نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۸، شماره ۱، فروردین – اردیبهشت ۱۳۹۳، ص. ۱۰۰-۹۲

Journal of Water and Soil
Vol. 28, No. 1, Mar.-Apr. 2014, p. 92-100

تاثیر تنش شوری ناشی از کلرید سدیم بر تولید گلومالین توسط قارچ‌های گلومرال همزیست با گیاه ذرت

سمانه احمدی قشلاقی[1*]- ناصر علی‌اصغرزاده[2]- علیرضا توسلی[3]

تاریخ دریافت:۱۳۹۲/۱/۲۶
تاریخ پذیرش:۱۳۹۲/۱۱/۲۱

چکیده

گلومالین گلیکوپروتئینی است که توسط قارچ‌های میکوریز آربوسکولار (AM) تولید می‌شود و از اجزاء مهم ماده‌آلی خاک می‌باشد که در ترسیب کربن و پایداری خاکدانه‌ها نقش بسزایی دارد. قارچ‌های AM که تنها تولید کننده‌ی گلومالین هستند، تحت تاثیر فاکتورهای مختلف محیطی از جمله شوری قرار می‌گیرند. این پژوهش به‌منظور بررسی تاثیر شوری بر تولید گلومالین توسط سه گونه‌ی قارچی میکوریز آربوسکولار بصورت آزمایش فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار، با گیاه ذرت رقم سینگل کراس ۷۰۴ در شرایط گلخانه اجرا شد. فاکتورهای مورد آزمایش شامل سه سطح شوری سدیم کلراید ۱/۳۴ (شاهد)، ۴ و ۸ dS/m و چهار سطح شاهد بدون قارچ، *G. intraradices* (Gi), *G. versiforme* (Gv), *Glomus etunicatum* (Ge) بود. در این پژوهش وزن خشک گیاه، غلظت پرولین برگ، درصد کلونیزاسیون و غلظت گلومالین ساده استخراج (EEG) و گلومالین کل (TG) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که اثر متقابل شوری و قارچ میکوریز بر وزن خشک گیاه، غلظت پرولین برگ، درصد کلونیزاسیون ریشه، EEG و TG در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. در گیاهان میکوریزی وزن خشک گیاه ذرت، غلظت پرولین برگ نسبت به شاهد بدون قارچ بصورت معنی‌داری افزایش یافته بود. درصد کلونیزاسیون ریشه نیز در سطح شوری ۸ dS/m بصورت معنی‌داری نسبت به شاهد شوری کاهش یافت. همچنین افزایش معنی‌دار تولید گلومالین در دو سطح شوری ۴ و ۸ dS/m در هر سه گونه‌ی قارچی نسبت به شوری ۱/۳۴ dS/m مشاهده شد. به عبارتی با افزایش شوری و کاهش درصد کلونیزاسیون، مقدار تولید گلومالین در واحد درصد کلونیزاسیون افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: گلومالین، میکوریز آربوسکولار، شوری، پرولین، ذرت

مقدمه

شوری خاک یکی از مهمترین مشکلات کشاورزی است که بدلیل تاثیر منفی آن بر رشد و توسعه‌ی گیاهان، بخصوص در مناطق خشک و نیمه خشک بسیار نگران کننده می‌باشد (۲۷). براساس برآوردهای اخیر بیش از ۶ درصد کل خاک‌های جهان تحت تاثیر شوری می‌باشد (۲۵).

قارچ‌های میکوریز آربوسکولار از ارگانیسم‌های مهم خاک هستند که به راسته‌ی Glomerales تعلق دارند (۳۷). این قارچ‌ها بصورت گسترده در خاک‌های شور حضور دارند (۲ و ۴۱) اما توانایی آنها در برابر پاسخ به تنش شوری متفاوت است (۱۰). شوری علاوه بر گیاه میزبان بر قارچ AM نیز تاثیر می‌گذارد. بطوری‌که در توانایی کلونیزه شدن، تندش اسپور و رشد هیف اختلال ایجاد می‌کند. محققان زیادی تاثیر منفی شوری را بر قارچ AM گزارش کرده‌اند (۲۰). شوری می‌تواند کلونیزاسیون قارچ AM را مستقیماً با کاهش رشد هیف و یا کاهش رشد گیاه (اختصاص کمتر کربوهیدرات) تقلیل دهد (۳ و ۲۸). در تنش‌های محیطی مانند شوری و خشکی، فشار اسمزی شیره سلولی بافتهای گیاهان تغییر می‌یابد. گیاهان برای مقابله با اثرات تنش، مواد تنظیم کننده فشار اسمزی ساخته و انباشته می‌نمایند. از جمله این مواد، اسیدآمینه‌ی پرولین می‌باشد که نقش حیاتی در تنظیم فشار اسمزی سلولهای گیاهی دارد (۸). مشاهدات نشان می‌دهد که تاثیر قارچ میکوریز بر غلظت پرولین در حضور تنش شوری متغیر است (۳۴).

گلومالین یک گلیکوپروتئین تولید شده بوسیله‌ی هیف‌های قارچی AM است که مقاوم به تجزیه است و می‌تواند مقادیر بالایی کربن و نیتروژن را ترسیب سازد. گلومالین می‌تواند نقش بسزایی در تهویه، زهکشی، جذب عناصر غذایی و حاصلخیزی داشته باشد (۲۶). این گلیکوپروتئین بصورت وافر در همه خاک‌ها یافت می‌شود (۳۲) و در درازمدت تاثیر بسزایی بر ساختمان خاک می‌گذارد و خاکدانه‌سازی را

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استاد و استادیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
(*- نویسنده مسئول:Email: samaneh_ahmadi_g@yahoo.com)

افزایش می‌دهد (۳۰). تعدادی از مطالعات نشان می‌دهد که سه فاکتور گلومالین، پایداری خاکدانه‌ها و مدیریت خاک بهم مرتبط هستند (۴۰). ذخایر گلومالین، بعنوان GRSP[1] بسته به شرایط عصاره‌گیری و روش کمی کردن، TG[2] و EEG[3] نامگذاری می‌شوند (۳۹ و ۳۰). گلومالین، مرتبط با پروتئین‌های شوک حرارتی ۶۰ (hsp60[4]) است. این پروتئین‌ها توسط سلول‌های یوکاریوت و پروکاریوت تحت شرایط تنش‌های محیطی همچون افزایش دما، تغییر pH و کمبود غذا تولید می‌شوند (۱۳ و ۲۹). قادکار و ریلیگ (۱۳) ثابت کردند که توالی آمینواسیدی گلومالین مربوط به hsp60 است. به همین دلیل نظریه‌ی دیگر محققان (۱۲ و ۳۱) را تایید کردند؛ که بیان می‌کرد گلومالین ممکن است بعنوان یک پروتئین القا شده تحت شرایط تنش، وظیفه‌ی حمایت از AMF را داشته باشد (۹). بدلیل اینکه قارچ AM گلومالین را تولید می‌کند و شوری بر قارچ و شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاه تاثیرگذار است ما می‌خواهیم به این پرسش جواب دهیم که با افزایش شوری خاک در حضور قارچ میکوریز روند تغییر تولید گلومالین، درصد کلونیزاسیون و غلظت پرولین چگونه است. برای پاسخ‌دهی به این پرسش ما در آزمایش خود، گیاه ذرت (سینگل کراس ۷۰۴) را با چهار تیمار قارچی (شاهد، Gv، Gi و Ge) در برابر سه سطح شوری (۱/۳۴ dS/m، ۴ و ۸) کلونیزه کرده و روند تغییر تولید گلومالین هم بصورت EEG و هم TG، درصد کلونیزاسیون همراه با شاخص‌های فیزیولوژیکی، با افزایش سطح شوری خاک بررسی گردید.

مواد و روش ها

آماده‌سازی مایه تلقیح

گونه‌های قارچ AM، شامل Gv، Ge ایزوله‌ی دشت تبریز و Gi ایزوله استرالیا، در شرایط گلخانه‌ای بصورت همزیست با گیاهان ذرت علوفه‌ای تکثیر شد. در طی دوره رشد، برای حفظ رطوبت ظرفیت مزرعه‌ای خاک، گلدان‌ها با آب مقطر آبیاری شدند و برای تغذیه گیاهان دو بار در هفته از محلول غذایی راریسون با نصف غلظت فسفر استفاده شد (۲). پس از ۴ ماه، محتوی گلدان‌ها که شامل اسپور، هیف، ریشه‌های میکوریزی و خاک گلدان بود بعنوان مایه تلقیح استفاده شد.

در کشت اصلی نیز از بذر گیاه ذرت علوفه‌ای (*Zea mays* L.) (رقم سینگل کراس۷۰۴) استفاده گردید. بذرها ابتدا بوسیله هیپوکلریت سدیم نیم درصد استریل سطحی شدند. سپس برای جوانه زنی در داخل کاغذ صافی مرطوب با آب مقطر، در تاریکی قرار داده شدند.

کاشت گیاه و اعمال تیمارها

گلدان‌های پلاستیکی ۲/۵ کیلویی که با خاک شن لومی پر شده بود، به داخل اتوکلاو انتقال داده شد. سپس با توجه به توصیه کودی، به هر کیلوگرم خاک ۱۷۵ میلی گرم اوره و ۱۲۵ میلی گرم K_2SO_4 اضافه گردید. کود فسفر نیز بدلیل تحریک همزیستی میکوریزی مورد استفاده واقع نشد. بعد از اتوکلاو ۴ عدد از بذرهای جوانه زده شده به هر گلدان اضافه شد. خصوصیات خاک که قبل از اضافه کردن کود اندازه‌گیری شده بود عبارت بودند از: درصد کربن‌آلی ۰/۱۲۸، پتاسیم قابل عصاره‌گیری با استات آمونیوم ۱۸۲/۶ میلی گرم در گرم خاک، فسفر ۴/۴ میلی‌گرم در گرم خاک، pH= ۷/۸۱ و ECe= ۱/۳۴ dS/m در آزمایش چهار سطح قارچ میکوریز (شاهد بدون قارچ، *G. versiforme*، *G. intraradices*، *G. etunicatum*) و سه سطح شوری شامل شاهد (۱/۳۴ dS/m)، شوری کم (۴ dS/m) و شوری بالا (۸ dS/m) بکار برده شد. برای اعمال سطوح شوری مورد نظر، نمودار EC تعادلی رسم شد (۱). محلول‌های نمک بصورت تدریجی در طول دو هفته به گلدان‌ها اضافه شدند. گیاهان به مدت ۱۲ هفته تحت شرایط گلخانه با دمای C ۱۹/۲۶ شب / روز، ۱۶/۸ساعت دوره‌ی تاریکی / روشنایی، رطوبت نسبی ۶۵ درصد و شدت نور حدود $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ ۳۰۰-۴۰۰ رشد یافتند. گیاهان روزانه با آب مقطر تا FC ۸۵ درصد آبیاری می‌شدند. دو روز قبل از برداشت گیاهان، غلظت پرولین برگ اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری پرولین به روش ایریگوئن و همکاران (۱۹) صورت گرفت. در این روش پرولین برگ با اتانول عصاره‌گیری شد و پس از سانتریفوژ، معرف نین هیدرین و اسید استیک گلاسیال به آن اضافه گردید و در حمام آب جوش قرار داده شد. در نهایت غلظت نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر با مقایسه با منحنی استاندارد پرولین، تعیین شد.

برای اندازه‌گیری درصد کلونیزاسیون، ریشه‌های ریز موئی را از خاک جدا کرده و با آب معمولی شستشو داده شد. سپس در KOH ۱۰٪ قرار داده و با محلول رنگی تریپان بلو، رنگ آمیزی شد (۲۲). درصد کلونیزاسیون، به روش تقاطع خطوط شبکه (GIM)[5] تعیین شد (۳۵). در این روش ۵۰ قطعه ۱ cm ریشه روی پتری بصورت تصادفی پخش شد و در زیر بینوکلر مشاهده شد. تعداد تقاطعی که در آنها هیف، وزیکول، آربوسکول مشاهده شده بود شمارش شد و بصورت نسبت تقاطع کلونیزه در کل تعداد تقاطع بیان شد.

عصاره‌گیری گلومالین به روش بیان شده توسط رایت و آپادهیایا (۱۹۹۸) انجام شد. برای عصاره‌گیری EEG، یک گرم خاک (عبور

1- Glomalin-related soil protein
2- Total Glomalin
3- Easily extractable Glomalin
4- heat shock protein60

5- Gridline Intersect Method

داده شده از غربال ۲ میلی‌متر) را داخل لوله سانتریفوژ قرار داده و ۸ میلی لیتر محلول سیترات سدیم ۲۰ میلی مولار به آن اضافه شد و پس از ۳۰ ثانیه ورتکس، به مدت ۶۰ دقیقه در داخل اتوکلاو قرار داده شد. سپس با RPM ۵۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ و محلول صاف روئی برداشته شد. برای عصاره‌گیری TG نیز پس از برداشتن محلول صاف روئی، بر روی خاک باقیمانده ۸ میلی لیتر محلول سیترات سدیم ۵۰ میلی مولار اضافه نموده و ۳۰ ثانیه ورتکس گردید. سپس همانند مرحله‌ی قبل ۶۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد در اتوکلاو قرار داده و بعد از سانتریفوژ کردن، محلول صاف روئی برداشته شد. غلظت پروتئین به روش برادفورد (۱۹۷۶) با استفاده از استانداردهای سرم آلبومین گاوی اندازه‌گیری شد. غلظت TG برابر مجموع غلظت دو مرحله‌ی عصاره‌گیری است.

طرح آزمایشی و تجزیه آماری

آزمایش بصورت فاکتوریل با دو فاکتور: ۱) قارچ میکوریز در چهار سطح شامل شاهد بدون قارچ، *G. versiforme*، *G. intraradices*، *G. etunicatum* ۲) فاکتور شوری شامل سه سطح ۱/۳۴، ۴ و ۸ دسی زیمنس بر متر در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در چهار تکرار اجرا شد. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها بوسیله نرم افزار MSTATC با استفاده از آزمون LSD در سطح یک درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

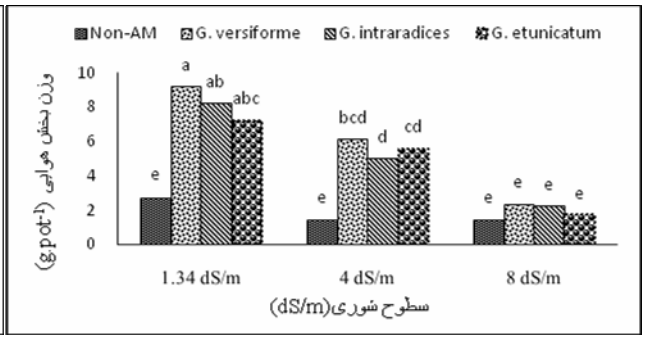
وزن خشک بخش هوایی و ریشه: وزن خشک بخش هوایی و ریشه‌ی گیاهان قبل از شروع مرحله زایشی اندازه‌گیری شد. با توجه به نتایج مشاهده شد که با افزایش سطوح شوری مقدار ماده خشک کاهش می‌یابد و اثر متقابل شوری و قارچ میکوریز بر مقدار ماده خشک بخش هوایی و ریشه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار می‌باشد (جدول۱).

مسئله‌ای که آشکار است، تاثیر شوری بر وزن خشک بخش هوایی و ریشه گیاه به حضور قارچ میکوریز بستگی دارد. بصورتی که ما در حضور قارچ میکوریز افزایش معنی‌دار ماده خشک را مشاهده کردیم (شکل ۱ و ۲). ولی در شوری ۸ dS/m هیچ یک از سه گونه‌ی قارچی قادر به افزایش معنی‌دار وزن خشک گیاه نیستند. افزایش معنی‌دار مقدار ماده خشک گیاه در حضور قارچ میکوریز می‌تواند بدلیل افزایش جذب عناصر غذایی از جمله نیتروژن و فسفر (۱۴) و یا بهبود جذب آب (۵) در گیاهان میکوریزی باشد.

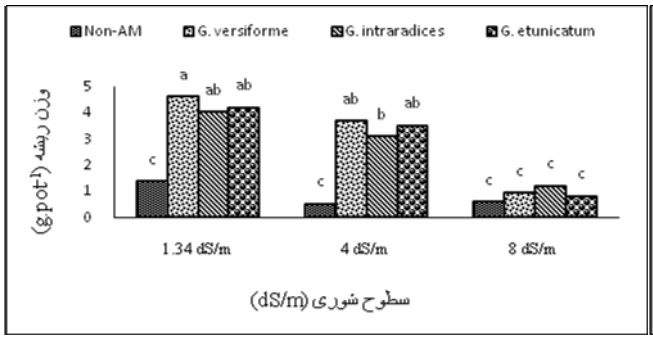
جدول ۱- تجزیه واریانس اثر سطوح شوری و گونه‌های قارچی بر وزن خشک گیاه و غلظت گلومالین در خاک

		میانگین مربعات			
منبع تغییر	درجه آزادی	وزن خشک بخش هوایی	وزن خشک ریشه	EEG	TG
سطوح شوری	۲	۹۷/۱۲ **	۲۹/۸۴**	۱۸۸۶۱/۱۵۶ **	۵۴۳۹۶۸/۲۶۱**
قارچ	۳	۳۷/۲۲ **	۱۳/۰۵**	۵۴۸۴۵/۳۷۳ **	۷۶۴۴۱/۳۵۱**
سطوح شوری × قارچ	۶	۶/۷۹ **	۲/۳۲**	۲۶۱۴۰/۹۶۷ **	۲۹۴۷۷/۰۱۳ **
خطای آزمایشی	۳۶	۱/۲۹	۰/۵۱	۱۰۹۵/۶۲۴	۲۳۲۶/۳۷۳
ضریب تغییرات٪	-	۲۵/۹۲	۱۱/۷۷	۴/۹۵	۵/۳۳

ns، *، **- بترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪



شکل ۱- اثر متقابل شوری و قارچ میکوریز بر وزن خشک بخش هوایی



شکل ۲- اثر متقابل شوری و قارچ میکوریز بر وزن خشک ریشه

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر سطوح شوری و گونه‌های قارچی بر غلظت پرولین و درصد کلونیزاسیون ریشه

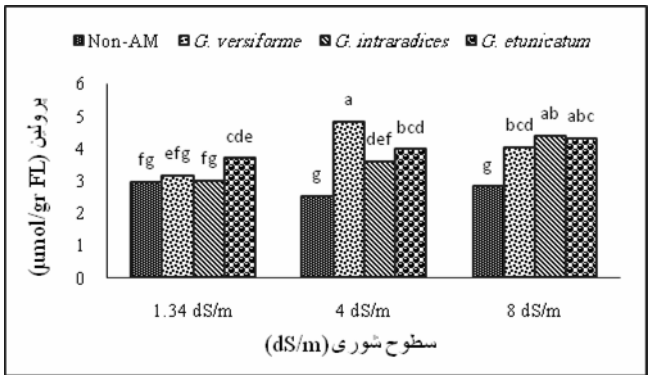
		میانگین مربعات			
منبع تغییر	درجه آزادی	پرولین برگ	منبع تغییر	درجه آزادی	کلونیزاسیون ریشه
سطوح شوری	۲	۲/۰۶**	سطوح شوری	۲	۱۵۲۵/۹۲۷ **
قارچ	۳	۴/۰۱**	قارچ	۳	۷۰۳۲/۸۴۷ **
سطوح شوری × قارچ	۶	۱/۰۹ **	سطوح شوری × قارچ	۶	۴۳۹/۷۱۵ **
خطای آزمایشی	۳۳	۰/۱۱	خطای آزمایشی	۳۴	۴۵/۵۹۱
ضریب تغییرات٪	–	۹/۴۰	ضریب تغییرات٪	–	۲۰/۶۰

ns، *، **- بترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

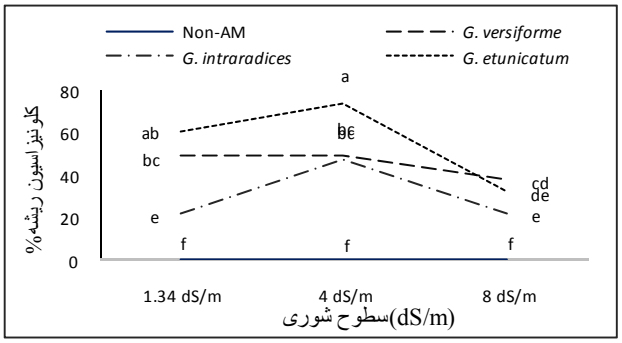
غلظت پرولین برگ: با توجه به جدول ۲، اثرات اصلی شوری، قارچ میکوریز و اثر متقابل شوری و قارچ میکوریز بر غلظت پرولین برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد.

همچنین با افزایش شوری غلظت پرولین برگ در گیاهان میکوریزی افزایش می‌یابد. به‌طوری که در شرایط تنش، گیاهان میکوریزی دارای غلظت پرولین بیشتری نسبت به تیمار شاهد بدون قارچ هستند (شکل ۳). پرولین بعنوان یک ذخیره کننده‌ی انرژی و نیتروژن طی تنش شوری عمل می‌کند (۱۶) و بصورت یک ترکیب غیر سمّی برای حفظ تعادل اسمزی تحت شرایط شوری و پتانسیل آبی کم تجمع می‌یابد (۳۳). بورد و همکاران (۶) در آزمایش مشابه که بر روی سیر (*Allium sativum* L.) انجام دادند افزایش غلظت پرولین را در حضور قارچ میکوریز مشاهده کردند و بیان کردند که این موجب کاهش صدمات حاصل از شوری توسط قارچ میکوریز می‌شود.

درصد کلونیزاسیون ریشه: در گلدان‌های غیر میکوریزی، همزیستی میکوریزی مشاهده نشد. اثر اصلی شوری، قارچ و اثرات متقابل شوری و قارچ میکوریز بر درصد کلونیزاسیون در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول۲). بیشترین و کمترین درصد کلونیزاسیون بترتیب در سطح شوری ۴ dS/m و ۸ dS/m مشاهده شد. با توجه به شکل ۴ دو قارچ Gv و Ge دارای درصد کلونیزاسیون بیشتری نسبت به Gi می‌باشند. همچنین درصد کلونیزاسیون Gi و Ge در شوری ۴ dS/m بصورت معنی‌داری افزایش پیدا می‌کند. اما در مورد Gv این افزایش غیرمعنی‌دار است. در سطح شوری ۸ dS/m درصد کلونیزاسیون هر سه گونه‌ی قارچی بصورت معنی‌داری کاهش می‌یابد. به‌نظر می‌رسد در تنش جزئی درصد کلونیزاسیون برای بقای گیاه افزایش می‌یابد. اگرچه اعتقاد بر این است که رابطه‌ی همزیستی بین گونه‌های قارچی و گیاهان همزیست با آنها غیر اختصاصی است، تعدادی از مطالعات وجود اختلاف مورفولوژی و فیزیولوژی را بین گونه‌ها و حتی ایزوله‌های بومی قارچها را تایید کردند (۴). قارچهای میکوریزی که قادر به بقاء در حضور تنش هستند، ایزوله‌های مقاومی در نظر گرفته می‌شوند که ممکن است نسبت به ایزوله‌های خاک نرمال، با توانایی بیشتری گیاه میزبان را حمایت کنند (۱۱). علی-اصغرزاده و همکاران (۲) مشاهده کردند غالب‌ترین گونه‌های قارچی در خاک‌های بسیار شور دشت تبریز Ge و Gv می‌باشد. شوری علاوه بر گیاه میزبان بر قارچ AM نیز تاثیر می‌گذارد. فاکتور شوری همچنین در توانایی کلونیزه شدن، تندش اسپور و رشد هیف اختلال ایجاد می‌کند. محققان زیادی تاثیر منفی شوری را بر قارچ گزارش کرده‌اند (۲۰). کلونیزه شدن ریشه‌ی گیاهان توسط AMF در حضور NaCl کاهش پیدا می‌کند (۱۵، ۲۱ و ۳۶) که احتمالاً بدلیل تاثیر مستقیم NaCl بر قارچ است (۲۱). به این معنی‌که شوری بر روی عملکرد AMF بازدارنده است (۳۶ و ۳۸).



شکل ۳- اثر متقابل شوری و قارچ میکوریز بر درصد کلونیزاسیون ریشه

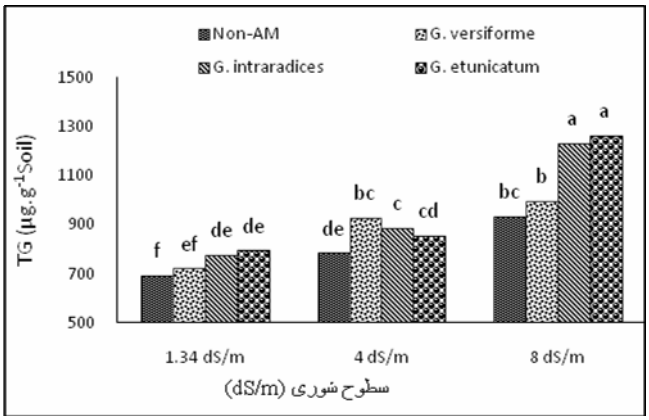


شکل ٤- اثرات متقابل شوری و قارچ میکوریز بر غلظت پرولین برگ

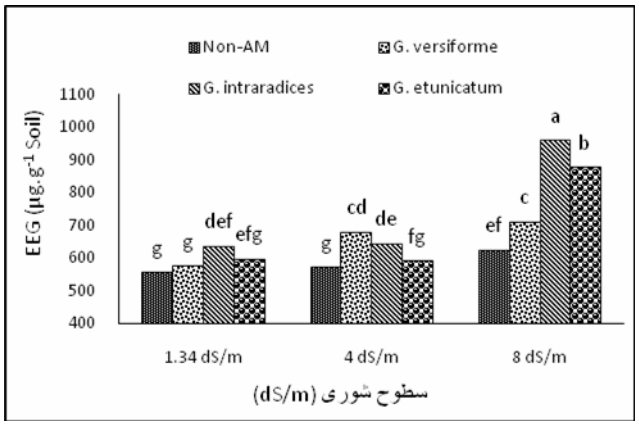
غلظت EEG و TG: جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد اثر شوری، قارچ و اثر متقابل شوری و قارچ بر غلظت گلومالین EEG و TG در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد. با توجه به شکل ۵ و ۶ کمترین غلظت گلومالین TG و EEG مربوط به سطح شوری ۱/۳۴ dS/m و بیشترین آن مربوط به سطح شوری ۸ dS/m می‌باشد. به‌عبارتی با افزایش شوری تولید گلومالین نیز توسط هر سه گونه‌ی قارچی افزایش می‌یابد. نتایج بیان می‌کند که قارچ‌های میکوریزی از نظر توانایی تولید گلومالین متفاوت هستند. بیشترین غلظت گلومالین مربوط به دو قارچ Gi و Ge در سطح شوری ۸ dS/m می‌باشد.

مطالعات نشان می‌دهد گلومالین نظیر پروتئین شوک حرارتی ۶۰ (hsp60) است (۱۳) و رابطه‌ی منفی با طول هیف دارد (۳۱ و ۲۳). بر این اساس پیشنهاد می‌شود که شاید تولید گلومالین پاسخ به تنش باشد و در شرایط شور نیز اثر منفی اسمزی را به حداقل برساند. گلومالین بعنوان یک پروتئین شوک حرارتی می‌تواند تخریب سیتوزولی ناشی از Na را به حداقل برساند. ادیس همر و ریلیگ (۲۰۱۱) در مطالعه‌ی خود (بصورت درون شیشه‌ای) به بررسی تولید گلومالین *G. intraradices* تحت سه تنش مختلف پرداختند و اظهار کردند که واکنش تولید گلومالین در برابر تنش شوری کلریدسدیم و تنش اسمزی گلیسرول متفاوت است و با اینکه تنش شوری شامل تنش اسمزی هم می‌باشد، اضافه کردن گلایسرول به محیط منجر به هیچ پاسخی نمی‌شود. اما در حضور NaCl تولید گلومالین بشدت افزایش یافته بود. بنظر می‌رسد که ممکن است سمّیت مستقیم یون‌ها باعث این افزایش می‌شود. تحت شوری‌های بالا سلول‌ها نیاز دارند تا در برابر یون‌های سدیم که برای برهمکنش‌های سلولی سمی است جذب ترجیحی داشته باشند. AMF هم به کمک این پوشش گلیکوپروتئینی دارای توانایی جذب انتخابی عناصر غذایی می‌باشد (۱۸).

برای بحث و بررسی بیشتر افزایش تولید گلومالین با افزایش تنش شوری، تولید EEG و TG در واحد درصد کلونیزاسیون ریشه (EEG/RC و TG/RC) و درصد تغییر EEG/RC و TG/RC نسبت به سطح شاهد بدون شوری نیز در جدول ۳ مطرح شد. این نسبت‌ها از تقسیم داده‌های خام غلظت گلومالین تولید شده توسط گونه‌های قارچی بر درصد کلونیزاسیون ریشه بدست آمد. جدول ۳ نشان می‌دهد که درصد کلونیزاسیون قارچ Gv در سطح شوری S_1 نسبت به S_0 بصورت معنی‌داری تغییر نیافته است. درصورتی که نسبت EEG/RC و TG/RC نسبت به سطح S_0 بترتیب ۷۸/۳۲ و ۸۲/۵۶ درصد افزایش یافته است. اما این روند در مورد دو قارچ Gi و Ge متفاوت است. در سطح شوری ۴ dS/m دو قارچ Gi و Ge بترتیب ۲۵/۳۵ و ۱۲/۸۵ درصد کلونیزاسیون خود را افزایش داده‌اند و در طی این واکنش، EEG/RC بترتیب ۵۶/۴۷ و ۶۴/۴۶ درصد و TG/RC بترتیب ۵۷/۳۰ و ۴۴/۹۶ درصد نسبت به S_0 کاهش یافته است. اما در سطح شوری S_2 روند برای هر سه قارچ مشابه است. در سطح S_2 سه قارچ Gv، Gi و Ge بترتیب ۱۱/۴۱، ۲۴/۹۱ و ۴۱/۸۱ درصد کلونیزاسیون خود را نسبت به S_0 کاهش داده‌اند. همچنین مقدار EEG در واحد کلونیزاسیون ریشه در هر سه قارچ افزایش یافته است. میزان افزایش این نسبت در سه قارچ Gv، Gi و Ge نسبت به شوری S_0 بترتیب ۸۰/۰۵، ۸۹/۳۷ و ۹۱/۰۳ درصد می‌باشد. این نشان می‌دهد که سطح شوری بالا برای هر سه قارچ بازدارنده است و درصد کلونیزاسیون کاهش یافته است. اما نکته‌ای که به چشم می‌خورد این است که هر سه قارچ با افزایش تولید گلومالین در واحد درصد کلونیزاسیون، غلظت گلومالین را افزایش داده است. به عبارتی زمانی که شوری مانع گسترش قارچ میکوریزی می‌شود، تولید گلومالین به عنوان پروتئین‌های شوک حرارتی افزایش می‌یابد.



شکل ۵- اثر متقابل شوری و قارچ مایکورایز بر غلظت TG



شکل ٦- اثر متقابل شوری و قارچ مایکورایزا بر غلظتEEG

جدول ۳- تغییرات تولید گلومالین در واحد درصد کلونیزاسیون ریشه در تیمارهای شوری و گونه‌های قارچی

گونه‌های قارچی	سطوح شوری	EEG/RC	TG/RC	درصد افزایش TG/RC نسبت به تیمار بدون شوری	درصد افزایش EEG/RC نسبت به تیمار بدون شوری	%RC	TG ($\mu g.g^{-1}soil$)	EEG ($\mu g.g^{-1}soil$)
GV	S_0	۰/۵۰۰	۰/۵۵۶			۴۷/۴۸	۷۲۱/۸	۵۷۶/۳
	S_1	۲/۳۰۹	۳/۱۹۱	۸۲/۵۶	۷۸/۳۲	۴۸/۸۲	۹۲۸/۴	۶۸۰/۴
	S_2	۲/۵۰۹	۱/۸۵۳	۶۹/۹۸	۸۰/۰۵	۳۷/۴۱	۹۹۷/۹	۷۱۰/۸
GI	S_0	۳/۶۹	۵/۳۳۱			۲۱/۷۷	۷۷۷	۶۳۶/۵
	S_1	۱/۶۰۶	۲/۲۷۶	-۵۷/۳۰	-۵۶/۴۷	۴۷/۱۲	۸۷۷/۷	۶۴۳/۴
	S_2	۱۵/۱۱	۱۳/۵۲	۶۰/۵۶	۸۹/۳۷	۲۲/۲۱	۱۲۳۴	۹۵۹/۲
GE	S_0	۰/۷۰۵	۱/۶۹۵			۶۱/۱۹	۷۹۵/۱	۵۹۸/۵
	S_1	۰/۲۵۱	۰/۹۳۲	-۴۴/۹۶	-۶۴/۴۴	۷۴/۰۴	۸۵۳/۴	۵۹۲/۳
	S_2	۷/۸۷۴	۱۰/۳۸	۸۳/۶۷	۹۱/۰۳	۳۲/۲۳	۱۲۵۶	۸۷۷/۳

(برای مثال ۰/۵ =EEG/RC از تقسیم اختلاف غلظت EEG دو تیمار *Gv* و شاهد بدون قارچ در سطح شوری S_0 بر درصد کلونیزاسیون *Gv* در همان سطح شوری بدست آمده است.)

RC: کلونیزاسیون ریشه،

EEG/RC: غلظت EEG تولید شده به ازای یک واحد کلونیزاسیون ریشه،

TG/RC: غلظت TG تولید شده به ازای یک واحد کلونیزاسیون ریشه

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که قارچ میکوریز آربوسکولار در حضور تنش شوری سبب بهبود رشد گیاه ذرت می‌شود و برای حفظ تعادل اسمزی، غلظت پرولین را نیز در گیاه افزایش می‌دهد. همچنین مشاهده شد که قارچ میکوریز خود نیز تحت تاثیر تنش شوری قرار می‌گیرد و در سطوح شوری بالا میزان کلنیزاسیون میکوریزی گیاه کم می‌شود و مقدار تولید گلیکوپروتئین گلومالین، توسط آن افزایش می‌یابد. احتمالاً این افزایش تولید گلومالین بعنوان یک مکانیسم دفاعی برای قارچ باشد. به‌گونه‌ای که این پوشش گلیکوپروتئینی، قارچ را از اثرات منفی سدیم حفظ می‌کند. همچنین توانایی قارچ‌های میکوریزی از نظر تولید گلومالین متفاوت است.

منابع

۱- احمدی قشلاقی س. ۱۳۹۱. اثر سطوح شوری کلرید سدیم بر تولید گلیکوپروتئین گلومالین توسط قارچ‌های گلومرال همزیست با گیاه ذرت (رقم سینگل کراس۷۰۴). پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تبریز.

2- Aliasgharzadeh N., Saleh Rastin N., Towfighi H., and Alizadeh. 2001. Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in saline soils of the Tabriz Plain of Iran in relation to some physical and chemical properties of soil. Mycorrhiza, 11:119–122.

3- Asghari H.A., Amerian M.R., and Gorbni H. 2008. Soil salinity effect arbscular mycorrhizal cololnization of halophytes, Pakistan Journal of Science, 11:1909 – 1915.

4- Bago B., Azcon-Aguilar C.**,** Goulet A., and Piche Y. 1998. Branched absorbing of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi, New Phytologist, 139:382-388.

5- Bheemareddy V.S., and Lakshman H.C. 2011. Effeect of salt and acid stress on *Triticum aestivum*inoculated with *Glomus fasciculatum*, Journal of Agicultural Technology, 7:945-956.

6- Bord M., Dudhane M., and Jite P.K. 2010. AM fungi influences the photosynthetic activity, gowth and antioxidant enzymes in *Allium sativum* L. under salinity condition, Notulae Scientia Biologica, 2:64-71.

7- Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgam quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, Analayse Biochemistry, 72:248-254.

8- Claussen W. 2002. Growth, water use efficiency, and proline content of hydroponically grown tomato plants as affected by nitrogen source nutrient concentration, Plant Soil, 247:199-209.

9- Cornejo P., Meier S., Borie G., Rillig M.C., and Borie F. 2008. Glomalin related soil protein in a Mediterranean ecosystem affected by a copper smelter and its contribution to Cu and Zn sequestration, Science of the Total

Environment, 406:154–160.
10- Daei G., Ardekani M.R, Rejali F., Teimuri S., and Miransari M. 2009. Alleviation of salinity stress on wheat yield, yield components, and nutrient uptake using arbuscular mycorrhizal fungi underfield conditions, Journal of Plant Physiology, 166:617–625.
11- Del Val C., Barea J.M., and azcon-agular C. 1999. Divisity of arbuscular mycorrhizal fungus populations in heavy-metal-contaminated soils, Environmental Microbiology Journal, 65:718-723.
12- Driver J.D., Holben W.E., and Rillig M.C. 2005. Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi, Soil Biology and Biochemistry, 37:101–106.
13- Gadkar V., and Rillig M.C., 2006. The arbuscular mycorrhizal fungal protein glomalin is a putative homolog of heat shock protein 60, FEMS Microbiology Letters, 263:93–101.
14- Giri B., and Mukerji K.G. 2004. Mycorrhizal inoculant alleviates salt stress in Sesbania aegyptiaca and Sesbania gandiflora under field conditions: evidence for reduced sodium and improved magnesium uptake, Mycorrhiza, 14:307–312.
15- Giri B., Kapoor R., and Mukerji K.G. 2007. Improved tolerance of Acacia nilotica to salt stress by arbuscular mycorrhiza, Glomus fasciculatum, may be partly related to elevated K/Na ratios in root and shoot tissues, Microbial Ecology, 54:753–760.
16- Goas G., Goas M., and Larher F. 1982. Accumulation of free proline and glycine betaine in Aster tripolium subjected to a saline shock: a kinetic study related to light period. Physiologia Plantarum, 55:383–388.
17- Hammer E.C., and Rillig M.C. 2011. The Influence of different stresses on glomalin levels in an arbuscular mycorrhizal fungus—salinity Increases glomalin content, Plos One, 6:1-5.
18- Hammer E.C., Nasr H., Pallon J., Olsson P.A., and Wallander H. 2011. Elemental composition of arbuscular mycorrhizal fungi at high salinity, Mycorrhiza, 21:117–129.
19- Irigoyen J.J., Emerich D.W., and Sanchez-Diaz M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants, Plant Physiology, 84:55-60.
20- Jahromi F., Aroca R., Porcel R., and Ruiz-Lozano J.M. 2008. Influence of salinity on the in vitro development of *Glomus intraradices* and on the in vivo physiological and molecular responses of mycorrhizal lettuce plants, Microbial Ecology, 55:45–53.
21- Juniper S., and Abbott L.K. 2006. Soil salinity delays germination and limits gowth of hyphae from propagules of arbuscular mycorrhizal fungi, Mycorrhiza, 16:371–379.
22- Kormanic P.P., and Gaw M.c. 1982. Quantification of VA mycorrhizae in plant roots. P. 37-45. In: Schenck NC (eds). Methods and principles of mycorrhizal research. American Phytopathological Society, Saint Paul Minnesota.
23- Lovelock C.E., Wright S.F., and Nichols K.A. 2004. Using glomalin as an indicator for arbuscular mycorrhizal hyphal gowth: an example from a tropical rain forest soil. Soil Biolology and Biochemistry, 36:1009–1012.
24- Munns R., James R.A., and La¨uchli A. 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals, Journal of Experimental Botany, 57:1025–1043.
25- Munns R., Tester M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance, *Annual Reviews of Plant Biology,* 59: 651–681.
26- Nichols K.A., and Wright S.F. 2004. Contributions of fungi to soil organic matter in agroecosystems. p.179-198. In: Magdoff F,Weil RR (eds) Soil organic matter in sustainable agiculture. CRC, Florida.
27- Pitman M., and Läuchli A. 2004. Global impact of salinity and agricultural ecosystems. P. 3-20. In: Läuchli A, Lüttge U (eds) Salinity: environment–plants–molecules. Springer Verlag, Netherlands.
28- Porras-Soriano A., Soriano-Martin M.L., Porras-Piedra A., and Azco´n R. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi increased gowth, nutrient uptake and tolerance to salinity in olive trees under nursery conditions, Journal of Plant Physiology, 166:1350-1359.
29- Purin S., and Rillig M.C. 2007. The arbuscular mycorrhizal fungal protein glomalin: limitations, progess, and a new hypothesis for its function, Pedobiologia, 51:123–130.
30- Rillig M.C. 2004. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation, Canadian Journal of soil Science, 84:355-363.
31- Rillig M.C., and Steinberg P.D. 2002. Glomalin production by an arbuscular mycorrhizal fungus: a mechanism of habitat modification? Soil Biology and Biochemistry, 34:1371-1374.
32- Rillig M.C., Wright S.F., Nichols K.A., Schmidt W.F., and Torn M.S. 2001. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils, Plant Soil, 233:167-177.
33- Sannazzaro A.I., Echeverria M., Alberto´ E.O., Ruiz O.A., and Mene´ndez A.B. 2007. Modulation of polyamine balance in Lotus glaber by salinity and arbuscular mycorrhiza, Plant Physiology and Biochemistry, 45:39–46.
34- Santos C.L.V., Campos A., Azevedo H., and Caldeira G. 2001. In situ and in vitro senescence induced by KCl stress: nutritional imbalance, lipid peroxidation and antioxidant mechanisms, Journal Experimental Botany, 52:351–360.
35- Schenck N.C., and Perez Y. 1988. Mannual for the Identification of VA Mycorrhizal Fungi, Soil Science Biology, 2:64-71.
36- Sheng M., Tang M., Chan H., Yang B., Zhang F., and Huang Y. 2008. Influence of arbuscular mycorrhizae on

photosynthesis and water status of maize plants under salt stress, Mycorrhiza, 18:287–296.
37- Smith S.E., and Read D.J. 2008. Mycorrhizal Symbiosis, third ed. Academic Press, San Diego, USA.
38- Tian C.Y., Feng G., Li X.L., and Zhang F.S. 2004. Different effects of arbuscular mycorrhizal fungal isolates from saline or non-saline on salinity tolerance of plants, Applied Soil Ecology, 26:143–148.
39- Wright S.F., and Upadhyaya A. 1998. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi, Plant Soil, 198:97–107.
40- Wright S.F., Geen V.S., and Cavigelli M.A. 2007. Glomalin in aggregate size classes from three different farming systems, Soil and Tillage Research, 94:546-549.
41- Yamato M., Ikeda S., and Iwase K. 2008. Community of arbuscular mycorrhizal fungi in coastal vegetation on Okinawa Island and effect of the isolated fungi on growth of sorghum under salt-treated conditions, Mycorrhiza, 18:241–249.

Journal of Water and Soil
Vol. 28, No. 1, Mar.-Apr. 2014, p. 92-100

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۸، شماره ۱، فروردین – اردیبهشت ۱۳۹۳، ص. ۱۰۰-۹۲

Effects of NaCl Salinity Levels on the Glomalin Produced by Glomerales in Symbiosis with Corn Plant

S. Ahmadi Ghashlaghi[1*] – N. Aliasgharzadeh[2] – A.Tavasoli[3]

Received: 15-04-2013
Accepted: 10-02-2014

Abstract

Glomalin is a glycoprotein produced by arbuscular mycorrhizal (AM) fungi, and is a major component of soil organic matter, which plays an important role in soil aggregation and carbon sequestration. Glomalin is produced only by the AM fungi. On the other hand, stressful environments such as salinity can affect the AM fungi .The purpose of this study was to investigate the effect of NaCl salinity on glomalin production by Glomerales in symbiosis with corn plant. A factorial experiment was conducted in completely-randomized design (CRD) with four replications in a greenhouse. Factors were NaCl salinity with three levels (S_0: 1.34, S_1:4 and S_2: 8 dS/m) and mycorrhizal fungi with four levels (non mycorrhizal, *Glomus versiforme*, *G. intraradices*, *G. etunicatum*). The results showed that the interaction of salinity and mycorrhizal fungi on plant dry weight, leaf proline, root colonization percentage, EEG and TG was significant at $p<0.01$. The root and shoot dry weights, leaf proline concentration in mycorrhizal plants were significantly higher than non-mycorrhizal plants. In S_2 level, root colonization percentage decreased significantly compared to the non-saline control. Also, in S_1 and S_2 levels, glomalin production increased significantly by all three fungal species compared to the non-saline control. Therefore, glomalin production per unit of colonization percentage, increased by decreasing colonization percentage and increasing salinity.

Keywords: Glomalin, Arbuscular mycorrhizal fungi, Salinity, Proline, Corn

1,2,3- Former MSc Student, Professor and Assistant Professor, Department of Soil Scince, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Respectively
(* - Corresponding Author Email: samaneh_ahmadi_g@yahoo.com)