Archive of SID

زیست‌شناسی گیاهی ایران، سال هشتم، شماره بیست و نهم، پاییز ۱۳۹۵، صفحه ۱-۲۰
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۲/۲۸
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۵/۰۴/۰۴
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۵/۰۶/۲۸
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۰۶/۲۸

اثر همزیستی قارچ *Piriformospora indica* بر تحمّل به شوری و خشکی استویا (*Stevia rebaudiana*) در شرایط درون شیشه‌ای

فهیمه سراج، همت‌اله پیردشتی *، یاسر یعقوبیان و ولی‌اله قاسمی عمران
گروه زراعت، پژوهشکدهٔ ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ساری، ایران

چکیده

برای بررسی اثر همزیستی قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر برخی ویژگی‌های رویشی و فیزیولوژیک گیاه دارویی استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) در شرایط تنش هم‌زمان شوری و خشکی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار در آزمایشگاه کشت بافت پژوهشکدهٔ ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. عامل‌های آزمایش، سه سطح پتانسیل اسمزی (صفر، ۵- و ۱۰- بار)، سه منبع اسمزی NaCl (N)، مانیتول (M) و NaCl+ مانیتول (Na+M) و تیمار همزیستی قارچی در دو سطح بدون تلقیح و تلقیح قارچ *P. indica* بود که به مدّت یک ماه به گیاهچه‌ها اعمال شد و سپس صفات رویشی و فیزیولوژیک اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از تجزیهٔ واریانس نشان داد که برهم‌کنش سطوح، منبع اسمزی و همزیستی قارچی در بسیاری از صفات بررسی‌شده، معنی‌دار است. قارچ *P. indica* در سطح اسمزی ۵- بار با کاربرد مانیتول و ترکیب هم‌زمان دو منبع اسمزی (Na+M)، وزن خشک برگ (به‌ترتیب ۱۱۲ و ۱۵۶) و بخش هوایی (به‌ترتیب ۴۹ و ۱۴۴ درصد) را نسبت به شاهد افزایش داد. در مجموع، قارچ *P. indica* در بیشتر سطوح و منابع اسمزی مطالعه‌شده، رشد رویشی اندام‌های گیاهی را بهبود بخشید که بیشترین اثر مثبت آن در تنش خشکی ناشی از مانیتول و همچنین ترکیب هم‌زمان NaCl و مانیتول (Na+M) و به‌ویژه در تنش اسمزی متوسّط (۵- بار) مشاهده شد. بنابراین، نتایج این پژوهش، کارایی مثبت تلقیح قارچ *P. indica* در افزایش تحمّل گیاه دارویی استویا نسبت به تنش اسمزی بود.

واژه‌های کلیدی: قارچ اندوفیت، گیاه دارویی استویا، نشت الکترولیت، مانیتول، همزیستی قارچی، NaCl

مقدمه

تنش‌های محیطی از مهمترین عوامل تعیین‌کنندهٔ الگوی پراکنش گیاهی در سطح جهان و تنش‌های خشکی و شوری نیز به سهم خود تعیین‌کنندهٔ بخش درخورتوجّهی از این پراکنش هستند (Kafi *et al.*, 2009). کاهش فشار تورژسانس می‌تواند نخستین اثر

* نگارنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: h.pirdashti@sanru.ac.ir، شماره تماس: ۰۱۱۳۳۶۸۷۷۴۷

Copyright©2016, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

www.SID.ir

Archive of SID

ناشی از تنش خشکی باشد که سرعت رشد سلول و اندازهٔ نهایی آن را متأثّر کند و حسّاسترین فرایند سلولی به تنش است (Bhatt and Srinivasa-Rao, 2005). سازش گیاهان به تنش خشکی نتیجهٔ تغییر بسیاری از ساز و کارهای مورفولوژیک، فیزیولوژیک و زیست‌شیمیایی است که به تغییراتی در سرعت رشد گیاه، هدایت روزنه‌ای و سرعت فرایند فتوسنتز منجر می‌شود. توانایی گیاهان برای سازش به تنش‌های محیطی به نوع و شدّت تنش، مدّت تنش، گونهٔ گیاهی و همچنین مرحلهٔ وقوع تنش، بستگی دارد (Yordanov and Tsoev, 2000). در پاسخ به تنش شوری نیز رشد و عملکرد بیشتر گیاهان زراعی کاهش می‌یابد. به طوری که کاهش سطح برگ، سریعترین پاسخ گیاه به شوری است و با افزایش سطح شوری، توسعهٔ برگ‌ها متوقّف می‌شود(Parida and Das, 2005) . برخی پژوهشگران نظیر Sevengor و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که تیمار شوری، وزن اندام هوایی، ریشه و محتوای کلروفیل را در ژنوتیپ‌های کدو تنبل کاهش می‌دهد. این کاهش در ژنوتیپ‌های حسّاس به شوری بیشتر از ژنوتیپ‌های مقاوم بود. همچنین در آزمایشی روی سه گیاه دارویی زنیان، رازیانه و شوید مشاهده شد که با اعمال تنش خشکی و شوری، درصد و سرعت جوانه‌زنی هر سه گیاه کاهش می‌یابد که میزان کاهش در اثر تنش ناشی از پلی‌اتیلن‌گلایکول (PEG) شدیدتر از تنش شوری بود (Boromand Rezazadeh and kuchaki, 2005).

در حال حاضر با افزایش وسعت زمین‌های در معرض تنش شوری و خشکی در ایران و جهان با درنظرگرفتن روند روبه‌رشد جمعیت، همراه با کاهش و تخریب منابع آب و خاک، پژوهش در زمینهٔ گیاهان مقاوم به شرایط نامساعد محیطی اهمّیت دارد (Fallahi *et al.*, 2009; Nezami *et al.*, 2009). از این‌رو، روش‌های زیستی مبتنی بر استفاده از پتانسیل ریزجانداران مفید خاکزی در برقراری روابط همزیستی با گیاهان، راهکار مؤثّری در افزایش تحمّل گیاه به تنش‌های محیطی بیان شده است (Bohnert and Jensen, 1996) همزیستی میکوریزا یکی از مهمترین روابط همزیستی در عالم حیات است که در آن، ریشهٔ گیاه با قارچ به صورت یک واحد زنده فعّالیت می‌کنند و از یک‌دیگر سود می‌برند (Kirch *et al.*,2000). میکوریزایی‌شدن نه تنها رشد گیاه و جذب مواد معدنی را افزایش می‌دهد، بلکه ممکن است در شرایط خشکی، مقاومت بالایی را نیز به گیاه القا کند (Beltrano and Ronco, 2008). قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* به سبب داشتن ویژگی‌های بسیار مشابه با قارچ‌های میکوریزا، قارچ شبه میکوریزا نیز نامیده می‌شود (Oelmüller *et al.*, 2009). پژوهشگران مختلف اهمّیت این قارچ در بهبود تغذیهٔ گیاهان، افزایش تحمّل در برابر برخی بیماری‌ها و کاهش اثرهای منفی تنش خشکی و شوری را گزارش کرده‌اند (Kumar *et al.*, 2009, Waller *et al.*, 2005). برخی از محقّقان مانند Prasad و همکاران (۲۰۰۸) تأثیر *P. indica* را روی *Bacopa monniera* در شرایط درون شیشه‌ای ارزیابی و بیان کردند که رشد رویشی گیاهان تلقیح‌شده با قارچ به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. همچنین Varma و همکاران (۲۰۱۲) نیز نشان دادند که تلقیح استویا با قارچ *P. indica*، افزایش عملکرد رویشی در این گیاه را موجب می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

از طرف دیگر، استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) گیاه علفی متعلّق به خانوادهٔ گل ستاره (Asteraceae)، بومی مناطق شمالی آمریکای جنوبی، پاراگوئه و برزیل است (Mishra *et al.*, 2010). این گیاه، خاصیت ضد سرطان، ضد قند خون و بیماری‌های قلبی و عروقی دارد که این اثرات مفید به سبب حضور ترکیبات فنولی در این گیاه است که خاصیت گیرندگی رادیکال‌های آزاد را دارند (Goyal *et al.*, 2010). از این رو استویا از نظر اقتصادی و علمی بسیار اهمّیت دارد و کشت و کار آن در ایران نیز به‌تازگی آغاز شده است. هرچند که اطّلاعات شفافی دربارهٔ سطح کشت آن وجود ندارد، اما در ایران، بهترین مناطقی که شرایط محیطی مناسب برای پرورش استویا دارند، استان‌های گیلان و مازندران است. همچنین این گیاه در برخی شهرهای استان‌های فارس و اصفهان نیز کشت و بهره‌برداری می‌شود (Noori Akandi, 2015). از سوی دیگر یکی از تکنیک‌هایی که اهّمیت بسیار زیادی در بررسی مقاومت گیاهان به تنش‌های غیرزندهٔ محیطی و تجزیه و تحلیل ساز و کار تحمّل تنش در آن‌ها دارد، کشت گیاهان در شرایط درون شیشه‌ای است که این امکان را فراهم می‌کند که با شبیه‌سازی تنش و کنترل سایر عوامل تنش‌زای محیطی که در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای ممکن است بر نتایج آزمایش تأثیرگذار باشند، بتوان شرایط انتخاب، تجزیه و تحلیل و به طورکلّی واکنش ژنوتیپ‌های مختلف به تنش ایجادشده را با دقّت بیشتری بررسی کرد (Sayed Tabatabaei and Omidi, 2009). هرچند در شرایط طبیعی، همزیستی بین استویا و قارچ *P. indica* گزارش نشده است، ولی پژوهشگران (Noori Akandi, 2015; Kilam *et al.*, 2015) توانایی تلقیح استویای این قارچ و بهبود رشدی آن را به اثبات رسانده‌اند. بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر همزیستی قارچ *P. indica* بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه دارویی استویا در معرض تنش شوری و خشکی به طور جداگانه و همزمان در شرایط کنترل‌شده انجام شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در زمستان ۱۳۹۴ در آزمایشگاه کشت بافت پژوهشکدهٔ ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی، سه سطح پتانسیل اسمزی (صفر، ۵- و ۱۰- بار)، سه منبع اسمزی NaCl (N)، مانیتول (M) و NaCl+ مانیتول (Na+M) و تیمار همزیستی قارچی، دو سطح (بدون تلقیح و تلقیح قارچ اندوفیت *P. indica*) بود. برای محاسبهٔ مقدار NaCl و مانیتول برای هریک از سطوح شوری و خشکی به‌ترتیب از روش Poljakoff-mayber و همکاران (۱۹۹۴) و Pant و همکاران (۲۰۱۴) استفاده شد. برای تیمارهای ترکیب شوری و خشکی (NaCl+ مانیتول) نیز از پنجاه درصد مقادیر محاسبه‌شده برای هریک از آن‌ها استفاده شد.

قارچ *P. indica* از بخش کودهای زیستی و ریزنمونه‌های استویا از بخش کشت بافت پژوهشکدهٔ ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان تهیّه شد. قارچ *P. indica* در محیط کشت مایع کفر (Kaefer,

www.SID.ir

Archive of SID

(1977) و در دمای ۲۴ درجهٔ سانتیگراد به مدّت دو هفته کشت شد. برای فراهم‌کردن نمونه‌های گیاهی استفاده‌شده در این بررسی نیز ریزنمونه‌های جوانهٔ انتهایی به طول دو سانتیمتر از گیاهچه‌های رشدیافته در شرایط درون شیشه‌ای و استریل جداسازی و در محیط MS (Murashige and Skoog, 1962) کشت داده شدند. ریزنمونه‌ها در اتاق کشت با فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی و دمای ۲۵ درجهٔ سانتیگراد نگهداری شدند. پس از رشد و ریشه‌دهی گیاهان در مدّت ۱۴ روز، ریشهٔ این گیاهان در طول ۳۰ ثانیه با سوسپانسیون قارچ *P. indica* آغشته شد و در محیط کشت‌های دارندهٔ تیمارهای مختلف شوری و خشکی واکشت شد. گیاهچه‌ها یک ماه پس از رشد از محیط کشت خارج شد و صفات مورفولوژیک آن شامل ارتفاع بوته، قطر ساقه (با کولیس دیجیتالی مدل EGL-111-111، شرکت Guanglu، ژاپن)، تعداد برگ سبز، سطح برگ (با نرم‌افزار Digimizer نسخهٔ ۴/۱)، درصد برگ سبز و وزن تر و خشک اندام‌های رویشی یعنی ساقه، برگ، ریشه، بخش هوایی و کلّ بوته با ترازوی حسّاس با دقّت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. برای تعیین وزن خشک اندام‌های گیاهی، نمونه‌ها به مدّت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجهٔ سانتیگراد قرار گرفتند. همچنین صفات فیزیولوژیک شامل محتوای نسبی آب برگ (RWC) و نشت الکترولیت اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری RWC، یک برگ از آخرین برگ گسترش‌یافتهٔ گیاه برداشت و پس از توزین به لوله‌های آزمایش دارندهٔ آب مقطر منتقل و پس از ۲۴ ساعت وزن آماس برگ تعیین شد. سپس نمونه‌های برگی به مدّت ۴۸ ساعت در آون و در دمای ۷۰ درجهٔ سانتیگراد، خشک شد و محتوای رطوبت نسبی برگ‌ها با رابطهٔ ۱ به دست آمد (Schonfeld *et al.*, 1988).

رابطهٔ ۱: $RWC\ (\%) = (FW-DW)/(TW-DW)\times 100$

در این رابطه، RWC رطوبت نسبی برگ، FW وزن تر برگ، DW وزن خشک برگ و TW وزن برگ آماس‌یافته است.

برای اندازه‌گیری نشت الکترولیت، نمونهٔ برگی در لوله‌های آزمایش دربردارندهٔ ده میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفت. پس از گذشت ۲۴ ساعت، هدایت الکتریکی هر نمونه با دستگاه EC متر (مدل SyberScan CON 410، شرکت EUTECH، سنگاپور) اندازه‌گیری شد (EC_1). برای اندازه‌گیری میزان کلّ نشت الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، لوله‌های آزمایش به مدّت ۲۰ دقیقه در دستگاه بن‌ماری با دمای ۹۰ درجه قرار داده شد و مجدّداً هدایت الکتریکی نمونه‌ها ثبت شد (EC_2). سپس درصد نشت الکترولیت‌ها با رابطهٔ ۲ محاسبه شد (Teutonica *et al.*, 1993).

رابطهٔ ۲: $EL\ (\%) = (EC_1/EC_2)\times 100$

در این رابطه، EL میزان نشت الکترولیت و EC هدایت الکتریکی (واحد دسی زیمنس بر متر= ds/m) است.

در پایان، داده‌ها با نرم‌افزارهای آماری SAS نسخهٔ ۹/۱ (Soltani, 2012) و MSTATC، تجزیه و میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج

صفات مورفولوژیک

نتایج تجزیه و تحلیل میانگین مربّعات صفات مطالعه‌شده بیان می‌کند که سطوح اسمزی بر شاخص‌های ارتفاع بوته، تعداد برگ سبز و سطح برگ ($P \leq ۰/۰۱$) و منبع اسمزی نیز بر ارتفاع بوته، قطر ساقه ($P \leq ۰/۰۱$) و درصد برگ سبز ($P \leq ۰/۰۵$)، اثر معنی‌داری داشت. بر اساس نتایج، همزیستی با قارچ *P. indica* اثر معنی‌داری بر صفات تعداد برگ سبز و سطح برگ داشت. همچنین در بین صفات مطالعه‌شده، برهم‌کنش معنی‌داری بین سطوح و منبع اسمزی از نظر ارتفاع بوته و تعداد برگ سبز در سطح احتمال یک درصد و قطر ساقه در سطح احتمال پنج درصد مشاهده شد، اما از نظر درصد برگ سبز و سطح برگ، معنی‌داری وجود نداشت. برهم‌کنش سطوح اسمزی و همزیستی قارچی نیز اثر معنی‌داری بر قطر ساقه و سطح برگ نداشت، ولی اثر آن بر ارتفاع بوته ($P \leq ۰/۰۵$)، تعداد و درصد برگ سبز ($P \leq ۰/۰۱$) معنی‌دار بود. با توجّه به نتایج، اثر معنی‌داری در برهم‌کنش منبع اسمزی و همزیستی قارچی بر تمام صفات مورفولوژیک گیاه جز قطر ساقه مشاهده شد. از طرف دیگر، اثرات متقابل سطوح، منبع اسمزی و همزیستی قارچی نیز بر صفات ارتفاع بوته، تعداد و درصد برگ سبز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱).

جدول ۱- جدول تحلیل واریانس اثر سطوح، منبع اسمزی و قارچ *Piriformospora indica* بر صفات ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد برگ سبز، درصد برگ سبز و سطح برگ گیاه دارویی استویا

منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع بوته	قطر ساقه	تعداد برگ سبز	درصد برگ سبز	سطح برگ
سطوح اسمزی	۱	۵۶/۲۵**	۰/۲۳^{ns}	۱۷۶/۶۶**	۲۴/۰۱^{ns}	۲/۳۳**
منبع اسمزی	۲	۲/۵۸**	۰/۱۱**	۱/۴۹^{ns}	۸۵۵/۵۹*	۰/۱۵^{ns}
قارچ	۱	۲/۰۱^{ns}	۰/۰۰۰۰۴^{ns}	۱۱/۴۸*	۲۴/۳۲^{ns}	۱/۰۴**
سطوح × منبع	۲	۶/۳۳**	۰/۰۷*	۳۲/۹۹**	۶۷۹/۶۵^{ns}	۰/۴۳^{ns}
سطوح× قارچ	۱	۴/۶۹*	۰/۰۴^{ns}	۲۱/۳۹**	۱۷۶۱/۲۰**	۰^{ns}
منبع× قارچ	۲	۱۸/۸۶**	۰/۰۲^{ns}	۳۱/۲۸**	۸۴۸/۳۳*	۱/۰۷**
سطوح×منبع ×قارچ	۲	۱۲/۸۶**	۰/۰۴^{ns}	۳۸/۷۵**	۱۲۰۲/۴۰**	۰/۰۱^{ns}
خطای آزمایش	۲۸	۰/۷۲	۰/۰۲۰۹	۲/۶۸	۲۰۸/۱۱	۰/۰۹
ضریب تغییرات (درصد)	–	۱۲/۷۹	۱۶/۷۵	۱۲/۷۰	۱۶/۳۴	۲۰/۹۷

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد و ^{ns}، معنی‌دار نیست.

www.SID.ir

Archive of SID

بـر اسـاس نتـایج حاصـل از مقایسـهٔ میـانگین برهم‌کنش سـطوح و منبع اسـمزی، ارتفـاع بوتـه در تیمار شاهد (نبودن تلقیح) در کاربرد NaCl و مانیتول با افزایش سطوح اسمزی، از ۱۲/۵۰ (در سطح اسمزی صـفر) بـه‌ترتیـب بـه ۹ و ۹/۶۶ سـانتیمتر (در سـطح اسمزی ۵- بار) و به ۳/۶۶ و ۴/۵ سـانتیمتر (در سـطح اسمزی ۱۰- بار) کاهش یافت. با وجـود ایـن، میـزان این صفت در ترکیـب NaCl و مـانیتول (Na+M) بـا افزایش سـطوح اسـمزی تفـاوت معنـی‌داری نداشـت. مطـابق نتـایج در کـاربرد هـم‌زمـان NaCl و مـانیتول (Na+M)، تیمار تلقیح قارچ، افزایش معنی‌دار ارتفاع گیاه در مقایسه با ترکیب‌های تیماری بدون تلقـیح را موجب شد (جدول ۲). مطـابق یافتـه‌هـای مربـوط بـه برهم‌کنش سطوح، منبع اسـمزی و همزیسـتی قـارچی اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای تلقیح و بدون تلقیح برای صفت قطر ساقه مشاهده نشد و همـهٔ تیمارهـا در هر یک از منابع اسمزی در یـک گـروه آمـاری قـرار گرفتند. به نظر می‌رسد که تلقیح قارچ بر صفت قطـر ساقه تأثیری نداشته است (جدول ۲). از طرف دیگـر، تعداد بـرگ سـبز در تیمـار بـدون تلقـیح، بـا افـزایش شوری (NaCl) در سطح اسمزی ۵- و ۱۰- بار نسبت به شاهد به‌ترتیب حدود ۱۸ و ۵۸ درصد و با افـزایش خشکی (مـانیتول) بـه‌ترتیـب حـدود ۱۳ و ۴۴ درصـد کاهش یافت. همچنین، تعداد و درصد برگ سـبز در سـطح اسـمزی ۵- بـار در ترکیـب هـم‌زمـان NaCl و مـانیتول (Na+M) در تیمـار تلقـیح قـارچ بـه طـور معنی‌داری بیشتر از تیمـار بـدون تلقـیح (شـاهد) بـود. بـه‌طـوری کـه همزیسـتی قـارچ *P. indica*، تعـداد و درصد برگ سبز گیاه را در مقایسه با شاهد به‌ترتیـب حدود ۱۳۲ و ۱۰۹ درصد افزایش داد (جدول ۲). بـر پایـهٔ نتـایج مقایسـهٔ میـانگین، افـزایش سـطوح تـنش اسمزی از صفر تا ۵- و ۱۰- بار سـطح بـرگ بوتـه را به‌صورت معنی‌داری کاهش داد. با این حال در سطح اسمزی صـفر، تیمـار تلقـیح قـارچ، افـزایش معنـی‌دار سطح برگ گیاه در مقایسه با ترکیـب تیمـاری بـدون تلقیح (شاهد) را موجب شـد. همچنـین، میـزان سـطح برگ در ترکیب هم‌زمان NaCl و مـانیتول (Na+M) در سطوح ۵- و ۱۰- بار در تیمـار همزیسـتی قـارچی نسبت به شـاهد بـه‌ترتیـب حـدود ۱۴۴ و ۱۱۳ درصـد افزایش نشان داد (جدول ۲).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- مقایسهٔ میانگین برهم‌کنش سطوح، منبع اسمزی و قارچ *P. indica* (Pi) بر شاخص‌های ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد برگ سبز، درصد برگ سبز و سطح برگ گیاه دارویی استویا. (مقادیر، میانگین ۳ تکرار SE ± (یا StD یا انحراف معیار یا خطای معیار) است. حرف یا حروف یکسان در هر ستون، نشان‌دهندهٔ نداشتن اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P < 0.05$ است).

سطوح اسمزی	منبع اسمزی	قارچ	ارتفاع (سانتی‌متر)	قطر ساقه (میلی‌متر)	تعداد برگ سبز	درصد برگ سبز	سطح برگ (سانتی‌متر مربع)
صفر		-Pi	۱۲/۵۰^{a}±۰/۵۰	۱/۱۶۰^{a}±/۱۵	۱۸/۳۳^{a}±۰/۵۷	۱۰۰/۰۰^{a}±۰/۰۲	۲/۹۶^{b}±۰/۴۶
		+Pi	۱۲/۳۳^{a}±۰/۵۷	۱/۰۷^{abc}±۰/۱۲	۱۹/۰۰^{a}±۱/۰۲	۱۰۰/۰۰^{a}±۰/۰۴	۳/۹۵^{a}±۰/۸۵
-۵	Na	-Pi	۹/۰۰^{bc}±۲/۰۰	۰/۷۹۶^{cde}±۰/۰۶	۱۵/۰۰^{bc}±۱/۷۳	۹۵/۸۳^{a}±۷/۲۱	۱/۵۹^{c}±۰/۰۲
		+Pi	۵/۰۰^{def}±۰/۰۲	۰/۹۱۰$^{a-d}$±۰/۱۸	۱۷/۳۳^{ab}±۲/۵۱	۹۳/۳۶^{a}±۸/۸۶	۱/۲۲^{cd}±۰/۲۷
	M	-Pi	۹/۶۶^{b}±۰/۵۶	۰/۷۷۳^{de}±۰/۰۳	۱۶/۰۰^{ab}±۲/۰۰	۱۰۰/۰۰^{a}±۰/۰۵	۱/۷۰^{c}±۰/۱۵
		+Pi	۵/۸۳^{d}±۰/۵۸	۰/۸۲۶$^{b-e}$±۰/۲۹	۱۲/۳۳^{cd}±۲/۰۸	۸۵/۸۳^{ab}±۲/۲۳	۱/۵۲^{c}±۰/۲۱
	Na+M	-Pi	۴/۰۰^{efg}±۰/۰۳	۰/۶۷۰^{de}±۰/۰۳	۷/۳۳^{f}±۳/۰۵	۴۷/۷۶^{c}±۱۳/۴۷	۰/۶۱^{e}±۰/۱۵
		+Pi	۸/۰۰^{c}±۱/۳۲	۰/۸۰۰^{cde}±۰/۰۴	۱۷/۰۰^{ab}±۱/۰۰	۱۰۰/۰۰^{a}±۰/۰۴	۱/۴۹^{c}±۰/۰۳
-۱۰	Na	-Pi	۳/۶۶^{fg}±۰/۲۸	۱/۰۹^{ab}±۰/۰۲	۷/۶۶^{f}±۱/۵۲	۸۸/۵۶^{ab}±۱۰/۳۰	۰/۸۷^{de}±۰/۰۳
		+Pi	۳/۳۳^{g}±۰/۲۶	۰/۹۲$^{a-d}$±۰/۱۱	۹/۰۰^{ef}±۱/۰۱	۶۳/۰۰^{bc}±۴۷/۸۲	۰/۵۷^{e}±۰/۱۰
	M	-Pi	۴/۵$^{d-g}$±۰/۵۰	۰/۵۶۶^{e}±۰/۳۲	۱۰/۳۳^{def}±۱/۱۵	۱۰۰/۰۰^{a}±۰/۰۳	۰/۸۸^{de}±۰/۲۲
		+Pi	۴/۶۶$^{d-g}$±۰/۵۴	۰/۷۶۶^{de}±۰/۰۶	۹/۵^{def}±۰/۵۰	۹۵/۲۳^{a}±۸/۲۵	۰/۸۱^{de}±۰/۰۸
	Na+M	-Pi	۴/۸۳$^{d-g}$±۰/۲۷	۰/۹۵$^{a-d}$±۰/۰۳	۱۱/۶۶^{de}±۰/۵۷	۹۲/۱۰^{a}±۰/۳۴	۰/۶۳^{e}±۰/۰۶
		+Pi	۵/۵^{de}±۱/۵۰	۰/۷۸^{de}±۰/۰۱	۱۰/۲۵^{def}±۱/۷۵	۷۴/۱۰^{ab}±۱۱/۶۰	۱/۳۴^{cd}±۰/۳۱

وزن تر اندام‌های رویشی

نتایج حاصل از تجزیهٔ واریانس داده‌های مربوط به وزن تر اندام‌های رویشی نشان داد که اثر سادهٔ سطوح اسمزی بر تمام صفات پژوهش‌شده در سطح احتمال یک درصد، معنی‌دار بود. همچنین منبع اسمزی نیز بر وزن تر برگ، بخش هوایی و ریشه در سطح احتمال یک درصد، اثر معنی‌داری داشت، در حالی که بر وزن تر ساقه و کل، معنی‌دار نبود. از طرف دیگر، اثر معنی‌داری تنها از نظر وزن تر کل ($P \leq ۰/۰۱$)، در همزیستی با قارچ *P. indica* مشاهده شد. در این میان، برهم‌کنش سطوح و منبع اسمزی بر همهٔ صفات بررسی‌شده، معنی‌دار ($P \leq ۰/۰۱$) بود. با وجود این، برهم‌کنش معنی‌داری بین سطوح اسمزی و همزیستی قارچی از نظر صفات وزن تر اندام‌های رویشی مشاهده نشد. علاوه بر این، اثر متقابل منبع اسمزی و همزیستی قارچی بر وزن تر ریشه، اثر معنی‌داری نداشت، ولی اثر آن بر وزن تر ساقه، برگ، بخش هوایی و وزن تر کل در سطح احتمال یک درصد، معنی‌دار بود. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، اثر معنی‌داری در برهم‌کنش سطوح، منبع اسمزی و همزیستی قارچی در تمام صفات پژوهش‌شده ($P \leq ۰/۰۱$) مشاهده شد (جدول ۳).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- جدول تحلیل واریانس اثر سطوح، منبع اسمزی و قارچ *Piriformospora indica* بر صفات وزن تر ساقه، برگ، بخش هوایی، ریشه و کلّ گیاه دارویی استویا

منابع تغییر	درجهٔ آزادی	وزن تر ساقه	وزن تر برگ	وزن تر بخش هوایی	وزن تر ریشه	وزن تر کل
سطوح اسمزی	۱	۵۲۳۲/۱۱**	۹۸۶۷/۱۱**	۲۰۵۰۸/۶۲**	۱۱۳۳/۴۴**	۳۲۱۱۵/۶۲**
منبع اسمزی	۲	۳۶۶/۷۵ ns	۴۶۰۸/۳۳**	۳۷۰۸/۸۶**	۱۰۹۱/۵۸**	۴۶۷/۳۴ ns
قارچ	۱	۹۱/۲۶ns	۵۴۰/۰۰ ns	۱۱۱۵/۸۵ ns	۱۴۱/۰۶ ns	۹۱۲۰/۵۰**
سطوح× منبع	۲	۱۹۲۲/۶۹**	۱۰۸۳۲/۱۱**	۲۳۴۸۹/۲۸**	۵۴۲/۱۹**	۴۷۲۹۶/۴۷**
سطوح× قارچ	۱	۱۲۸/۴۴ ns	۱۳۲۰/۱۱ns	۱۵۳۷/۲۷ ns	۹/۰۰ ns	۴۹۶/۹۱ ns
منبع× قارچ	۲	۲۶۲۱/۸۶**	۲۴۲۴/۷۷**	۸۳۰۰/۱۳**	۴۳/۸۶ ns	۱۳۵۰۱/۳۲**
سطوح×منبع× قارچ	۲	۱۴۶۱/۳۶**	۴۱۷۸/۱۱**	۸۴۱۰/۳۸**	۱۰۰۸/۵۸**	۱۱۷۴۸/۱۹**
خطای آزمایش	۲۸	۱۹۳/۰۲	۴۰۹/۸۸	۸۸۹/۸۷	۷۸/۲۶	۸۸۹/۱۵
ضریب تغییرات (درصد)	–	۲۱/۳۲	۱۴/۷۱	۱۴/۷۴	۲۲/۲۴	۱۲/۶۴

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد و ns، معنی‌دار نیست.

نتایج مقایسهٔ میانگین داده‌ها (جدول ۴) نشان داد که با افزایش سطوح اسمزی، وزن تر اندام‌های هوایی گیاه استویا شامل وزن تر ساقه، برگ، ریشه، بخش هوایی و کلّ بوته کاهش نشان داد که میزان کاهش آن در تیمار خشکی ناشی از مانیتول نسبتاً بیشتر بود. به‌طوری که در تیمار بدون همزیستی، افزایش تنش اسمزی ناشی از مانیتول از صفر به ۱۰-، بار وزن تر ساقه، برگ، بخش هوایی و کلّ بوته را نسبت به سطح صفر به‌ترتیب حدود ۶۹، ۵۵، ۶۰ و ۸۳ درصد کاهش داد (جدول ۴). بر اساس یافته‌ها، اختلاف معنی‌داری در سطح اسمزی صفر بین تیمارهای بدون تلقیح (شاهد) و تلقیح قارچ برای صفت وزن تر ساقه مشاهده نشد. در حالی که در سطح اسمزی ۵- بار در کاربرد همزمان NaCl و مانیتول (Na+M)، تیمار تلقیح قارچ، افزایش معنی‌دار و حدود ۱۱۷ درصدی این صفت را در مقایسه با تیمار بدون تلقیح موجب شد. از طرف دیگر در سطح اسمزی صفر، نتایج اثر همزیستی قارچی بیان‌کنندهٔ بهبود شایان توجّه وزن تر برگ، بخش هوایی و کلّ بوته در گیاهچه‌های همزیست با قارچ نسبت به گیاهچه‌های شاهد بود. این افزایش برای وزن تر برگ، بخش هوایی و کلّ بوته نسبت به شاهد به‌ترتیب حدود ۱۳، ۱۷ و ۱۸ درصد بود (جدول ۴). همچنین در سطح اسمزی ۵- بار و در ترکیب هم‌زمان NaCl و مانیتول (Na+M)، وزن تر اندام‌های رویشی در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ *P. indica* بیشتر از گیاهان تلقیح‌نشده با قارچ بود؛ به‌طوری که این افزایش برای وزن تر برگ، بخش هوایی و کلّ بوته به‌ترتیب حدود ۸۹، ۱۰۳ و ۱۲۰ درصد بود (جدول ۴). همچنین در سطح ۵- بار در کاربرد هم‌زمان NaCl و مانیتول (Na+M)، وزن تر ریشه نیز در تأثیر همزیستی قارچی قرار گرفت و افزایش حدود ۱۷۱ درصدی را نسبت به شرایط بدون همزیستی نشان داد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴- مقایسهٔ میانگین برهم‌کنش سطوح، منبع اسمزی و قارچ *P. indica* (Pi) بر شاخص‌های وزن تر ساقه، برگ، بخش هوایی، ریشه و کل گیاه دارویی استویا. (مقادیر، میانگین ۳ تکرار SE ± (یا StD یا انحراف معیار یا خطای معیار) است. حرف یا حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهندهٔ نبودن اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P<0.05$ است).

سطوح اسمزی	منبع اسمزی	قارچ	وزن تر ساقه	وزن تر برگ	وزن تر بخش هوایی	وزن تر ریشه	وزن تر کل
			(میلی‌گرم در بوته)				
صفر		-Pi	۱۳۳/۰۰^{a}±۱/۰۲	۲۱۷/۰۰^{b}±۱/۰۲	۳۵۰/۰۰^{b}±۰/۰۲	۶۶/۳۳^{ab}±۱۸/۴۷	۴۱۶/۰۰^{b}±۳۱/۰۰
		+Pi	۱۴۷/۰۰^{a}±۶/۰۸	۲۶۴/۶۶^{a}±۸/۰۲	۴۱۱/۰۰^{a}±۴۸/۹۵	۷۸/۳۳^{a}±۱۲/۵۰	۴۹۰/۰۰^{a}±۵۸/۵۰
-۵	Na	-Pi	۱۰۶/۰۰^{b}±۳۶/۰۱	۱۷۸/۶۶^{c}±۱۳/۲۰	۲۵۸/۰۰^{c}±۲۷/۰۰	۲۹/۰۰^{de}±۲/۰۰	۲۸۷/۰۰^{c}±۲۹/۰۰
		+Pi	۳۹/۶۶^{def}±۲/۵۱	۱۰۹/۶۶^{de}±۷/۵۰	۱۴۹/۰۰^{de}±۵/۰۰	۱۶/۳۳^{e}±۳/۷۸	۱۶۷/۰۰^{ef}±۹/۰۰
	M	-Pi	۷۹/۰۰^{c}±۸/۰۰	۱۶۳/۶۶^{c}±۱۶/۵۰	۲۳۴/۰۰^{c}±۰/۰۴	۴۲/۰۰^{cd}±۱۰/۰۰	۲۸۶/۰۰^{c}±۰/۰۳
		+Pi	۷۵/۰۰^{c}±۱۶/۰۰	۱۹۸/۶۶^{bc}±۴۲/۵۰	۲۷۳/۶۶^{c}±۵۸/۵۰	۲۹/۳۳^{de}±۱۰/۹۶	۳۱۱/۰۰^{c}±۶۹/۰۰
	Na+M	-Pi	۲۸/۰۰^{ef}±۱۰/۰۰	۵۹/۰۰^{f}±۱۰/۰۰	۸۷/۰۰^{f}±۲۰/۰۰	۱۵/۰۰^{e}±۰/۰۲	۱۰۲/۰۰^{gh}±۲۰/۰۰
		+Pi	۶۰/۶۶^{cd}±۸/۵۰	۱۱۱/۶۶^{de}±۱/۵۲	۱۷۷/۰۰^{d}±۰/۰۵	۴۰/۶۶^{cd}±۶/۴۲	۲۲۴/۰۰^{d}±۱/۰۳
-۱۰	Na	-Pi	۴۵/۰۰^{def}±۱۶/۰۹	۱۱۸/۶۶^{d}±۵/۵۰	۱۶۱/۰۰^{d}±۲۱/۰۰	۲۰/۰۰^{e}±۸/۰۰	۱۸۱/۰۰^{def}±۲۹/۰۰
		+Pi	۳۷/۰۰^{def}±۷/۹۳	۱۱۱/۰۰^{de}±۱۳/۲۲	۱۴۸/۰۰^{de}±۲۱/۱۶	۳۱/۳۳^{de}±۶/۳۵	۱۷۹/۳۳^{def}±۱۶/۲۵
	M	-Pi	۴۱/۳۳^{def}±۱۴/۰۴	۹۷/۶۶^{de}±۴۸/۵۰	۱۳۹/۵^{de}±۶۲/۵۰	۳۱/۰۰^{de}±۱۰/۰۰	۶۹/۵۰^{h}±۱۸/۵۰
		+Pi	۲۳/۳۳^{f}±۲/۸۸	۷۴/۶۶^{ef}±۱/۵۲	۹۷/۰۰^{ef}±۴/۰۰	۴۰/۶۶^{cd}±۶/۸۰	۱۴۵/۰۰^{fg}±۹/۰۰
	Na+M	-Pi	۴۳/۰۰^{def}±۱۸/۰۲	۱۲۲/۰۰^{d}±۵/۵۶	۱۷۴/۵۰^{d}±۱۰/۵۰	۶۵/۶۶^{ab}±۶/۵۰	۲۲۳/۰۰^{d}±۰/۰۴
		+Pi	۵۴/۰۰^{cde}±۴/۰۰	۹۸/۶۶^{de}±۲۵/۸۹	۱۷۲/۲۵^{d}±۲۳/۷۵	۵۱/۰۰^{bc}±۵/۰۰	۲۲۰/۷۵^{de}±۲۱/۲۵

وزن خشک اندام‌های رویشی

با توجّه به جدول تحلیل واریانس داده‌های وزن خشک اندام‌های رویشی گیاه استویا (جدول ۵)، اثر سادهٔ سطوح و منبع اسمزی به جز وزن خشک ساقه در سایر صفات مربوط به وزن خشک اندام‌های رویشی شامل وزن خشک برگ، بخش هوایی، ریشه و کلّ بوته اثر معنی‌داری ($P \leq ۰/۰۱$) داشت. از سوی دیگر، اثر معنی‌داری در همزیستی با قارچ *P. indica* بر صفات وزن خشک بخش هوایی و کلّ بوته مشاهده شد. اثر متقابل سطوح و منبع اسمزی نیز بر تمام صفات بررسی‌شده در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود.

همچنین برهم‌کنش سطوح اسمزی و همزیستی قارچی بر وزن خشک برگ، بخش هوایی و وزن خشک کلّ بوته اثر معنی‌داری داشت. بر پایهٔ نتایج به‌دست‌آمده، اثر معنی‌داری در برهم‌کنش منبع اسمزی و همزیستی قارچی بر وزن خشک اندام‌های رویشی گیاه به جز وزن خشک ریشه مشاهده شد. همچنین در بین صفات پژوهش‌شده، اثر متقابل سطوح، منبع اسمزی و همزیستی قارچی بر وزن خشک ساقه در سطح احتمال پنج درصد و بر وزن خشک برگ، بخش هوایی و کلّ بوته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۵).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵ - جدول تحلیل واریانس اثر سطوح، منبع اسمزی و قارچ *Piriformospora indica* بر وزن خشک ساقه، برگ، بخش هوایی، ریشه و کلّ گیاه دارویی استویا

منابع تغییر	درجهٔ آزادی	وزن خشک ساقه	وزن خشک برگ	وزن خشک بخش هوایی	وزن خشک ریشه	وزن خشک کل
سطوح اسمزی	۱	۹/۰۰^{ns}	۳۲۴/۰۰**	۲۳۰/۰۲**	۳۵/۰۰**	۹۳۵/۳۴**
منبع اسمزی	۲	۱۰/۰۹^{ns}	۲۹۳/۱۷**	۴۴۵/۵۲**	۳۵/۱۳**	۸۵۱/۵۲**
قارچ	۱	۱۰/۴۱^{ns}	۱۰۴/۰۱^{ns}	۱۲۰/۴۱**	۱/۲۰^{ns}	۳۱۵/۱۰**
سطوح× منبع	۲	۵۴/۳۹**	۴۴۲/۸۹**	۳۸۶/۳۶**	۹/۲۱**	۷۶۲/۷۱**
سطوح× قارچ	۱	۴/۰۰^{ns}	۳۰۶/۲۵**	۱۸۲/۲۵**	۱/۱۷^{ns}	۵۰۲/۵۰**
منبع× قارچ	۲	۱۶/۳۴*	۲۳۰/۳۸**	۱۷۹/۸۶**	۰/۰۴^{ns}	۳۶۲/۱۳**
سطوح×منبع×قارچ	۲	۱۱/۸۱*	۱۷۷/۹۳**	۱۵۶/۲۵**	۳/۹۶^{ns}	۳۴۶/۵۴**
خطای آزمایش	۲۸	۳/۳۸	۲۸/۷۲۶	۱۱/۹۲	۱/۵۸	۳۸/۳۲
ضریب تغییرات (درصد)	-	۲۵/۱۳	۲۴/۸۴	۱۱/۸۶	۲۵/۵۳	۱۷/۶۲

* و ** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد و ns، معنی‌دار نیست.

بر طبق نتایج، وزن خشک اندام‌های رویشی شامل وزن خشک ساقه، برگ، ریشه، بخش هوایی و کلّ بوته با افزایش سطوح اسمزی، کاهش یافت که این کاهش در تنش شوری (Na) بیشتر بود. در تیمار شاهد با افزایش غلظت NaCl در سطح ۱۰- بار وزن خشک ساقه، برگ، ریشه، بخش هوایی و کلّ بوته نسبت به سطح صفر به‌ترتیب حدود ۵۵، ۶۰، ۶۶، ۶۴ و ۶۹ درصد کاهش نشان داد (جدول ۶). با وجود این، همزیستی با قارچ اندوفیت *P. indica* در سطح اسمزی صفر، وزن خشک ساقه را نسبت به شاهد حدود ۳۹ درصد بهبود بخشید (جدول ۶). در سطح اسمزی ۵- بار با کاربرد مانیتول و ترکیب هم‌زمان دو منبع اسمزی (Na+M)، تیمار همزیستی قارچی، افزایش چشمگیر وزن خشک برگ و بخش هوایی را نسبت به شرایط بدون تلقیح (شاهد) موجب شد؛ به طوری که این افزایش برای وزن خشک برگ به‌ترتیب حدود ۱۱۲ و ۱۵۶ درصد و برای وزن خشک بخش‌هوایی به‌ترتیب حدود ۴۹ و ۱۴۴ درصد بود (جدول ۶). وزن خشک ریشه نیز در ترکیب هم‌زمان دو منبع (Na+M) در سطح اسمزی ۵- بار در تأثیر همزیستی قارچی قرار گرفت (جدول ۶). همچنین در سطح اسمزی ۵- بار، میزان وزن خشک کل در کاربرد مانیتول و ترکیب هم‌زمان NaCl و مانیتول (Na+M) در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ، افزایش چشمگیری نسبت به گیاهان تلقیح‌نشده نشان دادند؛ به‌طوری که این افزایش به‌ترتیب حدود ۹۴ و ۱۰۳ درصد بود (جدول ۶).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۶- مقایسهٔ میانگین برهم‌کنش سطوح، منبع اسمزی و قارچ *P. indica* (Pi) بر شاخص‌های وزن خشک ساقه، برگ، بخش هوایی، ریشه و کلّ گیاه دارویی استویا. (مقادیر، میانگین ۳ تکرار SE ± (یا StD یا انحراف معیار یا خطای معیار) است. حرف یا حروف یکسان در هر ستون، بیان‌کنندهٔ نبودن اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P<0.05$ است).

سطوح اسمزی	منبع اسمزی	قارچ	وزن خشک ساقه	وزن خشک برگ	وزن خشک بخش هوایی	وزن خشک ریشه	وزن خشک کل
			(میلی‌گرم در بوته)				
صفر		–Pi	۱۲/۵۰^{b}±۰/۵۰	۳۶/۶۶^{b}±۳/۵۰	۵۶/۰۰^{a}±۳/۰۰	۶/۵۰^{b}±۰/۵۰	۶۶/۰۰^{a}±۰/۰۳
		+Pi	۱۷/۳۳^{a}±۳/۲۱	۳۶/۰۰ ^{b}±۱۲/۴۸	۶۰/۰۰^{a}±۱/۰۲	۶/۳۳ ^{b}±۱/۵۲	۶۶/۳۳^{a}±۱۳/۷۹
۵-	Na	–Pi	۷/۵۰^{de}±۱/۵۰	۱۹/۶۶^{cd}±۲/۵۱	۲۴/۶۶ ^{de}±۳/۷۸	۳/۰۰^{ef}±۱/۰۰	۲۷/۶۶^{bcd}±۲/۸۸
		+Pi	۳/۰۰^{f}±۱/۰۰	۱۲/۳۳^{de}±۱/۱۵	۱۵/۳۳^{gh}±۲/۰۸	۳/۰۰^{ef}±۱/۰۰	۱۹/۰۰^{d}±۰/۰۳
	M	–Pi	۸/۵۰^{cd}±۱/۵۰	۲۲/۰۰^{cd}±۰/۰۲	۳۲/۰۰ ^{c}±۰/۰۴	۵/۶۶ ^{bcd}±۱/۵۴	۳۶/۰۰^{bc}±۰/۰۲
		+Pi	۱۱/۰۰^{bc}±۴/۵۸	۴۶/۶۶^{a}±۱۲/۸۵	۴۷/۶۶^{b}±۹/۲۹	۶/۰۰^{bc}±۰/۰۲	۷۰/۰۰^{a}±۰/۰۴
	Na+M	–Pi	۳/۰۰^{f}±۰/۰۲	۹/۰۰^{e}±۰/۰۴	۱۲/۰۰^{h}±۰/۰۲	۷/۰۰^{b}±۰/۰۴	۱۹/۰۰^{d}±۰/۰۳
		+Pi	۶/۳۳^{def}±۱/۱۵	۲۳/۰۰^{c}±۴/۰۰	۲۹/۳۳^{cd}±۵/۰۳	۹/۳۳^{a}±۱/۱۵	۳۸/۶۶^{b}±۱۷/۴۷
۱۰-	Na	–Pi	۵/۶۶^{def}±۲/۵۱	۱۴/۵^{cde}±۰/۵۰	۱۹/۰۰^{efg}±۱/۰۸	۲/۳۳^{f}±۱/۵۰	۲۰/۵۰^{d}±۱/۵۰
		+Pi	۴/۳۳ ^{ef}±۰/۵۵	۱۳/۰۰^{cde}±۱/۰۰	۱۷/۳۳^{fgh}±۱/۵۲	۳/۳۳^{def}±۱/۵۲	۲۰/۶۶^{d}±۲/۳۰
	M	–Pi	۴/۳۳^{ef}±۰/۵۷	۱۴/۰۰^{cde}±۳/۴۶	۲۳/۰۰^{def}±۰/۰۳	۳/۵۰^{def}±۲/۵۰	۲۴/۰۰^{d}±۰/۰۲
		+Pi	۴/۰۰ ^{ef}±۰/۰۴	۱۵/۵۰^{cde}±۰/۵۰	۲۱/۳۳^{efg}±۱/۱۵	۴/۰۰$^{c-f}$±۱/۰۰	۲۵/۰۰^{cd}±۰/۰۳
	Na+M	–Pi	۸/۰۰^{cd}±۱/۰۰	۲۱/۶۶^{cd}±۲/۵۱	۲۵/۰۰^{de}±۱/۰۰	۵/۰۰$^{b-e}$±۱/۰۲	۳۰/۰۰^{bcd}±۰/۰۲
		+Pi	۷/۰۰^{de}±۱/۰۵	۱۸/۰۰^{cde}±۵/۰۰	۲۵/۰۰^{de}±۴/۵۸	۴/۰۰$^{c-f}$±۱/۰۴	۲۹/۰۰^{bcd}±۵/۰۰

صفات فیزیولوژیک

بر اساس جدول تحلیل واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات فیزیولوژیک (جدول ۷)، اثر سادهٔ سطوح اسمزی تنها بر محتوای آب نسبی برگ در سطح یک درصد معنی‌دار بود؛ در حالی که منبع اسمزی بر نشت الکترولیت و محتوای آب نسبی برگ، اثر معنی‌داری داشت. همچنین اثر معنی‌داری در همزیستی قارچی بر صفت نشت الکترولیت ($P \leq ۰/۰۱$) مشاهده شد. بر پایهٔ نتایج، برهم‌کنش سطوح و منبع اسمزی بر صفات فیزیولوژیک یادشده اثر معنی‌دار($P \leq ۰/۰۱$) داشت؛ در حالی که اثر متقابل سطوح اسمزی و همزیستی قارچی بر صفات یادشده، معنی‌دار نبود. همچنین اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر نشت الکترولیت در برهم‌کنش منبع اسمزی و همزیستی قارچی مشاهده شد، ولی برهم‌کنش سطوح، منبع اسمزی و همزیستی قارچی بر صفات فیزیولوژیک معنی‌دار نبود.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۷- جدول تحلیل واریانس اثر سطوح، منبع اسمزی و قارچ *Piriformospora indica* بر صفات نشت الکترولیت و محتوای آب نسبی گیاه دارویی استویا

منابع تغییر	درجهٔ آزادی	نشت الکترولیت	محتوای آب نسبی برگ
سطوح اسمزی	۱	۰/۰۴^{ns}	۹۱۵/۵۶**
منبع اسمزی	۲	۸۶/۴۵**	۳۶۸/۴۵**
قارچ	۱	۴۰۲/۷۴**	۲۰۸/۱۳^{ns}
سطوح × منبع	۲	۱۸۲/۰۰**	۸۴۵/۰۲**
سطوح × قارچ	۱	۱۴/۰۵^{ns}	۸۲/۸۴^{ns}
منبع × قارچ	۲	۱۹۰/۲۶**	۷۳/۰۸^{ns}
سطوح × منبع × قارچ	۲	۱۲/۸۳^{ns}	۵۶/۶۲^{ns}
خطای آزمایش	۲۸	۱۳/۷۶	۶۰/۱۹
ضریب تغییرات (درصد)	–	۴/۴۸	۱۷/۵۲

* و ** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد و ^{ns}، معنی‌دار نیست.

بر اساس نتایج حاصل از مقایسهٔ میانگین صفات فیزیولوژیک (جدول ۸) در تیمار نبودن همزیستی با افزایش سطوح اسمزی از صفر تا ۱۰- بار، میزان نشت الکترولیت در تیمار خشکی (مانیتول) افزایش یافت؛ به طوری که در سطح ۱۰- بار نسبت به سطح صفر، میزان این صفت افزایش ۳۷ درصدی نشان داد. همچنین با افزایش سطوح اسمزی در تنش شوری (Na) و خشکی (مانیتول)، درصد نشت الکترولیت در گیاهچه‌های همزیست‌شده نسبت به گیاهچه‌های شاهد کاهش پیدا کرد (جدول ۸). از سوی دیگر با کاربرد مانیتول در تیمار بدون تلقیح، محتوای آب نسبی برگ در سطح اسمزی ۵- بار نسبت به شاهد حدود ۴۶ درصد کاهش یافت؛ در حالی که میزان این صفت با افزایش سطوح اسمزی، تفاوت معنی‌داری با سطح صفر نداشت (جدول ۸).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۸- مقایسهٔ میانگین برهم‌کنش سطوح، منبع اسمزی و قارچ *P. indica* (Pi) بر شاخص‌های نشت الکترولیت و محتوای آب نسبی برگ گیاه دارویی استویا. (مقادیر، میانگین ۳ تکرار SE ± (یا StD یا انحراف معیار یا خطای معیار) است. حرف یا حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهندهٔ نبودن اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P<0.05$ است).

سطوح اسمزی	منبع اسمزی	قارچ	نشت الکترولیت	محتوای آب نسبی برگ (درصد)
صفر		-Pi	۶۹/۱۷^{gh}±۱/۸۲	۴۵/۰۵^{ab}±۶/۳۲
		+Pi	۶۳/۰۳^{h}±۱/۷۷	۴۹/۳۷^{ab}±۸/۴۸
-۵	Na	-Pi	۹۵/۸۶^{a}±۰/۷۴	۵۵/۵۲^{a}±۸/۸۱
		+Pi	۸۷/۳۹ ^{cd}±۲/۲۳	۳۸/۱۹ ^{b}±۱۱/۷۶
	M	-Pi	۸۹/۰۸^{bcd}±۱/۶۵	۲۴/۳۷^{c}±۰/۶۲
		+Pi	۷۸/۶۱ ^{ef}±۳/۷۶	۲۳/۵۸ ^{c}±۲/۸۹
	Na+M	-Pi	۷۹/۵۱^{ef}±۵/۰۰	۵۲/۳۸^{ab}±۰/۰۲
		+Pi	۸۲/۴۲^{de}±۴/۳۶	۳۸/۴۶^{b}±۹/۸۱
-۱۰	Na	-Pi	۹۰/۷۳^{abc}±۴/۵۹	۵۵/۹۳^{a}±۸/۵۶
		+Pi	۷۵/۰۴ ^{fg}±۲/۸۴	۴۸/۱۲^{ab}±۱/۰۸
	M	-Pi	۹۴/۸۸^{ab}±۱/۲۷	۵۵/۰۶^{a}±۰/۰۳
		+Pi	۸۴/۸۹ ^{cde}±۱/۷۱	۵۰/۴۵^{ab}±۸/۹۳
	Na+M	-Pi	۸۲/۸۰^{de}±۷/۵۳	۴۲/۴۴^{ab}±۱۵/۹۴
		+Pi	۸۴/۹۷^{cde}±۵/۴۱	۴۱/۰۲^{ab}±۱/۰۸

بحث

کاهش رشد، اصلیترین اثر تنش‌های غیرزیستی مانند شوری و خشکی است. با توجّه به جدول (۲) با افزایش سطوح اسمزی، تیمارهای خشکی (مانیتول) و شوری (NaCl)، کاهش تعداد برگ سبز گیاه استویا را موجب شدند. نتایج این پژوهش با یافته‌های El-Hendawy و همکاران (۲۰۰۵) مبنی بر کاهش برخی از ویژگی‌های رشدی از جمله تعداد برگ و افزایش شوری در گندم مطابقت دارد. بر اساس یافته‌ها، قارچ *P. indica* در بین منابع اسمزی در ترکیب همزمان NaCl و مانیتول (Na+M) در مقایسه با سایر منابع اسمزی در صفات مورفولوژیک استویا اثر بیشتری داشت. Feng و همکاران (۲۰۰۲) بیان کردند که قارچ‌های همزیست به صورت مستقیم همانند بهبود تغذیهٔ گیاهان از طریق جذب عناصر غذایی و همچنین افزایش جذب آب توسّط گیاه و غیرمستقیم همانند کاهش تنش‌های غیرزیستی (شوری و خشکی) افزایش رشد گیاه میزبان را سبب می‌شوند. Jogawat و همکاران (۲۰۱۳)، اثر مفید قارچ *P. indica* بر افزایش رشد گیاهان را در شرایط تنش شوری در برنج و Sherameti و همکاران (۲۰۰۵) اثر آن را در تنش خشکی در گیاه آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana* L.) گزارش کردند. این قارچ، دامنهٔ وسیعی از گیاهان میزبان را دارد که با تشکیل کلنی در ریشهٔ آن‌ها، تحریک شدید رشد میزبان‌های خود را سبب می‌شود و به صورت داخل سلولی و بین سلولی رشد می‌کند و با تولید

www.SID.ir

Archive of SID

کلامیدوسپورهای گلابی شکل در کورتکس، ریشهٔ کلنی تشکیل می‌دهند، اما به حمله‌کردن به قسمت‌های داخلی بافت‌های ریشه قادر نیستند (Das *et al.*, 2012). افزایش تعداد برگ در همزیستی با قارچ‌های میکوریزا در گیاهان ذرّت (Amerian *et al.*, 2001) و ریحان (Copetta *et al.*, 2006) نیز گزارش شده است. نتایج سایر پژوهش‌ها نیز بیان‌کنندهٔ این موضوع است که قارچ *P. indica* ضمن بهبود تحمّل تنش‌های زیستی و غیرزیستی (Ruize-Lozano, 2003; Kari Dolatabadi *et al.*, 2012)، افزایش رشد رویشی و عملکرد گیاهان را سبب می‌شود (Oelmüller *et al.*, 2009). قارچ *P.indica* با جذب بیشتر مواد غذایی برای گیاه، تحمّل آن را در شرایط تنش خشکی، شوری و درجهٔ حررات، بالا می‌برد و همچنین با القای مقاومت سیستمیک به گیاه، آن را در مقابل عوامل بیماری‌زا، حشرات و فلزات سنگین مقاوم می‌کند (Serfling *et al.*, 2007).

طبق جدول (۲) افزایش پهنای برگ در گیاهچه‌های همزیست‌شده نسبت به شاهد با افزایش سطوح اسمزی در ترکیب هم‌زمان دو منبع اسمزی (Na+M) مشاهده شد. در همین زمینه، Rai و Varma (۲۰۰۵) و Rai و همکاران (۲۰۰۱) بیان کردند که گیاهان تلقیح‌شده با قارچ *P. indica* نسبت به شاهد در مجموع، برگ‌های پهنتری تولید کرده‌اند. افزایش پهنای برگ در واقع به افزایش میزان کلروفیل، بازده فتوسنتزی برگ و سرانجام، افزایش عملکرد اندام رویشی منجر می‌شود. همچنین مطابق با نتایج پژوهش حاضر، Rai و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که طول ریشه و ساقه و اندازهٔ سطح برگ در گیاهان دارویی *Spilanthes calva* و *Withania somnifera* در حضور قارچ *P. indica* افزایش می‌یابد. نتایج بررسی تأثیر قارچ *P. indica* در گیاه جو نشان داد که قارچ باعث افزایش ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک و همچنین افزایش مقاومت گیاهان تلقیح‌شده به تنش شوری و خشکی می‌شود (Waller *et al.*, 2005; Ghabooli *et al.*, 2011). بر اساس نتایج (جدول ۴)، میزان کاهش وزن تر اندام‌های رویشی با افزایش سطوح اسمزی در تیمار خشکی ناشی از مانیتول نسبتاً بیشتر بود. این نتایج با یافته‌های پژوهش Amobeigi و Razavizadeh (۲۰۱۳) مبنی بر کاهش معنی‌دار وزن تر اندام هوایی و ریشهٔ کلزا نسبت به گیاهان شاهد در تنش خشکی با مانیتول مطابقت دارد. به نظر می‌رسد یکی از علّت‌های کاهش وزن و رشد رویشی گیاه در تنش خشکی، کاهش فتوسنتز و در نتیجه کاهش تولید مادهٔ خشک در طول دورهٔ کم‌آبی است (Nayyar and Gupta, 2006). از طرف دیگر، طبق (جدول ۴) همزیستی قارچی در سطح اسمزی ۵- بار در ترکیب هم‌زمان دو منبع NaCl و مانیتول (Na+M)، بهبود قابل توجّه وزن تر اندام‌های هوایی در مقایسه با گیاهان تلقیح‌نشده را موجب شد. در این راستا، Sirrenberg و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند که قارچ *P. indica* مقداری اکسین (IAA) در محیط کشت مایع تولید می‌کند که افزایش رشد گیاه را سبب می‌شود. در پژوهش‌های پیشین، قارچ‌های میکوریزا در دورهٔ تنش خشکی با بهبود پتانسیل آب برگ (Ladjal *et al.*, 2005)، افزایش سرعت دی‌اکسیدکربن (Amerian and Griffiths, 2001) و افزایش میزان جذب آب در واحد زمان (Kothari *et al.*, 1990) اثرات تنش خشکی در گیاه را کاهش دادند. همچنین Baltruschat

www.SID.ir

Archive of SID

و همکاران (۲۰۰۸) افزایش رشد و تحمّل گیاه جوی همزیست‌شده با قارچ *P. indica* را در تنش شوری گزارش کرده است. اثرات مثبت همزیستی شبه‌میکوریزایی در رشد رویشی و عملکرد گیاه می‌تواند به سبب بهبود جذب فسفر و افزایش جذب آب با هیف‌های قارچی و همچنین افزایش تراکم و طول ریشهٔ گیاه به‌ویژه در شرایط تنش خشکی باشد (Abo-Ghalia and Khalafallah, 2008).

نتایج (جدول ۶) نشان داد که با افزایش سطوح اسمزی در تنش شوری (NaCl)، کاهش وزن خشک اندام‌های رویشی تقریباً بیشتر بود. بر اساس مطالعات Meybodi Mirmohammadi و Ghareyazi (۲۰۰۲)، کاهش وزن اندام هوایی علاوه بر کاهش فتوسنتز به کاهش هدایت روزنه‌ای، تجمّع Na و Cl در اندام‌ها و یا تخریب ساختمان کلروپلاست مرتبط است. از سوی دیگر با افزایش غلظت مانیتول در تیمار بدون همزیستی، وزن خشک کل با افزایش سطوح اسمزی کاهش یافت. نتایج این آزمایش با پژوهش Ghahari و همکاران (۲۰۱۵) مبنی بر کاهش وزن خشک برگ استویا در شرایط تنش خشکی ناشی از مانیتول مطابقت دارد. نتایج مطالعات Nasr Esfahani (۲۰۱۳) نشان داد میزان وزن خشک ساقه، ریشه و وزن خشک کل سه نوع نخود در تنش خشکی اعمال‌شده با PEG 6000 به طور معنی‌داری کاهش یافت که این کاهش مشاهده‌شده در شاخص‌های رشدی می‌تواند به علّت کاهش سرعت فتوسنتز در شرایط تنش خشکی باشد که آن نیز به بسته‌شدن روزنه‌ها یا کاهش سطح برگ در پاسخ به تنش خشکی نسبت داده می‌شود. در پژوهش‌های دیگر نیز پژوهشگران وزن خشک گیاه را در جایگاه شاخص تحمّل به تنش‌هایی نظیر خشکی و شوری استفاده کرده‌اند (Shannon and Grieve, 1998; Cramer *et al.*, 1990) در این پژوهش نیز از وزن خشک اندام هوایی و ریشه به صورت معیاری برای بررسی میزان تحمّل گیاه مورد بررسی به تنش خشکی و شوری و مقایسه آن‌ها استفاده شد که نتایج، نشان‌دهندهٔ حساسیت گیاه استویا نسبت به تنش شوری و خشکی بود. علاوه بر این، نتایج اندازه‌گیری وزن خشک اندام هوایی و ریشه، بیان‌کنندهٔ اهمّیت ارتباط همزیستی قارچ *P.indica* با گیاه استویا و تحریک رشد آن است. در همین زمینه، بررسی‌های Laei و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد که همزیستی گیاه سورگوم با قارچ میکوریزا، افزایش وزن خشک ساقه را به دنبال داشت. در پژوهش‌های قبلی، Ghabooli و همکاران (۲۰۱۵) اثر مثبت این قارچ را در افزایش مقدار وزن خشک اندام هوایی و ریشهٔ گیاه برنج در شرایط تنش خشکی، گزارش کرده‌اند. همچنین، Hajinia و همکاران (۲۰۱۱) بهبود معنی‌دار رشد و میزان زیست‌تودهٔ تر و خشک اندام‌های هوایی را در گیاهان گندم تلقیح‌شده با قارچ *P.indica* و سویه‌های مختلف باکتری آزوسپیریلوم نسبت به گیاهان شاهد در تنش شوری بیان کردند. بر اساس نظر Kari Dolatabadi و همکاران (۲۰۱۲) تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین و سیتوکنین می‌تواند در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ *P.indica*، افزایش وزن خشک اندام هوایی گیاهان را موجب شود. در همین زمینه، نتایج Verma و همکاران (۱۹۹۸) نیز نشان‌دهندهٔ افزایش زیست‌تودهٔ قسمت‌های هوایی و ریشهٔ گیاهان تلقیح‌شده با قارچ به میزان دو برابر نسبت به گیاهان شاهد بود. همچنین، Kapoor و

www.SID.ir

Archive of SID

همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که تلقیح ریشه‌های شوید و زنیان با دو گونه قارچ میکوریز، افزایش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی آن‌ها را سبب می‌شود. بر اساس پژوهش‌های Ghabooli و همکاران (۲۰۱۵) قارچ *P. indica* با ارتقای سطح جذب از طریق میسیلیوم‌های خود، فراهمی آب و عناصر را برای گیاه افزایش می‌دهد و بهبود میزان فتوسنتز، تولید قندها و مواد ذخیره‌ای را موجب می‌شود و در نتیجه رشد اندام هوایی و ریشه‌ها افزایش می‌یابد.

به نظر می‌رسد تنش‌های محیطی از طریق ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن در داخل سلول، کاهش پایداری غشا و افزایش نشت مواد سیتوپلاسمی از آن را موجب شده است و در نتیجه افزایش نسبت نشت الکترولیت را به دنبال دارد (Azari *et al*., 2012). مطابق جدول (۸) در صورتی که در سطوح مختلف تنش اسمزی، قارچ *P. indica*، کاهش درصد نشت الکترولیت را موجب شود با افزایش تنش خشکی، درصد نشت الکترولیت افزایش می‌یابد. در این راستا، Noori Akandi (۲۰۱۵) نشان داد که در سطوح پایین و متوسّط شوری (حدود صفر تا ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl) شاخص نشت الکترولیت در گیاه استویای تلقیح‌شده با قارچ *P. indica* نسبت به گیاهان تلقیح‌نشده کاهش یافت که نشان‌دهندهٔ افزایش مقاومت غشایی گیاهان تلقیح‌شده در برابر تنش شوری است. همچنین، Pak Nezhad و همکاران (۲۰۰۵) بیان کردند که کاهش محتوای آب نسبی و بسته‌شدن روزنه‌ها، نخستین تأثیر تنش خشکی بوده است که از طریق اختلال در سیستم ساخت مواد فتوسنتزی، کاهش میزان عملکرد را موجب می‌شود که این نتایج ارائه‌شده در پژوهش حاضر را تأیید می‌کند.

جمع‌بندی

در مجموع، نتایج نشان‌دهندهٔ کاهش رشد رویشی گیاه استویا با افزایش سطوح تنش اسمزی بود. از سوی دیگر واکنش صفات بررسی‌شده نسبت به منابع اسمزی متفاوت بود؛ به طوری که وزن تر اندام‌های رویشی، حسّاسیت بیشتری نسبت به تنش خشکی ناشی از مانیتول نشان داد، ولی در صفات مورفولوژیک و وزن خشک اندام‌های گیاهی تفاوت آشکاری از نظر منبع اسمزی مشاهده نشد. قارچ *P. indica* نیز در بیشتر سطوح و منابع اسمزی بررسی‌شده، رشد رویشی اندام‌های گیاهی را بهبود بخشید که بیشترین اثر مثبت آن در تنش خشکی ناشی از مانیتول و همچنین ترکیب هم‌زمان NaCl و مانیتول (Na+M) و به‌ویژه در تنش اسمزی متوسّط (۵- بار) مشاهده شد. علاوه بر این در شرایط تنش شوری (Na) و خشکی (مانیتول)، قارچ *P. indica* کاهش نشت الکترولیت نسبت به تیمار شاهد را ایجاد و از آسیب بیشتر به گیاه جلوگیری کرد که می‌تواند ناشی از افزایش جذب آب ریشه و افزایش مقاومت غشایی سلولی در اثر همزیستی *P. indica* باشد. این نتایج، نشان‌دهندهٔ اهمّیت ارتباط همزیستی قارچ *P. indica* با گیاه استویا و تحریک رشد آن در شرایط تنش شوری و خشکی است.

سپاسگزاری

در این جا از پژوهشکدهٔ ژنتیک و زیست‌فناوری طبرستان و دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به خاطر حمایت‌های مالی برای انجام این پژوهش، سپاس‌گزاری می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

Abo-Ghalia, H. H. and 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.

Amerian, W. S. and Griffiths, H. (2001) Effect of two species of arbuscula mycorrhizal fungi on growth, assimilation and leaf water relations in maize (*Zea mays*). Aspects of Applied Biology 63: 71-76.

Amobeigi, M. and Razavizadeh, R. (2013) Effect of drought stress and Paclobutrazol on the accumulation of flavonoids and minerals in canola (*Brassica napus* L.) in vitro conditions. Iranian of Journal Plant EcophysiologIical Research 8(31): 12-22.

Azari, A., Modares Sanavi, S. A. M., Askari, H., Ghanati, F., Naji, A. M. and 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).

Baltruschat, H., Fodor, J., Harrach, B. D., Niemczyk, E., Barna, B., Gullner, G., Janeczko, A., Kogel, K. H., Schafer, P. and Schwarczing Aer, I. (2008)Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. New Phytologist 180: 501–510.

Bohnert, H. J. and Jensen, R. G. (1996) Strategies for engineering water stress tolerance in plants. Trends in Biotechnology 14: 89- 97.

Beltrano, J. and Ronco, M. G. (2008) Improved tolerance of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to drought stress and rewatering by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum*: effect on growth and cell membrane stability. Brazilian Society of Plant Physiology 20(1): 29-37.

Bhatt, R. M. and Srinivasa-Rao, N. K. (2005) Influence of pod load on response of okra to water stress. Indian Journal of Plant Physiology 10: 54-59.

Boromand Rezazadeh, Z. and Kuchaki, A. (2005) Germination response of ajowan, fennel and dill to osmotic potential of sodium chloride and polyethylene glycol 6000 in different temperature regimes. Iranian Journal of Field Crop Research 3(2): 207-217 (in Persian). Copetta, A., Lingua, G. and Bert, G. (2006) Effect of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs and essential oil production in *Ocimum basilicum* L. var Genovese. Mycorrhiza 16(7): 485- 494.

Cramer, G. R., Epstein, E. and Lauchli, A. (1990) Effects of sodium, potassium and calcium on salt stressed barley. I. Growth analysis. Physiologia Plantarum 80: 83-88.

Das, A., Kamal, S., Shakil Najam, A., Sherameti, I., Oelmu¨ller, R., Dua, M., Tuteja, N., Johri Atul, K. and Varma, A. (2012) The root endophyte fungus *Piriformospora indica* leads to early flowering, higher biomass and altered secondary metabolites of the medicinal plant Coleus forskohlii. Plant Signaling and Behavior 7:1–10.

El-Hendawy, S. E., Yuncai, H., Yakoutb, G. M., Awad, A. M., Hafiz, S. E. and Schmidhalter, U. (2005) Evaluating salt tolerance of wheat genotypes using multiple parameters. European Journal of Agronomy 22: 243–253.

Fallahi, J., Ebadi, M. T. and Ghorbani, R. (2009) The effects of salinity and drought stresses on germination and seedling growth of clary. Environmental Strees of Agriculture Science. 1(1): 57-67 (in persian).

Feng, G., Li, X. L., Zhang, F. S., Tian, C. Y. and Tang, C. (2002) Improved tolerance of maize plant to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of solouble sugars in roots. Mycorrhiza 12: 185-190.Ghahari, M., Kahrizi, D. and Bahrami, Gh. R. (in press). Effect of

www.SID.ir

Archive of SID

mannitol on some morphological characteristics of *in vitro Stevia rebaudiana* Bertoni. Biharean Biologist. (Online first).151415.

Ghabooli, M., Shahriyari, F., Sepehri, M., Marashi, H. and 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).

Ghabooli, M., Hosseini Salekdeh, Gh. and 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).

Goyal, R., Samsher, K. and Goyal, S. K. (2010) Stevia (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: a review. International Journal of Food Sciences and Nutrition 61(1): 1–10.

Hajinia, S., Zare, M. J., Mohammadi Goltape, A. and Rejali, F. (2011) Effect of *Piriformospora indica* fungi and *Azospirillum* Sp. Bacteria on salt tolerance of wheat (*Triticum aestivum* cv. Sardary). Journal of Environmental Stress Crop Science 4(1): 21-31 (in persian).

Jogawat, A., Saha, S., Bakshi, M., Dayaman, V., Kumar, M., Dua, M., Varma, A., Oelmüller, R., Tuteja, N. and Kumar Johri, A. (2013) Piriformospora indica rescues growth diminution of rice seedling during high salt stress. Plant Signaling and Behavior 1: 1-20.

Kaefer, E. (1977) Meiotic and mitotic recombination in Aspergillus and its chromosomal aberrations. Advances in Genetics 19: 33–131.

Kafi, M., Borzooei, A., Salehi, M., Kamandi, A., Masoomi, A. and Nabati, J. (2009) Envirmental stresses in plant physiology. Jahade Daneshgahi Press. Mashhad (in persian).

Kapoor, R., Giri, B. and Mukerji, G. (2002) Mycorrhization of coriander (*Coriandrum sativum* L.) to enhance the concentration and quality of essential oil. Journal of the Science of Food and Agriculture 82: 339 - 42.

Kari Dolatabadi, H., Mohammadi Goltapeh, A., Moeini, A. and Varma, A. (2012) Evaluate the effect of different concentrations of auxin and 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).

Kilam, D., Saifi, M., Abdin, M. Z., Agnihotri, A. and Varma, A. (2015) Combined effects of *Piriformospora indica* and *Azotobacter chroococcum* enhance plant growth, antioxidant potential and steviol glycoside content in *Stevia rebaudiana*. Symbiosis 66(3): 149-156.

Kirch, H. H., Vera-Estrella, R., Golldack, D., Quigley, F., Michalowski, C. B., Barkla, B. J. and Bohnert, H. J. (2000) Expression of water channel proteins in Mesembryanthemum crystallinum. Plant Physiology 123: 111-124.

Kumar, M., Yadav, V., Tuteja, N. and Johri, A. K. (2009) Antioxidant enzyme activities in maize plants colonized with *Piriformospora indica*. Microbiology 155: 780-790 (in Persian).

Kothari, S. K., Marschner, H. and George, E. (1990) Effect of VA mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms on root and shoot morphology, growth, and water relations of maize. New Phytologist 116: 303-311.

Ladjal, M., Huc, R. and Ducrey, M. (2005) Drought effects on hydraulic conductivity and xylem vulnerability to embolism in diverse species and provenances of Mediterranean cedars. Tree Physiology 25: 1109 –1117.

www.SID.ir

Archive of SID

Laei, Gh., Khajehzadeh, M. H., Afshari, H., Ebadi, A. Gh. and Abbaspour, H. (2011) Effect of mycorrhiza symbiosis on the NaCl salinity in *Sorghum bicolor*. African Journal of Biotechnology 10: 7796-7804.

Mishra, P. K., Singh, R., Kumar, U. and Prakash, V. (2010) *Stevia rebaudiana* - A magical sweetener. Global Journal of Biotechnology and Biochemistry 5: 62-74.

Mirmohammadi Meybodi, S. A. M. and Ghareyazi, B. (2002) Physiological aspects and breeding of salinity stress in plants. Esfahan University of Technology Press, Esfahan (in Persian).

Murashige, T. and Skoog, F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. Plant Physiology 15: 437-497.

Nasr Esfahani, M. (2013) Effect of dry stress on growth and antioxidant system in three chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. Iranian Journal of Plant Biology 5(15): 111-124 (in persian).

Nezami, A., Nabati, J., Kafi, M. and Mohseni, M. (2009) Evaluation of salinity tolerance at emergence and seedling stages of kochia under control environment. Environmental Stress of Agriculture Science 1(1): 69-77 (in persian).

Noori Akandi, Z. (2015) Effect of *Piriformospora indica* mycorrhiza-like fungi on salt tolerance of stevia (*Stevia rebaudiana* B.) medicinal plant in a controlled conditions. MSc thesis, Sari Agricultural Science and Natural Resources University, Sari, Iran (in persian).

Nayyar, H. and Gupta, D. (2006) Differential sensitivity of C3 and C4 plants to water deficit stress: Association with oxidative stress and antioxidants. Environmental and Experimental Botany 58:106 –113.

Oelmüller, R., Sherameti, I., Tripath, S. and Varma, A. (2009) *Piriformospora indica*, a cultivable root endophyte with multiple biotechnological applications. Symbiosis 19: 1-19.

Paknezhad, F., Vazan, S., Majidi Harvan, E., NoorMohammadi, Gh. and Siadat, S. A. (2005) Effect of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters, chlorophyll content and grain yield wheat varieties. Iranian Journal of Agriculture Science 37(3): 481-492 (in persian).

Parida, A. K. and Das, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. Ecotoxicology and Environmental Safety 60: 324-349.

Poljakoff mayber, A., Somers, G. F., Werker, E. and Gallagher, J. I. (1994) Seeds of *Kosteletzkya virginica* (Malvaceae), their structure, germination and salt tolerance. American Journal of Botany 81:54-59.

Pant, N., Agrrawal, R. and Agrrawal, S. (2014) Mannitol-induced calli of *Trigonella foenum-graecum* L. Var. RMt-303. Indian Journal of Experimental Biology 52: 1128-1137.

Prasad, R., Bagde, U. S., Puspangadan, P. and Varma, A. (2008) *Bacopa monniera* L.: pharmacological aspects and study involving *Piriformospora indica*. International Journal of Integrative Biology 3(2): 100-10.

Rai, M., Acharya, D., Singh, A. and 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.

Rai, M. and Varma, A. (2005) Arbuscular mycorrhiza-like biotechnological potential of *Piriformospora indica*, which promotes the growth of Adhatoda vasica Nees. Electronical Journal of Biotechnology 8: (1) 107-112.

Ruize-Lozano, J. M. (2003) Arbuscular mycorrhiza symbiosis and alleviation of osmatic stress. New Perspective for Molecular Studies. Mycorrhiza 13: 309-317.

www.SID.ir

Archive of SID

Sayed Tabatabaei, B. E. and Omidi, M. (2009) Plant cell and tissue culture. Univercity of Tehran Press, Tehran (in Persian).

Sevengor, S., Yasar, F., Kusvuran, S. and Ellialtioglu, S. (2011) The effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidative enzymes of pumpkin seedling. African Journal of Agriculture Reserch 6(21): 4920-4924.

Serfling, A., Wirsel, S. G., Lind, V. and Deising, H. B. (2007) Performance of the biocontrol fungus *Piriformospora indica* on wheat under greenhouse and field conditions. Phytopathology 97: 523-531.

Sirrenberg, A., Gobel, C., Grond, S., Czempinski, N., Ratzinger, A., Karlovsky, P., Santos, P., Feussner, I. and Pawlowski, K. (2007) Piriformospora indica affects plant growth by auxin production. Physiologia Plantarum 131: 581 –589.

Sherameti, I., Shahollari, B., Venus, Y., Altschmied, L., Varma, A. and 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.

Shannon, M. and Grieve, C. (1998) Tolerance of vegetable crops to salinity. Scientia Horticulture 78: 5-38.

Schonfeld, M. A., Johnson, R. C., Carver, B. and Morhinweg, D. W. (1988) Water relation in winter wheat as drought resistance indicator. Crop Science 28: 526-531.

Soltani, A. (2012) Application and using of SAS program in statistical analysis. Jahade Daneshgahi Press, Mashhad, (in Persian).

Teutonica, R. A., Palta, J. P. and Osborn, T. C. (1993) *In vitro* freezing tolerance in relation to winter survival of rapeseed cultivars. Crop Science 33: 103-107.

Varma, A., Bakshi, M., Lou, B., Hartmann, A. and Oelmuller, R. (2012) *Piriformospora indica*: a novel plant growth-promoting mycorrhizal fungus. Review. NAAS (National Academy of Agricultural Sciences). Agricultural Research 1(2): 117–131.

Verma, S., Varma, A., Rexer, K. H., Hassel, A., Kost, G., Sarbhoy, A., Bisen, P., Bütehorn, B. and Franken, P. (1998) *Piriformospora indica*, a new root-colonizing fungus. Mycologia 90 (5): 896-903.

Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Huckelhoven, R ,. Neumann, C., Wettstein, D. V., Franken, P. and 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.

Yordanov, V. and Tsoev, T. (2000) Plant responses to drought, acclimation and stress tolerance. Photosynthica 38: 171-186.

www.SID.ir

Archive of SID

The effect of *Piriformospora indica* inoculation on salt and drought stress tolerance in *Stevia rebaudiana* under *in vitro* conditions

Fahimeh Seraj, Hemmatollah Pirdashti *, Yasser Yaghoubian and Valiollah Ghasemi Omran
Department of Agronomy, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

Abstract
In order to investigate the effect of *Piriformospora indica* under salt and drought stresses on some vegetative characteristics and physiological parameters of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) medicinal plant, an experiment was conducted in factorial arrangement based on completely randomized design with three replicates at Genetics and Agricultural Biotechnology Institute in Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University. Factors include three levels of osmatic potential (0, -5, and -10 bar) and with three osmotic sources including NaCl (Na), Mannitol (M) and NaCl+Mannitol (N+M) and inoculation of mycorrhizae like fungi at two levels (non-inoculated and inoculation with fungi). The plantlets were treated for 30 days and then some morphological and physiological parameters were measured. Results of ANOVA showed that there was a significant interaction between osmatic source and levels with fungi inoculation for the most determined parameters. Inoculation of stevia plantlets with *P. indica* at osmatic level of -5 bar caused either by M or M+Na markedly improved dry weight of leaf (112 and 156%, respectively) and aerial parts (49 and 144%, respectively) as compared to the uninoculated control. Fungi inoculation positively improved vegetative parameters of stevia plant under most osmatic levels and sources. The most ameliorate effect, however, was observed where M as drought stress or M+Na were adjusted to -5 bar. Therefore, the results of this study represented a positive effect of *P. indica* inoculation in inproving osmotic tolerance of stevia medicinal plant.
Key words: Electrolyte leakage, Fungi inoculation, Mannitol, NaCl, Stevia medicinal plant.

* h.pirdashti@sanru.ac.ir

Copyright©2016, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

www.SID.ir