Research Article

Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research DOI: 10.22092/ijrfpbgr.2024.364383.1456

Vol. 32, No. 1, Page 1-15 (2024)

Effect of Fungal Endophyte (*Aspergillus niger*) on the Response of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) to Drought Stress

A. Kamyab[1], D. Samsampour[2]*, N. Ahmadinasab [3], A. Bagheri [4]

1 PhD student in Plant Breeding and Biotechnology in Horticultural Products, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.
2* Corresponding author, Assoc. Prof. Horticultural Science Department, Agriculture and Natural Resources College, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran. E-mail: samsampoor@hormozgan.ac.ir
3 Assist. Prof. Hormozgan Studies and Research Center, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.
4 Assist. Prof. Plant Protection Research Department, Hormozgan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Abbas, Iran.

Received: 13.12.2023 Accepted: 12.05.2024

Extended Abstract

Background and Objectives

Drought stress is one of the most important abiotic factors that can harm plant growth, development, and performance. One type of microbe that lives symbiotically with plants is the fungal endophyte, which is crucial for improving the growth and performance of their host plants. Fungal endophytes can improve a plant's ability to survive and resist abiotic stressors, such as drought. Given the growing water scarcity in Iran, there is an urgent need to identify biological treatments that can regulate and improve plant tolerance to drought stress. This study aimed to investigate the effect of the fungal endophyte *Aspergillus niger (A. niger)*, isolated from *Teucrium polium* L., on improving the growth of garden thyme (*Thymus vulgaris* L.) under drought-stress conditions.

Methodology

In this experiment, sterilized *T. vulgaris* seeds were cultivated in trays containing autoclaved peat moss, and the seedlings were transferred to pots after two months. Six months after the transfer of the seedlings to pots, a solution was prepared using the endophytic fungus *A. niger*, and inoculations were performed on *T. vulgaris* plants. The spore count of *A. niger* in each Petri dish was determined using a Neubauer hemocytometer, with a concentration of approximately 10^6 spores per milliliter (CFU/ml). The solution was then applied as a foliar spray to the aerial parts of the plants (10 ml) and injected into the soil around the roots (5 ml). After one month, a verification test was conducted to ensure the presence of, the endophyte *A. niger* in the plants. Drought stress was applied using the weight method for three months. Morphological, physiological, and biochemical characteristics of *T. vulgaris* were evaluated. A factorial experiment was designed using a completely randomized design (CRD) with three replications. The drought treatments included four levels of drought stress (100%, 75%, 50%, and 25% of field capacity) and fungal endophyte inoculation at two levels (control and inoculated with *A. niger*).

Results

Drought stress caused a significant reduction in plant height, shoot fresh weight, shoot dry weight, root fresh weight, root dry weight, chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids, and relative water content of leaves. However, under severe drought conditions (25%FC), inoculation with the fungal endophyte *A. niger* led to a notable increase in plant height (39.18%), shoot fresh weight (78.92%), shoot dry weight (58.27%), root fresh weight (74.25%), root dry weight (74.56%), chlorophyll a (8.40%), chlorophyll b (16%), and carotenoids (32.12%). Additionally, the presence of *A. niger*

resulted in elevated levels of proline (13.72%) and soluble sugar (16.43%), along with a decrease in malondialdehyde content (45%), compared to non-inoculated plants under drought stress conditions.

Conclusion

This study demonstrates the positive effect of inoculating *T. vulgaris* plants with the fungal endophyte *A. niger* on the quantitative and qualitative characteristics of plant height, shoot fresh weight, shoot dry weight, root fresh weight, root dry weight, relative leaf water content, chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids, proline, soluble sugar, and malondialdehyde in *T. vulgaris*. Drought stress decreased the studied characteristics, except for the proline content, soluble sugar, and Malondialdehyde. Overall, this study suggests that the use of *A. niger* fungal endophyte can significantly improve plant growth and reduce the adverse effects of drought stress. Therefore, it is recommended to spray *A. niger* fungal endophyte during the vegetative growth stage for three weeks and three times under severe stress conditions, as it provides biological compounds from a natural source.

Keywords: Endophyte, drought tolerance, photosynthetic pigments, biological fertilizer.

اثر اندوفیت قارچی *Aspergillus niger* بر تحمل به خشکی در آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L)

افسون کامیاب[۱]، داود صمصام‌پور[۲*]، نوید احمدی‌نسب [۳] و عبدالنبی باقری[۴]

۱. دانش‌آموخته دکتری اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی در محصولات باغی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

۲*. نویسنده مسئول، دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

پست‌الکترونیک: samsampoor@hormozgan.ac.ir

۳. استادیار، مرکز مطالعات و تحقیقات هرمزگان، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

۴. استادیار پژوهش، بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی هرمزگان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۲۳

چکیده

سابقه و هدف: خشکی یکی از مهمترین تنش‌های غیرزیستی است که می‌تواند اثرهای مخرب شدیدی روی رشد و عملکرد گیاهان داشته باشد. اندوفیت‌ها ریزسازواره‌های مفیدی هستند که می‌توانند نقش مهمی در بقا و حفاظت از گیاهان در برابر تنش‌های غیرزیستی ازجمله خشکی ایفا کنند. تنش خشکی می‌تواند رشد، نمو و عملکرد گیاهان را کاهش دهد. اندوفیت‌های قارچی به‌عنوان یکی از انواع ریزسازواره‌های همزیست با گیاهان، نقش مهمی در بهبود رشد و عملکرد گیاهان میزبان خود دارند. با توجه به مشکلات روزافزون کم‌آبی در ایران و نیاز به شناخت تیمارهای بیولوژیک برای تعدیل و افزایش تحمل گیاهان به تنش خشکی، این مطالعه به‌منظور بررسی اثر اندوفیت قارچی *Aspergillus niger* جدا شده از گیاه کلپوره (*Teucrium polium* L.) در بهبود رشد گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) تحت شرایط تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این آزمایش، بذرهای ضدعفونی شده آویشن در سینی‌های حاوی پیت‌ماس اتوکلاو شده کشت و پس از دو ماه به گلدان منتقل شدند. پس از شش ماه، در سه مرحله به‌طور هفتگی اندوفیت قارچی *A. niger*، به گیاهان آویشن تلقیح شدند. برای تلقیح اندوفیت قارچی *A. niger* به گیاهان، ابتدا با استفاده از لام نئوبار اسپورهای موجود در هر پتری‌دیش شمارش و با غلظت تقریباً ۱×۱۰^{۶} اسپور در هر واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر (CFU/ml) آماده و بعد به‌صورت محلول‌پاشی به اندام‌های هوایی (به میزان ۱۰ میلی‌لیتر) و تزریق به خاک اطراف ریشه (به میزان ۵ میلی‌لیتر) اعمال شدند. برای اطمینان از حضور اندوفیت‌ها پس از گذشت یک ماه از محلول‌پاشی، آزمون استقرار اندوفیت قارچی *A. niger* در گیاه انجام شد و بعد از آن تنش خشکی به‌روش وزنی به‌مدت سه ماه اعمال گردید و بعد صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه آویشن باغی ارزیابی گردید. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل چهار سطح تنش خشکی (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه) و فاکتور دوم تلقیح اندوفیت قارچی در دو سطح (عدم تلقیح (شاهد) و تلقیح با اندوفیت قارچی *A. niger*) بود.

یافته‌ها: تنش خشکی منجر به کاهش معنی‌دار ارتفاع گیاه، وزن تر اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی، وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه، کلروفیلa، کلروفیل b، کاروتنوئید و محتوای نسبی آب برگ شد. با این‌حال، تحت تنش خشکی شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی)، تلقیح آویشن با اندوفیت قارچی *A. niger* باعث افزایش معنی‌دار ارتفاع گیاه به‌میزان (۳۹/۱۸ درصد) ، وزن تر اندام هوایی (۷۸/۹۲ درصد) ، وزن خشک اندام هوایی (۵۸/۲۷ درصد) ، وزن تر ریشه (۷۴/۲۵ درصد) ، وزن خشک ریشه (۷۴/۵۶ درصد) ، کلروفیل a (۸/۴۰ درصد) ، کلروفیل b (۱۶

درصد) ، کاروتنوئید (۳۲/۱۲ درصد) و محتوای نسبی آب برگ (۵۰ درصد) نسبت به شاهد و کاهش اثرهای منفی تنش خشکی گردید. همچنین، حضور اندوفیت قارچی *A. niger* در برابر عدم حضور آن در شرایط تنش خشکی، منجر به افزایش میزان پرولین (۱۳/۷۲ درصد) ، قند محلول (۱۶/۴۳ درصد) و کاهش مالون‌دی آلدئید (۴۵ درصد) نسبت به شاهد شد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه اثر مثبت تلقیح گیاهان آویشن با اندوفیت قارچی *A. niger*، بر ویژگی‌های کمی و کیفی شامل: ارتفاع گیاه، وزن تر اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی، وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه، محتوای نسبی آب برگ، کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید، پرولین، قند محلول و مالون‌دی آلدئید را در آویشن نشان داد. این پژوهش نشان داد که استفاده از اندوفیت قارچی *A. niger* می‌تواند بهبود قابل توجهی در رشد گیاهان و کاهش اثرهای منفی تنش خشکی داشته باشد. بنابراین، به‌دلیل اثر ترکیبات بیولوژیکی از منبع طبیعی، در شرایط تنش شدید، توصیه می‌شود که محلول‌پاشی با استفاده از اندوفیت قارچی *A. niger* در مرحله رشد رویشی، به‌مدت سه هفته و در سه مرحله انجام شود.

واژه‌های کلیدی: اندوفیت، تحمل خشکی، رنگدانه‌های فتوسنتزی، کود بیولوژیک

مقدمه

خشکی به‌عنوان عامل اصلی، تولید جهانی محصولات کشاورزی را محدود می‌کند (Narayanasamy *et al.*, 2023). تغییرات اقلیمی باعث افزایش فراوانی خشکسالی‌ها شده است، این موضوع منجر به کاهش رشد محصولات شده و بحرانی‌ترین تهدید برای امنیت غذایی جهان در آینده و دلیل قحطی‌های گذشته می‌باشد (Rasheed *et al.*, 2023). خشکسالی در کشاورزی سبب کاهش منابع آب و افزایش تقاضای غذا شده و از سوی دیگر رشد نگران کننده جمعیت جهان موجب تشدید آن می‌شود (Okorie *et al.*, 2019). تنش خشکی بر بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی، ازجمله فتوسنتز، گسترش سلولی، جذب، تجمع و انتقال مواد مغذی معدنی تأثیر می‌گذارد (Du & Bramlage, 1992). زمانی که ظرفیت آب در ناحیه توسعه ریشه کاهش می‌یابد، ظرفیت آب برگ در گیاه نیز کم شده و در پی آن افت شدید فتوسنتز، اختلال در فرایندهای فیزیولوژیک و سرانجام خشک شدن و مرگ گیاه رخ می‌دهد (Mittler *et al.*, 2022). تنش خشکی از طریق کاهش سطح برگ و کاهش فتوسنتز موجب کاهش رشد گیاه می‌گردد (Yang & Qin, 2023).

در جریان تنش خشکی رطوبت به‌حدی می‌رسد که گیاه توانایی لازم را برای جذب آب با سرعت کافی برای جبران کاهش آب از طریق تبخیر و تعرق ندارد، از این‌رو بیشتر فرایندهای رشد و نمو گیاه تحت تأثیر این تنش قرار می‌گیرد(Pandey *et al.*, 2023). تأثیر تنش خشکی به‌مدت ۴ ماه در پنج سطح (۱۰۰، ۸۵، ۷۰، ۶۰ و ۴۵ درصد ظرفیت زراعی)، بر پارامترهای رشدی در گیاه نعناع فلفلی نشان داد که تنش خشکی کاهش معنی‌داری بر کلیه پارامترهای رشد و عملکرد گیاه داشت (Khorasaninejad *et al.*, 2011). در مطالعه‌ای دیگر، اثر چهار فاصله آبیاری (۳، ۵، ۷ و ۱۰ روز) بر عملکرد چندین گونه آویشن، ازجمله آویشن باغی بررسی شد. گیاهان آویشن باغی که فاصله آبیاری کمتری داشتند (سه روز یکبار)، دارای وزن خشک گیاه بیشتری نسبت به گیاهانی که دور آبیاری طولانی‌تری داشتند (۵، ۷ و ۱۰ روز یکبار) بودند (Moradi *et al.*, 2014).

آویشن‌ها، گیاهی چندساله، معطر و از خانواده Lamiaceae است که از زمان‌های قدیم در طب سنتی استفاده می‌شده است (Reddy *et al.*, 2014). آویشن باغی بومی اروپای جنوبی و مرکزی و بخش‌هایی از آفریقا و آسیاست (Silva *et al.*, 2021). آویشن باغی دارای خواصی مانند ضداسپاسم، ضدکرم، ضدرماتیسم، خلط‌آور و آنتی‌اکسیدان است و برای درمان سرماخوردگی کاربرد دارد (Abd Elbar *et al.*, 2019). آویشن باغی منبع غنی از ویتامین‌ها، به‌ویژه ویتامین A، ویتامین C و ویتامین B6 است. علاوه‌بر این، مقدار زیادی از مواد معدنی مانند پتاسیم، کلسیم، آهن، منگنز، منیزیم

و سلنیوم در برگ‌های این گیاه وجود دارد (Dauqan, & Abdullah, 2017). خواص دارویی برخی گونه‌های آویشن *Thymus capitatus* سبب شده که این گیاه یکی از معروف‌ترین و پرمصرف‌ترین گیاهان در سراسر دنیا باشد (Casiglia *et al.*, 2019). اسانس این گیاه نیز جایگاه خاصی در تجارت جهان دارد (Abd Elbar *et al.*, 2019). بنابراین تولید آن نقش مهمی در اقتصاد کشاورزی ایران دارد. آویشن‌ها دارای آنتی‌اکسیدان‌های قدرتمندی هستند، همچنین در بین ترکیبات آویشن دو ماده تیمول و کارواکرول وجود دارد که خاصیت ضد میکروبی بسیار قوی دارند (Abd Elbar *et al.*, 2019). فاکتورهای گوناگون ازجمله تنش‌های محیطی، باعث تغییر در کیفیت و مقدار مواد مؤثره از قبیل استروئیدها، گلیکوزیدها، آلکالوئیدها، اسانس و رشد و عملکرد گیاهان دارویی می‌گردد (Askary *et al.*, 2023).

تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش خشکی، اثرهای مهمی بر بهره‌وری گیاهان دارویی و معطر ازجمله آویشن باغی گذاشته و رشد و عملکرد آن را محدود می‌کند (Bistgani *et al.*, 2024). همچنین تنش خشکی سبب کاهش معنی‌دار در رشد و عملکرد گیاه آویشن باغی می‌شود (Mohammadi *et al.*, 2020). عوامل مختلف ازجمله تغییرات آب و هوایی به‌ویژه تنش‌های محیطی سبب تغییر در مواد مؤثره، عملکرد و ترکیبات گیاهان دارویی می‌شود (Salehi *et al.*, 2019).

بعضی ریزسازواره‌ها به‌عنوان کودهای زیستی علائم تنش را به حداقل رسانده و با جذب عناصر سبب بهبود کیفیت خاک و محصولات کشاورزی شده (Dubey *et al.*, 2021) و قادرند در مقابل کربوهیدراتی (منبع انرژی) که گیاه در اختیار اندوفیت قرار می‌دهد، عناصر غذایی و تحریک هورمون‌های محرک رشد مانند سایتوکنین‌ها و اکسین‌ها را برای گیاه فراهم کنند (Dubey *et al.*, 2021). این همزیستی موجب افزایش رشد گیاه میزبان و افزایش تحمل به تنش‌ها ازجمله تنش خشکی می‌شود (Tufail *et al.*, 2021). برخی از اندوفیت‌های قارچی و باکتریایی می‌توانند به‌طور قابل ملاحظه‌ای در تشکیل محصولات گیاهی و تقویت تحمل به تنش‌ها تأثیر بگذارند (Lata *et al.*, 2018). در مطالعه تأثیر چهار سویه اندوفیت بر گیاه کنگرفرنگی (*Helianthus tuberosus* L.). تحت شرایط تنش کم‌آبی با ۲۰ درصد پلی‌اتیلن‌گلیکول، نشان داد که اندوفیت‌ها صفات ریشه، زیست‌توده و عملکرد را در شرایط عادی و کمبود آب بهبود می‌بخشند (Namwongsa *et al.* 2019).

اندوفیت قارچی *A. niger* به‌طور گسترده در بیوتکنولوژی، تولید آنزیم‌ها، تولید اسیدهای آلی و فراوری غذاها استفاده می‌شود (Schuster *et al.* 2002). اندوفیت قارچی *A. niger* در طیف وسیعی از گونه‌های دارویی، باغی، زراعی و زینتی در اندام‌های مختلف گیاهی کلونیزه می‌شود که سبب تحریک، بهبود رشد و عملکرد گیاه در شرایط تنش می‌گردد (Mathur *et al.* 2022). در مطالعه‌ای اعمال تیمار اندوفیت قارچی *A. niger* در درخت گل ابریشم (*Albizia lebbeck* (L.) Benth) باعث افزایش زیست‌توده و عملکرد گیاه شد (Mathur *et al.* 2022). در مطالعات انجام شده توسط محققان، اندوفیت قارچی *A. niger* سبب افزایش تولید زی‌توده نسبت به گیاهان شاهد گردید. اندوفیت قارچی *A. niger* موجب افزایش رشد گیاه، افزایش غلظت پرولین و تجمع قند در شرایط خشکی گردید (Medina *et al.*, 2010). بنابراین کاربرد ریزسازواره‌ها، راهبردی مهم برای تضمین رشد، تغذیه و استقرار گیاه در خاک‌های خشک و تخریب شده است که از آسیب‌های ناشی از عرضه محدود آب و مواد مغذی جلوگیری می‌کند (Medina *et al.*, 2010).

محققان در بررسی تأثیر اندوفیت‌های قارچی به‌ویژه جنس *Aspergillus* بر نشاءهای برنج رقم IR-64 بیان کردند که گیاهان تیمار شده با اندوفیت درصد بقای بالاتر و رشد اندام هوایی و ریشه بیشتری را تحت تنش دمای بالا در مقایسه با نشاءهایی که با اندوفیت قارچی تیمار نشده بودند، نشان دادند (Sangamesh *et al.*, 2018). تحقیقات موجود حکایت از آن دارد که قارچ اندوفیت جداسازی شده از گیاه گل‌رنگ (*Carthamus oxycantha*) به گیاه مورینگا (*Moringa oleifera* L.) تحت تنش خشکی (پلی‌اتیلن-گلیکول ۸۰۰۰) تلقیح شد. این تلقیح سبب بهبود ویژگی‌های رشد مانند وزن تر اندام هوایی، ارتفاع اندام هوایی، طول ریشه، وزن خشک، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در مقایسه با شاهد

گردید. همچنین متابولیت‌های اولیه و ثانویه نیز در گیاهان تلقیح شده با اندوفیت مانند پروتئین‌ها، قندها، لیپیدها، فنل‌ها، فلاونوئیدها، پرولین، ایندول‌استیک اسید، اسیدجیبرلیک، اسید-سالیسیلیک و اسیداسکوربیک نیز تحت تنش خشکی افزایش یافتند. در گندم‌های تیمار شده با اندوفیت قارچی *Piriformospora indica* در شرایط تنش خشکی فعالیت آنزیم‌های اکسیدانی مانند گایاکول‌پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات‌پراکسیداز افزایش یافت، اما سرعت پراکسیداسیون لیپیدها و میزان هیدروژن پراکسید کاهش یافت، درنتیجه افزایش مقاومت به تنش خشکی مشاهده گردید (Javed *et al.*, 2022). با توجه به اینکه تنش خشکی سبب بروز مشکلات جدی در کشاورزی می‌شود، به نظر می‌رسد که استفاده از اندوفیت‌های قارچی بتواند تا حدودی اثرهای منفی تنش خشکی را کاهش دهد و موجب بهبود عملکرد گیاه شود. بنابراین، این پژوهش با هدف سنجش توانایی تیمار اندوفیت قارچی *A. niger* در کاهش تنش خشکی در گیاه آویشن باغی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت گلخانه‌ای در پاییز سال ۱۴۰۰ اجرا گردید. برای انجام آزمایش از بذرهای آویشن باغی (*T. vulgaris*) (ایران) که از شرکت رشد کشاورزی حاتم واقع در شهر شیراز خریداری شده بود استفاده گردید. آزمایش به‌صورت فاکتوریل که فاکتور اول تنش خشکی در چهار سطح (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه) و فاکتور دوم اندوفیت قارچی در دو سطح شاهد (عدم تلقیح) و تلقیح با *A. niger* در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. اعمال تیمارهای تنش خشکی براساس روش وزنی انجام شد. در ابتدا، به‌مقدار یکسانی سنگریزه در کف هر گلدان ریخته شد (برای انجام زهکشی) و بعد با استفاده از ترازو، خاک درون هر گلدان به‌طور یکسان پر گردید (۷ کیلوگرم خاک در هر گلدان). سپس با افزودن آب، خاک هر گلدان به حد اشباع رسید و به‌مدت ۲۴ ساعت روی سطح مشبک قرار گرفت تا آب اضافی خاک زهکشی گردد. در این مرحله، وزن گلدان‌ها به‌سرعت ثابت شد و خاک آنها با دمای ۱۰۵ درجه به‌مدت ۴۸ ساعت کاملاً خشک شد. پس از تعیین درصد وزنی رطوبت خاک در ظرفیت زراعی، مقدار رطوبت موجود در خاک برای اعمال تیمارهای رطوبتی مختلف مشخص شد. برای کنترل وزن خشک بوته‌ها، هر تیمار رطوبتی دارای گلدان اضافی بود تا وزن خشک بوته‌ها به وزن خشک گلدان‌ها اضافه شود و مقدار صحیحی از آب در زمان اعمال تیمارهای رطوبتی به هر گلدان تخصیص یافت (Mozaffari *et al.*, 2016). سپس برای تعیین رژیم‌های آبیاری، رطوبت هریک از گلدان‌ها روزانه اندازه‌گیری گردید و به‌محض اینکه رژیم‌هایی که درصد وزنی رطوبت خاک مربوط به آن، به درصد ظرفیت زراعی مورد نظر می‌رسید آبیاری در هر تیمار انجام می‌شد.

به‌منظور تلقیح بذرهای آویشن، ابتدا قارچ مذکور جدا شده از گیاه کلپوره (*Teucrium polium* L.) روی محیط کشت PDA (Potato dexterose agar) به‌مدت سه هفته در انکوباتور با دمای ۱±۲۸ درجه سانتی‌گراد کشت و نگه‌داری شد. با استفاده از میکروسکوپ نوری (مدل، Kernobn 132، آلمان) نوع دیواره، اسپور و آرایش آنها در اندوفیت قارچی استخراج شده بررسی گردید. اسپورهای اندوفیت قارچی *A.niger* با ده میلی-لیتر محلول آب‌توئین ۲۰ درصد در پتری‌دیش‌ها جمع‌آوری شدند. با استفاده از لام نئوبار اسپورهای موجود در هر پتری‌دیش شمارش و با غلظت تقریباً ۱×۱۰^{۶} اسپور در هر واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر (CFU/ml)، آماده و بعد استفاده شدند (Deshmukh *et al.*, 2006).

بذرهای آویشن ابتدا با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد در سینی‌های حاوی پیت‌ماس سترون کشت شدند. گیاهان آویشن پس از دو ماه از سینی‌های نشا به گلدان‌های با ابعاد ۲۱×۲۱ سانتی‌متر منتقل گردیدند. برای ایجاد بستر مناسب پیت‌ماس، ماسه بادی و کود پوسیده دامی باهم مخلوط و در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شدند. سپس در دمای ۳۲ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰-۶۰ درصد در گلخانه دانشگاه هرمزگان نگه‌داری شدند. گیاهان آویشن پس از طی شش ماه از زمان انتقال کشت، در دوره رشد رویشی و در سه مرحله به‌طور هفتگی مایه‌زنی (به‌صورت محلول‌پاشی به میزان ۱۰ میلی‌لیتر به اندام هوایی و تزریق به خاک اطراف ریشه به میزان ۵ میلی‌لیتر با استفاده

از سرنگ) شدند. برای اطمینان از حضور اندوفیت‌های قارچی *A. niger*، پس از گذشت یک ماه از محلول‌پاشی، آزمون استقرار اندوفیت قارچی *A. niger* در گیاه انجام شد. به این صورت که، به‌طور تصادفی از هر تیمار اندوفیت قارچی نمونه برگی، ساقه و ریشه از گیاهان آویشن باغی جدا و پس از مراحل استریل کردن نمونه‌ها، روی محیط کشت‌های PDA، به‌صورت مجزا کشت شدند تا از استقرار اندوفیت‌های مورد بررسی در بافت گیاه اطمینان حاصل شود. پس از جداسازی اندوفیت‌ها از بافت برگی، ساقه و ریشه گیاهان تلقیح شده آویشن، از نظر مورفولوژیک و فیزیولوژیک بررسی شدند. سپس تنش خشکی بر گیاهان مورد آزمایش اعمال شد.

برای اندازه‌گیری ارتفاع گیاه از طوقه تا آخرین برگ از خط‌کش میلی‌متری و برای اندازه‌گیری وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ استفاده گردید. برای اندازه‌گیری وزن خشک اندام هوایی و ریشه، بعد از توزین وزن تر، اندام‌ها به‌صورت مجزا در پاکت‌های آلومینیومی قرار داده شد و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک و بعد وزن گردید.

میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئید برگ‌ها به‌روش الایزا و اسپکتوفتومتری مدل (Cecil CE2501)، به‌ترتیب در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر اندازه گیری شد. از استون ۸۰ درصد به‌عنوان بلانک دستگاه برای کالیبره شدن آن استفاده شد (Lichtenthaler & Buschmann, 2001). برای اندازه‌گیری میزان محتوای نسبی آب برگ (Relative water content) از روش (Morgan, 1984) استفاده شد. برای محاسبه میزان پرولین از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) و از تولوئن به‌عنوان بلانک در طول موج ۵۲۰ نانومتر استفاده شد (Bates *et al.*, 1973). برای اندازه‌گیری میزان قند محلول از روش Lichtenthaler و Buschmann (۲۰۰۱) و از اتانول ۷۰ درصد به‌عنوان بلانک دستگاه استفاده و در طول موج ۴۸۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (Lichtenthaler & Buschmann, 2001). پراکسیده شدن لیپیدها MDA (مالون‌دی‌آلدئید)، از روش Du و Bramlage (۱۹۹۲)، در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر محاسبه و از محلول ۰/۱ درصد TCA (تری‌کلرواستیک‌اسید) برای بلانک دستگاه استفاده شد (Du & Bramlage, 1992).

داده‌های جمع‌آوری شده تجزیه واریانس شدند و مقایسه میانگین داده‌های مربوط حاصل از تیمار گیاهان با اندوفیت قارچی براساس آزمون LSD با سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ انجام و نمودارها در نرم‌افزار اکسل رسم گردید.

نتایج

صفات مورفولوژیک

برهم‌کنش اثر سطوح خشکی و اندوفیت قارچی *A. niger* بر ارتفاع، وزن تر اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. از سویی، با اینکه تیمارهای تلقیح اندوفیت قارچی *A. niger* و خشکی هریک به‌تنهایی بر صفت وزن تر ریشه معنی‌دار شدند، اما اثر متقابل آنها معنی‌دار نشد (جدول ۱). با افزایش تنش، ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک (اندام هوایی و ریشه) کاهش ولی در شرایط تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) با حضور اندوفیت قارچی *A. niger* باعث افزایش وزن تر ریشه به میزان (۷۴/۲۵ درصد)، ارتفاع (۳۹/۱۸ درصد)، وزن تر اندام هوایی (۷۸/۹۲ درصد)، وزن خشک اندام هوایی (۵۸/۲۷ درصد) و وزن خشک ریشه (۷۴/۵۶ درصد) نسبت به شاهد شد (جدول ۲).

محتوای نسبی آب برگ

اثر متقابل بین سطح خشکی و اندوفیت قارچی *A. niger*، در سطح احتمال یک درصد بر محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش تنش خشکی، میزان محتوای نسبی آب برگ کاهش یافت، به‌گونه‌ای که بیشترین و کمترین میزان به‌ترتیب در تیمارهای تلقیح‌شده با اندوفیت قارچی *A. niger* و بدون تلقیح مشاهده شد. وجود اندوفیت قارچی *A. niger* در تنش خشکی شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) منجر به افزایش (۵۰ درصد) محتوای نسبی آب برگ نسبت به عدم حضور اندوفیت قارچی *A. niger* شد (جدول ۲).

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس اثر اندوفیت قارچی (*A. niger*) و خشکی بر صفات مورفولوژیک آویشن (*T. vulgaris*)

Table 1. Analysis of variance effect of drought (D) levels and fungal endophyte (FE) (*A. niger*) on physiological characters of *T. vulgaris*

Sources of Variation	DF	Plant height	Stem Fresh weigh	Root Fresh weigh	Stem Dry weight	Root dry weight	Relative leaf water content
Drought stress (D)	3	299.13**	152.71**	96.27**	47.88**	43.67**	4759**
Endophyte (E)	1	300.75**	114.45**	44.88**	14.30**	8.53**	640**
D× E	3	10.77**	3.18**	0.33	0.53**	0.50**	1.3
Error	16	0.77	0.22	0.27	0.025	0.025	1.58
C.V(%)		2.60	5.10	7.11	1.83	2.44	2.04

* and **: significant at 5% and 1% probability levels, respectively

* و **: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر سطوح خشکی و اندوفیت قارچی (*A. niger*) بر صفات مورفولوژیک آویشن (*T. vulgaris*)

Table 2. Comparison of the mean effect of drought levels and fungal endophyte (*A. niger*) on Morphological characteristics of *T. vulgaris*

Treatment	Drought stress (Field capacity) (%)	Plant Height (cm)	Stem fresh Weigh (g)	Root fresh Weigh (g)	Stem dry Weight (g)	Root dry Weight (g)	Relative leaf Water content (%)
Control	100FC	37.89b	13.95b	11.54b	10.97b	84.66b	1.78b
(No inoculation)	75FC	7.17e	7.17e	5.44e	9.47c	70d	1.41d
	50FC	28.19f	4.55f	3.76f	7.45e	51f	1.27g
	25FC	21.47g	2.99g	3.03f	4.05g	20.33h	1.19h
Fungal	100FC	47.39a	18.20a	14.70a	12.53a	96.33a	1.98a
Endophyte	75FC	36.52bc	12.45c	7.83c	10.77b	80.23c	1.62c
	50FC	35.25c	10.12d	6.89d	8.40d	60.66e	1.36e
	25FC	29.88e	5.35f	5.28e	6.41f	30.00g	1.29f

حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون LSD، تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

In each column, means followed by the same letter do not have statistically significant differences ($p \leq 0.05$) based on LSD test

رنگیزه‌های فتوسنتزی

برهم‌کنش اثر سطوح خشکی و اندوفیت قارچی *A. niger* بر کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). اندوفیت قارچی *A. niger* سبب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی که تحت تنش خشکی کاهش یافته بود، شد. تلقیح اندوفیت قارچی *A. niger* در مقابل عدم تلقیح آن تحت تنش خشکی شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی)، سبب بهبود کلروفیل a (۸/۴۰ درصد)، کلروفیل b (۱۶ درصد) و کاروتنوئید (۳۲/۱۲ درصد) گردید (جدول ۴).

پرولین

پرولین اسمولیت سازگار در تنظیم اسمزی سلول‌ها می‌باشد که در تنش خشکی نقش بسزایی دارد؛ از این‌رو مقدار آن در گیاهان تحت تنش خشکی بررسی شد. برهم‌کنش اثر سطوح خشکی و اندوفیت قارچی *A. niger* بر میزان پرولین آزاد برگ در سطح یک درصد معنی‌دار بود. معنی‌دار شدن اثرهای متقابل در مورد این صفت نشان می‌دهد که دو فاکتور مستقل از هم عمل نکرده‌اند. با افزایش میزان اعمال تنش، میزان پرولین نیز افزایش یافت اما تلقیح اندوفیت قارچی *A. niger* نیز سبب افزایش دوباره در میزان پرولین شد. تلقیح اندوفیت قارچی *A. niger* در مقابل عدم تلقیح آن تحت تنش

خشکی شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی)، سبب افزایش میزان پرولین به میزان (۱۳/۷۲ درصد) در مقایسه با شاهد گردید (جدول ۴).

قند محلول برگ

اثر متقابل سطوح خشکی و اندوفیت قارچی *A. niger* بر محتوای قند محلول برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. با اعمال تنش، میزان قند محلول نیز افزایش یافت، اما در شرایط تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در شرایط تنش شدید، تلقیح اندوفیت قارچی *A. niger* سبب افزایش معنی‌دار (۱۶/۴۳ درصد) در مقایسه با شاهد شد (شکل ۱). سطوح خشکی در تیمارهای همزیست با اندوفیت قارچی، در مقادیر خشکی متناظر، با شاهد تفاوت معنی‌دار داشتند. افزایش میزان قند محلول برگ در گیاهان همزیست با اندوفیت قارچی، در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشت (جدول ۳).

مالون‌دی‌آلدئید

اثر متقابل سطوح خشکی و اندوفیت قارچی *A. niger* بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. با اعمال تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی)، میزان مالون‌دی‌آلدئید افزایش یافت اما در بوته‌های تلقیح شده با اندوفیت قارچی *A.niger* میزان این پارامتر کاهش یافت. البته میزان مالون‌دی-آلدئید در شرایط تنش شدید در حضور اندوفیت قارچی *A. niger* در مقایسه با شاهد کاهش (۴۵ درصد) یافت (جدول۴).

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر سطوح خشکی و اندوفیت قارچی (*A. niger*) بر صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی آویشن (*T. vulgaris*)

Table 3. Analysis of variance effect of drought (D) levels and fungal endophyte (FE) (*A. niger*) on physiological and biochemical characteristics of *T. vulgaris*

Sources of Variation	DF	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Carotenoids	Proline	Soluble sugar	Malondialdehyde
Drought (D)	3	0.490**	0.763**	2.71**	0.006**	2.672**	11.238**
Endophyte (E)	1	0.135**	0.490**	2.65**	0.005**	1.636**	2.257**
D× E	3	0.005**	0.093**	0.024**	0.0004**	0.125**	0.061*
Error	16	0.0001	0.0001	0.001	0.0001	0.0022	0.189
C.V(%)		0.811	1.464	1.410	2.416	2.64	1.434

* and **: significant at 5% and 1% probability levels, respectively. * و ** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

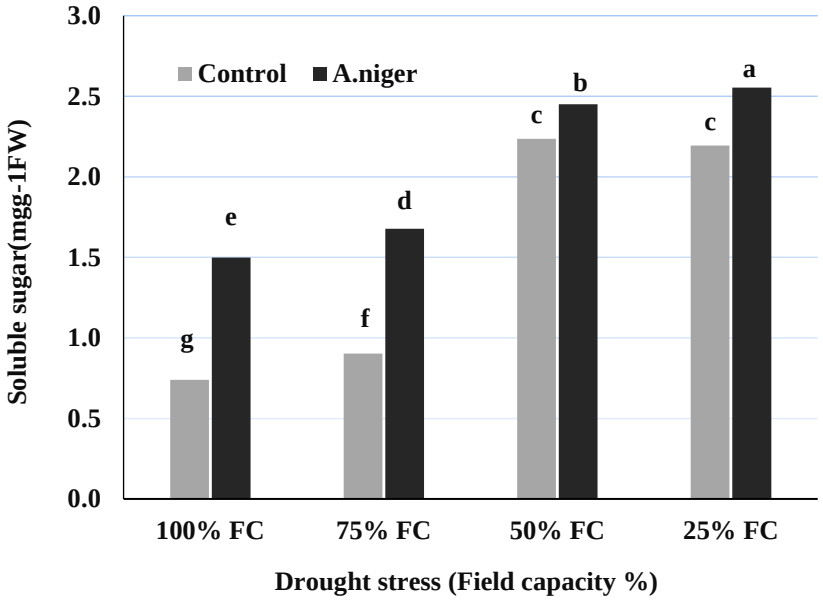
جدول ۴. مقایسه میانگین اثر سطوح خشکی و اندوفیت قارچی (*A. niger*) بر صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی آویشن (*T. vulgaris*)

Table 4. Comparison of the mean effect of drought levels and fungal endophyte (*A. niger*) on physiological and biochemical characteristics of *T. vulgaris*

Treatment	Drought level (Field capacity %)	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Carotenoids	Prolin	Malondialdehyde
		(Mg g^{-1}FW)				
Control (No inoculation)	100FC	1.78b	1.15b	3.83b	0.024h	1.16 g
	75FC	1.41d	0.51f	2.64f	0.027g	2.40ef
	50FC	1.27g	0.56e	4.18a	0.044d	3.56cd
	25FC	1.19h	0.58e	3.29d	0.051b	4.50ab
Fungal Endophyte	100FC	1.98a	1.51a	3.09e	0.038f	2.08 f
	75FC	1.62c	1.12c	2.08h	0.042e	2.90de
	50FC	1.36e	0.66d	3.62c	0.047c	4.07bc
	25FC	1.29f	0.50f	2.49g	0.058a	5.03 a

حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون LSD، تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

In each column, means followed by the same letter do not have statistically significant differences ($p \leq 0.05$) based on the LSD test



شکل ۱. اثرمتقابل سطوح خشکی و اندوفیت قارچی (*A. niger*) بر میزان قند محلول آویشن (*T. vulgaris*)

Figur1. The interaction Effect of drought levels and fungal endophyte (*A. niger*) on the soluble sugar content of *T. vulgari*

حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD ، تفاوت معنی‌دار باهم ندارند.

In columns, means followed by the same letter do not have statistically significant differences ($p \leq 0.05$) based on LSD test.

بحث

حضور اندوفیت قارچی *A. niger* در برابر عدم حضور آن در تنش خشکی سبب بهبود صفات مورفولوژیک در گونه آویشن *T. vulgaris* گردید. زیست‌توده شاخص توانایی گیاه در تحمل خشکی ارزیابی می‌شود. تلقیح اندوفیت‌های قارچی در گیاهان آویشن تحت تنش خشکی، باعث افزایش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید برای تعدیل کاهش زیست‌توده ناشی از خشکی می‌شود. در مطالعات پیشین تغییرات مورفوفیزیولوژیک و زیست‌شیمیایی در سطوح مختلف تیمارهای خشکی (۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی) در چمن لولیوم (*Lolium perenne* L.) طی مدت دو سال بررسی شد. اعمال تنش سبب کاهش در ارتفاع، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی، محتوای کلروفیل و محتوای نسبی آب برگ گردید (Hosseini *et al.*, 2016).

تأثیر تلقیح اندوفیت‌های قارچی *A. fumigatus*، *A. Terreus* و *A. fumigatus* در گیاهان گوجه فرنگی (Halo et al 2023)، اندوفیت‌های قارچی *Phialocephala fortinii*، *Penicillium melinii*، *Umbelopsis dimorpha* و *Preussia cymatomera* در کاج آروکاریا (*Araucaria araucana*) (Chávez *et al.*, 2023)، اندوفیت‌های قارچی *Trichoderma harzianum* و *Fusarium solani* در ذرت (Bakhshi *et al.*, 2023) و اندوفیت‌های قارچی *Acrocalymma aquatica* و *Alternaria alstroemeriae* در وسمه (*Isatis indigotica*) (Li *et al.*, 2023)، باعث بهبود صفات مورفولوژیک ازجمله افزایش وزن تر، وزن خشک و ارتفاع در اندام‌های هوایی و ریشه شد. اندوفیت قارچی *P. indica* سبب افزایش رشد صفات مورفولوژیک و تعدیل سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی در پرتقال (*Citrus trifoliata*) گردید (Cao *et al.*, 2023). به‌دلیل دشوار بودن بهره‌برداری از مناطق گرم و خشک، استفاده از اندوفیت قارچی به سبب تأثیر در بهبود سیستم ریشه‌ای موجب تسهیل در جذب آب و مواد مغذی مورد نیاز گیاهان

در مناطق کم‌آب و خشک می‌شود (Maheshwari & Dheeman, 2021). از آنجایی که رشد گیاه ارتباط نزدیکی با محتوای نسبی آب برگ دارد، بنابراین تغییر وضعیت آب گیاه تحت تنش خشکی باید بررسی گردد (Hayatu *et al.*, 2014).

در این پژوهش از رابطه بین گیاه و اندوفیت قارچی *A. niger* مشاهده شد که جذب آب و ظرفیت آب برگ در گیاه افزایش یافت. در مطالعات مشابه، کلونیزاسیون اندوفیت قارچی *A. niger* سبب افزایش ظرفیت آب برگ و بهبود رشد گیاه گردید (Chandrasekaran *et al.*, 2019) که با نتایج این پژوهش همسو می‌باشد. محتوای نسبی آب برگ در گیاهان بهترین معیار برای تشخیص وضعیت آب در گیاهان است (Altaf *et al.*, 2021)، زیرا با میزان تعرق گیاه نسبت عکس دارد و سایر فعالیت‌های متابولیکی گیاه را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد (Madouh & Quoreshi, 2023). دلیل کاهش میزان رنگیزه‌ها تحت تنش خشکی، آزاد شدن گونه‌های فعال اکسیژن از سلول‌های گیاهی است که می‌تواند باعث آسیب به غشای سلول‌های گیاهی به‌دلیل تجزیه پروتئین‌ها، تخریب کلروفیل و اکسیداسیون رنگدانه شود. زیرا تنش‌های غیرزیستی با از بین بردن آنزیم‌هایی که مسئول تولید انواع رنگیزه‌ها هستند سبب کاهش رنگیزه‌ها می‌شوند (Lata *et al.*, 2018).

در گوجه فرنگی محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها تحت تلقیح اندوفیت‌های قارچی *A. terreus* و *A. Fumigatus* افزایش یافت (Halo *et al.*, 2023). مطالعات پیشین نشان داد که اندوفیت قارچی *P. indica* سبب افزایش فلورسانس کلروفیل و میزان محتوای کلروفیل در آفتابگردان شد که با نتایج این پژوهش همسو می‌باشد (Shahabivand *et al.*, 2017). در مطالعه‌ای دیگر اندوفیت قارچی *P. indica* سبب افزایش میزان کلروفیل در چمن فستوکا پابلند (*Festuca arundinacea*) گردید (Mirzaei Mashhood *et al.*, 2022). به‌علاوه، اندوفیت‌های قارچی با افزایش ظرفیت جذب آب، سبب جذب بهتر ریزمغذی‌هایی که در تشکیل کلروفیل دخیل هستند، می‌شوند (Chieb & Gachomo, 2023). گیاهان با تجمع کاروتنوئید سبب کنترل سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و نیز افزایش عملکرد سازوکار فلورسنس کلروفیل در تنفس نوری و زنجیره انتقال الکترون می‌شوند (Telfer, 2014). اندوفیت‌های قارچی از راه‌های متفاوت مانند افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و حفظ رنگیزه‌های کلروفیلی موجب افزایش تحمل گیاه به تنش می‌گردند (Zarea *et al.*, 2012). اعمال اندوفیت قارچی *A. niger* بر گیاهان تحت تنش پونه (*Mentha pulegium* L.) سبب افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، قدرت آنتی‌اکسیدانی و مقاومت گیاه در مقابل تنش کم‌آبی شد و درنهایت منجر به تقویت رشد گیاه گردید که با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد (Zare Hassanabadi *et al.*, 2020).

میزان پرولین تحت تنش کم‌آبی نسبت به سایر آمینواسیدها در گیاهان، سریع‌تر بالا می‌رود، از این‌رو به‌عنوان شاخص ارزیابی برای برنامه‌ریزی آبیاری و برای انتخاب واریته‌های مقاوم به خشکی پیشنهاد شده است (Mehrasa *et al.*, 2022). تأثیر اندوفیت قارچی *A. niger* بر افزایش میزان پرولین گیاهان تلقیح شده توسط محققان در گندم (Bashir *et al.*, 2022) و کلم (Qadir *et al.*, 2023) که تحت تنش بوده‌اند گزارش شده است که نتایج مشابهی با این پژوهش دارند.

افزایش میزان قند محلول سبب مقاومت گیاه در برابر تنش خشکی می‌گردد (Sebastiana *et al.*, 2018). در شرایط خشکی گلوکز سبب بسته شدن روزنه‌ها شده و از اکسیداسیون غشای سلولی از طریق انباشت قند جلوگیری می‌کند (Sapre *et al.*, 2018). اندوفیت‌های قارچی با کاهش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی سبب افزایش قندها می‌شوند و به‌دنبال آن با حفظ محتوای نسبی آب برگ، سبب تنظیم اسمزی می‌گردند (Cohen *et al.*, 2015). در این پژوهش افزایش میزان قند محلول به‌دلیل تأثیر اندوفیت قارچی *A. niger* بسیار مشهود است که علت آن می‌تواند افزایش سطح هورمون‌های گیاهی به‌ویژه سایتوکنین‌ها باشد، زیرا این هورمون‌ها با انتقال یون-های مؤثر در باز شدن روزنه و تنظیم سطوح رنگیزه‌های فتوسنتزی سبب افزایش سرعت فتوسنتز و افزایش محتوای

قند محلول می‌شوند (Zare Hassanabadi *et al.*, 2020). همچنین اندوفیت قارچی *A. niger* سبب افزایش میزان قند محلول در گندم شد (Kaur & Saxena, 2023).

در یک مطالعه میزان پراکسیداسیون لیپیدها در گندم‌های تیمار شده با قارچ *P. indica* در شرایط تنش خشکی کاهش یافت. درنتیجه افزایش مقاومت به تنش خشکی مشاهده گردید (Yaghoubian *et al.*, 2014). در مطالعات پیشین تیمار اندوفیت‌های قارچی در برنج (Shukla *et al.*, 2012) سبب کاهش تجمع در میزان مالون‌دی‌آلدئید گردید که با نتایج این پژوهش همسو می‌باشد. اندوفیت‌های قارچی باعث کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید و بهبود تعادل اکسیداتیو در گیاه سویا شد (Maheshwari & Dheeman, 2021). با همزیستی اندوفیت‌های قارچی، گیاهان می‌توانند سیستم آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری داشته باشند که منجر به کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید و حفظ تعادل اکسیداتیو در سلول‌ها می‌شود (Maheshwari & Dheeman, 2021).

نتیجه‌گیری کلی

از بررسی صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی می‌توان نتیجه گرفت که تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار در عملکرد رشد گیاهان آویشن *T. vulgaris* می‌شود، اما با حضور اندوفیت قارچی *A. niger* حتی در شدیدترین حالت (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) ، این کاهش عملکرد تعدیل شده و سبب بهبود عملکرد این گونه گیاهی در مقابل اثرهای مخرب تنش خشکی گردید. از نتایج این تحقیق می‌توان در جهت کشاورزی پایدار با استفاده از کنترل بیولوژیک و کاهش محدودیت‌های کشت در مناطقی مانند مناطق خشک و کم‌آب استفاده کرد.

References

- Abd Elbar, O. H., Farag, R. E., & Shehata, S. A., 2019. Effect of putrescine application on some growth, biochemical and anatomical characteristics of *Thymus vulgaris* L. under drought stress. Annals of Agricultural Sciences, 64(2): 129-137.
- Altaf, A., Gull, S., Zhu, X., Zhu, M., Rasool, G., Ibrahim, M. E. H., Aleem, M., Uddin, S., Saeed, A., & Shah, A. Z., 2021. Study of the effect of peg-6000 imposed drought stress on wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars using relative water content (RWC) and proline content analysis. Pakistan Journal of Agricultural Sciences, 58(1): 357-367.
- Askary, M., Parsa, S., Behdani, M. A., Jami Al-Ahmadi, M., & Mahmoodi, S., 2023. Evaluation of quantitative yield of two thyme species affected by different levels of drought stress and the manure application. Journal of Medicinal Plants and Byproduct, 12(1): 11-27.
- Bakhshi, S., Eshghi, S., & Banihashemi, Z., 2023. Application of candidate endophytic fungi isolated from extreme desert-adapted trees to mitigate the adverse effects of drought stress on maize (*Zea mays* L.), Plant Physiology and Biochemistry, 202: 107961.
- Bashir, S., Javed, S., Al-Anazi, K. M., Farah, M. A., & Ali, S., 2022. Bioremediation of Cadmium Toxicity in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Plants Primed with L-Proline, *Bacillus subtilis* and *Aspergillus niger*. International Journal of Environmental Research and Public Health, 19(19): 12683.
- Bates, L. S., Waldren, R. a., & Teare, I. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and soil, 39: 205-207.
- Bistgani, Z. E., Barker, A. V., & Hashemi, M., 2024. Physiology of medicinal and aromatic plants under drought stress. The Crop Journal.
- Cao, J.-L., He, W.-X., Zou, Y.-N., & Wu, Q.S., 2023. An endophytic fungus, *Piriformospora indica*, enhances drought tolerance of trifoliate orange by modulating the antioxidant defense system and composition of fatty acids. Tree Physiology, 43(3): 452-466.
- Casiglia, S., Bruno, M., Scandolera, E., Senatore, F., & Senatore, F., 2019. Influence of harvesting time on composition of the essential oil of *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. & Link. growing wild in northern Sicily and its activity on microorganisms affecting historical art crafts. Arabian Journal of Chemistry, 12(8): 2704-2712.
- Chandrasekaran, M., Chanratana, M., Kim, K., Seshadri, S., & Sa, T., 2019. Impact of *arbuscular mycorrhizal* fungi on photosynthesis, water status, and gas exchange of plants under salt stress–a meta-analysis. Frontiers in Plant Science, 10: 457.
- Chávez, D., Rivas, G., Machuca, Á., Santos, C., Deramond, C., Aroca, R., & Cornejo, P., 2023.

Contribution of *Arbuscular Mycorrhizal* and Endophytic Fungi to Drought Tolerance in *Araucaria araucana* Seedlings. Plants, 12(11): 2116.

– Chieb, M., & Gachomo, E. W., 2023. The role of plant growth promoting rhizobacteria in plant drought stress responses. BMC Plant Biology, 23(1): 407.
– Cohen, A. C., Bottini, R., Pontin, M., Berli, F. J., Moreno, D., Boccanlandro, H., Travaglia, C. N., & Piccoli, P. N., 2015. *Azospirillum brasilense* ameliorates the response of *Arabidopsis thaliana* to drought mainly via enhancement of ABA levels. Physiologia Plantarum, 153(1): 79-90.
– Deshmukh, S., Hückelhoven, R., Schäfer, P., Imani, J., Sharma, M., Weiss, M., Waller, F., & Kogel, K.-H., 2006. The root endophytic fungus *Piriformospora indica* requires host cell death for proliferation during mutualistic symbiosis with barley. Proceedings of the National Academy of Sciences, 103(49): 18450-18457.
– Du, Z., & Bramlage, W. J., 1992. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 40(9): 1566-1570.
– Dubey, A., Saiyam, D., Kumar, A., Hashem, A., AbdAllah, E. F., & Khan, M. L., 2021. Bacterial root endophytes: Characterization of their competence and plant growth promotion in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) under drought stress. International Journal of Environmental Research and Public Health, 18(3): 931.
– Dauqan, E. M., & Abdullah, A., 2017. Medicinal and functional values of thyme (*Thymus vulgaris* L.) herb. Journal of applied biology and biotechnology, 5(2): 017-022.
– Javed, J., Rauf, M., Arif, M., Hamayun, M., Gul, H., Ud-Din, A. & Lee, I. J. 2022. Endophytic fungal consortia enhance basal drought tolerance in *Moringa oleifera* by upregulating the antioxidant enzyme (APX) through Heat shock factors. Antioxidants, 11(9): 1669.
– Halo, B. A., Al-Yahyai, R., Al-Sadi, A., & Al-Sibani, A., 2023. Desert endophytic fungi improve reproductive, morphological, biochemical, yield and fruit quality characteristics of tomatoes under drought stress. Arab Gulf Journal of Scientific Research. 41(4): 638-655.
– Hayatu, M., Muhammad, S., & Abdu, H. U., 2014. Effect of water stress on the leaf relative water content and yield of some cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp.) genotype. International Journal of Scientific & Technology Research 3(7).
– Hosseini, S. M., Kafi, M., & Arghwani, M., 2016. Effect of salicylic acid on physiological and morphological characteristics of *Lolium perenne* cv. Numan under drought stress. Horticultural Sciences of Iran, 47(2): 167-176. (In Persian).
– Kaur, R., & Saxena, S., 2023. Evaluation of drought-tolerant endophytic fungus *Talaromyces purpureogenus* as a bioinoculant for wheat seedlings under normal and drought-stressed circumstances. Folia Microbiologica, 68(5): 781-799.
– Khorasaninejad, S., Mousavi, A., Soltanloo, H., Hemmati, K., & Khalighi, A., 2011. The effect of drought stress on growth parameters, essential oil yield and constituent of Peppermint (*Mentha piperita* L.). Journal of Medicinal Plants Research, 5(22): 5360-5365.
– Lata, R., Chowdhury, S., Gond, S. K., & White Jr, J. F., 2018. Induction of abiotic stress tolerance in plants by endophytic microbes. Letters in applied microbiology, 66(4): 268-276.
– Li, W., Yao, J., He, C., Ren, Y., Zhao, L., & He, X., 2023. The synergy of dark septate endophytes and organic residue on *Isatis indigotica* growth and active ingredients accumulation under drought stress. Industrial Crops and Products, 203:117147.
– Lichtenthaler, H. K., & Buschmann, C., 2001. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV- VIS spectroscopy. Current protocols in food analytical chemistry, 1(1): F4-3.
– Madouh, T. A., & Quoreshi, A. M., 2023. The function of *arbuscular mycorrhizal* fungi associated with drought stress resistance in native plants of arid desert ecosystems: A review. Diversity, 15(3): 391.
– Maheshwari, D. K., & Dheeman, S., 2021. Endophytes: Mineral Nutrient Management, Volume 3. Springer.
– Mathur, P., Chaturvedi, P., Sharma, C., & Bhatnagar, P., 2022. Improved seed germination and plant growth mediated by compounds synthesized by endophytic *Aspergillus niger* (isolate 29) isolated from *Albizia lebbeck* (L.) Benth. 3 Biotech, 12(10): 271.
– Medina, A., Roldán, A., & Azcón, R., 2010. The effectiveness of arbuscular-mycorrhizal fungi and *Aspergillus niger* or *Phanerochaete chrysosporium* treated organic amendments from olive residues upon plant growth in a semi-arid degraded soil. Journal of Environmental Management, 91(12): 2547-2553.
– Mehrasa, H., Farnia, A., Kenarsari, M. J., & Nakhjavan, S., 2022. Endophytic bacteria and SA application improve growth, biochemical properties, and nutrient uptake in white beans under drought stress. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 22(3): 3268-3279.
– Mirzaei Mashhood, M., Rezapour Fard, J., Barin, M., Alipour, H, & Jabarzadeh, Z., 2022. Evaluation of the effect of endophytic fungus *Piriformospora indica* symbiosis on improving growth characteristics of tall fescue *(Festuca arundinacea* cv. Tomahawk) under

drought stress. Plant Production Research, 29(4): 141-164. (In Persian).
– Mohammadi, H., Nikjoyan, J., hazrati, S., & Hashempour, H., 2020. improvement of yield and phytochemical compounds of *Thymus vulgaris* through foliar application of salicylic acid under water stress. Agriculture & Forestry/Poljoprivreda Sumarstvo, 66(1).
– Moradi, P., Ford-Lloyd, B., & Pritchard, J., 2014. Plant-water responses of different medicinal plant thyme (*Thymus* spp.) species to drought stress condition. Australian Journal of Crop Science, 8(5): 666-673.
– Morgan, J. A., 1984. Interaction of water supply and N in wheat. Plant Physiology, 76(1): 112-117.
– Mozaffari, S., & Gorgini Shabankareh, H. 2016. Effects of Irrigation content based on field capacity percent and Humic acid on morphophysiological traits on medicinal plant (*Portulaca oleracea* L.). Journal of Crop Production, 9(3): 153-175.
– Namwongsa, J., Jogloy, S., Vorasoot, N., Boonlue, S., Riddech, N., & Mongkolthanaruk, W., 2019. Endophytic bacteria improve root traits, biomass and yield of *Helianthus tuberosus* L. under Normal and Deficit Water conditions. Jour. Microbiol. Biotechnol. 29(11): 1777-1789
– Narayanasamy, S., Thankappan, S., Kumaravel, S., Ragupathi, S., & Uthandi, S., 2023. Complete genome sequence analysis of a plant growth-promoting phylloplane *Bacillus altitudinis* FD48 offers mechanistic insights into priming drought stress tolerance in rice. Genomics, 115(1): 110550.
– Okorie, V. O., Mphambukeli, T. N., & Amusan, S. O., 2019. Exploring the political economy of water and food security nexus in BRICS. Africa Insight, 48(4): 21-38.
– Pandey, J., Devadasu, E., Saini, D., Dhokne, K., Marriboina, S., Raghavendra, A. S., & Subramanyam, R., 2023. Reversible changes in structure and function of photosynthetic apparatus of pea (*Pisum sativum*) leaves under drought stress. The Plant Journal, 113(1): 60-74.
– Qadir, M., Hussain, A., Shah, M., Hamayun, M., Iqbal, A., & Nadia., 2023. Enhancement of chromate phytoremediation and soil reclamation potential of *Brassica campestris* L. by *Aspergillus niger*. Environmental Science and Pollution Research, 30(4): 9471-9482.
– Rasheed, A., Zhao, L., Raza, A., Mahmood, A., Xing, H., Lv, X., Saeed, H., Alqahtani, F. M., Hashem, M., & Hassan, M. U., 2023. Role of Molecular Breeding Tools in Enhancing the Breeding of Drought-Resilient Cotton Genotypes: An Updated Review. Water, 15(7): 1377.
– Reddy, V. P., 2014. Review on *Thymus vulgaris* Traditional Uses and Pharmacological Properties. Medicinal & Aromatic Plants, 3(3): 2167-0412.
– Salehi, B., Abu-Darwish, M. S., Tarawneh, A. H., Cabral, C., Gadetskaya, A. V., Salgueiro, L., Hosseinabadi, T., Rajabi, S., Chanda, W., & Sharifi-Rad, M. 2019. *Thymus* spp. Plants-Food applications and phytopharmacy properties. Trends in Food Science & Technology, 85: 287-306.
– Sangamesh, M., Jambagi, S., Vasanthakumari, M., Shetty, N. J., Kolte, H., Ravikanth, G., Nataraja, K. N., & Uma Shaanker, R., 2018. Thermotolerance of fungal endophytes isolated from plants adapted to the Thar Desert, India. Symbiosis, 75: 135-147.
– Sapre, S., Gontia-Mishra, I., & Tiwari, S. 2018. Klebsiella sp. confers enhanced tolerance to salinity and plant growth promotion in oat seedlings (*Avena sativa*). Microbiological Research, 206: 25-32.
– Schuster, E., Dunn-Coleman, N., Frisvad, J., & Van Dijck, P. 2002. On the safety of *Aspergillus niger*–a review. Applied Microbiology and Biotechnology, 59: 426-435.
– Sebastiana, M., da Silva, A. B., Matos, A. R., Alcântara, A., Silvestre, S., & Malhó, R., 2018. Ectomycorrhizal inoculation with *Pisolithus tinctorius* reduces stress induced by drought in cork oak. Mycorrhiza, 28: 247-258.
– Shahabivand, S., Parvaneh, A., & Aliloo, A. A., 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.
– Shukla, N., Awasthi, R., Rawat, L., & Kumar, J., 2012. Biochemical and physiological responses of rice (*Oryza sativa* L.) as influenced by *Trichoderma harzianum* under drought stress. Plant Physiology and Biochemistry, 54: 78-88.
– Silva, A. S., Tewari, D., Sureda, A., Suntar, I., Belwal, T., Battino, M., Nabavi, S. M., & Nabavi, S. F., 2021. The evidence of health benefits and food applications of *Thymus vulgaris* L. Trends in Food Science & Technology, 117: 218-227.
– Telfer, A. 2014., Singlet oxygen production by PSII under light stress: mechanism, detection and the protective role of β-carotene. Plant and Cell Physiology, 55(7): 1216-1223.
– Tufail, M. A., Touceda-González, M., Pertot, I., & Ehlers, R.-U., 2021. *Gluconacetobacter diazotrophicus* Pal5 enhances plant robustness status under the combination of moderate drought and low nitrogen stress in *Zea mays* L. Microorganisms, 9(4): 870.
– Yaghoubian, Y., Goltapeh, E. M., Pirdashti, H., Esfandiari, E., Feiziasl, V., Dolatabadi, H. K., Varma,

A., & Hassim, M. H., 2014. Effect of *Glomus mosseae* and *Piriformospora indica* on growth and antioxidant defense responses of wheat plants under drought stress. Agricultural Research, 3: 239-245.
– Yang, Z., & Qin, F., 2023. The battle of crops against drought: Genetic dissection and improvement. Journal of Integrative Plant Biology, 65(2): 496-525.
– Zare Hassanabadi, M., Dashti, M., & Akhondi, M., 2020. The effect of two species of *Arbuscular mycorrhiza* fungi on the activity of antioxidant enzymes and morpho-physiological characteristics of *Mentha pulegium* L. in drought stress. Technology of Medicinal and Aromatic Plants of Iran, 2(2): 83-99. (In Persian).
– Zarea, M., Hajinia, S., Karimi, N., Goltapeh, E. M., Rejali, F., & Varma, A. 2012. Effect of *Piriformospora indica* and *Azospirillum* strains from saline or non-saline soil on mitigation of the effects of NaCl. Soil Biology and Biochemistry, 45: 139-146.