



Research Article

Vol. 24, No. 2, Summer 2026, p. 149-162

Induction of Salinity Tolerance in Maize (*Zea mays*) Using the Endophytic Fungus *Penicillium chrysogenum* Isolated from *Bassia scoparia*F. Ebrahimifar¹, F. Shahriari¹, M. Harati¹, A. Seifi^{1*}

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

(*- Corresponding author's Email: arseifi@um.ac.ir)

Received: 13 May 2025

Revised: 16 August 2025

Accepted: 14 September 2025

Available Online: 30 September 2025

How to cite this article:Ebrahimifar, F., Shahriari, F., Harati, M., & Seifi, A. (2026). Induction of salinity tolerance in maize (*Zea mays*) using the endophytic fungus *Penicillium chrysogenum* isolated from *Bassia scoparia*. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 24(2), 149-162. (In Persian with English abstract)
<https://doi.org/10.22067/jcsc.2025.93475.1401>**Introduction**

Soil salinity is a major abiotic stress limiting agricultural productivity worldwide, threatening food security particularly in arid and semi-arid regions where irrigation practices and poor drainage exacerbate salt accumulation in the root zone. It is estimated that over 800 million hectares of land are affected by salinity, a figure that continues to rise due to climate change and unsustainable farming practices. High salt concentrations in the soil disrupt plant water uptake, induce ionic toxicity, and cause oxidative damage, ultimately reducing crop yields. Breeding crops for increased tolerance to abiotic stresses is very difficult due to the complexity of inheritance of traits related to tolerance to these stresses, which often involve multiple genes with minor effects and strong interactions with environmental conditions. Consequently, conventional breeding programs have made limited progress in developing salt-tolerant crop varieties. 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. These beneficial microbes can alleviate stress effects through various mechanisms, including phytohormone production, nutrient solubilization, and induction of host defense responses.

Plants have distinct microbial communities in their different organs, including roots, stems, leaves, and seeds, collectively referred to as the plant microbiome. 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. In particular, endophytic microorganisms, those that reside within plant tissues, have gained attention as natural partners that can enhance host resilience. Halophytes, plants naturally adapted to high-salinity environments, harbor unique microbial communities that have co-evolved with their hosts under extreme conditions. These halophyte-associated microbes have shown remarkable ability to confer stress tolerance to conventional crops, but the mechanisms remain poorly understood, limiting their practical application. 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.), a globally important cereal crop sensitive to salt stress. Our research aimed to (1) characterize the salt tolerance of *P. chrysogenum* under *in vitro* conditions, (2) evaluate its effects on maize growth under salt stress, and (3) analyze physiological responses in inoculated plants, including ion content and photosynthetic performance.

Materials and Methods

The fungal strain was isolated from surface-sterilized *B. scoparia* seeds collected from saline regions in Iran. Surface sterilization was performed using ethanol and sodium hypochlorite to ensure that only endophytic

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).<https://doi.org/10.22067/jcsc.2025.93475.1401>

microorganisms were recovered. Molecular identification was performed using ITS sequencing of the ribosomal DNA region, and the sequence was compared against public databases to confirm taxonomic affiliation. The salinity tolerance of the fungus was evaluated on potato dextrose agar (PDA) medium containing NaCl concentrations ranging from 0 to 4 M, with radial growth measured daily. Maize seeds (cv. Hido) were surface-sterilized and inoculated with a fungal spore suspension (10^6 spores/mL) or sterile water for controls. Seeds were grown under controlled conditions with three salinity levels (0, 30, and 60 mM NaCl) in a growth chamber. Subsequently, greenhouse tests were conducted under two treatments of 150 mM NaCl and normal irrigation to evaluate performance under more realistic stress levels. Drought tests were also conducted on plants in the greenhouse by withholding irrigation for defined periods. Growth parameters including germination rate, root length, shoot length, and fresh and dry biomass were recorded. Ion content (Na^+ , K^+) was determined using flame photometry, and photosynthetic parameters such as chlorophyll content and net photosynthetic rate were measured using a portable photosynthesis system. Experiments included laboratory, growth chamber, and greenhouse trials with five replicates per treatment arranged in a completely randomized design. Data were analyzed using analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's honestly significant difference test ($p < 0.05$) for mean comparisons.

Results and Discussion

In this study, an endophytic fungus, identified by ITS sequencing as *Penicillium chrysogenum*, was isolated from the seed microbiome of the halophyte *B. scoparia*. This fungus exhibited optimal growth at 1 M NaCl, with substantial mycelial development even at 2 M, indicating strong halotolerance superior to many soil saprophytes. Although it did not significantly affect seed germination percentage or rate, fungal inoculation improved early seedling growth traits and biomass under both saline and normal conditions, suggesting that the primary benefits occur after emergence. Greenhouse experiments confirmed its positive effects on shoot and root development under salt stress, while no beneficial effects were observed under drought conditions, indicating a stress-specific mechanism rather than a general growth promotion effect.

Interestingly, photosynthetic performance and Na^+/K^+ ratios remained unchanged in inoculated plants compared to non-inoculated controls, suggesting that the fungus may enhance salt tolerance through mechanisms such as salt detoxification via osmotic adjustment, enhancement of antioxidant enzyme activity, or production of fungal metabolites that protect cellular structures, rather than altering ion uptake or transport. Given the fungus's native origin from a halophyte host 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, including dose-response experiments and transcriptomic analysis of host plant responses.

Conclusion

This study demonstrated that *Penicillium chrysogenum*, an endophytic fungus isolated from the halophyte *Bassia 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 strong halotolerance and may enhance salt stress resilience through mechanisms unrelated to ion uptake or photosynthetic changes, 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 for agricultural application.

Keywords: Biomass, Halophytes, Osmotic stress, Seed microbiome

مقاله پژوهشی

جلد ۲۴، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۵، ص ۱۶۲-۱۴۹

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

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

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۲۳

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی تأثیر قارچ اندوفیت *Penicillium chrysogenum* جداشده 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 (صفر تا چهار مولار) ارزیابی شد. بیشترین رشد قارچ در غلظت یک مولار NaCl مشاهده گردید. بذور ذرت با اسپورهای قارچ تلقیح و در شرایط بدون شوری و شرایط تنش شوری (۱۵۰ میلی مولار NaCl) در آزمایشگاه، اتاقک رشد و گلخانه کشت شدند. نتایج نشان داد که تلقیح قارچ موجب افزایش معنی دار طول ریشه و وزن تر و خشک گیاه شد. در گلخانه، وزن تر اندام هوایی و ریشه در گیاهان تلقیح شده به ترتیب ۲۲۳ و ۱۳۸ درصد افزایش یافت. اما تحت تنش خشکی، قارچ اثر منفی بر رشد ذرت داشت. هیچ تفاوت معنی داری در غلظت سدیم، پتاسیم و پارامترهای فتوسنتزی بین گیاهان تلقیح شده و شاهد مشاهده نشد. به نظر می رسد که سازوکار اثر قارچ شامل تنظیم غیرمستقیم فیزیولوژیکی مانند بهبود جذب عناصر غذایی، تولید ترکیبات محرک رشد یا تنظیم بیان ژن های مرتبط با تحمل تنش است. این تحقیق، استفاده از اندوفیت های بومی مانند *P. chrysogenum* را به عنوان راهکاری زیستی برای بهبود عملکرد گیاهان در خاک های شور پیشنهاد می کند.

واژه های کلیدی: تنش اسمزی، زیست توده، میکروبیوم بذر، هالوفیت ها

مقدمه

شوری خاک یک چالش زیست محیطی بحرانی است که براساس آمار فائو، عاملی محدودکننده برای کشاورزی در تقریباً ۲۰ درصد از اراضی زراعی جهان محسوب می شود (FAO, 2021). تنش شوری با کاهش پتانسیل آب در خاک و برهم زدن تعادل یونی و تجمع گونه های فعال اکسیژن در گیاه، فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه را مختل کرده و در نهایت باعث کاهش رشد و عملکرد محصول می شود (Nusrat Bibi et al., 2019; Zeng et al., 2023). افزایش غلظت یون های سدیم و کلر در خاک، جذب یون های ضروری مانند پتاسیم و کلسیم را کاهش می دهد و این عدم تعادل یونی عملکرد

آنزیم ها و فرآیندهای متابولیکی گیاه را مختل می کند (Isayenkov & Maathuis, 2019). در واکنش به این شرایط، گیاهان با فعال سازی مجموعه ای از سازوکارهای زیستی و مولکولی تلاش می کنند که اثرات تنش شوری را کاهش دهند (Ahmed et al., 2024).

ذرت (*Zea mays* L.) یکی از مهم ترین غلات در سراسر جهان است که به عنوان منبع اصلی غذا، خوراک دام و مواد خام صنعتی استفاده می شود و نقش مهمی در امنیت غذایی ایفا می کند (Ranum et al., 2014). تنش های محیطی به ویژه شوری خاک در مناطق خشک و نیمه خشک تأثیر چشمگیری بر کاهش عملکرد ذرت دارند (Farooq et al., 2015). اصلاح گیاهان زراعی به منظور افزایش تحمل به تنش های غیرزیستی به دلیل پیچیدگی وراثت صفات مرتبط با تحمل به این تنش ها دشوار است (Zafar et al., 2017). در سال های اخیر، راهکارهای غیرژنتیکی مانند استفاده از ریزجانداران همزیست برای افزایش تحمل به تنش های غیرزیستی در گیاهان مورد توجه قرار گرفته اند (Rodriguez et al., 2008). گیاهان در

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

(*) نویسنده مسئول: (Email: arseifi@um.ac.ir)

<https://doi.org/10.22067/jcesc.2025.93475.1401>

2- ROS: Reactive oxygen species

Phomopsis، *Fusarium Aspergillus*، *Talaromyces*، *Trichoderma*، *Alternaria*، *Paecilomyces*، *Colletotrichum*، و *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 (*Vigna radiata*) شد (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 بخشید (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 سازوکارهایی 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* L. (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 منحصربه‌فرد این گیاه از جمله توانایی ذخیره یون سدیم در واکوئل‌ها، عملکرد سلولی آن را تحت شرایط شوری حفظ می‌کند و این امر آن را به منبعی ارزشمند برای جداسازی ریزجانداران همزیست به‌ویژه اندوفیت‌های قارچی مقاوم به شوری تبدیل کرده است (Munns & Tester, 2008; Zeng et al., 2023).

گیاهان هالوفیت به‌دلیل زیست در محیط‌های شور، میزبان جمعیت‌های متنوعی از ریزجانداران همزیست از جمله اندوفیت‌ها هستند که به‌طور 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 (Furtado et al., 2019) به بررسی اندوفیت‌های

اندام‌های مختلف خود اجتماعات میکروبی متمایزی دارند که به مجموعه این ریزجانداران میکروبیوتا گفته می‌شود (Bulgarelli et al., 2013; Trivedi et al., 2020). شواهد زیادی درباره نقش ریزجانداران همزیست در رشد، نمو، پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی و افزایش سازگاری با محیط وجود دارد (Paasch & He, 2021). به‌عنوان مثال، باکتری *Bacillus pumilus* به‌عنوان 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 (*Chenopodium quinoa*) در شرایط شوری شده است (Jin et al., 2022).

امروزه مشخص شده است که بذرها حاوی ریزجانداران 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 (*Hordeum spontaneum*) مقاوم به شوری (*Hordeum brevisubulatum*) رابطه همزیستی پایدار برقرار می‌کند. این قارچ با ایجاد تغییرات آناتومیک مانند تقویت ساختارهای سلولی و اصلاح پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه در مواجهه با تنش شوری، از جمله افزایش ارتفاع گیاه، زیست‌توده 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 آکالوئیدهای 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 (*Oryza sativa*)، ذرت (*Zea mays*)، کینوا (*Chenopodium quinoa*)، جو (*Hordeum vulgare*)، گندم (*Triticum aestivum*)، سویا (*Glycine max*)، انگور (*Vitis vinifera*)، کدو (*Cucurbita pepo*) و صنوبر (*Populus alba*) شناسایی شده‌اند (Dos Reis et al., 2022; Nečajeva et al., 2023). فراوان‌ترین آن‌ها متعلق به شاخه‌های آسکومیست و بازیدیومیست هستند و عمدتاً شامل جنس‌های *Rhizoctonia*، *Mucor*، *Penicillium* و

میکرومولار از هر پرایمر، و ۱۰۰ نانوگرم از DNA قارچی استخراج شده به عنوان الگو انجام گردید. برنامه PCR شامل دناتوراسیون اولیه در ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت چهار دقیقه، ۳۰ چرخه شامل دناتوراسیون در ۹۴ درجه برای ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمرها در ۶۰ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، و طولیل سازی در ۷۲ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، و در نهایت یک مرحله طولیل سازی نهایی در ۷۲ درجه برای پنج دقیقه بود. محصولات PCR روی ژل آگارز یک درصد در بافر TAE تفکیک شدند. سپس محصولات PCR توسط شرکت نیازن نور (تهران) توالی یابی شده و توالی های به دست آمده 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 (10^6 اسپور در میلی لیتر) روی محیط های PDA حاوی صفر، یک، دو، سه و چهار مولار NaCl در سه تکرار کشت داده شد (Galeano et al., 2023). قطر کلونی قارچ به عنوان شاخص رشد در روز هفتم پس از کشت اندازه گیری گردید.

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

برای تعیین درصد جوانه زنی بذرهای ذرت تحت شرایط شوری، ابتدا بذرهای شرح فوق الذکر ضد عفونی شدند و سپس با اسپورهای قارچ *P. chrysogenum* پوشش دهی گردید. برای این منظور، یک میلی لیتر از اسپور قارچ با غلظت 10^6 به ۶۰ میلی لیتر محلول ساکاروز ۱۰ درصد اضافه شد. بذرهای ذرت ضد عفونی شده به مدت یک ساعت در این سوسپانسیون غوطه ور شدند تا پوشش دهی کامل انجام گیرد (Ramandi & Seifi, 2023; Shekhawat et al., 2021). بذور پوشش دار شده بر روی کاغذ صافی استریل زیر هود در دمای اتاق خشک شدند. بذرهایی که تنها با محلول ساکاروز ۱۰ درصد پوشش داده شده بودند به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. سپس بذرهای پوشش دار شده بر روی پلیت حاوی کاغذ صافی استریل مرطوب شده با چهار میلی لیتر NaCl با غلظت های صفر، ۳۰ و ۶۰ میلی مولار 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 جوانه زنی با ظهور ریشه چه پس از ۲۴ ساعت ثبت شد و روند ثبت جوانه زنی تا زمان ظهور ریشه تمامی بذرهای شاهد ادامه یافت. علاوه بر این، سه روز پس از ظهور ریشه اولیه، طول ریشه اولیه در سه زمان مختلف اندازه گیری و میانگین آن برای هر تکرار ثبت گردید. در نهایت، وزن تر ریشه برای هر دو گروه تلقیح شده با قارچ و شاهد تحت شرایط نرمال و شوری اندازه گیری شد.

باکتریایی جدا شده از گیاه هالوفیت *Salicornia europaea* پرداختند و نشان دادند که تلقیح گندم با سویه های منتخب این اندوفیت ها منجر به بهبود رشد ریشه و ساقه، افزایش سطح کلروفیل و افزایش تحمل به شوری شد. این نتایج بیانگر آن است که اندوفیت های جدا شده از گیاهان هالوفیت می توانند به عنوان ابزار زیستی مؤثری برای القای تحمل به گیاهان زراعی در برابر شوری مورد استفاده قرار گیرند (Etesami & Beattie, 2017). مطالعه حاضر با هدف جداسازی و شناسایی قارچ های اندوفیت بذر گیاه *Bassia scoparia* و ارزیابی توان آن ها در بهبود رشد گیاه ذرت تحت شرایط تنش شوری، با بهره گیری از پتانسیل میکروبیوم های اندوفیتی بذر انجام شده است.

مواد و روش ها

مواد گیاهی

دو توده بذر کوشیا از یزد و سبزوار از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی شیراز دریافت شد. همچنین بذر ذرت هیبرید رقم هیدو (Hido) از مزرعه دانشگاه فردوسی مشهد تهیه گردید. کلیه فعالیت ها و آزمایش ها 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 میلی گرم بذر در اتانول ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه و سپس در سدیم هیپوکلریت دو درصد به مدت ۱۰ دقیقه برای ضد عفونی سطحی غوطه ور شدند و در نهایت، پنج مرتبه با آب مقطر استریل شست و شو گردید. بذور ضد عفونی شده با پنج میلی لیتر محلول ۰/۹ % NaCl استریل در هاون چینی استریل کوبیده شد. از این عصاره، رقت های 10^{-2} و 10^{-4} تهیه و ۱۰۰ میکرولیتر از آن روی پلیت های هشت سانتی متری حاوی محیط های LB یا PDA (دارای آنتی بیوتیک کلرامفنیکل با غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر) کشت داده شدند. پلیت ها در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد به مدت دو تا سه روز برای رشد باکتری ها در محیط LB و به مدت هفت روز برای رشد قارچ ها در محیط PDA انکوبه شدند (Ramandi & Seifi, 2023).

شناسایی مولکولی ایزوله قارچ

شناسایی مولکولی قارچ بر اساس توالی یابی 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

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

برای بررسی تأثیر قارچ اندوفیت جدا شده بر جوانه‌زنی ذرت، آزمایشی کنترل شده در سینی نشاء حاوی مخلوط پیت‌ماس و پرلیت (به نسبت ۳ به ۱) اتوکلاو شده در اتاقک رشد انجام گردید. برای هر تیمار، پنج گیاهچه (یک گیاهچه در هر گلدان) کشت شدند. پوشش دار کردن بذرهای ذرت مطابق روش گفته شده در پاراگراف قبل، 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 et al., 2023). برای هر تیمار آبیاری پنج تکرار در نظر گرفته شد. آبیاری هر سه روز یک بار انجام گرفت. پس از گذشت ۲۱ روز، شاخص‌های 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 استریل شده پیت ماس و پرلیت (به نسبت ۳:۱) با سوسپانسیون اسپور *P. chrysogenum* (۱۰^۷ 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 پنج روزه ذرت به گلدان‌های سه لیتری حاوی مخلوط پیت‌ماس و پرلیت تلقیح شده با اسپور قارچ انتقال داده شدند. گیاهان شاهد 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 شاهد و تلقیح شده با قارچ، هر کدام با پنج تکرار انجام گردید. 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 شش 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 سه روز یک بار آبیاری شدند.

سنجش شاخص‌های 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 شاخص‌های فیزیولوژیکی

در این پژوهش، به منظور 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 فلیم‌فتومتری تعیین شد. نمونه‌های خشک شده در کوره با دمای ۵۰۰ تا ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد خاکستر و سپس در اسید حل گردید. 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. عامل‌های 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 پنج درصد و با استفاده از نرم‌افزار Minitab انجام شد. ترسیم نمودارها و تحلیل‌های گرافیکی نیز با بهره‌گیری از نرم‌افزار GraphPad Prism 9 انجام گردید.

نتایج

جداسازی قارچ اندوفیت از بذر *B. scoparia*

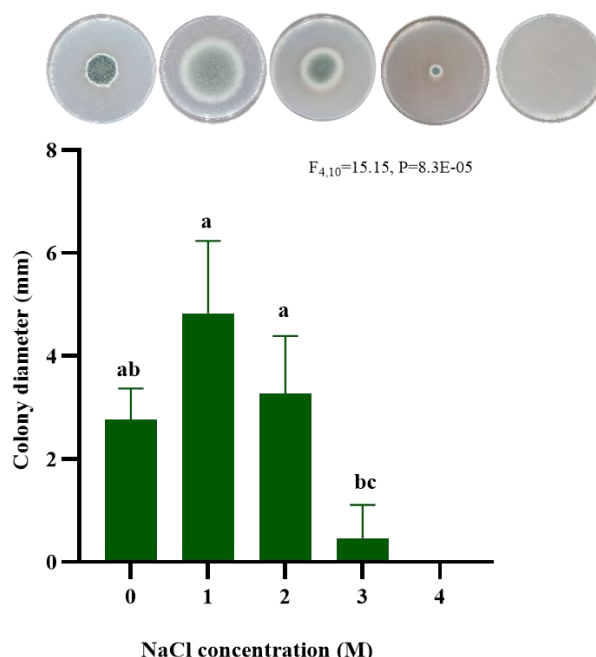
برای جداسازی میکروبیوتای اندوفیت بذر کوشیا، عصاره بذرهای ضدذغفونی شده روی محیط‌های کشت باکتری (LB) و قارچ (PDA) کشت داده شد. نکته جالب توجه این بود که هیچ باکتری رشد نکرد و تنها یک نوع قارچ روی پلیت PDA رشد کرد. نتایج توالی‌یابی ITS قارچ جدا شده نشان داد که توالی ITS این قارچ بیش از ۹۹ درصد شباهت با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

تحمل به تنش شوری قارچ *P. chrysogenum*

میزان رشد قارچ *P. chrysogenum* در غلظت‌های مختلف شوری صفر تا چهار مولار NaCl به‌طور معنی‌داری متفاوت بود (۰/۰۵ < p). اندازه‌گیری قطر کلونی قارچ در چهار سطح شوری نشان داد که

قارچ کاهش یافته، به نحوی که در چهار مولار NaCl هیچ رشدی مشاهده نشد (شکل ۱).

رشد قارچ در شرایط یک مولار NaCl به طور قابل توجهی (۷۷ درصد) بیشتر از شرایط بدون شوری بود، ولی با افزایش غلظت نمک رشد



شکل ۱- اثر سطوح مختلف شوری بر رشد قارچ *P. chrysogenum*

Figure 1- Effect of different salinity levels on the growth of *P. chrysogenum*

میانگین‌های دارای حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت‌های آماری معنی‌دار (آزمون توکی، $p \leq 0.05$) هستند

Means followed by different letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$)

گیاهان تیمار شده با *P. chrysogenum* افزایش معنی‌داری در وزن تر اندام هوایی (تا ۵۷ درصد) 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 درصد نشان داد (شکل ۳).

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 درصد)، وزن تر ریشه (۶۳/۸۰ درصد) و کل وزن تر گیاه (۴۱/۶۱ درصد) در مقایسه با نمونه‌های شاهد شد. افزایش معنی‌دار در وزن خشک گیاهان تلقیح شده با قارچ نیز مشاهده شد (شکل ۴).

نتایج مربوط به بذره‌های ذرت تحت تنش شوری (۱۵۰ میلی‌مولار NaCl) در گلخانه نشان داد که تلقیح قارچ منجر به افزایش وزن تر اندام هوایی (۲۲۳/۶۲ درصد)، وزن تر ریشه (۱۳۸/۵۱ درصد) و کل وزن تر گیاه (۱۸۶/۸۸ درصد) شد. این افزایش معنی‌دار در وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه گیاهان تلقیح شده با قارچ نیز از نتایج به دست آمد (شکل ۳). نتایج آزمایش‌های گلخانه نشان داد که

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

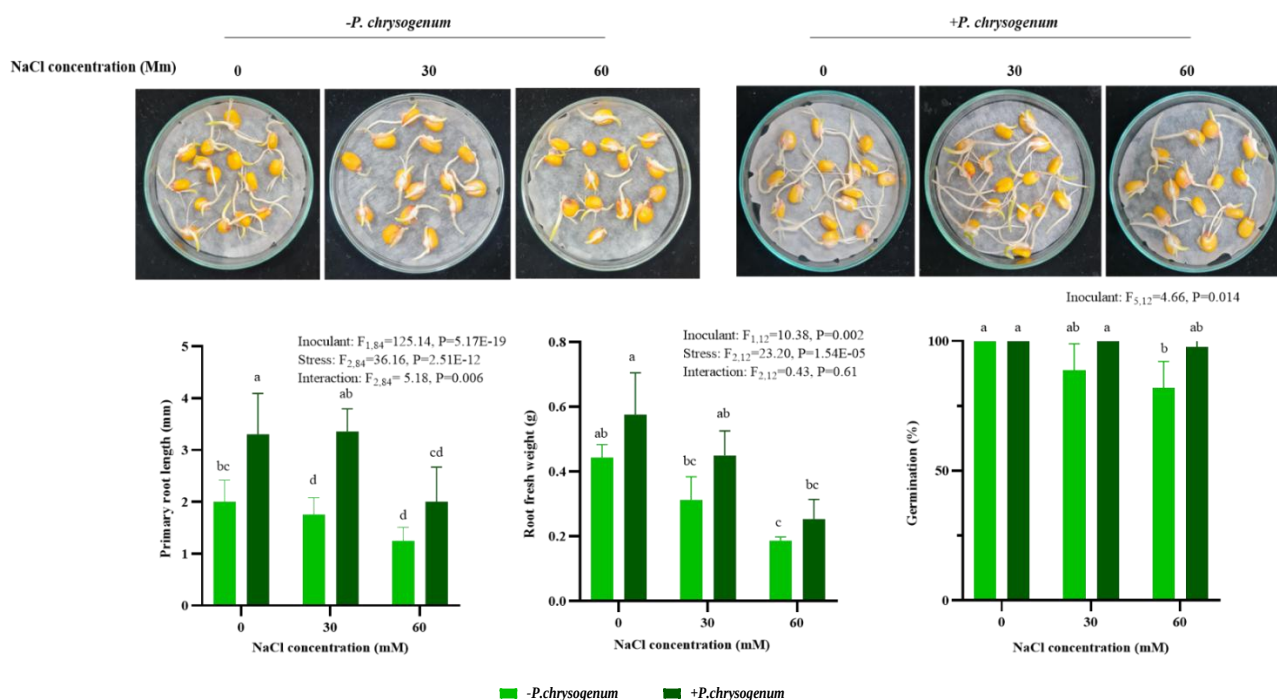
در گام بعدی تأثیر قارچ بر جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه تحت سطوح مختلف NaCl بررسی شد. قارچ تأثیر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی نداشت، ولی باعث افزایش معنی‌دار شاخص‌های مربوط به استقرار گیاهچه شد (شکل ۲). وزن تر ریشه اولیه در گیاهان تلقیح شده به طور قابل توجهی (۵ درصد/۲۹) افزایش یافت. تحت شوری ۶۰ میلی‌مولار،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

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

اثر تلقیح با قارچ *P. chrysogenum* بر رشد ذرت تحت آبیاری نرمال در اتاق رشد بررسی شد. نتایج نشان داد که تلقیح با قارچ منجر به افزایش معنی‌دار وزن تر اندام هوایی (۱۶ درصد)، وزن تر ریشه (۳۴/۹ درصد) و کل وزن تر گیاه (۲۱/۴ درصد) 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 که

P . در مقابل، تحت تنش خشکی، بذره‌های 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 بذره‌های تیمار شده با P . $chrysogenum$ تحت تنش خشکی ۵۲/۷ درصد کاهش یافت (شکل ۴).

بذره‌های ذرت تیمار شده با P . $chrysogenum$ افزایش قابل توجهی در طول اندام هوایی (۱۳۶/۱ درصد) 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 درصد افزایش داد (شکل ۴). تأثیر قارچ بر ذرت تحت تنش خشکی در گلخانه نیز ارزیابی شد



شکل ۲- اثر تلقیح قارچ P . $chrysogenum$ بر درصد جوانه‌زنی بذره‌های ذرت در شرایط نرمال و شوری (۰، ۳۰ و ۶۰ میلی مولار NaCl) در پلیت حاوی کاغذ صافی استریل

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

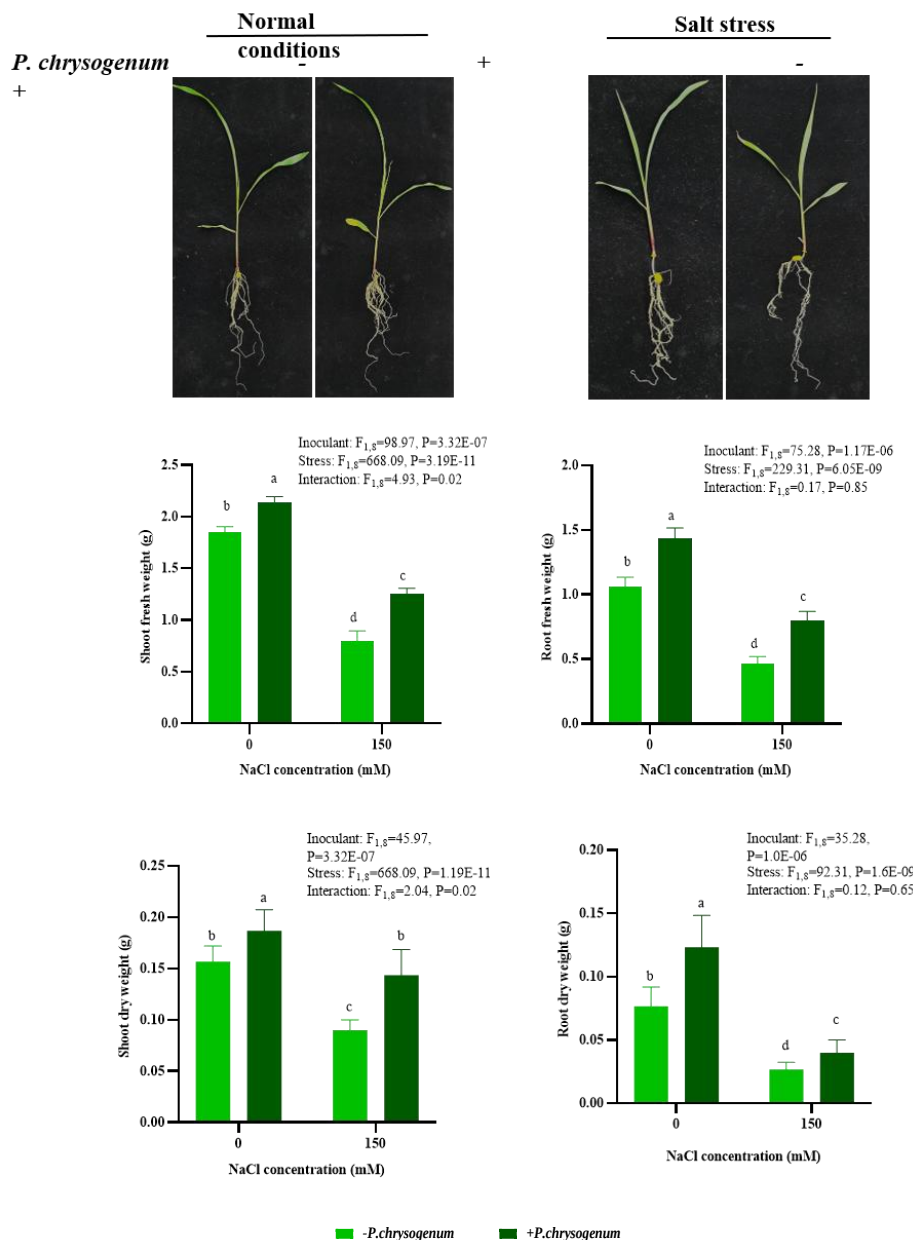
حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت‌های آماری معنی‌دار هستند (آزمون توکی، $p \leq 0.05$).

Different letters indicate statistically significant differences (Tukey test, $p \geq 0.05$).

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 شاخص‌های 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 شاهد و تیمار شده با قارچ وجود نداشت ($p \leq 0.05$) (شکل ۶).

اثر قارچ P . $chrysogenum$ بر شاخص‌های رشد و فیزیولوژیکی گیاه ذرت در شرایط گلخانه

به‌منظور 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 شاهد آنالیز گردید. اندام هوایی گیاهان ذرت برداشت و غلظت یون‌ها اندازه‌گیری شد. گیاهان تلقیح شده و شاهد هر دو سطح



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 اندازه‌گیری شد

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

حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت‌های آماری معنی‌دار هستند (آزمون توکی، $p \leq 0.05$).

Different letters indicate statistically significant differences (Tukey test, $p \geq 0.05$).

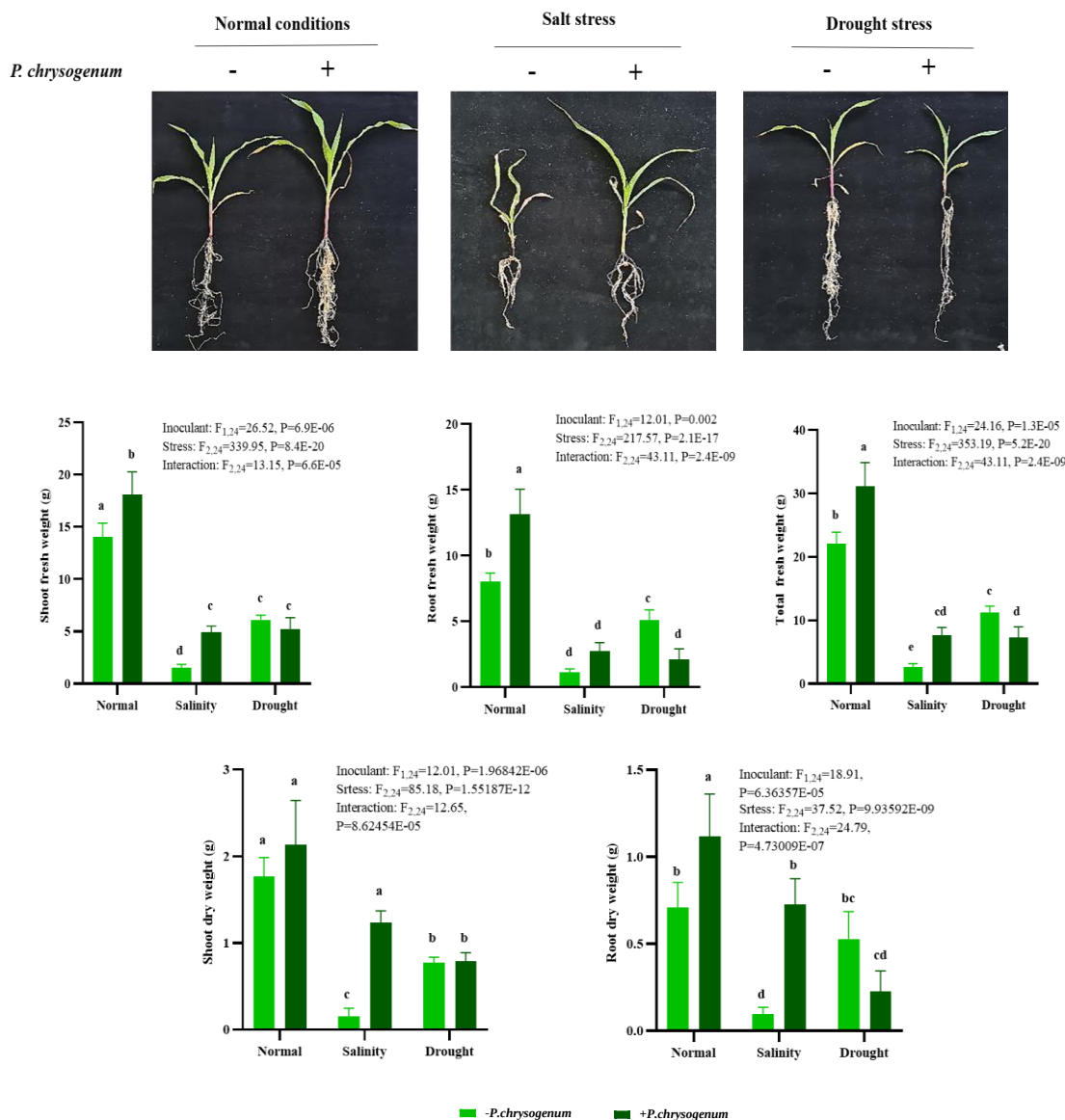
بحث

مختلف نمک مشخص شد که این قارچ در محیط حاوی یک مولار NaCl بیشترین رشد را داشت 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

در این مطالعه، جداسازی میکروبیوم بذر گیاه هالوفیت *scoparia* منجر به شناسایی یک قارچ اندوفیت شد که براساس نتایج توالی‌یابی ITS احتمالاً قارچ *P. chrysogenum* است. براساس نتیجه حاصل از کشت این قارچ روی محیط حاوی غلظت‌های

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).

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 آزمایش گلخانه گیاهان تلقیح‌شده با

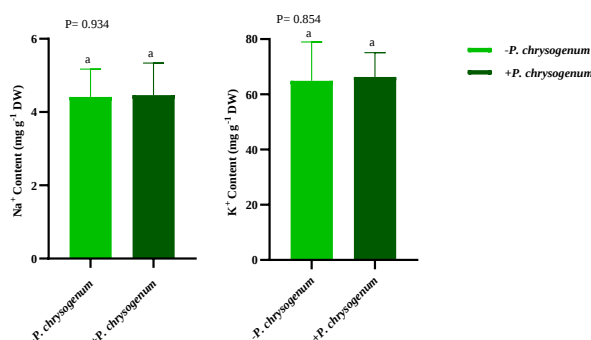


شکل ۴- اثر تلقیح قارچ *P. chrysogenum* بر رشد گیاهان ذرت در گلخانه. وزن تر بخش هوایی، وزن تر ریشه، وزن تر کل، وزن خشک بخش هوایی و وزن خشک ریشه

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

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار (آزمون توکی، $p \leq 0.05$) می‌باشد.

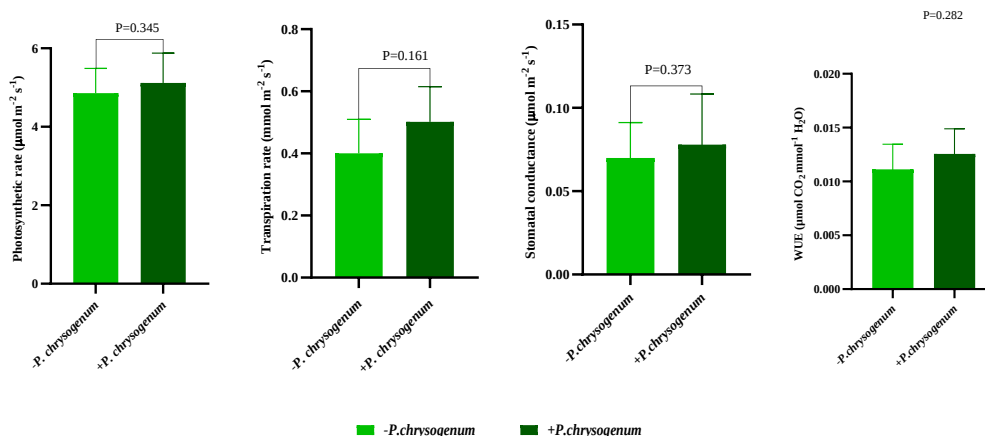
Different letters indicate statistically significant differences at the 5% level (Tukey test, $p \geq 0.05$).



شکل ۵- غلظت سدیم و پتاسیم در برگ و ساقه ذرت تحت تأثیر تلقیح قارچ در شرایط آبیاری نرمال (صفر میلی مولار NaCl) و شور (۱۵۰ میلی مولار NaCl)

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

حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت‌های آماری معنی‌دار هستند (آزمون توکی، $p \leq 0.05$).
Significant difference at the 5% level (Tukey test, $p \geq 0.05$).



شکل ۶- شاخص‌های فتوسنتزی گیاهان ذرت، بین گیاهان شاهد و تیمار شده با قارچ تحت شرایط آبیاری نرمال با دستگاه فتوسنتز متر اندازه‌گیری شدند

Figure 6- Photosynthetic parameters of maize plants were measured between control and fungus-treated plants under normal irrigation conditions using a photosynthesimeter

تفاوت معنی‌داری در نرخ فتوسنتز، نرخ تعرق، هدایت روزنه‌ای و کارایی مصرف آب (WUE) بین گیاهان شاهد و تیمار شده با قارچ مشاهده نشد ($p \leq 0.05$).
No significant differences were observed in photosynthesis rate, transpiration rate, stomatal conductance, and water use efficiency (WUE) between control and fungus-treated plants ($p \geq 0.05$).

اندازه‌گیری شد. نکته جالب این بود که شاخص‌های فتوسنتزی و نسبت سدیم/پتاسیم در گیاهان تلقیح شده با قارچ و گیاهان شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۶). لذا به نظر می‌رسد که 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. ترنسپورتهای 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).

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 سازوکار افزایش تحمل به شوری توسط این قارچ، شاخص‌های فتوسنتزی و یونی در گیاهان تیمار شده با قارچ

بذر، منبع ژنتیکی ارزشمندی برای افزایش تحمل به شوری در گیاهان زراعی به شمار 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., 2019; Zeng et al., 2023).

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، این پژوهش گامی مؤثر در جهت استفاده از ریزجانداران 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 ارتقای رشد ریشه و اندام‌های هوایی، قابل توجه است. برای بهره‌برداری عملی از این یافته‌ها، انجام مطالعات مزرع‌ای، بررسی سازوکارهای مولکولی مرتبط، و توسعه فرمولاسیون تجاری پیشنهاد می‌شود. همچنین ترکیب قارچ‌های مفید با سایر ریزجانداران 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.

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 V-ATPase و H^+-PPase 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 سازوکارهای القایی توسط قارچ اندوفیت به دست آید.

تاکنون، قارچ‌های اندوفیت بسیاری یافت شده‌اند که در القای تحمل در گیاهان نسبت به تنش‌های غیرزیستی مؤثر بوده‌اند. در بین این گونه‌ها، تحمل *P. chrysogenum* به دلیل توانایی‌اش در رشد تحت شرایط شوری بالا و افزایش رشد گیاه از طریق سازوکارهایی 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

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. <https://doi.org/10.3390/ijms25052654>
- 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. <https://doi.org/10.1002/jpln.202100344>
- 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. <https://doi.org/10.1111/mpp.12382>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120824>
- 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. *Pakistan Journal of Botany*, 42(4), 2479-2487
- 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. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120106>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127058>
- 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. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-03283-0>
- 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. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-3473->

2_7

11. FAO. (2021). Global map of salt-affected soils. In: FAO Rome, Italy.
12. 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. <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0287-0>
13. 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. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu217>
14. 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. <https://doi.org/10.1128/AEM.00305-19>
15. 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/10.1016/j.rhisph.2023.100710>
16. Gul, B., Ansari, R., Aziz, I., & Khan, M. A. (2010). Salt tolerance of *Kochia scoparia*: A new fodder crop for highly saline arid regions. *Pakistan Journal of Botany*, 42(4), 2479-2487.
17. 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. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00686>
18. Isayenkov, S. V., & Maathuis, F. J. (2019). Plant salinity stress: Many unanswered questions remain. *Frontiers in Plant Science*, 10, 80. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00080>
19. 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. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0273459>
20. 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.
21. 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. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126616>
22. Leitão, A. L., & Enguita, F. J. (2016). Gibberellins in *Penicillium* strains: Challenges for endophyte-plant host interactions under salinity stress. *Microbiological Research*, 183(2), 8-18. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.004>
23. Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59(1), 651-681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
24. Nečajeva, J., Boroduške, A., Nikolajeva, V., Senkovs, 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. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010184>
25. 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. *Plant Physiology and Biochemistry*, 139, 459-469. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.04.019>
26. Paasch, B. C., & He, S. Y. (2021). Toward understanding microbiota homeostasis in the plant kingdom. *Plos Pathogens*, 17(4), e1009472. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009472>
27. 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. <https://doi.org/10.1134/S000368382104013X>
28. 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. <https://doi.org/10.1038/s41586-024-08403-y>
29. Ramandi, A., & Seifi, A. (2023). Suppressive soil microbiota inhibit wilting diseases and enhance growth in sesame. *Rhizosphere*, 25, 100668. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2023.100668>
30. 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. <https://doi.org/10.1111/nyas.12396>
31. 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. <https://doi.org/10.1038/ismej.2007.106>
32. 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/10.3389/fpls.2018.00024>

33. 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. <https://doi.org/10.15252/embr.202051049>
34. 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. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0412-1>
35. Verma, S. K., Kharwar, R. N., & White, J. F. (2019). The role of seed-vectored endophytes in seedling development and establishment. *Symbiosis*, 78, 107-113. <https://doi.org/10.1007/s13199-019-00619-1>
36. 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. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1044735>
37. 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. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
38. 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.
39. 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. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c07092>
40. 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. <https://doi.org/10.1186/s40168-022-01422-9>
41. 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. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1353763>
42. 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. <https://doi.org/10.1016/j.pmp.2020.101569>