



پاسخ رشدی و فیزیولوژیک گیاه دارویی استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) به همزیستی قارچ‌های اندوفیت و محلول پاشی پلی آمین اسپرمیدین در شرایط شور

سیده حدیثه بهاری ساوی^۱، احمد غلامی^۲، همت‌اله پیردشتی^{۳*}، مهدی برادران فیروزآبادی^۲، حمیدرضا اصغری^۲

۱. دانش‌آموخته دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود

۲. دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود

۳. استاد گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۴/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۷/۱۰

چکیده

به منظور بررسی اثر همزیستی قارچ‌های اندوفیت و محلول پاشی پلی آمین اسپرمیدین بر شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیک گیاه دارویی استویا در شرایط تنش شوری، آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل تنش شوری (صفر، ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر)، تیمار همزیستی قارچی (عدم تلقیح (شاهد)، تلقیح *Piriformospora indica* (Pi)، تلقیح *Trichoderma virens* (Trich) و تلقیح هم‌زمان دو قارچ (Pi+Trich)) و محلول پاشی اسپرمیدین (صفر، ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مولار) بود. نشاهای استویا پس از تلقیح با تیمارهای قارچی تا اواخر مرحله رویشی با آب معمولی و سپس به مدت دو هفته با تیمارهای آب شور که حاوی مخلوط آب دریای خزر و آب مقطر بود، آبیاری شدند. محلول پاشی اسپرمیدین یک هفته قبل از اعمال تنش شوری انجام شد. نتایج نشان داد در شرایط شور، همزیستی قارچی به‌ویژه Pi+Trich وزن خشک ساقه (۴۰-۶۴ درصد) و برگ (۵۰-۴۴ درصد)، محتوای نسبی آب برگ (۳۰-۵ درصد) و پرولین (۴۰-۶۴ درصد) را افزایش و نشت الکترولیت را (۲۰-۱۱ درصد) کاهش داد. محلول پاشی ۰/۷۵ میلی‌مولار اسپرمیدین نیز وزن خشک برگ و ارتفاع بوته را افزایش داد. از طرفی، همزیستی قارچی به‌ویژه Pi+Trich و محلول پاشی اسپرمیدین ۰/۷۵ میلی‌مولار منجر به افزایش محتوای نسبی آب برگ گردید. همچنین، محلول پاشی اسپرمیدین در هر دو غلظت ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مولار باعث افزایش و به‌کارگیری قارچ‌های اندوفیت به‌خصوص Pi+Trich منجر به کاهش محتوای قند به میزان ۱۷ درصد شد. در سطوح شوری و تیمارهای قارچی، محلول پاشی اسپرمیدین به‌ویژه در غلظت ۰/۷۵ میلی‌مولار افزایش قطر ساقه (۳۵-۱۰ درصد) و سطح برگ (۴۶-۳۵ درصد) را به دنبال داشت. در مجموع، کاربرد قارچ‌های اندوفیت و محلول پاشی اسپرمیدین موجب بهبود تحمل گیاه به تنش شوری گردید.

واژه‌های کلیدی: آب شور، پرولین، قند محلول، نشت الکترولیت، وزن خشک برگ، همزیستی اندوفیتی

مقدمه

۳۰۰ بار از قند ساکارز شیرین‌ترند. گلیکوزیدهای موجود در این گیاه جذب بدن نمی‌شوند و فاقد کالری هستند (Bahari Saravi et al., 2019; Tavarini and Angelini., 2013). بنابراین، این گیاه برای بیماران دیابتی و افراد با اضافه‌وزن، مطلوب است.

گیاه دارویی استویا با نام علمی *Stevia rebaudiana* Bertoni گیاهی بوته‌ای و چندساله متعلق به خانواده کاسنی (Asteraceae) بوده که خاستگاه آن مناطق شمالی آمریکای جنوبی، پاراگوئه و برزیل است (Goyal, 2010). برگ‌های استویا دارای گلیکوزیدهای دی‌ترین با عنوان گلیکوزیدهای استویول از جمله استویوزید و ربادیوزید است که حدود ۱۰۰-

القای رشد گیاه از طریق ترشح هورمون‌های رشد و تولید اتیلن، منجر به افزایش مقاومت به تنش‌ها و بهبود رشد گیاه می‌شود (Velazquez et al., 2011).

از سوی دیگر، در سال‌های اخیر نقش پلی‌آمین‌ها در افزایش تحمل گیاهان به تنش‌ها از جمله شوری مورد توجه قرار گرفته است. پلی‌آمین‌ها، هیدروکربن‌های آلفاتیک با وزن مولکولی کم می‌باشند که در طیف وسیعی از فرآیندهای فیزیولوژیک از جمله تثبیت غشاء، فعال کردن آنزیم‌ها، تقسیم سلولی و فرآیندهای درگیر در رشد و نمو سلول‌ها (Kaur-awhney et al., 2003) جنین‌زایی، جوانه‌زنی بذر و واکنش به تنش‌ها نقش دارند (Bachrach, 2005). کاربرد خارجی پلی‌آمین‌ها می‌تواند فرآیندهای فیزیولوژیک، مورفولوژیک و بیوشیمیایی گیاهان را تحت تأثیر قرار داده و به‌عنوان یک تنظیم‌کننده رشد مورد استفاده قرار گیرد (Kaur-awhney et al., 2003). تعدیل تنش‌ها توسط پلی‌آمین‌ها را می‌توان به دلیل نقش آن‌ها در تنظیم اسمزی، پایداری غشاء و حذف رادیکال‌های فعال و جلوگیری از تجمع این ترکیبات مضر دانست (Liu et al., 2007; Khan et al., 2007).

با توجه به مطالب فوق، این مطالعه با هدف بررسی اثر همزیستی قارچ‌های اندوفیت *Piriformospora indica* و *Trichoderma virens* به‌همراه پلی‌آمین اسپرمیدین بر شاخص‌های رشدی و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه دارویی استویا در شرایط شور صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در بهار و تابستان سال ۱۳۹۵ در گلخانه‌ی پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل تنش شوری در سه سطح (صفر، ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر)، همزیستی قارچی در چهار سطح (عدم تلقیح (شاهد)، تلقیح *P. indica* (Pi)، تلقیح *T. virens* (Trich) و تلقیح همزمان دو قارچ (Pi+Trich) و پلی‌آمین اسپرمیدین در سه سطح (صفر، ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مولار) بود.

به‌منظور فراهم‌سازی نمونه‌های گیاهی مورد استفاده در این تحقیق، ریزنمونه‌های جوانه‌ی انتهایی به طول دو سانتی‌متر از گیاهچه‌های رشد یافته در شرایط درون شیشه‌ای تحت شرایط استریل جداسازی شد و در محیط MS کشت

شوری یکی از تنش‌های غیرزنده محیطی و از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد و تولید گیاهان در سراسر دنیا است که از طریق تغییرات آناتومیک، مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی بر جنبه‌های مختلف رشد و نمو گیاه تأثیر می‌گذارد (Siringam et al., 2011). شوری باعث کاهش پتانسیل آبی در خاک و گیاه و برهم خوردن تعادل یونی و سمیت گیاهان شده و درنهایت رشد گیاهان را کاهش می‌دهد (Gharineh et al., 2009). همچنین در شرایط شور، تجمع تنظیم‌کننده‌های اسمزی نظیر پرولین در تنظیم اسمزی و احتمالاً حفظ فعالیت آنزیمی گیاه نقش داشته و سلول را در مقابل تخریب رادیکال هیدروکسیل حفظ می‌نماید (Gad, 2005). همچنین در میان ویژگی‌های فیزیولوژیک، وضعیت آب برگ، پایداری غشا و عوامل مرتبط با آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. محتوای آب نسبی بالاتر برگ به معنی توانایی گیاه در حفظ مقادیر بیشتر آب در شرایط تنش بوده و آن را شاخص مناسبی برای نشان دادن وضعیت آبی برگ دانسته‌اند (Sanchez et al., 2010). از سوی دیگر در شرایط تنش، غشای سلولی پایداری خود را از دست داده و میزان نشت الکترولیت افزایش می‌یابد. از این‌رو، به نظر می‌رسد پایداری غشای سلولی در شرایط تنش با سنتز پروتئین‌های شوک حرارتی، آنزیم‌های کلیدی و غشاهای تیلاکوئیدی مرتبط است (Bewley et al., 1979).

زیست‌فناوری‌های نوین مبنی بر کاربرد ریزجانداران مفید خاکزی در برقراری روابط همزیستی با گیاهان، نقش مؤثری در افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی بر عهده دارد که سبب بهبود در رشد، فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاهان می‌گردد (Singh et al., 2011). از جمله این ریزجانداران خاکزی می‌توان به قارچ‌های اندوفیت *Piriformospora indica* و *Trichoderma virens* اشاره کرد (Varma et al., 2012; Sun et al., 2010).

قارچ *P. indica* جزء قارچ‌های خانواده *Sebacinaceae* بوده (Varma et al., 1999) که رابطه‌ی همزیستی آن با گیاهان مختلف در تحریک رشد گیاه و افزایش تحمل گیاه به تنش‌های زیستی و غیر زیستی از جمله شوری، خشکی و عوامل بیماری‌زا گزارش شده است (Yaghoubian et al., 2014). همچنین قارچ اندوفیت *T. virens* از طریق کنترل زیستی در برابر عوامل بیماری‌زای خاکزی با تولید آنتی‌بیوتیک، افزایش جذب عناصر غذایی به دلیل حلالیت عناصر، ایجاد مقاومت القایی در برابر تنش‌های محیطی و

سانتی‌گراد به آون منتقل و وزن خشک آن‌ها تعیین شد (D_w). در نهایت محتوای رطوبت نسبی برگ‌ها با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Ritchie and Nguyen., 1990).

$$RWC = (F_w - D_w) / (T_w - D_w) \times 100 \quad [1]$$

به منظور اندازه‌گیری درصد نشت الکترولیت‌ها، نمونه‌ی برگ‌ی در لوله‌های آزمایش حاوی ده میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار گرفت و پس از آن هدایت الکتریکی اولیه هر نمونه با استفاده از دستگاه EC متر (CON 410) اندازه‌گیری شد (EC₁). برای اندازه‌گیری میزان کل نشت الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، لوله‌های آزمایش به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه بن‌ماری با دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و مجدداً هدایت الکتریکی نمونه‌ها ثبت گردید (EC₂). درصد نشت الکترولیت‌ها با استفاده از معادله زیر محاسبه شد (Lutts et al., 1995).

$$[2] \quad = (EC_1 / EC_2) \times 100 \quad \text{درصد نشت الکترولیت}$$

جهت اندازه‌گیری پرولین آزاد و قندهای محلول کل از عصاره الکلی برگ استفاده شد. پرولین با قرائت جذب واکنش نین هیدرین در طول موج ۵۱۵ نانومتر طبق روش (Bates et al., 1973) محاسبه شد. برای محاسبه قندهای محلول ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره الکلی به سه میلی‌لیتر آنترون تازه آماده‌شده (۲۰۰ میلی‌گرم آنترون + ۱۰۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک) اضافه‌شده و به مدت ده دقیقه جهت تشکیل ماده رنگی در حمام آب گرم قرار گرفت. سپس میزان جذب نمونه در طول موج ۶۲۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل SPEKOL 1300، شرکت Analytic Jena، آلمان) قرائت گردید (Omokolo et al., 1996).

برای مطالعه همزیستی قارچی، قطعات یک سانتی‌متری از ریشه در محلول هیدروکسید پتاسیم KOH ۱۰ درصد به مدت هفت دقیقه رنگ‌بری شده و سپس با استفاده از محلول پنج درصد جوهر پلیکان آبی‌رنگ و سرکه رنگ‌آمیزی شد (Vierheilig et al., 1998). جهت تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه‌ها بر اساس روش بیرمن و لیندرمن (Bierman and Linderman, 1980) ۴۰ قطعه یک سانتی‌متری از ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده به صورت تصادفی انتخاب شد. هر قطعه ریشه روی لام و در داخل محلول لاکتوفنل در زیر میکروسکوپ مشاهده و میزان کلونیزاسیون با برآورد طولی از ریشه که به ساختمان‌های قارچی (هیف و

گردید. ریزنمونه‌ها در اتاق کشت با فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از رشد و ریشه‌دهی گیاهان در مدت ۱۴ روز، جهت اعمال تیمارهای آزمایشی از محیط کشت خارج‌شده و ریشه گیاه با آب مقطر شسته شد.

قارچ‌های *P. indica* و *T. virens* از بخش کودهای زیستی پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان تهیه و به ترتیب در محیط کشت مایع کفر (Kaefer, 1977) و محیط کشت PDB (عصاره سیب‌زمینی و دکستروز) کشت گردید (Yaghoubian et al., 2019). پس از گذشت دو هفته که رشد رویشی و زایشی قارچ‌ها به حداکثر خود رسید، سوسپانسیون با غلظت حدود 1×10^9 واحد کلونی ساز در میلی‌لیتر (CFU/ml) تهیه و جهت تلقیح استفاده شد. به منظور تلقیح قارچ‌ها، ابتدا ریشه‌ی گیاه استویا با سوسپانسیون قارچ *P. indica* و *T. virens* آغشته و سپس به گلدان‌های پلاستیکی کوچکی انتقال داده‌شده و مرحله سازگاری گیاه به مدت ۴۰ روز سپری شد. در ادامه، نشاها به گلدان‌های اصلی (با ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر، قطر دهانه ۱۸ سانتی‌متر و گنجایش سه کیلوگرم خاک خشک) منتقل شد و در گلخانه با شرایط نور طبیعی و دمای مطلوب (۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت. گیاهان تا اواخر مرحله رویشی با آب معمولی و سپس به مدت دو هفته با تیمارهای آب‌شور که حاوی مخلوط آب دریای خزر و آب مقطر بود، آبیاری شدند. جهت تهیه تیمارهای آب‌شور آب دریا به وسیله آب مقطر رقیق شد و همزمان هدایت الکتریکی آب با دستگاه EC متر (مدل SyberScan CON 410، شرکت EUTECH، سنگاپور) کنترل گردید تا شوری آب به مقادیر موردنظر برسد. همچنین تیمارهای پلی‌آمین اسپرمیدین (شرکت Sigma، آمریکا) یک هفته قبل از اعمال تنش شوری، به صورت محلول‌پاشی اعمال گردید. در تیمارهای بدون اسپرمیدین (سطح صفر اسپرمیدین) آب مقطر استفاده شد.

پس از گذشت دو هفته از تنش شوری، برای تعیین محتوای نسبی آب برگ (RWC) از آخرین برگ توسعه‌یافته گیاه نمونه برگ‌ی تهیه و برای تعیین وزن تر نمونه‌ها، بلافاصله وزن شدند (F_w)، سپس تمامی نمونه‌های برگ‌ی به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و در تاریکی در لوله‌های درب‌دار حاوی آب مقطر غوطه‌ور شده و وزن اشباع آن‌ها اندازه‌گیری شد (T_w). در ادامه نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه

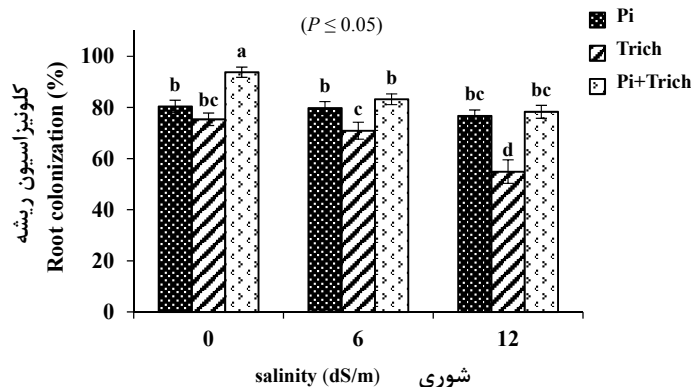
نتایج حاصل از آزمایش نشان داد درصد آلودگی ریشه گیاه استویا با قارچ‌های اندوفیت موردنظر بین ۵۴/۹ تا ۹۳/۸ درصد متغیر بود (شکل ۱). درصد کلونیزاسیون ریشه به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) تحت تأثیر تنش شوری قرار گرفت، به‌طوری‌که با افزایش سطوح شوری میزان توسعه قارچ‌ها و درصد کلونیزه شدن ریشه کاهش یافت، هرچند این کاهش در مورد قارچ Pi معنی‌دار نبود. میزان کلونیزاسیون ریشه در تیمارهای قارچی با یکدیگر تفاوت نشان داده و در تمام سطوح شوری میزان توسعه قارچ در ریشه گیاهان تلقیح شده با دو قارچ (Pi+Trich) بیشتر از Pi و Trich بود (شکل ۱). کاهش کلونیزاسیون ریشه در اثر تنش شوری نشان‌دهنده اثر بازدارنده آن بر توسعه قارچ در ریشه گیاه است. شوری از طریق جلوگیری از جوانه‌زنی اسپورها، کاهش رشد هیف‌ها از طریق اثر مهارکنندگی سدیم و کلر بر رشد ریشه‌های قارچ، اثر منفی بر میزان فتوسنتز و کاهش عرضه کربن به قارچ‌ها، میزان درصد کلونیزه شدن قارچ با ریشه گیاه را کاهش می‌دهد (Garg and Manchanda., 2009). این نتایج با همزیستی قارچ شبه مایکوریزا در برنج در شرایط شور (Pirdashti et al., 2012) مطابقت دارد.

میسیلیوم) آلوده می‌باشند محاسبه‌شده و میانگین کلونیزاسیون ریشه برای این ۴۰ قطعه تعیین گردید.

پس از اتمام پژوهش، گیاهان از گلدان‌ها خارج گردیده، ارتفاع بوته با خط‌کش، قطر ساقه با کولیس دیجیتالی (مدل EGL-111-111، شرکت Guanglu، ژاپن) و سطح برگ با استفاده از نرم‌افزار Digimizer v.4 اندازه‌گیری شد. به‌منظور اندازه‌گیری وزن خشک ساقه و برگ گیاه استویا، این دو بخش از هم تفکیک‌شده و در آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و سپس با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن شدند.

در پایان نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف موردبررسی قرار گرفت. آنالیز آماری داده‌ها با نرم‌افزار (GenStat 14) و مقایسه میانگین با روش آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث



شکل ۱. برهمکنش شوری و قارچ‌های اندوفیت بر میزان کلونیزاسیون ریشه گیاه استویا. در هر شکل، میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند. میله‌های عمودی نشان‌دهنده‌ی خطای استاندارد است (n=9).

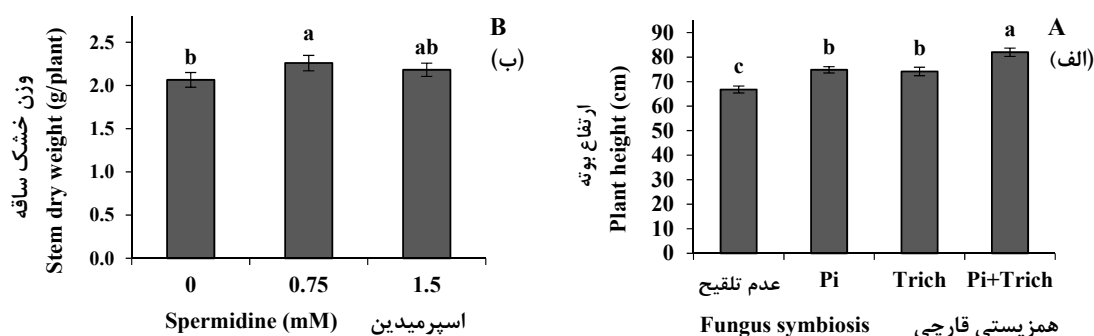
Fig. 1. Interaction between salinity and endophytic fungi on root colonization in stevia plant. In each figure, the meanings of the similar letter(s) are not significantly different from the LSD test at the 5% probability level. Vertical bars represent \pm SE (n=9).

قارچ‌های اندوفیت، با برقراری رابطه همزیستی در تعامل با گیاهان بوده و با انجام فعالیت‌هایی نظیر تولید انواع بی‌شماری از متابولیت‌ها، تجزیه ترکیبات آلی، تولید مواد افزایشنده رشد گیاه و افزایش قابلیت فراهمی عناصر غذایی معدنی برای گیاه،

بر اساس یافته‌ها (شکل ۲ الف)، تلقیح با قارچ‌های اندوفیت، به‌ویژه تلقیح هم‌زمان دو قارچ Pi+Trich توانست ارتفاع بوته گیاه استویا را نسبت به تیمار عدم تلقیح به‌میزان حدود ۱۹ درصد بهبود بخشد. ریزجانداران خاک، از جمله

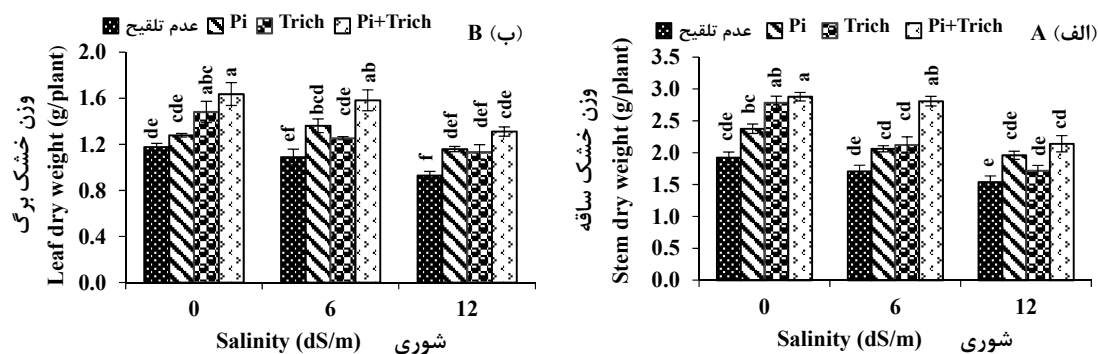
نتایج حاکی از آن بود که آبیاری با آب شور صفات رویشی گیاه استویا از جمله وزن خشک ساقه و برگ و ارتفاع بوته را کاهش داد (شکل ۳ و ۴). در تمام سطوح تنش شوری، همزیستی با قارچ‌های اندوفیت افزایش رشد رویشی گیاه را به دنبال داشته و باعث تعدیل اثرات مضر شوری و در نتیجه، ممانعت از کاهش رشد گیاه در اثر تنش گردید. به طوری که وزن خشک ساقه و برگ نه تنها در هیچ یک از سطوح شوری نسبت به تیمار شاهد (شوری صفر و عدم تلقیح قارچ) کمتر نشد بلکه در شوری ۶ دسی زیمنس بر متر مقدار این صفات افزایش یافت (شکل ۳-الف و ب).

سبب بهبود رشد گیاه می‌گردد (Oelmuller et al., 2009). از سوی دیگر، محلول‌پاشی اسپرمیدین در غلظت ۰/۷۵ میلی‌مولار منجر به افزایش حدود ۱۰ درصدی وزن خشک ساقه استویا گردید که با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اسپرمیدین در یک گروه آماری قرار گرفت (شکل ۲ ب). پلی‌آمین‌ها نقش حیاتی در فرآیندهای رشدی، چرخه‌های زیستی و فیزیولوژیک گیاهان داشته و با تأثیر مثبت بر تقسیم و طویل شدن سلول‌ها، افزایش در رشد گیاه را به دنبال خواهند داشت (Abdel et al., 2009).



شکل ۲. اثر همزیستی قارچی بر ارتفاع بوته (الف) و اثر پلی‌آمین اسپرمیدین بر وزن خشک ساقه استویا (ب). Pi: *P. indica* و Trich: *T. virens*. در هر شکل، میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند. میله‌های عمودی نشان‌دهنده‌ی خطای استاندارد است (n=27).

Fig. 2. The effect of fungi symbiosis on plant height (A) and the effect of spermidine polyamine on the stem dry weight of stevia (B). Pi: *P. indica* and Trich: *T. virens*. In each figure, the meanings of the similar letter(s) are not significantly different from the LSD test at the 5% probability level. Vertical bars represent \pm SE (n=27).



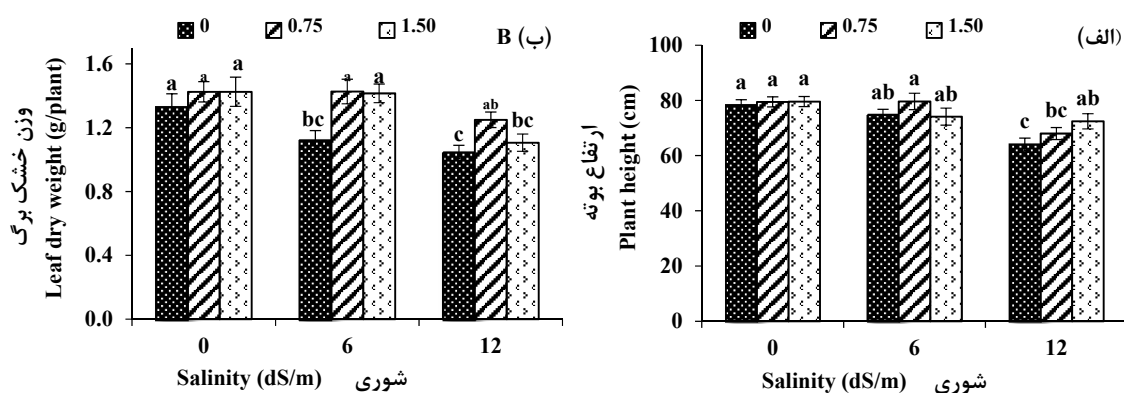
شکل ۳. برهمکنش شوری و همزیستی قارچی بر وزن خشک ساقه (الف) و وزن خشک برگ (ب). Pi: *P. indica* و Trich: *T. virens*. در هر شکل، میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند. میله‌های عمودی نشان‌دهنده‌ی خطای استاندارد است (n=9).

Fig. 3. Interaction of salinity and fungal symbiosis on stem dry weight (A) and leaf dry weight (B). Pi: *P. indica* and Trich: *T. virens*. In each figure, the meanings of the similar letter(s) are not significantly different from the LSD test at the 5% probability level. Vertical bars represent \pm SE (n=9).

نیترروژنی محسوب شده و در تحریک رشد گیاه نقش دارند. از سوی دیگر به دلیل نقش مثبت آن‌ها در تقسیم و بزرگ شدن سلول، کمک به تعادل کاتیون و آنیون و اثر اکسیداتیوی منجر به افزایش رشد گیاهان می‌شوند (Talaat et al., 2005). بر اساس یافته‌های حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه تیمارهای آزمایشی (جدول ۱)، قطر ساقه گیاه استویا در تمام سطوح شوری در اثر تلقیح با قارچ‌های *P. indica* و *T. virens* بهبود یافت. همچنین، در بیشتر سطوح شوری و کاربرد هم‌زمان دو قارچ، محلول‌پاشی اسپرمیدین به‌ویژه در غلظت ۰/۷۵ میلی‌مولار آن افزایش قطر ساقه را به دنبال داشت. در همین زمینه فنگ و همکاران (Feng et al., 2002) بیان کردند که قارچ‌های همزیست به‌صورت مستقیم از طریق جذب عناصر غذایی و آب و غیرمستقیم از طریق کاهش تنش‌های غیرزیستی رشد گیاهان میزبان را افزایش می‌دهند. از سوی دیگر، پلی‌آمین‌ها نقش حیاتی در چرخه‌های زیستی گیاهان دارند، این ترکیبات در فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی زیادی مانند تقسیم سلولی و طولی شدن سلول نقش دارند (Mahros et al., 2011). سراج و همکاران (Seraj et al., 2016) نیز اثر مفید قارچ اندوفیت *P. indica* در افزایش قطر ساقه استویا را در شرایط شوری و خشکی گزارش کردند.

کاهش پتانسیل اسمزی محلول خاک در شرایط شور، منجر به کاهش جذب آب شده و در نتیجه روزه‌ها بسته و تنفس و فتوسنتز و رشد گیاه کاهش می‌یابد (Ben-Asher et al., 2006). نقش مثبت همزیستی قارچ‌های اندوفیت در تحمل گیاهان در شرایط شور را می‌توان به بهبود جذب عناصر غذایی به‌خصوص فسفر و تنظیم پتانسیل اسمزی در گیاه نسبت داد (Kadian et al., 2013)؛ بنابراین در شرایط شور، گیاهان همزیست شده با قارچ‌های اندوفیت دارای وزن خشک بیشتری نسبت به گیاهان غیرهمزیست می‌باشند.

محلول‌پاشی اسپرمیدین نیز در شرایط تنش شور رشد رویشی گیاه استویا را بهبود بخشید. افزایش تنش شوری از صفر تا ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر ارتفاع بوته را به‌طور معنی‌داری کاهش داد ولی کاربرد اسپرمیدین به‌ویژه در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار از کاهش معنی‌دار آن جلوگیری نمود (شکل ۴-الف). همچنین استفاده از هر دو غلظت اسپرمیدین وزن خشک برگ را در تمام سطوح شوری افزایش داد که این افزایش در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر در هر دو غلظت اسپرمیدین (به‌ترتیب با ۲۷ و ۲۵ درصد افزایش نسبت به غلظت صفر) و در سطح شوری ۱۲ تنها در غلظت ۰/۷۵ میلی‌مولار (با ۱۱ درصد افزایش نسبت به غلظت صفر) معنی‌دار بود (شکل ۴-ب). پلی‌آمین‌ها به‌عنوان یک منبع



شکل ۴. برهم‌کنش شوری و اسپرمیدین بر ارتفاع بوته (الف) و وزن خشک برگ (ب). Pi: *P. indica* و Trich: *T. virens*. در هر شکل، میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند. میله‌های عمودی نشان‌دهنده خطای استاندارد است (n=12).

Fig. 4. Interaction of salinity and spermidine on plant height (A) and leaf dry weight (B). Pi: *P. indica* and Trich: *T. virens*. In each figure, the meanings of the similar letter(s) are not significantly different from the LSD test at the 5% probability level. Vertical bars represent \pm SE (n=12).

جدول ۱. مقایسه میانگین برهمکنش تنش شوری، قارچ و محلول‌پاشی پلی‌آمین اسپرمیدین در قطر ساقه گیاه استویا

Table 1. Comparison of mean interactions of salinity stress, fungus and spermidine polyamide spraying in stem diameter of stevia

شوری Salinity (dS.m ⁻¹)	اسپرمیدین Spermidine (mM)	Endophytic Fungus		قارچ اندوفیت	
		عدم تلقیح Non-inoculated	<i>P. indica</i> (Pi)	<i>T. virens</i> (Trich)	Pi+Trich
0	0	2.345 ^{a-c}	2.396 ^{a-c}	2.583 ^{abc}	2.777 ^{ab}
	0.75	2.127 ^{b-e}	2.379 ^{a-c}	2.874 ^{abc}	2.871 ^a
	1.50	2.430 ^{a-e}	2.540 ^{a-e}	2.438 ^{a-c}	2.506 ^{a-e}
6	0	2.532 ^{a-e}	2.371 ^{a-e}	2.409 ^{a-e}	2.548 ^{a-d}
	0.75	2.455 ^{a-e}	2.688 ^{ab}	2.557 ^{a-d}	2.747 ^{ab}
	1.50	2.506 ^{a-e}	2.167 ^{b-e}	2.532 ^{a-e}	2.515 ^{a-e}
12	0	1.965 ^{de}	2.229 ^{a-e}	2.157 ^{b-e}	2.298 ^{a-e}
	0.75	2.308 ^{a-e}	2.169 ^{b-e}	1.880 ^{de}	2.527 ^{a-e}
	1.50	1.869 ^e	2.602 ^{abc}	2.489 ^{a-e}	2.573 ^{abc}

میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

The meanings of the similar letter(s) are not significantly different from the LSD test at the 5% probability level

مشاهده شد. قارچ‌های اندوفیت به دلیل تحریک ریشه‌زایی در گیاه و افزایش قدرت جذب عناصر غذایی، رشد گیاه و به‌دنبال آن سطح برگ را افزایش می‌دهند (Feng et al., 2002). محلول‌پاشی اسپرمیدین منجر به کاهش نشت الکترولیت به‌ویژه در غلظت ۰/۷۵ میلی‌مولار نسبت به تیمار شاهد در برگ استویا گردید (شکل ۵-الف). پلی‌آمین‌ها از طریق اتصال به مولکول‌های آنیونی از جمله فسفولیپدهای غشا و پلی‌ساکاریدهای پکتینی باعث پایداری غشا و افزایش تحمل گیاهان در شرایط تنش شده و کاهش نشت یونی را به‌دنبال خواهند داشت (Syed Sarfraz et al., 2011). از سوی دیگر، کاربرد پلی‌آمین اسپرمیدین در دو سطح ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مولار محتوای پرولین برگ‌های استویا را نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش داد (شکل ۵-ب). پیش‌تر افزایش در محتوای پرولین با کاربرد پلی‌آمین‌ها نظیر اسپرمین و اسپرمیدین در بادمجان (Yan-ping et al., 2010)، برنج (Farooq et al., 2009) و بادام (Amraee Tabar et al., 2016) نیز گزارش شده است.

بر اساس نتایج، در شرایط شور میزان نشت الکترولیت (شکل ۶-الف) و محتوای پرولین (شکل ۶-ج) برخلاف محتوای نسبی آب برگ (شکل ۶-ب) افزایش یافت. در دو سطح شوری ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، تلقیح با تیمارهای قارچی به‌ویژه تلقیح همزمان دو قارچ توانست مقدار نشت الکترولیت را کاهش دهد. یکی از اولین بخش‌های سلول که در شرایط تنش آسیب می‌بیند غشای سلولی است،

بر اساس نتایج جدول ۲، با افزایش میزان شوری آب سطح برگ گیاه کاهش یافت. در هر سه سطح شوری و پلی‌آمین اسپرمیدین، تلقیح با قارچ‌های اندوفیت منجر به افزایش سطح برگ گیاه شد که این افزایش در سطوح صفر و شش دسی‌زیمنس بر متر شوری و محلول‌پاشی اسپرمیدین در غلظت ۰/۷۵ میلی‌مولار در شرایط تلقیح همزمان دو قارچ نسبت به عدم تلقیح معنی‌دار بود.

همچنین در تمامی سطوح شوری و تیمارهای قارچی، کاربرد اسپرمیدین با غلظت‌های ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مولار باعث افزایش در سطح برگ گیاه استویا گردید که این افزایش در سطح شوری شش دسی‌زیمنس بر متر و کاربرد همزمان دو قارچ و محلول‌پاشی اسپرمیدین ۰/۷۵ میلی‌مولار نسبت به سطح صفر آن معنی‌دار بود. سریع‌ترین واکنش در مقابله با تنش شوری، به علت کاهش فتوسنتز جاری گیاه، کاهش توسعه سطح برگ است و چنانچه شدت تنش افزایش یابد رشد و توسعه برگ متوقف می‌گردد، بنابراین سطح برگ نیز تحت تنش کاهش می‌یابد (Zhu., 2001). باین‌حال، محلول‌پاشی اسپرمیدین اثر مثبتی بر افزایش سطح برگ نشان داد که بیشترین اثر افزایشی در غلظت ۰/۷۵ میلی‌مولار مشاهده شد. در بیشتر سطوح شوری و محلول‌پاشی اسپرمیدین نیز تلقیح تیمارهای قارچی افزایش سطح برگ را به دنبال داشت که بالاترین میزان سطح برگ در تنش شوری صفر و شش دسی‌زیمنس بر متر و اسپرمیدین ۰/۷۵ میلی‌مولار، در شرایط تلقیح همزمان دو قارچ (Pi+Trich)

شده و افزایش نسبت هدایت الکتریکی را به دنبال خواهند داشت (Manchanda and Garg., 2008). افزایش نشت الکترولیت در اثر شوری در گیاهانی چون ریحان (Bahari Farooq and Azam, 2017) و گندم (Saravi et al., 2017) گزارش شده است. (2006)

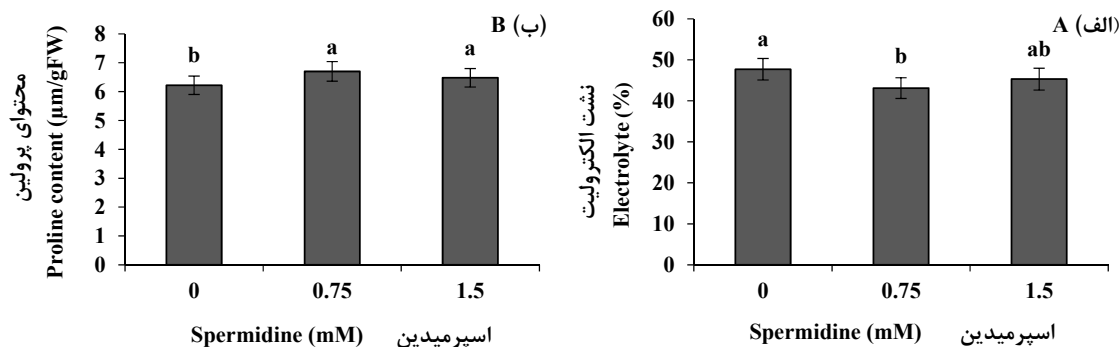
به طوری که نفوذپذیری غشای سلولی افزایش یافته و سبب نشت الکترولیت‌های سلول به خارج می‌گردد (Levitt., 1980)؛ بنابراین، نشت الکترولیت به عنوان شاخص پایداری غشاء تحت تنش شوری افزایش می‌یابد، چراکه تنش‌های محیطی از طریق افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال در داخل سلول، موجب پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش پایداری غشاء و در نتیجه نشت مواد سیتوپلاسمی از آن

جدول ۲. مقایسه میانگین برهمکنش تنش شوری، قارچ و محلول پاشی پلی آمین اسپرمیدین در سطح برگ گیاه استویا (cm²)

Table 2. Comparison of the mean interactions of salinity stress, fungus and spraying of spermidine on the leaf area (cm²) of the stevia plant

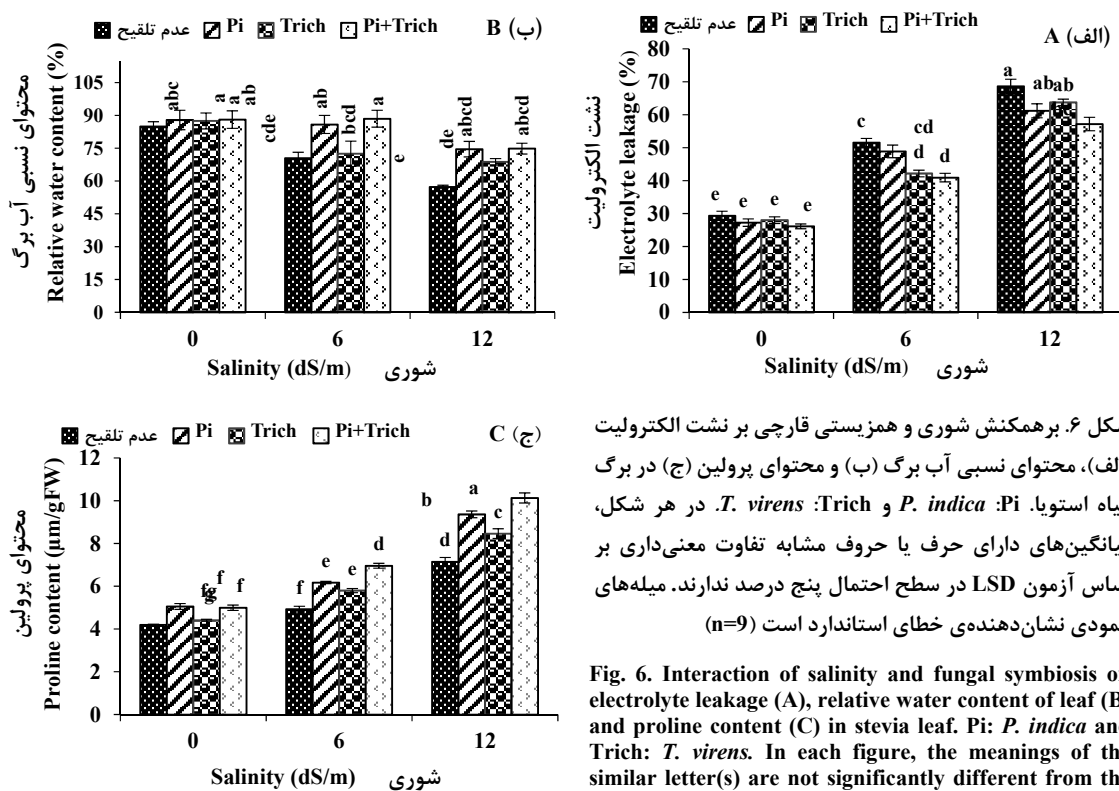
شوری Salinity (dS.m ⁻¹)	اسپرمیدین Spermidine (mM)	قارچ اندوفیت		
		عدم تلقیح Non-inoculated	<i>P.indica</i> (Pi)	<i>T.virens</i> (Trich)
0	0	19.1 ^{d-i}	23.9 ^{a-f}	24.9 ^{a-e}
	0.75	22.2 ^{b-g}	24.3 ^{a-f}	22.7 ^{a-g}
	1.50	20.5 ^{b-i}	22.8 ^{a-g}	27.8 ^{abc}
6	0	13.9 ⁱ	19.2 ^{d-i}	21.1 ^{b-i}
	0.75	20.6 ^{b-i}	24.5 ^{a-e}	21.4 ^{b-i}
	1.50	20.9 ^{b-i}	25.6 ^{a-d}	21.3 ^{b-i}
12	0	14.3 ^{hi}	18.7 ^{d-i}	18.1 ^{d-i}
	0.75	17.6 ^{e-i}	19.9 ^{d-i}	23.0 ^{a-g}
	1.50	15.4 ^{ghi}	20.4 ^{c-i}	16.6 ^{f-i}

میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند. The meanings of the similar letter(s) are not significantly different from the LSD test at the 5% probability level



شکل ۵. اثر محلول پاشی اسپرمیدین بر نشت الکترولیت (الف) و محتوای پرولین (ب) در برگ گیاه استویا. در هر شکل، میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند. میله‌های عمودی نشان‌دهنده خطای استاندارد می‌باشد (n=36).

Fig. 5. Effect of spermidine spraying on electrolyte leakage (A) and proline content (B) in stevia leaf. In each figure, the meanings of the similar letter(s) are not significantly different from the LSD test at the 5% probability level. Vertical bars represent \pm SE (n=36).



شکل ۶. برهمکنش شوری و همزیستی قارچی بر نشت الکترولیت (الف)، محتوای نسبی آب برگ (ب) و محتوای پرولین (ج) در برگ گیاه استویا. Pi: *P. indica* و Trich: *T. virens*. در هر شکل، میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند. میله‌های عمودی نشان‌دهنده خطای استاندارد است (n=9)

Fig. 6. Interaction of salinity and fungal symbiosis on electrolyte leakage (A), relative water content of leaf (B) and proline content (C) in stevia leaf. Pi: *P. indica* and Trich: *T. virens*. In each figure, the meanings of the similar letter(s) are not significantly different from the LSD test at the 5% probability level. Vertical bars represent \pm SE (n=9).

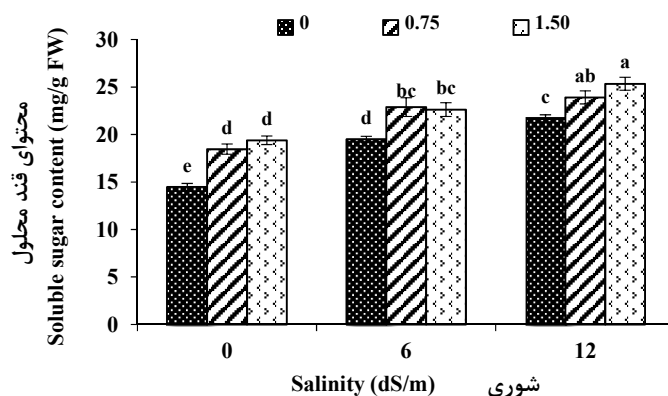
داخل گیاه میزبان افزایش یافته و منجر به تغییرات در آبیگری بافت و فعالیت‌های فیزیولوژیک برگ شده و در نهایت میزان جذب آب و عناصر غذایی و روابط آبی گیاه را بهبود می‌بخشد (Auge et al., 2001).

گیاهان در مقابل تنش‌های محیطی سازوکارهای دفاعی متفاوتی از جمله تولید ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی داشته و با افزایش این ترکیبات، نقش مهمی در سازگاری سلول‌ها در شرایط تنش دارند (Allen and Ort, 2001). یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد با افزایش سطوح شوری محتوای پرولین برگ افزایش یافت به طوری که در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر به بالاترین میزان خود رسید. از سوی دیگر، همزیستی با قارچ‌های اندوفیت به خصوص کاربرد همزمان دو قارچ در سطوح شش و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر افزایش محتوای پرولین برگ را به دنبال داشت (شکل ۶-ج). افزایش پرولین در شرایط تنش، به علت القای آنزیم‌های بیوسنتز پرولین، کاهش اکسیداسیون پرولین به گلوتامات و کاهش استفاده از پرولین در سنتز پروتئین گزارش شده است (Delauney and Verna, 1993). از سوی دیگر، افزایش

با بررسی مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچ‌های اندوفیت بر محتوای نسبی آب برگ در شرایط شور (شکل ۶-ب) مشخص گردید با افزایش شوری محتوای نسبی آب برگ در گیاه استویا کاهش یافت، در مقایسه، در هر سه سطح شوری در اثر حضور قارچ‌های اندوفیت به ویژه کاربرد همزمان دو قارچ افزایش یافت که این افزایش در سطح ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر نسبت به عدم تلقیح معنی‌دار بود. بر این اساس، بیشترین محتوای نسبی آب برگ در تیمار عدم شوری در زمان تلقیح همزمان دو قارچ و کمترین میزان در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و عدم تلقیح قارچ مشاهده شد. افزایش فشار اسمزی محلول اطراف ریشه در نتیجه افزایش شوری، موجب کاهش پتانسیل آب در آن محیط و در نتیجه کاهش جذب آب توسط ریشه شده، به طوری که گیاه قادر به حفظ محتوای آب برگ‌های خود نبوده و محتوای نسبی آب برگ‌ها کاهش می‌یابد (Fricke and Peter, 2002). احتمالاً قارچ‌ها از طریق تغییر در ساختار مورفولوژی ریشه و افزایش در طول ریشه گیاهان موجب افزایش در سطح جذب ریشه از طریق ریشه‌های خود شده، در نتیجه سرعت حرکت آب به

تجمع پرولین در زمان تلقیح با قارچ‌های همزیست در گیاهان ممکن است به علت تأثیر مستقیم آن بر متابولیسم این ترکیب باشد (Abeer et al., 2016). افزایش محتوای پرولین در گیاهان تلقیح شده با قارچ اندوفیت و تنش شوری در گیاه گوجه‌فرنگی (Ghorbani et al., 2018) و تلقیح میکوریزی و تنش خشکی در گیاه زنجبیل (Bhosale and Shinde, 2011) و نیز تنش شوری در گیاه لوبیا (Abd-Allah et al., 2015) گزارش شده است. مقایسه میانگین‌ها نشان داد با افزایش سطح شوری، محتوای قند محلول در برگ گیاه استویا روند صعودی داشت (شکل ۷). به طوری که در مقایسه بین سطوح صفر و ۱۲ دسی زیمنس بر متر، افزایش ۳۰ تا ۵۰ درصدی در محتوای قند محلول برگ دیده شد. همچنین، محلول‌پاشی اسپرمیدین به‌ویژه در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار در تمامی سطوح شوری موجب افزایش معنی‌داری در مقدار قند محلول نسبت به عدم مصرف پلی‌آمین گردید. در مقایسه کلی و بررسی اثر متقابل نیز بیشترین مقدار قند محلول در بالاترین سطح شوری (۱۲ دسی زیمنس بر متر) و اسپرمیدین (۱/۵ میلی‌مولار) مشاهده شد. افزایش در مقدار کربوهیدرات‌ها در گیاه همیشه‌بهار (Baniasadi et al., 2015)، گندم (Kerepesi and Galiba, 2000) و برخی از وارسته‌های برنج (Parida and

Das., 2005) در شرایط تنش شوری گزارش شده است. یکی از سازوکارهای مقاومت به شوری در گیاهان، تجمع مواد اسمزی سازگار در سیتوپلاسم آن‌ها است. محلول‌های سازگار از جمله قندهای محلول توسط همه گیاهان در پاسخ به تعدادی از عوامل محیطی تجمع می‌یابند (Orcutt and Nilsen, 2000). در شرایط تنش کربوهیدرات‌هایی از قبیل گلوکز، فروکتوز، سوکروز و فروکتان تولید می‌شود که عملکرد عمده این ترکیبات شامل حفاظت اسمزی، تعدیل اسمزی و ذخیره کربن است، در واقع قندها از سلول‌ها از طریق تنظیم اسمزی و نگهداری تورژسانس و همچنین پایداری غشاها و پروتئین‌ها محافظت می‌کنند (Parida and Das, 2005). همچنین مطالعات متعددی نشان داد که پلی‌آمین‌ها باعث افزایش کربوهیدرات‌ها در گیاهانی مانند همیشه‌بهار (Mahgoub et al., 2015)، داودی (Baniasadi et al., 2015) و کوکب (Mahros et al., 2011) گردید. پلی‌آمین‌ها در سنتز قندها و کربوهیدرات‌ها نقش مؤثری دارند زیرا این ترکیبات همچون تنظیم‌کننده‌های رشد عمل کرده و ممکن است در برخی فرآیندهای بیولوژیک که مرتبط با سنتز کربوهیدرات‌ها است دخالت داشته باشند (Mahgoub et al., 2011).



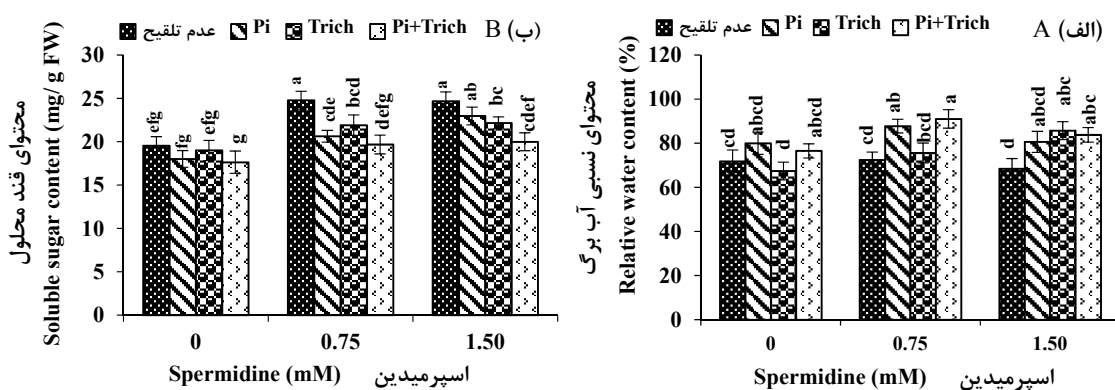
شکل ۷. برهمکنش شوری و محلول‌پاشی اسپرمیدین بر محتوای قند محلول در گیاه استویا. در هر شکل، میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند. میله‌های عمودی نشان‌دهنده خطای استاندارد است (n=12).

Fig. 7. Interaction of salinity and spermidine spraying on the content of soluble sugar in stevia plant. In each figure, the meanings of the similar letter(s) are not significantly different from the LSD test at the 5% probability level. Vertical bars represent \pm SE (n=12).

قارچ منجر به کاهش محتوای قند در برگ استویا شد. گزارش شده است که محلول‌پاشی پلی‌آمین‌ها، به‌خصوص اسپرمیدین، در حفظ فتوسنتز گیاهان بسیار مؤثر بوده و موجب تثبیت pH جهت فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی و افزایش فعالیت کربوکسیلازی روبیسکو و در نتیجه افزایش تولید قندهای محلول می‌شود (Unal, 2007). از طرفی، محققین بیان داشتند احتمالاً قارچ‌ها با بهبود سیستم دفاعی از قبیل کاروتنوئید از پراکسیداسیون غشا جلوگیری کرده و با افزایش میزان جذب آب و عناصر غذایی از طریق ریشه‌های خود باعث بهبود روابط آبی گیاه و پایداری غشا سلول و تیلاکوئید به حفاظت از کلروفیل کمک کرده و موجب افزایش عملکرد فتوسنتزی و افزایش سرعت رشد و تخصیص مواد فتوسنتزی بین ساقه و ریشه شده و از افزایش بیشتر قند در برگ‌ها جلوگیری می‌کند (Khalvandi et al., 2016).

با بررسی برهمکنش قارچ‌های اندوفیت و محلول‌پاشی اسپرمیدین بر محتوای نسبی آب برگ (شکل ۸-الف) مشخص گردید همزیستی با قارچ‌های اندوفیت به‌ویژه کاربرد همزمان دو قارچ و محلول‌پاشی اسپرمیدین به‌خصوص در غلظت ۰/۷۵ میلی‌مولار منجر به افزایش محتوای نسبی آب برگ نسبت به شاهد گردید. نتایج به‌دست‌آمده با نتایج سایر پژوهش‌ها مبنی بر اینکه پلی‌آمین‌ها در حفظ یکپارچگی و بقای غشای سیتوپلاسمی، اسیدهای نوکلئیک و اندام‌های سلولی نقش اساسی ایفا می‌کنند، همخوانی دارد (Zhang and John, 2005; Hussein et al., 2006).

محلول‌پاشی پلی‌آمین اسپرمیدین در هر دو غلظت ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مولار در برهمکنش با قارچ (شکل ۸-ب) افزایش قندهای محلول را در مقایسه با شاهد به‌دنبال داشت. از سوی دیگر به‌کارگیری قارچ‌های اندوفیت به‌ویژه تلقیح همزمان دو



شکل ۸. برهمکنش همزیستی قارچ و محلول‌پاشی اسپرمیدین بر محتوای نسبی آب برگ (الف) و محتوای قند محلول (ب). Pi: *P. indica* و *T. virens*: Trich. در هر شکل، میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند. میله‌های عمودی نشان‌دهنده‌ی خطای استاندارد می‌باشد (n=9).

Fig. 8. Interaction of fungi symbiosis and spermidine spraying on the relative water content of leaf (A) and the content of soluble sugar (B). Pi: *P. indica* and Trich: *T. virens*. In each figure, the meanings of the similar letter(s) are not significantly different from the LSD test at the 5% probability level. Vertical bars represent \pm SE (n=9).

از سوی دیگر، کاربرد قارچ‌های اندوفیت به‌ویژه کاربرد همزمان دو قارچ (Pi+Trich) در شرایط شور از طریق بهبود در روابط آبی گیاه، محتوای نسبی آب برگ و پرولین را افزایش و نشت الکترولیت‌ها و محتوای قند محلول را کاهش داده و سبب بهبود رشد و افزایش عملکرد ماده خشک گیاه گردید. از طرفی، کاربرد غلظت‌های متفاوت پلی‌آمین اسپرمیدین به‌ویژه غلظت ۰/۷۵ میلی‌مولار آن اثرات منفی ناشی از تنش شوری را بر مهم‌ترین خصوصیات رشدی و فیزیولوژیکی گیاه کاهش

نتیجه‌گیری نهایی

در مجموع نتایج نشان داد با افزایش شوری از صفر تا ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، خصوصیات رشدی و محتوای نسبی آب برگ کاهش و میزان نشت الکترولیت، محتوای پرولین و قند محلول افزایش یافت. از بین صفات رویشی، وزن خشک ساقه (با ۲۵ درصد کاهش) و در میان صفات فیزیولوژیک، نشت الکترولیت (با بیش از دو برابر افزایش) بیشترین تغییرات و در نتیجه بالاترین حساسیت را نسبت به تنش شوری نشان دادند.

سیاسگزاری

بدین‌وسیله از مساعدت‌های پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در فراهم نمودن امکانات گلخانه‌ای و آزمایشگاهی و دانشگاه صنعتی شاهرود به جهت حمایت‌های مالی در انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

- Abd Allah, E.F., Abeer Hashem, A.A., Alqarawi, A., Bahkali H., Alwhibi, M.S., 2015. Enhancing growth performance and systemic acquired resistance of medicinal plant (*Sesbania sesban* L.) Merr using arbuscular mycorrhizal fungi under salt stress. Saudi Journal of Biology Sciences. 22, 274-283.
- Abdel Aziz Nahed, G., Taha Lobna, S., Ibrahim Soad, M.M., 2009. Some studies on the effect of putrescine, ascorbic acid and thiamine on growth, flowering and some chemical constituents of gladiolus plants at Nubaria. Ozean Journal of Applied Sciences. 2, 169-179.
- Abeer, H., Alterami Salwa, A., Alqarawi, A.A., Elsayed Fathi., A.A., 2016. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance basil tolerance to salt stress through improved physiological and nutritional status. Pakistan Journal of Botany. 48, 37-45.
- Allen, D.J., Ort, D.R., 2001. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. Trends in Plant Science. 6, 36-41.
- Amraee Tabar, S., Ershadi, A., Robati, T., 2016. The Effect of Putrescine and Spermidine on Drought Tolerance of Almond and Peach. Agricultural Crop Management. 18(1), 203-218. [In Persian with English Summary].
- Auge, R.M., Stodola, A.J.W., Times, J.E., Saxton, A.M., 2001. Moisture retention properties of a mycorrhizal soil. Journal of Plant and Soil. 230, 87-97.
- Bachrach, U., 2005. Naturally occurring polyamines: interaction with macro-molecules. Current Protein Peptide Science. 6, 559-566.
- Bahari Saravi, H., Gholami, A., Pirdashti, H., Baradaran Firouzabadi, M., Asghari, H.R., 2019. The growth and physiological response of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) medicinal plant to inoculated with endophytic fungi and spraying of spermidine polyamine under salt stress conditions. Journal of Plant Process and Function. 8(33), 47-64. [In Persian with English Summary].
- Bahari Saravi, H., Pirdashti, H., Yaghoobian, Y., 2017. Response of chlorophyll fluorescence and physiological parameters of basil (*Ocimum basilicum* L.) to plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) under salinity stress. Journal of Plant Process and Function. 6 (19), 89-104. [In Persian with English Summary].
- Baniasadi, F., Saffari, V.R., Maghsoudi Moud, A.A., 2015. Effect of putrescine and salinity on morphological and biochemical traits and pigment content of marigold plant (*Calendula officinalis* L.). Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture. 6 (1), 125-134. [In Persian with English Summary].
- Bates L, S., Waldren, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil. 39, 205-207.
- Ben-Asher, J., Tsuyuki, I., Bravdo, B.A., Sagih, M., 2006. Irrigation of grape vines with saline water: Leafarea index, stomatal conductance, transpiration and photosynthesis. Agricultural Water Management. 83, 13-21.
- Bewley, J.D., 1979. Physiological aspects of desiccation tolerance. Annual Review of Plant Physiology. 30, 195-238.
- Bhosale, K.S., Shinde, B.P., 2011. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on proline and chlorophyll content in Zingiber officinale grown under water stress. Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences. 1, 172-176.
- Bierman, B., Linderman, R.G., 1980. Quantifying vesicular-arbuscular mycorrhizae: a proposed method towards standardization. New Phytologist. 87, 63 – 67.
- Delauney, A.J., Verna, D.P.S., 1993. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. Plant Journal. 4, 215-223.

- Farooq, M., Wahid, A., Lee, D.J., 2009. Exogenously applied polyamines increase drought tolerance of rice by improving leaf water status, photosynthesis and membrane properties. *Acta Physiologiae Plantarum*. 31, 937-945.
- Farooq, S., Azam, F., 2006. The use of cell membrane stability (CMS) technique to screen for salt tolerant wheat varieties. *Journal of Plant Physiology*. 163, 629-637.
- Feng, G., Zhang, F.S., Li, X.L., Tian, C.Y., Tang, C., Rengel, Z., 2002. Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. *Mycorrhiza*. 12, 185-190.
- Fricke, W., Peter, W.S., 2002. The biophysics of leaf growth in salt-stressed barley. A Study at the cell level. *Plant Physiology*. 1. 374-388.
- Gad, N., 2005. Interactive effect of salinity and cobalt on tomato plants II-Some physiological parameters as affected by Cobalt and Salinity. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*. 1, 270-276.
- Garg, N., Manchanda, G., 2009. Role of Arbuscular Mycorrhizae in the Alleviation of Ionic, Osmotic and Oxidative Stresses Induced by Salinity in (*Cajanus cajan* L.) Mill sp. (*pigeon pea*). *Journal Agronomy and Crop Science*. 195, 110-123.
- Gharineh, M.H., Nadian, H., Fathi, G., Siadat, A., Maadi, B., 2009. Role of arbuscular mycorrhizae in development of salt-tolerance of *Trifolium alexandrinum* plants under salinity stress. *Journal of Food, Agriculture and Environment*. 7, 432-437.
- Ghorbani, A., Razavi, S. M., Ghasemi, V., and Pirdeshti, H. 2019. Effects of Endophyte Fungi Symbiosis on Some Physiological Parameters of Tomato Plants Under 10 Day Long Salinity Stress. *Journal of Plant Process and Function*. 7 (27), 193-208. [In Persian with English Summary].
- Goyal, S.K., Samsher, R., Goyal, R.K., 2010. Stevia (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: A review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 61, 1-10.
- Hussein, M., Nadia, M., EL-Gereadly, H.M., EL-Desuki, M., 2006. Role of putrescine in resistance to salinity of pea plants (*Pisum sativum* L.). *Applied Science Research*. 2, 598-604.
- Kadian, N., Yadav, K., Badda, N., Aggarwal, A., 2013. AM fungi ameliorates growth, yield and nutrient uptake in *Cicer arietinum* L. Under salt stress. *Russian Agricultural Sciences*. 39, 321-329.
- Kaur-awhney, R., Tiburcio, A., Altabella, T., Galton, W., 2003. Polyamines in plants: An overview. *Journal of Cell and Molecular Biology*. 2, 1-12.
- Kerepesi, I., Galiba, G., 2000. Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. *Crop Science*. 40, 482-487.
- Khalvandi, M., Amerian, M. R., Baradaran, M., and Gholami, A. 2017. Piriformospora indica symbiotic effect on the quantity and quality of essential oils and some physiological parameters of peppermint (*Mentha piperita*) under salt stress. *Journal of Plant Process and Function*. 6 (21), 169-184. [In Persian with English Summary].
- Khan, A.S., Zora, S., Abbasi, N.A., 2007. Pre-storage putrescine application suppresses ethylene biosynthesis and retards fruit softening during low temperature storage in Angelino plum. *Postharvest Biology and Technology*. 46, 36-46.
- Levitt, J., 1980. Responses of Plants to Environmental Stresses. Academic Press, New York, 607p.
- Liu, J.H., Kitashiba, H., Wang, J., Ban, Y., Moriguchi, T., 2007. Polyamines and their ability to provide environmental stress tolerance to plants. *Plant Biotechnology*. 24, 117-126.
- Lutts, S., Kinet, J.M., Bouharmont, J., 1995. Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. *Journal of Experimental Botany*. 46, 1843-1852.
- Mahgoub, M.H., Abd El Aziz, N.G., Mazhar, M. A., 2011. Response of *Dahlia pinnata* L. plant to foliar spray with putrescine and thiamine on growth, flowering and photosynthetic pigments. *American Journal of Agricultural Environmental Science*. 10, 769-775.
- Mahros, K. M., El-Saady, M.B., Mahgoub, M. H., Afaf, M.H., El-Sayed, M.I., 2011. Effect of putrescine and uniconazole treatments on flower characters and photosynthetic pigments of *Chrysanthemum indicum* L. *Plant. Journal of American Science*. 7, 399-408.

- Manchanda, G., Garg, N., 2008. Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiologia Plantarum*. 30, 595-618.
- Oelmuller, R., Sherameti, I., Tripathi, S., Varma, A., 2009. Piriformospora, a cultivable root endophyte with multiple biotechnological applications. *Symbiosis*. 49, 1-17.
- Omokolo, N.D., Tsala, N.G., Djocgoue, P.F., 1996. Changes in carbohydrate, amino acid and phenol content in cocoa pods from three clones after infection with *Phytophthora megakarya* Bra. And Grif. *Annales Botanici Fennici*. 77, 153-158.
- Orcutt, D.M., Nilsen, E.T., 2000. *Physiology of Plants under stress soil and biotic factors*. John Wiley and Sons Inc. KA/PP, p,177-235.
- Parida, A.K., Das, A.B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 60, 324-349.
- Pirdashti, H., Yaghoobian, Y., Mohammadi Goltapeh, E., Hosseini, S.J., 2012. Effect of mycorrhiza-like endophyte (*Sebacina vermifera*) on growth, yield and nutrition of rice (*Oryza sativa* L.) under salt stress. *Journal of Agricultural Technology*. 8, 1651-1661.
- Ritchie, S.W., Nguyen, H.T., 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*. 30, 105-111.
- Sanchez-Rodriguez, E., Rubio-Wilhelmi, M., Cervilla, L.M., Blasco, B., Rios, J.J., Rosales, M.A., Romero, L., Ruiz, J.M., 2010. Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants. *Plant Science*. 178, 30-40.
- Seraj, F., Pirdashti, H.; Yaghoobian, Y., Ghasemi Omran, V., 2016. The effect of Piriformospora indica inoculation on salt and drought stress tolerance in *Stevia rebaudiana* under in vitro conditions. *Iranian Journal of plant Biology*. 8 (29), 1-20. [In Persian with English Summary].
- Singh, L.P., Gill, S.S., Tuteja, N., 2011. Unraveling the role of fungal symbionts in plant abiotic stress tolerance. *Plant Signaling and Behavior*. 6, 175-191.
- Siringam, K., Juntawong, N., Cha-um, S., Kirdmanee, C., 2011. Salt stress induced ion accumulation, ion homeostasis, membrane injury and sugar contents in salt-sensitive rice (*Oryza sativa* L. spp. indica) roots under is osmotic conditions. *African Journal of Biotechnology*. 10, 1340-1346.
- Sun, Y.M., Horng, C.Y., Chang, F.L., Cheng, L. C., Tian, W.X., 2010. Biosorption of lead, mercury and cadmium ions by *Aspergillus terreus* immobilized in a natural matrix. *Polish Journal of Microbiology*. 59, 37-44.
- Syed Sarfraz, H., Muhammad, A., Maqbool, A., Kadambot, H.M., 2011. Polyamines: Natural and engineered abiotic and biotic stress tolerance in plants". *Biotechnology Advances*. 29, 300-311.
- Talaat, I.M., Bekheta, M.A., Mahgoub, M.H., 2005. Physiological response of periwinkle plants (*Catharanthus roseus* L.) to tryptophan and putrescine. *International Journal of Agriculture and Biology*. 7, 210-213.
- Tavarini, S., Angelini, L.G., 2013. *Stevia rebaudiana* Bertoni as a source of bioactive compounds: the effect of harvest time, experimental site and crop age on steviol glycoside content and antioxidant properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 93, 2121-2129
- Unal, D., Tuney, I., Sukatar, A., 2007. The role of external polyamines on photosynthetic responses, lipid peroxidation, protein and chlorophyll a content under the UV-A (352 nm) stress in *Physica semipinnata*. *Journal of Photochemistry and Photobiology*. 90, 64-68.
- Varma, A., Bakshi, M., Lou, B., Hartmann, A., Oelmuller, R., 2012. Piriformospora indica: a novel plant growth-promoting mycorrhizal fungus. Review. NAAS (National Academy of Agricultural Sciences). *Agricultural Research*. 1, 117-131.
- Varma, A., Verma, S., Sudha Sahay, N.S., Bütchorn, B., Franken, P., 1999. P. indica, a cultivable plant growth promoting root endophyte. *Applied and Environmental Microbiology*. 65, 2741-4.
- Velazquez-Robledo, R., Contreras-Cornejo, H. A., Macias-Rodriguez, L., Hernandez-Morales, A., Aguirre, J., Casas-Flores, S., López-Bucio, J., Herrera-Estrella, A., 2011. Role of the 4-phosphopantetheinyl transferase of *Trichoderma virens* in secondary metabolism, and induction of plant defense responses. *Molecular Plant-Microbe Interactions Journal*. 24, 1459-1471.

- Vierheilig, H., Coughlan, A.P., Wyss, U., Piche, Y., 1998. Ink and vinegar, a simple staining technique for Arbuscular-mycorrhiza fungi. *Applied and Environmental Microbiology*. 12, 5004-5007.
- Yaghoubian, Y., Goltapeh, E.M., Pirdashti, H., Esfandiari, E., Feizias, V., Dolatabadi, H.K., Varma, A.M.H., 2014. Effect of *Glomus mosseae* and *Piriformospora indica* on growth and antioxidant defense responses of wheat plants under drought stress. *Agricultural Research*. 3, 239-245.
- Yaghoubian, Y., Siadat, S.A., Telavat, M.R.M., Pirdashti, H., Yaghoubian, I., 2019. Bio-removal of cadmium from aqueous solutions by filamentous fungi: *Trichoderma* spp. and *Piriformospora indica*. *Environmental Science and Pollution Research*. 26, 7863–7872.
- Yan-ping, Z., Hai-he, L., Shu-xing, S., Cheng-he, Z., Xin-e, H., 2010. Effect of polyamine priming on seed vigor and seedling chilling tolerance in eggplant. *Acta Horticulturae Sinica*. 37, 1783–1788.
- Zhang, K., John, P.C.L., 2005. Raised level of cyclin dependent kinase after prolonged suspension culture of *Nicotiana plumbaginifolia* is associated with more rapid growth and division, diminished cytoskeleton and lost capacity for regeneration: implications for instability of cultured plant cells. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 82, 295-308.
- Zhu, J.K., 2001. Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science*. 6, 66–71.