

تأثیر قارچ میکوریز آربسکولار بر غلظت گلومالین و کربوهیدرات‌های خاک در سطوح مختلف شوری

وجیهه درستکار^{۱*}، مجید افیونی^۱، امیرحسین خوشگفتارمنش^۱، محمدرضا مصدقی^۱ و فرهاد رجالی^۲

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۸/۲۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۱)

چکیده

قارچ‌های میکوریز آربسکولار یکی از مهم‌ترین فاکتورهای مؤثر بر کیفیت خاک هستند و از طریق ترشحات خود بر بسیاری از ویژگی‌های خاک تأثیری گذارد. این پژوهش گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار قارچ میکوریز آربسکولار شامل سه گونه‌ی غیربومی (*Funneliformis mosseae*، *Claroideoglobus claroideum* و *Rhizophagus irregularis*)، ترکیبی از سه گونه غیربومی، ترکیبی از سه گونه به صورت بومی و یک تیمار خاک استریل در چهار سطح شوری ۱، ۵، ۱۰ و ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر در حضور گیاه گندم انجام شد. حضور قارچ‌های میکوریز، باعث افزایش غلظت گلومالین آزاد و کل و همچنین غلظت کربوهیدرات قابل عصاره‌گیری با آب داغ و اسید رقیق در مقایسه با تیمار شاهد (فاقد قارچ) در همه سطوح شوری شده است. تأثیر مخلوطی از قارچ‌های بومی بر پارامترهای اندازه‌گیری شده در سطوح شوری ۱۰ و ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر، بیش‌تر از مخلوطی از سه گونه قارچ غیربومی بود. غلظت گلومالین آزاد و کل در همه سطوح شوری در تیمار حاوی مخلوطی از سه گونه غیربومی بیشتر از هر یک از گونه‌های غیربومی مورد مطالعه بوده است. بیشترین تأثیر در افزایش غلظت گلومالین در خاک در سطح شوری ۱، ۵ و ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر مربوط به گونه *F. mosseae* و در سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر مربوط به گونه *C. claroideum* بوده است. براساس نتایج این پژوهش بین گونه‌های مختلف بومی و غیربومی قارچ‌های میکوریز و شوری اثرات متقابلی از نظر تولید گلومالین و اثر بر غلظت کربوهیدرات‌ها در خاک وجود دارد.

کلمات کلیدی: قارچ میکوریز آربسکولار، شوری، گلومالین، کربوهیدرات

۱. گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۲. گروه علوم خاک، مؤسسه تحقیقات خاک و آب کرج

*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: v.dorstkar@ag.iut.ac.ir

مقدمه

قارچ‌های میکوریز آربسکولار یکی از فراوان‌ترین انواع همزیستی در اکوسیستم‌های طبیعی است. این قارچ‌ها قادرند با اغلب گیاهان عالی زراعی و مرتعی در شرایط مختلف اقلیمی و خاکی رابطه همزیستی برقرار نمایند. قارچ‌های میکوریز به‌عنوان یکی از عوامل کیفیت خاک‌ها در زمینه تأثیر بر فیزیولوژی گیاه، روابط متقابل اکولوژیک در خاک و مهندسی خاک شناسایی شده‌اند (۲۷).

نقش مفید تغذیه‌ای این قارچ برای گیاه میزبان به‌کمک جذب عناصر از طریق هیف‌های خارجی به‌خوبی شناخته شده است (۵). حضور این قارچ در کنار گیاه باعث افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های زیستی مانند عوامل بیماری‌زا و تنش‌های محیطی مانند خشکی و شوری می‌شود (۲۹). همچنین قارچ‌های میکوریز از طریق مکانیسم‌های مختلف فیزیکی، بیولوژیکی و بیوشیمیایی بر ویژگی‌های فیزیکی خاک تأثیر دارند (۲۳ و ۲۸). پژوهش‌های گوناگون نشان می‌دهد که ترشحات این قارچ‌ها (گلومالین و کربوهیدرات) بر پایداری ساختمان خاک و آب‌گریزی خاک مؤثر می‌باشد (۹).

گلومالین نوعی گلیکوپروتئین در خاک با ترکیب ناشناخته بوده که در حضور قارچ‌های میکوریز آربسکولار تولید می‌شود (۱۰). گلومالین به‌صورت پوششی روی هیف‌های قارچی قرار گرفته و باعث جلوگیری از هدررفت آب و عناصر قبل از رسیدن به گیاه می‌شود. به‌علاوه این ماده یک پوشش پلیمری محافظ روی سطح خاکدانه‌ها ایجاد نموده و پایداری آن را افزایش می‌دهد (۱۳). از سوی دیگر سمی بودن این ماده باعث شده تا هیف‌های قارچی از تخریب میکروبی در امان بمانند (۲۳). افزایش غلظت گلومالین در خاک در حضور قارچ‌های میکوریز در پژوهش‌های انجام شده توسط وو و همکاران و ریلیگ و همکاران گزارش شده است (۲۸ و ۳۶).

کربوهیدرات‌ها از جمله اجزاء مهم چرخه کربن بوده و حضور آنها در خاک به‌عنوان یک منبع غذایی برای برخی موجودات زنده حائز اهمیت می‌باشد. کربوهیدرات‌ها در خاک

تحت تأثیر حضور قارچ‌های میکوریز آربسکولار از نظر مقدار و ترکیب تغییر می‌نمایند. افزایش مقدار کربوهیدرات‌ها در خاک در حضور برخی از گونه‌های این قارچ در پژوهش هووکر و همکاران (۱۲) مشاهده شده است. همچنین تغییر در نوع کربوهیدرات‌های خاک در پژوهش هووکر و همکاران (۱۲) و مچری و همکاران (۱۸) مورد بررسی قرار گرفته و نتایج نشان دهنده تغییر نسبت انواع کربوهیدرات‌ها در خاک در حضور قارچ‌های میکوریز می‌باشد.

بسیاری از اکوسیستم‌های طبیعی شرایط مناسب برای رشد قارچ‌های میکوریز آربسکولار را فراهم نمی‌نمایند. پاسخ قارچ‌های میکوریز از جمله درصد تشکیل کلنی، تولید گلومالین و تنوع گونه‌ای به شرایط نامناسب محیطی (مانند خشکی، شوری و غلظت دی‌اکسیدکربن) در پژوهش‌های پیشین مورد بررسی قرار گرفته است (۸). ریلیگ و همکاران (۲۵ و ۲۶) نشان دادند که افزایش دما و غلظت دی‌اکسیدکربن باعث افزایش درصد تشکیل کلنی و کاهش میزان گلومالین در خاک می‌شود. اثرات مثبت و منفی شوری بر تولید گلومالین در پژوهش‌های کوهلر و همکاران (۱۳)، کومار و همکاران (۱۴) و همر و ریلیگ (۱۰) بررسی شده است. با این وجود اطلاعات در زمینه تأثیر انواع گونه‌های بومی و غیربومی این قارچ‌ها بر غلظت گلومالین و کربوهیدرات‌ها در خاک‌های شور بسیار محدود می‌باشد. بنابراین این مطالعه با هدف بررسی اثرات متقابل شوری با سه گونه غیربومی قارچ میکوریز و همچنین مخلوطی از سه گونه بومی و غیربومی این قارچ بر غلظت گلومالین و کربوهیدرات‌های خاک انجام شده است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه دانشگاه صنعتی اصفهان به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار قارچ میکوریز آربسکولار و چهار سطح شوری در سه تکرار انجام شد.

جدول ۱. برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

بافت خاک	پ- هاش	هدایت الکتریکی (dS m ⁻¹)	نسبت جذب سدیم	ماده آلی (g kg ⁻¹)	آهک (g kg ⁻¹)	نیتروژن کل (mg kg ⁻¹)	فسفر (mg kg ⁻¹)	پتاسیم (mg kg ⁻¹)
رسی سیلتی	۷/۶	۱۵	۱۹/۲	۶/۵	۳۵۰	۰/۹۹	۱۲/۷	۲۵۳

آماده‌سازی خاک

خاک از عمق صفر تا ۲۰ سانتی‌متری ایستگاه تحقیقات کشاورزی رودشت با موقعیت جغرافیایی ۳۲°۲۹' شمالی و ۱۰°۵۲' شرقی واقع در شرق اصفهان با بارندگی سالانه ۱۰۰ میلی‌متر و تبخیر و تعرق سالانه بیش از ۱۵۰۰ میلی‌متر جمع‌آوری و پس از هواخشک شدن و عبور از الک ۲ میلی‌متری، برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن اندازه‌گیری شد. بافت خاک به روش هیدرومتر تعیین شد (۷). پ- هاش و قابلیت هدایت الکتریکی خاک در عصاره اشباع خاک به وسیله پ- هاش متر مدل ۶۲۰ و هدایت‌سنج مدل ۶۴۴ اندازه‌گیری شد (۲۴). همچنین ماده آلی در خاک به روش سوزاندن تر (۲۰)، آهک خاک با روش خنثی‌سازی با اسیدکلریدریک و تیتراسیون برگشتی با هیدروکسیدسدیم (۲)، فسفر قابل جذب با روش اولسن (۲۲)، پتاسیم قابل جذب به روش عصاره‌گیری با استات آمونیوم (۴) و نیتروژن کل به روش کلدال اندازه‌گیری شد. برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه در جدول ۱ قابل مشاهده است.

برای اعمال تیمارهای شوری از روش آبشویی خاک با هدایت الکتریکی اولیه ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر استفاده شد. برای این منظور در ابتدا یک سری آزمایش‌های آبشویی برای تعیین مقدار و کیفیت آب مورد نیاز برای آبشویی این خاک و رسیدن به تیمارهای هدف انجام شد. در نهایت برای آبشویی خاک از مقادیر مختلف آب حاوی نمک‌های کلرید کلسیم و کلرید سدیم با نسبت ۲ به ۱ استفاده شده و سه سطح شوری ۱۵، ۱۰ و ۵ دسی‌زیمنس بر متر به همراه یک تیمار خاک غیر شور با هدایت الکتریکی ۱ دسی‌زیمنس بر متر در خاک اولیه ایجاد شد. همچنین تیمارهای آبشویی به گونه‌ای بود که

نسبت جذب سدیم در همه تیمارهای شوری در محدوده ۲/۴ تا ۷/۲ بوده و بنابراین تیمارهای مورد مطالعه سدیمی نمی‌باشند. پس از اعمال تیمارهای آبشویی، خاک در دمای محیط خشک و به آرامی خرد شده و از الک ۴ میلی‌متری عبور داده شد (۹).

تیمار قارچ میکوریز آربسکولار و کشت گلخانه‌ای

در این پژوهش شش تیمار قارچ میکوریز آربسکولار مورد مطالعه قرار گرفت. به این منظور چهار تیمار قارچ میکوریز غیربومی شامل گونه‌های *Funneliformis mosseae* و *Rhizophagus irregularis* و *Claroideoglobus claroideum* و یک تیمار حاوی مخلوطی از هر سه گونه غیربومی مورد استفاده قرار گرفت. همچنین یک تیمار حاوی مخلوطی از گونه‌های قارچ بومی خاک و یک تیمار شاهد شامل خاک استریل (فاقد قارچ میکوریز آربسکولار) در نظر گرفته شد. برای اعمال تیمار حاوی مخلوطی از قارچ بومی از خاک غیر استریل مورد مطالعه حاوی اسپورهای بومی قارچ میکوریز آربسکولار استفاده شد.

سه گونه قارچ غیربومی مورد استفاده براساس اسپورهای با بیشترین فراوانی در خاک بومی انتخاب شدند (۱). به منظور اعمال تیمارهای قارچ غیربومی و تیمار شاهد خاک مورد مطالعه سه بار در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۰ دقیقه در سه روز متوالی استریل شدند (۲۶). اینوکولوم‌های غیربومی مورد استفاده از مرکز تحقیقات آب و خاک کرج تهیه شد.

برای کشت گلخانه‌ای گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر از ۵۵۰۰ گرم خاک پر شدند. در تیمارهای

اضافی درصد تشکیل هیف قارچ‌های میکوریز به کمک میکروسکوپ نوری تعیین شد. به این ترتیب که حضور هیف‌ها در ۱۰۰ نقطه مشاهداتی بر روی ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده بررسی شده و در نهایت درصد تشکیل هیف در این ۱۰۰ نقطه محاسبه گردید (۱۷).

اندازه‌گیری گلومالین

غلظت گلومالین آزاد و کل در خاک توسط روش رایت و آپداهایا اندازه‌گیری شد (۳۶). عصاره‌گیری از خاک برای گلومالین آزاد به کمک محلول سیترات ۲۰ میلی‌مولار در پ-هاش برابر ۷ به مدت ۳۰ دقیقه در اتوکلاو و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد انجام شد. عصاره‌گیری از گلومالین کل خاک توسط محلول سیترات ۵۰ میلی‌مولار در پ-هاش برابر ۸ به مدت ۶۰ دقیقه در اتوکلاو و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. عصاره‌گیری از گلومالین کل به این روش سه بار متوالی تا حذف کامل رنگ قرمز متمایل به قهوه‌ای مربوط به گلومالین تکرار شد. غلظت پروتئین در هر دو عصاره تهیه شده توسط روش بردفورد تعیین شد.

اندازه‌گیری کربوهیدرات خاک

برای عصاره‌گیری از کربوهیدرات قابل عصاره‌گیری با آب داغ، ۱۰ میلی‌لیتر آب با دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد به یک گرم خاک (کوچک‌تر از ۲ میلی‌متر) اضافه شد و به مدت ۲/۵ ساعت در حمام آبی حرارت داده شد. برای عصاره‌گیری از کربوهیدرات قابل عصاره‌گیری با اسید رقیق، ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۰/۲۵ مولار به یک گرم خاک (کوچک‌تر از ۲ میلی‌متر) اضافه شد و به مدت ۱۶ ساعت تکان داده شد. سپس سوسپانسیون به دست آمده در هر دو روش به مدت ۳۰ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. غلظت کربوهیدرات در عصاره‌های حاصل توسط روش فنل-اسید سولفوریک به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۹۰ نانومتر و به کمک استاندارد گلوکز اندازه‌گیری شد (۶)

حاوی قارچ غیربومی، در عمق سه سانتی‌متری زیر سطح خاک مخلوطی از اسپوره‌های قارچی به همراه ریشه گیاه سورگوم حاوی هیف‌های قارچی و شن استریل در مرکز گلدان قرار داده شد. مقدار اینوکولوم مورد استفاده در هر تیمار به گونه‌ای بوده است که در مجموع کل تعداد اسپور (۱۰۰۰۰۰ اسپور در هر گلدان) در تیمارهای مختلف با هم برابر باشند. پس از قرار دادن اینوکولوم قارچی، سه سانتی‌متر خاک باقی مانده به سطح گلدان اضافه شد. برای تصحیح تفاوت در جمعیت میکروبی تیمارهای حاوی قارچ غیربومی و تیمارهای حاوی قارچ بومی، به همه گلدان‌ها ۵۰ میلی‌لیتر عصاره خاک اولیه حاوی میکروارگانیزم‌های خاک (با حذف اسپوره‌های قارچی) اضافه شد.

سه بذر گیاه گندم رقم بک کراس روشن در هر گلدان کشت شد. در طول انجام آزمایش رطوبت خاک به میزان ۹۰ درصد ظرفیت مزرعه (FC=۰/۲۴) بدون امکان آبخشوی خاک نگهداری شد. براساس آزمون خاک پتاسیم در ابتدای دوره رشد به میزان ۵۰ کیلوگرم کود سولفات پتاسیم در هکتار و ازت به میزان ۱۰۰ کیلوگرم اوره در هکتار در ابتدای رشد و یک ماه پس از کشت به خاک اضافه شد. در طول انجام آزمایش متوسط دمای روز و شب در گلخانه بین ۲۵ تا ۱۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۳۲ درصد بود. گیاهان دو ماه پس از کشت برداشت شدند. ریشه و اندام هوایی جدا شده و وزن خشک آن پس از خشک شدن به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد تعیین گردید.

درصد تشکیل قارچ میکوریز آربسکولار در ریشه

پس از جداسازی ریشه‌ها از خاک و شستشو، ۱ گرم از ریشه تازه جدا شده و برای تعیین میزان کلنی میکوریزی تشکیل شده به روش میکروسکوپی مورد استفاده قرار گرفت. ریشه‌ها پس از رنگ‌زدایی در محلول هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد، اسیدی شده و به کمک محلول لاکتوگلیسرول حاوی جوهر آبی رنگ‌آمیزی شدند (۳۲). پس از رنگ‌آمیزی و خروج رنگ

جدول ۲. تأثیر شوری و قارچ میکوریز آربسکولار بر وزن خشک ریشه و درصد تشکیل هیف در ریشه

تیمارهای قارچ میکوریز	وزن خشک ریشه (گرم در گلدان)				درصد تشکیل هیف در ریشه			
	شوری (دسی‌زیمنس بر متر)		شوری (دسی‌زیمنس بر متر)		شوری (دسی‌زیمنس بر متر)		شوری (دسی‌زیمنس بر متر)	
	۱۵	۱۰	۵	۱	۱۵	۱۰	۵	۱
<i>F. mosseae</i>	۰/۹۵ ^b	۰/۸۴ ^{cd}	۰/۷۲ ^{fg}	۰/۶۱ ⁱ	۵۲/۳ ^{cd}	۴۲/۰ ^{ef}	۳۱/۶ ^{gh}	۲۱/۰ ^{ij}
<i>R. irregularis</i>	۰/۸۱ ^{de}	۰/۷۵ ^{ef}	۰/۶۲ ⁱ	۰/۶۰ ⁱ	۳۲/۳ ^{fgh}	۴۱/۳ ^{efg}	۳۰/۶ ^{hi}	۱۵/۳ ^j
<i>C. claroideum</i>	۰/۸۵ ^{cd}	۰/۷۰ ^{fgh}	۰/۷۲ ^{fg}	۰/۶۰ ⁱ	۳۳/۳ ^{fgh}	۳۱/۶ ^{gh}	۴۳/۶ ^{de}	۱۶/۳ ^j
مخلوطی از سه گونه غیربومی	۱/۰۳ ^a	۰/۹۱ ^{bc}	۰/۷۶ ^{ef}	۰/۶۶ ^{ghi}	۷۵/۳ ^a	۶۶/۰ ^{ab}	۵۲/۰ ^{cd}	۳۲/۰ ^{gh}
مخلوطی از سه گونه بومی	۰/۹۵ ^b	۰/۸۵ ^{cd}	۰/۸۱ ^{de}	۰/۷۲ ^{fg}	۳۱/۰ ^h	۶۷/۰ ^{ab}	۵۹/۳ ^{bc}	۳۸/۶ ^{efgh}
شاهد (بدون قارچ)	۰/۸۵ ^{cd}	۰/۶۴ ^{hi}	۰/۴۲ ^j	۰/۲۳ ^k	-	-	-	-

و کلر می‌شود (۵، ۸ و ۱۹).

اثر قارچ میکوریز بر وزن خشک ریشه با افزایش شوری افزایش یافت، به گونه‌ای که تیمارهای مختلف قارچ میکوریز به‌طور متوسط سبب افزایش وزن خشک ریشه به‌میزان ۱۶ درصد در خاک غیرشور تا ۱/۵۷ برابر در تیمار شوری ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر شده است (جدول ۲). در بسیاری از مطالعات وجود رابطه مثبت بین کارایی قارچ میکوریز و سطح تنش گزارش شده است (۵، ۱۵ و ۳۱).

اثر مخلوطی از گونه‌های قارچ بومی و غیربومی بر وزن خشک ریشه بیش‌تر از هر یک از گونه‌ها به تنهایی بوده است (جدول ۲). این امر می‌تواند نشان‌دهنده وجود یک رابطه هم‌افزایی بین سه گونه قارچ مورد مطالعه باشد. نتایج مشابه در پژوهش انجام شده توسط مارتین و همکاران نیز نشان می‌دهد که حضور هم‌زمان دو گونه *F. mosseae* و *G. intraradice* باعث رشد بهتر گیاه می‌شود (۱۶).

بیشترین تأثیر قارچ میکوریز بر وزن خشک ریشه در دو سطح شوری ۱ و ۵ دسی‌زیمنس بر متر در تیمار مخلوط سه گونه غیربومی مشاهده شد، در حالی که در دو سطح شوری ۱۰ و ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر، بیشترین تأثیر در تیمار مخلوط گونه‌های بومی احتمالاً به دلیل سازگاری بیش‌تر با شرایط شور منطقه مشاهده شده است (جدول ۲) (۳۱). در بین سه گونه غیربومی، گونه *F. mosseae* دارای بیشترین تأثیر بر وزن خشک

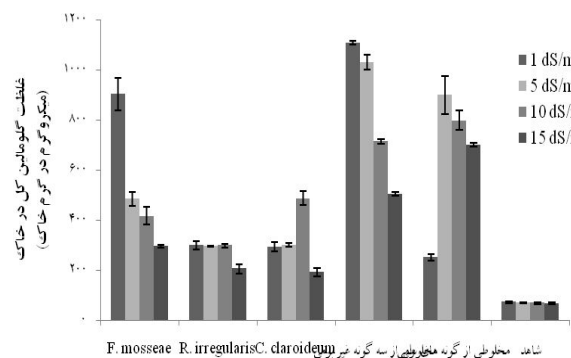
تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه آماری داده‌ها به‌وسیله نرم‌افزار آماری SAS انجام و مقایسه میانگین با آزمون LSD صورت گرفت. همچنین همبستگی بین ویژگی‌های اندازه‌گیری شده به‌وسیله نرم‌افزار آماری SAS تعیین شد (۳۰).

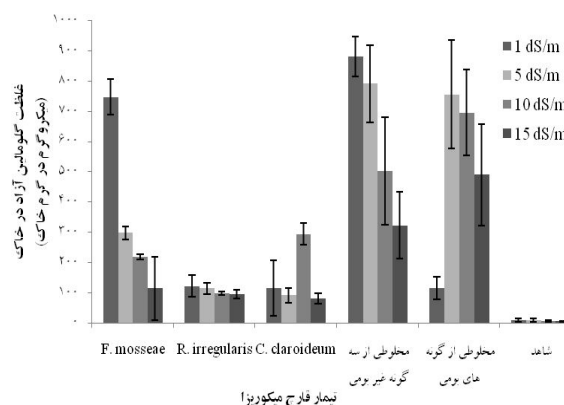
نتایج و بحث

وزن خشک ریشه

تأثیر تیمار شوری و قارچ میکوریز بر وزن خشک ریشه در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). وزن خشک ریشه در همه تیمارهای قارچ میکوریز با افزایش شوری کاهش یافت (جدول ۲). همچنین نتایج نشان‌دهنده اثر مثبت انواع تیمارهای قارچ بر وزن خشک ریشه در مقایسه با تیمار شاهد بدون قارچ در همه سطوح شوری بوده است. با این وجود اثر قارچ در همه سطوح شوری و قارچ *R. irregularis* و *C. claroideum* در خاک غیرشور بر وزن خشک ریشه معنی‌دار نبود (جدول ۲). قارچ‌های میکوریز می‌توانند با ایجاد یک شبکه میسلومی گسترده، باعث افزایش مساحت سطحی ریشه‌ها شده و در نتیجه سطح وسیع‌تری از خاک را برای جذب آب و عناصر غذایی جستجو کنند. همچنین تحقیقات نشان داده است که وجود این قارچ سبب کاهش اثرات شوری بر رشد گیاه از طریق کاهش جذب سدیم



شکل ۲. غلظت گلومالین کل در خاک تحت تأثیر شوری و قارچ میکوریز



شکل ۱. غلظت گلومالین آزاد در خاک تحت تأثیر شوری و قارچ میکوریز

در شرایط این پژوهش باشد (جدول ۲). احتمالاً تفاوت‌های مشاهده شده در توانایی این گونه‌ها در جوانه‌زنی و تشکیل کلنی در ریشه به دلیل ویژگی‌های فیزیولوژیک متفاوت گونه‌های میکوریز در شرایط نامناسب محیطی از جمله شوری می‌باشد (۱، ۳ و ۸). تشکیل کلنی توسط تیمار مخلوطی از سه گونه غیربومی در خاک غیرشور (۱ دسی‌زیمنس بر متر) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از تیمار حاوی گونه‌های بومی بوده است (جدول ۲). به‌نظر می‌رسد گونه‌های بومی مورد استفاده در این آزمایش با شرایط محیطی شور سازگار بوده و کاهش شوری تا سطح ۱ دسی‌زیمنس بر متر تشکیل کلنی در این تیمار را محدود ساخته است (جدول ۲). مطالعات مختلف نشان می‌دهد استفاده از شرایط محیطی مشابه برای گونه‌های قارچ میکوریز بومی خاک‌های شور برای حفظ کارایی این گونه‌ها ضروری می‌باشد (۳۱).

گلومالین آزاد و کل خاک

غلظت گلومالین آزاد و گلومالین کل در خاک به‌ترتیب در محدوده ۵ تا ۸۸۵ و ۶۸ تا ۱۱۰۸ میکروگرم در هر گرم خاک بوده است (شکل ۱ و ۲). تیمارهای تلقیح قارچ میکوریز سبب افزایش غلظت گلومالین آزاد و کل در مقایسه با تیمار شاهد در همه سطوح شوری شده است (شکل ۱ و ۲). همچنین همبستگی مثبت معنی‌دار در سطح یک درصد بین درصد

ریشه در دو سطح شوری ۱ و ۵ دسی‌زیمنس بر متر بود. درحالی‌که دو گونه *R. irregularis* و *C. claroideum* دارای بیشترین تأثیر بر وزن خشک ریشه در شوری ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر بوده‌اند (جدول ۲).

درصد تشکیل هیف در ریشه

نتایج مشاهدات میکروسکوپی نشان می‌دهد که در تیمار شاهد (فاقد قارچ) هیچ گونه هیفی در ریشه‌ها مشاهده نشد. کم‌ترین درصد تشکیل هیف‌های قارچی در همه تیمارهای مورد مطالعه به‌جز در حضور مخلوطی از گونه‌های قارچ میکوریز آریسکولار بومی در تیمار شوری ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد (جدول ۲). به‌نظر می‌رسد اثرات محدودکننده شوری بر جوانه‌زنی اسپورها و رشد و گسترش هیف‌ها احتمالاً باعث کاهش تشکیل هیف‌های قارچی در سطوح زیاد شوری شده است (۱۴). اثرات متقابل معنی‌دار بین شوری و قارچ میکوریز آریسکولار بر درصد تشکیل کلنی نشان دهنده پاسخ متفاوت گونه‌های مختلف به سطوح مختلف شوری می‌باشد.

درصد تشکیل کلنی در ریشه برای گونه *F. mosseae* و ترکیبی از سه گونه غیربومی با افزایش شوری به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. مشاهده بیشترین درصد تشکیل کلنی در تیمار شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر برای گونه *C. claroideum* می‌تواند نشان دهنده تحمل این گونه به سطوح متوسط شوری

همزیستی این قارچ با گیاه و فعالیت آن در برخی از گونه‌ها می‌باشد (۸، ۱۳ و ۱۴). تولید گلومالین آزاد در گونه *C. claroideum* تحت تأثیر شوری قرار نگرفته است. همچنین غلظت گلومالین کل در حضور این گونه تنها در سطح شوری ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است که نشان می‌دهد احتمالاً تنها غلظت‌های زیاد نمک در این آزمایش توانسته تولید این ماده را در حضور این قارچ محدود نماید (شکل ۱ و ۲).

غلظت گلومالین کل در خاک در دو تیمار ۱ و ۵ دسی‌زیمنس بر متر در حضور مخلوطی از سه گونه قارچ غیربومی بیش‌تر از تیمار حاوی گونه‌های بومی بوده، درحالی‌که این روند در دو سطح ۱۰ و ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر معکوس می‌باشد (شکل ۲). به‌نظر می‌رسد که گونه‌های بومی به‌لحاظ ژنتیکی و فیزیولوژیکی با شرایط شور سازگاری یافته‌اند (۸ و ۳۱). در مقابل گونه‌های غیربومی در دو سطح شوری ۱۰ و ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر کم‌ترین درصد تشکیل کلنی در ریشه را داشته که احتمالاً سبب کاهش تولید گلومالین در حضور این تیمارها شده است. احتمالاً انتقال بیش‌تر کربن در شرایط شور به ریشه در حضور قارچ‌های بومی به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های سازگاری در این شرایط سبب تولید بیش‌تر گلومالین به‌عنوان یک گلیکوپروتئین در دو سطح بالای شوری شده است (۱۹ و ۳۵). نتایج این مطالعه تأیید کننده این فرضیه بوده که تولید گلومالین در برخی از گونه‌های قارچ میکوریز نوعی پاسخ در شرایط تنش می‌باشد (۱۰). همر و ریلیگ نشان دادند که تولید گلومالین در هیف‌های قارچ *C. claroideum* با افزایش تنش کلرید سدیم افزایش می‌یابد (۱۰).

غلظت کربوهیدرات خاک

غلظت کربوهیدرات قابل‌عصاره‌گیری با آب داغ و اسید رقیق به‌ترتیب در محدوده ۰/۳ تا ۲ و ۰/۴ تا ۴ میلی‌گرم در هر گرم خاک بوده است (جدول ۴). با افزایش شوری در خاک غلظت

تشکیل هیف‌های قارچی و غلظت گلومالین آزاد ($r = 0/88$) و گلومالین کل ($r = 0/93$) نشان دهنده تأثیر این قارچ در تولید این ماده می‌باشد (جدول ۳). تولید گلومالین به‌دلیل نقش فیزیولوژیک و اکولوژیک این ماده برای قارچ‌های میکوریز آربسکولار بسیار مهم می‌باشد (۱۳).

غلظت گلومالین آزاد و کل در حضور قارچ *F. mosseae* نسبت به دو گونه دیگر در همه سطوح شوری به‌جز سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر بیش‌تر بوده است. در سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر توانایی گونه *C. claroideum* در تولید هر دو نوع گلومالین مورد اندازه‌گیری بیش‌تر بوده است (شکل ۱ و ۲). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که توانایی گونه‌های مختلف قارچ میکوریز در تولید گلومالین در شرایط مختلف شوری یکسان نمی‌باشد که احتمالاً به‌دلیل تفاوت‌های گونه‌ای از نظر سرعت رشد، عادت‌های رشدی، فیزیولوژی، کل طول هیف‌های قارچی و شرایط محیطی مناسب برای رشد این قارچ می‌باشد (۱۱، ۳۴ و ۲۱).

غلظت گلومالین در تیمار مخلوطی از سه گونه غیربومی بیش‌تر از هر یک از گونه‌ها به‌تنهایی بوده است که نشان دهنده یک رابطه هم‌افزایی احتمالی بین گونه‌های مختلف است (شکل ۱ و ۲). خاک یک سیستم غیریکنواخت بوده و هیچ یک از گونه‌ها به‌تنهایی تعیین کننده شرایط آن نمی‌باشد. در واقع این ترکیب گونه‌ها در خاک بوده که غلظت گلومالین خاک را مشخص می‌نماید (۲۷ و ۳۳). پژوهش‌ها نشان می‌دهد که تلقیح گیاه با تعداد بیش‌تری از گونه‌های مختلف این قارچ اثرهای مثبت بیش‌تری در تولید زیست توده گیاه و افزایش کارایی این قارچ در اکوسیستم دارد (۳ و ۱۵). در واقع تعیین ترکیبی از این گونه‌ها که کارایی بیش‌تری در شرایط مختلف محیطی دارند برای استفاده از این قارچ‌ها ضروری می‌باشد.

غلظت گلومالین آزاد و کل با افزایش شوری در حضور ترکیبی از سه گونه غیربومی و گونه *F. mosseae* کاهش یافته است که احتمالاً به‌دلیل اثرات نامطلوب شوری بر تشکیل

جدول ۳. ضرایب همبستگی پارامترهای مورد مطالعه

کربوهیدرات قابل عصاره‌گیری با آب داغ	گلو مالین کل	گلو مالین آزاد	درصد تشکیل کلنی	
			۰/۸۸**	گلو مالین آزاد
		۰/۹۸**	۰/۹۳**	گلو مالین کل
	۰/۸۱**	۰/۸۰**	۰/۸۳**	کربوهیدرات قابل عصاره‌گیری با آب داغ
	۰/۸۱**	۰/۷۹**	۰/۸۰**	کربوهیدرات قابل عصاره‌گیری با اسید رقیق

** در سطح یک درصد معنی‌دار

جدول ۴. تأثیر شوری و قارچ میکوریز آربسکولار بر غلظت کربوهیدرات قابل عصاره‌گیری با آب داغ و اسید رقیق.

کربوهیدرات قابل عصاره‌گیری با اسید رقیق (میلی گرم در گرم خاک) شوری (دسی‌زیمنس بر متر)				کربوهیدرات قابل عصاره‌گیری با آب داغ (میلی گرم در گرم خاک) شوری (دسی‌زیمنس بر متر)				تیمارهای قارچ میکوریز
۱۵	۱۰	۵	۱	۱۵	۱۰	۵	۱	
۱/۰۰ ⁱ	۱/۷۸ ^{ef}	۲/۵۲ ^d	۳/۶۸ ^b	۰/۵۹ ^e	۰/۹۹ ^d	۱/۴۷ ^c	۱/۷۵ ^b	<i>F. mosseae</i>
۱/۰۵ ^{hi}	۰/۹۸ ⁱ	۱/۴۹ ^{fg}	۱/۴۰ ^{gh}	۰/۵۹ ^e	۰/۶۰ ^e	۰/۹۸ ^d	۰/۹۹ ^d	<i>R. irregularis</i>
۱/۰۸ ^{hi}	۱/۷۵ ^{efg}	۱/۴۹ ^{fg}	۱/۵۷ ^{fg}	۰/۶۱ ^e	۱/۰۰ ^d	۰/۶۰ ^e	۰/۵۹ ^e	<i>C. clarioideum</i>
۱/۰۷ ^{hi}	۱/۷۶ ^{efg}	۳/۱۶ ^c	۴/۰۶ ^a	۰/۵۸ ^e	۰/۹۸ ^d	۱/۷۶ ^b	۲/۰۰ ^a	مخلوطی از سه گونه غیربومی
۱/۵۰ ^{fg}	۲/۰۱ ^e	۱/۹۸ ^e	۲/۴۴ ^d	۱/۰۱ ^d	۱/۵۳ ^c	۱/۴۶ ^c	۱/۷۴ ^b	مخلوطی از سه گونه بومی
۰/۴۱ ^j	۰/۶۰ ^j	۰/۹۷ ⁱ	۰/۹۸ ⁱ	۰/۳۱ ^g	۰/۳۹ ^f	۰/۳۹ ^f	۰/۵۹ ^e	شاهد (بدون قارچ)

نشان‌دهنده تأثیر مثبت این قارچ در افزایش غلظت کربوهیدرات در خاک می‌باشد (جدول ۳). وجود این همبستگی مثبت بین درصد تشکیل هیف و غلظت کربوهیدرات‌ها در خاک در مطالعات وو و همکاران نیز گزارش شده است (۳۶). قارچ‌های میکوریز با تغییر در ترشحات ریشه می‌توانند غلظت کربوهیدرات‌ها و ترکیب آن در خاک را تحت تأثیر قرار دهند. این قارچ‌ها قادرند تا با تغییر نفوذپذیری غشاء سلولی باعث افزایش ترشح کربوهیدرات‌ها به داخل رایزوسفر گیاه شوند (۱۸). همچنین هیف‌های قارچی به‌طور مستقیم نیز بر غلظت کربوهیدرات‌ها در خاک مؤثر می‌باشند. به‌گونه‌ای که کربوهیدرات‌ها به‌طور مستقیم از طریق هیف‌های قارچی به

هر دو نوع کربوهیدرات در همه تیمارهای قارچی به‌جز در تیمار *C. clarioideum* کاهش یافت (جدول ۴). بیشترین غلظت هر دو نوع کربوهیدرات در حضور این قارچ در تیمار شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد که احتمالاً به دلیل افزایش درصد تشکیل هیف‌های این گونه در این سطح شوری بوده است (جدول ۴).

حضور قارچ میکوریز آربسکولار سبب افزایش غلظت کربوهیدرات قابل عصاره‌گیری با آب داغ و اسید رقیق در خاک شد (جدول ۴). همبستگی مثبت معنی‌دار در سطح یک درصد بین درصد تشکیل هیف در ریشه و کربوهیدرات قابل عصاره‌گیری با آب (r = ۰/۸۳) و اسید رقیق (r = ۰/۸۰)

کربوهیدرات‌ها بوده است (۱۲). از سوی دیگر زمان زندمانی و بازگشت هیف‌ها به خاک در گونه‌های مختلف بین ۳ تا ۵ روز بوده که می‌تواند دلیلی بر تفاوت‌های بین گونه‌ای باشد (۱۲).

نتیجه‌گیری

تیمارهای مختلف قارچ میکوریز سبب افزایش غلظت گلومالین آزاد و کل و غلظت کربوهیدرات‌های قابل عصاره‌گیری با آب داغ و اسید رقیق در همه سطوح شوری نسبت به تیمار شاهد بدون قارچ شد. با این وجود اثر تیمارهای مختلف قارچی در سطوح مختلف شوری یکسان نبوده است. غلظت فاکتورهای مورد مطالعه در سطوح شوری ۱ و ۵ دسی‌زیمنس بر متر در حضور مخلوطی از گونه‌های غیربومی بیش‌تر از گونه‌های بومی بوده، درحالی که در سطوح شوری ۱۰ و ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر تأثیر مخلوطی از گونه‌های قارچ میکوریزی بومی بیش‌تر بوده است. قارچ *C. claroideum* دارای بیشترین درصد تشکیل کلنی و بیشترین تأثیر در افزایش غلظت گلومالین خاک در مقایسه با دو گونه دیگر در سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر بوده است. توانایی قارچ *F. mosseae* در افزایش غلظت کربوهیدرات‌ها و گلومالین در خاک در سطوح شوری ۱ و ۵ دسی‌زیمنس بر متر بیش از دو گونه دیگر بوده است. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که انتخاب ترکیب مناسبی از گونه‌های قارچ میکوریز در سطوح مختلف شوری به‌منظور استفاده از این قارچ‌ها برای افزایش کیفیت خاک ضروری می‌باشد.

درون خاک ترشح شده و یا پس از مرگ هیف‌ها و تجزیه آنها در خاک آزاد می‌شوند (۱۲).

از سوی دیگر بین غلظت گلومالین آزاد و گلومالین کل با غلظت کربوهیدرات‌های قابل عصاره‌گیری با آب داغ و اسید رقیق همبستگی مثبت معنی‌داری در سطح یک درصد مشاهده شد (جدول ۳). پژوهش‌ها نشان داده است که ۵ درصد از کربن خاک ناشی از تجزیه هیف‌ها در خاک و آزادسازی گلومالین در خاک می‌باشد. بنابراین افزایش غلظت گلومالین در حضور قارچ‌های میکوریز می‌تواند دلیلی بر تأثیر مثبت این قارچ‌ها بر غلظت کربوهیدرات‌ها در خاک باشد (۳۶).

غلظت کربوهیدرات‌های قابل عصاره‌گیری با آب داغ و اسید رقیق در سطح شوری ۱ و ۵ دسی‌زیمنس بر متر در حضور مخلوطی از سه گونه قارچ میکوریزی غیربومی بیش‌تر از تیمار حاوی اسپورهای قارچ میکوریزی بومی خاک بوده است. درحالی که در دو سطح شوری ۱۰ و ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر غلظت کربوهیدرات‌ها در تیمار حاوی قارچ‌های بومی بیش‌تر بوده است (جدول ۴). غلظت هر دو نوع کربوهیدرات در حضور گونه *F. mosseae* به‌طور معنی‌داری بیش از دو گونه دیگر در دو سطح شوری ۱ و ۵ دسی‌زیمنس بر متر بوده است (جدول ۳). هیف‌های قارچ میکوریز آربسکولار قادرند همزمان با آزادسازی کربوهیدرات‌ها در ریزوسفر گیاه، مقداری قند نیز از خاک جذب نمایند. بنابراین غلظت کربوهیدرات‌ها در خاک برآیندی از مقدار کربوهیدرات جذب و آزاد شده از هیف‌ها می‌باشد. در نتیجه بخشی از تفاوت‌های بین گونه‌ای احتمالاً ناشی از توانایی متفاوت قارچ‌ها در مقدار جذب و آزادسازی

منابع مورد استفاده

۱. درستکار، و.، م. افیونی، ا. ح. خوشگفتارمنش، م. ر. مصدقی و ف. رجالی. ۱۳۹۲. بررسی تنوع گونه‌ای قارچ آربوسکولار میکوریز در ریشه گندم و ماش در سطوح مختلف شوری خاک با روش qPCR. سیزدهمین کنگره علوم خاک. اهواز. ۸ تا ۱۰ بهمن ۱۳۹۲.
2. Black, C. A., D. D. Evans, J. L. White, L. E. Ensminger and F. E. Clark. 1965. Methods of soil analysis. Part 2. American Society of Agronomy, Madison, WI. 3. Caravaca, F., M. M. Alguacila, J. M. Bareab and A. Rolda n. 2005. Survival of inocula and native AM fungi species associated with shrubs in a degraded mediterranean ecosystem. Soil Biol. Biochem. 37: 227-233.

4. Chapman, H. D. and P. F. Pratt. 1961. Methods of analysis for soils, plants and waters. University of California, Riverside. CA.
5. Daei, G., M. Ardekani, F. Rejali, S. Teimuri and M. Miransari. 2009. Alleviation of salinity stress on wheat yield, yield components, and nutrient uptake using arbuscular mycorrhizal fungi under field conditions. *J. Plant Physiol.* 166: 617-625.
6. Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method of determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350-356.
7. Gee, G. W. and J. W. Bauder. 1986. Particle-size analysis. PP. 383-409. *In: Klute, A. (Ed.), Methods of Soil Analysis. Part 1. American Society of Agronomy, Madison, WI.*
8. Hajiboland, R. 2013. Role of Arbuscular Mycorrhiza in Amelioration of Salinity. *In: Ahmad, P. et al. (Ed.), Salt stress in plants: Signalling, omics and adaptations. Springer Science and Business Media. New York.*
9. Hallett, P. D., D. S. Feeney, A. G. Bengough, M. C. Rillig, C. M. Scrimgeour and I. M. Young. 2009. Disentangling the impact of AM fungi versus roots on soil structure and water transport. *Plant Soil* 314: 183-196.
10. Hammer, E. C. and M. C. Rillig. 2011. The influence of different stresses on glomalin levels in an arbuscular mycorrhizal fungus-salinity increases glomalin content. *Plos One* 6: 1-5.
11. Hart, M. M. and R. J. Reader. 2002. Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 153: 335-344.
12. Hooker, J. E., P. Piatti, M. V. Cheshire and C. A. Watson. 2007. Polysaccharides and monosaccharides in the hyphosphere of the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus* E3 and *Glomus tenue*. *Soil Biol. Biochem.* 39: 680-683.
13. Kohler, J., F. Caravaca and A. Roldan. 2009. Effect of drought on the stability of rhizosphere soil aggregates of *Lactuca sativa* grown in a degraded soil inoculated with PGPR and AM fungi. *Appl. Soil Ecol.* 42: 160-165.
14. Kumar, A., S. Sharma and S. Mishra. 2010. Influence of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi and salinity on seedling growth, solute accumulation, and mycorrhizal dependency of *Jatropha curcas* L. *J. Plant Growth Regul.* 29: 297-306.
15. Mardukhi, B., F. Rejali, G. Daei, M. R. Ardakani, M. J. Malakouti and M. Miransari. 2011. Arbuscular mycorrhizas enhance nutrient uptake in different wheat genotypes at high salinity levels under field and greenhouse conditions. *C. R. Biologies* 334: 564-571.
16. Martin, S. L., S. J. Mooney, M. J. Dickinson and H. M. West. 2012. The effect of simultaneous root colonisation by three *Glomus* species on soil pore characteristics. *Soil Biol. Biochem.* 49: 167-173.
17. McGonigle, T. P., D. G. Evans, G. L. Fairchild and J. A. Swan. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 115: 495-501.
18. Mechri, B., A. G. B. Manga, M. Tekaya, F. Attia, H. Cheheb, F. B. Meriem, M. Braham, D. Boujnah and M. Hammami. 2014. Changes in microbial communities and carbohydrate profiles induced by the mycorrhizal fungus (*Glomus intraradices*) in rhizosphere of olive trees (*Olea europaea* L.). *Appl. Soil Ecol.* 75: 124-133.
19. Miransari, M., H. A. Bahrami, F. Rejali and M. J. Malakouti. 2008. Using arbuscular mycorrhiza to reduce the stressful effects of soil compaction on wheat (*Triticum aestivum* L.) growth. *Soil Biol. Biochem.* 40: 1197-1206.
20. Nelson, D. W. and L. E. Sommers. 1982. Total carbon, organic carbon, and organic matter. PP. 2816-2824 *In: Methods of soil analysis. Part 2. American Society of Agronomy, Madison, WI.* 21. Oehl, F., E. Sieverding, K. Ineichen, P. Mader, T. Boller and A. Wiemken. 2003. Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of Central Europe. *Appl. Environ. Microb.*
22. Olsen, S. R. and L. E. Sommers. 1982. Phosphorus. PP. 403-429. *In: Page, A. L. et al. (Ed.), Methods of Soil Analysis. Part 2, Madison, WI, Agron. ASA, SSSA.*
23. Purin, S. and M. C. Rillig. 2007. The arbuscular mycorrhizal fungal protein glomalin: Limitations, progress, and a new hypothesis for its function. *Pedobiologia* 51: 123-130.
24. Rhoades, J. D. 1996. Salinity: Electrical conductivity and total dissolved solids. PP. 417-435. *In: Page, A. L. et al. (Ed.), Methods of Soil Analysis. Part 2. American Society of Agronomy, Madison, WI.*
25. Rillig, M. C., S. F. Wright, B. A. Kimball, P. J. Pinter, G. W. Wall, M. J. Ottman and S. W. Leavitt. 2001. Elevated carbon dioxide and irrigation effects on water stable aggregates in a sorghum field: A possible role for arbuscular mycorrhizal fungi. *Glob. Change Biol.* 7: 333-337.
26. Rillig, M. C., S. F. Wright, M. R. Shaw and C. B. Field. 2002. Artificial climate warming positively affects arbuscular mycorrhizae but decreases soil aggregate water stability in an annual grassland. *Oikos* 97: 52-58.
27. Rillig, M. C. 2004. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. *Can. J. Soil Sci.* 84: 355-363.
28. Rillig, M. C., N. F. Mardatin, E. F. Leifheit and P. M. Antunes. 2010. Mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi increases soil water repellency and is sufficient to maintain water-stable soil aggregates. *Soil Biol. Biochem.* 42: 1189-1191.

29. Ruiz-Lozano, J. M., R. Porcel and R. Aroca. 2008. PP. 185-205. Evaluation of the possible participation of drought-induced genes in the enhanced tolerance of arbuscular mycorrhizal plants to water deficit. *Mycorrhiza*. Springer-Verlag, Berlin.
30. SAS Institute. 2000. SAS/STAT user's guide, release 8. SAS Institute, Cary, NC.
31. Tian, C. Y., G. Feng, X. L. Li and F. S. Zhang. 2004. Different effects of arbuscular mycorrhizal fungal isolates from saline or non-saline soil on salinity tolerance of plants. *Appl. Soil Ecol.* 26:143-148.
32. Vieheilig, H., A. P. Coughlan, U. Wyss and Y. Piche. 1998. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscularmycorrhizal fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 5004-5007.
33. Wehner, J., P. M. Antunes, J. R. Powell, J. Mazukatow and M. C. Rillig. 2010. Plant pathogen protection by arbuscular mycorrhizas: a role for fungal diversity? *Pedobiologia* 53: 197-201.
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: 575-586.
35. Wright, S. F. and A. Upadhyaya. 1998. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil.* 198: 97-107.
36. Wu, Q. S., X. H. He, Y. N. Zou, K. P. He, Y. H. Sun and M. Q. Cao. 2012. Spatial distribution of glomalin-related soil protein and its relationships with root mycorrhization, soil aggregates, carbohydrates, activity of protease and -glucosidase in the rhizosphere of *Citrus unshiu*. *Soil Biol. biochem.* 41: 181-183.