

Effect of *Serendipita indica* Inoculation and Foliar Application of Potassium on Growth and Morphophysiological Traits of *Dracocephalum kotschy* under Drought Stress

Mohammad Mehri¹, Mehdi Ghabooli^{2*}, Zahra Movahedi²

Received: 14 August 2022 Accepted: 09 February 2023

1-Graduated Student, Dept. of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran.

2- Assoc. Prof. and Assist. Prof., Dept. of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran.

*Corresponding Author Email: m.ghabooli@malayeru.ac.ir

Abstract

Background and Objective: Abiotic-stress tolerance and plant growth enhancement can be evoked in crops by the exploitation of beneficial microorganisms and optimal provision of plant nutrients. The effect of inoculation with *Serendipita indica* and foliar application of potassium on growth and morphophysiological characteristics of *Dracocephalum kotschy* plant under drought stress was the goal of the present experiment.

Materials and Methods: The study was conducted in a completely randomized design with two levels of fungus inoculation (non-inoculated and inoculated with *S. indica*), three levels of potassium application (0, 1 and 3% K) and two levels of drought stress (Field capacity (F.C.) and 50% F.C.) with three replications.

Results: The results showed that drought stress decreases the biomass, relative water content, chlorophyll and potassium. While inoculation with *S. indica* and potassium application increased traits such as shoot and root biomass, relative water content, chlorophyll, potassium and antioxidant enzymes and consequently reduced the harmful effects of drought stress. Drought stress caused membrane instability by increasing electrolyte leakage and malondialdehyde, while inoculation with fungus and potassium treatment reduced lipid peroxidation and electrolyte leakage.

Conclusion: Due to the importance of *D. kotschy* and the effect of biomass increase on the amount of its medicinal substance, inoculating with *S. indica* and foliar application of potassium can be a suitable method to enhance the growth and drought stress tolerance of *D. kotschy*.

Keywords: Abiotic Stress, Antioxidant Enzymes, *D. kotschy*, Endophytic Fungus, Potassium

بررسی اثر تلقیح با قارچ *Serendipita indica* و محلول پاشی برگی پتاسیم بر رشد و ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک زرین گیاه (*Dracocephalum kotschy*) در شرایط تنش خشکی

محمد مهری^۱، مهدی قبولی^{۲*}، زهرا موحدی^۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۵/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۲۰

۱- کارشناسی ارشد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران

۲- دانشیار، استادیار گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران

*مسئول مکاتبه: Email: m.ghabooli@malayeru.ac.ir

چکیده

اهداف: تغذیه مناسب و همزیستی با میکروارگانیسم‌های مفید از جمله روش‌های بهبود رشد و افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های غیرزیستی محسوب می‌شوند. پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر قارچ *Serendipita indica* و محلول پاشی برگی پتاسیم بر رشد و ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک زرین گیاه در شرایط تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها: این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل سطوح مختلف تلقیح با قارچ *S. indica* (تلقیح نشده و تلقیح شده با قارچ)، پتاسیم (۰، ۱ و ۳ درصد) و تنش خشکی (ظرفیت زراعی و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی) می‌باشد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش زیست‌توده، محتوای نسبی آب، کلروفیل و پتاسیم می‌گردد. درحالیکه تلقیح با قارچ و تیمار با پتاسیم باعث افزایش صفاتی مانند زیست‌توده اندام هوایی و ریشه، محتوای نسبی آب، کلروفیل، پتاسیم و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گردید و سبب کاهش آثار مضر تنش خشکی شد. تنش خشکی با افزایش نشت الکترولیت و مالون دی آلدئید باعث ناپایداری غشاء گردید در حالیکه تلقیح با قارچ و محلول پاشی پتاسیم میزان پراکسیداسیون لیپید و نشت الکترولیت را کاهش داد.

نتیجه‌گیری: با توجه به اهمیت زرین گیاه و تاثیر افزایش زیست‌توده بر میزان ماده دارویی آن، تلقیح با قارچ *S. indica* و استفاده از محلول پاشی پتاسیم می‌تواند روش مناسبی جهت بهبود رشد این گیاه دارویی و افزایش مقاومت آن به تنش خشکی باشد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پتاسیم، تنش‌های غیرزیستی، زرین گیاه، قارچ اندوفیت

مقدمه

افزایش تنش خشکی، تنش گرمایی و خاک‌های شور گردد. تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که سبب کاهش معنی‌دار رشد و عملکرد اغلب گیاهان می‌گردد. تنش خشکی همچنین باعث کاهش قابل

گرمایش جهانی باعث بوجود آمدن مشکلات مختلفی از جمله افزایش خشکسالی گردیده است. انتظار می‌رود تغییر اقلیم و افزایش گرمایش زمین در آینده باعث

و سطح جذب ریشه سبب می‌گردد جذب آب و مواد غذایی در گیاهان تیمار شده با پتاسیم خصوصاً در شرایط تنش خشکی افزایش پیدا کند (بهرامی‌راد و حاجی‌بلند ۲۰۱۷). قارچ *Serendipita indica* (با نام قبلی *Piriformospora indica*) یک قارچ اندوفیت مدل از خانواده سباسیناسه در مطالعات همزیستی محسوب می‌شود که در سال ۱۹۹۸ توسط وارما و همکاران در ایالت راجستان هندوستان شناسایی شد (وارما و همکاران ۱۹۹۸). قارچ *S. indica* بر خلاف قارچ‌های میکوریزی، همزیست اختیاری است و قادر به رشد در انواع مختلفی از محیط‌های کشت مصنوعی می‌باشد. این قارچ شبه-میکوریزی توانایی ایجاد رابطه همزیستی با دامنه وسیعی از گیاهان میزبان را دارد و باعث افزایش رشد، عملکرد و همچنین مقاومت به تنش‌های غیرزیستی مانند خشکی و شوری در گیاهان مختلف می‌گردد (جعفری و همکاران ۲۰۱۸؛ ژو و همکاران ۲۰۲۲؛ رشنا و همکاران ۲۰۲۲). قارچ *S. indica* از طریق افزایش جذب عناصر غذایی خصوصاً فسفر، پتاسیم و منیزیم، تولید اکسین و سیتوکنین، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، افزایش تجمع اسمولیت‌ها و بیان برخی ژن‌های مرتبط با انتقال‌دهنده‌های هگروزها انجام می‌دهد (خلید و همکاران ۲۰۱۹؛ ایزدی و همکاران ۲۰۲۱؛ چنگ و همکاران ۲۰۲۲). تلقیح با این قارچ باعث افزایش رشد و میزان مواد موثره گیاهان دارویی نظیر *Stevia Rebaudiana* *Aloe vera* و *Artemisia annua* در شرایط نرمال و تنش‌های غیرزیستی گردیده است (کیلام و همکاران ۲۰۱۵؛ شارما و همکاران ۲۰۱۶؛ آرورا و همکاران ۲۰۲۰). گیاهان دارویی، گروه مهم و بزرگی از گیاهان هستند که از دوران باستان به عنوان داروی گیاهی جهت پیشگیری و درمان برخی بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گرفتند. شرایط محیطی مانند شوری، دما و کمبود آب بر رشد، عملکرد، کیفیت و کمیت متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی تاثیر می‌گذارد (شارما و همکاران ۲۰۱۶). زرین گیاه (*Dracocephalum kotschy Boiss*) یا بادرنجبویه دنیایی از گیاهان دارویی با ارزش و انحصاری کشور ایران است که به دلیل بهره‌برداری بیش از حد و همچنین خشکسالی در خطر انقراض کامل قرار

توجه پتانسیل آب برگ، محتوای نسبی آب و سرعت تعرق می‌شود (صدیق و همکاران ۲۰۰۱). بعلاوه، تنش خشکی با آسیب به زنجیره انتقال الکترون باعث تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) می‌گردد (ساراسواتی و پالیوال ۲۰۱۱). تجمع این رادیکال‌ها از طریق خسارت اکسیداتیو به پروتئین‌ها، چربی‌ها و نوکلئوتیدها باعث آسیب به سیستم فتوسنتزی و متابولیسم معمول گیاه می‌گردد (عباسپور و همکاران ۲۰۱۲). گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو دارای سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی هستند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) اثرات مضر ROSها را بر سلول‌های گیاهی کاهش داده و از آنها در برابر تنش اکسیداتیو محافظت می‌کنند (امیری و همکاران ۲۰۱۵). علاوه بر این، تجمع متابولیت‌هایی مانند قندهای محلول و پرولین در سلول‌ها به حفظ تورژسانس سلولی و فرآیندهای وابسته به آن در شرایط تنش کمک می‌کند (رحیمی و همکاران ۲۰۱۹).

تغذیه مناسب و همزیستی با میکروارگانیسم‌های مفید از جمله روش‌های بهبود رشد و افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌ها محسوب می‌شوند (آلوی ۲۰۰۴؛ کپلاری و همکاران ۲۰۲۰). پتاسیم یک عنصر کلیدی برای رشد و عملکرد گیاهان و یک ماده غذایی ضروری برای فتوسنتز و انتقال اسیمیلات‌ها محسوب می‌شود (وانگ و همکاران ۲۰۱۵). پتاسیم تنظیم اسمزی گیاهان را تحت تاثیر قرار داده و از طریق بهبود انتقال اسیمیلات‌ها و حفظ فشار اسمزی، مقاومت به خشکی را افزایش می‌دهد (مبارک و همکاران ۲۰۱۶). چندین گزارش نشان داده است که محلول پاشی پتاسیم در شرایط تنش خشکی باعث بهبود مقاومت گیاه و افزایش رشد و عملکرد می‌شود. آکسو و آلتای (۲۰۲۰) گزارش کردند که کاربرد پتاسیم در شرایط تنش خشکی باعث افزایش محتوای نسبی آب و کاهش خسارت به غشاء سلولی گردیده است و در نهایت به نظر می‌رسد پتاسیم نقش حیاتی در کاهش اثرات منفی تنش خشکی دارد. در این میان، ککمک (۲۰۰۵) نیز گزارش کرد که گیاهان در شرایط تنش خشکی به پتاسیم بیشتری نیاز دارند. به نظر می‌رسد پتاسیم با افزایش زیست‌توده

محیط کشت جدا و چندین بار با آب مقطر شستشو داده شدند (بجاج و همکاران ۲۰۱۵).

کشت گیاه و اعمال تیمارها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ملایر انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل سطوح مختلف پتاسیم (عدم کاربرد و محلول پاشی با پتاسیم ۱ و ۳ درصد)، تلقیح با قارچ اندوفیت *S. indica* (تلقیح نشده و تلقیح شده با قارچ) و سطوح مختلف تنش خشکی (ظرفیت زراعی و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی) می باشد. بذره‌های گیاه دارویی زرین گیاه از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. برای جوانه دار کردن بذرها از تیمار سرمادهی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۰- درجه استفاده شد که بذرها پس از حدود ۸ روز شروع به جوانه زنی کردند. سپس بذره‌های جوانه دار شده به گلدان‌های حاوی مخلوط خاک طبیعی و ماسه بادی به نسبت ۲:۱ منتقل شدند. در مورد تیمار تلقیح شده، بذرها در بستر کشت حاوی مایه تلقیح قارچ که به صورت ساندویچی (یک لایه خاک، یک لایه خاک حاوی میسلیوم قارچ با نسبت ۱ درصد وزنی به وزنی) آماده شده بود، کاشته شدند. لازم به ذکر است که در مورد تیمارهای شاهد، بذره‌های جوانه دار شده زرین گیاه در گلدان‌های حاوی بستر کشت بدون میسلیوم کاشته شدند. گلدان‌ها پس از کشت به گلخانه منتقل و به مدت هشت هفته نگهداری شدند و با فاصله زمانی یک هفته بعد از آغاز مرحله گلدهی، محلول پاشی برگ‌ها با کود سولفات پتاسیم کی لیف (K-leaf®) صورت گرفت. در نهایت، پس از مشاهده اثرات کلینزاسیون، تنش خشکی به صورت وزن سنجی مطابق با روش سامارا و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد. برای اینکار ابتدا ظرفیت زراعی خاک و میزان آب مورد نیاز برای رسیدن به ظرفیت زراعی و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش) محاسبه گردید. به منظور جلوگیری از آسیب به گیاهان، تنش خشکی به شکل تدریجی و با قطع آبیاری و توزین روزانه گلدان‌ها و تنظیم آن‌ها در حد تنش مورد نظر اعمال شد. در شرایط کنترل (عدم اعمال تنش خشکی)، آبیاری گیاهان به صورت منظم و

دارد (مفاخری و همکاران ۲۰۱۸). این گیاه به دلیل دارا بودن انواع مختلفی از متابولیت‌های ثانویه شامل روغن-های ضروری، مونوترپن‌ها، ترپنوئیدها، فلاونوئیدها همراه با ترکیبات فنلی و رزمارینیک اسید به عنوان یک گیاه دارویی مورد توجه می باشد (فتاحی و همکاران ۲۰۱۶). کوددهی خاک رایج‌ترین روش برای تامین عناصر غذایی ضروری گیاهان است. با این حال، گیاهان عالی می‌توانند این عناصر را در صورت استفاده به عنوان محلول پاشی نیز جذب کنند. محلول پاشی جذب سریع عناصر را تسهیل می‌کند و می‌توان آن را بدون برهمکنش با اجزای خاک، بارش و یا جذب سطحی خاک انجام داد (فرناندز و براون ۲۰۱۳). اطلاعات زیادی در مورد پاسخ گیاهان دارویی به محلول پاشی پتاسیم و تلقیح همزمان با اندوفیت‌ها وجود ندارد، لذا با توجه به اهمیت گیاه دارویی زرین گیاه در زیست‌بوم کشور و لزوم توسعه کشت آن در مناطق خشک و نیمه خشک، که به دلیل تغییرات اقلیمی در حال گسترش هستند، این آزمایش با هدف بررسی تاثیر تلقیح با قارچ اندوفیت *S. indica* و همچنین محلول پاشی برگ‌ها پتاسیم بر رشد و برخی فاکتورهای مورفوفیزیولوژیک زرین گیاه در شرایط تنش خشکی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه، تشخیص و تکثیر مایه تلقیح قارچ *S. indica*
زادمایه قارچ از پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران تهیه و مطابق با روش قبولی و همکاران (۲۰۱۳) بر روی محیط کشت پیچیده (محیط کشت آسپرژیلوس تغییر یافته حاوی عناصر ماکرو، میکرو، عصاره مخمر، پپتون و کازئین) کشت شده و به مدت ۴ هفته در دمای 28 ± 2 درجه سلسیوس قرار گرفت. برای تهیه میسلیوم، دیسک‌های فعال قارچ از محیط کشت جامد برداشته و در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت مایع قرار گرفتند و سپس در انکوباتور حاوی شیکر با دمای 28 ± 2 درجه سلسیوس و ۱۵۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰-۷ روز قرار داده شدند. در مرحله بعد، میسلیوم‌ها با استفاده از فیلتر کاغذی واتمن شماره ۱ از

به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده و بلافاصله در حمام یخ سرد شد. پس از سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰g، میزان جذب مایع رویی در ۵۳۲ نانومتر تعیین و جذب غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر از آن کسر گردید. اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن به وسیله اسپکتروفتومتر و مطابق با روش ولیکووا و لورتو (۲۰۰۵) انجام شد. برای اینکار ۵ میلی‌لیتر از محلول TCA به یک گرم بافت تازه و سائیده شده برگ اضافه و با استفاده از کاغذ صافی فیلتر شد. سپس به نمونه‌ها ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار (pH= ۷) و یک میلی‌لیتر یدید پتاسیم اضافه و جذب آن در طول موج ۳۹۰ نانومتر قرائت گردید. جهت سنجش پرولین از روش بیتس و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. ۰/۵ گرم بافت تر در ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد سائیده و به‌طور کامل همگن شد. دو میلی‌لیتر از عصاره صاف‌شده با دو میلی‌لیتر محلول نین‌هیدرین و دو میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیال مخلوط شده و به مدت یک ساعت در حمام آب گرم قرار گرفت. پس از آن با قرار دادن لوله‌های آزمایش در حمام یخ واکنش مذکور پایان یافت. سپس چهار میلی‌لیتر تولوئن به محتویات هر لوله اضافه گردید و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت هم زده شد. فاز رویی که شامل تولوئن و پرولین بود از فاز آبی جدا شد و جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر تعیین گردید.

برای استخراج و اندازه‌گیری آنزیم‌ها از روش گالگو و همکاران (۱۹۹۶) استفاده شد. ابتدا با استفاده از هاون چینی، پنج گرم بافت تازه با پنج میلی‌لیتر بافر تریس HCl (۵۰ میلی‌مولار با pH=۷/۵) در حمام یخ ساییده شدند. مخلوط حاصل داخل لوله سانتریفیوژ ریخته شده و پس از ۱۰ دقیقه سکون، به مدت ۲۰ دقیقه در 13000 rpm و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. به دلیل ناپایداری آنزیم آسکوربات پراکسیداز در غیاب آسکوربات، به بافر عصاره‌گیری ۰/۲ میلی‌لیتر آسکوربات ۵ میلی‌مولار اضافه گردید و سایر مراحل همانند سایر آنزیم‌ها انجام شد. لوله‌ها پس از سانتریفیوژ به آرامی از دستگاه خارج و با استفاده از چندلایه پارچه فیلتر شدند و عصاره حاصل برای فعالیت آنزیم‌های

روزانه انجام گردید تا رطوبت خاک در سطح ظرفیت زراعی حفظ گردد. سه روز پس از اعمال تنش خشکی، نمونه‌برداری از اندام‌های هوایی صورت گرفت و صفاتی مانند ارتفاع بوته، تعداد برگ در هر گیاه، وزن خشک اندام هوایی و ریشه، محتوای نسبی آب، رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین، عناصر و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مورد سنجش قرار گرفتند.

بررسی صفات رویشی و فیزیولوژیک

پس از تعیین وزن تر نمونه‌های گیاهی برداشت‌شده، نمونه‌های مذکور به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و وزن خشک آن‌ها نیز محاسبه گردید. برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC)، از روش بارس و وسرلی (۱۹۶۲) و معادله $RWC (\%) = [(FW - DW) / (TW - DW)] \times 100$ استفاده شد که در آن FW، DW و TW به ترتیب وزن تر، وزن آماس و وزن خشک می‌باشد. غلظت رنگیزه‌های برگ (کلروفیل کل و کارتنوئید) در طول موج‌های ۶۵۲ و ۴۷۰ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر (Analytikjena SPELORD 205، آلمان) تعیین گردید. نشت الکترولیت مطابق با روش ارشادی و همکاران (۲۰۱۶) و با استفاده از دستگاه EC متر (ARTON PE103، ایران) اندازه‌گیری شد. نمونه‌های برگی پس از شستشو توسط آب مقطر درون ظرف قرار داده شد و سپس ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن افزوده شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در شیکر با دور ۶۰ rpm قرار داده شده و مقدار هدایت الکتریکی آن با EC متر اندازه‌گیری شد (EC₁). سپس ظروف حاوی نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار گرفته و پس از ۳۰ دقیقه شیک شدن مقدار هدایت الکتریکی آن سنجیده شد (EC₂). در نهایت، شاخص نشت الکترولیت از فرمول $EL\% = (EC_1/EC_2) \times 100$ محاسبه گردید.

سنجش میزان مالون دی‌آلدهید به روش بائو و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد. ابتدا ۰/۲ گرم بافت تازه با ۵ میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک همگن و عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. یک میلی‌لیتر از محلول رویی با ۴/۵ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۲۰٪ (حاوی ۵٪ اسید تیوباربیتوریک) مخلوط و

پراکسیداز، اسکوربات پراکسیداز و کاتالاز استفاده شد. برای سنجش فعالیت سینتیکی آنزیم POD از روش سزار و همکاران (۲۰۱۰) استفاده و منحنی جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت شد. فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز (APX) به روش ناکانو و آسادا (۱۹۸۱) مورد سنجش قرار گرفت. سرعت واکنش آنزیمی به صورت تغییرات جذب بر زمان (OD/min) در طول موج ۲۹۰ نانومتر برای ۱ دقیقه ثبت گردید. سنجش آنزیم کاتالاز (CAT) به روش چنس و ماهلی (۱۹۵۵) مورد سنجش قرار گرفت. سپس سنجش فعالیت آنزیم از طریق اندازه گیری تجزیه آب اکسیژنه توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر برای مدت زمان ۱ دقیقه انجام شد.

سنجش سدیم و پتاسیم گیاه به وسیله دستگاه فلیم فتومتر (G 405، ایران) انجام شد (گوپتا و گوپتا ۱۹۹۹). ابتدا ۰/۵ گرم از بافت خشک برگ با ۱۰ میلی لیتر اسید نیتریک (HNO_3) غلیظ مخلوط کرده و پس از بستن درب ظرفها، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از برداشتن درب ظروف، نمونه‌ها در زیر هود بر روی هیتر با دمای ملایم قرار داده شدند تا زمانی که دو میلی لیتر از محلول موردنظر باقی بماند سپس دو میلی لیتر محلول باقیمانده با ۲۸ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و از کاغذ صافی عبور داده شدند و در نهایت به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده شد. اندازه گیری سدیم و پتاسیم موجود در خاکستر گیاه به وسیله دستگاه فلیم فتومتر صورت گرفت. تجزیه و تحلیل آماری نتایج، با استفاده از نرم افزار JUMP 13.2.0 انجام گردید. مقایسه میانگین‌ها نیز در سطح ۵٪ و بر اساس آزمون دانکن انجام شد.

نتایج

وزن خشک اندام هوایی و ریشه

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی قارچ، پتاسیم و خشکی و همچنین اثرات متقابل قارچ × تنش و پتاسیم × تنش بر وزن خشک اندام هوایی زیرین گیاه در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار می باشد اما اثرات

متقابل قارچ × پتاسیم و اثرات متقابل سه گانه قارچ × پتاسیم × تنش معنی دار نمی باشد (جدول ۱). معنی دار شدن اثرات متقابل دو گانه نشان می دهد که دو فاکتور مستقل از هم عمل نکرده اند. نتایج آنالیز مقایسه میانگین نشان داد که تیمار تلقیح شده در شرایط نرمال بیشترین (۶/۹۰ گرم) و تیمار تلقیح نشده در شرایط تنش خشکی (۴/۱۱ گرم) را داشتند (شکل ۱ الف). همچنین تیمار پتاسیم ۱ درصد در شرایط نرمال بیشترین (۶/۰۲ گرم) و تیمار بدون پتاسیم در شرایط تنش خشکی (۴/۲۹ گرم) کمترین میزان وزن خشک اندام هوایی را نشان دادند (شکل ۱ ب). در مجموع، اگرچه خشکی تاثیر کاهشی بر وزن خشک داشت، با این حال تلقیح با قارچ و تیمار با پتاسیم توانست اثرات منفی تنش را کاهش دهد، به طوری که وزن خشک اندام هوایی در گیاهان تیمار شده با قارچ و پتاسیم بالاتر از گیاهان تیمار نشده بود.

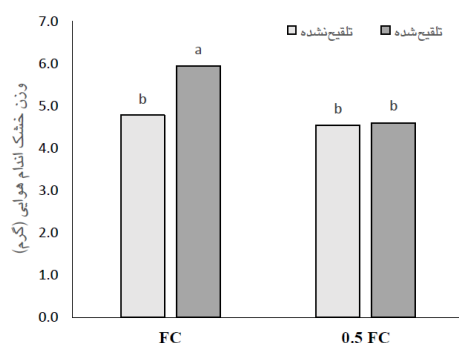
نتایج جدول تجزیه واریانس در مورد وزن خشک ریشه نشان داد که اثرات اصلی قارچ، پتاسیم و خشکی و همچنین اثرات متقابل دو گانه در سطح احتمال ۱ درصد و اثرات متقابل سه گانه در سطح ۵ درصد بر این صفت معنی دار می باشد (جدول ۱). معنی دار شدن اثرات متقابل سه گانه نشان می دهد که فاکتورها مستقل از هم عمل نکرده اند. بر اساس نتایج مقایسه میانگین، تیمار تلقیح شده و پتاسیم ۱ درصد در شرایط نرمال بیشترین میزان وزن خشک ریشه (۶/۷۱ گرم در بوته) و تیمار شاهد در شرایط تنش خشکی کمترین میزان وزن خشک ریشه (۱/۴۶ گرم در بوته) را نشان دادند. همچنین هم در شرایط نرمال و هم در شرایط تنش خشکی اثرات قارچ و پتاسیم بر وزن خشک ریشه مثبت بود، بطوریکه وزن خشک ریشه در گیاهان تیمار شده با قارچ و پتاسیم بالاتر از گیاهان تیمار نشده بود (جدول ۲). در مجموع، گیاهان تلقیح شده با قارچ و تیمار شده با پتاسیم نسبت به گیاهان تیمار نشده سریعتر رشد کرده، ارتفاع و زیست توده بیشتری داشته و دارای تعداد بیشتری برگ بودند (داده های مرتبط با ارتفاع و تعداد برگ آورده نشده است).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس وزن خشک ریشه و اندام هوایی، محتوای نسبی آب و رنگیزه‌های فتوسنتزی زمین گیاه تحت تنش خشکی و تیمارهای قارچ و کود پتاسیم

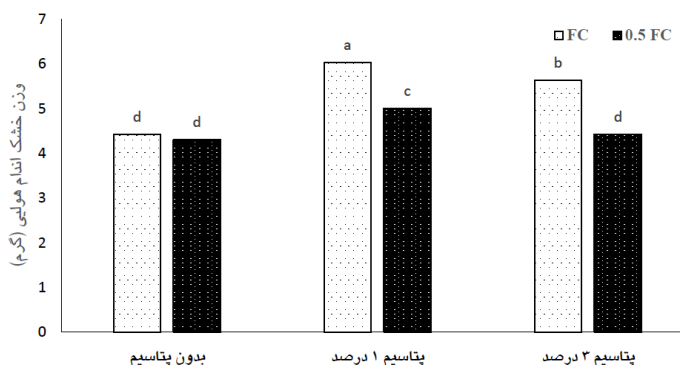
منابع تغییر	درجه آزادی	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	محتوای نسبی آب	کلروفیل کل	کارتنوئید	پرولین
قارچ	۱	۳/۴۰۷**	۵۱/۵۶۴**	۰/۲۵۵**	۵۱۰/۳۸**	۱۳/۶۷۰**	۴/۲۰۱**
کود پتاسیم	۲	۴/۰۱۷**	۸/۹۰۳**	۱۶/۶۴۷**	۱۳/۰۷۴**	۱/۴۳۳**	۰/۷۶۷**
قارچ × پتاسیم	۲	۰/۲۷۳ ^{ns}	۰/۳۸۱**	۳۱/۹۳۲**	۳۳/۸۰۱**	۱/۶۶۲**	۰/۰۴*
تنش رطوبتی	۱	۵/۷۷۵**	۱۸/۳۵۹**	۵۲۷۲/۹**	۲۳/۱۹۸**	۴/۵۲۹**	۷۰/۳۵**
قارچ × تنش	۱	۲/۸۰۲**	۲/۰۹۱**	۱۵/۱۲۲*	۴۹/۶۹۹**	۰/۴۰ ^{ns}	۰/۷۲۱**
پتاسیم × تنش	۲	۱/۰۲۱**	۲/۱۸۹**	۷/۰۵۲ ^{ns}	۲۰/۲۵۳**	۰/۲۸۲ ^{ns}	۰/۱۸۶**
قارچ × پتاسیم × تنش	۲	۰/۳۰۶ ^{ns}	۰/۱۴۵*	۶/۶۴۹ ^{ns}	۱۹/۸۷۱**	۰/۱۲۴ ^{ns}	۰/۰۴۵*
خطای آزمایش	۲۴	۰/۰۹۹	۰/۰۳۳	۲/۲۴۱	۲/۷۰۰	۰/۱۱۸	۰/۰۰۹
ضریب تغییرات	-	۶/۳۵	۴/۹۷	۲/۶۸	۱۴/۷۵	۴/۳۶	۳/۴۰

ns و ** و * به ترتیب غیر معنی‌داری و معنی‌داری در سطح ۱ و ۵ درصد می‌باشد.

الف



ب



شکل ۱- الف) اثر برهمکنش قارچ و تنش خشکی و ب) اثر برهمکنش کود پتاسیم و تنش خشکی بر وزن خشک اندام هوایی زمین گیاه.

میانگین‌هایی که با حداقل یک حرف مشترک مشخص شده‌اند، با یکدیگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

و همکاران (۲۰۰۵) گزارش شده است. مکانیسم‌های مختلفی در ارتباط با تأثیر قارچ‌های اندوفیت بر رشد رویشی گیاهان ذکر شده است. قارچ علاوه بر توانایی تولید سیتوکنین، ژن‌های پاسخ‌دهنده به سیتوکنین در گیاه را تنظیم کرده که احتمالاً در افزایش زیست‌توده اندام هوایی در گیاهان تلقیح‌شده موثر باشد. قارچ همچنین انتقال از طریق آوند چوب و آبکش را افزایش داده و تنظیم اسمزی را در سطح سلولی در شرایط تنش خشکی بهبود می‌بخشد (احمدوند و حاجی‌نیا ۲۰۱۸). علاوه بر تحریک رشد اندام هوایی، وزن خشک ریشه نیز در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ افزایش یافته بود. تحقیقات

زیست‌توده به عنوان یک شاخص در بحث تنش خشکی شناخته می‌شوند. پژوهش‌های متعددی نشان داده است که وقتی گیاهان در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرند، وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاه کاهش می‌یابد (قبولی و همکاران ۲۰۱۸؛ کابوسی و همکاران، ۲۰۲۲). از مهم‌ترین دلایل کاهش معنی‌دار عملکرد و ماده خشک گیاه در شرایط تنش می‌توان به کاهش تقسیم سلولی، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش فتوسنتز و متعاقباً ممانعت از رشد اشاره کرد (شانکر و همکاران ۲۰۰۵). تأثیر قارچ بر میزان وزن خشک گیاهان تلقیح‌شده با قارچ در شرایط تنش خشکی (کابوسی و همکاران ۲۰۲۲) و شوری (والر

وضوح در افزایش زیست‌توده و کاهش اثرات مضر تنش خشکی بر رشد گیاهان موثر باشد. همچنین پتاسیم احتمالاً نقش مهمی در افزایش زیست‌توده ریشه و در نتیجه سطح جذب دارد که باعث می‌شود جذب آب و مواد غذایی در گیاهان تیمار شده با پتاسیم خصوصاً در شرایط تنش خشکی افزایش پیدا کند (بهرامی‌راد و حاجی‌بلند ۲۰۱۷). پیشنهاد شده است که پاسخ ریشه به تامین مواد مغذی احتمالاً سیستمیک است و درک وضعیت غذایی گیاه در اندام هوایی انجام می‌شود (فورده و لورنزو ۲۰۰۱) و لذا محلول‌پاشی برگی پتاسیم بر وضعیت ریشه اثر مثبت دارد.

نشان داده است که فعال شدن بیوسنتز اکسین توسط قارچ *S. indica* احتمالاً یکی از دلایل اصلی برای تحریک رشد ریشه گیاهان تلقیح‌شده است (سو و همکاران ۲۰۱۷). قارچ همچنین بازاریابی میکروتوبول‌ها را در سلول‌های ریشه تحریک کرده که ممکن است با رشد ریشه ارتباط داشته باشد. توسعه سیستم ریشه‌ای توسط قارچ، جذب آب و مواد غذایی را افزایش داده که متعاقباً بقاء گیاهان را در شرایط تنش‌زا افزایش می‌دهد (ژانگ و همکاران ۲۰۱۸؛ وو و همکاران ۲۰۱۹). به نظر می‌رسد بهبود توانایی گیاهان تیمار شده با پتاسیم برای اسیملاسیون دی‌اکسید کربن و سنتز کربوهیدرات‌ها به

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات وزن خشک ریشه، کلروفیل کل، پرولین و نشت الکترولیت زین گیاه تحت تنش خشکی و تیمارهای قارچ و کود پتاسیم

تیمارها	وزن خشک ریشه (g)	کلروفیل کل (mg.g ⁻¹ .FW)	پرولین (μm. g ⁻¹ .FW)	نشت الکترولیت (%)
بدون پتاسیم	۱/۶۹ ± ۰/۱۰۶ ^{e-f}	۵/۹۴۱ ± ۰/۹۴ ^{g-h}	۰/۶۰۱ ± ۰/۰۵ ^k	۲۵/۴۲۶ ± ۰/۳۲ ^d
پتاسیم ۱ درصد	۱/۴۶ ± ۰/۱۰۶ ^f	۴/۸۰۹ ± ۰/۹۴ ^h	۳/۷۷۳ ± ۰/۰۵ ^e	۴۲/۰۲۵ ± ۰/۳۲ ^a
پتاسیم ۳ درصد	۳/۳۰ ± ۰/۱۰۶ ^c	۷/۸۹۹ ± ۰/۹۴ ^{e-g}	۰/۹۳۹ ± ۰/۰۵ ^l	۲۳/ ± ۰/۸۲۹۳۳ ^e
بدون پتاسیم	۱/۸۵ ± ۰/۱۰۶ ^e	۷/۵۰۷ ± ۰/۹۴ ^{f-h}	۴/۱۱۳ ± ۰/۰۵ ^d	۳۴/۵۶۸ ± ۰/۳۲ ^b
پتاسیم ۱ درصد	۳/۹۵ ± ۰/۱۰۶ ^b	۹/۳۹۶ ± ۰/۹۴ ^{d-f}	۱/۲۸۵ ± ۰/۰۵ ⁱ	۲۱/۱۷۴ ± ۰/۳۲ ^f
پتاسیم ۳ درصد	۲/۸۰ ± ۰/۱۰۶ ^d	۸/۶۸۸ ± ۰/۹۴ ^{d-g}	۴/۱۷۶ ± ۰/۰۵ ^{cd}	۲۵/۷۶۳ ± ۰/۳۲ ^d
بدون پتاسیم	۴/۲۶ ± ۰/۱۰۶ ^b	۱۰/۵۹۲ ± ۰/۹۴ ^{c-e}	۱/۵۲۸ ± ۰/۰۵ ^h	۱۶/۹۴۷ ± ۰/۳۲ ^h
پتاسیم ۱ درصد	۳/۵۷ ± ۰/۱۰۶ ^c	۱۱/۶۶۴ ± ۰/۹۴ ^{cd}	۴/۴۱۵ ± ۰/۰۵ ^{ab}	۳۱/۰۸۵ ± ۰/۳۲ ^c
پتاسیم ۳ درصد	۶/۷۱ ± ۰/۱۰۶ ^a	۱۲/۶۹۸ ± ۰/۹۴ ^{b-c}	۱/۸۶۸ ± ۰/۰۵ ^g	۱۷/۶۵۵ ± ۰/۳۲ ^h
بدون پتاسیم	۳/۹۹ ± ۰/۱۰۶ ^b	۱۳/۵۸۱ ± ۰/۹۴ ^{b-c}	۴/۲۹۸ ± ۰/۰۵ ^{b-c}	۲۳/۲۵۷ ± ۰/۳۲ ^e
پتاسیم ۱ درصد	۶/۶۱ ± ۰/۱۰۶ ^a	۱۵/۴۸۹ ± ۰/۹۴ ^b	۲/۳۲۷ ± ۰/۰۵ ^f	۱۵/۹۵۸ ± ۰/۳۲ ⁱ
پتاسیم ۳ درصد	۴/۲۸ ± ۰/۱۰۶ ^b	۲۵/۴۰۱ ± ۰/۰۹۴ ^a	۴/۵۴۹ ± ۰/۰۵ ^a	۲۰/۱۷۱ ± ۰/۳۲ ^g

میانگین‌هایی که در یک ستون با حداقل یک حرف مشترک مشخص شده‌اند، با یکدیگر اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

تنش بر محتوای نسبی آب گیاه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار است اما اثر ساده قارچ و اثرات متقابل قارچ در پتاسیم و اثرات متقابل سه‌گانه معنی‌دار نیستند (جدول

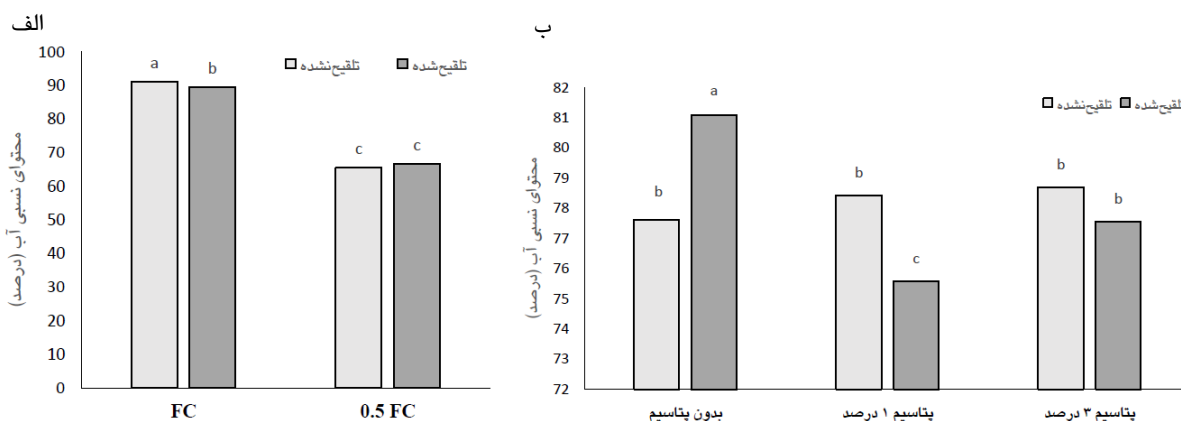
محتوای نسبی آب (RWC)

آنالیز نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی پتاسیم و خشکی، اثرات متقابل قارچ × پتاسیم در سطح احتمال ۱ درصد و همچنین اثرات متقابل قارچ ×

فرایندهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی می‌گردد (فرخنده و همکاران ۲۰۱۲). در پژوهش حاضر، محتوای نسبی آب در شرایط تنش خشکی کاهش پیدا می‌کند که با نتایج مانسیف و همکاران (۲۰۲۲) مطابقت دارد. نتایج برخی بررسی‌ها نشان داده است که قارچ تاثیر مثبت و مستقیمی بر محتوای نسبی آب در شرایط تنش‌های غیر زیستی دارد (قبولی و کابوسی ۲۰۲۲). به نظر می‌رسد میسلیم‌های قارچ با افزایش سطح جذب گیاهان تلقیح شده، به نگهداری آب در اطراف ریشه کمک می‌کنند. همچنین هیف‌های قارچ به ریشه‌های گیاه اجازه می‌دهند به لایه‌های عمیق خاک نفوذ کرده و آب و مواد مغذی بیشتری بدست آورند. در مجموع، گیاهان تلقیح نشده دارای ریشه‌های صاف و سطوح ساده هستند، در حالی که گیاهان تلقیح شده به دلیل رسوب لایه‌های قارچی دارای ریشه‌های ضخیم بوده و این موضوع باعث جذب بهتر آب و مواد معدنی می‌شود (پراساد و همکاران ۲۰۱۳).

۱). بر اساس نتایج مقایسه میانگین تیمارها، تیمار تلقیح نشده در شرایط نرمال بیشترین میزان محتوای نسبی آب (۹۱ درصد) و تیمار تلقیح نشده در شرایط تنش خشکی کمترین میزان محتوای نسبی آب (۶۵/۴۹ درصد) را نشان داد (شکل ۲ الف). همچنین، در مورد اثرات متقابل قارچ در پتاسیم، نتایج نشان داد تیمار تلقیح شده بدون پتاسیم بیشترین میزان محتوای نسبی آب (۸۱/۰۹ درصد) و تیمار تلقیح شده و پتاسیم ۱ درصد کمترین میزان محتوای نسبی آب (۶۵/۴۹ درصد) را نشان داد (شکل ۲ الف). تلقیح با قارچ *S. indica* و محلول پاشی با پتاسیم بر بهبود وضعیت آبی گیاه تاثیر داشت، اما تاثیر قارچ بر این صفت مشهودتر از اثرات متقابل قارچ و کود پتاسیم بود.

محتوای آبی برگ‌ها به عنوان فاکتوری برای تعیین سطح آب گیاه شناخته شده است که منعکس کننده فعالیت‌های متابولیکی در بافت‌هاست؛ کاهش محتوای نسبی آب برگ سبب کاهش فراهمی آب مورد نیاز برای



شکل ۲ الف) اثر برهمکنش قارچ و تنش خشکی و ب) اثر برهمکنش قارچ و کود پتاسیم بر محتوای نسبی آب. میانگین‌هایی که با حداقل یک حرف مشترک مشخص شده‌اند، با یکدیگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند

نتایج این پژوهش همخوانی دارد. ماسوادا و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که کوددهی پتاسیم باعث افزایش راندمان مصرف آب می‌شود که احتمالاً به دلیل تغییرات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی مانند بهبود صفات آب برگ، تحریک تجمع پرولین و رنگدانه‌های گیاهی باشد. در پژوهش حاضر نشان داده شد که تلقیح زرین گیاه با قارچ و تیمار با پتاسیم سبب افزایش محتوای نسبی آب و حجم

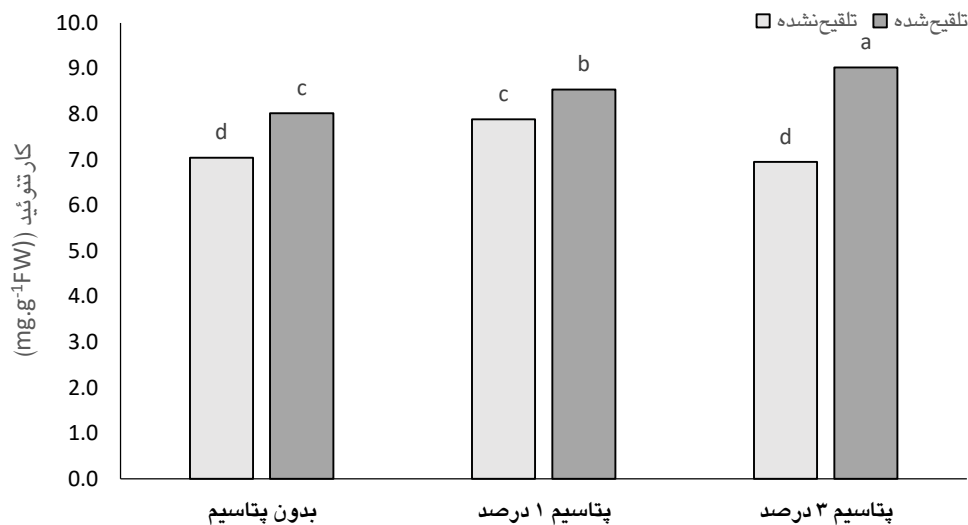
نتایج یک مطالعه نشان داده است که محلول پاشی برگ‌های پتاسیم باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ گردیده است که به نظر می‌رسد به دلیل نقش احتمالی انتقال دهنده‌های پتاسیم بر تنظیم روزه‌ای و همچنین هدایت هیدرولیکی برگ گیاه باشد (بهرامی‌راد و حاجی‌بلند ۲۰۱۷). همچنین آکسو و آلتای (۲۰۲۰) نشان داده‌اند که کاربرد پتاسیم باعث افزایش RWC می‌شود که با

ریشه‌ها می‌گردد که احتمالاً در مقاومت به تنش خشکی موثر است.

رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل کل و کارتنوئید)

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس، اثرات اصلی قارچ، پتاسیم و خشکی و همچنین اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه بر کلروفیل کل در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱). نتایج آنالیز مقایسه میانگین نشان داد که تیمار تلقیح‌شده با پتاسیم ۳ درصد در شرایط تنش خشکی بیشترین میزان کلروفیل کل (۲۵/۴۰ میلی‌گرم/گرم وزن تر) و تیمار شاهد در شرایط تنش خشکی کمترین میزان کلروفیل کل (۴/۸۱ میلی‌گرم/گرم وزن تر) را دارد (جدول ۲).

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده اثرات اصلی قارچ، پتاسیم و خشکی و اثرات متقابل قارچ \times پتاسیم بر محتوای کارتنوئید در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد، اما سایر اثرات متقابل دوگانه و اثرات سه‌گانه معنی‌دار نشد (جدول ۱). تنش خشکی باعث افزایش محتوای کارتنوئید گردیده است، به‌طوری‌که تنش باعث افزایش میزان کارتنوئید از (۷/۵۵ میلی‌گرم/گرم وزن تر) در شرایط نرمال به (۸/۲۶ میلی‌گرم/گرم وزن تر) در شرایط تنش خشکی گردید. همچنین تیمارهای مختلف قارچ و پتاسیم تاثیر افزایشی بر این صفت داشت، به‌طوری‌که بالاترین میزان کارتنوئید در تیمار تلقیح‌شده و پتاسیم ۳ درصد (۹/۰۱۹ میلی‌گرم/گرم وزن تر) و کمترین میزان آن در تلقیح‌نشده و پتاسیم ۳ درصد (۶/۹۵ میلی‌گرم/گرم وزن تر) مشاهده گردید (شکل ۳).



شکل ۳- اثر برهمکنش کود پتاسیم و تنش خشکی بر محتوای کارتنوئید زرين گیاه. میانگین‌هایی که با حداقل یک حرف مشترک مشخص شده‌اند، با یکدیگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

از حد رادیکال‌های آزاد اکسیژن است. همچنین کاهش غلظت کلروفیل در گیاهان تحت تنش می‌تواند به دلیل افزایش رادیکال‌های آزاد در سلول باشد. رادیکال‌های آزاد اکسیژن باعث پراکسیداسیون لیپیدی غشاء و در نتیجه تجزیه کلروفیل، آسیب غشای تیلاکوئید و اختلال متابولیک در گیاه می‌شوند (دیف و همکاران ۲۰۲۱).

مطابق با نتایج زاهور و همکاران (۲۰۱۷)، محتوای کلروفیل برگ گیاهان در معرض تنش خشکی در مقایسه با شرایط نرمال کاهش پیدا کرد که می‌تواند جریان کربن را در گیاهان تنش‌دیده تحت تاثیر قرار دهد. همانطور که انتظار می‌رفت تنش خشکی باعث کاهش محتوای کلروفیل گردید که احتمالاً به دلیل ممانعت از فعالیت آنزیم‌های سنتز کننده کلروفیل، فعال شدن کلروفیل‌از و تولید بیش

چگونگی تاثیرگذاری قارچ بر افزایش محتوای کاروتنوئیدها هنوز بطور کامل مشخص نیست و درک آن نیاز به مطالعات بیشتر دارد. در مجموع به نظر می‌رسد که قارچ با افزایش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید و آنتی اکسیدانت‌های غیر آنزیمی از دستگاه فتوسنتزی گیاه میزبان حفاظت می‌کند. پتاسیم نیز با افزایش این رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌تواند تاثیرات مخرب تنش بر میزان فتوسنتز را تا حدی کاهش دهد.

پرولین

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی قارچ، پتاسیم و خشکی و همچنین اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه بر محتوای پرولین برگ زرین گیاه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱). بر اساس نتایج بدست آمده از مقایسه میانگین تیمارها، بیشترین میزان پرولین (۴/۵۵ میکرومول/گرم وزن تر) در تیمار تلقیح شده و پتاسیم ۳ درصد در شرایط تنش خشکی و کمترین میزان آن (۰/۶۰ میکرومول/گرم وزن تر) در تیمار بدون قارچ و پتاسیم در شرایط عدم تنش خشکی مشاهده گردید. در مجموع هم تیمار با پتاسیم و هم تلقیح زرین گیاه با قارچ *S. indica* باعث افزایش محتوای پرولین گردید (جدول ۲).

یکی از مکانیسم‌های گیاه برای مقابله با اثرات منفی تنش خشکی تولید اسمولیت‌هایی (ماده حل‌شونده سازگار) مانند پرولین می‌باشد که به تنظیم اسمولاریته سلول کرده و موجب حفظ و نگهداری مولکول‌های زیستی و غشاهای می‌گردد. تجمع پرولین در گیاهان می‌تواند در نتیجه کاهش در تجزیه پرولین، افزایش بیوسنتز پرولین، کاهش سنتز پروتئین‌ها و یا هیدرولیز پروتئین‌ها باشد (ناندا و آگراوال ۲۰۱۸). در برخی گزارش‌ها افزایش پرولین به عنوان شاخص تحمل به خشکی استفاده می‌شود. در پژوهش حاضر میزان پرولین تحت شرایط تنش افزایش یافت که با نتایج مطالعات قبلی همخوانی دارد (فیاسکونارا و همکاران ۲۰۱۹؛ قبولی و کابوسی ۲۰۲۲).

افزایش محتوای پرولین در گیاهان تلقیح شده با قارچ در گزارشات زیادی اشاره شده است (وانگ و همکاران ۲۰۱۵؛ قبولی و همکاران ۲۰۱۸) که با نتایج بدست آمده در این پژوهش همخوانی دارد. گزارش شده است که

نتایج این پژوهش نشان داد که همزیستی قارچ باعث افزایش محتوای کلروفیل در گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان تلقیح نشده گردید. اثرات مثبت قارچ بر محتوای کلروفیل و کاروتنوئید قبلاً در برخی گیاهان خصوصاً تحت شرایط تنش گزارش شده است (شهابی‌وند و همکاران ۲۰۱۷؛ قبولی و همکاران ۲۰۱۵). به نظر می‌رسد قارچ با تاثیر بر روی پروتئین‌های دخیل در فرآیند فتوسنتز و چرخه کالوین و افزایش بیان آن‌ها، نقش موثری در حفظ و پایداری فتوسنتز ایفا می‌کند (کریمی و همکاران ۲۰۱۵). افزایش محتوای کلروفیل در گیاهان تلقیح شده با قارچ *S. indica* می‌تواند به دلیل بهبود وضعیت آبی گیاه و جذب بهتر عناصر معدنی خصوصاً فسفر و منیزیم در گیاهان تلقیح شده باشد. مکانیزم‌های دیگری مانند بهبود ویژگی‌های برگ، افزایش بیان سیستم آنتی اکسیدانی و حفظ گرانا در کلروپلاست‌ها نیز در بهبود فتوسنتز در گیاهان تلقیح شده موثر است (شهابی‌وند و همکاران ۲۰۱۷).

تیمار پتاسیم میزان کلروفیل کل را در آزمایش حاضر افزایش داد که با نتایج اصغرپور و حیدری (۲۰۱۱) همخوانی دارد. افزایش کلروفیل می‌تواند به افزایش تحمل به تنش خشکی کمک کند که ممکن است به دلیل نقش پتاسیم در فعال‌سازی بسیاری از آنزیم‌ها، سنتز پروتئین، فتوسنتز، رابطه آب و حرکت روزنه‌ای در گیاهان باشد. گزارش داده شده است که پتاسیم سطوح اسید آبسازیک را کاهش می‌دهد و لذا باز شدن روزنه‌ها را افزایش می‌دهد (مانسیف و همکاران ۲۰۲۲).

کاروتنوئید رنگدانه‌ای است که مقاومت به تنش خشکی را در گیاهان افزایش می‌دهد. کاروتنوئیدها به‌عنوان یک آنتی اکسیدان مؤثر عمل نموده و از پراکسیداسیون لیپید ممانعت کرده و در پایداری غشاء نقش مهمی دارند (فاروق و همکاران ۲۰۰۹). در مطالعه حاضر، تنش خشکی باعث افزایش محتوای کاروتنوئید گردید. افزایش مقدار کاروتنوئیدها تحت شرایط تنش کم آبی در برگ‌ها، احتمالاً به دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در برابر رادیکال‌های آزاد است. به نظر می‌رسد قارچ با افزایش میزان کاروتنوئیدها از آسیب به دستگاه فتوسنتزی توسط رادیکال‌های آزاد اکسیژن‌جوگیری و به پایداری غشاء کمک می‌کند (کابوسی و همکاران ۲۰۲۲). مکانیسم

کاهش پایداری آنها می‌باشد که احتمالاً نتیجه تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی است. وانگ و هانگ (۲۰۰۴) گزارش کردند که پایداری غشاء در شرایط تنش خشکی کاهش می‌یابد که با نتایج بدست آمده در پژوهش حاضر تطابق دارد. قارچ می‌تواند توسط جلوگیری از تشکیل ROSها تحت شرایط تنش، بطور نسبی با تنش مقابله کند و مانع تجزیه لیپیدها شده یا تجزیه آنها را به تاخیر اندازد. در این شرایط، قارچ با کمک به پایداری غشاء و جلوگیری از نشت یونی به بهبود فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه کمک شایانی می‌نماید؛ به طوری که میزان نشت یونی در گیاهان تیمار شده با قارچ به طور معنی‌داری کمتر است (قبولی و همکاران ۲۰۱۸). در این پژوهش، کاهش نشت الکترولیت با افزایش محتوای کارتنوئید در گیاهان تلقیح‌شده همخوانی دارد و نشان‌دهنده تاثیر قارچ بر حفظ کارایی غشاء و دستگاه فتوسنتزی در شرایط تنش می‌باشد. گیاهانی که در معرض تنش‌های محیطی مختلف هستند، تغییراتی را در نفوذپذیری غشاء نشان می‌دهند که منجر به از دست دادن یکپارچگی غشا می‌شود. پتاسیم نقش معنی‌داری در تعادل یکپارچگی غشاء و تنظیم حرکت روزنه‌ای و فشار اسمزی دارد (فیاض و همکاران ۲۰۱۴). به نظر می‌رسد کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در گیاهان تیمار شده با پتاسیم با تنظیم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنها توسط پتاسیم مرتبط باشد. بر اساس نتایج آکسو و آلتای (۲۰۲۰) آسیب به غشاء با کاربرد پتاسیم کاهش پیدا کرد.

مالون دی‌آلدئید

بررسی جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی قارچ، پتاسیم و خشکی و همچنین اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه بر محتوای مالون دی‌آلدئید معنی‌دار می‌باشد (جدول ۳). بر اساس نتایج مقایسه میانگین تیمارها، بیشترین میزان مالون دی‌آلدئید (۲۱/۲۴ میکروگرم بر گرم وزن تر) در تیمار بدون قارچ و تیمار پتاسیم در شرایط تنش خشکی و کمترین میزان مالون دی‌آلدئید (۷/۳۶ میکروگرم بر گرم وزن تر) در تیمار تلقیح‌شده و پتاسیم ۳ درصد در شرایط نرمال مشاهده شد. همچنین با وجود اثر افزایشی تنش خشکی بر این صفت، تیمار با قارچ و پتاسیم توانسته است اثرات منفی

قارچ *S. indica* از راه‌های مختلف نظیر افزایش سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، اسمولیت‌ها (به‌خصوص پرولین) و حفظ رنگیزه‌های کلروفیلی موجب افزایش تحمل به تنش در گیاه میزبان می‌گردد. در گوجه فرنگی، قارچ بیان ژن *P5CS* را افزایش می‌دهد که کد کننده آنزیم دخیل در بیوسنتز پرولین است (عزیزی و همکاران ۲۰۲۱) و احتمالاً یکی از دلایل افزایش پرولین در گیاهان تلقیح‌شده باشد.

مطالعات نشان داده است کاربرد پتاسیم نه تنها مقاومت روزنه‌ای را افزایش می‌دهد، بلکه بطور همزمان باعث افزایش سنتز اسمولیت‌های آلی و پرولین می‌شود (بهرامی‌راد و حاجی‌بلند ۲۰۱۷؛ فیاسکونارا و همکاران ۲۰۱۹) که با نتایج بدست آمده در این پژوهش که نشان داد کاربرد پتاسیم باعث افزایش محتوای پرولین می‌گردد، همخوانی دارد. به نظر می‌رسد اثرات زیانبار تنش خشکی به دلیل تجمع بیشتر پرولین تحت تیمار پتاسیم کاهش یافته است (احمد و همکاران ۲۰۱۸). مکانیسم این اثر شناخته‌شده نیست و می‌تواند بازتاب اثر کبود پتاسیم بر متابولیسم اسیدهای آمینه یا اثر خاص وضعیت تغذیه-ای پتاسیم بر مسیر متابولیک پرولین باشد (بهرامی‌راد و حاجی‌بلند ۲۰۱۷).

نشت الکترولیت

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی قارچ، پتاسیم و خشکی و همچنین اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه بر نشت الکترولیت در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۳). بر اساس نتایج مقایسه میانگین تیمارها، تیمار تلقیح‌شده و پتاسیم ۳ درصد در شرایط نرمال کمترین (۱۵/۹۶ درصد) و تیمار بدون قارچ و پتاسیم در شرایط تنش خشکی بیشترین میزان نشت الکترولیت (۴۲/۰۳ درصد) را نشان دادند. نتایج به وضوح نشان داد تلقیح گیاهان با قارچ *S. indica* و تیمار با پتاسیم اثرات منفی تنش خشکی بر غشاء را کاهش داده است، به طوری که نشت الکترولیت در گیاهان تیمار شده با قارچ و پتاسیم پایین‌تر از گیاهان تیمار نشده خصوصاً در شرایط تنش خشکی بود (جدول ۲).

بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که یکپارچگی و پایداری غشاء برای گیاهان تحت تنش خشکی مهم هستند. افزایش نشت الکترولیت، نشانه‌ای از آسیب غشاها و

تنش را کاهش دهد، به طوری که میزان مالون دی آلدئید در گیاهان تیمار شده با قارچ و پتاسیم کمتر از گیاهان تیمار نشده بود و این کاهش در شرایط تنش خشکی مشهودتر بود (جدول ۴).

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس پرولین، نشت الکترولیت، مالون دی آلدئید، عناصر و آنزیم های آنتی اکسیدانت زیرین گیاه تحت تنش خشکی و تیمارهای قارچ و کود پتاسیم

منابع تغییر	درجه آزادی	نشت الکترولیت	مالون دی آلدئید	پتاسیم برگ	سدیم برگ	پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	کاتالاز
قارچ	۱	۵۶۹/۱۱**	۶۱/۸۴**	۰/۰۰۲*	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۱۰۲ ns	۰/۸۲۹**	۱۵/۱۱**
کود پتاسیم	۲	۱۹۷/۰۳**	۱۱۷/۴۸**	۰/۳۰۷**	۰/۰۰۵۲ ns	۰/۰۳۹ ns	۰/۷۷۹**	۱۵/۱۲۶**
قارچ × پتاسیم	۲	۱۵/۳۱**	۱۰/۳۲**	۰/۰۰۳**	۰/۰۰۳۵ ns	۰/۰۴۱ ns	۰/۰۳۴*	۱/۱۹۱**
تنش رطوبتی	۱	۷۸/۶۵**	۱۳۳/۰۲**	۰/۰۰۰۰۷ ns	۰/۰۰۰۳ ns	۰/۱۱۶ ns	۹/۹۴۹**	۱۲۴/۶۱**
قارچ × تنش	۱	۱۵/۹۰**	۲۴/۴۴**	۰/۰۰۱۹*	۰/۰۰۵۶ ns	۰/۰۴۱ ns	۰/۱۸۹**	۰/۹۳۵**
پتاسیم × تنش	۲	۹۳/۱۶**	۱۶/۲۸۵**	۰/۰۰۴**	۰/۰۰۰۰۵ ns	۰/۰۷۸ ns	۰/۰۹۸**	۳/۳۲۶**
قارچ × پتاسیم × تنش	۲	۴/۲۷۰**	۴۱/۴۸**	۰/۰۰۳**	۰/۰۰۷۶ ns	۰/۰۱۵ ns	۰/۱۲۳**	۰/۶۵۵**
خطای آزمایش	۲۴	۰/۳۲۲	۰/۰۸۶	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۰۳	۰/۰۴۱	۰/۰۱۰	۰/۰۹۷
ضریب تغییرات	-	۲/۲۹	۲/۱۷	۲/۲۷	۲۱/۱۴	۶/۲۱	۷/۹۲	۷/۵۶

ns و ** و * به ترتیب غیر معنی داری و معنی داری در سطح ۱ و ۵ درصد می باشد.

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات مالون دی آلدئید، پتاسیم و آنزیم های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز زیرین گیاه تحت تنش خشکی و تیمارهای قارچ و کود پتاسیم

تیمارها	مالون دی آلدئید (میکروگرم/گرم وزن تر)	پتاسیم (میلی گرم/گرم وزن خشک)	پراکسیداز (واحد/میلی گرم پروتئین)	کاتالاز (واحد/میلی گرم پروتئین)
بدون پتاسیم	۱۶/۵۹۸ ± ۰/۱۶ ^c	۰/۷۴۰ ± ۰/۰۱۲ ^e	۰/۴۳۹ ± ۰/۰۵ ^f	۱/۱۵ ± ۰/۱۸ ^h
	۲۱/۲۴۳ ± ۰/۱۶ ^a	۰/۶۷۳ ± ۰/۰۱۲ ^f	۱/۳۳۵ ± ۰/۰۵ ^c	۴/۴۲ ± ۰/۱۸ ^d
تلقیح نشده	۱۱/۴۰۱ ± ۰/۱۶ ^g	۰/۸۹۱ ± ۰/۰۱۲ ^{b-c}	۰/۶۸۳ ± ۰/۰۵ ^e	۱/۸۳ ± ۰/۱۸ ^g
پتاسیم ۱ درصد	۱۸/۲۲۹ ± ۰/۱۶ ^b	۰/۸۷۹ ± ۰/۰۱۲ ^c	۱/۶۱۵ ± ۰/۰۵ ^b	۴/۵۶ ± ۰/۱۸ ^d
پتاسیم ۳ درصد	۸/۶۷۶ ± ۰/۱۶ ^e	۱/۰۴۰ ± ۰/۰۱۲ ^a	۰/۸۶۶ ± ۰/۰۵ ^d	۲/۳۷ ± ۰/۱۸ ^{f-g}
	۱۳/۰۸۲ ± ۰/۱۶ ^e	۱/۰۶۴ ± ۰/۰۱۲ ^a	۱/۷۵۷ ± ۰/۰۵ ^b	۶/۵۶ ± ۰/۱۸ ^b
بدون پتاسیم	۱۰/۶۸۸ ± ۰/۱۶ ^h	۰/۷۷۲ ± ۰/۰۱۲ ^e	۰/۵۱۷ ± ۰/۰۵ ^{e-f}	۲/۶۴ ± ۰/۱۸ ^f
	۱۷/۷۷۹ ± ۰/۱۶ ^b	۰/۷۵۱ ± ۰/۰۱۲ ^e	۱/۷۶۸ ± ۰/۰۵ ^b	۵/۵۵ ± ۰/۱۸ ^c
تلقیح شده	۱۰/۴۶۹ ± ۰/۱۶ ^h	۰/۸۴۴ ± ۰/۰۱۲ ^d	۰/۹۸۴ ± ۰/۰۵ ^d	۲/۰۸ ± ۰/۱۸ ^g
پتاسیم ۱ درصد	۱۵/۰۰۱ ± ۰/۱۶ ^d	۰/۹۱۹ ± ۰/۰۱۲ ^b	۱/۷۷۲ ± ۰/۰۵ ^b	۵/۶۲ ± ۰/۱۸ ^c
	۷/۳۵۵ ± ۰/۱۶ ^e	۱/۰۶۵ ± ۰/۰۱۲ ^a	۰/۹۶۲ ± ۰/۰۵ ^d	۳/۵۵ ± ۰/۱۸ ^e
پتاسیم ۳ درصد	۱۲/۲۰۸ ± ۰/۱۶ ^f	۱/۰۴۷ ± ۰/۰۱۲ ^a	۲/۵۱۳ ± ۰/۰۵ ^a	۹/۲۲ ± ۰/۱۸ ^a

میانگین هایی که در یک ستون با حداقل یک حرف مشترک مشخص شده اند، با یکدیگر اختلاف معنی داری بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

تنش اکسیداتیو ناشی از تنش کم آبی به آسیب بافتی منجر می‌شود. در این شرایط، پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع افزایش می‌یابد و در اثر حمله رادیکال‌های آزاد به لیپیدها، آلدئیدهای گوناگونی از جمله مالون دی آلدئید ایجاد می‌شود (آکسو و آلتای ۲۰۲۰). خشکی میزان نشت الکترولیت و مالون دی آلدئید را مطالعه حاضر افزایش داد که در تطابق با مطالعات قبلی می‌باشد (قبولی و همکاران ۲۰۱۵؛ عبدالعزیز و همکاران ۲۰۱۹). نتایج همچنین مشخص کرد که قارچ محتوای مالون دی آلدئید را طی تنش خشکی کاهش می‌دهد. این نتایج ممکن است نقش این قارچ را در تثبیت یکپارچگی غشاء و مبارزه با تنش اکسیداتیو ناشی از ROS تایید کند. این می‌تواند توسط نتایج خلید و همکاران (۲۰۱۸) حمایت شود که در آن قارچ محتوای مالون دی آلدئید را برگ های *Cassia angustifolia* کاهش داد. به گفته پژوهشگران دیگر، پتاسیم با کاهش میزان مالون دی آلدئید از خسارت به غشاء جلوگیری می‌کند (فیاض و بازاید ۲۰۱۴).

عناصر سدیم و پتاسیم

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی پتاسیم، اثرات متقابل پتاسیم × قارچ و پتاسیم × تنش و اثرات سه‌گانه در سطح ۱ درصد و اثر اصلی قارچ و اثرات متقابل قارچ × تنش در سطح ۵ درصد معنی‌دار می‌باشد؛ اما اثر اصلی خشکی بر این صفت معنی‌دار نشد (جدول ۳). بر اساس نتایج مقایسه میانگین تیمارها، تیمار تلقیح‌شده و پتاسیم ۳ درصد در شرایط نرمال و تیمار تلقیح‌نشده بدون کاربرد پتاسیم تحت تنش خشکی به ترتیب دارای بیشترین (۱/۰۶۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و کمترین (۰/۶۷۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) میزان پتاسیم برگ بودند (جدول ۴). همچنین نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثرات اصلی پتاسیم، قارچ و خشکی و همچنین اثرات متقابل آنها بر غلظت سدیم برگ گیاه زرین گیاه معنی‌دار نبود. پتاسیم نقش حیاتی در رشد گیاه و فتوسنتز دارد، چون باعث افزایش مستقیم رشد، شاخص سطح

برگ و جذب دی اکسید کربن می‌شود و انتقال مواد فتوسنتزی به خارج برگ را تسهیل می‌کند. پتاسیم همچنین در تنظیم اسمزی و کنترل روزنه‌ای نقش ایفا می‌کند (دیویس و همکاران ۲۰۰۲). در این آزمایش، تنش خشکی غلظت پتاسیم را کاهش و غلظت سدیم را افزایش داد. کاهش در پتاسیم می‌تواند با کاهش در فراهمی، جذب و انتقال این عناصر تحت شرایط تنش‌زا ارتباط داشته باشد. اثرات قارچ بر محتوای پتاسیم در چندین مطالعات گزارش شده است (کرد و همکاران ۲۰۱۹؛ کابوسی و همکاران ۲۰۲۲). مشخص است که طی تنش خشکی، قارچ وضعیت تغذیه‌ای گیاهان میزبان را توسط تغییرات مختلف یا در ریزوسفر یا در گیاه میزبان بهبود می‌بخشد. قارچ با بهبود سیستم ریشه‌ای میزبان سطح جذب را افزایش می‌دهد و هیف‌های قارچ نیز توانایی گیاهان برای نفوذ به خاک‌های عمیق‌تر را بهبود می‌بخشد (بجاج و همکاران ۲۰۱۵). تلقیح با قارچ احتمالاً انتقال‌دهنده‌های پتاسیم با تمایل بالا (HAK) را تحت تاثیر قرار داده و از این طریق جریان بارگیری پتاسیم در آوند چوب را افزایش می‌دهد (وانگ و همکاران ۲۰۱۵). نتایج ما نشان داد که قارچ هم‌ایستایی تغذیه‌ای و وضعیت آبی را بهبود می‌بخشد. این تغییرات ممکن است اثرات منفی تنش خشکی را تخفیف داده و رشد و مقاومت به تنش خشکی را در زرین گیاه افزایش دهد.

مطالعات زیادی نشان داده است که کاربرد پتاسیم برگی و یا خاکی باعث افزایش محتوای پتاسیم برگ‌های گیاه می‌شود. در یک مطالعه، تاثیر مثبت کاربرد پتاسیم بر محتوای پتاسیم برگ و همچنین نسبت پتاسیم/سدیم مشاهده شد؛ در حالیکه در مورد محتوای سدیم، کاربرد پتاسیم اثر منفی داشت (جان و همکاران ۲۰۲۰). در آزمایش دیگری، کاربرد خارجی پتاسیم باعث کاهش جذب سدیم، افزایش پتاسیم و در نتیجه بهبود عملکرد دانه و سرعت فتوسنتز شد (احمد ۲۰۱۴). افزایش غلظت پتاسیم از طریق افزودن پتاسیم ممکن است به رقابت برای ورود پتاسیم و سدیم از طریق محل‌های اتصال حامل‌های غشای سلولی نسبت داده شود که ورود سدیم را کاهش می‌دهد (رافائل و همکاران ۲۰۱۸).

در گیاهان تلقیح شده در شرایط تنش خشکی تغییر دهد. یون‌های پتاسیم می‌توانند با روش‌های مختلفی از جمله تنظیم فعالیت‌های آنزیم‌های مرتبط با زدودن ROSها، تولید آنها را کاهش دهند (آهنگر و اگروال ۲۰۱۷). در یک مطالعه، گارسیا مارتی و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که تجمع بالاتر پتاسیم در سلول‌های گیاهی می‌تواند تنش اکسیداتیو را بوسیله افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان نظیر آسکوربات پراکسیداز تخفیف دهد. در مجموع، به نظر می‌رسد که قارچ *S. indica* و پتاسیم نقش مهمی در زدودن رادیکال‌های آزاد دارند و از اینرو از پراکسیداسیون لیپیدها و خسارت به ماکرومولکول‌ها توسط ROS اضافی تولیدشده توسط تنش ممانعت می‌کنند. این ایده می‌تواند توسط نتایج بدست آمده در بخش‌های دیگر این پژوهش که نشان داد نشت الکترولیت و میزان مالون دی آلدئید در گیاهان تیمار شده با قارچ و پتاسیم کاهش می‌یابد، تایید می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی

مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثرات تلقیح با قارچ اندوفیت *S. indica* و محلول پاشی برگی پتاسیم بر رشد و برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک گیاه زین گیاه در شرایط نرمال و تنش خشکی انجام شد. نتایج نشان داد که تنش خشکی بر اغلب صفات اندازه گیری شده تاثیر و با داشتن اثرات منفی سبب کاهش رشد گردید؛ از طرفی تلقیح گیاهان با قارچ و محلول پاشی برگی پتاسیم، به تنهایی و یا در ترکیب با هم، سبب بهبود صفات بررسی شده گردیده است؛ بطوریکه در گیاهان تیمار شده با قارچ و پتاسیم افزایش معنی‌داری در وزن خشک ریشه و اندام هوایی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، سطح پرولین، غلظت پتاسیم و آنزیم‌های آنتی اکسیدان (آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز) مشاهده شد. بعلاوه، هم قارچ و هم پتاسیم میزان محتوای مالون دی آلدئید و نشت یونی ناشی از پراکسیداسیون لیپیدها را نیز کاهش دادند. در مجموع نتایج نشان داد پتانسیل استفاده از قارچ‌های همزیست مانند *S. indica* و همچنین استفاده بهینه از عناصر تغذیه‌ای مانند پتاسیم می‌تواند نقش مهمی در مقابله با اثرات محدودکننده و مضر تنش خشکی داشته باشد و لذا امکان

آنزیم‌های آنتی اکسیدان (پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز)

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی قارچ، پتاسیم و خشکی و همچنین اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه بر فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز برگ زین گیاه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد؛ اما هیچکدام از اثرات ساده و متقابل بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار نبود (جدول ۳). بر اساس نتایج مقایسه میانگین تیمارها، تیمار تلقیح-شده و پتاسیم ۳ درصد در شرایط تنش خشکی بیشترین میزان آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز (به ترتیب ۲/۵۱ و ۹/۲۲ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و تیمار تلقیح‌نشده بدون پتاسیم در شرایط نرمال کمترین میزان آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز (به ترتیب ۰/۴۴ و ۱/۱۵ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) را نشان داد (جدول ۴).

سطح مناسب ROS در سلول‌های گیاهی می‌تواند از گیاهان در برابر تنش‌های غیرزیستی محافظت کند. با این حال، تحت شرایط محیطی تنش‌زا، ROSها بیش از حد تولید می‌شوند که منجر به پراکسیداسیون لیپیدی، مهار فعالیت‌های آنزیمی و تثبیت دی اکسید کربن، کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعال‌سازی مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی می‌گردد (واریاچ و همکاران ۲۰۱۲). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان تحت تنش خشکی، نشان‌دهنده نقش مهم آن‌ها در دفاع آنتی‌اکسیدانی و نوعی سازگاری با شرایط تنش است (سای و همکاران ۲۰۲۰).

در این آزمایش تنش خشکی، پتاسیم و تلقیح با قارچ فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را در زین گیاه افزایش داده است. نتایج ما با یافته‌های پیشین تطابق دارد (سای و همکاران ۲۰۲۰). سان و همکاران (۲۰۱۰) افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهان تلقیح‌شده با قارچ تحت تنش خشکی را مشاهده کرده‌اند. این پیشنهاد می‌دهد که قارچ ممکن است در چندین پاسخ فیزیولوژیکی از طریق فعال کردن آنزیم‌های اکسیدان دخالت کند. فیتوهورمون‌هایی مانند اکسین و سیتوکنین تولید شده توسط قارچ ممکن است سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را

کشت گیاهان دارویی نظیر زرین گیاه را در مناطق خشک و نیمه خشک کشور فراهم آورد که این مسئله با توجه به اهمیت گیاه دارویی زرین گیاه و نیز در معرض خطر انقراض بودن آن حائز اهمیت است.

سیاسگزاری
بدینوسیله از حمایت‌های مالی دانشگاه ملایر جهت انجام این پژوهش قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

- Abbaspour H, Saeidi-Sar S, Afshari H and Abdel-Wahhab MA. 2012. Tolerance of mycorrhiza infected pistachio (*Pistacia vera* L.) seedling to drought stress under glasshouse conditions. *Journal of Plant Physiology*, 169(7): 704–709.
- Abdelaziz M, Abdelsattar M, Abdeldaym E, Atia M, Mahmoud A, Saad M and Heribert H. 2019. *Piriformospora indica* alters Na⁺/K⁺ homeostasis, antioxidant enzymes and LeNHX1 expression of greenhouse tomato grown under salt stress. *Scientia Horticulturae*, 256: 108532.
- Ahanger MA and Agarwal RM. 2017. Salinity stress induced alterations in antioxidant metabolism and nitrogen assimilation in wheat (*Triticum aestivum* L) as influenced by potassium supplementation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 115: 449-460.
- Ahmad B. 2014. Interactive effects of silicon and potassium nitrate in improving salt tolerance of wheat. *Journal of Integrative Agriculture*, 13(9): 1889-1899.
- Ahmad Z, Anjum S, Waraich EA, Ayub MA, Ahmad T, Tariq RMS, Ahmad R and Iqbal MA. 2018. Growth, physiology, and biochemical activities of plant responses with foliar potassium application under drought stress—a review. *Journal of Plant Nutrition*, 41(13): 1734-1743.
- Ahmadvand G and Hajinia S. 2018. Effect of endophytic fungus *Piriformospora indica* on yield and some physiological traits of millet (*Panicum miliaceum*) under water stress. *Crop Pasture Science*, 69 (6): 594–605.
- Aksu G and Altay H, 2020. The effects of potassium applications on drought stress in sugar beet. *Sugar Tech*, 22(6):1092-1102.
- Alloway BJ. 2004. Zinc in Soils and Crop Nutrition. Int. Zinc Assoc. (IZA), Belgium, 128p.
- Amiri R, Nikbakht A and Etemadi N. 2015. Alleviation of drought stress on rose geranium [*Pelargonium graveolens* (L.) Herit.] in terms of antioxidant activity and secondary metabolites by mycorrhizal inoculation. *Scientia Horticulturae*, 197: 373–380.
- Arora M, Saxena P, Abdin MZ and Varma A. 2020. Interaction between *Piriformospora indica* and *Azotobacter chroococcum* diminish the effect of salt stress in *Artemisia annua* L. by enhancing enzymatic and non-enzymatic antioxidants. *Symbiosis*, 80(1): 61-73.
- Asgharipour MR and Heidari M. 2011. Effect of potassium supply on drought resistance in sorghum: plant growth and macronutrient content. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 4893: 197–204.
- Azizi M, Fard E and Ghabooli M. 2021. *Piriformospora indica* affect drought tolerance by regulation of genes expression and some morphophysiological parameters in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Scientia Horticulturae*, 287: 110260
- Bahrami-Rad S and Hajiboland R. 2017. Effect of potassium application in drought-stressed tobacco (*Nicotiana rustica* L.) plants: Comparison of root with foliar application. *Annals of Agricultural Sciences*, 62(2): 121-130.

- Bajaj R, Hu W, Huang Y, Chen S, Prasad R, Varma A and Bushley E. 2015. The beneficial root endophyte *Piriformospora indica* reduces egg density of the soybean cyst nematode. *Biological Control*, 90:193-199.
- Bao AK, Wang SM, Wu GQ, Xi JJ, Zhang JL and Wang CM. 2009. Overexpression of the Arabidopsis H⁺-PPase enhanced resistance to salt and drought stress in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Science*, 176(2): 232–240 .
- Barrs HD and Weatherley PE. 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Australian journal of biological sciences*, 15 (3): 413-428.
- Bates LS, Walderd RP and Teare ID. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39: 205-208.
- Gallego SM, Benavides MP and Tomaro ML. 1996. Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement of oxidative stress. *Plant Science*, 121(2): 151-159.
- Cakmak I. 2005. The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168(4): 521–530.
- Cappellari L, Chiappero J, Palermo TB, Giordano W and Banchio E. 2020. Volatile organic compounds from rhizobacteria increase the biosynthesis of secondary metabolites and improve the antioxidant status in *Mentha piperita* L. grown under salt stress, *Agronomy*, 10: 1094 .
- Ferreira LC, Cataneo AC, Remaeh LMR, Corniani N, de Fátima Fumis T, de Souza YA, Scavroni J and Soares BJA. 2010. Nitric oxide reduces oxidative stress generated by lactofen in soybean plants. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 97(1): 47-54.
- Chance B and Maehly AC. 1955. Assay of catalase and peroxidase. *Methods in Enzymology*, 2: 764–775.
- Cheng C, Li D, Wang B, Liao B, Qu P, Liu W, Zhang Y and Lü P. 2022. *Piriformospora indica* colonization promotes the root growth of *Dimocarpus longan* seedlings. *Scientia Horticulturae*, 301: 111137.
- Davies J, Olalde-Portugal V, Aguilera-Gomez L, Alvarado MJ, Ferrera-Cerrato RC and Boutton TW. 2002. Alleviation of drought stress of Chile ancho pepper (*Capsicum annuum* L. cv. San Luis) with arbuscular mycorrhiza indigenous to Mexico. *Scientia Horticulturae*, 92(3-4): 347-359.
- Dief HES, Hashem ESA, Fawzan S and El-Sayed AS. 2021. Alleviation of salt stress in *Triticum aestivum* by bioprimering with *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 24(1): 103-116.
- Ershadi A, Karimi R and Naderi Mahdei K. 2016. Freezing tolerance and its relationship with soluble carbohydrates, proline and water content in 12 grapevine cultivars. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(1): 1-10.
- Farkhondeh R, Nabizadeh E and Jalilnezhad N. 2012. Effect of salinity stress on proline content, membrane stability and water relations in two sugarbeet cultivars. *International Journal of Agriculture Research*, 2(5): 385-392.
- Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D and Basra S. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. In *Sustainable agriculture*, 153-188.
- Fattahi M, Bonfill M, Fattahi B, Torras-Claveria L, Sefidkon F, Cusido RM and Palazon J. 2016. Secondary metabolites profiling of *Dracocephalum kotschy* Boiss at three phenological stages using uni-and multivariate methods. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 3(4): 177-185.

- Fayez AK and Bazaid AS. 2014. Improving drought and salinity tolerance in barley by application of salicylic acid and potassium nitrate. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 13: 45–55.
- Fayez KA, Radwan DEM and Mohamed AK. 2014. Fusilade herbicide causes alterations in chloroplast ultrastructure, pigment content and physiological activities of peanut leaves. *Photosynthetica*, 52: 548–554.
- Fernández V and Brown PH. 2013. From plant surface to plant metabolism: the uncertain fate of foliar-applied nutrients. *Frontiers in Plant Science*, 4: 289.
- Fiasconaro ML, Lovatoa, ME, Antolin MC, Clementia LA, Torres N, Gervasioa S and Martina CA. 2019. Role of proline accumulation on fruit quality of pepper (*Capsicum annuum* L.) grown with a K-rich compost under drought conditions. *Scientia Horticulturae*, 249: 280–288.
- Forde B and Lorenzo H. 2001. The nutritional control of root development. *Plant Soil*, 232: 51–68.
- Garcia-Marti M, Carmen Pinero M, Garcia-Sanchez F, Mestre TC, Lopez-Delacalle M, Martinez V and Rivero RM. 2019. Amelioration of the oxidative stress generated by simple or combined abiotic stress through the K⁺ and Ca²⁺ supplementation in tomato plants. *Antioxidants* 8(4): 81 .
- Ghabooli M and Kaboosi E. 2022. Alleviation of the adverse effects of drought stress using a desert adapted endophytic fungus and glucose in tomato. *Rhizosphere*, 21: 100481.
- Ghabooli M, Hosseini salekdeh G and Sepehri M. 2015. The Effect of Mycorrhiza-like Fungus *Piriformospora indica* on Some Morphophysiological Traits of Rice under Normal and Drought Stress Conditions. *Plant Production Technology*, 7(1): 59-69.
- Ghabooli M, Khatabi B, Ahmadi FS, Sepehri M, Mirzaei M, Amirkhani A and Salekdeh GH. 2013. Proteomics study reveals the molecular mechanisms underlying water stress tolerance induced by *Piriformospora indica* in barley. *Journal of Proteomics*, 94: 289-301.
- Ghabooli M, Lorestani S, Movahedi Z and Karimi R. 2018. An evaluation of fungus *Piriformospora indica* effects on some morphophysiological traits of valerine under drought stress. *Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research*, 13(50): 41-52 (In Persian).
- Gupta PK and Gupta P. 1999. Soil, plant, water and fertilizer analysis, *Agro Botanica*. Hare PD and Cress WA.
- Maswada HF, Sunoj VS and Prasad PV. 2021. A comparative study on the effect of seed pre-sowing treatments with microwave radiation and salicylic acid in alleviating the drought-induced damage in wheat. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40(1): 48-66.
- Izadi F, Ghabooli M, Rostami M and Movahedi Z. 2021. Evaluation of fungus *Piriformospora indica* Effects on Some Morphophysiological Traits of Radish under Heavy Metal Stress. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 31(3): 117-129 (In Persian).
- Jafari M, Yari M, Ghabooli M, Sepehri M, Ghasemi E and Jonker A. 2018. Inoculation and co-inoculation of alfalfa seedlings with root growth promoting microorganisms (*Piriformospora indica*, *Glomus intraradices* and *Sinorhizobium meliloti*) affect molecular structures, nutrient profiles and availability of hay for ruminants. *Animal nutrition*, 4(1): 90-99.
- Jan M, Anwar ul Haq M, ul Haq T, Ali A, Hussain S and Ibrahim M. 2020. Protective effect of potassium application on NaCl induced stress in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) genotypes. *Journal of Plant Nutrition*, 43(13):1988-1998.

- Kaboosi E, Ghabooli M and Karimi R. 2022. *Piriformospora indica* inoculants enhance flowering, yield, and physiological characteristics of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in different growth phases. Iranian Journal of Plant Physiology, 12(3): 4183-4194.
- Karimi F, Sepehri M, Afuni M and Hajabbasi M. 2015. Effect of Endophytic Fungus, *Piriformospora indica*, on Barley Resistance to Lead. Isfahan University of Technology, 19 (71): 311-321 (In Persian).
- Khalid M, Hassani D, Liao J, Xiong X, Bilal M and Huang D. 2018. An endosymbiont *Piriformospora indica* reduces adverse effects of salinity by regulating cation transporter genes, phytohormones, and antioxidants in Brassica campestris ssp. Chinensis. Environmental and experimental botany, 153: 89-99.
- Khalid M, Rahman SU and Huang DF. 2019. Molecular mechanism underlying *Piriformospora indica*-mediated plant improvement/protection for sustainable agriculture. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 51(3): 229-242.
- Kilam D, Saifi M, Abdin MZ, 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.
- Kord H, Fakheri B, Ghabooli M, Solouki M, Emamjomeh A, Khatabi B, Sepehri M, Salekdeh GH and Ghaffari MR. 2019. Salinity-associated microRNAs and their potential roles in mediating salt tolerance in rice colonized by the endophytic root fungus *Piriformospora indica*. Functional & integrative genomics, 19(4): 659-672 .
- Mafakheri S, Asghari B and Nikjuyan M. 2018. Effect of nano zinc chelate on morpho-physiological and phytochemical characteristics of *Dracocephalum kotschyi* Bross in drought stress condition. Iranian Journal of Horticultural Science, 49(3): 755-767 (in Persian).
- Mubarak MU, Zahir M, Ahmad S and Wakeel A. 2016. Sugar beet yield and industrial sugar contents improved by potassium fertilization under scarce and adequate moisture conditions. Journal of Integrative Agriculture, 15(11): 2620-2626.
- Munsif F, Shah T, Arif M, Jehangir M, Afridi MZ, Ahmad I, Jan BL and Alansi S. 2022. Combined effect of salicylic acid and potassium mitigates drought stress through the modulation of physio-biochemical attributes and key antioxidants in wheat. Saudi Journal of Biological Sciences, 29(6): 103294.
- Nakano Y and Asada K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology, 22: 867-880.
- Nanda R and Agrawal V. 2018. *Piriformospora indica*, an excellent system for heavy metal sequestration and amelioration of oxidative stress and DNA damage in *Cassia angustifolia* Vahl under copper stress. Ecotoxicology and environmental safety, 156: 409-419.
- Prasad R, Kamal S, Sharma PK, Oelmüller R and Varma A. 2013. Root endophyte *Piriformospora indica* DSM 11827 alters plant morphology, enhances biomass and antioxidant activity of medicinal plant *Bacopa monniera*. Journal of basic microbiology, 53(12): 1016-1024.
- Rahimi A, Dovlati B, Amirnia R and Heydarzade S. 2019. Effect of application of mycorrhizal fungus and *Azotobacter* on physiological characteristics of *Trigonella foenum-graecum* L. under water stress conditions. Iranian Journal of Plant Biology, 11(4): 1-18 (in Persian).
- Reshna OP, Beena R, Joy M, Viji MM and Roy S. 2022. Elucidating the effect of growth promoting endophytic fungus *Piriformospora indica* for seedling stage salinity tolerance in contrasting rice genotypes. Journal of Crop Science and Biotechnology, 1-16.

- Rouphael Y, Raimondi G, Lucini L, Carillo P, Kyriacou MC, Colla G, Cirillo V, Pannico A, El-Nakhel C and De Pascale S. 2018. Physiological and metabolic responses triggered by omeprazole improve tomato plant tolerance to NaCl stress. *Frontiers in Plant Science*, 9: 249.
- Samarah NH, Alqudah AM, Amayreh JA and McAndrews GM. 2009. The effect of late-terminal drought stress on yield components of four barley cultivars. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 195:427-441.
- Saraswathi SG and Paliwal K. 2011. Drought induced changes in growth, leaf gas exchange and biomass production in *Albizia lebbeck* and *Cassia siamea* seedlings. *Journal of Environmental Biology*, 32(2): 173-178 .
- Shahabivand S, Parvaneh A and Aliloo AA. 2017. Root endophytic fungus *Piriformospora indica* affected growth, cadmium partitioning and chlorophyll fluorescence of sunflower under cadmium toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 145: 496-502.
- Shanker AK, Cervantes C, Loza-Tavera H and Avudainayagam S. 2005. Chromium toxicity in plants. *Environment international*, 31(5): 739-753.
- Sharma P, Kharkwal AC, Abdin MZ and Varma A. 2016. *Piriformospora indica*-mediated salinity tolerance in *Aloe vera* plantlets. *Symbiosis*, 72:103–115 .
- Siddique MRB, Hamid A and Islam MS. 2001. Drought stress effects on water relations of wheat. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 41: 35–39.
- Su ZZ, Wang T, Shrivastava N, Chen YY, Liu X, Sun C, Yin Y, Gao QK and Lou BG. 2017. *Piriformospora indica* promotes growth, seed yield and quality of *Brassica napus* L. *Microbiological research*, 199: 29-39.
- Sun C, Johnson JM, Cai D, Sherameti I, Oelmüller R and Lou B. 2010. *Piriformospora indica* confers drought tolerance in Chinese cabbage leaves by stimulating antioxidant enzymes, the expression of drought-related genes and the plastid-localized CAS protein. *Journal of plant physiology*, 167(12): 1009-1017.
- Tsai HJ, Shao KH, Chan MT, Cheng CP, Yeh KW, Oelmüller R and Wang SJ. 2020. *Piriformospora indica* symbiosis improves water stress tolerance of rice through regulating stomata behavior and ROS scavenging systems. *Plant signaling & behavior*, 15(2): 1722447.
- Varma A, Verma S, Sahay N, Bütehorn B and Franken P. 1999. *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. *Applied Environmental Microbiology*, 65: 2741-2744.
- Velikova V and Loreto F. 2005. On the relationship between isoprene emission and thermotolerance in *Phragmites australis* leaves exposed to high temperatures and during the recovery from a heat stress. *Plant, cell and environment*, 28(3): 318-327.
- Waller F, Achatz B, Baltruschat H, Fodor J, Becker K, Fischer M, Heier T, Hückelhoven R, Neumann C, Von Wettstein D and Franken P. 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(38): 13386-13391.
- Wang XG, Zhao HZX, Jiang JC, Li HC, Cong S, Wu D, Chen, YQ, Yu, HQ and Wang CY. 2015. Effects of potassium deficiency on photosynthesis and photoprotection mechanisms in soybean (*Glycine max* L.). *Journal of Integrative Agriculture*, 14: 856–863.
- Wang ZL and Huang BR. 2004. Physiological recovery of Kentucky bluegrass from simultaneous drought and heat stress. *Crop Science*, 44: 1729–1736.

- Waraich EA, Ahmad R, Halim A and Aziz T. 2012. Alleviation of temperature stress by nutrient management in crop plants: a review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 12: 221–244.
- Wu C, Li B, Wei Q, Pan R and Zhang W, 2019. Endophytic fungus *Serendipita indica* increased nutrition absorption and biomass accumulation in *Cunninghamia lanceolata* seedlings under low phosphate. *Acta Ecologica Sinica*, 39(1): 21-29.
- Xu Z, Pehlivan N, Ghorbani A and Wu C. 2022. Effects of *Azorhizobium caulinodans* and *Piriformospora indica* Co-Inoculation on Growth and Fruit Quality of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) under Salt Stress. *Horticulturae*, 8(4): 302.
- Zahoor R, Zhao W, Abid M, Dong H and Zhou Z. 2017. Potassium application regulates nitrogen metabolism and osmotic adjustment in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) functional leaf under drought stress. *Journal of Plant Physiology*, 215: 30–38.
- Zhang W, Wang J, Xu L, Wang A, Huang L, Du H, Qiu L and Oelmüller R. 2018. Drought stress responses in maize are diminished by *Piriformospora indica*. *Plant Signaling & Behavior*, 13(1): 1414121.