

اثر قارچ همزیست *Serendipita indica* بر صفات رویشی، گلدهی و عملکرد گیاه سیر^۱ Effect of *Serendipita indica* on Vegetative Traits, Flowering and Yield of Garlic (*Allium sativum*)

مژگان غلامی، فرشاد دشتی* و نادر رکنی^۲

چکیده

قارچ *Serendipita indica* به عنوان تقویت کننده رشد و ایجاد مقاومت در برابر تنش محیطی در طیف وسیعی از گونه های گیاهی عمل می کند. این پژوهش با هدف بررسی اثر این قارچ بر رشد، عملکرد و گلدهی گیاه سیر به انجام رسید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح به طور کامل تصادفی شامل دو فاکتور هم گروه (گل ده، نیمه گل ده، غیر گل ده) و دو سطح قارچ (تلقیح شده و تلقیح نشده) با سه تکرار انجام شد. قارچ با افزایش جذب عناصر موجب افزایش زیست توده و عملکرد سیر شد. اثر هم گروه بر صفات اندازه گیری شده به جز عرض برگ و کلروفیل تأثیر آماری معنی داری داشت. تیمار قارچ بر تعداد برگ و تعداد سیرچه تأثیر گذار نبود. قارچ طول ساقه گل دهنده را در هم گروه های گل ده و نیمه گل ده نسبت به تلقیح نشده ها (۰.۳۰٪) افزایش داد. خروج ساقه گل دهنده در هم گروه غیر گل ده مشاهده نشد. ظهور گل تنها در هم گروه گل ده رویت شد. درصد گلدهی در هم گروه گل ده تلقیح شده (۴۵/۹۰) کم تر از تلقیح نشده (۴۸/۴۴) بود. قارچ بر زمان خروج ساقه گل دهنده تأثیر گذار بود و با تسریع در بلوغ گلدهی را تسریع کرد. قارچ بر افزایش تعداد و اندازه یاخته های آوند چوبی و پارانشیمی اثر مثبت داشت. نتایج نشان داد که قارچ *S. indica* توانایی همزیستی با گیاه سیر و بهبود صفات رویشی و زایشی را دارد.

واژه های کلیدی: همزیستی قارچ اندوفیت، شاخص های رشد مورفولوژیکی، زمان به گل رفتن، عناصر، تغییرات تشریحی.

مقدمه

سیر (*Allium sativum* L.) یکی از مهم ترین محصولات باغبانی است و امروزه به دلیل ارزش تغذیه ای، ادویه ای و خواص دارویی (اثر ضد میکروبی، ضد دیابت، ضد سرطان و غیره) بسیار مورد توجه قرار گرفته است. این گیاه بومی آسیای مرکزی است که با موفقیت در منطقه مدیترانه با زمستان به نسبت سرد و بهار و تابستان گرم تولید می شود (۷). در گذشته سیر به عنوان گیاه عقیم شناخته شده بود و تولید و بهبود خصوصیات سیر منحصراً به تکثیر رویشی بستگی داشت تا زمانی که هم گروه های بارور با توانایی گرده افشانی و تولید بذر در آسیای مرکزی معرفی شدند (۱۱). علی رغم تکثیر غیر جنسی، جمعیت های سیر به دلیل جهش های خود به خودی و عوامل اقلیمی به خصوص دما و نور تنوع گسترده ای از نظر صفات مورفولوژیکی و تولید مثلی از جمله توانایی سوخ دهی، رنگ و اندازه سوخ، تعداد و اندازه سیرچه ها، ارتفاع بوته، زمان گلدهی، توانایی گلدهی، تولید بذر و پاسخ به شرایط محیطی نشان می دهند (۱۶). پیشرفت های اخیر در مطالعات سیر بازیابی باروری و کشف نژادگان بارور و نر عقیم را امکان پذیر کرده است (۷). مراحل تکاملی سیر با تکثیر جنسی شروع، با عقیمی و گلدهی ناقص ادامه و با نژادگان غیر گل ده به دلیل انتخاب طولانی مدت انسان برای به دست آوردن بزرگ ترین سوخ و کم ترین گلدهی پایان یافت (۱۱).

نژادگان های سیر بر اساس تشکیل ساقه گل دهنده به سه گروه غیر گل ده، نیمه گل ده و گل ده طبقه بندی می شوند. در انواع غیر گل ده ساقه گل دهنده تشکیل نشده و یا در مراحل اولیه سقط می شود. در انواع نیمه گل ده یا به عبارتی نژادگان هایی با

۱- تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۶/۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۳/۱۹

۲- به ترتیب دانشجو دکتری، دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا و استادیار دانشگاه صنعتی جندی شاپور دزفول، دزفول، ایران.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (fdashti@basu.ac.ir, dashti1350@yahoo.com).

گلدھی ناقص، ساقه گل‌دهنده خیلی طویل نشده و به طور معمول دارای اسپات توخالی است گاهی تعداد کمی سوخیزه‌های هوایی بزرگ و یا ساختار براکته مانند در گل آذین تشکیل شده اما هیچ گلی تشکیل نمی‌شود. در انواع گل‌ده، ساقه گل‌دهنده با اندازه مناسب، حاوی گل و سوخیزه‌های هوایی تشکیل می‌شود (۱۶). عادت رشد و گلدھی گیاهان پیازی به طور قابل توجهی تحت تأثیر محیط در طول فصل رشد فعلی و قبلی و همچنین شرایط ذخیره‌سازی سوخ‌ها در انبار است. تکامل سوخ و گل در سیر به طور موازی اتفاق می‌افتد به همین دلیل این دو فرآیند به دو مخزن^۱ رقابتی و جایگزین تبدیل می‌شوند. سرنوشت این دو مسیر به عوامل ژنتیکی و تعادل هورمونی مربوط می‌شود، علاوه بر آن می‌توان تا حدودی با تغییر شرایط محیطی از جمله دما، نور و ایجاد تنش‌های زیستی و غیرزیستی مسیر را به سمت رشد رویشی و زایشی تغییر داد (۱۶، ۱۱). به‌منظور گلدھی، افزایش بذر و رشد رویشی در گیاهان روش‌های متعددی انجام شده است که در سال‌های اخیر کاربرد قارچ‌های اندوفیت مورد توجه قرار گرفته است.

قارچ‌های اندوفیت از مهم‌ترین ریز جانداران خاک محسوب می‌شوند که طی همزیستی با گیاهان با ایجاد تغییرات ژنتیکی، فیزیولوژیکی و اکولوژیکی در میزبان خود، عملکرد آن‌ها را در واحد سطح افزایش می‌دهند. در این زمینه قارچ‌های ساکن در ریشه بیش‌تر مورد توجه قرار می‌گیرند زیرا هیف‌های آن‌ها می‌توانند اثر منفی تنش‌های زیستی و غیرزیستی که گیاه را احاطه کرده است را کاهش دهند. از جمله این قارچ‌ها می‌توان به *S. indica* اشاره نمود که برای گیاه میزبان اثرات مفیدی دارد. ثابت شده است که این قارچ به طور چشمگیری باعث بهبود جذب آب و مواد مغذی، گلدھی زودرس، تولید بذر، افزایش درصد جوانه‌زنی، قابلیت فتوسنتز و سرعت رشد گیاه به ویژه در خاک‌های که کمبود مواد مغذی دارند، می‌شود. هم‌چنین تولید متابولیت‌های ثانویه را تغییر داده است و سازگاری، تحمل و یا مقاومت در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده را تقویت می‌کند (۸، ۱۵، ۲۵). هیف‌های این قارچ به‌صورت یک کلاف در هم پیچیده است و دیواره هیف‌ها دارای رسوب‌هایی مانند پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌های آبریز هستند که با تولوئیدین آبی رنگ می‌شوند. هیف‌ها در زمان بلوغ اسپوره‌های گلایی شکل به‌صورت منفرد و متصل به هیف یا خوشه‌ای شکل جدا از هیف تولید می‌کنند. اسپورها می‌توانند بقای خود را در شرایط نامناسب محیطی حفظ کنند و با مناسب شدن شرایط جوانه‌زده و به رشد رویشی خود ادامه دهند. توالی ژنوم این قارچ دارای حداقل ۶ کروموزوم و یک ژنوم به سایز ۱۵/۴ تا ۲۴ میلیون جفت باز می‌باشد که ۵۰/۸۶ درصد آن حاوی GC است. این قارچ غیرسیستمیک بوده و به‌صورت افقی از یک گیاه به گیاه دیگر منتقل و با کل گیاهان در اکوسیستم همزیستی می‌یابد (۱۵، ۲۴).

اثر همزیستی *S. indica* به طور قابل توجهی در تحریک رشد و ارتقای عملکرد در بسیاری از گیاهان از جمله نیشکر (۲۴)، نارنج سه برگ (۲۵)، سجافی^۲ (۹) گزارش شده است که این اثر به افزایش جذب مواد مغذی و در نتیجه افزایش رشد رویشی و توسعه اندام زایشی مرتبط می‌باشد. از طرف دیگر اثر قارچ *S. indica* بر زود گلدھی در گیاهان فورسکولی (۶)، آرابیدوبسیس (۱۸)، لفل (۲)، کلزا (۲۳) و افزایش تعداد گل در آفتابگردان (۳) به اثبات رسیده است. هم‌چنین مطالعات مختلفی مبنی بر اثر قارچ بر افزایش تعداد، اندازه و شکل گل آذین، گل، دانه گرده، بذر و میوه نشینی در گیاهان مختلف تک‌لپه و دولپه از جمله جو، تنباکو، گوجه‌فرنگی و گیاهان دارویی انجام شده است (۶، ۱۵). این ویژگی‌ها در ترکیب با دامنه میزبان گسترده آن، پتانسیل بسیار زیادی را برای این قارچ جهت پژوهش در زمینه به‌نژادی گیاهان باغی فراهم می‌کند. لذا، این بررسی برنامه‌های بالقوه *S. indica* را در پژوهش و تولید محصولات باغی برجسته می‌کند. با این حال با مرور منابع مختلف مشخص شد که مطالعه‌ای در مورد اثر این قارچ بر گیاه سیر انجام نشده است. بنابراین با توجه به اهمیت قارچ در مطالعه حاضر اثر تلقیح قارچ *S. indica* بر برخی صفات رشدی و گلدھی سه هم‌گروه غیرگل‌ده، نیمه‌گل‌ده و گل‌ده سیر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مزرعه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا انجام شد. دو فاکتور مورد بررسی شامل هم‌گروه‌های مختلف سیر از لحاظ گلدھی (گل‌ده: هم‌گروه مازند زابل، نیمه‌گل‌ده: هم‌گروه فریدون کنار؛ غیرگل‌ده: هم‌گروه همدان) و دو سطح قارچ اندوفیت *S. indica* (تلقیح و عدم تلقیح قارچ) بود.

تکثیر و تولید سوسپانسیون قارچ

قارچ *S. indica* به صورت کشت خالص توسط گروه آسیب شناسی گیاهی دانشگاه تربیت مدرس، تهران (شماره دسترسی: ایران ۳۲۳۹C) فراهم شد. قارچ مذکور در محیط کشت دکستروز آگار سیب زمینی^۱ در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی به مدت چهار هفته کشت شد سپس جهت تهیه سوسپانسیون قارچ، ۵ قطعه ۵ میلی‌متری از قارچ کشت شده برداشته شد و در فلاسک ۲۵۰ میلی‌لیتری، حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت مایع غوطه‌ور شد و به مدت ۱۰ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد روی شیکر ۱۵۰ دور در دقیقه قرار گرفت. زیست توده *S. indica* (میسلیوم و کلامیدوسپور) با فیلتر کردن از طریق کاغذ صافی شماره ۱ واتمن از کشت‌های مایع جمع‌آوری شد. پس از برداشتن قطعه‌های آگار، زیست توده چندین بار با آب مقطر استریل شسته شد و آب اضافی به بیرون ریخته شد. سپس زیست توده با استفاده از یک کاردک به آرامی هم زده شد تا ظاهری کرمی نرم به خود بگیرد. یک گرم از زیست توده در آب مقطر استریل در یک فلاسک حجمی ۲۵۰ میلی‌لیتری قرار گرفت و حجم نهایی دقیقاً به ۲۰۰ میلی‌لیتر رسید. سپس زیست توده با همزن به مدت ۲ دقیقه همگن شد. تعداد هر یک از قطعات میسلیومی، اسپور و یا اسپور متصل به میسلیوم به‌عنوان یک واحد پتانسیل کلونیزاسیون در شمارش در نظر گرفته شد و تعداد نهایی با استفاده از لام نئوبار و میکروسکوپ حدود 6×10^5 در هر میلی‌لیتر محلول براساس CFU/ml محاسبه گردید (۱۰).

کشت گیاه و اعمال تیمار

به‌منظور فراهم نمودن گیاهچه جهت تلقیح، سوخ‌های سیر در اوایل آبان‌ماه در سینی نشاء (قطر ۷ و ارتفاع ۹ سانتی‌متر) حاوی کوکویت و پرلیت استریل کشت شدند و پس از ریشه‌دار شدن در سوسپانسیون قارچ حاوی هیف و اسپور به مدت سه ساعت غوطه‌ور شدند و در نهایت سوخ‌های ریشه‌دار شده در اواسط آبان‌ماه ۱۳۹۸ در زمین اصلی در خطوطی به طول ۲۰۰ سانتی‌متر و به فواصل ۱۵ سانتی‌متر بین بوته و ۲۵ سانتی‌متر بین ردیف کشت شدند. کود نیتروژن از نوع اوره به میزان ۳۰ گرم بر متر مربع به‌صورت سرک و در سه مرحله از اواخر اسفند شروع و به فواصل دو هفته یکبار، مصرف گردید. اولین مرحله آبیاری در پاییز پس از کاشت و اولین آبیاری در بهار از اواسط اردیبهشت شروع و براساس نیاز گیاه و با توجه به دمای محیط به‌صورت پنج تا هفت روز یکبار انجام گردید. یک ماه پس از تلقیح، همزیستی ریشه و درصد همزیستی توسط قارچ *S. indica* به دو روش رنگ‌سنجی و استخراج دی‌ان‌ای بررسی شد.

تعیین درصد همزیستی ریشه به روش رنگ‌سنجی

بدین منظور ریشه‌ها از گیاهچه‌ها جدا شدند و پس از شستشو با آب دیونیزه به طول یک سانتی‌متر برش داده شدند. قطعات یک سانتی‌متری داخل پروکسید هیدروژن (KOH) به مدت ۲۴ ساعت غوطه‌ور شدند و در بن‌ماری دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه جهت شفاف سازی ریشه‌ها قرار گرفتند. به‌منظور رنگ‌گیری بهتر ریشه‌ها در پروکسید هیدروژن به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند و پس از ۵ بار شستشو در هیدروکلریک اسید (HCl) یک درصد به مدت ۳ دقیقه غوطه‌ور شدند. ریشه‌ها به‌طور مستقیم از محلول اسیدی به محلول آبی رنگ تریپان‌بلو ۰/۰۵ درصد منتقل شد و به مدت ۲ دقیقه غوطه‌ور شدند. رنگ اضافی با استفاده از چند قطره گلیسرول از ریشه‌ها خارج شد و در نهایت ۵۰ قطعه ریشه‌های یک سانتی‌متری از هر تیمار روی لام قرار گرفت و با میکروسکوپ همزیستی ریشه‌ها بررسی شد و در نهایت درصد همزیستی محاسبه گردید (۱۰).

$100 \times$ تعداد کل مشاهدات / تعداد قطعات کلونیزه شده = درصد کلونیزاسیون

استخراج DNA

استخراج DNA قارچ و ریشه گیاه و انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز^۲ با پرایمر تخصصی قارچ *S. indica* (پرایمر رفت 5'-GTATGGGTACGCTCTTGATCTC-3' و پرایمر برگشت 5'-ACGGACAAGGTGGCATTATAG-3') جهت اطمینان یافتن از تلقیح گیاه با قارچ مذکور انجام شد (۱۷).

مطالعات تشریحی

جهت مطالعه تشریحی، از قسمت میانی اندام‌های برگ و ریشه نمونه‌گیری صورت گرفت و برش‌گیری به صورت دستی انجام شد. برش‌ها ابتدا به مدت ۴ دقیقه در آب ژاول قرار داده شدند و پس از شستشو با آب داخل اسید استیک ۱۰ درصد به مدت ۱ دقیقه غوطه‌ور شدند و مجدداً با آب شستشو داده شدند سپس لحظه کوتاهی داخل متیل آبی فرو برده شدند و بلافاصله شستشو با آب انجام شد. در نهایت برش‌ها به مدت ۱۰ دقیقه داخل کارمن رنگ‌آمیزی شدند و پس از شستشو با آب با میکروسکوپ نوری مشاهده و با دوربین دیجیتال Canon عکس‌برداری شدند (۵).

صفات مورد ارزیابی

برای اندازه‌گیری صفات، در خرداد ماه ۱۳۹۹ تعداد پنج بوته از هر هم‌گروه به صورت تصادفی انتخاب و تمامی صفات مورد نظر روی آن‌ها سنجیده شد. از جمله آن‌ها می‌توان به تعداد برگ در بوته سیر، طول برگ، عرض برگ، طول و قطر ساقه مجازی، میانگین وزن سوخ، میانگین وزن و تعداد سیرچه در سوخ، طول ساقه گل‌دهنده، درصد گلدهی و زمان به گل رفتن (زمان گلدهی خروج اسپات از داخل ساقه مجازی در نظر گرفته شد)، عملکرد، درصد ماده خشک (۱) و غلظت کلروفیل (۱۹) اشاره کرد.

درصد گلدهی و زمان به گل رفتن

برای تعیین درصد گلدهی، در هر تکرار ۳۰ بوته بررسی، بوته‌های گلدار بر ۳۰ تقسیم و در ۱۰۰ ضرب شد. مبنای زمان گلدهی خروج اسپات از داخل ساقه مجازی در نظر گرفته شد (۱).

عملکرد

پس از خشک شدن اندام هوایی، سوخ‌ها از زمین خارج شدند. برای یکنواخت شدن رطوبت، سوخ‌های برداشت شده به مدت ۲۴ ساعت روی روزنامه و در هوای آزاد قرار گرفتند و پس از وزن نمودن سوخ‌ها عملکرد هر پلات بر تعداد سوخ‌های حاصل تقسیم و عدد حاصل بر فضای اختصاص داده شده برای هر بوته سیر ضرب و نتیجه نیز بر تعداد بوته در هر متر مربع ضرب شد (۱).

درصد ماده خشک

سوخ‌های هم‌گروه‌های مختلف پس از برداشت برای یکنواخت شدن رطوبت آن‌ها، به مدت دو هفته در دمای اتاق قرار داده شدند و سپس از سوخ‌های برداشت شده، پنج سوخ به طور تصادفی انتخاب و پس از جدا کردن حبه‌ها از سوخ، خرد و مخلوط شدند و ۱۰۰ گرم از آن به صورت تصادفی وزن شد و درون آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت سپس مقدار ماده خشک باقی‌مانده توزین و درصدگیری شد (۱).

غلظت کلروفیل

به منظور سنجش غلظت کلروفیل از روش Porra و همکاران (۱۹)، استفاده شد. به این منظور ۰/۲ گرم از بافت تازه برگ در ۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد ساییده شد و پس از انجام سانتیفریوژ با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه، مایع رویی را برداشته و حجم آن با استن ۸۰ درصد به ۱۰ میلی‌لیتری رسانده شد. سپس به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳/۶ و ۶۴۶/۶ مشخص و با استفاده از روابط زیر رنگدانه‌های فتوسنتزی محاسبه شد.

$$a \text{ کلروفیل } = \frac{12}{25} (A663.6) - \frac{2}{55} (A646.6)$$

$$b \text{ کلروفیل } = \frac{20}{31} (A646.6) - \frac{4}{91} (A663.6)$$

$$\text{کلروفیل کل} = \frac{17.76}{734} (A646.6) - \frac{7}{34} (A663.6)$$

اندازه‌گیری عناصر

به منظور سنجش غلظت عناصر برگ‌های بالغ و سالم جمع‌آوری شدند و بعد از شستشو به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سلسیوس در آون خشک و سپس آسیاب شدند. نیم گرم پودر برگ همراه با ۵ میلی‌لیتر اسید نیتریک ۶۵ درصد داخل لوله آزمایش ریخته شد و به مدت ۱ ساعت در بن‌ماری با دمای ۶۵ درجه سلسیوس و ۱ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفت و ۱/۳ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۲۰ درصد به هر نمونه اضافه شد، پس از سرد شدن نمونه‌ها با کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف شدند و با آب مقطر در بالون ژوزه به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شدند. اندازه‌گیری پتاسیم با استفاده از دستگاه فلیم

فتومتر (مدل G ۴۰۵ ساخت آلمان) انجام شد و همچنین برای اندازه‌گیری نیتروژن از دستگاه کجلدال (مدل بخشی، ساخت ایران) استفاده شد. محتوای فسفر به روش رنگ‌سنجی با مولیبدات آمونیوم با دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل کری ۱۰۰ واریان، ساخت استرالیا) با طول موج ۴۲۰ نانومتر قرائت شد. اندازه‌گیری عناصر آهن، بر و کلسیم با دستگاه جذب اتمی (مدل SpectAA 220FS کمپانی واریان) انجام شد (۴).

واکاوی آماری

واکاوی صفات مورد بررسی در این پژوهش به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل دو فاکتور هم‌گروه (گل‌ده، نیمه‌گل‌ده، غیرگل‌ده) و دو سطح قارچ (تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده) با سه تکرار انجام شد. به جز درصد گلدهی که به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در هم‌گروه گل‌ده آنالیز شد. طول ساقه گل‌دهنده بین دو هم‌گروه گل‌ده و نیمه‌گل‌ده بررسی شد. آزمون نرمال‌سازی تمامی داده‌ها صورت گرفت و تجزیه واریانس با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج

بررسی میکروسکوپی نمونه‌های ریشه رنگ‌آمیزی شده که توسط *S.indica* همزیست شدند، ۳۵ درصد همزیستی و گسترش بین و درون یاخته‌های هیف‌ها و تشکیل کلامیدوسپورها را بدون نفوذ به استوانه مرکزی نشان داد (شکل ۱). نتایج آزمون واکنش زنجیره‌ای پلی‌مر از نمونه‌های دی‌ان‌ای استخراج شده قارچ *S.indica* و ریشه گیاه سیر با پرایمر تخصصی قارچ موفقیت آمیز بود و باندهای واضح تولید کرد که نشان‌دهنده این است که قارچ توانسته با ریشه گیاه سیر همزیست شود (شکل ۲).

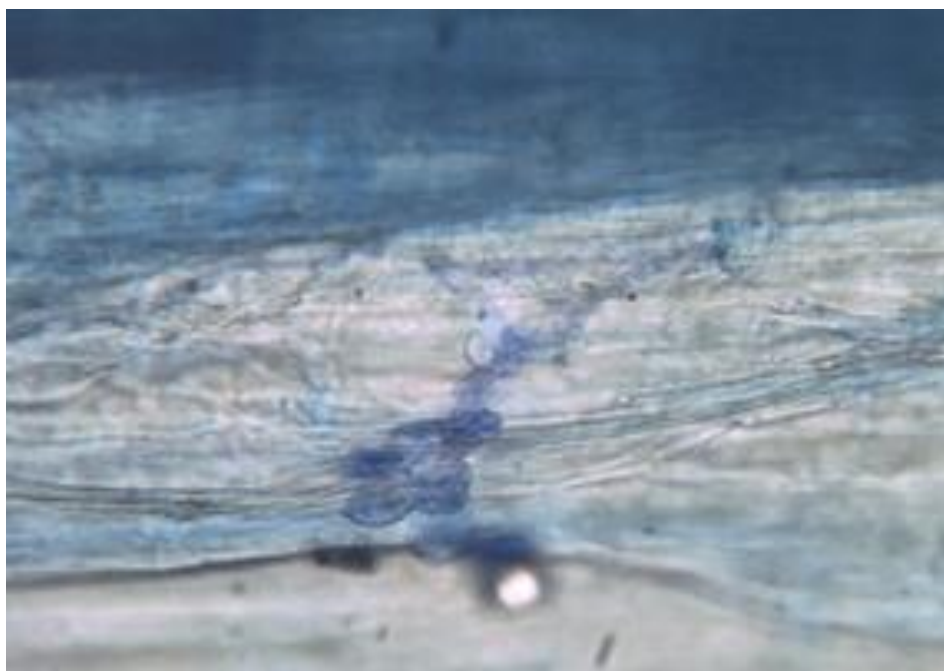


Fig. 1. Hypha and chlamydospores of *S. indica* in root cells.

شکل ۱- هیف و کلامیدوسپورهای سرندیپیتا ایندیکا در یاخته‌های ریشه.

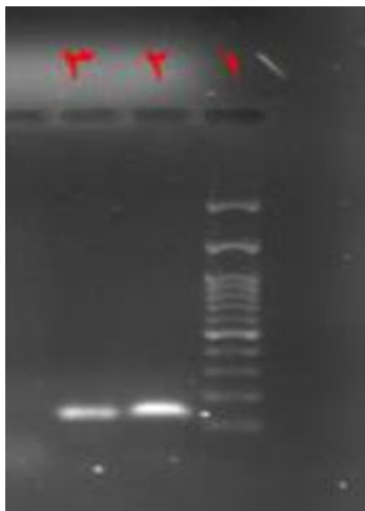


Fig. 2. From the right of wells 1, 2 and 3, respectively, show the ladder, the product polymerase chain reaction of fungal DNA and the product polymerase chain reaction of plant roots DNA.

شکل ۲- از سمت راست چاهک ۱، ۲ و ۳ به ترتیب نشان‌دهنده خط‌کش ژنی، محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز حاصل از دی‌ان‌ای قارچ و محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز حاصل از دی‌ان‌ای ریشه گیاه است.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های رشد رویشی نشان داد که اثر ساده هم‌گروه و تیمار قارچ بر طول برگ، تعداد برگ، طول طویل‌ترین برگ، طول ساقه مجازی، قطر ساقه مجازی، میانگین وزن سوخ، میانگین وزن سیرچه، عملکرد، درصد ماده خشک و طول ساقه گل‌دهنده در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اثر ساده هم‌گروه و اثر ساده قارچ بر میانگین تعداد سیرچه به ترتیب در سطح احتمال یک درصد و احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. اثر ساده هم‌گروه بر عرض برگ معنی‌داری نداشت، اما اثر قارچ بر عرض برگ در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد. اثر ساده قارچ بر درصد گلدهی هم‌گروه گل‌ده معنی‌دار نشد. برهمکنش قارچ و هم‌گروه بر تعداد برگ، طول طویل‌ترین برگ، طول ساقه مجازی در سطح احتمال یک درصد و بر میانگین وزن سوخ و عملکرد در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد اما بر دیگر صفات رشدی بی‌تأثیر بود. اثر ساده هم‌گروه و برهمکنش هم‌گروه و قارچ بر محتوای کلروفیل کل، کلروفیل a و b معنی‌دار نشد و فقط اثر ساده قارچ بر محتوای کلروفیل کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد.

نتایج مقایسه میانگین اثرات ساده هم‌گروه و تیمار قارچی نشان داد، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد در بین هم‌گروه‌ها از لحاظ عرض برگ وجود نداشت اما بین تیمار تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده تفاوت دیده شد. بیش‌ترین طول برگ در تیمار تلقیح‌شده و در بین هم‌گروه‌ها در هم‌گروه نیمه‌گل‌ده مشاهده شد. قوتورترین ساقه مجازی در تیمار تلقیح‌شده و هم‌گروه نیمه‌گل‌ده مشاهده شد. بالاترین میانگین تعداد سیرچه حاصل از هم‌گروه گل‌ده و تیمار تلقیح‌نشده بود. بیش‌ترین میانگین وزن سیرچه در هم‌گروه نیمه‌گل‌ده و تیمار تلقیح‌شده دیده شد. بیش‌ترین درصد ماده خشک از هم‌گروه غیرگل‌ده و تیمار تلقیح‌شده به دست آمد. غلظت کلروفیل کل در بین هم‌گروه‌ها تفاوتی نداشت اما در تیمار تلقیح‌شده مقدار آن بیش‌تر از تلقیح‌نشده بود. خروج ساقه گل‌دهنده در هم‌گروه گل‌ده و نیمه‌گل‌ده مشاهده شد و طول ساقه گل‌دهنده هم‌گروه گل‌ده بیش‌تر از نیمه‌گل‌ده بود و طول ساقه گل‌دهنده در هر دو هم‌گروه تحت تأثیر قارچ افزایش یافت (جدول ۱ و ۲). تیمار قارچ بر تشکیل ساقه گل‌دهنده در کلون غیرگل‌ده اثر گذار نبود.

نتایج برهمکنش تیمار قارچی و هم‌گروه نشان داد، اگرچه بیش‌ترین تعداد برگ از هم‌گروه نیمه‌گل‌ده تلقیح‌شده حاصل شد اما نتایج حاکی از آن است که قارچ بر خلاف شاخص‌های رشدی دیگر منجر به کاهش تعداد برگ در هم‌گروه‌ها شد. کم‌ترین طول برگ مربوط به طویل‌ترین برگ در هم‌گروه گل‌ده تلقیح‌نشده مشاهده شد که با ترکیب قارچ به بالاترین مقدار رسید و به دنبال آن هم‌گروه نیمه‌گل‌ده و غیرگل‌ده تلقیح‌شده قرار گرفتند که اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند اما طول طویل‌ترین برگ در هر دو هم‌گروه با ترکیب قارچ افزایش یافت. بلندترین طول ساقه مجازی در هم‌گروه گل‌ده تلقیح‌شده به دست آمد. هرچند بین تیمارهای دیگر از لحاظ این صفت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد اما قارچ در ترکیب با هم‌گروه بر افزایش طول ساقه

مجازی اثر مثبت داشت. بیشترین میانگین وزن سوخ به ترتیب از هم‌گروه نیمه‌گل‌ده تلقیح‌شده به دست آمد که با هم‌گروه غیرگل‌ده تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده اختلاف معنی‌داری نداشت و کم‌ترین مقدار آن در هم‌گروه گل‌ده تلقیح‌نشده مشاهده شد. بیشترین عملکرد در هم‌گروه نیمه‌گل‌ده تلقیح‌شده و کم‌ترین مقدار آن در هم‌گروه گل‌ده تلقیح‌نشده دیده شد نتایج نشان داد که قارچ در ترکیب با هم‌گروه بر افزایش عملکرد تأثیر مثبت داشت (جدول ۳).

نتایج حاصل از همبستگی صفات بیانگر همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد به میزان ۰/۹۰ بین تعداد برگ و درصد گلدهی در هم‌گروه گل‌ده می‌باشد. هم‌چنین همبستگی منفی و معنی‌داری بین تعداد سیرچه با وزن سیرچه (۰/۸۷) و طول برگ (۰/۷۰) به ترتیب در سطح احتمال یک درصد و احتمال پنج درصد در هر سه هم‌گروه به دست آمد. عملکرد همبستگی مثبت و معنی‌داری با مقدار عناصر فسفر (۰/۷۴) و پتاسیم (۰/۶۸) در سطح احتمال یک درصد داشت.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس عناصر نشان داد اثرات ساده هم‌گروه و تیمار قارچی در عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم، گوگرد، آهن و بر در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. برهمکنش تیمار قارچی و هم‌گروه نشان داد نیتروژن، پتاسیم، کلسیم، گوگرد و بر در سطح احتمال پنج درصد و فسفر و آهن در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. نتایج برهمکنش تیمار قارچی و هم‌گروه بیان می‌دارد، بیشترین مقدار عنصر نیتروژن در غیرگل‌ده تلقیح‌شده (۰/۲۸۱۷ درصد) مشاهده شد. بالاترین مقدار عنصر فسفر از هم‌گروه نیمه‌گل‌ده تلقیح‌شده (۰/۰۶۵۷ درصد) به دست آمد. بیشترین مقدار پتاسیم از هم‌گروه غیرگل‌ده تلقیح‌شده (۰/۲۰۳۲ درصد) حاصل شد. حداکثر مقدار عنصر آهن (۷۸۸ میلی‌گرم در کیلوگرم)، بر (۴۰۴/۳۳ میلی‌گرم در کیلوگرم) و کلسیم (۲/۱۲۴۰ درصد) در هم‌گروه گل‌ده تلقیح‌شده دیده شد. بیشترین مقدار گوگرد از هم‌گروه غیرگل‌ده تلقیح‌شده (۳۴۶۷/ درصد) به دست آمد (جدول ۵).

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر هم گروه بر صفات مطالعه شده گیاه سیر.

Table 1. Mean square of the effect of clone on the studied traits of *Allium sativum*.

طول ساقه گل دهنده Flowering stem length (cm)	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل کل Total chlorophyll	ماده خشک Dry matter (%)	عملکرد Yield (kg m ⁻²)	میانگین وزن سیرچه Average weight of cloves (g)	میانگین تعداد سیرچه Average number of cloves	میانگین وزن سوخ Average bulb weight (g)	قطر ساقه مجازی Virtual stem diameter (cm)	طول ساقه مجازی Virtual stem length (cm)	طول ترین برگ The longest leaf (cm)	تعداد برگ Number of leaves	طول برگ Leaf length (cm)	عرض برگ Leaf width (cm)	هم گروه Same group
45.66 ^a	1.025 ^a	1.358 ^a	2.383 ^a	35.18 ^c	2.25 ^b	3.65 ^b	8.76 ^a	25.59 ^b	1.01 ^b	20.23 ^a	68.72 ^a	7.42 ^b	57.92 ^b	2.02 ^a	گل ده Flowering
37.91 ^b	1.040 ^a	1.348 ^a	2.388 ^a	39.33 ^b	2.81 ^a	5.47 ^a	6.95 ^b	32.03 ^a	1.10 ^a	17.00 ^b	67.40 ^a	8.20 ^a	62.32 ^a	2.10 ^a	نیمه گل ده Semi-flowering
-	1.060 ^a	1.335 ^a	2.395 ^a	45.75 ^a	2.97 ^a	4.24 ^b	8.43 ^a	33.75 ^a	1.04 ^b	16.30 ^b	65.60 ^b	7.55 ^b	61.26 ^a	1.92 ^a	غیر گل ده Non-flowering

حرف های مشترک در هر ستون و برای هر مقایسه میانگین نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد می باشد.

The common letters in each column and the mean for each comparison show no significant difference at the five percent level.

Table 2. Mean square of the effect of *S. indica* on the studied traits of *Allium sativum*.

درصد گلدهی Appearance of flowers	طول ساقه گل دهنده Flowering stem length (cm)	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل کل Total chlorophyll	ماده خشک Dry matter (%)	عملکرد Yield (kg m ⁻²)	میانگین وزن سیرچه Average weight of cloves (g)	میانگین تعداد سیرچه Average number of cloves	میانگین وزن سوخ Average bulb weight (g)	قطر ساقه مجازی Virtual stem diameter (cm)	طول ساقه مجازی Virtual stem length (cm)	طول بلندترین برگ The longest leaf (cm)	تعداد برگ Number of leaves	طول برگ Leaf length (cm)	عرض برگ Leaf width (cm)	هم گروه Same group
48.44 ^a	34.38 ^b	1.035 ^a	1.392 ^a	2.337 ^b	36.36 ^b	2.44 ^b	3.95 ^b	8.56 ^a	27.70 ^b	1.00 ^b	16.00 ^b	46.48 ^b	7.92 ^a	57.78 ^b	1.91 ^b	تلقیح نشده Uninoculated
45.90 ^a	49.18 ^a	2.048 ^a	1.302 ^a	2.440 ^a	43.81 ^a	2.92 ^a	4.95 ^a	7.53 ^b	33.22 ^a	1.10 ^a	19.68 ^a	70.00 ^a	7.53 ^b	63.22 ^a	2.12 ^a	تلقیح شده Inoculated

حرف‌های مشترک در هر ستون و برای هر مقایسه میانگین نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

The common letters in each column and the mean for each comparison show no significant difference at the five percent level.

جدول ۳- برهمکنش *S. indica* و هم گروه بر صفات مطالعه شده گیاه سیر.

Table 3. Interaction effect of *S. indica* and clone on the studied traits of *Allium sativum*.

عملکرد Yield (kg m ⁻²)	میانگین وزن سوخ Average bulb weight (g)	طول ساقه مجازی Virtual stem length (cm)	طویل ترین برگ The longest leaf (cm)	تعداد برگ Number of leaves	هم گروه Same group
2.40 ^c	27.36 ^c	25.15 ^a	73.3 ^a	7.2 ^d	گل ده تلقیح شده Flowering inoculated
3.26 ^a	37.05 ^a	17.15 ^b	69.1 ^b	8.4 ^a	نیمه گل ده تلقیح شده Semi flowering inoculated
3.10 ^{ab}	35.23 ^{ab}	16.75 ^b	67.6 ^{bc}	7 ^d	غیر گل ده تلقیح شده Non-flowering inoculated
2.09 ^c	23.82 ^c	15.31 ^b	64.13 ^d	7.64 ^c	گل ده تلقیح نشده Flowering uninoculated
2.37 ^c	27.02 ^c	16.85 ^b	65.7 ^{cd}	8 ^b	نیمه گل ده تلقیح نشده Semi flowering uninoculated
2.83 ^b	32.26 ^b	15.85 ^b	63.6 ^d	8.1 ^{ab}	غیر گل ده تلقیح نشده Non-flowering uninoculated

حرف های مشترک در هر ستون و برای هر مقایسه میانگین نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد می باشد.

The common letters in each column and the mean for each comparison show no significant difference at the five percent level.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر قارچ *S. indica* و هم گروه بر غلظت عناصر در گیاه سیر.

Table 4. Mean square of the effect *S. indica* fungi and clone on concentration of elements of *Allium sativum*.

بر B (mg kg ⁻¹)	آهن Fe (mg kg ⁻¹)	گوگرد S (%)	کلسیم Ca (%)	پتاسیم K (%)	فسفر P (%)	نیتروژن N (%)	هم گروه Same group
385.33 ^a	652.0 ^a	0.2474 ^b	2.0301 ^a	0.1753 ^c	0.04335 ^b	0.20190 ^c	گل ده Flowering
350.00 ^b	537.0 ^b	0.2261 ^c	1.7020 ^b	0.1907 ^b	0.05913 ^a	0.23170 ^b	نیمه گل ده Semi-flowering
276.00 ^c	390.0 ^c	0.3411 ^a	1.6323 ^c	0.1973 ^a	0.057083 ^a	0.27237 ^a	غیر گل ده Non-flowering
314.78 ^b	434.6 ^b	0.2676 ^b	1.67256 ^b	0.1834 ^a	0.050400 ^b	0.22765 ^b	تلقیح نشده Uninoculated
359.44 ^a	618.0 ^a	0.2755 ^a	1.90378 ^a	0.1921 ^b	0.055978 ^a	0.24299 ^a	تلقیح شده Inoculated

حرف‌های مشترک در هر ستون و برای هر مقایسه میانگین نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد می باشد.

The common letters in each column and the mean for each comparison show no significant difference at the five percent probability level.

جدول ۵- برهمکنش اثر قارچ *S. indica* و هم گروه بر غلظت عناصر در گیاه سیب.

Table 8. Interaction effect of *S. indica* fungi and clone on concentration of elements of *Allium sativum*.

بر B (mg kg ⁻¹)	آهن Fe (mg kg ⁻¹)	گوگرد S (%)	کلسیم Ca (%)	پتاسیم K (%)	فسفر P (%)	نیتروژن N (%)	هم گروه Same group
404.33 ^a	788.0 ^a	0.2517 ^c	2.1240 ^a	0.1786 ^c	0.0449 ^c	0.2084 ^e	گل ده تلقیح شده Flowering inoculated
389.00 ^a	639.0 ^b	0.2282 ^e	1.8370 ^c	0.1945 ^b	0.0657 ^a	0.2388 ^c	نیمه گل ده تلقیح شده Semi flowering inoculated
285.00 ^{bc}	427.0 ^d	0.3467 ^a	1.7503 ^c	0.2032 ^a	0.0572 ^b	0.2817 ^a	غیر گل ده تلقیح شده Non-flowering inoculated
366.33 ^a	516.0 ^c	0.2432 ^d	1.9363 ^b	0.1720 ^c	0.0418 ^c	0.1953 ^f	گل ده تلقیح نشده Flowering uninoculated
311.00 ^b	435.0 ^d	0.2241 ^e	1.5670 ^d	0.1869 ^b	0.0449 ^c	0.2246 ^d	نیمه گل ده تلقیح نشده Semi flowering uninoculated
267.00 ^c	353.0 ^e	0.3356 ^b	1.5143 ^d	0.1914 ^b	0.0569 ^b	0.2630 ^b	غیر گل ده تلقیح نشده Non-flowering uninoculated

حرف های مشترک در هر ستون و برای هر مقایسه میانگین نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد می باشد

The common letters in each column and the mean for each comparison show no significant difference at the five percent probability level.



Fig. 3. From the right show the growth rate of colonized and non-colonized root roots of the plant, respectively.

شکل ۳- از سمت راست به ترتیب میزان رشد ریشه گیاه همزیست شده و گیاه شاهد را نشان می‌دهد.

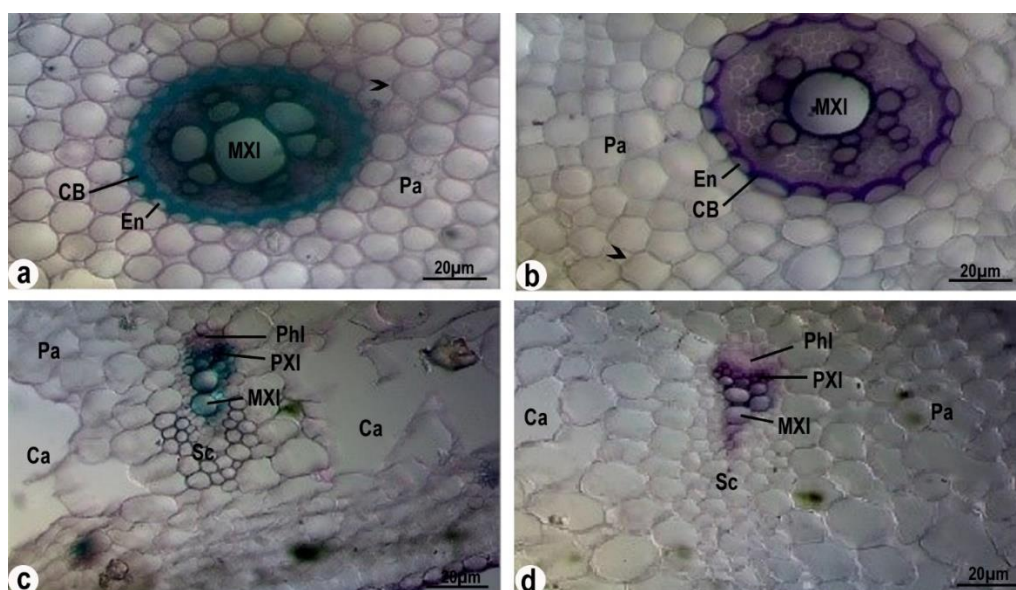


Fig. 4. MxI metaxyl, Pxl protoxyl, En endoderm, CB Caspari band, Pa parenchyma, Phl phloem, Sc sclerenchyma, Ca air cavity.

شکل ۴- MxI متاگزیم، Pxl پروتوگزیم، En آندودرم، CB باند کاسپاری، Pa پارانشیم، Phl فلوئم، Sc اسکلرانسیم، Ca حفره هو.

نتایج حاصل از مطالعات تشریحی برگ و ریشه نشان داد ریشه‌های همزیست شده با قارچ (شکل b) یاخته‌های آوند چوبی کوچک‌تر اما تعداد و قطر بیشتر، یاخته آندودرم بزرگ‌تر، تراکم یاخته‌های پارانشیمی بیشتر و ضخامت نوار کاسپاری کم‌تری نسبت به همزیست نشده‌ها (شکل a) دارد. برگ گیاهان تلقیح شده (شکل d) تعداد یاخته پارانشیمی، اسکلرانسیم و متاگزیم بیشتر و حفره هوای کوچک‌تری نسبت به تلقیح نشده‌ها (شکل c) دارند. به نظر می‌رسد قطر یاخته‌های متاگزیم در تلقیح شده‌ها کم‌تر از تلقیح نشده‌ها است (شکل ۴).

بحث

نتایج مولکولی حاصل از استخراج دی‌ان‌ای و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز حاکی از این است که قارچ *S.indica* به خوبی با ریشه گیاه سیر تلقیح شده است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد، ریشه گیاه سیر بعد از گذشت یک ماه از تلقیح، با قارچ مذکور همزیست شد و کلامیدوسپورهای گلابی شکل در یاخته‌های پوست ریشه مشاهده شد (شکل ۱-۲). این قارچ با ریشه گیاه آرابیدوسیس تالیانا بعد از یک هفته (۱۸)، در فلفل سیاه پس از یک ماه (۲) و در نارنج سه برگ بعد از گذشت دو ماه از تلقیح همزیست شد (۲۵). گزارش شده است که تقریباً ۱۵۰ گونه گیاهی از جمله گیاهان کشاورزی، باغبانی، دارویی و دیگر گیاهان مهم با این قارچ همزیستی دارند (۲۴). در این پژوهش برای اولین بار همزیستی *S.indica* با گیاه سیر گزارش شد. هیف‌های

S. indica در یاخته‌های مرده ریزودرمال و یاخته‌های پوست ریشه گسترش می‌یابند. بنابراین این قارچ برای تکثیر به مرگ برنامه‌ریزی شده یاخته‌ها نیاز دارد. علاوه بر این تولید گونه‌های فعال اکسیژن و تولید سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی گیاه میزبان ممکن است بر همزیست شدن قارچ با گیاه اثر بگذارد (۲۵). درصد همزیستی ریشه در مطالعه حاضر ۳۵ درصد بود. میزان درصد همزیستی ممکن است به نوع گیاه، شرایط رشد یا کشت بستگی داشته باشد (۸).

در این پژوهش قارچ *S. indica* همزیست شده با گیاه سیر توانست عرض برگ (۰/۱۰)، طول برگ (۰/۸/۶)، طول‌ترین برگ (۰/۳۳/۶)، قطر ساقه مجازی (۰/۹)، طول ساقه مجازی (۰/۱۸/۷) و کلروفیل کل (۰/۴/۲) را در مقایسه با گیاهان تلقیح‌نشده به طور معنی‌داری افزایش دهد و در نتیجه منجر به افزایش زیست توده گیاه سیر شد (جدول ۲) که با نتایج مطالعات قبلی در مورد موز (۱۴) و آلوئه ورا (۲۵) مطابقت دارد. بیش‌ترین زیست توده هوایی در هم‌گروه نیمه‌گل‌ده به دست آمد و اثر افزایشی قارچ بر رشد ریشه در گیاه سیر نیز به صورت مشاهده‌ای رویت شد (شکل ۳). گزارشات حاکی از آن است که قارچ *S. indica* باعث افزایش و بهبود رشد و تولید زیست توده میزبان‌های گوناگون می‌شود به طور مثال همزیستی قارچ مذکور با ریشه‌های گندم زمستانه منجر به افزایش زیست توده ریشه و شاخه شد به خصوص زمانی که محصول روی بسترهای ضعیف یا تحت شرایط محدود کننده مواد غذایی رشد یافت (۸). در کلزا *S. indica* سبب افزایش قابل توجهی در اندازه و تعداد برگ، زیست توده ریشه و شاخ و برگ، افزایش عملکرد دانه و کمیت و کیفیت روغن گردید (۲۳). گزارش شده است کشت همزمان گیاه دارویی باکوپا مونیری^۱ با قارچ *S. indica* منجر به افزایش رشد شد و گیاهان تیمار شده افزایش چندین برابری در زیست توده گیاه، فعالیت ضداکسیدانی و متابولیت ثانویه را داشتند (۲۰). قارچ *S. indica* رشد نارنج سه برگ، را تحریک و بهبود بخشید به طوری که ارتفاع گیاه، تعداد برگ، زیست توده برگ، ساقه و ریشه افزایش یافت (۲۵). قارچ *S. indica* تأثیر مثبتی بر قطر ساقه گیاهان موز ریز ازیادیاد شده داشت (۱۴). افزایش رشد ناشی از تیمار قارچ *S. indica* در لگوم‌های گرمسیری مانند نخود، لوبیا، ماش، نخودفرنگی و سویا نیز مشاهده شده است (۲۴). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد هم‌گروه‌های سیر از لحاظ غلظت کلروفیل تفاوتی با هم ندارند اما قارچ بر افزایش کلروفیل کل اثر مثبت داشت. نقش مثبت قارچ *S. indica* در بهبود رنگدانه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل و در نتیجه فتوسنتز در گیاهچه‌های سجافی (۹) و فلفل (۲) گزارش شده است.

نتایج این مطالعه نشان داد همزیستی قارچ *S. indica* میانگین وزن سوخ، میانگین وزن سیرچه، عملکرد و ماده خشک گیاه سیر را به ترتیب ۱۶/۶۱، ۲۰، ۱۶/۴۳ و ۱۷ درصد نسبت به تلقیح‌نشده‌ها افزایش داد (جدول ۲). تعداد سیرچه در تلقیح‌شده‌ها ۱۲ درصد نسبت به تلقیح‌نشده‌ها کاهش یافت. عباسی‌فر و دشتی (۱۳۹۳)، همبستگی منفی و معنی‌داری بین وزن سیرچه و تعداد سیرچه در سوخ را گزارش کردند که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. بنابراین هم‌گروه‌ها با تعداد بیش‌تر سیرچه، دارای سیرچه‌های کوچک‌تری هستند. بررسی‌ها نشان داد که عصاره دیواره یاخته‌ای قارچ علاوه بر افزایش معنی‌دار در رشد، تشکیل غده را در سیب‌زمینی تحریک می‌کند و زمان القاء غده را تحت تاثیر قرار می‌دهد به طوری که اولین آغازش غده در نمونه‌های تلقیح شده با قارچ در طی سه روز مشاهده شد اما در تلقیح‌نشده‌ها ۴-۵ روز تأخیر نشان داد (۲۴). گزارش شده است همزیستی قارچ *S. indica* موجب افزایش محتوای قند در گیاه نیشکر شد (۲۴). در کشت هیدروپونیک گوجه‌فرنگی ۱۰۰ درصد افزایش در وزن تر و ۲۰ درصد افزایش در میزان وزن خشک میوه‌ها در گیاهان همزیست شده با قارچ *S. indica* در مقایسه با غیر همزیست‌ها مشاهده شد (۱۵). افزون بر اثرات مثبت بر رشد، همزیستی با *S. indica* می‌تواند عملکرد گیاه را از طریق افزایش عملکرد اندام‌های رویشی، افزایش تعداد گل آذین و گل و وزن و تعداد بذر بهبود ببخشد. به‌عنوان مثال عملکرد گیاه جو بسته به هم‌گروه می‌تواند تا ۱۰ درصد با تعداد بیش‌تر سنبله افزایش یابد درحالی‌که در گندم سبز تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در غلاف افزایش یافت (۸). گزارش شده است که وزن هزار دانه در گیاه کلزا همزیست با قارچ ۲۳/۸۳ درصد بیش‌تر از غیرهمزیست‌ها می‌باشد. علاوه بر کمیت عملکرد کیفیت آن نیز مهم است (۲۳). در مطالعه حاضر به طور کلی هم‌گروه غیرگل‌ده بیش‌ترین زیست توده زیر زمینی میانگین وزن سوخ (۳۳/۷۵) و عملکرد (۲/۹۷) را نسبت به دو هم‌گروه دیگر داشت (جدول ۱) که این می‌تواند بر وجود رقابت بین تشکیل سوخ و گلدهی در گیاه سیر تأکید کند (۱۱). از این رو *S. indica* می‌تواند به‌عنوان یک عامل تقویت‌کننده رشد در گیاه سیر در نظر گرفته شود. تعداد بیش‌تر برگ و سطح برگ تولید شده در

گیاهان تیمار شده می‌تواند سرعت فتوسنتز را افزایش دهد. افزایش در سطح برگ، پتانسیل بالاتر فتوسنتز و سطح کلروفیل ممکن است منجر به افزایش جذب کربن در گیاهان همزیست شده *S. indica* شود که پایه‌ای برای توسعه سریع‌تر و تولید بالاتر زیست توده است (۳).

در مطالعه حاضر بین هم‌گروه‌ها از نظر غلظت عناصر اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بیش‌ترین محتوای نیتروژن و پتاسیم و گوگرد در هم‌گروه غیرگل‌ده مشاهده شد. درحالی‌که بیش‌ترین محتوای کلسیم، آهن و بر در هم‌گروه گل‌ده به دست آمد. بیش‌ترین محتوای فسفر در هم‌گروه غیرگل‌ده مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با هم‌گروه نیمه گل‌ده نداشت (جدول ۴). نتایج به دست آمده بیانگر این است که قارچ *S. indica* محتوای عناصر نیتروژن (۶/۳٪)، فسفر (۱۰٪)، پتاسیم (۴/۵٪)، کلسیم (۱۲/۱٪)، گوگرد (۲/۸٪) آهن (۲۹/۶٪) و بر (۱۲/۴٪) را در گیاهان تلقیح شده در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده افزایش دهد (جدول ۴). این احتمال وجود دارد که ارتقاء رشد و نمو ناشی از *S. indica* با افزایش جذب مواد مغذی از خاک همراه باشد. نتایج مشابهی در گیاهچه‌های نارنج سه برگ (۲۵) و کلزا (۲۳) به دست آمد. بررسی‌ها نشان داد که جذب آهن و مس در گیاهان نیشکر تلقیح شده با *S. indica* افزایش یافته است (۹). *S. indica* قادر به استخراج و انتقال عناصر نیتروژن، فسفر، پتاس، گوگرد، منیزیم، آهن، روی، منگنز و مس می‌باشد. گیاهان عدس سیاه و نخود همزیست با قارچ محتوای بالاتری از نیتروژن، فسفر و پتاسیم را نشان دادند (۸). *S. indica* در تحریک ۳ تا ۴ برابری رشد لوبیای مانگ، با جذب معنی‌دار نیتروژن (۱/۶ برابر)، فسفر (۱/۴ برابر) و پتاسیم (۱/۴ برابر) ارتباط مثبت دارد. همه مطالعات حاکی از آن است که *S. indica* بر متابولیسم اولیه در ریشه‌ها اثر می‌گذارد و مواد مغذی و آب بیش‌تری را برای رشد و تکامل فراهم می‌کند و به بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه میزبان کمک می‌کند (۲۴). گزارش شده است استفاده از نیتروژن، فسفر، پتاسیم و گوگرد با افزایش ارتفاع بوته، تعداد برگ در بوته، قطر گردن، قطر سوخ، تعداد سیرچه، عملکرد، درصد ماده خشک، کل مواد جامد محلول، تندی و محتوای پروتئین سوخ در گیاه سیر همراه بوده است. علاوه بر این نیتروژن بر سرعت ظهور و گسترش برگ به ویژه اولین برگ تأثیر مثبت داشت (۷). افزایش سطح عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم، روی، بر، آهن و منگنز در گیاه ژبربا بر افزایش ارتفاع بوته، تعداد شاخه در بوته، طول شاخه در بوته، تعداد برگ در بوته، سطح برگ، انبار مانی، قطر گل و کیفیت گل تأثیرگذار بود (۱۳). کاربرد اسید هیومیک علاوه بر افزایش جذب عناصر ماکرو و میکرو، موجب افزایش سطح برگ، محتوای آب نسبی، قطر ساقه، زیست توده ساقه و مقدار کلروفیل در گیاه همیشه بهار شد. مقدار کلروفیل برگ‌ها تأثیر قابل توجهی بر فتوسنتز و در نتیجه رشد و عملکرد گیاه دارد (۱۲).

قارچ *S. indica* از طریق تثبیت نیتروژن به واسطه افزایش در بیان نیترات ردوکتاز و هم‌چنین محلول‌سازی فسفات به واسطه افزایش آنزیم فسفاتاز و در نهایت انتقال این مواد به داخل ریشه گیاه، منجر به جذب مواد معدنی می‌شود (۸). قارچ *S. indica* با تولید آنزیم فسفاتاز باندهای استری فسفات را از پلی فسفاتاز نامحلول و فسفات آلی جدا می‌کند و با تولید اسیدهای آلی مختلف پلی فسفاتاز نامحلول را حل می‌کند. هر دو فسفاتاز اسیدی و قلیایی در حلالیت فسفر در خاک درگیر هستند. فسفاتاز اسیدی در قارچ و غشای یاخته‌ای ریشه‌های همزیست شده وجود دارد و در درک و یافتن فسفر نقش دارد، درحالی‌که فسفاتاز قلیایی فقط در غشای هیف‌ها وجود دارد و در جذب فسفر درگیر است. علاوه بر این ژن‌های انتقال دهنده فسفات قارچ *S. indica* (*PiPT*) که به انتقال فسفات از خاک به گیاه کمک می‌کنند در نتیجه همزیستی گیاه با قارچ شناسایی شده است و فعالیت این آنزیم در هیف‌های خارجی همزیست شده با ریشه گیاه میزبان متمرکز شده است. میزان فسفر در گیاه ذرت همزیست با *S. indica* که ژن *PiPT* در آن موتانت یافته بود به طور معنی‌داری کم‌تر از تیپ وحشی بود که نشان دهنده‌ی نقش واضح *PiPT* در انتقال فسفات در گیاهان همزیست با این قارچ است (۸، ۹، ۲۴).

بهبود رشد گیاهان توسط *S. indica* علاوه بر عناصر با تولید هورمون‌ها نیز مرتبط است. اکسین، سیتوکنین، اتیلن، آبسزیک اسید، جیبرلین و براسینواستروئید هورمون‌های درگیر در رشد و توسعه اندام‌های جدید در گیاهان هستند. به خوبی ثابت شده است که فیتوهورمون‌ها از جمله اکسین نقش مهمی در تحریک رشد القاء شده توسط قارچ *S. indica* در آراییدوپسیس، جو و کلم چینی ایفا می‌کنند (۲۴). سطح اکسین در کلم چینی همزیست شده با قارچ دو برابر شاهد افزایش

یافت و بیان ژن‌های گیرنده اکسین^۱، پیام‌رسان اکسین، ناقل‌های اکسین^۲ و پروتئین‌های اسیدی کردن دیواره یاخته‌ای توسط *S. indica* در ریشه‌های همزیست شده این گیاه افزایش نشان داد. اما در آرابیدوپسیس سطح اکسین افزایش نیافت و ژن‌های اکسین بیان نشدند اگرچه رشد توسط قارچ تحریک شد و این تفاوت نشان می‌دهد ژن‌هایی که در کلم چینی توسط قارچ مورد هدف قرار می‌گیرند متفاوت از ژن‌های هدف در آرابیدوپسیس هستند (۲۴). در پژوهشی، Franken (۸)، بیان کرد سیتوکینین‌ها به خصوص ترانس زاتین نقش حیاتی در تحریک رشد توسط *S. indica* در آرابیدوپسیس ایفا می‌کنند. افزایش بیان در ژن‌های گیرنده سیتوکینین^۳، پاسخ دهنده به سیتوکینین^۴ و سنتز ترانس زاتین نقش مثبت سیتوکینین در تحریک رشد آرابیدوپسیس همزیست با قارچ را تأیید می‌کند. رشد جهش یافته‌های آرابیدوپسیس در ژن بیوسنتز ترانس زاتین در حضور قارچ افزایش نیافت این نشان می‌دهد که بیوسنتز ترانس زاتین نه سیس زاتین برای تحریک رشد توسط *S. indica* ضروری است. اتیلن معمولاً رشد گیاه را مهار می‌کند و برخی از ریزوباکتورها آنزیم‌هایی تولید می‌کنند که اتیلن را تخریب می‌کنند. در واقع به نظر می‌رسد که *S. indica* با مهار کردن پیام‌رسان‌های اتیلن می‌تواند به رشد گیاه کمک کند. در پاسخ به همزیستی، مسیر اسید آسبزیک برای افزایش رشد گیاه از طریق کلسیم، فسفوانیزوتید و پروتئین کیناز پیشنهاد شده است. در نتیجه به نظر می‌رسد تمامی فیتوهورمون‌ها و شبکه پیام‌رسانی آن‌ها در تعامل و سازگاری قارچ و میزبان که منجر به افزایش رشد سریع‌تر ریشه و در نهایت بیوماس بزرگ‌تر می‌شود تأثیر گذار هستند (۸).

نتایج ما افزایش قابل توجهی در طول ساقه گل‌دهنده در هم‌گروه گل‌ده و نیمه گل‌ده تلقیح‌شده را نشان داد به‌طوریکه طول ساقه گل‌دهنده ۳۰ درصد نسبت به هم‌گروه‌های تلقیح‌نشده افزایش یافت. به نظر می‌رسد جذب عناصر بر طول ساقه گل‌دهنده تأثیر گذار باشد به‌طوریکه Varma و همکاران (۲۴)، نشان دادند محتوای فسفر و جذب عناصر مس، آهن، روی و منگنز در گیاهانی که با قارچ *S. indica* تلقیح شده‌اند بهبود یافته است و از طرف دیگر گزارش شده است محلول‌پاشی عناصر مس، آهن، روی و منگنز بر گیاه مریم افزایش معنی‌داری را در طول گل آذین، طول شاخه گل‌دهنده و تعداد گلچه‌ها نشان داد (۲۲). به نظر می‌رسد این افزایش می‌تواند مربوط به جذب روی باشد که برای سنتز اکسین، متابولیسم کربوهیدرات و سنتز پروتئین لازم است (۲۱).

نتیجه قابل توجه این است که *S. indica* باعث زود گلدهی در گیاه سیر شد به‌طوریکه در هم‌گروه گل‌ده و نیمه گل‌ده به ترتیب ۶ روز و ۹ روز گلدهی را تسریع کرد. قارچ *S. indica* موجب شد گلدهی در گیاه دارویی فورسکولی، کلزا و آرابیدوپسیس به ترتیب ۷ روز، ۸-۹ روز و ۵ هفته زودتر از گیاهان تلقیح‌نشده رخ دهد (۶، ۲۳، ۱۵). در فلفل سیاه تلقیح‌شده با *S. indica* اولین سنبله گل بعد از دو ماه و در تلقیح‌نشده‌ها بعد از چهار ماه مشاهده شد. درصد گلدهی سیر در این پژوهش تحت تأثیر قارچ *S. indica* قرار نگرفت. Bagde و همکاران (۳)، بیان کردند تعداد گل تحت تیمار قارچ *S. indica* در وارپته گلد آفتابگردان افزایش یافت اما در وارپته آنوس تعداد گل‌ها همانند گیاهان تیمار نشده باقی ماند و قطر گل آذین را در هر دو وارپته افزایش داد. در پژوهشی، Das و همکاران (۶)، گزارش کردند ۸۱٪ از گیاهان دارویی فورسکولی تلقیح‌شده به گل رفتند درحالی‌که فقط ۳۱٪ از گیاهان تلقیح‌نشده تولید گل کردند که با نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر مغایرت دارد. اگرچه این قارچ باعث افزایش رشد رویشی در گیاه سیر شد اما تعداد برگ و درصد گلدهی را کاهش داد. بین تعداد برگ و درصد گلدهی در هم‌گروه گل‌ده همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت به نظر می‌رسد تعداد برگ بر درصد گلدهی تأثیر گذار است. عباسی‌فر و دشتی (۱)، رابطه مثبت و معنی‌داری را بین تعداد برگ و صفت گلدهی در سیر نشان دادند.

به نظر می‌رسد قارچ *S. indica* با جذب عناصر بر زود گلدهی گیاه سیر تأثیر گذار باشد. افزایش در میزان Ca^{+2} و بیان ژن‌های پیام‌رسان کلسیم (سنسورهای کالمادولین/ Ca^{+2}) در گیاهان آرابیدوپسیس و تنباکو همزیست شده با این قارچ گزارش شده است (۲۴). ژن *CML24*^۵ سنسور کلسیم بالقوه و انتقال دهنده پیام‌رسان کلسیم است و در بالا دست ژن *CO*^۶ و *FLC*^۷ قرار دارد. این ژن برای بیان مناسب ژن *CO* ضروری است و موجب تغییر در زمان گلدهی می‌شود. بیان این ژن با افزایش Ca^{+2} ، افزایش یافته و موجب افزایش بیان *CO*، کاهش بیان *FLC* و در نتیجه زودگلدهی می‌شود. جهش این ژن در گیاه

CAM-Like -۵	ARR5 -۴	CRE1, AHK2, AHK3 -۳	PINS, AUX1 -۲	TIR1 -۱
		FLOWERING LOCUS C -۷		CONSTANT -۶

آرابیدوپسیس موجب دیر گلدهی در روز بلند شد (۲۴). محلول پاشی برگ گیاه ژربرا با استفاده از نیتروژن، فسفر، پتاسیم، روی، بر، آهن و منگنز بر تعداد روز تا شکوفایی اولین گل تأثیر گذار بود به طوری که گیاهان تیمار شده با عناصر ماکرو (۸۵/۵) روز) زودتر از گیاهان تیمار نشده (۱۰۵/۵) روز) به گل رفتند. هم‌چنین اولین گلدهی در گیاهان تیمار شده با عناصر میکرو پس از گذشت ۸۱/۸ روز و در گیاهان تیمار نشده پس از گذشت ۱۰۰/۸ روز مشاهده شد (۱۳) گزارش شده است اسید هیومیک به طور قابل توجهی تعداد گل، قطر گل و زیست توده گل خشک را افزایش و زمان گلدهی را در گیاه همیشه بهار کاهش داد (۱۲). تولید گل در گیاهان تلقیح شده با قارچ *S. indica* به واسطه بیان زود هنگام ژن‌های مربوط به رشد، ژن‌های گلدهی، تغییر مخزن و انتقال مواد غذایی به سمت اندام زایشی و افزایش جذب مواد مغذی به خصوص پتاسیم در ترکیب با یک اثر هورمونی رخ می‌دهد. به عنوان مثال، در سطوح بالای پتاسیم، هورمون جیبرلین که تشکیل جوانه را تحریک می‌کند، سریع‌تر انتقال می‌یابد (۶، ۱۵). جیبرلین‌ها در آغاز گلدهی در گیاهان دخیل هستند. جیبرلین به طور مستقیم و از طریق فعال کردن بیان ژن‌های *SOCI* و *LFY*^۱، و به طور غیرمستقیم از طریق تخریب پروتئین *DLA*^۲ و اثر بازدارندگی بر ژن‌های خانواده این پروتئین مانند *RGAI*^۴ بر گلدهی اثر گذار است (۱۸). گزارش شده است *S. indica* احتمالاً با افزایش محتوای جیبرلین باعث گلدهی زودرس در آرابیدوپسیس می‌شود (۱۸). علاوه بر هورمون جیبرلین، قارچ مذکور با اثر بر گیرنده‌ها و بیوسنتز هورمون‌هایی نظیر براسینواسترئوئید، سایتوکینین، اتیلن، جاسمونیک، سالسیلیک اسید و آبسزیک موجب افزایش در سطح هورمون‌ها می‌شود (۱۸). ژن‌های بیوسنتز و ژن‌های انتقال پیام‌رسان براسینواسترئوئید به طور مستقیم و غیرمستقیم از طریق تنظیم بیان *FLC* و تأثیر بر ساعت بیولوژیکی، زمان گلدهی را تحت تأثیر قرار می‌دهند به طوری که جهش یافته‌های براسینواسترئوئید در آرابیدوپسیس با افزایش در بیان *FLC*، ۱۰ روز تأخیر در گلدهی را نسبت به تیپ وحشی نشان دادند (۱۸). علاوه بر هورمون‌ها مسیر فتوپریود نیز توسط قارچ *S. indica* مورد هدف قرار می‌گیرد به طوری که قارچ *S. indica* سطح بیان گیرنده‌های نوری فیتوکروم A و کریپتوکروم ۲ را در آرابیدوپسیس افزایش داد. گیرنده‌های نوری فیتوکروم A و B و کریپتوکروم ۱ و ۲ با ارسال پیام‌رسان بیان ژن کلیدی *CO* را تنظیم می‌کنند. به این ترتیب قارچ *S. indica* با تأثیر بر مسیر فتوپریود بر زود گلدهی تأثیر می‌گذارد (۱۸).

نتیجه‌گیری

در مجموع با روش تشخیص میکروسکوپی و مولکولی، همزیستی قارچ اندوفیت *S. indica* با ریشه گیاه سیر برای اولین بار به اثبات رسید. هم‌چنین هم‌گروه‌ها در صفات بررسی شده به جز شاخص عرض برگ با هم تفاوت داشتند. ارزیابی صفات رشدی گیاه سیر حاکی از این بود که قارچ *S. indica* با افزایش رشد ریشه و جذب عناصر غذایی رشد و عملکرد گیاه سیر را بهبود بخشید. قارچ *S. indica* نه تنها باعث رشد سریع‌تر زیست توده گیاهان از طریق افزایش در تعداد و اندازه یاخته شد بلکه بر بلوغ زود هنگام با توجه به گلدهی نیز تأثیر گذار بود. اگرچه تیمار قارچی بر سرعت گلدهی و طول ساقه گل‌دهنده تأثیر مثبت داشت اما بر درصد گلدهی تأثیر گذار نبود. به نظر می‌رسد *S. indica* با افزایش جذب عناصر علاوه بر افزایش درصد ماده خشک، بر میانگین وزن سیرچه و میانگین وزن سوخ و در نتیجه عملکرد گیاه سیر اثر مثبت دارد و می‌تواند به عنوان عوامل بیولوژیکی برای بهبود سیستم‌های تولید گیاه مورد استفاده قرار گیرد. در نتیجه می‌تواند به عنوان کودهای زیستی جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی باشد و در کشاورزی پایدار جهت بهبود عملکرد محصول مورد استفاده قرار گیرد.

References

1. Abbasifar, A. R and F. Dashti. 2014. Study of the relationship between morphological traits and flowering in Iranian garlic clones. Scientific Information Database. 46(1):63-75. (In Persian).
2. Anith, K. N., S. Aswini, S. Varkey, N. V. Radhakrishnan and D. S. Nair. 2018. Root colonization by the endophytic fungus *Piriformospora indica* improves growth, yield and piperine content in black pepper (*Piper nigrum* L.). Biocatal. Agr. Biotechnol. 14: 215-220.
3. Bagde, U. S., R. Prasad and A. Varma. 2011. Influence of culture filtrate of *Piriformospora indica* on growth and yield of seed oil in *Helianthus annuus*. Symbiosis, 53(2): 83-88.

منابع

4. Bystrická, J., Kovarovič, J., Lenková, M., Horváthová, J., Končėková, L., Halmová, D and Lidiková, A. 2021. The content of polyphenols, antioxidant activity and macroelements in selected garlic varieties. *J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci.* 738-740.
5. Chamberlain, C.J. 1915. *Methods in plant histology*. University of Chicago Press.
6. Das, A., S. Kamal, N. A. Shakil, I. Sherameti, R. Oelmüller, M. Dua, N. Tuteja, A.K. Johri and A. Varma. 2012. The root endophyte fungus *Piriformospora indica* leads to early flowering, higher biomass and altered secondary metabolites of the medicinal plant, *Coleus forskohlii*. *Plant Signal. Behav.* 7(1): 103-112.
7. Diriba-Shiferaw, G. 2016. Review of management strategies of constraints in garlic (*Allium sativum L.*) production. *Sabaragamuwa University of Sri Lanka*, 11(3): 186-207.
8. Franken, P. 2012. The plant strengthening root endophyte *Piriformospora indica*: potential application and the biology behind. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 96:1455–1464.
9. Gosal, S., A. Karlupia, S. Gosal, I. Chhibba and A. Varma. 2010. Biotization with *Piriformospora indica* and *Pseudomonas fluorescens* improves survival rate, nutrient acquisition, field performance and saponin content of micropropagated chlorophytum sp. *Indian J. Biotechnol.* 9: 289-297.
10. Johnson, J. M., I. Sherameti, A. Ludwig, P. L. Nongbri, C. SunL, B. ou, A. Varma and R. Oelmüller. 2011. Protocols for *Arabidopsis thaliana* and *Piriformospora indica* co-cultivation—A model system to study plant beneficial traits. *Endocytobiosis and cell research. J. Internat. Soc. Endocytobiol.* 101-113.
11. Kamenetsky, R. 2007. Garlic: botany and horticulture. *Hort. Rev.* 33: 123.
12. Karimi, E., Shirmardi, M., Dehestani Ardakani, M., Gholamnezhad, J and Zarebanadkouki, M. 2020. The Effect of Humic Acid and Biochar on Growth and Nutrients Uptake of *Calendula (Calendula officinalis L.)*. *Commun Soil Sci. Plant Anal.* 51(12), 1658-1669.
13. Khosa, S. S., Younis, A., Rayit, A., Yasmeen, S and Riaz, A. 2011. Effect of foliar application of macro and micro nutrients on growth and flowering of *Gerbera (Jamesonii L. Amer)*. *Euras. J. Agr. Environ. Sci.* 11: 736-757.
14. Madaan, G., S. K. Gosal, S.S. Gosal, G.S. Saroa and M. I.S. Gill. 2013. Effect of microbial inoculants on the growth and yield of micropropagated banana (*Musa indica*) cv. Grand Naine. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 88(5): 643-649.
15. Mensah, R.A., D. Li, F. Liu, N. Tian, X. Sun, X. Hao, Z. Lai and C. Cheng. 2020. Versatile *Serendipita indica* and its potential applications in horticultural crops. *Hort. Plant J.* 6(2): 111-121.
16. Michael, T.B., E. Shemesh-Mayer, S. Kimhi, C. Gershberg. I. Forer, V.T. de Ávila, H.D. Rabinowitch and R. K. Goldstein. 2018. Temporal and spatial effect of low pre-planting temperatures on plant architecture and flowering in bolting garlic. *Sci. Hort.* 242: 69-75.
17. Möller, E.M., G. Bahnweg, H. Sandermann and H.H. Geiger. 1992. A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies, and infected plant tissues". *Nucleic Acids Res.* 20(22): 6115.
18. Pan, R., L. Xu, Q. Wei1, Ch. Wu, W. Tang, R. Oelmuller and W. Zhang. 2017 *Piriformospora indica* promotes early flowering in *Arabidopsis* through regulation of the photoperiod and gibberellin pathways. *Plos One*, 12(12): 15.
19. Porra, R.J., W.A. Thompson and P. E. Kriedemann. 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy *Acta Bioeng Biomech.* 975(3): 384-394.
20. Prasad, R., S. Kamal, P.K. Sharma, R. Oelmüller and A. Varma. 2013. Root endophyte *Piriformospora indica* DSM 11827 alters plant morphology, enhances biomass and antioxidant activity of medicinal plant *Bacopa monniera*. *J. Basic Microbiol.* 53(12): 1016-1024.
21. Sharma, J., Gupta, A.K., Kumar, C and Gautam, R.K.S. 2013. Influence of zinc, calcium and boron on vegetative and flowering parameters of *gladiolus cv. Aldebran*. *The Bioscan*, 8(4): 1153-1158.
22. Shoor, M., A. Tehranifar and Y.A. Khoshnod. 2010. Effect of Some Microelements Fertilizers on Quantitative Traits in *Tubrose (Polianthes Tuberosa L. var Double)*. *J. Hort. Sci.* 24(1): 45-5. (In Persian).
23. Su, Z.Z., T. Wang, N. Shrivastava, Y.Y. Chen, X. Liu, C. Sun, Y. Yin, Q.K. Gao and B.G. Lou. 2017. *Piriformospora indica* Promotes Growth, Seed Yield and Quality of *Brassica napus L.* *Microbiol. Res.* pp:29.
24. Varma, A., I. Sherameti, S. Tripathi, R. Prasad, A. Das, M. Sharma, M. Bakshi, S. Johnson, M. Bhardwaj, M. Arora, K. Rastogi, A. Agrawal, A. C. Kharkwal, S. Talukdar, U.S. Bagde, V. S. Bisaria, C.P. Upadhyaya, P. S. WON, Y. Chen, J. Ma, B. Lou, A. Adya, L. Zhang, M. K. Meghvansi, K. S. Sree, S. K. Gosal, R. B. Srivastava, A. K. Johri, M. Kumar, M. Dua, C. Cruz, and R. Oelmuller, 2012. the symbiotic fungus *piriformospora indica* review in: *Fungal Assoc, Springer Berlin Heidelberg*. pp. 231-254. Berlin, Heidelberg.
25. Yang, L., Y. N. Zou, Z.H. Tian, Q.S. Wu and K. Kuča. 2021. Effects of beneficial endophytic fungal inoculants on plant growth and nutrient absorption of trifoliate orange seedlings. *Sci. Hort.* 277: 109815.

Effect of *Serendipita indica* on Vegetative Traits, Flowering and Yield of Garlic (*Allium sativum*)

M. Gholami, F. Dashti* and N. Rokni¹

Serendipita indica fungus acts as a growth promotor and to create resistance to environmental stresses in a wide range of plant species. The aim of this study was to investigate the effect of this fungus on the growth, yield and flowering of garlic. The experiment was performed as a factorial experiment in a completely randomized design including two factors of the same group (flowering, semi-flowering, non-flowering) and two levels of fungi (inoculated and uninoculated) with three replications. The fungus increased the biomass and yield of garlic by increasing the elements. The effect of all groups on the measured traits except leaf width and chlorophyll showed a statistically significant effect. Fungus treatment did not affect the number of leaves and number of garlic. The fungus increased flowering stem length in all flowering and semi-flowering groups compared with uninoculated (30%). Flowering stem exit was not observed in non-flowering clones. The appearance of flowers was seen only in the flowering group. Flowering percentage in the inoculated flower group (45.90) was lower than inoculated (48.44). The fungus affects the time of stem emergence and accelerates flowering by accelerating maturity. The fungus had a positive effect on increasing the number and size of xylem and parenchymal cells. The results showed that *S. indica* consumes coexistence with garlic and improves vegetative and reproductive traits.

Keywords: Endophytic fungus symbiosis, Morphological growth indices, Flowering time, Elements, Anatomical changes.

1. Ph.D. Student, Associate Professor of Horticultural Science, Faculty of Agriculture Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran and Assistant Professor of Jondi Shapour University, Dezfol, Iran, respectively.

* Corresponding Author, Email: (fdashti@basu.ac.ir, dashti1350@yahoo.com).