تأثیر تنش کم‌آبی بر ترشح گلومالین توسط قارچ‌های گلومرال همزیست با گیاه ذرت

مرضیه ریش سفید،[1*] ناصر علی اصغرزاد[1] و محمدرضا نیشابوری[2]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۲۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۶/۱)

چکیده

گلومالین گلیکوپروتئینی است که در دیواره هیف و اسپور قارچ‌های راسته گلومرال شناسایی و استخراج شده است. گلومالین روی ذرات خاک رسوب یافته و بعنوان چسب عمل می کند و در نتیجه منجر به خاکدانه‌سازی و پایداری خاکدانه‌ها می‌شود. تنش کم‌آبی با تأثیر بر رابطه همزیستی میکوریزی می‌تواند تولید گلومالین را تحت تأثیر قرار دهد. این تحقیق به صورت آزمایش چند عاملی در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در چهار تکرار با گیاه ذرت (رقم سینگل کراس۷۰۴) در شرایط گلخانه اجرا شد. عامل اول سه سطح رطوبتی در خاک شامل: ۳۰-۱۰ درصد ((W0، 55-35 ((W1 و60-90 درصد تخلیه آب قابل استفاده (W2) و عامل دوم سه گونه قارچ میکوریز (Gv) *Glomus versiforme*، (Ge) *G.etunicatum* (Gi) *G.intraradices*، و شاهد بدون قارچ بود. در پایان دوره رویشی گیاه، گلومالین ساده استخراج (EEG) وگلومالین کل (TG) در خاک، به‌روش بردفورد اندازه‌گیری شدند. با کاهش آب خاک، وزن خشک گیاه و درصد کلونیزاسیون ریشه کاهش یافت. نتایج مربوط به اندازه‌گیری EEG و TG نشان داد که تنش کم‌آبی به‌طور معنی داری باعث افزایش مقادیر EEG و TG می‌شود. همچنین افزایش معنی‌دار تولید گلومالین در سطح رطوبتی W2 در هر سه گونه قارچی نسبت به دو سطح رطوبتی W0 و W1، مشاهده شد؛ به عبارتی با افزایش تنش کم آبی و کاهش درصد کلنیزاسیون، تولید گلومالین در واحد درصد کلنیزاسیون ریشه افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: تنش کم‌آبی، دینامیک کربن، ذرت، قارچ‌های گلومرال، گلومالین

۱. گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: m.rishsefid65@yahoo.com

مقدمه

در مناطق خشک و نیمه‌خشک، افزایش شدت خشکی می‌تواند به‌علت افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن تحت الگوی تغییر آب و هوا باشد (۱۲). در این مناطق کمبود آب رشد گیاهان را محدود می‌کند. در مقابل، افزایش مستمر دی‌اکسیدکربن اتمسفری ممکن است تولید زیست توده گیاهی را تحریک کند(۱۵). کربن آلی خاک عامل اصلی تعیین کننده پایداری سیستم‌های کشاورزی است و تغییر در ذخایر کل، فعال و یا حساس کربن می‌تواند رخ دهد (۷). قارچ‌های میکوریز آربوسکولار (*Arbuscular mycorrhiza*) دارای رابطه همزیستی با ریشه اغلب گیاهان زراعی می‌باشند و از طریق افزایش جذب عناصر غذایی، افزایش جذب آب، افزایش مقاومت در برابر تنش‌های زنده (بیماری‌ها) و غیرزنده (کم‌آبی، فلزات سنگین، شوری) سبب بهبود رشد و عملکرد گیاهان میزبان در سیستم‌های کشاورزی پایدار می‌شوند (۲۹). تولید و اندازه‌گیری گلومالین در سال ۱۹۹۶ توسط رایت گزارش شد (۳۱). قارچ‌های راسته گلومرال که بخش قابل ملاحظه‌ای از زیست توده خاک را به‌خود اختصاص می‌دهند، این گلیکوپروتئین انحلال ناپذیر، آب‌گریز و مقاوم به تجزیه را به مقدار فراوان تولید می‌کنند که در پایداری خاکدانه‌ها مهم است و در واقع سه عامل گلومالین، پایداری خاکدانه‌ها و مدیریت خاک به هم مرتبط هستند (۳۲). گلومالین دارای کربن و نیتروژن است و بخش قابل توجهی از منبع کربن جهانی را در خاک تشکیل می‌دهد (۳۳). گلومالین ۲۰- ۱۵ درصد از کربن آلی در خاک‌های دست نخورده را شامل می‌شود. منابع گلومالین حتی در دوره زمانی کوتاهی، نسبت به تنش‌های اکوسیستمی مثل غلظت بالای دی اکسیدکربن اتمسفر ، گرم شدن اتمسفر (۲۵)، غلظت فلزات سنگین (۲)، شوری خاک (۱) و روش‌های مدیریتی کشاورزی (۳۰) واکنش نشان می‌دهند. وو و زیا (۳۵) دریافتند که تنش کم‌آبی به‌طور معنی‌داری کلنیزاسیون میکوریزی را در مرکبات کاهش می‌دهد، این نشان می‌دهد که اثرات سودمند همزیستی در محیط‌های خشک و نیمه‌خشک کاهش می یابد (۲۰). رولدن و همکاران در مطالعه‌شان دریافتند که تأثیر مثبت قارچ میکوریز بر پایداری ساختمان ریزوسفر گیاه *Juniperus oxycedrus* بعد از خشک شدن خاک بیشتر آشکار می‌شود و تحت تنش خشکی شدید در مقایسه با تنش خشکی متوسط تولید گلومالین توسط قارچ کاهش می یابد (۲۷). گلومالین علاوه بر بالا بردن پایداری خاکدانه‌ها، سبب کاهش فراهمی عناصر سنگین از طریق تثبیت آنها می‌شود (۱۳). شعبانی زنوزق و همکاران تأثیر منفی حضور مس و سرب در خاک بر تولید گلومالین توسط دو گونه قارچی *G.mosseae* و *G.intraradices* گزارش کرده‌اند (۲). قادکار و ریلیج ثابت کردند که توالی آمینواسیدی گلومالین مرتبط با پروتئین‌های شوک حرارتی است، که بیان ند گلومالین ممکن است به‌عنوان یک پروتئین القاء شده تحت شرایط تنش، وظیفه حمایت از قارچ‌های میکوریز آربوسکولار را داشته باشد (۹). احمدی قشلاقی و همکاران افزایش تولید گلومالین را در سطوح شوری بالا علیرغم کاهش درصد کلنیزاسیون ریشه گیاه ذرت میکوریزی، گزارش کرده‌اند (۱). در این تحقیق تأثیر تنش کم‌آبی بر فعالیت قارچ‌های گلومرال و تولید گلومالین بررسی شده است. تصور می‌رود که با افزایش تنش کم آبی، تولید گلومالین تحریک شود و این فرآیند به گونه قارچی نیز مرتبط باشد.

مواد و روش‌ها

برای تهیه زاد مایه، گونه‌های قارچی (Gv) *Glomus versiforme*، (Gi) *G.intraradices* و (Ge) *G.etunicatum* (در تاکسونومی جدید، قارچ‌های *Glomus intraradices* و *Glomus etunicatum* به ترتیب به *Rhizophagus irregularis* و *Claroideoglomus etunicatum* تغییر نام یافته‌اند) با بستر خاک استریل و با میزبان گیاهی ذرت تلقیح شده و در شرایط گلخانه به‌مدت ۴ ماه نگه‌داری شدند. در پایان این دوره، قسمت هوایی گیاه ذرت از سطح خاک قطع شده و محتویات داخل

گلدان که شامل اسپور، هیف، ریشه‌های میکوریزی و خاک بود، به‌عنوان زاد مایه استفاده شد. درصد کلنیزاسیون قارچی ریشه‌ها در زاد مایه‌ها تعیین شدند (۶). گونه‌های قارچی از آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه تبریز دریافت شدند. خاک مورد نیاز از ایستگاه تحقیقاتی خلعت پوشان دانشگاه تبریز از عمق صفر تا ۲۰ سانتی‌متری تهیه شد. خصوصیات مهم خاک شامل: بافت به‌روش هیدرومتر (۱۰)، pH (۲۴)، کربن آلی به‌روش والکلی- بلک (۲۱)، فسفر قابل جذب (۲۳) و پتاسیم قابل جذب (۱۴) اندازه‌گیری شدند. استریل کردن نمونه‌های خاک در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ بار در دستگاه اتوکلاو انجام شد. به‌منظور تعیین تیمارهای رطوبتی خاک، با استفاده از دستگاه صفحات فشار و اعمال مکش‌های ۱۰ و ۱۵۰۰ کیلوپاسکال به‌ترتیب رطوبت ظرفیت مزرعه‌ای و نقطه پژمردگی، ۱۲/۴۲ و ۵/۱۴ درصد وزنی به‌دست آمدند. مقدار آب قابل استفاده گیاه از حاصل تفاضل این دو درصد رطوبت محاسبه می‌شود. تیمارهای رطوبتی براساس نسبتی از کاهش مقدار آب قابل استفاده در محدوده ۳۰-۱۰ درصد تخلیه آب قابل استفاده به‌عنوان تیمار رطوبتی شاهد (بدون تنش یا W_0)، ۵۵- ۳۵ درصد تخلیه آب قابل استفاده (تنش متوسط یا W_1) و۹۰-۶۰ درصد تخلیه آب قابل استفاده (تنش شدید یا W_2) تعیین شدند. بذرها ابتدا به وسیله هیپوکلریت سدیم نیم درصد استریل سطحی شدند و سپس برای جوانه‌زنی در داخل کاغذ صافی مرطوب با آب مقطر استریل در تاریکی قرار داده شدند.

حدود دو کیلوگرم خاک استریل در هر گلدان ریخته شد و ۷۰ گرم زاد مایه قارچی به‌صورت لایه‌ای نازک در عمق ۵ سانتی‌متری از سطح خاک قرار گرفت. بذور جوانه زده ذرت (*Zea mays* L.) رقم سینگل کراس ۷۰۴ به تعداد ۴ بذر در هر گلدان کشت گردید. عناصر غذایی نیتروژن و پتاسیم براساس آزمون خاک و توصیه کودی منطقه برای گیاه ذرت، به‌طور یکنواخت به خاک همه گلدان‌ها قبل از کشت افزوده و بخوبی مخلوط شد (۴). در هنگام کاشت بذور، رطوبت تمامی گلدان‌ها در سطح رطوبتی ۰/۹FC تنظیم شد. گلدان ها در شرایط کنترل شده اتاقک رشد با شدت نور ۱۲۰۰۰ لوکس و مدت زمان روشنایی ۱۶ ساعت با دمای روز و شب به ترتیب ۲±۲۶ و ۲±۱۴ قرار گرفتند. بعد از دو هفته که بوته‌ها استقرار یافتند، تعداد بوته در هر گلدان به سه بوته تقلیل یافت و سپس تیمارهای رطوبتی مورد نظر اعمال گردید. برای تنظیم رطوبت از روش توزین گلدان ها استفاده شد و برای تنظیم دقیق میزان رطوبت، آبیاری هر روز در دو نوبت صبح و عصر صورت می‌گرفت. گیاهان تا پایان مرحله رویشی (قبل از مرحله گل) رشد یافته و در انتهای مرحله رویشی برداشت شدند. بعد از پایان دوره کشت سه ماهه، بخش هوایی و ریشه گیاهان به‌طور جداگانه در هر گلدان برداشت و وزن تر بخش هوایی و ریشه اندازه‌گیری و بعد از خشک شدن در دمای $50^{\circ}C$ در آون فن‌دار، وزن خشک آنها نیز تعیین شد.

برای اندازه‌گیری درصد کلنیزاسیون، حدود یک گرم از ریشه‌های ریز باقی‌مانده در خاک گلدان‌ها را جدا کرده و پس از شستشوی کامل با آب، در الکل اتیلیک ۵۰ درصد تثبیت شده و سپس به‌روش کورمانیک و مک‌گراو رنگ‌آمیزی شدند (۱۸). درصد کلنیزاسیون ریشه به‌روش تقاطع خطوط شبکه تعیین گردید (۱۱).

عصاره‌گیری گلومالین به‌روش بیان شده توسط رایت و آپادایا (۳۴) انجام شد. برای عصاره‌گیری گلومالین ساده استخراج (EEG) ، یک گرم خاک (عبور داده شده از غربال ۲ میلی‌متر) را داخل لوله سانتریفوژ قرار داده و ۸ میلی‌لیتر محلول سیترات سدیم ۲۰ میلی‌مولار اضافه کرده و۳۰ ثانیه ورتکس شد. سپس به مدت ۶۰ دقیقه در دمای $121^{\circ}C$ اتوکلاو شد. سپس با RPM ۵۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. محلول صاف روئی برداشته شد. جهت استخراج گلومالین کل (TG)، ۸ میلی لیتر از محلول سیترات سدیم ۵۰ میلی‌مولار بر روی همان نمونه خاک (از مرحله قبل) اضافه شده و ۳۰ ثانیه ورتکس شد. بقیه مراحل مشابه استخراج EEG بود. محلول صاف روئی جمع‌آوری شده و تا زمان اندازه‌گیری در یخچال $4^{\circ}C$ نگه‌داری شد. مقدار گلومالین موجود در عصاره

جدول ۱. برخی ویژگی‌های خاک مورد مطالعه

کلاس بافت خاک	ρ_b (g cm^{-3})	FC (٪)	PWP (٪)	کربن آلی (٪)	pH (۱:۱)	EC dS m^{-1}	فسفر	پتاسیم
							mg kg^{-1}	
شن لومی	۱/۴	۱۲/۴۲	۵/۱۴	۰/۲۲۱	۷/۸۱	۱/۴	۴/۴	۱۸۲/۶

جدول ۲. تجزیه واریانس اثر سطوح رطوبتی و گونه‌های قارچی بر وزن خشک گیاه و درصد کلنیزاسیون ریشه

		میانگین مربعات		
منبع تغییر	درجه آزادی	وزن خشک هوایی	وزن خشک ریشه	کلنیزاسیون
سطوح رطوبتی	۲	۹۰/۰۱۲*	۱۳/۸۴۸**	۱۵۸/۵۸۸^{ns}
قارچ	۳	۴۹/۹۸۴*	۳/۸۲۵*	۷۱۴۲/۲۶۶**
سطوح رطوبتی × قارچ	۶	۶/۵۹۸^{ns}	۱/۲۲۱^{ns}	۶۱/۶۶۵^{ns}
خطای آزمایشی	۳۶	۶/۲۵۸	۱/۱۹۱	۶۵/۷۵۱
ضریب تغییرات٪	–	۲۳/۲۲	۳۹/۳۸	۲۲/۲۵

ns ، *، **– به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪

صاف با استفاده از روش بردفورد (۸) و استانداردهای آلبومین سرم گاوی در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد.

طرح آزمایشی و تجزیه آماری

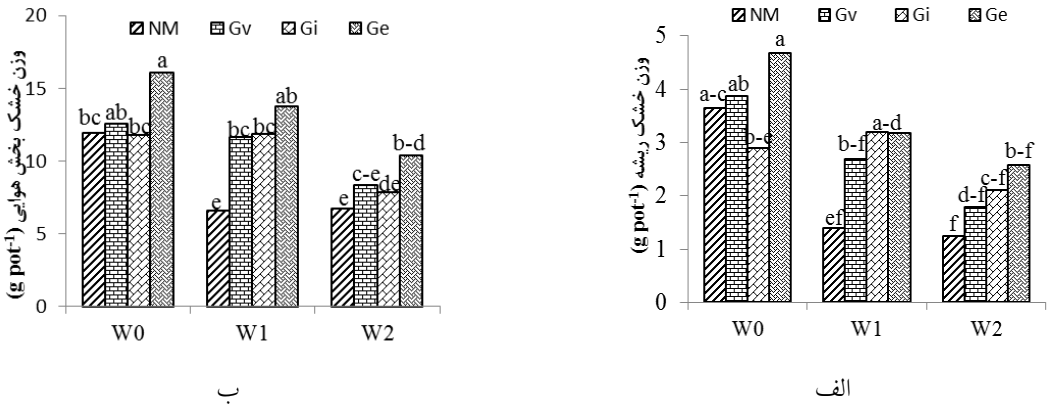
این آزمایش به‌صورت چند عاملی در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در چهار تکرار با گیاه ذرت (رقم سینگل کراس۷۰۴) در شرایط گلخانه اجرا شد. عامل اول سه سطح رطوبتی در خاک شامل: ۳۰-۱۰ درصد تخلیه آب قابل استفاده (W_0)، ۵۵-۳۵ درصد تخلیه آب قابل استفاده (W_1)، ۹۰-۶۰ درصد تخلیه آب قابل استفاده (W_2) و عامل دوم سه گونه قارچ میکوریز *Glomus versiforme* (Gv)، *G.intraradices* (Gi) و *G.etunicatum* (Ge) و شاهد بدون قارچ بود. برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار MSTATC و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد. آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای مقایسه میانگین‌ها در سطوح احتمال ۱ یا ۵ درصد به‌کار رفت.

نتایج و بحث

برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش در (جدول ۱) نشان داده می‌شود.

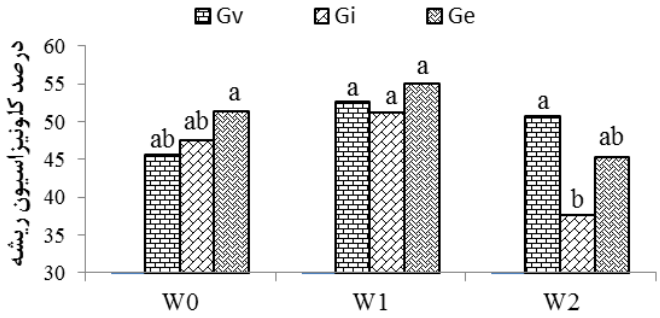
وزن خشک بخش هوایی و ریشه

اثرات اصلی هر دو فاکتور قارچ و رطوبت خاک بر وزن خشک بخش هوایی و ریشه معنی‌دار ولی اثرات متقابل فاکتورها غیرمعنی‌دار بود (جدول۲). با افزایش تنش کم‌آبی وزن خشک بخش هوایی کاهش یافت (شکل ۱-الف). در تمام سطوح رطوبتی، بیشترین وزن خشک مربوط به تیمار قارچی *G.etunicatum* بود. با وقوع تنش کم آبی کاهش در وزن خشک ریشه نیز مشاهده شد (شکل ۱-ب). تأثیر تنش کم‌آبی بر کاهش ماده خشک گیاهان را می‌توان اینگونه بیان کرد که به‌طور کلی کمبود آب در هر مرحله از رشد گیاه، جذب، انتقال و مصرف عناصر غذایی را کاهش می‌دهد (۱۶). همچنین شواهد موجود نشان می‌دهند که تنش کم‌آبی باعث کاهش فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای می شود که پیامد آن کم شدن ذخیره کربن و کاهش ماده خشک می‌باشد (۳۷). گیاهان میکوریزی در هر سه سطح رطوبتی در مقایسه با گیاهان غیر میکوریزی وزن خشک بیشتری داشته‌اند. نادیان گزارش کرده است که در تمام سطوح تنش خشکی مجموع طول ریشه سورگوم میکوریزی از مجموع طول ریشه سورگوم غیرمیکوریزی بیشتر بوده است و با افزایش تنش خشکی از رشد ریشه های میکوریزی به‌طور معنی‌داری کاسته شده است (۵).



شکل ۱. اثر متقابل قارچ میکوریز و رطوبت خاک بر (الف) وزن خشک بخش هوایی (ب) وزن خشک بخش ریشه

درصد کلونیزاسیون ریشه. W_0-W_1-W_2به ترتیب ۱۰-۳۰، ۳۵-۵۵ و ۶۰-۹۰ درصد تخلیه آب قابل استفاده خاک هستند. میانگین‌های دارای حروف مشترک از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار نیستند.



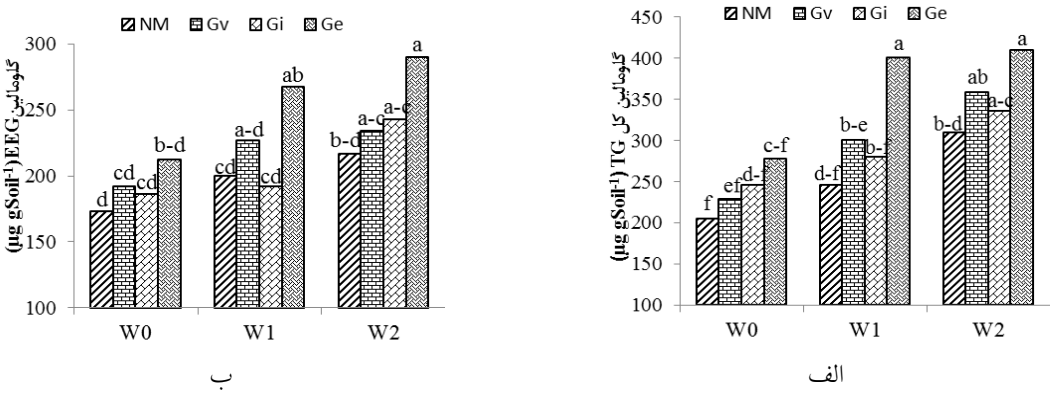
شکل ۲. اثر متقابل قارچ میکوریز و رطوبت خاک بر درصد کلونیزاسیون ریشه

W_0-W_1-W_2به ترتیب ۱۰-۳۰، ۳۵-۵۵ و ۶۰-۹۰ درصد تخلیه آب قابل استفاده خاک هستند. میانگین‌های دارای حروف مشترک از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار نیستند.

اثر اصلی رطوبت خاک بر درصد کلونیزاسیون ریشه غیرمعنی‌دار ولی اثر اصلی قارچ میکوریز بر آن در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). اثرات متقابل سطوح رطوبتی و قارچ بر درصد کلنیزاسیون نشان داد که با تغییر سطح رطوبتی از سطح W_0 به W_1، در هر سه تیمار قارچی درصد کلونیزاسیون افزایش یافت (شکل ۲). در سطح رطوبتی W_2، کاهش در درصد کلونیزاسیون مشاهده شد ولی معنی‌دار نبود. گیاه تحت شریط تنش کم‌آبی، سهم کربنی که در اختیار قارچ می‌گذارد، کاهش می یابد (۲۸). فراهانی و ولدآبادی گزارش کرده‌اند که تنش کم‌آبی سبب افزایش درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه گشنیز گردید، زیرا از وظایف مهم قارچ‌های میکوریزی می‌توان به افزایش جذب آب در شرایط خشکی اشاره نمود (۳).

غلظت گلومالین ساده استخراج و گلومالین کل در خاک

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی سطوح رطوبتی و قارچ میکوریز بر غلظت TG و EEG در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). با افزایش تنش کم



شکل ۳. اثر متقابل قارچ میکوریز و رطوبت خاک بر غلظت الف) TG ب) EEG

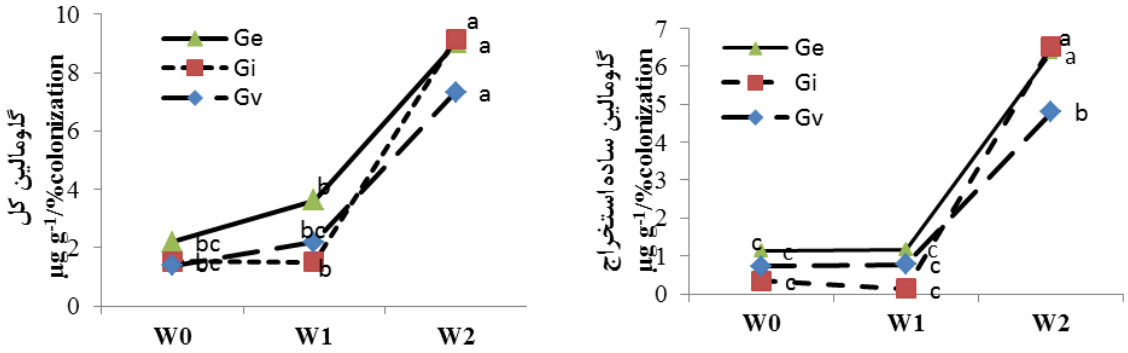
W_0-W_1-W_2 به ترتیب ۱۰-۳۰، ۳۵-۵۵ و ۶۰-۹۰ درصد تخلیه آب قابل استفاده خاک هستند. میانگین‌های دارای حروف مشترک از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار نیستند.

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر سطوح رطوبتی و گونه‌های قارچی بر غلظت گلومالین ساده استخراج (EEG) و کل(TG)

	میانگین مربعات		
منبع تغییر	درجه آزادی	EEG	TG
سطوح رطوبتی	۲	۱۲۱۴۹/۵۹۸**	۵۲۲۹۴/۹۶۲**
قارچ	۳	۸۲۲۹/۰۹۹*	۲۵۰۴۶/۴۰۸**
سطوح رطوبتی × قارچ	۶	۶۸۰/۲۷۰^{ns}	۱۷۹۶/۹۰۳^{ns}
خطای آزمایشی	۳۶	۱۸۷۹/۷۳۵	۳۰۹۰/۷۷۴
ضریب تغییرات٪	–	۱۹/۷۸	۱۸/۵۱

ns ، *، **- به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪

آبی، غلظت TG و EEG در تمامی تیمارها افزایش یافت. بیشترین غلظت TG و EEG در هر سه تیمار رطوبتی، مربوط به تیمار قارچی Ge و کمترین آن مربوط به شاهد بدون قارچ بود. در سطح رطوبتی شاهد، بین غلظت TG در تیمار شاهد و تیمارهای قارچی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، در حالی که با وقوع تنش رطوبتی، غلظت TG در تیمار قارچی Ge در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌داری داشت و افزایش قابل توجهی در غلظت TG نسبت به تیمارهای قارچی Gv و Gi و شاهد اتفاق افتاد(شکل ۳). وو و همکاران گزارش کرده‌اند که تنش خشکی متوسط غلظت GPRS (Glomalin-Related Soil Proteins) را افزایش می‌دهد (۳۶)، این نتیجه می‌تواند این فرض را که GRSP احتمالاً به‌عنوان پوشش حفاظتی برای هیف‌های قارچی جهت جلوگیری از هدررفت آب و عناصر غذایی در مسیر رسیدن به گیاه میزبان به ویژه تحت شرایط تنش می‌باشد، تأیید کند (۲۲). در مطالعه کولر و همکاران که در رابطه با افزایش تأثیر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار و باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه در خاک‌های کشاورزی مناطق نیمه‌خشک تحت تنش خشکی و دی‌اکسید کربن زیاد انجام گرفته است، نتایج نشان داد که در غلظت ۳۸۰ppm دی‌اکسیدکربن و در شرایط بدون تنش رطوبتی، زیست توده کربن ($\mu g\ g^{-1}$) در تیمار شاهد بیشتر از تیمار قارچی *G.intraradices* است در حالیکه مقدار EEG در تیمار



ب الف

شکل ۴. تغییر مقادیر گلومالین ساده استخراج و گلومالین کل به ازای واحد درصد کلونیزاسیون ریشه

W2-W1-W0به ترتیب ۱۰-۳۰، ۳۵-۵۵ و ۶۰-۹۰ درصد تخلیه آب قابل استفاده خاک هستند. میانگین‌های دارای حروف مشترک از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار نیستند.

قارچی بیشتر از شاهد است، که بیان کننده تخصیص کربن بیشتر برای تولید گلومالین در تیمار قارچی است (۱۷). با وقوع تنش رطوبتی (منفی‌تر شدن پتانسیل ماتریک خاک) مقادیر زیست توده کربن در مقایسه با شرایط بدون تنش رطوبتی کاهش یافته است در حالیکه مقادیر EEG در هر دو تیمار افزایش یافته است. در غلظت ppm ۷۶۰ دی‌اکسیدکربن، مقادیر زیست توده کربن در تنش رطوبتی در مقایسه با شرایط بدون تنش رطوبتی افزایش یافته است. در تیمار قارچی مقدار EEG کاهش یافته و زیست توده کربنی‌اش بیشتر از شاهد است.

با افزایش تنش کم‌آبی (W_2) تولید EEG و TG به ازای واحد درصد کلونیزاسیون ریشه افزایش یافت (شکل۴). با شدت یافتن تنش علیرغم کاهش در درصد کلونیزاسیون، تولید گلومالین در واحد کلونیزاسیون افزایش یافته و باعث افزایش غلظت گلومالین شد. یکی از دلایل افزایش تولید گلومالین توسط قارچ در شرایط تنش احتمالا مربوط به ماهیت این گلیکوپروتئین باشد. مقایسه توالی ژن کد کننده گلومالین با توالی‌های موجود در بانک ژنی مشابهت بیش از ۸۰ درصدی به کلاس پروتئین شوک حرارتی(Hsp60) را نشان داد. ژن *hsp60* در میسلیوم‌های خارج ریشه‌ای *G.intraradices* بیان می‌شود و به شدت دلالت بر این دارد که میسلیوم‌های خارج ریشه‌ای به عنوان سایت اصلی برای ابراز ژن گلومالین‌اند. هویت توالی آمینواسیدی گلومالین مربوط به پروتئین‌های مرتبط با تنش است، تولید گلومالین تحت شرایط محدود شده رشد میسلیوم (یعنی شرایط تنش) به‌شدت افزایش می‌یابد (۱۹و ۲۶).

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده از این آزمایش نشان داد که تنش کم‌آبی بر میزان تولید گلومالین توسط هر سه گونه قارچ *Glomus versiforme*، *G.intraradices* و *G.etunicatum* اثر گذاشته و باعث افزایش تولید گلومالین می شود. اگر چه درصد کلنیزاسیون ریشه در بالاترین سطح تنش کم آبی (W2) کاهش یافت ولی تولید گلومالین به‌ازای واحد درصد کلنیزاسیون افزایش یافت که دلیلی بر این مدعا است که قارچ این گیلکوپروتئین را در برابر تنش‌ها برا ی حفاظت خود تولید می‌کند. همچنین تولید گلومالین تحت تأثیر گونه‌های قارچی قرار می‌گیرد، به‌صورتی که نتایج این تحقیق نشان داد بیشترین مقدار تولید گلومالین توسط گونه قارچ *G.etnicatum* بود. در این پژوهش استفاده از هر سه گونه قارچ میکوریز نسبت به شاهد بدون میکوریز، از لحاظ تأثیر بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده مثبت ارزیابی شد.

منابع مورد استفاده

۱. احمدی قشلاقی، س.، ن. علی اصغرزاد. و ع. توسلی. ۱۳۹۳. تأثیر تنش شوری ناشی از کلرید سدیم بر تولید گلومالین توسط قارچ‌های گلومرال همزیست با گیاه ذرت، نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی) ۲۸(۱) ۱۰۰-۹۲.

۲. شعبانی زنوزق، و.، ن. علی اصغرزاد . و ش. اوستان. ۱۳۹۳. تأثیر مس بر تولید گلومالین توسط دو گونه قارچ گلومرال همزیست با ذرت، نشریه دانش آب و خاک ۲۴(۱):۱۰-۱.

۳. فراهانی، ح. و ع. ولدآبادی. ۱۳۸۹ . نقش قارچ میکوریز آربوسکلار بر گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum*) در شرایط تنش خشکی، مجله پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب) ۲۴: ۸۰-۶۹.

۴. ملکوتی، م ج. ۱۳۷۹ . توصیه بهینه کودی برای محصولات زراعی و باغی. نشریه فنی شماره۲۰۰، مؤسسه تحقیقات آب و خاک، نشر آموزش کشاورزی.

۵. نادیان، ح. ۱۳۹۰. اثر تنش خشکی و همزیستی میکوریزی بر رشد و جذب فسفر توسط دو رقم سورگوم متفاوت در ریخت شناسی ریشه، مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاک ۵۷(۱۵):۱۳۹-۱۲۷.

6. Aliasgharzadeh, N., N. Saleh Rastin, H. Towfighi and A. Alizadeh. 2001. Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungal in salin soils of Tabriz Plain of Iran in relation to some physical and chemical properties of soil. Mycorrhiza 11: 119-122.
7. Blair, G. J., R. D. B. Lefroy and L. Lise.1995. Soil carbon fractions based on their degree of oxidation, and the development of a carbon management index for agricultural systems. Aust. J. of Soil Res. 36: 809-819.
8. Bradford, M. M. 1976. A dye binding assay for protein. Anal. Biochem.72: 248-254.
9. Gadkar, V. and M. C. Rillig. 2006. The arbuscular mycorrhizal fungal protein glomalin is a putative homolog of heat shok protein 60. FEMS Microbiol. Lett. 263: 93-101.
10. Gee, G. W. 2002. Particle size analysis. PP. 201-414. *In*: Clarke, J. H. D. *et al.(*Eds.) Method of soil Analysis .Part 4. Physical Methods Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin, USA.
11. Giovannetti, M. and B. Mosse. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytol. 84: 489-500.
12. Gregory, J. M., J. F. B. Mitchell and A. J. Brady. 2003. Summer drought in northern midlatitudes in a time-dependent CO_2 climate experiment. J. Climate. 10: 662-686.
13. Gonzalez-Chavez, M. C., R. Carillo-Gonzelez., S. F. Wright. and K. A. Nichols. 2004. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. Environ. Pollut. 130: 317-323.
14. Gupta, P. K. 2000. Soil, Pant, Water and Fertilizer Analysis. Agrobios، New Delhi، India.
15. Harle, K. J., S. M. Howden, L. P. Hunt and M. Dunlop. 2007. The potential impact of climate change on the Australian wool industry by 2030. Agric.Syst. 93: 61-89.
16. Hu, Y. and U. Schmidhalter. 2005. Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants. Plant Nut. 168: 541-549.
17. Kohler, J., F. Caravaca., M. D. M. Alguacil and A. Roldan. 2009. Elevated CO_2 increases the effect of an arbuscular mycorrhizal fungus and a plant-growth-promoting rhizobacterium on structural stability of a semiarid agricultural soil under drought conditions. Soil Biol. Biochem. 41: 1710-1716.
18. Kormanik, P. P. and A. C. McGraw. 1982. Quantification of vesicular-arbuscular Mycorrhizae in plant roots. PP. 37-36. *In*: Schenck N. C. (Ed.), Methods and Principles of Mycorrhizal Research. The American Phytopathological Society.
19. Lovelock, C. E., S. F. Wright, D. A. Clark and R. W. Ruess. 2004a. Soil stocks of glomalin produced by arbuscular mycorrhizal fungi across a tropical rain forest landscape. Ecology. 92: 278–287.
20. Mort, A., C. Lovisolo and A. Schubert. 2000. Effect of drought stress on growth and water relation of the mycorrhizal association *Helianthemum almeriense-Terfezia claveryi*. Mycorrhiza. 10: 115-119.
21. Nelson, D. W. and L. E. Sommers . 1996. Total carbon, organic carbon and organic matter. PP. 961-1010 *In*: Sparks D. L. (Ed.), Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods. Soil Science Society of America. Madison,Wisconsin, USA.
22. Nichols, K. A. 2008. Indirect contributions of AM fungi and soil aggregation to plant growth and protection. PP. 177–194. *In*: Siddiqui Z. A. *et al*. (Eds.), Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry. Springer Science.

23. Olsen, S. R. and L. E. Sommers. 1982. Phosphorus. PP. 403-430. *In*: Page, A. L. *et al*. (Eds.), Methods of Soil Analysis، Part 2. American Society of Agronomy، Soil Science Societ of America.Madison، Wisconsin.
24. Page, A. L. 1982. Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. Soil Science Society of America.
25. Rillig, M. C., G. Y. Hernandez and P. C. D. Newton. 2000. Arbuscular mycorrhizae respond to elevated atmospheric CO_2 after long-term exposure: evidence from a CO_2 spring in New Zealand supports the resource-balance model. Ecol. Lett. 3: 475-478.
26. Rillig, M. C. and P. D. Steinberg. 2002. Glomalin production by an arbuscular mycorrhizal fungus: a mechanism of habitat modification. Soil Biol. Biochem. 34: 1371-1374.
27. Roldan, A., L. Carrasco. and F. Caravaca. 2006. Stability of desiccated rhizosphere soil aggregates of mycorrhizal *Juniperus oxycedrus* grown in a desertified soil amended with a composted organic residue. Soil Biol. Biochem. 38: 2722-2730.
28. Smith, S. E. and D. J. Read. 1997. Mycorrhizal Symbiosis, 2nd Edition. Academic Press: Sand Diego.
29. Sylvia, D. M. and S. E. Williams. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and environmental etress. PP 101-124. *In*: Bethlenfalvay, G. J. and Linderman, R.G. (Eds.) Mycorrhizae in Sustainable Agriculture. American Society of Agronomy, Medison Wisconsin.
30. Wright, S. F. and R. L. Anderson. 2000. Aggregate stability and glomalin in alternative crop rotations for the central Great Plains. Biol. Fertil. Soils. 31: 249-253.
31. Wright, S. F., M. Franke-Snyder, J. B. Morton and A. Upadhyaya. 1996. Time-course study and partial characterization of a protein on arbuscular mycorrhizal hyphae during active colonization of roots. Plant and Soil. 181: 193-203.
32. Wright, S. F., V. S. Geen and M. A. Cavigelli. 2007. Glomalin in aggregate size classes from three different farming systems, Soil Till. Res. 94: 546-549.
33. Wright, S. F., M. C. Rillig and K. A. Nichols. 2000. Glomalin: a soil protein important in carbon sequestration. Abs. Papers Am. Chem. Soc. 220: 70.
34. Wright, S. F. and A. Upadhyaya. 1996. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Sci.161: 575-585.
35. Wu, Q. S. and R. X. Xia. 2006. Effect of arbuscular mycorrizal fungi on leaf solutes and root absorption areas of trifoliate orange seedlings under water stress condition. Front. Forest.China. 3: 312-317.
36. Wu, Q. S., R. X. Xia and Y. N Zou. 2008. Improved soil structure and citrus growth after inoculation with three arbuscular mycorrhizal fungi under drought stress. Europ. J. Soil Biol. 44: 122-128.
37. Yordanov, I., V. Velikova and T. Tsonev. 2003. Plant responses to drought and stress tolerance. Bulg. J. Plant Physiol. Special Issue, 187-206.

J. Water and Soil Sci (Sci. & Technol. Agric. & Natur. Resour.)
Vol. 21, No. 1, Spring 2017, Isf. Univ. Technol., Isf., Iran.

Effects of Water Deficit Stress on Glomalin Secretion by Glomerales in Symbiosis with Corn Plant

M. Rishcefid, N. Aliasgharzad* and M. R. Neyshabouri[1]

(Received: Jan. 11-2015 ; Accepted: Aug. 22-2016)

Abstract

Glomalin is a glycoprotein identified in and extracted from cell walls of hyphae and spores of Glomeral fungi. It deposites on soil particles and acts as a glue which leads to the formation and stabilization of soil aggregates. Water deficit stress by affecting mycorrizal symbiosis can alter glomalin production. This study was conducted as a factorial experiment arranged in a completely randomized design (CRD) with four replications using corn (*Zea mays* L. Single cross 704) under greenhouse conditions. The first factor was three levels of soil moisture including 10-30% (W_0), 35-55% (W_1), 60-90% depletion of available water (W_2) and the second factor was three species of mycorrhizal fungi, *Glomus versiforme* (Gv), *Glomus intraradices* (Gi), *Glomus etunicatum* (Ge) and non mycorrhizal control (NM). At the end of vegetative growth, easily extractable glomalin (EEG) and total glomalin (TG) were measured using the Bradford method after extraction from soil. Shoot and root dry weights and root colonization decreased by declining soil moisture level. Water deficit significantly increased the amount of EEG and TG in soil. Also, a significant increase in glomalin production was observed at W_2 level in all three fungal species compared to the W_0 and W_1 moisture levels. Moreover, by enhancing water deficit stress and decreasing root colonization, glomalin production per unit percent of root colonization was significantly increased.

Keywords: Carbon dynamics, Corn, Glomeral fungi, Glomalin, Water deficit stress

1. Dept. of Soil Sci., Faculty of Agric., Univ. of Tabriz, Tabriz, Iran.
*: Corresponding Author, Email: n-aliasghar@tabrizu.ac.ir