تحقیقات علوم زراعی در مناطق خشک/ جلد چهارم، شماره دوم، پاییز و زمستان ۱۴۰۱، ص ۴۸۵-۴۷۵

مقاله پژوهشی

اثر قارچ میکوریزا، تریکودرما و سلنیوم بر عملکرد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی توت‌فرنگی (*Fragaria × ananassa* Duch.)

علی لچینانی[۱]، سید جلال طباطبایی[۲*]، امیر بستانی[۳]، وحید عبدوسی[۴]، سعید رضائی[۵]

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه علوم باغبانی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲- گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد ، تهران، ایران
۳- گروه خاک شناسی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۴- گروه علوم باغبانی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۵- گروه گیاهپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

* مسئول مکاتبه: J.tabatabaei@shahed.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱ /۰۱/۰۶ **DOI: 10.22034/CSRAR.2023.324853.1182**

چکیده

به منظور ارزیابی اثر قارچ‌های میکوریزا (*Rhizophagus irregularis*)، تریکودرما (*Trichoderma harzianum*) و سلنیوم بر عملکرد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی توت‌فرنگی، آزمایشی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۶ به اجرا درآمد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تیمارها شامل قارچ (میکوریزا، تریکودرما)، سلنیوم (۰، ۰/۵، ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و رقم (گاویوتا و کاماروسا) بود. نتایج نشان داد که کاربرد قارچ‌های میکوریزا و تریکودرما منجر به افزایش معنی‌دار عملکرد گردید. تیمار قارچ تریکودرما و میکوریزا نسبت به شاهد به ترتیب ۳۹/۶ و ۲۷/۱ درصد افزایش عملکرد داشت. هم‌چنین مصرف سلنیوم نسبت به شاهد، عملکرد را افزایش داد. ترکیبات فنلی، فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز تحت تأثیر تیمارهای قارچ و سلنیوم قرار گرفت. به‌طوری‌که بیشترین فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در شرایط استفاده از سلنیوم به میزان ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک مشاهده گردید. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ارقام متفاوت بود و فعالیت این آنزیم‌ها در رقم گاویوتا نسبت به کاماروسا بیشتر بود. فعالیت آنزیم کاتالاز با مصرف تریکودرما و میکوریزا و سلنیوم ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک به حداکثر رسید. بنظر می‌رسد هر دو قارچ میکوریزا و تریکودما با کمک به جذب بهتر عناصر، باعث افزایش عملکرد و فعالیت آنزیم‌ها می‌شوند؛ بنابراین استفاده از قارچ‌ها و سلنیوم با غلظت ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک برای افزایش کمیت و کیفیت توت‌فرنگی قابل توصیه است.

واژه‌های کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، فنل کل، کاماروسا، گاویوتا

مقدمه

توت‌فرنگی (*Fragaria × ananassa* Duch.) به دلیل غنی بودن از انواع ویتامین‌ها، فیبر، آنتی‌اکسیدان‌ها و عناصر معدنی مانند پتاسیم، کلسیم، منیزیم، فسفر، از طرف‌داران زیادی برخورداراست، به‌طوری‌که کشت و کار آن در طی سالیان اخیر در کشورمان رشد چشم‌گیری داشته است. تازه بودن این میوه بسیار مهم است، بنابراین کشاورزان برای ماندگاری بیشتر و ایجاد جذابیت برای خریدار، قارچ‌کش‌های قوی به آن می‌زنند که اگر باقی‌مانده این سموم در زمان استفاده بیشتر از حد مجاز باشد، باعث ایجاد مسمومیت‌های مزمن در افراد خواهد شد. به‌دلیل استفاده بی‌رویه از آن‌ها، این سموم وارد چرخه غذایی مصرف‌کنندگان و باعث امراض گوناگونی در طولانی‌مدت می‌شوند. راه حل این مشکل کشت توت‌فرنگی به‌صورت ارگانیک می‌باشد که در آن از هیچ ماده شیمیایی استفاده نمی‌شود (Rahmani and Mohammadi Goltapeh, 2018).

روش‌های کشاورزی متداول در جهان امروزه موفقیت قابل قبولی را در استفاده از مدیریت منابع نداشته و با اتکای بیش از حد به نهاده‌های مصنوعی و تزریق انرژی کمکی مانند کودها و سموم شیمیایی باعث ایجاد اکوسیستم‌های زراعی ناپایدار شده است. راه حل اساسی حرکت به سوی کشاورزی پایدار بر پایه استفاده هر چه بهتر از نهاده‌های درون مزرعه‌ای از جمله کودهای زیستی می‌باشد (Piñeiro *et al.*, 2020; Parray and

Shameem, 2020). این میکروارگانیسم‌ها علاوه بر نقش جذب عناصر، باعث کاهش بیماری‌ها، بهبود ساختمان خاک، تحریک بیش‌تر رشد گیاه و افزایش کمی و کیفی محصول و هم‌چنین افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی می‌شوند. از جمله این میکروارگانیسم‌ها قارچ‌های میکوریزا هستند که سبب تغییر ترکیب شیمیایی ترشحات ریشه، جذب عناصر غذایی، تأثیرگذاری بر تعاملات جامعه میکروبی ریزوسفر گیاهان عالی می‌شود و همه این عوامل بر ترکیب جامعه گیاهی اثر می‌گذارد (Sosa-Hernández *et al.*, 2019; Devi *et al.*, 2021).

علاوه بر میکوریزا، گونه‌های مختلف تریکودرما به عنوان جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی و ابزار زیستی موفق در زمینه کشاورزی پایدار و مؤثر در افزایش عملکرد محصولات کشاورزی مطرح می‌باشند. این ریزجانداران با دارا بودن توان رقابت غذایی بالا، استقرار و اسپورزایی فراوان در محیط ریشه‌ی اغلب گیاهان زراعی و غیرزراعی و نیز قابلیت القای مقاومت در گیاه، نه تنها باعث کاهش عوامل بیمارگر در خاک شده، بلکه در برخی موارد موجب تحریک رشد گیاه می‌گردد (Heidarzadeh *et al.*, 2016; Sosa-Hernández *et al.*, 2019). در کل گونه‌های مختلف تریکودرما فعالیت بیمارگرهای مختلف گیاهی اطراف ریشه را کاهش داده و راهبرد دفاعی گیاه را تقویت می‌نمایند. هم‌چنین در افزایش رشد گیاه، اصلاح جذب مواد غذایی و بهبود دفاع گیاه در مقابل تنش‌های زنده و غیر زنده نقش دارند (Ramírez-Valdespino and Orrantia-Borunda, 2021). در مورد استفاده از میکرواورگانیسیم‌ها مشخص شده است که کاربرد میکوریزا و تریکودرما منجر به افزایش معنی‌دار عملکرد میوه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و پراکسیداز در ارقام مختلف فلفل گردید (Duc *et al.*, 2017).

سلنیوم به خاطر حضور در سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی و تعادل هورمونی به‌عنوان یک ماده‌ی اساسی برای سلامتی انسان و حیوان شناخته شده است (Turakainen, 2007). بهترین منبع سلنیوم، گیاهان هستند که سلنیوم را از خاک جذب کرده و به زنجیره غذایی وارد می‌کنند (Fairweather-Tait *et al.*, 2010). غلظت سلنیوم در گیاهان بستگی به شکل شیمیایی، غلظت و فراهم بودن آن عنصر در خاک و ظرفیت تجمع گیاهان دارد. غلظت مناسب سلنیوم اثر مفیدی روی رشد، مقاومت به تنش در گیاهان با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها دارد (Turakainen, 2007). در حدود ۳۰ سلنو آنزیم و سلنو پروتئین شناخته شده است که سلول را در برابر رادیکال‌های آزاد حفاظت می‌کنند. سلنیوم با ورود به ساختار پروتئین، بافت‌ها و غشاهای سلولی را در برابر تخریب ناشی از تنش اکسیداتیو محافظت می‌کند (Jóźwiak and Politycka, 2019). در همین راستا در مطالعه‌ای فعالیت آنزیم کاتالاز با کاربرد سلنیوم افزایش یافت (Zahangeer Alam *et al.*, 2019). در مطالعه انجام شده روی توت‌فرنگی مشخص شد که تیمار سلنیوم می‌تواند رشد و علمکرد گیاه را در هم شرایط نرمال و هم شرایط تحت تنش به طور مطلوبی بهبود ببخشد (Zahedi *et al.*, 2019). هم‌چنین، مشخص شده است که تیمار سلنیوم می‌تواند وضعیت عناصر غذایی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان توت‌فرنگی را تحت تأثیر قرار دهد (Narváez-Ortiz *et al.*, 2018).

از آنجایی‌که نقش سلنیوم در سلامت انسان‌ها و پیش‌گیری از بیماری‌ها به اثبات رسیده است؛ لذا غنی‌سازی محصولات کشاورزی از جمله توت‌فرنگی می‌تواند راهکاری مناسب برای وارد کردن این عنصر به رژیم غذایی افراد جامعه باشد و از طرف دیگر چون سلامت انسان‌ها به محیط زیست وابسته است، استفاده از قارچ‌های بیولوژیک باعث حفظ محیط زیست و نهایتاً منجر به سلامتی افراد جامعه خواهد شد؛ بنابراین هدف از این پژوهش ارزیابی اثر میکوریزا، تریکودرما و سلنیوم بر عملکرد و برخی صفات فیزیولوژیکی ارقام توت‌فرنگی است.

مواد و روش‌ها

به منظور ارزیابی اثر قارچ‌های میکوریزا، تریکودرما و سلنیوم بر عملکرد و برخی صفات فیزیولوژیک دو رقم توت‌فرنگی، آزمایشی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه شاهد به اجرا درآمد. آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار و در هر تکرار تعداد چهار بوته و به صورت گلدانی اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل عامل رقم توت‌فرنگی در دو سطح (گاویوتا و کاماروسا)، عامل کاربرد انواع قارچ در سه سطح (بدون کاربرد قارچ‌ها، کاربرد قارچ میکوریزا و کاربرد قارچ تریکودرما) و عامل سوم شامل استفاده از سلنیوم از منبع سلنات سدیم در پنج سطح خالص سلنیوم (۰، ۰/۵، ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) بود.

ارقام توت‌فرنگی به‌صورت نشاءهای ریشه‌پر در داخل سینی‌های نشاء از یک مرکز تجاری تولید نشاء توت‌فرنگی در آذر ماه ۱۳۹۶ تهیه گردید. نشاءهای آماده دو رقم از گیاه توت‌فرنگی (گاویوتا و کاماروسا) در اواخر آذر ماه به بستر کاشت انتقال یافت. بستر کاشت مورد استفاده در این آزمایش شامل مخلوطی از خاک لومی با ۵ درصد ماده آلی بود که در هر گلدان به ابعاد ۱۸×۲۰ سانتی‌متر یک گیاه کشت شد. هم‌زمان با کاشت بوته-های توت‌فرنگی، تیمارهای قارچ شامل میکوریزا و قارچ تریکودرما، همراه با خاک در داخل بستر کاشت به میزان ۵۰ گرم، به‌طوری‌که زیر ریشه نشاءهای توت‌فرنگی قرار گیرد، اعمال شد. اعمال سطوح مختلف سلنیوم (به‌صورت سلنات سدیم) در غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک در زمان استقرار کامل نشاءهای توت‌فرنگی بر اساس وزن هر گلدان همراه با آب آبیاری انجام شد. قارچ‌های میکوریزا و تریکودرما از شرکت‌های داخلی (شرکت زیست فناور توران و شرکت فناوران حیات سبز) تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. لازم به ذکر است بر اساس نتایج آزمون خاک (نیتروژن کل، فسفر قابل دسترس، و آهن، روی، منگنز و مس قابل عصاره‌گیری با DTPA به ترتیب ۰/۰۵۱ درصد، ۵/۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۵/۶، ۴/۱، ۵/۷ و ۲/۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) عناصر غذایی ضروری افزوده شد.

صفاتی نظیر عملکرد میوه، ترکیبات فنلی، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز مورد سنجش قرار گرفت. جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و ترکیبات فنلی نمونه‌گیری بعد از اعمال تیمارها و قبل از پیری و زوال برگ‌ها انجام گرفت. تعیین مقدار فنول کل با استفاده از فولین سیوکالچو صورت گرفت (McDonald et al., 2001).

به‌منظور اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز، ۵۰ میکرو لیتر از عصاره استخراج با یک میلی‌لیتر محلول اندازه‌گیری کاتالاز که شامل ۵۰ میلی‌مول بافر فسفات پتاسیم (pH=7) و ۱۵ میلی مول پراکسید هیدروژن است، مخلوط شد. سپس جذب آن در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. یک واحد آنزیمی کاتالاز برابر با تجزیه یک میلی‌مولار پراکسیدهیدروژن در یک دقیقه است (Dhindsa and Matowe, 1981).

برای اندازه‌گیری میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج با یک میلی‌لیتر محلول اندازه‌گیری آسکوربات پراکسیداز که شامل ۵۰ میلی‌مول بافر فسفات پتاسیم (pH=7)، ۰/۱ میلی‌مول EDTA، ۰/۵ میلی‌مولار آسکوربیک اسید، ۰/۱۵ میلی‌مولار پراکسیدهیدروژن است، مخلوط شد. سپس جذب آن در طول موج ۲۹۰ نانومتر بعد از مدت یک دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر مورد خوانش قرار گرفت (Nakano and Asada, 1981).

اساس اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز طبق توانایی آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در متوقف کردن احیای فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم توسط رادیکال‌های سوپراکسید در حضور ریبوفلاوین در نور صورت گرفت. در این روش ۵۰ میکرو لیتر از عصاره استخراج با یک میلی‌لیتر محلول‌اندازه‌گیری سوپراکسیددیسموتاز مخلوط شد. این محلول شامل ۵۰ میلی-مول بافر فسفات پتاسیم (pH=7.8)، ۷۵ میکرومولار NBT، ۱۳ میلی‌مولار ال میتونین، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA و ۲ میکرومولار ریبوفلاوین است. جهت انجام واکنش، این مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در اتاقک نور قرار داده شد و سپس محلول حاصل در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد (Beauchamp and Fridovich, 1971).

داده‌های حاصل از آزمایش، از طریق برنامه‌های آماری SAS (v.9.12) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه دانکن در سطح پنج درصد مقایسه شدند. رسم نمودارها با کمک نرم‌افزار Excel (2010) انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر سلنیوم در سطح یک درصد و کاربرد قارچ تریکودرما و میکوریزا در سطح پنج درصد بر عملکرد میوه توت‌فرنگی معنی‌دار گردید (جدول ۱). کاربرد سلنیوم منجر به افزایش معنی‌دار عملکرد میوه توت‌فرنگی نسبت به شاهد گردید، اما بین سطوح مختلف سلنیوم از نظر عملکرد میوه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). بیشترین عملکرد میوه در کاربرد قارچ تریکودرما (۵۱/۶ گرم در هر گیاه) و میکوریزا (۴۷/۳ گرم در هر گیاه) بدست آمد، به‌طوری‌که عملکرد میوه در

شرایط استفاده از قارچ تریکودرما و میکوریزا نسبت به تیمار شاهد به ترتیب ۳۹/۶ و ۲۷/۱ درصد افزایش یافت (شکل ۱).

مصرف کودهای زیستی می‌تواند کمبود عناصر غذایی را جبران کند و از طریق تولید تنظیم‌کننده‌های رشد توسط میکروب‌های موجود در محیط ریشه، باعث بهبود نمو گیاه شود، زیرا این میکروب‌ها موجب تحریک توسعه ریشه و در نتیجه جذب بهتر آب و مواد غذایی از خاک می‌شوند (Sosa-Hernández *et al.*, 2019; Ramírez-Valdespino and Orrantia-Borunda, 2021).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر قارچ‌های میکوریزا، تریکودرما و سلنیوم بر عملکرد و برخی صفات دو رقم توت‌فرنگی

Table 1- Analysis of variance indicating the effects of Mycorrhiza fungus, Trichoderma and selenium on yield and some traits of two strawberry varieties

منابع تغییر Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of Squares				
		عملکرد میوه Fruit yield	فنل کل Total phenol	سوپراکسید دیسموتاز Super oxide dismutase (SOD)	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase (APX)	کاتالاز Catalase (CAT)
رقم Variety (V)	1	160.63 ^{ns}	0.648 ^{ns}	51.7 **	74.17 **	0.03 ^{ns}
قارچ‌ها Fungus (F)	2	314.85 *	0.215 ^{ns}	0.85 ^{ns}	1.19 ^{ns}	0.50 ^{ns}
سلنیوم Selenium (Se)	4	357.15 **	5.07 **	1.93 **	7.24 **	7.53 **
V×F	2	132.25 ^{ns}	0.21 ^{ns}	1.40 ^{ns}	0.03 ^{ns}	4.09 **
V×Se	4	73.75 ^{ns}	0.67 ^{ns}	0.83 ^{ns}	0.52 ^{ns}	5.62 **
F×Se	8	126.28 ^{ns}	0.50 ^{ns}	0.51 ^{ns}	0.76 ^{ns}	0.78 ^{ns}
V×F×Se	8	21.13 ^{ns}	0.43 ^{ns}	0.121 ^{ns}	0.41 ^{ns}	1.79 **
خطا Error	60	82.24	0.52	0.47	1.07	0.31
ضریب تغییرات CV (%)	-	16.40	12.30	15.60	16.03	15.41

ns، * و ** : به ترتیب عدم معنی‌دار و معنی‌دار در سطوح ۵ و ۱ درصد

ns, * and **: Indicate non-significant, significant at 5% and 1% probability level, respectively.

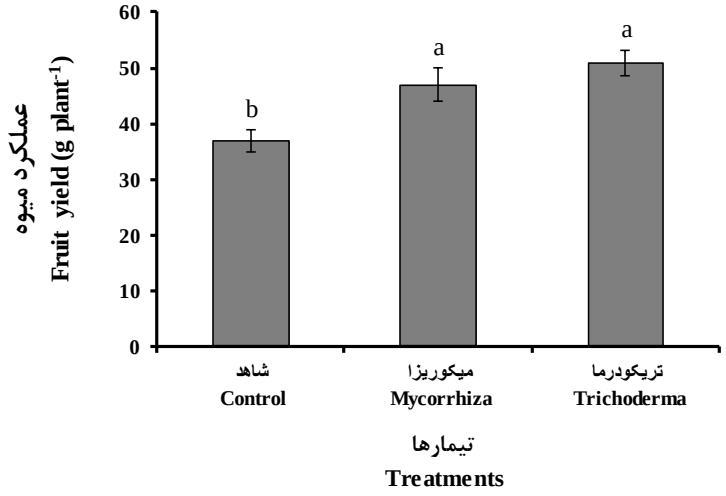
جدول ۲- مقایسه میانگین اثر سلنیوم بر عملکرد و برخی صفات توت‌فرنگی

Table 2- Mean comparison of the effect of selenium on yield and some traits of strawberry

سلنیوم Treatments (mg kg^{-1} soil)	عملکرد میوه Fruit yield (g plant^{-1})	فنل کل Total phenol (mg Galic acid. mg^{-1} FW)	سوپراکسید دیسموتاز SOD (U mg^{-1} protein mg^{-1} FW)	آسکوربات پراکسیداز APX (U mg^{-1} protein mg^{-1} FW)
0	41.09 b	5.62 c	3.59 b	5.25 c
0.5	48.02 ab	6.32 b	3.73 b	5.94 bc
1	49.95 a	7.26 a	3.67 b	6.01 bc
2	52.95 a	6.43 b	3.88 b	6.47 b
4	54.65 a	6.34 b	4.58 a	7.37 a

در هر ستون حروف مشابه بیانگر عدم وجود تفاوت معنی‌دار در بین میانگین تیمارها در سطح احتمال پنج درصد می‌باشند.

Means in each column followed by the same letter are not significantly different at 5% probability.



شکل ۱- اثر قارچ تریکودرما و میکوریزا بر عملکرد میوه توت‌فرنگی

Figure 1- The effect of Mycorrhiza and *Trichoderma* on fruit yield of strawberry

بنابراین به نظر می‌رسد که اثر مثبت تریکودرما و میکوریزا بر عملکرد میوه ممکن است ناشی از بهبود جذب آب و مواد معدنی، ایجاد مقاومت و یا افزایش تحمل به تنش‌های زنده و غیر زنده و حفاظت از آفات و بیماری‌های گیاهی باشد (Duc *et al.*, 2017).

همچنین مشخص شده است که استفاده از قارچ‌های تریکودرما، فاکتورهای رشدی مانند اکسین، سیتوکینین، اتیلن و مولکول‌های شبه سیتوکینین مانند زآتین و جیبرلین یا وابسته به جیبرلین را تولید می‌کنند که باعث افزایش رشد ریشه و توسعه گیاه می‌شوند (Heidarzadeh *et al.*, 2016; Sosa-Hernández *et al.*, 2019). در همین راستا نتایج مطالعات بسیاری بیانگر افزایش عملکرد میوه با کاربرد میکوریزا است (Duc *et al.*, 2017; Bakr *et al.*, 2017). هم‌چنین اثر مثبت کاربرد تریکودرما بر افزایش عملکرد میوه در این مطالعه با نتایج سایر محققان مطابقت دارد (Yadav *et al.*, 2015; Yuan *et al.*, 2016).

در تفسیر افزایش عملکرد میوه در شرایط استفاده از سلنیوم می‌توان بیان کرد که محلول‌پاشی سلنیوم موجب کاهش تعرق، افزایش فتوسنتز خالص و میزان عملکرد کوانتومی در فتوسیستم دو می‌شود. زیرا سلنیوم سیستم دفاعی گیاه و آنتی‌اکسیدان‌ها را بالا برده و میزان تجمع نشاسته و قندها را افزایش می‌دهد و از این طریق منجر به افزایش عملکرد می‌گردد (Glover *et al.*, 2014).

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر سلنیوم در سطح یک درصد بر ترکیبات فنلی معنی‌دار گردید (جدول ۱). کاربرد سلنیوم به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک منجر به افزایش این صفت شد. میزان ترکیبات فنلی در شرایط کاربرد سلنیوم به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک نسبت به تیمار شاهد (عدم استفاده از سلنیوم) ۲۹/۳ درصد افزایش یافت؛ اما افزایش سلنیوم به میزان ۲ و ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک منجر به کاهش ترکیبات فنلی گردید (جدول ۲). افزایش میزان فنل با کاربرد سلنیوم با نتایج سایر تحقیقات در پیاز و بادرنجبویه هم‌راستا است (Habibi *et al.*, 2016; Bazl *et al.*, 2018).

فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر اثر اصلی کاربرد قارچ و اثر متقابل رقم× قارچ، رقم × سلنیوم و رقم× قارچ× سلنیوم در سطح یک درصد قرار گرفت (جدول ۱). در کل کاربرد قارچ تریکودرما و میکوریزا و سلنیوم به میزان ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک در رقم کاماروسا منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز گردید. بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم کاماروسا در شرایط استفاده از قارچ تریکودرما و ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک سلنیوم (۵/۲۲ u/mg protein.min) و استفاده از قارچ میکوریزا و ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک سلنیوم (u/mg protein.min ۵/۳) حاصل شد که نسبت به شاهد (عدم استفاده از قارچ و سلنیوم) به ترتیب ۳/۲ و ۳/۳ برابر افزایش یافت (جدول ۳).

کاتالاز یکی از آنتی‌اکسیدان‌های مؤثر در سیستم دفاعی اکثر گیاهان در مقابله با تنش‌های غیرزیستی است. این آنزیم می‌تواند به طور مستقیم پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل کند و سمیت این رادیکال آزاد را به طور کامل حذف کند. کاتالاز یکی از سریع‌ترین آنتی‌اکسیدان‌ها شناخته شده است که می‌تواند کمتر از یک دقیقه شش میلیون رادیکال آزاد پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل نماید. نتایج بسیاری از مطالعات بیانگر اثر مثبت میکوریزا بر افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها است (Esna-Ashrafi *et al.*, 2018). در مطالعه‌ای کلونیزاسیون میکوریزا در گیاهان منجر به فعالیت بالاتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز می‌شود (Sharma *et al.*, 2017). افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز با کاربرد میکوریزا با نتایج سایر محققان در ماش مطابقت دارد (Das and Sarkar, 2018; Zahangeer Alam *et al.*, 2019). چندین مطالعه نشان دادند که کاربرد تریکودرما می‌تواند منجر به بهبود آنزیم‌های دفاعی در گیاهان شود (Gajera *et al.*, 2016; Guler *et al.*, 2016). در این تحقیق کاربرد سلنیوم منجر به افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز گردید. در همین راستا در آزمایشی استفاده از سلنیوم منجر به افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز گردید (Zahangeer Alam *et al.*, 2019) که این موضوع با نتایج سایر تحقیقات در گوجه فرنگی مطابقت دارد (Alyemeni *et al.*, 2017).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل دوگانه قارچ‌های میکوریزا، تریکودرما و سلنیوم بر فعالیت آنزیم کاتالاز دو رقم توت‌فرنگی

Table 3- Mean comparison of dual interactions of Mycorrhiza fungus, *Trichoderma* and selenium on catalase enzyme activity of two strawberry varieties

تیماره Treatments		کاتالاز CAT(U/mg protein.min)	
قارچ‌ها Fungus	سلنیوم Selenium (mg kg^{-1} soil)	کاماروسا Camarosa	گاویوتا Gaviota
شاهد Control	0	1.23 ij	1.67 hij
	0.5	1.30 hij	1.79 hij
	1	1.46 hij	2.10 f-h
	2	1.82 g-j	2.51 e-h
	4	2.27 e-h	2.83 d-g
میکوریزا Mycorrhiza	0	0.93 j	3.12 b-f
	0.5	2.34 e-h	3.22 b-e
	1	4.03 bc	2.36 e-h
	2	3.74 bcd	2.40 e-h
	4	5.30 a	3.06 b-f
تریکودرما Trichoderma	0	1.89 g-j	2.82 d-g
	0.5	2.58 e-h	4.08 b
	1	2.10 ghi	3.02 c-f
	2	3.22 b-e	3.86 bc
	4	5.22 a	3.90 bc

در هر ستون حروف مشابه بیانگر عدم وجود تفاوت معنی‌دار در بین میانگین تیمارها در سطح احتمال پنج درصد می‌باشند

Means in each column followed by the same letter are not significantly different at 5% probability

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی رقم و سلنیوم در سطح یک درصد بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار گردید (جدول ۱). میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در رقم گاویوتا بالاتر از رقم کاماروسا توت‌فرنگی بود (جدول ۴). به‌طورکلی کاربرد سلنیوم منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز گردید. بیشترین میزان این صفت در شرایط استفاده از سلنیوم به میزان ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک بود که فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در این تیمار نسبت به شاهد ۴۰/۴ درصد افزایش یافت (جدول ۲). در این آزمایش اثر اصلی رقم و سلنیوم در سطح یک درصد بر فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز معنی‌دار گردید (جدول ۱). فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در رقم گاویوتا بالاتر از رقم کاماروسا

توت‌فرنگی بود (جدول ۴). استفاده از سلنیوم تا میزان ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک اثر معنی‌داری بر این صفت نداشت اما افزایش میزان سلنیوم به ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز شد (جدول ۲).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر واریته بر فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز توت‌فرنگی

Table 4- Mean comparison of variety on SOD and APX enzymes activity of strawberry

ارقام توت‌فرنگی Strawberry varieties	آسکوربات پراکسیداز APX (U mg^{-1} protein mg^{-1} FW)	سوپراکسید دیسموتاز SOD (U mg^{-1} protein mg^{-1} FW)
کاماروسا Camarosa	5.10 b	2.90 b
گاویوتا Gaviota	7.30 a	4.80 a

در هر ستون حروف مشابه بیانگر عدم وجود تفاوت معنی‌دار در بین میانگین تیمارها در سطح احتمال پنج درصد می‌باشند.

Means in each column followed by the same letter are not significantly different at 5% probability.

اثر سلنیوم بر فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی را می‌توان چنین بیان کرد که سلنیوم علاوه بر اینکه در ساختار برخی آنزیم‌ها و ترکیبات موجود در گیاه به کار رفته است، می‌تواند روی فعالیت آنزیمی نیز اثر بگذارد (Beladel *et al.*, 2013). نتایج نشان داده که غلظت‌های پایین سلنیوم می‌تواند اثرات مفیدی بر افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه داشته باشد (Feng and Wei, 2012). افزایش سوپراکسیددیسموتاز تحت اثر سلنیوم می‌تواند ناشی از اثر بر بیان ژن‌های مربوط به آنزیم، افزایش جذب مس یا افزایش سلنو پروتئین‌ها باشد (Narváez-Ortiz *et al.*, 2018).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که دو رقم کاماروسا و گاویوتا توت‌فرنگی از نظر صفاتی نظیر فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز اختلاف معنی‌داری داشتند. کاربرد قارچ میکوریزا و تریکودرما منجر به افزایش عملکرد میوه و فعالیت آنزیم کاتالاز گردید؛ اما بر فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز و ترکیبات فنلی اثر معنی‌داری نداشت. در این آزمایش کاربرد سلنیوم، افزایش عملکرد میوه توت‌فرنگی، ترکیبات فنلی، فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به دنبال داشت. استفاده از سلنیوم به میزان ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک منجر به افزایش عملکرد میوه، فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز شد؛ بنابراین استفاده از قارچ میکوریزا و تریکودرما و سلنیوم با هدف حفظ محیط زیست و سلامت انسان برای افزایش عملکرد توت‌فرنگی پیشنهاد می‌شود.

References

Alyemeni, M.N., Ahanger, M.A., Wijaya, L., Alam, P., Bhardwaj, R. and Ahmad, P. 2017. Selenium mitigates cadmium-induced oxidative stress in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants by modulating chlorophyll fluorescence, osmolyte accumulation, and antioxidant system. *Protoplasma*, 255: 459-469.

Bakr, J., Daood, H.G., Pék, Z., Helyes, L. and Posta, K. 2017. Yield and quality of mycorrhized processing tomato under water scarcity. *Applied Ecology and Environmental Research*, 15(1): 401-413.

Bazl, Sh., Dashti, F. and Delshad, M. 2018. Effects of different levels of sulfur and selenium on some morphological and antioxidant properties of onion (*Allium cepa* L.) cv. Germez Azarshahr. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 48(3): 623-633. (In Persian).

Beauchamp, C. and Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutases: improved assays and assay predictable to acrylamide. *Analytical Biochemistry*, 44: 276-287.

Beladel, B., Nedjimi, B., Mansouri, A., Tahtat, D., Belamri, M., Tchanchane, A., Khelfaoui, F. and Benamar, M.E.A. 2013. Selenium content in wheat and estimation of the selenium daily intake in different regions of Algeria. *Applied Radiation and Isotopes*, 71: 7-10.

Das, J. and Sarkar, P. 2018. Remediation of arsenic in mung bean (*Vigna radiata*) with growth enhancement by unique arsenic-resistant bacterium *Acinetobacter lwoffii*. *Science of the Total Environment*, 15: 1106-1118.

Devi, S.H., Bhupenchandra, I., Sinyorita, S., Chongtham, S. and Devi, E.L. 2021. Mycorrhizal Fungi and Sustainable Agriculture. In: Nitrogen in Agriculture - Physiological, Agricultural and Ecological Aspects. Ohyama, T. and Inubushi K. (Eds.), IntechOpen.

Dhindsa, R.S. and Matowe, W. 1981. Drought tolerance in two mosses: correlated with enzymatic defence against lipid peroxidation. *Journal of Experimental Botany*, 32(1): 79-91.

Duc, N.H., Mayer, Z., Pek, Z., Helyes, L. and Posta, K. 2017. Combined inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi, Pseudomonas fluorescens and trichoderma spp. For enhancing defense enzymes and yield of three pepper cultivars. *Applied Ecology and Environmental Research*, 15(3): 1815-1829.

Esna-Ashrafi, M., Hadian Deljou, M. and Mirzaie Asl, A. 2018. Effect of mycorrhizal fungi symbiosis on some morphological, physiological and biochemical characteristics in trifoliate orange (*Poncirus trifoliate* L.) under salinity stress. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 49(3): 769-778. (In Persian).

Fairweather-Tait, S.J., Collings, R. and Hurst, R. 2010. Selenium bioavailability current Knowledge and future research requirements. *American Journal of Clinical Nutrition*, 91(5): 14845-14915.

Feng, R.W. and Wei, C.Y. 2012. Antioxidative mechanisms on selenium accumulation in *Pteris vittata* L., a potential selenium phytoremediation plant. *Plant Soil and Environment*, 58: 105-110.

Gajera, H.P., Katakpara, Z.A., Patel, S.V. and Golakiya, B.A. 2016. Antioxidant defense response induced by *Trichoderma viride* against *Aspergillus niger* Van Tieghem causing collar rot in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Microbial Pathogenesis*, 91: 26-34.

Glover, J.D., Borevitz, J., Brummer, E.C. and Buckler, E.S. 2014. Increasing starch and ecosystem security through perennial grain breeding and selenium. *Science*, 335: 364-379.

Guler, N.S., Pehlivan, N., Karaoglu, S.A., Guzel, S. and Bozdeveci, A. 2016. *Trichoderma atroviride* ID20G inoculation ameliorates drought stress-induced damages by improving antioxidant defence in maize seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(6): 132.

Habibi, Gh., Ghorbanzade, P. and Abedini, M. 2016. Effects of selenium application on physiological parameters of *Melissa officinalis* L. plants. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 32(4): 698-715. (In Persian).

Heidarzadeh, N., Baghaee-Ravari, S., Rouhani, H. and Mahdikhani Moghaddam, E. 2016. Study the effects of some *Trichoderma spp.* on tomato growth parameters using three inoculation methods. *Journal of Plant Production Research*, 23(1): 23-29. (In Persian).

Jóźwiak, W. and Politycka, B. 2019. Effect of selenium on alleviating oxidative stress caused by a water deficit in cucumber roots. *Plants (Basel, Switzerland)*, 8(7): 217.

McDonald, S., Prenzler, P.D., Autolovich, M. and Robards, K. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73: 73-84.

Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22: 867-880.

Narváez-Ortiz, W.A., Martínez-Hernández, M., Fuentes-Lara, L.O., Benavides-Mendoza, A., Valenzuela-García, J.R. and González-Fuentes, J.A. 2018. Effect of selenium application on mineral macro- and micronutrients and antioxidant status in strawberries. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 91: 321-331.

Parray, J.A. and Shameem, N. 2020. Sustainable Agriculture; Advances in Plant Metabolome and Microbiome. Elsevier Inc. Academic Press.

Piñeiro, V., Arias, J., Dürr, J., Elverdin, P., Ibáñez, A.M., Kinengyere, A., Opazo, C.M., Owoo, N., Page, J.R., Prager Steven, D. and Torero, M. 2020. A scoping review on incentives for adoption of sustainable agricultural practices and their outcomes. *Nature Sustainability*, 3: 809-820.

Rahmani, H. and Mohammadi Goltapeh, E. 2018. Effect of endophytic fungi *Pirifomospora indica* on flowering and root growth parameters of strawberry in hydroponic culture. *Journal of Horticultural Science*, 32(2): 239-249.

Ramírez-Valdespino, C.A. and Orrantia-Borunda, E. 2021. *Trichoderma* and nanotechnology in sustainable agriculture: A review. *Frontiers in Fungal Biology*, 2: 764675.

Sharma, S., Anand, G., Singh, N. and Kapoor, R. 2017. Arbuscular mycorrhiza augments arsenic tolerance in wheat (*Triticum aestivum L.*) by strengthening antioxidant defense system and thiol metabolism. *Frontiers in Plant Science*, 8: 906.

Sosa-Hernández, M.A., Leifheit, E.F., Ingraffia, R. and Rillig, M.C. 2019. Subsoil arbuscular mycorrhizal fungi for sustainability and climate-smart agriculture: A solution right under our feet? *Frontiers in Microbiology*, 10: 744.

Turakainen, M. 2007. Selenium and its effects on growth, yield and tuber quality in potato. PhD Dissertation, Department of Applied Biology, University of Helsinki, Helsinki.

Turakainen, M., Hartikainen, H. and Seppanen, M.M. 2004. Effects of selenium treatments on potato growth and concentrations of soluble sugers and starch. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52: 5378-5382.

Yadav, A., Yadav, K. and Aggarwal, A. 2015. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi with *Trichoderma viride* and *Pseudomonas fluorescens* on growth, yield and oil content in *Helianthus annuus* L. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18(2): 444-454.

Yuan, S., Li, M., Fang, Z., Liu, Y., Shi, W., Pan, B. and Shen, Q. 2016. Biological control of tobacco bacterial wilt using *Trichoderma harzianum* amended bioorganic fertilizer and the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus mosseae*. *Biological Control*, 92: 164-171.

Zahangeer Alam, M., McGee, R., Anamul Hosque, Md., Jalal Ahamad, G. and Carpenter-Boggs, L. 2019. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi, selenium and biochar on photosynthetic pigments and aqntioxidant enzyme activity under arsenic stress in Mung Bean (*Vigna radiata*). *Frontiers in Physiology*, 10: 193.

Zahedi, S.M., Abdelrahman, M., Sadat Hosseini, M., Fahadi Hoveizeh, N. and Tran, L.S.P. 2019. Alleviation of the effect of salinity on growth and yield of strawberry by foliar spray of selenium-nanoparticles. *Environmental Pollution*, 253: 246-258.

Journal of Crop Science Research in Arid Regions/ Volume 4, Issue 2, Autumn and Winter 2023, P. 475-485

Effect of mycorrhiza fungi, *Trichoderma* and selenium on the crop yield and antioxidant enzyme activity of strawberry

Ali Lachinani[1], Seyed Jalal Tabatabaei[2*], Amir Bostani[3], Vahid Abdossi[4], Saeed Rezaee[5]

[1] Ph.D Student, Department of Horticultural Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2] Department of Horticultural Science, Faculty of Agricultural Sciences ,Shahed University,Tehran,Iran
[3] Department of Soil Science, Faculty of Agricultural Sciences ,Shahed University,Tehran, Iran
[4] Department of Horticultural Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[5] Department of Plant Protection, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

[*]Corresponding Author: J.tabatabaei@shahed.ac.ir

Received: 17 January 2022 Accepted: 26 March 2022 **DOI: 10.22034/CSRAR.2023.324853.1182**

Abstract

Introduction: Strawberry is one of the most economically valuable horticultural species. Strawberry production and consumption has increased due to the fruit's appealing color, flavor, and abundance of essential bioactive compounds, such as vitamin C, sugars, organic acids, anthocyanins, phenolic compounds, and antioxidant activity. Today, consideration is given to environmentally friendly and sustainable production. Due to the depletion of nutrient element accessibility or the improvement of soil organic elements in agricultural soils, as well as replant diseases, bioproducts and beneficial microorganisms must be applied (mycorrhizal fungi, and filamentous fungi). These may increase soil biodiversity, promote plant growth, and have antagonistic effects on microorganisms that reduce plant yield. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are among the most widely distributed endotrophic mycorrhizal fungi species. It is considered an eco-friendly biofertilizer because it enhances plant growth, performance, and quality. Furthermore, *Trichoderma* is a fungus genus commonly recognized as an agricultural biocontrol agent. Plant growth is enhanced by *Trichoderma* stimulation. It promoted the host's health by inducing systemic resistance and enhancing plant growth, development, and photosynthetic efficiency. In contrast, selenium (Se) is not regarded as an essential element for higher plants, but at low concentrations, it is regarded as beneficial. Se biofortification can enhance plant mineral content, growth, yield, and quality by inducing antioxidative defenses. This study evaluated the effects of AMF, *Trichoderma*, and Se on the crop yield and antioxidant enzyme activity of the strawberry cultivars Gaviota and Camarosa.

Materials and Methods: This experiment was conducted in the research greenhouse of Shahed University, College of Agriculture in 2017. The experiment was conducted as a factorial based on a completely randomized design with three replications. Treatments included: fungi (Mycorrhiza and *Trichoderma*), selenium (Se, 0, 0.5, 1, 2 and 4 mg^{-1} kg soil) and cultivar (Gaviota and Camarosa). Fruit yield was determined at harvest. The fruits were harvested at the same ripening stage (>75% red surface color) and then transported to the laboratory immediately. Within each replication, only identical-sized, -colored, -shaped, and physically unblemished and disease-free fruits were chosen. Physicochemical characteristics of fruit were determined during harvest. 30 strawberries from each replication were used for this purpose. For fruit sampling, tissue samples consisting of both achenes and receptacles were taken from the central portion of the fruit. The samples were quickly sliced, pooled, frozen in liquid nitrogen, and stored at -80°C until their total phenolic content and catalase, superoxide dismutase, and ascorbate peroxidase activities were determined. The data were analyzed as a two-factor linear model using the PROC MIXED procedure by the SAS software. The Duncan's Multiple Range Test (DMRT) at $P \leq 0.05$ was calculated to compare the differences between means following a significant ANOVA effect.

Results and Discussion: The results demonstrated that mycorrhiza and *Trichoderma* fungus

significantly boosted plant performance. Compared to the control, *Trichoderma* and mycorrhizal fungi treatments increased yield by 39.6% and 27.1%, respectively. Additionally, the application of Se increased yield in comparison to the control. Phenolic compounds, ascorbate peroxidase, catalase, and superoxide dismutase activities were affected by fungi and Se treatments, with ascorbate peroxidase and superoxide dismutase activities found to be 4 mg^{-1} kg soil when Se was applied. The activity of antioxidant enzymes varied between cultivars, with Gaviota exhibiting greater antioxidant enzyme activity than Camarosa. Trichoderma, mycorrhizae, and Se were utilized to maximize catalase activity (4 mg^{-1} kg soil). Mycorrhizal fungi and *Trichoderma* appear to increase enzyme yield and activity by facilitating enhanced element absorption.
Conclusion: Based on the results of this study, the use of fungi and Se at concentrations of 4 mg^{-1} kg soil is recommended to increase the quantity and quality of strawberries.

Keywords: Ascorbate peroxidase, Camarosa, Gaviota, Superoxide dismutase, Total phenol