اثر تنش شوری بر ویژگی‌های رشدی و روابط آبی گیاه کینوا در همزیستی با قارچ اندوفیت *سیرندیپیتا ایندیکا*

سجاد علیار[۱]، ناصر علی اصغرزاد[۱*]، شاهین اوستان[۱] و عادل دباغ محمدی‌نسب[۲]

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۳/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۶/۲۴)

چکیده

کینوا (***Chenopodium quinoa* Willd.**) گیاهی با ارزش غذایی زیاد، پتانسیل زیاد رشد و عملکرد مناسب در شرایط نامساعد محیطی است. بهبود رشد و نمو گیاهان در شرایط نامساعد محیطی با روش‌های مختلفی امکان‌پذیر است. استفاده از ریزجانداران همزیست با ریشه مانند قارچ *سیرندیپیتا ایندیکا* از جمله راهکارهایی است که برای بهبود رشد در شرایط نامناسب محیطی مانند شوری آب و خاک به‌کار گرفته می‌شود. در این پژوهش، آزمایشی به‌صورت گلدانی با طرح آماری کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل با سه تکرار در خاک لوم شنی استریل انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل دو سطح قارچ ***Serendipita indica*** (تلقیح و عدم تلقیح) و شوری حاصل از نمک کلرید سدیم در سطوح ۱/۴۷ (رسانایی الکتریکی اولیه خاک)، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دسی‌زیمنس بر متر بودند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که به‌استثنای پرولین، اثر برهم‌کنش شوری و مایه‌زنی قارچ بر تمام صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار بودند. مایه‌زنی قارچ ***S. indica*** توانست وزن تازه بخش هوایی گیاه کینوا را در شوری‌های ۱/۴۷، ۵، ۱۰ و ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر به‌ترتیب ۱۸/۵، ۱۵/۰، ۳۹/۴ و ۴۱/۵ درصد نسبت به تیمار عدم تلقیح افزایش دهد. بنابراین در سطح بدون شوری که گیاه بدون قارچ رشد خوبی دارد، مایه‌زنی حدود ۱۸ درصد اثر داشته است. درحالی که در شوری ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر، افزایش رشد گیاه در حضور قارچ حدود ۴۱ درصد بیش‌تر از تیمار بدون قارچ در همین سطح شوری بوده است. در بخش ریشه، قارچ ***S. indica*** توانست وزن تازه را در شوری شاهد، ۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس‌بر متر به‌ترتیب ۱۲/۹، ۲۰/۱ و ۳۱/۵ درصد نسبت به تیمار بدون قارچ افزایش دهد. نشت الکترولیت تا ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر در تیمار مایه‌زنی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در رابطه با محتوای نسبی آب برگ، مایه‌زنی قارچ تنها در شوری ۵ دسی‌زیمنس بر متر اثر معنی‌داری داشت و توانست به اندازه ۲۳ درصد نسبت به تیمار عدم تلقیح این شاخص را افزایش دهد. همچنین افزایش تنش شوری به ۳۰ دسی‌زیمنس بر متر، سبب کاهش درصد کلونیزاسیون به‌اندازه ۱۹/۹ درصد نسبت به تیمار شاهد شد. کاربرد قارچ ***S. indica*** موجب افزایش معنی‌دار تولید زیست‌توده گیاه کینوا در شرایط تنش شوری شد.

واژه‌های کلیدی: تنش شوری، قارچ ***Serendipita indica***، پرولین، پتانسیل آب برگ، محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت

۱- گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۲- گروه اکوفیزیولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: n-aliasghar@tabrizu.ac.ir

مقدمه

کینوا یک گیاه دولپه‌ای یکساله با حدود ۹۳ درصد خودگشنی است که از کوه‌های آند، واقع در کرانه غربی آمریکای لاتین منشأ گرفته و بومی کشورهای بولیوی، پرو، اکوادور و شیلی است (۳۰). این گیاه به مادر دانه‌ها معروف است که دارای سیستم ریشه‌ای قوی بوده و نسبت به تنش خشکی و شوری مقاوم است و جزء خانواده تاج‌خروسیان و زیرخانواده اسفناجیان محسوب می‌شود. طول دوره رشد این گیاه بین ۹۰ تا ۱۲۵ روز متغیر است (۲۹). کینوا گیاهی است که علاوه بر دانه، از برگ‌های جوان آن نیز به‌عنوان سبزی تازه و یا به‌صورت پخته استفاده می‌شود. به‌دلیل ارزش غذایی زیاد از نظر عناصر غذایی و توازن اسیدآمینه‌ای بسیار مطلوب، این گیاه با شیر خشک مقایسه شده و برای معرفی نقش و ارزش این گیاه در امنیت غذایی و توسعه تولید و مصرف آن، مجمع عمومی سازمان ملل متحد سال ۲۰۱۳ را به نام سال بین‌المللی کینوا نام‌گذاری کرده بود (۱۳). یکی از مهم‌ترین چالش‌های اساسی کشاورزی در سراسر جهان، کاهش عملکرد گیاهان به‌دلیل شوری آب و خاک است (۴۴). پاسخ گیاهان به سطوح زیاد شوری (کلرید سدیم) پیچیده است که شامل تغییرات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و سوخت‌وساز در آن‌ها است (۲۵). پاسخ گیاهان به شوری در مراحل مختلف رشد نیز متفاوت است (۹). شوری، غلظت عناصر غذایی و انتقال آن‌ها را در ریشه، شاخساره و میوه تحت تأثیر قرار می‌دهد (۶۵) و یکی از مسائل اصلی اثرگذار بر میزان عملکرد گیاهان زراعی در سطح جهان است. بیش از ۷ درصد کل خاک‌ها و حدود ۹۷/۵ درصد آب‌های جهان شور است (۲۲). از طرفی فعالیت‌های انسانی این چالش‌ها را تشدید کرده و بررسی روش‌های جدید برای رویارویی با این چالش‌ها امری ضروری به‌نظر می‌رسد.

یکی از اقدامات در این خصوص، افزایش فراهمی عناصر غذایی در طول دوره رشد گیاه است که راهکاری مناسب برای مقابله با شوری است (۳۴). از دیگر راهکارهای مفید می‌توان به روش‌های بیولوژیک مانند استفاده از کودهای زیستی اشاره کرد که نقش مهمی در پایداری تولیدات کشاورزی از طریق بهبود وضعیت تغذیه‌ای و همچنین روابط آبی و افزایش رشد گیاه دارند (۸ و ۱۷). اندوفیت‌های میکروبی از مهم‌ترین ریزجانداران مفید خاک محسوب می‌شوند که با ایجاد تغییرات ژنتیکی، فیزیولوژیک و اکولوژیک در گیاهان میزبان خود، عملکرد آن‌ها را در واحد سطح افزایش می‌دهند و امکان توسعه کشت آن‌ها در خاک‌های شور و خشک را فراهم می‌آورند.

قارچ *پریفورموسپورا ایندیکا*[1] یکی از قارچ‌های اندوفیت است. این قارچ از طریق بهبود تأمین عناصر غذایی گیاه و همچنین ایجاد تغییرات سیستمیکی (آمادگی دفاعی) وابسته به فعالیت مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه، قادر به افزایش رشد و مقاومت گیاه در شرایط تنش‌های زیستی و غیرزیستی است. تقریباً ۱۵۰ گونه گیاهی از جمله گیاهان زراعی، باغی و دارویی شناسایی شده‌اند که با این قارچ همزیستی برقرار می‌کنند. ریشه‌هایی که این اندوفیت با آن‌ها همزیست شده است، افزایش رشد بیش‌تری نسبت به گیاهان شاهد در تمامی مراحل نشان می‌دهند (۴۹). به‌تازگی نام این قارچ به *Serendipita indica* تغییر یافته است (۷۶). شباهت‌های بسیار زیاد قارچ *S. indica* با قارچ‌های میکوریزی، پژوهشگران را بر آن داشت تا توان این قارچ در برقراری رابطه همزیستی با گیاهان غیرمیزبان قارچ‌های میکوریزی را مورد بررسی قرار دهند. پژوهش‌ها نشان داد که قارچ *S. indica* قادر به کلونیزاسیون سیستم ریشه‌ای گیاهان خانواده کروسیفر شامل خردل (*Brassica juncea*) و کلم (*Brassica oleracea*) و خانواده کنوپودیاسه (*Chenopodiaceae*) شامل اسفناج (*Spinacia oleracea*) بوده و سبب بهبود رشد و عملکرد آن‌ها می‌شود (۷۳). بر اساس نتایج پژوهش‌های ریورا و همکاران (۵۸)، رشد گیاه اسفناج (*Spinacia oleracea*) به‌طور معنی‌داری تحت اثر مثبت تلقیح با قارچ *S. indica* قرار گرفت (۴۹). این یافته‌ها با گزارش کوماری و همکاران (۳۹) هم‌خوانی دارد که آن‌ها نیز با تلقیح برخی از گیاهان متعلق به خانواده کروسیفر از جمله کلم و

1. *Piriformospora indica*

جدول ۱. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش.

Table 1. Some physical and chemical properties of the soil used in this experiment.

P ($mg\ kg^{-1}$)	K ($mg\ kg^{-1}$)	EC_e ($dS\ m^{-1}$)	OC %	pH	PWP (٪)	FC (٪)	$CaCO_3$ (٪)	بافت خاک Soil texture
10.8	333.27	1.47	0.63	7.31	9.5	20.7	5.8	لوم شنی (Sandy loam)

$CaCO_3$: آهک، FC: درصد حجمی رطوبت در گنجایش مزرعه، PWP: درصد حجمی رطوبت در نقطه پژمردگی دائم، pH: واکنش خاک، OC: کربن آلی، EC_e: رسانایی الکتریکی در عصاره اشباع، K: پتاسیم قابل جذب، P: فسفر قابل جذب.

$CaCO_3$: Calcium carbonate, FC: Volumetric water content at field capacity, PWP: Volumetric water content at permanent wilting point, pH: Soil reaction, OC: organic carbon, EC_e: Electrical conductivity in saturated extarct, K: Available potassium, P: Available phosphorus.

خردل با قارچ *S. indica*، افزایش رشد این گیاهان را در مقایسه با گیاهان شاهد گزارش کردند. کریمی و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند که قارچ اندوفیت *S. indica* با تأثیر بر پروتئین‌های درگیر در فرآیند فتوسنتز و چرخه کالوین و با افزایش سطح جذب ریشه‌ها در گیاهان، به بهبود روابط آبی و جذب عناصر غذایی در گیاه کمک می‌کنند و در نتیجه سرعت رشد گیاه را افزایش می‌دهند (۳۲). از جمله مکانیسم‌های مهم دیگر تحمل به شوری، تجمع و انباشتگی برخی محلول‌های سازگار مانند پرولین، گلایسین بتائین و پلی‌اول‌ها است. در این بین پرولین نقش ویژه‌ای در تحمل به شوری داشته و به‌عنوان یک محافظ اسمزی در حفظ ساختار، پتانسیل و فشار اسمزی بخش‌های مختلف سلولی عمل می‌کند. به‌گونه‌ای که میزان تجمع پرولین در گیاهان تحت شرایط تنش شوری، رابطه مستقیمی با میزان تحمل در برابر این تنش دارد و افزایش بیان آن‌ها، نقش مؤثری در حفظ و پایداری فتوسنتز ایفا می‌کند (۳۲). فنگ و همکاران (۲۰۰۲) بیان کردند که قارچ‌های همزیست به‌صورت مستقیم (بهبود تغذیه گیاهان از طریق جذب عناصر غذایی و همچنین افزایش جذب آب توسط گیاه) و غیرمستقیم (کاهش تنش‌های غیرزیستی مانند شوری و خشکی)، سبب افزایش رشد گیاه میزبان می‌شوند (۱۴). با توجه به موارد گفته شده، مقاومت نسبتاً خوب گیاه کینوا برای رشد در شرایط نامساعد محیطی از جمله شوری از یک سو و همچنین اثر مثبت قارچ *S. indica* از سوی دیگر، سبب شد که در این پژوهش اثر کاربرد قارچ *S. indica* در کاهش آثار نامطلوب شوری بر عملکرد و روابط آبی گیاه کینوا در یک خاک لوم شنی تحت تنش شوری مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی خاک

خاک مورد نظر از ایستگاه تحقیقاتی خلعت‌پوشان دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انتخاب شده و از عمق ۰ تا ۲۰ سانتی‌متری برداشت شد. پس از هوا-خشک کردن خاک و عبور از غربال دو میلی‌متری، ویژگی‌های مهم خاک از جمله نوع بافت (۳۶)، درصد کربن آلی (۴۵)، فسفر و پتاسیم قابل جذب (۴۸ و ۷۱) و کربنات کلسیم معادل (۵) اندازه‌گیری شدند که نتایج آن در جدول (۱) ارائه شده است. خاک مورد نیاز برای کشت گلدانی از غربال ۴/۷ میلی‌متری عبور داده شد و با اتوکلاو در فشار یک اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به‌مدت یک ساعت استریل شده و سپس در هر گلدان به مقدار ۲۳۰۰ گرم توزیع شد.

کشت و تهیه زادمایه قارچ *Serendipita indica*

این قارچ از گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تبریز تهیه شد. به‌منظور تکثیر قارچ از محیط کشت Kaefer Medium استفاده شد که شامل ۲۰ گرم گلوکز یا ساکارز (به‌عنوان منبع کربن)، ۲ گرم پپتون، ۵۰ میلی‌لیتر محلول نمکی (۱۲ گرم $NaNO_3$، ۴/۱۰ گرم $MgSO_4.7H_2O$ و ۴/۳۰ گرم KH_2PO_4 به‌ازای یک لیتر)، یک گرم کازامینو اسید و ۱۵ گرم آگار است. قارچ‌ها در دمای ۲۵ درجه

سلسیوس به‌مدت ۴ هفته انکوباسیون شدند. پس از ظهور کلنی‌ها و رشد کافی قارچ، حدود ۵ میلی‌لیتر محلول توئین ۲۰ (۰/۰۰۵ درصد) به سطح پتری افزوده شد و با رابر به‌مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه سائیده شد. سپس سوسپانسیون محتوی اسپور و هیف در یک ظرف استریل جمع‌آوری شده و به‌مدت ۴ دقیقه ورتکس شد تا سوسپانسیون قارچ به‌دست آید (۳ و ۴۲). در پایان تعداد اسپورها در سوسپانسیون قارچ با استفاده از لام نئوبار شمارش شد که در حدود $۶/۳\times۱۰^{۶}$ اسپور در هر میلی‌لیتر سوسپانسیون حاصل شد (۷۳). سر انجام میزان ۸۰ گرم پرلیت استریل با مجموع سوسپانسیون حاصل شده (۱۵۵ میلی‌لیتر) مخلوط شد.

آماده‌سازی بذر

در این آزمایش از بذر گیاه کینوا (*Chenopodium quinoa* Willd cv. Titicaca) استفاده شد. به‌منظور حذف آلودگی‌های سطحی، بذرهای گیاه کینوا پس از چندین بار شستشو با آب مقطر و غوطه ورسازی در اتانول ۷۰ درصد به‌مدت ۳۰ ثانیه، به درون محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد انتقال یافته و پس از هفت دقیقه، حدود ۱۰ بار با آب مقطر استریل کاملاً شستشو شدند.

کشت گیاه و اعمال تیمارها

برای کشت گیاه، ۲۳۰۰ گرم خاک استریل درون گلدان‌های PVC ۲۵۰۰ گرمی با قطر دهانه ۱۵/۱ و ارتفاع ۱۸ سانتی‌متر ریخته شد. پیش از شروع آزمایش، گلدان‌ها و ظروف پلاستیکی با الکل و ابزارهای فلزی همچون پنس با شعله استریل شدند. پس از آماده‌سازی گلدان‌ها، در هر کدام از آن‌ها هفت عدد بذر گیاه کشت شد. به این صورت که در گلدان‌ها ۷ حفره ایجاد شده، با اسپاتول استریل زادمایه قارچی به میزان ۲/۵ گرم درون حفره‌ها ریخته شد و بذر روی آن قرار گرفت و سپس با دو سانتی‌متر خاک استریل روی بذرها پوشانده شد. برای گلدان‌های بدون قارچ نیز همان مقدار پرلیت استریل خیس شده با محلول ۵ هزارم درصد توئین ۲۰ مخلوط شده و درون حفره‌ها ریخته شد. گلدان‌ها در شرایط گلخانه با فتوپریود ۱۲ ساعت روشنایی طبیعی نور خورشید و دمای ۳±۲۳ درجه سیلیسیوس در روز و ۳±۱۸ درجه سیلیسیوس در شب، به مدت دو ماه از تاریخ کشت نگهداری شدند. در زمان کشت از کود اوره به‌عنوان منبع نیتروژن استفاده شد که بر اساس آزمون خاک و توصیه کودی به هر گلدان ۰/۶۸ گرم اوره در سه تقسیط، یک‌سوم در ابتدای کشت و دوسوم در طول دوره رشد رویشی گیاه افزوده شد. بر اساس آزمون خاک، پتاسیم در مقادیر کافی برای گیاه وجود داشت و به همین دلیل دیگر از کود پتاسیم استفاده نشد. از طرفی کود فسفر نیز به‌دلیل اینکه منجر به ترغیب همزیستی قارچ اندوفیت می‌شود، استفاده نشد. پس از رشد و استقرار گیاه، بوته‌های ضعیف حذف شده و چهار بوته در هر گلدان نگه داشته شد. با توجه به مراحل اولیه استقرار گیاه تا اعمال تیمارهای شوری، آبیاری هر روز و به‌طور مرتب با آب مقطر انجام گرفت و رطوبت گلدان‌ها از طریق وزن کردن در ۰/۸FC تنظیم شد. تیمارهای شوری با توجه به پژوهش‌های انجام شده در رابطه با این گیاه در پنج سطح شوری عصاره اشباع شامل شاهد (رسانایی الکتریکی اولیه خاک)، ۵، ۱۰ ، ۲۰ و ۳۰ دسی‌زیمنس بر متر انتخاب شد. پس از تعیین نمودار EC تعادلی، مقدار نمک کلرید سدیم مورد نظر در سه تقسیط به گلدان‌ها افزوده شد. یک سوم نمک به‌صورت پودر در ابتدای کشت با خاک گلدان کاملاً مخلوط شد و دو سوم باقی‌مانده هم در دو تقسیط، در مقدار آب لازم حل شده و به گلدان‌ها افزوده شد به‌گونه‌ای که رطوبت خاک در ۰/۸FC حفظ شود (۳). برای جلوگیری از وارد شدن شوک اسمزی به گیاه، این محلول پس از دو هفته به‌صورت تدریجی در طی ده روز اعمال شد. گیاهان تا پایان مرحله رویشی (به‌مدت ۲ ماه) رشد یافته و به‌محض ظهور اولین گل در یکی از گلدان‌ها برداشت شدند.

اندازه‌گیری شاخص‌های گیاهی پیش از برداشت

محتوای پرولین برگ

اندازه‌گیری پرولین در انتهای رشد رویشی با روش ایریگوئن و

همکاران صورت گرفت (۲۷). برای این منظور ۰/۵ گرم از برگ تازه با محلول الکلی سابیده و له شد و سپس سانتریفیوژ شد. سپس برای تعیین غلظت پرولین، یک میلی‌لیتر از عصاره الکلی را با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق کرده، ۵ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۵ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به آن افزوده شده و مخلوط حاصله پس از به هم زدن به‌مدت ۴۵ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. پس از بیرون آوردن نمونه‌ها از حمام آب جوش و خنک شدن آن‌ها، ۱۰ میلی‌لیتر تولوئن به هرکدام از نمونه‌ها افزوده شده و به شدت تکان داده شد تا کمپلکس پرولین نین‌هیدرین وارد فاز تولوئن شود. در نهایت میزان مقدار محلول‌های استاندارد و نمونه‌ها، در طول‌موج ۵۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر DR Hack / ۲۰۰۰ اندازه‌گیری شد و نمودار واسنجی با استفاده از محلول‌های استاندارد تهیه شد.

محتوای نسبی آب برگ

مقدار محتوای نسبی آب[1] (RWC) برگ یک ماه پس از اعمال تنش (در اواخر دوره رشد) و تنها یک مرتبه در طول دوره اندازه‌گیری شد. برای این کار، ابتدا از هر بوته قطعه‌ای از برگ بریده و بلافاصله وزن تازه (Wf) آن توسط ترازوی حساس ۰/۰۰۱± اندازه‌گیری شد. سپس این قطعات برگی به ظروف پتری دربدار حاوی آب مقطر منتقل شده و به‌مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شدند تا با جذب آب به آماس کامل برسند. پس از خارج کردن نمونه‌ها از ظرف پتری، آب اضافی موجود در سطح نمونه‌ها به‌وسیله دو لایه کاغذ صافی حذف شده و وزن آن (Wt) تعیین شد. سپس نمونه‌ها به آون با دمای ۷۵ درجه سلسیوس انتقال یافته و پس از ۲۴ ساعت دوباره توزین شدند (Wd). در نهایت محتوای نسبی آب برگ (RWC) از رابطه (۱) محاسبه شد (۴):

$$RWC = [(Wf - Wd) / (Wt - Wd)]\times 100 \qquad (۱)$$

اندازه‌گیری پتانسیل آب برگ (LWP)

یک ماه پس از اعمال تنش و یک مرتبه در طول دوره، مقدار پتانسیل آب برگ[2] پیش از برداشت گیاهان در ساعات ظهر (۱۲-۱۴) به‌کمک دستگاه محفظه فشار اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری این شاخص از برگ‌های کاملاً توسعه‌یافته استفاده شد. به این صورت که پهنک برگ بلافاصله پس از چیدن از بوته درون محفظه دستگاه و دمبرگ در بیرون آن قرار داده شد. با باز کردن شیر کپسول هوای فشرده، فشار درون محفظه به‌آرامی افزایش یافت و به‌محض مشاهده شیره آوندی در انتهای دمبرگ و نمایان شدن آثار جوشش، شیر هوای فشرده را بسته و عدد روی فشارسنج دستگاه قرائت شد. در واقع این عدد قرائت شده با علامت منفی مقدار پتانسیل آب برگ را برحسب بار نشان می‌دهد (۶۶).

درصد نشت الکترولیت[3]

درصد نشت الکترولیت با هدف تعیین نفوذپذیری غشای سلولی برگ مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. بدین منظور بر اساس روش طباطبائی (۶۲) حداقل یک ماه پس از اعمال تیمارها و از برگ‌های جوان و توسعه یافته، نمونه‌برداری انجام گرفت. نمونه‌های برگی را در ابعاد یک سانتی‌متر مربع بریده و برای پاک کردن آلودگی‌های سطحی، ۳ بار با آب مقطر شسته شدند. نمونه‌ها پس از شستشو در درون لوله‌های شیشه‌ای درپوش‌دار حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر گذاشته و به‌مدت ۲ ساعت در دمای اتاق (۲۵ درجه سیلیسیوس) قرار گرفتند. سپس رسانایی الکتریکی اولیه (EC1) با استفاده از دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد. در مرحله بعد نمونه‌ها در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به‌مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند و پس از سرد شدن در دمای اتاق، رسانایی الکتریکی ثانویه (EC2) برای آن‌ها اندازه‌گیری شد. در نهایت درصد نشت الکترولیت (ELP) برگ از طریق رابطه (۲) محاسبه شد:

1. Relative water content

2. Leaf water potential
3. Electrolyte leakage percentage

% ELP = اندازه‌گیری شاخص‌های رشد پس از برداشت
(EC1 / EC2) ×100 (۲)

وزن تازه و خشک گیاه

برداشت گیاهان دو ماه پس از کشت انجام گرفت و در هنگام برداشت، شاخساره گیاهان از سطح خاک قطع شده و وزن تازه آن‌ها اندازه‌گیری شد. پس از جدا کردن ریشه‌ها از خاک، آن‌ها را با مقدار زیادی آب مقطر شستشه و آب اضافی آن‌ها با کاغذ خشک‌کن گرفته شد. سپس حدود ۰/۵ گرم از ریشه‌های ریز، برای تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه در الکل ۵۰ درصد تثبیت شدند. در مرحله بعد همه نمونه‌های گیاهی در درون پاکت‌های کاغذی قرار گرفتند تا به آون فن‌دار منتقل شده و در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به‌مدت سه روز خشک شوند. پس از این مدت نمونه‌ها از آون خارج شده و به‌کمک ترازوی ۰/۰۰۱ g وزن خشک آن‌ها تعیین شد.

رنگ‌آمیزی و تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ *S. indica*

بخشی از ریشه‌های ظریف و موئین از هر نمونه ریشه گیاه جداسازی شده و پس از شستشوی کامل با آب به روش کورمانیک و مک گراو (۳۵) رنگ‌آمیزی شدند. برای تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه از روش تقاطع خطوط شبکه[1] استفاده شد (۴۷ و ۶۰). در این روش ابتدا یک کاغذ شطرنجی با ابعاد شبکه ۵ × ۵ mm به پشت یک ظرف پتری شیشه‌ای چسبانده شد و سپس بخشی از ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده درون ظرف پتری ریخته شده و به‌طور تصادفی پخش شدند. سرانجام نقاط تلاقی ریشه با خطوط شطرنجی توسط بینوکلر مشاهده شده و درصد نقاط تلاقی که دارای اندام‌های قارچی بودند نسبت به کل نقاط تلاقی، تعیین شد.

تجزیه آماری داده‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل با دو فاکتور ۱) قارچ اندوفیت *S. indica* در دو سطح و ۲) شوری حاصل از کلرید سدیم در پنج سطح با سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد که در مجموع ۳۰ واحد آزمایشی وجود داشت. دو سطح قارچ شامل تلقیح و عدم تلقیح با قارچ و پنج سطح شوری شامل شاهد (رسانایی الکتریکی اولیه خاک)، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دسی‌زیمنس بر متر مورد بررسی قرار گرفتند. تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام و نمودارها در Excel رسم شد.

نتایج و بحث

برخی از ویژگی‌های خاک مورد آزمایش در این پژوهش در جدول (۱) ارائه شده است.

وزن تازه و خشک ریشه

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر برهم‌کنش قارچ و سطوح شوری بر وزن تازه و خشک ریشه معنی‌دار شده است ($P<0.05$). نتایج مقایسه میانگین آثار برهمکنش تیمارها نشان داد که به جز سطوح شوری ۲۰ و ۳۰ دسی‌زیمنس بر متر، تیمارهای حاوی مایه‌زنی قارچ دارای وزن تازه و خشک ریشه بیش‌تری نسبت به تیمار بدون قارچ بودند. مایه‌زنی قارچ منجر به افزایش وزن خشک ریشه کینوا در سطوح شوری شاهد، ۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر شد که این مقادیر به‌ترتیب ۲۳/۵، ۲۵/۷ و ۲۵/۶ درصد بودند. همچنین وزن تازه ریشه کینوا در سطوح شوری مذکور نیز به‌ترتیب ۱۲/۸، ۲۰/۸ و ۳۱/۴ درصد نسبت به تیمار شاهد بدون قارچ افزایش یافت. مایه‌زنی قارچ در شوری ۲۰ و ۳۰ دسی‌زیمنس بر متر سبب افزایش معنی‌دار در وزن تازه و خشک ریشه گیاه کینوا نسبت به تیمار بدون قارچ نشد (شکل ۱).

کاهش وزن خشک ریشه با افزایش میزان شوری می‌تواند ناشی از سمیّت یونی، کاهش پتانسیل آب، کاهش میزان فتوسنتز و در نهایت رشد گیاه باشد. به این ترتیب میزان جذب

1. Grid line intersection method

جدول ۲. تجزیه واریانس آثار مایه‌زنی قارچ و تنش شوری بر وزن تازه و خشک شاخساره و ریشه، پتانسیل آب برگ، نشت الکترولیت، پرولین و محتوای نسبی آب برگ.

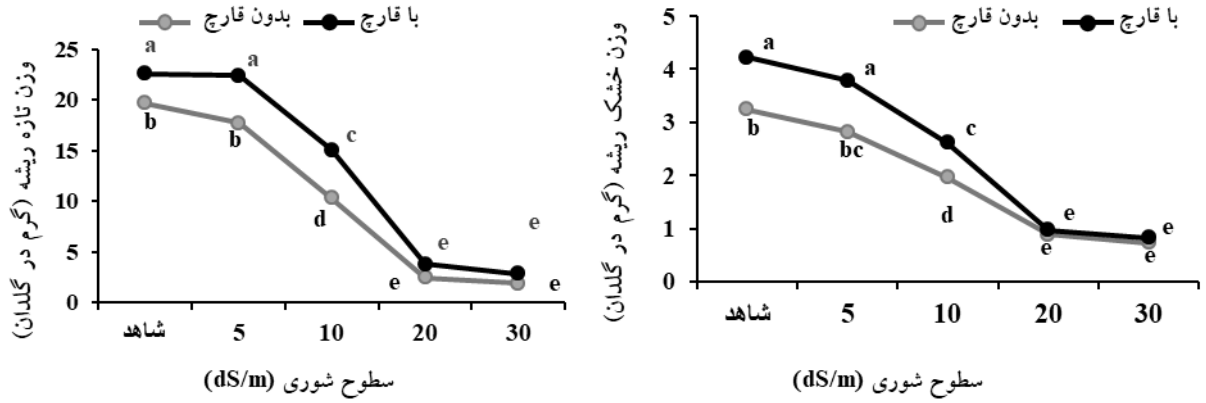
Table 2. Analysis of variance of fungal inoculation and salinity stress effects on fresh and dry weights of shoot and root, leaf water potential, electrolyte leakage, proline and relative water content of leaf.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات (Mean squares)								
		وزن تازه شاخساره	وزن خشک شاخساره	وزن تازه ریشه	وزن خشک ریشه	نشت الکترولیت	پتانسیل آب برگ	محتوای نسبی آب برگ	پرولین	درصد کلونیزاسیون
قارچ	1	742.22**	2.46*	63.62**	2.34**	1561.23**	4.03ns	0.32ns	602.56ns	13407.24**
تنش شوری	4	3918.65**	174.79**	479.24**	10.80**	1668.24**	7.91*	648.05**	27.19**	308375.28**
قارچ × تنش شوری	4	51.79**	1.19*	4.77*	0.3	231.14**	9.28*	272.77**	841.15ns	27.19**
خطا	20	6.67	0.39	1.64	0.1	23.21	2.66	33.88	3.8	4462.19
ضریب تغییرات (٪)		7.59	8.83	10.8	14.34	6.81	12.4	6.53	9.23	20.62

**: معنی‌دار در سطح یک درصد، *: معنی‌دار در سطح پنج درصد و ns: غیرمعنی‌دار.

**, * and ns, indicate significant effect at 1% and 5% probability 1evels and non-significant, respectively.

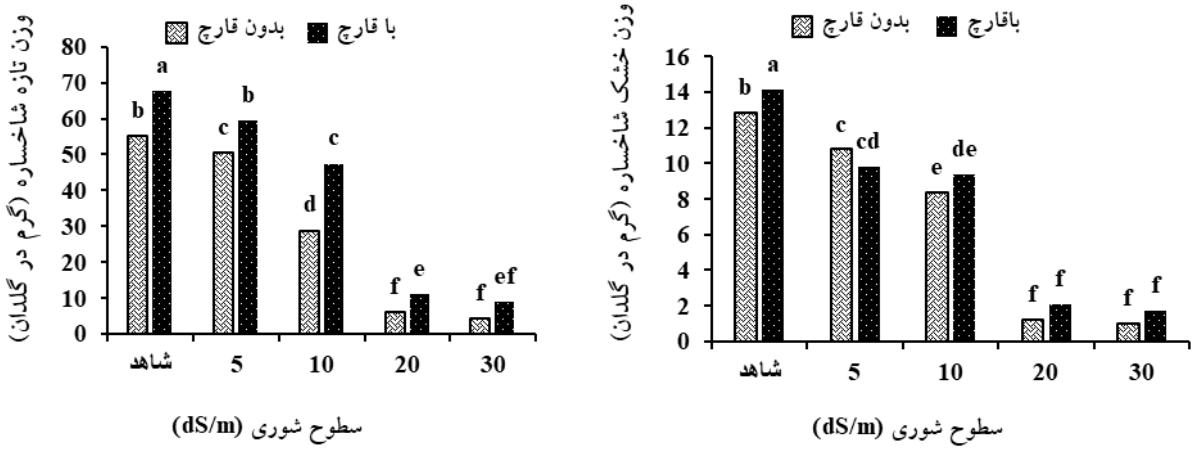
درجه آزادی: Degree of freedom، منبع تغییر: Source of variation، درصد کلونیزاسیون: Percentage of colonization، پرولین: Proline، محتوای نسبی آب برگ: Leaf relative water content، پتانسیل آب برگ: Leaf water potential، نشت الکترولیت: Electroly teleakage، وزن خشک ریشه: Root dry weight، وزن تازه ریشه: Root fresh weight، وزن خشک شاخساره: Shoot dry weight، وزن تازه شاخساره: Shoot fresh weight. قارچ: Fungi، تنش شوری: Salinity stress، قارچ × تنش شوری Fungi × Salinity stress، ضریب تغییرات (٪): CV٪



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش تنش شوری و مایه‌زنی قارچ بر وزن تازه و خشک ریشه؛ نقاط دارای حرف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

Fig. 1. Mean comparisons of interaction effect of salinity stress and fungus inoculation on fresh and dry weights of root; Points with the same letters are not significantly different (LSD, $P < 0.05$).

و انتقال عناصر غذایی و آب از ریشه به اندام هوایی گیاه کاهش می‌یابد (۶۲). ربحی و همکاران (۵۱) گزارش کرده‌اند که در شرایط تنش شوری، گیاه برای جلوگیری از ورود بیش از حد یون سدیم به درون ریشه، مقدار زیادی انرژی مصرف می‌کند که این امر باعث کاهش رشد ریشه می‌شود. طی بررسی‌هایی مشاهده شده است که در شرایط تنش شوری گیاهان تیمار شده



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش تنش شوری و مایه‌زنی قارچ بر وزن تازه و خشک شاخساره؛ ستون دارای حرف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

Fig. 2. Mean comparisons of the interaction effect of salinity stress and fungal inoculation on fresh and dry weights of shoot; Columns with the same letters are not significantly different (LSD, $P < 0.05$).

با قارچ *S. indica* ، میزان اکسین بیشتری نسبت به گیاهان شاهد دارند (۶۷). به‌گونه‌ای که سیرنبرگ و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که قارچ *S. indica* مقداری اکسین در محیط کشت مایع تولید می‌کند که وجود این هورمون تأثیر مثبتی در افزایش ریشه‌زایی و رشد آن دارد (۶۷). همچنین واداسری و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که این قارچ علاوه بر تولید مقدار کمی اکسین، مقدار فراوانی سیتوکینین تولید می‌کند که باعث افزایش رشد شاخساره گیاه از طریق رشد جوانه‌های جانبی می‌شود (۷۲). با توجه به نقش اکسین در تشکیل و انگیزش ریشه نابه‌جا در گیاه سالم و قلمه‌ها، افزایش ریشه‌های جانبی می‌تواند ساده‌ترین دلیل از چگونگی اثر قارچ بر رشد گیاهان باشد (۱۲). تیمار گیاه *Abrus precatorius* با قارچ *S. indica* سبب افزایش شاخص‌هایی هم‌چون ارتفاع گیاه، طول شاخه، طول ریشه، وزن خشک و تازه کل گیاه شد (۱۱ و ۱۸).

وزن تازه و خشک شاخساره

تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر برهم‌کنش قارچ و سطوح شوری بر وزن تازه و خشک شاخساره معنی‌دار شده است ($P<0.05$). در بررسی برهم‌کنش سطوح شوری و قارچ بر وزن تازه و خشک شاخساره مشاهده می‌شود که با افزایش تنش شوری، وزن تازه و خشک شاخساره کاهش می‌یابد. در مورد وزن تازه شاخساره، مایه‌زنی با قارچ در سطوح شوری شاهد، ۵، ۱۰ و ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر به‌ترتیب ۱۸/۴، ۱۴/۹، ۳۹/۴ و ۴۴/۶ درصد نسبت به تیمار بدون تلقیح افزایش داشته ولی در شوری ۳۰ دسی‌زیمنس بر متر تفاوت معنی‌داری بین تیمار تلقیح و عدم تلقیح مشاهده نشد. مایه‌زنی با قارچ تنها در تیمار شوری شاهد توانست وزن خشک شاخساره را به‌میزان ۹ درصد نسبت به تیمار عدم تلقیح با قارچ افزایش دهد و در سایر سطوح شوری، اثر آن معنی‌دار نبود (شکل ۲).

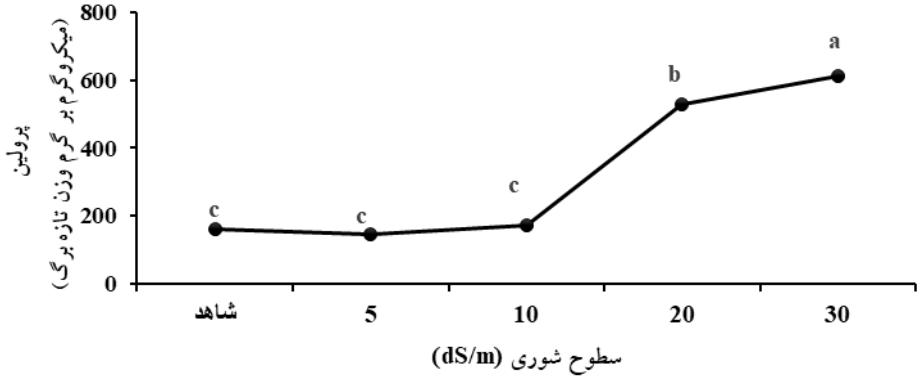
کاهش معنی‌دار وزن گیاه در شرایط شور، ممکن است به‌دلیل آسیب‌های اسمزی و ایجاد تنش خشکی، کاهش سطح برگ، کاهش هدایت روزنه‌ای، تجمع یون‌های کلرید و سدیم در اندام‌ها، تخریب ساختمان کلروپلاست و کاهش فتوسنتز باشد (۷۸). خلدبرین و همکاران (۳۵) مشاهده کردند که در گیاه گوجه‌فرنگی با افزایش سطوح شوری از ۱/۲ تا ۸ دسی‌زیمنس‌بر متر، وزن تازه و خشک بخش هوایی به‌صورت معنی‌داری کاهش یافته است. سرهنگ‌زاده (۵۹) نیز کاهش وزن تازه شاخساره گیاه ذرت با افزایش سطح شوری از صفر تا ۸ دسی‌زیمنس بر متر را گزارش کرد. بر اساس برخی پژوهش‌ها، مشاهده شده است که قارچ با افزایش سطح جذب از طریق

میسیلیوم‌های خود، فراهمی آب و عناصر غذایی را برای گیاه بهبود می‌بخشد (۲۴) که این موضوع به نوبه خود افزایش میزان فتوسنتز، تولید قندها و مواد ذخیره‌ای را در پی دارد و در نتیجه رشد اندام هوایی و ریشه‌ها افزایش می‌یابد. تأثیر تلقیح قارچ اندوفیت *S. indica* در افزایش زیست‌توده گیاهان ذرت (*Zea mays*)، توتون (*Nicotiana tabaccum*)، جعفری (*Petroselinum crispum*)، آرتمیزیا (*Artemisia annula*) و درخت سپیدار (*Bacopa monnieri*) توسط وارما و همکاران (۷۴) مورد بررسی قرار گرفت؛ نتایج آن‌ها حاکی از افزایش زیست‌توده قسمت‌های هوایی و ریشه گیاهان تلقیح شده با این قارچ به میزان دو برابر نسبت به گیاهان شاهد تلقیح نشده بوده است. رای و وارما (۵۴) و همچنین رای و همکاران (۵۳)، افزایش رشد و افزایش وزن خشک و تازه بخش هوایی گیاه دارویی *Adhatoda vasica* در اثر تلقیح با قارچ *S. indica* را گزارش کردند. نتایج بررسی اثر قارچ *S. indica* در گیاه جو نشان داد که این قارچ باعث افزایش ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک و همچنین افزایش مقاومت گیاهان تلقیح شده به تنش شوری و خشکی می‌شود (۱۶ و ۷۵). آثار مثبت همزیستی شبه میکوریزایی در رشد رویشی و عملکرد گیاه، می‌تواند به‌دلیل بهبود جذب فسفر و افزایش جذب آب با هیف‌های قارچی و همچنین افزایش تراکم و طول ریشه گیاه به‌ویژه در شرایط تنش خشکی باشد (۱). قبادلی و همکاران (۲۰۱۵)، اثر مثبت این قارچ در افزایش مقدار وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاه برنج در شرایط تنش خشکی را گزارش کرده‌اند (۱۵). همچنین بهبود معنی‌دار رشد و میزان زیست‌توده تازه و خشک اندام‌های هوایی در گیاهان گندم تلقیح شده با قارچ *S. indica* و سویه‌های مختلف باکتری آزوسپیریلوم نسبت به گیاهان شاهد، در شرایط تنش شوری گزارش شده است (۲۰). اثر مفید قارچ *S. indica* بر افزایش رشد گیاهان در شرایط تنش شوری در برنج (۳۰) و تنش خشکی در گیاه آرابیدوپسیس گزارش شده است (۶۴). اثر تنش شوری در هر دو حالت تلقیح و عدم تلقیح قارچ در بخش ریشه بیش‌تر بوده و احتمالاً به‌دلیل تماس مستقیم ریشه با محیط شور است. ابتدا ریشه در معرض آثار زیان‌بار شوری قرار گرفته و برای کاهش خسارت‌های وارد شده اقدام به اتخاذ مکانیسم‌هایی می‌کند که این اقدامات ریشه برای کاهش آثار منفی شوری، باعث تأخیر در بروز آثار منفی در شاخساره می‌شود و بنابراین آثار و خسارت‌های شوری در شاخساره با شدت کم‌تری ظهور پیدا می‌کنند.

محتوای پرولین

تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثر برهم‌کنش تیمارهای قارچ و شوری و اثر اصلی قارچ بر محتوای پرولین برگ، معنی‌دار نشده و تنها اثر اصلی شوری معنی‌دار شده است ($P<0.01$). با توجه به شکل (۳)، با افزایش تنش شوری پرولین افزایش یافته و بیش‌ترین مقدار آن نیز در شوری ۳۰ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد که تا شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر تغییر معنی‌داری در پرولین برگ وجود ندارد ولی با افزایش شوری از ۱۰ به ۲۰ و از ۲۰ به ۳۰ دسی‌زیمنس بر متر، مقدار پرولین به‌طور چشم‌گیری افزایش می‌یابد به‌گونه‌ای که مقدار آن در شوری ۲۰ و ۳۰ دسی‌زیمنس بر متر نسبت به تیمار شاهد به‌ترتیب ۶۸/۷ و ۷۶/۲ درصد افزایش یافته است (شکل ۳).

از جمله دلایل عمده افزایش معنی‌دار پرولین با افزایش شوری در سیتوپلاسم، تنظیم فشار اسمزی سلول است، که می‌تواند به‌منظور موازنه اسمزی در واکوئل و تعادل اسمزی بین سیتوپلاسم و اجزای مختلف سلول نسبت به شوری محیط باشد (۴۲). بر این اساس رجالی و همکاران (۵۶) افزایش غلظت پرولین را با افزایش شوری در گیاه گندم مشاهده کردند. نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که پرولین به‌عنوان یک عامل مثبت در رابطه با سازگاری در شرایط تنش مطرح است و تجمع این متابولیت در شرایط تنش، اهمیت تنظیم اسمزی را در پتانسیل آبی پایین نشان می‌دهد. علاوه بر تنظیم اسمزی، پرولین به‌عنوان منبع ذخیره برای گیاه نیز محسوب می‌شود و در شرایط کمبود منابعی مانند کربن و



شکل ۳. مقایسه میانگین اثر اصلی تنش شوری بر محتوای پرولین برگ؛ ستون دارای حرف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

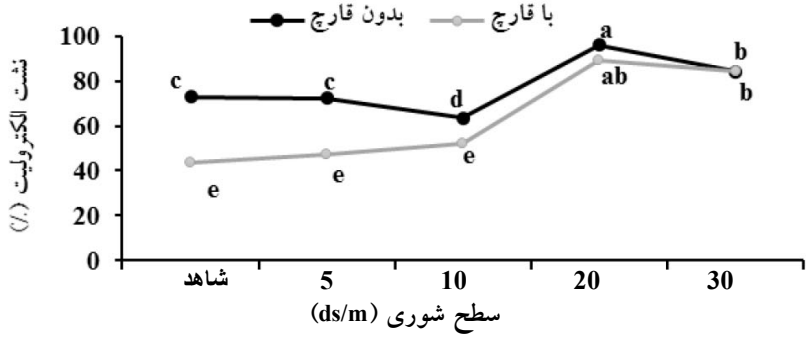
Fig. 3. Mean comparisons of the main effect of salinity stress on leaf proline content; Columns with the same letters are not significantly different (LSD, $P < 0.05$).

نیتروژن، گیاه می‌تواند از آن استفاده کند (۴۰). نتایج آزمایش‌های (۲۰ و ۷۹) نشان می‌دهد که قارچ *S. indica* در شرایط تنش شوری سبب افزایش سنتز و تجمع پرولین شده است. در مقابل، رابی و المدینی (۵۲) گزارش کرده‌اند که حضور قارچ میکوریزا سبب کاهش تجمع پرولین در گیاه باقلا در سطوح شوری ۰ تا ۶ دسی‌زیمنس بر متر شده است. وجود این نتایج متناقض، نیاز به بررسی بیشتر برای تعیین مکانیسم‌های تحمل شوری در حضور ریزجانداران همزیست در گیاه را نشان می‌دهد.

نشت الکترولیت

تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثر برهم‌کنش تیمارهای قارچ و شوری بر درصد نشت الکترولیت معنی‌دار شده است ($P<0.01$). همچنین مقایسه میانگین آثار برهمکنش شوری و قارچ نشان داد که با افزایش شوری، نشت الکترولیت هم افزایش می‌یابد. تلقیح با قارچ، اثر معنی‌داری بر نشت الکترولیت در سطوح شوری کم داشت و توانست در سطوح شوری شاهد، ۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر، نشت الکترولیت را به‌ترتیب ۴۰/۱، ۳۴/۴ و ۱۸/۰ درصد نسبت به شاهد بدون تلقیح کاهش دهد اما در دو سطح شوری ۲۰ و ۳۰ دسی‌زیمنس بر متر اختلاف معنی‌داری بین تیمار شاهد بدون تلقیح با تیمار مایه‌زنی شده وجود نداشت (شکل ۴).

کریشنامورتی و همکاران (۳۸) دریافتند که با افزایش شدت تنش، آسیب وارده به غشاها بیشتر شده و در نتیجه نشت مواد از برگ‌های فلفل سیاه افزایش می‌یابد. افزایش نشت الکترولیتی مواد، نشانه‌ای از آسیب غشاها و کاهش پایداری آن‌ها است که احتمالاً نتیجه تنش اکسیداتیو منتج از شوری است (۲۳). فینگ و همکاران (۱۴) کاهش میزان نشت الکترولیت در برگ گیاهان میکوریزی را با تغییرات القاء شده در اثر افزایش جذب عناصر غذایی و افزایش تولید آنتی‌اکسیدان‌ها که سبب افزایش پایداری و کاهش نفوذپذیری غشای پلاسمایی گیاهان میزبان می‌شوند، گزارش کرده‌اند. هم‌چنین در گیاهان میکوریزی با توجه به تغذیه مؤثر فسفر و افزایش پایداری غشاها (از جمله غشاهای واکوئلی)، فرضیه تأثیر مثبت قارچ بر افزایش کارایی کده‌بندی سدیم در واکوئل‌ها و کاهش غلظت سیتوپلاسمی آن در شرایط تنش شوری امکان‌پذیر است (۸). به‌نظر می‌رسد که تنش‌های محیطی از طریق ایجاد رادیکال های آزاد اکسیژن در درون سلول، سبب کاهش پایداری غشا و افزایش نشت مواد سیتوپلاسمی از آن می‌شوند که پیامد آن افزایش نسبت نشت الکترولیت است (۶). نوری آکندی (۲۰۱۵) نشان داد که در سطوح کم و میانگین شوری (حدود صفر تا ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl)، شاخص نشت الکترولیت در گیاه استویای تلقیح شده با



شکل ۴. مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش تنش شوری و مایه‌زنی قارچ بر نشت الکترولیت در برگ؛ ستون دارای حرف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

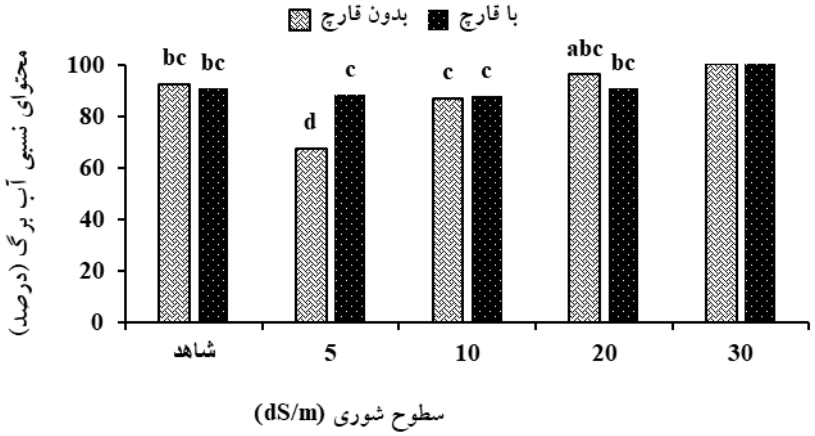
Fig. 4. Mean comparisons of the interaction effect of salinity stress and fungal inoculation on leaf electrolyte leakage; Columns with the same letters are not significantly different (LSD, $P < 0.05$).

قارچ *S. indica* نسبت به گیاهان تلقیح نشده کاهش یافته است که بیانگر افزایش مقاومت غشایی گیاهان تلقیح شده در برابر تنش شوری است (۴۶).

محتوای نسبی آب برگ

در تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) اثر برهم‌کنش تیمارهای قارچ و شوری بر محتوای نسبی آب (RWC) برگ معنی‌دار شده است ($P<0.01$). مقایسه میانگین آثار برهم‌کنش شوری و قارچ نشان داد که افزایش شوری باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ شده است. همچنین نتایج نشان می‌دهد که در تیمارهای مایه‌زنی شده با قارچ و بدون قارچ ابتدا محتوای نسبی آب برگ کاهش یافته و سپس افزایش می‌یابد. در تیمار مایه‌زنی این کاهش معنی‌دار نیست اما در تیمار بدون قارچ در شوری ۵ دسی‌زیمنس بر متر، محتوای نسبی آب برگ کاهش معنی‌داری داشت. در تیمار مایه‌زنی شده تا شوری ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر اختلاف معنی‌داری بین سطوح مشاهده نمی‌شود اما اختلاف این سطوح با شوری ۳۰ دسی‌زیمنس بر متر معنی‌دار شده است. در تیمار بدون قارچ، بین شوری ۵ دسی‌زیمنس بر متر با سایر سطوح اختلاف معنی‌داری وجود داشت. در مقایسه تیمار مایه‌زنی شده با قارچ و بدون قارچ، تنها در سطح شوری ۵ دسی‌زیمنس بر متر تیمار با قارچ به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از بدون قارچ شده است ولی در سایر سطوح اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۵).

سینکالیر و لوالو (۶۶) عقیده دارند که RWC در مقایسه با متغیرهای ترمودینامیکی وضعیت آب، شاخص بهتری است. از دیدگاه آن‌ها به‌دلیل اینکه روزنه‌ها تعادل جریان خروجی و ورودی آب به درون برگ را تنظیم می‌کنند، اندازه‌گیری RWC وضعیت روزنه‌ها و تعرق را بهتر منعکس می‌کند. لیو و همکاران (۴۱) بین تحمل به شوری و RWC همبستگی معنی‌داری را در تعدادی از گندمیان علوفه‌ای گزارش کرده‌اند. چارزوالکیس و لوپاساکی (۱۰) در گزارشی اعلام کردند که RWC برگ‌های گندم، تحت تأثیر شوری قرار نمی‌گیرد درحالی که این شاخص در برگ‌های گلرنگ، آفتابگردان و تربچه در شوری بیش‌تر از ۶۰۰ ppm نسبت به گندم به‌شدت تحت تأثیر قرار گرفته و کاهش می‌یابد. چنانچه محتوای نسبی آب برگ زیاد باشد، گیاه تورم سلولی خود را حفظ کرده و رشد آن تداوم می‌یابد (۵۵). تصور می‌شود افزایش جذب آب در گیاهان مایکوریزا با کارکرد هیف‌ها در جذب و هدایت آب به ریشه و هدایت هیدرولیکی ریشه در شرایط هم‌زیستی مرتبط است. هاردی و لیتون (۱۹۸۱) در آزمایشی نشان دادند که به‌ازای واحد طول ریشه، هدایت هیدرولیکی ریشه‌های مایکوریزی گیاه شبدر چمنی، دو تاسه برابر بیش‌تر از ریشه‌های غیرمیکوریزی است (۲۱). علی‌اصغرزاد و همکاران (۲) گزارش دادند که قارچ میکوریزی



شکل ۵. مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش تنش شوری و مایه‌زنی قارچ بر محتوای نسبی آب برگ؛ ستون دارای حرف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

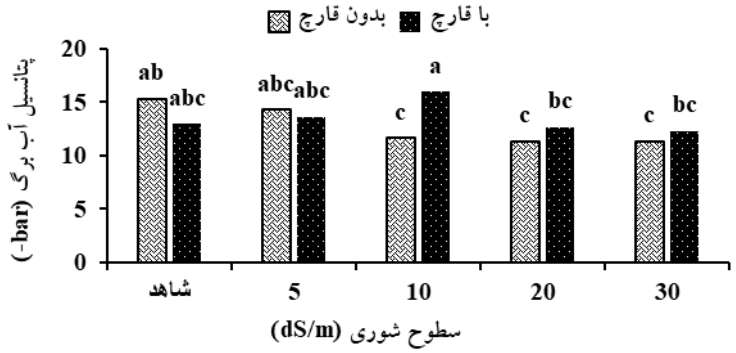
Fig. 5. Mean comparisons of the interaction effect of salinity stress and fungal inoculation on relative water content of leaf; Columns with the same letters are not significantly different (LSD , $P < 0.05$).

و باکتری *Bradyrhizobium japonicum* در دو مرحله گلدهی و بلوغ دانه باعث افزایش رطوبت نسبی گیاه سویا نسبت به گیاه شاهد تحت رطوبت کم خاک شده است. سوبرامانیان و چارست (۱۹۹۹) بیان داشتند که تلقیح میکوریزای گیاه ذرت باعث افزایش ۱۸ درصدی محتوای نسبی آب در مقایسه با گیاه شاهد تحت تنش آبی شده بود (۶). با توجه به اینکه قارچ *S. indica* رفتار مشابهی با قارچ میکوریزی بروز می‌دهد به‌نظر می‌رسد که با مکانیسم مشابهی نیز سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ شده است که نتایج به‌دست آمده با نتایج پژوهش‌های مشابه بر روی اثر قارچ بر مقاومت گیاه جو در شرایط تنش شوری هم‌خوانی دارد (۶۱). همچنین باید اشاره کرد که گیاهان متحمل‌تر به شوری اغلب دارای روش‌های ویژه‌ای برای مدیریت نمک در برگ‌ها هستند. غده‌ها و کیسه‌های نمکی برای خروج املاح به سطوح خارجی برگ مثال‌هایی از این سازوکارها هستند. در واقع گیاهان از مکانسیم تجمع بلورهای نمک در سلول‌های مزوفیلی برای کاهش میزان تبخیر و تعرق و دفع نمک استفاده می‌کنند. همچنین این ویژگی سبب می‌شود که آب به‌سمت این سلول‌ها جریان پیدا کند (۷۰). به‌نظر می‌رسد در گیاه کینوا هم‌چنین مکانیسمی اثر مثبت بر محتوای نسبی آب برگ را دارد.

پتانسیل آب برگ

تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثر برهم‌کنش تیمارهای قارچ و شوری بر پتانسیل آب برگ معنی‌دار شده است ($P<0.05$). مقایسه میانگین آثار برهم‌کنش شوری و قارچ نشان داد که افزایش تنش شوری باعث افزایش پتانسیل آب برگ می‌شود. درحالی که انتظار می‌رفت بیش‌ترین مقدار پتانسیل آب برگ در تیمار شوری ۳۰ دسی‌زیمنس بر متر حاصل شود ولی این مورد در تیمار شوری شاهد اتفاق افتاد. همچنین مشاهده می‌شود که بین سطوح مختلف شوری، به‌غیر از شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر که در آن پتانسیل آب برگ تیمار مایه‌زنی شده با قارچ به‌طور معنی‌داری کم‌تر از تیمار بدون قارچ شده است، اختلاف معنی‌داری بین تیمار با قارچ و بدون قارچ وجود نداشت (شکل ۶).

پتانسیل آب در گیاه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است که با اندازه‌گیری آن به‌عنوان مهم‌ترین عامل در جذب آب گیاه از خاک، به‌خوبی می‌توان به وضعیت آب در گیاه پی برد. در فرایند روابط آبی گیاهان، همیشه پتانسیل آبی گیاه از خاک کم‌تر است تا جذب آب صورت گیرد. در صورت ایجاد تنش رطوبتی در محیط اطراف ریشه در خاک، پتانسیل آب منفی می‌شود. از این‌رو ریشه گیاه با کاهش پتانسیل آب خود، بر



شکل ۶. مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش تنش شوری و مایه‌زنی قارچ بر پتانسیل آب برگ؛ ستون دارای حرف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

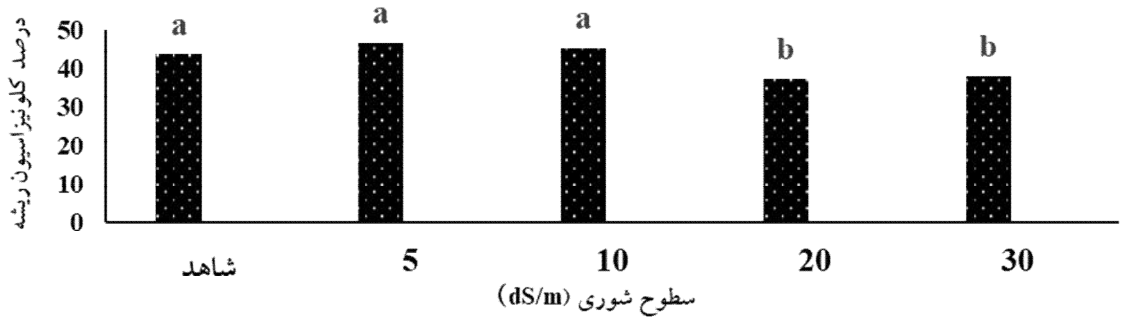
Fig. 6. Mean comparisons of the interaction effect of salinity stress and fungal inoculation on leaf water potential; Columns with the same letters are not significantly different (LSD, $P < 0.05$).

کمبود رطوبت غلبه کرده و رطوبت کم را با کارایی بیش‌تری به گیاه هدایت می‌کند (۷). در این پژوهش به‌منظور درک بهتر تغییرات پتانسیل آب برگ، مقادیر آن به‌صورت قدر مطلق (مثبت) ارائه شده است. همان‌طور که در شکل (۶) نیز مشخص شده است، با افزایش تنش شوری، قدر مطلق پتانسیل آب برگ کاهش یافته است. هر چند این کاهش معنی‌دار نیست اما نشان‌دهنده میل به جذب آب کمتر است که در این خصوص می‌توان به چند مورد اشاره کرد. در تیمارهای شوری شاهد و ۵ دسی زیمنس بر متر اثر مثبت قارچ بر پتانسیل آب برگ مشاهده می‌شود اما در تیمارهای شوری بیش‌تر اثر خود را از دست می‌دهد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که قارچ تلقیح یافته وقتی که دچار تنش شوری شده است، اندکی فشار به گیاه وارد کرده تا بتواند زنده بماند. از طرف دیگر دلیل اثر مثبت قارچ بر سایر ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در این شوری می‌تواند به جذب عناصر غذایی مربوط باشد نه جذب آب، چرا که رطوبت همواره به میزان مورد نیاز در دسترس بوده است. مورد بعدی احتمالاً به‌دلیل مکانسیم مقاومت خود گیاه است. به‌گونه‌ای که در گیاه کینوا با افزایش سطوح شوری، گیاه املاح اضافی را از طریق غده‌های نمکی به خارج از گیاه انتقال می‌دهد که در نتیجه اثر مثبتی بر گیاه دارد. همچنین پژوهشگران نشان دادند که گیاه کینوا در شرایط خشکی، اقدام به بستن روزنه‌های برگی خود می‌کند که سبب کاهش تعرق و در نتیجه حفظ آب برگ می‌شود و به این ترتیب کارایی مصرف آب و فتوسنتز در شرایط کم‌آبیاری افزایش می‌یابد (۲۷ و ۷۷).

درصد کلونیزاسیون ریشه

بر اساس نتایج به‌دست آمده مشخص شد که اثر اصلی سطوح تنش شوری بر درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه کینوا معنی‌دار شده است ($P<0.01$). این نتایج بیانگر آن است که افزایش شدت تنش شوری، سبب کاهش کلونیزاسیون ریشه‌های گیاهان تلقیح شده با قارچ شده و اثر تنش شوری بر کلونیزاسیون ریشه‌ها کاملاً مشهود است. مقایسه میانگین اثر شوری نشان داد که درصد کلونیزاسیون در شوری‌های شاهد، ۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر در گیاهان تلقیح شده، تغییر معنی‌داری نداشته است. اما با افزایش تنش شوری به ۲۰ و ۳۰ دسی‌زیمنس بر متر، به‌ترتیب ۱۴/۱ و ۱۲/۶ درصد نسبت به تیمار شاهد، کاهش معنی‌دار در کلونیزاسیون ریشه مشاهده می‌شود. درحالی که بین دو سطح شوری ۲۰ و ۳۰ دسی‌زیمنس بر متر اختلاف معنی‌دار نیست (شکل ۷).

نتایج نشان‌دهنده توانایی این قارچ در کلونیزه کردن ریشه گیاهان میزبان است به‌گونه‌ای که به وضوح انبوهی از ریسه‌های برون ریشه‌ای حاصل از رشد اسپورهای قارچ در سطح خارجی و بخش پوست ریشه و همچنین اندامک‌های کروی قارچ نیز در درون پوست ریشه مشاهده شده است. پژوهش‌ها نشان داده‌اند



شکل ۷. مقایسه میانگین اثر تنش شوری بر درصد کلونیزاسیون ریشه؛ ستون‌های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

Fig. 7. Mean comparisons effect of salinity stress on root colonization percentage; Columns with the same letters are not significantly different (LSD, $P < 0.05$).

که پس از تلقیح قارچ، اسپور قارچ *S. indica* قادر است که در سطح ریشه گیاهان کنگرفرنگی جوانه‌زده و در سطح ریشه گسترش یابد و تعداد ریشه را نسبت به گیاهان غیرآلوده افزایش دهد (۲۵). کاهش میزان توسعه قارچ *S. indica* را می‌توان به آثار منفی تنش شوری بر میزان فتوسنتز، کاهش عرضه کربن به قارچ و همچنین اثر بازدارندگی سدیم و کلر بر رشد میسیلیوم-های قارچ نسبت داد (۱۹).

نتیجه‌گیری

این آزمایش نشان داد که استفاده از قارچ اندوفیت *S. indica* در کشت گیاه کینوا در شرایط تنش شوری، آثار مثبتی بر شاخص-های رشدی و روابط آبی این گیاه داشته است. همچنین مشخص شد که تنش شوری یکی از عوامل اثرگذار بر شاخص‌های رشدی گیاه کینوا و نیز درصد کلونیزاسیون است که با افزایش تنش شوری، رشد گیاه و درصد کلونیزاسیون ریشه کاهش می‌یابد. مشخص شد که در هر سطح تنشی، شاخص‌های رشدی گیاه در تیمار قارچی بیشتر از تیمار بدون قارچی بودند. به‌طور کلی می‌توان گفت که قارچ *S. indica* با بهبود شرایط جذب آب، وضعیت تغذیه‌ای و احتمالاً آثار هورمونی، باعث افزایش تحمل گیاه کینوا به تنش شوری و بهبود وضعیت عمومی گیاه شده است؛ بنابراین می‌توان توصیه کرد که استفاده از قارچ *S. indica* به‌عنوان یک کود زیستی، علاوه بر کاهش آسیب‌های زیست‌محیطی، باعث افزایش رشد گیاه و در نتیجه کاهش آثار منفی ناشی از شوری (غلظت زیاد یون‌های سدیم و کلرید) در خاک‌ها بر رشد کینوا می‌شود. البته برای توصیه عملی این یافته‌ها به کشاورز، نیاز است این آزمایش‌ها در شرایط مزرعه نیز انجام شوند.

منابع مورد استفاده

1. Abo-Ghalia, H.H., Khalafallah, A.A. 2008. Responses of wheat plants associated with arbuscular mycorrhizal fungi to short-term water stress followed by recovery at three growth stages. *Journal of Applied Sciences Research* 4: 570–580.
2. Aliasgharzad, N., Neyshabouri, M.R., Salimi, G. 2006. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and *Bradyrhizobium japonicum* on drought stress of soybean. Biologia, Bratislava, 61Suppl 19: 324–328.
3. Aliyar, S., 2021. The effect of endophytic fungus *Piriformospora indica* on germination and growth of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) under salinity sterss conditions, MSc Thesis, Faculty of Agriculture, University of Tabriz. (in Persian)
4. Alizadeh A., 2004. Soil and Plant Water Relations. Imam Reza University Press, Mashhad. (in Persian)
5. Allison, L.E., Moodie, C.D., 1965. Chemical and microbiological properties. In: Black CA (ed). Methods of Soil

Analysis. Part 2, Chemical and Microbiogical Properties. ASA and SSSA, Madison, WI, pp. 1379–1396.
6. Azari, A., Modares Sanavi, S. A. M., Askari, H., Ghanati, F., Naji, A.M., Alizade, B. 2012. Effect of salinity stress on morphological and physiological of canola and turnip (*Brassica napus* and *B. rapa*). *Iranian Journal of Crop Science* 14(2): 121–135. (in Persian with English abstract)
7. Bacelar, E.A., Moutinho-Pereira, J.M., Gonçalves, B.C., Ferreira, H.F., Correia, C.M. 2007. Changes in growth, gas exchange, xylem hydraulic properties and water use efficiency of three olive cultivars under contrasting water availability regimes. *Environmental and Experimental Botany* 60(2): 183–192.
8. Cantrell, I.C., Linderman, R.G., 2001. Preioculation of lettuce and onion with VA mycorrhizal fungi reduces deleterious effects of soil salinity. *Plant and Soil* 233: 269–281.
9. Chartzoulakis, K., Klapaki G., 2000. Response of two greenhouse pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. *Journal of Horticultural Science* 86: 247–260.
10. Charzoulakis, K.S., Loupassaki, M.H., 1997. Effect of NaCl on germination, growth, gas exchange and yield of greenhouse eggplant. *Agricultural Water Management* 32: 215–225.
11. Copetta, A., Lingua, G., Berta, G., 2006. Effects of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs, and essential oil production in *Ocimum basilicum* L. var. Genovese. *Mycorrhiza* 16: 485–494.
12. Druege, U., Baltruschat, H., Franken, P., 2007. *Piriformospora indica* promotes adventitious root formation in cuttings. *Scientia Horticulturae* 112: 422–426.
13. FAO. 2012. Available online at: http//www.irc.fao.org/en/about-fao iyq.
14. 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
15. Ghabooli, M., Hosseini Salekdeh, Gh., Sepehri, M., 2015. The effect of mycorrhiza-like Fungi *Piriformospora indica* on some morphophysiological traits of rice under normal and drought stress conditions. *Plant Production Technology* 15(1). 59–69. (in Persian with English abstract)
16. Ghabooli, M., Shahriyari, F., Sepehri, M., Marashi, H., Hosseini Salekdeh, Gh., 2011. Effect of endophytic fungus *Piriformospora indica* on some properties of barley (*Hordeum vulgare* L.) under drought stress. *Journal of Agroecology* 3(3). 328–333. (in Persian with English abstract)
17. Glick, B.R., Changping, L., Ghosh, S., Dumbroff, E.B., 1997. Early development of canola seed lines in the presence of the plant growth promoting *rhizobacterium pseudomonas* putida GR. *Soil Biology and Biochemistry* 24: 1233–1239.
18. Gosal, S., Karlupia, A., Gosal, S., Chhibba, I., Varma, A., 2010. Biotization with *Piriformospora indica* and *Pseudomonas fluorescens* improves survival rate, nutrient acquisition, field performance and saponin content of micropropagated Chlorophytum sp. *India Journal of Biotechnology* 9: 289–297.
19. Hajiboland, R., Aliasgharzadeh, N., Farsad Laiegh, S.H., Poschenrieder, S.H., 2010. Colonization with arbuscular mycorrhizal fungi improves salinity tolerance of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. *Plant Soil* 313: 313–327. (in Persian with English abstract)
20. Hajinia, S., Zare, M.J., Mohammadi Goltapeh, E., Rejali, F., 2011. Investigating the efficacy of endophytic fungus *Piriformospora indica* and *Azospirillum* strains on alleviation of detrimental effect of salt stress on wheat (*Triticum aestivum* CV. Sardari). *Environmental Stresses in Crop Sciences*.4: 21–31. (in Persian with English abstract)
21. Hardie, K., Leyton, L.,1981. The influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza on growth and water relations of red clover in phosphate deficient soil. *New Phytologist* 89: 599–608.
22. Hariadi, Y., Marandon, K., Tian, Y., Jacobsen, S.E., Shabala, S., 2011. Ionic and osmotic relations in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) plants grown at various salinity levels. *Journal of Experimental Botany* 62(1): 185–193.
23. Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K., Bohnert, H.J., 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 51: 463–499.
24. Heidarianpour, M.B., Aliasgharzad, N., Olsson, P.A., 2020. Positive effects of co-inoculation with *Rhizophagus irregularis* and *Serendipita indica* on tomato growth under saline conditions, and their individual colonization estimated by signature lipids. *Mycorrhiza* 30: 455–466.
25. Hilal, M., Zenoff, A.M., Ponessa, G., Moreno, H., Massa, E.D., 1998. Saline stress alters the temporal patterns of xylem differentiation and alternative oxidative expression in developing soybean roots. *Journal of Plant Physiology* 117: 695–701.
26. Irigoyen, J.J., Emerich, D.W., Sanchez-Diaz, M., 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants. *Plant Physiology* 84: 55–60.
27. Jacobsen, S.E., Jensen, C.R., Liu, F., 2012. Improving crop production in the arid Mediterranean climate. *Field Crops Research* 128 (1): 34–47.
28. Jacobsen, S.E., Liu, F., Jensen, C.R., 2009. Does root-sourced ABA play a role for regulation of stomata under drought in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Scientia Horticulturae* 122 (2): 281–287.
29. Jacobsen, S.E., Monteros, C., Christiansen, J.L., Bravo, L.A., Corcuera, L.J., Mujica, A., 2005. Plant responses of

quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to frost at various phenological stages. *European Journal of Agronomy* 22: 131–139.
30. Jogawat, A., Saha, S., Bakshi, M., Dayaman, V., Kumar, M., Dua, M., Varma, A., Oelmüller, R., Tuteja, N., Kumar Johri, A., 2013. *Piriformospora indica* rescues growth diminution of rice seedling during high salt stress. *Plant Signaling and Behavior* 1: 1–20.
31. Kari Dolatabadi, H., Mohammadi Goltapeh, A., Moeini, A., Varma, A., 2012. Evaluation of different densities of auxin and endophytic fungi (*Piriformospora indica* and *Sebacina vermifera)* on peppermint (*Mentha piperita*) and thyme (*Thymus vulgaris*) in vitro. *Journal of Medicinal Plants* 2(9): 13–22. (in Persian with English abstract)
32. Karimi, F., Sepehri, M., Afyuni, M., Hajabbasi, M., 2015. Effect of endophytic fungus, *Piriformospora indica*, on barley resistance to lead. *JWSS–Isfahan University of Technology* 19 (71): 311–321. (in Persian with English abstract)
33. Karimi, G., Ghrbanli, M., Heidari, H., Asareh, M., 2007. Investigtion of salt tolerance mechanisms in range species of *atriplex verrucifera* (M.B). *Pajouhesh-Va-Sazandegi* 19(3): 42–48. (in Persian with English abstract)
34. Kaya, C., Higgs, D., Kirnak, H., 2001. The effects of high salinity (NaCl) and supplementary phosphorus and potassium on physiology and nutrition development of spinach. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 27(3–4): 47–59.
35. Khaldabrin B, Khogar Z., Mafton A., Maftoon M, 2003. The effect of salt stress and zinc application on some biochemical changes and tomato growth parameters. 27(1): 213–220. (in Persian with English abstract)
36. Klute, A. (Ed.), 1986. Method of Soil Analysis. Part 1, Physical and Mineralogical Methods. 2nd Ed. Agron. Monogr. ASA and SSSA, Madison, WI.
37. Kormanic, P.P., Graw, M.C., 1982. Methods and principles of mycorrhizal research. In: Schenck, N.C. (Ed.), Quantification of VA Mycorrhizae in Plant Roots. American Phytopathological Society, Saint Paul Minnesota, pp. 37–45.
38. Krishnamurti, T.N., Kishtawal, C.M., LaRow, T., Bachiochi, D., Zhang, Z., Williford, C.E., Gadgil, S., Surendran, S., 1999. Improved skill of weather and seasonal climate forecasts from multimodel superensemble. *Science* 285: 5433: 1548–1550.
39. Kumari, R., Kishan, H., Bhoon, Y.K., Varma, A., 2003. Colonization of cruciferous plants by *Piriformospopra indica*. *Current Science* 85: 1672–1674.
40. Levit, J., 1980. Response of Plants to Environmental Stresses. Vol. 2. Academic Press Inc.
41. Liu, C., Su, J.K., Hung, W.H., 1993. Studies of the physiological indicators of salt tolerance in grasses. *Acta Prataculturae Sinica* 2: 45–54.
42. Mir Mohammadi Meybodi, S.A.M., Qara Yazi, B., 2002. Physiological Aspects and Breeding for Salinity Stress in Plants. Isfahan University of Technology. (in Persian)
43. Mohamadi, R., 1380. Comparison of Phenotypic Characteristics of Infected and Endophytic Fungi-Free Plants in Two Populations Long Fescue and Range Fescue. MSc Thesis, College of Agriculture, Isfahan University of Technology. (in Persian)
44. Munns, R., Tester, M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59: 651–681.
45. Nelson, D.W., Sommers, L.E., 1982. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (Eds.), Methods of Soil Analysis. Part 2, Chemical and Microbiogical Properties. 2nd Ed. ASA and SSSA, Madison, WI, pp. 539–579.
46. Noori Akandi, Z., 2015. Effect of *Piriformospora indica* mycorrhiza-like fungi on salt tolerance of stevia (*Stevia rebaudiana* B.) medicinal plant in a controlled condition. MSc Thesis, Sari Agricultural Science and Natural Resources University, Sari, Iran. (in Persian with English abstract)
47. Norrif, I.R., Read, D.J., Varma, A.K., 1992. Method in Microbiology Techniques for Study of Mycorrhiza. Academic Press, London.
48. Olsen, S.R., Sommers, L.E., 1982. Phosphorus. In: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (Eds.), Methods of Soil Analysis. Part 2, Chemical and Microbiogical Properties. 2nd Ed. ASA and SSSA, Madison, WI, pp. 413–430.
49. Paul, E.A., Clark, F.E., 1989, Soil Microbiology and Biochemistry, Academic Press, San Diego.
50. Pilon-Smits, E., Pilon, M., 2002. Phytoremediation of metals using transgenic plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 21(5): 439–456.
51. Rabhi, M., Barhoumi, Z., Ksouri, R., Abdelly, C., Gharsalli, M., 2007. Interactive effects of salinity and iron deficiency in *Medicago ciliaris*. *Comptes Rendus Biologies* 330(11): 779–788.
52. Rabie, G.H., Almadini, A.M., 2005. Role of bioinoculants in development of salttolerance of *Vicia faba* plants under salinity stress. *African Journal of Biotechnology* 4: 210–222.
53. Rai, M., Acharya, D., Singh, A., Varma, A., 2001. Positive growth responses of the medicinal plants *Spilanthes calva* and *Withania somnifera* to inoculation by *Piriformospora indica* in a field trial. *Mycorrhiza* 11(3): 123–128.
54. Rai, M., Varma, A., 2005. Arbuscular mycorrhiza-like biotechnological potential of *Piriformospora indica*, which promotes the growth of *Adhatoda vasica*. *Journal of Biotechnology* 8: 107–111.
55. Rao, M.S.S., Mendham, N.J., 1991. Soil-plant-water relations of oilseed rape (*Brassica napusand B. campestris*). *The Journal of Agricultural Science* 117(2): 197–205.
56. Rejali, F., Mardoukhi, B., Malakouti, M.J., 2008. Evaluation of AM fungi effect on yield and yield component of

two wheat cultivars at different levels of salinity. *Iranian Journal of Soil and Water Research* 22(1): 82–95. (in Persian with English abstract)
57. Richards, L.A. (Ed.), 1954. Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils, USDA Handbook No. 60. US Department of Agriculture, Washington, DC, pp. 79–81.
58. Rivera-Becerril, F., Calantzis, C., Turnau, K., Caussanel, J.P., Belimov, A.A., Gianinazzi, S., Strasser, R.J. Gianinazzi-Pearson, V., 2002. Cadmium accumulation and buffering of cadmium-induced stress by arbuscular mycorrhiza in three *Pisum sativum* L. genotypes. *Journal of Experimental Botany* 53(371): 1177–1185.
59. Sarhangzadeh, A., 2009. The effect of sodium chloride salinity and flooding on soil chemical properties, growth and nutrition of corn. MSc Thesis, Faculty of Agriculture, University of Tabriz. (in Persian with English abstract)
60. Schenck, N.C., Perez, Y., 1988. Mannual for the Identification of VA Mycorrhizal Fungi. INVAM, 1453 Fifield Hall, University of Florid, Gainesville, Flo, USA. 241 p.
61. Sepehri, M., Saleh Rastin, N., Hosseini Salekdeh, G., Khayam Nekoe, M., 2009. Effect of endophytic fungus, *Piriformospora indica*, on growth and resistance of *Hordeum vulgare* L. to salinity stress. *Journal of Rangeland* 3(3): 508–518.
62. Shabala, S., Babourina, O., Newman, I., 2000. Ion-specific mechanisms of osmoregulation in bean mesophyll cells. *Journal of Experimental Botany* 51: 1243–1253.
63. Shackel, K.A., Ahmadi, H., Biasi, W., Buchner, R., Goldhamer, D., Gurusinghe, S., Hasey, J., Kester, D., Krueger, B., Lampinen, B., McGourty, G., Micke, W., Mitcham, E., Olson, B., Pelletrau, K., Philips, H., Ramos, D., Schwankl, L., Sibbett, S., Snyder, R., Southwick, S., Stevenson, M., Thorpe, M., Weinbaum, S., Yeager, J. 1997. Plant water status as an index of irrigation need in deciduous fruit trees. *Hort Technology* 7(1): 23–29.
64. Sherameti, I., Shahollari, B., Venus, Y., Altschmied, L., Varma, A., Oelmüller, R., 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* stimulates the expression of nitrate reductase and the starch-degrading enzyme glucan-water dikinase in tobacco and *Arabidopsis* roots through a homeodomain transcription factor which binds to a conserved motif in their promoters. *Journal of Biological Chemistry* 280: 2641–7.
65. Shirazi, S.S., Ronaghi, A.M., Gholami, A.S., Zahedifar, M., 2010. The influence of salinity and nitrogen on tomato fruit quality and micronutrients concentration in hydroponic culture. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture* 1(3): 11–22. (in Persian with English abstract)
66. Sinclair, T.R., Ludlow, M.M., 1985. Who taught plants thermodynamics? The unfulfilled potential of plant water potential. *Australian Journal of Plant Physiology* 12: 213–217.
67. Sirrenberg, A., Gobel, C., Grond, S., Czempinski, N., Ratzinger, A., Karlovsky, P., Santos, P., Feussner, I., Pawlowski, K., 2007. *Piriformospora indica* affects plant growth by auxin production. *Acta Physiologiae Plantarum* 131: 581–589.
68. Subramanian, K.S., Charest, C., 1999. Acquisition of N by external hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus and its impact on physiological responses in maize under drought-stressed and well-watered conditions. *Mycorrhiza* 9: 69–75.
69. Tabatabaeei, S.J., 2009. Principles of Mineral Nutrition of Plants. First Edition. Author's Publications, 389 p.
70. Teymouri, A., Jafari, M., 2010. The effects of salinity stress on some of anatomical and morphological characteristics in three *Salsola dendroides* Pall Salsola , Moq richteri Salsola S.C.G mel, Salsola rigida. *Iranian Journal of Range and Desert Research* 17(1(38)): 21–34.
71. Thomas, G.W., 1982. Exchangeable cations. In: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (Eds.), Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. 2nd Ed. Agron. Monogr. 9. ASA and SSSA, Madison, WI, pp. 159–165.
72. Vadassery, J., Ritter, C., Venus, Y., Camehl, I., Varma, A., Shahollari, B., Novak, O., Strnad, M., Ludwig-Muller, J., Oelmuller, R., 2008. The role of auxins and cytokinins in the mutualistic interaction between *Arabidopsis* and *Piriformospora indica*. *Molecular Plant-Microb interactions* 21(10): 1371–1383.
73. Varma, A., Savita, S., Sahay, N., Butehorn, B., Franken, P., 1998. *Piriformospora indica*, a cultivable plantgrowth-promoting root endophyte. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 2741–2744.
74. Varma, A., Singh, A., Sudha, Sahay, N., Sharma, J., Roy, A., Kumari, M., Rana, D., Thakran, S., Deka, D., Bharti, K., Franken, P., Hurek, T., Blechert, O., Rexer, K.H., Kost, G., Hahn, A., Hock, B., Maier, W., Walter, M., Strack, D., Kranner, I., 2001. *Piriformospora indica* an axenically culturable mycorrhiza-like endosymbiotic fungus. In: Hock, B. (Ed.), The Mycota, vol 9, Fungal Associations. Springer, Heidelberg, Germany, pp. 123–150.
75. Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Huckelhoven, R., Neumann, C., Wettstein, D. V., Franken, P., 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 of the United States of America* 102: 13386–13391
76. Weiss, M., Waller, F., Zuccaro, A., Selosse, M.A., 2016. Sebacinales one thousand and one interactions with land plants. *New Phytologist* 211: 20–40.
77. Yang, A., Akhtar, S.S., Amjad, M., Iqbal, S., Jacobsen, S.E., 2016. Growth and physiological responses of quinoa to

drought and temperature stress. *Journal of Agronomy and Crop Science* 202(6): 445–453.
78. YousefiRad, M., Noormohammadi, G., Ardakani, M., MajidiHervan, E., Mirhadi, S., 2009. Effect of mycorrhiza on morphological characteristics and nutrients content of barley under different salinity levels. *Journal of Agroecology* 5(3): 105–114.
79. Zarea, M. J., Hajinia, S., Karimi, N., Mohammadi Goltapeh, E., Rejali, F., Varma, A., 2012. Effect of *Piriformospora indica* and *Azospirillum* strains from saline or non-saline soil on mitigation of the effects of NaCl. *Soil Biology and Biochemistry* 45: 139–146. (in Persian with English abstract)

Effect of Salinity Stress on Growth Characteristics and Water Relations of Quinoa in Symbiosis with Endophytic Fungus *Serendipita indica*

S. Aliyar[1], N. Aliasgharzad*[1], Sh. Oustan[1] and A. Dabbagh Mohammadi Nasab[2]

(Received: 7 June 2021; Accepted: 15 September 2021)

Abstract

Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) is a plant with high nutritional value and growth potential, thus has a proper production in adverse environmental conditions. However, the enhancement of plant growth in these conditions could be achieved by different approaches. The use of endophytic microorganisms such as *Serendipita indica* fungus may help plant growth, especially under salt-stressed conditions. In this research, an experiment was performed using a factorial completely randomized design with three replications in a sterile sandy loam soil under greenhouse conditions. Experimental factors included two levels of *S. indica* (inoculation and non-inoculation) and salinity levels of 1.47 (initial electrical conductivity of soil), 5, 10, 20 and 30 dS/m which prepared by sodium chloride solution. The results showed that the interaction effect of salinity and fungal inoculation was significant for all measured characteristics ($P < 0.05$) except for proline. The inoculation of *S. indica* was able to increase the fresh weight of quinoa shoot by 18.5, 15.0, 39.4 and 45.4% compared to the non-inoculated treatment at salinity levels of 1.47, 5, 10 and 20 dS/m, respectively. The inoculation caused an increase in shoot fresh weight by 18% at initial electrical conductivity (5 dS/m), while a marked increase (~41%) was observed in inoculated plants compared to the no fungus treatment at EC level of 20 dS/m. The fungus increased the root weight by 12.9, 20.1 and 31.5% at salinity levels of 1.47, 5 and 10 dS/m compared to the non-fungal treatment, respectively. Compared to the non-fungal plants, the electrolyte leakage was significantly reduced in the inoculated plants at 10 dS/m. Fungal inoculation had pronounced effect on relative water content (RWC) of leaf at 5 dS/m and increased RWC by 23%, compared to the non-fungus treatment. Moreover, the increasing of salinity stress up to 30 dS/m reduced the percentage of root colonization by 19.9% compared to the non-fungus control. Overall, the application of *S. indica* significantly increased the biomass production of quinoa under salinity stress conditions.

Keywords: Salinity stress, *Serendipita indica*, Proline, Leaf water potential, Relative water content, Electrolyte leakage.

Background and Objective: One of the most important challenges in crop production around the world is the reduction of crop yield due to soil and water salinity. More than 7% of world's soils and about 97.5% of the world's waters are saline (2). Human activities have exacerbated these problems and strengthened the need for new methods to meet these challenges. One of these strategies is to grow salt-tolerant plants such as quinoa. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) is a plant with good nutritional values and higher potential for

1- Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
2- Department of Plant Eco-physiology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
* Corresponding Author, Email: n-aliasghar@tabrizu.ac.ir

growth and production in adverse environmental conditions. This annual plant is known as the mother of seeds, which has a strong root system and is resistant to drought and salinity stresses. Other solutions include biological methods. In this regard, the beneficial endophytic fungus, *S. indica* is one of the most important soil microorganism that increases the yield of host plant by improving their nutritional and physiological status especially under drought and salinity stresses conditions (3 and 4).

Methods: This study was conducted in greenhouse conditions to investigate the effect of salinity stress on growth characteristics and water relationships of quinoa in symbiosis with endophytic fungus *S. indica* in a sterile sandy loam soil. The experimental design was a factorial completely randomized with three replications. The experimental factors included fungal inoculation (inoculation and non-inoculation with the fungus) and salinity (NaCl) levels of 1.47 (initial electrical conductivity of soil), 5, 10, 20 and 30 dS/m.

Results: The results showed that the interaction effect of salinity and fungal inoculation was significant for all the measured traits ($P < 0.05$) except for proline. *S. indica* was able to increase the fresh weight of the shoot parts by 18.5, 15.0, 39.4 and 45.4% compared to the non-inoculated treatment at salinity levels of control, 5, 10 and 20 dS/m, respectively. The effect of *S. indica* on root fresh and dry weights was evaluated positively. Compared to the control treatment, the fungus increased root weight by 12.9, 20.1 and 31.5% at salinity levels of 1.47, 5 and 10 dS/m, respectively. The electrolyte leakage was significantly reduced in inoculated plants at salinity level of 10 dS/m. Application of *S. indica* had a positive effect on quinoa biomass production and has improved its growth under salinity stress conditions.

Conclusions: The endophytic fungus*, S. indica*, improved growth and water relation indices in quinoa plant under salinity stress conditions. Overall, it can be said that *S. indica* fungus has increased the tolerance of quinoa to salinity stress by increasing the water uptake, improving nutritional status and possibly hormonal effects in host plant. Therefore, *S. indica*, most likely could be used as a fungal biofertilizer for quinoa plant to alleviate salt stress and to improve its growth and yield under saline conditions. However, field trails are also needed to confirm our findings and recommend this endophytic fungus as a biofertilizer.

References:

1. Aliyar, S., 2021. The Effect of Endophytic Fungus *Piriformospora indica* on Germination and Growth of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) under Salinity Stress Conditions. MSc Thesis, Faculty of Agriculture, University of Tabriz. (in Persian with English abstract)
2. Hariadi, Y., Marandon, K., Tian, Y., Jacobsen, S.E., Shabala, S., 2011. Ionic and osmotic relations in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) plants grown at various salinity levels. *Journal of Experimental Botany* 62(1): 185–193.
3. Varma, A., Savita, S., Sahay, N., Butehorn, B., Franken, B., 1998. *Piriformos poraindica*, a cultivable plant growth-promoting root endophyte. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 2741–2744.
4. Weiss, M., Waller F., Zuccaro A., Selosse, M.A., 2016. Sebacinales one thousand and one interactions with land plants. *New Phytologist* 211: 20–40.