

## اثر همزیستی اندوفیتی و محلول‌پاشی اسپرمیدین بر فلورسانس کلروفیل و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه دارویی استویا (*Stevia rebaudiana Bertoni*) در شرایط تنش شوری

سیده حدیثه بهاری ساروی<sup>۱</sup>، احمد غلامی<sup>۲</sup>، همت‌اله پیردشتی<sup>۳\*</sup>، مهدی برادران فیروزآبادی<sup>۲</sup> و حمیدرضا اصغری<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود،<sup>۲</sup> گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود  
<sup>۳</sup> گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری  
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۳/۱۶، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۱۰/۲۵)

### چکیده

به منظور بررسی اثر همزیستی اندوفیتی و محلول‌پاشی اسپرمیدین بر فلورسانس کلروفیل و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه دارویی استویا (*Stevia rebaudiana Bertoni*) تحت تنش شوری آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل تنش شوری در سه سطح (صفر، ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر)، تیمار همزیستی قارچی شامل چهار سطح عدم تلقیح (شاهد)، تلقیح *Pi Piriformospora indica*، تلقیح *Trichoderma virens* (Trich) و تلقیح همزمان دو قارچ (Pi+Trich) و تیمار محلول‌پاشی پلی‌آمین اسپرمیدین در سه سطح (صفر، ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مولار) بود. نشاهای گیاه استویا پس از تلقیح با تیمارهای قارچی تا اواخر مرحله رویشی با آب معمولی و سپس به مدت دو هفته با تیمارهای آب شور که حاوی مخلوط آب دریای خزر و آب مقطر بود، آبیاری شدند. تیمار اسپرمیدین یک هفته قبل از اعمال تنش شوری اعمال شد. نتایج نشان داد در شرایط شور تلقیح با قارچ‌های اندوفیت به ویژه Pi+Trich مقدار فلورسانس حداکثر (Fm)، فلورسانس متغیر (Fv)، حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) و کارایی کوانتومی فتوشیمیایی مؤثر فتوسیستم II [Y(II)] را افزایش و کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم‌شده فتوسیستم II [Y(NPQ)] و کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم‌نشده فتوسیستم II [Y(NO)] را کاهش داد. از طرفی همزیستی قارچی به ویژه Pi+Trich و محلول‌پاشی اسپرمیدین ۰/۷۵ میلی‌مولار منجر به افزایش Fv، Fm و Fv/Fm شد. در تمام سطوح شوری تلقیح با تیمارهای قارچی و برهمکنش قارچ و اسپرمیدین، غلظت کلروفیل *a* را بهبود بخشید. در مجموع کاربرد قارچ‌های اندوفیت به ویژه تلقیح همزمان دو قارچ در تمام سطوح شوری باعث بهبود پارامترهای فلورسانس کلروفیل و تعدیل اثر تخریبی شوری شد. همچنین پلی‌آمین اسپرمیدین (به ویژه در غلظت ۰/۷۵ میلی‌مولار) موجب بهبود تحمل گیاه به تنش شوری با قارچ‌های اندوفیت اثر هم‌افزایی داشت.

کلمات کلیدی: شوری، پلی‌آمین، عملکرد کوانتومی، قارچ‌های اندوفیت، کلروفیل *a*

مقدمه گیاهان زراعی هستند که با اختلال در متابولیسم طبیعی گیاه، تنش‌های محیطی زنده و غیرزنده از عوامل محدودکننده تولید رشد را محدود و در نهایت محصول را کاهش می‌دهند (Jamil

خاموشی غیرفتوشیمیایی را افزایش داد. علاوه بر آن، کلروفیل عامل اصلی برای فتوستنز بوده و شرایط نامطلوب شوری اثرات تخریبی بر آن دارد بر این اساس می‌توان با اندازه‌گیری محتوای رنگیزه‌های فتوستنزی از جمله کلروفیل *a* و *b* و کارتنوئیدها به اثرات تنش شوری بر فعالیت فتوستنزی پی برد (عموآقایی و نیک‌اندیش، ۱۳۹۴؛ Xin et al., 2008).

در میان راهکارهای زیستی برای افزایش رشد گیاهان در شرایط شور نقش قارچ‌ها برجسته است؛ چرا که استفاده از قارچ‌های همزیست می‌تواند آسیب به فرآیندهای فیزیولوژیکی و کارایی فتوستنزی گیاه را در شرایط شور تعدیل نماید. این قارچ‌ها از مهم‌ترین ریزجانداران خاک محسوب می‌شوند و با ایجاد تغییرات فیزیولوژیکی و بوم‌شناختی در گیاه میزبان عملکرد آنها را در واحد سطح افزایش داده و امکان توسعه کشت آنها را در خاک‌های شور، خشک یا اقلیم‌هایی با تنش‌های زنده و غیرزنده فراهم می‌آورند (Hermossa et al., 2010). از جمله این ریزجانداران می‌توان به دو قارچ *Piriformospora indica* و *Trichoderma virens* اشاره کرد (Varma et al., 2012; Sun et al., 2010). قارچ *P. indica* جزء قارچ‌های خانواده *Sebacinaceae* بوده (Varma et al., 1999) که رابطه همزیستی آن با گیاهان مختلف در تحریک رشد گیاه و افزایش توان تحمل گیاه به تنش‌های شوری، خشکی و عوامل بیماری‌زای ریشه و برگ توسط محققین مختلف گزارش شده است (سپهری و همکاران، ۱۳۸۸؛ Yaghoobian et al., 2014; Waller et al., 2005; Rai and Varma, 2005; Kumari et al., 2003). همچنین قارچ *T. virens* نیز به‌منظور کنترل زیستی در برابر عوامل بیماری‌زای خاکزی، افزایش جذب عناصر غذایی (Cuevas, 2006)، ایجاد مقاومت القایی در برابر تنش‌های محیطی و القای رشد گیاه استفاده می‌شود (یزدانی و همکاران، ۱۳۸۷). مطالعات نشان می‌دهد که حضور ریزجانداران مفید خاکزی در ریزوسفر گیاهان می‌تواند از طریق کاهش اتیلن ناشی از تنش‌هایی نظیر شوری (ربیعی و همکاران، ۱۳۹۱) و خشکی (Rai and Varma, 2005) کارایی فتوستنزی گیاهان را در شرایط نامساعد

(Shao et al., 2008; et al., 2012). در بین تنش‌های غیرزنده، تنش شوری در سطح جهان خسارت‌های گسترده‌ای به گیاهان وارد نموده و از مشکلات عمده در بخش کشاورزی است (Rasheed et al., 2014). محیط‌های شور با دو خصوصیت اصلی پتانسیل اسمزی بالا و غلظت بالای املاح مشخص می‌شوند که به‌صورت بالقوه برای بیشتر گیاهان زراعی سمی هستند (Gharineh et al., 2009). در این میان یکی از بارزترین پاسخ‌های گیاهی به تنش شوری اختلال در فعالیت فتوسیستم II است (Andrews et al., 1995). با بسته‌شدن روزنه‌ها و کاهش تبادلات گازی تحت تأثیر تنش‌های محیطی، ادامه جذب نور توسط مولکول‌های کلروفیل منجر به اختلال در زنجیره انتقال الکترون و کاهش مصرف فرآورده‌های آن یعنی ATP و NADPH در چرخه کالوین شده و در نهایت بسته شدن مراکز واکنش و کاهش عملکرد کوانتومی فتوسیستم II را به‌دنبال خواهد داشت (Maxwell and Johnson, 2005). تکنیک سنجش فلورسانس کلروفیل به‌عنوان یک روش مناسب برای بررسی وضعیت کلروفیل گیاهی است (Baker and Rosenqvist, 2004).

بخشی از انرژی نوری جذب‌شده به‌وسیله مولکول‌های کلروفیل در یک برگ برای پیشبرد فتوستنزی استفاده می‌شود (خاموشی فتوشیمیایی) و انرژی مازاد به‌صورت حرارت پراکنده شده (خاموشی غیرفتوشیمیایی) و یا به‌صورت نور با طول‌موج بلند (فلورسانس کلروفیل) ساطع می‌شود (Yaghoobian et al., 2016; Baker, 2008). از آنجایی که این سه فرآیند به‌صورت رقابتی رخ می‌دهند می‌توان از طریق اندازه‌گیری عملکرد فلورسانس کلروفیل اطلاعاتی را در مورد تغییرات کارایی فتوشیمیایی و هدررفت گرمایی به‌دست آورد (Lazar, 1999). در همین راستا پژوهش‌ها نشان داد که تنش شوری در ریحان (*Ocimum basilicum* L.) (بهاری ساروی و همکاران، ۱۳۹۶)، بادام (*Prunus amygdalus*) (مؤمن‌پور و همکاران، ۱۳۹۳)، کرچک (*Ricinus communis*) (Li et al., 2010) و رزماری (*Rosmarinus officinalis*) (Gaohong et al., 2011) عملکرد کوانتومی فتوسیستم II را کاهش و

ساکارز شناخته می‌شوند. این ماده شیرین‌کننده فاقد کالری برای افرادی که از دیابت، فشار خون بالا، ناراحتی‌های قلبی و چاقی رنج می‌برند مطلوب است (Ishima and Katayama, 1976). بنابراین، باتوجه به موارد مطرح‌شده و همچنین اهمیت گیاه دارویی استویا، این مطالعه با هدف بررسی اثر همزیستی قارچ‌های اندوفیت *P. indica* و *T. virens* به‌همراه کاربرد پلی‌آمین اسپرمیدین بر مؤلفه‌های فلورسانس کلروفیل و رنگیزه‌های فتوسنتزی این گیاه در شرایط شور صورت پذیرفت.

#### مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در بهار و تابستان سال ۱۳۹۵ در گلخانه پژوهشگاه ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل تنش شوری در سه سطح (صفر، ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر)، تیمار همزیستی قارچی شامل چهار سطح عدم‌تلقیح (شاهد)، تلقیح *P. indica* (Pi)، تلقیح *T. virens* (Trich) و تلقیح همزمان دو قارچ (Pi+Trich) و تیمار پلی‌آمین اسپرمیدین در سه سطح (صفر، ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مولار) بود. قارچ‌های *P. indica* و *T. virens* به‌ترتیب در محیط‌کشت مایع کفر (Kaefer, 1977) و محیط‌کشت دو (عصاره سیب‌زمینی و دکستروز) کشت شد. پس از گذشت دو هفته که رشد رویشی قارچ‌ها به حداکثر خود رسید، سوسپانسیون با غلظت حدود  $1 \times 10^9$  واحد کلونی‌ساز در میلی‌لیتر (CFU/ml) تهیه و جهت تلقیح استفاده شد. روش تلقیح برای قارچ‌ها به این صورت بود که ریشه نشاهای ۴۰ روزه گیاه استویا با سوسپانسیون قارچ *P. indica* و *T. virens* به‌مدت ۶۰ ثانیه آغشته و سپس به گلدان‌های پلاستیکی کوچکی منتقل و مرحله سازگاری گیاه (به‌مدت ۴۰ روز) در اتاق سازگاری با شرایط دمایی ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت سپری شد. در ادامه نشاها به گلدان‌های اصلی (با ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر، قطر دهانه ۱۸ سانتی‌متر و گنجایش سه

محیطی بهبود بخشید. از سوی دیگر، طی مطالعات متعدد ثابت شده است که اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل روش معتبر و قابل‌اعتمادی برای مطالعه فرآیندهای فتوسنتزی گیاه تحت تنش‌های محیطی و همچنین کاربرد ریزجانداران خاکزی در مواجهه با این تنش‌ها است. برای نمونه ربیعی و همکاران (۱۳۹۱) در گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum*) در شرایط تنش شوری و کاربرد باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد، یعقوبیان و همکاران (۱۳۹۱) در گیاه گندم تحت تنش رطوبتی و همزیستی میکوریزایی و همچنین Yaghoubian و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی تنش کادمیم بر گیاه خرفه از این روش استفاده نمودند.

از سوی دیگر، امروزه نقش پلی‌آمین‌ها در افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های غیرزنده از جمله شوری و خشکی مورد توجه قرار گرفته است. پلی‌آمین‌ها گروهی از ترکیبات طبیعی با وزن مولکولی کم هستند که در طیف وسیعی از فرآیندهای فیزیولوژیکی از جمله رشد و نمو گیاه، تشکیل ریشه، نمو و رسیدن میوه، فتوسنتز و مقاومت به تنش‌های زنده و غیرزنده نقش دارند (Galston et al., 1997). همچنین پلی‌آمین‌ها از نسخه‌برداری، تولید و فعالیت آنزیم ACC سینتتاز جلوگیری کرده و منجر به کاهش سطوح ACC اکسیداز و کاهش تولید اتیلن شده و به‌دنبال آن باعث افزایش مقاومت گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی می‌شود (Lee et al., 1997). در همین راستا Toumadse و Richardson (۱۹۹۸) بیان داشتند که تیمار آگروزن پلی‌آمین‌ها در گوجه‌فرنگی، آووکادو و گل‌ابی با ممانعت از فعالیت آنزیم ACC سینتتاز بیوسنتز اتیلن را به شدت کاهش می‌دهد.

گیاه استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) از جمله گیاهان دارویی، بوته‌ای، چندساله و متعلق به خانواده آستراسه (Asteracea) بوده که کشت و کار آن به‌علت برگ شیرین و خواص ضددیابتی آن رو به گسترش است (Sadeak et al., 2009). برگ‌های استویا دارای دی‌ترین گلیکوزید از جمله استویوزید و ربادیوزید است که حدود ۳۰۰-۱۰۰ بار از قند ساکارز شیرین‌ترند و به‌عنوان شیرین‌کننده طبیعی جایگزین

A<sub>665.2</sub>، A<sub>652.4</sub>، A<sub>470</sub> میزان نور جذبی محلول در طول موج‌های ۶۶۵/۲، ۶۵۲/۴ و ۴۷۰ نانومتر است. پس از پایان آزمایش آزمون نرمال‌بودن داده‌ها به روش کولموگروف-اسمیرنوف انجام و سپس به وسیله نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ آنالیز شدند. میانگین‌ها نیز براساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

### نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به فلورسانس کلروفیل (جدول ۲) نشان داد که اثر ساده شوری و همزیستی قارچ‌های اندوفیت بر تمامی پارامترهای فلورسانس کلروفیل شامل Fo، Fm، Fv، Fv/Fm، Y(II)، Y(NPQ)، Y(NO) و NPQ و همچنین اثر ساده پلی‌آمین اسپرمیدین در فلورسانس حداکثر (Fm)، فلورسانس متغیر (Fv)، حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) و کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم‌نشده فتوسیستم II [(Y(NO))] در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بین قارچ‌های اندوفیت مورد مطالعه و سطوح مختلف شوری در تمامی پارامترهای مورد نظر به جز فلورسانس حداقل (Fo)، برهمکنش معنی‌داری مشاهده شد. همچنین بین همزیستی قارچی و پلی‌آمین اسپرمیدین در فلورسانس حداکثر (Fm)، فلورسانس متغیر (Fv)، حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) و کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم‌نشده فتوسیستم II [(Y(NO))] در سطح احتمال پنج درصد برهمکنش معنی‌داری وجود داشت. اثر متقابل سه گانه شوری، قارچ و اسپرمیدین، تنها بر کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم‌نشده فتوسیستم II [(Y(NO))] در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد. برهمکنش معنی‌داری بین سطوح مختلف شوری و اسپرمیدین مشاهده نشد (جدول ۲).

براساس یافته‌ها فلورسانس حداقل در برگ‌های سازگار به تاریکی (Fo) با افزایش تنش شوری افزایش قابل توجهی نشان داد، به طوریکه در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر با حدود ۱۱ درصد افزایش نسبت به شاهد به بالاترین میزان خود

کیلوگرم خاک خشک) منتقل و در گلخانه با شرایط نور طبیعی و دمای مطلوب (۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت. گیاهان تا اواخر مرحله رویشی با آب معمولی و سپس به مدت دو هفته با تیمارهای آب شور که حاوی مخلوط آب دریای خزر و آب‌مقطر بود، آبیاری شدند. همچنین تیمارهای پلی‌آمین اسپرمیدین (شرکت Sigma) یک هفته قبل از اعمال تنش شوری به صورت محلول‌پاشی اعمال شد. پس از گذشت دو هفته از تنش شوری اندازه‌گیری پارامترهای فلورسانس کلروفیل در آخرین برگ توسعه‌یافته با استفاده از دستگاه فلورومتر (PAM 2500-Walz, Germany) و براساس روش Genty و همکاران (۱۹۸۹) صورت گرفت. بدین منظور، برگ‌ها با استفاده از گیره‌های مخصوص برگ (Walz 2030-B) به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند سپس فلورسانس حداقل (Fo) با همی مراکز واکنشی باز فتوسیستم II و فلورسانس حداکثر (Fm) با همه مراکز واکنشی بسته فتوسیستم II در برگ‌های سازگار به تاریکی و در مرحله بعد میزان فلورسانس پایدار (Ft)، فلورسانس حداقل (Fo') و حداکثر (Fm') در برگ‌های سازگار شده به روشی تعیین شد. با استفاده از پارامترهای تعیین‌شده در برگ‌های سازگار شده به تاریکی و روشی میزان فلورسانس متغیر (Fv)، حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm)، کارایی کوانتومی فتوشیمیایی مؤثر فتوسیستم II [Y(II)]، کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم‌شده فتوسیستم II [Y(NPQ)]، کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم‌نشده فتوسیستم II [Y(NO)] و خاموشی غیرفتوشیمیایی (NPQ) براساس جدول ۱ محاسبه شد. همچنین جهت سنجش رنگی‌های فتوستزی از آخرین برگ گسترش‌یافته گیاه نمونه‌برداری و میزان کلروفیل *a* و *b* و کارتنوئید با استفاده از روش Buschmann و Lichtenthaler (۲۰۰۱) اندازه‌گیری و به ترتیب براساس معادله‌های زیر محاسبه شد.

$$\text{Chl } a \text{ (}\mu\text{g/ml)} = 16.72 A_{665.2} - 9.16 A_{652.4}$$

$$\text{Chl } b \text{ (}\mu\text{g/ml)} = 34.09 A_{652.4} - 15.28 A_{665.2}$$

$$\text{Car (}\mu\text{g/ml)} = (1000A_{470} - 1.63\text{Chl } a - 104.96\text{Chl } b) / 221$$

جدول ۱- مؤلفه‌های بیوفیزیکی اندازه‌گیری شده فلورسانس کلروفیل و معادلات مربوط به آنها

مؤلفه	شناسه	معادله
فلورسانس متغیر	Fv	Variable fluorescence
حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II	Fv/Fm	Maximum photochemical quantum yield of photosystem II
کارایی کوانتومی فتوشیمیایی مؤثر فتوسیستم II	Y(II)	Effective photochemical quantum yield of photosystem II
کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم شده فتوسیستم II	Y(NPQ)	Quantum yield of regulated energy dissipation
کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم نشده فتوسیستم II	Y(NO)	Quantum yield of non-regulated energy dissipation
خاموشی غیرفتوشیمیایی	NPQ	Non-photochemical quenching

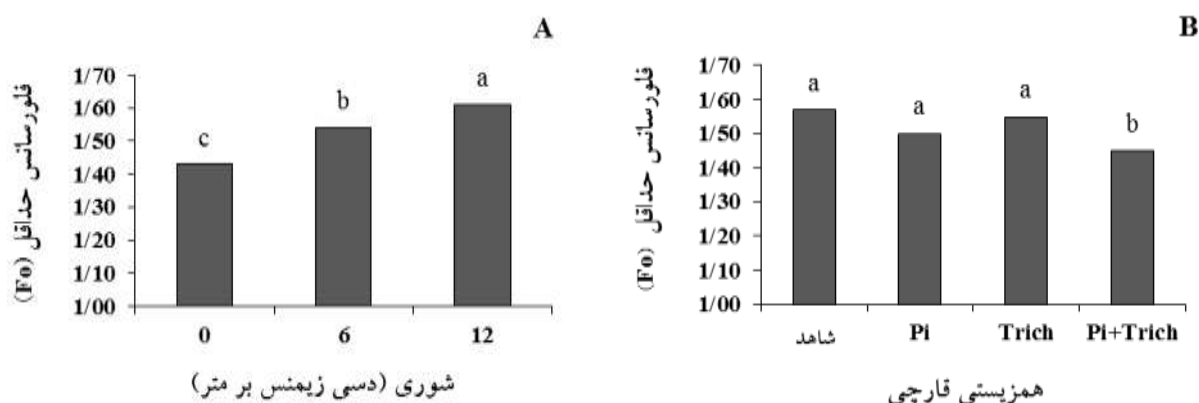
جدول ۲- میانگین مربعات اثر عوامل مورد بررسی بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل در برگ گیاه استویا

منابع تغییر	df	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Y(II)	Y(NPQ)	Y(NO)	NPQ
شوری (A)	۲	۰/۲۹**	۶/۲۹**	۹/۲۷**	۰/۰۳**	۰/۲۸**	۰/۱۱**	۰/۰۳**	۱/۰۷**
قارچ (B)	۳	۰/۰۷**	۳/۴۸**	۴/۳۸**	۰/۰۱**	۰/۱۲**	۰/۰۶**	۰/۰۰۹**	۱/۱۶**
اسپرمیدین (C)	۲	۰/۰۲	۱/۵۳**	۱/۹۴**	۰/۰۰۷**	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۲**	۰/۱۶
A×B	۶	۰/۰۰۹	۰/۹۱**	۰/۸۵**	۰/۰۰۲**	۰/۰۲**	۰/۰۱۵**	۰/۰۰۰۶**	۰/۳۶**
A×C	۴	۰/۰۰۱	۰/۱	۰/۰۹	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۹
B×C	۶	۰/۰۰۰۶	۰/۲۴*	۰/۲۴*	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۰۹	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۲*	۰/۱۴
A×B×C	۱۲	۰/۰۰۱	۰/۱۳	۰/۱۴	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۲*	۰/۰۱
خطای آزمایش	۷۲	۰/۰۰۹	۰/۰۷	۰/۰۸	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۷
ضریب تغییرات (%)		۶/۲	۴/۶	۶/۴	۲/۷	۶/۳	۲۹/۳	۷/۴	۲۷/۱

\* و \*\* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

بیانگر تخریب زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II در اثر کاهش ظرفیت کوئینون آ (QA) و عدم اکسیداسیون کامل آن به دلیل جریان کند الکترون در طول مسیر فتوسیستم II و در مجموع غیرفعال شدن فتوسیستم II است (Gaohong *et al.*, 2011; Guimaraes *et al.*, 2014). افزایش Fo در اثر تنش شوری در بادام (مؤمن‌پور و همکاران، ۱۳۹۳) و آفتابگردان (صفاری و همکاران، ۱۳۹۲) و همچنین افزایش این پارامتر در تنش خشکی در گیاه دارویی گاوزبان (رحیمی و همکاران، ۱۳۹۵) و ذرت (همایونی و همکاران، ۱۳۹۵) و کاهش Fo در اثر تلقیح با ریزجانداران افزایش‌دهنده رشد در گیاه ریحان تحت تنش شوری (بهراری ساروی و همکاران، ۱۳۹۶) نیز گزارش شده است.

رسید (شکل A ۱). همچنین تلقیح با قارچ‌های اندوفیت به‌ویژه تلقیح همزمان دو قارچ Pi+Trich توانست فلورسانس حداقل (Fo) را نسبت به شاهد حدود هشت درصد کاهش دهد (شکل B ۱). فلورسانس حداقل (Fo) تحت تأثیر تنش‌های محیطی که موجب تغییر ساختار در مراکز واکنش اولیه فتوسیستم II می‌شوند، قرار می‌گیرد (جوادی‌پور و همکاران، ۱۳۹۲). خسارت‌های ناشی از تنش‌های محیطی به مراکز واکنش فتوسیستم II موجب افزایش فلورسانس حداقل (Fo) می‌شود، لذا هر چه مقدار فلورسانس حداقل کمتر باشد بدین معنی است که فعالیت‌های فتوسنتزی به‌نحو مطلوبی در جریان است (Andrews *et al.*, 1995). در مطالعه حاضر، میزان Fo با افزایش سطح شوری افزایش یافت (شکل A ۱) که



شکل ۱- اثر تنش شوری (A) و همزیستی قارچی (B) بر فلورسانس حداقل (F0) در برگ گیاه استویا. *P. indica*: Pi و *T. virens*: Trich در هر شکل ستون‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

و همزمان با قارچ‌های *P. indica* و *T. virens* نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان دادند. در هر سه پارامتر مورد مطالعه بیشترین افزایش مربوط به تلقیح همزمان دو قارچ بود که در سطح شوری ۱۲ دسی‌زمینس بر متر با تلقیح جداگانه قارچ‌ها نیز تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۳). محققان بیان داشتند همزیستی با قارچ می‌تواند اثرات مضر تنش را بر عملکرد کوانتومی فتوسیستم II از طریق کاهش آسیب به مراکز واکنشی فتوسیستم کاهش داده و باعث افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی از جمله شوری و خشکی شود (Habibi et al., 2010; Yaman et al., 2008; Mehta et al., 2010). نسبت Fv/Fm نیز نشان‌دهنده ظرفیت انتقال الکترون فتوسیستم II است و به‌عنوان شاخصی معتبر برای نشان‌دادن اختلال ناشی از تنش در مراکز فتوشیمیایی و بازدارندگی نوری استفاده می‌شود (Baker and Rosenqvist, 2004; Li et al., 2008). کاهش این شاخص در شرایط تنش نشانه کاهش میزان حفاظت نوری و در نتیجه بازدارندگی تنش شوری بر کارایی فتوستیز است. از آنجایی که بالاتر بودن نسبت Fv/Fm در سطوح بالای شوری بیانگر توانایی انجام محافظت نوری در شرایط تنش است بنابراین در آزمایش حاضر افزایش این شاخص در بوته‌های تلقیح‌شده با قارچ‌های اندوفیت (جدول ۳) نشان‌دهنده نقش مثبت این ریزجانداران در بهبود سیستم حفاظتی گیاه و افزایش تحمل به تنش شوری است.

براساس نتایج جدول ۳ مشخص شد که با افزایش سطوح شوری در بیشتر تیمارهای قارچی و به‌ویژه تیمار شاهد (عدم تلقیح قارچ)، فلورسانس حداکثر (Fm)، فلورسانس متغیر (Fv) و حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) کاهش یافت. به طوریکه میزان Fv، Fm و Fv/Fm در تیمار شاهد (عدم تلقیح با قارچ) با افزایش تنش شوری از صفر تا ۱۲ دسی‌زمینس بر متر به ترتیب ۲۴، ۳۳ و ۱۳ درصد کاهش نشان داد. به نظر می‌رسد تنش شوری با تغییرات ساختاری در فتوسیستم II، به‌خصوص در پروتئین D1، بازدارندگی نوری و کاهش پذیرنده‌های الکترون موجب افزایش تولید رادیکال‌های فعال می‌شود که می‌تواند منجر به صدمات اکسیداتیو، تخریب کلروفیل، افزایش آسیب به اجزای فتوسیستم II و غیرفعال شدن آنزیم‌های کلروپلاست شود (Guimaraes et al., 2014). تنش‌های محیطی با اثرات نامطلوبی که بر تثبیت کربن می‌گذارند، ظرفیت پذیرش و انتقال الکترون را کاهش داده در نتیجه سیستم به‌سرعت به Fm می‌رسد که نتیجه آن کاهش در میزان فلورسانس متغیر (Fv) خواهد بود. از این رو کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II (Fv/Fm) تحت تأثیر تنش کاهش می‌یابد (Ma et al., 1995). همچنین، نتایج بیانگر اثر مثبت تلقیح با قارچ‌های اندوفیت در شرایط شور بر مقدار Fv، Fm و Fv/Fm بود، به طوریکه هر سه پارامتر مورد نظر در سطوح شوری ۶ و ۱۲ دسی‌زمینس بر متر و در شرایط تلقیح جداگانه

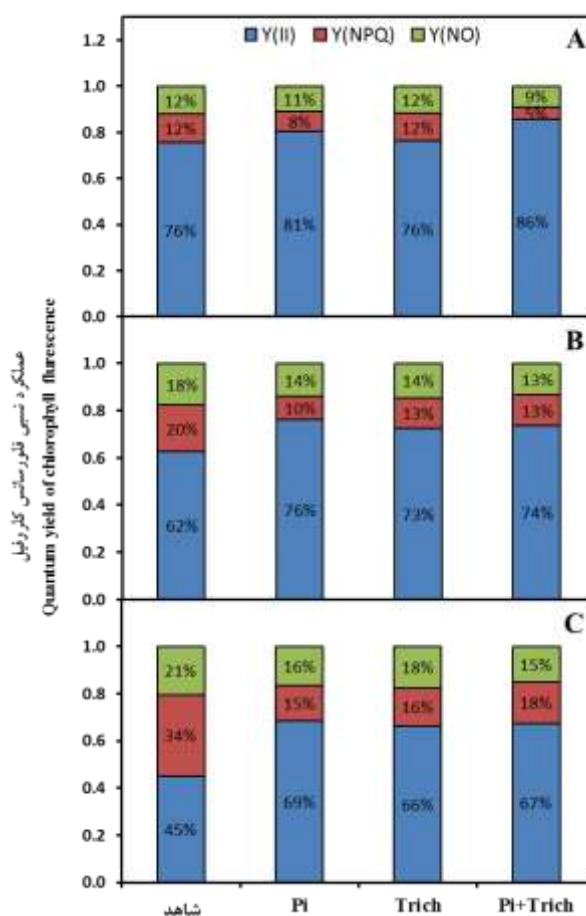
جدول ۳- تأثیر برهمکنش تنش شوری و همزیستی قارچی بر مؤلفه‌های فلورسانس کلروفیل در برگ گیاه استویا

قارچ اندوفیت				شوری (دسی‌زیمنس بر متر)
Pi+Trich	<i>T. virens</i> (Trich)	<i>P. indica</i> (Pi)	شاهد	
فلورسانس حداکثر (Fm)				
۶/۸۴ <sup>a</sup>	۶/۵۳ <sup>bc</sup>	۶/۳۰ <sup>bcd</sup>	۶/۵۶ <sup>b</sup>	۰
۶/۲۱ <sup>de</sup>	۶/۰۷ <sup>de</sup>	۶/۱۹ <sup>de</sup>	۵/۲۱ <sup>g</sup>	۶
۶/۲۷ <sup>cde</sup>	۵/۷۸ <sup>f</sup>	۶/۰۳ <sup>ef</sup>	۴/۹۹ <sup>g</sup>	۱۲
فلورسانس متغیر (Fv)				
۵/۴۷ <sup>a</sup>	۵/۱۴ <sup>b</sup>	۴/۸۴ <sup>cd</sup>	۵/۰۵ <sup>bc</sup>	۰
۴/۷۵ <sup>de</sup>	۴/۴۸ <sup>ef</sup>	۴/۶۴ <sup>def</sup>	۳/۶۴ <sup>h</sup>	۶
۴/۷۴ <sup>de</sup>	۴/۱۲ <sup>g</sup>	۴/۴۱ <sup>f</sup>	۳/۳۵ <sup>i</sup>	۱۲
حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) II				
۰/۷۹۹ <sup>a</sup>	۰/۷۸۶ <sup>ab</sup>	۰/۷۶۸ <sup>bc</sup>	۰/۷۷۰ <sup>bc</sup>	۰
۰/۷۶۲ <sup>cd</sup>	۰/۷۳۷ <sup>ef</sup>	۰/۷۴۹ <sup>def</sup>	۰/۶۹۵ <sup>h</sup>	۶
۰/۷۵۶ <sup>cde</sup>	۰/۷۱۲ <sup>gh</sup>	۰/۷۳۱ <sup>fg</sup>	۰/۶۶۸ <sup>i</sup>	۱۲

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

همچنین، نتایج حاکی از اثر بخشی تیمار همزیستی قارچی در افزایش کارایی کوانتومی فتوشیمیایی مؤثر فتوسیستم II [Y(II)]، کاهش کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم‌شده فتوسیستم II [Y(NPQ)] و کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم‌نشده فتوسیستم II [Y(NO)] در سطوح مختلف شوری است به طوری که در شرایط شوری ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، به ترتیب افزایش ۱۵ و ۳۳ درصدی در پارامتر Y(II) در اثر تلقیح Pi+Trich نسبت به سطح شوری مشابه و عدم تلقیح مشاهده شد. همچنین تلقیح همزمان دو قارچ در شوری صفر منجر به کاهش ۵۶ درصدی پارامتر Y(NPQ) نسبت به شاهد شد. بهاری ساروی و همکاران (۱۳۹۶) با کاربرد باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) نشان دادند که این ریزجانداران مفید خاکزی منجر به افزایش کارایی کوانتومی فتوشیمیایی مؤثر فتوسیستم II [Y(II)]، کاهش کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم‌شده فتوسیستم II [Y(NPQ)] و کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم‌نشده فتوسیستم II [Y(NO)] در شرایط شوری شد.

نتایج نشان داد با افزایش تنش شوری از صفر به ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، کارایی کوانتومی فتوشیمیایی مؤثر فتوسیستم II [Y(II)] به ترتیب از ۰/۷۵ به ۰/۶۲ و ۰/۴۵ کاهش یافت (شکل ۲). از آنجایی که Y(II) نسبت نور استفاده‌شده در فرآیند فتوستتوز به کل نور جذب‌شده به وسیله کلروفیل مربوط به فتوسیستم II بوده و مستقیماً با سرعت آسیمیلایسیون CO<sub>2</sub> در برگ ارتباط دارد (Genty et al., 1989)، کاهش Y(II) در زمان تنش احتمالاً بیانگر کاهش فرآیند فتوستتوزی و آسیمیلایسیون CO<sub>2</sub> در اثر تنش شوری است. از سوی دیگر، با توجه به اینکه مقدار Y(II) با کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم‌شده فتوسیستم II [Y(NPQ)] و کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم‌نشده فتوسیستم II [Y(NO)] به عنوان عملکردهای کوانتومی رابطه مکملی وجود دارد (Stefanov and Terashima, 2008)، با کاهش مقدار Y(II)، مقدار (NPQ) Y و Y(NO) بیشتر شد. حسنی و همکاران (۱۳۹۲) نیز کاهش پارامتر Y(II) در شرایط تنش سرما را در ژنوتیپ‌های گیاه برنج گزارش کردند.



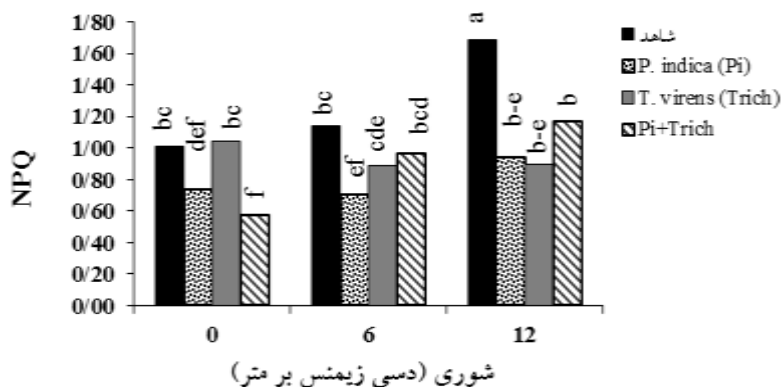
شکل ۲- اثر همزیستی قارچی بر تغییرات مکمل پارامترهای Y(II) و Y(NPQ)، Y(NO) در سطوح شوری صفر (A)، ۶ (B) و ۱۲ (C) دسی زیمنس بر متر. Pi: *P. indica*؛ Trich: *T. virens*

داشت (Porcar-Castell *et al.*, 2014). ریزجانداران مفید خاکزی از جمله قارچ‌های همزیست مانند میکوریزا در زمان وقوع تنش‌های محیطی با تولید موادی از قبیل اکسین، آنتی‌اکسیدان‌ها، سیتوکینین‌ها، اسانس‌ها و آنزیم ACC دامیناز به رشد گیاه و تحمل شرایط نامساعد کمک می‌کنند (Jungwook *et al.*, 2009). در همین راستا به‌کارگیری قارچ میکوریز به‌عنوان کود زیستی تحت تنش‌های محیطی از جمله تنش شوری و خشکی توانست تأثیر مثبتی بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل داشته باشد. در این خصوص می‌توان به مطالعات Ruiz-Sanchez و همکاران (۲۰۱۱) در گیاه برنج و Zhu و همکاران (۲۰۱۲) در گیاه ذرت تحت تنش خشکی اشاره کرد.

براساس یافته‌ها (جدول ۴) همزیستی قارچی به‌ویژه

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد با تلقیح قارچ‌های اندوفیت خاموشی غیرفتوشیمیایی (NPQ) هم در شرایط نرمال و هم شرایط شور کاهش یافت، این کاهش در شرایط شوری صفر و تیمار قارچی Pi+Trich نسبت به شاهد به ۷۴ درصد رسید (شکل ۳). افزایش پارامتر NPQ به‌عنوان شاخص هدررفت گرمایی، بیانگر ظرفیت بالای چرخه گزانتوفیل و توانایی گیاه در دفع تنش از طریق هدررفت انرژی به صورت گرما است (Chaves *et al.*, 2009). با این وجود با افزایش بیشتر سطوح تنش ممکن است افزایش در NPQ برای مصرف انرژی مازاد و حفظ اکسیداسیون پذیرنده‌های الکترون فتوسیستم II ناکافی باشد (Ort and Baker, 2002). تنش‌های محیطی با اشباع زنجیره انتقال الکترون و تجمع پروتون‌ها منجر به کاهش pH لومن شده و در نهایت افزایش در NPQ را به‌دنبال خواهد





شکل ۳- برهمکنش شوری و قارچ بر خاموشی غیرفتوشیمیایی (NPQ) برگ گیاه استویا. *P. indica* : Pi و *T. virens* : Trich. در هر شکل ستون‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

افزایش نسبت نور استفاده شده در فرآیند فتوشیمیایی و کاهش اتلاف انرژی و به دنبال آن افزایش در سرعت آسیمیلاسیون CO<sub>2</sub> است (یعقوبیان و همکاران، ۱۳۹۵؛ Klughammer and Li et al., 2008; Schreiber, 2008). تجزیه واریانس داده‌های حاصل از سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی (جدول ۶) نشان داد که اثر ساده شوری و پلی‌آمین اسپرمیدین بر تمامی صفات مورد بررسی شامل کلروفیل *a*، *b*، *a+b* و کارتنوئید و همچنین اثر ساده همزیستی قارچ بر تمامی صفات به غیر از کارتنوئید معنی‌دار بود. در غلظت کلروفیل *a* بین سطوح مختلف شوری و قارچ‌های اندوفیت و نیز همزیستی قارچی و اسپرمیدین بر-همکنش معنی‌داری مشاهده شد. همچنین در صفت کلروفیل *a* بین سطوح شوری و اسپرمیدین برهمکنش معنی‌داری در غلظت کلروفیل *a* را به دنبال داشت که بیشترین افزایش آن (حدود ۳۷ درصد) مربوط به همزیستی قارچ *P. indica* در سطح شوری شش دسی‌زیمنس بر متر بود (شکل A ۴). از سوی دیگر، در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر محلول‌پاشی اسپرمیدین ۰/۷۵ میلی‌مولار باعث افزایش ۲۴ درصدی غلظت کلروفیل *a* نسبت به سطح صفر اسپرمیدین شد (شکل B ۴). شوری با کاهش جذب عناصر معدنی از جمله منیزیم موجب کاهش بیوستت کلروفیل و فتوستت در گیاهان می‌شود (کرمی و زارع، ۱۳۹۳). سمیت بیش از حد یون‌های سدیم و کلر نیز موجب آسیب به غشاء پلاسمایی، اندامک‌های سطح احتمال یک درصد وجود داشت. اثر سه‌گانه شوری،

Pi+Trich و محلول‌پاشی اسپرمیدین با غلظت ۰/۷۵ میلی‌مولار منجر به افزایش فلورسانس حداکثر (Fm)، فلورسانس متغیر (Fv) و حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) شد. در هر سه پارامتر مورد نظر بیشترین افزایش در تیمار قارچی Pi+Trich و محلول‌پاشی ۰/۷۵ میلی‌مولار اسپرمیدین مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد و اسپرمیدین صفر میلی‌مولار به ترتیب ۲۸، ۴۶ و ۱۵ درصد بود. محلول‌پاشی اسپرمیدین هر سه پارامتر مذکور را در تیمارهای شاهد و تلقیح *P. indica* و *T. virens* به صورت معنی‌داری افزایش داد. کاربرد پلی‌آمین اسپرمیدین به طور قابل توجهی با افزایش کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II موجب بهبود فلورسانس کلروفیل گیاه شد. بنابراین می‌توان چنین بیان کرد که کاربرد اسپرمیدین با حفظ غلظت کلروفیل در مراکز واکنشی فتوشیمیایی (شکل ۴) موجب افزایش کارایی فتوسیستم II شد.

مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه تیمارهای آزمایشی (جدول ۵) نشان داد، میزان کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم‌نشده [Y(NO)] در مجموع در اثر تنش شوری روند افزایشی داشت. همچنین، میزان این پارامتر در تمام سطوح شوری با تلقیح قارچ‌های *P. indica*، *T. virens* و Pi+Trich نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. با این وجود در سطوح تنش شوری ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و تیمارهای مختلف قارچی، محلول‌پاشی اسپرمیدین به‌ویژه غلظت ۰/۷۵ میلی‌مولار آن کاهش معنی‌دار Y(NO) را به دنبال داشت. کاهش Y(NO) نشانگر

جدول ۴- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و محلول پاشی پلی آمین اسپرمیدین بر مؤلفه‌های فلورسانس کلروفیل در برگ گیاه استویا

قارچ اندوفیت				اسپرمیدین (میلی مولار)
Pi+Trich	<i>T. virens</i> (Trich)	<i>P. indica</i> (Pi)	شاهد	
فلورسانس حداکثر (Fm)				
۶/۳۷ <sup>ab</sup>	۵/۹۵ <sup>cd</sup>	۵/۹۶ <sup>cd</sup>	۵/۱۰ <sup>e</sup>	۰
۶/۵۵ <sup>a</sup>	۶/۱۶ <sup>bc</sup>	۶/۳۳ <sup>ab</sup>	۵/۷۸ <sup>d</sup>	۰/۷۵
۶/۴۱ <sup>ab</sup>	۶/۲۷ <sup>b</sup>	۶/۲۳ <sup>b</sup>	۵/۸۷ <sup>d</sup>	۱/۵
فلورسانس متغییر (Fv)				
۴/۸۷ <sup>abc</sup>	۴/۳۸ <sup>de</sup>	۴/۳۹ <sup>de</sup>	۳/۴۹ <sup>f</sup>	۰
۵/۱۱ <sup>a</sup>	۴/۶۱ <sup>cd</sup>	۴/۷۹ <sup>bc</sup>	۴/۲۲ <sup>e</sup>	۰/۷۵
۴/۹۷ <sup>ab</sup>	۴/۷۵ <sup>bc</sup>	۴/۷۱ <sup>bc</sup>	۴/۳۲ <sup>e</sup>	۱/۵
حداکثر کارایی کوانتومی فتوسنتز II (Fv/Fm) II				
۰/۷۶۴ <sup>abc</sup>	۰/۷۳۴ <sup>de</sup>	۰/۷۳۵ <sup>de</sup>	۰/۶۷۵ <sup>f</sup>	۰
۰/۷۸۰ <sup>a</sup>	۰/۷۴۶ <sup>cd</sup>	۰/۷۵۷ <sup>bc</sup>	۰/۷۲۵ <sup>e</sup>	۰/۷۵
۰/۷۷۳ <sup>ab</sup>	۰/۷۵۵ <sup>bc</sup>	۰/۷۵۵ <sup>bc</sup>	۰/۷۳۳ <sup>de</sup>	۱/۵

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

جدول ۵- تأثیر برهمکنش تنش شوری، همزیستی قارچی و محلول پاشی پلی آمین اسپرمیدین بر کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم نشده [Y(NO)] گیاه استویا

قارچ اندوفیت				اسپرمیدین (میلی مولار)	شوری (دسی‌زیمنس بر متر)
Pi+Trich	<i>T. virens</i> (Trich)	<i>P. indica</i> (Pi)	شاهد		
۰/۱۰۵ <sup>v-w</sup>	۰/۱۲۳ <sup>p-t</sup>	۰/۱۲۲ <sup>q-u</sup>	۰/۱۲۲ <sup>o-t</sup>	۰	۰
۰/۰۹۱ <sup>w</sup>	۰/۱۱۵ <sup>s-v</sup>	۰/۱۱۲ <sup>t-v</sup>	۰/۱۲۰ <sup>r-u</sup>	۰/۷۵	۰
۰/۰۷۱ <sup>x</sup>	۰/۱۱۲ <sup>t-v</sup>	۰/۱۰۰ <sup>v-w</sup>	۰/۱۱۸ <sup>r-u</sup>	۱/۵	۱/۵
۰/۱۳۱ <sup>n-s</sup>	۰/۱۵۰ <sup>h-m</sup>	۰/۱۴۲ <sup>k-o</sup>	۰/۲۰۲ <sup>b</sup>	۰	۰
۰/۱۲۶ <sup>o-t</sup>	۰/۱۴۶ <sup>i-n</sup>	۰/۱۳۵ <sup>m-r</sup>	۰/۱۶۴ <sup>e-h</sup>	۰/۷۵	۶
۰/۱۴۴ <sup>j-n</sup>	۰/۱۳۹ <sup>l-p</sup>	۰/۱۳۹ <sup>l-q</sup>	۰/۱۶۲ <sup>e-i</sup>	۱/۵	۱/۵
۰/۱۵۴ <sup>g-k</sup>	۰/۱۸۴ <sup>cd</sup>	۰/۱۷۳ <sup>def</sup>	۰/۲۳۳ <sup>a</sup>	۰	۰
۰/۱۵۰ <sup>h-m</sup>	۰/۱۷۵ <sup>de</sup>	۰/۱۵۸ <sup>f-k</sup>	۰/۱۹۷ <sup>bc</sup>	۰/۷۵	۱۲
۰/۱۴۳ <sup>j-o</sup>	۰/۱۷۰ <sup>d-g</sup>	۰/۱۶۰ <sup>e-j</sup>	۰/۱۸۷ <sup>bcd</sup>	۱/۵	۱/۵

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

سلولی و اختلال در فتوسنتز، تنفس و سنتز پروتئین‌ها (Feng *et al.*, 2002) و نیز موجب عدم پایداری ترکیب رنگیزه پروتئین در گیاه می‌شود (Singh *et al.*, 1994). گرچه کلروفیل *a* در

قارچ و اسپرمیدین نیز بر دو صفت کلروفیل *b* و *a+b* معنی دار شد (جدول ۶).

در تمام سطوح شوری، تلقیح با تیمارهای قارچی افزایش

جدول ۶- میانگین مربعات اثر تیمارهای مورد بررسی بر رنگیزه‌های فتوستتزی در برگ گیاه استویا

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل <i>a</i>	کلروفیل <i>b</i>	کلروفیل <i>a+b</i>	کارتنوئید
شوری (A)	۲	۴۰۸/۱ **	۶/۷۵ *	۴۶۵/۸ **	۲۳/۳۴ **
قارچ (B)	۳	۵۹/۰۵ **	۱۲۴/۲۸ **	۱۶۷/۸۹ **	۳/۳۳
اسپرمیدین (C)	۲	۲۴/۰۸ *	۵۸/۹۰ **	۱۵۶/۰۶ **	۶/۹۱ *
A×B	۶	۱۷/۱۴ *	۱/۵۹	۱۸/۴۷	۳/۱۶
A×C	۴	۲۹/۲۶ **	۰/۴۵	۲۸/۲۱	۲/۶۰
B×C	۶	۲۱/۶۹ *	۴/۰۲	۲۱/۶۲	۱/۱۹
A×B×C	۱۲	۱۲/۱۰	۴/۲۱ *	۲۲/۶ *	۱/۵۸
خطای آزمایشی	۷۲	۷/۴۲	۲/۰۴	۱۱/۶۷	۱/۶۴
ضریب تغییرات (%)		۱۴/۶	۲۴/۱	۱۳/۹	۲۰/۵

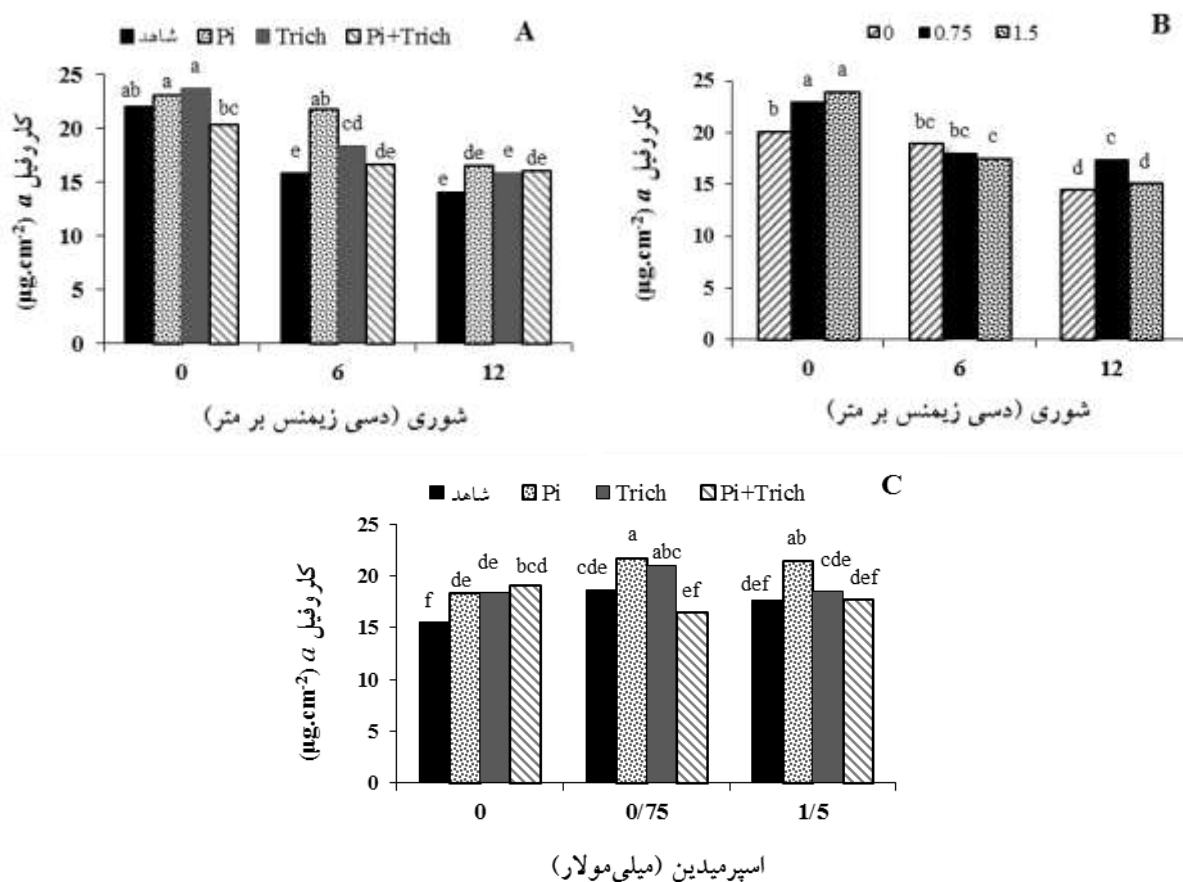
\* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

و زارع، ۱۳۹۳) گزارش شده است. از سوی دیگر به نظر می‌رسد پلی‌آمین اسپرمیدین با نقش آنتی‌اکسیدانی خود موجب ثبات غشای تیلاکوئیدی و حفظ پروتئین و لیپیدهای آن در مقابل تنش اکسیداتیو ناشی از تنش شوری می‌شود که نتیجه آن ثبات کلروفیل *a* از صدمات ناشی از تنش است (نیاکان و همکاران، ۱۳۹۴).

بر اساس یافته‌های حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه تیمارهای آزمایشی (جدول ۷)، غلظت کلروفیل *b* در تمام سطوح شوری در اثر تلقیح با قارچ‌های *P. indica* و *T. virens* بهبود یافت. همچنین، در بیشتر سطوح تنش شوری و تلقیح قارچی نیز محلول پاشی اسپرمیدین به‌ویژه غلظت ۰/۷۵ میلی‌مولار آن افزایش معنی‌دار کلروفیل *b* را به‌دنبال داشت. در همین زمینه، Zarea و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند که بالابودن میزان کلروفیل در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ اندوفیت می‌تواند به‌علت وجود رابطه مثبت بین غلظت فسفر و مقدار کلروفیل در گیاهان تلقیح‌شده باشد. همچنین در شرایط تنش تلقیح قارچی با تأثیر بر سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی، گونه‌های فعال اکسیژن را جمع‌آوری و از تخریب کلروفیل جلوگیری خواهد کرد (Kapoor et al., 2008). از سوی دیگر پلی‌آمین‌ها نقش محافظت از کلروفیل و پروتئین را بر عهده داشته و با کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها سبب ثبات در غشای تیلاکوئید

مقایسه با کلروفیل *b* از تراکم بالاتری در دستگاه فتوستتزی برخوردار است اما این رنگدانه نسبت به کلروفیل *b* و سایر رنگدانه‌های سیستم فتوستتزکننده گیاه در مقابل تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش شوری و خشکی حساس‌تر است (Mitra and Banerjee, 2010). کاهش میزان رنگیزه‌های فتوستتزی در شرایط تنش شوری می‌تواند به‌دلیل افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز، القای تخریب ساختار کلروپلاستی و بی‌ثباتی کمپلکس‌های پروتئینی رنگدانه باشد (Dalal and Tripathy, 2012).

برهمکنش قارچ و محلول پاشی اسپرمیدین (شکل C ۴) اثر مثبتی را در غلظت کلروفیل *a* به‌دنبال داشت به طوری که مقدار کلروفیل *a* در زمان تلقیح با قارچ *P. indica* و محلول پاشی اسپرمیدین ۰/۷۵ میلی‌مولار افزایش ۳۹ درصدی را نسبت به شاهد (عدم تلقیح قارچ و اسپرمیدین صفر) به‌دنبال داشت (شکل C ۴). در همین راستا، محققین افزایش کلروفیل *a* در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ‌های اندوفیت را به‌دلیل بهبود وضعیت آبی و جذب عناصر معدنی فسفر و منیزیم دانسته‌اند (Giri et al., 2002). میزان بالای محتوای کلروفیل در برگ گیاهان تلقیح‌شده با قارچ‌های اندوفیتی و میکوریزی تحت تنش شوری توسط محققین در گیاه استویا (نوری آکندی و همکاران، ۱۳۹۵)، ذرت (Sheng et al., 2008) و یونجه (کریمی



شکل ۴- برهمکنش تنش شوری و قارچ (A)، شوری و اسپرمیدین (B) و قارچ و اسپرمیدین (C) بر غلظت کلروفیل *a* در برگ گیاه استویا. در هر شکل ستون‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند. *Trich: T. viresns* و *Pi: P. indica*

قارچ *T. viresns* مشاهده شد (جدول ۸). محلول‌پاشی سطوح پلی‌آمین نیز اثر مثبتی بر میزان کلروفیل *a+b* نشان داد که بیشترین اثر افزایشی آن در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و تیمار قارچی *Pi* مشاهده شد که این افزایش در محلول‌پاشی پلی‌آمین ۰/۷۵ میلی‌مولار نسبت به غلظت صفر آن حدود دو برابر بود (جدول ۸). به نظر می‌رسد پلی‌آمین‌ها به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد با تنظیم تعادلی هورمونی و متابولیسم اسیدهای آمینه نقش مثبتی در توسعه هیف قارچ بر عهده داشته و در گسترش کلونی ریشه قارچ مؤثر هستند (Wu *et al.*, 2010).

غلظت کارتنوئیدها در برگ گیاه استویا در شرایط شوری ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر به‌ترتیب ۲۳ و ۲۵ درصد نسبت به

می‌شوند (نیاکان و همکاران، ۱۳۹۴). در این خصوص گزارش شده که محلول‌پاشی پلی‌آمین در گیاه پریوش (*Catharanthus roseus*) موجب بهبود کلروفیل *a* و *b* و کارتنوئید شد (Talaat *et al.*, 2005).

براساس نتایج جدول ۸، با افزایش سطوح شوری غلظت کلروفیل *a+b* کاهش یافت. شوری با تسریع زوال رنگیزه‌های کلروفیلی (جدول ۷)، کوچک‌تر شدن فضای بین سلولی و کاهش هدایت دی‌اکسید کربن موجب کاهش فتوسنتز در گیاهان می‌شود. با این حال در بیشتر سطوح شوری و محلول‌پاشی اسپرمیدین، تلقیح تیمارهای قارچی افزایش غلظت کلروفیل *a+b* را به‌دنبال داشت که بیشترین اثر (حدود ۳۲ درصد) در تنش شوری صفر و اسپرمیدین ۱/۵ میلی‌مولار در شرایط تلقیح

جدول ۷- تأثیر برهمکنش تنش شوری، قارچ و محلول پاشی پلی آمین اسپرمیدین بر غلظت کلروفیل *b* در برگ گیاه استویا

قارچ اندوفیت			شاهد	اسپرمیدین (میلی مولار)	شوری (دسی زیمنس بر متر)
Pi+Trich	<i>T. virens</i> (Trich)	<i>P. indica</i> (Pi)			
۸/۸۳ <sup>a-c</sup>	۴/۴۹ <sup>h-m</sup>	۳/۵۸ <sup>j-m</sup>	۳/۰۵ <sup>lm</sup>	۰	۰
۱۰/۷۴ <sup>a</sup>	۵/۴۴ <sup>e-k</sup>	۷/۳۲ <sup>c-f</sup>	۵/۴۰ <sup>e-k</sup>	۰/۷۵	
۷/۲۷ <sup>c-g</sup>	۵/۹۵ <sup>d-i</sup>	۵/۲۶ <sup>e-k</sup>	۴/۳۷ <sup>h-m</sup>	۱/۵	
۸/۲۶ <sup>b-d</sup>	۳/۹۰ <sup>h-m</sup>	۵/۹۵ <sup>d-i</sup>	۲/۴۸ <sup>m</sup>	۰	
۱۰/۷۰ <sup>a</sup>	۷/۴۶ <sup>c-e</sup>	۷/۲۷ <sup>c-g</sup>	۴/۹۰ <sup>h-l</sup>	۰/۷۵	۶
۱۰/۰۱ <sup>ab</sup>	۶/۲۲ <sup>d-h</sup>	۴/۹۹ <sup>g-l</sup>	۳/۸۴ <sup>i-m</sup>	۱/۵	
۵/۶۹ <sup>e-j</sup>	۵/۰۲ <sup>f-l</sup>	۳/۱۵ <sup>k-m</sup>	۲/۴۰ <sup>m</sup>	۰	
۹/۱۵ <sup>a-c</sup>	۶/۱۱ <sup>d-i</sup>	۹/۱۳ <sup>a-c</sup>	۳/۵۵ <sup>j-m</sup>	۰/۷۵	۱۲
۹/۱۲ <sup>a-c</sup>	۵/۳۵ <sup>e-l</sup>	۳/۳۰ <sup>k-m</sup>	۳/۴۸ <sup>j-m</sup>	۱/۵	

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

جدول ۸- تأثیر برهمکنش تنش شوری، قارچ اندوفیت و پلی آمین اسپرمیدین بر غلظت کلروفیل *a+b* در برگ گیاه استویا

قارچ اندوفیت			شاهد	اسپرمیدین (میلی مولار)	شوری (دسی زیمنس بر متر)
Pi+Trich	<i>T. virens</i> (Trich)	<i>P. indica</i> (Pi)			
۲۸/۹۵ <sup>a-d</sup>	۲۵/۸۹ <sup>a-g</sup>	۲۳/۷۸ <sup>d-j</sup>	۲۱/۶۴ <sup>f-l</sup>	۰	
۳۱/۲۰ <sup>a</sup>	۲۹/۹۰ <sup>a-c</sup>	۳۰/۹۲ <sup>a</sup>	۲۸/۵۹ <sup>a-d</sup>	۰/۷۵	۰
۲۷/۷۰ <sup>a-e</sup>	۳۱/۴۱ <sup>a</sup>	۳۰/۹۰ <sup>a</sup>	۲۸/۶۱ <sup>a-d</sup>	۱/۵	
۲۶/۳۸ <sup>a-f</sup>	۲۳/۷۶ <sup>d-j</sup>	۲۹/۱۱ <sup>a-d</sup>	۱۶/۹۴ <sup>k-m</sup>	۰	
۲۴/۸۲ <sup>b-h</sup>	۲۷/۰۰ <sup>a-f</sup>	۲۷/۸۹ <sup>abcde</sup>	۲۲/۸۰ <sup>e-j</sup>	۰/۷۵	۶
۲۷/۷۱ <sup>a-e</sup>	۲۲/۰۰ <sup>f-k</sup>	۲۶/۳۵ <sup>a-f</sup>	۱۸/۹۶ <sup>i-m</sup>	۱/۵	
۲۴/۴۵ <sup>c-i</sup>	۱۹/۰۱ <sup>i-m</sup>	۱۴/۵۶ <sup>m</sup>	۱۶/۱۳ <sup>lm</sup>	۰	
۲۳/۷۴ <sup>d-j</sup>	۲۵/۲۵ <sup>b-h</sup>	۳۰/۰۵ <sup>ab</sup>	۱۸/۳۸ <sup>j-m</sup>	۰/۷۵	۱۲
۲۴/۰۳ <sup>d-i</sup>	۱۹/۷۲ <sup>h-m</sup>	۲۰/۶۵ <sup>g-l</sup>	۱۷/۲۳ <sup>k-m</sup>	۱/۵	

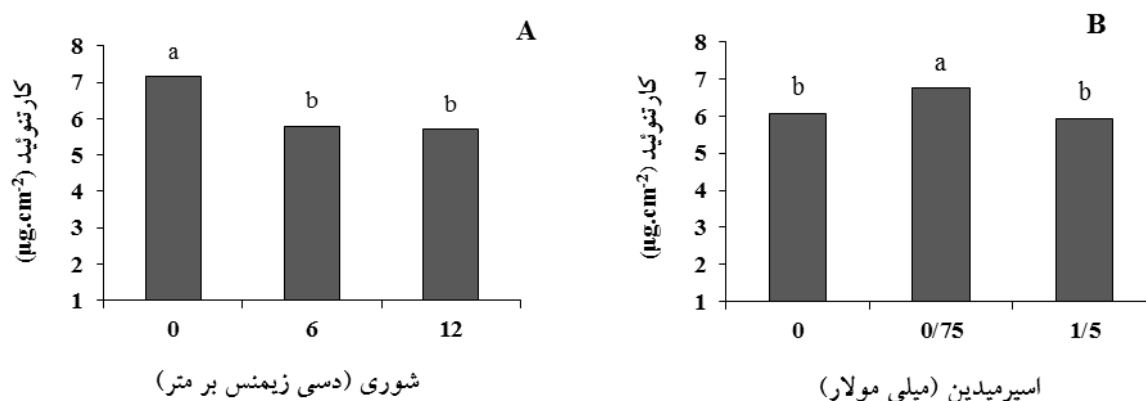
در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

میزان کارتنوئیدها به دنبال محلول پاشی اسپرمیدین می‌تواند به عنوان راهکاری جهت مقابله با تنش شوری باشد.

#### نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج نشان داد که تنش شوری باعث آسیب به سیستم فتوسنتزی و رنگیزه‌های کلروفیلی گیاه استویا و در نتیجه تأثیر منفی بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل برگی شد.

شاهد کاهش یافت (شکل A ۵). با این حال محلول پاشی اسپرمیدین تنها در غلظت ۰/۷۵ میلی مولار منجر به افزایش ده درصدی میزان کارتنوئیدهای برگ شد (شکل B ۵) کارتنوئیدها به عنوان رنگیزه کمکی و حفاظتی در جذب و انتقال انرژی نورانی دریافتی به کلروفیل *a* نقش داشته و قادرند سیستم فتوسنتزی را در شرایط تنش‌های محیطی محافظت کنند (یعقوبیان و همکاران، ۱۳۹۵). بنابراین به نظر می‌رسد افزایش



شکل ۵- اثر تنش شوری (A) و محلول‌پاشی اسپرمیدین (B) بر کارتنوئید در برگ گیاه استویا. در هر شکل ستون‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

بیشتر برخی از پارامترهای فلورسانس کلروفیل و غلظت کلروفیل در گیاه استویا شد.

#### سپاسگزاری

بدین وسیله از مساعدت‌های پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در فراهم‌نمودن امکانات اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل تشکر و قدردانی می‌شود.

از سوی دیگر کاربرد قارچ‌های اندوفیت به‌ویژه تیمار قارچی همزمان *T. virens* و *P. indica* چه در شرایط مطلوب رشدی و چه در سطوح مختلف شوری پارامترهای فلورسانس کلروفیل و در نتیجه سیستم فتوسنتزی را بهبود داده و اثر تخریبی شوری در گیاه را تعدیل نمود. همچنین پلی‌آمین اسپرمیدین به‌خصوص در غلظت ۰/۷۵ میلی‌مولار موجب افزایش مقاومت گیاه در شرایط تنش شوری شد. از سوی دیگر برهمکنش قارچ‌های اندوفیت و پلی‌آمین اسپرمیدین اثر هم‌افزایی داشته و با تشدید اثرات مثبت یکدیگر باعث بهبود

#### منابع

- بهارى ساروی، ح.، پیردشتی، ه. ا. و یعقوبیان، ی. (۱۳۹۶) واکنش پارامترهای فلورسانس کلروفیل و فیزیولوژیک گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) به کاربرد باکتری‌های افزاینده رشد (PGPR) تحت تنش شوری. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی ۶: ۸۹-۱۰۴.
- جوادی‌پور، ز.، موحدی‌دهنوی، م. و بلوچی، ح. ر. (۱۳۹۲) ارزیابی پارامترهای فتوسنتزی، محتوا و فلورسانس کلروفیل برگ ارقام گلرنگ تحت تنش شوری. مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی ۲: ۳۵-۳۶.
- حسنی، ز.، پیردشتی، ه. ا.، یعقوبیان، ی. و نوری، م. ز. (۱۳۹۲) کاربرد تکنیک فلورسانس کلروفیل برای شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به سرمای هوا و آب در گیاه برنج (*Oryza sativa* L.). مجله سلول و بافت ۵: ۱۹۵-۲۰۶.
- ریبعی، ز.، پیردشتی، ه. ا.، راهداری، پ.، حسینی، ج. و یعقوبی، م. (۱۳۹۱) تأثیر باکتری‌های محرک رشد در پارامترهای فلورسانس کلروفیل در گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum*) تحت تنش شوری. اولین همایش ملی تنش‌های محیطی، دانشگاه اصفهان، اصفهان.
- رحیمی، ع.، جهان‌بین، ش.، صالحی، ا. و فرجی، ه. (۱۳۹۵) اثر قارچ میکوریزا بر خصوصیات مورفولوژیک، مقدار ترکیبات فنل و فلورسانس کلروفیل گیاه دارویی گاو زبان تحت تنش خشکی. نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی ۱۱: ۵۵-۶۶.

- سپهری، م.، صالح راستین، ن.، حسینی سالکده، ص. و خیام نکویی، م. (۱۳۸۸) بررسی تأثیر قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر بهبود رشد و افزایش مقاومت گیاه جو *Hordeum vulgare* L. به تنش شوری. مجله علمی پژوهشی مرتع ۳۳: ۵۰۸-۵۱۸.
- صفاری، ر.، مقصودی مود، ع. ا. و صفاری، و. ر. (۱۳۹۲) اثر تنش شوری بر فلورسانس کلروفیل و عملکرد دانه برخی ارقام آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.). مجله به زراعی نهال و بذر ۲۹: ۱۳۰-۱۰۹.
- عموآقایی، ر. و نیک اندیش، ف. (۱۳۹۴) اثر تلقیح ریشه دو رقم یونجه (*Medicago sativa*) با جدایه‌هایی از گونه‌های سینوریزوبیوم و باسیلوس بر رشد، مقدار کلروفیل و تمامیت غشای سلول در شرایط تنش شوری. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) ۲۸: ۱۵۲-۱۴۰.
- کرمی، ع. و زارع، م. ج. (۱۳۹۳) پاسخ فیزیولوژیک و تغذیه‌ای گیاه یونجه (*Medicago sativa. cv hamedani*) در تلقیح باقارچ درون‌زی *Piriformospora indica* و باکتری *Azospirillum Spp* تحت تنش شوری. نشریه تولید گیاهان زراعی ۱: ۱۰۹-۱۲۹.
- مؤمن پور، ع.، ایمانی، ع.، بخشی، د. و رضایی، ح. (۱۳۹۳) ارزیابی تحمل به شوری در برخی از ژنوتیپ‌های بادام پیوندشده روی پایه GF<sub>677</sub> بر اساس صفات موفولوژیک و فلورسانس کلروفیل. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی ۳: ۲۸-۹.
- نوری‌آکندی، ز.، پیردشتی، ه. ا.، یعقوبیان، ی. و قاسمی‌عمران، و. ا. (۱۳۹۵) بررسی تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و رنگیزه‌های فتوستتزی گیاه دارویی استویا در واکنش به تلقیح قارچ *Piriformospora indica* تحت تنش شوری. مجله به‌زراعی کشاورزی ۳: ۶۵۳-۶۳۹.
- نیاکان، م.، رضاپور محجوب، ش. و قربانلی، ل. (۱۳۹۴) اثر پوتریسین بر رشد، فتوستتز و ترکیبات آلکالوئیدی گیاه دارویی تاتوره. علوم و فنون کشت گلخانه‌ای ۶: ۱۱۱-۱۲۲.
- همایونی، ه.، خازابان، و. و سعیدی، م. (۱۳۹۵) تأثیر کم آبیاری بر فلورسانس کلروفیل، خصوصیات رویشی و عملکرد دانه هیبریدهای ذرت. مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی ۳: ۲۴-۱۳.
- یزدانی، م.، پیردشتی، ه. ا.، تاجیک، م. ع. و بهمنیار، م. ع. (۱۳۸۷) تأثیر تریکودرما (*Trichoderma spp.*) و انواع مختلف کودهای آلی بر رشد و نمو سویا [*Glycine max* (L). Merrill]. مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی ۱: ۸۲-۶۵.
- یعقوبیان، ی.، پیردشتی، ه. ا.، گل‌تپه، م. ا.، اسفندیاری، ا. و فیضی‌اصل، و. ا. (۱۳۹۱) اثر همزیستی میکوریزایی بر کارایی کوانتومی فتوسیستم II تحت تنش رطوبتی در گندم. دوازدهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، ایران.
- یعقوبیان، ی.، سیادت، ع. ا.، مرادی تلاوت، م. ر. و پیردشتی، ه. ا. (۱۳۹۵) کمی‌سازی پاسخ رشد رویشی و مؤلفه‌های فلورسانس کلروفیل گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) به غلظت کادمیوم در خاک. نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی ۲: ۱۸۵-۱۶۵.
- Andrews, J. R., Fryer, M. J. and Baker, N. R. (1995) Characterization of chilling effects on photosynthetic performance of maize crops during early season growth using chlorophyll fluorescence. *Journal of Experimental Botany* 46: 1195-1203.
- Baker, N. R. (2008) Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology* 59: 89-113.
- Baker, N. R. and Rosenqvist, E. (2004) Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal Experimental of Botany* 55: 607-1621.
- Chaves, M. M., Flexas, J. and Pinheiro, C. (2009) Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany* 103: 551-560.
- Cuevas, C. (2006) Soil inoculation with *Trichoderma pseudokoningii* Rifai enhances yield of rice. *Philippine Journal of Science* 135: 31-37.
- Dalal, V. K. and Tripathy, B. C. (2012) Modulation of chlorophyll biosynthesis by water stress in rice seedlings during chloroplast biogenesis. *Plant Cell and Environment* 35: 1685-1703.
- Feng, G., Li, X. L., Zhang, F. S., Tian, C. Y. and Tang, C. (2002) Improved tolerance of maize plants to salt stress by

- arbuscular mycorrhiza* is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. *Mycorrhiza* 12: 185-190.
- Galston, A. W., Kaur-Sawhney, R., Altabella, T. and Tiburcio, A. F. (1997) Plant polyamines in reproductive activity and response to abiotic stress. *Botanica Acta* 110: 197-207.
- Gaohong, W., Lanzhou, C., Zongjie, H., Xiaoyan, L. and Yongding, L. (2011) Effects of salinity stress on the photosynthesis of *Wolffia arrhiza* as probed by the jip test. *Journal of Fresenius Environmental Bulletin* 20: 432-438.
- Genty, B., Briantais, J. M. and Baker, N. R. (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and photochemical quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochemistry and Biophysical Acta* 990: 87-92.
- Gharineh, M. H., Nadian, H., Fathi G., Siadat, A. and Maadi, B. (2009) Role of *arbuscular mycorrhizae* in development of salt-tolerance of *Trifolium alexandrinum* plants under salinity stress. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 7: 432-437.
- Giri, B., Kapoor, R. and Mukerji, K. G. (2002) VA Mycorrhizal techniques VAM technology in establishment of plants under salinity stress condition. In: *Techniques in Mycorrhizal Studies* (eds. Mukerji, K. G., Manoraheir, C. and Singh, I.) Pp. 313-327. Kluwer, Dordrecht.
- Guimaraes, P. S., Bernini, C. S., Pedroso, F. and Paterniani, M. (2014) Characterizing corn hybrids (*Zea mays* L.) for water shortage by principal components analysis. *Maydica* 59: 72-79.
- Habibi, S., Mskrbashy, M. and Farzaneh, M. (2014) Effect of three species of mycorrhizal fungi (*Glomus spp.*) on physiological indices of wheat in saline conditions. *Plant Products (Scientific Journal of Agriculture)* 37: 53-36.
- Hermossa, R., Viterbo, A., Chet, I. and Mont, E. (2012) Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology* 158: 17-25.
- Ishima, N. and Katayama, O. (1976) Sensory evaluation of stevioside as a sweetener. *Report National Food Research Institute* 31: 80-85.
- Jamil, M., Bashir, S., Anwar, S., Bibi, S., Bangash, A., Ullah, F. and Shikrha, E. (2012) Effect of salinity on physiological and biochemical characteristics of different varieties of rice. *Pakistan Journal of Botany* 44: 7-13.
- Jungwook, Y., Kloepper, J. W. and Ryu, C. M. (2009) Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in Plant Science* 14: 1-4.
- Kaefer, E. (1977) Meiotic and mitotic recombination in *Aspergillus* and its chromosomal aberrations. *Advances in Genetics*. 19: 33-131.
- Kapoor, R., Sharma, D. and Bhatnagar, A. K. (2008) *Arbuscular mycorrhizae* in micropropagation systems and their potential applications. *Scientia Horticulture* 116: 227-239.
- Klughammer, Ch. and Schreiber, U. (2008) Complementary PSII quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the saturation pulse method. *PAM Application Notes* 1: 27-35.
- Kumari, R., Kishan, H., Bhoon, Y. K. and Varma, A. (2003) Colonization of cruciferous plants by *Piriformospora indica*. *Current Science* 85: 1672-1674.
- Lazar, D. (1999) Chlorophyll *a* fluorescence induction. *Biochimica et Biophysica Acta* 1412: 1-28.
- Lee, M. H., Lee, S. H. and Park, K. Y. (1997) Effects of spermine on ethylene biosynthesis in cut carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) flowers during senescence. *Journal of Plant Physiology* 151: 68-73.
- Li, G. M., Liu, B. B., Wu, Y. and Zou, Z. R. (2008) Interactive effects of drought stresses and elevated CO<sub>2</sub> concentration on photochemistry efficiency of cucumber seedlings. *Journal Integrative Plant Biology* 50: 1307-1317.
- Li, G., Wan, S. W., Zhou, J., Yang, Z. Y. and Qin, P. (2010) Leaf chlorophyll fluorescence, hyperspectral reflectance, pigments content, malondialdehyde and proline accumulation responses of castor bean (*Ricinus communis* L.) seedlings to salt stress levels. *Industrial Crops and Products* 31: 13-19.
- Lichtenthaler, H. K. and Buschmann, C. (2001) Chlorophylls and carotenoids measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* P. F4.3.1-F4.3.8.
- Ma, B. L., Morison, M. J. and Videng, H. D. (1995) Leaf greenness and photosynthetic rates in soybean. *Crop Science* 35: 1411-141.
- Maxwell, K. and Johnson, G. N. (2005) Chlorophyll fluorescence-a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51: 659-668.
- Mehta, P., Jajoo, A., Mathur, S. and Bharti, S. (2010) Chlorophyll *a* fluorescence study revealing effects of high salt stress on photosystem II in wheat leaves. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 16-20.
- Mitra, A. and Banerjee, K. (2010) Pigments of *Heritiera fomes* seedlings under different salinity conditions: perspective sea level rise, Mesopot. *African Journal of Marine Science* 25: 1-10.
- Ort, D. R. and Baker, N. R. (2002) A photoprotective role for O<sub>2</sub> as an alternative electron sink in photosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology* 5: 193-198.
- Porcar-Castell, A., Tyystjarvi, E., Atherton, J., Vander Tol, C., Flexas, J., Pfundel, E. E., Moreno, J., Frankenberg, C. and Berry, J. A. (2014) Linking chlorophyll *a* fluorescence to photosynthesis for remote sensing application:



- mechanisms and challenges. *Journal of Experimental Botany* 65: 4065-95.
- Rai, M. and Varma, A. (2005) Arbuscular mycorrhiza-like biotechnological potential of *Piriformospora indica*, which promotes the growth of *Adhatoda vasica*. *Electronic Journal of Biotechnology* 8: 107-111.
- Rasheed, R., Ashraf, M. A., Parveen, S., Iqbal, M. and Iqbal, H. (2014) Effect of salt stress on different growth and biochemical attributes in two canolla (*Brassica napus* L.) cultivars commun. *Soil Science and Plant Analytical* 45: 669-679
- Ruiz-Sanchez, M., Aremada, E., Munoz, Y. and Aroca, R. (2011) *Azospirillum* and arbuscular mycorrhizal colonization enhanced rice growth and physiological traits under well-watered and drought conditions. *Journal of Plant Physiology* 168: 1031-1037.
- Sadeak, S. M. I., Bonik, J., Zaman, A. U., Azam, F. M. S., Chowdhury, M. H. and Rahmatullah, M. (2009) Effect of auxins for morphogenic response on varied explants of *Stevia rebaudiana* Bertoni, an alternative sweetener plant. *American Eurasian Journal Sustainable Agriculture* 3: 749-754.
- Shao, H. B., Chu, L. Y. and Jaleel, C. A. (2008) Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *Comptes Rendus Biologies* 331: 215-25.
- Sheng, M., Tang, M., Chan, H., Yang, B., Zhang, F. and Huang, Y. (2008) Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza* 18: 287-296.
- Singh, S. P., Singh, B. B., Maharaji, S. and Singh, M. (1994) Effect of kinetin on chlorophyll, nitrogen and proline in *Vigna radiata* under saline condition. *Indian Journal of Plant Physiology* 37: 37-47.
- Stefanov, D. and Terashima, I. (2008) Non-photochemical loss in PSII in high- and low-light-grown leaves of *Vicia faba* quantified by several fluorescence parameters including LNP, F0/Fm, a novel parameter. *Physiologia Plantarum* 133:327-338.
- Sun, Y. M., Horng, C. Y., Chang, F. L., Cheng, L. C. and Tian, W. X. (2010) Biosorption of lead, mercury and cadmium ions by *Aspergillus terreus* immobilized in a natural matrix. *Polish Journal of Microbiology* 59: 37-44.
- Talaat, I. M., Bekheta, M. A. and Mahgoub, M. H. (2005) Physiological response of periwinkle plants (*Catharanthus roseus* L.) to tryptophan and putrescine. *International Journal of Agricultural and Biological* 7: 210-213.
- Toumadse, A. and Richardson, D. G. (1988) Endogenous polyamine concentrations during development, storage and ripening of pear fruits. *Phytochemistry* 27: 335-338.
- Varma, A., Bakshi, M., Lou, B., Hartmann, A. and Oelmueller, R. (2012) *Piriformospora indica*: A novel plant growth-promoting Mycorrhizal fungus. *Journal of Agricultural Research* 1: 117-131.
- Varma, A., Verma, S., Sudha Sahay, N. S., Butehorn, B. and Franken, P. (1999) *Piriformospora indica*, a cultivable plant growth promoting root endophyte. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 2741-4.
- Viterbo, A. and Horwitz, B. A. (2010) Mycoparasitism. In *Cellular and Molecular Biology of Filamentous Fungi* (eds. Borkovich, K. A. and Ebole, D. J.) Pp. 676-693. American Society for Microbiology, Washington.
- Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Huckelhoven, R., Neumann, C., Wettstein, D., Franken, P. and Kogel, K. (2005) The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103: 18450-18457.
- Wu, Q., Peng, Y. H., Zou, Y. N. and Liu, C. Y. (2010) Exogenous polyamines affect mycorrhizal development of *Glomus mosseae*-colonized citrus (*Citrus tangerine*) seedlings. *Science Asia* 36: 254-258.
- Xin, W. X., Hai, L. X., Yan, L. W., Xiao, J. W., Yong, Z. Q. and Bo, X. (2008) The effect of salt stress on the chlorophyll level of the main sand-binding plants in the shelterbelt along the Tarim Desert Highway. *Journal of Chinese Science Bulletin* 53: 109-111.
- Yaghoobian, Y., Goltapeh, E. M., Pirdashti, H., Esfandiari, E., Feiziasl, V., Dolatabadi, H. K., Varma, A. and 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.
- Yaghoobian, Y., Siadat, S. A., Moradi Telavat, M. R. and Pirdashti, H. (2016) Quantify the response of purslane plant growth, photosynthesis pigments and photosystem II photochemistry to cadmium concentration gradients in the soil. *Russian Journal of Plant Physiology* 63: 1-8.
- Yaman, K., Kawasaki, M., Taniguchi, M. and Miyake, H. (2008) Correlation between chloroplast ultrastructure and chlorophyll fluorescence characteristics in the leaves of rice (*Oryza sativa* L.) grown under salinity. *Plant Production Science* 11: 139-145.
- Zarea, M. J., Hajinia, S., Karimi, N., Mohammadi Goltapeh, E., Rejali, F. and 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.
- Zhu, X. C., Song, F. B. and Liu, S. Q. (2012) Arbuscular mycorrhiza improves photosynthesis and water status of *Zea mays* L. under drought stress. *Plant, Soil and Environment* 58: 186-191.

## The effects of endophyte symbiosis and spermidine foliar application on chlorophyll fluorescence and photosynthetic pigments of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) medicinal plant under salinity conditions

Hadiseh Bahari Saravi<sup>1</sup>, Ahmad Gholami<sup>2</sup>, Hemmatollah Pirdashti<sup>3</sup>, Mehdi Baradaran Firouzabadi<sup>2</sup>, Hamidreza Asghari<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Agronomy Department, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran

<sup>2</sup> Agronomy Department, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran

<sup>3</sup> Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

(Received: 06/06/2017, Accepted: 15/01/2018)

### Abstract

To evaluate the effects of endophyte symbiosis and spraying of spermidine on chlorophyll fluorescence and photosynthetic pigments of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) medicinal plant under salt stress conditions, a factorial experiment was conducted based on completely randomized design with three replicates. The treatments consisted of salinity in three levels (0, 6 and 12 dS.m<sup>-1</sup>), fungal symbiosis treatments including four levels: non-inoculated (control), inoculation with *Piriformospora indica* (Pi), at *Trichoderma virens* (Trich) and co-inoculation of two fungi (Pi+Trich) and spraying of spermidine in three levels (0, 0.75 and 1.5 mM). Seedlings of stevia after inoculation with fungi were irrigated with tap water until the end of vegetative stage and then irrigated with saline water treatments containing mixture of distilled and Caspian Sea water. The spermidine was foliarly sprayed one week before salinity stress. The results showed that the inoculation of endophyte fungi had a positive effect on Fm, Fv and Fv/Fm. The most increase of these parameters recorded when two fungi (Pi+Trich) were coinoculated. Also, fungi inoculation increased Y(II) while decreased Y(NPQ) and Y(NO) at different salinity levels. Fungal inoculation particularly Pi+Trich and spermidine application with 0.75 mM markedly increased Fm, Fv and Fv/Fm. Also, in all levels of salt stress inoculation with fungi as well as interaction of fungi and spermidine increased chlorophyll *a* content. In general, inoculation of endophytic fungi particularly co-inoculation of *P. indica* and *T. virens*, improved the chlorophyll fluorescence parameters and adjusted adverse effects of salinity. Also, the spermidine (especially at the rate of 0.75 mM) induced salt stress tolerance in stevia plant and showed synergetic effects with endophytic fungi in terms of the mentioned parameters.

**Keywords:** Chlorophyll *a*, endophytic fungi, polyamine, quantum yield, salinity

Corresponding author, Email: h.pirdashti@sanru.ac.ir

