

Isolation and morphological and molecular identification of important endophyte fungi of *Pistacia mutica* in Hormozgan province and their effect on increasing salt stress tolerance of California Wonder 3 pepper seedlings

Abbas Kavehnia¹, Davood Samsampour^{*2}, Majeed Askari Seyahoei³

1. M.Sc., Dept. of Horticulture Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran. E-mail: abbaskavehnia@gmail.com
2. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Horticulture Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran. E-mail: samsampoor@hormozgan.ac.ir
3. Associate Prof., Plant Medicine Research Department, Hormozgan Agriculture and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Bandar Abbas, Iran. E-mail: askarisey@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 09.12.2022
Revised: 10.01.2022
Accepted: 12.16.2022

Keywords:
Catalase,
Dry weight,
Micromorphology,
Peroxidase

ABSTRACT

Background and Objectives: Salinity stress, as one of the most common environmental stresses, reduces the yield of agricultural products, especially vegetables. Microbial endophytes, which are considered as one of the most important microorganisms, increase their yield per unit area by causing genetic, physiological, and ecological changes in their host plants and provide the possibility of developing their cultivation in salty, dry soils or climates with abiotic and biotic stresses.

Materials and Methods: In order to identify endophytic fungi in pistachio plant (*Pistacia mutica*), during the summer season of 2019, sampling of completely healthy organs of the plant, including the bark of the main trunk, side branches, leaves and roots, was carried out in five regions of Hormozgan province. In this study, 20 fungi were isolated and purified from (*Pistacia mutica*) tree. Then the purified mushrooms were cultured on PDA culture medium containing salinity concentrations (0.5, 1, 2, and 3 mM sodium chloride) and finally three mushrooms that were able to grow at the highest salinity level were selected.

Results: Based on the morphological characteristics and sequencing of the ribosomal ITS region, three species of *Aspergillus niger* MG890603, *Paecilomyces formosus* MG904988 and *Alternaria alternata* MG907039 were identified as endophytic fungi from the tuber plant in Iran and the world. In order to investigate the effect of these endophytic fungi on the salinity tolerance of bell peppers, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design. The results showed that the application of endophytic fungi *P. formosus* and *A. alternata* increased the root length of pepper seedlings by 1.5 double compared to no inoculation at 60 mM salinity stress. Also, the combination of three endophytic fungi, *A. niger*, *P. formosus*, and *A. alternata*, increased the wet and dry weight of pepper seedlings by 4 and 5.5 double, respectively, compared to no inoculation at 60 mM salinity stress. The highest amount of peroxidase in the combination of fungi (*P. formosus* and *A. alternata*) and (*P. formosus*, *A. alternata* and *A. niger*) was 51.41 and 48.65%, respectively, under 60 mM salt stress compared to the control. In the salinity stress of 60 mM, the highest amount of catalase related to the fungal combination (*P. formosus* and *A. alternata*) was 15.54% compared to the control.

Conclusion: In general, the results show that the use of endophytic fungi increases the growth of pepper plants under salt stress. Therefore, the use of endophytic fungi is suggested as an alternative with high potential as plant growth promoters.

Cite this article: Kavehnia, Abbas, Samsampour, Davood, Askari Seyahooei, Majeed. 2023. Isolation and morphological and molecular identification of important endophyte fungi of *Pistacia mutica* in Hormozgan province and their effect on increasing salt stress tolerance of California Wonder 3 pepper seedlings. *Journal of Plant Production Research*, 30 (3), 41-64.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/JOPP.2023.20576.2962

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

جداسازی و شناسایی ریخت‌شناسی و مولکولی قارچ‌های اندوفیت مهم گیاه بنه (*Pistacia mutica*) در استان هرمزگان و تأثیر آن‌ها در افزایش تحمل به تنش شوری گیاهچه فلفل رقم کالیفرنیا واندر ۳

عباس کاوه‌نیا^۱، داود صمصام‌پور^{۲*}، مجید عسکری سیاهویی^۳

۱. کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران. رایانامه: abbaskavehnia@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران. رایانامه: samsampoor@hormozgan.ac.ir
۳. دانشیار، گروه تحقیقات گیاه پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی هرمزگان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران. رایانامه: askarisey@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	سابقه و هدف: تنش شوری به‌عنوان یکی از شایع‌ترین تنش‌های محیطی باعث کاهش عملکرد محصولات کشاورزی به‌خصوص سبزی‌ها می‌گردد. اندوفیت‌های میکروبی که از مهم‌ترین میکروارگانیسم‌ها محسوب می‌شوند با ایجاد تغییرات ژنتیکی، فیزیولوژیک و اکولوژیک در گیاهان میزبان خود، عملکرد آن‌ها را در واحد سطح افزایش می‌دهند و امکان توسعه کشت آن‌ها در خاک‌های شور، خشک یا اقلیم‌هایی با تنش‌های غیرزیستی و زیستی را فراهم می‌آورند.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۱ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۷/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۲۵	مواد و روش‌ها: به‌منظور شناسایی قارچ‌های اندوفیت در گیاه بنه (<i>Pistacia mutica</i>) در طی فصل تابستان ۱۳۹۹ نمونه‌برداری از اندام‌های کاملاً سالم گیاه شامل پوست تنه اصلی، شاخه‌های جانبی، برگ و ریشه در پنج منطقه از استان هرمزگان صورت گرفت. در این مطالعه تعداد ۲۰ قارچ از درخت بنه جداسازی و خالص‌سازی شد. سپس قارچ‌های خالص‌سازی شده روی محیط کشت PDA که حاوی غلظت‌های شوری (۰/۵، ۱، ۲ و ۳ میلی‌مولار کلرید سدیم) بودند کشت داده شدند و در انتها سه قارچ که قادر به رشد در بالاترین سطح شوری بودند انتخاب شدند.
واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، ریخت‌شناسی، کاتالاز، وزن خشک	یافته‌ها: براساس خصوصیات ریخت‌شناختی و توالی‌یابی ناحیه ITS ریبوزومی سه گونه <i>Aspergillus niger</i> MG890603، <i>Paecilomyces formosus</i> MG904988 و <i>Alternaria alternata</i> MG907039 به‌عنوان قارچ اندوفیت از گیاه بنه در ایران و دنیا

شناسایی شدند. به منظور تأثیر این قارچ‌های اندوفیت بر تحمل به شوری گیاه فلفل دلمه‌ای آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. نتایج نشان داد که کاربرد قارچ‌های اندوفیت *P. formosus* و *A. alternata* باعث افزایش طول ریشه گیاهچه فلفل نسبت به عدم تلقیح در تنش شوری ۶۰ میلی‌مولار به میزان ۱/۵ برابر شد. هم‌چنین ترکیب سه قارچ اندوفیت *A. niger*، *P. formosus* و *A. alternata* باعث افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی گیاهچه فلفل نسبت به عدم تلقیح در تنش شوری ۶۰ میلی‌مولار به ترتیب به میزان ۴ و ۵/۵ برابر شد. بیش‌ترین میزان پراکسیداز در ترکیب قارچ‌های (*P. formosus* و *A. alternata*) و (*P. formosus*، *A. alternata* و *A. niger*) به ترتیب به میزان ۵۱/۴۱ و ۴۸/۶۵ درصد تحت تنش شوری ۶۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد مشاهده شد. در تنش شوری ۶۰ میلی‌مولار بیش‌ترین میزان کاتالاز مربوط به ترکیب قارچی (*P. formosus* و *A. alternata*) به میزان ۱۵/۵۴ درصد در مقایسه با شاهد بود.

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی نتایج نشان می‌دهد استفاده از قارچ‌های اندوفیت سبب افزایش رشد گیاه فلفل تحت تنش شوری می‌شود. بنابراین، استفاده از قارچ‌های اندوفیت به‌عنوان جایگزینی با پتانسیل زیاد به‌عنوان محرک‌های رشد گیاه پیشنهاد می‌شود.

استناد: کاوه‌نیا، عباس، صمصام‌پور، داود، عسکری سیاهویی، مجید (۱۴۰۲). جداسازی و شناسایی ریخت‌شناسی و مولکولی قارچ‌های اندوفیت مهم گیاه بنه (*Pistacia mutica*) در استان هرمزگان و تأثیر آن‌ها در افزایش تحمل به تنش شوری گیاهچه فلفل رقم کالیفرنیا و اندر ۳. نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی، ۳۰ (۳)، ۶۴-۴۱.

DOI: 10.22069/JOPP.2023.20576.2962



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

فلفل دلمه (*Capsicum annuum* L.) گیاهی متعلق به تیره Solonaceae می‌باشد و در گروه گیاهان حساس به شوری قرار دارد، که مرحله گیاهچه‌ای حساس‌ترین مرحله به تنش شوری است (۱۵). فلفل دلمه یک محصول مهم کشاورزی می‌باشد که نه تنها به خاطر ارزش اقتصادی بالا بلکه به خاطر ارزش میوه‌های آن و همچنین منبع عالی رنگ‌های طبیعی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۱۶). در سال‌های اخیر، پژوهش‌گران برای مقابله با پدیده شوری و به حداقل رساندن آثار زیان بار آن و کاهش تلفات محصول به دنبال راهکارهای نوین هستند یکی از این روش‌ها، استفاده از ریزجانداران سودمند از جمله قارچ‌های اندوفیت جهت بهبود رشد و افزایش عملکرد گیاهان می‌باشد (۱۴). بنه (*Pistacia atlantica* subsp *Mutica*) یک گونه وحشی از جنس *Pistacia* بومی ایران و سازگار با آب و هوای خشک، مناسب با زمین‌های سبک و سنگلاخی و به شدت نورپسند است (۱۷). قارچ‌های اندوفیت ساکن در بافت‌های ریشه می‌توانند با تأثیر بر ترکیب معدنی، تعادل هورمونی گیاه، ترکیب شیمیایی ترشحات ریشه، ساختار خاک و حفاظت گیاه در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی، نقش محوری در رشد گیاه داشته باشند (۱۸). مطالعات قبلی نشان داده‌اند که قارچ اندوفیت می‌تواند به‌طور قابل‌توجهی زیست‌توده و رشد گیاه را افزایش دهد (۱۹). مطالعات همچنین اثرات مفید قارچ‌های اندوفیت را بر پاسخ‌های رشد گیاهان میزبان در شرایط مختلف تنش توضیح داده‌اند (۲۰). بنابراین، این پژوهش با هدف جداسازی و شناسایی قارچ‌های اندوفیت مهم گیاه بنه و استفاده از توان آن‌ها در بهبود رشد و افزایش تحمل گیاهچه فلفل دلمه رقم کالیفرنیا و اندر ۳۱۰ به تنش شوری انجام شده است.

بهبود منابع غذایی و محصولات کشاورزی در سال‌های اخیر به دلیل رشد بالای جمعیت مورد توجه بیش‌تری قرار گرفته است (۱). استفاده بیش از حد از کودهای شیمیایی چندین خطر زیست‌محیطی از جمله افزایش آلودگی خاک، کاهش تنوع میکروبی در خاک، کاهش ایمنی مواد غذایی و شست و شوی مواد معدنی به آب‌های زیرزمینی دارد (۲). اخیراً کشاورزی طبیعی به‌عنوان جایگزینی در افزایش بهره‌وری محصول و کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی ناشی از ترکیبات شیمیایی ضروری است (۳). گیاهان با گروهی از میکروارگانیسم‌ها به نام قارچ‌های اندوفیت به‌صورت همزیست زندگی می‌کنند که این همزیستی تا حدودی سبب کاهش و تسکین برخی اثرات تنش می‌شود (۴). اندوفیت‌ها میکروارگانیسم‌هایی هستند که بدون ایجاد علائم بیماری، در بافت‌های (درون سلولی یا بین‌سلولی) گونه‌های مختلف گیاهی زندگی می‌کنند (۵). اندوفیت‌های قارچی سازوکارهای مختلفی برای تقویت رشد گیاه دارند (۶)؛ به‌عنوان مثال، قارچ‌های محرک رشد گیاه (PGPF) به‌طور مستقیم با تولید هورمون‌های گیاهی مانند اسید ایندول-۳-استیک (IAA) و اسید جیبرلیک رشد گیاه را تقویت می‌کنند (۷). قارچ‌ها با تثبیت نیتروژن و حل شدن فسفات (۸)، تولید آنزیم‌های مختلف، مانند آمیلاز، سلولاز، اوره آز، کاتالاز و پروتئاز (۹) و تولید آمونیاک سبب رشد گیاه می‌شوند (۱۰). این قارچ‌ها از راه‌های مختلف مانند بهبود توانایی گیاه در جذب مواد غذایی، افزایش سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، اسمولیت‌ها (به‌ویژه پرولین) و حفظ رنگیزه‌های کلروفیل (۱۱)، باعث افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های زیستی و غیرزیستی مانند بیماری‌ها (۱۲)، عناصر سنگین (۱۳)، و شوری (۱۴) می‌شوند.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه گیاهی: نمونه‌های گیاهی از درختان بنه در فصل تابستان ۱۳۹۹ از پنج منطقه استان هرمزگان، سیاهو ($27^{\circ} 41' 17.4'' N$ و $56^{\circ} 14' 28.4'' E$)، منطقه حفاظت شده گنو ($27^{\circ} 41' 17.4'' N$ و $56^{\circ} 14' 28.4'' E$)، حاجی‌آباد (احمدی) ($27^{\circ} 48' 57.8'' N$ و $56^{\circ} 43' 37.5'' E$)، بشاگرد (چهارده روستا) ($26^{\circ} 45' 54.2'' N$ و $57^{\circ} 19' 49.5'' E$) و رودان (رودخانه) ($27^{\circ} 07' 12.0'' N$ و $57^{\circ} 28' 45.0'' E$) جمع‌آوری شد. نمونه‌ها از قسمت‌های پوست تنه اصلی، شاخه‌های جانبی، برگ و ریشه درختان تهیه شدند. پس از آن نمونه‌ها در پاکت کاغذی قرار داده شد و نام گیاه، تاریخ جمع‌آوری و محل نمونه‌برداری آن‌ها یادداشت شدند. سپس اندام‌های گیاهی به آزمایشگاه منتقل و بلافاصله کشت شدند.

جداسازی قارچ‌های اندوفیت: برای جداسازی قارچ‌های اندوفیت از بافت‌های گیاهی، نمونه‌های گیاهی به‌منظور حذف گرد و غبار، با استفاده از مایع ظرفشویی شست و شو داده شدند، سپس سترون کردن قطعات با ابعاد یک سانتی‌متری طبق روش آل-خاتانی و همکاران (۲۰) به شرح زیر صورت گرفت:

قسمت رویی نمونه‌ها با استفاده از تیغ حذف شده و پوست زیرین: به‌مدت یک دقیقه در اتانول ۷۰ درصد و سپس به‌مدت پنج دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد استریل گردید. در انتها نمونه‌ها در سه ظرف مجزا حاوی آب مقطر سترون شست و شو شدند و قطعات گیاهی توسط کاغذ صافی سترون خشک شدند. قطعه‌های سترون‌شده روی پتری‌دیش‌های هشت سانتی‌متری حاوی محیط کشت سیب زمینی- دکستروز- آگار (Potato Dextrose Agar) قرار داده شدند. از آب مقطر اولین ظرف که شست و شوی

نمونه‌ها در آن صورت گرفته بود به‌عنوان نمونه شاهد در پتری‌دیش محتوا محیط کشت (PDA) کشت داده شد. جهت خالص‌سازی، ابتدا جدایه‌ها روی محیط کشت PDA کشت داده شدند و پس از رشد کافی، یک قطعه هیف مجزا از حاشیه پرگنه به وسیله سوزن بسیار ظریف برداشته شد و روی محیط کشت جدید انتقال داده شد (۲۰).

شناسایی ریخت‌شناسی قارچ‌ها: برای مطالعه ریخت‌شناسی اندام‌های قارچی، ویژگی‌های پرگنه، میکروسکوپی و نیز میکروسکوپی از میکروسکوپ نوری استفاده شد. جدایه‌های قارچی با استفاده از منابع معتبر شناسایی و تعیین نام شدند (۲۱).

شناسایی مولکولی قارچ‌ها

کشت قارچ‌ها در محیط مایع: در زیر هود سترون، از حاشیه پرگنه در حال رشد هر جدایه قارچی، ۴ یا ۵ دیسک به قطر یک سانتی‌متر به ارلن‌های حاوی محیط کشت مایع سیب زمینی- دکستروز- برات (Potato dextrose broth) اضافه شد. سپس ارلن‌ها به شیکر (با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه) منتقل شدند. بعد از ۱۰ الی ۱۴ روز، پس از رشد مناسب قارچ به کمک گاز استریل میسلیم‌های قارچ جداسازی شدند و میسلیم به‌دست آمده به پتری‌دیش منتقل و درب پتری‌دیش با کمک پارافیلیم بسته شد و تا زمان استخراج DNA در فریزر (دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. استخراج DNA با استفاده از بافر CTAB به روش میلر (۲۲) انجام شد. نام توالی پرایمرهای مورد نظر در جدول ۱ آورده شده است. جهت انجام PCR از دستگاه ترموسایکلر شرکت Biorad مدل Thermal T-100 استفاده شد و مطابق جدول ۲ برنامه زمانی و دمایی آن مشخص گردید. در پایان محصولات به‌دست آمده به‌منظور

اطمینان از انجام واکنش و عدم شکستگی DNA در ژل آگار الکتروفورز شدند. در انتها ژل داخل دستگاه Gel document قرار داده شده و از آن عکس‌برداری انجام گرفت. پس از انجام الکتروفورز و اطمینان از عدم شکستگی، نمونه‌های DNA به‌منظور توالی‌یابی به شرکت تکاپوزیست ارسال گردید.

جدول ۱- نام و توالی آغازگرهای اختصاصی استفاده شده جهت تکثیر.

Table 1. Name and sequence of specific primers used for amplification.

نام آغازگر Sequence name	توالی Sequence
ITS1	5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'
ITS4	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'

جدول ۲- برنامه زمانی - دمایی جهت انجام مراحل مختلف PCR.

Table 2. Schedule of time and temperature required to perform different PCR steps.

درجه حرارت (سانتی‌گراد) Temperature (°C)	زمان Time	مراحل levels	تعداد چرخه Number of cycles
94	5 minutes دقیقه	واسرشت اولیه Denaturation primary	۱ چرخه 1 Cycle
94	30 second ثانیه	واسرشت Denaturation	۳۵ چرخه
51	40 second ثانیه	اتصال Annealing	35 Cycle
72	70 second ثانیه	گسترش Extension	
72	5 min دقیقه	گسترش نهایی Extension final	۱ چرخه 1 Cycle

5×10^5 اسپور در میلی‌لیتر شمارش شد. به‌منظور جلوگیری از هر گونه آلودگی احتمالی تمامی وسایل، ظروف و محیط کشت پیش از استفاده سترون شدند (۲۳).

تهیه بستر کشت، اعمال تیمارها و کشت گیاه: ابتدا بذور فلغل جهت از بین بردن اثر قارچ‌کش‌ها شست و شو داده شدند. سپس به‌منظور حذف باکتری و قارچ‌های مضر، بذور به‌مدت ۳۰ ثانیه در اتانول ۷۰ درصد و سپس به‌مدت ۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد قرار داده شدند. جهت رفع اثرات

تهیه و تکثیر مایه تلقیح قارچ‌ها: تولید مایه تلقیح قارچ برای آلوده ساختن ریشه گیاه، مستلزم وجود تعداد کافی اسپور قارچ است، بنابراین با تهیه تعداد کافی پتری‌دیش محتوی محیط کشت PDA جدایه قارچ مذکور کشت داده و به‌مدت ۴ هفته نگهداری شد. پس از سپری شدن مدت زمان لازم جهت تولید اسپور، به‌منظور تهیه مایه تلقیح، مقدار ۲۰-۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به هر پتری‌دیش افزوده شد و پس از جمع‌آوری اسپورهای قارچی موجود در هر پتری‌دیش، تعداد آن‌ها با استفاده از لام نئوبار به میزان

شسته شدند. سپس به آزمایشگاه انتقال داده و پس از جدا کردن اندام‌های هوایی و ریشه‌ها، وزن تر ریشه، شاخساره اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها در پاکت‌های کاغذی قرار داده و به مدت ۴۸ ساعت در آن با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس وزن خشک نمونه‌ها نیز ثبت گردید.

صفات بیوشیمیایی: به منظور بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش کار و میسرا (۲۴) استفاده شد. در این روش ۳۳ میکرولیتر از عصاره استخراج با یک میلی‌لیتر محلول پراکسیداز (حاوی ۱۳ میلی‌مول گیاکول و ۵ میلی‌مول پراکسید هیدروژن و ۵۰ میلی‌مول بافر فسفات پتاسیم) درون کوئت ریخته و میزان جذب آن در طول موج ۴۷۰ نانومتر در ۱ دقیقه قرائت شد. ضریب خاموشی استفاده شده برای محاسبه واحد آنزیمی معادل $2676 \text{mM}^{-1} \text{Cm}^{-1}$ می‌باشد.

به منظور ارزیابی آنزیم کاتالاز از روش حسنی‌زامن و همکاران (۲۵) استفاده شد. در این روش ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج با یک میلی‌لیتر محلول اندازه‌گیری کاتالاز (شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار و پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار)، درون کوئت ریخته و سپس جذب آن در طول موج ۲۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. یک واحد آنزیمی کاتالاز برابر با تجزیه یک میلی‌مولار پراکسید هیدروژن در یک دقیقه است. ضریب خاموشی استفاده شده برای محاسبه واحد آنزیمی معادل $39/4 \text{mM}^{-1} \text{Cm}^{-1}$ می‌باشد.

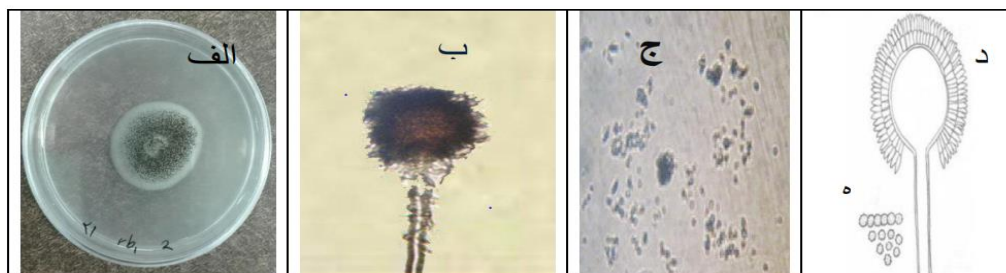
آنالیز آماری: توالی‌های دریافتی با استفاده از نرم‌افزار SeqMan ویرایش شدند و با سایر توالی‌های موجود در بانک ژن (NCBI) مورد مقایسه بلاست قرار گرفتند. برای ترسیم تبارنما، ابتدا ترادف‌ها شناسایی شده در بانک ژن همراه با توالی هر یک از قارچ‌های موردنظر هم ردیف شدند سپس با استفاده از نرم‌افزار

سمی هیپوکلیت سدیم، بذور سترون شده حداقل ۵ بار با آب مقطر استریل شست و شو و به منظور جوانه‌زنی و رشد گیاهچه، بذور درون سینی‌های نشا با محیط کشت استریل کوکوپیت کشت شدند و پس از گذشت یک ماه تیمارهای مورد نظر اعمال شدند.

به منظور اعمال تیمار ابتدا گیاهچه‌ها (مرحله ۴ برگگی) با مقداری مایه تلقیح قارچ حاوی حدوداً 5×10^6 اسپور در میلی‌لیتر و ماده کربوکسی متیل سلولز (CMC) به مدت شش ساعت روی شیکر با دور آرام قرار داده شدند تا امکان اتصال اسپورهای قارچ به سطح ریشه‌چه فراهم شود. در این مرحله، خاک از مزرعه که مخلوطی از ماسه و رس بود، تهیه شد. برای جلوگیری از اثرات ناخواسته سایر میکروارگانیسم‌های موجود در خاک، خاک به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در اتوکلاو استریل گردید. سپس گیاهچه تلقیح شده با قارچ داخل هر گلدان (با قطر و ارتفاع ۲۲ سانتی‌متر) کاشته شد. لازم به ذکر است که در مورد تیمار شاهد، گیاهچه‌ها بدون تلقیح با اسپور قارچ در گلدان‌ها کاشته شدند (۲۳). آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. فاکتور اول نوع قارچ با هفت سطح و فاکتور دوم شوری با چهار سطح شامل ۱۵، ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار سدیم کلرید در نظر گرفته شد. تیمار شوری همراه با آب آبیاری به گیاهچه‌ها اعمال شد. پس از ۴۵ روز صفات ریخت‌شناسی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاهچه‌ها مرتبط با تنش شوری اندازه‌گیری شد (۲۳). جهت اطمینان از این که قارچ وارد گیاهچه شده است، بعد از گذشت ۱۵ روز از اعمال تیمار قارچی، نمونه‌گیری از ریشه گیاه انجام و دوباره مراحل کشت قارچ تکرار شده و شناسایی مولکولی قارچ انجام شد.

صفات ریخت‌شناسی: پس از پایان آزمایش، گیاهان به دقت از گلدان بیرون آورده و خاک اطراف ریشه‌ها

بودند و به ندرت یک ردیف فیالید دیده شد. کنیدیوم‌ها خاردار با برآمدگی نامنظم و گرد بودند. پایه اسپرژلی‌ها دارای دیواره ضخیم، صاف و روشن و بعضی مواقع به‌میزان ناچیزی قهوه‌ای رنگ به نظر می‌رسیدند. قارچ‌های اندوفیت جداسازی شده از قسمت‌های مختلف گیاه بنه توسط ویژگی‌های ریخت‌شناسی و مولکولی شناسایی شدند. تیواری و همکاران (۲۶) در استفاده از هر دو تکنیک شناسایی ماکرو و میکرو ریخت‌شناسی برای آشکار کردن هویت اندوفیت تاکید کرده‌اند. در مطالعاتی از گیاه *Aspochalasin* قارچ *Aspergillus niger* جداسازی شد (۲۷). در مطالعه‌ای قارچ *Aspergillus niger* از *Pantanal* منطقه بومی در منطقه *Nhecolândia* جداسازی و شناسایی شد (۲۸).



شکل ۱- *Aspergillus niger* (الف) پرگنه روی محیط کشت PDA (ب و د) اسپرژیلی‌ها دارای دو ردیف فیالید (ج) کنیدیوم‌های خاردار.
Fig. 1. *Aspergillus niger* a) Progeny on PDA culture medium b and d) Aspergilli with two rows of chialides c) Spiny conidia

سیب‌زمینی (Potato) جداسازی شد (۲۹) و هم‌چنین قارچ گونه *Paecilomyces formosus* جداسازی شده از بلوط و گیلاس به‌عنوان اندوفیت گزارش شده است (۳۰). در پژوهشی نشان داده شد قارچ جنس *Paecilomyces* دارای کنیدیوفورهای منشعب نامنظم، هیف‌های منفصله هیالین تا زرد مایل به زرد و فیالیدها با گردن کشیده و قاعده پهن است. جوان‌ترین کنیدیوم انتهای پایه را اشغال می‌کند، در حالی که کنیدیوم‌ها به‌صورت زنجیره‌ای، هیالین و تک سلولی هستند (۳۱).

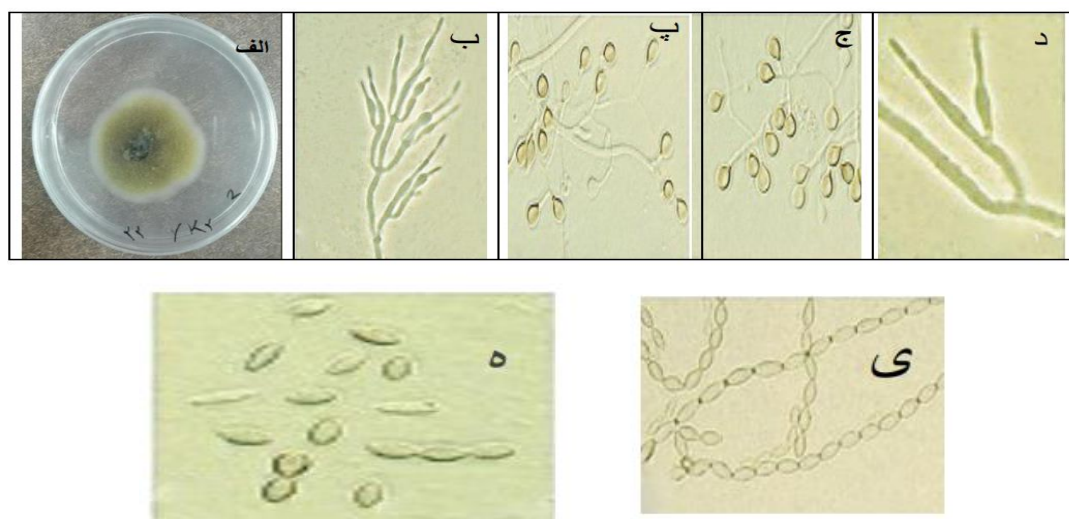
Mega 5 رسم تیارنما انجام گرفت. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) انجام شد و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از بررسی ریخت‌شناسی قارچ‌های جداسازی شده

خصوصیات ریخت‌شناسی *Aspergillus* ویژگی ماکروسکوپی و میکروسکوپی جنس *Aspergillus* در زیر میکروسکوپ مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۱). کنیدیوم‌های هوایی در این گونه سیاه، میسلیوم‌ها سفید، پشت پرگنه بی‌رنگ و چین‌خوردگی‌های ظریف و اسپرژیلی‌ها اغلب دارای دو ردیف فیالید

خصوصیات ریخت‌شناسی *Paecilomyces* پرگنه‌ها روی محیط کشت PDA زرد روشن تا زرد مایل به قهوه‌ای، سریع‌الرشد، ریشه‌ها شفاف و صاف، دارای ۲-۷ فیالید و فیالیدها به فرم ورتیسیلیومی و متراکم، کنیدیوفورها صاف، کنیدی‌ها شفاف تا زرد، زنجیری، با اشکال گوناگون، عمدتاً گرد تا بیضوی. کلامیدوسپور معمولاً به‌صورت انفرادی و یا زنجیرای کوتاه، قهوه‌ای تا قهوه‌ای تیره می‌باشد (شکل ۲). در پژوهشی قارچ *Paecilomyces formosus* از گیاه سویا (Soybean)، برنجال (Brinjal)، گوجه‌فرنگی (Tomato) و

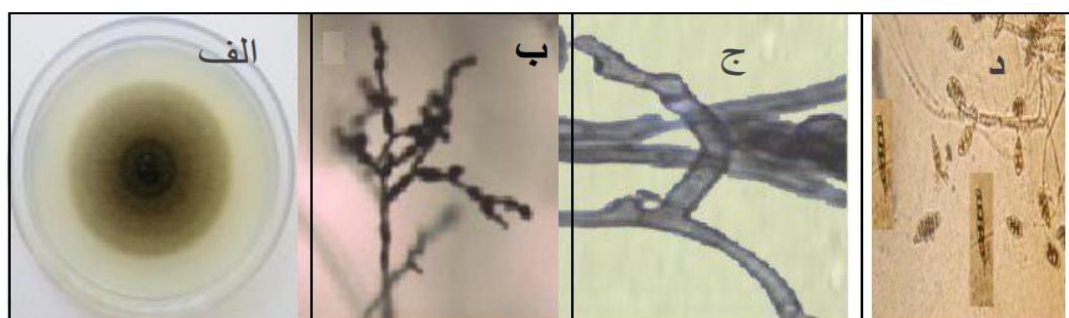


شکل ۲- *Paecilomyces formosus* الف) پرگنه قارچ روی محیط PDA ب) کنیدیوفورها و فیالیدها پ و ج) کلامیدوسپور (د) فیالیدهای جانبی ه و ی) کنیدی‌های تکی و زنجیری.

Fig. 2. *Paecilomyces formosus* a) Fungal colony on PDA medium b) Conidiophores and phialides p and c) Chlamydospore d) Lateral phialides e and j) Single and chain conidia.

ریخت‌شناسی برخی از گونه‌های *Alternaria* از میوه‌های گوجه‌فرنگی مورد بررسی قرار گرفت (۳۲). همچنین در پژوهشی دو گونه *Alternaria* از *Solanum tuberosum* از لحاظ ریخت‌شناسی مورد بررسی قرار گرفت (۳۳).

خصوصیات ریخت‌شناسی *Alternaria*: این گونه با داشتن زنجیره‌های کنیدیومی با طول متوسط (تا ۲۰ کنیدیوم) روی کنیدیورفورهای نسبتاً کوتاه و کنیدیوم‌هایی که اغلب فاقد نوک است، اما دارای کنیدیوفور ثانویه یک تا دو سلولی هستند مشخص می‌شود (شکل ۳). در پژوهشی خصوصیات



شکل ۳- *Alternaria alternata* الف) پرگنه روی محیط کشت PDA ب) زنجیره کنیدیومی ج) کنیدیوفور اولیه کوتاه (د) اشکال مختلف کنیدیوم با نوک کوتاه.

Fig. 3. *Alternaria alternata* a) Peregrine on PDA culture medium b) Conidial chain c) Short primary conidiophore d) Different forms of conidium with short tip.

درصد با توالی *Paecilomyces formosus* با شماره دستیابی MF671952 و KY825114 قرار گرفت و تعیین نام گونه مورد تأیید قرار گرفت (شکل ۴ ب). جنس *Paecilomyces* شامل بیش از ۱۰۰ گونه است که به دلیل فعالیت‌های متعدد و ناهمگونی زیستگاه خود شناخته شده‌اند (۳۵). در پژوهشی قارچ *Paecilomyces variotii* از گیاه (Cabo de Gata) جداسازی و شناسایی شد (۳۶).

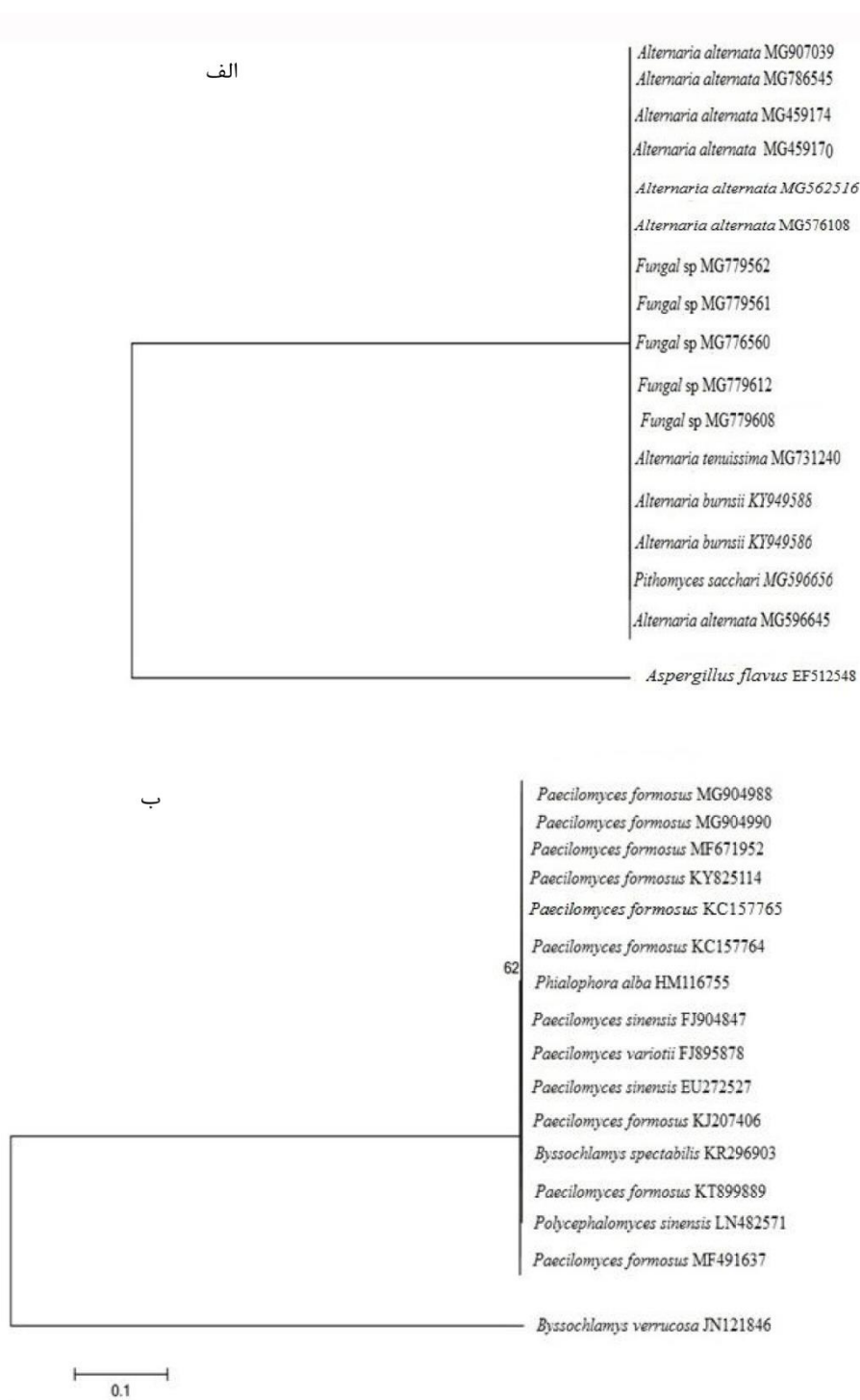
نتایج ارزیابی تشابه برای قارچ *Alternaria alternata* نشان داد که توالی جدید (شماره دستیابی MG907039) ۱۰۰ درصد با توالی *Alternaria alternata* با شماره دستیابی MG459174 و MG459170 شباهت داشت. این نتیجه با یافته‌های حاصله از شناسایی ریخت‌شناسی قارچ *Alternaria alternata* مورد مقایسه قرار گرفت و تعیین نام گونه مورد تأیید قرار گرفت (شکل ۵). فراوان‌ترین گونه‌های آلترناریا شامل *A. brassicae*، *A. arborescens*، *A. alternata* و *A. radicina*، *A. infectoria*، *A. brassicicola*، *A. tenuissima* است که از غلات، گوجه‌فرنگی، سیب، انگور، محصولات روغنی، تخمه آفتابگردان، پرتقال، لیمو، خربزه، خیار، گل کلم، فلفل و نارنگی جداسازی و شناسایی شدند (۳۷، ۳۸، ۳۹).

نتایج شناسایی ژنتیکی قارچ‌ها: نتایج ارزیابی تشابه برای قارچ *Aspergillus niger* نشان داد که توالی جدید (شماره دستیابی اخذ شده MG654699) ۱۰۰ درصد با توالی *Aspergillus niger* با شماره دستیابی MG654701 و MG659598 شباهت داشت. این نتیجه با یافته‌های حاصله از شناسایی ریخت‌شناسی قارچ *Aspergillus niger* مورد مقایسه قرار گرفت و تعیین نام گونه مورد تأیید قرار گرفت (شکل ۴ الف). آگاهی از تنوع ژنتیکی شناسایی شده در میان گونه‌های قارچی متعلق به جنس *Aspergillus* برای توضیح نقش مهم اکولوژیک آن‌ها در محیط زیست و کشاورزی اهمیت کلیدی دارد (۳۴). در مطالعه‌ای قارچ *Aspergillus* جداسازی شده از نیشکر در جنوب ایران مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج خوشه‌بندی فیلوژنتیک نشان داد که حدود ۷۰ درصد سویه‌ها متعلق به گونه *Aspergillus nigri* و حدود ۲۵ درصد از گونه‌ها متعلق به *Aspergillus section Terrei* بودند (۳۴). در آزمایشی جنس‌های *Aspergillus* از دانه قهوه جداسازی شد که در مجموع ۱۰۸ جدایه *Aspergillus* در سطح گونه با تعیین توالی فضای رونویسی داخلی (ITS1-5.8S-ITS2) ریبوزومی (rDNA) شناسایی شد. نتایج ارزیابی تشابه برای قارچ *Paecilomyces formosus* نشان داد که توالی جدید (شماره دستیابی اخذ شده MG904988) ۱۰۰

جدول ۳- مشخصات قارچ‌های اندوفیت شناسایی شده.

Table 3. Characteristics of identified endophytic fungi.

گونه Species	شماره دستیابی در بانک ژن Access number in Geni Bank	مکان Location	یافت Tissue
<i>Aspergillus niger</i>	MG890603	چهارده روستا، احمدی، کوه گنو، سیاهو Fourteen villages, Ahmadi, Gnu Mountain, Siyahu	ریشه، پوست و شاخه‌های جانبی Root, bark and lateral branches
<i>Paecilomyces formosus</i>	MG904988	سیاهو، کوه گنو، احمدی، رودخانه Siyahu, Gnu mountain, Ahmadi, Rodkhaneh	ریشه، پوست و شاخه‌های جانبی Root, bark and lateral branches
<i>Alternaria alternata</i>	MG907039	سیاهو، احمدی Siyahu, Ahmadi	برگ و شاخه‌های جانبی Leaves and lateral branches



شکل ۴- الف) تبارنما استنباط شده از ناحیه ITS فارچ *Aspergillus niger* و فارچ *Paecilomyces formosus*.
 Fig. 4. A) Axon map deduced from the ITS region of *Aspergillus niger* and *Paecilomyces formosus*.



شکل ۵- تارنما استنباط شده از ناحیه ITS قارچ *Alternaria alternata*
Fig. 5. Inferred ax map from the ITS region of *Alternaria alternata*.

یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید محصولات کشاورزی به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان است. تغییرات آب و هوایی جهانی منجر به بارندگی‌های نامنظم، افزایش دما و تشکیل زمین‌های مستعد خشکسالی و تشدید اثرات تنش‌های غیرزیستی بر محصولات در چند دهه گذشته شده است (۴۰). غلبه بر این چالش‌ها مورد توجه پژوهش‌گران کشاورزی و علوم طبیعی قرار گرفته است. مطالعات مختلف بیان نموده‌اند که اندوفیت‌های قارچی از جمله همزیست‌های مفیدی هستند که تحت تنش‌های محیطی مانند خشکی، گرما و شوری مزایای سازگاری را برای گیاهان میزبان به ارمغان می‌آورند (۴۱). در پژوهشی تلقیح با قارچ *Aspergillus aculeatus* به‌طور قابل‌توجهی آسیب ناشی از تیمار کلرید سدیم در گیاهان چچم چندساله را نسبت به شاهد افزایش داد (۴۲).

بررسی تغییرات ریخت‌شناسی

طول ریشه: آنالیز داده‌ها نشان داد که اثر متقابل سطوح شوری و قارچ‌ها بر اندازه طول ریشه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). هم‌چنین نتایج نشان داد که در صورت عدم تلقیح گیاهان با قارچ، با افزایش سطوح شوری اندازه طول ریشه کاهش می‌یابد به‌طوری‌که بیش‌ترین طول ریشه (۸/۵ سانتی‌متر) مربوط به شاهد صفر میلی‌مولار و کم‌ترین اندازه طول ریشه (۳/۳۳ سانتی‌متر) مربوط به شوری ۶۰ میلی‌مولار بود. بیش‌ترین طول ریشه (۱۷/۹ سانتی‌متر) مربوط به شوری صفر میلی‌مولار همراه با تیمار قارچی (*A. alternata* و *P. formosus* *A. niger*) بود (جدول ۵). کاربرد قارچ‌های اندوفیت *P. formosus* و *A. alternata* باعث افزایش طول ریشه گیاهچه لفل نسبت به عدم تلقیح در تنش شوری ۶۰ میلی‌مولار به‌میزان ۱/۵ برابر شد. تنش‌های غیرزیستی

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس تأثیر قارچ‌های اندوفیت بر صفات ریخت‌شناسی گیاهچه فلفل دلمه.

Table 4. Results of analysis of variance of endophytic fungi effect on morphological traits of bell pepper seedlings.

میانگین مربعات Mean of squares								درجه آزادی Degrees of freedom	منابع تغییرات Sources of changes
کتالاز Catalase	پراکسیداز Peroxidase	وزن خشک اندام هوایی Dry weight of aerial parts	وزن تر اندام هوایی Aerial parts fresh weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن تر ریشه Root fresh weight	طول ریشه Root length			
127.67***	254.83***	3.87***	54.18***	0.88***	49.91***	65.26***	7	قارچ Fungus	
2459.2***	3481.14***	6.75***	248.6***	2.07***	126.84***	182.34***	3	شوری Salinity	
23.75**	38.04**	0.35***	8.04***	0.11***	2.59**	3.19***	21	قارچ × شوری Salinity × fungus	
6.59	14.33	0.05	1.04	0.02	0.79	0.815	64	خطای آزمایش Error	
6.11	15.86	29.51	21.76	16.69	22.38	9.89	-	ضریب تغییرات (درصد) Coefficient of variation (%)	

جدول ۵- اثر متقابل شوری و تیمارهای مختلف قارچی بر طول ریشه گیاهچه فلفل دلمه.

Table 5. The interaction effect of salinity and different fungal treatments on the root length of sweet pepper seedlings.

تنش شوری (میلی مولار) Salinity stress (mM)				طول ریشه (سانتی متر) Root length (cm)
60	30	15	0	تیمار (قارچی) Treatment (Fungal)
3.33 ^p	4.33 ^{op}	6.33 ^{lmn}	8.50 ^{ijk}	0
5.90 ^{mn}	7.50 ^{jkl}	9.76 ^{f-i}	10.83 ^{gf}	1
5.00 ^{no}	7.83 ^{jk}	10.00 ^{fgh}	10.66 ^{gf}	2
4.00 ^{op}	8.66 ^{hij}	9.66 ^{gh}	10.66 ^{gf}	3
8.40 ^{ijk}	10.36 ^{gf}	13.00 ^{cd}	14.00 ^c	2+1
5.33 ^{no}	7.50 ^{gh}	8.33 ^{ijk}	10.06 ^{fgh}	3+1
6.33 ^{lmn}	7.16 ^{klm}	12.50 ^{ed}	13.23 ^{cd}	3+2
8.00 ^{jk}	11.66 ^{ef}	15.70 ^d	17.90 ^a	3+2+1

(میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند)

صفر: شاهد، ۱: *Aspergillus niger*، ۲: *Paecilomyces formosus*، ۳: *Alternaria alternata*

(Means with the same letters do not have a significant difference at the five percent probability level)

zero: control, 1: *Aspergillus niger*, 2: *Paecilomyces formosus*, 3: *Alternaria alternata*

زیست‌توده بالاتر، تحمل به شوری را در گیاهان میزبان ایجاد می‌کنند. کلونیزاسیون قارچ برای افزایش زیست‌توده در *Zea mays* L. (۴۳)، سویا (۴۴)، *Brassica juncea* (۴۵) *Vochysia divergens* Pohl (۴۶) و *Oryza sativa* L. (۴۷) قارچ‌های *aestivum* L. (۴۸) ثابت شده است. قارچ‌های اندوفیت می‌توانند توانایی گیاه برای اصلاح ریشه را تعدیل کنند (۴۹). در پژوهشی زامین و همکاران (۵۰) مشاهده کردند که طول و حجم ریشه در گیاهان ذرت تلقیح شده با قارچ بیش‌تر از عدم تلقیح در شرایط شور بود و مشاهدات مشابهی در *Hordeum vulgare* (۱۸) و *Oryza sativa* L. (۵۱) گزارش شده است. سیستم ریشه بهبود یافته گیاه را قادر می‌سازد تا از آب و مواد معدنی مناطق غیرشور استفاده کند تا زمانی که نتوان از بهره‌برداری از مناطق تحت‌تأثیر نمک اجتناب کرد (۵۲). هم‌چنین در پژوهش‌هایی آقائی درگیری و همکاران (۵۳) گزارش کردند که حضور قارچ اندوفیت *Penicillium chrysogenum* در برابر عدم حضور آن در تنش شوری (۸ دسی‌زیمنس بر متر) سبب بهبود وزن خشک ریشه گوجه‌فرنگی به میزان ۵۰/۶۸ درصد در مقایسه با شاهد شد.

وزن تر و خشک ریشه: آنالیز داده‌ها نشان داد که اثر متقابل سطوح شوری و قارچ‌ها بر وزن تر و خشک ریشه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). هم‌چنین نتایج نشان داد که در صورت عدم تلقیح گیاهان با قارچ، با افزایش سطوح شوری وزن تر ریشه کاهش می‌یابد به‌طوری که بیش‌ترین وزن تر ریشه (۲/۴۶ گرم) مربوط به شاهد صفر میلی‌مولار و کم‌ترین وزن تر ریشه (۰/۳۹ گرم) مربوط به شوری ۶۰ میلی‌مولار بود. بیش‌ترین وزن تر ریشه (۱۱ گرم) و (۱۰/۳۴ گرم) به‌ترتیب مربوط به تیمار ترکیب قارچ‌های (*A. alternata* و *P. formosus*، *A. niger*) و (*A. alternata* و *P. formosus*) در شوری صفر میلی‌مولار بود. (جدول ۶). بیش‌ترین وزن خشک ریشه (۱/۸ گرم) مربوط به تیمار ترکیب قارچی (*A. niger*، *A. niger* و *P. formosus* و *A. alternata*) در شوری صفر میلی‌مولار بود (جدول ۶). کاربرد قارچ‌های اندوفیت *A. niger* و *P. formosus* باعث افزایش وزن تر و خشک ریشه گیاهچه فلفل نسبت به عدم تلقیح در تنش شوری ۶۰ میلی‌مولار به‌ترتیب به‌میزان ۳ و ۱/۵ برابر شد. چندین مطالعه نشان داده‌اند که قارچ‌های جداسازی شده از گیاهان به‌دلیل

جدول ۶- اثر متقابل شوری و تیمارهای مختلف قارچی بر وزن تر و خشک ریشه گیاهچه فلفل دلمه.

Table 6. The interaction effect of salinity and different fungal treatments on the fresh and dry weight of sweet pepper seedling roots.

تنش شوری (میلی‌مولار) Salinity stress (mM)				وزن تر ریشه (گرم) Root fresh weight (g)
60	30	15	0	تیمار (قارچی) Treatment (Fungal)
1.00 ^o	1.01 ^{mno}	2.05 ^{k-n}	2.46 ^{j-m}	0
1.23 ^{mno}	1.58 ^{l-o}	4.27 ^{f-i}	6.20 ^{de}	1
1.23 ^{mno}	2.07 ^{k-n}	3.76 ^{g-j}	5.09 ^{efg}	2
1.23 ^{mno}	2.07 ^{k-n}	3.07 ^{ijk}	5.62 ^{ef}	3
1.77 ^{k-o}	2.89 ^{i-l}	6.32 ^{de}	8.96 ^{bc}	2+1
0.70 ^{no}	1.33 ^{mno}	2.32 ^{j-m}	5.00 ^{e-h}	3+1
3.16 ^{ijk}	5.00 ^{e-h}	7.60 ^{cd}	10.34 ^{ab}	3+2
3.56 ^{hij}	5.40 ^{3 ef}	8.86 ^c	11.00 ^a	3+2+1

ادامه جدول ۶-

Continue Table 6.

تنش شوری (میلی مولار) Salinity stress (mM)				وزن تر خشک (گرم) Root dry weight (g)
60	30	15	0	تیمار (قارچی) Treatment (Fungal)
0.080 ^l	0.19 ^{ijkl}	0.21 ^{ijkl}	0.27 ^{h-i}	0
0.11 ^{kl}	0.21 ^{ijkl}	0.43 ^{f-j}	0.62 ^{d-g}	1
0.096 ^{kl}	0.34 ^{gh}	0.45 ^{e-j}	0.50 ^{e-i}	2
0.11 ^{kl}	0.29 ^{kl}	0.41 ^{f-i}	0.71 ^{cde}	3
0.12 ^{kl}	0.36 ^{g-k}	0.86 ^{cd}	0.96 ^c	2+1
0.080 ^l	0.26 ^{i-l}	0.29 ^{h-l}	0.85 ^{efg}	3+1
0.12 ^{kl}	0.29 ^{h-l}	0.54 ^{efg}	0.87 ^{cd}	3+2
0.29 ^{h-l}	0.67 ^{def}	1.50 ^b	1.80 ^a	3+2+1

(میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند)

صفر: شاهد، ۱: *Aspergillus niger*، ۲: *Paecilomyces formosus*، ۳: *Alternaria alternata*

(Means with the same letters do not have a significant difference at the five percent probability level)

zero: control, 1: *Aspergillus niger*, 2: *Paecilomyces formosus*, 3: *Alternaria alternata*

هوایی ۲/۷۲ و ۲/۶۹ گرم به ترتیب مربوط به تیمار قارچ‌های (*P. formosus* و *A. alternata*) و (*A. niger*، *P. formosus* و *A. alternata*) در شوری صفر میلی‌مولار بود (جدول ۷). کاربرد قارچ‌های اندوفیت *A. niger*، *P. formosus* و *A. alternata* باعث افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی گیاهچه فلفل نسبت به عدم تلقیح در تنش شوری ۶۰ میلی‌مولار به ترتیب به میزان ۴ و ۵/۵ برابر شد. در این پژوهش، با افزایش شوری وزن تر، خشک و طول اندام هوایی و ریشه کاهش یافت، اما به‌طوری کلی، کاهش موارد فوق در فلفل دلمه‌ای تلقیح شده با قارچ‌های اندوفیت، کم‌تر بود. در پژوهش‌هایی اثر تلقیح قارچ‌های اندوفیت بر افزایش رشد گیاهچه خیار و گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری مورد ارزیابی قرار گرفت (۵۴). آنیت و همکاران (۵۵) در پژوهش خود روی گیاه فلفل سیاه نشان دادند که مایه‌زنی هم‌زمان قارچ‌های تریکودرما و شبه میکوریزا باعث افزایش معنی‌دار در ارتفاع بوته، تعداد برگ در بوته، وزن تر ساقه وزن خشک ساقه گیاه گردید. قربانی و همکاران

وزن تر و خشک اندام هوایی: آنالیز داده‌ها نشان داد که اثرات اثر متقابل سطوح شوری و قارچ بر وزن تر و خشک اندام هوایی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). هم‌چنین نتایج نشان داد که در صورت عدم تلقیح گیاهان با قارچ، با افزایش سطوح شوری اندازه وزن تر اندام هوایی کاهش می‌یابد به‌طوری که بیش‌ترین وزن تر اندام هوایی (۳/۵۱ گرم) مربوط به شاهد صفر میلی‌مولار و کم‌ترین وزن تر اندام هوایی (۰/۵۲ گرم) مربوط به شوری ۶۰ میلی‌مولار بود. بیش‌ترین وزن تر اندام هوایی ۱۳/۹۳ و ۱۳/۸۹ گرم به ترتیب مربوط به تیمار ترکیب قارچ‌های (*A. niger*، *P. formosus* و *A. alternata*) و (*P. formosus* و *A. alternata*) در شوری صفر میلی‌مولار بود (جدول ۷). هم‌چنین نتایج نشان داد که با افزایش سطوح شوری وزن خشک اندام هوایی در غیاب اندوفیت‌های قارچی کاهش می‌یابد و این کاهش وزن خشک بین تیمارهای صفر، ۱۵ و ۳۰ میلی‌مولار معنی‌دار نبود، اما بین تیمارهای صفر و ۶۰ میلی‌مولار معنی‌دار بود. بیش‌ترین وزن خشک اندام

قارچ اندوفیت *Penicillium janthinellum* با تولید جیبرلین و فعال کردن مکانیسم‌های دفاعی، تحمل به شوری گیاهان گوجه‌فرنگی را تحت تنش شوری افزایش می‌دهد (۵۸). دیل کارمن و همکاران (۵۹) گزارش دادند که وزن اندام هوایی و ریشه در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های اندوفیت ممکن است به در دسترس بودن مواد مغذی بین گیاهان و میکروب‌ها نسبت داده شود.

(۵۶) گزارش کردند تلقیح *Paecilomyces formosus* به‌طور قابل‌توجهی اثرات نامطلوب تنش شوری بر گیاهان خیار را با تجمع پرولین و آنتی‌اکسیدان‌ها و حفظ آب گیاه کاهش داد (۵۴). قربانی و همکاران (۵۶)، گزارش کردند که اثرات بهبودی قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* روی گیاهان گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری ممکن است به دلیل اثرات مثبت آن‌ها بر تجمع عناصر غذایی، هموستاز یونی و وضعیت آب باشد. خان و همکاران (۵۷) نشان داد که

جدول ۷- اثر متقابل شوری و تیمارهای مختلف قارچی بر وزن تر و خشک اندام هوایی گیاهچه فلفل دلمه.

Table 7. The interaction effect of salinity and different fungal treatments on the fresh and dry weight of shoot of bell pepper seedlings.

تنش شوری (میلی‌مولار) Salinity stress (mM)				وزن تر اندام هوایی (گرم) Aerial parts fresh weight (g)
60	30	15	0	تیمار (قارچی) Treatment (Fungal)
0.83 ⁿ	1.08 ^{lmn}	2.71 ^{jkl}	6.73 ^{h-k}	0
1.38 ^{lmn}	1.64 ^{lmn}	4.97 ^{ghi}	6.73 ^{de}	1
1.06 ^{lmn}	2.47 ^{klm}	6.65 ^{def}	8.54 ^c	2
0.98 ^{mn}	3.42 ^{ijk}	3.66 ^{h-k}	6.19 ^{efg}	3
1.40 ^{lmn}	2.27 ^{klm}	5.01 ^{fgh}	8.21 ^{cd}	2+1
1.03 ^{mn}	2.27 ^{klm}	5.12 ^{fgh}	6.00 ^{efg}	3+1
2.04 ^{klm}	4.47 ^{ghi}	10.37 ^b	13.89 ^a	3+2
2.23 ^{klm}	4.31 ^{hij}	11.75 ^b	13.93 ^a	3+2+1
وزن خشک اندام هوایی (گرم) Aerial parts dry weight (g)				
0.10 ^l	0.16 ^{kl}	0.39 ^{jkl}	0.49 ^{h-k}	0
0.18 ^{kl}	0.21 ^{jkl}	0.90 ^{def}	0.95 ^{de}	1
0.17 ^{kl}	0.34 ^{i-l}	0.77 ^{def}	0.88 ^{d-g}	2
0.16 ^{kl}	0.36 ^{i-l}	0.57 ^{fgh}	1.03 ^{cd}	3
0.18 ^{kl}	0.30 ^{jkl}	0.84 ^{d-h}	1.37 ^c	2+1
0.17 ^{kl}	0.50 ^{h-k}	0.81 ^{d-h}	0.89 ^{def}	3+1
0.26 ^{jkl}	0.90 ^{def}	2.30 ^b	2.27 ^a	3+2
0.65 ^{e-i}	1.00 ^{cde}	1.93 ^b	2.69 ^a	3+2+1

(میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند)

صفر: شاهد، ۱: *Aspergillus niger*، ۲: *Paecilomyces formosus*، ۳: *Alternaria alternata*

(Means with the same letters do not have a significant difference at the five percent probability level)

zero: control, 1: *Aspergillus niger*, 2: *Paecilomyces formosus*, 3: *Alternaria alternata*

بررسی تغییرات بیوشیمیایی

به ترتیب به میزان ۵۱/۴۱ و ۴۸/۶۵ درصد تحت تنش شوری ۶۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد مشاهده شد (جدول ۸). در تنش شوری ۶۰ میلی‌مولار بیش‌ترین میزان کاتالاز مربوط به ترکیب قارچی (*P. formosus* و *A. alternata*) به میزان ۱۵/۵۴ درصد در مقایسه با شاهد بود (جدول ۸).

میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز: آنالیز داده‌ها نشان داد که اثرات متقابل سطوح شوری و تیمارهای مختلف قارچی بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). بیش‌ترین میزان پراکسیداز در ترکیب قارچ‌های (*A. alternata* و *P. formosus*) و (*A. niger* و *A. alternata*، *P. formosus*)

جدول ۸- اثر متقابل شوری و تیمارهای مختلف قارچی بر پراکسیداز گیاهچه فلفل دلمه.

Table 8. The interaction effect of salinity and different fungal treatments on the peroxidase and catalase of sweet pepper seedlings.

تنش شوری (میلی‌مولار) Salinity stress (mM)				پراکسیداز (جذب ۴۷۰ نانومتر در دقیقه پروتئین) Peroxidase ($\Delta 470 \text{ nm/min prot}^{-1}$)
60	30	15	0	تیمار (قارچی) Treatment (Fungal)
27.59 ^{ghi}	15.01 ^{mno}	12.53 ^{nop}	8.78 ^p	0
35.08 ^{b-f}	28.19 ^{ghi}	17.66 ^{lmn}	9.14 ^{op}	1
37.34 ^{a-e}	31.05 ^{fgh}	19.61 ^{klm}	9.02 ^{op}	2
33.96 ^{c-g}	32.83 ^{d-h}	16.91 ^{lmn}	8.78 ^{op}	3
38.82 ^{a-d}	34.38 ^{c-f}	21.77 ^{jkl}	8.94 ^{op}	2+1
31.32 ^{fgh}	24.34 ^{ijk}	14.46 ^{m-p}	8.89 ^{op}	3+1
42.22 ^a	40.87 ^{ab}	27.66 ^{hij}	9.14 ^{op}	3+2
41.55 ^a	39.24 ^{abc}	26.97 ^{hij}	8.98 ^{op}	3+2+1
				کاتالاز (جذب ۴۷۰ نانومتر در دقیقه پروتئین) Catalase ($\Delta 240 \text{ nm/min prot}^{-1}$)
49.15 ^{d-g}	40.08 ^{ij}	32.23 ^{mn}	29.87 ⁿ	0
51.43 ^{cde}	45.60 ^{gh}	36.12 ^{klm}	29.86 ⁿ	1
52.20 ^{bcd}	50.84 ^{c-f}	36.80 ^{jk}	29.94 ⁿ	2
50.16 ^{c-f}	47.29 ^{e-h}	32.57 ^{lmn}	29.87 ⁿ	3
51.69 ^{cd}	50.00 ^{c-f}	36.54 ^{kl}	29.87 ⁿ	2+1
50.16 ^{c-f}	43.57 ^{hi}	33.24 ^{k-n}	29.87 ⁿ	3+1
56.79 ^a	53.18 ^{a-d}	47.13 ^{fgh}	29.87 ⁿ	3+2
56.17 ^{ab}	53.38 ^{abc}	47.42 ^{fgh}	29.87 ⁿ	3+2+1

(میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند)

صفر: شاهد، ۱: *Aspergillus niger*، ۲: *Paecilomyces formosus*، ۳: *Alternaria alternata*

(Means with the same letters do not have a significant difference at the five percent probability level)

zero: control, 1: *Aspergillus niger*, 2: *Paecilomyces formosus*, 3: *Alternaria alternata*

افزایش غلظت نمک در محیط باعث عدم تعادل یونی سلولی می‌شود که در نهایت منجر به سمیت یونی و تنش اسمزی می‌شود (۶۰). تنش اسمزی از اثرات ثانویه حاصل از شوری است که سبب وقوع تنش اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی می‌شود (۶۱). صدمات تنش اکسیداتیو در اثر افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن است که گیاهان برای کاستن از اثرات مخرب آن‌ها مکانیسم‌های متفاوتی دارند، که از جمله آن‌ها می‌توان به سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی اشاره کرد. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، پلی‌فنول‌اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز هستند که در پاکسازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول نقش دارند (۶۲). در بسیاری از مطالعات نشان داده شده است که قارچ‌های اندوفیت سبب افزایش تحمل گیاهان به تنش غیرزیستی مانند شوری می‌شوند (۴۱). در شرایط تنش، قارچ‌های اندوفیت سیستم گیاه میزبان را به‌منظور سم‌زدایی گونه‌های اکسیژن فعال خطرناک تعدیل می‌کنند و گیاه میزبان را قادر می‌سازند تا از جذب نمک‌ها جلوگیری کند. حذف H_2O_2 ناشی از تجمع نمک توسط آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز ممکن است یک مکانیسم مؤثر در گیاهان برای غلبه بر تنش شوری باشد (۵۰). آنزیم پراکسیداز با استفاده از مواد فنولیک به‌عنوان انتقال‌دهنده الکترون باعث تجزیه پراکسید هیدروژن می‌شود. از آنجایی که تجمع پراکسید هیدروژن ناشی از واکنش سوپراکسید دیسموتاز نیاز به فعالیت ترکیبی دو آنزیم پراکسیداز و کاتالاز به‌منظور حفاظت سلول‌های گیاهی خواهد داشت. بنابراین این دو آنزیم نقش مهمی را در حذف

پراکسید هیدروژن ایفا می‌نماید (۶۳). دیدهبانی و همکاران (۶۴) گزارش کردند که گیاهان همزیست با قارچ میکوریزا میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بیش‌تری نسبت به گیاهان غیرمیکوریزا داشتند. علت افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در حضور قارچ اندوفیت هنوز مشخص نشده است، اما این احتمال وجود دارد چون آنزیم کاتالاز از دسته پروتئین‌های آهن‌دار محسوب می‌شود (۶۵) و عنصر روی در بیان ژن‌های سنتزکننده پروتئین‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مؤثر است و به‌عنوان کوفاکتور فعالیت این آنزیم‌ها را افزایش می‌دهند (۶۶). قارچ‌ها با افزایش جذب ریزمغذی‌ها در گیاه (۶۷) سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شوند.

نتیجه‌گیری

کاربرد ترکیب سه قارچ اندوفیت (*Aspergillus alternat* + *Paecilomyces formosus* + *niger*) سبب افزایش تحمل به تنش شوری گیاهچه فلفل شد. استفاده از قارچ‌های اندوفیت به‌عنوان کودهای زیستی یک استراتژی سریع، مقرون‌به‌صرفه و سازگار با محیط‌زیست برای کاهش اثرات مخرب تنش‌های غیرزیستی بر محصولات کشاورزی است و ممکن است در توسعه رویکردهای مدیریتی در مورد تغییرات آب و هوایی پیش‌بینی‌نشده جهانی ارزشمند باشد. به‌طورکلی گیاهان تیمار شده با اندوفیت سازگاری قابل‌توجهی با تنش شوری نشان دادند که احتمالاً می‌تواند کشت فلفل دلمه را در زمین‌های خشک و شور تسهیل کند.

منابع

1. El-Esawi, M. A., Al-Ghamdi, A. A., Ali, H. M. & Ahmad, M. (2019). Overexpression of AtWRKY30 transcription factor enhances heat and drought stress tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genes*, 10, 1-13.
2. Elkelish, A., Qari, S. H., Mazrou, Y. S., Abdelaal, K. A., Hafez, Y. M., Abu-Elsaoud, A. M., Batiha, G. E. S., El-Esawi, M. A. & El Nahhas, N. (2020). Exogenous ascorbic acid induced chilling tolerance in tomato plants through modulating metabolism, osmolytes, antioxidants, and transcriptional regulation of catalase and heat shock proteins. *Plants*, 9, 431-452.
3. Soliman, M., Elkelish, A., Souad, T., Alhaithloul, H. & Farooq, M. (2020). Brassinosteroid seed priming with nitrogen supplementation improves salt tolerance in soybean. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 26, 501-511.
4. Jahromi, F., Aroca, R., Porcel, R. & Ruiz-Lozano, J. M. (2008). Influence of salinity on the in vitro development of *Glomus intraradices* and on the in vivo physiological and molecular responses of mycorrhizal lettuce plants. *Microbial Ecology*, 55, 45-53.
5. Abedinzadeh, M., Etesami, H. & Alikhani, H. A. (2019). Characterization of rhizosphere and endophytic bacteria from roots of maize (*Zea mays* L.) plant irrigated with wastewater with biotechnological potential in agriculture. *Biorep Technologies*, 21, 1-11.
6. Eid, A. M., Salim, S. S., Hassan, S. E. D., Ismail, M. A. & Fouda, A. (2019). Role of endophytes in plant health and abiotic stress management. *In Microbiome in plant health and disease*. Springer, Singapore. 6, 119-144.
7. Hashim, A. M., Alharbi, B. M., Abdulmajeed, A. M., Elkelish, A., Hozzein, W. N. & Hassan, H. M. (2020). Oxidative stress responses of some endemic plants to high altitudes by intensifying antioxidants and secondary metabolites content. *Plants*, 9, 2-23.
8. Zamin, M., Fahad, S., Khattak, A. M., Adnan, M., Wahid, F., Raza, A., Wang, D., Saud, S., Noor, M., Bakhat, H. F. & Mubeen, M. (2020). Developing the first halophytic turfgrasses for the urban landscape from native Arabian desert grass. *Environ. Science and Pollution Research*, 27, 39702-39716.
9. El-Esawi, M. A. & Alayafi, A. A. (2019). Overexpression of rice Rab7 gene improves drought and heat tolerance and increases grain yield in rice (*Oryza sativa* L.). *Genes*, 10, 2-16.
10. Fouda, A. H., Hassan, S. E. D., Eid, A. M. & Ewais, E. E. D. (2015). Biotechnological applications of fungal endophytes associated with medicinal plant *Asclepias sinaica* (Bioss.). *Annals of Agricultural Sciences*, 60, 95-104.
11. Zarea, M. J., 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.
12. Ghahfarokhi, R. M. & Goltapeh, M. E. (2010). Potential of the root endophytic fungus *Piriformospora indica*; *Sebacina vermifera* and *Trichoderma* species in biocontrol of take-all disease of wheat *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* in vitro. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 6, 11-18.
13. Abdollahi, L., Yaghoobian, Y. & Alavi, S. M. (2015). Effect of *Piriformospora indica* and *Trichoderma tomentosum* fungi on basil (*Ocimum basilicum* L.) growth under copper nitrate levels. *Soil Management & Sustainable Production*, 5, 13-127.
14. Ansari, M. W., Trivedi, D. K., Sahoo, R. K., Gill, S. S. & Tuteja, N. (2013). A critical review on fungi mediated plant responses with special emphasis to *Piriformospora indica* on improved production and protection of crops. *Plant Physiology and Biochemistry*, 70, 403-410.
15. Azuma, R., Ito, N., Nakayama, N., Suwa, R., Nguyen, N. T., Larrinaga-Mayoral, J. Á., Esaka, M., Fujiyama, H. & Saneoka, H. (2010). Fruits are more

- sensitive to salinity than leaves and stems in pepper plants (*Capsicum annuum* L.). *Scientia Horticulturae*, 125, 171-178.
16. Topuz, A. & Ozdemir, F. (2007). Assessment of carotenoids, capsaicinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.) grown in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 596-602.
 17. Rezaie, M., Farhoosh, R., Sharif, A., Asili, J. & Iranshahi, M. (2015). Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *mutica*) hull essential oil. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 6784-6790.
 18. Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Hüchelhoven, R., Neumann, C., von Wettstein, D. & Franken, P. (2005). The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceed. Nation. Academic Science Journal*, 102, 13386-13391.
 19. Khan, A.L., Hamayun, M., Kim, Y. H., Kang, S. M. & Lee, I. J. (2011). Ameliorative symbiosis of endophyte (*Penicillium funiculosum* LHL06) under salt stress elevated plant growth of *Glycine max* L. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49, 852-861.
 20. ALKahtani, M. D., Fouda, A., Attia, K. A., Al-Otaibi, F., Eid, A. M., Ewais, E. E. D., Hijri, M., St-Arnaud, M., Hassan, S. E. D., Khan, N. & Hafez, Y. M. (2020). Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic bacteria from desert plants and their application as bioinoculants for sustainable agriculture. *Agronomy*, 10, 2-18.
 21. Woudenberg, J. H. C., Groenewald, J. Z., Binder, M. & Crous, P. W. (2013). *Alternaria* redefined. *Studies in Mycology*, 75, 171-212.
 22. Miller, D. N., Bryant, J. E., Madsen, E. L. & Ghiorse, W. (1999). Evaluation and optimization of DNA extraction and purification procedures for soil and sediment samples. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 4715-4724.
 23. Deshmukh, S., Hüchelhoven, 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. *Proceed. Nation. Academic Science*, 103, 18450-18457.
 24. Kar, M. & Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase, and polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, 57, 315-319.
 25. Hasanuzzaman, M., Nahar, K. & Fujita, M. (2013). *Plant response to salt stress and role of exogenous protectants to mitigate salt-induced damages*. In *Ecophysiology and responses of plants under salt stress*. Springer, New York, NY. 3, 25-87.
 26. Tiwari, S., Singh, S., Pandey, P., Saikia, S. K., Negi, A. S., Gupta, S. K., Pandey, R. & Banerjee, S. (2014). Isolation, structure determination, and antiaging effects of 2, 3-pentanediol from endophytic fungus of *Curcuma amada* and docking studies. *Protoplasma*, 251, 1089-1098.
 27. Qader, M., Zaman, K. A. U., Hu, Z., Wang, C., Wu, X. & Cao, S. (2021). Aspochalasin H1: a new cyclic aspochalasin from Hawaiian plant-associated endophytic fungus *Aspergillus* sp. FT1307. *Mole*, 26, 1-10.
 28. Galeano, R. M. S., Franco, D. G., Chaves, P. O., Giannesi, G. C., Masui, D. C., Ruller, R., Corrêa, B. O., da Silva Brasil, M. & Zanoelo, F. F. (2021). Plant growth promoting potential of endophytic *Aspergillus niger* 9-p isolated from native forage grass in Pantanal of Nhecolândia region, Brazil. *Rhizosphere*, 18, 2-19.
 29. Baazeem, A., Alorabi, M., Manikandan, P., Alotaibi, S. S., Almana, A., Abdel-Hadi, A., Vijayaraghavan, P., Raj, S. R. F., Kim, Y. O. & Kim, H. J. (2021). *Paecilomyces formosus* MD12, a Biocontrol Agent to Treat *Meloidogyne incognita* on Brinjal in Green House. *Journal of Fungi*, 7, 2-16.

30. Hajizadeh, A., Amini, J., & Abdulzadeh, J. (2014). Introduction of new strains of oak endophyte fungi in Kurdistan province. *Rast*, 5, 109-122. [In Persian]
31. Van den Brule, T., Lee, C. L. S., Houbraken, J., Haas, P.J., Wösten, H. & Dijksterhuis, J. (2020). Conidial heat resistance of various strains of the food spoilage fungus *Paecilomyces variotii* correlates with mean spore size, spore shape and size distribution. *Food Research International*, 137, 1-30.
32. Saleem, A. & El-Shahir, A.A. (2022). Morphological and Molecular Characterization of Some Alternaria Species Isolated from Tomato Fruits Concerning Mycotoxin Production and Polyketide Synthase Genes. *Plants*, 11, 1-13.
33. Liu, H. F., Liao, J., Chen, X. Y., Liu, Q. K., Yu, Z. H. & Deng, J. X. (2019). A novel species and a new record of Alternaria isolated from two Solanaceae plants in China. *Mycological Progress*, 18, 1005-1012.
34. Tavakol Noorabadi, M., Babaeizad, V., Zare, R., Asgari, B., Haidukowski, M., Epifani, F., Stea, G., Moretti, A., Logrieco, A. F. & Susca, A. (2020). Isolation, Molecular identification, and mycotoxin production of *Aspergillus* species isolated from the rhizosphere of sugarcane in the South of Iran. *Toxicity*, 12, 1-15.
35. Nguyen, T. T. T., Paul, N. C. & Lee, H. B. (2016). Characterization of *Paecilomyces variotii* and *Talaromyces amestolkiae* in Korea based on the morphological characteristics and multigene phylogenetic analyses. *Mycosphere*, 44, 248-259.
36. Moreno-Gavira, A., Diáñez, F., Sánchez-Montesinos, B. & Santos, M. (2020). *Paecilomyces variotii* as a plant-growth promoter in horticulture. *Agronomy*, 10, 597-603.
37. Hussein, M. A. & Voigt, K. (2019). Phylogenetic and enzymatic variability of Alternaria species isolated from various substrates in Qena governorate of Upper Egypt. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 52, 530-541.
38. Lee, H. B., Patriarca, A. & Magan, N. (2015). Alternaria in food: ecophysiology, mycotoxin production and toxicology. *Mycosphere*, 43, 93-106.
39. Ramezani, Y., Taheri, P. & Mamarabadi, M. (2019). Identification of Alternaria spp. associated with tomato early blight in Iran and investigating some of their virulence factors. *Journal of Plant Pathology*, 101, 647-659.
40. Meena, K. K., Sorty, A. M., Bitla, U. M., Choudhary, K., Gupta, P., Pareek, A., Singh, D. P., Prabha, R., Sahu, P. K., Gupta, V. K. & Singh, H. B. (2017). Abiotic stress responses and microbe-mediated mitigation in plants: the omics strategies. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1-6.
41. Sadeghi, F., Samsampour, D., Seyahooei, M. A., Bagheri, A. & Soltani, J. (2020). Fungal endophytes alleviate drought-induced oxidative stress in mandarin (*Citrus reticulata* L.): toward regulating the ascorbate-glutathione cycle. *Scientia Horticulturae*, 261, 1-15.
42. Li, X., Han, S., Wang, G., Liu, X., Amombo, E., Xie, Y. & Fu, J. (2017). The fungus *Aspergillus aculeatus* enhances salt-stress tolerance, metabolite accumulation, and improves forage quality in perennial ryegrass. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1-13.
43. Rho, H., Hsieh, M., Kandel, S. L., Cantillo, J., Doty, S. L. & Kim, S. H. (2018). Do endophytes promote growth of host plants under stress? A meta-analysis on plant stress mitigation by endophytes. *Microeconomics*, 75, 407-418.
44. Hamayun, M., Hussain, A., Khan, S. A., Kim, H. Y., Khan, A. L., Waqas, M., Irshad, M., Iqbal, A., Rehman, G., Jan, S. & Lee, I. J. (2017). Gibberellins producing endophytic fungus *Porostereum spadiceum* AGH786 rescues growth of salt affected soybean. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1-13.
45. Farias, G. C., Nunes, K. G., Soares, M. A., de Siqueira, K. A., Lima, W. C., Neves, A. L. R. & de Lacerda, C. F.

- (2020). Dark septate endophytic fungi mitigate the effects of salt stress on cowpea plants. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51, 243-253.
46. Ahmad, P., Hashem, A., Abd-Allah, E. F., Alqarawi, A. A., John, R., Egamberdieva, D. & Gucel, S. (2015). Role of *Trichoderma harzianum* in mitigating NaCl stress in Indian mustard (*Brassica juncea* L.) through antioxidative defense system. *Frontiers in Plant Science*, 6, 1-15.
47. Saddique, M. A. B., Ali, Z., Khan, A. S., Rana, I. A. & Shamsi, I. H. (2018). Inoculation with the endophyte *Piriformospora indica* significantly affects mechanisms involved in osmotic stress in rice. *Rice*, 11, 1-12.
48. Zhang, S., Gan, Y. & Xu, B. (2019). Mechanisms of the IAA and ACC-deaminase producing strain of *Trichoderma longibrachiatum* T6 in enhancing wheat seedling tolerance to NaCl stress. *BMC Plant Biology*, 19, 1-18.
49. Salope-Sondi, B., Pollmann, S., Gruden, K., Oelmüller, R. & Ludwig-Müller, J. (2015). Improvement of root architecture under abiotic stress through control of auxin homeostasis in Arabidopsis and Brassica crops. *Endocyt. Cell Research*, 26, 100-111.
50. Zaman, K. A. U., Wu, X., Hu, Z., Yoshida, W., Hou, S., Saito, J., Avad, K. A., Hevener, K. E., Alumasa, J. N. & Cao, S. (2021). Antibacterial kaneoeic acids AF from a Hawaiian fungus *Fusarium* sp. FM701. *Phytochemistry*, 181, 112545.
51. Kord, H., Fakheri, B., Ghabooli, M., Solouki, M., Emamjomeh, A., Khatabi, B., Sepehri, M., Salekdeh, G. H. & Ghaffari, M. R. (2019). Salinity-associated microRNAs and their potential roles in mediating salt tolerance in rice colonized by the endophytic root fungus *Piriformospora indica*. *Functional & Integrative Genomics*, 19, 659-672.
52. Jogawat, A., Saha, S., Bakshi, M., Dayaman, V., Kumar, M., Dua, M., Varma, A., Oelmüller, R., Tuteja, N. & Johri, A. K. (2013). *Piriformospora indica* rescues growth diminution of rice seedlings during high salt stress. *Plant Signaling & Behavior*, 8, 1-6.
53. Aghaei Dargiri, S., Samsampoor, D., Askari Seyahooei, M. & Bagheri, A. (2021). The Role of the Fungal Endophyte *Penicillium Chrysogenum* in Tomato Plant under Salinity Stress. *Journal of Crop Breeding*, 13, 84-94.
54. Khan, A. L., Hamayun, M., Kang, S. M., Kim, Y. H., Jung, H. Y., Lee, J. H. & Lee, I. J. (2012). Endophytic fungal association via gibberellins and indole acetic acid can improve plant growth under abiotic stress: an example of *Paecilomyces formosus* LHL10. *BMC Microbiology*, 12, 1-14.
55. Anith, K. N., Faseela, K. M., Archana, P. A. & Prathapan, K. D. (2011). Compatibility of *Piriformospora indica* and *Trichoderma harzianum* as dual inoculants in black pepper (*Piper nigrum* L.). *Symbiosis*, 55, 11-17.
56. Ghorbani, M. H., Zeynali, E., Soltani, A. & Galeshi, S. (2004). The effect of salinity on growth, yield and yield components in two wheat cultivars. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 10, 5-13.
57. Ghorbani, A., Razavi, S. M., Ghasemi, O. V. & Pirdeshti, H. (2019). Effects of endophyte fungi symbiosis on some physiological parameters of tomato plants under 10-day long salinity stress. *Journal of Plant Process and Function*, 7, 193-208.
58. Khan, A. L., Waqas, M., Hamayun, M., Al-Harrasi, A., Al-Rawahi, A., & Lee, I. J. (2013). Co-synergism of endophyte *Penicillium resedanum* LK6 with salicylic acid helped *Capsicum annum* in biomass recovery and osmotic stress mitigation. *BMC Microbiology*, 13, 1-13.
59. del Carmen Orozco-Mosqueda, M., del Carmen Rocha-Granados, M., Glick, B. R. & Santoyo, G. (2018). Microbiome engineering to improve biocontrol and plant growth-promoting mechanisms. *Microbiological Research*, 208, 25-31.

60. Arzani, A. (2008). Improving salinity tolerance in crop plants: a biotechnological view. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 44, 373-383.
61. Munns, R. & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651-681.
62. Pan, J., Wang, Q. & Snell, W. J. (2005). Cilium-generated signaling and cilia-related disorders. *Laboratory Investigation*, 85, 452-463.
63. Asada, K. (2019). *Production and action of active oxygen species in photosynthetic tissues*. In Causes of photooxidative stress and amelioration of defense systems in plants. CRC pres. 28, 77-104.
64. Dudhane, M. P., Borde, M. Y. & Jite, P. K. (2011). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and antioxidant activity in *Gmelina arborea* Roxb. under salt stress condition. *Notulae Scientia Biologicae*, 3, 71-78.
65. Garratt, L. C., Janagoudar, B. S., Lowe, K. C., Anthony, P., Power, J. B. & Davey, M. R. (2002). Salinity tolerance and antioxidant status in cotton cultures. *Free Radical Biology and Medicine*, 33, 502-511.
66. Bagci, S. A., Ekiz, H., Yilmaz, A. & Cakmak, I. (2007). Effects of zinc deficiency and drought on grain yield of field-grown wheat cultivars in Central Anatolia. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 193, 198-206.
67. Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L. & Lorito, M. (2008). Trichoderma-plant-pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 1-10.