



Investigation of the Effect of Biofertilizers on Morphophysiological and Biochemical Traits in Garden Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Under Salinity Stress

Sayedeh Zahra Mousavi Gheidari¹, Raheleh Khademian², Sudabeh Mafakheri^{3*} 

1MSc graduated. Department of Genetic and plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources. Imam Khomeini International University, Qazvin. Iran. Email: zahramousaviq67@yahoo.com

2Department of Genetic and plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources. Imam Khomeini International University, Qazvin. Iran. Email: r.khademian@eng.ikiu.ac.ir

3Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources. Imam Khomeini International University, Qazvin. Iran. Email: mafakheri@ikiu.ac.ir

Article type: Abstract

Research article

To investigate the effect of symbiotic microorganisms in modulating or reducing the negative effects of salinity stress on garden thyme (*Thymus vulgaris* L.), a greenhouse experiment was conducted in a factorial design with three replications at the Imam Khomeini International University. In this study, the effects of coexistence of *Trichoderma harzianum* fungus, *Rhizobium lantis* bacteria, and a mixture of fungus and bacteria at three salinity levels (0, 50, and 100 mM) on morphophysiological and biochemical characteristics of garden thyme were evaluated. Morphological traits assessed included root length, stem length, and wet and dry weights of roots and stems. Also, physiological and biochemical traits such as malondialdehyde content, electrolyte leakage, enzymatic antioxidants such as catalase and peroxidase, non-enzymatic antioxidants such as proline, total phenol and flavonoid content, as well as DPPH free radical scavenging activity, were evaluated. The results showed that salinity stress significantly reduced root and stem length and wet and dry weights of roots and stems in garden thyme. Furthermore, oxidative stress induced by salinity increased the activity of antioxidant enzymes (catalase and peroxidase) and total phenol and flavonoid content. On the other hand, treatment with *T. harzianum* fungus and *R. lantis* bacterium alleviated the negative effects of increased salinity concentration by improving the measured traits, including increased activity of antioxidant enzymes, decreased lipid peroxidation (MDA), and reduction in secondary metabolites, thereby reducing cell damage and promoting plant growth. In most cases, the simultaneous application of fungus and bacteria had a greater effect on the studied traits than the individual use of these symbiotic microorganisms.

Article history

Received:

2024-4-27

Revised:

2024-6-20

Accepted:

2024-7-5

Keywords

Azotobacter

Thyme

Salinity Stress

Symbiotic Fungus

Medicinal Plant


Cite this article as: Mousavi Gheidari, S.Z., Khademian, R., Mafakheri, S. (2024). Investigation of the Effect of Biofertilizers on Morphophysiological and Biochemical Traits in Garden Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Under Salinity Stress. *Eco-phytochemical of Medicinal Plants.*, 12(2): 75-96.



©The author(s)

Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch

بررسی تاثیر بیوالیسیستورها بر صفات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) تحت تنش شوری

سیده زهرا موسوی قیداری^۱، راحله خادمیان^۲، سودابه مفاخری^{۳*} 

^۱ گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران، رایانامه: zahramousaviq67@yahoo.com

^۲ گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران، رایانامه: r.khademian@eng.ikiu.ac.ir

^۳ گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران، رایانامه: mafakheri@ikiu.ac.ir

نوع مقاله:

چکیده

مقاله پژوهشی

به منظور بررسی تاثیر میکروارگانیسم‌های همزیست در تعدیل و یا کاهش اثرات منفی تنش شوری روی گیاه آویشن (*Thymus vulgaris* L.)، آزمایشی گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی با سه تکرار در دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) اجرا شد. در این پژوهش، اثر همزیستی قارچ *Trichoderma harzianum* و باکتری *Rhizobium lantis* و مخلوط قارچ و باکتری در سه سطح شوری (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار) روی صفات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه آویشن باغی، ارزیابی گردید. صفات مورفولوژیکی مورد ارزیابی شامل طول ریشه، طول ساقه و وزن تر و خشک ریشه و ساقه بود. همچنین، صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی از جمله میزان مالون دی آلدئید، نشت الکترولیت، آنتی اکسیدانت‌های آنزیمی مانند کاتالاز و پراکسیداز و آنتی اکسیدانت‌های غیر آنزیمی مانند پرولین، محتوای فنل و فلاونوئید کل و نیز قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد، تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار صفات طول ریشه و ساقه، وزن تر و خشک ریشه و وزن تر و خشک ساقه در گیاه آویشن شد. همچنین تنش اکسیداتیو ناشی از شوری باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی (کاتالاز و پراکسیداز) و محتوای فنول و فلاونوئید کل گردید. از سوی دیگر، تیمار قارچ *T. harzianum* و باکتری *R. lantis* اثرات منفی ناشی از افزایش غلظت شوری را با بهبود صفات اندازه‌گیری شده، از جمله افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی، کاهش پراکسیداسیون لیپیدی غشا (MDA)، و افزایش متابولیت‌های ثانویه کاهش داده و با کاهش آسیب سلول، باعث افزایش رشد رویشی گیاه شد. در اکثر موارد، تأثیر کاربرد همزمان قارچ و باکتری روی صفات مورد مطالعه بیش از استفاده انفرادی از این میکروارگانیسم‌های همزیست بوده است.

تاریخ ارسال: ۱۴۰۳/۰۲/۰۸

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۳/۳۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۱۵

واژه‌های کلیدی:

ازتوباکتر
آویشن
تنش شوری
قارچ همزیست
گیاه دارویی

استناد: موسوی قیداری، سیده زهرا؛ خادمیان، راحله؛ مفاخری، سودابه (۱۴۰۳). بررسی تاثیر بیوالیسیستورها بر صفات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) تحت تنش شوری. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۱۲ (۲)، ۷۵-۹۶.

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان

© نویسنده‌گان.



مقدمه

آویشن باغی، از قدیمی‌ترین و شناخته شده‌ترین گیاهان دارویی و ادویه‌ای خانواده Lamiaceae است. در ایران ۱۸ گونه آویشن شناسایی شده که تعدادی از این گونه‌ها، انحصاری هستند (Zarshenas et al., 2015). آویشن حاوی متابولیت‌های ثانویه متعدد از گروه ترکیبات فنلی، ترپنوئیدها، فلاونوئیدها، استروئیدها، آلکالوئیدها، تانن‌ها و ساپونین‌ها است (Patil et al., 2021). از این گیاه دارویی در طب سنتی به عنوان هضم کننده غذا، خلط آور، ضد نفخ، رفع کننده التهابات حنجره، ضداسپاسم و ضد برونشیت استفاده می‌شود (Miraj and Kiani, 2016) اسانس آن خاصیت ضدباکتریایی و آنتی اکسیدانتی دارد و در صنایع غذایی، بهداشتی و آرایشی کاربرد دارد (Manconi et al., 2018).

تنش شوری، دومین عامل محیطی فراگیر و محدودکننده تولیدات کشاورزی در مناطق خشک و نیمه خشک دنیا است که سطح قابل توجهی از زمین‌های کشاورزی ایران را نیز فرا گرفته است (Abdelshafy Mohamad et al., 2020). از جمله صدمات ناشی از تنش شوری، می‌توان به آسیب به غشاء سلولی، عدم تعادل عناصر غذایی و کاهش فعالیت‌های فتوسنتزی اشاره کرد (Ashrafi et al., 2022). با این وجود، اثرات تنش شوری در گیاهان به غلظت و ترکیب نمک، مدت زمان قرارگیری در معرض تنش، ژنوتیپ گیاه، مرحله فیزیولوژیک رشد گیاه و سایر فاکتورهای محیطی، بستگی دارد. گیاهان سازگار، از مکانیسم‌های متفاوتی جهت تحمل شوری استفاده می‌کنند که از آن جمله می‌توان به تغییر در الگوی بیان ژن، حفظ پایداری یونی، تجمع مواد محلول نظیر پرولین، حفظ آب در داخل سلول، ترمیم و کنترل آسیب‌های حاصل از تنش مانند حذف

رادیکال‌های آزاد اکسیژن، تخریب پروتئین‌های آسیب دیده، تنظیمات رشدی مانند افزایش نسبت ریشه به شاخساره و یا کاهش سطح برگ اشاره نمود (Arpanahi et al., 2020). شوری به ویژه در غلظت‌های بالاتر از آستانه تحمل، باعث کاهش رشد از طریق تغییر در شرایط اسمزی، سمیت یونی و به دنبال آن تولید گونه‌های واکنش گر اکسیژن از قبیل پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های سوپراکسید و هیدروکسیل می‌شود. علاوه بر این، تنش شوری در غلظت‌های بالا بر غشای یاخته اثر می‌گذارد و منجر به پراکسیده شدن لیپیدها و تولید ماده مالون‌دی‌آلدئید می‌شود. جهت مقابله با این نوع اختلالات، گیاهان از طریق سازوکارهای محافظتی ویژه‌ای از قبیل متابولیت‌های غیر آنزیمی و نیز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مانند پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز باعث کاهش اثرات ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. افزایش تولید و آزاد شدن گونه‌های فعال اکسیژن موجب پراکسیداسیون چربی‌ها و پروتئین‌های غشاهای سلولی می‌شود و به این ترتیب غشاها سلامت خود را از دست می‌دهند، در نتیجه میزان نشت الکترولیت‌ها از سلول افزایش می‌یابد. سیستم‌های آنتی‌اکسیدانت از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در طی مراحل رشد و نمو گیاه جلوگیری می‌کنند (Bistgani et al., 2019). یکی از راه‌کارهای مقابله با شوری بالا، استفاده از میکروارگانیزم‌های مفید است که از طریق مکانیسم‌های مختلف، به صورت مستقیم و غیرمستقیم تاثیر می‌گذارند (Heydari and Pirzad, 2021). دانش دقیق از فعل و انفعالات بین میکروارگانیزم‌های مفید و گیاهان تحت تنش شوری، محدود است، لذا بررسی نقش آنها در مدیریت تنش‌های زنده و غیرزنده برای کاهش تاثیر منفی تنش شوری، اهمیت پیدا می‌کند

همزیستی میکروارگانیسم‌های مفید با گیاهان دارویی، یکی از موضوعات مهم در زمینه کشاورزی است. این میکروارگانیسم‌ها می‌توانند به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم بر صفات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان تأثیر بگذارند و باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه از جمله ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در گیاه گردند که خود باعث افزایش خواص ضد اکسیدانی و ضد التهابی گیاه می‌شوند و همین امر، باعث کاهش تولید رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از تخریب دیواره سلولی می‌شود (Bistgani et al., 2019).

با توجه به بررسی‌های صورت گرفته، مطالعات محدودی در خصوص بررسی تأثیر میکروارگانیسم‌های مفید خاکزی بر کاهش آسیب ناشی از تنش شوری در گیاهان دارویی انجام گرفته است. به همین دلیل، هدف از اجرای این تحقیق بررسی میزان تأثیر میکروارگانیسم‌های همزیست در کاهش اثرات تنش شوری در گیاه آویشن باغی است.

مواد و روش‌ها

کشت و اعمال تیمارهای آزمایش: این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار به صورت گلخانه‌ای انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل تنش شوری در سه سطح (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl) و تیمار میکروارگانیسم‌های همزیست در چهار سطح (قارچ *Trichoderma harzianum* باکتری *Rhizobium lantis* مخلوط قارچ و باکتری (Mix) و شاهد (بدون میکروارگانیسم)) بود. به این منظور، ابتدا خاک لومی رسی از افق سطحی (از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری) مزرعه تحقیقاتی دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، تهیه شد و با ماسه به نسبت ۳ به ۱ مخلوط گردید. به منظور جلوگیری از تأثیر ناخواسته سایر

(Miransari et al., 2021). اندوفیت‌ها^۱ از جمله میکروارگانیسم‌های خاکزی هستند که بدون آسیب رساندن و ایجاد بیماری، در داخل بافت‌های گیاهی زندگی می‌کنند و در بسیاری از موارد با تامین فیتوهورمون‌ها، تثبیت نیتروژن و تامین مواد مغذی مانند آهن محلول، پتاسیم و فسفات به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم عملکرد گیاه را در شرایط تنش، بهبود می‌بخشند (Wu et al., 2021). از جمله اندوفیت‌های مهم، می‌توان به باکتری‌های ریزوبیا^۲ اشاره کرد که نقش مهمی در تثبیت نیتروژن هوا دارند و در بسیاری از موارد سبب افزایش میزان تولید محصول می‌شوند. این باکتری‌ها ساختارهایی به نام گرهک، ایجاد می‌کنند که می‌تواند سالانه چند صد تن نیتروژن در هکتار تثبیت کنند. بخش عمده‌ای از این نیتروژن پس از مرگ گیاه، به خاک بر می‌گردد و نیاز گیاه را در سال آتی زراعی به میزان زیادی کاهش می‌دهد. استفاده از تکنیک‌های زراعی به‌منظور تقویت این میکروارگانیسم‌ها و میزان نیتروژن تثبیت شده توسط آن‌ها، می‌تواند گام مهمی در بهبود رشد و میزان محصول باشد (Lindstrom and Mousavi, 2020).

گونه‌های قارچ تریکودرما^۳ نیز از جمله میکروارگانیسم‌های مفید قابل کشت هستند که تقریباً در همه خاک‌ها حضور دارند، بنابراین به آسانی تکثیر شده و به عنوان یکی از منابع میکروارگانیسمی به منظور بهبود رشد گیاهان مورد توجه قرار گرفته است، به طوری‌که امروزه از قارچ تریکودرما به منظور کنترل بیولوژیک عوامل بیماری‌زای خاکزی، افزایش جذب عناصر غذایی، دفع مسمومیت و افزایش انتقال قند و اسید آمینه در ریشه گیاهان و ایجاد مقاومت القایی در برابر تنش‌های محیطی از جمله شوری، استفاده می‌شود (Li et al., 2022).

¹ Endophytes

² Rhizobia

³ Trichoderma

به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۲ درجه انجام گرفت.

صفات بیوشیمیایی: برای استخراج آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ۵۰۰ میلی‌گرم از نمونه‌های برگ تازه با استفاده از هاون سرد و نیتروژن مایع پودر شدند و سپس در ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سرد (pH 7.5) حاوی ۰/۵ میلی‌مولار EDTA) حل گردیدند. محلول‌های به دست آمده در میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ، محلول رویی به سه قسمت تقسیم شده و تا زمان اندازه‌گیری آنزیم‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Sairam et al., 2002).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز مطابق با روش Bergmeyer و همکاران (۱۹۷۴) انجام شد. محلول واکنش شامل ۱۵۰۰ میکرولیتر از بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۵۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۷,۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی بود و با افزودن ۹۵۰ میکرولیتر آب مقطر به حجم ۳ میلی‌لیتر رسید. واکنش با افزودن پراکسید هیدروژن شروع شده و کاهش جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه ثبت گردید. فعالیت آنزیم از محاسبه میزان پراکسید هیدروژن تجزیه شده محاسبه شد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز براساس روش Tang و Newton (۲۰۰۵) تعیین گردید. محلول واکنش به حجم ۳ میلی‌لیتر شامل ۹۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۲۵۰ میکرولیتر EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، ۹۰۰ میکرولیتر گایاکول ۵ میلی‌مولار، ۹۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر محلول آنزیمی تهیه شد. واکنش با افزودن محلول آنزیمی آغاز شد و افزایش جذب در طول

میکروارگانیسم‌های موجود در خاک، مخلوط خاک و ماسه در دستگاه اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد استریل شد. مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک آزمایشی، در جدول ۱ آمده است. برای کشت گیاه از گلدان‌های پلاستیکی با گنجایش ۵ لیتر استفاده گردید. بذر آویشن باغی و قارچ مورد استفاده در این تحقیق (*Trichoderma harzianum*)، از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. به منظور اعمال تیمار قارچ تریکودرما، از ۴۰ میلی‌لیتر مایه تلقیح قارچی حاوی 10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر، قبل از کشت بذور در عمق ۱ سانتی‌متری خاک گلدان استفاده شد و بلافاصله بذرها روی بستر قارچ، کشت گردید. باکتری مورد استفاده در این تحقیق *Rhizobium lantis* بود که از شرکت فن‌آوری زیستی طبیعت گرا (بایوران) تهیه شد. یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری مورد نظر حاوی 10^8 سلول بود. تیمار باکتری به صورت تلقیح بذری انجام گرفت به این صورت که بذر آویشن باغی، به مدت ۳۰ دقیقه با سوسپانسیون باکتری در انکوباتور با دور ملایم شیک گردید. سپس بذور از سوسپانسیون باکتری خارج و روی کاغذ صافی استریل خشک شد و سپس، کشت گردید. در تیمار مخلوط قارچ و باکتری ترکیب دو روش ذکر شده استفاده شد. اعمال تنش شوری در خاک با استفاده از محلول نمک کلرید سدیم با غلظت‌های صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار انجام شد. برای تهیه این محلول‌ها از آب دو بار تقطیر استفاده شد. گیاهان شاهد با آب مقطر آبیاری شدند.

اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی: در مرحله کامل شدن رشد رویشی گیاه، برخی از صفات مورفولوژیکی شامل تعداد برگ در بوته، ارتفاع بوته، وزن تر برگ، وزن خشک برگ، وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه اندازه‌گیری شد. خشک کردن نمونه‌ها

موج ۷۰ نانومتر به مدت یک دقیقه ثبت شد. محتوای پرولین برگ‌های گیاه آویشن مطابق با روش نین‌هیدرین اسید ارائه شده توسط Bates و همکاران (۱۹۷۳) استخراج و اندازه‌گیری شد. ۰/۲ گرم از برگ‌های خرد شده گیاه با ۵ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد سولفوسالیسیلیک اسید مخلوط گردید. به ۲ میلی‌لیتر از عصاره پس از سانتریفیوژ ۱۵ دقیقه‌ای با سرعت ۱۵۰۰۰ دور بر دقیقه، ۲ میلی‌لیتر محلول نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک اضافه شد و به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از سرد شدن محلول، ۴ میلی‌لیتر تولوئن به آن اضافه شد و پس از استخراج، میزان جذب نمونه در ۵۲۰ نانومتر خوانده شد و نتایج براساس میکروگرم در گرم وزن تازه ثبت شد.

برای اندازه‌گیری مالون دی‌آلدهید (MDA)، ۵۰۰ میلی‌گرم از نمونه‌های برگ‌گی در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ درصد تری‌کلرواستیک اسید هموژنیزه شد و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. ۲ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۴ میلی‌لیتر محلول ۲۰ درصد تری‌کلرواستیک اسید حاوی ۰/۵ درصد تیوباربتوریک اسید مخلوط شد. مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد و پس از آن، به سرعت در آب سرد قرار گرفت. محلول مجدداً با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و جذب آن در طول موج ۵۳۳ و ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. جهت اندازه‌گیری ترکیبات فنولی نمونه‌ها، از روش Fatiha و همکاران (۲۰۱۵) پیروی شد. برای این منظور، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول فولین ۱۰ درصد به ۲۰ میکرولیتر عصاره گیاهی افزوده شد (۰/۵ گرم نمونه خشک در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد به مدت دو روز روی شیکر قرار گرفت و عصاره‌ای با غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد). پس از ۶ دقیقه

نگهداری در تاریکی، ۸۰ میکرولیتر محلول سدیم کربنات ۷/۵ درصد به آن اضافه شد و پس از ۹۰ دقیقه در تاریکی، جذب آن در ۷۴۰ نانومتر توسط دستگاه الیزا خوانده شد. منحنی کالیبراسیون با استفاده از گالیک اسید رسم شد و محتوای فنولی نمونه‌ها بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره محاسبه گردید. جهت تعیین ترکیبات فلاونوئیدی کل، از روش کلرید آلومینیوم استفاده شد. ۲۰ میکرولیتر از محلول نمونه یا استاندارد کوئرستین با ۱۰ میکرولیتر محلول ۵ درصد کلرید آلومینیوم مخلوط و با ۶۰ میکرولیتر متانول رقیق شد. سپس ۱۰ میکرولیتر محلول ۰/۵ مولار استات پتاسیم اضافه شد و حجم نهایی با آب مقطر به ۲۰۰ میکرولیتر رسید. پس از ۳۰ دقیقه در دمای اتاق، جذب محلول در ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره خشک گزارش گردید (Roby et al., 2013).

برای سنجش قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، ۲۰ میکرولیتر از محلول نمونه با غلظت‌های متفاوت با ۱۸۰ میکرولیتر محلول DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار مخلوط شد و پس از ۳۰ دقیقه کاهش رنگ محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد (Roby et al., 2013). برای سنجش درصد نشت یونی، بافت تازه اندام هوایی پس از شستشو با آب مقطر درون لوله آزمایش قرار گرفت و ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه روی شیکر قرار گرفتند. هدایت الکتریکی نمونه‌ها با دستگاه هدایت‌سنج اندازه‌گیری شد (EC1). سپس لوله‌ها در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و فشار یک اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شده و پس از سرد شدن، هدایت الکتریکی مجدداً اندازه‌گیری شد (EC2). درصد نشت یونی از رابطه زیر محاسبه گردید (Lutts et al., 1996):

شدند. مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد انجام گردید. $100 \times (EC1/EC2)$ = درصد نشت یونی داده‌های به‌دست‌آمده از اندازه‌گیری صفات مختلف در سه تکرار با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ تجزیه و تحلیل

جدول ۱: ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک آزمایش

بافت خاک	پتاسیم قابل جذب (ppm)	فسفر قابل جذب (ppm)	نیتروژن کل (%)	ماسه (%)	لای (%)	رس (%)	ماده آلی (%)	هدایت الکتریکی (dS/m)	اسیدیته (pH)
لومی-شنی	۲۸۵	۷/۹	۰/۰۶	۳۵	۴۰	۲۵	۰/۴۵	۱/۶۷	۷/۴

نتایج صفات مورفولوژیکی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، نشان داد که اثر شوری و همزیستی قارچ و باکتری روی تمام صفات مورفولوژیکی

اندازه‌گیری شده در این تحقیق، در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید. برهمکنش غلظت شوری و تیمار میکروارگانیزم‌های همزیست، تاثیر معنی‌داری بر صفات مورد مطالعه نداشت (جدول ۲).

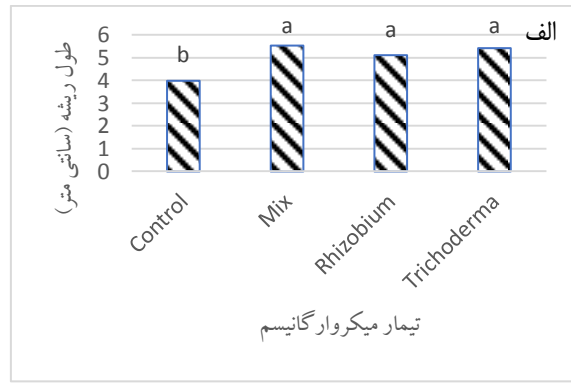
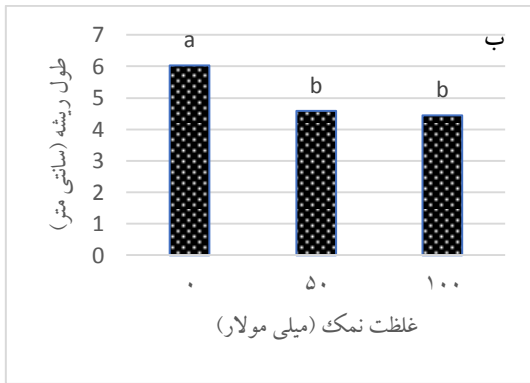
جدول ۲: تجزیه واریانس اثر تیمارهای مورد بررسی بر ویژگی‌های مورفولوژیکی گیاه آویشن

منابع تغییر	درجه آزادی	طول		وزن خشک		میانگین مربعات	
		ریشه	ساقه	ریشه	وزن تر	وزن تر	ساقه
شوری (A)	۲	۹/۲۹**	۴۷۷/۹۹**	۰/۰۴۹**	۰/۰۰۷**	۱۷/۴۰۲**	۰/۱۶۳**
میکروارگانیزم (B)	۳	۴/۵۴**	۱۲۱/۴۶۱**	۰/۰۰۲**	۰/۰۰۰۲**	۴/۴۴۷**	۰/۰۴۶**
A×B	۶	۰/۶۷ ^{ns}	۴/۱۷۸ ^{ns}	۰/۰۰۰۱ ^{ns}	۳/۰۳۳ ^{ns}	۰/۵۴۸ ^{ns}	۰/۰۰۴ ^{ns}
خطای آزمایشی	۲۴	۰/۴۲	۲/۴۴۴	۹/۰۰۳	۱/۰۴۴	۰/۳۰۳	۰/۰۰۳
ضرب تغییرات (درصد)		۱۵/۱۳	۲۱/۷۲	۱۷/۳۰	۶/۸۷	۴/۹۶	۲/۰۹

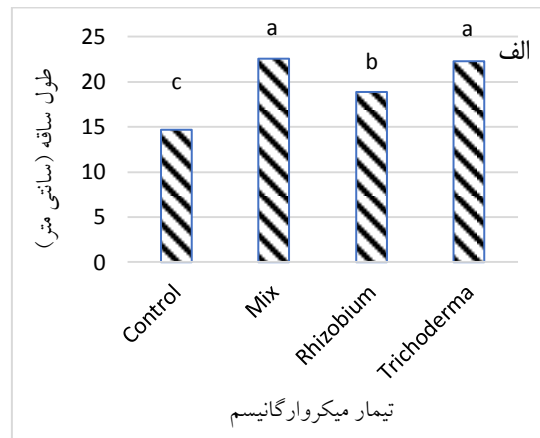
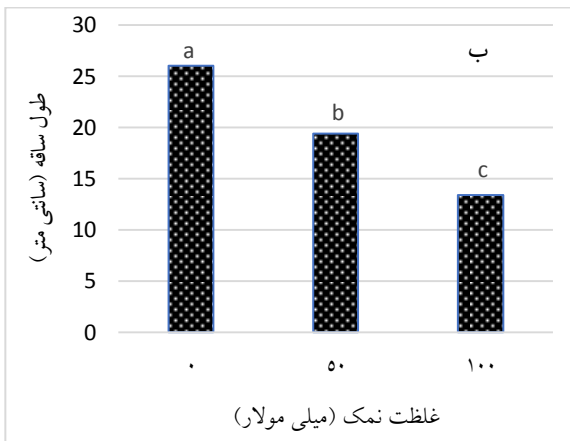
ns و * به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

با افزایش غلظت شوری، ارتفاع بوته به طور معنی‌داری کاهش یافت. حداکثر ارتفاع بوته (۲۶/۰۲ سانتی‌متر) در شرایط بدون تنش و حداقل ارتفاع بوته (۱۳/۴ سانتی‌متر) در تیمار بالاترین سطح شوری به دست آمد. همزیستی گیاه با میکروارگانیزم‌ها باعث افزایش ارتفاع بوته آویشن در مقایسه با تیمار شاهد گردید. با این حال کاربرد تلفیقی دو میکروارگانیزم ذکر شده و اثر ساده تریکودرما به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نشان ندادند (شکل ۲).

مقایسه میانگین داده‌های آزمایشی نشان داد که، با افزایش میزان شوری در خاک، طول ریشه کاهش یافت اما بین دو سطح شوری اختلاف معنی‌داری دیده نشد. اثر ساده و متقابل میکروارگانیزم‌های همزیست نسبت به تیمار شاهد، سبب افزایش معنی‌دار طول ریشه شدند (شکل ۱ الف). بیشترین و کمترین مقدار طول ریشه در بوته به ترتیب در شرایط بدون تنش و غلظت ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌مولار نمک مشاهده گردید (شکل ۱ ب).



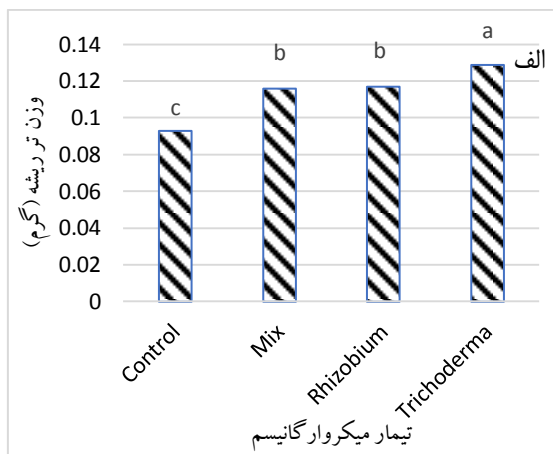
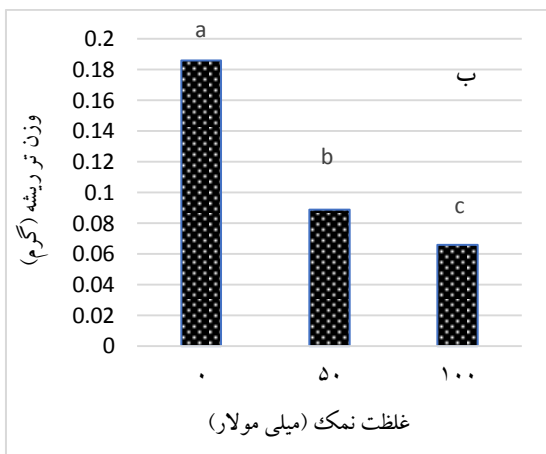
شکل ۱: مقایسه میانگین اثر ساده همزیستی میکروارگانیسم‌ها (الف) و سطوح شوری (ب) بر طول ریشه در گیاه آویشن باغی. میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد ندارند.



شکل ۲: مقایسه میانگین اثر ساده همزیستی میکروارگانیسم‌ها (الف) و سطوح شوری (ب) بر ارتفاع بوته در گیاه آویشن باغی. میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد ندارند.

یافت. بیشترین میزان وزن تر ریشه (۰/۱۸ گرم) در تیمار بدون شوری مشاهده گردید. از میان تیمارهای همزیستی با میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش، همزیستی قارچ *Trichoderma* بیشترین تاثیر را در افزایش وزن تر ریشه داشت (شکل ۳ الف).

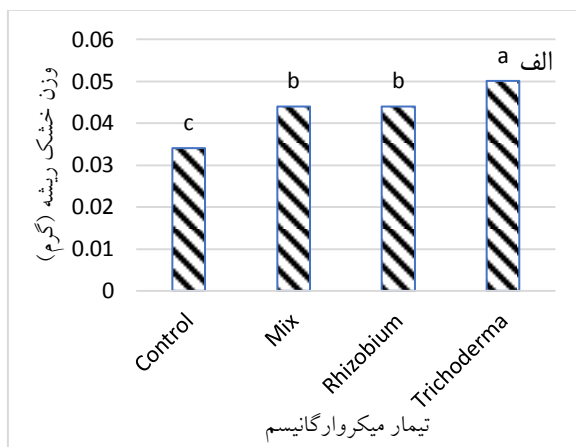
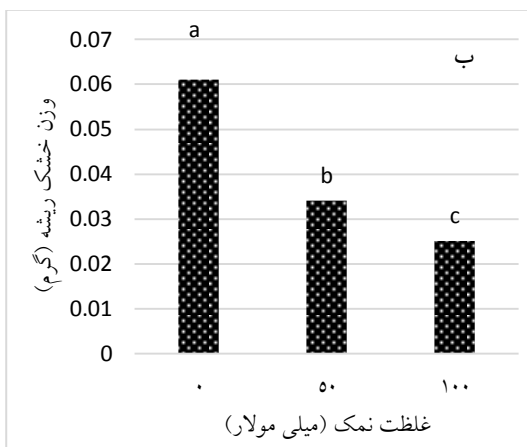
براساس نتایج به‌دست آمده، افزایش غلظت شوری و همزیستی قارچی بر وزن تر ریشه آویشن باغی اثر معنی‌داری داشت (شکل ۳). این صفت با افزایش غلظت شوری کاهش معنی‌دار نشان داد و با تلقیح میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در آزمایش به صورت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش



شکل ۳: مقایسه میانگین اثر ساده همزیستی میکروارگانیسم‌ها (الف) و سطوح شوری (ب) بر وزن تر ریشه در گیاه آویشن باغی. میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد ندارند.

افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه نسبت به شاهد مربوطه گردید (شکل ۴ الف). وزن خشک ریشه با افزایش غلظت شوری، کاهش محسوس داشت (شکل ۴ ب).

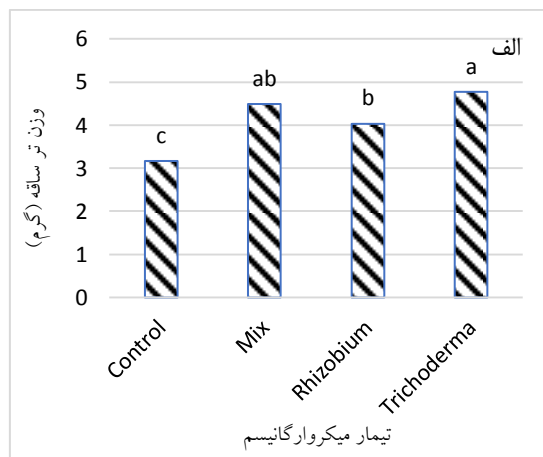
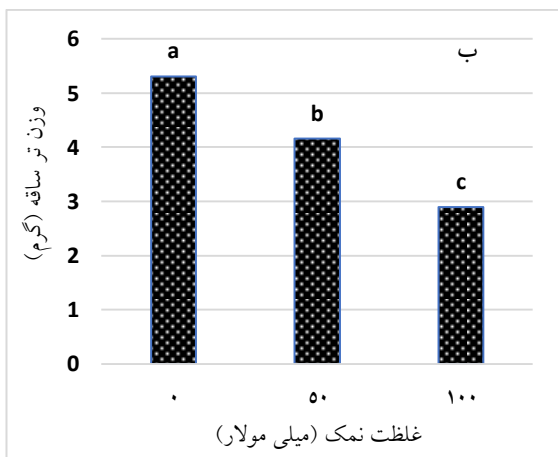
بر اساس نتایج، در تیمارهای همزیستی با میکروارگانیسم‌ها، وزن خشک ریشه به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد به طوری که، تلقیح فقط یک عامل یا تلقیح همزمان قارچ و باکتری باعث



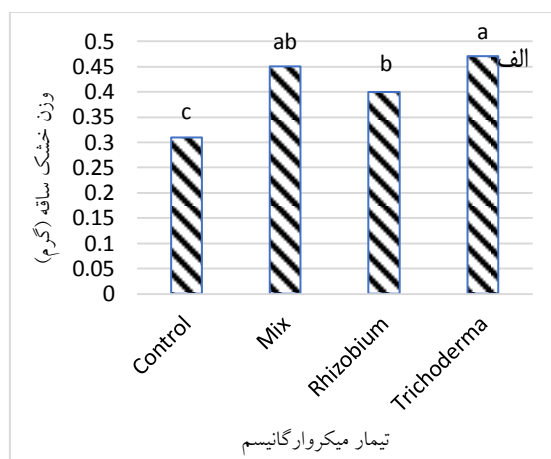
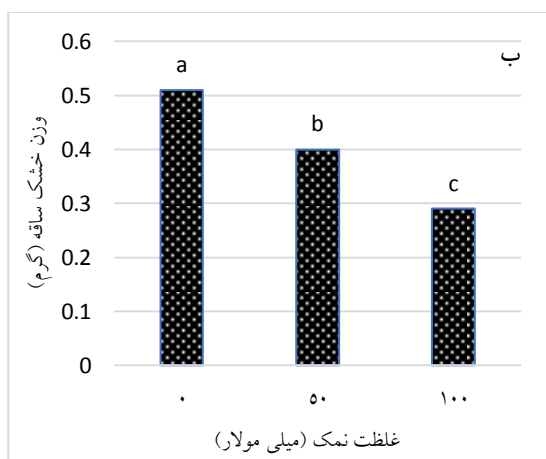
شکل ۴: مقایسه میانگین اثر ساده میکروارگانیسم‌ها (الف) و سطوح شوری (ب) بر وزن خشک ریشه در گیاه آویشن باغی. میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد ندارند.

یافت (شکل ۵). نتایج نشان دادند که تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک ساقه گیاه آویشن شد اما، تلقیح با میکروارگانیسم‌های همزیست باعث بهبود وزن خشک ساقه گردید (شکل ۶).

همزیستی قارچ و تلقیح همزمان قارچ و باکتری بر وزن تر ساقه اثر مثبت معنی‌دار داشت به طوری که در تلقیح آویشن با میکروارگانیسم، وزن تر ساقه نسبت به تیمار شاهد به صورت معنی‌داری افزایش



شکل ۵: مقایسه میانگین اثر ساده همزیستی میکروارگانیسم‌ها (الف) و سطوح شوری (ب) بر وزن تر ساقه در گیاه آویشن باغی. میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد ندارند.



شکل ۶: مقایسه میانگین اثر ساده همزیستی میکروارگانیسم‌ها (الف) و سطوح شوری (ب) بر وزن خشک ساقه در گیاه آویشن. میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد ندارند.

صفات فیتوشیمیایی: تجزیه واریانس اثر همزیستی میکروارگانیسم‌ها بر صفات بیوشیمیایی گیاه آویشن در شرایط تنش شوری، حاکی از تاثیر معنی دار همزیستی میکروارگانیسم‌ها در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POD)، میزان مالون دی‌آلدهید (MDA) و پرولین (Proline) در سطح احتمال یک درصد بود. گیاه آویشن تحت شرایط شوری و تلقیح بذور با قارچ *Trichoderma harzianum* باکتری *Rhizobium lantis* و نیز ترکیب قارچ و باکتری (Mix) از نظر تمام صفات بیوشیمیایی مورد مطالعه به صورت معنی داری تحت تاثیر قرار گرفت ($P < 0.01$). همچنین برهمکنش شوری و همزیستی قارچ و باکتری نیز بر محتوای فنل کل، فلاونوئید کل و درصد DPPH و درصد EL در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۳).

صفات فیتوشیمیایی: تجزیه واریانس اثر همزیستی میکروارگانیسم‌ها بر صفات بیوشیمیایی گیاه آویشن در شرایط تنش شوری، حاکی از تاثیر معنی دار همزیستی میکروارگانیسم‌ها در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POD)، میزان مالون دی‌آلدهید (MDA) و پرولین (Proline) در سطح احتمال یک درصد بود. گیاه آویشن تحت شرایط شوری و تلقیح بذور با قارچ

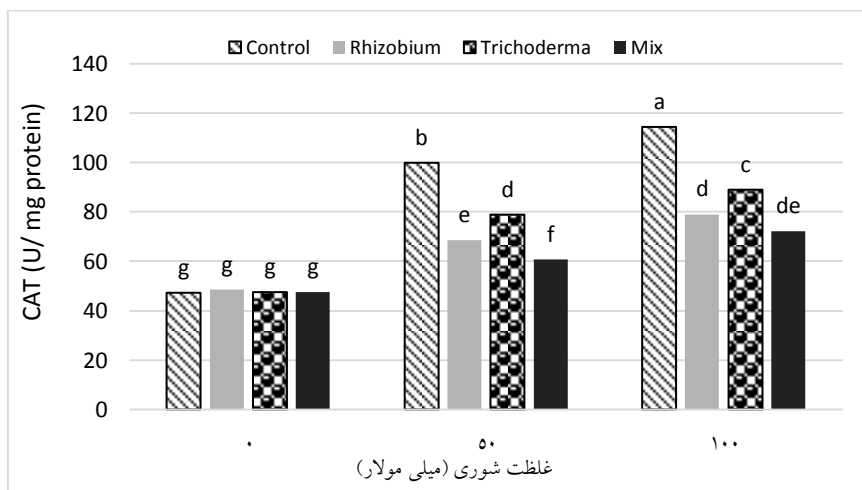
جدول ۳. تجزیه واریانس اثر تیمارهای مورد بررسی بر ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه آویشن

میانگین مربعات								درجه آزادی	منابع تغییرات
نشست یونی (درصد)	درصد DPPH	محتوای فلاونوئید کل	محتوای فنل کل	مالون دی آلدئید	پرولین	پراکسیداز	کاتالاز		
۶۹۰/۹۳**	۲۱۵۷/۱۰**	۱۷۱/۵۹**	۲۰۹۷۱/۹۰**	۲۱۶۴۸/۸۳**	۳۱۹/۸۵**	۲۱۹۲/۷۰**	۵۳۵۶/۰۰**	۲	شوری (A)
۱۳۴/۶۰**	۳۲۹/۰۸**	۴۴/۱۳**	۲۰۴۴/۵۵**	۴۶۲/۵۲**	۲۲۶/۴۰**	۳۹/۷۹**	۱۲۳۶/۱۸**	۳	میکروارگانسیم (B)
۷۲/۲۲**	۵۱/۲۱**	۲/۸۳ ^{ns}	۴۲۹/۳۸**	۹۴۵/۵۶**	۸۷/۶۰**	۴۵/۰۵**	۳۲۸/۳۸**	۶	A×B
۱۱/۸۵	۹/۹۳	۳/۴۷	۷۳/۸۳	۱۰۸/۶۸	۱۳/۷۳	۶/۵۳	۱۷/۱۸	۲۴	خطای آزمایشی
۱۷/۸۰	۷/۱۸	۱۲/۲۴	۱۰/۹۹	۱۰/۸۷	۲۱/۱۱	۸/۹۷	۵/۹۹		ضریب تغییرات (درصد)

ns، * و ** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند

باکتری قرار گرفت به طوری که هر دو میکروارگانسیم باعث کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز شدند که نشان دهنده تاثیر مثبت این دو میکروارگانسیم در کاهش اثرات منفی عامل شوری بود. بیشترین میزان فعالیت کاتالاز در تیمار شوری ۱۰۰ میلی‌مولار (۱۱۴/۴ واحد در میلی‌گرم پروتئین) مشاهده شد. در مقابل، کمترین میزان فعالیت این آنزیم مربوط به تیمارهای بدون شوری یا بدون تلقیح میکروارگانسیم‌ها (شرایط رشدی نرمال) بود (شکل ۷).

فعالیت کاتالاز: نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که تنش شوری سبب افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه آویشن شد، به طوری که تیمار ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار شوری فعالیت این آنزیم را به ترتیب به میزان ۵۲/۷ و ۶۷/۲ درصد در مقایسه با تیمار شاهد افزایش داد، همچنین بین دو سطح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مول NaCl اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید. از طرف دیگر، فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تاثیر برهم‌کنش عامل شوری و تیمارهای تلقیح با قارچ و



شکل ۷: مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش غلظت شوری و همزیستی قارچ و باکتری بر فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه آویشن.

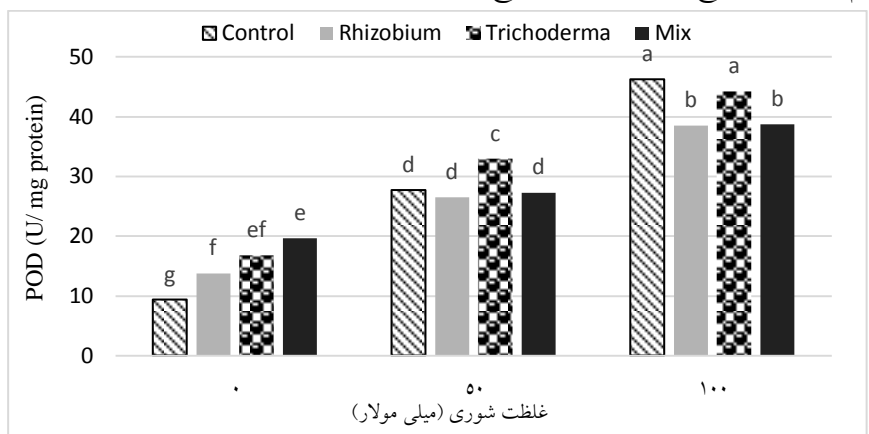
میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد ندارند.

آنزیم پراکسیداز با افزایش شدت تنش شوری افزایش یافت ولی در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار نمک با تلقیح گیاه آویشن با باکتری *R. lantis* این روند کاهشی شد.

فعالیت پراکسیدازی: میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در تمام تیمارهای شوری در پاسخ به شدت یافتن شوری به‌صورت افزایشی بود. به‌طورکلی فعالیت

شوری ۱۰۰ میلی مولار باعث کاهش فعالیت این آنزیم نسبت به تیمار بدون تلقیح گردید (شکل ۸).

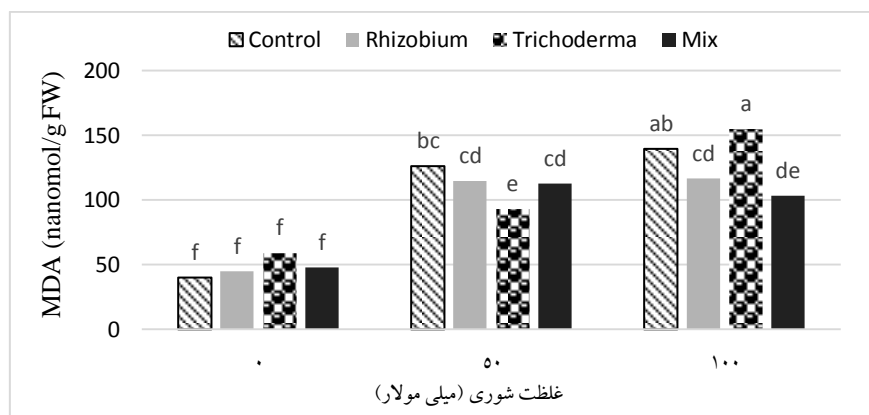
در غلظت ۵۰ میلی مولار نمک علی‌رغم تلقیح با قارچ *T. harzianum* میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت. تلقیح هم‌زمان با قارچ و باکتری در سطح



شکل ۸: مقایسه میانگین اثر برهمکنش غلظت شوری و همزیستی قارچ و باکتری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه آویشن. میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد ندارند.

آسیب‌های ناشی از تنش پراکسیداسیون لیپید را می‌دهد به طوری که سطح مالون دی‌آلدئید در سطح شوری ۱۰۰ میلی مولار در تیمار تلقیح هم‌زمان قارچ *T. harzianum* و باکتری *R. lantis* به طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد. در سطح شوری ۵۰ میلی مولار نمک نیز میزان مالون دی‌آلدئید در گیاهان همزیست با قارچ *T. harzianum* نسبت به سایر تیمارها کاهش معنی‌داری نشان داد. میزان مالون دی‌آلدئید در تمامی تیمارهای بدون شوری در پایین‌ترین میزان خود بود.

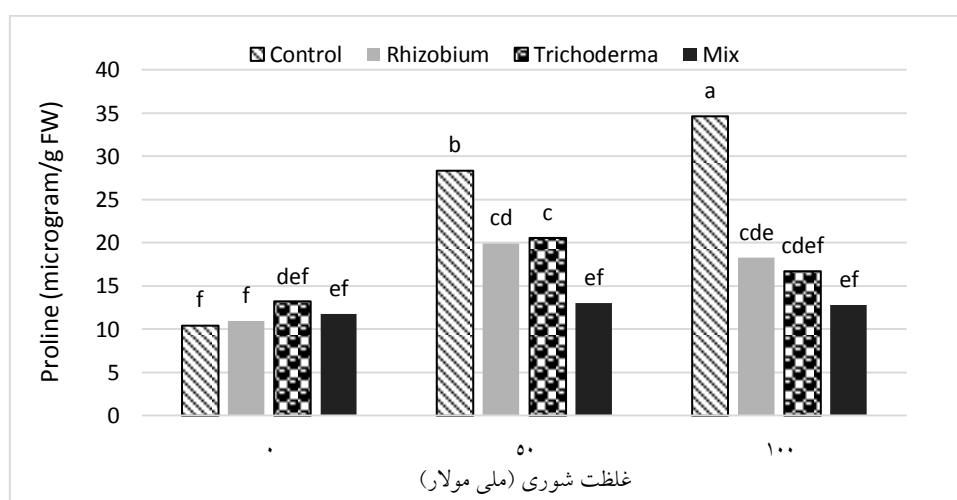
مالون دی‌آلدئید (MDA): در این تحقیق، با افزایش غلظت شوری سطح مالون دی‌آلدئید در اندام هوایی گیاه آویشن افزایش یافت و در سطح ۵۰ میلی مولار نمک، بیش از سه برابر نسبت به سطح بدون شوری افزایش نشان داد. سطح مالون دی‌آلدئید در سطح شوری ۱۰۰ میلی مولار و تیمار تلقیح با قارچ به حداکثر میزان خود (۱۵۴/۸ نانومول در گرم وزن تر) رسید (شکل ۹). نتایج نشان دادند که تلقیح هم‌زمان گیاه آویشن با قارچ *T. harzianum* و باکتری *R. lantis* به گیاه امکان مقاومت بهتر در برابر



شکل ۹: مقایسه میانگین اثر برهمکنش غلظت شوری و همزیستی قارچ و باکتری بر میزان مالون دی‌آلدئید در گیاه آویشن. میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد ندارند.

پرولین گردید. بیشترین میزان پرولین (۳۴/۶۳ میکروگرم در گرم وزن تر) در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار مشاهده گردید. تلقیح هم‌زمان قارچ *T. harzianum* و باکتری *R. lantis* در هر دو سطح شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار مقدار پرولین را به سطحی معادل آن در تیمارهای بدون شوری که کمترین میزان پرولین بود، کاهش داد (شکل ۱۰).

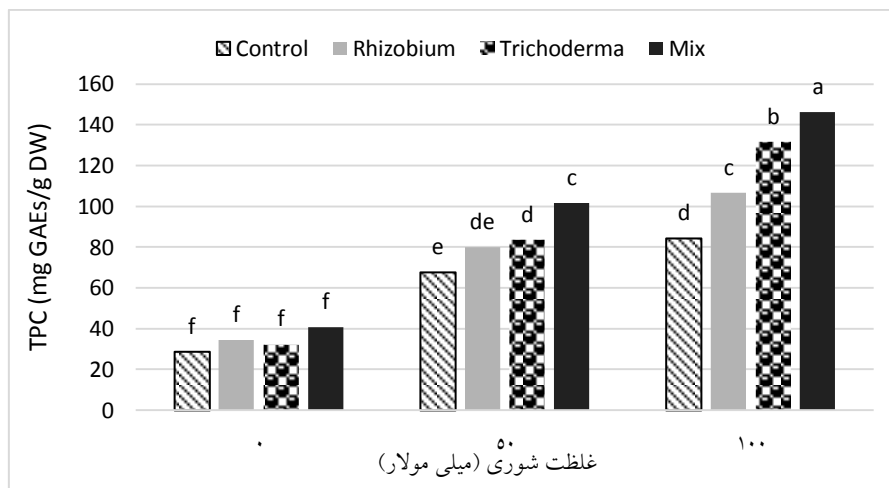
پرولین: بر اساس نتایج مقایسه میانگین سطح پرولین در گیاه آویشن در اثر عامل شوری افزایش پیدا کرد که میزان این افزایش در گیاهان تلقیح نشده نسبت به گیاهان تلقیح شده کمتر بود. میزان پرولین در غلظت‌های شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد ولی تیمار با میکروارگانسیم‌های همزیست به صورت جداگانه یا مخلوط با هم باعث کاهش معنی‌دار میزان



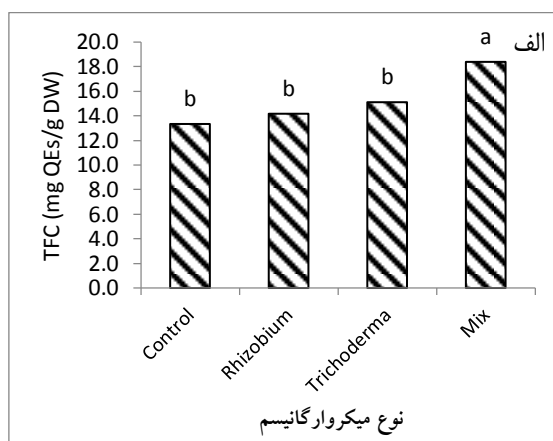
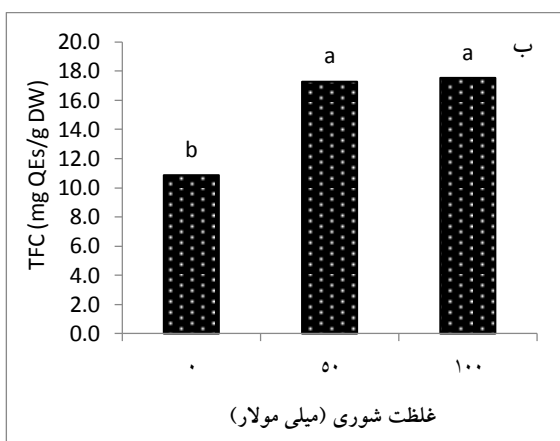
شکل ۱۰: مقایسه میانگین اثر برهمکنش غلظت شوری و همزیستی قارچ و باکتری بر محتوای پرولین در گیاه آویشن. میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد ندارند

شده با ترکیب قارچ و باکتری و تحت تنش شوری شدید، استخراج گردید، در حالی که کمترین مقدار فنول کل (۲۸/۸۱ میلی‌گرم گالئیک اسید در گرم وزن خشک) از گیاهان تیمار شاهد استخراج گردید با این وجود در شرایط بدون تنش، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی، مشاهده نشد (شکل ۱۱). بیشترین محتوای فلاونوئید کل (۱۸/۴ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک) در گیاهان تیمار شده با مخلوط قارچ و باکتری و کمترین محتوای TFC (۱۰/۹ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک) در شرایط بدون شوری مشاهده گردید (شکل ۱۲).

ترکیبات فنولی و فلاونوئید کل: با توجه به نتایج تجزیه واریانس مشخص گردید که محتوای فنولی کل (TPC) و فلاونوئید کل (TFC) در اندام‌های هوایی گیاه آویشن به‌طور معنی‌داری متاثر از سطوح ساده فاکتورهای آزمایشی شد ($P < 0/01$). اثر متقابل شوری و میکروارگانسیم بر محتوای فنل کل معنی‌دار بود ($P < 0/01$) ولی تاثیر معنی‌داری روی میزان فلاونوئید نداشت (جدول ۳). همانگونه که در شکل ۱۱ مشاهده می‌شود، بیشترین مقدار فنول کل (۱۴۶/۱۶ میلی‌گرم گالئیک اسید در گرم وزن خشک) از گیاهان تیمار



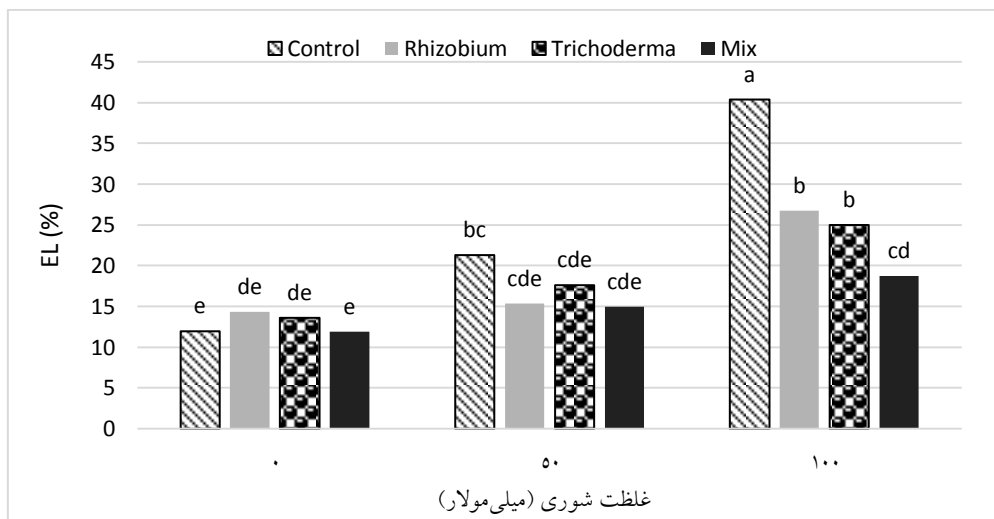
شکل ۱۱: مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت شوری و همزیستی میکروارگانیسم‌ها بر محتوای فنول کل در گیاه آویشن. میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد ندارند.



شکل ۱۲: مقایسه میانگین اثر ساده غلظت شوری و همزیستی میکروارگانیسم‌ها بر محتوای فلاونوئید کل در گیاه آویشن. میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد ندارند.

از گیاه شاهد بود. همزیستی میکروارگانیسم‌ها بطور معنی‌داری میزان نشت الکترولیت را کاهش داد. به طوریکه، در هر دو سطح شوری بین تیمار قارچ و تیمار باکتری به صورت انفرادی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت اما ترکیب این دو میکروارگانیسم موجب کاهش معنی‌دار نشت الکترولیت گردید (شکل ۱۳).

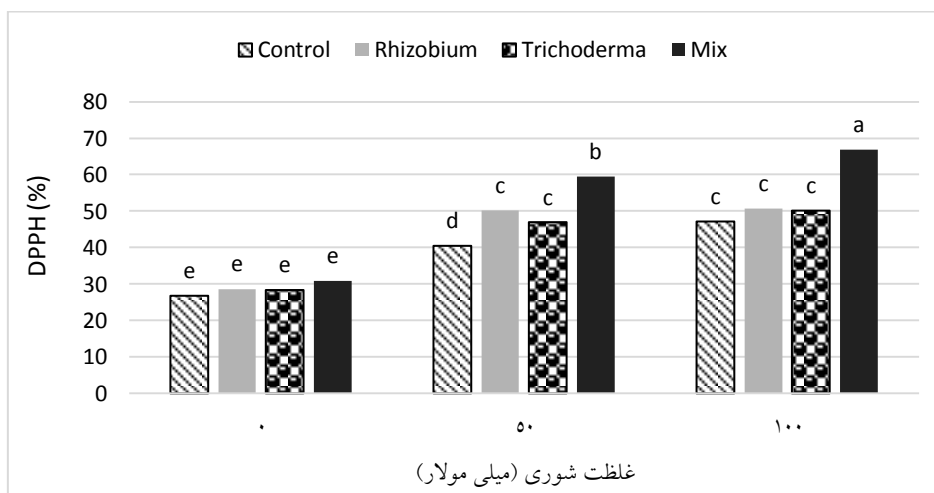
درصد نشت یونی (EL): تاثیر تیمارهای آزمایشی بر درصد نشت یونی، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). طبق نتایج، نشت EL سلول‌های برگ آویشن با تشدید تنش شوری به طور قابل توجهی افزایش یافت. نتایج نشان داد که EL در سطح شوری ۱۰۰ میلی مولار حدود ۳۰ درصد بیشتر



شکل ۱۳: مقایسه میانگین اثر برهمکنش غلظت شوری و همزیستی میکروارگانیسم‌ها بر نشت یونی در گیاه آویشن. میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد ندارند.

با مخلوط میکروارگانیسم‌ها و در شرایط تنش شوری شدید، حاصل گردید و کمترین مقدار این صفت (۲۶/۷۲ درصد) در گیاهان تیمار شاهد اندازه‌گیری شد. با این وجود در شرایط بدون تنش، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای میکروارگانیسم و شاهد، مشاهده نشد (شکل ۱۴).

قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH: همانگونه که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، تیمارهای شوری، میکروارگانیسم و اثر متقابل این دو فاکتور بر درصد DPPH در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید. بررسی مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که، بالاترین درصد DPPH (۶۶/۸۸ درصد) در گیاهان تلقیح شده



شکل ۱۴: مقایسه میانگین اثر برهمکنش غلظت شوری و همزیستی میکروارگانیسم‌ها در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه آویشن. میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد ندارند.

بحث

همانگونه که در بخش نتایج مشاهده شد، تلقیح گیاه آویشن باغی با میکروارگانیزمها، سبب افزایش معنی‌دار رشد و نمو گیاه در مقایسه با تیمار شاهد، گردید. به نظر می‌رسد، همزیستی میکروارگانیزم‌های مفید با ریشه گیاه آویشن باغی از طریق افزایش در جذب آب و عناصر غذایی، سبب افزایش فتوسنتز شده و این امر موجب تولید فرآورده فتوسنتزی بیشتر و بهبود پارامترهای رشدی نظیر وزن خشک ریشه می‌گردد. در این زمینه، Pirzad و Mohammadzadeh (۲۰۲۱) بیان کردند که تلقیح با قارچ میکوریزا موجب افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی گیاهان اسطوخدوس، رزماری و آویشن گردید. همچنین، نتایج به‌دست آمده روی گیاهان دارویی *Thymus satureioides* و *Lavandula dentata* این یافته را تایید می‌کند (Akachoud et al., 2022). محققین گزارش کردند که در گیاهان تیمار شده با قارچ *P. indica* میزان هورمون اکسین نسبت به گیاهان شاهد (تلقیح نشده) به‌صورت معنی‌داری افزایش می‌یابد. افزایش سطح فیتوهورمون اکسین باعث القاء تشکیل ریشه نابجا در گیاه شده و باعث تحریک رشد طولی ریشه می‌شود (Druege et al., 2007). در مطالعه‌ای Vadassery و همکاران (۲۰۰۸) بیان کردند که تلقیح گیاه آراییدوپسیس با قارچ‌های شبه میکوریزای *S. vermifera* و *P. indica* باعث افزایش سطح فیتوهورمون‌های اکسین و سیتوکینین می‌شود و این هورمون‌ها نیز موجب افزایش ارتفاع گیاه و طول ریشه می‌شوند. ممکن است بهبود و افزایش جذب نیتрат توسط ریشه‌های گیاهان هم-زیست شده با قارچ *Tricoderma* بتواند یکی از دلایل افزایش وزن تر ریشه در اثر این همزیستی باشد (Mohammdzadeh and Pirzad, 2021). مطابق با این تحلیل، Sherameti و همکاران (۲۰۰۸) بیان نمودند که نقش موثر ریشه‌های میکوریزایی در انتقال نیترات

تنش شوری سبب کاهش رشد و نمو آویشن باغی گردید. به نظر می‌رسد، شوری سبب کمبود یا عدم تعادل مواد معدنی در گیاه می‌شود که در کاهش رشد اندام‌های گیاهی موثر است. کاهش رشد گیاه می‌تواند نتیجه اثرات سمی یون‌های کلر و سدیم و عدم تعادل یونی یون‌های موثر بر فرآیندهای داخلی گیاه باشد. همچنین می‌تواند به دلیل برهم خوردن ترکیبات متابولیکی موثر بر رشد گیاه و به تبع آن کاهش جذب پتاسیم و عدم تعادل در جذب سایر عناصر غذایی به وسیله گیاه باشد (Puvanitha and Mahendran, 2017). مشخص شده است که تنش شوری باعث افزایش آنزیم ایندول-۳-استیک اسید اکسیداز شده و در نتیجه افزایش تجزیه اکسین و کاهش رشد و نمو گیاه را به‌همراه دارد (Verma et al., 2022). تنش‌های غیرزنده با ایجاد اختلال در فرآیند جذب و انتقال عناصر ضروری و همچنین اختلال در سیستم فتوسنتز، باعث کاهش رشد و افت عملکرد گیاهان می‌گردند (Ahmad et al., 2016). Birstgani و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند استفاده از ۳۰ میلی‌مولار NaCl تولید ماده خشک را در گیاهان *T. vulgaris* و *T. daenensis* به ترتیب ۱۶ و ۲۹ درصد نسبت به گیاهان آویشن تیمار نشده کاهش داد، در حالی که کاربرد ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار NaCl به ترتیب باعث کاهش ۲۸ و ۴۰ درصدی ماده خشک در *T. vulgaris* و کاهش ۳۴ و ۳۹ درصدی در *T. daenensis* شد. کاهش رشد گیاهان تحت آبیاری شور ممکن است به دلیل تجمع غلظت بالای کلرید سدیم در دیواره‌های سلولی و سیتوپلاسم باشد که متعاقباً منجر به تأثیر منفی بر سرعت فتوسنتز، کربوهیدرات‌ها و هورمون‌های رشد می‌شود (Taarit et al., 2009).

سوپراکسید دیسموتاز و همچنین سیستم آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی شامل آسکوربات، آلفاتوکوفرول، کاروتنوئیدها، ترکیبات فنلی، پرولین و گلوکاتیون است (Bistgani et al., 2019). افزایش مقاومت گیاهان همزیست با میکروارگانیسم‌ها در برابر تنش‌های محیطی ناشی از بیان ژن‌های کد کننده آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است که فعالیت این آنزیم‌ها را افزایش داده و سبب حذف گونه‌های اکسیژن فعال و جلوگیری از تنش اکسیداتیو می‌شود (Sun et al., 2021). Yaghoobian و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه‌ای درباره تأثیر قارچ‌های *P. indica* و *G. mosseae* بر مکانیسم دفاعی گیاهان تحت تنش خشکی گزارش دادند که گیاهان تلقیح شده با این قارچ‌های همزیست، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز به‌طور معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد افزایش نشان دادند. همچنین، Noora و همکاران (۲۰۱۷) نیز در مطالعه‌ای اثر همزیستی قارچ *Piriformospora indica* با گیاه شایبک، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را گزارش کردند. افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز تحت تأثیر تنش شوری در گیاه مرزه نیز توسط Azizi و همکاران (۲۰۲۰) گزارش شده است.

مالون دی‌آلدئید از طریق پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع تولید می‌شود و یکی از معمول‌ترین شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی به‌شمار می‌آید (Gheshlaghpour et al., 2021). در تحقیق حاضر، با افزایش غلظت شوری، سطح مالون دی‌آلدئید در اندام هوایی گیاه آویشن افزایش یافت. این افزایش به‌عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدی، نشان‌دهنده القای تنش اکسیداتیو ناشی از شوری در گیاهان می‌باشد. لیپیدها به رادیکال‌های هیدروکسیل بسیار حساس هستند و پراکسیداسیون لیپیدها اولین علامت تنش

به سلول‌های ریشه گیاه عامل اصلی افزایش وزن تر ریشه در گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* می‌باشد. از سوی دیگر، میکروارگانیسم‌های همزیست گیاهی از جمله قارچ تریکودرما و باکتری ریزوبیوم هم در شرایط طبیعی و هم در شرایط تنش محیطی جذب آب و املاح غذایی را بهبود می‌دهند و باعث افزایش رشد و سازگاری گیاهان نسبت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌شوند (Yang et al., 2024). این میکروارگانیسم‌ها با ایجاد تغییرات مطلوب فیزیولوژیکی، عملکرد گیاهان را تحت شرایط نامساعد محیطی افزایش می‌دهند (Saravanan et al., 2021). در بررسی اثر قارچ *Piriformospora indica* در گیاه ارگانو، افزایش رشد رویشی گیاه در اثر همزیستی با میکروارگانیسم مذکور را گزارش شد (Aslani et al., 2022).

تنش‌های محیطی، مانند تنش شوری، قادر به القای تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) هستند (Pham et al., 2024). گونه‌های فعال اکسیژن باعث ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاهان شده و در نهایت به القای پاسخ‌های دفاعی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز منجر می‌شوند. گزارش‌ها نشان می‌دهند که تنش اکسیداتیو ناشی از شوری فعالیت آنزیم‌های دفاعی مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز را افزایش می‌دهد. زمانی که گیاهان تحت تنش‌های محیطی نظیر تنش آبی و شوری قرار می‌گیرند، گونه‌های مختلفی از اکسیژن فعال مانند رادیکال آنیونی سوپراکسید، هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن تولید می‌شود (Moghaddam et al., 2020). برای مقابله با تنش اکسیداتیو، گیاهان یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی مؤثر دارند که رادیکال‌های آزاد را از بین برده، خنثی یا پاکسازی می‌کنند. این سیستم شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و

پژوهش نشان دادند عامل شوری باعث افزایش مقدار پرولین برگ گیاه آویشن می‌شود در حالی که همزیستی میکروارگانیسم‌های *T. harzianum* و *R. lantis* با گیاه آویشن در شرایط تنش شوری کاهش محتوای پرولین برگ را به دنبال داشت. کاهش تجمع پرولین در گیاهان تلقیح شده با میکروارگانیسم‌های همزیست ممکن است به دلیل تأثیر مستقیم این عوامل بر متابولیسم پرولین باشد (Forouzi et al., 2020).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که با افزایش غلظت شوری، محتوای فنول کل در گیاه آویشن افزایش یافت. این افزایش فنول‌ها مقاومت گیاه را نسبت به شوری تقویت کرد. همچنین، همزیستی گیاه آویشن با قارچ *T. harzianum* و باکتری *R. lantis* موجب تجمع بیشتر ترکیبات فنولی در اندام‌های هوایی گیاه شد، به طوری که این تجمع در تلقیح همزمان بسیار بیشتر از تلقیح انفرادی بود. محتوای متابولیت‌های ثانویه در گیاهان تحت تأثیر شرایط رشد گیاه است و عوامل نامطلوب محیطی مانند شوری بالا به طور قابل توجهی تولید این متابولیت‌ها را تحریک می‌کنند (Lajayer et al., 2017). در مطالعه‌ای توسط Memari-Tabrizi و همکاران (۲۰۲۱)، نشان داده شد که ترکیبات فنولی به عنوان کلات‌کننده در حذف رادیکال‌های آزاد اسیژن و افزایش مقاومت گیاه مرزه نسبت به شوری مؤثر هستند. این ترکیبات فنولی با از بین بردن رادیکال‌های آزاد می‌توانند آسیب‌های ناشی از تنش‌های اکسیداتیو را کاهش دهند (Ashraf et al., 2022). مشابه با نتایج این پژوهش، افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه ریحان به عنوان مکانیسمی برای سازگاری با تنش‌های فلزات سنگین و شوری در نظر گرفته شده است (Gheshlaghpour et al., 2021). بر اساس نتایج به دست آمده، نشت الکترولیت (EL) سلول‌های برگ آویشن با افزایش شدت تنش

اکسیداتیو محسوب می‌شود (Lykkesfeldt, 2007). این نتایج با تحقیقات مختلف که عنوان می‌کنند افزایش شدت پراکسیداسیون لیپیدی در گیاهان به دلیل تنش شوری رخ می‌دهد، همخوانی دارد (Muradoglu et al., 2015).

در مطالعات اخیر، همزیستی گیاهان با میکروارگانیسم‌ها به عنوان یک راه‌حل برای کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در گیاهان تحت تنش شوری مطرح شده است. میکروارگانیسم‌های همزیست با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، میزان ROS را کاهش داده و با ممانعت از پراکسیداسیون چربی‌های غشای سلولی که محصول نهایی آن مالون دی‌آلدید است، از تولید این ماده جلوگیری کرده و به این ترتیب از سلول‌ها، به ویژه در شرایط تنش محیطی محافظت می‌کنند (Xu et al., 2017).

تحقیقات گوناگون نشان داده‌اند که همزیستی گیاهان با قارچ‌ها و باکتری‌ها موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، کاهش آسیب به غشای سلولی و سطح MDA می‌شود (Yaghoubian et al., 2014). همچنین، این همزیستی به بهبود سیستم دفاعی و آنتی‌اکسیدانی گیاه کمک کرده و میزان MDA را کاهش می‌دهد. Cheng و همکاران (۲۰۲۲) عنوان کردند که کاهش میزان مالون دی‌آلدید نشانگر بهبود سیستم دفاعی و آنتی‌اکسیدانی گیاه در اثر همزیستی با قارچ‌های *P. indica* می‌باشد. در بسیاری از گونه‌های گیاهی، تجمع پرولین در شرایط تنش شوری با تحمل به تنش مرتبط است و نشان داده شده است که غلظت آن در گیاهان متحمل به نمک بیشتر از گیاهان حساس به نمک است. در شرایط تنش محیطی، کاتابولیسم پرولین شروع شده و موجب تولید ATP می‌گردد و از این طریق به گیاه کمک می‌کند تا از حالت تنش خارج شده و بتواند خسارت ناشی از تنش را جبران نماید (Moghaddam et al., 2020). یافته‌های این

آنتی‌اکسیدانی گیاه نیز تقویت می‌شود (Foss et al., 2022).

نتیجه‌گیری کلی

این تحقیق به منظور بررسی اثر همزیستی قارچ *T. harzianum* و باکتری *R. lantis* در کاهش اثرات مخرب تنش شوری بر گیاه آویشن طراحی شد. همان‌طور که انتظار می‌رفت، تنش شوری اثرات منفی بر صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه آویشن داشت. این تنش با ایجاد اختلال در رشد طبیعی گیاه، باعث کاهش طول ریشه، ارتفاع بوته، و وزن تر و خشک ریشه و ساقه شد. تنش اکسیداتیو ناشی از شوری نیز موجب تخریب دیواره سلولی و افزایش مالون‌دی‌آلدئید گردید. شوری با افزایش سطح H_2O_2 درون سلول، پاسخ‌های دفاعی گیاه را تحریک کرده و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی مانند کاتالاز و پراکسیداز را افزایش داد. نتایج نشان داد که همزیستی گیاه آویشن با قارچ *T. harzianum* و باکتری *R. lantis* با تحریک سیستم دفاعی گیاه و افزایش میزان آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی و غیرآنزیمی، به بهبود فاکتورهای رشد کمک می‌کند. بنابراین، تلقیح همزمان این دو میکروارگانیسم می‌تواند به‌عنوان مکملی مؤثر برای کاهش اثرات شوری در خاک‌های شور عمل کند و اثرات مخرب تنش شوری را که یکی از معضلات بزرگ خاک‌های شور است، کاهش دهد.

شوری به‌طور قابل توجهی بیشتر شد، اما همزیستی با میکروارگانیسم‌ها این تنش را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. تحلیل داده‌ها نشان داد که بین محتوای EL و سطوح شوری رابطه معناداری وجود دارد. این امر ممکن است نشان‌دهنده تجمع یون‌های خاص در شرایط شوری و ایجاد عدم تعادل تغذیه‌ای در بافت‌های گیاهی باشد. به‌عنوان مثال، یون Na^+ می‌تواند درون سلول‌ها و بین بافت‌ها و اندام‌های مختلف توزیع شده و اثرات سمی بالقوه‌ای بر نفوذپذیری غشاء داشته باشد که در نتیجه EL را افزایش دهد (Tavakkoli et al., 2010). غلظت بالاتر یون سدیم در گیاهان منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی، افزایش نفوذپذیری غشاء و ایجاد آسیب‌های غشایی می‌شود. به نظر می‌رسد که گیاه آویشن دارای مکانیزم تنظیمی است که انتقال یون‌های Na^+ از سیتوزول را تسهیل کرده و توانایی تحمل اثرات نمک اضافی را با همراهی انتقال یون‌های پتاسیم به سیتوزول فراهم می‌آورد (Nunes-Alves et al., 2013). در این مطالعه، تنش شوری و تیمار با قارچ *T. harzianum* و باکتری *R. lantis* موجب افزایش تولید و تجمع ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی در اندام‌های گیاه آویشن و افزایش درصد DPPH شدند. ترکیبات فنولی در بسیاری از گیاهان دارویی در به دام انداختن رادیکال‌های آزاد نقش مهمی دارند (Hasan et al., 2020) و با افزایش این ترکیبات، خاصیت

References

- Abdelshafy Mohamad, O.A., Ma, J.B., Liu, Y.H., Zhang, D., Hua, S., Bhute, S., and Li, L. 2020. Beneficial endophytic bacterial populations associated with medicinal plant *Thymus vulgaris* alleviate salt stress and confer resistance to *Fusarium oxysporum*. *Frontiers in plant science*. 11: 484696.
- Ahmad, P., Abdel Latef, A.A., Hashem, A., Abd_Allah, E.F., Gucel, S., and Tran, L.S.P. 2016. Nitric oxide mitigates salt stress by regulating levels of osmolytes and antioxidant enzymes in chickpea. *Frontiers in plant science*. 7: 183720.
- Akachoud, O., Bouamama, H., Facon, N., Laruelle, F., Zoubi, B., Benkebboura, A., and Lounès-Hadj Sahraoui, A. 2022. Mycorrhizal inoculation improves the quality and productivity of essential oil distilled from three aromatic and medicinal plants: *Thymus satureioides*, *Thymus pallidus*, and *Lavandula dentata*. *Agronomy*. 12(9): 2223.

- Arpanahi, A.A., Feizian, M., Mehdipourian, G., and Khojasteh, D.N. 2020. Arbuscular mycorrhizal fungi inoculation improves essential oil and physiological parameters and nutritional values of *Thymus daenensis* Celak and *Thymus vulgaris* L. under normal and drought stress conditions. *European Journal of Soil Biology*. 100: 103217.
- Ashrafi, M., Azimi-Moqadam, M.R., MohseniFard, E., Shekari, F., Jafary, H., Moradi, P., and Mastinu, A. 2022. Physiological and molecular aspects of two *Thymus* species differently sensitive to drought stress. *Biotechnology*. 11(2): 8.
- Aslani, Z., Hedayati, A., Hassani, A., and Barin, M. 2022. Effects of inoculation with *Piriformospora indica* on some vegetative, physiological, and biochemical parameters and essential oil content of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare*. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*. 38(2): 253-265.
- Azizi, I., Esmailpour, B., and Fatemi, H. 2020. Effect of foliar application of selenium on morphological and physiological indices of savory (*Satureja hortensis*) under cadmium stress. *Food Science and Nutrition*. 8(12): 6539-6549.
- Bashri, G., and Prasad, S. M. 2015. Indole acetic acid modulates changes in growth, chlorophyll a fluorescence and antioxidant potential of *Trigonella foenum-graecum* L. grown under cadmium stress. *Acta physiologiae plantarum*. 37:1-14.
- Bates, L., Waldren, R.P., and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*. 39: 205-207.
- Bergmeyer, H.U. 1974. *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press, New York
- Bistgani, Z.E., 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.
- Bistgani, Z.E., 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.
- Cheng, C., Li, D., Wang, B., Liao, B., Qu, P., Liu, W., and Lü, P. 2022. *Piriformospora indica* colonization promotes the root growth of *Dimocarpus longan* seedlings. *Scientia Horticulturae*. 301: 111137.
- Druege, U., Baltruschat, H., and Franken, P. 2007. *Piriformospora indica* promotes adventitious root formation in cuttings. *Scientia Horticulturae*. 112(4): 422-426.
- Fatiha, B., Didier, H., Naima, G., Khodir, M., Martin, K., Kamagaju Léocadie, K., Caroline, S., Mohamede, C. and Pierre, D. 2015. Phenolic composition, in vitro antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activity of three Algerian mentha species: *M. spicata* (L.), *M. pulegium* (L.) and *M. rotundifolia* (L.) Huds (Lamiaceae). *Industrial Crops and Products*. 74: 722 730.
- Forouzi, A., Ghasemnezhad, A., and Nasrabad, R.G. 2020. Phytochemical response of *Stevia* plant to growth promoting microorganisms under salinity stress. *South African journal of botany*. 134:109-118.
- Foss, K., Przybyłowicz, K.E., and Sawicki, T. 2022. Antioxidant activity and profile of phenolic compounds in selected herbal plants. *Plant Foods for Human Nutrition*. 77(3): 383-389.
- Gheshlaghpour, J., Asghari, B., Khademian, R., and Sedaghati, B. 2021. Silicon alleviates cadmium stress in basil (*Ocimum basilicum* L.) through alteration of phytochemical and physiological characteristics. *Industrial Crops and Products*. 163: 113338.
- Roby, M.H.H., Sarhan, M.A., Selim, K.A.H. and Khalel, K.I. 2013. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products*. 43: 827-831.
- Hasan, M.S., Selahvarzi, Y., Nabati, J., and Aziz, M. 2020. Effect of mycorrhiza fungi and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant capacity and some morphophysiological traits of medicinal marigold (*Calendula officinalis* Linn.) under drought stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*. 13(2): 425-440.

- Heydari, S., and Pirzad, A. 2021. Efficiency of *Funneliformis mosseae* and *Thiobacillus* sp. on the secondary metabolites (essential oil, seed oil and mucilage) of *Lallemantia iberica* under salinity stress. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 96(2): 249-259.
- Lajayer, B.A., Ghorbanpour, M., and Nikabadi, S. 2017. Heavy metals in contaminated environment: destiny of secondary metabolite biosynthesis, oxidative status and phytoextraction in medicinal plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 145: 377-390.
- Li, M., Ren, Y., He, C., Yao, J., Wei, M. and He, X., 2022. Complementary effects of dark septate endophytes and *Trichoderma* strains on growth and active ingredient accumulation of *Astragalus mongholicus* under drought stress. *Journal of Fungi*. 8(9): p.920.
- Lindström, K., and Mousavi, S.A. 2020. Effectiveness of nitrogen fixation in rhizobia. *Microbial biotechnology*. 13(5): 1314-1335.
- Lutts, S., Kinet, J.M. and Bouharmont, J. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annual Botany*. 78: 389-398.
- Lykkefeldt, J. 2007. Malondialdehyde as biomarker of oxidative damage to lipids caused by smoking. *Clinica chimica acta*. 380(1-2): 50-58.
- Manconi, M., Petretto, G., D'hallewin, G., Escibano, E., Milia, E., Pinna, R., Palmieri, A., Firoznejhad, M., Peris, J.E., Usach, I. and Fadda, A.M. 2018. *Thymus* essential oil extraction, characterization and incorporation in phospholipid vesicles for the antioxidant/antibacterial treatment of oral cavity diseases. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*. 171: 115-122.
- Manconi, M., Petretto, G., D'hallewin, G., Escibano, E., Milia, E., Pinna, R., and Manca, M.L. 2018. *Thymus* essential oil extraction, characterization and incorporation in phospholipid vesicles for the antioxidant/antibacterial treatment of oral cavity diseases. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 171: 115-122.
- Miraj, S. and Kiani, S. 2016. Study of pharmacological effect of *Thymus vulgaris*: A review. *Der Pharmacia Lettre*. 8: 315-320.
- Miransari, M., Mahdavi, S., and Smith, D. 2021. The biological approaches of altering the growth and biochemical properties of medicinal plants under salinity stress. *Applied microbiology and biotechnology*. 2: 1-13.
- Moghaddam, M., Farhadi, N., Panjtandoust, M., and Ghanati, F. 2020. Seed germination, antioxidant enzymes activity and proline content in medicinal plant *Tagetes minuta* under salinity stress. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*. 154(6): 835-842.
- Mohammadzadeh, S., and Pirzad, A. 2021. Biochemical responses of mycorrhizal-inoculated Lamiaceae (Lavender, Rosemary and Thyme) plants to drought: A field study. *Soil Science and Plant Nutrition*. 67(1): 41-49.
- Muradoglu, F., Gundogdu, M., Ercisli, S., Encu, T., Balta, F., Jaafar, H.Z., and Zia-Ul-Haq, M. 2015. Cadmium toxicity affects chlorophyll a and b content, antioxidant enzyme activities and mineral nutrient accumulation in strawberry. *Biological research*. 48: 1-7.
- Noora, H., Shahabivand, S., Karimi, F., Aghaee, A., and Aliloo, A.A. 2017. *Piriformospora indica* affects growth, tropane alkaloids production and gene expression in *Atropa belladonna* L. plantlets. *Medicinal Plants-International Journal of Phytomedicines and Related Industries*. 9(1): 55-62.
- Nunes-Alves, C., Nobrega, C., Behar, S.M., and Correia-Neves, M. 2013. Tolerance has its limits: how the thymus copes with infection. *Trends in immunology*. 34(10): 502-510.
- Patil, S.M., Ramu, R., Shirahatti, P.S., Shivamallu, C., and Amachawadi, R.G. 2021. A systematic review on ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacological aspects of *Thymus vulgaris* Linn. *Heliyon*. 7(5).
- Pham, A.C., Vo, T.C., Bui, T.D., Van, T.T.H., and Tran, D.Q. 2024. Evaluating Growth and Physiological Responses of a Medicinal Plant *Phyla nodiflora* to Salinity. *International Journal of Plant Biology*. 15(1): 187-197.

- Puvanitha, S., and Mahendran, S. 2017. Effect of salinity on plant height, shoot and root dry weight of selected rice cultivars. *Scholars Journal of Agriculture and Veterinary Sciences*. 4(4): 126-131.
- Roby, M.H.H., Sarhan, M.A., Selim, K.A.H., and Khalel, K.I. 2013. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products*. 43: 827-831.
- Sabzi-Nojadeh, M., Pouresmaeil, M., Amani, M., Younessi-Hamzekhanlu, M., and Maggi, F. 2024. Colonization of *Satureja hortensis* L. (Summer savory) with *Trichoderma harzianum* alleviates salinity stress via improving physio-biochemical traits and biosynthesis of secondary metabolites. *Industrial Crops and Products*. 208: 117831.
- Sairam, R.K., Rao, K.V., and Srivastava, G.C. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant science*. 163(5): 1037-1046.
- Saravanan, A., Kumar, P.S., Jeevanantham, S., Karishma, S., and Kiruthika, A.R. 2021. Photocatalytic disinfection of micro-organisms: Mechanisms and applications. *Environmental Technology and Innovation*. 24: 101909.
- Sherameti, I., Tripathi, S., Varma, A., and Oelmüller, R. 2008. The root-colonizing endophyte *Piriformospora indica* confers drought tolerance in Arabidopsis by stimulating the expression of drought stress-related genes in leaves. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 21(6): 799-807.
- Sun, B., Jing, R., Wang, Z., Tian, L., Mao, F., and Liu, Y. 2021. Diversity and community structure of endophytic Bacillus with antagonistic and antioxidant activity in the fruits of Xisha Wild Noni (*Morinda citrifolia* L.). *Microbial Pathogenesis*. 158: 105065.
- Taarit, M.B., 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(3): 333-337.
- Memari-Tabrizi, E.F., Yousefpour-Dokhanieh, A. and Babashpour-Asl, M. 2021. Foliar-applied silicon nanoparticles mitigate cadmium stress through physio-chemical changes to improve growth, antioxidant capacity, and essential oil profile of summer savory (*Satureja hortensis* L.). *Plant physiology and biochemistry*. 165: 71-79.
- Tang, W., and Newton, R.J. 2005. Polyamines reduce salt-induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in Virginia pine. *Plant Growth Regulation*. 46: 31-43.
- Tavakkoli, E., Rengasamy, P., and McDonald, G.K. 2010. High concentrations of Na⁺ and Cl⁻ ions in soil solution have simultaneous detrimental effects on growth of faba bean under salinity stress. *Journal of experimental botany*. 61(15): 4449-4459.
- Vadassery, J., Ritter, C., Venus, Y., Camehl, I., Varma, A., Shahollari, B., and Oelmüller, R. 2008. The role of auxins and cytokinins in the mutualistic interaction between Arabidopsis and *Piriformospora indica*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 21(10): 1371-1383.
- Verma, S., Negi, N.P., Pareek, S., Mudgal, G., and Kumar, D. 2022. Auxin response factors in plant adaptation to drought and salinity stress. *Physiologia Plantarum*. 174(3): e13714.
- Wu, W., Chen, W., Liu, S., Wu, J., Zhu, Y., Qin, L., and Zhu, B. 2021. Beneficial relationships between endophytic bacteria and medicinal plants. *Frontiers in plant science*. 12: 646146.
- Yaghoubian, Y., Goltapeh, E. M., Pirdashti, H., Esfandiari, E., Feiziasl, V., Dolatabadi, H.K., and Hassim, M.H. 2014. Effect of *Glomus mosseae* and *Piriformospora indica* on growth and antioxidant defense responses of wheat plants under drought stress. *Agricultural Research*. 3: 239-245.
- Yang, X., Li, T., Liu, Y., Gu, Y., Li, J., Wang, C., and Zhu, D. 2024. Bacillus sp. alone or combined with salicylic acid inhibited *Trichoderma* spp. infection on harvested white *Hypsizygus marmoratus*. *Frontiers in Microbiology*. 15: 1324833.
- Zarshenas, M. M., and Krenn, L. 2015. A critical overview on *Thymus daenensis* Celak.: phytochemical and pharmacological investigations. *Journal of integrative medicine*. 13(2): 91-98.