزانه توزین شده و رطوبت خاک در حد ۷۰ درصد ظرفیت زراعی حفظ شد. طول دوره روشنایی ۱۲ ساعت در نظر گرفته شد و کمبود نور مورد نیاز گیاهان با ترکیبی از لامپ‌های بخار سدیم و فلورسنت تأمین شد.

۲۵ روز پس از کاشت، ترکیبات کاهنده تنش با استفاده از سمپاش دستی مجهز به نازل سه قلو شماره ۰۲ و زاویه پاشش ۱۱۰ در سطح گیاهان (۱۰ میلی‌لیتر برای هر بوته) اسپری شد. غلظت نیتروپروساید سدیم ۱۵۰ میکرومولار (Shams *et al.*, 2019) و غلظت سلنات سدیم ۴۰ میلی‌گرم در لیتر بود (Ashraf *et al.*, 2018). به منظور کاهش کشش سطحی از سورفکتانت غیریونی تریتون X-100 با غلظت ۰/۰۲ درصد استفاده گردید. در مجموع در طول دوره آزمایش سه نوبت محلول‌پاشی انجام شد. در مورد گیاهان شاهد، محلول‌پاشی برگی صرفاً با استفاده از محلول تریتون X-100 با غلظت ۰/۰۲ درصد صورت گرفت.

در مرحله ۸ برگی (مرحله رشد فنولوژیکی ۳۱ براساس مقیاس BBCH)، پارامترهای فتوسنتز خالص، هدایت روزنه‌ای، غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای و سرعت تعرق با استفاده از دستگاه آنالیزکننده گازی مادون قرمز (LCi, ADC Bioscitific Ltd. England) اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری بر روی جوان‌ترین برگ کاملاً توسعه‌یافته بوته‌ها انجام شد و مساحت بخشی از برگ که در داخل محفظه دستگاه قرار می‌گرفت معادل ۶/۲۵ سانتی‌متر مربع بود. اندازه‌گیری‌ها در محیط گلخانه در فاصله زمانی ساعات ۹ تا ۱۱ صبح و در شدت نور بیش از ۱۰۰۰ میکرومول فوتون در مترمربع در ثانیه صورت گرفت. شاخص سبزینگی بـرگ با استفاده از دستگاه کلروفیل‌سنج دستی مدل SPAD-502 (مینولتا) اندازه‌گیری شد. برای این منظور، در هر گلدان ۳۰ قرائت مختلف از قسمت میانی پهنک برگ‌های معین (جوان‌ترین برگ کاملاً توسعه‌یافته و برگ ماقبل آن) صورت گرفت و میانگین آن به‌عنوان میزان کلروفیل برگ برحسب واحد SPAD ثبت شد. سنجش میزان پرولین نمونه‌ها با استفاده از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام شد. بدین منظور ۰/۵ گرم برگ تازه را با ازت مایع ساییده و با ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ مخلوط و به ۲ میلی‌لیتر از عصاره حاصل، ۲ میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه شد و در بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از گذشت یک ساعت به هر یک از نمونه‌ها ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه و میزان جذب نوری فاز بالایی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

به منظور محاسبه فاکتور انتقال عنصر روی، محتوی این عنصر در ریشه و اندام هوایی گیاهان براساس روش Hoenig (۲۰۰۳) اندازه‌گیری شد. روش کار به این صورت بود که ابتدا ۰/۲ گرم نمونه آسیاب‌شده هضم شد. محلول حاصل از هضم پس از عبور از کاغذ صافی، توسط آب‌مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسید و محتوی عنصر روی توسط دستگاه جذب اتمی Varian مدل AA 220 اندازه‌گیری شد. در نهایت، فاکتور انتقال عنصر روی از طریق تقسیم محتوای روی اندام هوایی بر محتوای روی ریشه محاسبه شد (Sidhu *et al.*, 2020).

در نهایت در پایان دوره رشد، ماده خشک کل و ماده خشک دانه گیاهان در گلدان‌هایی که به همین منظور در نظر گرفته شده بود، اندازه‌گیری شد. بدین منظور، گیاهان از سطح خاک برداشت و به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند و وزن خشک به وسیله ترازو با دقت هزارم گرم اندازه‌گیری گردید. تجزیه آماری داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS-9.4 پس از اطمینان از نرمال بودن باقی‌مانده داده‌ها انجام گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل استفاده شد.

## نتایج و بحث

**شاخص سبزینگی برگ:** براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، تأثیر روی، قارچ و ترکیبات کاهنده تنش به همراه کلیه اثرات متقابل به استثناء اثر متقابل قارچ و ترکیبات کاهنده

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]

**جدول ۱- تجزیه واریانس اثر روی، قارچ و ترکیبات کاهنده تنش بر شاخص سبزینگی برگ، پارامترهای فتوسنتزی، محتوای پرولین و فاکتور انتقال**

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | شاخص سبزینگی برگ | سرعت فتوسنتز خالص | هدایت روزنه‌ای | غلظت $CO_2$ زیرروزنه‌ای | سرعت تعرق | محتوای پرولین | فاکتور انتقال |
| روی (Z) | ۳ | ۸۶۲/۶$^{**}$ | ۳۵۸/۴$^{**}$ | ۰/۰۱۳۳$^{**}$ | ۳۵۴۳۰/۸$^{**}$ | ۳۱/۰$^{**}$ | ۲۶۵/۱۶$^{**}$ | ۰/۰۲۸۰$^{**}$ |
| قارچ (P) | ۱ | ۸۵۲/۷$^{**}$ | ۳۷۴/۴$^{**}$ | ۰/۰۱۳۹$^{**}$ | ۱۷۲۹۰/۶$^{**}$ | ۳۲/۳$^{**}$ | ۰/۱۴$^{ns}$ | ۰/۰۱۷۳$^{**}$ |
| کاهنده‌های تنش (F) | ۲ | ۷۲/۵$^{**}$ | ۲۸/۵$^{**}$ | ۰/۰۰۱۰$^{**}$ | ۱۶۷۴/۰$^{**}$ | ۲/۴$^{**}$ | ۱۴/۰۳$^{**}$ | ۰/۰۰۰۱$^{**}$ |
| Z × P | ۳ | ۱۱/۶$^{*}$ | ۸/۲$^{**}$ | ۰/۰۰۰۳$^{**}$ | ۵۵۸/۵$^{**}$ | ۰/۷$^{**}$ | ۰/۰۷$^{ns}$ | ۰/۰۰۳۱$^{**}$ |
| Z × F | ۶ | ۸/۷$^{*}$ | ۳/۴$^{*}$ | ۰/۰۰۰۱$^{*}$ | ۲۱۳/۸$^{*}$ | ۰/۲$^{*}$ | ۱/۶۰$^{**}$ | ۰/۰۰۰۰۵$^{**}$ |
| P × F | ۲ | ۷/۳$^{ns}$ | ۱/۲$^{ns}$ | ۰/۰۰۰۰۴$^{ns}$ | ۲۱۰/۸$^{ns}$ | ۰/۱$^{ns}$ | ۰/۱۴$^{ns}$ | ۰/۰۰۰۰۰۰۸$^{ns}$ |
| Z × P × F | ۶ | ۶/۳$^{*}$ | ۲/۸$^{*}$ | ۰/۰۰۰۱$^{ns}$ | ۶۱/۳$^{ns}$ | ۰/۲$^{ns}$ | ۰/۰۷$^{ns}$ | ۰/۰۰۰۰۰۱$^{ns}$ |
| خطا | ۴۸ | ۲/۸۵ | ۱/۲ | ۰/۰۰۰۰۴ | ۹۵/۰ | ۰/۱ | ۰/۴۱ | ۰/۰۰۰۰۰۸ |
| ضریب تغییرات ٪ | | ۵/۹ | ۷/۳ | ۷/۹ | ۶/۲ | ۶/۲ | ۸/۲ | ۲/۰ |
| برش‌دهی اثر متقابل سه‌گانه (Z × P × F) براساس قارچ | | | | | | | | |
| عدم‌حضور قارچ | ۱۱ | ۰/۱۲$^{**}$ | ۳۸/۵$^{**}$ | – | – | – | – | – |
| حضور قارچ | ۱۱ | ۰/۲۳$^{**}$ | ۷۰/۲$^{**}$ | – | – | – | – | – |

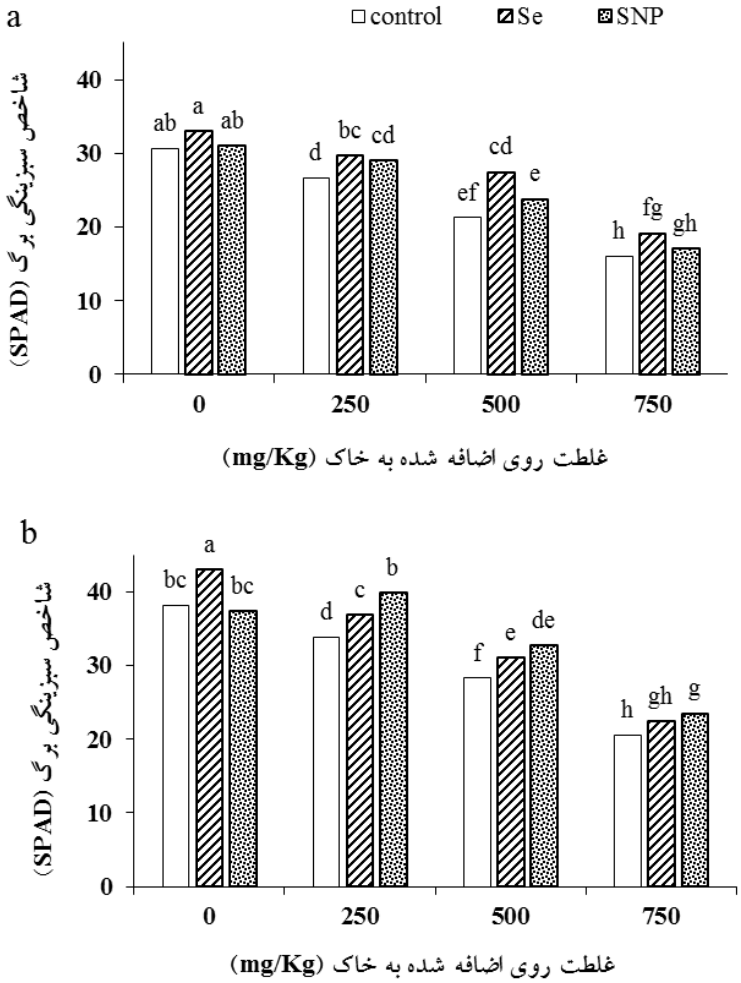
****، *و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح یک درصد، پنج درصد و غیرمعنی‌دار**

تنش بر شاخص سبزینگی برگ معنی‌دار بود (جدول ۱). بر این اساس، اثر سه‌گانه براساس حضور و عدم حضور قارچ برش‌دهی شد. نتایج حاصل از برش‌دهی مبتنی بر معنی‌دار بودن اثر قارچ *P. indica* بر شاخص سبزینگی برگ در گیاهان مورد آزمایش است (جدول ۱). در شرایط عدم حضور قارچ، استفاده از سلنیوم در گیاهان در معرض تنش با افزایش معنی‌دار شاخص سبزینگی برگ گیاهان همراه بود (شکل a ۱). در شرایط حضور قارچ نیز محلول‌پاشی برگی سلنیوم و یا نیتروپروساید سدیم سبب افزایش شاخص سبزینگی برگ در گیاهان در معرض سمیت روی گردید (شکل b ۱). در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم روی تأثیر مثبت اکسید نیتریک بیشتر از سلنیوم بود، به‌گونه‌ای که شاخص سبزینگی برگ گیاهان بر اثر استفاده از نیتروپروساید سدیم ۱۷/۷ درصد افزایش یافت و تأثیر مثبت سلنیوم ۸/۹ درصد بود. در غلظت‌های ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم روی، تفاوت معنی‌داری بین سلنیوم و نیتروپروساید سدیم مشاهد نگردید و شاخص سبزینگی برگ گیاهان تلقیح‌شده بر اثر تیمار با این دو ترکیب به ترتیب (۱۰ و ۱۵/۸) و (۹ و ۱۴/۳) درصد افزایش یافت.

افزایش محتوی کلروفیل به دنبال استفاده از سلنیوم در گیاهچه‌های خردل طی تنش فزونی مس (Yusuf *et al*., 2016) و ماش در معرض سمیت آرسنیک (Malik *et al*., 2012) نیز گزارش شده است. مشخص شده است که سلنیوم از طریق افزایش بیوسنتز رنگدانه‌های محافظ نوری (نظیر کاروتنوئیدها، آنتوسیانین‌ها وآسکوربات‌ها) از تخریب ساختار کلروفیل طی تنش جلوگیری می‌کند (Lanza and Dos Reis, 2021). علاوه بر این، سلنیوم می‌تواند با افزایش فعالیت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و سم‌زدایی رادیکال‌های آزاد درون سلول سبب کاهش تنش اکسیداتیو در گیاهان در معرض تنش، حفظ کلروفیل و بهبود شاخص سبزینگی برگ گردد (Lanza and Dos Reis, 2021; Gupta and Gupta, 2017).

مشابه نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر، بررسی صورت گرفته توسط Kaya (۲۰۱۶) نیز نشان داد که به‌کارگیری

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]

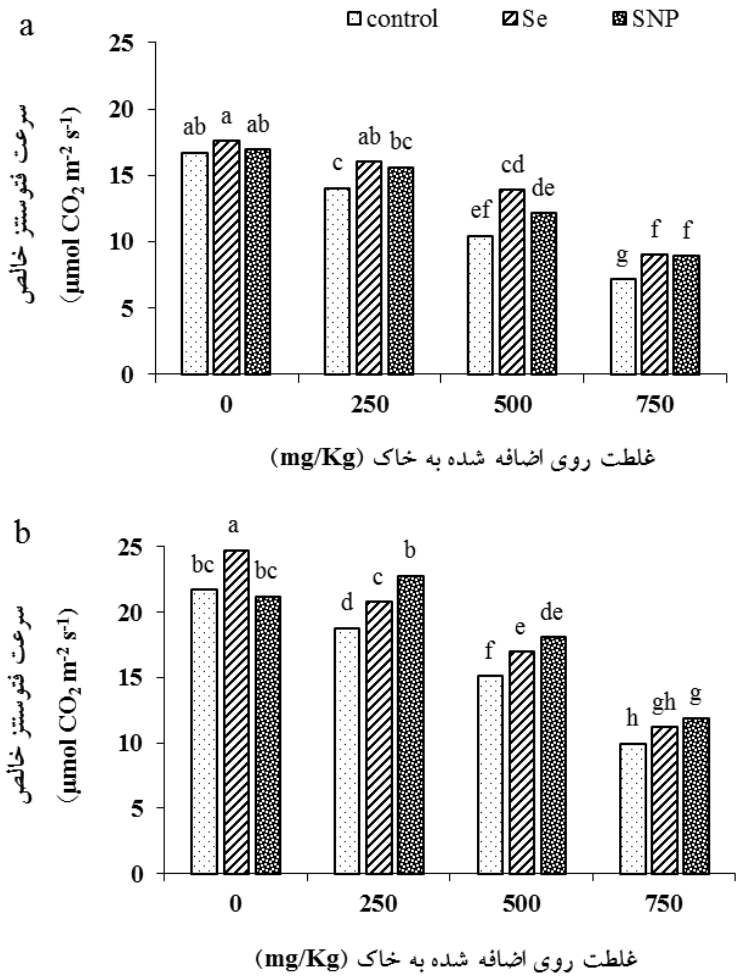



**شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه روی و ترکیبات کاهنده تنش بر شاخص سبزینگی برگ در شرایط (a) عدم حضور قارچ و (b) حضور قارچ. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.**

نیتروپروساید سدیم تأثیر منفی تنش فزونی روی بر محتوی کلروفیل گیاهچه‌های ذرت را کاهش داده است. در مطالعه Akladious و Mohamed (۲۰۱۷) نیز مشاهده شد که طی تنش سمیت روی محتوی کلروفیل گیاهان آفتابگردان تیمارشده با اکسید نیتریک خارجی به طور معنی‌داری بیش از گیاهان شاهد بود. ثابت شده است که اکسید نیتریک با افزایش جذب آهن و منیزیم می‌تواند بیوسنتز کلروفیل را بهبود دهد (Kong *et al.*, 2016).

**پارمترهای فتوسنتزی، سرعت فتوسنتز خالص:** براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، اثر روی، قارچ و ترکیبات کاهنده تنش و اثر متقابل آنها به استثناء اثر متقابل قارچ و ترکیبات کاهنده تنش معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج حاصل از برش‌دهی اثر متقابل سه‌گانه براساس قارچ نشان داد که تأثیر حضور و عدم حضور قارچ بر سرعت فتوسنتز خالص معنی‌دار است (جدول ۱). در شرایط عدم حضور قارچ (شکل 2a) در گیاهان در معرض ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم روی محلول‌پاشی برگی سلنیوم سرعت فتوسنتز خالص گیاهان را افزایش داد اما نیتروپروساید سدیم تأثیر معنی‌داری نداشت. میزان افزایش سرعت فتوسنتز خالص در گیاهان تیمارشده با سلنیوم در غلظت‌های فوق به ترتیب ۱۴/۱ و ۳۳/۱ درصد بود. در بالاترین سطح تنش استفاده از سلنیوم و اکسید نیتریک خارجی سرعت فتوسنتز خالص گیاهان را به ترتیب ۲۵/۱ و

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]




**شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل روی و ترکیبات کاهنده تنش بر سرعت فتوسنتز خالص در شرایط (a) عدم حضور قارچ و (b) حضور قارچ. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.**

۲۴/۳ درصد افزایش داد و تفاوت معنی‌داری بین ترکیبات کاهنده تنش در این خصوص وجود نداشت. در شرایط حضور قارچ (شکل ۲b) نیز استفاده از سلنیوم و یا اکسید نیتریک خارجی با بهبود سرعت فتوسنتز خالص گیاهان در معرض تنش همراه بود. در غلظت۲۵۰ میلی‌گرم روی، تأثیر مثبت اکسید نیتریک خارجی در مقایسه با سلنیوم بیشتر بود. درحالی‌که در غلظت‌های بالاتر تفاوت معنی‌داری بین این دو ترکیب وجود نداشت. سرعت فتوسنتز خالص گیاهان تلقیح‌شده در معرض غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم روی در اثر محلول‌پاشی برگی سلنیوم و نیتروپروساید سدیم به ترتیب (۱۰/۶ و ۲۱/۲)، (۱۲/۵ و ۱۹/۸) و (۱۲/۳ و ۱۹/۶) درصد افزایش یافت.

در ارتباط با تأثیر مثبت سنلیوم بر سرعت فتوسنتز خالص گیاهان نتایج مشابهی توسط Yusuf و همکاران (۲۰۱۶) در گیاهچه‌های خردل در معرض تنش فزونی مس، و Sepehri و همکاران (۲۰۱۹) در گیاه سیر در معرض کادمیوم گزارش شده است. افزایش فعالیت آنزیم‌های کلیدی روبیسکو و کربونیک آنهیدراز (Yusuf *et al*., 2016) افزایش تولید ترکیبات پروتئینی مرتبط با انتقال الکترون فتوسنتزی (Sun *et al*., 2016)، کمک به حفظ ساختار و سیالیت غشاء کلروپلاست (Filek *et al*., 2010) و افزایش جذب عناصر غذایی مرتبط با دستگاه فتوسنتزی نظیر منیزیم، منگنز و آهن (Yu *et al*., 2003; Zhao *et al*., 2019) از جمله دلایل بهبود فتوسنتز در گیاهان تیمارشده با سلنیوم محسوب می‌شود. علاوه بر این، تأثیر مثبت

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]

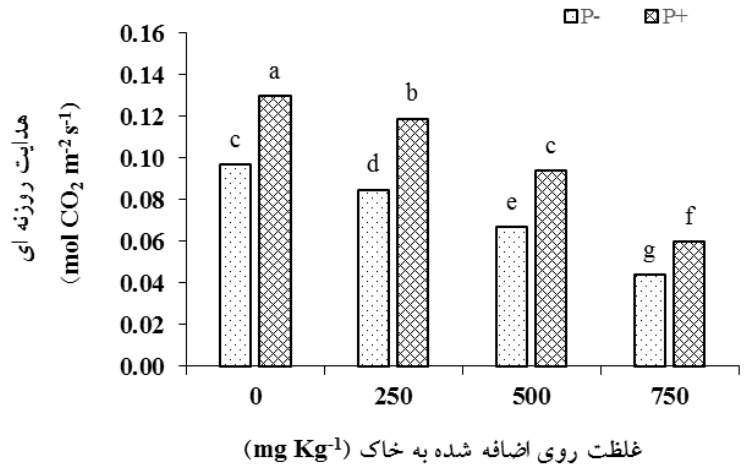
سلنیوم بر افزایش محتوی کلروفیل (شکل ۱) نیز می‌تواند در بهبود فتوسنتز نقش داشته باشد.

قبلاً تأثیر مثبت اکسید نیتریک خارجی بر افزایش سرعت فتوسنتز خالص در گیاه خردل در معرض کادمیوم (Per *et al*., 2017) و باقلا در معرض آرسنیک (Ahmad *et al*., 2020) مشاهده شده است. مطالعه Khairy و همکاران (۲۰۱۶) در گیاه تنباکو و Per و همکاران (۲۰۱۷) در گیاه خردل نشان داد که محتوی و میزان فعالیت آنزیم‌های روبیسکو و روبیسکو اکتیواز و در نتیجه فتوسنتز گیاهان در معرض تنش فلزات سنگین بر اثر استفاده از اکسید نیتریک خارجی افزایش یافت. مشخص شده است که اکسید نیتریک خارجی سبب افزایش پایداری زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی و بهبود فتوسنتز می‌گردد (Gong *et al*., 2017). علاوه‌براین، اکسید نیتریک از طریق تنظیم رونویسی ژن‌های مرتبط با پروتئین‌های هسته PSII مانند *psbA*، *psbB* و *psbC* نقش مهمی در بازیابی این جز کلیدی دستگاه فتوسنتزی ایفا می‌کند (Wodala *et al*., 2008). حفظ فشار اسمزی و تنظیم ویسکوزیته سیتوپلاسم مکانیسم دیگری است که اکسید نیتریک از طریق آن از رنگدانه کلروفیل، غشای کلروپلاست و سایر اجزا مرتبط محافظت نموده و سبب کاهش تأثیر منفی فلزات سنگین بر فتوسنتز می‌گردد (Ahmad *et al*., 2018).

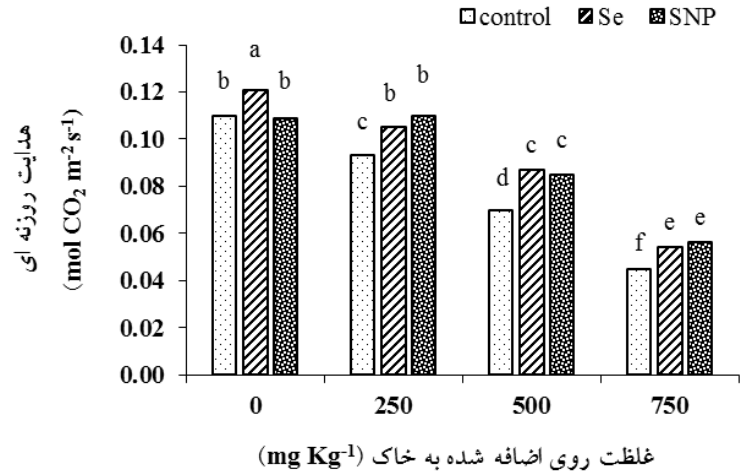
**هدایت روزنه‌ای:** همان گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود تأثیر روی، قارچ و محلول‌پاشی برگی به همراه اثر متقابل روی و قارچ و اثر متقابل روی و ترکیبات کاهنده تنش بر هدایت روزنه‌ای گیاهان معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش غلظت روی در خاک هدایت روزنه‌ای گیاهان در حضور و عدم حضور قارچ کاهش یافت (شکل ۳). به‌طوری‌که هدایت روزنه‌ای گیاهان در معرض ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم روی به ترتیب ۹/۷، ۲۹/۲ و ۵۳/۹ درصد در مقایسه با شاهد کمتر بود. علاوه‌براین، همزیستی با قارچ *P. indica* به‌طور معنی‌داری سبب کاهش اثرات منفی تنش بر هدایت روزنه‌ای گیاهان شد، به‌گونه‌ای که در غلظت‌های ۲۵۰ تا ۷۵۰ میلی‌گرم روی، هدایت روزنه‌ای گیاهان تلقیح‌شده به ترتیب ۴۰، ۴۰/۲ و ۳۶/۳ درصد بیشتر از گیاهان تلقیح‌نشده بود. کاهش هدایت روزنه‌ای گیاهان در معرض تنش فزونی روی در لوبیا (Vassilev *et al*., 2011)، برنج (Chen *et al*., 2017) و گندم (Li *et al*., 2020) قبلا گزارش شده است. در مطالعه Sagardoy و همکاران (۲۰۱۰) مشخص گردید که تغییرات فیزیکی و/یا ساختاری روزنه‌ها دلیل اصلی کاهش هدایت روزنه‌ای در گیاهچه‌های چغندرقند در معرض فزونی روی بوده است. به اعتقاد Bernardini و همکاران (۲۰۱۶) کاهش جذب پتاسیم و در نتیجه تغییر نسبت پتاسیم به کلسیم در سلول‌های محافظ روزنه از جمله دلایل بسته‌شدن روزنه‌ها و کاهش هدایت روزنه‌ای در گیاهان در معرض مقادیر زیاد روی است. علاوه‌براین، بسته-شدن روزنه‌ها می‌تواند به علت تنش آبی ناشی از سمیت روی باشد، چرا که مشخص شده نفوذپذیری غشاء سلول‌های ریشه و جذب آب طی تنش فلزات سنگین کاهش می‌یابد (de Silva *et al*., 2012). در ارتباط با تأثیر مثبت قارچ *P. indica* بر هدایت روزنه‌ای نتایج مشابهی توسط Ghorbani و همکاران (۲۰۲۱b) در برنج در معرض آرسنیک گزارش شده است. به نظر می‌رسد افزایش پتانسیل آب در برگ گیاهان تلقیح‌شده با قارچ *P. indica* که در مطالعه Khalid و همکاران (۲۰۲۲) گزارش شده، می‌تواند در افزایش هدایت روزنه‌ای و بهبود تبادلات گازی گیاه مؤثر باشد.

بررسی اثر متقابل روی و ترکیبات کاهنده تنش (شکل ۴) نشان می‌دهد که محلول‌پاشی برگی سلنیوم و یا نیتروپروساید سدیم هدایت روزنه‌ای گیاهان در معرض تنش فزونی روی را افزایش داد. در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم روی، هدایت روزنه‌ای گیاهان تیمارشده با سلنیوم و یا اکسید نیتریک خارجی به ترتیب (۱۲/۹ و ۱۸/۲)، (۲۴/۲ و ۲۱/۴) و (۲۰ و ۲۴/۴) درصد بیشتر از شاهد بود. در مطالعه Yusuf و همکاران (۲۰۱۶) نیز استفاده از سلنیوم با افزایش هدایت روزنه‌ای در هر دو دسته گیاهچه‌های خردل در معرض تنش فزونی مس و شاهد همراه بود. تأثیر مثبت سلنیوم بر هدایت روزنه‌ای توسط Khan و همکاران (۲۰۱۵) در گندم در معرض کادمیوم نیز گزارش شده است. همسو با نتایج به‌دست آمده در این مطالعه،

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]




**شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل روی و قارچ بر هدایت روزنه‌ای. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.**



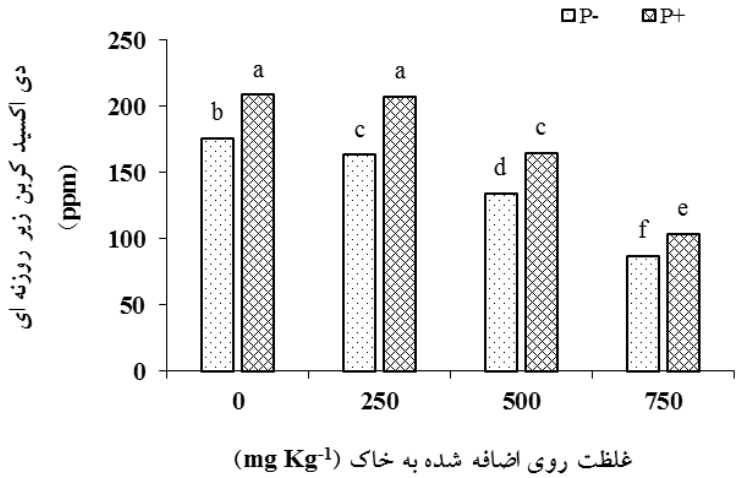

**شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل روی و ترکیبات کاهنده تنش بر هدایت روزنه‌ای. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.**

در باقلا (Ahmad *et al.*, 2020) و گوجه‌فرنگی (Ghorbani *et al.*, 2021) در معرض آرسنیک نیز هدایت روزنه‌ای بر اثر تیمار با اکسید نیتریک خارجی افزایش یافت. در مطالعه Per و همکاران (۲۰۱۷) نیز محلول‌پاشی برگی نیتروپروساید سدیم سبب افزایش قطر منافذ روزنه و در نتیجه افزایش هدایت روزنه‌ای در گیاه خردل در معرض کادمیوم شد.

**غلظت دی‌اکسید کربن زیرروزنه‌ای:** براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۱)، علاوه بر اثرات اصلی روی، قارچ و ترکیبات کاهنده تنش، اثر متقابل روی و قارچ و اثر متقابل روی و ترکیبات کاهنده تنش نیز بر غلظت دی‌اکسید کربن زیرروزنه‌ای معنی‌دار بود.

همان گونه که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، حضور قارچ *P. indica* سبب کاهش تأثیر منفی روی بر غلظت دی‌اکسید کربن زیرروزنه‌ای گیاهان شد. به گونه‌ای که در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم روی غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای گیاهان تلقیح‌شده به ترتیب ۲۶/۸، ۲۲/۶ و ۱۹/۲ درصد بیشتر از گیاهان تلقیح‌نشده بود. کاهش غلظت دی‌اکسید کربن زیرروزنه‌ای طی تنش فزونی روی در مطالعه Ouni و

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]



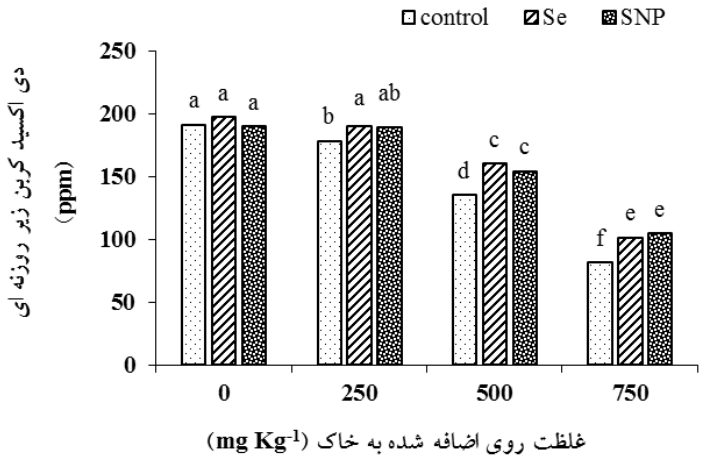

**شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل روی و قارچ بر غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.**

همکاران (۲۰۱۶) در گیاه *Polypogon monspeliensis*، Li و همکاران (۲۰۲۰) در گندم و Chen و همکاران (۲۰۱۷) در برنج نیز مشاهده شده است. تأثیر منفی تنش فزونی روی بر هدایت روزنه‌ای (شکل ۳) از جمله دلایل کاهش غلظت دی‌اکسید کربن زیرروزنه‌ای محسوب می‌شود. در ارتباط با تأثیر همزیستی قارچ *P. indica* بر بهبود غلظت دی‌اکسید کربن زیرروزنه‌ای نتایج مشابهی توسط Liu و همکاران (۲۰۲۱) در گیاهچه‌های گردو طی تنش خشکی گزارش شده است. به نظر می‌رسد افزایش هدایت روزنه‌ای و بهبود تبادلات گازی گیاهان در حضور این قارچ (شکل ۳) از جمله دلایل افزایش غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای باشد.

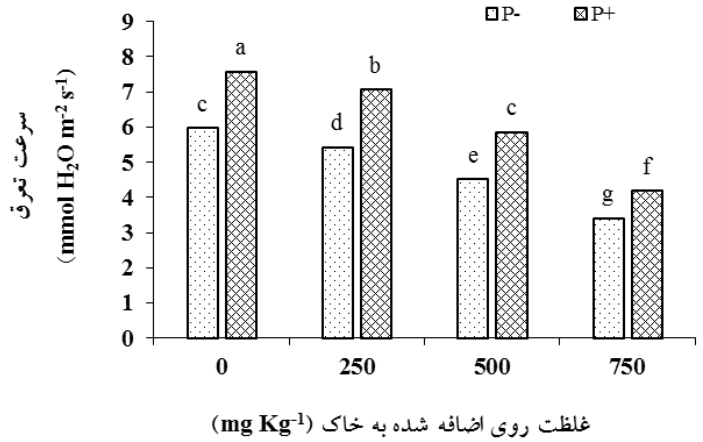
بررسی اثر متقابل روی و ترکیبات کاهنده تنش (شکل ۶) نشان می‌دهد که استفاده از سلنیوم و یا اکسید نیتریک خارجی با بهبود غلظت دی‌اکسید کربن زیرروزنه‌ای در گیاهان در معرض تنش همراه بود. در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم روی، محلول‌پاشی برگی سلنیوم و یا نیتروپروساید سدیم غلظت دی‌اکسید کربن زیرروزنه‌ای گیاهان را به ترتیب (۶/۵ و ۶/۱)، (۱۸/۵ و ۱۴) و (۲۴/۴ و ۲۸/۲) درصد افزایش داد. همسو با نتایج مطالعه حاضر، Naz و همکاران (۲۰۱۵) و Handa و همکاران (۲۰۱۸) نیز گزارش نمودند که استفاده از سلنیوم سبب بهبود غلظت دی‌اکسید کربن زیرروزنه‌ای گیاه خردل گردیده است. علاوه‌براین، در ارتباط با افزایش غلظت دی‌اکسید کربن زیرروزنه‌ای بر اثر استفاده از اکسید نیتریک خارجی نتایج مشابهی توسط Per و همکاران (۲۰۱۷) در گیاه خردل گزارش شده است. افزایش هدایت روزنه‌ای در گیاهان تیمارشده با ترکیبات کاهنده تنش (شکل ۴) را می‌توان از جمله عوامل مؤثر بر افزایش غلظت دی‌اکسید کربن زیرروزنه‌ای محسوب نمود.

**سرعت تعرق:** همان گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، تأثیر روی، قارچ و ترکیبات کاهنده تنش به همراه اثر متقابل روی و قارچ و اثر متقابل روی و ترکیبات کاهنده تنش بر سرعت تعرق معنی‌دار بود. شکل ۷ نشان می‌دهد که با افزایش غلظت روی در خاک، سرعت تعرق گیاهان کاهش یافت و کمترین سرعت تعرق (معادل ۳/۴ میلی‌مول آب در مترمربع در ثانیه) در گیاهان تلقیح‌نشده در معرض ۷۵۰ میلی‌گرم روی حاصل شد. سرعت تعرق گیاهان همزیست با قارچ *P. indica* به‌طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان تلقیح‌نشده بود. به عنوان مثال در غلظت‌های ۲۵۰ تا ۷۵۰ میلی‌گرم روی، حضور قارچ سرعت تعرق گیاهان را به ترتیب ۳۰/۲، ۲۹/۸ و ۲۲/۸ درصد در مقایسه با شاهد افزایش داد. کاهش سرعت تعرق طی تنش فزونی روی در گیاهچه‌های لوبیا (Vassilev *et al.*, 2011) و برنج (Chen *et al.*, 2017) قبلاً گزارش شده است. به نظر

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]




**شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل روی و ترکیبات کاهنده تنش بر غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.**

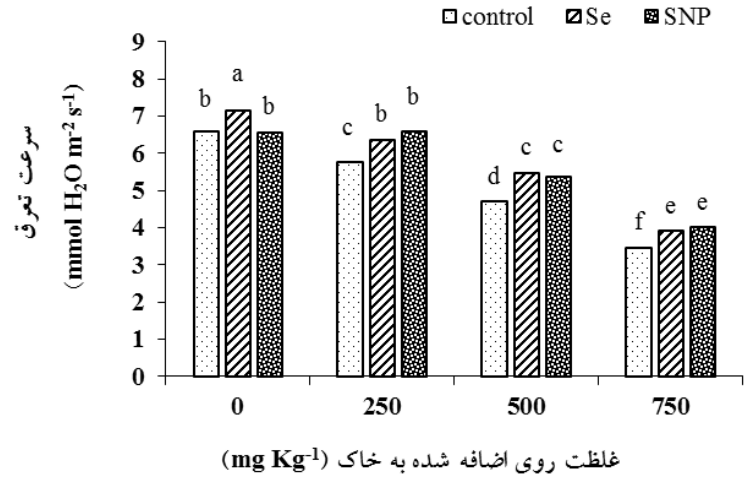



**شکل ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل روی و قارچ بر سرعت تعرق. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.**

می‌رسد تأثیر منفی تنش فزونی روی بر رشد ریشه و کاهش قابلیت جذب آب به همراه بسته‌شدن نسبی روزنه‌ها و کاهش هدایت روزنه‌ای در گیاهان در معرض تنش (شکل ۳) می‌تواند بر کاهش سرعت تعرق مؤثر باشد. در ارتباط با تأثیر مثبت قارچ *P. indica* بر سرعت تعرق گیاهان نتایج مشابهی توسط Ghorbani و همکاران (۲۰۲۱b) در گیاهچه‌های برنج در معرض آرسنیک گزارش شده است. افزایش سرعت تعرق گیاهان ارزن تلقیح‌شده با قارچ طی تنش فزونی روی می‌تواند به دلیل تأثیر مثبت قارچ بر بر هدایت روزنه‌ای (شکل ۳) باشد.

بررسی اثر متقابل روی و ترکیبات کاهنده تنش (شکل ۸) نشان می‌دهد که محلول‌پاشی برگی سلنیوم و یا نیتروپروساید سدیم با افزایش سرعت تعرق گیاهان در معرض تنش همراه بود و از این نظر تفاوت معنی‌داری بین این دو ترکیب وجود نداشت. در غلظت‌های ۲۵۰ تا ۷۵۰ میلی‌گرم روی استفاده از سلنیوم سرعت تعرق گیاهان را به ترتیب ۱۰/۲، ۱۶/۸ و ۱۲/۹ درصد افزایش داد. سرعت تعرق گیاهان تیمارشده با اکسید نیتریک خارجی نیز در غلظت‌های فوق به ترتیب ۱۴/۱، ۱۴/۶ و ۱۵/۸ درصد افزایش یافت. تأثیر مثبت سلنیوم بر سرعت تعرق توسط Sun و همکاران (۲۰۱۶) در گیاهچه‌های خیار در معرض سمیت کادمیوم و Handa و همکاران (۲۰۱۸) در

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]

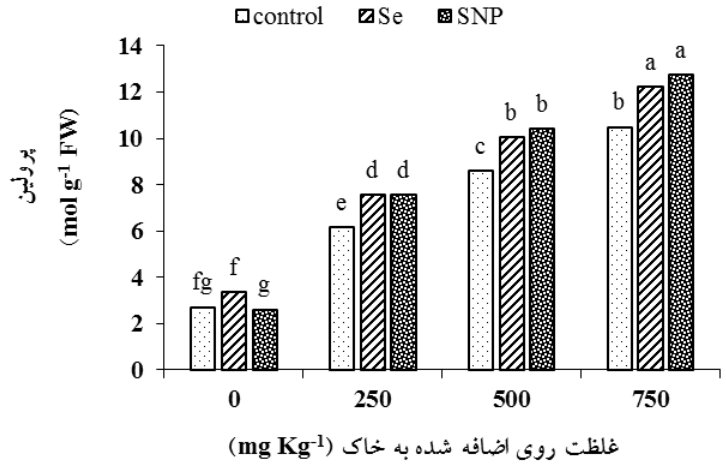



**شکل ۸- مقایسه میانگین اثر متقابل روی و ترکیبات کاهنده تنش بر سرعت تعرق. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.**

گیاهچه‌های خردل در معرض کروم نیز گزارش شده است. به نظر می‌رسد افزایش محتوی پتاسیم در اندام هوایی گیاهان (Hawrylak-Nowak, 2018; Pazurkiewicz-Kocot, 2003) و به دنبال آن افزایش هدایت روزنه‌ای می‌تواند از جمله دلایل افزایش سرعت تعرق در گیاهان تیمارشده با این ترکیب باشد. در ارتباط با افزایش سرعت تعرق بر اثر استفاده از اکسید نیتریک خارجی نتایج مشابهی توسط Ahmad و همکاران (۲۰۲۰) و Ghorbani و همکاران (۲۰۲۱a) در گیاهان باقلا و گوجه‌فرنگی در معرض سمیت آرسنیک گزارش شده است. تأثیر مثبت اکسید نیتریک بر قطر منافذ روزنه و در نتیجه افزایش هدایت روزنه‌ای (Per *et al*., 2017) از جمله دلایل احتمالی افزایش سرعت تعرق در گیاهان تیمارشده با نیتروپروساید سدیم است.

**محتوی پرولین:** جدول ۱ نشان می‌دهد که محتوی پرولین گیاهان به‌طور بسیار معنی‌داری تحت تأثیر روی، ترکیبات کاهنده تنش و اثر متقابل روی و ترکیبات کاهنده تنش قرار گرفت. با افزایش غلظت روی در خاک محتوی پرولین گیاهان افزایش یافت به‌گونه‌ای که در گیاهان در معرض ۷۵۰ میلی‌گرم روی محتوی پرولین به‌طور متوسط چهار برابر گیاهان شاهد بود (شکل ۹). محلول‌پاشی برگی سلنیوم و یا نیتروپروساید سدیم نیز با افزایش محتوی پرولین گیاهان در معرض تنش همراه بود و تفاوت معنی‌داری بین این دو ترکیب وجود نداشت. در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم روی محتوی پرولین گیاهان تیمارشده با سلنیوم و یا نیتروپروساید سدیم به ترتیب (۲۲/۸ و ۲۲/۵)، (۱۶/۸ و ۲۰/۹) و (۱۶/۶ و ۲۱/۶) درصد در مقایسه با شاهد افزایش یافت. افزایش محتوی پرولین طی تنش فزونی روی در گیاهچه‌های گندم (Singh *et al*., 2018)، بادمجان (He *et al*., 2016) و خردل (Khan *et al*., 2019) نیز گزارش شده است. انباشت اسمولیت‌های آلی مانند پرولین یک واکنش بیوشیمیایی شناخته‌شده سلول‌های گیاهی در برابر تنش فلزات سنگین محسوب می‌شود (Sharma and Dietz, 2006). این ترکیب علاوه بر این‌که یک محافظت‌کننده اسمزی محسوب می‌شود، می‌تواند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی قوی نیز عمل کند (He *et al*., 2016; Kaya *et al*., 2018). سنتز پرولین از طریق دو مسیر متفاوت از گلوتامات یا اورنیتین/آرژنین انجام می‌شود (Kishor *et al*., 2005). مطالعه Li و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد که تجمع پرولین طی تنش فزونی روی عمدتاً به دلیل افزایش فعالیت آنزیم اورنیتین دلتا-آمینوترنسفراز (δ-Ornithine aminotransferase) رخ می‌دهد. در ارتباط با تأثیر مثبت سلنیوم بر محتوی پرولین نتایج مشابهی توسط Handa و همکاران (۲۰۱۸) و Yusuf و همکاران (۲۰۱۶) در گیاهچه‌های

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]



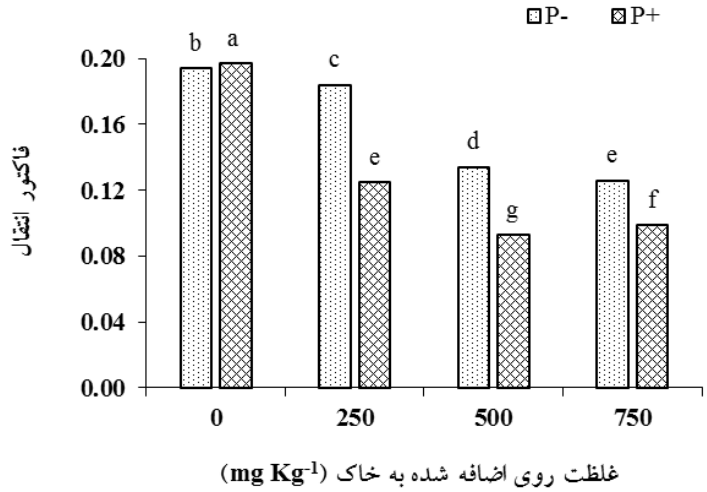

**شکل ۹- مقایسه میانگین اثر متقابل روی و ترکیبات کاهنده تنش بر محتوی پرولین. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.**

خردل در معرض کروم و مس گزارش شده است. سلنیوم از طریق بهبود فعالیت گلوتامیل کیناز، اولین آنزیم مسیر بیوسنتزی پرولین، و کاهش فعالیت پرولین اکسیداز، که مسئول تجزیه مولکول پرولین است، باعث افزایش تجمع پرولین می‌شود (Khan *et al*., 2015). افزایش محتوی پرولین به دنبال استفاده از اکسید نیتریک خارجی در گیاهچه‌های ماش در معرض تنش فزونی مس (Abdulmajeed *et al*., 2021) و گوجه‌فرنگی در معرض کادمیوم (Ahmad *et al*., 2018) نیز مشاهده شده است. مشخص شده است که اکسید نیتریک با افزایش فعالیت آنزیم‌های مرتبط با بیوسنتز پرولین نظیر پیرولین-۵ کربوکسیلات سینتتاز و گلوتامیل کیناز و کاهش فعالیت آنزیم پرولین اکسیداز سبب افزایش محتوی پرولین در گیاهان می‌گردد (Abdulmajeed *et al*., 2021; Zhang *et al*., 2008).

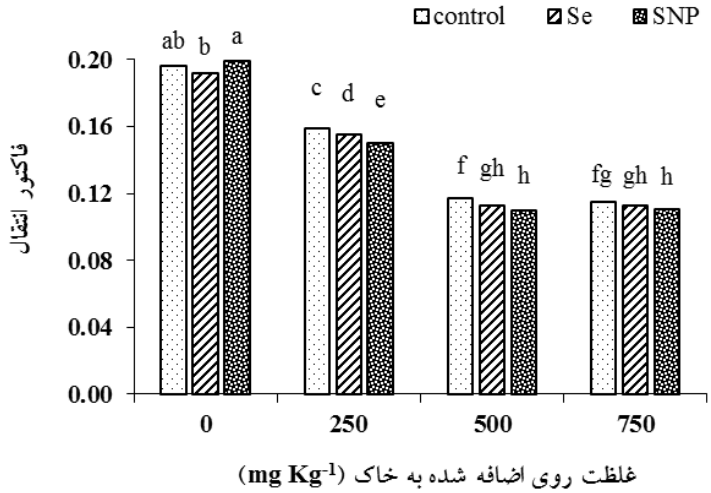
**فاکتور انتقال:** براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، تأثیر روی، قارچ و ترکیبات کاهنده تنش به همراه کلیه اثرات متقابل دوگانه به استثناء اثر متقابل قارچ و محلول‌پاشی برگی در سطح یک درصد بر فاکتور انتقال روی معنی‌دار بود (جدول ۱). همان‌گونه که در شکل ۱۰ مشاهده می‌شود با افزایش غلظت روی در خاک فاکتور انتقال کاهش یافت. در گیاهان بدون تنش فاکتور انتقال به‌طور متوسط ۰/۱۹۵ بود درحالی‌که در گیاهان در معرض ۷۵۰ میلی‌گرم روی به ۰/۱۱ رسید. کلونیزاسیون ریشه گیاهان توسط قارچ *P. indica* سبب کاهش فاکتور انتقال فلز روی در گیاهان در معرض تنش گردید، به‌گونه‌ای که در گیاهان تلقیح‌شده در معرض ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم روی، فاکتور انتقال به ترتیب ۳۲، ۳۰/۲ و ۲۱/۴ درصد کمتر از گیاهان تلقیح‌نشده بود. در مطالعه Shahabivand و همکاران (۲۰۲۰) نیز فاکتور انتقال کادمیوم در گیاهان آفتابگردان و *Alyssum montanum* بر اثر همزیستی با قارچ *P. indica* کاهش یافت. جذب فلزات سنگین توسط کیتین یا گروه‌های کربوکسیل گلوکورونیک اسید و مانورونیک اسید موجود در دیواره سلولی قارچ (Shahabivand *et al*., 2020; Moh *et al*., 2017; Dabra *et al*., 2019) به همراه قابلیت انباشت این دسته از فلزات در واکوئل (Mohd *et al*., 2017) می‌تواند از جمله دلایل کاهش فاکتور انتقال فلز روی در در گیاهان ارزن تلقیح‌شده با قارچ *P. indica* باشد.

بررسی اثر متقابل روی و ترکیبات کاهنده تنش (شکل ۱۱) نشان می‌دهد که محلول‌پاشی برگی سلنیوم در غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم روی به‌طور معنی‌داری سبب کاهش فاکتور انتقال روی شد. استفاده از اکسید نیتریک خارجی نیز فاکتور انتقال گیاهان در معرض ۲۵۰ تا ۷۵۰ میلی‌گرم روی را به ترتیب ۵/۶، ۵/۹ و ۳/۴ درصد در مقایسه با شاهد کاهش داد. کاهش فاکتور انتقال فلزات سنگین بر اثر استفاده از سلنیوم

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]




**شکل ۱۰- مقایسه میانگین اثر متقابل روی و قارچ بر فاکتور انتقال. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.**




**شکل ۱۱- مقایسه میانگین اثر متقابل روی و ترکیبات کاهنده تنش بر فاکتور انتقال. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.**

توسط Huang و همکاران (۲۰۲۱) و Tang و همکاران (۲۰۱۵) در گیاهچه‌های برنج و *Boehmeria nivea* در معرض کادمیوم نیز گزارش شده است. تأثیر سلنیوم بر کاهش جذب فلزات سنگین (Feng *et al.*, 2021) و کاهش بیان ژن‌های مرتبط با انتقال این دسته از فلزات به اندام هوایی گیاهان (Huaeg *et al.*, 2021) از جمله عوامل مؤثر بر کاهش فاکتور انتقال در گیاهان تیمارشده با این ترکیب محسوب می‌شود. همسو با نتایج به دست آمده در این مطالعه، Namdjoyan و همکاران (۲۰۱۷) نیز گزارش نمودند که فاکتور انتقال فلز روی در اثر استفاده از اکسید نیتریک خارجی کاهش یافت. کاهش جذب روی از جمله دلایل کاهش فاکتور انتقال فلز روی محسوب می‌شود (Namdjoyan *et al.*, 2017). علاوه‌براین، مشابه نتایج مطالعه Tripathi و همکاران (۲۰۱۷) در خصوص کاهش محتوی روی در شیره آوند چوبی گیاه گندم در معرض نانوذرات اکسید روی، ممکن است به نظر رسد اکسید نیتریک خارجی از طریق کاهش بیان ژن‌های مربوط به انتقال این فلز

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]

**جدول ۲- تجزیه واریانس اثر روی، قارچ و ترکیبات کاهنده تنش بر ماده خشک کل و ماده خشک دانه**

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | |
|---|---|---|---|
| | | ماده خشک کل | ماده خشک دانه |
| روی (Z) | ۳ | ۴۵/۵۴$^{**}$ | ۸/۰۲$^{**}$ |
| قارچ (P) | ۱ | ۴۴/۵۸$^{**}$ | ۶/۵۸$^{**}$ |
| ترکیبات کاهنده تنش (F) | ۲ | ۳/۳۳$^{**}$ | ۰/۳۷$^{**}$ |
| Z × P | ۳ | ۱/۰۱$^{**}$ | ۰/۲۵$^{**}$ |
| Z × F | ۶ | ۰/۴۱$^{*}$ | ۰/۰۶$^{**}$ |
| P × F | ۲ | ۰/۱۳ $^{ns}$ | ۰/۰۱ $^{ns}$ |
| Z × P × F | ۶ | ۰/۳۶$^{*}$ | ۰/۰۳$^{*}$ |
| خطا | ۴۸ | ۰/۱۵ | ۰/۰۱ |
| ضریب تغییرات (٪) | | ۹/۷۸ | ۹/۲ |
| برش‌دهی اثر متقابل سه‌گانه ( Z × P × F) براساس قارچ | | | |
| عدم حضور قارچ | ۱۴ | ۴/۸۹$^{**}$ | ۰/۷۷$^{**}$ |
| حضور قارچ | ۱۴ | ۸/۸۵$^{**}$ | ۱/۶۰$^{**}$ |

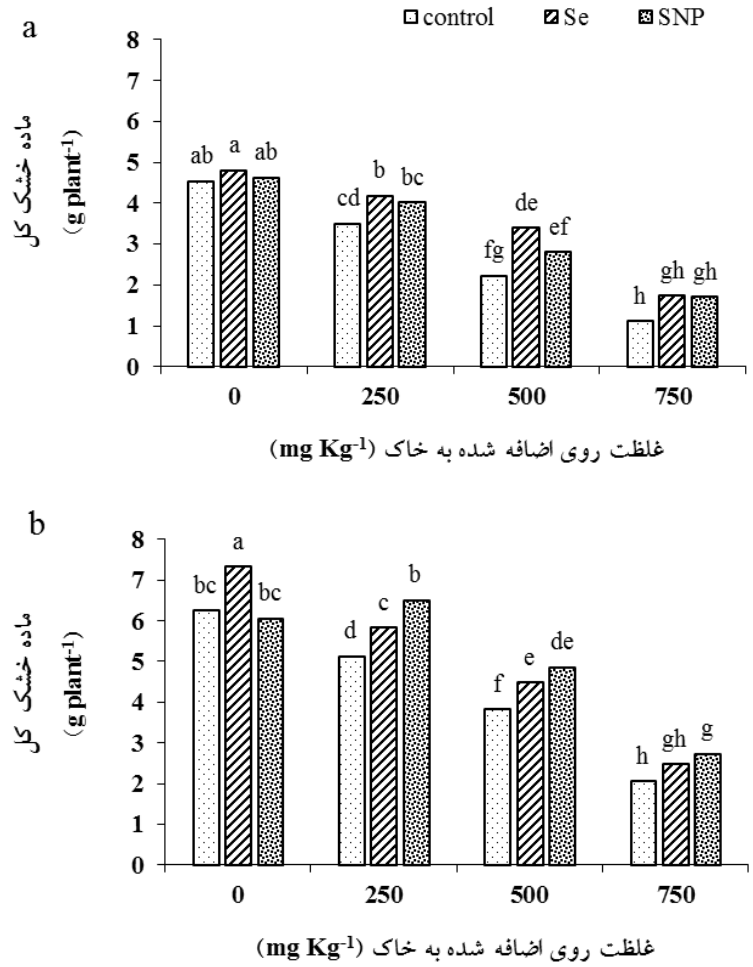
****، *و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح یک درصد، پنج درصد و غیرمعنی‌دار**

به اندام هوایی نیز در کاهش فاکتور انتقال نقش داشته باشد.

**ماده خشک کل:** براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) تأثیر روی، قارچ و ترکیبات کاهنده تنش به همراه کلیه اثرات متقابل به استثناء اثر متقابل قارچ و ترکیبات کاهنده بر ماده خشک کل معنی‌دار بود. نتایج حاصل از برش‌دهی اثر متقابل سه‌گانه براساس قارچ *P. indica* نشان می‌دهد که تأثیر حضور و یا عدم‌حضور قارچ بر ماده خشک کل گیاهان مورد آزمایش معنی‌دار است (جدول ۲). در شرایط عدم‌حضور قارچ، استفاده از سلنیوم در گیاهان در معرض غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم روی ماده خشک کل را به‌طور معنی‌داری افزایش داد اما تأثیر نیتروپروساید سدیم به لحاظ آماری معنی‌دار نبود (شکل ۱۲a). در شرایط حضور قارچ نیز محلول‌پاشی برگی سلنیوم و یا نیتروپروساید سدیم سبب افزایش ماده خشک کل در گیاهان در معرض سمیت روی شد (شکل ۱۲b). در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم روی تأثیر مثبت اکسید نیتریک بیشتر از سلنیوم بود، به‌گونه‌ای که ماده خشک کل گیاهان بر اثر استفاده از نیتروپروساید سدیم ۲۶/۹ درصد افزایش یافت و تأثیر مثبت سلنیوم ۱۳/۶ درصد بود. در غلظت‌های ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم روی، تفاوت معنی‌داری بین سلنیوم و نیتروپروساید سدیم مشاهد نشد و ماده خشک کل گیاهان تلقیح‌شده بر اثر تیمار با این دو ترکیب به ترتیب (۱۶/۹ و ۲۶/۸) و (۲۰/۳ و ۳۲/۵) درصد افزایش یافت (شکل ۱۲b). افزایش شاخص سبزینگی برگ، بهبود پارامترهای فتوسنتزی و افزایش محتوای پرولین در گیاهان تیمارشده با سلنیوم و یا نیتروپروساید سدیم از جمله عوامل مؤثر بر بهبود ماده خشک کل گیاهان محسوب می‌شود. علاوه‌براین با توجه به این‌که گزارش شده سطح اکسید نیتریک درونی گیاهان همزیست با قارچ‌های اندوفیت افزایش می‌یابد (Martinez-Medina *et al.*, 2019; Zou *et al.*, 2017)، به نظر می‌رسد تأثیر بیشتر استفاده از اکسید نیتریک نسبت به سلنیوم بر ماده خشک گیاهان در شرایط حضور قارچ می‌تواند به دلیل هم‌افزایی اکسید نیتریک درونی و بیرونی باشد.

**ماده خشک دانه:** همان گونه که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، اثر روی، قارچ و تنش به همراه کلیه اثرات متقابل به

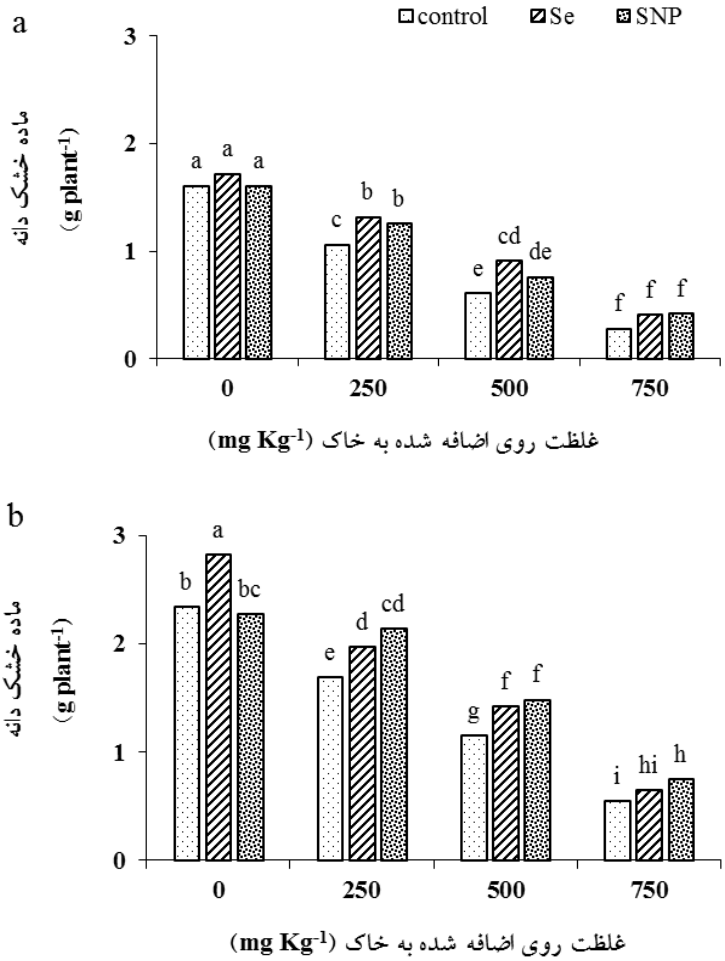
[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]




**شکل ۱۲- مقایسه میانگین اثر متقابل روی و ترکیبات کاهنده تنش بر** ماده خشک **کل در شرایط (a) عدم حضور قارچ و (b) حضور قارچ. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.**

استثناء اثر متقابل قارچ و ترکیبات کاهنده تنش بر بر ماده خشک دانه معنی‌دار بود. نتایج حاصل از برش‌دهی اثر متقابل سه‌گانه براساس قارچ نشان داد که تأثیر حضور و عدم‌حضور قارچ بر ماده خشک دانه در سطح یک درصد معنی‌دار است (جدول ۲). در شرایط عدم‌حضور قارچ و در غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم روی، محلول‌پاشی برگی سلنیوم و نیتروپروساید سدیم ماده خشک دانه را به ترتیب (۲۴/۵ و ۱۸/۸) و (۴۹/۱ و ۲۴/۵) درصد افزایش داد و تفاوت معنی‌داری بین آنها وجود نداشت. در بالاترین سطح تنش تأثیر استفاده از این ترکیبات به لحاظ آماری معنی‌دار نبود (شکل ۱۳a). در شرایط حضور قارچ نیز استفاده از ترکیبات کاهنده تنش سبب افزایش ماده خشک دانه گیاهان در معرض تنش در مقایسه با شاهد شد و اگرچه تأثیر مثبت استفاده از اکسید نیتریک خارجی در مقایسه با سلنیوم بیشتر بود اما تفاوت آنها به لحاظ آماری معنی‌دار نگردید (شکل ۱۳b). بهبود ماده خشک دانه گیاهان در اثر تیمار با سلنیوم توسط Sher و همکاران (۲۰۲۲) در گیاه گلرنگ نیز گزارش شده است. در ارتباط با تأثیر مثبت محلول‌پاشی برگی نیتروپروساید سدیم بر ماده خشک دانه نیز نتایج مشابهی در گندم (Farooq *et al.*, 2017) وجود دارد. به نظر می‌رسد بهبود پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نظیر فتوسنتز و محتوای پرولین در گیاهان تیمارشده با ترکیبات کاهنده تنش و در نتیجه افزایش رشد و بیومس تولیدی گیاهان می‌تواند در افزایش ماده خشک دانه مؤثر باشد.

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]




**شکل ۱۳- مقایسه میانگین اثر متقابل روی و ترکیبات کاهنده تنش بر ماده خشک دانه در شرایط (a) عدم حضور قارچ و (b) حضور قارچ. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.**

## نتیجه‌گیری

حضور قارچ *P. indica* تأثیر منفی تنش سمیت روی بر شاخص سبزینگی برگ، پارامترهای فتوسنتزی و ماده خشک گیاهان را کاهش داد. علاوه‌براین، محلول‌پاشی برگی سلنیوم و نیتروپروساید سدیم سبب بهبود شاخص‌های فوق شد. در حضور قارچ، تأثیر مثبت استفاده از اکسید نیتریک خارجی بر شاخص سبزینگی برگ، سرعت فتوسنتز خالص و ماده خشک کل گیاهان در معرض تنش در مقایسه با سلنیوم بیشتر بود. به نظر می‌رسد افزایش محتوی اکسید نیتریک درونی به دنبال تلقیح با قارچ از یک‌سو و تیمار گیاهان با اکسید نیتریک خارجی از سوی دیگر سبب تأثیر مضاعف استفاده از نیتروپروساید سدیم در گیاهان تلقیح‌شده در معرض تنش گردیده است. فاکتور انتقال فلز روی با افزایش غلظت این عنصر در خاک کاهش یافت، به‌گونه‌ای که در گیاهان در معرض ۷۵۰ میلی‌گرم روی فاکتور انتقال ۴۲ درصد کمتر از گیاهان بدون تنش (شاهد) بود. علاوه‌براین، تلقیح گیاهان در معرض تنش با قارچ *P. indica* و یا استفاده از سلنیوم و نیتروپروساید سدیم نیز باعث کاهش معنی‌دار فاکتور انتقال عنصر روی گردید. در مجموع با توجه به این‌که بیشترین مقدار پارامترهای فتوسنتزی، ماده خشک کل و عملکرد دانه به همراه کمترین مقدار فاکتور انتقال عنصر روی در شرایط حضور قارچ و استفاده همزمان از سلنیوم و یا SNP حاصل شد، به نظر می‌رسد بهره‌گیری از هم‌افزایی بین ترکیبات تعدیل‌کننده تنش مورد استفاده بالاخص نیتروپروساید سدیم و قارچ *P. indica*

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]

در جهت تخفیف اثرات منفی تنش فزونی روی و افزایش تحمل گیاه ارزن به تنش مذکور می‌تواند مفید واقع شده و قابل توصیه است.

## منابع


خواجه‌پور، محمدرضا (۱۳۹۲) غلات. مرکز انتشارات جهاد دانشگاهی، اصفهان.

Abdulmajeed, A. M., Alnusairi, G. S., Alharbi, M. H., Almushhin, A., Hasan, M. M., & Soliman, M. H. (2021). Alleviation of copper phytotoxicity by acetylsalicylic acid and nitric oxide application in mung bean involves the up-regulation of antioxidants, osmolytes and glyoxalase system. *Journal of Plant Interactions, 16*(1), 201-212. https://doi.org/10.1080/17429145.2021.1922771

Ahmad, P., Ahanger, M. A., Alyemeni, M. N., Wijaya, L., & Alam, P. (2018). Exogenous application of nitric oxide modulates osmolyte metabolism, antioxidants, enzymes of ascorbate-glutathione cycle and promotes growth under cadmium stress in tomato. *Protoplasma, 255*(1), 79-93. https://doi.org/10.1007/s00709-017-1132-x

Ahmad, P., Alam, P., Balawi, T. H., Altalayan, F. H., Ahanger, M. A., & Ashraf, M. (2020). Sodium nitroprusside (SNP) improves tolerance to arsenic (As) toxicity in *Vicia faba* through the modifications of biochemical attributes, antioxidants, ascorbate-glutathione cycle and glyoxalase cycle. *Chemosphere, 244*, 125480. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125480

Akladious, S. A. & Mohamed, H. I. (2017). Physiological role of exogenous nitric oxide in improving performance, yield and some biochemical aspects of sunflower plant under zinc stress. *Acta Biologica Hungarica*, *68*(1), 101-114. https://doi.org/10.1556/018.68.2017.1.9

Ashraf, M. A., Akbar, A., Parveen, A., Rasheed, R., Hussain, I., & Iqbal, M. (2018). Phenological application of selenium differentially improves growth, oxidative defense and ion homeostasis in maize under salinity stress. *Plant Physiology and Biochemistry, 123*, 268-280. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.12.023

Aslam, M. M., Karanja, J., & Bello, S. K. (2019). *Piriformospora indica* colonization reprograms plants to improved P-uptake, enhanced crop performance, and biotic/abiotic stress tolerance. *Physiological and Molecular Plant Pathology, 106*, 232-237. https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2019.02.010

Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil, 39*(1), 205-207. https://doi.org/10.1007/BF00018060

Bernardini, A., Salvatori, E., Guerrini, V., Fusaro, L., Canepari, S., & Manes, F. (2016). Effects of high Zn and Pb concentrations on *Phragmites australis* (Cav.) Trin. Ex. Steudel: Photosynthetic performance and metal accumulation capacity under controlled conditions. *International Journal of Phytoremediation, 18*(1), 16-24. https://doi.org/10.1080/15226514.2015.1058327

Chen, W., Dong, Y., Hu, G., & Bai, X. (2018). Effects of exogenous nitric oxide on cadmium toxicity and antioxidative system in perennial ryegrass. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 18*(1), 129-143. http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162018005000601

Chen, Q., Zhang, X., Liu, Y., Wei, J., Shen, W., Shen, Z., & Cui, J. (2017). Hemin-mediated alleviation of zinc, lead and chromium toxicity is associated with elevated photosynthesis, antioxidative capacity; suppressed metal uptake and oxidative stress in rice seedlings. *Plant Growth Regulation, 81*(2), 253-264. https://doi.org/10.1007/s10725-016-0202-y

Dabral, S.,Varma, A., Choudhary, D. K., Bahuguna, R. N., & Nath, M. (2019). Biopriming with *Piriformospora indica* ameliorates cadmium stress in rice by lowering oxidative stress and cell death in root cells. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 186*, 109741. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109741

de Silva, N. D. G., Cholewa, E., & Ryser, P. (2012). Effects of combined drought and heavy metal stresses on xylem structure and hydraulic conductivity in red maple (*Acer rubrum* L.). *Journal of Experimental Botany, 63*(16), 5957-5966. https://doi.org/10.1093/jxb/ers241

dos Santos, L. R., da Silva ,B. R. S., Pedron, T., Batista, B. L., & da Silva Lobato, A. K. (2020). 24-Epibrassinolide improves root anatomy and antioxidant enzymes in soybean plants subjected to zinc stress. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 20*(1), 105-124. https://doi.org/10.1007/s42729-019-00105-z

Farooq, M., Nawaz, A., Chaudhary, M. A. M., & Rehman, A. (2017). Foliage-applied sodium nitroprusside and hydrogen peroxide improves resistance against terminal drought in bread wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science, 203*(6), 473-482. https://doi.org/10.1111/jac.12215

Feng, D., Wang, R., Zhang, C., & Liu, H. (2023). Heavy metal stress in plants: Ways to alleviate with exogenous substances. *Science of The Total Environment, 897*, 165397, https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165397

Feng, R., Wei, C., Tu, S., Tang, S., & Wu, F. (2011). Detoxification of antimony by selenium and their interaction in paddy rice under hydroponic conditions. *Microchemical Journal, 97*(1), 57-61. https://doi.org/10.1016/j.microc.2010.06.003


[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]

Feng, R., Zhao, P., Zhu, Y., Yang, J., Wei, X., Yang, L., Liu, H., Rensing, C., & Ding, Y. (2021). Application of inorganic selenium to reduce accumulation and toxicity of metals and metalloids in plants: The main mechanisms, concerns, and risks. *Science of the Total Environment*, 144776. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144776

Filek, M., Gzyl-Malcher, B., Zembala, M., Bednarska, E., Laggner, P., & Kriechbaum, M. (2010). Effect of selenium on characteristics of rape chloroplasts modified by cadmium. *Journal of Plant Physiology, 167*(1), 28-33. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.07.003

Filek, M., Keskinen, R., Hartikainen, H., Szarejko, I., Janiak, A., Miszalski, Z., & Golda, A. (2008). The protective role of selenium in rape seedlings subjected to cadmium stress. *Journal of Plant Physiology, 165*(8), 833-844. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.06.006

Gill, S. S., Gill, R., Trivedi, D. K., Anjum, N. A., Sharma, K. K., Ansari, M. W., Ansari, A., Johri, A., Prasad, R., & Pereira, E. (2016). *Piriformospora indica*: Potential and significance in plant stress tolerance. *Frontiers in Microbiology, 7*, 332 https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00332

Gong, B., Nie, W., Yan, Y., Gao, Z., & Shi, Q. (2017). Unravelling cadmium toxicity and nitric oxide induced tolerance in *Cucumis sativus*: Insight into regulatory mechanisms using proteomics. *Journal of Hazardous Materials, 336*, 202-213. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.04.058

Ghorbani, A., Pishkar, L., Roodbari, N., Pehlivan, N., & Wu, C. (2021a). Nitric oxide could allay arsenic phytotoxicity in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) by modulating photosynthetic pigments, phytochelatin metabolism, molecular redox status and arsenic sequestration. *Plant Physiology and Biochemistry, 167*, 337-348. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.08.019

Ghorbani, A., Tafteh, M., Roudbari, N., Pishkar, L., Zhang, W., & Wu, C. (2021b). *Piriformospora indica* augments arsenic tolerance in rice (*Oryza sativa*) by immobilizing arsenic in roots and improving iron translocation to shoots. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 209*, 111793. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111793

Gupta, K. J., Hancock, J. T., Petrivalsky, M., Kolbert, Z., Lindermayr, C., Durner, J., Barroso, J., Palma, J., Brouquisse, R., & Wendehenne, D. (2020). Recommendations on terminology and experimental best practice associated with plant nitric oxide research. *New Phytologist, 225*(5), 1828-1834. https://doi.org/10.1111/nph.16157

Gupta, M. & Gupta, S. (2017). An overview of selenium uptake, metabolism, and toxicity in plants. *Frontiers in Plant Science, 7*, 2074. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02074

Habiyaremye, C., Matanguihan, J. B., D'Alpoim Guedes, J., Ganjyal, G. M., Whiteman, M. R., Kidwell, K. K., & Murphy, K. M. (2017) Proso millet (*Panicum miliaceum* L.) and its potential for cultivation in the Pacific Northwest, US: A review. *Frontiers in Plant Science, 7*, 1961. 10.3389/fpls.2016.01961

Handa, N., Kohli, S., Sharma, A., Thukral, A., Bhardwaj, R., Alyemeni, M., Wijaya, L., & Ahmad, P. (2018). Selenium ameliorates chromium toxicity through modifications in pigment system, antioxidative capacity, osmotic system, and metal chelators in *Brassica juncea* seedlings. South *African Journal of Botany, 119*, 1-10. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.08.003

Hawrylak-Nowak, B., Dresler, S., Rubinowska, K., Matraszek-Gawron, R., Woch, W., & Hasanuzzaman, M. (2018). Selenium biofortification enhances the growth and alters the physiological response of lamb's lettuce grown under high temperature stress. *Plant Physiology and Biochemistry, 127*, 446-456. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.04.018

He, J., Wang, Y., Ding, H., & Ge, C. (2016). Epibrassinolide confers zinc stress tolerance by regulating antioxidant enzyme responses, osmolytes, and hormonal balance in *Solanum melongena* seedlings. *Brazilian Journal of Botany, 39*(1), 295-303. https://doi.org/10.1007/s40415-015-0210-6

Hoenig, M. (2003). Dry Ashing Comprehensive Analytical Chemistry. Elsevier.

Huang, H., Li, M., Rizwan, M., Dai, Z., Yuan, Y., Hossain, M. M., Cao, M., Xiong, S., & Tu, S. (2021). Synergistic effect of silicon and selenium on the alleviation of cadmium toxicity in rice plants. *Journal of Hazardous Materials, 401*, 123393. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123393

Ibiang, Y. B., Mitsumoto, H., & Sakamoto, K. (2017). Bradyrhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi modulate manganese, iron, phosphorus, and polyphenols in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) under excess zinc. *Environmental and Experimental Botany, 137*, 1-13. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.01.011

Kaya, C. (2016). Nitric oxide improves high zinc tolerance in maize plants. *Journal of Plant Nutrition, 39*(14), 2072-2078. https://doi.org/10.1080/01904167.2016.1193603

Kaya, C., Ashraf, M., & Akram, N. A. (2018). Hydrogen sulfide regulates the levels of key metabolites and antioxidant defense system to counteract oxidative stress in pepper (*Capsicum annuum* L.) plants exposed to high zinc regime. *Environmental Science and Pollution Research, 25*(13), 12612-12618. https://doi.org/10.1007/s11356-018-1510-8

Khairy, A. I. H., Oh, M. J., Lee, S. M., & Roh, K. S. (2016). Nitric oxide overcomes Cd and Cu toxicity in in vitro-grown tobacco plants through increasing contents and activities of rubisco and rubisco activase. *Biochimie Open, 2*, 41-51. https://doi.org/10.1016/j.biopen.2016.02.002

Khalid, M., Saeed, U. R., Haoxin, T., Lantian, S., Pei, Z., & Nan, H. (2022). Mutualistic fungus *Piriformospora indica* modulates cadmium phytoremediation properties of host plant via concerted action of enzymatic and non-enzymatic

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]

biochemicals. *Pedosphere*, *32*(2), 256-267. https://doi.org/10.1016/S1002-0160(21)60014-0

Khan, M. I. R., Jahan, B., Alajmi, M. F., Rehman, M. T., & Khan, N. A. (2019). Exogenously-sourced ethylene modulates defense mechanisms and promotes tolerance to zinc stress in mustard (*Brassica juncea* L.). *Plants, 8*(12), 540. https://doi.org/10.3390/plants8120540

Khan, M. I. R., Nazir, F., Asgher, M., Per, T. S., & Khan, N. A. (2015). Selenium and sulfur influence ethylene formation and alleviate cadmium-induced oxidative stress by improving proline and glutathione production in wheat. *Journal of Plant Physiology*, *173*, 9-18. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.09.011

Khanna, K., Kohli, S. K., Bali, S., Kaur, P., Saini, P., Bakshi, P., Ohri, P., Mir, B., & Bhardwaj, R. (2018). Role of micro-organisms in modulating antioxidant defence in plants exposed to metal toxicity. In: Plants Under Metal and Metalloid Stress. Pp. 303-335. Springer.

Kishor, P. K., Sangam, S., Amrutha, R., Laxmi, P. S., Naidu, K., Rao, K. S., Rao, S., Reddy, K., Theriappan, P., & Sreenivasulu, N. (2005). Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Science*, 424-438. https://www.jstor.org/stable/24110209

Kong, X., Wang, T., Li, W., Tang, W., Zhang, D., & Dong, H. (2016). Exogenous nitric oxide delays salt-induced leaf senescence in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Acta Physiologiae Plantarum, 38*(3), 61. https://doi.org/10.1007/s11738-016-2079-9

Lanza, M. G. D. B. & Dos Reis, A. R. (2021). Roles of selenium in mineral plant nutrition: ROS scavenging responses against abiotic stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.04.026

Li, G., Li, C., Rengel, Z., Liu, H., & Zhao, P. (2020). Excess Zn-induced changes in physiological parameters and expression levels of TaZips in two wheat genotypes. *Environmental and Experimental Botany*, *177*, 104133. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104133

Li, X., Yang, Y., Jia, L., Chen, H., & Wei, X. (2013). Zinc-induced oxidative damage, antioxidant enzyme response and proline metabolism in roots and leaves of wheat plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 89*, 150-157. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.11.025

Liu, B., Jing, D., Liu, F., Ma, H., Liu, X., & Peng, L. (2021). *Serendipita indica* alleviates drought stress responses in walnut (*Juglans regia* L.) seedlings by stimulating osmotic adjustment and antioxidant defense system. *Applied Microbiology and Biotechnology, 105*(23), 8951-8968. https://doi.org/10.1007/s00253-021-11653-9

Malik, J. A., Goel, S., Kaur, N., Sharma, S., Singh, I., & Nayyar, H. (2012). Selenium antagonises the toxic effects of arsenic on mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.) plants by restricting its uptake and enhancing the antioxidative and detoxification mechanisms. *Environmental and Experimental Botany*, *77*, 242-248. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.12.001

Martinez-Medina, A., Pescador, L., Terron-Camero, L. C., Pozo, M. J., & Romero-Puertas, M. C. (2019). Nitric oxide in plant–fungal interactions. *Journal of Experimental Botany, 70*(17), 4489-4503. https://doi.org/10.1093/jxb/erz289

Mohd, S., Shukla, J., Kushwaha, A. S., Mandrah, K., Shankar, J., Arjaria, N., Saxena, P., Narayan, R., Roy, S., & Kumar, M. (2017). Endophytic fungi *Piriformospora indica* mediated protection of host from arsenic toxicity. *Frontiers in Microbiology, 8*, 754. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00754

Mur, L. A., Mandon, J., Persijn, S., Cristescu, S. M., Moshkov, I. E., Novikova, G. V., Hall, M. A., Harren, F. J., Hebelstrup, K. H., & Gupta, K. J. (2013). Nitric oxide in plants: An assessment of the current state of knowledge. *AoB Plants, 5*. https://doi.org/10.1093/aobpla/pls052

Namdjoyan, S., Kermanian, H., Soorki, A. A., Tabatabaei, S. M., & Elyasi, N. (2017). Interactive effects of salicylic acid and nitric oxide in alleviating zinc toxicity of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Ecotoxicology, 26*(6), 752-761. https://doi.org/10.1007/s10646-017-1806-3

Naz, F. S., Yusuf, M., Khan, T. A., Fariduddin, Q., & Ahmad, A. (2015). Low level of selenium increases the efficacy of 24-epibrassinolide through altered physiological and biochemical traits of *Brassica juncea* plant. *Food Chemistry*, *185*, 441-448. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.016

Oelmuller, R., Sherameti, I., Tripathi, S., & Varma, A. (2009). *Piriformospora indica*, a cultivable root endophyte with multiple biotechnological applications. *Symbiosis, 49*(1), 1-17. https://doi.org/10.1007/s13199-009-0009-y

Ouni, Y., Mateos-Naranjo, E., Abdelly, C., & Lakhdar, A. (2016). Interactive effect of salinity and zinc stress on growth and photosynthetic responses of the perennial grass, *Polypogon monspeliensis*. *Ecological Engineering, 95*, 171-179. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.06.067

Pazurkiewicz-Kocot, K., Galas, W., & Kita, A. (2003). The effect of selenium on the accumulation of some metals in *Zea mays* L. plants treated with indole-3-acetic acid. *Cellular and Molecular Biology Letters, 8*(1), 97-104.

Per, T. S., Masood, A., & Khan, N. A. (2017). Nitric oxide improves S-assimilation and GSH production to prevent inhibitory effects of cadmium stress on photosynthesis in mustard (*Brassica juncea* L.). *Nitric Oxide, 68*, 111-124 https://doi.org/10.1016/j.niox.2016.12.012

Sagardoy, R., Vazquez, S., Florez-Sarasa, I., Albacete, A., Ribas-Carbo, M., Flexas, J., Abadia, J., & Morales, F. (2010). Stomatal and mesophyll conductances to $CO_2$ are the main limitations to photosynthesis in sugar beet (*Beta*

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]

*vulgaris*) plants grown with excess zinc. *New Phytologist, 187*(1), 145-158. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03241.x

Sagonda, T., Adil, M. F., Sehar, S., Rasheed, A., Joan, H. I., Ouyang, Y., & Shamsi, I. H. (2021). Physio-ultrastructural footprints and iTRAQ-based proteomic approach unravel the role of *Piriformospora indica*-colonization in counteracting cadmium toxicity in rice. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 220*, 112390. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112390

Sahay, S. & Gupta, M. (2017). An update on nitric oxide and its benign role in plant responses under metal stress. *Nitric Oxide, 67*, 39-52. https://doi.org/10.1016/j.niox.2017.04.011

Saxena, I. & Shekhawat, G. (2013). Nitric oxide (NO) in alleviation of heavy metal induced phytotoxicity and its role in protein nitration. *Nitric Oxide, 32*, 13-20. https://doi.org/10.1016/j.niox.2013.03.004

Sepehri, A. & Gharehbaghli, N. (2019). Selenium alleviate cadmium toxicity by improving nutrient uptake, antioxidative and photosynthetic responses of garlic. *Russian Journal of Plant Physiology, 66*(1), 152-159. https://doi.org/10.1134/S1021443719010151

Shahabivand, S., Parvaneh, A., & Aliloo, A. A. (2020). Different response of *Alyssum montanum* and *Helianthus annuus* to cadmium bioaccumulation mediated by the endophyte fungus *Serendipita indica*. *Acta Ecologica Sinica, 40*(4), 315-322 . https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2019.09.002

Shams, M., Ekinci, M., Ors, S., Turan, M., Agar, G., Kul, R., & Yildirim, E. (2019). Nitric oxide mitigates salt stress effects of pepper seedlings by altering nutrient uptake, enzyme activity and osmolyte accumulation. *Physiology and Molecular Biology of Plants, 25*(5), 1149-1161. https://doi.org/10.1007/s12298-019-00692-2

Sharma, S. S. & Dietz, K. J. (2006). The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *Journal of Experimental Botany, 57*(4), 711-726. https://doi.org/10.1093/jxb/erj073

Sher, A., Ul-Allah, S., Sattar, A., Ijaz, M., Ahmad, W., Bibi, Y., & Qayyum, A. (2022). The effect of selenium concentration on the quantitative and qualitative yield of four safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 1-7. https://doi.org/10.1007/s42729-022-00834-8

Sidhu, G. P. S. (2016). Physiological, biochemical and molecular mechanisms of zinc uptake, toxicity and tolerance in plants. *Journal of Global Biosciences, 5*(9), 4603-4633.

Sidhu, G. P. S., Bali, A. S., Singh, H. P., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2020). Insights into the tolerance and phytoremediation potential of *Coronopus didymus* L.(Sm) grown under zinc stress. *Chemosphere, 244*, 125350. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125350

Singh, R. P., Mishra, S., Jha, P., Raghuvanshi, S., & Jha, P. N. (2018). Effect of inoculation of zinc-resistant bacterium *Enterobacter ludwigii* CDP-14 on growth, biochemical parameters and zinc uptake in wheat (*Triticum aestivum* L.) plant. *Ecological Engineering, 116*, 163-173. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.12.033

Sun, H., Dai, H., Wang, X., & Wang, G. (2016). Physiological and proteomic analysis of selenium-mediated tolerance to Cd stress in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety, 133*, 114-126. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.07.003

Tang, H., Liu, Y., Gong, X., Zeng, G., Zheng, B., Wang, D., Sun, Z., Zhou, L., & Zeng, X. (2015). Effects of selenium and silicon on enhancing antioxidative capacity in ramie (*Boehmeria nivea* (L.) Gaud.) under cadmium stress. *Environmental Science and Pollution Research, 22*(13), 9999-10008. https://doi.org/10.1007/s11356-015-4187-2

Tripathi, D. K., Mishra, R. K., Singh ,S., Singh, S., Singh, V. P., Singh, P. K., Chauhan, D., Prasad, S., Dubey, N., & Pandey, A. C. (2017). Nitric oxide ameliorates zinc oxide nanoparticles phytotoxicity in wheat seedlings: Implication of the ascorbate-glutathione cycle. *Frontiers in Plant Science, 8*, 1. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00001

Vassilev, A., Nikolova, A., Koleva, L., & Lidon, F. (2011). Effects of excess Zn on growth and photosynthetic performance of young bean plants. *Journal of Phytology, 3*(6), 58-62.

Wei, L., Zhang, J., Wang, C., & Liao, W. (2020). Recent progress in the knowledge on the alleviating effect of nitric oxide on heavy metal stress in plants. *Plant Physiology and Biochemistry, 147*, 161-171. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.12.021

Wodala, B., Deak, Z., Vass, I., Erdei, L., Altorjay, I., & Horvath, F. (2008). In vivo target sites of nitric oxide in photosynthetic electron transport as studied by chlorophyll fluorescence in pea leaves. *Plant Physiology, 146*(4), 1920-1927. https://doi.org/10.1104/pp.107.110205

Yu, Y., Liu, Y., Luo, S., & Peng, X. (2003). Effects of selenium on soybean chloroplast ultra-structure and microelement content of soybean leaves under continuous cropping stress. *The Journal of Applied Ecology, 14*(4), 573-576.

Yusuf, M., Khan, T. A., & Fariduddin, Q. (2016). Interaction of epibrassinolide and selenium ameliorates the excess copper in *Brassica juncea* through altered proline metabolism and antioxidants. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 129*, 25-34. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.03.001

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]

Zhang, L. P., Mehta, S. K., Liu, Z. P., & Yang, Z. M. (2008). Copper-induced proline synthesis is associated with nitric oxide generation in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant and Cell Physiology*, *49*(3), 411-419. https://doi.org/10.1093/pcp/pcn017

Zhao, Y., Hu, C., Wang, X., Qing, X., Wang, P., Zhang, Y., Zhang, X., & Zhao, X. (2019). Selenium alleviated chromium stress in Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. Pekinensis) by regulating root morphology and metal element uptake. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *173*, 314-321. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.090

Zou, Y. N., Wang, P., Liu, C. Y., Ni, Q. D., Zhang, D. J., & Wu, Q. S. (2017). Mycorrhizal trifoliate orange has greater root adaptation of morphology and phytohormones in response to drought stress. *Scientific Reports*, *7*(1), 1-10. https://doi.org/10.1038/srep41134

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]

# Effect of foliar spraying of alleviating stress compounds on photosynthesis indices and dry matter of proso millet (*Panicum miliaceum*) under zinc stress and *Piriformospora indica* fungus

**Maryam Saman [1] and Ali Sepehri [2*]**

**[1] Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran; Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran**
**[2] Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran**
**(Received: 2023/10/30, Accepted: 2023/12/25)**

**Abstract**

Contamination of agricultural lands with heavy metals is one of the important environmental problems that endanger the growth and yield of plants .The present experiment was carried out to investigate the possibility of using the biological potential of the fungus *Piriformospora indica* along with the use of biochemical oxidative stress-alleviating compounds to reduce the negative effects of zinc toxicity stress in proso millet plants. The experiment was conducted in a factorial, completely randomized design with three replicates. The investigated factors consist of four concentrations of zinc (0, 250, 500 and 750 mg per kilogram of soil), *P. indica* fungus at two levels (inoculation and non-inoculation) and foliar spraying of stress-reducing compounds at three levels (sodium selenate, sodium nitroprusside (SNP) and water). The results showed that the leaf greenness index, net photosynthesis rate, stomatal conductance, substomatal $CO_2$ concentration and transpiration rate of stressed plants were significantly lower than control .In addition, during zinc toxicity stress, the total dry matter and seed dry matter of plants also decreased. Inoculation with fungus or treatment with selenium and SNP improved chlorophyll content, photosynthetic parameters, growth and yield of plants, and the highest values of the above parameters were obtained in the presence of fungus and simultaneous use of selenium or SNP .Foliar spraying of stress-alleviating compounds was also associated with an increase in the proline content of plants. In conclusion, considering that the highest amount of photosynthetic parameters, total dry matter and seed dry matter, along with the lowest amount of zinc translocation factor, were obtained in the presence of the fungus and the simultaneous use of selenium or SNP, it seems that the utilization of synergistic effects of stress reducing compounds, especially SNP, in the presence of *P. indica* can be considered a proper approach to reduce the negative effects of excess zinc stress and increase millet plant tolerance.

**Keywords**: Endophyte fungus, Nitric oxide, Photosynthesis, Proso millet, Selenium

Corresponding author, Email: a_sepehri@basu.ac.ir

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19 ]