Iranian Genetics Society
Journal of Genetics and Plant Breeding
Shahid Bahonar University of Kerman
Print ISSN : 3060-7965 Online ISSN : 3060-7271

Evaluation of the effects of *Serendipita indica* on antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in three maize hybrids under heat stress

Edris Sayadian

MSc Graduate, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Khuzestan, Iran. Email address: edris.sayadian@gmail.com

Mohammad Farkhari

*Corresponding Author: Associate Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Khuzestan, Iran. Email address: farkhari@asnrukh.ac.ir

Babak Pakdaman Sardrood

Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Khuzestan, Iran. Email address: bpakdaman@asnrukh.ac.ir

Abstract

Objective

The endophytic fungus *Serendipita indica* (formerly *Piriformospora indica*) can establish symbiotic relationships with various plants, including maize. Numerous studies have highlighted its positive effects on plant growth and enhancing tolerance to biotic and abiotic stresses. This study aimed to evaluate the impact of *S. indica* on catalase (CAT) and guaiacol peroxidase (GPO) enzyme activities and lipid peroxidation levels in various maize hybrids under heat stress during the flowering stage. The potential interaction between plant genotype and fungal symbiosis, which is important in plant breeding, was also investigated.

Materials and Methods

The experiment used a factorial arrangement based on a randomized complete block design (RCBD) with three replications. Treatments consisted of two factors: maize hybrids (drought- and heat-tolerant single-cross Karun 701, single-cross AS71, and common single-cross 704) and fungal inoculation (inoculated and non-inoculated with *S. indica*) under two planting dates (early

summer and summer). Heat stress was induced by early summer planting, which exposed maize hybrids to high temperatures during August and September in Khuzestan Province, coinciding with the pollination stage.

Results

Combined analysis revealed that *S. indica* inoculation significantly reduced malondialdehyde (MDA) levels and enhanced CAT and GPO enzyme activities in inoculated plants compared to non-inoculated controls. However, maize genotypes responded differently to the fungal symbiosis, indicating a significant genotype × fungus interaction. Among the hybrids, Karun 701 showed the most effective symbiotic relationship with *S. indica*, exhibiting the highest enzyme activity and the lowest MDA content under stress and non-stress conditions.

Conclusion

The findings suggest that response of maize plant to *S. indica* is genotype-dependent. Integrating this fungus into maize breeding programs can contribute significantly to developing hybrids tolerant to abiotic stresses, provided that genotype × fungus interaction on important agronomic traits in maize is confirmed.

Keywords: Antioxidant enzymes, Heat stress, Malondialdehyde, *Piriformospora indica*, *Zea mays*.

Paper Type: Research Paper.

Citation: Sayadian E, Farkhari M, Pakdaman Sardrood B (2024) Evaluation of the effects of *Serendipita indica* on antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in three maize hybrids under heat stress. *Journal of Genetics and Plant Breeding* 1 (1), 89-106.

Journal of Genetics and Plant Breeding 1 (1), 89-106. DOI: 10.22103/gpb.2024.4854

Received: July 17, 2024. Received in revised form: September 20, 2024.

Accepted: September 21, 2024. Published online: September 28, 2024.

Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production, Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman and Iranian Genetics Society.

© the authors

مجله ژنتیک و به نژادی گیاهی
شاپا چاپی: ۷۹۶۵-۳۰۶۰ شاپا الکترونیکی: ۷۲۷۱-۳۰۶۰
انجمن ژنتیک ایران
دانشگاه شهید باهنر کرمان
پژوهشگاه اصلی پور

بررسی اثر قارچ *Serendipita indica* بر فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و میزان پراکسیداسیون لیپیدها در سه هیبرید مختلف ذرت تحت تنش گرمایی

ایدریس صیادیان

دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، خوزستان، ایران. رایانامه: edris.sayadian@gmail.com

محمد فرخاری

*نویسنده مسئول: دانشیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، خوزستان، ایران. رایانامه: farkhari@asnrukh.ac.ir

بابک پاکدامن سردرود

استادیار، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، خوزستان، ایران. رایانامه: bpakdaman@asnrukh.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۲۷ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۳/۰۶/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۳۱

چکیده

هدف: قارچ اندوفیت *Serendipita indica* (*Piriformospora indica*) قابلیت همزیست‌شدن با گستره وسیعی از گیاهان از جمله ذرت را دارا است. گزارش‌های زیادی از تاثیر مثبت این قارچ بر روی افزایش رشد گیاه و نیز افزایش تحمل گیاه به تنش‌های زیستی و غیر زیستی وجود دارد. در این تحقیق تاثیر قارچ *S. indica* بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و گایاکول پراکسیداز و نیز میزان پراکسیداسیون لیپیدها در سه هیبرید مختلف ذرت در پاسخ به تنش گرمایی در مرحله گلدهی مورد بررسی قرار گرفت. همچنین وجود یا عدم وجود اثر متقابل بین ژنوتیپ گیاه و قارچ که از لحاظ به‌نژادگران با اهمیت است، مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار شامل دو فاکتور رقم (هیبرید سینگل کراس کارون ۷۰۱ مقاوم به خشکی و گرما، رقم سینگل کراس AS71 و رقم سینگل کراس۷۰۴) و قارچ (تلقیح و عدم تلقیح با قارچ) که در دو تاریخ کشت (کشت تابستانه و کشت زودهنگام تابستانه) اجرا گردید. برای اعمال تنش گرما از کشت زودهنگام

تابستانه استفاده شد تا هیبریدهای ذرت در هنگام گرده‌افشانی با تنش گرمایی ماه‌های مرداد و شهریور در استان خوزستان برخورد کنند.

نتایج: در مجموع بر اساس نتایج حاصل از تجزیه مرکب، قارچ *S. indica* سبب کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید و افزایش فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و کاتالاز در گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان تلقیح نشده گردید. اما واکنش ژنوتیپ‌های مختلف ذرت در همزیستی با این قارچ یکسان نبود که حاکی از اثر متقابل بین قارچ و ژنوتیپ گیاه است. بر پایه فعالیت دو آنزیم گایاکول پراکسیداز و کاتالاز، ژنوتیپ مقاوم به گرما و خشکی کارون نسبت به دو ژنوتیپ دیگر همزیستی موثرتری را با قارچ ایجاد کرد. از میان ارقام مورد بررسی رقم کارون دارای بیشترین فعالیت آنزیمی بود و کمترین میزان مالون‌دی‌آلدئید را در هر دو شرایط تنش و غیرتنش دارا بود.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این پژوهش نشان داد که میزان اثر *S. indica* بر گیاه ذرت تحت تأثیر ژنوتیپ می‌باشد. چنانچه اثر متقابل قارچ و ژنوتیپ بر صفات زراعی مهم ذرت تایید شود، ادغام این قارچ در برنامه‌های به‌نژادی ذرت می‌تواند به‌طور موثری در بهبود توسعه هیبریدهایی با تحمل بالاتر نسبت به تنش‌های غیرزیستی کمک کند.

کلیدواژه‌ها: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تنش گرما، ذرت، قارچ اندوفیت، مالون‌دی‌آلدئید.

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: صیادیان ایدریس، فرخاری محمد، بابک پاکدامن سردرود (۱۴۰۳) بررسی اثر قارچ *Serendipita indica* بر فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و میزان پراکسیداسیون لیپیدها در سه هیبرید مختلف ذرت تحت تنش گرمایی. *مجله ژنتیک و به‌نژادی گیاهی*، ۱(۱)، ۱۰۶-۸۹.

Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production, Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman and Iranian Genetics Society

© the authors

مقدمه

با توجه به گرمایش جهانی، مواجه با دمای بالا به یک پدیده رایج در بسیاری از نقاط در جای جای جهان تبدیل شده است (Distéfano et al. 2024). افزایش نرخ وقوع دماهای بسیار بالا باعث کاهش عملکرد محصولات و تهدیدی برای کشاورزی پایدار شده است (Janni et al. 2024). هنگامی‌که گیاه تحت انواع تنش‌های غیرزنده قرار می‌گیرد، توازن بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS, Reactive oxygen species) و حذف آن از طریق مکانیزم‌های آنتی‌اکسیدانی برهم می‌خورد. تعادل بین تولید و حذف گونه‌های فعال اکسیژن توسط مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی که یکی براساس آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و دیگری براساس مواد

آنتی‌اکسیدانی است، صورت می‌پذیرد. مواد آنتی‌اکسیدانی شامل هر دو دسته آنتی‌اکسیدان‌های محلول در آب (گلوتاتیون، آسکوربات و غیره) و محلول در چربی (آلفاتوکوفرول و بتاکاروتن) می‌باشند. مهمترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی که برای هم ایستایی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS homeostasis) ضروری است، شامل آسکوربات پراکسیداز (APX, Ascorbate peroxidase)، سوپراکسیداز دیستموتاز (SOD, Superoxide dismutase)، کاتالاز (CAT, Catalase) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR, glutathione reductase) هستند (Mishra et al. 2023). آنزیم SOD اولین لایه دفاعی گیاه در مقابل تنش است. این آنزیم O^{-2} را به H_2O_2 تبدیل می‌کند. سپس پراکسید هیدروژن توسط آنزیم‌هایی نظیر CAT، APX و GPX به H_2O تبدیل می‌شود (Hasanuzzaman et al. 2020). آنزیم‌های CAT و GPX مستقیماً به تجزیه پراکسیدهیدروژن می‌پردازند، در حالی‌که آنزیم‌هایی مانند APX و GR در مسیرهای چرخه‌ای پیچیده‌تری از دفاع آنتی‌اکسیدانی مشارکت دارند. از این رو، سنجش فعالیت آنزیم‌های CAT و GPX معمولاً ساده‌تر بوده و در مطالعات فیزیولوژیکی گیاهان کاربرد بیشتری دارد.

پراکسیداسیون لیپیدها یکی از مهم‌ترین پیامدهای فیزیولوژیکی تنش‌های غیرزنده مانند تنش گرمایی، شوری، خشکی و سمیت فلزات سنگین در گیاهان است. این فرآیند عمدتاً ناشی از تجمع بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن است که به ساختارهای غشایی آسیب می‌زنند. لیپیدهای غشای سلولی به‌ویژه اسیدهای چرب غیر اشباع، به‌دلیل داشتن پیوندهای دوگانه، در برابر حمله ROS بسیار آسیب‌پذیر هستند. پراکسیداسیون این لیپیدها منجر به کاهش انعطاف‌پذیری غشاء، نشت الکترولیت‌ها و تولید ترکیبات سمی مانند مالون‌دی‌آلدئید (MDA) می‌شود که خود به‌عنوان شاخصی برای پراکسیداسیون لیپیدها در گیاهان تحت تنش شناخته می‌شود (Gill & Tuteja 2010; Hasanuzzaman et al. 2020). مطالعات نشان داده‌اند که افزایش میزان MDA در گیاهان تحت تنش، نشان‌دهنده آسیب اکسیداتیو به غشاهای سلولی است. به‌همین دلیل، اندازه‌گیری MDA یکی از شاخص‌های رایج برای ارزیابی شدت تنش اکسیداتیو در گیاهان محسوب می‌شود. از این رو، بررسی سطح پراکسیداسیون لیپیدها در کنار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز و پراکسیداز، می‌تواند درک بهتری از پاسخ دفاعی گیاهان به تنش‌ها فراهم آورد.

یکی از راهکارهای مطرح برای مقابله با تنش‌های محیطی، استفاده از قارچ‌های اندوفیت است. این قارچ‌ها به‌طور طبیعی در درون بافت‌های گیاهی زندگی می‌کنند و می‌توانند با ایجاد تعاملات مثبت با گیاه، به بهبود رشد و مقاومت آن در برابر تنش‌های مختلف کمک کنند (Lata et al. 2018; Verma et al. 2022; Morales-Vargas et al. 2024). یکی از این قارچ‌های همیار، قارچ اندوفیت *Serendipita indica* می‌باشد. این قارچ مقاوم به شرایط سخت محیطی از جمله شوری، خشکی و دمای بالا است و اولین بار از کویر ثار (Thar) هند جداسازی شد (Waller et al. 2005). این قارچ در گذشته *Piriformospora indica* نامیده می‌شد. با این حال در حال حاضر در برخی از گزارش‌های جدید نیز پژوهشگران همچنان از نام قدیمی این قارچ بهره می‌برند. این قارچ قابلیت همزیست‌شدن با گستره وسیعی از گیاهان از جمله گیاهان تک لپه‌ای چون برنج و ذرت و نیز گیاهان دولپه‌ای چون آرابیدوبسیس دارد (Qiang et al. 2012). *S. indica* دارای دامنه میزبانی بسیار گسترده است (Qiang et al. 2012). توانایی کشت مستقل از میزبان، آن را به گزینه‌ای مناسب برای کاربردهای زیستی در کشاورزی پایدار تبدیل کرده است.

تاثیر تلقیح قارچ *S. indica* در افزایش توده زیستی گیاهانی مانند ذرت (*Zea mays*)، جعفری (*Petroselinum sativum*)، توتون (*Nicutina tabacum*)، ترخون (*Artemisia dracunculus*)، و درخت سپیدار (*Populus alba*) نیز توسط Varma et al. (1999) گزارش شده است. علاوه بر این، تاثیر مثبت این قارچ برروی افزایش تحمل گیاه در مقابل تنش‌های زیستی و غیرزیستی در گیاهان مختلف گزارش شده است (Saleem et al. 2022). در مطالعه‌ای قارچ *S. indica* باعث افزایش رشد ریشه و اندام هوایی ذرت تحت شرایط تنش خشکی و بدون تنش گردید. همچنین، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز) و محتوای پرولین در برگ‌های گیاهان تلقیح‌شده افزایش یافته و درمقابل میزان مالون‌دی‌آلدئید کاهش یافت (Xu et al. 2017). در پژوهشی دیگر اثر این قارچ بر تحمل به خشکی در ذرت نشان داد که کلونیزاسیون ریشه‌های ذرت با این قارچ منجر به افزایش طول ریشه، تعداد ریشه‌های اصلی و اندازه برگ‌ها و عملکرد گیاه می‌شود. تعداد ژن‌های پاسخ‌دهنده به قارچ در ریشه‌های ذرت تحت تنش خشکی و بدون تنش به‌ترتیب برابر با ۴۶۴ ژن و ۲۰۳۷ ژن و آنالیزهای ژن‌اُنتولوژی نشان داد که مسیرهای متابولیکی کربن و گوگرد از اهداف اصلی این قارچ می‌باشد. همچنین، قارچ باعث بهبود سیستم اکسیداتیو در ریشه‌ها و تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با هورمون‌هایی مانند آبسیزیک اسید، اکسین، سالیسیلیک اسید و سیتوکینین‌ها گردید (Zhang et al. 2018). در آزمایشی Ji et al. (2022) اثر قارچ *S. indica* را در خشکی و دمای بالا بر روی قلمه‌های *Rosa chinensis*، *Jasminum sambac* و *Rhododendron simsii* بررسی نمودند. این قارچ باعث افزایش بقا قلمه‌ها در شرایط خشک گردید و نیز میزان کلروفیل را افزایش و میزان مالون‌دی‌آلدئید را کاهش داد. همچنین قارچ باعث افزایش بقا کشت بافت *R. simsii* در تنش گرمایی و نیز سبب افزایش فعالیت‌های آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در نمونه‌های تیمار شده گردید. در پژوهشی دیگر نشان داده شد که همیاری قارچ *S. indica* با ریشه گیاه ذرت باعث مقاومت ذرت به بیماری انگلی ریشه ناشی از قارچ *Fusarium verticillioides* می‌شود. در این آزمایش میزان آنتی‌اکسیدان‌ها در بافت ریشه تلقیح شده با قارچ به‌طرز معنی‌داری افزایش یافت که باعث بهبود ریشه‌های تلقیح شده با قارچ *S. indica* شد (Kumar et al. 2009).

در این پژوهش، علاوه بر مقایسه هیبریدهای مختلف ذرت از نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان پراکسیداسیون لیپیدها در شرایط تنش گرمایی و شرایط نرمال، تأثیر قارچ *S. indica* بر بهبود این شاخص‌ها نیز مورد بررسی قرار گرفته است. همچنین، تعامل احتمالی بین ژنوتیپ‌های گیاه و قارچ در هر دو شرایط تنش و نرمال ارزیابی شده است؛ موضوعی که تاکنون کمتر مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. این اثر متقابل، از دیدگاه به‌نژادی حائز اهمیت است و می‌تواند در آینده زمینه‌ساز طراحی برنامه‌های به‌نژادی مبتنی بر بهره‌گیری از این قارچ باشد.

مواد و روش‌ها

محل، نقشه طرح و زمان اجرای طرح: این تحقیق در سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان واقع در شهر ملاثانی در ۳۶ کیلومتری شمال شرقی اهواز و در حاشیه شرقی رودخانه کارون با عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۳۶ دقیقه و طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۵۳ دقیقه با ارتفاع ۵۱ متر از سطح دریا، به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در شرایط نرمال و تنش گرمایی در مرحله گرده‌افشانی انجام شد. دو فاکتور شامل فاکتور رقم در سه سطح (رقم مقاوم به خشکی و گرمای سینگل کراس کارون ۷۰۱، رقم سینگل کراس AS71 و رقم سینگل کراس۷۰۴) و قارچ (تلقیح شده باقارچ و تلقیح نشده با قارچ) بود. کشت زود هنگام تابستانه (در تاریخ ۱۳۹۴/۴/۱) جهت اعمال تنش گرمایی و کشت تابستانه (در تاریخ ۱۳۹۴/۵/۲۰) به‌عنوان شاهد بدون تنش در نظر گرفته شد. نمونه‌برداری جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی و میزان مالون‌دی‌آلدئید از نزدیک‌ترین برگ به بلال در زمان گرده‌افشانی در دو کشت انجام گرفت. داده‌های حاصل با استفاده از تجزیه مرکب واکاوی شدند.

هیبرید سینگل کراس کارون ۷۰۱ یک رقم مقاوم به تنش خشکی و گرما است که در مرکز تحقیقات کشاورزی صفی‌آباد خوزستان تولید شده است (Barzegari et al. 2013). رقم سینگل کراس ۷۰۴ رقمی شناخته بوده که مدت‌ها است در اکثر نقاط ایران کشت می‌شود و هیبرید سینگل کراس AS71 نیز رقمی متوسط رس (۱۱۵-۱۱۰ روز) می‌باشد.

تکثیر و تولید قارچ *S. indica* در آزمایشگاه بیماری شناسی گیاهی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام گردید. منبع اولیه تهیه قارچ از دانشگاه مارتین لوتر هاله–ویتنبرگ آلمان توسط نگارنده سوم مقاله به ایران آورده شده است. برای تلقیح قارچ از دانه‌های جو، حامل کلامیدوسپورهای قارچ استفاده گردید. بدین ترتیب که ۶ دانه جو تلقیح شده با قارچ در شرایط آزمایشگاهی که همان مایه تلقیح قارچ هستند را در محل قرارگیری بذرهای ذرت قرار داده و ۲ بذر ذرت (جهت اطمینان برای سبز شدن حداقل یکی از بذرها) را در بین دانه‌های جو (با عمق کاشت ۶ سانتی‌متر) قرارداده شد تا بیشترین سطح تماس را با دانه‌های ذرت داشته باشند. بعداز کشت، عملیات آبیاری و کوددهی بر اساس روش معمول کشت ذرت انجام شدند. همزیستی ریشه‌ها با قارچ در مرحله سه برگی در هر دو کشت در آزمایشگاه بیماری شناسی گیاهی توسط میکروسکوپ Olympus مدل cx22 بررسی شد.

استخراج عصاره پروتئینی: به‌منظور استخراج محتوای پروتئینی نمونه‌های گیاهی، از بافر استخراج حاوی ۱۰۰ میلی‌مولار فسفات پتاسیم با pH =۷/۵، 2 میلی‌مولار EDTA، ۰/۵ درصد PVP (W/V) و ۰/۲ مولار سوکروز استفاده شد. پس از تهیه بافر استخراج، مقدار ۱ گرم از بافت تر گیاهی (ریشه یا اندام هوایی) را در یک هاون از پیش سرد شده ریخته و به‌مدت ۲۰ دقیقه ساییده شد تا کاملاً همگن شود. سپس مخلوط حاصل به لوله‌های سانتریفیوژ منتقل گردید و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و سرعت ۱۶۰۰۰ دور به‌مدت نیم ساعت، سانتریفیوژ شد. سپس سوپرناتانت حاصل را به میکروتیوب منتقل شده و در نیتروژن مایع فریز کرده و برای مطالعات بعدی در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز: سنجش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به‌روش Dazy et al. (2008) انجام شد. بدین منظور ۲۵۰ میکرولیتر از فسفات پتاسیم به‌همراه ۲۵۰ میکرولیتر H_2O_2 ۷۰ میلی‌مولار و ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر درون کووت منتقل شده و از آن برای شاهد استفاده شد. سپس ۲۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی را به مخلوط واکنشی فوق افزوده و منحنی فعالیت آنزیم در مدت ۱۸۰ ثانیه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده و یادداشت شد، میزان H_2O_2 موجود در مخلوط واکنش پس از ۱ دقیقه با استفاده از ضریب خاموشی (ε=0.28 mMol-1cm-1) و فرمول $A= \varepsilon bc$ محاسبه شد که نشان‌دهنده میزان فعالیت آنزیم کاتالاز می‌باشد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز: فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز به‌روش Chance & Maehly (1955) اندازه‌گیری شد. بدین منظور ۲۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (PH=7) با ۲۵۰ میکرولیتر گایاکول ۱۰ میلی‌مولار و ۳۴ میکرولیتر H_2O_2 ۷۰ میلی‌مولار محلول در فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (PH=7) به درون کووت منتقل شد. سپس ۴۶۶ میکرولیتر آب دوبار تقطیر استریل شده به‌علاوه ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به کووت افزوده و میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در طول موج ۴۷۰ نانومتر در مدت زمان واکنش ۱۸۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. از مخلوط واکنش بالا بدون عصاره آنزیمی به‌عنوان شاهد استفاده گردید. با استفاده از تغییرات جذب در یک دقیقه در ۴۷۰ نانومتر مقدار تتراگایاکول تشکیل شده محاسبه شد.

اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدئید: به‌منظور سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء براساس میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) تولید شده از روش Heath et al. (1968) استفاده شد. بدین منظور مقدار ۰/۵ گرم بافت تر گیاهی (ریشه یا ساقه) به ۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ درصد تری‌کلرواستیک اسید (TCA) اضافه شد. سپس عصاره به‌دست آمده به‌مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. یک میلی‌لیتر از سوپرناتانت به یک لوله تازه منتقل گردید و سپس ۴ میلی‌لیتر محلول ۲۰ درصد TCA حاوی ۰/۵ درصد اسید تیوباربیوتیک به آن اضافه شد. محلول حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب‌گرم با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد و سپس نمونه‌ها به‌سرعت سرد شدند. بعد از آن، محلول حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط و با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. در نهایت، میزان جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد.

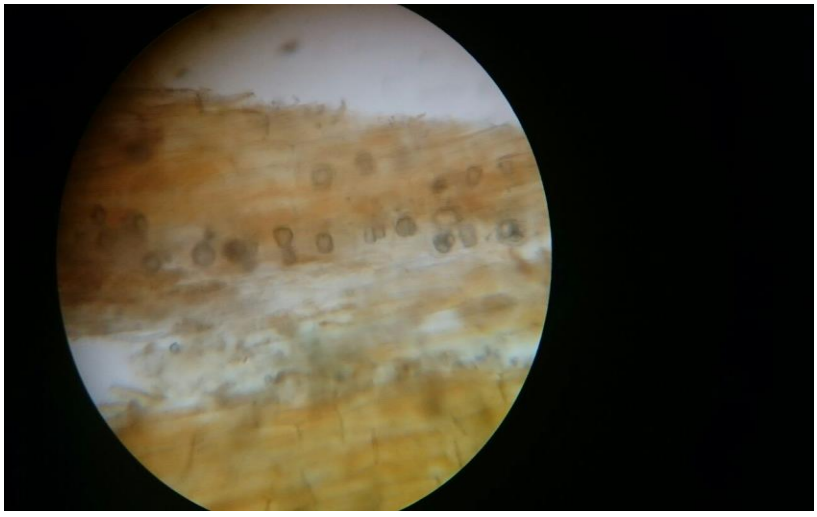
تجزیه واریانس داده‌های حاصل با استفاده از تجزیه مرکب و به‌وسیله نرم‌افزار SAS نسخه ۹,۴ انجام گرفت و شکل‌ها به‌کمک نرم‌افزار Excel 2013 ترسیم شدند.

نتایج و بحث

جهت اطمینان از کلونیزاسیون ریشه گیاهان تیمار شده با قارچ، از ریشه گیاهان تحت تیمار در مرحله دو برگی نمونه‌برداری

و زیر میکروسکوپ بررسی و از همزیست شدن قارچ با ریشه گیاهان اطمینان حاصل گردید (شکل ۱).

آنزیم کاتالاز: تجزیه مرکب داده‌های مربوط به فعالیت آنزیم کاتالاز (جدول ۱) نشان داد که اثرات تاریخ کشت، رقم و قارچ در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار بودند. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط نرمال و تنش به‌ترتیب برابر با ۱۵/۱۳ و ۲۱/۵ میکرومول آب اکسیژنه تجزیه شده به ازای هر دقیقه در هر گرم بافت برگ تازه ($\mu mol\ H_2O_2/min\ g\ FW$) به‌دست آمد. مطابق با مقایسه میانگین اثر رقم (شکل ۲)، رقم کارون دارای بیشترین میزان فعالیت کاتالاز بود. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان تلقیح شده با قارچ نسبت به گیاهان تلقیح نشده به‌ترتیب برابر با ۱۸/۵۶ و ۱۸/۱۲ بود.



شکل ۱. تصویر میکروسکوپی از اسپورهای قارچ در ریشه گیاه

Figure 1. Microscopic view of fungal spores colonizing the plant root

با توجه به نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) همچنین اثرات متقابل دوجانبه (بین تاریخ کاشت و رقم و همچنین بین رقم و قارچ) از لحاظ آماری معنی‌دار بودند. مقایسه میانگین اثر متقابل بین تاریخ کاشت و رقم (شکل ۳) و اثر متقابل رقم و قارچ (شکل ۴) در سطح ۱ درصد با آزمون دانکن انجام شد. طبق شکل ۳ در تمام ارقام، تنش باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز گردید، به‌طوریکه بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم کارون و محیط با تنش گرمایی رخ داد. براساس شکل ۴، تاثیرپذیری رقم کارون از قارچ، از لحاظ افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز، از دو رقم دیگر بیشتر بود. به عبارتی افزایش در میزان فعالیت آنزیمی کاتالاز در رقم کارون در شرایط همزیستی با قارچ نسبت به بدون همزیستی با قارچ بیشتر و این اختلاف معنی‌دار بود، حال آن که این اختلاف در دو رقم دیگر معنی‌دار نمی‌باشد.

آنزیم گایاکول پراکسیداز: تجزیه مرکب داده‌های مربوط به فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در جدول (۱) نشان داد که اثرات رقم و تاریخ کشت در سطح ۱ درصد معنی‌دار بودند و اثر قارچ با آستانه معنی‌داری ۵ درصد فاصله بسیار کمی (۰/۰۵۲)،

داشت. در شرایط کشت نرمال و کشت در شرایط تنش گرما، میانگین فعالیت این آنزیم به‌ترتیب ۲/۷۸ و ۱۰/۸ نانومول تتراگایاکول تولیدشده در دقیقه بر گرم وزن تازه برگ (nmol/min gr FW) به‌دست آمد. مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در ارقام مورد بررسی نشان داد که در مجموع میزان فعالیت این آنزیم در رقم کارون از دو رقم دیگر بیشتر بود (شکل ۵).

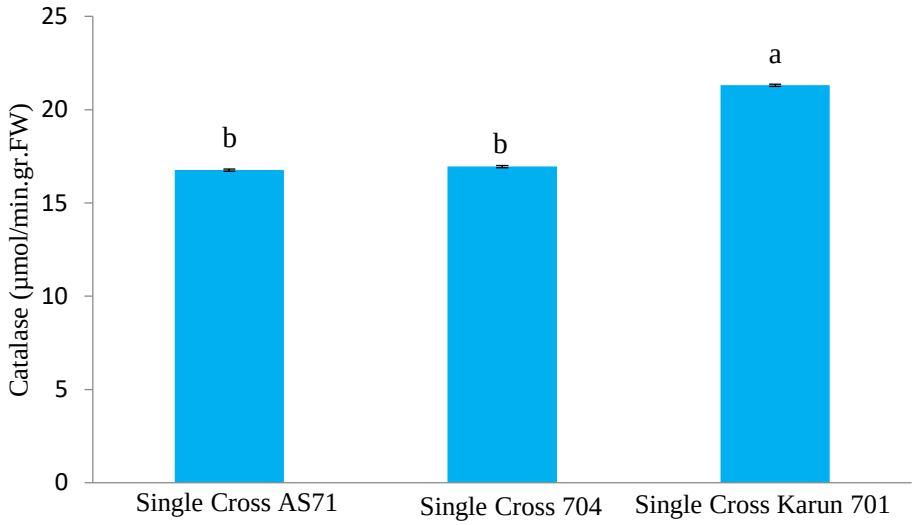
جدول۱. تجزیه واریانس میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز و میزان مالون‌دی‌آلدئید

Table 1. Analysis of variance of Catalase and Guaiacol Peroxidase activity and Malondialdehyde content

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات Mean of Squares		
Source of Variance	Degree of Freedom	کاتالاز Catalase	گایاکول پراکسیداز Guaiacol Peroxidase	مالون‌دی‌الدئید Malondialdehyde
تاریخ کشت Cultivation date	1	371**	577.6**	70.8**
خطای اول Error I	4	0.40	0.22	0.09
رقم Cultivar	2	79.4**	9.36**	12.2 **
قارچ Fungus	1	1.73**	1.28^{ns}	1.24*
تاریخ کشت×رقم Cultivation date×cultivar	2	26.77**	1.28*	2.54**
تاریخ کشت× قارچ Cultivation date×Fungus	1	0.12^{ns}	0.01^{ns}	0.06^{ns}
رقم×قارچ Cultivar×Fungus	2	0.70*	1.56*	0.11^{ns}
تاریخ کشت×رقم×قارچ Cultivation date×Cultivar×Fungus	2	0.24^{ns}	0.19^{ns}	0.19^{ns}
خطای دوم Error II	20	0.18	0.30	0.24
ضریب تغییرات Coefficient of Variation	-	2.37	8.08	7.69

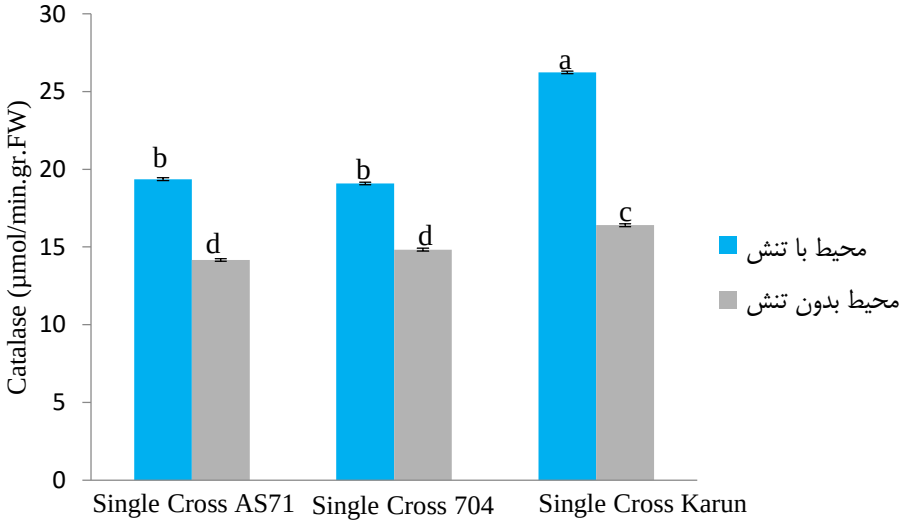
**، * و ns به ترتیب معنی‌داری در سطح ۱ درصد، معنی‌داری در سطح ۵ درصد و عدم معنی‌داری در سطح ۵ درصد است.

**, * and n.s denote significance at the 1% and 5% probability levels, and non-significance at the 5% level, respectively.



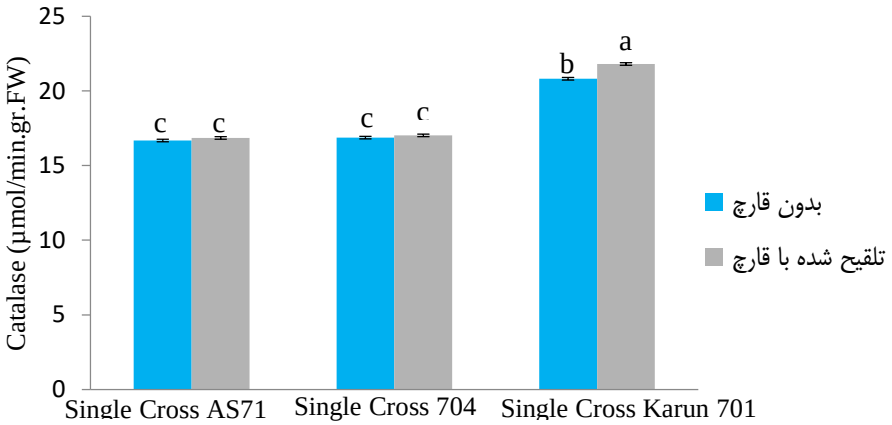
شکل ۲. مقایسه میانگین اثر رقم بر فعالیت آنزیم کاتالاز. میانگین‌ها با حروف مشترک اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (آزمون دانکن در سطح ۱ درصد)

Figure 2. Effect of cultivar on catalase activity: means comparison by Duncan's test, α = 0.01. Means with the same letter are not significantly different from each other



شکل ۳. مقایسه میانگین اثر تاریخ کاشت و رقم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز. میانگین‌ها با حروف مشترک اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (آزمون مقایسه میانگین دانکن در سطح ۱ درصد)

Figure 3. Effect of cultivation date and cultivar on catalase activity: Means comparison by Duncan's test, α = 0.01. Means with the same letter are not significantly different from each other



شکل ٤. مقایسه میانگین اثر رقم و قارچ بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز. میانگین‌ها با حروف مشترک اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (آزمون مقایسه میانگین دانکن در سطح ۵ درصد)

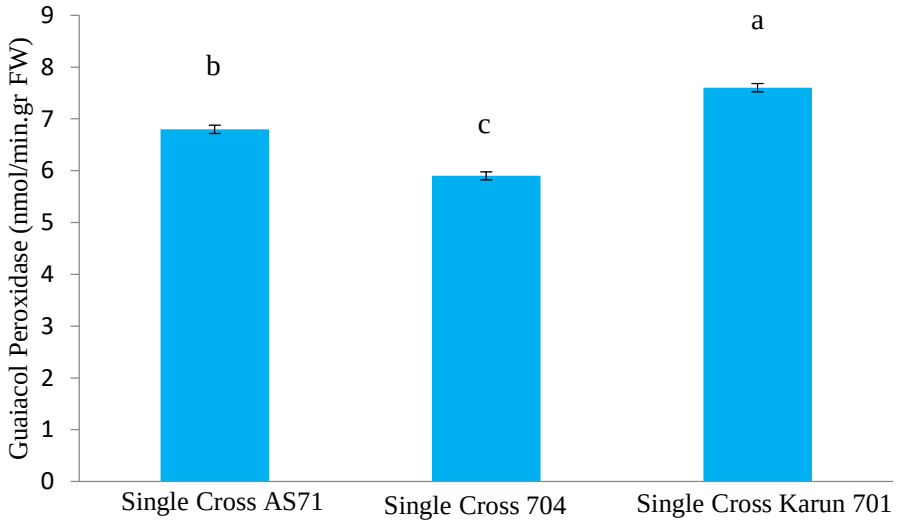
Figure 4. Effect of cultivar and fungus on catalase activity: Means comparison by Duncan's test, α = 0.05. Means with the same letter are not significantly different from each other

مشابه با فعالیت آنزیم کاتالاز، در خصوص آنزیم گایاکول پراکسیداز نیز اثرات متقابل بین تاریخ کشت و رقم و همچنین بین رقم و قارچ معنی‌دار بودند (جدول ۱). طبق شکل ۶ (مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و تاریخ کاشت)، هیبرید کارون در هر دو حالت کشت (نرمال و تنش گرما) حاوی بالاترین فعالیت آنزیمی بود و در هر سه رقم تنش باعث افزایش میزان فعالیت این آنزیم شده است. شکل ۷ مقایسه میانگین اثر متقابل بین رقم و قارچ واکنش متفاوت ارقام ذرت به همزیستی با قارچ را نشان داد. رقم کارون همزیستی موثرتری را در این زمینه با قارچ ایجاد نمود. حال آن که تاثیر قارچ در افزایش میزان فعالیت این آنزیم در دو رقم دیگر (نسبت به حالت شاهد) معنی‌دار نبود. به‌طوری‌که حتی در رقم سینگل کراس ۷۰۴ این اختلاف منفی بود. مطابق با شکل۶ همزیستی قارچ *S .indica* فقط با رقم کارون مشابه با فعالیت آنزیم کاتالاز، باعث افزایش معنی‌دار در میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز شده است.

مالون‌دی‌آلدئید: تجزیه مرکب داده‌های مربوط به میزان مالون‌دی‌آلدهید (MDA) (جدول ۱) نشان داد که اثر تاریخ کشت و رقم در سطح آماری ۱ درصد و همچنین اثر قارچ در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد. میزان مالون‌دی‌آلدئید در شرایط تنش و نرمال به‌ترتیب ۷/۸ و ۵ میکروگرم به‌ازای هر گرم بافت تر برگ (µg/g FW) بود. مقایسه میانگین میزان MDA در ارقام نشان داد که رقم ۷۰۴، و رقم کارون به‌ترتیب دارای بیشترین و کمترین میزان MDA بودند (شکل ۸). میانگین میزان MDA برای گیاهان تلقیح شده و نشده با قارچ به‌ترتیب برابر با ۶/۲ و ۶/۶ میکروگرم به ازای هر گرم بافت تر برگ بود که نشان‌دهنده اثر مثبت این قارچ در کاهش پراکسیداسیون لیپیدها است.

تجزیه مرکب برای اثرات متقابل (جدول ۱) نیز نشان داد که تنها اثر متقابل بین تاریخ کشت و رقم معنی‌دار بود و برخلاف

میزان فعالیت دو آنزیم کاتالاز و گایاکول پراکسیداز، اثر متقابل قارچ در رقم معنی‌دار نگردید. با توجه به نتایج مقایسه میانگین (شکل ۹) گیاهان مربوط به هر رقم در شرایط تنش بیشترین میزان مالون‌دی‌آلدئید را داشتند که مورد انتظار نیز بود. رقم مقاوم به گرما و خشکی کارون در هر دو شرایط برخلاف فعالیت‌های آنزیمی دارای کمترین میزان MDA نسبت به دو هیبرید دیگر بود. میزان افزایش MDA در شرایط تنش در هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ نسبت به دو هیبرید دیگر بیشتر بود.

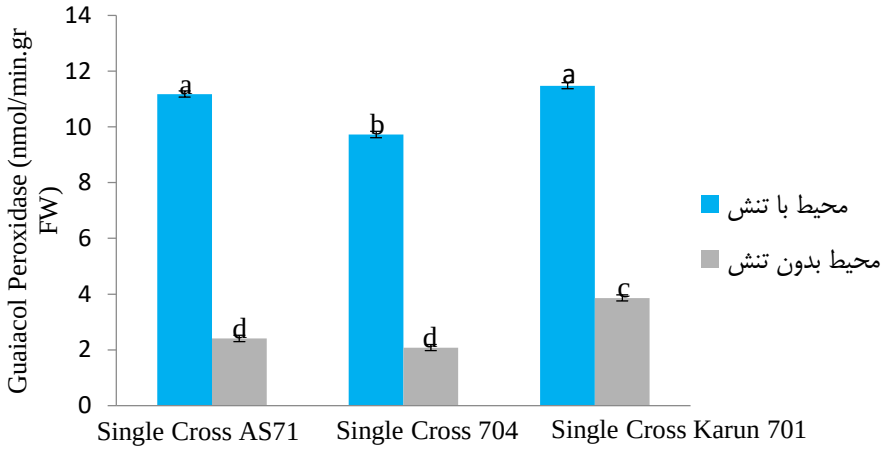


شکل ۵. مقایسه میانگین اثر رقم بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز. میانگین‌ها با حروف مشترک اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (آزمون مقایسه میانگین دانکن در سطح ۱ درصد)

Figure 5. Effect of cultivar on Guaiacol Peroxidase activity: means comparison by Duncan's test, α = 0.01. Means with the same letter are not significantly different from each other

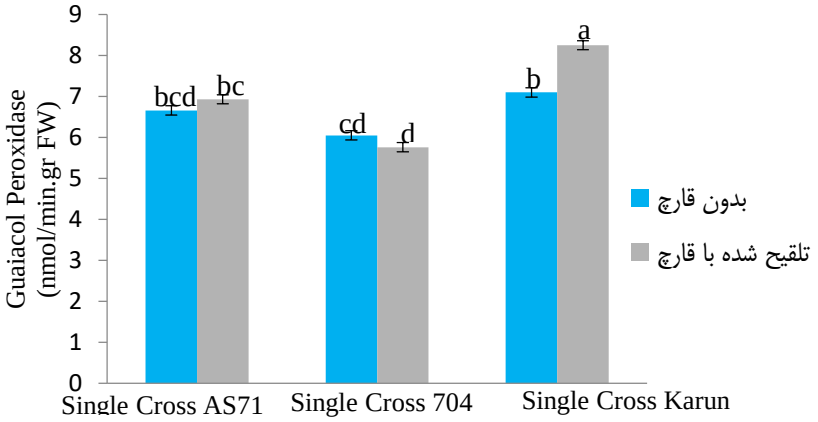
نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که قارچ اندوفیت *S. indica* تأثیر قابل توجهی بر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها در ذرت تحت تنش گرمایی دارد. این نتایج هم‌راستا با یافته‌های Xu et al. (2017) است که گزارش کردند تلقیح ذرت با *S. indica* باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش شاخص‌های آسیب اکسیداتیو شد. همچنین مطالعه‌ای بر روی جو توسط Baltruschat et al. (2008) نیز نشان داد که قارچ *S. indica* با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها، مقاومت گیاه به تنش شوری را افزایش می‌دهد. در مطالعه Sabeem et al. (2022) نیز این قارچ علاوه بر افزایش بیوماس گیاه و افزایش تحمل گیاه به تنش شوری، باعث افزایش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در هر دو شرایط نرمال و تحت تنش شوری در نخل خرما گردید. گزارش‌های Ji et al. (2024) و Li et al. (2021) نیز افزایش فعالیت آنزیم‌هایی مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز را در نتیجه تلقیح گیاهانی نظیر رز و موز با این قارچ به‌ترتیب تحت تنش‌های گرما و سرما گزارش کرده‌اند. تاثیر قارچ بر روی ارقام مختلف ذرت بر روی میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی یکسان نبود. هیبرید کارون که برای تحمل به تنش خشکی و گرما به‌نژادی شده است (Barzegari et al. 2013)،

همزیستی موفق‌تری با قارچ نسبت به دو رقم هیبرید دیگر ذرت داشت. معنی‌دار شدن اثر متقابل ژنوتیپ با قارچ نیز موید این نکته بود و اهمیت بررسی تعامل بین ژنوتیپ گیاه و قارچ را برجسته می‌سازد.



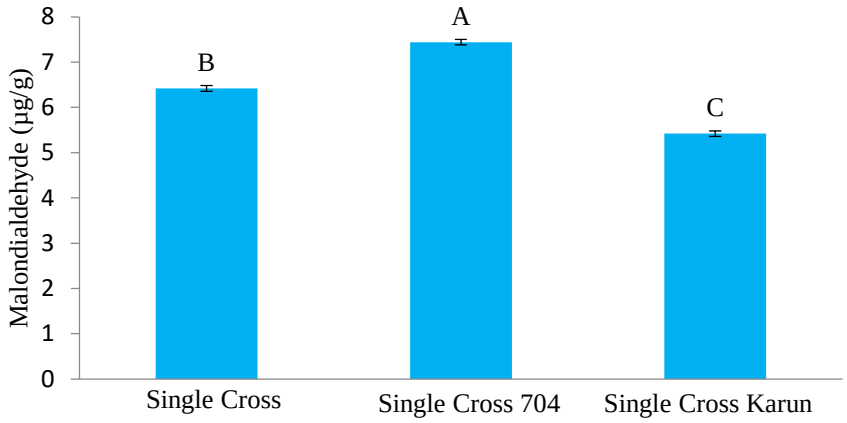
شکل ٦. مقایسه میانگین اثر محیط و رقم بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز. میانگین‌ها با حروف مشترک اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (آزمون دانکن در سطح ۱ درصد)

Figure 6. Effect of cultivation date and cultivar on Guaiacol peroxidase activity: means comparison by Duncan's test, α = 0.01. Means with the same letter are not significantly different from each other



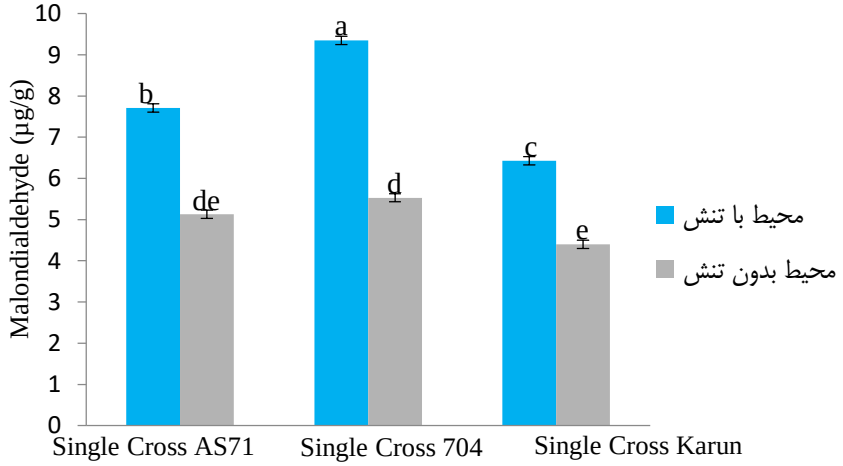
شکل ۷. مقایسه میانگین اثر رقم و قارچ بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز. میانگین‌ها با حروف مشترک اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (آزمون دانکن در سطح ۱ درصد)

Figure 7. Effect of cultivar and fungus on Guaiacol peroxidase activity: means comparison by Duncan's test, α = 0.01. Means with the same letter are not significantly different from each other



شکل ۸. مقایسه میانگین اثر رقم بر میزان مالون‌دی‌آلدهید. میانگین‌ها با حروف مشترک اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (آزمون مقایسه میانگین دانکن در سطح ۱ درصد)

Figure 8. Effect of cultivar on Malondialdehyde content: means comparison by Duncan's test, α = 0.01. Means with the same letter are not significantly different from each other



شکل ۹ . مقایسه میانگین اثر تاریخ کشت و رقم بر میزان مالون‌دی‌آلدئید. حروف مشترک اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (آزمون دانکن در سطح ۱ درصد)

Figure 9. Effect of cultivation date and cultivar on Malondialdehyde content: means comparison by Duncan's test, α = 0.01. Means with the same letter are not significantly different from each other

در مطالعه Saddique et al. (2018) اثر قارچ *S. indica* بر روی سه ژنوتیپ مختلف برنج که از لحاظ تحمل به شوری در سه دسته متحمل، نیمه متحمل و حساس قرار می‌گرفتند، در شرایط تنش خشکی مطالعه و میزان کل فعالیت آنزیم‌های

آنتی‌اکسیدانی آن را بررسی نمودند. آن‌ها نیز اثر متقابل بین قارچ و ژنوتیپ گیاه را گزارش نمودند. مشابه با یافته‌های مطالعه حاضر، ژنوتیپ متحمل در همزیستی با قارچ بالاترین سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها نشان داد.

نتیجه‌گیری: تاکنون مطالعات اندکی به بررسی اثر متقابل بین قارچ *S. indica* و ژنوتیپ گیاه پرداخته‌اند. با توجه به اینکه در این پژوهش چنین اثر متقابلی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد، پیشنهاد می‌شود که این تعامل در ارتباط با صفات فنوتیپی و عملکردی گیاه نیز مورد بررسی قرار گیرد. چنانچه اثر متقابل معنی‌داری بین قارچ و ژنوتیپ برای صفات زراعی کلیدی مشاهده شود، انتخاب ژنوتیپ‌هایی با توانایی همزیستی مؤثرتر با قارچ می‌تواند به‌عنوان یک رویکرد نوین در برنامه‌های اصلاحی و به‌نژادی مورد توجه قرار گیرد.

References

Baltruschat, H., Fodor, J., Harrach, B. D., Niemczyk, E., Barna, B., Gullner, G., ... & Skoczowski, A. (2008). Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. *New Phytologist*, *180*(2), 501-510. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02583.x

Barzegari, M., Choukan, R., Afsharmanesh, G. R., & Ghasemi Ilami, S. (2013). Single-cross corn hybrid Karun 701 with high grain yield and drought stress tolerance. *Research Findings in Agricultural and Horticultural Plants*, *2*(2), 155-164 [In Persian]

Chance, B., & Maehly, A. C. (1995). Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology*, *2*, 764-775. https://doi.org/10.1002/9780470110171.ch14

Dazy, M., Jung, V., Férard, J. F., & Masfaraud, J. F. (2008). Ecological recovery of vegetation on a coke-factory soil: role of plant antioxidant enzymes and possible implications in site restoration. *Chemosphere*, *74*(1), 57-63. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.09.014

Distéfano, A. M., Bauer, V., Cascallares, M., López, G. A., Fiol, D. F., Zabaleta, E., & Pagnussat, G. C. (2024). Heat stress in plants: sensing, signalling, and ferroptosis. *Journal of Experimental Botany*, *76*(5), 1357-1369. https://doi.org/10.1093/jxb/erae296

Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, *48*(12), 909-930. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016

Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., ... & Fotopoulos, V. (2020). Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*, *9*(8), 681. https://doi.org/10.3390/antiox9080681

Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *125*(1), 189-198. https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1

Janni, M., Maestri, E., Gullì, M., Marmiroli, M., & Marmiroli, N. (2024). Plant responses to climate change, how global warming may impact on food security: A critical review. *Frontiers in Plant Science*, *14*, 1297569. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1297569

Ji, H., Zhang, M., Huang, C., Lin, W., Lu, Y., Wang, P., ... & Guo, L. (2024). The Impact of *Piriformospora indica* on plant heat and drought tolerance. *Frontiers in Plant Science*, *15*, 1479561. https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1479561

Kumar, M., Yadav, V., Tuteja, N., & Johri, A. K. (2009). Antioxidant enzyme activities in maize plants colonized with *Piriformospora indica*. *Microbiology*, *155*(3), 780-790. https://doi.org/10.1099/mic.0.019869-0

Lata, R., Chowdhury, S., Gond, S. K., & White Jr, J. F. (2018). Induction of abiotic stress tolerance in plants by endophytic microbes. *Letters in Applied Microbiology*, *66*(4), 268-276. https://doi.org/10.1111/lam.12855

Li, D., Bodjrenou, D. M., Zhang, S., Wang, B., Pan, H., Yeh, K. W., ... & Cheng, C. (2021). The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms banana to cold resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(9), 4973. https://doi.org/10.3390/ijms22094973

Mishra, N., Jiang, C., Chen, L., Paul, A., Chatterjee, A., & Shen, G. (2023). Achieving abiotic stress tolerance in plants through antioxidative defense mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, *14*, 1110622. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1110622

Morales-Vargas, A. T., López-Ramírez, V., Álvarez-Mejía, C., & Vázquez-Martínez, J. (2024). Endophytic fungi for crops adaptation to abiotic stresses. *Microorganisms*, *12*(7), 1357. https://doi.org/10.3390/microorganisms12071357

Qiang, X., Weiss, M., Kogel, K. H., & Schäfer, P. (2012). *Piriformospora indica*—a mutualistic basidiomycete with an exceptionally large plant host range. *Molecular Plant Pathology*, *13*(5), 508-518. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00764.x

Sabeem, M., Abdul Aziz, M., Mullath, S. K., Brini, F., Rouached, H., & Masmoudi, K. (2022). Enhancing growth and salinity stress tolerance of date palm using *Piriformospora indica*. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 1037273. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1037273

Saddique, M. A. B., Ali, Z., Khan, A. S., Rana, I. A., & Shamsi, I. H. (2018). Inoculation with the endophyte *Piriformospora indica* significantly affects mechanisms involved in osmotic stress in rice. *Rice*, *11*, 1-12. https://doi.org/10.1186/s12284-018-0226-1

Saleem, S., Sekara, A., & Pokluda, R. (2022). *Serendipita indica*—a review from agricultural point of view. *Plants*, *11*(24), 3417. https://doi.org/10.3390/plants11243417

Varma, A., Verma, S., Sudha, Sahay, N., Bütehorn, B., & Franken, P. (1999). *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. *Applied and Environmental Microbiology*, *65*(6), 2741-2744. https://doi.org/10.1128/AEM.65.6.2741-2744.1999

Verma, A., Shameem, N., Jatav, H. S., Sathyanarayana, E., Parray, J. A., Poczai, P., & Sayyed, R. Z. (2022). Fungal endophytes to combat biotic and abiotic stresses for climate-smart and sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 953836. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.953836

Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., ... & Kogel, K. H. (2005). The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *102*(38), 13386-13391. https://doi.org/10.1073/pnas.0504423102

Xu, L., Wang, A., Wang, J., Wei, Q., & Zhang, W. (2017). *Piriformospora indica* confers drought tolerance on *Zea mays* L. through enhancement of antioxidant activity and expression of drought-related genes. *The Crop Journal*, *5*(3), 251-258. https://doi.org/10.1016/j.cj.2016.10.002

Zhang, W., Wang, J., Xu, L., Wang, A., Huang, L., Du, H., ... & Oelmüller, R. (2018). Drought stress responses in maize are diminished by *Piriformospora indica*. *Plant Signaling & Behavior*, *13*(1), e1414121. https://doi.org/10.1080/15592324.2017.1414121