

## تأثير طرائق التعقيم المختلفة وتكرارها في بعض المجاميع الميكروبية ونمو نبات فول الصويا Glycine max L. في تربة جبسية

\*أ.د. عبد الكريم عريبي سبع الكرطاني      \*م.م. شيماء عبد محمد علي

\*كلية الزراعة - جامعة تكريت - العراق ([alkurtany@yahoo.com](mailto:alkurtany@yahoo.com))

### الخلاصة

اجريت تجربة في اصص بلاستيكية لدراسة تأثير طرائق التعقيم وتكرارها في المجتمع الميكروبي وعدد من خصائص نمو نبات فول الصويا في تربة جبسية، أظهرت النتائج بأن تأثير طرائق التعقيم وعدد مرات التعقيم كان معنوياً في اعداد البكتريا والفطريات وفي خصائص نمو النبات اذ انخفضت اعداد البكتريا والفطريات قبل الزراعة وبعدها بتأثير التعقيم بالمؤصدة والفورمالين مقارنة بأعدادها في التربة غير المعقمة، وقد حصل انخفاض معنوياً اضافياً في اعداد البكتريا والفطريات بتكرار التعقيم، وانخفضت نسبة إصابة النبات بالميكورايزا بتأثير التعقيم وازداد الانخفاض بتكرار التعقيم كما انخفضت نسبة الإصابة معنوياً بتأثير التعقيم بالفورمالين مقارنة بالمؤصدة، وقد أعطت معاملة التعقيم بالفورمالين لمرتين اقل القيم اذ سجلت هذه المعاملة اعداد بكتريا وفطريات بلغت  $10^5 \times 1$  CFU. غم<sup>-1</sup> تربة جافة مقارنة بالمعاملة غير المعقمة التي أعطت  $10^5 \times 44$  للبكتريا و  $10^5 \times 10$  للفطريات على التعاقب، كذلك أعطت نسبة إصابة مقدارها 20% مقارنة 71.60 و 51.66 و 35 و 31.66 % لمعاملات المقارنة والتعقيم بالمؤصدة مرة والمؤصدة مرتين والفورمالين مرة على التعاقب. كذلك أظهرت النتائج بأن التعقيم بالطريقتين قد ادى الى انخفاض معنوي في نسبة الإنبات وارتفاع النبات والوزن الجاف للمجموع الخضري والمجموع الجذري مقارنة بالمعاملة غير المعقمة، فكان الوزن الجاف للمجموع الخضري لمعاملات المقارنة والتعقيم بالمؤصدة لمرة واحدة والتعقيم بالمؤصدة لمرتين والتعقيم بالفورمالين لمرة والتعقيم بالفورمالين لمرتين 1.85، 1.7، 1.5، 1.4 و 1.2 غم. نبات<sup>-1</sup> على التعاقب. ويظهر بأن قيم صفات النمو لمعاملة التعقيم بالمؤصدة كانت اعلى من قيم معاملة التعقيم بالفورمالين وقد أعطت معاملة التعقيم بالفورمالين لمرتين اقل القيم لنسبة الانبات وارتفاع النبات والوزن الجاف للجزء الخضري والجذري.

### Effect of Sterilization methods and Replication in the Microbial community and the Growth of the Soybean plant Glycine max L. in the Gypsum soil

\*Abedul Kareem Erabi Sabaa Alkurtany

\*Shaimaa abd mohhamed ali

Agriculture College – Tikrit University – Iraq ([alkurtany@yahoo.com](mailto:alkurtany@yahoo.com))

## Abstract

Pots experiment was conducted to study the effect of sterilization methods and re-sterilization on the microbial community and numbers and the growth of soybean plant characteristics. The results indicated that the effect of sterilization methods and replicated were significant on the number of bacteria and fungi, and on growth characteristics of soybean plant. The number of bacteria and fungi were decreased significantly before and after the sowing by the effect of Autoclave and formalin sterilization in compare with non sterilized treatment. The two times of sterilization caused additional significant decreases. The lowest number recorded at replicated formalin treatment. The percentage of mycorrhizal infection was decreased significantly by sterilization. The replicated caused additional decrease. The mycorrhizal infection decreased significantly at formalin sterilization in compare with autoclave. The replicated formalin treatment gave the lowest value. This treatment gave the number of bacteria and fungi which  $1 \times 10^5$  CFU  $gm^{-1}$  dry soil compare with non sterilization treatment which gave  $44 \times 10^5$  for bacteria and  $10 \times 10^5$  for fungi respectively. As well as the mycorrhizal infection percentage of replicated formalin treatment was 20% in compared with 71.60, 51.66, 35 and 31.66% for control, Autoclave for one time, Autoclave replicated and formalin for one time respectively. Also the results showed that sterilization with Autoclave and formalin caused significant decrease in germination percentage, height of soybean plant and the dry weight of shoot and root part in compare with non sterilized treatment. The results indicated that the growth characteristics value of Autoclave treatment was higher than formalin treatment. The formalin replicated treatment gave the lowest value of germination percentage, height plant, shoot and root dry weight.

## المقدمة

تعد التربة بيئة معقدة تحتوي على العديد من أنواع الأحياء المجهرية منها النافع ومنها الضار والممرض (4) لذلك فإن العاملون في مجال التربة يلجؤون إلى تعقيم التربة أما للقضاء على مسببات المرضية أو عند إجراء تجارب لمعرفة تأثير أو عند إجراء تلقيح التربة أو التسميد الحيوي ولمعرفة تأثير العامل المستقل وهو اللقاح أو السماد الحيوي ولهذا الغرض صممت التجربة الحالية لدراسة تأثير طرائق مختلفة من التعقيم وتكرارها على الصفات الحيوية لتربة جيبسية وتأثير هذا على نمو وصفات نبات فول الصويا.

تعرف عملية تعقيم التربة Soil Sterilization بأنها عملية إبادة أو القضاء على ما تحتويه التربة من ديدان ونيماطودا وفطريات وبكتيريا وباقي ممرضات النبات (6). وهناك طرائق مختلفة لتعقيم التربة لتنشيط النشاط الميكروبي في التربة (7 و 8)، أكثر الطرائق شيوعاً تلك التي تتضمن استعمال جهاز المؤصدة Autoclave، أشعة كاما، الأشعة فوق البنفسجية، أشعة المايكرويف، الفورمالين والبخار وغيرها من الطرائق لكن يجب الأخذ بنظر الاعتبار الجهد والكلفة والخطر من سميته للإنسان والتأثير المتبقي. اهتم بعض الباحثين بدراسة تأثير تعقيم التربة فقد درس (7) تأثير تعقيم التربة بالمؤصدة في جاهزية الفسفور والرقم الهيدروجيني لتربة مختلفة النسجة، بينما درس (9) تأثير تعقيم التربة بطرائق مختلفة على المحتوى الميكروبي وبعض الصفات الكيميائية للتربة.

على الرغم من أهمية عملية تعقيم التربة في التجارب العلمية إلا أن الدراسات التي تبين تأثير عملية التعقيم في صفات التربة ومنها الحيوية قليلة أو قد تكون معدومة لذا ارتئنا القيام بهذه الدراسة التي هدفت إلى استخدام طريقتين مختلفتين لتعقيم التربة وهي التعقيم بالفورمالين والتعقيم بجهاز المؤصدة لبيان أفضل الطريقتين من ناحية تأثيرها على النشاط الميكروبي للتربة وتأثيرها على نمو النبات من ناحية أخرى.

### المواد وطرائق العمل

نفذت تجربة اصص وفق التصميم تام التعشبية CRD لدراسة تأثير طرائق وعدد مرات التعقيم في بعض الصفات المايكروبية ونمو نبات فول الصويا واشتملت التجربة على خمس معاملات وهي كالآتي:

T1: تربة غير معقمة.

T2: تربة معقمة بالمؤصدة مرة واحدة.

T3: تربة معقمة بالمؤصدة مرتين.

T4: تربة معقمة بالفورمالين مرة واحدة.

T5: تربة معقمة بالفورمالين مرتين.

كررت كل معاملة ثلاث مرات فأصبح عدد 15 الوحدات التجريبية 15 وحدة.

#### 1- تعقيم التربة

جمعت عينات التربة من العمق 0 - 25 سم من تربة جبسية مزروعة، جففت التربة هوائياً ومررت بمنخل قطر فتحاته 2 ملم ثم وضعت في أكياس بلاستيكية وحفظت في الثلاجة تحت درجة حرارة -4 °م لغرض إجراء الدراسات والتحليلات المختبرية عليها، قسمت التربة إلى خمس مجاميع المجموعة الأولى تركت بدون تعقيم، المجموعة الثانية عقرت بجهاز التعقيم المؤصدة Autoclave على درجة حرارة 121 وضغط 1.5 كغم. سم<sup>2</sup> لمدة 20 دقيقة (10)، المجموعة الثالثة عقرت بجهاز المؤصدة مرتين إذ تركت التربة بعد أن عقرت للمرة الأولى لمدة يومين ثم عقرت مرة أخرى، المجموعة الرابعة عقرت بالفورمالين 2% وذلك برش التربة بمادة الفورمالديهايد إلى حد بلل الطبقة السطحية ثم قلبت التربة وغطيت التربة بالبولي إثيلين الشفاف بأحكام لمدة 48 ساعة، بعد رفع الغطاء تركت التربة للتهوية لمدة يومين، المجموعة الخامسة عقرت بالفورمالين مرتين إذ تركت التربة بعد أن عقرت بالفورمالين لمدة يومين ثم عقرت مرة أخرى.

#### 2- حساب العدد الكلي للبكتريا والفطريات

أ- العدد الكلي للبكتريا: -استعملت طريقة التخافيف والعد بالأطباق باستعمال وسط Nutrient agar

وذلك بحسب الطريقة الموصوفة من قبل (11).

ب- العدد الكلي للفطريات: -استعملت طريقة التخافيف والعد بالأطباق باستعمال وسط Potato

Dextrose Agar (PDA) وذلك بحسب الطريقة الموصوفة من قبل (11).

3- ارتفاع النبات: -قدر باستخدام شريط القياس قبل قلع النبات ابتداء من سطح التربة إلى أعلى النبات، وقيس

ب (سم/ نبات<sup>-1</sup>) بعد 45 يوم من الإنبات.

4- الوزن الجاف للمجموع الخضري (غم. نبات<sup>-1</sup>): شمل الوزن الجاف للمجموع الخضري كلا من الأوراق والسيقان وتم تقديره وذلك بقطع الجزء الخضري مع مستوى سطح التربة وجففت على درجة حرارة 65° م لمدة 48 ساعة.

5- الوزن الجاف للمجموع الجذري (غم. نبات<sup>-1</sup>): -اجري حساب الأوزان الجذرية الجافة للعينات المأخوذة بعد عملية قطع المجموع الخضري للعينات اذ قلع المجموع الجذري لهذه النباتات، وازيلت الأتربة المحيطة بالجذور، ثم غسلت الجذور تحت تيار ماء مستمر بصورة جيدة وجففت على درجة حرارة 65° م لمدة 48 ساعة.

6- تقدير نسبة الجذور المصابة بالميكورايزا (%): -قدرت نسبة إصابة الجذور بالميكورايزا (VAM) بعد 45 يوم من زراعة فول الصويا بعد تصبغ الجذور حسب طريقة (12).

### النتائج والمناقشة

يظهر الجدول (1) تأثير طرائق وعدد مرات التعقيم في اعداد البكتريا والفطريات قبل وبعد الزراعة ويظهر من الجدول حصول انخفاض معنوي في اعداد البكتريا والفطريات قبل الزراعة بسبب التعقيم بطرائقه المختلفة وعدد مرات التعقيم وقد حصل اعلى انخفاض في اعداد البكتريا والفطريات في التعقيم بالمؤصدة مرتين اذ اعطت هذه المعاملة اعداد بكتريا وفطريات بلغت  $10^5 \times 1$  CFU. غم<sup>-1</sup> تربة جافة مقارنة بمعاملة عدم التعقيم التي اعطت  $10^5 \times 44$  للبكتريا و  $10^5 \times 10$  للفطريات على التعاقب، ويظهر من الجدول عدم وجود فروق معنوية في اعداد البكتريا والفطريات بسبب طرائق التعقيم، أما تأثير عدد مرات التعقيم فيتبين من الجدول ظهور انخفاض غير معنوي في اعداد البكتريا والفطريات عند تكرار عملية التعقيم مع حصول انخفاض معنوي عند التعقيم بالمؤصدة لمرتين مقارنة بالتعقيم لمرة واحدة اذ اعطت المعاملة المعقمة بالمؤصدة لمرة واحدة اعداد بكتريا وفطريات بلغت  $10^5 \times 4$  و  $10^5 \times 3$  CFU. غم<sup>-1</sup> تربة جافة على التعاقب في حين كانت  $10^5 \times 1$  للمعاملة المعقمة بالمؤصدة لمرتين.

اما اعداد البكتريا والفطريات بعد الزراعة فيظهر من الجدول حصول انخفاض معنوي في اعداد البكتريا والفطريات في جميع معاملات التعقيم مقارنة بالمعاملة غير المعقمة وقد يعزى هذا الانخفاض الى كفاءة طرائق التعقيم في القضاء على مجاميع احياء التربة وتتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه كل من (9) اللذان توصلا الى ان اعداد المجاميع الميكروبية في التربة تقل بسبب عملية التعقيم وان عملية تعقيم التربة بالمؤصدة اكفاً من الاخرى اذ تراوحت اعداد الوحدات المكونة للمستعمرات (CFU) من  $10^8 \times 1$  في المعاملة المعقمة بالمؤصدة الى  $10^8 \times 207$  في المعاملة غير المعقمة، وسبب تكرار عملية التعقيم انخفاضاً معنوياً اضافياً في اعداد البكتريا والفطريات اذ كانت الاعداد لمعاملات التعقيم بالمؤصدة والفورمالين لمرة واحدة  $10^6 \times 398.33$  و  $10^6 \times 325.66$  و  $10^6$  للبكتريا و  $10^6 \times 42$  و  $10^6 \times 30$  للفطريات على التعاقب مقارنة بالتعقيم لمرتين اذ كانت 345 و 170  $10^6 \times$  للبكتريا و 39 و 13.3 للفطريات لمعاملات التعقيم بالمؤصدة والفورمالين على التعاقب ويعزى هذا الانخفاض الاضافي في اعداد البكتريا والفطريات الى دور عملية تكرار التعقيم في قتل الاطوار الساكنة والابواغ

للبيكتريا والفطريات التي لم تقتل في المرة الأولى وهو ما يعرف بعملية التبدلة، ويظهر من الجدول بأن اعداد البيكتريا والفطريات بعد الزراعة تفوقت معنويا في معاملات التعقيم بالمؤصدة مقارنة بالمعاملات المعقمة بالفورمالين ، وسجلت معاملة التعقيم بالفورمالين لمرتين اقل القيم لأعداد البيكتريا والفطريات وبانخفاض معنوي عن بقية المعاملات وقد يعزى السبب في ذلك إلى التأثير المتبقي للفورمالين بعد الزراعة الذي أدى الى انخفاض أعداد المجتمع المايكروبي .

جدول (1) تأثير طرائق وعدد مرات التعقيم في اعداد البيكتريا والفطريات قبل وبعد الزراعة (CFU. غم تربة جافة)

المعاملات		قبل الزراعة		بعد الزراعة	
اعداد البيكتريا	اعداد الفطريات	اعداد البيكتريا	اعداد الفطريات	اعداد البيكتريا	اعداد الفطريات
(CFU. تربة جافة)	(CFU. تربة جافة)	(CFU. تربة جافة)	(CFU. تربة جافة)	(CFU. تربة جافة)	(CFU. تربة جافة)
(T1) معاملة سيطرة	$10^5 \times 44$	$10^5 \times 10$	$10^6 \times 500$	$10^6 \times 60$	
(T2) مؤصدة مرة واحدة	$10^5 \times 4$	$10^5 \times 3$	$10^6 \times 398.33$	$10^6 \times 42$	
(T3) مؤصدة مرتين	$10^5 \times 1$	$10^5 \times 1$	$10^6 \times 345$	$10^6 \times 39$	
(T4) فورمالين مرة واحدة	$10^5 \times 3$	$10^5 \times 2$	$10^6 \times 325.66$	$10^6 \times 30$	
(T5) فورمالين مرتين	$10^5 \times 2$	$10^5 \times 1$	$10^6 \times 170$	$10^6 \times 13.3$	
L.S.D 0.05	2.9	1.6	46.3	5.2	

ويظهر الجدول (2) تأثير طرائق وعدد مرات التعقيم في نسبة اصابة نبات فول الصويا بالمايكورايزا ويتبين من الجدول بأن تأثير التعقيم وتكراره كان معنويا في خفض نسبة اصابة جذور نبات فول الصويا بالمايكورايزا إذ انخفضت نسبة الاصابة معنويا بتأثير التعقيم وتكراره مقارنة بالمعاملة غير المعقمة وكانت النسبة المئوية لانخفاض الاصابة عن المعاملة غير المعقمة 27.8، 51.1، 55.7 و 72.06 للمعاملات المعقمة بالمؤصدة لمرة واحدة والمعقمة بالمؤصدة لمرتين والمعقمة بالفورمالين لمرة واحدة والمعقمة بالفورمالين لمرتين على التعاقب وتبين بأن اقل قيمة لنسبة الاصابة سجلت عند المعاملة المعقمة بالفورمالين ولمرتتين وهذا يتفق مع ما توصلت اليه (1) التي توصلت الى تفوق نسبة اصابة نباتات الذرة الصفراء بالمايكورايزا في التربة غير المعقمة عنه في التربة المعقمة بعد 30 يوم من الاصابة وقد بلغت نسبة الزيادة المئوية 61.1%.

ان الانخفاض الواضح بنسبة الاصابة بسبب التعقيم يعزى الى كفاءة التعقيم في القضاء على وحدات الإصابة بالمايكورايزا ( سبورات فطريات المايكورايزا ، جذور النباتات المصابة )، اما الانخفاض في نسبة الاصابة بسبب تكرار عملية التعقيم فيمكن ان يعزى الى اهمية تكرار التعقيم في القضاء على وحدة الاصابة التي لم يقضى عليها في المرة الأولى، اما تسجيل اقل قيمة لنسبة الاصابة عند معاملة التعقيم بالفورمالين ولمرتتين فيمكن أن يعزى الى التأثير المتبقي السلبي للفورمالين ولاسيما عند تكرار التعقيم بالفورمالين في صفات النمو ومنها نسبة الإصابة. يظهر الجدول (3) تأثير طرائق وعدد مرات التعقيم في نسبة الإنبات وارتفاع النبات والوزن الجاف للجزء الخضري والجذري بعد 45 يوم من الزراعة ويتبين من الجدول بأن التعقيم بالطريقتين قد أدى إلى انخفاض في نسبة الإنبات وارتفاع النبات والوزن الجاف للجزء الخضري والجذري وكان هذا الانخفاض معنويا ماعدا صفة الوزن الجاف للجزء الجذري إذ كان الانخفاض غير معنوي مقارنة بمعاملة المقارنة، ويتضح من

الجدول بان تكرار عملية التعقيم بالطريقتين قد أدى إلى انخفاض إضافي مقارنة بالتعقيم لمرة واحدة ولجميع الصفات وكان هذا الانخفاض غير معنوي ماعدا في صفة الإنبات كان معنويا وكانت النسب المئوية للانخفاض عن معاملة المقارنة. ويتضح من الجدول بان التعقيم بالفورمالين قد سبب انخفاضا معنويا في صفة نسبة الإنبات وارتفاع النبات والوزن الجاف للجزء الخضري وغير معنوي بالنسبة للوزن الجاف للجزء الخضري مقارنة بمعاملة المقارنة وقد أعطت معاملة التعقيم بالفورمالين ولمرتين اقل القيم.

**جدول (2) تأثير طرائق وعدد مرات التعقيم في نسبة إصابة نبات فول الصويا بفطريات المايكورايزا (%) بعد 45 يوم من الإصابة**

المعاملات	نسبة الإصابة بالمايكورايزا (%)
(T1) معاملة سيطرة	71.60
(T2) مؤصدة مرة واحدة	51.66
(T3) مؤصدة مرتين	35
(T4) فورمالين مرة واحدة	31.66
(T5) فورمالين مرتين	20
L.S.D 0.05	8.7

ان الانخفاض الحاصل في نسبة الانبات قد يعود الى ان عملية التعقيم قضت على اغلب احياء التربة الضارة والنافعة التي تعد جزء مهم من النظام البيئي للتربة والتي تسهم في تحسين تركيب التربة وزيادة خصوبتها مما يساعد في تحسين ثباتية تجمعات التربة وانخفاض كثافتها الظاهرية التي تعمل على زيادة احتفاظ التربة بالرطوبة والذي يساعد في النهاية على تقليل مقاومة التربة للاختراق ويسهل عملية البزوغ (11)، اما الانخفاض الحاصل في ارتفاع النبات والوزن الجاف الخضري والجذري فانه يعود الى تأخر الانبات في التربة المعقمة مما ساعد النباتات النامية في التربة غير المعقمة على التفوق في الارتفاع والاوزان الجافة كما يعود ايضا الى الانخفاض الحاصل في نسبة الإصابة بالمايكورايزا مقارنة بالمعاملة غير المعقمة وهذا يرجع إلى قدرة فطريات المايكورايزا على زيادة نمو النبات عن طريق تحسين حالة امتصاص العناصر الغذائية لاسيما الفسفور، اذ تستطيع شبكة الخيوط الفطرية الخارجية المساهمة في الاستخدام الامثل لمصادر الفسفور وحتى العضوي منه (2).

**جدول (3) تأثير طرائق وعدد مرات التعقيم في نسبة الإنبات (%) وارتفاع النباتات (سم) والوزن الجاف الخضري والجذري (غم. نبات<sup>-1</sup>) بعد 45 يوم من الزراعة**

المعاملات	نسبة الإنبات (%)	ارتفاع النباتات (سم)	الوزن الجاف الخضري (غم. نبات <sup>-1</sup> )	الوزن الجاف الجذري (غم. نبات <sup>-1</sup> )
(T1) معاملة سيطرة	75	19	1.85	0.82
(T2) مؤصدة مرة واحدة	65	18.33	1.7	0.45
(T3) مؤصدة مرتين	50	15.30	1.5	0.36
(T4) فورمالين مرة واحدة	31.66	13.33	1.4	0.31
(T5) فورمالين مرتين	23.3	10	1.2	0.21

0.25

3.9

6.3

L.S.D 0.05

## المصادر

- 1- خضر، صبا حسن علوان. (2007) . تقويم فاعلية التعقيم للتربة وفطري *Glomus mosseae* و *Trichoderma harzianum* وحامض الهيومك على نمو وحاصل الذرة الصفراء *Zea mays* L. رسالة ماجستير. كلية التربية. جامعة ديالى.
- 2- عباس، حافظ إبراهيم. (2002) . تشجيع نمو نباتات الطماطة *Lycopersicon esculentum* بتلقيحها بنوعين من فطريات المايكورايزا . مجلة الزراعة العراقية . 7 (7) : 74 – 82 .
- 3- يلدا، بهجة دنح. (2011). تأثير تعقيم التربة في جاهزية الفسفور والاس الهيدروجيني لترب مختلفة النسجة. مجلة العلوم الزراعية العراقية. 42 (5) : 98 – 104
- 4- David, M.Sylvia; Jeffry, J.Fuhmann; Peter, G. Hartel and David, A. Zuberer. (2005). Principle and Application of Soil Microbiology. Person Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey. 2<sup>nd</sup> ed.
- 5- Hanks, R.J. and Thorp, F.C. (1957). Seedling emergence of Wheat, grain Sorghum and Soybean as influenced by Soil Crust strength and moisture content. Soil Sci. Soc. Am. J., 21: 357- 359.
- 6- Nutter, G.M. (1957) Soil sterilization practices in turf. USGA Journal and Turf management. pp. 25-27.
- 7- Trevors, J.T. (1996) Sterilization and inhibition of microbial activity in soils Shaw, L.J. (1999) Re-inoculation of autoclaved soil as a non-sterile treatment for Xenobiotic sorption and biodegradation studies. Soil Eco. J. 11, 217-220.
- 8- Razavi darbar, S and Lakzain, A. (2007). Evaluation of chemical and biological consequences of soil sterilization methods. Caspian J.Env.Sci. 5(2): 87 – 91.
- 9- Panhwar, Q.A., O.Radziah., M.Sariah and M.Razi Ismail. (2009). Solubilization of Different Phosphorus forms by Phosphate Solubilizing Bacteria Isolated from Aerobic Rice. International Journal of Agriculture and Biology. 11(6):667-673.
- 10- Page, A.I.; Miller R.H. and Keeny D.R. (1982). Method of Soil Analysis No.9 (part2) in the series. Agron. Madison. Wisconsin USA Journal of Micobiol. Methods. 26, 53-59.
- 11- Kormanik, P.P. ; Bryan, W.C. and Schultz , R.C. (1980). Procedures and equipment for staining large numbers of plant root samples for endomycorrhizal assay. Can. Microbiol. 26: 536- 538.