تأثیر مایه‌زنی با ریزجانداران محرک رشد بر برخی ویژگی‌های رشدی، فیزیولوژیکی و میزان عناصرغذایی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis*) تحت شرایط تنش شوری

زهرا اصلانی[۱]، عباس حسنی[۲]*، بابک عبدالهی مندولکانی [۳]، محسن برین [۴]، رامین ملکی [۵]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۵/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۲۷)

چکیده

به منظور بررسی تأثیر مایه‌زنی قارچ *Piriformospora indica* و باکتری *Pseudomonas fluorescens* بر برخی صفات رشدی، فیزیولوژیکی و جذب عناصر غذایی گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) تحت شرایط تنش شوری، آزمایشی گلدانی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل مایه‌زنی با ریزجانداران در سه سطح (شاهد بدون مایه‌زنی، مایه‌زنی با قارچ *P. indica* و باکتری *P. fluorescens*) و تنش شوری در چهار سطح (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار نمک کلرور سدیم) بودند. نتایج نشان داد که تنش شوری و مایه‌زنی ریزجانداران تأثیر معنی‌داری بر صفات اندازه‌گیری‌شده داشته‌اند. با افزایش میزان شوری، درصد کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ، ویژگی‌های رشدی، محتوای نسبی آب برگ، شاخص کلروفیل (SPAD)، درصد و عملکرد اسانس، غلظت عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم کاهش در حالی‌که مقادیر سدیم و کلر افزایش یافت. هم‌چنین مقادیر کلیه صفات اندازه‌گیری شده به غیر از میزان سدیم و کلر در گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ و باکتری بیش‌تر از گیاهان بدون مایه‌زنی بود. بیش‌ترین و کم‌ترین مقادیر عملکرد پیکر رویشی خشک (۲۹/۶۱ و ۱۳/۵۱ گرم در گلدان)، محتوای نسبی آب برگ (۸۲/۴۵ و ۵۴/۸۳ درصد)، شاخص کلروفیل (۳۵/۳۶ و ۲۶/۱)، درصد اسانس (۲/۰۲ و ۱/۳۷ درصد)، عملکرد اسانس (۰/۰۴۹ و ۰/۰۱۷ میلی‌لیتر در بوته) و فسفر (۰/۴۱ و ۰/۱۰ درصد) به‌ترتیب در شرایط بدون تنش و در گیاهان مایه‌زنی شده با *P. indica* و در سطح شوری ۱۰۰ میلی مولار و در گیاهان بدون مایه‌زنی مشاهده گردید. در مجموع یافته‌های این تحقیق نشان داد که مایه‌زنی با ریزجانداران محرک رشد می‌تواند با حفظ مقادیر کلروفیل و بهبود جذب آب و عناصر غذایی، اثرات سوء تنش شوری بر رشد، عملکرد و تولید اسانس در گیاه مریم‌گلی را تعدیل نماید.

واژه‌های کلیدی: اسانس، باکتری محرک رشد گیاه، تنش شوری، قارچ همزیست، عناصر غذایی

اصلانی ز.، حسنی ع.، عبدالهی مندولکانی ب.، برین م.، ملکی ر. ۱۴۰۰. تأثیر مایه‌زنی با ریزجانداران محرک رشد بر برخی ویژگی‌های رشدی، فیزیولوژیکی و میزان عناصرغذایی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis*) تحت شرایط تنش شوری. تحقیقات کاربردی خاک. جلد ۹، شماره ۳. صفحه: ۱۰۴-۱۲۲.

۱- دانشجوی دکتری علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه
۲- استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه (مکاتبه‌کننده)
۳- دانشیار گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۴ - استادیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۵- استادیار گروه پژوهشی کروماتوگرافی، جهاد دانشگاهی آذربایجان غربی، ارومیه
* پست الکترونیک: a.hassani@urmia.ac.ir

مقدمه

شوری خاک و آب یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که رشد گیاهان و تولید محصولات کشاورزی در بسیاری از مناطق جهان را با محدودیت جدی مواجه ساخته است (Parida & Das, 2005). شوری با ایجاد سمیت یونی (عمدتاً ناشی از یون‌های سدیم و کلر) و تنش اسمزی منجر به کاهش محتوای آب سلولی و اختلال در جذب عناصر غذایی، فتوسنتز و سنتز پروتئین‌ها شده و به تبع آن باعث کاهش رشد و تغییر در تولید ترکیبات فعال زیستی گیاهان می‌گردد (Parida & Das, 2005; 2009; Isayenkov, 2012). در تحقیقات متعددی تأثیر سوء تنش شوری بر ویژگی‌های رشدی و میزان اسانس گیاهان دارویی مختلف مانند مریم‌گلی (Ben Taarit *et al*., 2009)، آگاستاکه (Khorsandi *et al*., 2010)، نعناع فلفلی (Coban & Baydar, 2016) و شمعدانی (Hassanvand *et al*., 2019) گزارش شده است.

باتوجه به چالش افزایش جمعیت، یکی از دغدغه‌های مهم متخصصین علوم گیاهی و کشاورزی یافتن روش‌هایی برای به‌حداقل رساندن اثرات سوء تنش شوری بر رشد و تولید محصولات کشاورزی می‌باشد. در این راستا، در سال‌های اخیر روش‌های بیولوژیکی مبتنی بر استفاده از پتانسیل‌های ریزجانداران خاک (نظیر قارچ‌ها و باکتری‌های محرک رشد) در ایجاد روابط همزیستی با گیاهان، به‌عنوان یک استراتژی مقرون به‌صرفه و پایدار برای کاهش اثرات تنش‌های محیطی مورد توجه و استفاده قرار گرفته است (Meena *et al*., 2017; Rajkumar *et al*., 2017; Khademian *et al*., 2019; Barin *et al*., 2019; Rasouli Sadaghiani *et al*., 2019). قارچ *Piriformospora indica*، یک قارچ اندوفیت متعلق به خانواده Sebacinaceae و از رده قارچ‌های بازیدومیست‌ها می‌باشد که با ریشه طیف وسیعی از گیاهان کلونیزاسیون تشکیل می‌دهد (Weiss *et al*., 2004; Yun *et al*., 2018). قارچ‌های اندوفیت، به لحاظ بهبود توانایی گیاه در جذب آب و مواد غذایی، تعادل یونی، انباشت ترکیبات محافظ اسمزی (نظیر پرولین، گلایسین بتائین و قندهای محلول)، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی، محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی و فعالیت و بیان ژن‌های وابسته به مقاومت، خطرات ناشی از تنش را کاهش داده و باعث افزایش تحمل گیاه در برابر تنش‌های غیرزیستی مانند خشکی و شوری می‌شوند (Zarea *et al*., 2012; Ghorbani *et al*., 2018; Khademian *et al*., 2019). تأثیر مایه‌زنی با قارچ *P. indica* در کاهش اثرات منفی تنش شوری بر ویژگی‌های رشدی و میزان جذب عناصر غذایی در گیاهان مختلف مانند گندم (Zarea *et al*., 2012)، گوجه‌فرنگی (Ghorbani *et al*., 2018) و ذرت (Yun *et al*., 2018) گزارش شده است. خادمیان و همکاران (Khademian *et al*., 2019) گزارش کردند که مایه‌زنی گیاه کنجد با قارچ *P. indica*، باعث افزایش محتوای نسبی آب، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، جذب عناصر غذایی و محتوای متابولیت‌های ثانویه گیاه در شرایط شوری می‌گردد. در تحقیقی دیگر، بررسی مایه‌زنی گیاه نعناع فلفلی با قارچ *P. indica* تحت شرایط شوری نشان داد با افزایش سطح شوری، میزان کلونیزاسیون ریشه، درصد اسانس برگ، مقادیر کلروفیل، عملکرد ماده خشک گیاه و محتوای نسبی آب برگ کاهش یافت در حالی‌که همزیستی با قارچ باعث بهبود وزن خشک گیاه و کاهش اثرات منفی شوری بر درصد اسانس و محتوای نسبی آب برگ شد (Khalvandi *et al*., 2017a).

باکتری‌های محرک رشد گیاه از جمله جنس *Pseudomonas*، گروه دیگری از ریزجانداران هستند که توانایی همزیستی با گیاهان را دارا بوده و در سال‌های اخیر برای تعدیل اثرات سوء تنش شوری مورد توجه و استفاده قرار گرفته‌اند (Meena *et al*., 2017; Rajkumar *et al*., 2017; Rasouli-Sadaghiani *et al*., 2019). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که این باکتری‌ها می‌توانند با فرآیندهای مختلفی نظیر توسعه سیستم ریشه‌ای (Egamberdieva, 2015)، تولید هورمون‌های محرک رشد نظیر اکسین (Egamberdieva, 2015; Rajkumar *et al*., 2017)، بهبود جذب آب و عناصر غذایی (Yang *et al*., 2008)، تثبیت بیولوژیکی نیتروژن و افزایش حلالیت عناصر مغذی نظیر فسفر و پتاسیم (Reyes-Castillo *et al*., 2017)، انباشت اسمولیت‌ها و افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (Rajkumar *et al*., 2017)، اثرات سوء تنش شوری بر گیاهان را کاهش دهند. مایه‌زنی گیاهان ذرت با باکتری *P. fluorescens* تحت شرایط تنش شوری نشان داد که همزیستی با باکتری از طریق

افزایش جذب آب و عناصر N، P و K باعث افزایش رشد و عملکرد می‌شود (Nadeem *et al*.,2009). در مطالعه دیگری، صابری ریسه و همکاران (Saberi-Riseh *et al*., 2020) گزارش کردند که استفاده از سویه‌های مختلف باکتری‌های *P. fluorescens* و *Bacillus subtilis* در گیاهان تحت تنش شوری خیار، باعث تخفیف اثرات مضر تنش شوری به‌واسطه‌ی حفظ مقادیر کلروفیل، انباشت اسمولیت‌های سازگار (پرولین و قندهای محلول) و افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر فنل‌ها گردیده است. مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) یکی از گونه‌های تجاری مهم در تیره نعناع (Lamiaceae) است که منشأ آن نواحی مدیترانه گزارش شده و امروزه در اکثر کشورها کشت می‌شود. از برگ‌های خشک شده و اسانس این گیاه در صنایع غذایی، داروسازی، آرایشی و بهداشتی و عطر و ادکلن سازی استفاده‌های فراوانی می‌شود. مواد مؤثره این گیاه به‌عنوان قابض، ضد نفخ، ضد اسپاسم، ضد عفونی کننده، آنتی‌بیوتیک و آرام بخش شناخته شده‌اند (Raal *et al*., 2007). طبق گزارش بن تاریت و همکاران (Ben Taarit *et al*., 2009)، به علت کاهش ۵۰ درصدی زیست‌توده در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار، گیاه مریم گلی به عنوان یک گیاه نیمه حساس به شوری قلمداد می‌شود. تحقیقات علمی متعدد نشان می‌دهند که تولید متابولیت‌های ثانویه با ارزش در گیاهان دارویی و معطر، تحت شرایط تنشی مختلف نظیر شوری می‌تواند بهبود یابد (Ben Taarit *et al*., 2009; Kulak *et al*., 2020). باتوجه به اهمیت شوری خاک و آب در ایران، یکی از راهکارهایی که در سنوات گذشته برای رفع این مشکل مورد توجه قرار گرفته است جایگزینی کشت گیاهان تجاری حساس با گیاهان کم آب‌بر و مقاوم به انواع تنش‌های محیطی نظیر گیاهان دارویی بوده است. در همین راستا، مطالعه کشت گیاهان دارویی همراه با کاربرد ریزجانداران تقویت کننده رشد می‌تواند ضمن تأمین اهداف کشاورزی پایدار، راه حل مناسبی برای رفع یا کاهش مشکل شوری در اکثر مناطق ایران باشد. بنابراین، تحقیق حاضر با هدف بررسی توان قارچ *P. indica* و باکتری *P. fluorescens* در بهبود رشد، عملکرد و افزایش مقاومت به شرایط تنش شوری در گیاه مریم‌گلی انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر به‌صورت یک آزمایش گلدانی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار، طی بهار و تابستان سال ۱۳۹۷ انجام گرفت. فاکتورهای آزمایش شامل چهار سطح شوری (غلظت‌های صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار نمک کلرورسدیم که به‌ترتیب دارای هدایت الکتریکی معادل ۰/۶۹، ۳/۳۹، ۵/۳۱ و ۱۰/۴۲ دسی‌زیمنس بر متر بودند) و سه سطح مایه‌زنی با ریزجانداران محرک رشد (کاربرد قارچ *Piriformospora indica*، باکتری *Pseudomonas fluorescens* و عدم مایه‌زنی) بودند.

تهیه مایه تلقیح قارچ *P. indica*

قارچ *P. indica* از آزمایشگاه گروه خاک‌شناسی دانشگاه ارومیه تهیه و سپس در تعدادی ظرف‌های پتری محتوای محیط جامد کفر (Kaefer, 1977) (حاوی عناصر میکرو، ماکرو، نمک‌ها، پپتون و عصاره مخمر) کشت گردید. چهار هفته بعد از قرار گرفتن پلیت‌ها در انکوباتور با دمای ۲۴ درجه سلسیوس، اسپورهای قارچ جمع آوری و شمارش آن‌ها با استفاده از لام نئوبار انجام شد. سپس سوسپانسیونی با غلظت ۵×۱۰^{۵} اسپور در میلی‌لیتر تهیه و برای مایه‌زنی استفاده شد.

تهیه مایه تلقیح باکتری *P. fluorescens*

سویه PF173 باکتری *P. fluorescens* از آزمایشگاه گروه خاک‌شناسی دانشگاه ارومیه تهیه شد. برای تهیه سوسپانسیون، باکتری در محیط کشت مایع لوریا برتانی (LB) به‌مدت یک شب در شیکر انکوباتور (۱۲۰ دور در دقیقه) با دمای ۲۸ درجه سلسیوس قرار داده شد. برای مایه‌زنی از غلظت $۱۰^{۸}$ سلول در هر میلی‌لیتر سوسپانسیون استفاده گردید.

تهیه بستر، مایه‌زنی و کشت بذر

خاک مورد استفاده در آزمایش (سه قسمت خاک مزرعه+دو قسمت ماسه) در گلدان‌های پلاستیکی با قطردهانه ۲۳ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر توزیع شد. برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

Table 1. Some physical and chemical properties of studied soil

Soil Texture	pH	EC	O.M	$CaCO_3$	N	K	P
		$dS\ m^{-1}$		%		$mg\ kg^{-1}$	
Clay Loam	7.92	0.78	1.28	31.5	0.52	202	7.24

برای مایه‌زنی، ابتدا بذور گیاه مریم‌گلی (تهیه شده از شرکت پاکان بذر اصفهان) با اتانول ۷۰ درصد به‌مدت ۳۰ ثانیه و سپس با هیپوکلرید سدیم دو در صد به‌مدت دقیقه دقیقه ضدعفونی سطحی شدند. سپس چندین مرتبه با آب استریل شستشو گردیده و روی کاغذ صافی واتمن در پتری دیش‌ها به مدت پنج روز برای جوانه‌زنی کشت شدند. بذور جوانه زده با سوسپانسیون قارچ حاوی ۵×۱۰^{۵} اسپور در میلی‌لیتر مایه‌زنی و به‌مدت یک ساعت بر روی شیکر برای اتصال اسپورهای قارچ به سطح ریشه‌چه قرار داده شد. برای مایه‌زنی با باکتری، بذور ضدعفونی شده به محلول حاوی باکتری *P. fluorescens* سویه PF173 منتقل و به‌مدت یک ساعت در شیکر انکوباتور قرار داده شدند تا نفوذ باکتری به داخل شیارها و پوست بذر امکان‌پذیر گردد. غلظت باکتری $۱۰^{۸}$ سلول در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح بود. در نهایت ۲۰ عدد از بذور شاهد و تلقیح‌شده در گلدان‌های جداگانه کشت شدند. در طول مدت آزمایش، دمای کمینه و بیشینه گلخانه به‌طور متوسط ۲±۲۰ و ۲±۲۸ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵۰-۶۰ درصد و روشنایی مورد نیاز گیاهان نیز با نور طبیعی آفتاب تأمین می‌شد. پس از سبز شدن بذور و تنک کردن گیاهچه‌ها در چند مرحله، در نهایت در داخل هر گلدان هفت بوته نگهداری شد. تا مرحله هشت برگی شدن بوته‌ها (یک ماه پس از کاشت بذور)، گلدان‌ها با آب معمولی آبیاری گردیده و از این مرحله به بعد، تیمارهای شوری به‌صورت آبیاری گلدان‌ها با آب حاوی غلظت‌های موردنظر نمک کلرور سدیم شروع گردید. برای جلوگیری از تنش ناشی از غلظت زیاد نمک، سطوح شوری طی سه بار آبیاری به غلظت‌های نهایی رسیدند. دو ماه پس از اعمال تیمارهای تنش شوری، گیاهان برای سنجش صفات مختلف برداشت شدند.

تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ

چهار هفته بعد از شروع تیمارهای شوری، نمونه‌برداری از ریشه گیاهان شاهد و مایه‌زنی شده برای تعیین آلودگی ریشه با قارچ در زیر میکروسکوپ نوری انجام شد. ابتدا ریشه‌ها با آب معمولی شسته شده و سپس قطعات یک سانتی‌متری ریشه در داخل پتاسیم هیدرواکسید ۱۰ درصد به‌مدت یک ساعت در دمای ۹۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند. پس از سرد شدن، ریشه‌ها شسته شده و به‌مدت چند دقیقه در داخل اسید هیدرکلریک یک نرمال قرار داده شدند. پس از خالی کردن اسید هیدرکلریک، روی ریشه‌ها محلول رنگی (ترپان بلو) اضافه گردیده و به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند. در مرحله پایانی محلول رنگی خالی گردید و نمونه‌ها در داخل محلولی از اسید لاکتیک، گلیسرول و آب به نسبت ۱:۱:۱ برای مطالعات میکروسکوپی نگهداری شدند (Phillips and Hayman, 1970).

اندازه‌گیری صفات رشدی

در پایان دوره آزمایش به‌منظور بررسی اثرات تیمار شوری و مایه‌زنی با ریزجانداران بر ویژگی‌های رشدی مریم‌گلی، از هر واحد آزمایشی به‌طور تصادفی سه بوته انتخاب و صفاتی نظیر ارتفاع بوته (توسط خط کش)، قطر ساقه و ضخامت برگ (توسط کولیس دیجیتالی)، وزن تر و خشک برگ و ساقه (به وسیله ترازوی دیجیتالی)، تعداد و سطح برگ (توسط دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ مدل AM-۲۰۰) اندازه‌گیری گردید. برای تعیین وزن خشک، قسمت‌های رویشی به‌طور جداگانه در داخل آون (دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت) قرار داده شدند و در نهایت وزن خشک آن‌ها محاسبه گردید.

اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی

در این بخش صفاتی نظیر شاخص کلروفیل (SPAD) و محتوای نسبی آب برگ (RWC) مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری شاخص کلروفیل از دستگاه کلروفیل سنج (Minolta SPAD-502 Chlorophyll Meter) استفاده شد. برای اندازه‌گیری RWC نیز دیسک‌هایی به قطر هشت میلی‌متر از قسمت میانی

پهنک برگ تهیه شده پس از توزین دیسک‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتالی (با دقت ۰/۰۰۱ گرم) آن ها را به پتری دیش‌های دربدار حاوی آب مقطر منتقل کرده و به مدت شش ساعت در یخچال (چهار درجه سلسیوس) و در تاریکی قرار داده شدند. پس از خارج کردن دیسک‌ها از آب مقطر و حذف رطوبت اضافی سطح دیسک‌ها، وزن آماس آن‌ها اندازه‌گیری شد. پس از تعیین وزن آماس، دیسک های برگی را به آون (۷۰ درجه سلسیوس) منتقل کرده و پس از گذشت ۴۸ ساعت وزن خشک آن‌ها تعیین گردید و در نهایت RWC با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد (Turner, 1981):

رابطه ۱ $RWC(\%) = [FW - DW / TW - DW] \times 100$

که در آن (RWC) محتوای نسبی آب، (FW) وزن تر، (DW) وزن خشک و (TW) وزن آماس نمونه‌ها می باشد.

اندازه‌گیری عناصر غذایی

برای اندازه‌گیری عناصر غذایی، نمونه‌های برگی خشک شده در آون، به کمک آسیاب پودر شده و نهایتاً عصاره آن‌ها به روش سوزاندن خشک تهیه گردید. میزان فسفر برگ‌ها با استفاده از روش رنگ سنجی (رنگ زرد مولیبدات وانادات) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Cotteni, 1980). مقادیر پتاسیم و سدیم به روش نشر شعله‌ای و با کمک دستگاه فلیم فتومتر (Emami, 1996) و مقدار کلر به روش تیتراسیون (Johnson & Ulrich, 1975) اندازه‌گیری شد. عنصر نیتروژن نیز به روش هضم توسط اسید سولفوریک، اسید سالیسیلیک و آب اکسیژنه و با استفاده از دستگاه کجدال مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (Mulvaney, 1996).

استخراج و اندازه‌گیری محتوای اسانس

برای استخراج و اندازه‌گیری میزان اسانس، گیاهان برداشت شده، در سایه و در دمای اتاق خشک شدند و سپس ۲۵ گرم از برگ‌های خرد شده به روش تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر (به‌مدت سه ساعت)، مورد استخراج اسانس قرار گرفت.

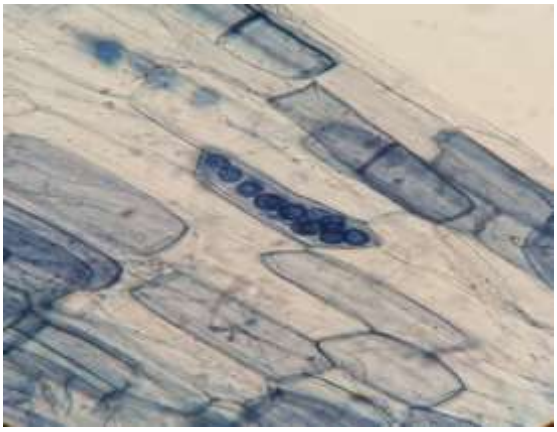
تجزیه آماری داده‌ها و نرم‌افزارهای مورد استفاده

برای انجام تجزیهٔ واریانس و مقایسهٔ میانگین‌های صفات اندازه‌گیری شده از نرم‌افزار SAS استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن و رسم نمودار نیز با استفاده از نرم افزار Excel انجام گرفت.

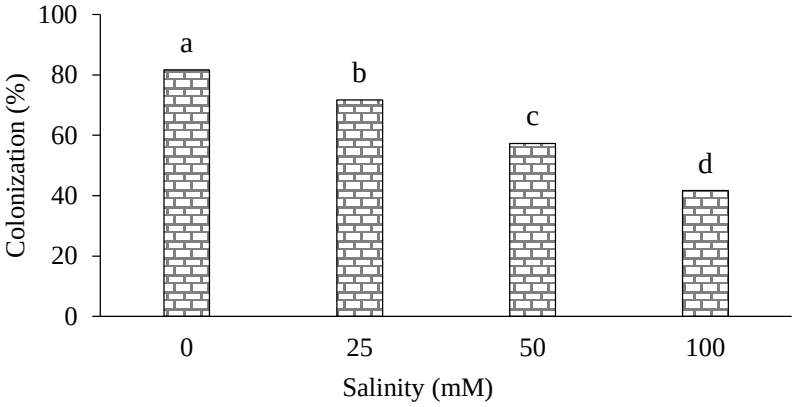
نتایج و بحث

درصد کلونیزاسیون ریشه

در ارزیابی میکروسکوپی، کلامیدوسپورهای گرد تا گلابی شکل و هیف‌های *P. indica* در بافت کورتکس ریشه مشاهده شد (شکل ۱). نتایج نشان داد میزان کلونیزاسیون ریشه گیاهان آلوده به *P. indica* به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش شوری قرار گرفت. در شرایط غیر شور میزان کلونیزاسیون ریشه ۸۱/۶۶ در صد بود. درحالی که ریشه گیاهان مایه‌زنی شده با *P. indica* در معرض شوری‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار به‌ترتیب ۷۱/۶۷، ۵۷/۳۳ و ۴۱/۶۶ در صد کلونیزه شدن ریشه را نشان دادند (شکل ۲). مشابه نتایج این تحقیق، در صد کلونیزاسیون ریشه‌های گیاهان گوجه فرنگی (Ghorbani *et al*., 2018) و نعناع فلفلی (Khalvandi *at al*., 2019) در پاسخ به تنش شوری کاهش معنی‌داری یافت. کاهش میزان کلونیزاسیون ریشه‌ها ممکن است ناشی از اثرات سمیّت ویژه یونی یا تنش اسمزی ناشی از غلظت‌های بالای نمک کلرور سدیم بر رشد هیف‌های قارچ باشد. به‌علاوه محدود شدن فتوسنتز تحت شرایط تنش شوری، احتمالاً بر میزان عرضه کربوهیدرات‌ها توسط گیاه برای قارچ اثر گذاشته و باعث کاهش رشد هیف‌های قارچ می‌گردد (McMillen *et al*., 1998).



شکل ۱-کلامیدوسپورهای قارچ *P. indica* در ریشه مریم‌گلی تلقیح شده
Fig. 1. **C**hlamydospores of *P. indica* in root cortex of inoculated sage plants.



شکل۲-تأثیر سطوح مختلف شوری بر درصد کلونیزاسیون ریشه مریم‌گلی بوسیله قارچ *P. indica*
Fig. 2. Effect of different salinity levels on colonization rate of sage roots by *P. indica*.

صفات رشدی

براساس نتایج بدست آمده، کاربرد ریزجانداران و تنش شوری بر ویژگی‌های رشدی اندازه‌گیری شده تأثیر معنی‌داری داشته است. هم‌چنین اثرات متقابل این دو عامل بر تمام ویژگی‌های رشدی به‌غیر از ضخامت برگ و وزن خشک برگ معنی‌دار بود (جدول ۲).

مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر تیمارهای شوری بر ویژگی‌های رشدی نشان می‌دهد که با افزایش غلظت شوری مقادیر صفات یاد شده (به‌غیر از ضخامت برگ) کاهش یافته است، به‌طوری‌که بیش‌ترین و کم‌ترین میزان صفات رشدی گیاه به‌ترتیب در شرایط بدون شوری و تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار ملاحظه گردید. هم‌چنین کاربرد ریزجانداران باعث بهبود ویژگی‌های رشدی در تمام سطوح شوری نسبت به گیاهان بدون مایه‌زنی گردید، به‌طوری‌که بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار صفات یاد شده به‌ترتیب در گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ و گیاهان بدون مایه‌زنی مشاهده گردید (جدول ۲). در گیاهان بدون مایه‌زنی، عملکرد پیکر رویشی خشک در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد، ۴۹/۶ درصد کاهش یافت. این در حالی است که کاهش عملکرد پیکر رویشی خشک در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد برای گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ و باکتری به‌ترتیب ۲۹/۱ و ۳۷/۵ درصد بود. به عبارت دیگر مایه‌زنی با ریزجانداران محرک رشد به‌ویژه *P. indica* منجر به افزایش تولید زیست‌توده گردید که این افزایش در تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار شوری مشهودتر بود (جدول ۲).

در تأیید یافته‌های این تحقیق، کاهش رشد و عملکرد تحت تأثیر تنش شوری در سایر گیاهان دارویی نظیر

آگاستاکه (Khorsandi *et al*., 2010)، نعناع فلفلی (Coban & Baydar, 2016)، اسطوخودوس (Chrysargyris *et al*., 2018)، آویشن باغی و آویشن دنایی (Emami Bistgani *et al*., 2019) و شمعدانی (Hassanvand *et al*., 2019) نیز گزارش شده است. تنش شوری همانند بسیاری از تنش‌های غیرزیستی دیگر، رشد گیاه را محدود می‌کند و کاهش رشد یک نوع سازگاری برای زنده‌ماندن گیاه تحت شرایط تنش محسوب می‌گردد. اثرات اسمزی و یونی ناشی از نمک کلرور سدیم تبعات پیچیده‌ای نظیر کاهش پتانسیل محلول خاک، سمیت یونی و بهم خوردن تعادل تغذیه‌ای دارد (Munns, 2002)، که می‌تواند منجر به کاهش محتوای آب گیاه، بسته شدن روزنه‌ها، تخریب کلروفیل، کاهش تعداد و سطح برگ‌ها، افت چشم‌گیر کارایی فتوسنتز و در نهایت کاهش رشد و تولید گیاه گردد (Zhu, 2001).

جدول ۲- اثر مایه‌زنی با *P. indica* و *P. fluorescens* بر برخی ویژگی‌های رشدی مریم‌گلی تحت سطوح مختلف شوری

Table 2. Effect of *P. indica* and *P. fluorescens* inoculation on some growth parameters of sage (*S. officinalis*) under different salinity levels

NaCl (mM)	PBRM[1] inoculation	Plant height (cm)	Stem diameter (mm)	Leaf number	Leaf area (cm^2)	Leaf thickness (mm)
	P. indica					
0		60.33 a	3.32 a	32.00 a	271.91 a	0.186
25		51.66 b	3.37 a	30.00 a	270.48 a	0.286
50		38.16 cde	2.88 bc	24.00 cde	254.30 bc	0.406
100		40.66 cd	2.82 c	23.00 def	244.61 cd	0.556
	P. fluorescens					
0		50.50 b	3.24 a	27.00 b	267.93 a	0.190
25		41.83 c	3.16 ab	26.66 bc	268.04 a	0.250
50		39.33 cde	2.85 cd	24.66 b-e	262.91 ab	0.353
100		35.66 e	2.75 cd	22.66 def	239.20 de	0.473
	Control					
0		48.00 b	2.67 cd	25.00 bcd	246.54 cd	0.163
25		36.00 de	2.75 cd	23.33 de	229.80 e	0.206
50		38.00 cde	2.45 d	22.00 ef	200.14 f	0.283
100		29.93 f	2.57 cd	20.33 f	187.14 g	0.350
NaCl (mM)						
0		52.94	3.07	28.00	262.13	0.180 d
25		43.16	3.09	26.66	256.11	0.247 c
50		38.50	2.74	23.55	239.11	0.347 b
100		35.42	2.71	21.99	223.66	0.460 a
PBRM inoculation						
P. indica		47.70	3.09	27.25	260.33	0.359 a
P. fluorescens		41.83	3.00	25.25	259.52	0.316 a
control		37.98	2.61	22.66	215.90	0.250 b
Microorganism (M)		**	**	**	**	**
Salinity (S)		**	**	**	**	**
M × S		**	**	*	*	NS

1- PBRM= Plant beneficial rhizospheric microorganism

NS, * and ** are non-significant, significant at $p \leq 0.05$ and $p \leq 0.01$, respectively.

The means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different using Duncan's test ($p<0.05$).

افزون بر این، نتایج این تحقیق نشان داد که مایه‌زنی گیاه مریم‌گلی با ریزجانداران محرک رشد باعث تعدیل اثرات نامطلوب شوری و بهبود صفات رشدی و عملکرد گیاه در مقایسه با گیاهان بدون مایه‌زنی گردید. مطابق با نتایج این تحقیق، اثرات سودمند مایه‌زنی با قارچ *P. indica* بر رشد گیاه تحت شرایط تنش شوری توسط محققین دیگری نیز گزارش شده است (Baltruschat *et al*., 2008; Jogawat *et al*., 2013; Khalvandi *ett al*., 2017; Ghorbani *et al*., 2018). اثرات مفید همزیستی قارچ *P. indica* با گیاهان تحت شرایط شوری ممکن است ناشی از بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیکی نظیر وضعیت آبی گیاه و فتوسنتز (Ghorbani *et al*., 2018)، افزایش رشد و تکثیر ریشه‌ها به‌واسطه تولید اسید ایندول استیک (Sirrenberg *et al*., 2007) و بهبود جذب مواد غذایی

به‌ویژه تغذیه بهتر عنصر فسفر (Evelin *et al*., 2009) باشد. افزایش رشد و عملکرد گیاه مریم‌گلی مایه‌زنی شده با باکتری *P. fluorescens* که در این تحقیق مشاهده گردید در سایر گیاهان نظیر گندم (Hasnain & Sabri, 1996)، ذرت (Bano & Fatima, 2009) و تربچه (Mohamed & Gomaa, 2012) نیز گزارش شده است. فرآیندهای احتمالی که باکتری‌های محرک رشد از طریق آن‌ها باعث بهبود رشد و عملکرد گیاهان تحت شرایط شوری می‌گردند شامل کاهش جذب و انتقال یون‌های سمی (سدیم و کلر) به برگ‌ها، افزایش قابلیت انحلال و جذب سایر عناصر غذایی نظیر فسفر، تحریک تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی نظیر اکسین و پایین نگه‌داشتن میزان سنتز اتیلن درونی در ریشه از طریق فعالیت ۱- آمینوسیکلو پروپان ۱- کربوکسیلات (ACC) دآمیناز می‌باشند (Hasnain & Sabri, 1996; Kohler *et al*., 2009; Mohamed & Gomaa, 2012; Rasouli Sadaghiani *et al*., 2019).

ادامه جدول ۲- اثر مایه‌زنی با *P. indica* و *P. fluorescens* بر برخی ویژگی‌های رشدی مریم‌گلی تحت سطوح مختلف شوری

Continued Table 2. Effect of *P. indica* and *P. fluorescens* inoculation on some growth parameters of sage (*S. officinalis*) under different salinity levels

NaCl (mM)	PBRM inoculation	Leaf fresh weight (g plant^{-1})	Leaf dry weight (g plant^{-1})	Stem fresh weight (g plant^{-1})	Stem dry weight (g plant^{-1})	Herb fresh yield (g pot^{-1})	Herb dry yield (g pot^{-1})
	P. indica						
0		7.02 a	2.42	5.40 a	1.81 a	86.94 a	29.61 a
25		6.81 ab	2.31	4.60 c	1.51 cd	79.87 b	26.74 bc
50		5.30 d	1.93	4.04 e	1.34 ef	65.38 d	22.89 d
100		5.40 cd	1.91	3.19 g	1.09 h	60.13 d	21.00 de
	P. fluorescens						
0		6.83 ab	2.30	5.22 ab	1.73 ab	84.35 ab	28.21 ab
25		6.11 bc	2.04	4.40 cd	1.53 c	73.57 c	24.99 c
50		5.61 cd	1.85	3.65 f	1.23 fg	64.82 d	21.56 d
100		4.88 d	1.62	2.71 h	0.90 i	53.13 e	17.64 f
	Control						
0		6.52 ab	2.16	4.99 b	1.67 b	80.57 b	26.81 bc
25		5.06 d	1.69	4.17 de	1.40 de	64.61 d	21.63 d
50		5.14 d	1.62	3.41 fg	1.15 gh	59.85 d	19.39 ef
100		3.96 e	1.29	1.86 i	0.64 j	40.74 f	13.51 g
NaCl (mM)							
0		6.79	2.29 a	5.20	1.74	83.93	28.21
25		5.99	2.01 b	4.39	1.48	72.66	24.43
50		5.35	1.80 c	3.70	1.24	63.35	21.28
100		4.74	1.61 d	2.58	0.88	51.24	17.43
PBRM inoculation							
P. indica		6.13	2.14 a	4.31	1.43	73.08	24.99
P. fluorescens		5.86	1.95 b	3.99	1.35	68.95	23.10
control		5.17	1.69 c	3.61	1.22	61.46	20.37
Microorganism (M)		**	**	**	**	**	**
Salinity (S)		**	**	**	**	**	**
M × S		*	NS	**	**	*	*

NS, * and ** are non-significant, significant at $p\leq0.05$ and $p\leq0.01$, respectively.
The means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different using Duncan's test ($p<0.05$).

صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی

محتوای نسبی آب برگ (RWC)

محتوای نسبی آب برگ به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش شوری، مایه‌زنی با ریزجانداران و اثر متقابل آن‌ها قرار گرفت (جدول ۳). نتایج نشان داد که صرف‌نظر از کاربرد ریزجانداران، با افزایش غلظت نمک کلرورسدیم در آب آبیاری میزان RWC کاهش یافت. مقایسه میانگین‌های مربوط به اثرات متقابل شوری و مایه‌زنی با ریزجانداران نیز نشان داد که مایه‌زنی با ریزجانداران اندوفیت باعث افزایش RWC گردید؛ به‌طوری که در

بالاترین سطح شوری (۱۰۰ میلی‌مولار)، مایه‌زنی با قارچ *P.indica* و باکتری *P. fluorecenns*، میزان RWC را به‌ترتیب ۲۶/۹۹ و ۱۲/۷۸ درصد نسبت به گیاهان بدون مایه‌زنی افزایش داد. هم‌چنین باید اضافه نمود که در تمام سطوح شوری، گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ *P. indica* نسبت به گیاهان مایه‌زنی شده با باکتری *P. fluorescens* و گیاهان بدون مایه‌زنی، از RWC بالاتری برخوردار بودند (جدول ۳).

جدول ۳- اثر مایه‌زنی با *P. indica* و *P. fluorescens* بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی مریم‌گلی تحت سطوح مختلف شوری

Table 3. Effect of *P. indica* and *P. fluorescens* inoculation on some physiological and phytochemical parameters of sage (*S. officinalis*) under different salinity levels

NaCl (mM)	PBRM inoculation	RWC (%)	Chlorophyll (SPAD)	Essential oil content (%)	Essential oil yeild (ml plant^{-1})
	P. indica				
0		82.45 a	35.36	2.02	0.049
25		77.71 b	33.83	1.92	0.044
50		74.91 bcd	30.00	1.59	0.030
100		69.63 ef	28.40	1.47	0.028
	P. fluorescens				
0		78.81 ab	34.43	1.71	0.039
25		75.33 bc	32.78	1.70	0.035
50		71.00 cde	28.00	1.51	0.027
100		61.84 g	28.00	1.33	0.021
	Control				
0		78.21 b	31.86	1.72	0.037
25		71.78 cde	30.46	1.71	0.028
50		67.15 f	26.00	1.42	0.023
100		54.83 h	26.10	1.37	0.017
NaCl (mM)					
0		79.82	33.88 a	1.82 a	0.041 a
25		74.94	32.36 b	1.77 a	0.036 b
50		71.02	28.02 c	1.51 b	0.027 c
100		62.10	27.60 c	1.39 c	0.022 d
PBRM inoculation					
P. indica		76.01	31.91 a	1.75 a	0.038 a
P. fluorescens		72.08	30.82 a	1.56 b	0.030 b
control		67.91	28.66 b	1.55 b	0.026 c
Microorganism (M)		**	**	**	**
Salinity (S)		**	**	**	**
M × S		**	NS	NS	NS

NS, * and ** are non-significant, significant at $p\leq0.05$ and $p\leq0.01$, respectively.
The means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different using Duncan's test ($p<0.05$).

کاهش محتوای نسبی آب برگ در اثر تنش شوری در سایر گیاهان دارویی نظیر نعناع فلفلی (Khalvandi *et al*., 2017a)، آویشن باغی و آویشن دنایی (Emami Bistgani *et al*., 2019) و شمعدانی (Hassanvand *et al*., 2019) نیز گزارش شده است که نتایج تحقیق حاضر را مورد تأیید قرار می‌دهد. افزون بر این، مشابه نتایج این تحقیق، نقش مثبت مایه‌زنی با قارچ *P. indica* (Khalvandi *et al*., 2017a) و باکتری *P. fluorescens* (Bazyar *et al*., 2017) در حفظ محتوای نسبی آب بافت‌های گیاه تحت شرایط شوری مورد تأکید قرار گرفته است. محتوای نسبی آب گیاه، معیار مناسبی برای بررسی وضعیت آبی گیاه است. در شرایط شوری مقدار آب مصرفی گیاه کاهش پیدا می‌کند که می‌تواند مربوط به کاهش پتانسیل آب محیط ریشه و کاهش توان گیاه در جذب آب، افزایش مقاومت در مسیر جریان آب در داخل گیاه و یا افزایش مقاومت روزنه‌ای و کاهش تعرق باشد (Heidari Sharif Abad, 2001). هم‌چنین نقش ریزجانداران محرک رشد در بهبود محتوای رطوبتی بافت‌های گیاه را می‌توان به توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه و در نتیجه افزایش سطح جذبی ریشه‌ها، افزایش کارآیی

مصرف آب و بهبود روابط آبی گیاه نسبت داد (Kohler *et al*., 2009; Khalvandi *et al*., 2017a).

شاخص کلروفیل (SPAD)

بررسی نتایج نشان می‌دهد که فقط اثرات ساده تنش شوری و کاربرد ریزجانداران بر شاخص کلروفیل معنی‌دار بوده است (جدول ۳). طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها، با افزایش غلظت نمک در آب آبیاری میزان کلروفیل کاهش یافت به‌طوری که بیش‌ترین (۳۳/۸۸) و کم‌ترین (۲۷/۶) میزان شاخص کلروفیل به‌ترتیب در سطوح شوری صفر و ۱۰۰ میلی‌مولار مشاهده گردید و البته اختلاف بین سطوح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار شوری از این نظر معنی‌دار نبود. هم‌چنین نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر مایه‌زنی با ریزجانداران بر شاخص کلروفیل نشان می‌دهد که گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ *P.indica* و باکتری *P. fluorescens* از شاخص کلروفیل بیش‌تری نسبت به گیاهان شاهد برخوردار بودند (جدول ۳).به نقل از پاریدا و همکاران (Parida *et al*., 2004) در گیاه مانگرو، در اثر شوری مقدار اتیلن برگ افزایش و میزان کلروفیل به دلیل فعالیت آنزیم کلروفیلاز به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. در همین ارتباط محمد و گوما (Mohamed & Gomaa, 2012)، ضمن بررسی اثر مایه‌زنی گیاه تربچه با باکتری *P. fluorescens* تحت شرایط شوری گزارش نمودند که این باکتری احتمالاً از طریق افزایش فعالیت آنزیم ACC دآمیناز و کاهش سنتز اتیلن باعث کندشدن روند تخریب و تجزیه کلروفیل در اثر شوری می‌گردد. در تحقیق مشابهی، بازیار و همکاران (Bazyar *et al*., 2017) نقش مثبت مایه‌زنی با باکتری *P. fluorescens* را در حفظ مقادیر کلروفیل گیاهان کلزا تحت شرایط تنش شوری گزارش نمودند که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. هم‌چنین طبق گزارش سانتوس (Santos, 2004) کاهش محتوای کلروفیل تحت شرایط شوری عمدتاً ناشی از کاهش فعالیت آنزیم آمینو لوولینیک اسید سنتاز[1] (ALA) می‌باشد. قابل ذکر است که این آنزیم، سنتز D-آمینو لوولینیک اسید را که اولین پیش ماده مسیر بیوسنتزی کلروفیل است کاتالیز می‌کند. از دلایل دیگر کاهش کلروفیل در تیمارهای تحت تنش شوری، اختلال در جذب عناصری مثل منیزیوم و آهن می‌باشد که در ساخت کلروفیل نقش اساسی دارند و با کاهش جذب آن‌ها سنتز کلروفیل و در نتیجه فتوسنتز گیاه کاهش می‌یابد (Munns, 2002). افزون بر این، تحت شرایط تنش شوری، گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده می‌توانند آسیب‌های جدی (تنش اکسیداتیو) به مولکول‌های زیستی مثل لیپیدها، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و کلروفیل وارد نمایند (Yasar *et al*., 2008).

نقش مثبت قارچ *P. indica* در بهبود رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل تحت شرایط شوری در نعناع فلفلی (Khalvandi *et al*., 2017a) و گوجه فرنگی (Ghorbani *et al*., 2018) نیز گزارش شده است. کادیان و همکاران (Kadian *et al*., 2013) گزارش نمودند اثرات نامطلوب تنش شوری که باعث کاهش محتوای کلروفیل می‌گردد در گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ مایکوریزا کم‌تر از گیاهان بدون مایه‌زنی بود. آن‌ها هم‌چنین اظهار داشتند همزیستی با قارچ از طریق افزایش جذب عناصر غذایی نظیر فسفر و منیزیوم می‌تواند باعث افزایش بیوسنتز کلروفیل و در نتیجه بهبود رشد و عملکرد گیاه تحت شرایط تنش شوری گردد.

درصد و عملکرد اسانس

بر اساس نتایج بدست آمده، فقط اثرات ساده تنش شوری و کاربرد ریزجانداران بر درصد و عملکرد اسانس معنی‌دار بوده است (جدول ۳). با افزایش سطح شوری درصد و عملکرد اسانس کاهش یافت به‌طوری که بیش‌ترین و کم‌ترین مقادیر این صفات به‌ترتیب در تیمار شاهد و شوری ۱۰۰ میلی‌مولار مشاهده گردید و البته از نظر درصد اسانس اختلاف معنی‌داری بین تیمار شاهد و شوری ۲۵ میلی‌مولار وجود نداشت. هم‌چنین مایه‌زنی با ریزجانداران *P. indica* و *P. fluorescens* باعث افزایش درصد و عملکرد اسانس در مقایسه با گیاهان بدون مایه-زنی گردید. به‌طوری که بیش‌ترین درصد (۱/۷۵ درصد) و عملکرد اسانس (۰/۰۳۸ میلی‌لیتر در گیاه) در گیاهان مایه‌زنی شده با *P. indica* و کم‌ترین درصد (۱/۵۵ درصد) و عملکرد اسانس (۰/۰۲۶ میلی‌لیتر در گیاه) در گیاهان بدون مایه‌زنی مشاهده گردید. هم‌چنین از نظر درصد اسانس اختلاف معنی‌داری بین گیاهان مایه‌زنی شده با

1Aminolevulinic acid synthase

P. fluorescens و گیاهان بدون مایه‌زنی وجود نداشت (جدول ۳).

کاهش محتوای و عملکرد اسانس در اثر شوری که در تحقیق حاضر مشاهده گردید در سایر گیاهان دارویی نظیر نعناع سبز و مرزنجوش بستانی (El-Keltawi & Croteau, 1987)، رازیانه (Ashraf & Akhtar, 2004)، آگاستاکه (Khorsandi *et al*., 2010)، نعناع فلفلی (Khalvandi *et al*., 2017a,b) و شمعدانی (Hassanvand *et al*., 2019) نیز گزارش شده است. طبق اظهار محققین، تولید و انباشت ترکیبات ثانویه گیاهی تا حدود زیادی وابسته به شرایط رشد گیاه و به‌ویژه تنش-های محیطی است. در این راستا غلظت متابولیت‌های ثانویه گیاهی در پاسخ به تنش‌های محیطی (نظیر خشکی و شوری) ممکن است افزایش یا کاهش یابد (Selmar, 2008). طبق گزارش عزیز و همکاران (Aziz *et al*., 2008) کاهش محتوای اسانس می‌تواند ناشی از کاهش فتوسنتز یا تغییر در سایر سیستم‌های متابولیکی گیاه باشد. هرگونه اختلال در سیستم‌های متابولیکی طبیعی گیاه می‌تواند منجر به اختلال در بیوسنتز اسانس و در نتیجه کاهش محتوای آن گردد. هم‌چنین کاهش عملکرد اسانس در نتیجه شوری که در این تحقیق مشاهده گردید ممکن است ناشی از اثر زیان‌آور تنش بر رشد و عملکرد پیکر رویشی گیاه باشد. به عبارت دیگر با کاهش عملکرد پیکر رویشی گیاه تحت شرایط شوری عملکرد اسانس نیز نقصان می‌یابد. ال-کلتاوی و کروتیو (El-Keltawi & Croteau, 1987) بیان داشتند که محدود شدن عرضه سیتوکینین توسط ریشه‌ها به شاخساره‌ها و بدنبال آن تغییر نسبت سیتوکینین به اسید آبسیزیک برگ ممکن است عامل کاهش عملکرد اسانس تحت شرایط شوری باشد. نتایج این تحقیق هم‌چنین نشان داد که کاربرد ریزجانداران محرک رشد، درصد و عملکرد اسانس را نسبت به گیاهان بدون مایه‌زنی افزایش داد. طبق گزارش خالوندی و همکاران (Khalvandi *et al*., 2019)، مایه‌زنی گیاهان نعناع فلفلی با قارچ *P. indica* باعث افزایش درصد و عملکرد اسانس تحت شرایط تنش شوری گردید. در تفسیر این نتایج اظهار شد که ریزجانداران اندوفیت باعث افزایش جذب عناصر غذایی به‌ویژه فسفر از طریق افزایش تولید اکسین، سیتوکینین و فعالیت آنزیم فسفاتاز شده و در نتیجه NADPH و ATP مورد نیاز برای بیوسنتز ترکیبات ترپنوئیدی موجود در اسانس‌ها را تأمین می‌نمایند. مشابه نتایج این تحقیق، تأثیر مثبت مایه‌زنی با باکتری‌های ریزوسفری بر میزان اسانس در گیاهان نعناع (Bharti *et al*., 2014) و رزماری (Dehghani Bidgoli *et al*., 2019) نیز گزارش گردیده است. در تحقیق دیگری قربانپور و همکاران (Ghorbanpour *et al*., 2014)، علت افزایش درصد و عملکرد اسانس گیاهان مریم‌گلی مایه‌زنی شده با *P. fluorescens* و *P. putida* نسبت به گیاهان بدون مایه‌زنی را افزایش تراکم کرک‌های ترشحی اسانس در برگ گیاهان مایه‌زنی شده اعلام نمودند. در تحقیق حاضر مایه‌زنی گیاه مریم‌گلی با ریزجانداران مورد آزمایش، باعث بهبود ویژگی‌های رشدی و عملکرد گیاه در شرایط تنش شوری شد. بنابراین افزایش عملکرد اسانس را می‌توان به بهبود عملکرد پیکر رویشی در نتیجه مایه‌زنی با ریزجانداران تقویت کننده رشد نسبت داد.

عناصر غذایی برگ

بر اساس نتایج بدست آمده از این تحقیق، مقادیر نیتروژن، فسفر، پتاسیم، سدیم، کلر و نیز نسبت پتاسیم به سدیم در برگ‌ها، به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای شوری، مایه‌زنی با ریزجانداران و اثر متقابل آن‌ها قرار گرفت (جدول ۴).

نیتروژن

مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل شوری و مایه‌زنی با ریزجانداران نشان می‌دهد که صرفنظر از کاربرد ریزجانداران با افزایش غلظت شوری در آب آبیاری میزان نیتروژن برگ‌ها کاهش یافت. بیش‌ترین میزان نیتروژن برگ (۲/۲۸ درصد) در شرایط بدون تنش شوری و در گیاهان مایه‌زنی شده با *P. fluorescens* و کم‌ترین میزان نیتروژن برگ (۱/۸۲ درصد) در تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و در گیاهان بدون مایه‌زنی مشاهده گردید. در گیاهان بدون مایه‌زنی، علیرغم کاهش میزان نیتروژن در اثر افزایش غلظت شوری، اختلاف مشاهده شده بین سطوح مختلف شوری معنی‌دار نبود. هم‌چنین در بالاترین سطح شوری، اختلاف بین گیاهان مایه‌زنی شده و گیاهان شاهد (بدون مایه‌زنی) معنی‌دار نبود (جدول ۴).

جدول ۴- اثر مایه‌زنی با *P. indica* و *P. fluorescens* بر میزان عناصر غذایی برگ مریم‌گلی تحت سطوح مختلف شوری

Table 4. Effect of *P. indica* and *P. fluorescens* inoculation on leaf nutrient of sage (*S. officinalis*) under different salinity levels

NaCl (mM)	PBRM inoculation	N (%)	P (%)	K (%)	Na (%)	Cl (%)	K/Na
	P. indica						
0		2.11 b	0.41 a	3.69 a	0.88 h	2.54 f	4.19 b
25		2.07 b	0.29 b	3.46 a	1.18 fg	2.92 f	2.93 c
50		2.09 b	0.20 c	2.93 b	2.49 d	4.13 d	1.18 ef
100		1.90 c	0.14 de	2.63 bc	3.08 b	5.01 c	0.85 f
	P. fluorescens						
0		2.28 a	0.33 b	3.77 a	0.60 i	2.47 f	6.28 a
25		2.07 b	0.20 c	3.69 a	1.42 ef	3.07 ef	2.60 cd
50		2.17 ab	0.14 cd	2.80 b	2.48 d	4.46 cd	1.13 ef
100		1.91 c	0.13 de	2.28 c	2.83 bc	5.97 b	0.80 c
	Control						
0		1.93 c	0.20 c	2.53 bc	1.05 fg	2.77 f	2.41 d
25		1.87 c	0.16 cd	2.35 c	1.56 e	3.81 de	1.51 e
50		1.81 c	0.12 de	0.88 d	2.61 cd	5.68 b	0.34 g
100		1.82 c	0.10 e	0.82 d	3.74 a	7.04 a	0.22 g
NaCl (mM)							
0		2.11	0.31	3.33	0.84	2.58	3.96
25		2.02	0.21	3.17	1.39	3.26	2.28
50		2.00	0.15	2.20	2.53	4.75	0.87
100		1.88	0.12	1.91	3.21	6.01	0.59
PBRM inoculation							
P. indica		2.04	0.26	3.18	1.91	3.65	1.66
P. fluorescens		2.10	0.20	3.14	1.83	3.99	1.71
control		1.86	0.14	1.64	2.24	4.82	0.73
Microorganism (M)		**	**	**	**	**	**
Salinity (S)		**	**	**	**	**	**
M × S		**	**	*	**	**	**

* and ** are significant at $p \leq 0.05$ and $p \leq 0.01$, respectively.
The means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different using Duncan's test ($p<0.05$).

فسفر

مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل شوری و مایه‌زنی با ریزجانداران نشان می‌دهد که صرف‌نظر از کاربرد ریزجانداران، با افزایش غلظت شوری در آب آبیاری میزان فسفر برگ‌ها کاهش یافت. بیش‌ترین میزان فسفر برگ (۰/۴۱ درصد) در شرایط بدون تنش شوری و در گیاهان مایه‌زنی شده با *P. indica* و کم‌ترین میزان فسفر برگ (۰/۱ درصد) در تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و در گیاهان بدون مایه‌زنی مشاهده گردید. در تمام سطوح شوری، گیاهان مایه‌زنی شده از میزان فسفر بیش‌تری نسبت به گیاهان بدون مایه‌زنی برخوردار بودند. هم‌چنین در بالاترین سطح شوری، اختلاف بین گیاهان مایه‌زنی شده و گیاهان شاهد (بدون مایه‌زنی) معنی‌دار نبود (جدول ۴).

پتاسیم

براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، اگرچه با افزایش غلظت شوری میزان پتاسیم برگ‌ها هم در گیاهان مایه‌زنی شده و هم در گیاهان بدون مایه‌زنی کاهش یافت اما کاربرد ریزجانداران در تمام سطوح شوری باعث افزایش میزان پتاسیم برگ نسبت به گیاهان بدون مایه‌زنی گردید. بیش‌ترین میزان پتاسیم برگ (۳/۷۷ درصد) در شرایط بدون تنش شوری و در گیاهان مایه‌زنی شده با *P. fluorescens* مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری با گیاهان مایه‌زنی شده با *P. indica* در شوری‌های صفر و ۲۵ میلی‌مولار و نیز گیاهان مایه‌زنی شده با *P. fluorescens* در شوری ۲۵ میلی‌مولار نداشت. کم‌ترین میزان پتاسیم برگ (۰/۸۲ درصد) نیز در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و در گیاهان بدون مایه‌زنی مشاهده گردید. گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ و باکتری در هیچ‌کدام از سطوح شوری اختلاف معنی‌داری از نظر میزان پتاسیم برگ نداشتند (جدول ۴).

سدیم و کلر

مقایسه میانگین‌های مربوط به اثرات متقابل شوری و کاربرد ریزجانداران نشان می‌دهد اگرچه با افزایش غلظت شوری میزان سدیم و کلر برگ‌ها هم در گیاهان مایه‌زنی شده و هم در گیاهان بدون مایه‌زنی افزایش یافت اما گیاهان مایه‌زنی شده در تمام سطوح شوری از میزان سدیم و کلر کم‌تری نسبت به گیاهان بدون مایه‌زنی برخوردار بودند. در مجموع گیاهان مایه‌زنی شده با *P. fluorescens* از میزان سدیم کم‌تر و گیاهان مایه‌زنی شده با *P. indica* از میزان کلر کم‌تری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بودند (جدول ۴).

نسبت پتاسیم به سدیم

براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، اگرچه با افزایش غلظت شوری در آب آبیاری میزان این نسبت هم در گیاهان مایه‌زنی شده و هم در گیاهان بدون مایه‌زنی کاهش یافت اما گیاهان مایه‌زنی شده در تمام سطوح شوری از نسبت پتاسیم به سدیم بالاتری در مقایسه با گیاهان بدون مایه‌زنی برخوردار بودند (جدول ۴).مشابه نتایج این تحقیق، افزایش غلظت سدیم و کلر و کاهش پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم در گیاه رازیانه (Ashraf and Akhtar, 2004)، افزایش غلظت سدیم و کاهش پتاسیم و فسفر در گیاه نعناع فلفلی (Khalvandi *et al*., 2017b)، کاهش محتوای پتاسیم و افزایش محتوای سدیم در گیاه شمعدانی (Hassanvand *et al*., 2019)، افزایش انباشت یون سدیم و کاهش مقادیر یون‌های پتاسیم، فسفر و نیتروژن و نسبت پتاسیم به سدیم در گیاه کنجد (Khademian *et al*., 2019)، افزایش محتوای سدیم و کاهش غلظت پتاسیم و کلسیم در دو گونه از آویشن (Emami Bistgani *et al*., 2019) تحت شرایط تنش شوری گزارش گردیده است.

شوری ناشی از غلظت بالای یون سدیم می‌تواند باعث مشکلات اسمزی و متابولیکی شده و فعالیت آنزیم‌های مرتبط با جذب و آسیمیلاسیون برخی عناصر غذایی را تغییر دهد (Siddiqui *et al*., 2012). شوری تأثیر منفی بر فعالیت آنزیم‌های H^+-ATP*ase* و نیترات ردوکتاز دارد که منجر به اختلال در هموستازی یونی و آسیمیلاسیون نیتروژن می‌گردد (Yu *et al*., 2016). کاهش جذب یا انتقال نیترات تحت شرایط شوری موجب کاهش غلظت نیترات در برگ‌ها شده و در نتیجه فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز کاهش می‌یابد (Tabatabaei, 2006).

با توجه به مشابه بودن فرآیند جذب فسفر با کلر، افزایش جذب کلر تحت شرایط شوری ناشی از کلرور سدیم می‌تواند باعث کاهش میزان جذب فسفر گردد و بدین ترتیب قابلیت دسترسی گیاه به فسفر کاهش پیدا می‌کند (Jindal *et al*.,1993). افزایش غلظت سدیم باعث برهم زدن هموستازی یونی درون سلولی، اختلال در عملکرد غشاها و تضعیف فعالیت‌های متابولیکی می‌گردد (Hassanvand *et al*., 2019). تجمع یون‌های سدیم در سیتوسول به عنوان یک معضل جدی در نظر گرفته می‌شود که افزون بر کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی، از طریق مهار فعالیت آنزیم روبیسکو در طول چرخه کالوین نیز بر فرآیند فتوسنتز اثر می‌گذارد و در نهایت باعث کاهش تجمع ماده خشک در گیاه می‌گردد (Parida and Das, 2005). از آنجایی که یون‌های سدیم و پتاسیم ساختار فیزیکو-شیمیایی مشابهی دارند و جذب آن‌ها از طریق سیستم‌های انتقالی یکسانی انجام می‌گیرد لذا معمولاً برای جذب مؤثر با یکدیگر رقابت می‌کنند. بنابراین بالابودن مقدار سدیم می‌تواند از جذب پتاسیم ممانعت نموده و منجر به تجمع سمی سدیم و کاهش نسبت پتاسیم به سدیم گردد (Serrano and Rodriguez-Navarro, 2001). میزان جذب و انتقال یون‌های سدیم و پتاسیم در گیاهان تحت تنش شوری در تحمل گیاهان به تنش بسیار مهم است. از این رو بالابودن نسبت پتاسیم به سدیم در گیاهان تحت شرایط شوری به عنوان یکی از معیارهای مهم انتخاب برای تحمل به نمک در نظر گرفته می‌شود (Ashraf, 2002). نتایج این تحقیق هم‌چنین نشان داد که در تمام سطوح شوری، گیاهان مایه‌زنی شده با *P. indica* و *P. fluorescens* از میزان نیتروژن، فسفر، پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم بیش‌تر و مقادیر سدیم و کلر کم‌تری نسبت به گیاهان بدون مایه‌زنی برخوردار بودند. در تحقیق مشابهی، بررسی تأثیر تنش شوری ناشی از کلرور سدیم بر گیاهان کنجد مایه‌زنی شده با قارچ *P. indica* و باکتری *Azospirillum lipoferum* نشان داد که تنش شوری باعث افزایش انباشت یون سدیم و کاهش مقادیر یون‌های پتاسیم، فسفر، نیتروژن و نسبت پتاسیم به سدیم گردید در حالی‌که مایه‌زنی گیاهان با ریزجانداران یادشده موجب کاهش معنی‌دار سدیم و

افزایش پتاسیم، فسفر و نیتروژن گردید. افزایش جذب مواد مغذی در گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ‌های اندوفیتی و باکتری‌های محرک رشد به تولید هورمون‌های گیاهی توسط ریزجانداران در محل اتصال به ریشه نسبت داده شده است که می‌تواند باعث بهبود تشکیل ریشه و در نتیجه جذب بیش‌تر عناصر غذایی و آب از خاک شود (Khademian *et al*., 2019). هم‌چنین مایه‌زنی گیاه نعناع فلفلی با قارچ *P. indica* تحت شرایط شوری، باعث افزایش محتوای فسفر و پتاسیم و کاهش میزان سدیم نسبت به گیاهان بدون مایه‌زنی گردید (Khalvandi *et al*., 2017b). افزایش تحمل به شوری در اثر همزیستی با قارچ‌ها، به جذب انتخابی یون‌ها و کاهش انباشت یون‌های مضر در بافت‌های گیاهی نسبت داده می‌شود. قارچ‌های مفید می‌توانند با انباشت یون‌های سدیم در وزیکول‌ها، در داخل واکوئول سلول‌های ریشه و یا در هیف‌های قارچی داخل ریشه از انتقال یون‌های سدیم از ریشه به شاخساره ممانعت کنند (Evelin *et al*., 2013; Hammer *et al*., 2011). پتاسیم به عنوان یک عنصر ضروری دارای نقش اساسی در فرآیندهای حیاتی گیاه از جمله فتوسنتز، تنظیم اسمزی، فعال سازی آنزیم‌ها و سنتز پروتئین می‌باشد. از این رو حفظ هموستازی سلولی، غلظت بالاتر پتاسیم و نسبت کم‌تر سدیم به پتاسیم در شرایط شوری توسط *P. indica* می‌تواند نقش مهمی در تحمل گیاهان به تنش داشته باشد (Ghorbani *et al*., 2018). هم‌چنین گزارش شده است که قارچ *P. indica* باعث بهبود آسیمیلاسیون نیتروژن و فسفر به‌ترتیب از طریق افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و ناقلین فسفات می‌گردد (Khademian *et al*., 2019).

مایه‌زنی گیاهان ذرت (Nadeem *et al*., 2009) و تربچه (Mohamed and Gomma, 2012) با باکتری *P. fluorescens* تحت شرایط شوری باعث افزایش محتوای عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم در مقایسه با گیاهان بدون مایه‌زنی گردید. ریزجانداران محرک رشد می‌توانند قابلیت گیاه برای جذب عناصر غذایی از خاک را یا با توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه و یا با افزایش قابلیت انحلال عناصر ماکرو بهبود بخشند (Meena *et al*., 2010). در همین راستا، نشان داده شده است که اکسین تولید شده توسط باکتری‌ها باعث توسعه سیستم ریشه‌ای شده و بنابراین به گیاه کمک می‌کند تا سطح بیش‌تری از خاک را برای دسترسی به آب و مواد مغذی مورد کاوش قرار دهد (Egamberdieva *et al*., 2015). هم‌چنین گزارش شده است که باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد قادر به تثبیت نیتروژن و افزایش قابلیت انحلال فسفر هستند (Canbolat *et al*., 2006). بانو و فاتیما (Bano and Fatima, 2008)، نشان دادند که توانایی باکتری *Pseudomonas* در افزایش انحلال‌پذیری فسفر، گیاهان ذرت را در برابر تنش شوری محافظت می‌کند. آن‌ها هم‌چنین اظهار داشتند که افزایش رشد و نمو گیاه ممکن است به قابلیت باکتری *Pseudomonas* برای افزایش جذب عناصر غذایی (نظیر پتاسیم، فسفر و کلسیم) توسط گیاه نسبت داده شود. عناصر غذایی ممکن است به‌واسطه تغییراتی که ریزجانداران با ترشح اسیدهای آلی در pH ریزوسفر ایجاد می‌کنند و یا با کلاته شدن توسط مولکولهای آلی تولید شده توسط ریزجانداران (سیدروفورها) برای گیاه قابل دسترس‌تر گردند (Kasotia *et al*., 2015). به‌علاوه کاهش انباشت یون‌های سدیم می‌تواند به‌واسطه ترشح اگزو پلی ساکاریدها توسط باکتری باشد که در ریشه با کاتیون‌ها (به‌ویژه سدیم) باند شده و در نتیجه مانع انتقال آن به برگ‌ها و کمک به تعدیل اثرات شوری در گیاهان می‌گردد (Ashraf *et al*., 2004). این مطالعات نشان می‌دهند که باکتری‌های محرک رشد می‌توانند اثرات تنش شوری بر گیاهان را با افزایش فراهمی زیستی عناصر غذایی و یا با افزایش جذب آن‌ها توسط گیاه تعدیل نمایند.

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج این تحقیق، تنش شوری ناشی از کلرور سدیم از طریق کاهش جذب آب و عناصر غذایی مورد نیاز گیاه، کاهش کلروفیل و افزایش انباشت یون‌های سدیم و کلر باعث کاهش رشد، عملکرد و میزان اسانس گیاه مریم‌گلی شد در حالی‌که مایه‌زنی با قارچ *P. indica* و باکتری *P. fluorescens* با بهبود جذب آب و عناصر غذایی، حفظ مقادیر کلروفیل، کاهش انباشت یون‌های سدیم و کلر و افزایش نسبت پتاسیم به سدیم باعث افزایش رشد، عملکرد و سنتز اسانس گیاه تحت شرایط شوری گردید. بر اساس یافته‌های این تحقیق می‌توان از رابطه همزیستی ریزجانداران محرک رشد برای بهبود رشد، عملکرد و تولید اسانس گیاه مریم‌گلی تحت شرایط شوری خاک و آب بهره برد.

Refrences

Ashraf M. 2002. Salt tolerance of cotton: some new advances. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21: 1-30.

Ashraf M., and Akhtar N. 2004. Influence of salt stress on growth, ion accumulation and seed oil content in sweet fennel. *Biologia Plantarum*, 48(3): 461-464.

Ashraf M., Hasnain S., Berge O., and Mahmood T. 2004. Inoculating wheat seedling with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. *Biology and Fertility of Soils*, 40(3):157-162.

Aziz E.E., Al-Amier H., and Craker L.E. 2008. Influence of salt stress on growth and essential oil production in peppermint, pennyroyal, and apple mint. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 14: 77-87.

Baltruschat H., Fodor J., Harrach B.D., Niemczyk E., Barna B., Gullner G., Janeczko A., Kogel K.H., Schäfer P., Schwarczinger I., Zuccaro A., and Skoczowski A. 2008. Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. *New Phytologist*, 180: 501-510.

Bano A., Fatima M. 2009. Salt tolerance in *Zea mays* (L.) following inoculation with *Rhizobium* and *Pseudomonas*. *Biology and Fertility of Soils*, 45(4): 405-413.

Barin M., Rasouli-Sadaghiani R.H., Ashrafi-Saeidlou, S., and Shakouri F. 2019. Effects of salinity and microbial inoculation on the yield and phosphorous efficiency indicators of corn. *Applied Soil Research*, 7(1): 148-165. (In Persian)

Bazyar M., Bandehagh A., and Farajzadeh D. 2017. Effect of inoculation of *Pseudomonas fluorescens* FY32 bacteria to reduce the effects of salinity on canola (*Brassica napus* L.). *Journal of Crop Production*, 9(4): 201-220.

Ben Taarit M., Msaada K., Hosni K., Hammami M., Kchouk M.E., and Marzouk B. 2009. Plant growth, essential oil yield and composition of sage (*Salvia officinalis* L.) fruits cultivated under salt stress conditions. *Industrial Crops and Products*, 30: 333-337.

Bharti N., Barnawal D., Awasthi A., Yadav A., and Kalra A. 2014. Plant growth promoting rhizobacteria alleviate salinity induced negative effects on growth, oil content and physiological status in *Mentha arvensis*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 36: 45-60.

Canbolat M.Y., Bilen S., Çakmakçı R., Şahin F., and Aydin A. 2006. Effect of plant growth promoting bacteria and soil compaction on barley seedling growth, nutrient uptake, soil properties and rhizosphere microflora. *Biology and Fertility of Soils*, 42(4):350-357.

Chrysargyris A., Michailidi E., and Tzortzakis N. 2018. Physiological and biochemical responses of *L*avandula *angustifolia* to salinity under mineral foliar application. *Frontiers in Plant Science*, 489: 1-23.

Coban O., and Baydar N.G. 2016. Brassinosteroid effects on some physical and biochemical properties and secondary metabolite accumulation in peppermint (*Mentha piperita* L.) under salt stress. *Industrial Crops and Products*, 86: 251-258.

Cotteni A. 1980. Methods of plant analysis. In: Westerman R.L. (Ed.), Soil and Plant Testing. FAO Soil Bulletin, pp. 64-100.

Dehghani Bidgoli R., Azarnezhad N., Akhbari M., and Ghorbani M. 2019. Salinity stress and PGPR effects on essential oil changes in *Rosmarinus officinalis* L. *Agriculture and Food Security*, 8: 1-7.

Egamberdieva D., Jabborova D., and Hashem A. 2015. *Pseudomonas* induces salinity tolerance in cotton (*Gossypium hirsutum*) and resistance to *Fusarium* root rot through the modulation of indole-3-acetic acid. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22: 773-779.

El-Keltawi N.E., and Croteau R., 1987. Salinity depression of growth and essential oil formation in spearmint and marjoram and its reversal by foliar applied cytokinin. *Phytochemistry*, 26: 1333-1334.

Emami Bistgani Z., Hashemi M., DaCosta M., Craker L., Maggi F., and Morshedloo M.R. 2019. Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak. *Industrial Crops and Products*, 135: 311–320.

Emami A. 1996. Plant Analysis Methods. No. 982. Vol. 1. *Soil and Water Research Institute Publication*, Tehran. (In Persian)

Evelin H., Kapoor R., and Giri B. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: A review. *Annals of Botany*, 104(7): 1263-1280.

Evelin H., Giri B., and Kapoor R. 2013. Ultrastructural evidence for AMF mediated salt stress mitigation in *Trigonella foenum-graecum*. *Mycorrhiza*, 23: 71-86.

Ghorbani A., Razavi S.M., Omran V.O.G., and Pirdashti H. 2018. *Piriformospora indica* alleviates salinity by boosting redox poise and antioxidative potential of tomato. *Russian Journal of Plant Physiology*, 65(6):898-907.

Ghorbanpour M., Hosseini N., Khodae Motlagh M., and Solgi M. 2014. The effects of inoculation with *Pseudomonads* rhizobacteria on growth, quantity and quality of essential oils in Sage (*Salvia officinalis* L.) plant. *Journal of Medicinal Plants*, 13(52): 89-100. (In Persian)

Hammer E.C., Nasr H., Pallon J., Olsson P.A., and Wallander H. 2011. Elemental composition of arbuscular mycorrhizal fungi at high salinity. *Mycorrhiza*, 21: 117-129.

Hasnain S., and Sabri A.N. 1996. Growth stimulation of *Triticum aestivum* seedlings under Cr-stress by nonrhizospheric *Pseudomonas* strains. In: Abstract book of 7th International Symposium on Nitrogen Fixation with Non-Legumes. Faisalabad, Pakistan, pp- 36.

Hassanvanda H., Rezaei Nejada A., Fanourakisb D. 2019. Morphological and physiological components mediating the silicon-induced enhancement of geranium essential oil yield under saline conditions. *Industrial Crops and Products*, 134: 19-25.

Heidari Sharif Abad H. 2011. Plants and salinity. *Research Institute of Forests and Rangelands Publications*, Tehran, 199 p. (In Persian)

Isayenkov S.V. 2012. Physiological and molecular aspects of salt stress in plants. *Cytology and Genetics*, 46(5): 302-318.

Jindal V., Atwal A., and Singh R. 1993. Effect of Vesicular-arbuscular mycorrhizae on metabolism of moong plant under NaCl salinity. *Plant Physiology*, 31: 475-481.

Jogawat A., Saha S., Bakshi M., Dayaman V., Kumar M., Dua M., Varma A., Oelmüller R., Tuteja N., and Johri A.K. 2013. *Piriformospora indica* rescues growth diminution of rice seedlings during high salt stress. *Plant Signaling and Behavior*, 8(10): e26891.

Johnson J.M., and Ulrich A. 1975. Analytical methods for use in plant analysis. Bulletin 766. Berkeley: University of California, Agricultural Experiment Station, pp. 26-78.

Kadian N., Yadav K., Badda N., and Aggarwal A. 2013. AM fungi ameliorates growth, yield and nutrient uptake in *Cicer arietinum* L. under salt stress. *Russian Agricultural Sciences*, 39: 321-329.

Käfer E. 1977. Meiotic and mitotic recombination in *Aspergillus* and its chromosomal aberrations. *Advanced Genetics*, 19:33-131.

Kasotia A., Varma A., and Choudhary D.K. 2015. *Pseudomonas*-mediated mitigation of salt stress and growth promotion in *Glycine max*. *Agricultural Research*, 4(1): 31-41.

Khademian R., Asghari B., Sedaghati B., and Yaghoubian Y. 2019. Plant beneficial rhizospheric microorganisms (PBRMs) mitigate deleterious effects of salinity in sesame (*Sesamum indicum* L.): Physio-biochemical properties, fatty acids composition and secondary metabolites content. *Industrial Crops and Products*, 136: 129-139.

Khalvandi M., Amerian M., Pirdashti H., Baradaran M., and Golami A. 2017a. *Piriformospora indica* symbiotic effect on the quantity and quality of essential oils and some physiological parameters of peppermint (*Mentha piperita*) under salt stress. *Journal of Plant Process and Function*, 6(21): 169-184. (In Persian)

Khalvandi M., Amerian M., Pirdashti H., Baradaran M., and Golami A. 2017b. Effects of *Piriformospora indica* fungi symbiotic on the quantity of essential oil and some physiological parameters of peppermint in saline conditions. *Iranian Journal of Plant Biology*, 32:1-19. (In Persian)

Khalvandi M., Amerian M., Pirdashti H., Keramati S., and Hosseini J. 2019. Essential oil of peppermint in symbiotic relationship with *Piriformospora indica* and methyl jasmonate application under saline condition. *Industrial Crops and Products*, 127: 195-202.

Khorsandi O., Hassani A., Sefidkon F., Shirzad H., and Khorsandi A.R. 2010. Effect of salinity (NaCl) on growth, yield, essential oil content and composition of *Agastache foeniculum* Kuntz. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plant*, 26(3): 438-451. (In Persian)

Kohler J., Hernández J.A., Fuensanta Caravaca F., and Roldan A. 2009. Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 65: 245–252.

Kulak M., Gul F., and Sekeroglu N. 2020. Changes in growth parameter and essential oil composition of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves in response to various salt stresses. *Industrial Crops and Products*, 145: 112078.

McMillen B.G., Juniper S., and Abbott L.K. 1998. Inhibition of hyphal growth of a Vesicular arbuscular mycorrhizal fungus in soil containing sodium chloride limits the spread of infection from spores. *Soil Biology and Biochemistry*, 30(13): 1639-1646.

Meena K.K., Mesapogu S., Kumar M., Yandigeri M.S., Singh G., and Saxena A.K. 2010. Co-inoculation of the endophytic fungus *Piriformospora indica* with the phosphate-solubilising bacterium *Pseudomonas striata* affects population dynamics and plant growth in chickpea. *Biology and Fertility of Soils*, 46(2): 169-174.

Meena V.S., Meena S.K., Verma J.P., Kumar A., Aeron A., Mishra P.K., Bisht J.K., Pattanayak A., Naveed M., and Dotaniya M.L. 2017. Plant beneficial rhizospheric microorganism (PBRM) strategies to improve nutrients use efficiency: a review. *Ecological Engineering*, 107: 8–32.

Mohamed H.I., and Gomma E.Z. 2012. Effect of plant growth promoting *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* on growth and pigment composition of radish plants (*Raphanus sativus*) under NaCl stress. *Photosynthetica*, 50(2): 263-272.

Mulvaney R.L. 1996. Nitrogen-inorganic forms. In: Sparks D.L. (Ed.). Methods of Soil Analysis-Part 3. Chemical Methods—SSSA Book Series No. 5. *Soil Science Society of America and American Society of Agronomy*, Madison, pp. 1123–1184.

Munns R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environment*, 25: 239-250.

Nadeem S.M., Zahir Z.A., Naveed M., and Arshad M. 2009. Rhizobacteria containing ACC-deaminase confer salt tolerance in maize grown on salt-affected fields. *Canadian Journal of Microbiology*, 55(11): 1302-1309.

Parida A.K., Das A.B., and Mittra B. 2004. Effects of salt on growth, ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove. *Trees*, 18(2): 167-174.

Parida A.K., and Das A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology* and *Environmental Safety*, 60: 324-349.

Philips J., and Hayman D. 1970. Improved procedures for cleaning roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55(1): 158-161.

Raal A., Orav A., and Arak E. 2007. Composition of the essential oil of *Salvia officinalis* L. from various European countries. *Natural Product Research*, 21: 406-411.

Rajkumar M., Bruno L.B., and Banu J.R. 2017. Alleviation of environmental stress in plants: the role of beneficial *Pseudomonas* spp. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 47(6): 372-407.

Rasouli-Sadaghiani R.H., Barin M., Ashrafi-Saeidlou, S., and Shakouri F. 2019. Effects of phosphate-solubilizing microorganisms and mycorrhizal fungi on the growth parameters of corn (*Zea Mays* L.) under salinity condition. *Applied Soil Research*, 7(3): 25-39. (In Persian)

Reyes-Castillo A., Gerding M., Oyarzúa P., Zagal E., Gerding J., and Fischer S. 2017. Plant growth-promoting rhizobacteria able to improve NPK availability: selection, identification and effects on tomato growth. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 79(3): 473-485.

Saberi-Riseh R., Fathi F., and Moradzadeh-Eskandari M. 2020. Effect of some *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* strains on osmolytes and antioxidants of cucumber under salinity stress. *Journal of Crop Protection*, 9(1): 1-16.

Santos C.V. 2004. Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. *Scientia Horticulturae*, 103: 93-99.

Selmar, D. 2008. Potential of salt and drought stress to increase pharmaceutical significant secondary compounds in plants. *Agriculture and Forest Research*, 58: 139-144.

Serrano R., and Rodriguez-Navarr A. 2001. Ion homeostasis during salt stress in plants. *Current Opinion in Cell Biology*,13: 399-404.

Siddiqui M.N., Mohammad F., Khan, M.M.A., and Al-Whaibi M.H. 2012. Cumulative effect of nitrogen and sulphur on *Brassica juncea* L. genotypes under NaCl stress. *Protoplasma*, 249: 139-153.

Sirrenberg A., Göbel C., Grond S., Czempinski N., Ratzinger A., Karlovsky P., Santos P., Feussner I., and Pawlowski K. 2007. *Piriformospora indica* affects plant growth by auxin production. *Physiologia Plantarum*, 131: 581–589.

Tabatabaei S.J. 2006. Effect of salinity and N on the growth photosynthesis and N status of oliv (*Olea europaea* L.) trees. *Scientia Horticulturae*, 108(4): 432-438.

Turner N.C. 1981. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant and Soil*, 58: 339-366.

Weiss M., Selosse M.A., Rexer K.H., Urban A., and Oberwinkler F. 2004. Sebacinales: a hitherto overlooked cosm of heterobasidiomycetes with a broad mycorrhizal potential. *Mycological Research*, 108: 1003-1010.

Yang J.W., Kloepper J.W., and Ryu C.M. 2008. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in Plant Science*, 14: 1-4.

Yasar F., Ellialtioglu S., and Yildiz K. 2008. Effect of salt stress on antioxidant defense systems, lipid peroxidation, and chlorophyll content in green bean. *Russian Journal of Plant Physiology*, 55(6): 869-873.

Yu Y., Xu T., Li X., Tang J., Ma D., Li Z., and Sun J. 2016. NaCl-induced changes of ion homeostasis and nitrogen metabolism in two sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) cultivars exhibit different salt tolerance at adventitious root stage. *Environmental and Experimental Botany*, 129: 23-36.

Yun P., Xu L., Wang S., Shabala L., Shabala S., and Zhang W.Y. 2018. *Piriformospora indica* improves salinity stress tolerance in *Zea mays* L. plants by regulating Na^+ and K^+ loading in root and allocating K^+ in shoot. *Plant Growth Regulation*, 86(2): 323-331.

Zarea M.J., Hajinia S., Karimi N., Mohammadi G.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 J.K. 2001. Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science*, 6(2): 66-71.

Effect of Plant Growth-Promoting Microorganisms Inoculation on some Growth and Physiological Parameters and Nutrients Content of Sage (*Salvia officinalis*) Under Salinity Stress Conditions

Zahra Aslani[1], Abbas Hassani[2]*, Babak Abdollahi Mandoulakani[3], Mohsen Barin[4] , Ramin Maleki[5]

(Received: August 2020 Accepted: November 2020)

Abstract

To evaluate the effect of *Piriformospora indica* and *Pseudomonas fluorescens* inoculation on some growth and physiological parameters and nutrient acquisition of sage (*Salvia officinalis*) under salt stress conditions, a pot experiment was conducted in factorial based on randomized complete blocks design with three replications. The treatments included inoculation with microorganisms at three levels (non-inoculation and inoculation with *P. indica* and *P. fluorescens*) and salinity stress at four levels (0, 25, 50 and 100 mM of NaCl). The results showed that salinity stress and inoculation with microorganisms had significant effect on the measured parameters, so that by increasing salinity concentration, percentage of root colonization by *P. indica*, growth paramaters, leaf relative water content (RWC), chlorophyll index (SPAD), essential oil conten and yield, N, P and K content and K/Na ratio decreased while Na and Cl content increased. The amounts of all evaluated parameters in fungi and rhizobacteria inoculation were more than non-inoculation treatments except for Na and Cl content. The highest and lowest of dry herb yield (29.61 and 13.51 g pot^{-1}), RWC (82.45 and 54.83%), chlorophyll content (35.36 and 26.1), essential oil content (2.02 and 1.37%), essential oil yield (0.049 and 0.017 ml $plant^{-1}$) and P content (0.41 and 0.10%) were observed in non-stress conditions+ *P. indica* inoculated plants and 100 mM salinity+ non-inoculated plants, respectively. Overall, the findings of this study showed that plant growth-promoting microorganisms inoculation can ameliorate the adverse effects of salinity stress on growth, yield and essential oil production in sage by maintaining chlorophyll content and improving water and nutrient uptake.

Keywords: Essential oil, Plant growth-promoting bacteria, Salt stress, Symbiotic fungus, Nutrients elements

Aslani Z., Hassani A., Abdollahi Mandoulakani B., Barin M. and Maleki R. 2021. Effect of plant growth-promoting microorganisms inoculation on some growth and physiological parameters and nutrients content of sage (*Salvia officinalis*) under salinity stress conditions. *Applied Soil Research*,9(3): 104-122.

1. Ph.D. Student, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Iran
2. Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Iran
3. Associate Professor, Department of Plant Production and Genetic, Faculty of Agriculture, Urmia University, Iran
4. Assistant Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Iran
5. Assistant Professor, Research Department of Chromatography, Iranian Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Urmia, Iran
* Corresponding Author Email: a.hassani@urmia.ac.ir