فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۳، شماره ۶۳، آذر و دی‌ماه ۱۴۰۳ صفحه: ۱۴۵-۱۵۸
https://doi.org/10.22034/13.63.145

مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر شوری و همزیستی میکوریزایی بر برخی صفات فیزیولوژیک و بیان دو ژن ترانسپورتر *HvNHX2* و *HvHKT1;5* در لاین‌های دابل‌هاپلوئید جو

رقیه عظیم‌خانی[۱]، رضا فتوت[۱]، احسان محسنی‌فرد*[۱]، ناصر علی‌اصغرزاد[۲] و مریم ندیمی[۳]

[۱] گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

[۲] گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

[۳] مرکز تحقیقات زیست‌شناسی گیاهی، گروه علوم زیستی، دانشگاه مونترال، مونترال، کانادا

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۱۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۰۴/۱۲)

چکیده

به‌منظور ارزیابی تحمل لاین‌های جمعیت Oregon Wolfe Barley جو نسبت به شوری و تأثیر همزیستی با قارچ میکوریز آربسکولار بر آن، پژوهشی بر روی ۱۲ لاین، در گلخانه دانشگاه زنجان اجرا شد. همزیستی در دو سطح (تلقیح یا عدم تلقیح با *Funneliformis mosseae*) و تنش شوری در دو سطح (NaCl صفر و ۱۵۰ میلی‌مولار) اعمال شد. وزن تر اندام هوایی، محتوای نسبی آب برگ، غلظت Na^+ و K^+ اندام‌های هوایی اندازه‌گیری شده و بیان دو ژن ترانسپورتر مهم *HvNHX2* و *HvHKT1;5* در ریشه گیاهان مورد بررسی قرار گرفت. بر اثر شوری، وزن تر اندام هوایی و محتوای نسبی آب برگ کاهش و نسبت Na^+/K^+ افزایش داشتند. همچنین، صفات مطالعه‌شده به شکل معنی‌داری تحت تأثیر همزیستی قرار گرفتند. آنالیز بیان ژن نشان داد تأثیر شوری و همزیستی بر بیان ژن *HvNHX2* در لاین‌ها مشابه نیست. ژن *HvHKT1;5* نیز بر اثر شوری افزایش بیان داشت که میزان افزایش در لاین‌ها متفاوت بود؛ همچنین در تیمار شوری، میزان این افزایش در گیاهان تلقیح‌شده با میکوریز کمتر از گیاهان تلقیح‌نشده بود. در مجموع، نتایج نشان داد بین لاین‌های مطالعه‌شده از نظر توانایی تنظیم تعادل یونی Na^+-K^+ تفاوت وجود داشت. همزیستی با قارچ میکوریز با وجود کاهش نسبت Na^+/K^+ نمی‌تواند تأثیر شوری بر لاین‌های جو را جبران کند که این امر می‌تواند ناشی از شدت تنش شوری اعمال‌شده، مکانیسم‌های تحمل شوری لاین‌ها و یا گونه قارچ باشد. علاوه‌براین، ارتباط بین بیان ژن *HvHKT1;5* و نسبت Na^+/K^+ می‌تواند نشان‌دهنده نقش این ژن در کاهش انتقال Na^+ به برگ‌ها و کمک به حفظ تعادل یونی اندام‌های هوایی گیاه جو باشد.

کلمات کلیدی: قارچ میکوریز آربسکولار، محتوای نسبی آب برگ، نسبت Na^+/K^+، وزن تر اندام هوایی

مقدمه

جو (*Hordeum vulgare* L.) یکی از مهم‌ترین غلات دانه ریز است که ارزش اقتصادی آن در جهان رو به افزایش است. گیاه جو محتمل‌ترین گیاه در بین غلات نسبت به شوری است و در مقایسه با غلاتی مانند گندم ژنوم نسبتاً ساده‌ای دارد؛ علاوه بر این تنوع ژنتیکی بالای جو و وجود جمعیت‌های تقشه‌یابی متعدد از این گیاه، آن را به گیاهی مناسب برای مطالعه مکانیسم‌های تحمل شوری تبدیل کرده است (Nice *et al.*,

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: mohsenifard.ehsan@znu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.145]

2017; Munns and Tester, 2008).

شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که تغییرات جهانی آب‌وهوا سبب تشدید تأثیرات مخرب آن شده است. در مقایسه با سایر استراتژی‌ها، بهبود تحمل گیاهان نسبت به شوری یک راه حل مؤثر برای جلوگیری از کاهش عملکرد گیاهان بر اثر تنش شوری است (Zeeshan *et al.*, 2020). افزایش غلظت نمک‌ها در گیاه، تعادل یون‌های مختلف به ویژه Na^+-K^+ را در سیتوپلاسم سلول به هم می‌زند. به‌هم خوردن تعادل یونی سلول و بافت گیاهی به‌نوبه خود ممکن است به کمبود K^+، تخریب آنزیم‌ها و رنگدانه‌های فنوسنتزی، تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال و در نهایت مسمومیت یونی و تنش اکسیداتیو منجر شود؛ در نتیجه مجموع این مشکلات عملکرد گیاه و قدرت زنده‌مانی آن کاهش می‌یابد (Singh *et al.*, 2021). تحمل شوری در گیاهان فرآیند پیچیده‌ای است که شامل مکانیسم‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مختلفی است. یکی از مهم‌ترین این مکانیسم‌ها تنظیم تعادل بین تجمع یون‌های پتاسیم و سدیم است. گیاهان از طریق این مکانیسم یون‌های Na^+ را خارج کرده و غلظت K^+ را بالا نگه می‌دارند تا تعادل یونی در سلول‌ها حفظ شود (Basu *et al.*, 2021). ترانسپورترهای یونی که در غشاء سلول و اندامک‌های سلولی قرار دارند اساس تنظیم تجمع یون‌های Na^+ هستند که با وجود افزایش غلظت یون Na^+ در اطراف ریشه، سبب تنظیم غلظت Na^+ در گیاه می‌شوند. آنتی‌پورترهای Na^+/H^+ یا NHX (N^+/H^+ antiporter) یکی از مهم‌ترین این ترانسپورترها هستند که در انتقال Na^+ از سیتوپلاسم به واکوئل یا خارج از سلول نقش دارند. ترانسپورترهای K^+ با تمایل بالا یا (K^+ High-affinity Transporters) HKT نیز گروه مهم دیگری هستند که نقش مهمی در بیرون کشیدن Na^+ از آوندهای چوبی و جلوگیری از تجمع آن در اندام‌های هوایی دارند. این ترانسپورترها ممکن است فقط در انتقال Na^+ نقش داشته باشند و یا اینکه به‌عنوان آنتی‌پورتر در انتقال هر دو یون Na^+ و K^+ نقش فعال ایفاء کنند (Baxter *et al.*, 2010; van Bezouw *et al.*, 2019).

آنتی‌پورترهای Na^+/H^+ می‌توانند دامنه‌ای از فرایندهای مختلف را درگیاه کنترل کنند (Bassil *et al.*, 2012). مطالعات مختلف ژنتیکی نقش ترانسپورترهای K^+ با تمایل بالا و آنتی‌پورترهای Na^+/H^+ در تحمل شوری گیاهان را تأیید می‌کنند (Qiu *et al.*, 2011; Jabeen *et al.*, 2022). باید توجه داشت که واکنش بیان ژن‌های مرتبط با تحمل شوری در گیاهان مختلف متفاوت بوده و بر اثر عواملی مانند ژنوتیپ گیاه، مرحله وقوع تنش و مدت زمانی که گیاه در معرض شوری قرار دارد تغییر می‌کند (Zeeshan *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2021). هر کدام از خانواده‌های ژنی *NHX* و *HKT* به گروه‌های کوچک‌تر تقسیم‌بندی می‌شوند (Ariyarathna *et al.*, 2016; Barragan *et al.*, 2012). در گیاه جو، چهار ایزوفرم از *NHX* شامل *HvHNX1*، *HvNHX2*، *HvNHX3* و *HvNHX4* شناسایی شده‌اند که رابطه بین بیان این ژن‌ها و مقاومت گیاه جو نسبت به تنش شوری مطالعه شده است (Jabeen *et al.*, 2022; Mian *et al.*, 2011). اهمیت ژن‌های *HKT*، از جمله *HKT1* و *HKT2* در تحمل شوری گیاه جو، توسط محققین مختلف تأیید شده است (Jabeen *et al.*, 2022; Qiu *et al.*, 2011). در مطالعه صورت گرفته توسط Jabeen و همکاران (۲۰۲۲) بیان ژن‌های *HvNHX1* و *HvNHX3* در ریشه ارقام متحمل جو در مقایسه با ارقام حساس بیشتر بود.

یکی از روش‌هایی که گیاهان طی تکامل خود برای مقابله با تنش‌ها انتخاب کرده‌اند، همزیستی با قارچ‌های میکوریز آربسکولار (Arbuscular mycorrhizal Fungi) است. همزیستی با این قارچ‌ها با تقویت مکانیسم‌های گیاه سبب بهبود رشد و افزایش تحمل گیاهان مختلف نسبت به تنش‌های محیطی می‌شود (Khalvati *et al.*, 2010; Huang *et al.*, 2013). در گیاه جو نیز تأثیر قارچ میکوریز بر افزایش تحمل گیاه نسبت به شوری، از طریق مکانیسم‌هایی مانند بهبود ویژگی‌های مورفولوژیک گیاه، تنظیم فعالیت آنزیم‌های مرتبط با سم‌زدایی سلولی و تقویت رشد ریشه‌ها، گزارش شده است (Hajiboland *et al.*, 2019; Khalvati *et al.*, 2010).

مطالعه حاضر به‌منظور بررسی تحمل شوری لاین‌های

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.145]

دابل‌هاپلوئید (Oregon Wolfe Barley) OWB جو و ارتباط بین بین تحمل شوری و تعادل یونی Na^+/K^+ این لاین‌ها، در حضور همزیستی با قارچ میکوریز انجام یافته است. همچنین در این مطالعه بیان دو ژن مهم کدکننده ترانسپورترهای *HvNHX2* و *HvHKT1;5* به‌منظور بررسی نقش این ژن‌ها در تحمل شوری لاین‌های دابل هاپلوئید جو بررسی شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر با استفاده از ۱۲ لاین دابل هاپلوئید جو از جمعیت OWB (جدول ۱) به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با سه تکرار، در گلخانه تحقیقاتی و آزمایشگاه بیوتکنولوژی گروه مهندسی ژنتیک و تولیدات گیاهی دانشگاه زنجان در سال‌های ۱۴۰۰– ۱۳۹۸ اجرا شد. فاکتورهای مورد مطالعه عبارت بودند از همزیستی با قارچ در دو سطح (تلقیح و عدم‌تلقیح با قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae*) و شوری در دو سطح (نمک NaCl با غلظت صفر (شاهد) و ۱۵۰ میلی‌مولار).

مایه تلقیح اولیه از مرکز تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شد و بر روی گیاه سورگوم تکثیر یافت. بذر لاین‌های OWB از مرکز تحقیقات کشاورزی استان زنجان تهیه و پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم یک درصد (v/v) در دمای ۲۵°C جوانه‌دار شدند. در هر گلدان پلاستیکی که با ۲/۵ کیلوگرم از مخلوط خاک مزرعه و ماسه (۲:۱ v/v) دوبار استریل پر شده بودند، پنج عدد بذر جوانه‌زده کشت شد. برای تلقیح با میکوریز در گلدان‌های دارای تیمار همزیستی، هنگام کشت ۴۰ گرم مایه تلقیح به هر گلدان افزوده شد و در مقابل گلدان‌های بدون تلقیح همین مقدار از مایه تلقیح دوبار استریل شده را دریافت کردند. به‌منظور حفظ یکنواختی جمعیت میکروبی خاک بین سطوح تیمار همزیستی، حدود ۲۵۰ میلی‌لیتر عصاره خاک تهیه‌شده از مایه تلقیح به هر گلدان بدون میکوریز اضافه شد. این عصاره دو بار از کاغذ صافی دارای منافذ ۲۰ میکرومتر (Schliecher & Schuel, Germany) رد شده بود. پس از گذشت حدود هفت روز از کشت، برقراری همزیستی با مشاهده هیف قارچی در نمونه‌های ریشه جو زیر میکروسکوپ، تأیید شد. گیاهان در شرایط دمای روز/ شب ۲۵°C/ ۲۲°C با دوره روشنایی ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و رطوبت ۶۰ درصد رشد کردند. قبل از رسیدن گیاهان به مرحله چهار برگی، تنش شوری با افزودن آب شهری تصفیه‌شده استریل حاوی NaCl به گلدان‌های دارای تیمار شوری اعمال شد. به‌منظور جلوگیری از شوک اسمزی، ابتدا گلدان‌ها با آب حاوی ۲۵ میلی‌مولار NaCl آبیاری شدند و طی مدت ۱۰ روز، غلظت در آب آبیاری به مقدار نهایی ۱۵۰ میلی‌مولار رسید. گلدان‌های بدون تنش شوری نیز با آب شهری تصفیه‌شده استریل بدون نمک آبیاری شدند. به‌منظور جلوگیری از بروز کمبود موادغذایی در گیاهان، به‌صورت یک در میان از محلول هوگلند رقیق (هوگلند با نصف غلظت) برای آبیاری گلدان‌ها استفاده شد.

پس از گذشت چهار هفته از زمان کشت، برداشت گیاهان انجام شد. قبل از برداشت گیاهان و قبل از ظاهرشدن برگ پرچم، آخرین برگ توسعه‌یافته گیاه جدا شده و برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC) بر روی بسته‌های یخ به آزمایشگاه انتقال یافتند. محتوای نسبی آب برگ پس از اندازه‌گیری وزن تر (FW)، وزن خشک (DW) و وزن تورژسانس (TW) قطعات برگی، بر اساس روش شرح داده شده توسط Sarker و Oba (۲۰۱۸) و با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$RWC = \frac{TW - DW}{FW - DW}$$

غلظت یون‌های Na^+، K^+ در اندام‌های هوایی گیاهان برداشت‌شده، بر اساس روش هضم تر و با استفاده از فلیم فتومتر (JENWAY، مدل PFP7) اندازه‌گیری شد (Elhakem 2020). همچنین مقدار یک گرم ریشه از هر گلدان برداشت شده و تا زمان رنگ‌آمیزی در اتانول ۷۰ درصد نگه‌داری شد. ریشه‌ها با استفاده از تریپن‌بلو (Trypan blue) و روش Phillips و Hayman (۱۹۷۰) رنگ‌آمیزی شدند. اندام‌های قارچی با استفاده از میکروسکوپ (Gallen III; Leica)

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-23]
[DOI: DOI: 10.22034/13.63.145]

جدول ۱- لاین‌های OWB جو استفاده‌شده

شماره	لاین دابل هاپلوئید	شماره	لاین دابل هاپلوئید	شماره	لاین دابل هاپلوئید
۱	OWB5	۵	OWB17	۹	OWB50
۲	OWB7	۶	OWB19	۱۰	OWB58
۳	OWB14	۷	OWB25	۱۱	OWB67
۴	OWB15	۸	OWB33	۱۲	OWB94

جدول ۲- توالی آغازگرهای استفاده شده برای مطالعه بیان ژن‌های مرتبط با تنش شوری در ریشه لاین‌های OWB.

نام ژن	توالی آغازگر (′3-′5)	شماره شناسایی	منبع
HvNHX2	F-GTATCTTCTCACAATGCCAACTC R-CCAACAAGCCAGGTCCAT	HQ696001.1	(He *et al.*, 2019)
HvHKT1;5	F-CAGTGGAAGACAGTAACCAACAA R-GACGACGAAGATGGCTATGC	DQ912169	(Fu *et al.*, 2018)
*HvActin**	F-TCCATCCTAGCCTCACTCAG R-AGATGATAACAGCAGTGGAGC	AY145451.1	(Gines *et al.*, 2018)

***Reference Gene**

مشاهده شده و فراوانی کلنیزاسیون با روش تقاطع خطوط شبکه (Gridline intersect) تعیین شد (Giovannetti and Mosse, 1980).

بین لاین‌های مطالعه‌شده، لاین‌های OWB14، OWB15، OWB33 و OWB67 انتخاب‌شده و بیان دو ژن کدکننده ترانسپورترهای *HvNHX2* و *HvHKT1;5*، با استفاده از *q*-RTPCR (Quantitative Real Time PCR)، به شرح زیر در لاین‌ها مورد بررسی قرار گرفت. به منظور استخراج RNA، ریشه‌ها بلافاصله پس از برداشت به کمک ازت مایع منجمد شده و تا زمان استخراج در فریزر ۸۰ºC- نگهداری شدند. RNA کل، با استفاده از کیت استخراج RNA شرکت سیناژن (RNX Plus total RNA extraction kit) استخراج و با آنزیم DNaseI شرکت ترموفیشر (Thermofisher Scientific, Taiwan) تیمار شد. کیفیت RNA استخراج‌شده، با الکتروفورز ژل آگارز یک درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. غلظت آن نیز با نانودراپ (Thermo Scientific Nanodrop 2000 spectrophotometer, USA) اندازه‌گیری شده و برای تعیین خلوص نسبی آن از نسبت‌های OD۲۶۰/۲۸۰ و OD۲۶۰/۲۳۰ استفاده شد. cDNA با یک میکروگرم RNA و با استفاده از کیت سنتز Rotor Gene Q cDNA شرکت پیشگام ساخته شد. واکنش PCR با مسترمیکس سایبرگرین (SYBR Green) شرکت یکتا تجهیز آزما و در دستگاه (Qiagen, Malesia) انجام شد. واکنش PCR در ۲۰ میکرولیتر مخلوط واکنش حاوی ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس، ۰/۵ میکرولیتر از هر کدام از آغازگرهای پیشرو (Forward) و پس‌رو (Reverse) (غلظت ۰/۲۵ مولار) و دو میکرولیتر cDNA (غلظت ۱۰۰ نانوگرم) صورت گرفت.

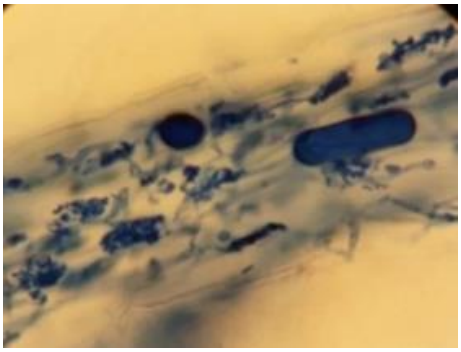
در نهایت سطوح بیان ژنی با استفاده از ژن خانه‌دار اکتین نرمال‌سازی شده و تغییرات بیان نسبت به شاهد سنجیده شد. مشخصات ژن‌های مطالعه‌شده و توالی آغازگرها در جدول ۲ آمده است. بیان نسبی ژن‌ها با روش $^{-\Delta\Delta CT}$۲ محاسبه شد (Livak and Schmittgen, 2001). آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار SPSS (version 26) در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس روش دانکن انجام شد و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل ترسیم شدند.

نتایج و بحث

کلنیزاسیون لاین‌های OWB: لاین‌های OWB جو به شکل موفقیت‌آمیزی با قارچ میکوریز کلونیزه شدند (شکل ۱) و در گلدان‌های بدون تیمار همزیستی، اندام قارچی مشاهده نشد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.145]



شکل ۱- قارچ *Funneliformis mosseae* در ریشه لاین‌های OWB جو

میانگین کلنیزاسیون در کل آزمایش ۴۹/۵۶ درصد بود.

وزن تر اندام هوایی و محتوای نسبی آب برگ: تجزیه واریانس صفات وزن تر اندام‌های هوایی و محتوای نسبی آب برگ لاین‌های OWB نشان داد که در این صفات، اثرات ساده همزیستی و شوری در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). میانگین وزن تر اندام‌های هوایی در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ میکوریز، در مقایسه با گیاهان تلقیح‌نشده ۱۱/۶۹ درصد کاهش داشت (شکل ۲a). همچنین شوری سبب کاهش این صفت به مقدار ۴۹/۹۶ درصد شد (شکل ۲b). محتوای نسبی آب برگ در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ میکوریز در مقایسه با گیاهان تلقیح‌نشده پنج درصد کاهش داشت (شکل ۳a) و شوری نیز سبب کاهش این صفت به میزان ۱۸/۵ درصد شد (شکل ۳b).

واکنش جو نسبت به همزیستی با میکوریز مثبت است اما واکنش خنثی و یا حتی منفی توسط محققین گزارش شده است (Al Mutairi *et al.*, 2020; Campos *et al.*, 2018). پاسخ گیاهان به همزیستی با قارچ میکوریز به ژنوتیپ گیاه، گونه قارچ و شرایط محیطی به‌ویژه مقدار فسفر خاک بستگی دارد (Lehmann *et al.*, 2012; Campos *et al.*, 2018). با این وجود باید توجه داشت که کاهش توده زیست‌توده (بیوماس) تولیدشده گیاه همواره به کاهش عملکرد دانه منجر نمی‌شود. در مطالعه صورت‌گرفته توسط Watts-Williams و Cavagnaro (۲۰۱۸) مشخص شد که همزیستی با قارچ میکوریز آربسکولار می‌تواند بدون تأثیر مثبت بر رشد گیاه و تولید زیست‌توده، سبب افزایش محتوای منیزیم و بهبود کیفیت دانه گیاه جو شود. همچنین Christophersen و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کرده‌اند که همزیستی با قارچ میکوریز با وجود کاهش میزان رشد ارقام جو می‌تواند میزان جذب فسفر توسط گیاه را افزایش دهد. واکنش‌های متفاوت رشدی نسبت به همزیستی با قارچ میکوریز در گیاهان دیگر مانند گندم نیز گزارش شده است (de Souza Campos *et al.*, 2021; Elliott *et al.*, 2021). در مطالعه واکنش دو رقم گندم نسبت به همزیستی، در حالی‌که همزیستی با گونه‌های مختلف قارچ میکوریز سبب افزایش رشد اندام هوایی یکی از ارقام شد، در رقم دیگر تأثیر مثبتی بر میزان رشد اندام هوایی و یا ریشه‌ها ناشی از همزیستی با هیچ کدام از گونه‌های قارچ میکوریز مشاهده نشد (de Souza Campos *et al.*, 2021).

تأثیر منفی تنش شوری بر پارامترهای رشد و محتوای نسبی آب برگ در گیاه جو در مطالعات مختلف گزارش شده است (Bouhraoua *et al.*, 2023; Chang *et al.*, 2021). در یک مطالعه بر روی ارقام تجاری و وحشی جو مشخص شد شوری تأثیر معنی‌داری بر محتوای نسبی آب برگ در ارقام تجاری و وحشی جو ندارد اما سبب کاهش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی گیاه به‌ویژه در ارقام می‌گردد (Ahmed *et al.*, 2013). کاهش وزن گیاه بر اثر تنش شوری ممکن است ناشی از محدودیت فراورده‌های فتوسنتزی اختصاص یافته برای رشد، سمیت یونی، اثرات اسمزی شوری و یا کمبود عناصر قابل جذب برای گیاه باشد (Abrar *et al.*, 2022). بر اثر تنش‌هایی مانند شوری محتوای نسبی آب، پتانسیل آب برگ و پتانسیل اسمزی سلول‌ها اغلب کاهش می‌یابد. محتوای نسبی آب برگ

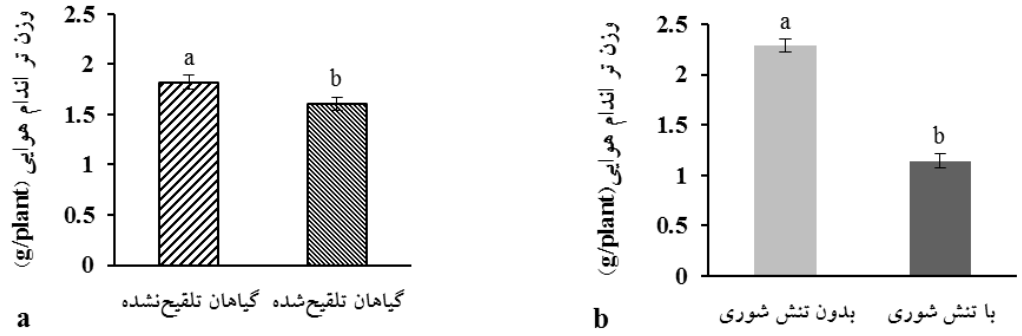
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.145]

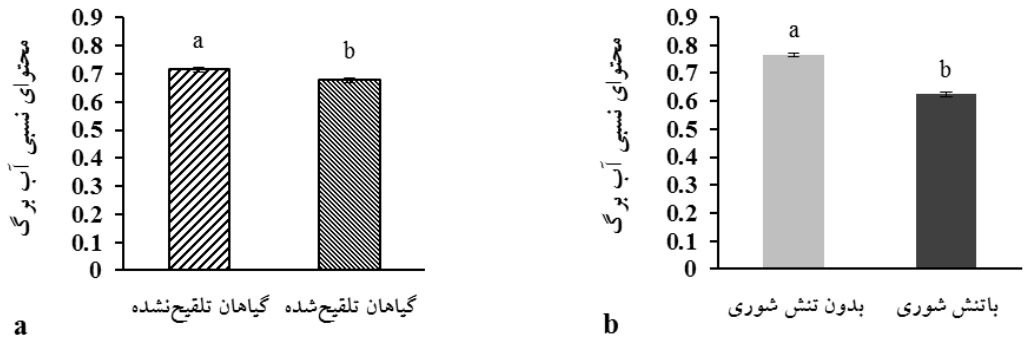
جدول ۳- تجزیه واریانس صفات وزن تر، محتوای نسبی آب برگ و غلظت یون‌های مرتبط با شوری در اندام هوایی لاین‌های OWB جو

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		وزن تر اندام هوایی	RWC	غلظت Na^+	غلظت K^+	Na^+/K^+
تکرار	۲	۲/۷۸**	۰/۰۹۴**	۲۲۷/۴۷**	۱۹۰۱/۱۳**	۰/۳۵**
همزیستی	۱	۱/۵۸*	۰/۰۴۶**	۱۹۹/۵۹**	۴۷۱/۸۰*	۰/۳۳**
شوری	۱	۴۵/۵۲**	۰/۶۶۰**	۳۹۵۳/۴۳**	۱۰۳/۸۴**	۲/۸۳**
ژنوتیپ	۱۱	۰/۲۰^{ns}	۰/۰۰۶^{ns}	۴۴/۹۶**	۶۵۴/۲۲**	۰/۰۷**
همزیستی × شوری	۱	۰/۰۰^{ns}	۰/۰۰۸^{ns}	۹۰/۵۱^{ns}	۲۱۶/۴۵^{ns}	۰/۱۸**
همزیستی × ژنوتیپ	۱۱	۰/۱۶^{ns}	۰/۰۰۳^{ns}	۱۰/۵۹^{ns}	۳۱۶/۱۳**	۰/۰۲^{ns}
شوری × ژنوتیپ	۱۱	۰/۰۷^{ns}	۰/۰۰۷^{ns}	۲۹/۵۴^{ns}	۱۴۱/۱۵*	۰/۰۲۹^{ns}
همزیستی × شوری × ژنوتیپ	۱۱	۰/۱۳^{ns}	۰/۰۰۴^{ns}	۱۰/۸۶^{ns}	۳۱/۵۷^{ns}	۰/۰۱^{ns}
خطا	۹۱	۰/۳۰	۰/۰۰۴	۱۱/۷۰	۸۲/۰۲	۰/۰۱
ضریب تغییرات صفت (٪)	–	۳۱/۱۲	۹/۰۵	۲۸/۷۱	۲۰/۵۴	۳۲/۵۶

ns، * و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده غیرمعنی‌دار و معنی‌دار بودن در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد است.



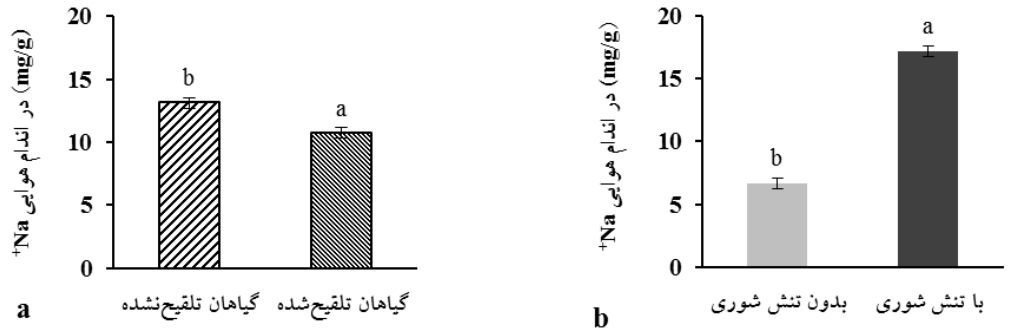
شکل ۲- تأثیر همزیستی با قارچ میکوریز (a) و تنش شوری (b) بر وزن تر اندام هوایی لاین‌های OWB. میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد از لحاظ آماری با یکدیگر تفاوت ندارند.



شکل ۳- تأثیر همزیستی با قارچ میکوریز (a) و تنش شوری (b) بر محتوای نسبی آب برگ لاین‌های OWB. میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد از لحاظ آماری با یکدیگر تفاوت ندارند.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.145]



شکل ۴- تأثیر همزیستی با قارچ میکوریز (a) و تنش شوری (b) بر غلظت Na^+ در اندام هوایی لاین‌های OWB. میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد از لحاظ آماری با یکدیگر تفاوت ندارند.

شاخص فیزیولوژیکی مهمی است که وضعیت آبی سلول و بافت گیاه را نشان می‌دهد و به‌عنوان شاخص تحمل شوری در جو پیشنهاد شده است (Pour-Aboughadareh *et al.*, 2020; Bouhraoua *et al.*, 2023).

غلظت یون‌های Na^+ و K^+ و نسبت Na^+/K^+: نتایج تجزیه واریانس نشان داد در صفت غلظت Na^+، اثرات همزیستی، شوری و ژنوتیپ در سطح احتمال یک درصد و در صفت غلظت K^+، اثر همزیستی و اثر متقابل شوری × ژنوتیپ در سطح احتمال پنج درصد و شوری، ژنوتیپ و اثر متقابل همزیستی × ژنوتیپ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند (جدول ۳). میانگین غلظت Na^+ در گیاهان تلقیح‌نشده با قارچ میکوریز در مقایسه با گیاهان تلقیح‌شده ۲۲ درصد کاهش یافت (شکل ۴a)، و در گیاهان دارای تیمار شوری نسبت به گیاهان بدون تیمار، ۱۵۷/۶۴ درصد افزایش نشان داد (شکل ۴a). بیشترین و کمترین غلظت Na^+، ۱۵/۵۳ و ۸/۹۳ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاهی، به ترتیب در لاین‌های OWB15 و OWB5 مشاهده شدند (جدول ۴). غلظت K^+، در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ میکوریز نسبت به گیاهان تلقیح‌نشده ۸ درصد بیشتر بود (شکل ۵a). در نتیجه تأثیر تیمار شوری، غلظت K^+ به میزان ۵ درصد کاهش داشت (شکل ۵b).

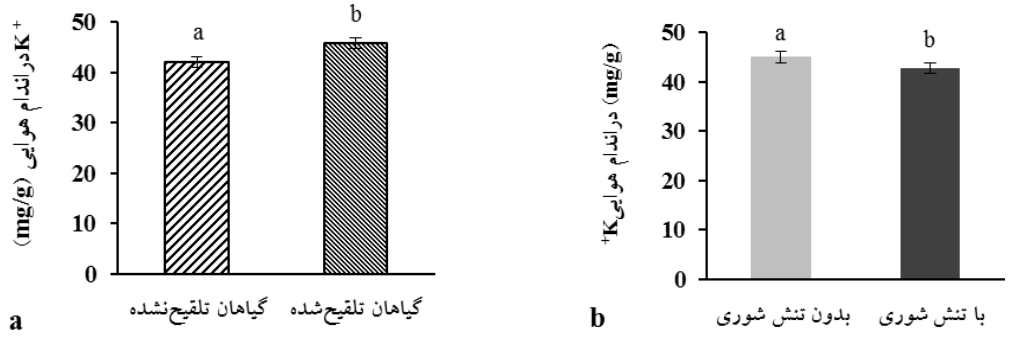
مقایسه میانگین تأثیر متقابل همزیستی × ژنوتیپ برای غلظت K^+ نشان داد که در لاین‌های OWB94 و OWB50 بیشترین افزایش غلظت K^+ در گیاهان تلقیح‌شده در مقایسه با گیاهان تلقیح‌نشده وجود داشت (شکل ۶). از طرفی، مقایسه میانگین تأثیر متقابل شوری× ژنوتیپ نشان داد لاین OWB14 در مقایسه با سایر لاین‌ها بیشترین میزان کاهش غلظت K^+ بر اثر تنش شوری را داشت (شکل ۷).

نتایج تجزیه واریانس صفت Na^+/K^+ نشان‌دهنده معنی‌داری اثرات همزیستی، شوری، ژنوتیپ و اثر متقابل شوری × همزیستی در سطح آماری یک درصد است (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که لاین OWB7 بیشترین میانگین Na^+/K^+ را داشت؛ هر چند بین این لاین و لاین‌های OWB14، OWB15، OWB33 و OWB94 تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. از طرف دیگر، لاین OWB5 کمترین میانگین Na^+/K^+ را داشت، که تفاوت آن با لاین‌های OWB17، OWB50، OWB58 و OWB67 معنی‌دار نبود (جدول ۴).

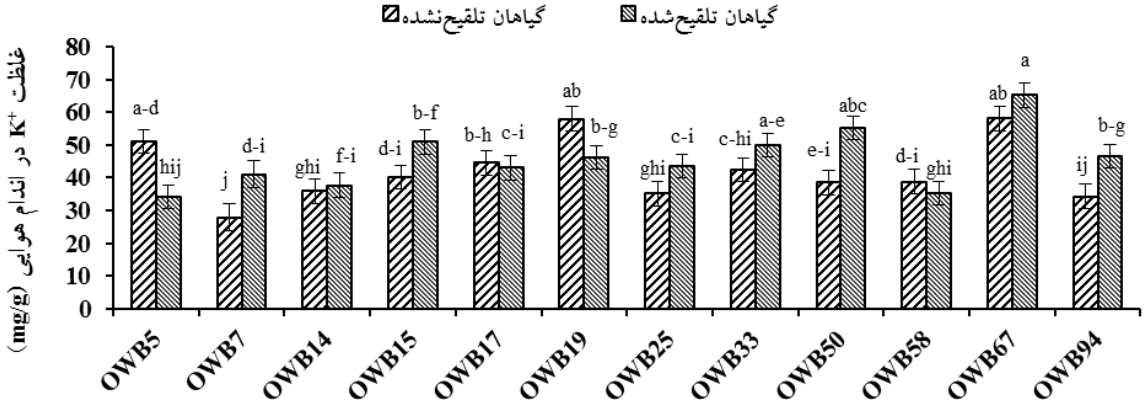
تحقیق حاضر نشان داد که بین لاین‌های OWB از نظر غلظت Na^+ و نسبت Na^+/K^+ اندام هوایی تنوع وجود دارد (شکل ۸). در گیاه جو، انتقال کمتر یون Na^+ از آوندهای چوبی به برگ‌ها به عنوان مکانیسم مقابله با تنش شوری شناخته شده است (Ahmed *et al.*, 2013; Hazzouri *et al.*, 2018; Zeeshan *et al.*, 2020).

بیان ژن‌های ترانسپورتر *HvNHX2* و *HvHKT1;5*: تغییر بیان ژن‌های *HvNHX2* و *HvHKT1;5* در لاین‌های OWB14، OWB15، OWB33 و OWB67 در همزیستی با قارچ مایکوریز و همچنین تحت تیمار شوری (NaCl ۱۵۰ میلی‌مولار) در شکل ۹ نشان داده شده است. در مورد ژن *HvNHX2*، در لاین OWB14 شوری سبب کاهش بیان

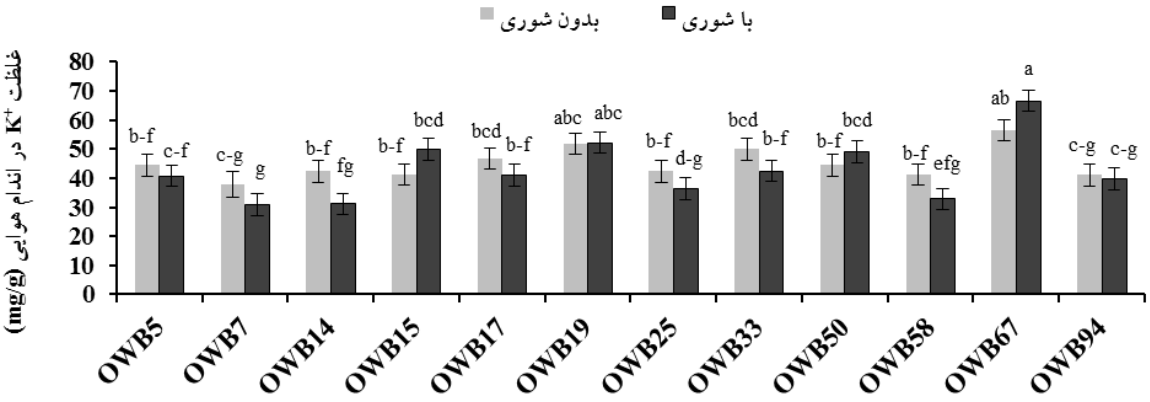
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-23]
[DOI: DOI: 10.22034/13.63.145]



شکل ۵- تأثیر همزیستی با قارچ میکوریز (a) و تنش شوری (b) بر غلظت K^+ در اندام هوایی لاین‌های OWB. میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد از لحاظ آماری با یکدیگر تفاوت ندارند.



شکل ۶- مقایسه میانگین همزیستی × ژنوتیپ بر غلظت K^+ در اندام هوایی لاین‌های OWB. میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد از لحاظ آماری با یکدیگر تفاوت ندارند.



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری × ژنوتیپ بر غلظت K^+ در اندام هوایی لاین‌های OWB. میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد از لحاظ آماری با یکدیگر تفاوت ندارند.

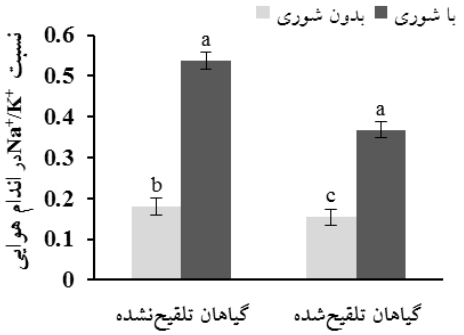
HvNHX2 نسبت به حالت کنترل شد، اما در سه لاین دیگر تغییر معنی‌داری در بیان این ژن ملاحظه نشد. همزیستی به تنهایی، سبب افزایش بیان *HvNHX2* در لاین OWB14 (بدون تغییر معنی‌دار در سه لاین دیگر) شد؛ اما در برهمکنش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-23]
[DOI: DOI: 10.22034/13.63.145]

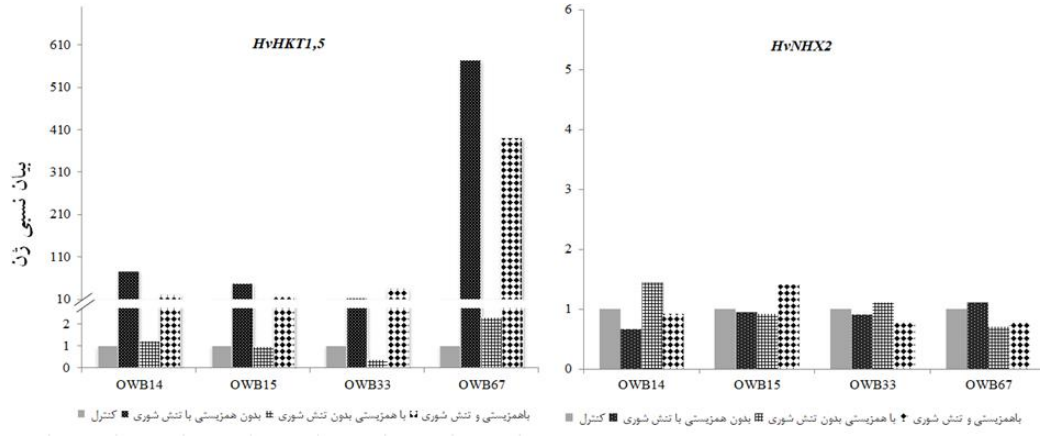
جدول ۴- مقایسه میانگین غلظت N^+، K^+ و نسبت آنها در اندام‌های هوایی لاین‌های OWB جو

شماره	لاین دابل هاپلوئید	غلظت Na^+ (mg/g)	غلظت K^+ (mg/g)	نسبت Na^+/K^+
۱	OWB5	۸/۹۳^{d}	۴۲/۶۳ ^{cde}	۰/۲۲^{d}
۲	OWB7	۱۱/۰۶ ^{abc}	۳۴/۴۲ ^{f}	۰/۴۰ ^{a}
۳	OWB14	۱۲/۱۳ ^{abc}	۳۶/۸۰ ^{ef}	۰/۳۶ ^{abc}
۴	OWB15	۱۵/۵۳^{a}	۴۵/۵۶ ^{bcd}	۰/۳۶ ^{abc}
۵	OWB17	۱۰/۳۴ ^{bcd}	۴۳/۸۶ ^{bcd}	۰/۲۵ ^{cd}
۶	OWB19	۱۱/۵۳ ^{abc}	۵۳/۰۸ ^{b}	۰/۲۳ d
۷	OWB25	۹/۸۴ ^{cd}	۴۶/۲۰ ^{bc}	۰/۲۳ ^{d}
۸	OWB33	۱۴/۵۱ ^{a}	۳۹/۳۳ ^{cde}	۰/۳۹ ^{ab}
۹	OWB50	۱۲/۱۶ ^{abc}	۴۶/۸۴ ^{bc}	۰/۲۹ ^{bcd}
۱۰	OWB58	۱۰/۷۸^{bcd}	۳۷/۰۷ ^{def}	۰/۳۱ ^{bcd}
۱۱	OWB67	۱۲/۷۸ ^{abc}	۶۱/۶۲ ^{a}	۰/۲۱ ^{d}
۱۲	OWB94	۱۳/۷۷ ^{ab}	۴۰/۴۶ ^{cde}	۰/۳۸ ^{abc}

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد از لحاظ آماری با یکدیگر تفاوت ندارند.



شکل ۸- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری × همزیستی بر نسبت Na^+/K^+ در اندام هوایی لاین‌های OWB. میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد از لحاظ آماری با یکدیگر تفاوت ندارند.



شکل ۹- بیان ژن‌های ترانسپورتر *HvNHX2* و *HvHKT1;5* در ریشه لاین‌های OWB تحت تأثیر شوری و همزیستی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: 10.22034/13.63.145]

جدول ۵- مقایسه میانگین نسبت Na^+/K^+ در اندام هوایی لاین‌های OWB جو انتخاب‌شده برای مطالعه بیان ژن

لاین OWB	OWB14	OWB15	OWB33	OWB67
نسبت Na^+/K^+ در اندام هوایی	۰/۳۸ a	۰/۳۶ a	۰/۳۹ a	۰/۲۱ b

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد از لحاظ آماری با یکدیگر تفاوت ندارند.

همزیستی و شوری، بیان این ژن در لاین OWB15 (بدون تغییر معنی‌دار در سه لاین دیگر) افزایش نشان داد. قربانی و همکاران (۱۴۰۱) افزایش حدود چهار برابری برای *NHX3* در برگ‌های ژنوتیپ‌های اصلاحی جو در تیمارهای شوری نسبت به کنترل گزارش کردند؛ در مطالعه قربانی و همکاران میزان افزایش بیان در اثر تیمار شوری در ارقام مختلف، متفاوت بود. در مطالعه دیگری، افزایش بیان چهار ایزوفرم *NHX* بر اثر تنش شوری در برگ‌ها و ریشه ارقام جو گزارش شده است. هر چند میزان واکنش بیان این ایزوفرم‌ها یکسان نبود (Jabeen *et al.*, 2022). در مطالعه حاضر، تغییر بیان *HvHKT1;5* بر اثر تیمار همزیستی و شوری قابل توجه بود (شکل ۹). در حالت عدم وجود همزیستی، شوری سبب افزایش قابل توجه بیان *HvHKT1;5* در تمام لاین‌ها شد که میزان این افزایش در لاین OWB67 بیشتر از سایر لاین‌ها بود (۵۷۵ برابر حالت کنترل). همزیستی به تنهایی تأثیر چندانی بر بیان ژن *HvHKT1;5* در لاین‌های OWB نداشت. البته میزان بیان این ژن در لاین OWB33 تقریباً نصف حالت شاهد (۰/۴ برابر) و در لاین OWB67، ۲/۲۷ برابر شده بود. در حالی‌که این میزان از افزایش بیان با توجه به القاء شدید بیان این ژن بر اثر شوری قابل توجه نیست. در حالت وجود همزیستی، شوری مجدداً سبب افزایش بیان ژن*HvHKT1;5* نسبت به حالت کنترل شد، اما میزان این افزایش در مقایسه با شرایط شوری و بدون همزیستی با قارچ میکوریز در مجموع کمتر بود. مطابق پژوهش صورت‌گرفته توسط قربانی و همکاران (۱۴۰۱)، افزایش حدود چهار برابری برای رونوشت‌های *HKT3* در برگ‌های ژنوتیپ‌های اصلاحی جو بر اثر تیمار شوری گزارش شده است؛ که میزان افزایش بیان ژن ناشی از شوری در پژوهش آن‌ها، در ارقام مختلف متفاوت بود. الگوی بیان *HKT1;5* در جو نشان می‌دهد که خارج‌سازی Na^+ از ریشه‌ها که در لاین‌های متحمل جو اتفاق می‌افتد به‌دلیل بیان بیشتر این ژن در ریشه است (Hazzouri *et al.*, 2018). مطالعات مختلفی افزایش بیان *HvHKT1;5* در ریشه جو بر اثر تنش شوری و وجود رابطه بین بیان این ژن و تحمل شوری بیشتر را در ژنوتیپ‌های جو گزارش کرده‌اند (Hazzouri *et al.*, 2018; Qiu *et al.*, 2011; van Bezouw *et al.*, 2019). نقش مثبت ترانسپورترهای HKT1;5 در تحمل شوری برنج و گندم نیز تأیید شده است (Suzuki *et al.*, 2016; Zeeshan *et al.*, 2020). میزان افزایش بیان *NHX3* در اندام هوایی رقم متحمل جو بیشتر از رقم حساس است (حمزه‌کهنوجی و همکاران، ۱۴۰۱). تأثیر منفی افزایش بیان *HvHKT1;5* در تحمل شوری جو نیز گزارش شده است (Huang *et al.*, 2020).

با مقایسه بیان نسبی ژن *HvHKT1;5* و نسبت Na^+/K^+ در لاین‌های انتخابی (جدول ۵) مشخص شد که در هر کدام از تیمارها، بیان این ژن در لاین OWB67 (که کمترین نسبت Na^+/K^+ را دارد) بیشترین است. به عبارت دیگر، نتیجه این پژوهش نظریه محققین دیگر را مبنی بر تأثیر افزایش بیان ژن *HvHKT1;5* در کاهش انتقال Na^+ به برگ‌ها تأیید می‌کند.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد در لاین‌های دابل‌هاپلوئید جو، شوری تأثیر نامطلوب بر میزان رشد گیاه، محتوای نسبی آب برگ و مقدار نسبت Na^+/K^+ اندام‌های هوایی داشت. بین لاین‌های OWB جو از لحاظ میزان تجمع Na^+ در اندام هوایی تفاوت معنی‌دار وجود دارد. از طرف دیگر، همزیستی با قارچ میکوریز تأثیر منفی بر صفات وزن تر اندام هوایی و محتوای نسبی آب برگ داشت و علی‌رغم کاهش نسبت Na^+/K^+ بر اثر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.145]

همزیستی با قارچ، این رابطه نتوانست تأثیر منفی شوری را تعدیل کند. این امر می‌تواند نشان‌دهنده پیچیدگی رابطه همزیستی قارچ میکوریز با گیاه میزبان باشد. با توجه به افزایش بیان قابل توجه ژن *HvHKT1;5* بر اثر تنش شوری و ارتباط آن با کاهش نسبت Na^+/K^+ اندام هوایی لاین‌های OWB جو، می‌توان ژن ترانسپورتر *HvHKT1;5* را به‌عنوان ژن دخیل در کاهش انتقال Na^+ به برگ‌ها معرفی کرد.

تشکر و قدردانی

از دکتر حسین جعفری و دکتر پاتریک هایز به‌جهت تأمین بذرها و همچنین از مرکز تحقیقات خاک و آب کشور بابت تهیه مایه تلقیح قارچ میکوریز تشکر می‌گردد.

منابع

قربانی، ثریا، اطمینان، علیرضا، رشیدی، وریا، پورابوقداره، علیرضا، و شوشتری، لیا (۱۴۰۱). بررسی بیان عوامل رونویسی دخیل در تحمل به تنش شوری در ژنوتیپ‌های اصلاحی جو زراعی. مجله *بیوتکنولوژی کشاورزی*، *۱*(۱۴).

حمزه‌کهنوجی، زینب، ابراهیمی، آسا، شریفی، غلامرضا، و مجیدی هروان، اسلام (۱۴۰۱). مطالعه برخی از پاسخ‌های بیوشیمیایی و مولکولی جو در مراحل گیاهچه‌ای جو تحت تنش شوری. مجله *ژنتیک نوین*، ۲، ۱۲۷–۱۳۵.

Ahmed, I. M., Cao, F., Zhang, M., Chen, X., Zhang, G., & Wu, F. (2013). Difference in yield and physiological features in response to drought and salinity combined stress during anthesis in Tibetan wild and cultivated barleys. *PloS One*, *8* (10), e77869. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077869

Abrar, M. M., Sohail, M., Saqib, M., Akhtar, J., Abbas, G., Wahab, H. A., Mumtaz, M. Z., Mehmood, K., Memon, M. S., & Sun, N. (2022). Interactive salinity and water stress severely reduced the growth, stress tolerance, and physiological responses of guava (*Psidium guajava* L.). *Scientific Reports*, *12*(1), 18952. https://doi.org/10.1038/s41598-022-22602-5

Al Mutairi, A. A., Cavagnaro, T. R., Khor, S. F., Neumann, K., Burton, R. A., & Watts-Williams, S. J. (2020). The effect of zinc fertilisation and arbuscular mycorrhizal fungi on grain quality and yield of contrasting barley cultivars. *Functional Plant Biology*, *47*(2), 122-133. https://doi.org/10.1071/FP19220

Ariyarathna, H. C. K., Oldach, K. H., & Francki, M. G. (2016). A comparative gene analysis with rice identified orthologous group II HKT genes and their association with Na^+ concentration in bread wheat. *BMC Plant Biology*, 16,1-20. http://doi.org/ 10.1186/s12870-016-0714-7

Barragan, V., Leidi, E. O., Andres, Z., Rubio, L., De Luca, A., Fernandez, J. A., Cubero, B., & Pardo, J. M. (2012). Ion exchangers NHX1 and NHX2 mediate active potassium uptake into vacuoles to regulate cell turgor and stomatal function in Arabidopsis. *The Plant Cell*, *24*(3), 1127-1142. http:// doi.org/10.1105/tpc.111.095273

Bassil, E., Coku, A., & Blumwald, E. (2012). Cellular ion homeostasis: Emerging roles of intracellular NHX Na^+/H^+ antiporters in plant growth and development. *Journal of Experimental Botany*, *63*(16), 5727-5740.

Basu, S., Kumar, A., Benazir, I., & Kumar, G. (2021). Reassessing the role of ion homeostasis for improving salinity tolerance in crop plants. *Physiologia Plantarum*, *171*(4), 502-519. doi.org/10.1093/jxb/ers250

Baxter, I., Brazelton, J. N., Yu, D., Huang, Y. S., Lahner, B., Yakubova, E., Li, Y., Bergelson, J., Borevitz, J. O., & Nordborg, M. (2010). A coastal cline in sodium accumulation in *Arabidopsis thaliana* is driven by natural variation of the sodium transporter AtHKT1; 1. *PLoS Genetics*, *6*(11), e1001193. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001193

Bouhraoua, S., Ferioun, M., Nassira, S., Boussakouran, A., Akhazzane, M., Belahcen, D., Hammani, K., & Louahlia, S. (2023). Biomass partitioning and physiological responses of four Moroccan barley varieties subjected to salt stress in a hydroponic system. *Journal of Plant Biotechnology*, *50*(1), 115-126. https://doi.org/10.5010/JPB.2023.50.015.115

Campos, P., Borie, F., Cornejo, P., Lopez-Raez, J. A., Lopez-Garcia, A., & Seguel, A. (2018). Phosphorus acquisition efficiency related to root traits: Is mycorrhizal symbiosis a key factor to wheat and barley cropping? *Frontiers in Plant Science*, *9*, 350395. https://doi: 10.3389/fpls.2018.00752

Chang, Y., Zhang, J., Bao, G., Yan, B., Qu, Y., Zhang, M., &Tang, W. (2021). Physiological responses of highland barley seedlings to NaCl, drought, and freeze-thaw stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, *40*, 154-161. https://doi.org/10.1007/s00344-020-10085-5

Christophersen, H., Smith, F., & Smith, S. (2009). Arbuscular mycorrhizal colonization reduces arsenate uptake in barley via downregulation of transporters in the direct epidermal phosphate uptake pathway. *New Phytologist*, *184*(4), 962-974. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03009.x

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.145]

de Souza Campos, P. M., Borie, F., Cornejo, P., Meier, S., Lopez-Raez, J. A., Lopez-Garcia, A., & Seguel, A. (2021). Wheat root trait plasticity, nutrient acquisition and growth responses are dependent on specific arbuscular mycorrhizal fungus and plant genotype interactions. *Journal of Plant Physiology*, *256*, 153297. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2020.153297

Elhakem, A. H. (2020). Salicylic acid ameliorates salinity tolerance in maize by regulation of phytohormones and osmolytes. *Plant, Soil and Environment*, *66*(10), 533-542. https://doi.org/10.17221/2020-PSE

Elliott, A. J., Daniell, T. J., Cameron, D. D., & Field, K. J. (2021). A commercial arbuscular mycorrhizal inoculum increases root colonization across wheat cultivars but does not increase assimilation of mycorrhiza-acquired nutrients. *Plants, People, Planet*, *3*(5), 588-599. https://doi.org/10.1002/ppp3.10094

Fu, L., Shen, Q., Kuang, L., Yu, J., Wu, D., & Zhang, G. (2018). Metabolite profiling and gene expression of Na/K transporter analyses reveal mechanisms of the difference in salt tolerance between barley and rice. *Plant Physiology and Biochemistry, 130*, 248-257. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.07.013

Gines, M., Baldwin, T., Rashid, A., Bregitzer, P., Maughan, P. J., Jellen, E. N., & Klos, K. E. (2018). Selection of expression reference genes with demonstrated stability in barley among a diverse set of tissues and cultivars. *Crop Science*, *58*(1), 332-341. https://doi.org/10.2135/cropsci2017.07.0443

Giovannetti, M. & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 489-500. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x

Hajiboland, R., Joudmand, A., Aliasgharzad, N., Tolra, R., & Poschenrieder, C. (2019). Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate low-temperature stress and increase freezing resistance as a substitute for acclimation treatment in barley. *Crop and Pasture Science*, *70*(3), 218-233. http://doi.org/10.1071/CP18385

Hazzouri, K. M., Khraiwesh, B., Amiri, K. M., Pauli, D., Blake, T., Shahid, M., Mullath, S. K., Nelson, D., Mansour, A. L., & Salehi-Ashtiani, K. (2018). Mapping of HKT1; 5 gene in barley using GWAS approach and its implication in salt tolerance mechanism. *Frontiers in Plant Science*, *9*, 156. http://doi: 10.3389/fpls.2018.00156

He, Q., Wang, X., He, L., Yang, L., Wang, S., & Bi, Y. (2019). Alternative respiration pathway is involved in the response of highland barley to salt stress. *Plant Cell Reports*, *38*, 295-309. https://doi.org/10.1007/s00299-018-2366-6

Huang, J. C., Lai, W. A., Singh, S., Hameed, A., &Young, C. C. (2013). Response of mycorrhizal hybrid tomato cultivars under saline stress. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, *13*(2), 469-484. https://doi.org/10.1007/s005720100098

Huang, L., Kuang, L., Wu, L., Shen, Q., Han, Y., Jiang, L., Wu, D., & Zhang, G. (2020). The HKT transporter HvHKT1; 5 negatively regulates salt tolerance. *Plant Physiology*, *182*(1), 584-596. https://doi.org/10.1104/pp.19.00882

Jabeen, Z., Irshad, F., Hussain, N., Han, Y., & Zhang, G. (2022). NHX-type Na+/H+ antiporter gene expression under different salt levels and allelic diversity of HvNHX in wild and cultivated barleys. *Frontiers in Genetics*, *12*, 809988. https://doi.org/10.3389/fgene.2021.809988

Khalvati, M., Bartha, B., Dupigny, A., & Schroder, P. (2010). Arbuscular mycorrhizal association is beneficial for growth and detoxification of xenobiotics of barley under drought stress. *Journal of Soils and Sediments*, *10*, 54-64. https://doi.org/10.1007/s11368-009-0119-4

Lehmann, A., Barto, E. K., Powell, J. R., & Rillig, M. C. (2012). Mycorrhizal responsiveness trends in annual crop plants and their wild relatives—a meta-analysis on studies from 1981 to 2010. *Plant and Soil*, *355*, 231-250. https://doi.org/10.1007/s11104-011-1095-1

Livak, K. J. & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2− ΔΔCT method. *Methods*, *25*(4), 402-408. https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262

Mian, A., Oomen, R. J., Isayenkov, S., Sentenac, H., Maathuis, F. J., & Very, A. A. (2011). Over-expression of an $Na^+$and K^+permeable HKT transporter in barley improves salt tolerance. *The Plant Journal*, *68*(3), 468-479.

Munns, R. & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, *59*, 651-681. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04701.x

Nice, L. M., Steffenson, B. J., Blake, T. K., Horsley, R. D., Smith, K. P., & Muehlbauer, G. J. (2017). Mapping agronomic traits in a wild barley advanced backcross–nested association mapping population. *Crop Science*, *57*(3), 1199-1210. https://doi.org/10.2135/cropsci2016.10.0850

Phillips, J. & Hayman, D. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British mycological Society*, *55*(1), 158-IN118. ttps://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3

Pour-Aboughadareh, A., Etminan, A., Abdelrahman, M., Siddique, K. H., & Tran, S. P. (2020). Assessment of biochemical and physiological parameters of durum wheat genotypes at the seedling stage during polyethylene glycol-induced water stress. *Plant Growth Regulation*, *92*(1), 81-93. 10.1007/s10725-020-00621-4

Qiu, L., Wu, D., Ali, S., Cai, S., Dai, F., Jin, X., Wu, F., & Zhang, G. (2011). Evaluation of salinity tolerance and analysis of allelic function of HvHKT1 and HvHKT2 in Tibetan wild barley. *Theoretical and Applied Genetics*,

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.145]

122, 695-703. https://doi.org/10.1007/s00122-010-1479-2

Sarker, U. & Oba, S. (2018). Drought stress effects on growth, ROS markers, compatible solutes, phenolics, flavonoids, and antioxidant activity in *Amaranthus tricolor*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *186*, 999-1016 . https://doi.org/10.1007/s12010-018-2784-5

Singh, M., Nara, U., Kumar, A., Choudhary, A,.Singh, H., & Thapa, S. (2021). Salinity tolerance mechanisms and their breeding implications. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, *19*(1), 173.https://doi.org/10.1186/s43141-021-00274-4

Suzuki, K., Yamaji, N., Costa, A., Okuma, E., Kobayashi, N. I., Kashiwagi, T., Katsuhara, M., Wang, C., Tanoi, K., & Murata, Y. (2016). OsHKT1; 4-mediated Na^+ transport in stems contributes to Na^+ exclusion from leaf blades of rice at the reproductive growth stage upon salt stress. *BMC Plant Biology*, *16*, 1-15. https://doi.org/10.1186/s12870-016-0709-4

van Bezouw, R. F., Janssen, E. M., Ashrafuzzaman, M., Ghahramanzadeh, R., Kilian, B., Graner, A., Visser, R. G., & van der Linden, C. G. (2019). Shoot sodium exclusion in salt stressed barley (*Hordeum vulgare* L.) is determined by allele specific increased expression of HKT1; 5. *Journal of Plant Physiology*, *241*, 153029. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2019.153029

Watts-Williams, S. J. & Cavagnaro, T. R. (2018). Arbuscular mycorrhizal fungi increase grain zinc concentration and modify the expression of root ZIP transporter genes in a modern barley (*Hordeum vulgare*) cultivar. *Plant Science*, *274*, 163-170. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.05.015

Zeeshan, M., Lu, M., Sehar, S., Holford, P., & Wu, F. (2020). Comparison of biochemical, anatomical, morphological, and physiological responses to salinity stress in wheat and barley genotypes deferring in salinity tolerance. *Agronomy*, *10*(1), 127. https://doi.org/10.3390/agronomy10010127

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.145]

Investigating the Effects of Salinity and Mycorrhizal Colonization on Some Physiological Traits and Expression of Two Transporter Genes *HvNHX2* and *HvHKT1;5* in Barley Double Haploid Lines

Roghaie Azimkhani[1], Reza Fotovat[1], Ehsan Mohsenifard[1]*, Nasser Aliasgharzad, and[2] Maryam Nadimi[3]

[1] Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
[2] Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, 51666-16471, Tabriz, Iran
[3] Institute de Recherche en Biologie Ve´ge´tale, De´partement de Sciences Biologiques, Universite´ de Montre´al, Montre´al, Canada
(Received: 2024/05/31, Accepted: 2024/07/02)

Abstract

Copper, as a micronutrient, is essential for the synthesis of enzymes and proteins. However, excessive copper concentrations can be highly toxic and inhibit the photosynthetic and metabolic pathways in plants, ultimately leading to reduced biomass, delayed flowering and fruiting. Sodium nitroprusside (SNP) (as a nitric oxide donor compound) plays a significant role in plant growth and development, from germination to organ senescence, signal transduction, regulation of antioxidant defense systems, and reduction of heavy metal toxicity. In the present study, the combined effects of two levels of copper sulfate (600 and 1200 µM) and sodium nitroprusside (150 µM) were investigated on some physiological and morphological activities of okra (*Abelmoschus esculentus* L. cv. Clemsonspineless) is grown hydroponically. The experiments were conducted in a complete randomized design with three replications. Based on our results, the high copper concentration resulted in a reduction in chlorophyll content, essential nutrients, growth parameters and an increase in malondialdehyde, hydrogen peroxide, electrolyte leakage, total protein, proline, soluble sugars, peroxidase enzyme activity and copper content in both the roots and leaves of okra compared to the control plants. Conversely, SNP foliar spray led to an increase in total chlorophyll, uptake of essential elements, peroxidase enzyme activity and a decrease in copper concentration, malondialdehyde and hydrogen peroxide content, as well as ion leakage in okra plants. Therefore, it seems that the application of SNP was able to mitigate the negative effects of copper sulfate stress significantly and enhance the tolerance of okra plants to copper stress conditions.

Keywords: Oxidative stress, Antioxidant enzymes, Sodium nitroprusside, Electrolyte leakage

Corresponding author, Email: mohsenifard.ehsan@znu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.145]