

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

A. Kamyab¹, D. Samsampour^{2*}, N. Ahmadinasab³, A. Bagheri⁴

¹ PhD student in Plant Breeding and Biotechnology in Horticultural Products, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

^{2*} Corresponding author, Assoc. Prof. Horticultural Science Department, Agriculture and Natural Resources College, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran. E-mail: samsampoor@hormozgan.ac.ir

³ Assist. Prof. Hormozgan Studies and Research Center, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

⁴ Assist. Prof. Plant Protection Research Department, Hormozgan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Abbas, Iran.

Received: 13.12.2023

Accepted: 12.05.2024

Extended Abstract

Background and Objectives

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

Methodology

In this experiment, sterilized *T. vulgaris* seeds were cultivated in trays containing autoclaved peat moss, and the seedlings were transferred to pots after two months. Six months after the transfer of the seedlings to pots, a solution was prepared using the endophytic fungus *A. niger*, and inoculations were performed on *T. vulgaris* plants. The spore count of *A. niger* in each Petri dish was determined using a Neubauer hemocytometer, with a concentration of approximately 10⁶ spores per milliliter (CFU/ml). The solution was then applied as a foliar spray to the aerial parts of the plants (10 ml) and injected into the soil around the roots (5 ml). After one month, a verification test was conducted to ensure the presence of the endophyte *A. niger* in the plants. Drought stress was applied using the weight method for three months. Morphological, physiological, and biochemical characteristics of *T. vulgaris* were evaluated. A factorial experiment was designed using a completely randomized design (CRD) with three replications. The drought treatments included four levels of drought stress (100%, 75%, 50%, and 25% of field capacity) and fungal endophyte inoculation at two levels (control and inoculated with *A. niger*).

Results

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



(8.40%), chlorophyll b (16%), and carotenoids (32.12%). Additionally, the presence of *A. niger* resulted in elevated levels of proline (13.72%) and soluble sugar (16.43%), along with a decrease in malondialdehyde content (45%), compared to non-inoculated plants under drought stress conditions.

Conclusion

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

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

اثر اندوفیت قارچی *Aspergillus niger* بر تحمل به خشکی در آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.)افسون کامیاب^۱، داود صمصامپور^{۲*}، نوید احمدی نسب^۳ و عبدالنبی باقری^۴

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

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

پست الکترونیک: samsampoor@hormozgan.ac.ir

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

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

بندرعباس، ایران

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

چکیده

سابقه و هدف: خشکی یکی از مهمترین تنش‌های غیرزیستی است که می‌تواند اثرهای مخرب شدیدی روی رشد و عملکرد گیاهان داشته باشد. اندوفیت‌ها ریزسازواره‌های مفیدی هستند که می‌توانند نقش مهمی در بقا و حفاظت از گیاهان در برابر تنش‌های غیرزیستی از جمله خشکی ایفا کنند. تنش خشکی می‌تواند رشد، نمو و عملکرد گیاهان را کاهش دهد. اندوفیت‌های قارچی به‌عنوان یکی از انواع ریزسازواره‌های همزیست با گیاهان، نقش مهمی در بهبود رشد و عملکرد گیاهان میزبان خود دارند. با توجه به مشکلات روزافزون کم‌آبی در ایران و نیاز به شناخت تیمارهای بیولوژیک برای تعدیل و افزایش تحمل گیاهان به تنش خشکی، این مطالعه به‌منظور بررسی اثر اندوفیت قارچی *Aspergillus niger* جدا شده از گیاه کلپوره (*Teucrium polium* L.) در بهبود رشد گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) تحت شرایط تنش خشکی انجام شد. مواد و روش‌ها: در این آزمایش، بذره‌های ضدعفونی شده آویشن در سینی‌های حاوی پیت‌ماس اتوکلاو شده کشت و پس از دو ماه به گلدان منتقل شدند. پس از شش ماه، در سه مرحله به‌طور هفتگی اندوفیت قارچی *A. niger*، به گیاهان آویشن تلقیح شدند. برای تلقیح اندوفیت قارچی *A. niger* به گیاهان، ابتدا با استفاده از لام نتوبار اسپورهای موجود در هر پتری‌دیش شمارش و با غلظت تقریباً $10^6 \times 1$ اسپور در هر واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر (CFU/ml) آماده و بعد به‌صورت محلول‌پاشی به اندام‌های هوایی (به میزان ۱۰ میلی‌لیتر) و تزریق به خاک اطراف ریشه (به میزان ۵ میلی‌لیتر) اعمال شدند. برای اطمینان از حضور اندوفیت‌ها پس از گذشت یک ماه از محلول‌پاشی، آزمون استقرار اندوفیت قارچی *A. niger* در گیاه انجام شد و بعد از آن تنش خشکی به‌روش وزنی به‌مدت سه ماه اعمال گردید و بعد صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه آویشن باغی ارزیابی گردید. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل چهار سطح تنش خشکی (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه) و فاکتور دوم تلقیح اندوفیت قارچی در دو سطح (عدم تلقیح (شاهد) و تلقیح با اندوفیت قارچی *A. niger*) بود.

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

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

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

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

مقدمه

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

در جریان تنش خشکی رطوبت به حدی می‌رسد که گیاه توانایی لازم را برای جذب آب با سرعت کافی برای جبران کاهش آب از طریق تبخیر و تعرق ندارد، از این‌رو بیشتر

فرایندهای رشد و نمو گیاه تحت تأثیر این تنش قرار می‌گیرد (Pandey et al., 2023). تأثیر تنش خشکی به مدت ۴ ماه در پنج سطح (۱۰۰، ۸۵، ۷۰، ۶۰ و ۴۵ درصد ظرفیت زراعی)، بر پارامترهای رشدی در گیاه نعنای فلفلی نشان داد که تنش خشکی کاهش معنی‌داری بر کلیه پارامترهای رشد و عملکرد گیاه داشت (Khorasaninejad et al., 2011). در مطالعه‌ای دیگر، اثر چهار فاصله آبیاری (۳، ۵، ۷ و ۱۰ روز) بر عملکرد چندین گونه آویشن، از جمله آویشن باغی بررسی شد. گیاهان آویشن باغی که فاصله آبیاری کمتری داشتند (سه روز یکبار)، دارای وزن خشک گیاه بیشتری نسبت به گیاهانی که دور آبیاری طولانی‌تری داشتند (۵، ۷ و ۱۰ روز یکبار) بودند (Moradi et al., 2014).

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

(*Helianthus tuberosus* L.) تحت شرایط تنش کم‌آبی با ۲۰ درصد پلی‌اتیلن‌گلیکول، نشان داد که اندوفیت‌ها صفات ریشه، زیست‌توده و عملکرد را در شرایط عادی و کمبود آب بهبود می‌بخشند (Namwongsa et al. 2019).

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

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

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

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

بعضی ریزسازواره‌ها به‌عنوان کودهای زیستی علائم تنش را به حداقل رسانده و با جذب عناصر سبب بهبود کیفیت خاک و محصولات کشاورزی شده (Dubey et al., 2021) و قادرند در مقابل کربوهیدراتی (منبع انرژی) که گیاه در اختیار اندوفیت قرار می‌دهد، عناصر غذایی و تحریک هورمون‌های محرک رشد مانند سایتوکینین‌ها و اکسین‌ها را برای گیاه فراهم کنند (Dubey et al., 2021). این همزیستی موجب افزایش رشد گیاه میزبان و افزایش تحمل به تنش‌ها ازجمله تنش خشکی می‌شود (Tufail et al., 2021). برخی از اندوفیت‌های قارچی و باکتریایی می‌توانند به‌طور قابل ملاحظه‌ای در تشکیل محصولات گیاهی و تقویت تحمل به تنش‌ها تأثیر بگذارند (Lata et al., 2018). در مطالعه تأثیر چهار سویه اندوفیت بر گیاه کنگرفرنکی

گردید. همچنین متابولیت‌های اولیه و ثانویه نیز در گیاهان تلقیح شده با اندوفیت مانند پروتئین‌ها، قندها، لیپیدها، فنل‌ها، فلاونوئیدها، پرولین، ایندول‌استیک اسید، اسیدجیرلیک، اسید-سالیسیلیک و اسیداسکوربیک نیز تحت تنش خشکی افزایش یافتند. در گندم‌های تیمار شده با اندوفیت قارچی *Piriformospora indica* در شرایط تنش خشکی فعالیت آنزیم‌های اکسیدانی مانند گایاکول‌پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات‌پراکسیداز افزایش یافت، اما سرعت پراکسیداسیون لیپیدها و میزان هیدروژن پراکسید کاهش یافت، در نتیجه افزایش مقاومت به تنش خشکی مشاهده گردید (Javed et al., 2022).

با توجه به اینکه تنش خشکی سبب بروز مشکلات جدی در کشاورزی می‌شود، به نظر می‌رسد که استفاده از اندوفیت‌های قارچی بتواند تا حدودی اثرهای منفی تنش خشکی را کاهش دهد و موجب بهبود عملکرد گیاه شود. بنابراین، این پژوهش با هدف سنجش توانایی تیمار اندوفیت قارچی *A. niger* در کاهش تنش خشکی در گیاه آویشن باغی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت گلخانه‌ای در پاییز سال ۱۴۰۰ اجرا گردید. برای انجام آزمایش از بذره‌های آویشن باغی (*T. vulgaris*) (ایران) که از شرکت رشد کشاورزی حاتم واقع در شهر شیراز خریداری شده بود استفاده گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل که فاکتور اول تنش خشکی در چهار سطح (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه) و فاکتور دوم اندوفیت قارچی در دو سطح شاهد (عدم تلقیح) و تلقیح با *A. niger* در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. اعمال تیمارهای تنش خشکی براساس روش وزنی انجام شد. در ابتدا، به مقدار یکسانی سنگریزه در کف هر گلدان ریخته شد (برای انجام زهکشی) و بعد با استفاده از ترازو، خاک درون هر گلدان به طور یکسان پر گردید (۷ کیلوگرم خاک در هر گلدان). سپس با افزودن آب، خاک هر گلدان به حد اشباع رسید و به مدت ۲۴ ساعت روی سطح مشبک قرار گرفت تا آب اضافی خاک زهکشی گردد. در این مرحله، وزن گلدان‌ها به سرعت ثابت شد و خاک آنها با دمای ۱۰۵ درجه به مدت ۴۸ ساعت کاملاً خشک شد. پس از تعیین

نظر می‌رسید آبیاری در هر تیمار انجام می‌شد. به منظور تلقیح بذره‌های آویشن، ابتدا قارچ مذکور جدا شده از گیاه کلپوره (*Teucrium polium* L.) روی محیط کشت PDA (Potato dextrose agar) به مدت سه هفته در انکوباتور با دمای 28 ± 1 درجه سانتی‌گراد کشت و نگهداری شد. با استفاده از میکروسکوپ نوری (مدل، Kernobn 132، آلمان) نوع دیواره، اسپور و آرایش آنها در اندوفیت قارچی استخراج شده بررسی گردید. اسپورهای اندوفیت قارچی *A. niger* با ده میلی-لیتر محلول آب‌توئین ۲۰ درصد در پتری‌دیش‌ها جمع‌آوری شدند. با استفاده از لام نئوبار اسپورهای موجود در هر پتری‌دیش شمارش و با غلظت تقریباً $10^6 \times 1$ اسپور در هر واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر (CFU/ml)، آماده و بعد استفاده شدند (Deshmukh et al., 2006).

بذره‌های آویشن ابتدا با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد در سینی‌های حاوی پیت‌ماس سترون کشت شدند. گیاهان آویشن پس از دو ماه از سینی‌های نشا به گلدان‌های با ابعاد 21×21 سانتی‌متر منتقل گردیدند. برای ایجاد بستر مناسب پیت‌ماس، ماسه بادی و کود پوسیده دامی باهم مخلوط و در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شدند. سپس در دمای ۳۲ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰-۶۰ درصد در گلخانه دانشگاه هرمزگان نگهداری شدند. گیاهان آویشن پس از طی شش ماه از زمان انتقال کشت، در دوره رشد رویشی و در سه مرحله به طور هفتگی مایه‌زنی (به صورت محلول‌پاشی به میزان ۱۰ میلی‌لیتر به اندام هوایی و تزریق به خاک اطراف ریشه به میزان ۵ میلی‌لیتر با استفاده

درصد TCA (تری کلرواستیک اسید) برای بلانک دستگاه استفاده شد (Du & Bramlage, 1992). داده‌های جمع‌آوری شده تجزیه واریانس شدند و مقایسه میانگین داده‌های مربوط حاصل از تیمار گیاهان با اندوفیت قارچی براساس آزمون LSD با سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ انجام و نمودارها در نرم‌افزار اکسل رسم گردید.

نتایج

صفات مورفولوژیک

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

محتوای نسبی آب برگ

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

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

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

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

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

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

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

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

* و **: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

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

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

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

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

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

رنگیزه‌های فتوسنتزی

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

پرولین

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

قارچی، در مقادیر خشکی متناظر، با شاهد تفاوت معنی‌دار داشتند. افزایش میزان قند محلول برگ در گیاهان همزیست با اندوفیت قارچی، در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشت (جدول ۳).

مالون‌دی‌آلدئید

اثر متقابل سطوح خشکی و اندوفیت قارچی *A. niger* بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. با اعمال تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی)، میزان مالون‌دی‌آلدئید افزایش یافت اما در بوته‌های تلقیح شده با اندوفیت قارچی *A. niger* میزان این پارامتر کاهش یافت. البته میزان مالون‌دی‌آلدئید در شرایط تنش شدید در حضور اندوفیت قارچی *A. niger* در مقایسه با شاهد کاهش (۴۵ درصد) یافت (جدول ۴).

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

قند محلول برگ

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

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

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

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

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

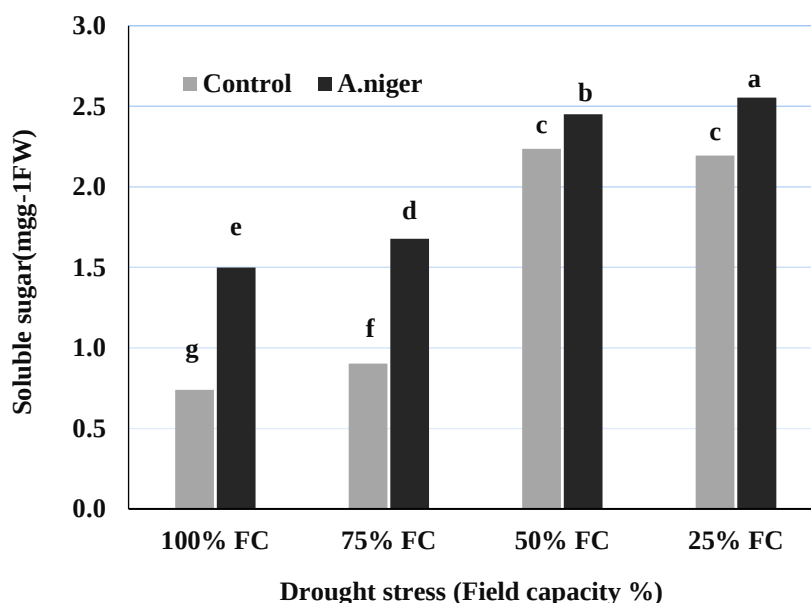
* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر سطوح خشکی و اندوفیت قارچی (*A. niger*) بر صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی آویشن (*T. vulgaris*)
Table 4. Comparison of the mean effect of drought levels and fungal endophyte (*A. niger*) on physiological and biochemical characteristics of *T. vulgaris*

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

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

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



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

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

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

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

بحث

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

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

تأثیر تلقیح اندوفیت‌های قارچی *A. fumigatus* و *Terreus* در گیاهان گوجه فرنگی (Halo et

(2023). گیاهان با تجمع کاروتنوئید سبب کنترل سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی و نیز افزایش عملکرد سازوکار فلورسنس کلروفیل در تنفس نوری و زنجیره انتقال الکترون می شوند (Telfer, 2014). اندوفیت های قارچی از راه های متفاوت مانند افزایش آنزیم های آنتی اکسیدانی و حفظ رنگیزه های کلروفیلی موجب افزایش تحمل گیاه به تنش می گردند (Zarea et al., 2012). اعمال اندوفیت قارچی *A. niger* بر گیاهان تحت تنش پونه (*Mentha pulegium* L.) سبب افزایش محتوای رنگیزه های فتوسنتزی، قدرت آنتی اکسیدانی و مقاومت گیاه در مقابل تنش کم آبی شد و در نهایت منجر به تقویت رشد گیاه گردید که با یافته های این پژوهش مطابقت دارد (Zare Hassanabadi et al., 2020).

میزان پرولین تحت تنش کم آبی نسبت به سایر آمینو اسیدها در گیاهان، سریع تر بالا می رود، از این رو به عنوان شاخص ارزیابی برای برنامه ریزی آبیاری و برای انتخاب وارسته های مقاوم به خشکی پیشنهاد شده است (Mehrasa et al., 2022). تأثیر اندوفیت قارچی *A. niger* بر افزایش میزان پرولین گیاهان تلقیح شده توسط محققان در گندم (Bashir et al., 2022) و کلم (Qadir et al., 2023) که تحت تنش بوده اند گزارش شده است که نتایج مشابهی با این پژوهش دارند.

افزایش میزان قند محلول سبب مقاومت گیاه در برابر تنش خشکی می گردد (Sebastiana et al., 2018). در شرایط خشکی گلوز سبب بسته شدن روزنه ها شده و از اکسیداسیون غشای سلولی از طریق انباشت قند جلوگیری می کند (Sapre et al., 2018). اندوفیت های قارچی با کاهش فعالیت های آنتی اکسیدانی سبب افزایش قندها می شوند و به دنبال آن با حفظ محتوای نسبی آب برگ، سبب تنظیم اسمزی می گردند (Cohen et al., 2015). در این پژوهش افزایش میزان قند محلول به دلیل تأثیر اندوفیت قارچی *A. niger* بسیار مشهود است که علت آن می تواند افزایش سطح هورمون های گیاهی به ویژه سائتوکنین ها باشد، زیرا این هورمون ها با انتقال یون های مؤثر در باز شدن روزنه و تنظیم سطوح رنگیزه های فتوسنتزی سبب افزایش سرعت فتوسنتز و افزایش محتوای

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

در این پژوهش از رابطه بین گیاه و اندوفیت قارچی *A. niger* مشاهده شد که جذب آب و ظرفیت آب برگ در گیاه افزایش یافت. در مطالعات مشابه، کلونیزاسیون اندوفیت قارچی *A. niger* سبب افزایش ظرفیت آب برگ و بهبود رشد گیاه گردید (Chandrasekaran et al., 2019) که با نتایج این پژوهش همسو می باشد. محتوای نسبی آب برگ در گیاهان بهترین معیار برای تشخیص وضعیت آب در گیاهان است (Altaf et al., 2021)، زیرا با میزان تعرق گیاه نسبت عکس دارد و سایر فعالیت های متابولیکی گیاه را نیز تحت تأثیر قرار می دهد (Madouh & Quoreshi, 2023). دلیل کاهش میزان رنگیزه ها تحت تنش خشکی، آزاد شدن گونه های فعال اکسیژن از سلول های گیاهی است که می تواند باعث آسیب به غشای سلول های گیاهی به دلیل تجزیه پروتئین ها، تخریب کلروفیل و اکسیداسیون رنگدانه شود. زیرا تنش های غیرزیستی با از بین بردن آنزیم هایی که مسئول تولید انواع رنگیزه ها هستند سبب کاهش رنگیزه ها می شوند (Lata et al., 2018).

در گوجه فرنگی محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها تحت تلقیح اندوفیت های قارچی *A. terreus* و *A. fumigatus* افزایش یافت (Halo et al., 2023). مطالعات پیشین نشان داد که اندوفیت قارچی *P. indica* سبب افزایش فلورسانس کلروفیل و میزان محتوای کلروفیل در آفتابگردان شد که با نتایج این پژوهش همسو می باشد (Shahabivand et al., 2017). در مطالعه ای دیگر اندوفیت قارچی *P. indica* سبب افزایش میزان کلروفیل در چمن فستوکا پابلند (*Festuca arundinacea*) گردید (Mirzaei Mashhood et al., 2022). به علاوه، اندوفیت های قارچی با افزایش ظرفیت جذب آب، سبب جذب بهتر ریزمغذی هایی که در تشکیل کلروفیل دخیل هستند، می شوند (Chieb & Gachomo,

و حفظ تعادل اکسیداتیو در سلول‌ها می‌شود (Maheshwari & Dheeman, 2021).

نتیجه‌گیری کلی

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

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

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

References

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

- Contribution of *Arbuscular Mycorrhizal* and Endophytic Fungi to Drought Tolerance in *Araucaria araucana* Seedlings. *Plants*, 12(11): 2116.
- Chieb, M., & Gachomo, E. W., 2023. The role of plant growth promoting rhizobacteria in plant drought stress responses. *BMC Plant Biology*, 23(1): 407.
 - Cohen, A. C., Bottini, R., Pontin, M., Berli, F. J., Moreno, D., Boccanlandro, H., Travaglia, C. N., & Piccoli, P. N., 2015. *Azospirillum brasilense* ameliorates the response of *Arabidopsis thaliana* to drought mainly via enhancement of ABA levels. *Physiologia Plantarum*, 153(1): 79-90.
 - Deshmukh, S., Hüchelhoven, R., Schäfer, P., Imani, J., Sharma, M., Weiss, M., Waller, F., & Kogel, K.-H., 2006. The root endophytic fungus *Piriformospora indica* requires host cell death for proliferation during mutualistic symbiosis with barley. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(49): 18450-18457.
 - Du, Z., & Bramlage, W. J., 1992. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(9): 1566-1570.
 - Dubey, A., Saiyam, D., Kumar, A., Hashem, A., AbdAllah, E. F., & Khan, M. L., 2021. Bacterial root endophytes: Characterization of their competence and plant growth promotion in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) under drought stress. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(3): 931.
 - Dauqan, E. M., & Abdullah, A., 2017. Medicinal and functional values of thyme (*Thymus vulgaris* L.) herb. *Journal of applied biology and biotechnology*, 5(2): 017-022.
 - Javed, J., Rauf, M., Arif, M., Hamayun, M., Gul, H., Ud-Din, A. & Lee, I. J. 2022. Endophytic fungal consortia enhance basal drought tolerance in *Moringa oleifera* by upregulating the antioxidant enzyme (APX) through Heat shock factors. *Antioxidants*, 11(9): 1669.
 - Halo, B. A., Al-Yahyai, R., Al-Sadi, A., & Al-Sibani, A., 2023. Desert endophytic fungi improve reproductive, morphological, biochemical, yield and fruit quality characteristics of tomatoes under drought stress. *Arab Gulf Journal of Scientific Research*. 41(4): 638-655.
 - Hayatu, M., Muhammad, S., & Abdu, H. U., 2014. Effect of water stress on the leaf relative water content and yield of some cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp.) genotype. *International Journal of Scientific & Technology Research* 3(7).
 - Hosseini, S. M., Kafi, M., & Arghwani, M., 2016. Effect of salicylic acid on physiological and morphological characteristics of *Lolium perenne* cv. Numan under drought stress. *Horticultural Sciences of Iran*, 47(2): 167-176. (In Persian).
 - Kaur, R., & Saxena, S., 2023. Evaluation of drought-tolerant endophytic fungus *Talaromyces purpureogenus* as a bioinoculant for wheat seedlings under normal and drought-stressed circumstances. *Folia Microbiologica*, 68(5): 781-799.
 - Khorasaninejad, S., Mousavi, A., Soltanloo, H., Hemmati, K., & Khalighi, A., 2011. The effect of drought stress on growth parameters, essential oil yield and constituent of Peppermint (*Mentha piperita* L.). *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(22): 5360-5365.
 - Lata, R., Chowdhury, S., Gond, S. K., & White Jr, J. F., 2018. Induction of abiotic stress tolerance in plants by endophytic microbes. *Letters in applied microbiology*, 66(4): 268-276.
 - Li, W., Yao, J., He, C., Ren, Y., Zhao, L., & He, X., 2023. The synergy of dark septate endophytes and organic residue on *Isatis indigotica* growth and active ingredients accumulation under drought stress. *Industrial Crops and Products*, 203:117147.
 - Lichtenthaler, H. K., & Buschmann, C., 2001. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV- VIS spectroscopy. *Current protocols in food analytical chemistry*, 1(1): F4-3.
 - Madouh, T. A., & Qureshi, A. M., 2023. The function of *arbuscular mycorrhizal* fungi associated with drought stress resistance in native plants of arid desert ecosystems: A review. *Diversity*, 15(3): 391.
 - Maheshwari, D. K., & Dheeman, S., 2021. *Endophytes: Mineral Nutrient Management*, Volume 3. Springer.
 - Mathur, P., Chaturvedi, P., Sharma, C., & Bhatnagar, P., 2022. Improved seed germination and plant growth mediated by compounds synthesized by endophytic *Aspergillus niger* (isolate 29) isolated from *Albizia lebbek* (L.) Benth. 3 *Biotech*, 12(10): 271.
 - Medina, A., Roldán, A., & Azcón, R., 2010. The effectiveness of arbuscular-mycorrhizal fungi and *Aspergillus niger* or *Phanerochaete chrysosporium* treated organic amendments from olive residues upon plant growth in a semi-arid degraded soil. *Journal of Environmental Management*, 91(12): 2547-2553.
 - Mehra, H., Farnia, A., Kenarsari, M. J., & Nakhjavan, S., 2022. Endophytic bacteria and SA application improve growth, biochemical properties, and nutrient uptake in white beans under drought stress. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 22(3): 3268-3279.
 - Mirzaei Mashhood, M., Rezapour Fard, J., Barin, M., Alipour, H., & Jabarzadeh, Z., 2022. Evaluation of the effect of endophytic fungus *Piriformospora indica* symbiosis on improving growth characteristics of tall fescue (*Festuca arundinacea* cv. Tomahawk) under

- drought stress. *Plant Production Research*, 29(4): 141-164. (In Persian).
- Mohammadi, H., Nikjoyan, J., hazrati, S., & Hashempour, H., 2020. improvement of yield and phytochemical compounds of *Thymus vulgaris* through foliar application of salicylic acid under water stress. *Agriculture & Forestry/Poljoprivreda Sumarstvo*, 66(1).
 - Moradi, P., Ford-Lloyd, B., & Pritchard, J., 2014. Plant-water responses of different medicinal plant thyme (*Thymus* spp.) species to drought stress condition. *Australian Journal of Crop Science*, 8(5): 666-673.
 - Morgan, J. A., 1984. Interaction of water supply and N in wheat. *Plant Physiology*, 76(1): 112-117.
 - Mozaffari, S., & Gorgini Shabankareh, H. 2016. Effects of Irrigation content based on field capacity percent and Humic acid on morphophysiological traits on medicinal plant (*Portulaca oleracea* L.). *Journal of Crop Production*, 9(3): 153-175.
 - Namwongsa, J., Jogloy, S., Vorasoot, N., Boonlue, S., Riddech, N., & Mongkolthanaruk, W., 2019. Endophytic bacteria improve root traits, biomass and yield of *Helianthus tuberosus* L. under Normal and Deficit Water conditions. *Jour. Microbiol. Biotechnol.* 29(11): 1777-1789
 - Narayanasamy, S., Thankappan, S., Kumaravel, S., Ragupathi, S., & Uthandi, S., 2023. Complete genome sequence analysis of a plant growth-promoting phylloplane *Bacillus altitudinis* FD48 offers mechanistic insights into priming drought stress tolerance in rice. *Genomics*, 115(1): 110550.
 - Okorie, V. O., Mphambukeli, T. N., & Amusan, S. O., 2019. Exploring the political economy of water and food security nexus in BRICS. *Africa Insight*, 48(4): 21-38.
 - Pandey, J., Devadasu, E., Saini, D., Dhokne, K., Marriboina, S., Raghavendra, A. S., & Subramanyam, R., 2023. Reversible changes in structure and function of photosynthetic apparatus of pea (*Pisum sativum*) leaves under drought stress. *The Plant Journal*, 113(1): 60-74.
 - Qadir, M., Hussain, A., Shah, M., Hamayun, M., Iqbal, A., & Nadia, 2023. Enhancement of chromate phytoremediation and soil reclamation potential of *Brassica campestris* L. by *Aspergillus niger*. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(4): 9471-9482.
 - Rasheed, A., Zhao, L., Raza, A., Mahmood, A., Xing, H., Lv, X., Saeed, H., Alqahtani, F. M., Hashem, M., & Hassan, M. U., 2023. Role of Molecular Breeding Tools in Enhancing the Breeding of Drought-Resilient Cotton Genotypes: An Updated Review. *Water*, 15(7): 1377.
 - Reddy, V. P., 2014. Review on *Thymus vulgaris* Traditional Uses and Pharmacological Properties. *Medicinal & Aromatic Plants*, 3(3): 2167-0412.
 - Salehi, B., Abu-Darwish, M. S., Tarawneh, A. H., Cabral, C., Gadetskaya, A. V., Salgueiro, L., Hosseinabadi, T., Rajabi, S., Chanda, W., & Sharifi-Rad, M. 2019. *Thymus* spp. Plants-Food applications and phytopharmacy properties. *Trends in Food Science & Technology*, 85: 287-306.
 - Sangamesh, M., Jambagi, S., Vasanthakumari, M., Shetty, N. J., Kolte, H., Ravikanth, G., Nataraja, K. N., & Uma Shaanker, R., 2018. Thermotolerance of fungal endophytes isolated from plants adapted to the Thar Desert, India. *Symbiosis*, 75: 135-147.
 - Sapre, S., Gontia-Mishra, I., & Tiwari, S. 2018. *Klebsiella* sp. confers enhanced tolerance to salinity and plant growth promotion in oat seedlings (*Avena sativa*). *Microbiological Research*, 206: 25-32.
 - Schuster, E., Dunn-Coleman, N., Frisvad, J., & Van Dijck, P. 2002. On the safety of *Aspergillus niger*—a review. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59: 426-435.
 - Sebastiana, M., da Silva, A. B., Matos, A. R., Alcântara, A., Silvestre, S., & Malhó, R., 2018. Ectomycorrhizal inoculation with *Pisolithus tinctorius* reduces stress induced by drought in cork oak. *Mycorrhiza*, 28: 247-258.
 - Shahabivand, S., Parvaneh, A., & Aliloo, A. A., 2017. Root endophytic fungus *Piriformospora indica* affected growth, cadmium partitioning and chlorophyll fluorescence of sunflower under cadmium toxicity. *Ecotoxicology and environmental safety*, 145: 496-502.
 - Shukla, N., Awasthi, R., Rawat, L., & Kumar, J., 2012. Biochemical and physiological responses of rice (*Oryza sativa* L.) as influenced by *Trichoderma harzianum* under drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 54: 78-88.
 - Silva, A. S., Tewari, D., Sureda, A., Suntar, I., Belwal, T., Battino, M., Nabavi, S. M., & Nabavi, S. F., 2021. The evidence of health benefits and food applications of *Thymus vulgaris* L. *Trends in Food Science & Technology*, 117: 218-227.
 - Telfer, A. 2014., Singlet oxygen production by PSII under light stress: mechanism, detection and the protective role of β -carotene. *Plant and Cell Physiology*, 55(7): 1216-1223.
 - Tufail, M. A., Touceda-González, M., Pertot, I., & Ehlers, R.-U., 2021. *Gluconacetobacter diazotrophicus* Pa5 enhances plant robustness status under the combination of moderate drought and low nitrogen stress in *Zea mays* L. *Microorganisms*, 9(4): 870.
 - Yaghoobian, Y., Goltapeh, E. M., Pirdashti, H., Esfandiari, E., Feiziasl, V., Dolatabadi, H. K., Varma,

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