

Induction of Salinity Tolerance in Maize (*Zea mays*) Using the Endophytic Fungus *Penicillium chrysogenum* Isolated from *Bassia scoparia*

F. Ebrahimifar, F. Shahriari, M. K. Herati, A. Seifi*

1- Department of Biotechnology and Crop Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

*Corresponding Author Email: arseifi@um.ac.ir

Introduction

Soil salinity is a major abiotic stress limiting agricultural productivity worldwide. Since breeding crops to increase tolerance to abiotic stresses is very difficult due to the complexity of inheritance of traits related to tolerance to these stresses, in recent years, non-breeding or non-transgenic approaches such as the use of symbiotic microorganisms in plants have been considered, which has led to increased tolerance to abiotic stresses and achieved promising results. Plants have distinct microbial communities in their different organs. There is a lot of evidence about the role of the microbiome in growth, development, response to biotic and abiotic stresses, and increased adaptation to the environment. This study investigated the potential of *Penicillium chrysogenum*, an endophytic fungus isolated from seeds of the halophyte *Bassia scoparia*, to improve salinity tolerance in maize (*Zea mays* L.). Halophyte-associated microbes have shown remarkable ability to confer stress tolerance to crops, but the mechanisms remain poorly understood. Our research aimed to (1) characterize the salt tolerance of *P. chrysogenum*, (2) evaluate its effects on maize growth under salt stress, and (3) analyze physiological responses in inoculated plants.

Materials and Methods

The fungal strain was isolated from surface-sterilized *B. scoparia* seeds collected from saline regions in Iran. Molecular identification was performed using ITS sequencing. The salinity tolerance of fungi was evaluated on PDA medium containing 0-4 M NaCl. Maize seeds (cv. Hido) were inoculated with fungal spores and grown under controlled conditions with three salinity levels (0, 30, 60 mM NaCl). Then, greenhouse tests were conducted under two treatments of 150 mM NaCl and normal irrigation. Drought tests were also conducted on plants in the greenhouse. Growth parameters (germination rate, root length, biomass), ion content (Na^+ , K^+), and photosynthetic parameters were measured. Experiments included laboratory, growth chamber, and greenhouse trials with five replicates per treatment. Data were analyzed using ANOVA and Tukey's test ($p < 0.05$).

Results and Discussion

In this study, an endophytic fungus, likely *Penicillium chrysogenum*, was isolated from the seed microbiome of the halophyte *B. scoparia*. This fungus exhibited optimal growth at 1 M NaCl, indicating halotolerance. Although it did not significantly affect seed germination, fungal inoculation improved early seedling growth traits and biomass under both saline and normal conditions. Greenhouse experiments confirmed its positive effects on shoot and root development under salt stress, while no beneficial effects were observed under drought conditions.

Interestingly, photosynthetic performance and Na^+/K^+ ratios remained unchanged in inoculated plants, suggesting that the fungus may enhance salt tolerance through mechanisms such as salt detoxification or antioxidant enhancement rather than altering ion uptake. Given the fungus's native origin and its potential role in stress adaptation, *P. chrysogenum* represents a promising candidate for developing biological solutions to improve crop resilience in saline environments. Further field trials and molecular studies are recommended to optimize its application.

Conclusion

This study demonstrated that *Penicillium chrysogenum*, an endophytic fungus isolated from the halophyte *B. scoparia*, can promote maize growth under salt stress. Despite no significant effect on germination rate, fungal inoculation improved seedling establishment and biomass production in both normal and saline conditions. The fungus showed halotolerance and may enhance salt stress resilience through mechanisms unrelated to ion uptake, potentially involving detoxification pathways or antioxidant activity. Given its native origin and efficacy under saline conditions, *P. chrysogenum* holds potential as a bio-inoculant for improving crop performance in salt-affected soils. Further field trials and molecular studies are recommended to better understand and harness its functional mechanisms.

Keywords: Biomass, Halophytes, Osmotic stress, Seed microbiome

القای تحمل به شوری در گیاه ذرت در حضور قارچ اندوفیت *Penicillium chrysogenum* جدا شده از بذر کوشیا (*Bassia scoparia* (L.))

فرناز ابراهیمی فر^۱، فرج الله شهریاری^۱، محمدکریم هراتی^۱، علیرضا سیفی^{۱*}

۱- گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: arseifi@um.ac.ir

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی تأثیر قارچ اندوفیت *Penicillium chrysogenum* جدا شده از بذر گیاه مقاوم به شوری کوشیا (*Bassia scoparia*)، بر بهبود به تحمل شوری در ذرت (*Zea mays*) انجام شد. پس از شناسایی مولکولی قارچ، تحمل آن به شوری در محیط کشت دارای NaCl (۰ تا ۴ مولار) ارزیابی شد. بیشترین رشد قارچ در غلظت ۱ مولار NaCl مشاهده گردید. بذور ذرت با اسپورهای قارچ تلقیح و در شرایط بدون شوری و شرایط تنش شوری (۱۵۰ میلی‌مولار NaCl) در آزمایشگاه، اتاقک رشد و گلخانه کشت شدند. نتایج نشان داد تلقیح قارچ موجب افزایش معنی‌دار در طول ریشه و وزن تر و خشک گیاه شد. در گلخانه، وزن تر اندام هوایی و ریشه در گیاهان تلقیح‌شده به ترتیب ۲۲۳ و ۱۳۸ درصد افزایش یافت. اما تحت تنش خشکی، قارچ اثر منفی بر رشد ذرت داشت. هیچ تفاوت معنی‌داری در غلظت سدیم، پتاسیم و پارامترهای فتوسنتزی بین گیاهان تلقیح‌شده و

شاهد مشاهده نشد. به نظر می‌رسد مکانیسم اثر قارچ شامل تنظیم غیرمستقیم فیزیولوژیکی مانند بهبود جذب عناصر غذایی، تولید ترکیبات محرک رشد یا تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با تحمل تنش است. این تحقیق استفاده از اندوفیت‌های بومی مانند *P. chrysogenum* را به عنوان راهکاری زیستی برای بهبود عملکرد گیاهان در خاک‌های شور پیشنهاد می‌کند.

کلمات کلیدی: تنش اسمزی، زیست توده، میکروبیوم بذر، هالوفیت‌ها

مقدمه

شوری خاک یک چالش زیست‌محیطی بحرانی است که بر اساس آمار فائو، عاملی محدودکننده برای کشاورزی در تقریباً ۲۰ درصد از اراضی زراعی جهان محسوب می‌شود (FAO, 2021). تنش شوری با کاهش پتانسیل آب در خاک و برهم زدن تعادل یونی و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن^۱ در گیاه، فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه را مختل کرده و در نهایت باعث کاهش رشد و عملکرد محصول می‌شود (Nusrat Bibi et al., 2019; Zeng et al., 2023). افزایش غلظت یون‌های سدیم و کلر در خاک، جذب یون‌های ضروری مانند پتاسیم و کلسیم را کاهش می‌دهد و این عدم تعادل یونی عملکرد آنزیم‌ها و فرآیندهای متابولیکی گیاه را مختل می‌کند (Isayenkov & Maathuis, 2019). در واکنش به این شرایط، گیاهان با فعال‌سازی مجموعه‌ای از سازوکارهای زیستی و مولکولی تلاش می‌کنند اثرات تنش شوری را کاهش دهند (Ahmed et al., 2024).

ذرت (*Zea mays* L.) یکی از مهمترین غلات در سراسر جهان است که به عنوان منبع اصلی غذا، خوراک دام و مواد خام صنعتی استفاده می‌شود و نقش مهمی در امنیت غذایی ایفا می‌کند (Ranum et al., 2014). تنش‌های محیطی به‌ویژه شوری خاک در مناطق خشک و نیمه‌خشک تأثیر چشمگیری بر کاهش عملکرد ذرت دارند (Farooq et al., 2015). اصلاح گیاهان زراعی به منظور افزایش تحمل به تنش‌های غیرزیستی به دلیل پیچیدگی وراثت صفات مرتبط با تحمل به این تنش‌ها دشوار است (Zafar et al., 2017). در سال‌های اخیر، راهکارهای غیرژنتیکی مانند استفاده از میکروارگانیسم‌های همزیست برای افزایش تحمل به تنش‌های غیرزیستی در گیاهان مورد توجه قرار گرفته‌اند (Rodriguez et al., 2008). گیاهان در اندام‌های مختلف خود اجتماعات میکروبی متمایزی دارند که به مجموعه این میکروارگانیسم‌ها میکروبیوتا گفته می‌شود (Bulgarelli et al., 2013; Trivedi et al., 2020). شواهد زیادی درباره نقش میکروبیوتا در رشد، نمو، پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی و افزایش سازگاری با محیط وجود دارد (Paasch & He, 2021). به عنوان مثال، از باکتری *Bacillus pumilus* به عنوان یک باکتری محرک رشد گیاهی در شرایط تنش شوری شناخته شده است که با بهبود رشد برنج و ارتقای سلامت خاک، به کاهش اثرات منفی تنش شوری کمک می‌کند (Kumar et al., 2021). قارچ *Penicillium funiculosum* با تولید اسیدهای آلی و تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه، موجب بهبود رشد گیاه کینوا در شرایط شوری شده است (Jin et al., 2022).

^۱ROS: Reactive Oxygen Species

امروزه مشخص شده است که بذرها حاوی میکروارگانیزم‌های مفید گیاهی هستند که بسیاری از آنها به‌طور مستقیم و غیرمستقیم در فرآیندهای فیزیولوژیکی پایه مانند خواب بذر، سازگاری با محیط، مقاومت و تحمل به بیماری‌ها و بهبود رشد نقش دارند (Verma et al., 2019). قارچ‌های اندوفیت به‌صورت همزیست درون بذرها حضور دارند و می‌توانند به‌طور مؤثری رشد گیاه و تحمل آن نسبت به تنش‌های محیطی را افزایش دهند (Zhong et al., 2024). به‌عنوان نمونه، قارچ اندوفیت *Epichloë bromicola* با جو وحشی مقاوم به شوری (*Hordeum brevisubulatum*) رابطه همزیستی پایدار برقرار می‌کند. این قارچ با ایجاد تغییرات آناتومیکی مانند تقویت ساختارهای سلولی و اصلاح پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه در مواجهه با تنش شوری، از جمله افزایش ارتفاع گیاه، بیوماس ساقه، سطح کلروفیل و تجمع متابولیت‌های سازگار با تنش، نقش مؤثری در افزایش تحمل گیاه به شوری ایفا می‌کند (Wang et al., 2022).

اندوفیت‌های منتقل‌شونده از طریق بذر به‌دلیل توانایی تولید فیتوهورمون‌ها، آنزیم‌ها، ترکیبات ضد میکروبی و سایر متابولیت‌های ثانویه مورد توجه هستند (Shahzad et al., 2018) که با ترشح آلکالوئیدهای ضد قارچ و آفت‌کش‌ها گیاهان را در برابر انواع بیماری و آفات مقاوم می‌کنند (Dey et al., 2022). تاکنون، قارچ‌های اندوفیت متعددی مرتبط با بذرها، گیاهان در میزبان‌های مختلف مانند برنج، ذرت، کینوا، جو، گندم، سویا، انگور، کدو، بارهنگ و صنوبر شناسایی شده‌اند (Dos Reis et al., 2022; Nečajeva et al., 2023). فراوانترین آنها متعلق به شاخه‌های آسکومیست و بازیدیومیست هستند و عمدتاً شامل جنس‌های *Phomopsis*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Talaromyces*, *Rhizoctonia*, *Mucor*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Alternaria*, *Paecilomyces*, *Colletotrichum*, *Cercospora* می‌باشند (Zhong et al., 2024). به‌عنوان مثال، سویه *Penicillium sp.* NAUSF2 در شرایط تنش شوری با افزایش انحلال فسفات و تولید فیتوهورمون‌ها و سیدروفورها، موجب بهبود رشد گیاه ماش می‌شود (Patel et al., 2021). همچنین قارچ اندوفیت *Porostereum spadiceum* AGH786 با تولید جیبرلین، تحمل سویا به شوری را افزایش داده و رشد آن را با تنظیم هورمون‌ها و افزایش ایزوفلاون‌های مفید بهبود می‌بخشد (Hamayun et al., 2017).

استفاده از میکروبیوم‌های مقاوم گیاهی یک راهکار بیوتکنولوژیکی پایدار^۱ برای افزایش بهره‌وری محصولات و مواد غذایی تحت شرایط تنش محیطی است (Zhang et al., 2022). گیاهان هالوفیت، گروهی از گیاهان مقاوم به شوری هستند که توانایی رشد و تولیدمثل در محیط‌هایی با غلظت بالای نمک را دارند. این گیاهان از طریق مکانیسم‌هایی مانند تنظیم اسمزی، دفع یون‌های سمی، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و تنظیم بیان ژن، قادر به بقا در شرایط شدید شوری هستند (Flowers et al., 2015). یکی از گونه‌های برجسته در میان هالوفیت‌ها، *Bassia scoparia* (کوشیا) است؛ گیاهی یک‌ساله با قابلیت تحمل بالا به شوری و خشکی که به‌طور گسترده در زیستگاه‌های شور و نیمه‌خشک رشد می‌کند (Kumar et al., 2021). جوانه‌زنی این گیاه حتی در غلظت‌های بسیار بالای نمک (تا ۸۰۰ میلی‌مولار NaCl) نیز موفقیت‌آمیز گزارش شده و رشد گیاهچه‌های آن تا ۶۰۰ میلی‌مولار شوری تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد (Khan et al., 2009). علاوه بر این، گیاه بالغ قادر به تحمل و بقا در سطوح شوری بیش از ۱۸۰۰ میلی‌مولار است، اگرچه با کاهش رشد همراه است (Gul et al., 2010). ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی منحصر به فرد این گیاه، از جمله توانایی

^۱sustainable biotechnological approach

ذخیره یون سدیم در واکوئل‌ها، عملکرد سلولی آن را تحت شرایط شوری حفظ می‌کند و این امر آن را به منبعی ارزشمند برای جداسازی میکروارگانیزم‌های همزیست، به‌ویژه اندوفیت‌های قارچی مقاوم به شوری، تبدیل کرده است (Munns & Tester, 2008; Zeng et al., 2023).

گیاهان هالوفیت به دلیل زیست در محیط‌های شور، میزبان جمعیت‌های متنوعی از میکروارگانیزم‌های همزیست از جمله اندوفیت‌ها هستند که به طور طبیعی با شرایط تنش‌زا مانند شوری سازگار شده‌اند. این اندوفیت‌ها می‌توانند نقش مؤثری در بهبود رشد و افزایش تحمل گیاهان زراعی نسبت به تنش‌های محیطی ایفا کنند. در مطالعه‌ای، فورتادو و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی اندوفیت‌های باکتریایی جدا شده از گیاه هالوفیت *Salicornia europaea* پرداختند و نشان دادند که تلقیح گندم با سویه‌های منتخب این اندوفیت‌ها منجر به بهبود رشد ریشه و ساقه، افزایش سطح کلروفیل و افزایش تحمل به شوری شد (Furtado et al., 2019). این نتایج بیانگر آن است که اندوفیت‌های جدا شده از گیاهان هالوفیت می‌توانند به عنوان ابزار زیستی مؤثری برای القاء تحمل به گیاهان زراعی در برابر شوری مورد استفاده قرار گیرند (Etesami & Beattie, 2017). مطالعه حاضر با هدف جداسازی و شناسایی قارچ‌های اندوفیت بذر گیاه *Bassia scoparia* و ارزیابی توان آن‌ها در بهبود رشد گیاه ذرت تحت شرایط تنش شوری، با بهره‌گیری از پتانسیل میکروبیوم‌های اندوفیتی بذر انجام شده است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

دو توده بذر کوشیا از یزد و سبزواری مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی شیراز دریافت شد. همچنین، بذر ذرت هیبرید رقم هیدو (Hido) از مزرعه دانشگاه فردوسی مشهد تهیه گردید. کلیه فعالیت‌ها و آزمایش‌ها در محل آزمایشگاه زیست فناوری کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۴۰۲ تا ۱۴۰۳ انجام شد.

جداسازی و شناسایی میکروبیوم اندوفیت بذر

برای جداسازی میکروبیوم اندوفیت بذر کوشیا، ۵۰ میلی‌گرم بذر در اتانول ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه و سپس در هیپوکلریت سدیم دو درصد به مدت ۱۰ دقیقه برای ضدعفونی سطحی غوطه ور شدند و در نهایت پنج مرتبه با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. بذور ضدعفونی شده با ۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۹٪ NaCl استریل در هاون چینی استریل کوبیده شد. از این عصاره رقت‌های 10^{-2} و 10^{-4} ، تهیه و ۱۰۰ میکرولیتر از آن روی پلیت‌های ۸ سانتیمتری حاوی محیط‌های LB یا PDA (دارای آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل با غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر) کشت داده شدند. پلیت‌ها در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد به مدت ۲ تا ۳ روز برای رشد باکتری‌ها در محیط LB و به مدت ۷ روز برای رشد قارچ‌ها در محیط PDA انکوبه شدند (Ramandi & Seifi, 2023).

شناسایی مولکولی ایزوله قارچ

شناسایی مولکولی قارچ بر اساس توالی‌یابی ناحیه ITS و با استفاده از پرایمرهای ITS1 و ITS2 انجام شد (White et al., 1990). پس از تهیه کشت خالص از قارچ، استخراج DNA با استفاده از روش CTAB (Doyle, 1991) انجام شد. واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی PCR pre-mix (آمپلیکون، دانمارک)، ۰/۴ میکرومولار از هر پرایمر، و ۱۰۰ نانوگرم از DNA قارچی استخراج‌شده به‌عنوان الگو انجام شد. برنامه PCR شامل دناتوراسیون اولیه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه، ۳۰ چرخه شامل دناتوراسیون در ۹۴ درجه برای ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمرها در ۶۰ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، و طول‌سازی در ۷۲ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، و در نهایت یک مرحله طول‌سازی نهایی در ۷۲ درجه برای ۵ دقیقه بود. محصولات PCR روی ژل آگارز ۱ درصد در بافر TAE تفکیک شدند. سپس محصولات PCR توسط شرکت نیازن نور (تهران) توالی‌یابی شده و توالی‌های به‌دست‌آمده با پایگاه داده NCBI (بانک ژن ITS) مقایسه شدند.

ارزیابی تحمل به شوری قارچ *Penicillium chrysogenum*

برای ارزیابی تحمل به شوری قارچ *P. chrysogenum*، مقادیر ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپور (۱۰^۶ اسپور در میلی‌لیتر) روی محیط‌های PDA حاوی ۰، ۱، ۲، ۳ و ۴ مولار NaCl در ۳ تکرار کشت داده شد (Galeano et al., 2023). قطر کلونی قارچ به‌عنوان شاخص رشد در روز هفتم پس از کشت اندازه‌گیری شد.

ارزیابی تأثیر *P. chrysogenum* بر جوانه‌زنی بذر ذرت تحت تنش شوری

برای تعیین درصد جوانه‌زنی بذرهای ذرت تحت شرایط شوری، ابتدا بذرهای شرح فوق‌الذکر ضدعفونی شدند و سپس با اسپورهای قارچ *P. chrysogenum* پوشش‌دهی شدند. برای این منظور، ۱ میلی‌لیتر از اسپور قارچ با غلظت ۱۰^۶ به ۶۰ میلی‌لیتر محلول ساکاروز ۱۰٪ اضافه شد. بذرهای ذرت ضدعفونی‌شده به مدت یک ساعت در این سوسپانسیون غوطه‌ور شدند تا پوشش‌دهی کامل انجام گیرد (Ramandi & Seifi, 2023; Shekhawat et al., 2021). بذر پوشش‌دار شده بر روی کاغذ صافی استریل زیر هود در دمای اتاق خشک شدند. بذرهایی که تنها با محلول ساکاروز ۱۰٪ پوشش داده شده بودند به‌عنوان کنترل در نظر گرفته شدند. سپس بذرهای پوشش‌دار شده بر روی پلیت حاوی کاغذ صافی استریل مرطوب‌شده با ۴ میلی‌لیتر NaCl با غلظت‌های صفر، ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار قرار داده شدند و در شرایط تاریکی و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. برای هر تیمار سه تکرار و در هر تکرار ۱۵ بذر مورد استفاده قرار گرفت. درصد جوانه‌زنی با ظهور ریشه‌چه پس از ۲۴ ساعت ثبت شد و روند ثبت جوانه‌زنی تا زمان ظهور ریشه تمامی بذرهای کنترل ادامه یافت. علاوه بر این، سه روز پس از ظهور ریشه اولیه، طول ریشه اولیه در سه زمان مختلف اندازه‌گیری و میانگین آن برای هر تکرار ثبت گردید. در نهایت، وزن تر ریشه برای هر دو گروه تلقیح‌شده با قارچ و کنترل تحت شرایط نرمال و شوری اندازه‌گیری شد.

تأثیر قارچ *P. chrysogenum* بر جوانه‌زنی بذر ذرت در اتاقک رشد

برای بررسی تأثیر قارچ اندوفیت جدا شده بر جوانه‌زنی ذرت، آزمایشی کنترل‌شده در سینی نشاء حاوی مخلوط پیت‌ماس و پرلیت (به نسبت ۳ به ۱) به اتوکلاو شده در اتاقک رشد انجام شد. برای هر تیمار، پنج گیاهچه (یک گیاهچه در هر گلدان) کشت شدند. پوشش‌دار کردن بذره‌های ذرت مطابق روش گفته شده پاراگراف قبلی، صورت گرفت. آبیاری به دو حالت یکی با آب اتوکلاو شده و دیگری با محلول ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl برای شبیه‌سازی تنش شوری انجام گرفت (Galeano, 2023). برای هر تیمار آبیاری ۵ تکرار در نظر گرفته شد. آبیاری هر سه روز یک بار انجام گرفت. پس از گذشت ۲۱ روز، پارامترهای رشد شامل وزن تر و خشک اندام هوایی، ارتفاع اندام هوایی، تعداد برگ‌ها، وزن تر و خشک ریشه اندازه‌گیری و ثبت گردید.

تأثیر قارچ *P. chrysogenum* بر رشد ذرت و تحمل به شوری در گلخانه

مخلوط استریل‌شده پیت ماس و پرلیت (به نسبت ۳:۱) با سوسپانسیون اسپور *P. chrysogenum* (۱۰^۶ اسپور در کیلوگرم) به مدت ۱۰ روز در تاریکی در دمای اتاق انکوبه شد. پس از استریل سطحی بذور ذرت در پیت ماس استریل در سینی نشاء در اتاقک رشد، تحت فتوپریود ۸/۱۶ (نور/تاریکی) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، کشت شدند. گیاهچه‌های ۵ روزه ذرت به گلدان‌های ۳ لیتری حاوی مخلوط پیت‌ماس و پرلیت تلقیح‌شده با اسپور قارچ انتقال داده شدند. گیاهان کنترل در مخلوط پیت‌ماس و پرلیت بدون تلقیح با قارچ کشت شدند. تیمارهای آزمایشی شامل شرایط آبیاری نرمال، تنش شوری و تنش خشکی برای هر دو گروه کنترل و تلقیح شده با قارچ، هر کدام با پنج تکرار انجام شد. برای آبیاری نرمال، آبیاری هر سه روز یک بار در شرایط بهینه خاک (۸۰ درصد ظرفیت زراعی) تا پایان آزمایش انجام گرفت. جهت اعمال تنش خشکی، گیاهان ۶ روز بعد از کاشت، یک بار آبیاری شدند و از روز ششم با قطع آبیاری به مدت ۱۹ روز در معرض تنش خشکی قرار گرفتند. برای اعمال تنش شوری گیاهان با آب حاوی ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl هر ۳ روز یک بار آبیاری شدند.

سنجش پارامترهای رشد

در پایان آزمایش، ارتفاع گیاه، تعداد برگ‌ها، وزن تر اندام هوایی، وزن ریشه و قطر ساقه پس از ۳۰ روز از کشت اندازه‌گیری شدند. برای تعیین وزن خشک ریشه و اندام هوایی، نمونه‌های گیاهی به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۶۵ درجه سانتیگراد خشک و سپس توزین شدند.

سنجش پارامترهای فیزیولوژیکی

در این پژوهش، به‌منظور ارزیابی دقیق‌تر پاسخ فیزیولوژیکی گیاه ذرت به تلقیح با قارچ *P. chrysogenum* شاخص‌های فیزیولوژیکی، نرخ فتوسنتز خالص، نرخ تعرق، هدایت روزنه‌ای و کارایی مصرف آب (WUE)، با استفاده از دستگاه فتوسنتز متر مدل CI 304 CID مورد ارزیابی قرار گرفتند.

اندازه‌گیری یون‌های سدیم (Na⁺) و پتاسیم (K⁺)

غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم در اندام‌های هوایی ذرت با استفاده از روش استاندارد فلیم‌فتومتر تعیین شد. نمونه‌های خشک‌شده در کوره با دمای ۵۰۰ تا ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد خاکستر و سپس در اسید حل شد. سپس با استفاده از دستگاه فلیم‌فتومتر غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم اندازه‌گیری شد (Asch et al., 2022).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

این مطالعه در قالب طرح فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار برای هر تیمار اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل دو سطح شوری (۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl) و دو سطح تلقیح (با قارچ *P. chrysogenum* و بدون تلقیح) بودند که در مجموع شامل چهار تیمار آزمایشی بود. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از تجزیه واریانس (ANOVA) جهت بررسی اثرات اصلی و متقابل فاکتورها انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون توکی (Tukey HSD) در سطح معنی‌داری ۵٪ و با استفاده از نرم‌افزار Minitab انجام شد. ترسیم نمودارها و تحلیل‌های گرافیکی نیز با بهره‌گیری از نرم‌افزار GraphPad Prism 9 انجام شد.

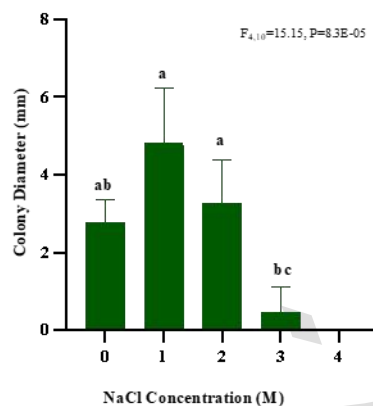
نتایج

جداسازی قارچ اندوفیت از بذر *B. scoparia*

برای جداسازی میکروبیوتای اندوفیت بذر کوشیا، عصاره بذرهای ضدعفونی‌شده روی محیط‌های کشت باکتری (LB) و قارچ (PDA) کشت داده شد. نکته جالب توجه این بود که هیچ باکتری رشد نکرد و تنها یک نوع قارچ روی پلیت PDA رشد کرد. نتایج توالی‌یابی ITS قارچ جداشده نشان داد که توالی ITS این قارچ بیش از ۹۹ درصد شباهت با ITS قارچ *P. chrysogenum* دارد.

تحمل به تنش شوری قارچ *P. chrysogenum*

میزان رشد قارچ *P. chrysogenum* در غلظت‌های مختلف شوری ۰ تا ۴ مولار NaCl به‌طور معنی‌داری متفاوت بود ($p \leq 0.05$). اندازه‌گیری قطر کلونی قارچ در چهار سطح شوری نشان داد که رشد قارچ در شرایط ۱ مولار NaCl به‌طور قابل توجهی (۷۷٪) بیشتر از شرایط بدون شوری بود، ولی با افزایش غلظت نمک رشد قارچ کاهش یافته به نحوی که در ۴ مولار NaCl هیچ رشدی مشاهده نشد (شکل ۱).

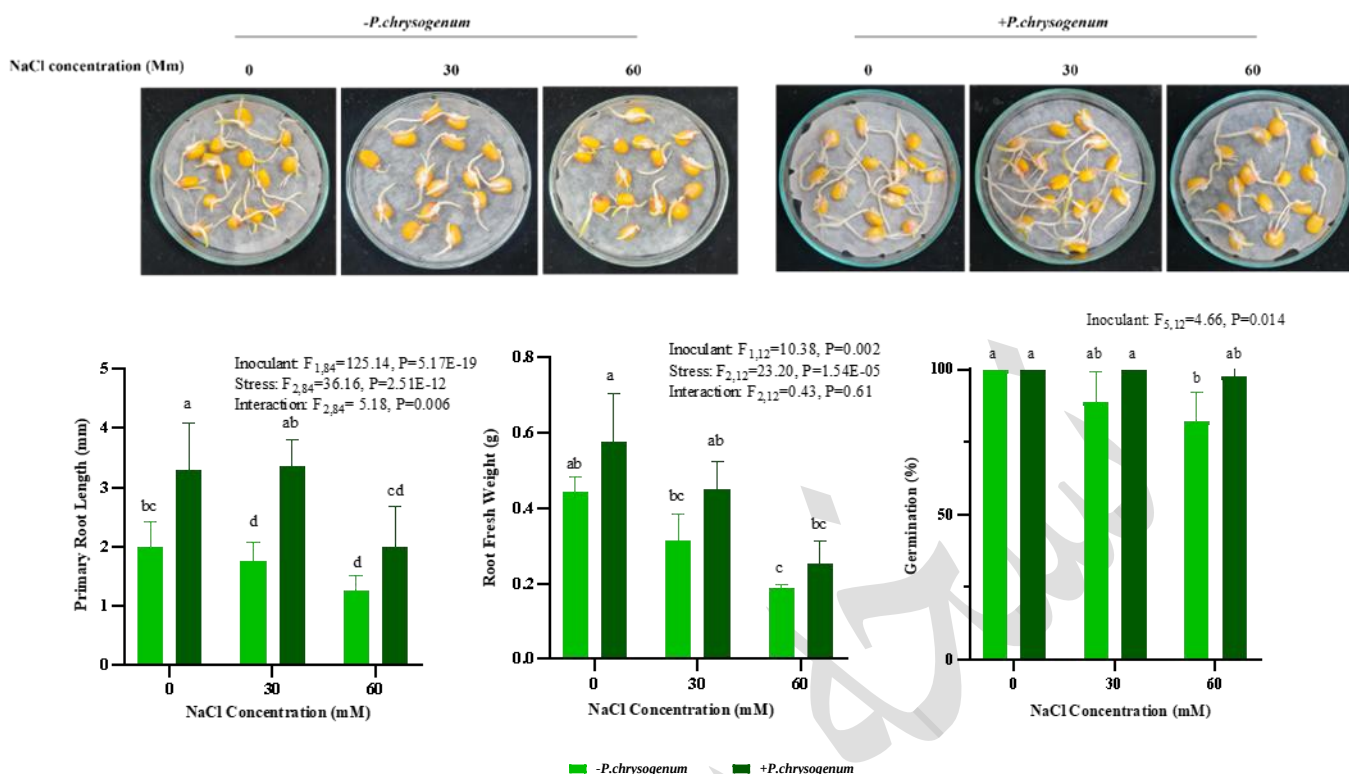


شکل ۱. اثر سطوح مختلف شوری بر رشد قارچ *P. chrysogenum*. میانگین‌های دارای حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت‌های آماری معنی‌دار (آزمون توکی، $p \leq 0.05$) هستند.

Figure 1. Effect of different salinity levels on the growth of *P. chrysogenum*. Means followed by different letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).

اثر قارچ *P. chrysogenum* بر جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه ذرت تحت تنش شوری

در گام بعدی تأثیر قارچ بر جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه تحت سطوح مختلف NaCl بررسی شد. قارچ تأثیر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی نداشت، ولی باعث افزایش معنی‌دار شاخص‌های مربوط به استقرار گیاهچه شد (شکل ۲). وزن تر ریشه اولیه در گیاهان تلقیح شده به‌طور قابل توجهی (۲۹/۵٪) افزایش یافت. تحت شوری ۶۰ میلی‌مولار، بذرهاى ذرت تلقیح شده با قارچ، طول ریشه اولیه بیشتری (۵۸/۳٪) نسبت به نمونه‌های تلقیح نشده نشان دادند (شکل ۲).

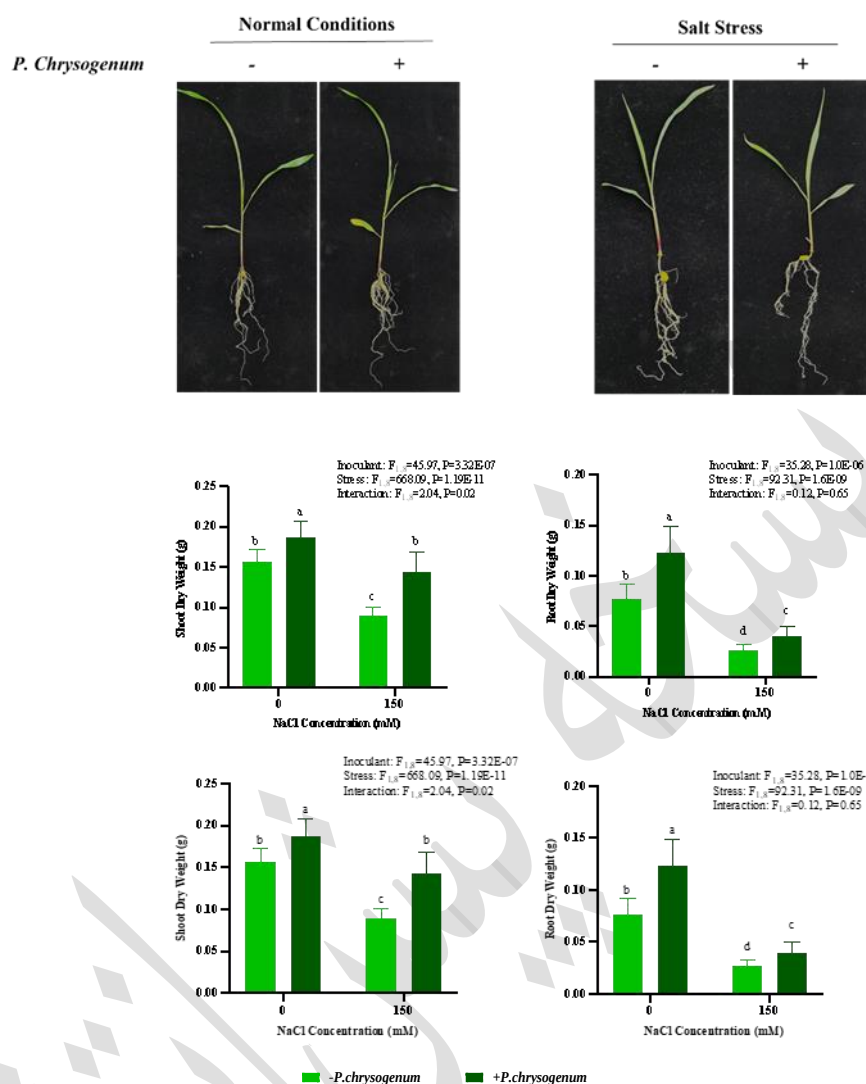


شکل ۲. اثر تلقیح قارچ *P. chrysogenum* بر درصد جوانه‌زنی بذرهای ذرت در شرایط نرمال و شوری (۰، ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار NaCl) در پلیت حاوی کاغذ صافی استریل. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت‌های آماری معنی‌دار هستند (آزمون توکی، $p \leq 0.05$).

Figure 2. Effect of *P. chrysogenum* inoculation on germination percentage of maize seeds under normal (0, 30, and 60 mM NaCl) conditions in sterile filter paper plates. Different letters indicate statistically significant differences (Tukey test, $p \geq 0.05$).

تأثیر *P. chrysogenum* بر زیست‌توده ذرت در اتاقک رشد

اثر تلقیح با قارچ *P. chrysogenum* بر رشد ذرت تحت آبیاری نرمال در اتاقک رشد بررسی شد. نتایج نشان داد که تلقیح با قارچ منجر به افزایش معنی‌دار وزن تر اندام هوایی (۱۶٪)، وزن تر ریشه (۳۴/۹٪) و کل وزن تر گیاه (۲۱/۴٪) در مقایسه با گیاهان شاهد شد ($p \leq 0.05$) (شکل ۳). نتایج مربوط به رشد ذرت تحت تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl در اتاقک رشد نشان داد، گیاهان تیمار شده با *P. chrysogenum* افزایش معنی‌داری در وزن تر اندام هوایی (تا ۵۷٪) در مقایسه با گیاهان تیمار نشده نشان دادند ($p \leq 0.05$). همچنین، وزن تر ریشه گیاهان تحت تنش شوری مشابه با تیمار قارچ افزایش ۱۰۰٪ نشان داد (شکل ۳).



شکل ۳. اثر تلقیح قارچ *P. chrysogenum* بر رشد گیاهان ذرت در اتاقک رشد. وزن تر و خشک بخش هوایی، وزن تر و خشک ریشه اندازه گیری شد. حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت های آماری معنی دار هستند (آزمون توکی، $p \leq 0.05$).

Figure 3. Effect of *P. chrysogenum* inoculation on the growth of maize plants in the growth chamber. (a) Shoot fresh and dry weight, (b) root fresh and dry weight. Different letters indicate statistically significant differences (Tukey test, $p \geq 0.05$).

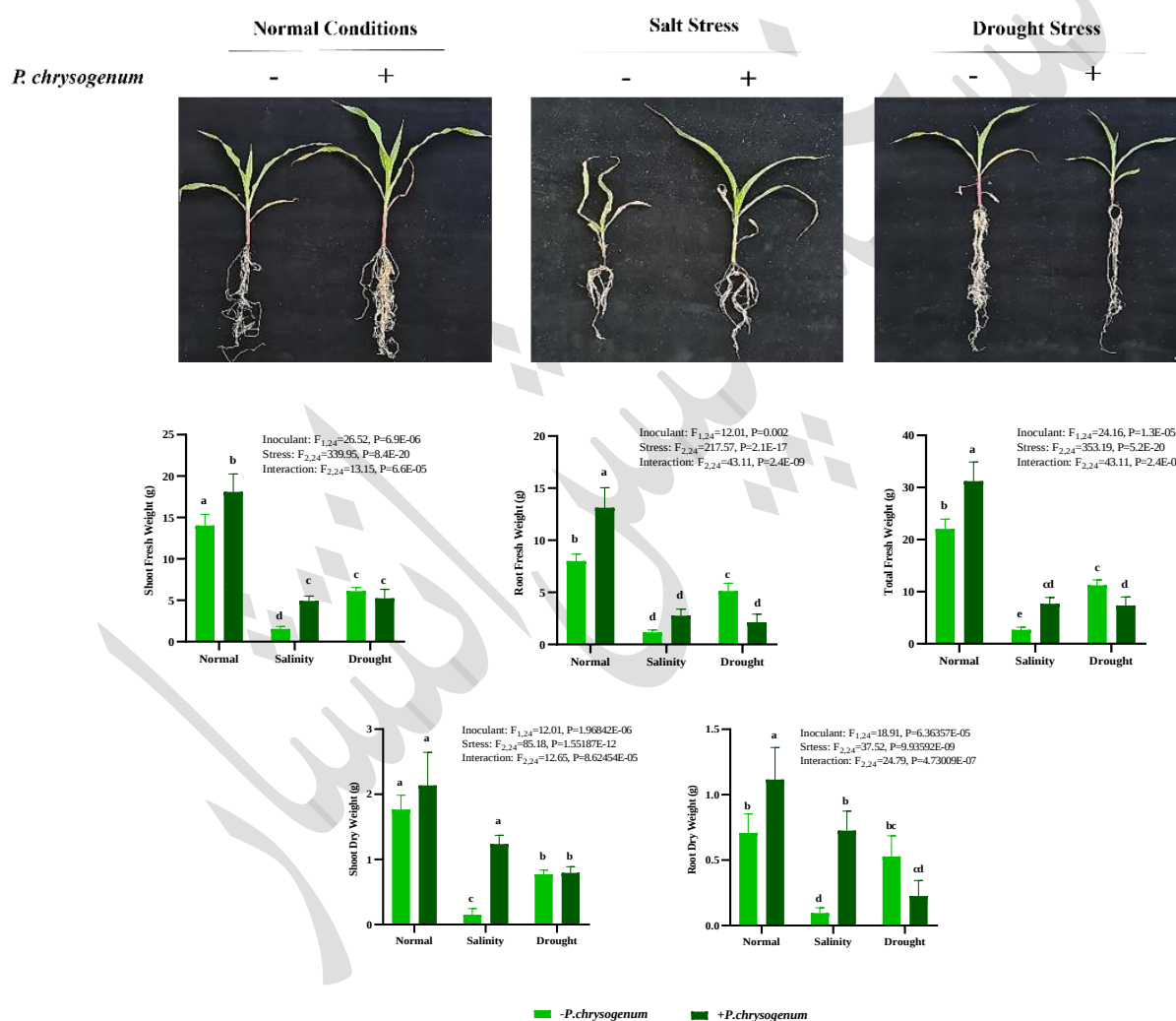
اثر تلقیح *Penicillium chrysogenum* بر رشد گیاه ذرت در گلخانه

افزایش رشد در گلخانه نیز مشاهده شد؛ به طوری که تلقیح قارچ در شرایط نرمال منجر به افزایش وزن تر اندام هوایی (۲۸/۹۴٪)، وزن تر ریشه (۶۳/۸۰٪) و کل وزن تر گیاه (۴۱/۶۱٪) در مقایسه با نمونه های کنترل شد. افزایش معنی دار در وزن خشک گیاهان تلقیح شده با قارچ نیز مشاهده شد (شکل ۴).

نتایج مربوط به بذره های ذرت تحت تنش شوری (۱۵۰ میلی مولار NaCl) در گلخانه نشان داد تلقیح قارچ منجر به افزایش وزن تر اندام هوایی (۲۳۳/۶۲٪)، وزن تر ریشه (۱۳۸/۵۱٪) و کل وزن تر گیاه (۱۸۶/۸۸٪) شد. این افزایش معنی دار در وزن خشک اندام های هوایی و ریشه گیاهان

تلقیح شده با قارچ نیز از نتایج بدست آمد (شکل ۳). نتایج آزمایش های گلخانه نشان داد که بذره های ذرت تیمار شده با *P. chrysogenum* افزایش قابل توجهی در طول اندام هوایی (۱۳۶/۱٪) تحت تنش شوری در مقایسه با گیاهان تیمار نشده نشان دادند. علاوه بر این، تیمار با *P. chrysogenum* طول اندام هوایی را در گیاهان تحت تنش شوری ۲۶٪ افزایش داد (شکل ۴).

تأثیر قارچ بر ذرت تحت تنش خشکی در گلخانه نیز ارزیابی شد ($p \leq 0.05$). در مقابل، تحت تنش خشکی، بذره های تیمار شده با *P. chrysogenum* کاهش ۱۶/۸ درصدی در وزن تر اندام هوایی و کاهش ۱۴۲/۴۲ درصدی در وزن تر ریشه در مقایسه با گیاهان تیمار نشده مشاهده شد. همچنین، کل وزن تر گیاه در بذره های تیمار شده با *P. chrysogenum* تحت تنش خشکی ۵۲/۷٪ کاهش یافت (شکل ۴).

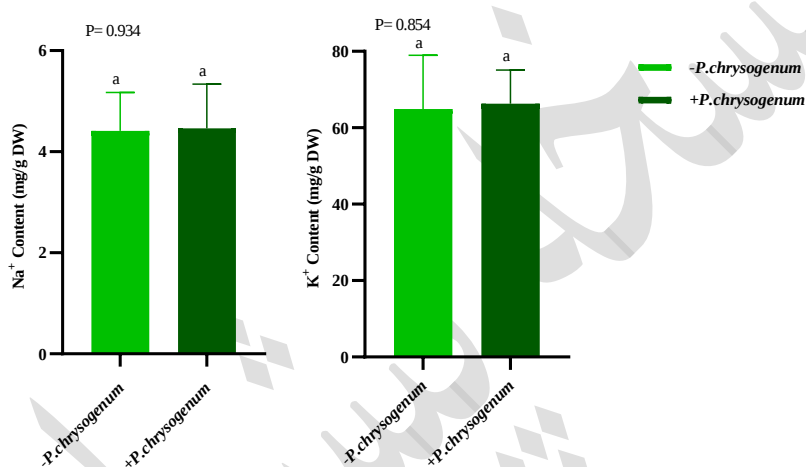


شکل ۴. اثر تلقیح قارچ *P. chrysogenum* بر رشد گیاهان ذرت در گلخانه. وزن تر بخش هوایی، وزن تر ریشه، وزن تر کل، وزن خشک بخش هوایی و وزن خشک ریشه. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار (آزمون توکی، $p \leq 0.05$) می باشد.

Figure 4. The effect of *P. chrysogenum* inoculation on maize plant growth in the greenhouse. Shoot fresh weight, root fresh weight, total fresh weight, shoot dry weight and root dry weight. Different letters indicate statistically significant differences at the 5% level (Tukey test, $p \geq 0.05$).

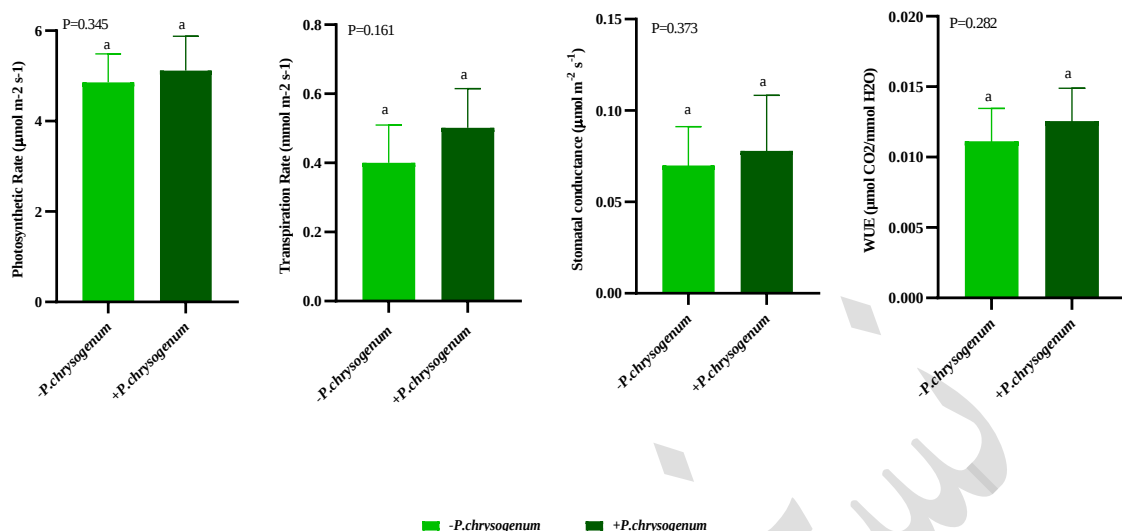
اثر قارچ *P. chrysogenum* بر پارامترهای رشد و فیزیولوژیکی گیاه ذرت در شرایط گلخانه

به منظور تعیین تأثیر تلقیح قارچ بر محتوای یونی گیاهچه‌های ذرت تحت تنش شوری، مقدار پتاسیم و سدیم اندازه‌گیری شد ($p \leq 0.05$). گیاهچه‌های ذرت تحت تنش شوری قرار گرفتند و هر دو گروه تلقیح شده و کنترل آنالیز شدند. اندام هوایی گیاهان ذرت برداشت شد و غلظت یون‌ها اندازه‌گیری شد. گیاهان تلقیح شده و کنترل هر دو سطح پتاسیم بالاتر و سطح سدیم پایین‌تری در ریشه و اندام هوایی داشتند و اختلاف معنی‌داری بین آنها مشاهده نشد (شکل ۵). نتایج حاصل از سنجش پارامترهای فیزیولوژیکی گیاهان تحت آبیاری نرمال و تنش خشکی نشان داد که تفاوت معنی‌داری در نرخ فتوسنتز، نرخ تعرق، هدایت روزنه‌ای و کارایی مصرف آب (WUE) بین گیاهان کنترل و تیمار شده با قارچ، وجود ندارد ($p \leq 0.05$) (شکل ۶).



شکل ۵. غلظت سدیم و پتاسیم در برگ و ساقه ذرت تحت تأثیر تلقیح قارچ در شرایط آبیاری نرمال (۰ میلی‌مولار NaCl) و شور (۱۵۰ میلی‌مولار NaCl). حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت‌های آماری معنی‌دار هستند (آزمون توکی، $p \leq 0.05$).

Figure 5. Sodium and potassium concentrations in maize leaves and stems affected by fungal inoculation under normal (0 mM NaCl) and saline (150 mM NaCl) irrigation conditions. Significant difference at the 5% level (Tukey test, $p \geq 0.05$).



شکل ۶. پارامترهای فتوسنتزی گیاهان ذرت، بین گیاهان کنترل و تیمار شده با قارچ تحت شرایط آبیاری نرمال با دستگاه فتوسنتز متر اندازه‌گیری شدند. تفاوت معنی‌داری در نرخ فتوسنتز، نرخ تعرق، هدایت روزنه‌ای و کارایی مصرف آب (WUE) بین گیاهان کنترل و تیمار شده با قارچ مشاهده نشد ($p \geq 0.05$).

Figure 6. Photosynthetic parameters of maize plants were measured between control and fungus-treated plants under normal irrigation conditions using a photosynthesis meter. No significant differences were observed in photosynthesis rate, transpiration rate, stomatal conductance, and water use efficiency (WUE) between control and fungus-treated plants ($p \geq 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه جداسازی میکروبیوم بذر گیاه هالوفیت *B. scoparia* منجر به شناسایی یک قارچ اندوفیت شد که بر اساس نتایج توالی‌یابی ITS احتمالاً قارچ *P. chrysogenum* است. بر اساس نتیجه حاصل از کشت این قارچ بر روی محیط حاوی غلظت‌های مختلف نمک مشخص شد که این قارچ در محیط حاوی ۱ مولار NaCl بیشترین رشد را دارد که نشان می‌دهد این قارچ هالوفیت است. هر چند تلقیح با این قارچ بر درصد جوانه‌زنی تأثیر معنی‌داری نداشت ولی باعث بهبود معنی‌دار شاخص‌های استقرار گیاهچه مانند طول ریشه اولیه، وزن تر اندام هوایی و ریشه و زیست‌توده کل تحت تنش شوری و شرایط نرمال شد (شکل ۳). این تأثیر مثبت با گزارش‌های قبلی درباره نقش قارچ‌های اندوفیت در افزایش تحمل به تنش‌های غیرزیستی هم‌راستا است (Hamayun et al., 2017).

در شرایط گلخانه نیز تلقیح با قارچ به‌طور معنی‌داری باعث افزایش شاخص‌های رشدی در شرایط نرمال و شرایط تنش شوری شد (شکل ۴). نتایج حاصل از تست گلخانه گیاهان تلقیح شده با قارچ تحت شرایط تنش شوری، تفاوت معنی‌داری در وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه نشان دادند. اثربخشی *P. chrysogenum* در افزایش رشد گیاه در شرایط شور در محصولات مختلف، از جمله سویا و گندم، گزارش شده است (Bilal et al., 2019; Leitão & Enguita, 2016). در مقابل، قارچ *P. chrysogenum* تحت تنش خشکی تأثیر مثبتی بر رشد ذرت نداشت و حتی باعث کاهش معنی‌دار وزن تر گیاه شد. این یافته نشان می‌دهد که اثرات مفید اندوفیت‌ها الزاماً در تمام تنش‌های غیرزیستی یکسان نیست و پاسخ‌های القاشده

می‌توانند به نوع تنش وابسته باشند. مطالعات پیشین نیز عملکرد متفاوت سویه‌های این قارچ را در شرایط مختلف محیطی گزارش کرده‌اند (Zhong et al., 2021).

جهت بررسی مکانیزم افزایش تحمل به شوری توسط این قارچ، شاخص‌های فتوسنتزی و یونی در گیاهان تیمار شده با قارچ اندازه‌گیری شد. نکته جالب این بود که شاخص‌های فتوسنتزی و نسبت سدیم/پتاسیم در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ و گیاهان شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۶). لذا به نظر می‌رسد این قارچ در جذب نمک توسط گیاه تأثیری ندارد و احتمالاً تأثیرات مثبت آن به فرآیندهای پس از جذب نمک از جمله سمیت‌زدایی نمک و یا افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مربوط است. ترنسپورترهای واکوئلی مانند اعضای خانواده *NHX* (به‌ویژه *NHX1* و *NHX7/SOS1*) نقش اساسی در حفظ تعادل یونی گیاهان تحت تنش شوری دارند (Zhang et al., 2022; Zhong et al., 2024; Zhong et al., 2021). این پروتئین‌ها با انتقال یون‌های سدیم (Na^+) به درون واکوئل، از تجمع سمی آن‌ها در سیتوپلاسم جلوگیری کرده و با حفظ نسبت مطلوب K^+/Na^+ ، پایداری اسمزی و عملکرد سلولی را حفظ می‌کنند. فعالیت این ترنسپورترها اغلب وابسته به شیب الکتروشیمیایی تولیدشده توسط پمپ‌های H^+ -PPase و V-ATPase است، که بستر لازم برای تبادل یون Na^+/H^+ را فراهم می‌سازد (Ramakrishna et al., 2025). بنابراین قارچ *P. chrysogenum* احتمالاً با تأثیر بر فرآیندهای سمیت‌زدایی نمک، مانند تأثیر بر ترنسپورترهای واکوئلی، باعث افزایش تحمل گیاه به شوری می‌شود. انجام تحلیل‌های بیان ژن با تمرکز بر مسیرهای مرتبط با تحمل به شوری و بررسی بیان ژن‌های کلیدی این امکان را فراهم خواهد کرد تا درک دقیق‌تری از مکانیسم‌های القایی توسط قارچ اندوفیت به‌دست آید.

تاکنون، قارچ‌های اندوفیت بسیاری یافت شده‌اند که در القاء تحمل در گیاهان نسبت به تنش‌های غیرزیستی مؤثر بوده‌اند. در میان این گونه‌ها، *P. chrysogenum* به دلیل توانایی‌اش در رشد تحت شرایط شوری بالا و افزایش رشد گیاه از طریق مکانیسم‌هایی مانند انحلال فسفات، تولید سیدروفور و سنتز ایندول-۳-استیک اسید (IAA) قابل توجه است (Bilal et al., 2019; Leitão & Enguita, 2016). یکی از نکات مهم این مطالعه، منشأ بومی قارچ مورد بررسی است. گیاه هالوفیت *B. scoparia* دارای توان بالایی برای رشد در محیط‌های شور است و میکروبیوم همزیست آن، به‌ویژه اندوفیت‌های بذر، منبع ژنتیکی ارزشمندی برای افزایش تحمل به شوری در گیاهان زراعی به‌شمار می‌رود (Bilquees Gul et al., 2010; Khan et al., 2009). انتقال عمودی این اندوفیت‌ها از طریق بذر، نقش مهمی در سازگاری نسل‌های بعدی گیاهان با شرایط تنش‌زا دارد (Barret et al., 2016; Verma et al., 2019b; Zeng et al., 2023).

به طور کلی، این پژوهش گامی مؤثر در جهت استفاده از میکروارگانیسم‌های بومی سودمند برای افزایش تحمل به تنش‌های غیرزیستی محسوب می‌شود. اگرچه قارچ *P. chrysogenum* تحت تنش خشکی کارایی محدودی نشان داد، اما نقش آن در بهبود تحمل به شوری ذرت از طریق ارتقاء رشد ریشه و اندام‌های هوایی، قابل توجه است. برای بهره‌برداری عملی از این یافته‌ها، انجام مطالعات مزرعه‌ای، بررسی سازوکارهای مولکولی مرتبط، و توسعه فرمولاسیون تجاری پیشنهاد می‌شود. همچنین، ترکیب قارچ‌های مفید با سایر میکروارگانیسم‌های سودمند می‌تواند رویکردی جامع برای

مقابله با تنش‌های محیطی متعدد فراهم آورد. این تحقیق بر اهمیت بهره‌گیری از میکروبیوم همزیست با هالوفیت‌ها به عنوان منبعی ارزشمند برای مقابله با تنش‌های محیطی در کشاورزی تأکید می‌کند.

References

- Ahmed, M., Tóth, Z., & Decsi, K. (2024). The impact of salinity on crop yields and the confrontational behavior of transcriptional regulators, nanoparticles, and antioxidant defensive mechanisms under stressful conditions: A review. *International journal of molecular sciences*, 25(5), 2654.
- Asch, J., Johnson, K., Mondal, S., & Asch, F. (2022). Comprehensive assessment of extraction methods for plant tissue samples for determining sodium and potassium via flame photometer and chloride via automated flow analysis#. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 185(2), 308–316.
- Barret, M., Guimbaud, J. F., Darrasse, A., & Jacques, M. A. (2016). Plant microbiota affects seed transmission of phytopathogenic microorganisms. *Molecular plant pathology*, 17(6), 791.
- Bilal, S., Shahzad, R., Khan, A. L., Al-Harrasi, A., Kim, C. K., & Lee, I.-J. (2019). Phytohormones enabled endophytic *Penicillium funiculosum* LHL06 protects *Glycine max* L. from synergistic toxicity of heavy metals by hormonal and stress-responsive proteins modulation. *Journal of hazardous materials*, 379, 120824.
- Bilquees Gul, B. G., Raziuddin Ansari, R. A., Irfan Aziz, I. A., & Khan, M. (2010). Salt tolerance of *Kochia scoparia*: a new fodder crop for highly saline arid regions.
- Bulgarelli, D., Schlaeppi, K., Spaepen, S., Van Themaat, E. V. L., & Schulze-Lefert, P. (2013). Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annual review of plant biology*, 64(1), 807–838.
- Dey, P., Barman, M., Mitra, A., & Maiti, M. K. (2022). Lipid-rich endo-metabolites from a vertically transmitted fungal endophyte *Penicillium* sp. PM031 attenuate virulence factors of phytopathogenic *Ralstonia solanacearum*. *Microbiological Research*, 261, 127058.
- Dos Reis, J. B. A., Lorenzi, A. S., & do Vale, H. M. M. (2022). Methods used for the study of endophytic fungi: a review on methodologies and challenges, and associated tips. *Archives of Microbiology*, 204(11), 675.
- Doyle, J. (1991). DNA protocols for plants. In *Molecular techniques in taxonomy* (pp. 283–293). Springer.
- Etesami, H., & Beattie, G. A. (2017). Plant-microbe interactions in adaptation of agricultural crops to abiotic stress conditions. In *Probiotics and plant health* (pp. 163–200). Springer.
- FAO. (2021). Global map of salt-affected soils. In: FAO Rome, Italy.
- Farooq, M., Hussain, M., Wakeel, A., & Siddique, K. H. (2015). Salt stress in maize: effects, resistance mechanisms, and management. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35, 461–481.
- Flowers, T. J., Munns, R., & Colmer, T. D. (2015). Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in halophytes. *Annals of botany*, 115(3), 419–431.
- Furtado, B. U., Gołębiewski, M., Skorupa, M., Hulisz, P., & Hryniewicz, K. (2019). Bacterial and fungal endophytic microbiomes of *Salicornia europaea*. *Applied and environmental microbiology*, 85(13), e00305–00319.
- Galeano, R. M. S., Silva, S. M., Yonekawa, M. K. A., de Alencar Guimarães, N. C., Giannesi, G. C., Masui, D. C., Corrêa, B. O., da Silva Brasil, M., & Zanoelo, F. F. (2023). *Penicillium chrysogenum* strain 34-P promotes plant growth and improves initial development of maize under saline conditions. *Rhizosphere*, 26, 100710. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2023.100710>
- Gul, B., Ansari, R., Aziz, I., & Khan, M. A. (2010). Salt tolerance of *Kochia scoparia*: A new fodder crop for highly saline arid regions. *Pak. J. Bot.*, 42(4), 2479–2487. [https://doi.org/http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/42\(4\)/PJB42\(4\)2479.pdf](https://doi.org/http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/42(4)/PJB42(4)2479.pdf)
- Hamayun, M., Hussain, A., Khan, S. A., Kim, H.-Y., Khan, A. L., Waqas, M., Irshad, M., Iqbal, A., Rehman, G., & Jan, S. (2017). Gibberellins producing endophytic fungus *Porostereum spadiceum* AGH786 rescues growth of salt affected soybean. *Frontiers in microbiology*, 8, 686.
- Isayenkov, S. V., & Maathuis, F. J. (2019). Plant salinity stress: many unanswered questions remain. *Frontiers in plant science*, 10, 80.
- Jin, F., Hu, Q., Zhao, Y., Lin, X., Zhang, J., & Zhang, J. (2022). Enhancing quinoa growth under severe saline-alkali stress by phosphate solubilizing microorganism *Penicillium funiculosum* P1. *Plos one*, 17(9), e0273459.
- Khan, M. A., Gul, B., & Weber, D. J. (2009). Seed germination of *Kochia scoparia* under saline conditions: responses with germination regulating chemicals. *Pakistan Journal of Botany*, 41, 2933–2941.
- Kumar, A., Singh, S., Mukherjee, A., Rastogi, R. P., & Verma, J. P. (2021). Salt-tolerant plant growth-promoting *Bacillus pumilus* strain JPV511 to enhance plant growth attributes of rice and improve soil health under salinity stress. *Microbiological Research*, 242, 126616.

- Leitão, A. L., & Enguita, F. J. (2016). Gibberellins in *Penicillium* strains: challenges for endophyte-plant host interactions under salinity stress. *Microbiol. Res*, 183(2), 8–18.
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59(1), 651–681.
- Nečajeva, J., Boroduške, A., Nikolajeva, V., Seņkovs, M., Kalniņa, I., Roga, A., Skinderskis, E., & Fridmanis, D. (2023). Epiphytic and endophytic fungi colonizing seeds of two Poaceae weed species and *Fusarium* spp. seed degradation potential in vitro. *Microorganisms*, 11(1), 184.
- Nusrat Bibi, N. B., Gul Jan, G. J., Jan, F., Muhammad Hamayun, M. H., Amjad Iqbal, A. I., Anwar Hussain, A. H., Hazir Rehman, H. R., Abdul Tawab, A. T., & Faiza Khushdil, F. K. (2019). *Cochliobolus* sp. acts as a biochemical modulator to alleviate salinity stress in okra plants.
- Paasch, B. C., & He, S. Y. (2021). Toward understanding microbiota homeostasis in the plant kingdom. *PLoS pathogens*, 17(4), e1009472.
- Patel, S., Parekh, V., Patel, K., & Jha, S. (2021). Plant growth-promoting activities of *Penicillium* sp. NAUSF2 ameliorate *Vigna radiata* salinity stress in phosphate-deficient saline soil. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 57(4), 500–507.
- Ramakrishna, P., Gámez-Arjona, F. M., Bellani, E., Martin-Olmos, C., Escrig, S., De Bellis, D., De Luca, A., Pardo, J. M., Quintero, F. J., & Genoud, C. (2025). Elemental cryo-imaging reveals SOS1-dependent vacuolar sodium accumulation. *Nature*, 637(8048), 1228–1233.
- Ramandi, A., & Seifi, A. (2023). Suppressive soil microbiota inhibit wilting diseases and enhance growth in sesame. *Rhizosphere*, 25, 100668.
- Ranum, P., Peña-Rosas, J. P., & Garcia-Casal, M. N. (2014). Global maize production, utilization, and consumption. *Annals of the new York academy of sciences*, 1312(1), 105–112.
- Rodriguez, R. J., Henson, J., Van Volkenburgh, E., Hoy, M., Wright, L., Beckwith, F., Kim, Y.-O., & Redman, R. S. (2008). Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *The ISME journal*, 2(4), 404–416.
- Shahzad, R., Khan, A. L., Bilal, S., Asaf, S., & Lee, I.-J. (2018). What is there in seeds? Vertically transmitted endophytic resources for sustainable improvement in plant growth. *Frontiers in plant science*, 9, 24. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00024>
- Shekhawat, K., Saad, M. M., Sheikh, A., Mariappan, K., Al-Mahmoudi, H., Abdulhakim, F., Eida, A. A., Jalal, R., Masmoudi, K., & Hirt, H. (2021). Root endophyte induced plant thermotolerance by constitutive chromatin modification at heat stress memory gene loci. *EMBO reports*, 22(3), e51049.
- Trivedi, P., Leach, J. E., Tringe, S. G., Sa, T., & Singh, B. K. (2020). Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nature reviews microbiology*, 18(11), 607–621.
- Verma, S. K., Kharwar, R. N., & White, J. F. (2019a). The role of seed-vectored endophytes in seedling development and establishment. *Symbiosis*, 78, 107–113. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s13199-019-00619-1>
- Verma, S. K., Kharwar, R. N., & White, J. F. (2019b). The role of seed-vectored endophytes in seedling development and establishment. *Symbiosis*, 78(2), 107–113.
- Wang, Z., Liu, J., White, J. F., & Li, C. (2022). *Epichloë bromicola* from wild barley improves salt-tolerance of cultivated barley by altering physiological responses to salt stress. *Frontiers in microbiology*, 13, 1044735.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 18(1), 315–322.
- Zafar, Z. U., Manzoor, H., Rasul, S., Noreen, S., Ali, Q., Iqbal, M., Javed, M., Gul, H. S., Ahmad, Z., & Shahzad, F. (2017). Strategies to improve crop salt and drought tolerance: Success and limitations. *Quality and quantum improvement in field crops. Agribios, New Delhi, India*, 265–298.
- Zeng, Q., Zhao, Y., Shen, W., Han, D., & Yang, M. (2023). Seed-to-seed: Plant core vertically transmitted microbiota. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(49), 19255–19264.
- Zhang, X., Ma, Y.-N., Wang, X., Liao, K., He, S., Zhao, X., Guo, H., Zhao, D., & Wei, H.-L. (2022). Dynamics of rice microbiomes reveal core vertically transmitted seed endophytes. *Microbiome*, 10(1), 216.
- Zhong, L., Niu, B., Xiang, D., Wu, Q., Peng, L., Zou, L., & Zhao, J. (2024). Endophytic fungi in buckwheat seeds: exploring links with flavonoid accumulation. *Frontiers in microbiology*, 15, 1353763.
- Zhong, Y., Li, Y., Chen, Z., Fu, J., Li, X., Zhang, B., Chen, S., & Wang, J. (2021). Treatment of *Penicillium chrysogenum* extracts (PDMP) restricts the spread of Tobacco mosaic virus by priming callose deposition in *Nicotiana benthamiana*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 113, 101569.