

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

فهیمة سراج، همت‌اله پیردشتی*، یاسر یعقوبیان و ولی‌اله قاسمی عمران

گروه زراعت، پژوهشکده 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 پژوهشکده 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 مدت یک ماه به گیاهچه‌ها اعمال شد و سپس صفات رویشی و فیزیولوژیک اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از تجزیه 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 (به ترتیب ۱۱۲ و ۱۵۶) و بخش هوایی (به ترتیب 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 متوسط (۵- بار) مشاهده شد. بنابراین، نتایج این پژوهش، کارایی مثبت تلقیح قارچ *P. indica* در افزایش تحمل گیاه دارویی استویا نسبت به تنش اسمزی بود.

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

مقدمه

خشکی و شوری نیز به سهم خود تعیین‌کننده بخش

درخورتوجهی از این پراکنش هستند (Kafi et al.,

2009). کاهش فشار تورژسانس می‌تواند نخستین اثر

تنش‌های محیطی از مهمترین عوامل تعیین‌کننده

الگوی پراکنش گیاهی در سطح جهان و تنش‌های

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

تخریب منابع آب و خاک، پژوهش در زمینه گیاهان مقاوم به شرایط نامساعد محیطی اهمیت دارد (Fallahi et al., 2009; Nezami et al., 2009). از این رو، روش‌های زیستی مبتنی بر استفاده از پتانسیل ریزجانداران مفید خاکزی در برقراری روابط همزیستی با گیاهان، راهکار مؤثری در افزایش تحمل 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، ریشه گیاه با قارچ به صورت یک واحد زنده فعالیت می‌کنند و از یک‌دیگر سود می‌برند (Kirch et al., 2000). میکوریزایی شدن 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 اهمیت این قارچ در بهبود تغذیه گیاهان، افزایش تحمل 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 محققان مانند Prasad و همکاران (۲۰۰۸) تأثیر *P. indica* را روی *Bacopa monniera* در شرایط درون شیشه‌ای ارزیابی و بیان کردند که رشد رویشی گیاهان تلقیح شده 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.

ناشی از تنش خشکی باشد که سرعت رشد سلول و اندازه نهایی آن را متأثر کند و حساسترین فرایند سلولی به تنش است (Bhatt and Srinivasa-Rao, 2005). سازش گیاهان به تنش خشکی نتیجه 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 شدت تنش، مدت تنش، گونه گیاهی و همچنین مرحله 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، توسعه برگ‌ها متوقف 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 حساس 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 پلی‌اتیلن گلایکول (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 در نظر گرفتن روند روبه‌رشد جمعیت، همراه با کاهش و

نشده است، ولی پژوهشگران (Noori Akandi, 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 کنترل شده انجام شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در زمستان ۱۳۹۴ در آزمایشگاه کشت بافت پژوهشکده 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 محاسبه مقدار NaCl و مانیتول برای هریک از سطوح شوری و خشکی به ترتیب 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 محاسبه شده برای هریک از آن‌ها استفاده شد.

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

از طرف دیگر، استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) گیاه علفی متعلق به خانواده 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 اهمیت دارد و کشت و کار آن در ایران نیز به تازگی آغاز شده است. هرچند که اطلاعات شفافی درباره 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 اهمیت بسیار زیادی در بررسی مقاومت گیاهان به تنش‌های غیرزنده محیطی و تجزیه و تحلیل ساز و کار تحمل 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 طور کلی واکنش ژنوتیپ‌های مختلف به تنش ایجاد شده را با دقت بیشتری بررسی کرد (Sayed Tabatabaei and Omid, 2009). هرچند در شرایط طبیعی، همزیستی بین استویا و قارچ *P. indica* گزارش

نمونه‌های برگ‌گی به مدت ۴۸ ساعت در آون و در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد، خشک شد و محتوای رطوبت نسبی برگ‌ها با رابطه ۱ به دست آمد (Schonfeld *et al.*, 1988).

$$\text{رابطه ۱: } \text{RWC (\%)} = (\text{FW}-\text{DW})/(\text{TW}-\text{DW}) \times 100$$

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

برای اندازه‌گیری نشت الکترولیت، نمونه برگ‌گی در لوله‌های آزمایش دربردارنده 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 (EC₁). برای اندازه‌گیری میزان کل نشت الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، لوله‌های آزمایش به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه بن‌ماری با دمای ۹۰ درجه قرار داده شد و مجدداً هدایت الکتریکی نمونه‌ها ثبت شد (EC₂). سپس درصد نشت الکترولیت‌ها با رابطه ۲ محاسبه شد (Teutonica *et al.*, 1993).

$$\text{رابطه ۲: } \text{EL (\%)} = (\text{EC}_1/\text{EC}_2) \times 100$$

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

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

(1977) و در دمای ۲۴ درجه سانتیگراد به مدت دو هفته کشت شد. برای فراهم کردن نمونه‌های گیاهی استفاده‌شده در این بررسی نیز ریزنمونه‌های جوانه 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 درجه سانتیگراد نگهداری شدند. پس از رشد و ریشه‌دهی گیاهان در مدت ۱۴ روز، ریشه این گیاهان در طول ۳۰ ثانیه با سوسپانسیون قارچ *P. indica* آغشته شد و در محیط کشت‌های دارنده 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 نسخه ۴/۱)، درصد برگ سبز و وزن تر و خشک اندام‌های رویشی یعنی ساقه، برگ، ریشه، بخش هوایی و کل بوته با ترازوی حساس با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. برای تعیین وزن خشک اندام‌های گیاهی، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه 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 گسترش‌یافته گیاه برداشت و پس از توزین به لوله‌های آزمایش دارنده آب مقطر منتقل و پس از ۲۴ ساعت وزن آماس برگ تعیین شد. سپس

نتایج

صفات مورفولوژیک

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 ($P \leq 0/05$)، تعداد و درصد برگ سبز ($P \leq 0/01$) معنی‌دار بود. با توجه 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).

نتایج تجزیه و تحلیل میانگین مربعات صفات مطالعه‌شده بیان می‌کند که سطوح اسمزی بر شاخص‌های ارتفاع بوته، تعداد برگ سبز و سطح برگ ($P \leq 0/01$) و منبع اسمزی نیز بر ارتفاع بوته، قطر ساقه ($P \leq 0/01$) و درصد برگ سبز ($P \leq 0/05$)، 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

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.

بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین برهم‌کنش سطوح و منبع اسمزی، ارتفاع بوته در تیمار شاهد (نبودن تلقیح) در کاربرد NaCl و مانیتول با افزایش سطوح اسمزی، از ۱۲/۵۰ (در سطح اسمزی صفر) به ترتیب به ۹ و ۹/۶۶ سانتیمتر (در سطح اسمزی ۵- بار) و به ۳/۶۶ و ۴/۵ سانتیمتر (در سطح اسمزی ۱۰- بار) کاهش یافت. با وجود این، میزان این صفت در ترکیب NaCl و مانیتول (Na+M) با افزایش سطوح اسمزی تفاوت معنی‌داری نداشت. مطابق نتایج در کاربرد هم‌زمان NaCl و مانیتول (Na+M)، تیمار تلقیح قارچ، افزایش معنی‌دار ارتفاع گیاه در مقایسه با ترکیب‌های تیماری بدون تلقیح را موجب شد (جدول ۲). مطابق یافته‌های مربوط به برهم‌کنش سطوح، منبع اسمزی و همزیستی قارچی اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای تلقیح و بدون تلقیح برای صفت قطر ساقه مشاهده نشد و همه تیمارها در هر یک از منابع اسمزی در یک گروه آماری قرار گرفتند. به نظر می‌رسد که تلقیح قارچ بر صفت قطر ساقه تأثیری نداشته است (جدول ۲). از طرف دیگر، تعداد برگ سبز در تیمار بدون تلقیح، با افزایش

شوری (NaCl) در سطح اسمزی ۵- و ۱۰- بار نسبت به شاهد به ترتیب حدود ۱۸ و ۵۸ درصد و با افزایش خشکی (مانیتول) به ترتیب حدود ۱۳ و ۴۴ درصد کاهش یافت. همچنین، تعداد و درصد برگ سبز در سطح اسمزی ۵- بار در ترکیب هم‌زمان NaCl و مانیتول (Na+M) در تیمار تلقیح قارچ به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار بدون تلقیح (شاهد) بود. به طوری که همزیستی قارچ *P. indica*، تعداد و درصد برگ سبز گیاه را در مقایسه با شاهد به ترتیب حدود ۱۳۲ و ۱۰۹ درصد افزایش داد (جدول ۲). بر پایه نتایج مقایسه میانگین، افزایش سطوح تنش اسمزی از صفر تا ۵- و ۱۰- بار سطح برگ بوته را به صورت معنی‌داری کاهش داد. با این حال در سطح اسمزی صفر، تیمار تلقیح قارچ، افزایش معنی‌دار سطح برگ گیاه در مقایسه با ترکیب تیماری بدون تلقیح (شاهد) را موجب شد. همچنین، میزان سطح برگ در ترکیب هم‌زمان NaCl و مانیتول (Na+M) در سطوح ۵- و ۱۰- بار در تیمار همزیستی قارچی نسبت به شاهد به ترتیب حدود ۱۴۴ و ۱۱۳ درصد افزایش نشان داد (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین برهم کنش 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 \pm SE (یا StD یا انحراف معیار یا خطای معیار) است. حرف یا حروف یکسان در هر ستون، نشان‌دهنده 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 ±۱/۱۵	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	-Pi	Na	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	Na	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
	-Pi	M	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	M	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
	-Pi	Na+M	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	Na+M	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	-Pi	Na	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	Na	۳/۳۳ ^g ±۰/۲۶	۰/۹۲ ^{a-d} ±۰/۱۱	۹/۰۰ ^{ef} ±۱/۰۱	۶۳/۰۰ ^{bc} ±۴۷/۸۲	۰/۵۷ ^c ±۰/۱۰
	-Pi	M	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	M	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
	-Pi	Na+M	۴/۸۳ ^{d-g} ±۰/۲۷	۰/۹۵ ^{a-d} ±۰/۰۳	۱۱/۶۶ ^{de} ±۰/۵۷	۹۲/۱۰ ^a ±۰/۳۴	۰/۶۳ ^c ±۰/۰۶
	+Pi	Na+M	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 تجزیه واریانس داده‌های مربوط به وزن تر اندام‌های رویشی نشان داد که اثر ساده سطوح اسمزی بر تمام صفات پژوهش شده 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 ($P \leq 0.01$)، در همزیستی با قارچ *P. indica* مشاهده شد. در این میان، برهم کنش سطوح و منبع اسمزی بر همه صفات بررسی شده، معنی‌دار

($P \leq 0.01$) بود. با وجود این، برهم کنش 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 به دست آمده، اثر معنی‌داری در برهم کنش سطوح، منبع اسمزی و همزیستی قارچی در تمام صفات پژوهش شده ($P \leq 0.01$) مشاهده شد (جدول ۳).

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

منابع تغییر	درجه 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	۹۱/۲۶ ^{ns}	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}	۱۳۲۰/۱۱ ^{ns}	۱۵۳۷/۲۷ ^{ns}	۹/۰۰ ^{ns}	۴۹۶/۹۱ ^{ns}
منبع × قارچ	۲	۲۶۲۱/۸۶**	۲۴۲۴/۷۷**	۸۳۰۰/۱۳**	۴۳/۸۶ ^{ns}	۱۳۵۰/۱۳۲**
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
ضرب تغییرات (درصد)	-	۲۱/۳۲	۱۴/۷۱	۱۴/۷۴	۲۲/۲۴	۱۲/۶۴

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

صفر، نتایج اثر همزیستی قارچی بیان کننده بهبود شایان توجه وزن تر برگ، بخش هوایی و کل بوته در گیاهچه‌های همزیست با قارچ نسبت به گیاهچه‌های شاهد بود. این افزایش برای وزن تر برگ، بخش هوایی و کل بوته نسبت به شاهد به ترتیب 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 تلقیح شده با قارچ *P. indica* بیشتر از گیاهان تلقیح نشده با قارچ بود؛ به طوری که این افزایش برای وزن تر برگ، بخش هوایی و کل بوته به ترتیب 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.

نتایج مقایسه 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 کل بوته کاهش نشان داد که میزان کاهش آن در تیمار خشکی ناشی از مانیتول نسبتاً بیشتر بود. به طوری که در تیمار بدون همزیستی، افزایش تنش اسمزی ناشی از مانیتول از صفر به ۱۰-، بار وزن تر ساقه، برگ، بخش هوایی و کل بوته را نسبت به سطح صفر به ترتیب حدود ۶۹، ۵۵، ۶۰ و ۸۳ درصد کاهش داد (جدول ۴). بر اساس یافته‌ها، اختلاف معنی داری 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 معنی دار و حدود ۱۱۷ درصدی این صفت را در مقایسه با تیمار بدون تلقیح موجب شد. از طرف دیگر در سطح اسمزی

جدول ۴- مقایسه میانگین برهم کنش 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 \pm SE یا \pm Std یا انحراف معیار یا خطای معیار) است. حرف یا حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده نبودن اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P < 0.05$ است).

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

وزن خشک اندام‌های رویشی

همچنین برهم کنش سطوح اسمزی و همزیستی قارچی بر وزن خشک برگ، بخش هوایی و وزن خشک کل بوته اثر معنی‌داری داشت. بر پایه نتایج به دست آمده، اثر معنی‌داری در برهم کنش منبع اسمزی و همزیستی قارچی بر وزن خشک اندام‌های رویشی گیاه به جز وزن خشک ریشه مشاهده شد. همچنین در بین صفات پژوهش شده، 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 کل بوته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۵).

با توجه به جدول تحلیل واریانس داده‌های وزن خشک اندام‌های رویشی گیاه استویا (جدول ۵)، اثر ساده 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 کل بوته اثر معنی‌داری ($P \leq 0.01$) داشت. از سوی دیگر، اثر معنی‌داری در همزیستی با قارچ *P. indica* بر صفات وزن خشک بخش هوایی و کل بوته مشاهده شد. اثر متقابل سطوح و منبع اسمزی نیز بر تمام صفات بررسی شده در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود.

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

منابع تغییر	درجه 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 ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد و ns، معنی دار نیست.

بدون تلقیح (شاهد) موجب شد؛ به طوری که این افزایش برای وزن خشک برگ به ترتیب حدود ۱۱۲ و ۱۵۶ درصد و برای وزن خشک بخش هوایی به ترتیب 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 تلقیح شده با قارچ، افزایش چشمگیری نسبت به گیاهان تلقیح نشده نشان دادند؛ به طوری که این افزایش به ترتیب حدود ۹۴ و ۱۰۳ درصد بود (جدول ۶).

بر طبق نتایج، وزن خشک اندام‌های رویشی شامل وزن خشک ساقه، برگ، ریشه، بخش هوایی و کل 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 کل بوته نسبت به سطح صفر به ترتیب 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

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

سطح اسمزی	منبع اسمزی	قارچ	وزن خشک ساقه	وزن خشک برگ	وزن خشک بخش هوایی	وزن خشک ریشه	وزن خشک کل
(میلی گرم 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
	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
-۵	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
	Na	-Pi	۵/۶۶ ^{def} ±۲/۵۱	۱۴/۵۰ ^{de} ±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
-۱۰	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 ساده 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 ($P \leq 0.01$) مشاهده شد. بر پایه نتایج، برهم کنش سطوح و منبع اسمزی بر

صفات فیزیولوژیک یادشده اثر معنی‌دار ($P \leq 0.01$) 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 برهم کنش منبع اسمزی و همزیستی قارچی مشاهده شد، ولی برهم کنش سطوح، منبع اسمزی و همزیستی قارچی بر صفات فیزیولوژیک معنی‌دار نبود.

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

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

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

گیاهچه‌های همزیست شده 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 معنی داری با سطح صفر نداشت (جدول ۸).

بر اساس نتایج حاصل از مقایسه 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

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

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

بحث

صورت مستقیم همانند بهبود تغذیه گیاهان از طریق جذب عناصر غذایی و همچنین افزایش جذب آب توسط 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، دامنه وسیعی از گیاهان میزبان را دارد که با تشکیل کلنی در ریشه آن‌ها، تحریک شدید رشد میزبان‌های خود را سبب می‌شود و به صورت داخل سلولی و بین سلولی رشد می‌کند و با تولید

کاهش رشد، اصلیت‌ترین اثر تنش‌های غیرزیستی مانند شوری و خشکی است. با توجه 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

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 ریشه 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 ماده خشک در طول دوره 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 توجه 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 دوره 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

کلامیدوسپوره‌های گلابی شکل در کورتکس، ریشه کلنی تشکیل می‌دهند، اما به حمله کردن به قسمت‌های داخلی بافت‌های ریشه قادر نیستند (Das et al., 2012). افزایش تعداد برگ در همزیستی با قارچ‌های میکوریزا در گیاهان ذرت (Amerian et al., 2001) و ریحان (Copetta et al., 2006) نیز گزارش شده است. نتایج سایر پژوهش‌ها نیز بیان‌کننده این موضوع است که قارچ *P. indica* ضمن بهبود تحمل 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، تحمل آن را در شرایط تنش خشکی، شوری و درجه حرارت، 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 اندازه سطح برگ در گیاهان دارویی *Spilanthes calva* و *Withania somnifera* در حضور قارچ *P. indica*

تحمل 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 تحمل گیاه مورد بررسی به تنش خشکی و شوری و مقایسه آن‌ها استفاده شد که نتایج، نشان‌دهنده حساسیت گیاه استویا نسبت به تنش شوری و خشکی بود. علاوه بر این، نتایج اندازه‌گیری وزن خشک اندام هوایی و ریشه، بیان‌کننده اهمیت 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 ریشه گیاه برنج در شرایط تنش خشکی، گزارش کرده‌اند. همچنین، Hajinia و همکاران (۲۰۱۱) بهبود معنی‌دار رشد و میزان زیست‌توده تر و خشک اندام‌های هوایی را در گیاهان گندم تلقیح‌شده با قارچ *P. indica* و سوبه‌های مختلف باکتری آروسپیریلوم 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 نشان‌دهنده افزایش زیست‌توده قسمت‌های هوایی و ریشه گیاهان تلقیح‌شده با قارچ به میزان دو برابر نسبت به گیاهان شاهد بود. همچنین، Kapoor و

و همکاران (۲۰۰۸) افزایش رشد و تحمل 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 ریشه 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 Mirmohammadi Meybodi و Ghareyazi (۲۰۰۲)، کاهش وزن اندام هوایی علاوه بر کاهش فتوسنتز به کاهش هدایت روزنه‌ای، تجمع 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 علت 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

می‌شود که این نتایج ارائه‌شده در پژوهش حاضر را تأیید می‌کند.

جمع‌بندی

در مجموع، نتایج نشان‌دهنده 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، حساسیت 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 متوسط (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، نشان‌دهنده اهمیت ارتباط همزیستی قارچ *P. indica* با گیاه استویا و تحریک رشد آن در شرایط تنش شوری و خشکی است.

سپاسگزاری

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

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 میسلیوم‌های 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 متوسط 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 نشان‌دهنده افزایش مقاومت غشایی گیاهان تلقیح‌شده در برابر تنش شوری است. همچنین، Pak 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

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 Journal of Plant Ecophysiological 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 Schwarczinger, 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., Oelmueller, 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 soluble sugars in roots. *Mycorrhiza* 12: 185-190.
- Ghahari, M., Kahrizi, D. and Bahrami, Gh. R. (in press). Effect of

- 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., Samsheer, 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) Environmental 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., Gollack, 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.

- 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., Agrawal, R. and Agrawal, 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 osmotic stress. New Perspective for Molecular Studies. Mycorrhiza 13: 309-317.

- Sayed Tabatabaei, B. E. and Omid, M. (2009) Plant cell and tissue culture. University 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., Wirsal, 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.

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

Fahimeh Seraj, Hemmatollah Pirdashti *, Yasser Yaghoobian 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 osmotic 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 osmotic source and levels with fungi inoculation for the most determined parameters. Inoculation of stevia plantlets with *P. indica* at osmotic 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 osmotic 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 improving osmotic tolerance of stevia medicinal plant.

Key words: Electrolyte leakage, Fungi inoculation, Mannitol, NaCl, Stevia medicinal plant.

* h.pirdashti@sanru.ac.ir