

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

ZAKLJUČNA NALOGA
VPLIV POVEČANE KONCENTRACIJE CO₂ NA
KOLONIZACIJO KORENIN RASTLIN Z
ARBUSKULARNIMI MIKORIZNIMI GLIVAMI

PETER ATANACKOV

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

Zaključna naloga

**Vpliv povečane koncentracije CO₂ na kolonizacijo korenin rastlin z
arbuskularnimi mikoriznimi glivami**

(The effect of elevated concentrations of CO₂ on the colonisation of plant roots by
arbuscular mycorrhizal fungi)

Ime in priimek: Peter Atanackov
Študijski program: Biodiverziteta
Mentorica: doc. dr. Irena Maček

Koper, september 2015

Ključna dokumentacijska informacija

Ime in PRIIMEK: Peter ATANACKOV

Naslov zaključne naloge: Vpliv povečane koncentracije CO₂ na kolonizacijo korenin rastlin z arbuskularnimi mikoriznimi glivami.

Kraj: Koper

Leto: 2015

Število listov: 44

Število slik: 6

Število tabel: 1

Število prilog: 2

Št. strani prilog: 3

Število referenc: 75

Mentorica: doc. dr. Irena Maček

Ključne besede: arbuskularna mikoriza, arbuskularne mikorizne (AM) glive, povečana koncentracija CO₂, Free Air Carbon dioxide Enrichment (FACE), mikorizna kolonizacija korenin, metaanaliza.

Izvleček: Za zaključno delo sem opravil metaanalizo 29 študij, v katerih so preučevali odziv kolonizacije korenin rastlin z arbuskularnimi mikoriznimi (AM) glivami (AM kolonizacije) na povečano atmosfersko koncentracijo CO₂. Poleg tega sem izvedel oceno AM kolonizacije pri rastlinah, ki so rastle v poskusu FACE (Free Air Carbon dioxide Enrichment) v Giessnu (Nemčija), kjer naravno vegetacijo (travišče) zaplinjujejo s CO₂ (480 ppm). Pri vzorcih iz poskusa FACE je bila prisotna velika stopnja AM kolonizacije, statistično značilnega povečanja kolonizacije korenin rastlin, ki so rastle v zaplinjenih območjih, pa nismo izmerili. Primerjava z drugimi poskusi FACE je razkrila, da so možni vzroki za neodzivnost nizka koncentracija CO₂ v testnih razmerah tega poskusa, odvzem vzorcev zgodaj v rastni sezoni, ter pojav, ki ga je razkrila meta-regresijska analiza; odziv AM kolonizacije v okolju s povečano koncentracijo CO₂ je manj izrazit pri študijah, ki se izvajajo na poskusih FACE, kot pri študijah, kjer so bile uporabljene zaprte rastne komore. Poleg tega sem s postopkom metaanalize potrdil predpostavko, da se s povečano koncentracijo CO₂ (v območju med 540 in 740 ppm) poveča odstotek AM kolonizacije. Poleg te osnove predpostavke sem s pomočjo meta-regresijskih analiz pokazal, da dodajanje gnojila v obliki dušika ali gnojil NPK zelo negativno vpliva na AM kolonizacijo korenin v razmerah s povečano koncentracijo CO₂, da so trave funkcionalni tip rastlin, pri kateri se AM kolonizacija korenin najbolj poveča v okolju s povečano koncentracijo CO₂, ter pokazal, da je odziv AM kolonizacije na povečanje koncentracije CO₂ najbolj izrazit pri poskusih, ki trajajo približno 4 do 8 mesecev.

Key words documentation

Name and SURNAME: Peter ATANACKOV

Title of the final project paper: The effect of elevated concentrations of CO₂ on the colonisation of plant roots by arbuscular mycorrhizal fungi.

Place: Koper

Year: 2015

Number of pages: 44

Number of figures: 6

Number of tables: 1

Number of appendix: 2

Number of appendix pages: 3

Number of references: 75

Mentor: Assist. Prof. Irena Maček, PhD

Keywords: arbuscular mycorrhiza, arbuscular mycorrhizal fungi, elevated CO₂ concentration, Free Air Carbon dioxide Enrichment (FACE), mycorrhizal root colonisation, meta-analysis

Abstract: For my thesis I conducted a meta-analysis of 29 studies on the topic of impact of elevated atmospheric CO₂ on the colonisation of host plant roots with arbuscular mycorrhizal (AM) fungi. In addition, I also conducted my own measurements of AM fungal colonization in roots of plants that were sampled from the FACE (Free Air Carbon dioxide Enrichment) facility in Giessen, Germany, where local grassland vegetation is exposed to elevated CO₂ (480 ppm). All samples showed a general high amount of colonisation with AM fungi, but no difference was found between samples that grew in CO₂ enriched and control areas, respectively. A comparison with other studies carried out on samples from FACE facilities and an analysis of the results from the meta-regression showed that the potential reasons were a comparably low concentrations of CO₂ in the test areas of the GiFACE facility, sampling early in the growing season and a newly discovered trait of FACE facilities; the response of AM fungi colonisation to elevated CO₂ is usually lower in roots of plants that grew in FACE facilities than in plants that grew in environmental controlled chambers. With the results from the meta-analysis I confirmed the hypothesis that elevated CO₂ (concentrations between 540 and 740 ppm) causes a rise in colonisation of plant roots with AM fungi. Besides this, the results of the meta-regression analysis also indicated that fertilizer addition in the form of nitrogen or commercially prepared full fertilizer negatively effects the colonisation of plant roots with AM fungi in conditions with elevated CO₂ and showed that plant root colonisation with AM fungi is most prominent in studies that last approximately 4 to 8 months.

ZAHVALA

Zahvaljujem se doc. dr. Ireni Maček za vso ponujeno pomoč, za vse nasvete ter napotke. Še posebej se ji zahvaljujem za vse neformalne pogovore. Hvala.

Zahvaljujem se dr. Nataši Šibanc za vso pomoč pri laboratorijskem delu, mikroskopiranju in statistični obdelavi rezultatov vzorcev iz poskusa FACE. Hvala.

Poleg njiju se zahvaljujem še izr. prof. dr. Eleni Bužan za vso izkazano pomoč in podporo v zaključnih fazah študija. Hvala.

KAZALO VSEBINE

1	UVOD.....	1
1.1	Predstavitev obravnavane skupine organizmov.....	1
1.2	Predstavitev raziskovalnega dela.....	2
1.3	Predstavitev sistema FACE.....	3
1.4	Namen zaključne naloge.....	4
1.4.1	Cilji in hipoteze.....	4
2	METODE DELA.....	5
2.1	Pregled literature.....	5
2.2	Lokacija poskusa.....	5
2.3	Vzorčenje.....	6
2.4	Priprava vzorcev in ocena stopnje AM kolonizacije.....	6
2.4.1	Presvetljevanje in barvanje korenin.....	6
2.4.2	Ocenjevanje stopnje AM kolonizacije z arbuskularnimi mikoriznimi glivami.	7
2.5	Statistična obdelava.....	8
2.5.1	Poskus FACE v Giessenu.....	8
2.5.2	Metaanaliza.....	9
3	REZULTATI.....	11
3.1	Odziv kolonizacije korenin z AM glivami na zaplinjevanje vegetacije s CO ₂ – FACE Giessen.....	11
3.2	Rezultati metaanalize in meta-regresijskih analiz.....	12
3.2.1	Kakovost vhodnih podatkov.....	13
3.2.2	Rezultati metaanalize.....	14
3.2.3	Rezultati meta-regresijskih analiz.....	14
4	DISKUSIJA.....	19
5	ZAKLJUČEK.....	24
6	LITERATURA.....	25

KAZALO PREGLEDNIC

PREGLEDNICA 1: POVPREČJA VREDNOSTI A, A, F, M IN M ZA POSAMIČEN OBROČ (STANDARDNI ODKLON – SD, N = 6), ACO ₂ – OBROČI Z AMBIENTALNO KONCENTRACIJO CO ₂ , ECO ₂ – OBROČI Z POVEČANO KONCENTRACIJO CO ₂	11
---	----

KAZALO SLIK

SLIKA 1: REFERENČNE RISBE ZA OCENJEVANJE STOPNJE AM KOLONIZACIJE (TROUVELOT IN SOD. 1986).	8
SLIKA 2: PRIKAŽUJE POVPREČJA TER STANDARDNE ODKLONE ZA VREDNOSTI A, A, F, M TER M (NA X OSI) GLEDE NA OBROČ, KJER SO BILI VZORCI PRIDOBLJENI (NA Y OSI). A1-3 SO OBROČI, KJER JE VEGETACIJA IZPOSTAVLJENA AMBIENTALNI KONCENTRACIJI CO ₂ , E1-E3 SO OBROČI, KJER JE VEGETACIJA IZPOSTAVLJENA POVEČANI KONCENTRACIJI CO ₂	12
SLIKA 3: LIJAKAST GRAF, KI PRIKAŽUJE RAZMERJE MED STANDARDIZIRANO RAZLIKO MED POVPREČIJ IN STANDARDNO NAPAKO.	14
SLIKA 4: GRAFIČNI PRIKAZ VREDNOSTI METAANALIZE IN VREDNOSTI META-REGRESIJSKIH ANALIZ Z KATEGORIČNIMI SPREMENLJIVKAMI. OBRAVNAVAN DEJAVNIK V META-REGRESIJSKI ANALIZI JE PRIKAZAN V LEVEM STOLPCU, V DESNEM STOLPCU PA JE PRIKAZANO RAZMERJE POVPREČIJ S 95- ODSOTNIM INTERVALOM ZAUPANJA.	17
SLIKA 5: RAZTRESENI GRAF META-REGRESIJSKE ANALIZE KJER JE ODVISNA SPREMENLJIVKA (OS Y) RAZMERJE POVPREČIJ, NEODVISNA ZVEZNA SPREMENLJIVKA PA KONCENTRACIJA CO ₂ V TESTNIH RAZMERAH (OS X). POLNA ČRTA PRIKAŽUJE LINEARNI TREND, ČRTKANI ČRTI PA OBMOČJE 95-ODSTOTNEGA INTERVALA ZAUPANJA.	18
SLIKA 6: RAZTRESENI GRAF META-REGRESIJSKE ANALIZE KJER JE ODVISNA SPREMENLJIVKA (OS Y) RAZMERJE POVPREČIJ, NEODVISNA ZVEZNA SPREMENLJIVKA PA DOLŽINO POSKUSA (OS X). POLNA ČRTA PRIKAŽUJE LINEARNI TREND, ČRTKANI ČRTI PA OBMOČJE 95-ODSTOTNEGA INTERVALA ZAUPANJA. .	18

KAZALO PRILOG

PRILOGA 1: PREGLEDNICA MERITEV IZ 29 ŠTUDIJ, UPORABLJENIH V METAANALIZI.	31-32
PRILOGA 2: PREGLEDNICA MERITEV, OPRAVLJENIH NA VZORCIH KORENIN IZ POSKUSA FACE V GIESSNU ...	33

SEZNAM KRATIC

AM – arbuskularna mikoriza

AM glive – arbuskularne mikorizne glive

eCO₂ – povečana koncentracija CO₂

aCO₂ – ambientalna koncentracija CO₂

FACE - Free Air Carbon dioxide Enrichment

GiFACE Giseen Free Air Carbon dioxide Enrichment

RP – razmerje povprečij

SD – standardni odklon

NPK – gnojilo z dušikom fosforjem in kalijem

ppm – število delcev na milijon (parts per million)

ANOVA – Analysis of variance (Analiza variance)

SEZNAM KRAJŠAV V PRILOGAH

Priloga A: Trajanje (L) – trajanje poskusa v letih, Inokulum – rastline so imele dodan inokulum ali ne, Povp. kontrole – povprečje meritev AM kolonizacije korenin vzorcev iz kontrolne skupine, Povp. testne – povprečje meritev AM kolonizacije korenin vzorcev iz testne skupine, SD kontrole – standardni odklon vrednosti povprečja AM kolonizacije kontrolne skupine, SD testne – standardni odklon vrednosti povprečja AM kolonizacije korenin testne skupine, št. ponovitev – število ponovitev v poskusu, konc.(ppm) - koncentracija CO₂ v testnih razmerah, podana v številu delcev na milijon, Merjenja količina – merjena kolonizacija korenin z hifami, vezikli ali arbuskuli, Stanje dušika – vsebnost dušika v tleh, visoka ali nizka, RP – razmerje povprečij AM kolonizacije korenin testne in kontrolne skupine

Priloga B: Št. – številka vzorca, elevated – povišana koncentracija CO₂, ambient – ambientalna koncentracija CO₂, Obroč – številka obroča od 1 do 3, % F – Frekvenca pojavnosti mikorize, % M – intenziteta mikorizne kolonizacije, % m – intenziteta mikorizne kolonizacije v koreninskih odsekih, % a – številčnost arbuskulov v mikoriznih odsekih fragmentov, % A – številčnost arbuskulov v koreninskem sistemu, n – število preučenih 1 cm dolgih koreninskih odsekov

1 UVOD

1.1 Predstavitev obravnavane skupine organizmov

Arbuskularne mikorizne (AM)¹ glive so monofiletska skupina talnih gliv, ki skupaj predstavljajo deblo Glomeromycota (Schußler in sod. 2001, Willis in sod. 2012). Razen določenih (še nepotrjenih) izjem, kot je družina Paraglomeraceae, so AM glive obligatorni simbionti, ki tvorijo simbiozo z vaskularnimi rastlinami (mikorizo) (Hempel in sod. 2007). Razvoj AM gliv in posledične simbioze z rastlino inducira rastlina z izločanjem posebnega tipa rastlinskih hormonov (strigolaktonov) v tla, na kar se gliva odzove s kalitvijo spor in rastjo hif v smeri rastlinske korenine. Ta medsebojna kemična komunikacija je osnova za vzpostavitev simbiotske zveze, saj stimulira razvoj in razrast gliv v tleh ter spremembe v rastlini, ki omogočijo prodor in razrast glivnih hif znotraj koreninske skorje gostiteljske rastline. Prodor AM gliv v koreninsko skorjo sledi vzpostavitev omrežja hif v intercelularjih koreninske skorje z dvema tipoma unikatnih struktur, arbuskulov in veziklov. Arbuskuli so mesta izmenjave fosforja in drugih elementov, vezikli pa verjetno služijo kot organi za skladiščenje hranil (Reinhardt 2007, Parniske 2008). Skozi novo vzpostavljeno omrežje hif poteka dvosmerni prenos hranil. Rastlina prehranjuje glivo z ogljikovimi hidrati, gliva pa preskrbi rastlino z mineralnimi hranili (npr. P, N in mikrohranila) (Willis in sod. 2012).

Ta intimna zveza med AM glivami in rastlinami je posledica dolge koevolucije. Paleontološka odkritja in filogenetske raziskave rastlinskih genov, potrebnih za vzpostavitev simbioze, potrjujejo, da ta simbiotska zveza obstaja že najmanj tako dolgo, kot obstajajo kopenske rastline (več kot 450 milijonov let), ter da se v vsem tem času AM glive niso morfološko zelo spremenile (Remy in sod. 1994, Bonfante in Genre 2008, Wang in sod. 2009). AM glive so sestavni del kopenskih ekosistemov. Imajo ključno vlogo v globalnem kroženju elementov (Fitter 2005). Tvorijo simbiotsko zvezo s 70–90 % kopenskih rastlin, njihov delež v celokupni respiraciji tal lahko presega 50 % in porabijo kar do 30 % fotoasimilatov gostiteljskih rastlin (Alberton in sod. 2005, Parniske 2008). Prav zaradi te velike odvisnosti od rastlinskega ogljika so AM glive dovzetne na spremembe v koncentraciji atmosferskega CO₂, ki neposredno vpliva na učinkovitost fotosinteze (Johnson in sod. 2013). Ob napovedih, da se bo v naslednjem stoletju koncentracija atmosferskega CO₂ potencialno podvojila, se lahko pričakujejo velike spremembe v dinamiki kopenskih ekosistemov, tudi zaradi spremenjenega delovanja AM gliv (Alberton in sod. 2005, IPCC 2014).

¹ AM glive – Arbuskularne mikorizne glive.

1.2 Predstavitev raziskovalnega dela

Prve raziskave, v katerih so se raziskovalci osredotočili na ugotavljanje odziva mikoriznih gliv na povečanje atmosferske koncentracije CO₂, so se začele pojavljati v 80. letih prejšnjega stoletja. Takrat je postajalo vedno bolj jasno, da se koncentracije tega toplogrednega plina počasi, a vztrajno dvigujejo ter, da se bodo še naprej pospešeno večale. Zaradi že takrat znane ključne pozicije mikoriznih gliv v kopenskih ekosistemih je postalo ugotavljanje njihovega odziva na povečanje atmosferskih koncentracij CO₂ ena osrednjih tem v študijah teh organizmov. Odziv mikoriznih gliv (tako ektomikoriznih, kot AM gliv) ni bil enoten. Avtorji so poročali o pozitivnem odzivu mikorizne kolonizacije v koreninah rastlin na povečanje atmosferske koncentracije CO₂, kot tudi o nevtralnem in celo negativnem odzivu (Rogers in sod. 1992, Norby in sod. 1994, Monz in sod. 1994, Klironomos in sod. 1996). Dodatno nesigurnost je vnesel variabilen odziv kolonizacije korenin rastlin z mikoriznimi glivami, izpostavljenih povečani koncentraciji atmosferskega CO₂ glede na druge dejavnike okolja (npr. vsebnost hranil v tleh, temperatura, trajanje, tip poskusa, vrsta meritve in podobno) (Norby in sod. 1986, O'Niell in sod. 1987, Sanders in sod. 1998, Jifon in sod. 2002, Gaudio in sod. 2003).

Danes, po več kot 25 letih raziskovanja te teme, je jasno, da se v okolju s povečano atmosfersko vsebnostjo CO₂ poveča kolonizacija korenin z mikoriznimi glivami (ektomikorizne, arbuskularne in erakoidne) (Olsrud in sod. 2005). Obstaja veliko pregledov literature na to temo (npr. Rillig in sod. 1999, Fitter in sod. 2000, Dringo in sod. 2008), ampak po našem vedenju se zgolj v dveh avtorji lotijo kvantitativnega in ne kvalitativnega raziskovanja tega pojava. Takšen kvantitativen pregled literature se imenuje metaanaliza. Cilj metaanalize je ocena stopnje odziva preučevanega pojava s pomočjo več neodvisnih študij (Gurevitch in Hedges 2001). V primerih, kjer ni jasno, kakšen je nek odziv in koliko razni dejavniki vplivajo na ta odziv, je metaanaliza primeren način za pridobitev objektivne ocene.

V prvi od teh dveh metaanaliz je Tressederjeva (2004) vključila šest študij odziva AM kolonizacije na povečano vsebnost atmosferskega CO₂. Odziv, ki ga je metaanaliza pokazala, je bilo v povprečju 47-odstotno povečanje kolonizacije korenin z AM glivami pri povečani koncentraciji atmosferskega CO₂. Leto kasneje so Alberton in sodelavci (2005) naredili veliko bolj obsežno metaanalizo, ki je zajemala 24 tovrstnih študij AM gliv. Rezultat je bil manjši skupen odziv (21-odstotno povišanje kolonizacije korenin z AM glivami), rezultat te metaanalize pa je bil zaradi večjega števila vključenih študij bolj reprezentativen. Ti dve metaanalizi sta predstavljali prelomno točko na tem področju, saj sta odpravili dvome, ki so jih vnesla poročanja o neodzivnosti ali celo manjši kolonizaciji korenin z AM glivami pri povečani koncentraciji atmosferskega CO₂. Prav tako sta ti dve metaanalizi vsebovali meta-regresijske analize, ki za razliko od metaanalize ne pokažejo

zgolj povprečnega odziva merjene količine v študijah, ampak pokažejo tudi, kako določeni dejavniki vplivajo na odziv merjene količine (npr. temperature, trajanja poskusa itd.).

1.3 Predstavitev sistema FACE

Rastline, katerih vzorci korenin so bili obravnavani v tej študiji, so bile izpostavljene povečani koncentraciji atmosferskega CO₂ v zaplinjevalnem sistemu FACE². Sistemi FACE nudijo eksperimentalno tehniko, ki omogoča preučevanje učinkov povečane vsebnosti CO₂ na vegetacijo, ki raste v naravnih razmerah. Distribucija CO₂ poteka po ceveh, ki so nameščene v obliki obročev in obkrožajo testne zaplate, kjer raste testna vegetacija. Izpuščen CO₂ poveča parcialni tlak CO₂ na teh zaplatah. Izpust CO₂ je računalniško kontroliran in koncentracije CO₂ stalno nadzorovane (McLeod in Long 1999).

Uporaba zaplinjevalnih sistemov FACE je smiselna, ker nudi prednosti pred drugima dvema najbolj razširjena sistema zaplinjevanja vegetacije s CO₂, pred zaprtimi (environmental chambers) in odprtimi zaplinjevalnimi komorami (open-top chambers). Na splošno je pri testih s komorami vedno prisoten t. i. učinek komore. Učinek komore so raziskovalci poimenovali pojav, kjer ima sinergistični učinek umetno nastavljene temperature, vlage in obsevanosti potencialno večji vpliv na rastline kot povečana vsebnost CO₂. Mikroklima v komorah je zato običajno toplejša in bolj suha kot v ambientalnih razmerah. Ta učinek je manj izrazit v odprtih komorah, ker imajo odprt strop, vegetacija je pa zgolj obdana s plastičnimi stenami. Slabost odprtih komor je ta, da plastične stene zmanjšajo prepustnost svetlobe vidnih valovnih dolžin (400–700 nm) in popolnoma ustavijo UV B žarke (280–315 nm). Polega tega tudi ustavljajo vetrove, kar spremeni cirkulacijo zraka v komorah. Mikroklima je zaradi te razlike v obsevanosti in režimu vetrov drugačna kot v okolici. Poleg tega je pri vseh zaplinjevalnih komorah prisoten robni učinek, vegetacija na robu testnih zaplat je izpostavljena drugačnim razmeram kot tista na sredini zaplat. Zaradi večje površine zaplat je ta učinek manj izrazit v poskusih FACE (Allen 1992, McLeod in Long 1999).

² FACE - Free-Air Carbon Dioxide Enrichment

1.4 Namen zaključne naloge

Cilj zaključnega dela je bila ocena in vrednotenje kolonizacije korenin z AM glivami pri rastlinah, ki so rastle v okolju s povečano atmosfersko koncentracijo CO₂ v zaplinjevalnem poskusu FACE v Giessnu (Nemčija). Na tej lokaciji že od leta 1998 nepretrgoma zaplinjujejo travniško vegetacijo z 20% povečano koncentracijo CO₂ od ambientalne koncentracije (ca. 480 ppm). Študije kolonizacije korenin z AM glivami se običajno opravljajo v zaprtih zaplinjevalnih komorah ali odprtih zaplinjevalnih komorah. Študije znotraj poskusov FACE so manj številčne.

Poleg tega sem za zaključno delo opravil tudi metaanalizo vpliva povečane koncentracije CO₂ na kolonizacijo korenin z AM glivami. Po zgledu zgoraj omenjenih dveh analiz sem kot indikator odziva uporabil količnik povprečne kolonizacije kontrolne in testne skupine (ratio of means) za izračun odziva AM kolonizacije pa sem uporabil metodo Dersimonian-Laird. Ob tem sem opravil tudi več meta-regresijskih analiz z namenom ugotavljanja, kako v tovrstnih študijah različni drugi dejavniki okolja vplivajo na kolonizacijo korenin z AM glivami v okolju s povečano koncentracijo CO₂. Rezultate meta-regresijskih analiz sem uporabil za interpretacijo rezultatov, pridobljenih pri oceni kolonizacije vzorcev korenin z AM glivami iz poskusa FACE v Giessnu.

1.4.1 Cilji in hipoteze

- 1) Opraviti metaanalizo študij, v katerih so preučevali odziv AM gliv na kontrolirano povečanje atmosferske koncentracije CO₂ in kjer je bil uporabljen kot indikator odziva stopnja kolonizacije korenin gostiteljskih rastlin z AM glivami. Namen metaanalize je pridobiti objektivno oceno odziva AM kolonizacije na povečano koncentracijo CO₂.
- 2) Opraviti oceno kolonizacije korenin rastlin z AM glivami na vzorcih iz poskusa FACE v Giessnu, z namenom ugotavljanja odziva AM gliv iz te lokacije na kontrolirano povečanje atmosferske koncentracije CO₂.
- 3) Opraviti meta-regresijske analize odziva kolonizacije korenin z AM glivami v razmerah s povečano koncentracijo CO₂, z namenom ugotavljanja, kako različni dejavniki v poskusih vplivajo na kolonizacijo korenin gostiteljskih rastlin.
- 4) Uporabiti rezultate metaanalize in meta-regresijskih analiz za interpretacijo rezultatov AM kolonizacije vzorcev korenin rastlin iz poskusa FACE v Giessnu.

2 METODE DELA

2.1 Pregled literature

Pregled literature je zajemal iskanje znanstvenih del z iskalnikoma znanstvene literature Science Direct in Google Scholar. Uporabljeni ključni besedi sta bili »mycorrhiza« in »carbon dioxide«. Študije so morale izpolnjevati pogoje: (1) preučevana je morala biti skupina gliv Glomeromycota (AM glive), (2) vključen je moral biti cilj študije, preučevanje odziva kolonizacije AM gliv v okolju s povečano koncentracijo CO₂ in (3) v študiji so mogli biti jasno predstavljeni rezultati AM kolonizacije v kontrolnih in testnih razmerah. Pogojem je ustrezalo 29 študij, ki so bile vključene v metaanalizo. Mnogokrat je bilo v posamični študiji opravljenih več vzporednih poskusov. Vsak poskus se je nekoliko ločil od drugega, npr. v vsakem od poskusov je bila uporabljena druga vrsta rastline ali glive. Raziskovalci so opravili več vzporednih poskusov z namenom preučevanja učinka tistega faktorja, ki se je ločil med poskusi, na kolonizacijo korenin z AM glivami. Vsak posamični poskus je bil razumljen kot posamična meritev odziva AM kolonizacije v razmerah s povečano koncentracijo CO₂. Skupno število meritev AM kolonizacije, ki sem jih uporabil v metaanalizi, je tako bilo 131.

2.2 Lokacija poskusa

Raziskava je bila izvedena na vzorcih korenin iz GiFACE³ poskusa, ki se nahaja blizu Giessna, Nemčija (50°32'N, 8°41.3'E, 172 nm.v). Na tej lokaciji se že od leta 1998 nepretrgoma izvaja poskus, kjer vegetacijo zaplinjujejo s CO₂ (20% nad ambientalno koncentracijo CO₂). Na lokaciji prevladuje zmerna celinska klima. V zadnjih 22 letih je povprečna letna količina padavin znašala 580 mm, povprečna letna temperatura je bila 9,4 °C. Na lokaciji je prisotno polnaravno travišče, s katerim že 50 let ekstenzivno upravljajo, tako da ga kosijo dvakrat letno (ni paše) in dodajajo dušik. Do 1995 je bilo letno deponiranega 50–80 kg dušika na hektar, po letu 1995 pa 40 kg na hektar, v obliki granul CaNH₄NO₃. Vegetacija na lokaciji je podzružba *Arrhenatheretum elatioris* Br.Bl. *Filipendula ulmaria*, kjer prevladuje 12 vrst trav, 2 vrsti stročnic in 15 vrst drugih zeli; skupaj je prisotnih okoli 60 vrst. Najbolj pogoste vrste so *Arrhenatherum elatius* (L.) P.Beauv. ex J. & C. Presl, *Holcus lanatus* L., *Poa pratensis* L. in *Alopecurus pratensis* L. (Jäger in sod. 2003). Tla so rečni hipoglej s peščeno ilovnato teksturo, ki stoji nad glinenim slojem. Tla imajo v povprečju 4,5-odstotno vsebnost C in 0,45-odstotno vsebnost N, pH tal je 6,2. Na lokaciji so štirje pari obročev, kjer se zaplinjuje. Vsak par ima eno ambientalno kontrolo, kjer se ne dodaja CO₂ in en testni obroč, ki je zaplinjen. Koncentracija CO₂ v testnih obročih 1–3 je približno 480 ppm⁴ (20% nad ambientalno koncentracijo CO₂), v 4.

³ GiFACE – Giessen Free Air Carbon dioxide Enrichment.

⁴ ppm – parts per million.

obroču pa 520 ppm (30% nad ambientalno koncentracijo CO₂) (Lenhart 2008; Abbasi in Muller 2011).

2.3 Vzorčenje

Vzorci korenin so bili odvzeti iz 6 komplementarnih obročev, od katerih so bili 3 testni zaplinjeni (20% nad ambientalno koncentracijo CO₂) in 3 kontrolni nezaplinjeni (3 ponovitve). Iz vsakega obroča je bilo odvzetih 6 vzorcev s talno sondo premera 5 cm. Vzorčenje je potekalo v maju 2013. Vzorci so bili previdno očiščeni z vodo, da na njih ni ostalo nič substrata, ter za tem shranjeni v 70-odstotnem etanolu.

2.4 Priprava vzorcev in ocena stopnje AM kolonizacije

2.4.1 Presvetljevanje in barvanje korenin

Za presvetljevanje in barvanje korenin je bila uporabljena variacija metode Phillips in Hayman (1970). Korenine so bile previdno odstranjene iz epruвет, kjer so bile hranjene v 70-odstotnem etanolu ter sprane z vodo. S tem korakom smo iz korenin odstranili etanol ter morebitne ostanke substrata. Korenine so bile nato potopljene v 10-odstotno vodno raztopino KOH. Raztopina KOH s koreninami je bila za 15 min inkubirana pri 90 °C. Ta korak je iz celic korenin odstranil večino citoplazme in jeder. Posledica tega so bolj prosojne korenine, ki so brez celičnih struktur, ki bi jih barvilo obarvalo, kar bi motilo ocenjevanje AM kolonizacije. Korenine so bile vnovič sprane z vodo in dane v 1N vodno raztopino HCl, kjer so za 5 min stale pri sobni temperaturi. Ta korak je pomemben, ker se tripansko modrilo (Trypan blue), ki se uporablja za obarvanje, lažje veže na strukture AM gliv v kislem okolju (Koske in Gemma 1989). Korenine so bile predstavljene neposredno iz HCl v 0.05-odstotno raztopino tripanskega modrila in laktoglicerola. Korenine so bile inkubirane v tej raztopini 10 min pri temperaturi 90 °C, za tem so bile sprane z vodo. Višja temperatura pomaga pri učinkovitejšem delovanju barvila. Sprane korenine so bile nato shranjene v laktoglicerol do evalvacije AM kolonizacije.

2.4.2 Ocenjevanje stopnje AM kolonizacije z arbuskularnimi mikoriznimi glivami

Stopnja AM kolonizacije je bila ocenjena po zgledu Trouvelot in sod. (1986.). Obarvane korenine so bile dane v petrijevke, kjer so bile razrezane na približno 1 cm dolge odseke. 10 takšnih odsekov je bilo postavljenih na eno objektno steklo. Na posamičen vzorec smo pregledali 3 objektna stekla z 10 odseki. Tako je bilo za vsak vzorec pripravljenih 30 odsekov. Senescenčne korenine, kjer je bil korteks odsoten ali pa zelo stanjššan, niso bile uporabljene.

Odseki so bili vizualno ocenjeni za AM kolonizacijo po zgledu referenčnih risb (slika 1). Glede na stopnjo AM kolonizacije je bila vsakemu odseku pripisana ocena od 0 do 5. Ocena 5 je bila dana, kadar je bila AM kolonizacija 90–100 %, ocena 4, kadar je bila 50–90 %, ocena 3, kadar je bila 10–50 %, ocena 2, kadar je bila 1–10 %, ocena 1, kadar je bila 0–1 % ter ocena 0, kadar odsek ni bil koloniziran z AM glivami. Prav tako je bil po podobnem principu vsak odsek ocenjen glede na pojavnost arbuskulov v njem. Ocena A3 je bila odseku dana, kadar so bili arbuskuli številčni, ocena A2, kadar so bili pogosti, ocena A1, kadar so bili redki, ter ocena A0, kadar v odseku ni bilo prisotnih vidnih arbuskulov. Tako je vsak odsek dobil oceno odstotka kolonizacije z hifami AM gliv kot tudi oceno pojavnosti arbuskulov. Vsak vzorec je imel 30 ocen, ki so bile nato vstavljene v programsko opremo »Mycocalc«. S programom je bilo izračunanih več različnih vrednosti, ki opisujejo stopnjo AM kolonizacije ter pojavnost arbuskulov:

a) **Frekvenco pojavnosti mikorize v koreninskem sistemu:**

$$F \% = (\text{št. fragmentov z mikorizo} / \text{št. vseh fragmentov}) * 100$$

b) **Intenziteto mikorizne kolonizacije v koreninskem sistemu:**

$$M \% = (95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1) / (\text{št. vseh fragmentov})$$

kjer je n_5 = št. odsekov ocenjenih z 5; n_4 = št. odsekov ocenjenih s 4 itd.

c) **Intenziteto mikorizne kolonizacije v koreninskih odsekih:**

$$m \% = M * (\text{št. vseh fragmentov}) / (\text{št. fragmentov z mikorizo})$$

d) **Številčnost arbuskulov v mikoriznih odsekih fragmentov:**

$$a \% = (100 m_{A3} + 50 m_{A2} + 10 m_{A1}) / 100$$

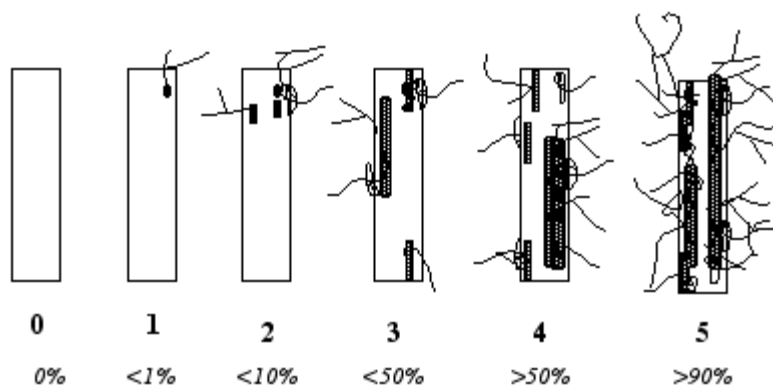
m_{A3} , m_{A2} , m_{A1} odstotki odsekov ocenjenih z ocenami pojavnost A1, A2 in A3

kjer je: $m_{A3} = ((95n_5 A_3 + 70n_4 A_3 + 30n_3 A_3 + 5n_2 A_3 + n_1 A_3) / \text{št. fragmentov z mikorizo}) * 100 / m$, enako se potem izračuna še za m_{A2} in m_{A1} .

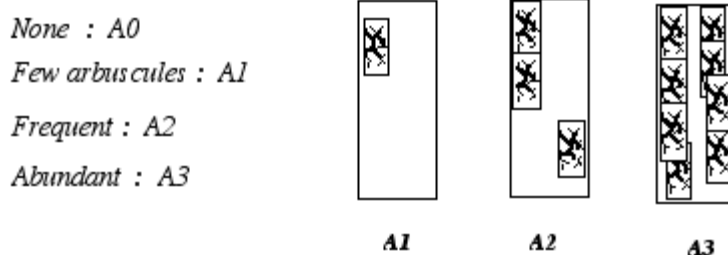
e) **Številčnost arbuskulov v koreninskem sistemu:**

$$A \% = a * (M / 100)$$

**SCORING MYCORRHIZAL COLONIZATION
IN CLASSES FROM 0 TO 5**



SCORING ARBUSCULE ABUNDANCE



Slika 1: Referenčne risbe za ocenjevanje stopnje AM kolonizacije (Trouvelot in sod. 1986).

2.5 Statistična obdelava

2.5.1 Poskus FACE v Giessenu

Za ugotavljanje razlik med vzorci iz nezaplinjenega in zaplinjenega območja je bila uporabljena dvosmerna analiza variance (dvosmerna ANOVA⁵). Uporabljena je bila 3 X 2-faktorska analiza; 3 faktorji so bili obroči, 2 faktorja pa sta bila različni koncentraciji atmosferskega CO₂ (ambientalna in povišana). V takšni postavitvi nam ANOVA pove, ali so razlike med zaplinjenim in nezaplinjenem območjem statistično značilne in v primeru da niso nam pove če so razlike med ekvivalentnimi zaplinjenimi in nezaplinjenimi obroči statistično značilne. Analiza je bila posebej opravljena za vsak faktor, ki opisuje AM kolonizacijo. Tako je bilo narejenih 5 ponovitev analize. Vso statistično delo je bilo narejeno s programsko opremo R (R Core Team 2014).

⁵ ANOVA - Analysis of variance (Analiza variance)

2.5.2 Metaanaliza

Iz znanstvenih člankov so bili pridobljeni podatki o povprečjih meritev kolonizacije korenin z AM glivami v razmerah z ambientalno in s povečano koncentracijo CO₂, o številu ponovitev ter podatki o standardnih napakah. Kadar v člankih ni bilo na voljo numeričnih vrednosti meritev, so bile vrednosti iz grafov ročno digitalizirane s pomočjo digitalnega ravnila, ki je izmerilo višino stolpcev v zaslonskih točkah. Na enak način so bila digitalizirana merila grafov. S pomočjo meril grafov so bile vrednosti iz digitalnih točk spremenjene v vrednosti odstotka AM kolonizacije. Vrednosti AM kolonizacije, standardnih napak in število ponovitev so bile vstavljene v tabelo Excel, vsakemu poskusu so bili dodani še podatki o naslednjih parametrih: trajanje poskusa, tip meritve, tip poskusa, prisotnost ali odsotnost inokuluma, vsebnost dušika v tleh, koncentracija CO₂ v testnih razmerah ter podatek o dodajanju hranil z zalivanjem. Standardne napake so bile pretvorjene v standardne odklone. Standardni odklon za testno in kontrolno skupino je bil pridobljen kot zmnožek standardne napake povprečja meritev kontrolne ali testne skupin in kvadratnega korena števila meritev te iste skupine.

Metaanaliza je bila izvedena s programsko opremo za statistično obdelavo R z uporabo knjižnice za meta-raziskave Metafor (Viechtbauer 2010). Uporabljen je bil model naključnih učinkov (Random effects model) po metodi DerSimonian-Laird (DerSimonian in Laird 1998). Za merilo odziva AM kolonizacije je bilo uporabljeno razmerje odziva, ki je podano kot količnik povprečja meritev AM kolonizacije korenin med testno in kontrolno skupino. Poleg generalne metaanalize učinka povišanja koncentracije atmosferskega CO₂ na AM kolonizacijo korenin z AM glivami je bil opravljen test publikacijske napake z lijakastim grafom (Sterne in Egger 2001). Standardizirana razlika povprečij in standardna napaka sta na posamičnih oseh grafa (graf 7).

Za ugotavljanje učinka različnih dejavnikov okolja na AM kolonizacijo korenin z AM glivami v okolju s povečano vsebnostjo CO₂ je bilo opravljenih več meta-regresijskih analiz. V meta-regresijskih analizah je bila odvisna spremenljivka oz. spremenljivka odziva, razmerja povprečij testne in kontrolne skupine. Ta spremenljivka je pokazala, kakšen je odziv AM kolonizacije glede na neodvisno spremenljivko. Neodvisna spremenljivka pa so bile vrednosti nekega dejavnika. Tako so meta-regresijske analize pokazale odziv AM kolonizacije glede na dejavnike, prisotne v poskusih.

Meta-regresijske analize so bile razdeljene na dva dela glede na razpon vrednosti neodvisne spremenljivke. Neodvisne spremenljivke so lahko kategorične ali zvezne. Pri prvih so vrednosti razdeljene zgolj v nekaj kategorij vrednosti, pri drugih je pa razpon vrednosti zvezen.

Vrednosti generalne metaanalize in vrednosti meta-regresijskih analiz s kategoričnimi spremenljivkami so bile vstavljene v gozdni graf (Lewis in Clarke 2001). Rezultati meta-regresijskih analiz z zvezno spremenljivko so bile vstavljene v raztresene grafe, nanje pa so bili aplicirani linearni modeli.

3 REZULTATI

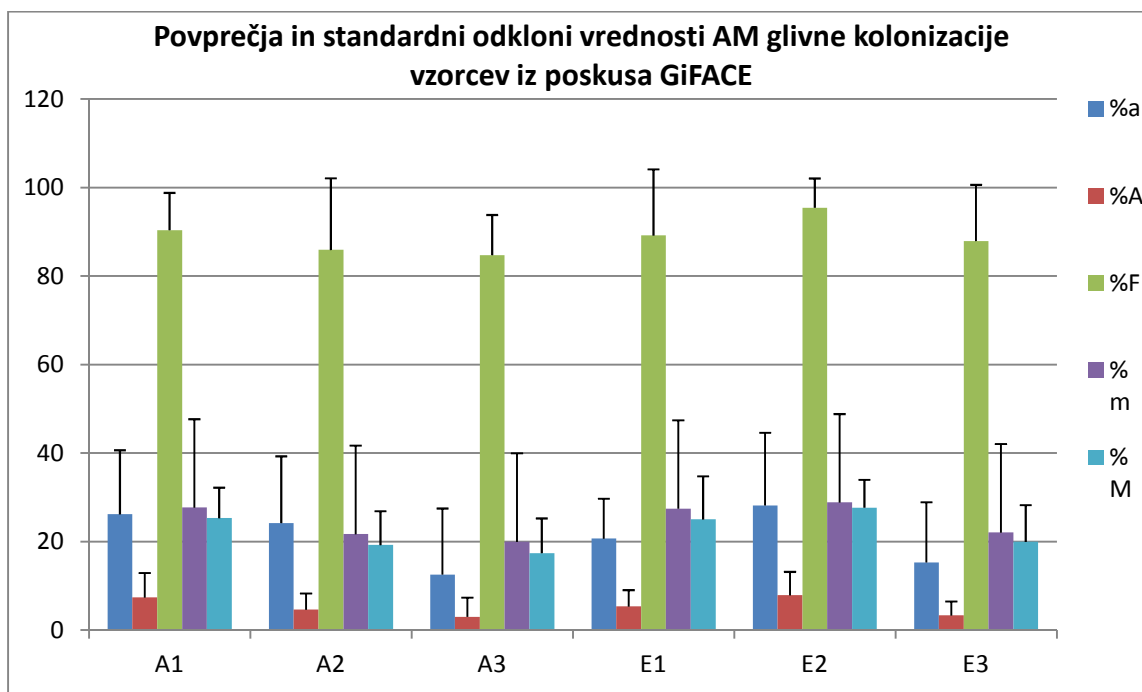
Rezultati so razdeljeni na dva sklopa. V prvem sklopu so predstavljeni rezultati kolonizacije korenin z AM glivami vzorcev iz poskusa FACE v Giessnu, v drugem delu so pa predstavljeni rezultati metaanalize in meta-regresijskih analiz.

3.1 Odziv kolonizacije korenin z AM glivami na zaplinjevanje vegetacije s CO₂ – FACE Giessen

Rezultati meritev AM kolonizacije (preglednica 1) so pokazali povečano kolonizacijo vzorcev korenin z AM glivami v zaplinjenih obročih v primerjavi z nezaplinjenimi obroči, vendar rezultati analize ANOVA kažejo, da ta povišanja niso statistično značilna. To je tudi jasno razvidno iz grafa povprečja meritev glede na posamičen obroč (slika 2), saj so standardni odkloni večji od razlik v AM kolonizaciji, povečanje stopnje kolonizacije je tako znotraj napake merjenja. Prav tako ni statistično značilnih razlik med posamičnimi obroči, razen pri parametru intenziteta AM kolonizacije v koreninskih odsekih (parameter *m*), kjer je analiza ANOVA pokazala statistično značilno razliko ($p < 0.05$) med posamični obroči (1, 2, 3). Stopnja kolonizacije (*F*) je bila visoka pri vseh meritvah (med 80 in 100 %).

Preglednica 1: Povprečja vrednosti *a*, *A*, *F*, *m* in *M* za posamičen obroč (standardni odklon – SD, *N* = 6), aCO₂ – obroči z ambientalno koncentracijo CO₂, eCO₂ – obroči z povečano koncentracijo CO₂.

	aCO ₂			eCO ₂		
	A1	A2	A3	E1	E2	E3
% <i>a</i>	26.18 (14.48)	24.18 (15.09)	12.55 (14.94)	20.69 (9.00)	28.16 (16.41)	15.29 (13.61)
% <i>A</i>	7.35 (5.54)	4.62 (3.65)	2.99 (4.35)	5.34 (3.70)	7.87 (5.30)	3.32 (3.15)
% <i>F</i>	90.39 (8.43)	85.92 (16.21)	84.73 (9.09)	89.17 (14.99)	95.42 (6.65)	87.92 (12.72)
% <i>m</i> *	27.68 (5.77)	21.69 (5.89)	19.95 (7.18)	27.44 (8.19)	28.83 (5.49)	22.061 (7.29)
% <i>M</i>	25.30 (6.89)	19.23 (7.64)	17.40 (7.84)	25.00 (9.77)	27.65 (6.33)	19.96 (8.28)



Slika 2: Prikazuje povprečja ter standardne odklone za vrednosti a, A, F, m ter M (na x osi) glede na obroč, kjer so bili vzorci pridobljeni (na y osi). A1-3 so obroči, kjer je vegetacija izpostavljena ambientalni koncentraciji CO₂, E1-E3 so obroči, kjer je vegetacija izpostavljena povečani koncentraciji CO₂.

3.2 Rezultati metaanalize in meta-regresijskih analiz

V tem sklopu so predstavljeni rezultati metaanalize, regresijskih analiz rezultatov metaanalize (meta-regresijskih analiz) kot tudi rezultati analize kakovosti vhodnih podatkov. Rezultat metaanalize pove povprečen odziv AM kolonizacije v vseh obravnavanih študijah. Rezultat je obteženo povprečje, kjer model poda različnim meritvam odziva AM kolonizacije iz študij, uteži, ki jih izračuna iz variance rezultatov. Večja kot je utež, večji vpliv ima tista meritev na končno povprečje. Meta-regresijske analize pokažejo, kakšen je odziv AM kolonizacije rastlin, ki rastejo v razmerah s povečano vsebnostjo CO₂ (odvisne spremenljivke) glede na nek preučevani dejavnik, ki je bil prisoten pri poskusu (neodvisne spremenljivke). V primeru, da je preučevani dejavnik dodajanje gnojil, nam rezultat pokaže, kolikšen vpliv ima dodajanje gnojil na razliko v AM kolonizaciji rastlin, ki rastejo v razmerah s povečano vsebnostjo CO₂ in rastlinami, ki rastejo v razmerah z ambientalno koncentracijo CO₂. Opravljena sta bila dva tipa meta-regresijskih analiz: eden, kjer so bile neodvisne spremenljivke kategorične, in drug, kjer so bile zvezne. Kadar je neodvisna spremenljivka kategorična, ima dejavnik nekaj možnih kategorij vrednosti. Primer takšne neodvisne spremenljivke oz. dejavnika bi bil tip testne rastline, kategorije pa: C3⁶ trava, gram, drevo in zel. V tem primeru nam bi analiza

⁶ C3 – tip fotosintetskega metabolizma.

povedala, v kolikšni meri se kolonizacija korenin z AM glivami za posamično skupino rastlin spremeni v razmerah s povečano koncentracijo CO₂. V primeru, da je rezultat za posamično skupino statistično značilen ($p < 0.05$), pomeni, da se rezultat te skupine statistično loči od rezultatov ostalih skupin (npr. rezultat za tip funkcionalne rastline: rezultat za trave, se statistično loči od rezultatov za vse preostale funkcionalne tipe rastlin). Kadar sta prisotni zgolj dve skupini, torej kadar se primerjata zgolj dva dejavnika npr. vsebnost dušika v tleh (visoka ali nizka) je dovolj da je p vrednost zgolj za en dejavnik nizka (< 0.05), da je rezultat statistično značilen, saj se takrat rezultat za eno skupino statistično loči od rezultata za drugo. Kadar pa je prisotnih več skupin pa mora bit p vrednost za vsako od preučenih skupin nižja od 0.05, da se vsi rezultati skupin med sabo statistično ločijo.

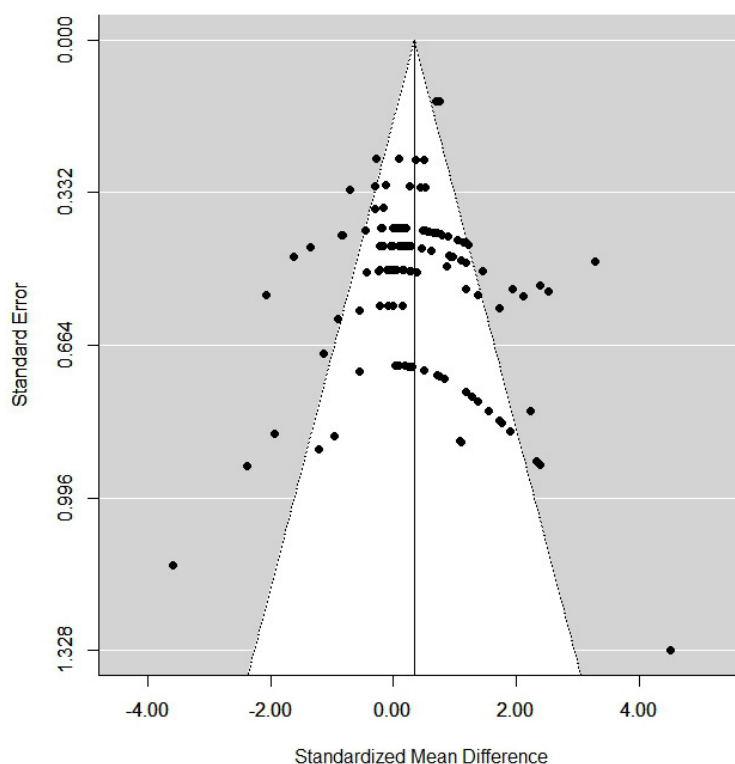
Takšne analize niso vedno najbolj primerne, saj pri nekaterih dejavnikih, kjer je prisoten širok nabor različnih vrednosti, združevanje vrednosti v kategorije zmanjša natančnost rezultata (kot npr. trajanje poskusa, kjer lahko vrednosti segajo od nekaj dni pa do nekaj let). V takšnih primerih je bila poleg analize, kjer so bile vrednosti neodvisne spremenljivke dane v kategorije, opravljena tudi analiza, kjer je bila neodvisna spremenljivka zvezna. V tem primeru vrednosti niso združene v kategorije, ampak so podane neodvisno druga od druge. Rezultat takšnih analiz ni konkretna vrednost odziva, ampak trend odziva glede na spreminjanje neodvisne spremenljivke. Statistična značilnost ($p < 0.05$) nam v tem primeru pove, če podatki sledijo neki distribuciji, ki jo opisuje polinom, v našem primeru linearni distribuciji.

Meta-regresijske analize, kjer je neodvisna spremenljivka kategorična, so bile opravljene za preučevanje vpliva naslednjih dejavnikov na razliko v AM kolonizaciji rastlin, ki rastejo v razmerah s povečano in ambientalno koncentracijo CO₂: tip rastline (drevesa, zeli, grmi, C3 trave), hranila (voda, voda + NPK), tip poskusa (zaprte komore, odprte komore, FACE), dušik v tleh (nizek, visok), trajanje (kratko – 0–16 tednov, srednje – 16–34 tednov, dolgo 34 tednov in več), koncentracija CO₂ v testnih razmerah (visoka 700-740 ppm, srednja 600 ppm, nizka 550-560 ppm), Inokulum (dodan, ni dodan), tip meritve AM kolonizacije (% hife, % arbuskuli, % vezikli). Vrednost CO₂ v testnih razmerah in trajanje študije sta dejavnika, katerih vrednosti so bolj primerne za meta-regresijsko analizo, kjer je neodvisna spremenljivka zvezna, zato je bila poleg meta-regresijske analize s kategorično spremenljivko za te dve vrednosti še opravljena meta-regresijska analiza z zvezno spremenljivko.

3.2.1 Kakovost vhodnih podatkov

V namen testiranja kakovosti meritev pridobljenih iz literature, je bil izdelan lijakast graf (Egger in sod. 1997) (slika 3). Lijakast graf kaže, da je prisotna rahla publikacijska pristranskost. Avtorji so večkrat poročali o negativnem odzivu kot o pozitivnem, to je

razvidno iz grafa, kot neenakomerna porazdelitev točk med levo in desno stranjo grafa. Na levi strani grafa je več točk kot na desni. Poleg tega je iz grafa razvidno, da so avtorji večinoma nevtrarno poročali o natančnosti svojih meritev. Običajno namreč je, da se z večanjem odziva veča tudi napaka v meritvah. Redke so bile meritve, kjer so avtorji podali nepričakovano visok odstotek natančnosti glede na odziv. To se vidi po tem, da zelo redke točke ležijo zunaj površine belega stožca. Območje stožca prikazuje pričakovano razmerje med odzivom (podan kot standardizirana razlika med povprečji) in standardno napako.



Slika 3: Lijakast graf, ki prikazuje razmerje med standardizirano razliko med povprečij in standardno napako.

3.2.2 Rezultati metaanalize

Rezultat metaanalize, ki je vključevala 131 meritev iz 29 objav, je pokazal pozitiven odziv AM kolonizacije na povečano koncentracijo CO₂. Povečane koncentracije CO₂ v študijah so bile med 540 in 740 ppm. Sodeč po teh podatkih, se AM glive v povprečju na povečanje atmosferske koncentracije CO₂ v tem obsegu odzovejo s 17-odstotnim povečanjem kolonizacije korenin (statistično značilno $p < 0.001$) (slika 1).

3.2.3 Rezultati meta-regresijskih analiz

Funkcionalni tip rastline, pri kateri je bila zaznana največja razlika v AM kolonizaciji med rastlinami, ki so rastle v zapljinjenih in kontrolnih razmerah, so bile trave s C3 presnovo. AM kolonizacija je bila za 26 % večja v zapljinjenih kot v kontrolnih razmerah (statistično

značilno $p < 0.001$) (slika 1). Stopnja AM kolonizacije pri zelih, drevesih in grmih je bila nižja, vrednosti AM kolonizacije za te funkcionalne tipe rastlin se med sabo niso statistično ločile. V analizo žal ni bilo mogoče vključiti trav s C4⁷ presnovo, ker po našem vedenju ne obstaja dovolj študij, ki bi vključevale to funkcionalno skupino rastlin.

Dodajanje gnojil NPK⁸ je imelo negativen učinek na razliko v AM kolonizaciji med rastlinami, ki so rastle v zaplinjenih in kontrolnih razmerah. AM kolonizacija rastlin, ki so rastle v zaplinjenih razmerah, je bila zgolj za 11 % višja od rastlin, ki so rastle v kontrolnih razmerah kadar so jim bila dodajana gnojila NPK. Kadar so bile rastline zalivane zgolj z vodo, je bila AM kolonizacija za 22 % večja pri rastlinah, ki so rastle v zaplinjenih razmerah, glede na rastline, ki so rastle v kontrolnih razmerah. Rezultat je statistično značilen ($p = 0.025$).

Tip zaplinjevalnega sistema, kjer se pojavljajo največje razlike v AM kolonizaciji med testnimi in kontrolnimi rastlinami, so zaprte zaplinjevalne komore. AM kolonizacija rastlin, ki so rastle v zaprtih zaplinjevalnih komorah, je bila za 22 % (statistično značilno $p = 0.021$) večja pri primerkih iz zaplinjenih razmer od primerkov iz kontrolnih razmer. Pri odprtih komorah in poskusih FACE je bila ta razlika pri AM kolonizaciji korenin rastlin manjša, prav tako se poskusi FACE in poskusi z oprtimi komorami medsebojno niso statistično razlikovali.

Dodajanje dušika tlom je imelo od vseh dejavnikov največji vpliv na AM kolonizacijo korenin rastlin. AM kolonizacija rastlin v zaplinjenih razmerah je bila za 7 % nižja kot od rastlin iz kontrolnih razmer, kadar je bil tlom dodan dušik. Kadar tlom dušik ni bil dodan, je pa bila AM kolonizacija rastlin iz zaplinjenih razmer kar za 40 % večja od kontrole. Rezultat je statistično značilen ($p < 0.001$).

Dodajanje inokuluma rastlinam je imelo zgolj majhen vpliv na AM kolonizacijo. To pa zato, ker tla dejansko nikoli niso bila brez inokuluma. Če ni bil dodan fizično, je pa že bil prisoten, ker so bila tla odvzeta iz naravnih rastišč, kot npr. v raziskavi Drigo in sodelavcev (2007). Bolj primerna bi bila kategorizacija »naravno prisoten inokulum« ter »dodan inokulum«, ampak zaradi pomanjkljivih podatkov o tipu tal, uporabljenih pri nekaterih študijah, takšna kategorizacija ni mogoča. AM kolonizacija rastlin iz testnih razmer je bila za 19 % večja od kontrole, kadar je bil dodan inokulum, in 16% večja, kadar ni bil dodan. Rezultat je statistično značilen ($p < 0.001$).

Rezultati za pojavnost vseh treh tipov struktur AM gliv (hife, arbuskuli in vezikli) so si zelo podobni, z širokimi intervali zaupanja, zato se med sabo statistično ne ločijo.

⁷ C4 – tip fotosintetskega metabolizma.

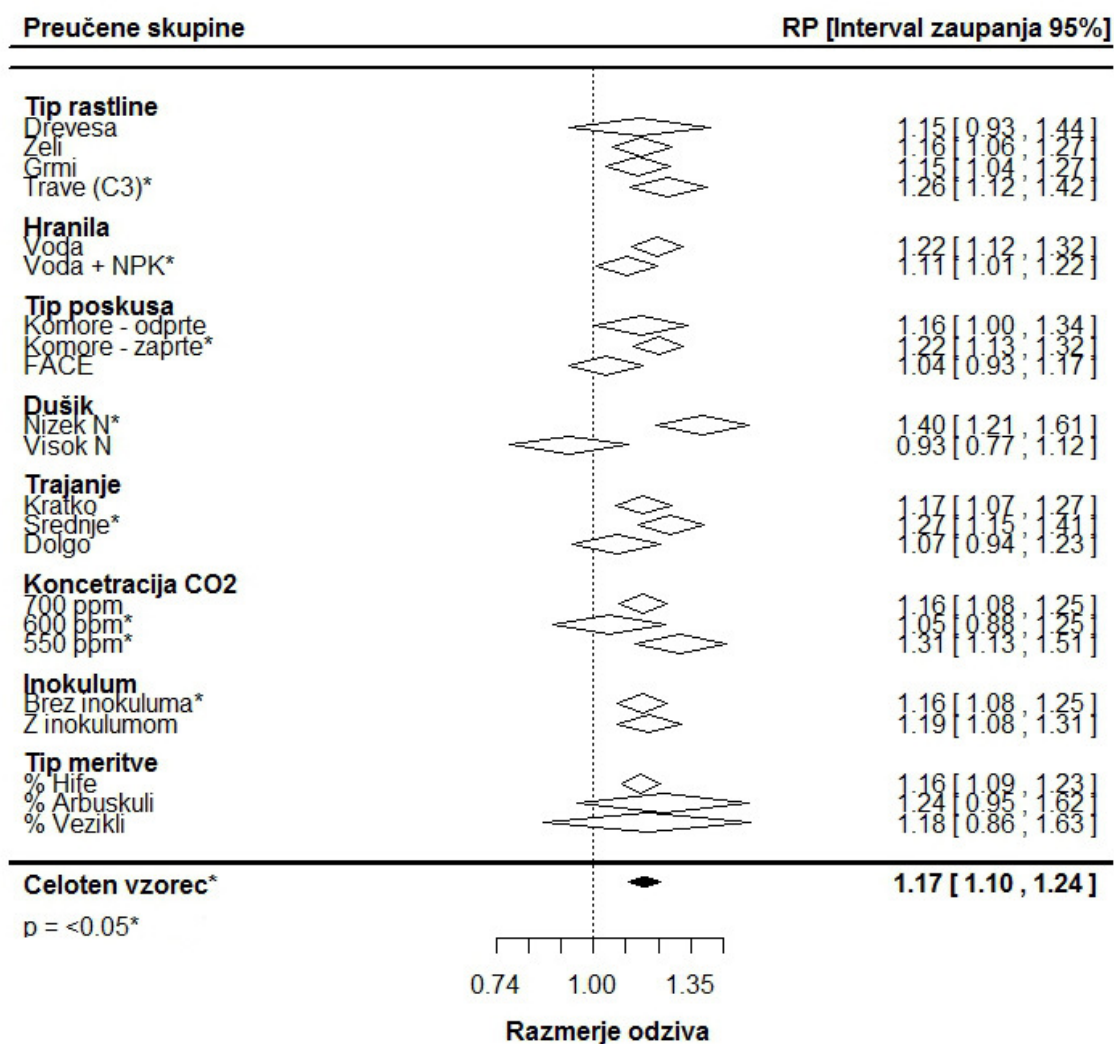
⁸ NPK – gnojilo z dušikom, fosforjem in kalijem.

Meta-regresijska analiza vpliva trajanja poskusa na AM kolonizacijo z uporabo kategorične spremenljivke je pokazala, da je razlika v AM kolonizaciji med zapljinjenimi rastlinami in kontrolo največja pri poskusih, ki trajajo 16–34 tednov v primerjavi s krajšimi in daljšimi poskusi. AM kolonizacija zapljinjenih rastlin v tem časovnem obdobju je bila za 27 % večja od kontrole (statistično značilno $p = 0.019$). Krajši in daljši poskusi se med sabo niso statistično ločili. Meta-regresijska analiza tega istega dejavnika z zvezno spremenljivko je nakazala šibek trend zmanjševanja razlike v AM kolonizaciji med zapljinjenimi rastlinami in kontrolo, dlje kot je trajal poskus. Trend je zelo šibak (slika 6), interval zaupanja pa se krepko razširi pri daljših obdobjih trajanja poskusa; posledično ta trend ni statistično značilen. Prav tako je treba omeniti, da je bila večina dolgotrajnih študij opravljena na poskusih FACE, medtem ko je bila večina kratkotrajnih študij opravljena z zaprtimi zapljinjevalnimi komorami. Kot je bilo že omenjeno, je v zaprtih komorah odziv AM kolonizacije na povečanje CO₂ največji.

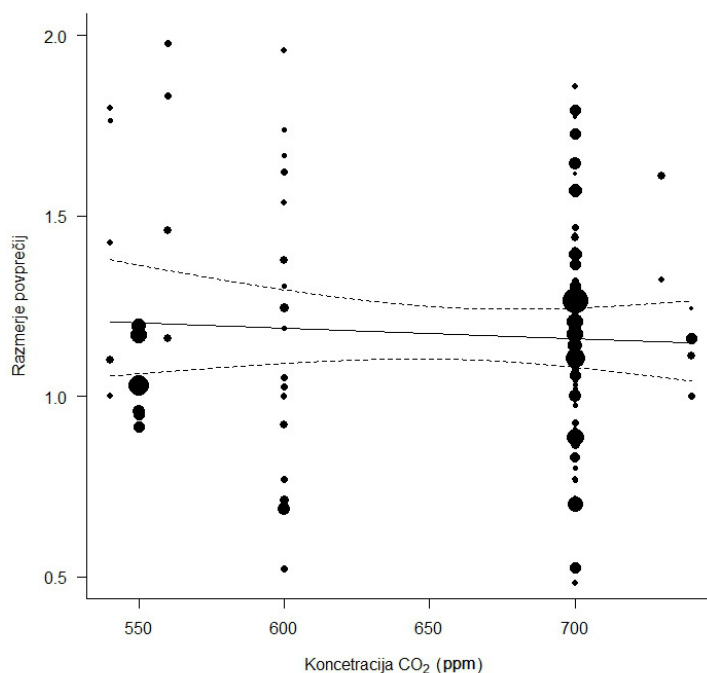
Rezultati meta-regresijske analize vpliva koncentracije CO₂ v testnih razmerah s kategorično spremenljivko so pokazali, da je bila razlika v AM kolonizaciji med zapljinjenimi in kontrolnimi rastlinami največja, kadar so bile testne koncentracije CO₂ okoli 550 ppm; takrat je bila AM kolonizacija zapljinjenih rastlin v povprečju za 31 % večja od kontrole (statistično značilno $p = 0.001$). Kadar so bile testne koncentracije CO₂ okoli 600 ppm, je bila v povprečju AM kolonizacija za 5 % večja pri zapljinjenih rastlinah glede na kontrolo (statistično značilno $p = 0.04$) pri testni koncentraciji CO₂ okoli 700 ppm se rezultat ni statistično razlikoval od rezultatov za preostali dve območji koncentracije CO₂. Meta-regresijska analiza z zvezno spremenljivko pa je pokazala trend nižanja odziva razlike v AM kolonizaciji med zapljinjenimi rastlinami in kontrolo z večanjem CO₂ koncentracije v testnih razmerah (slika 5). Ta trend prav tako ni statistično značilen, intervali zaupanja so preširoki. V večini študij je bila koncentracija CO₂ v testnih razmerah okoli 700 ppm; le malo študij je bilo opravljenih pri drugih koncentracijah. Posledično je rezultat pri nižjih koncentracijah lahko potencialno nagnjen pretirano v pozitivno ali negativno smer zaradi premajhnega števila meritev pri teh vrednostih, še posebej če se upošteva, da je bila večina meritev pri nizkih koncentracijah opravljena v poskusih s komorami, ki, kot je že bilo omenjeno, podajo večjo razliko v AM kolonizaciji med zapljinjenimi rastlinami in kontrolo.

Zgoraj omenjenima meta-regresijskima analizama z zveznimi spremenljivkami so bili aplicirani tudi kompleksnejši modeli (kot npr. kvadratna funkcija) v upanju, da se bi boljše prilegali podatkom, saj je iz meta-regresijskih analiz z uporabo kategoričnih spremenljivk razvidno, da trend ne sledi enostavni linearni funkciji. Nobeden se ni dobro prilegal zaradi neenakomerne distribucije vzorca, posledično je bil ohranjen linearen model. Linearni model, četudi ni statistično značilen in ne pokaže dejanske distribucije podatkov, je koristen, saj pokaže trend nižanja ali višanja vrednosti odziva glede na spreminjanje

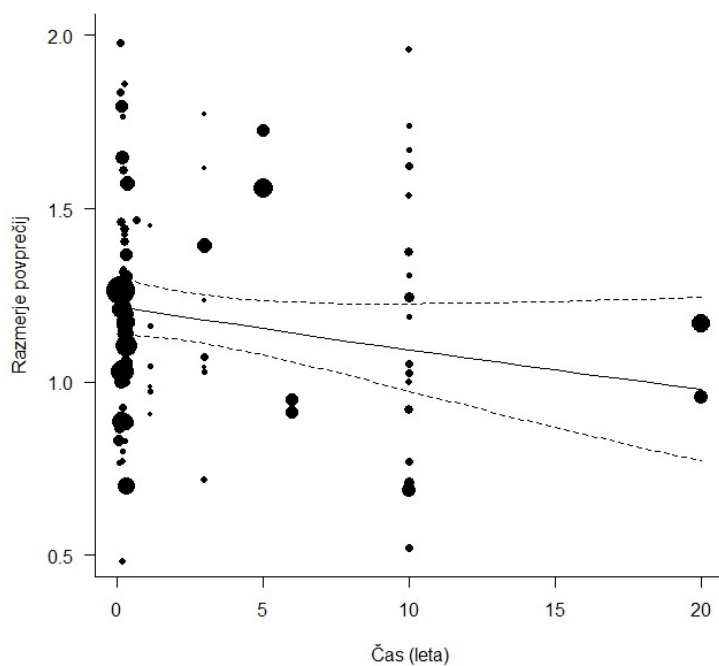
neodvisne spremenljivke. Na splošno so rezultati meta-regresijskih analiz z uporabo kategoričnih spremenljivk bili bolj zanesljivi v primeru te študije.



Slika 4: Grafični prikaz vrednosti metaanalize in vrednosti meta-regresijskih analiz z kategoričnimi spremenljivkami. Obravnavan dejavnik v meta-regresijski analizi je prikazan v levem stolpcu, v desnem stolpcu pa je prikazano razmerje povprečij s 95-odсотnim intervalom zaupanja.



Slika 5: Rztreseni graf meta-regresijske analize kjer je odvisna spremenljivka (os y) razmerje povprečij, neodvisna zvezna spremenljivka pa koncentracija CO₂ v testnih razmerah (os x). Polna črta prikazuje linearni trend, črtkani črti pa območje 95-odstotnega intervala zaupanja.



Slika 6: Rztreseni graf meta-regresijske analize kjer je odvisna spremenljivka (os y) razmerje povprečij, neodvisna zvezna spremenljivka pa dolžino poskusa (os x). Polna črta prikazuje linearni trend, črtkani črti pa območje 95-odstotnega intervala zaupanja.

4 DISKUSIJA

Ocena AM kolonizacije korenin vzorcev iz poskusa GiFACE je pokazala nejasen trend odziva AM kolonizacije na povečano vsebnost CO₂ v ozračju, kar ni bilo pričakovano. Ti rezultati izpostavljajo dejstvo, da ena sama raziskava ne more razložiti, kako povečana koncentracija CO₂ vpliva na AM kolonizacijo. Na končni rezultat tovrstnih študij ne vpliva le koncentracija CO₂, ampak tudi drugi abiotski in biotski dejavniki okolja, ki se tekom časa lahko spreminjajo. Iz tega razloga je bila poleg ocene kolonizacije na vzorcih iz poskusa GiFACE izvedena tudi meta-analiza podobnih študij v katerih so avtorji merili odziv AM kolonizacije na povečano vsebnost CO₂ v ozračju. Namen metaanalize je bila pridobitev objektivne ocene obsega v katerem se AM kolonizacija odzove na povečano vsebnost CO₂ v ozračju, poleg tega je bil tudi namen ugotoviti, kako različni okoljski dejavniki, ki so prav tako prisotni v teh študijah, vplivajo na končni rezultat.

Metaanaliza študij na temo preučevanja učinkov povečane atmosferske koncentracije CO₂ na kolonizacijo korenin z arbuskularnimi mikoriznimi glivami je podala pritrden odgovor na vprašanje, če se kolonizacija korenin z AM glivami poveča v razmerah s povečano vsebnostjo CO₂ v ozračju. To ni presenetljivo, na nek način je to že dlje časa stoječa paradigma, saj se večina raziskav na to temo začne s predpostavko, da se bo v razmerah s povečano atmosfersko koncentracijo CO₂ tudi kolonizacija korenin z AM glivami povečala. Obstoj takšne paradigme že v času, ko pozitiven odziv AM glivne kolonizacije na povečanje vsebnosti CO₂ še ni bil potrjen, je omogočilo dobro poznavanje fiziološkega odziva rastlin na povečano vsebnost CO₂ v ozračju ter poglobljeno poznavanje same simbiotske zveze med rastlino in AM glivo.

Rezultati metaanalize, opravljene na 29 študijah odziva kolonizacije korenin AM gliv na povečanje CO₂, so v povprečju pokazali 17-odstotno povečanje AM kolonizacije v okolju s povečano koncentracijo CO₂, kar je nekoliko manj, kot poročajo Alberton s sodelavci (2005) v svoji metaanalizi, katere rezultati so pokazali v povprečju 21-odstotno povečanje, kar je znatno manj, kot poroča Tresederjeva (2004) v svoji študiji, kjer je rezultat metaanalize pokazal v povprečju 47-odstotno povečanje AM kolonizacije. Slednja metaanaliza je bila izvedena na premajhnem vzorcu študij, da bi bila reprezentativna (6 študij), zato je smotrna zgolj primerjava z analizo Albertona in sodelavcev (2005). Razlog za razliko med metaanalizo, opisano v tej zaključni nalogi, in tisto, ki so jo opravili Alberton in sodelavci (2005), je večji vzorec uporabljenih študij v tukaj opisani metaanalizi (5 več).

Ocena kolonizacije korenin z AM glivami, vzorcev rastlin, ki so rastle v zaplinjenih obrokih poskusa GiFACE, je pokazala visoko stopnjo kolonizacije, ampak nobene statistično značilne razlike v AM kolonizaciji med testnimi (zaplinjenimi) in kontrolnimi (nezaplinjenimi) vzorci. To je presenetljivo glede na to, da je metaanaliza pokazala jasen

trend povečanja kolonizacije korenin z AM glivami v rastlinah, ki so rastle v razmerah s povečano vsebnostjo CO₂. Takšen rezultat ni popolnoma nepričakovan. V podobnih študijah na vzorcih korenin rastlin, ki so rastle v poskusih FACE, so Runion in sodelavci (1994) ter Garcia in sodelavci (2008) prav tako poročali, da niso zaznali statistično merljive razlike v kolonizaciji korenin z AM glivami med vzorci, ki so rastle v zaplinjenih in nezaplinjenih območjih. Vsebnost CO₂ v zaplinjenih območjih teh dveh poskusov FACE je bila nekoliko višja (550 ppm), kot je v testnih razmerah poskusa GiFACE, ampak še vedno nizka glede na ostale poskuse FACE. V študiji Garcia in sodelavcev je bila preučevana gozdna združba z dominantno vrsto *Pinus taeda*, v študiji Runiona in sodelavcev pa so preučevali monokulturni nasad bombaža (*Gossypium hirsutum*). Navkljub temu, da so si preučevane skupine rastlin medsebojno zelo različne, v nobeni od raziskav ni bilo mogoče zaznati razlik v AM kolonizaciji med vzorci iz testnih (zaplinjenih) in kontrolnih (nezaplinjenih) razmer.

Eden izmed možnih razlogov za takšen rezultat pri vzorcih korenin rastlin, ki so rastle v poskusu GiFACE, je to, da je odziv AM kolonizacije na povečano koncentracijo CO₂ v poskusih FACE statistično nižji kot pri poskusih z uporabo zaprtih komor. Rezultati meta-regresijske analize vpliva tipa zaplinjevalnega poskusa na kolonizacijo korenin z AM glivami v razmerah s povečano vsebnostjo CO₂ so pokazali, da je odziv AM glivne kolonizacije na povečanje CO₂ šibkejši pri rastlinah, ki so rastle v poskusih FACE in v odprtih komorah, kot pri rastlinah, ki so rastle v zaprtih zaplinjevalnih komorah. Možen razlog za to je vpliv zunanjih dejavnikov na rastline. Navkljub temu da mikroklima v odprtih komorah ni popolnoma enaka kot v ambientalnih razmerah, so rastline, ki rastejo v njih, enako kot rastline, ki rastejo v poskusih FACE, izpostavljene zunanjim dejavnikom, kar bi lahko bil razlog za, v povprečju, nižji odziv AM kolonizacije na povečano koncentracijo CO₂ pri teh dveh zaplinjevalnih sistemih. O podobnem rezultatu sta v svoji metaanalizi poročala Ainsworth in Long (2005), ki sta preučila odziv pridelka kulturnih rastlin, ki so rastle v poskusih FACE na povečanje atmosferske koncentracije CO₂. Odziv rastlin iz poskusov FACE je bil nižji kot pri rastlinah, ki so rastle v zaplinjevalnih komorah. Ker sta tako produkcija plodov kot kolonizacija korenin z AM glivami odvisna od stopnje fotosinteze in posledične rastlinske produkcije organskega ogljika, ni nesmiselno predpostaviti, da za obema pojavoma stoji isti vzrok.

Drug zelo verjeten vzrok za takšen rezultat je nizka koncentracija CO₂ v zaplinjenih območjih poskusa GiFACE. Razlika v koncentraciji CO₂ med tremi nezaplinjenim in zaplinjenim območjem poskusa GiFACE, kjer so bili naši vzorci odvzeti, je zgolj 20 % (400 ppm in 480 ppm). Ta razlika je manjša, kot je bila pri katerikoli drugi do sedaj opravljeni študiji zaplinjevanja vegetacije s CO₂, kjer je bila merjena tudi kolonizacija korenin z AM glivami. Zaradi tega ni mogoče interpretirati rezultatov s pomočjo meta-regresijske analize, s katero smo preverjali odziv AM kolonizacije glede na koncentracijo CO₂ v testnih

razmerah. Poleg tega, da rezultati meta-regresijske analize ne segajo do dovolj nizkih vrednosti CO₂, da bi bili relevantni za rezultate iz poskusa GiFACE, je prisoten še drug problem. Pri najnižjih vrednostih CO₂ (okoli 550 ppm) je večina meritev v tej meta-regresijski analizi opravljena na rastlinah, ki so rastle v zaplinjevalnih komorah. Poskusi v komorah pa, kot je bilo že omenjeno, podajo večji odziv kolonizacije korenin z AM glivami v povečanem CO₂, kot pa poskusi FACE. Zato so ti rezultati relevantni zgolj za študije, opravljene na vzorcih korenin rastlin, ki so rastle v zaprtih zaplinjevalnih komorah, in ne v FACE zaplinjevalnih sistemih.

Tretji možen vzrok za dobljen rezultat pri vzorcih iz poskusa GiFACE je pa čas vzorčenja. Meta-regresijska analiza vpliva trajanja poskusa na odziv AM kolonizacije je pokazala nejasen trend nižanja odziva AM kolonizacije na povečano vsebnost CO₂ s daljšim trajanjem poskusa, kadar je bila uporabljena zvezna spremenljivka. Uporaba kategorične spremenljivke je pa pokazala nekoliko bolj jasno distribucijo. Avtorji v študijah, ki so bile krajše od 4 mescev in dalje od 8 mescev, so poročali o manjšem povečanju AM glivne kolonizacije v odziv na povečano koncentracijo CO₂ kot v študijah, ki so se zaključile v vmesnem obdobju. Ker so testne rastline v večini obravnavanih študij bile sveže zasajene na začetku samega poskusa (z izjemo študij na poskusih FACE in redkih študij z odprtimi komorami) je možen razlog za takšno distribucijo to, da so rastline bile v času vzorčenja v vrhuncu rastne sezone. Sodeč po ugotovitvah Kabira in sod. (1997) je na vrhuncu rastne sezone tudi kolonizacija korenin z AM glivami največja. Zaradi tega je bila v tem času verjetno tudi največja razlika v kolonizaciji korenin z AM glivami med rastlinami, ki so rastle v razmerah z ambientalno in povečano koncentracijo CO₂. Uporabljeni vzorci iz poskusa GiFACE so bili vzorčeni zgolj enkrat na začetku rastne sezone, kadar je bila teoretično prisotna nižja stopnja AM kolonizacije kot na višku rastne sezone poleti. Enkratno vzorčenje bi lahko potencialno bilo vzrok za nevtralen odziv AM kolonizacije na povečano koncentracijo atmosferskega CO₂. Žal tega ni mogoče ne potrditi niti ovreči, kajti večjega števila vzorcev, ki bi bili odvzeti kasneje v rastni sezoni, ni bilo mogoče pridobiti. Vzorčenje rastlinskih korenin je destruktivne narave in zato lahko vpliva na druge parametre in meritve v poskusu, ki potekajo vzporedno z našimi, to pa načeloma ni zaželeno.

Poleg naštetih razlogov je tudi možen, a malo verjeten razlog za opazovan rezultat bogatenje tal z dušikom v poskusu GiFACE. Meta-regresijska analiza odziva AM kolonizacije na povečanje koncentracije CO₂, kjer je bil preučeni dejavnik prisotnost dušika v tleh, je nakazala nevtralen ali celo negativen odziv AM kolonizacije na omenjeni dejavnik. Poleg tega so avtorji v prej omenjeni sorodni študiji poročali o zmanjšanju kolonizacije korenin rastlin, ki so rastle v razmerah s povečano vsebnostjo CO₂, kadar je bil tlom dodan dušik (Garcia in sod. 2008). Navkljub dejstvu, da je dodajanje dušika očitno pomemben dejavnik, ki vpliva na kolonizacijo korenin z AM glivami, presenetljivo, ta

dejavnik ni imel znatnega vpliva na AM kolonizacijo vzorcev korenin iz poskusa GiFACE. Dodajanje dušika v splošnem namreč ne glede na koncentracijo CO₂, v kateri rastline rastejo, negativno vpliva na kolonizacijo korenin z AM glivami (Hu in sod. 2005, Drigo in sod. 2008). AM kolonizacija v vzorcih korenin rastlin iz poskusa GiFACE pa je bila zelo visoka, ne glede na razmerah, v katerih so rastline rastle. To visoko vsebnost AM gliv v koreninah je neodvisno potrdila tudi genetska raziskava (neobjavljeni rezultati).

Rezultati preostalih meta-regresijskih analiz niso bili uporabljeni pri interpretaciji rezultatov poskusa GiFACE, ker niso bili neposredno uporabni pri razumevanju dobljenega rezultata. Rezultati preostalih meta-regresijskih analiz sami po sebi ponujajo globlji vpogled v dinamiko odziva kolonizacije korenin z AM glivami v zaplinjevalnih poskusih. Meta-regresijske analize so pokazale razlike v povečanju kolonizacije korenin z AM glivami v razmerah s povečano vsebnostjo CO₂ glede na funkcionalni tip rastline. Povečanje AM kolonizacije v odziv na povečano koncentracijo CO₂ je bilo najbolj izrazito pri travah (s C3 metabolizmom). Možen razlog za takšen rezultat je dovzetnost finega koreninskega sistema trav na napad patogenov. Visoka stopnja kolonizacije z AM glivami pomaga zmanjšati možnost, da pride do napada, kar povzroči visoko stopnjo AM glivne kolonizacije, koristna za trave (Gamper in sod. 2004). Podobno kot za dodajanje dušika so meta-regresijske analize pokazale, da ima dodajanje NPK gnojil rastlinam ob zalivanju prav tako negativen vpliv na povečanje kolonizacije korenin z AM glivami v odziv na povečano vsebnost CO₂.

Za nekatere dejavnike meta-regresijske analize niso mogle razkriti kolikšen vpliv imajo na AM kolonizacijo rastlin, ki so rastle v razmerah s povečano vsebnostjo CO₂. Eden takšnih dejavnikov je dodajanje inokuluma. Z meta-regresijsko analizo nismo mogli odgovoriti na vprašanje, kako vpliva dodajanje inokuluma na povečanje AM kolonizacije v odziv na povečano vsebnost CO₂, saj je bil inokulum vedno prisoten. Kadar ni bil fizično dodan, je bil prisoten že v tleh, ker so bila tla odvzeta iz naravnih rastišč. Prav tako meta-regresijska analiza ni mogla pokazati razlik v pojavnosti hif, arbuskulov in veziklov med koreninami rastlin, ki so rastle v zaplinjenih in nezaplinjenih razmerah, kljub temu da so se pričakovale razlike, saj so Fitter in sodelavci (1998) v svoji študiji zaznali povečano pojavnost veziklov v koreninah rastlin, ki so bile izpostavljene povečani koncentraciji CO₂. Razlog za to so pripisali povečanemu skladiščenju ogljika v AM glivah zaradi povečane produkcije fotoasimilatov v gostiteljskih rastlinah, ki so rastle v okolju s povečano koncentracijo CO₂.

V analizo žal ni bilo mogoče vključiti večjega nabora dejavnikov, ki bodisi direktno vplivajo na stopnjo kolonizacije korenin z AM glivami v razmerah s povečano vsebnostjo CO₂, kot npr. temperatura in količina svetlobe (Stadon in sod. 2004, Johnson in sod. 2005) ali pa vnesejo napake v meritve, kot npr. način odvzema vzorcev (Rilling in Field 2003), ker enostavno ni dovolj velikega števila tovrstnih študij na voljo. Žal tudi ni za pričakovati, da bo kdaj možno narediti mnogo obsežnejšo analizo vpliva vseh naštetih dejavnikov na

kolonizacijo korenin z AM glivami v razmerah s povečano koncentracijo CO₂, saj so študije kolonizacije čedalje redkejša zaradi popularnosti in pomembnosti populacijskih študij in študij sestave združb, ki se izvajajo s pomočjo metod naslednje generacije sekvenciranja. Tvrstne študije postajajo zaradi vedno večje dostopnosti teh metod tudi vedno pogostejše in vnesejo kvalitativno komponento v razumevanju odziva AM gliv na povišan CO₂ ali katerikoli drug faktor. V tovrstnih študijah je prihodnost preučevanja odziva AM gliv na povečanje vsebnosti CO₂ v ozračju, saj je razumevanje odziva gliv na nivoju populacije in združbe izredno pomembno pri predvidevanju sprememb, ki se bodo zgodile na nivoju ekosistemov.

5 ZAKLJUČEK

Za zaključno delo sem izvedel metaanalizo študij, v katerih je bil preučen odziv kolonizacije korenin z arbuskularnimi mikoriznimi (AM) glivami na vzorcih rastlin, ki so rastle v okolju s povečano atmosfersko koncentracijo CO₂. Poleg metaanalize sem za zaključno delo izvedel tudi lastno oceno kolonizacije vzorcev korenin rastlin, ki so rastle v okolju s povečano vsebnostjo CO₂. Vzorci teh rastlin so bili iz poskusa s povečano koncentracijo CO₂ FACE (Free Air Carbon dioxide Enrichment) v Giessnu (Nemčija), kjer že od leta 1995 nepretrgoma zaplinjujejo naravno vegetacijo (travišče) s CO₂ (480 ppm). Rezultati metaanalize so pokazali, da so se v obravnavanih raziskavah AM glive na povečanje CO₂ koncentracij v ozračju (v območju med 540 in 740 ppm) odzvale v povprečju s 17-odstotnim povečanjem kolonizacije korenin. S pomočjo regresijskih analiz podatkov metaanalize (meta-regresijskih analiz) je bilo mogoče poleg te osnove predpostavke dokazati, da dodajanje gnojila v obliki dušika lahko spremeni kolonizacijo korenin z AM glivami do te mere, da spremeni končni izid tovrstnih študij. Poleg tega so rezultati meta-regresijskih analiz pokazali, da so trave funkcionalni tip rastline, pri kateri se kolonizacije korenin z AM glivami najbolj poveča v okolju s povečano koncentracijo CO₂, da dodajanje NPK hranil negativno vpliva na kolonizacijo korenin z AM glivami v razmerah s povečano vsebnostjo CO₂, ter da je odziv AM kolonizacije na povečanje CO₂ koncentracije najbolj izrazit pri poskusih, ki trajajo med 4 in 8 mesecev.

V vzorcih korenin iz poskusa GiFACE, ki so bili obarvani s tripanskim modrilom in evalvirani za AM kolonizacijo, je bila prisotna visoka stopnja kolonizacije z AM glivami, ampak v nasprotju s pričakovanji ni bilo mogoče zaznati statistično značilnega povečanja stopnje kolonizacije v vzorcih rastlin, ki so rastle v razmerah s povečano vsebnostjo atmosferskega CO₂. Rezultati meta-regresijskih analiz in primerjave s sorodnimi študijami je razkrila, da je za takšen rezultat verjetno posledica nizke vsebnosti atmosferskega CO₂ v testnih razmerah poskusa GiFACE (480 ppm), vzorčenje zgodaj v rastni sezoni, ter novo razkrita specifika poskusov FACE. Rezultati naše meta-regresijske analize vpliva zaplinjevalnega sistema na AM kolonizacijo namreč kažejo na to, da je odziv kolonizacije korenin z AM glivami v okolju s povečano vsebnostjo CO₂ nižji v poskusih FACE kot v poskusih, opravljenih z zaplinjevalnimi komorami. Ta rezultat je v skladu s poročanji avtorjev, ki so izvedli sorodno metaanalizo, ki je pokazala, da imajo plodovi rastlin iz poskusov FACE nižjo biomaso kot plodovi rastlin iz poskusov v komorah. Rezultati naše študije tako kažejo na scenarij, kjer bo povečanje atmosferske koncentracije CO₂ v naslednjem stoletju resnično imelo vpliv na arbuskularne mikorizne glive, ampak bo ta vpliv manj izrazit, kot je običajno predstavljen v študijah, saj je večina študij na to temo opravljenih z uporabo zaprtih zaplinjevalnih komor, ki podajo preveč optimistične rezultate odziva AM gliv na povečano atmosfersko koncentracijo CO₂.

6 LITERATURA

Abbasi M.K., Muller C. 2011. Trace gas fluxes of CO₂, CH₄ and N₂O in a permanent grassland soil exposed to elevated CO₂ in the Giessen FACE study. *Atmospheric Chemistry and Physics* 11: 9333–9342.

Ainsworth E.A., Long S.P. 2005. What have we learned from 15 years of free-air CO₂ enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy properties and plant production to rising CO₂. *New Phytologist* 165: 351–371.

Alberton O., Kuyper T.W., Gorissen A. 2005. Taking mycocentrism seriously: mycorrhizal fungal and plant responses to elevated CO₂. *New Phytologist* 167: 859–868.

Allen L.H. 1992. Free-air CO₂ enrichment field experiments: An historical overview. *Critical Reviews in Plant Sciences* 11: 121-134.

Baslam M., Erice G., Goicoechea N. 2012. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and atmospheric CO₂ concentration on the biomass production and partitioning in the forage legume alfalfa. *Symbiosis* 58: 171-181.

Bonfante P., Genre A. 2008. Plants and arbuscular mycorrhizal fungi: an evolutionary-developmental perspective. *Trends in Plant Science* 13: 492-498.

Chen X., Tu C., Burton M.G., Watson D.M., Burkey K.O., Hu S. 2007. Plant nitrogen acquisition and interactions under elevated carbon dioxide: impact of endophytes and mycorrhizae. *Global Change Biology* 13: 1238–1249.

Constable J.V., Bassirirad H., Lussenhop J., Zerihun A. 2000. Influence of elevated CO₂ and mycorrhizae on nitrogen acquisition: contrasting responses in *Pinus taeda* and *Liquidambar styraciflua*. *Tree Physiology* 21: 83–91.

DerSimonian R., Laird N. 1998. Meta-analysis in clinical trials. *Controlled Clinical Trials* 7: 177-88.

Dhillion S.S., Roy J., Abrams M. 1996. Assessing the impact of elevated CO₂ on soil microbial activity in a Mediterranean model ecosystem. *Plant and Soil* 187: 333-342.

Drigo B., Kowalchuk G.A., Yergeau E., Bezmer T.M., Boschker H.T.S., van Veen J.A. 2007. Impact of elevated carbon dioxide on the rhizosphere communities of *Carex arenaria* and *Festuca rubra*. *Global Change Biology* 13: 2396–2410.

Dringo B., Kowalchuk G.A., van Veen J.A. 2008. Climate change goes underground: effects of elevated atmospheric CO₂ on microbial community structure and activities in the rhizosphere. *Biology and Fertility of Soils* 44: 667–679.

Egger M., Smith G.D., Schnieder M., Minder C. 1997. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ* 315: 629–634.

Field C.B., Barros V.R., Dokken D.J., Mach K.J., Mastrandrea M.D., Bilir T.E., Chatterjee M., Ebi K.L., Estrada Y.O., Genova R.C., Girma B., Kissel E.S., Levy A.N., MacCracken S., Mastrandrea R.R., White L.L, 2014. Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part A: Global and Sectoral Aspects. Contribution of Working Group II to

the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. IPCC 2014. Cambridge University Press: 0-1132.

Fitter A.H., Graves J.D., Watkins N.K., Robinson D., Scrimgeour C. 1998. Carbon transfer between plants and its control in networks of arbuscular mycorrhizas. *Functional Ecology* 12: 406–412.

Fitter A.H., Heinemeyer A., Staddon P.L. 2000. The impact of elevated CO₂ and global climate change on arbuscular mycorrhizas: a mycocentric approach. *New Phytologist* 147: 179–187.

Fitter A.H. 2005. Darkness visible: reflections on underground ecology. *Journal of Ecology* 93: 231–243.

Gamper H., Peter M., Jansa J., Luscher A., Hartwig U.A., Leuchtmann A. 2004. Arbuscular mycorrhizal fungi benefit from 7 years of free air CO₂ enrichment in well-fertilized grass and legume monocultures. *Global Change Biology* 10: 189–199.

Garcia M.O., Ovasapyan T., Greas M., Treseder K.K. 2008. Mycorrhizal dynamics under elevated CO₂ and nitrogen fertilization in a warm temperate forest. *Plant and Soil* 303: 301–310.

Gavito M.E., Curtis P.S., Mikkelsen T.N., Jakobsen I. 2000. Atmospheric CO₂ and mycorrhiza effects on biomass allocation and nutrient uptake of nodulated pea (*Pisum sativum* L.) plants. *Journal of experimental Botany* 51: 1931–1938.

Gavito M.E., Bruhn D., Jakobsen I. 2002. Phosphorus uptake by arbuscular mycorrhizal hyphae does not increase when the host plant grows under atmospheric CO₂ enrichment. *New Phytologist* 154: 751–760.

Gavito M.E., Schweiger P., Jakobsen I. 2003. P uptake by arbuscular mycorrhizal hyphae: effect of soil temperature and atmospheric CO₂ enrichment. *Global Change Biology* 9, 106–116.

Godbold D.L., Bernston G.M., Bazzaz F.A. 1997. Growth and mycorrhizal colonization of three North American tree species under elevated atmospheric CO₂. *New Phytologist* 137: 433–440.

Google scholar, <https://scholar.google.si> (datum dostopa: 15. 6. 2015)

Gurevitch J., Hedges V.L. 2001. Meta-analysis: combining the results of independent experiments. In: Scheiner SM, Gurevitch J, eds. *Design and analysis of ecological experiments*, 2nd edn. Oxford, UK: Oxford University Press, 347–369.

Hartwig U.A., Wittmann P., Braun R., Hartwig-Rätz B., Jansa J., Mozafar A., Lüscher A., Leuchtmann A., Frossard E., Nösberger J. 2002. Arbuscular mycorrhiza infection enhances the growth response of *Lolium perenne* to elevated atmospheric pCO₂. *Journal of Experimental Biology* 53: 1207–1213.

Hempel S., Renker C., Buscot F. 2007. Differences in the species composition of arbuscular mycorrhizal fungi in spore, root and soil communities in a grassland ecosystem. *Environmental Microbiology* 9: 1930–1938.

Hu S., Wu J., Burkey K.O., Firestone M.K. 2005. Plant and microbial N acquisition under elevated atmospheric CO₂ in two mesocosm experiments with annual grasses. *Global Change Biology* 11: 213–223.

Jäger H.J., Schmidt S.W., Kammann C., Grünhage L., Müller C., Hanewald K. 2003. The University of Giessen Free-Air Carbon Dioxide Enrichment Study: Description of the Experimental Site and of a New Enrichment System. *Journal of Applied Botany* 77: 117 – 127.

Jifon J.L., Graham J.H., Drouillard D.L., Syvertsen J.P. 2002. Growth depression of mycorrhizal Citrus seedlings grown at high phosphorus supply is mitigated by elevated CO₂. *New Phytologist* 153: 133–142.

Johnson N.C., Wolf J., Reyes M.A., Panter A., Koch G.W., Redman A. 2005. Species of plants and associated arbuscular mycorrhizal fungi mediate mycorrhizal responses to CO₂ enrichment. *Global Change Biology* 11: 1156–1166.

Johnson N.C., Angelard C., Sanders I.R., Kiers E.T. 2013. Predicting community and ecosystem outcomes of mycorrhizal responses to global change. *Ecology Letters* 16: 140–153.

Jongen M., Fay P., Jones M.B. 1996. Effects of elevated carbon dioxide and arbuscular mycorrhizal infection on *Trifolium repens*. *New Phytologist* 132: 413–423.

Kabir Z., O'Halloran I.P., Fyles J.W., Hamel C. 1997. Seasonal changes of arbuscular mycorrhizal fungi as affected by tillage practices and fertilization: Hyphal density and mycorrhizal root colonization. *Plant and Soil* 192: 285–293.

Klironomos J.N., Rillig M.C., Allen M.F. 1996. Below-ground microbial and microfaunal responses to *Artemisia tridentata* grown under elevated atmospheric CO₂. *Functional Ecology* 10: 527–534.

Klironomos J.N., Rillig M.C., Allen M.F., Zak D.R., Kubiske M., Pregitzer K.S. 1997. Soil fungal – arthropod responses to *Populus tremuloides* grown under enriched atmospheric CO₂ under field conditions. *Global change Biology* 3: 473–478.

Klironomos J.N., Ursic M., Rilling M., Allen M.F. 1998. Interspecific differences in the response of arbuscular mycorrhizal fungi to *Artemisia tridentata* grown under elevated atmospheric CO₂. *New Phytologist* 138: 599–605.

Klironomos J.N., Allen M.F., Rillig M.C., Piotrowski J., Makvandi-Nejad S., Wolfe B.E., Powell J.R. 2005. Abrupt rise in atmospheric CO₂ overestimates community response in a model plant–soil system. *Nature* 433: 621–624.

Koske R.E., Gemma J.N. 1989. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycological Research* 92: 486–488.

Lenhart K. 2008. The effects of long-term Free Air CO₂ Enrichment (FACE) on soil aggregation, soil carbon input, and ecosystem CO₂ dynamics in a temperate grassland ecosystem. Doktorska disertacija, Justus-Liebig-Universität Gießen.

Lewis S., Clarke M. 2001. Forest plots: trying to see the wood and the trees. *BMJ* 322: 1479–1480.

Lussenhop J., Treonis A., Curtis P.S., Teeri J.A., Vogel C.S. 1998. Response of soil biota to elevated atmospheric CO₂ in poplar model systems. *Oecologia* 113: 247–251.

McLeod A.R., Long S.P. 1999. Free-air Carbon Dioxide Enrichment (FACE) in Global Change Research: A Review. *Advances in Ecological Research* 28: 1–56.

Monz C.A., Hunt H.W., Reeves F.B., Elliott E.T. 1994. The response of mycorrhizal colonization to elevated CO₂ and climate change in *Pascopyrum smithii* and *Bouteloua gracilis*. *Plant and Soil* 165: 75–80.

Mycocalc, <http://www.dijon.inra.fr/mychintec/Mycocalc-prg/download.html> (datum dostopa: 15. 6. 2015)

Norby R.J., O'Neill E.G., Luxmoore R. J. 1986. Effects of atmospheric CO₂, enrichment on the growth and mineral nutrition of *Quercus alba* seedlings in nutrient-poor soil. *Plant Physiology* 82: 83–89.

Norby R.J., Luxmoore R.J., O'Neill E.G., Weller D.G. 1994. Plant responses to atmospheric CO₂ with emphasis on belowground processes. *Environmental Pollution* 83: 155–189.

Olesniewicz K.S., Thomas R.B. 1999. Effects of mycorrhizal colonization on biomass production and nitrogen fixation of black locust (*Robinia pseudoacacia*) seedlings grown under elevated atmospheric carbon dioxide. *New Phytologist* 142: 133–140.

Olsrud M., Melillo J.M., Christensen T.R., Michelsen A., Wallander H., Olsson P.A. 2005. Response of ericoid mycorrhizal colonization and functioning to global change factors. *New Phytologist* 162: 459–469.

O'Neill E.G., Luxmoore R., Norby R.J. 1987. Increases in mycorrhizal colonization and seedling growth in *Pinus echinata* and *Quercus alba* in an enriched CO₂ atmosphere. *Canadian Journal of Forest Research* 17: 878–883.

Parniske M. 2008. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature reviews Microbiology* 6: 763–775.

Phillips J.M., Hayman D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55: 158–161.

R Core Team. 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

Reinhardt D. 2007. Programming good relations development of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Current Opinion in Plant Biology* 10: 98–105.

Remy W., Taylor T.N., Hass H., Kerp H. 1994. Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 91: 11841–11843.

Rillig M.C., Allen M.F., Klironomos J.N., Chiariello N.R., Field C.B. 1998a. Plant species-specific changes in root-inhabiting fungi in a California annual grassland: responses to elevated CO₂ and nutrients. *Oecologia* 113: 252–259.

Rillig M.C., Allen M.F., Klironomos J.N., Field C.B. 1998b. Arbuscular mycorrhizal percent root infection and infection intensity of *Bromus hordeaceus* grown in elevated atmospheric CO₂. *Mycologia* 90: 199–205.

Rilling M.C., Allen M.F. 1998c. Arbuscular mycorrhizae of *Gutierrezia sarothrae* and elevated carbon dioxide: evidence for shifts in C allocation to and within the mycobiont. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 2001–2008.

Rillig M.C., Field C.B., Allen M.F. 1999. Soil biota responses to long-term atmospheric CO₂ enrichment in two California annual grasslands. *Oecologia* 119: 572–577.

Rilling M.C., Field C.B. 2003. Arbuscular mycorrhizae respond to plants exposed to elevated atmospheric CO₂ as a function of soil depth. *Plant and Soil* 254: 383–391.

Rogers H.H., Prior S.A., O'Neill E.G. 1992. Cotton roots and rhizosphere responses to free-air CO₂ enrichment. *Critical Reviews of Plant Science* 11: 251–263.

Rouhier H., Read D.J. 1998. The role of mycorrhiza in determining the response of *Plantago lanceolata* to CO₂ enrichment. *New Phytologist* 139: 367–373.

Runion G.B., Curl E.A., Rogers H.H., Backman P.A., Rodríguez-Kábana R., Helms B.E. 1994. Effects of free-air CO₂ enrichment on microbial populations in the rhizosphere and phyllosphere of cotton. *Agricultural and Forest Meteorology* 70: 117–130.

Sanders I.R., Streitwolf-Engel R., van der Heijden M.G.A., Boller T., Wiemken A. 1998. Increased allocation to external hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi under CO₂ enrichment. *Oecologia* 117: 496–503.

Schußler A., Schwarzott D., Walker C. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research* 105: 1413–1421.

Science direct, <http://www.sciencedirect.com> (datum dostopa: 15. 6. 2015)

Staddon P.L., Jakobsen I., Blum H. 2004. Nitrogen input mediates the effect of free-air CO₂ enrichment on mycorrhizal fungal abundance. *Global Change Biology* 10: 1678–1688.

Sterne J.A.C., Egger M. 2001. Funnel plots for detecting bias in meta-analysis: Guidelines on choice of axis. *Journal of Clinical Epidemiology* 54: 1046–1055.

Tang J., Xu L., Chen X., Hu S. 2009. Interaction between C₄ barnyard grass and C₃ upland rice under elevated CO₂: Impact of mycorrhizae. *Acta oecologica* 35: 227–235.

Treseder K.K. 2004. A meta-analysis of mycorrhizal responses to nitrogen, phosphorus, and atmospheric CO₂ in field studies. *New Phytologist* 164: 347–355.

Trouvelot A., Kough J.L., Gianinazzi-Pearson V. 1986. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification

fonctionnelle. *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*. INRA Press Paris: 217–221.

Viechtbauer W. 2010. Conducting meta-analyses in R with the metafor package. *Journal of Statistical Software* 36: 1–48.

Wang B., Yeun L.H., Xue J.Y., Liu Y., Ane J.M., Qiu Y.L. 2009. Presence of three mycorrhizal genes in the common ancestor of land plants suggests a key role of mycorrhizas in the colonization of land by plants. *New Phytologist* 186: 514–525.

Willis A., Rodrigues B.F., Harris P.J.C. 2012. The Ecology of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Critical Reviews in Plant Sciences* 32: 1–20.

PRILOGE

Priloga A: Preglednica meritev iz 29 študij, uporabljenih v metaanalizi.

Učinek povišane atmosferske koncentracije CO ₂ na kolonizacijo korenin z arbuskularnimi mikoriznimi glivami														
Vrsta rastline	Tip poskusa	Avtor	Trajanje(L)	Inokulum	Povp. kontrole	Povp. testne	SD kontrole	SD testne	Št. ponovitev	Konc. (ppm)	Merjenja količina	Zalivanje	Stanje dušika	RP
<i>Artemisia tridentata</i>	Zaprte komore	Klironomos in sod. 1996	0,22	Brez	36,85	48,61	28,40	24,54	20	700	% Arbuskuli	Voda		1,32
<i>Artemisia tridentata</i>	Zaprte komore	Klironomos in sod. 1996	0,22	Brez	31,36	29,01	16,83	21,04	20	700	% Vezikli	Voda		0,93
<i>Artemisia tridentata</i>	Zaprte komore	Klironomos in sod. 1996	0,22	Brez	43,03	54,77	17,49	26,24	20	700	% Hife	Voda		1,27
<i>Artemisia tridentata</i>	Zaprte komore	Klironomos in sod. 1996	0,22	Brez	28,46	13,72	22,79	17,53	20	700	% Arbuskuli	Polno hranilo		0,48
<i>Artemisia tridentata</i>	Zaprte komore	Klironomos in sod. 1996	0,22	Brez	32,93	38,42	17,53	22,79	20	700	% Vezikli	Polno hranilo		1,17
<i>Artemisia tridentata</i>	Zaprte komore	Klironomos in sod. 1996	0,22	Brez	38,14	29,34	26,24	30,62	20	700	% Hife	Polno hranilo		0,77
<i>Trifolium repens</i>	Zaprte komore	Jongen in sod. 1996	0,166	Dodan	3,40	6,10	0,66	0,33	4	700	% Hife	Polno hranilo		1,79
<i>Trifolium repens</i>	Zaprte komore	Jongen in sod. 1996	0,166	Dodan	29,00	35,00	3,03	3,03	4	700	% Hife	Polno hranilo		1,21
<i>Bromus madritensis</i>	Zaprte komore	Dhillion in sod. 1996	0,375	Brez	26,12	41,05	7,50	4,14	12	700	% Hife	Voda		1,57
<i>Bromus madritensis</i>	Zaprte komore	Dhillion in sod. 1996	0,375	Brez	4,18	12,76	1,55	4,39	12	700	% Arbuskuli	Voda		3,05
<i>Bromus madritensis</i>	Zaprte komore	Dhillion in sod. 1996	0,375	Brez	2,24	5,15	0,52	3,36	12	700	% Vezikli	Voda		2,30
<i>Gossypium hirsutum</i>	FACE	Runion in sod. 1994	0,2	Brez	36,50	37,60	3,68	3,96	8	550	% Hife	Voda		1,03
<i>Bromus inermis</i>	Zaprte komore	Klironomos in sod. 2005	6	Brez	38,20	34,90	9,68	11,23	15	550	% Hife	Polno hranilo		0,91
<i>Bromus inermis</i>	Zaprte komore	Klironomos in sod. 2005	6	Brez	38,20	36,30	9,68	12,01	15	550	% Hife	Polno hranilo		0,95
<i>Liquidambar styraciflua</i>	Oprte komore	Constable in sod. 2000	0,5	Dodan	21,00	55,20	12,07	8,05	20	550	% Hife	Polno hranilo		2,63
<i>Pisum sativum</i>	Zaprte komore	Gavtio in sod. 2000	0,17	Dodan	62,00	62,00	9,80	9,80	6	700	% Hife	Polno hranilo		1,00
<i>Pisum sativum</i>	Zaprte komore	Gavtio in sod. 2000	0,17	Dodan	53,00	53,00	7,35	9,80	6	700	% Arbuskuli	Polno hranilo		1,00
<i>Pisum sativum</i>	Zaprte komore	Gavtio in sod. 2000	0,096	Dodan	76,00	63,00	7,35	17,15	6	700	% Hife	Polno hranilo		0,83
<i>Pisum sativum</i>	Zaprte komore	Gavtio in sod. 2000	0,096	Dodan	67,00	58,00	7,35	19,60	6	700	% Arbuskuli	Polno hranilo		0,87
<i>Pisum sativum</i>	Zaprte komore	Gavtio in sod. 2002	0,09	Dodan	36,10	36,80	36,84	46,17	10	700	% Hife	Polno hranilo		1,02
<i>Pisum sativum</i>	Zaprte komore	Gavtio in sod. 2002	0,09	Dodan	48,60	44,00	42,85	45,38	10	700	% Hife	Polno hranilo		0,91
<i>Pisum sativum</i>	Zaprte komore	Gavtio in sod. 2002	0,156	Dodan	77,30	68,00	64,83	68,94	10	700	% Hife	Polno hranilo		0,88
<i>Pisum sativum</i>	Zaprte komore	Gavtio in sod. 2002	0,156	Dodan	65,40	65,20	45,85	71,15	10	700	% Hife	Polno hranilo		1,00
<i>Lolium perenne</i>	Zaprte komore	Hartwig in sod. 2002	0,12	Dodan	12,00	23,75	6,48	6,48	8	560	% Hife	Polno hranilo	Malo dušika	1,98
<i>Lolium perenne</i>	Zaprte komore	Hartwig in sod. 2002	0,12	Dodan	11,25	20,63	6,48	6,48	8	560	% Hife	Polno hranilo	Veliko dušika	1,83
<i>Lolium perenne</i>	Zaprte komore	Hartwig in sod. 2002	0,164	Dodan	17,63	25,75	6,48	6,48	8	560	% Hife	Polno hranilo	Malo dušika	1,46
<i>Lolium perenne</i>	Zaprte komore	Hartwig in sod. 2002	0,164	Dodan	16,38	19,00	6,48	6,48	8	560	% Hife	Polno hranilo	Veliko dušika	1,16
<i>Avena fatua</i>	Zaprte komore	Hu in sod. 2005	0,21	Brez	11,41	18,77	8,72	12,35	120	700	% Hife	Voda		1,65
<i>Avena fatua</i>	Zaprte komore	Hu in sod. 2005	0,12	Brez	24,61	31,11	5,81	10,90	120	700	% Hife	Voda		1,26
<i>Citrus aurantium</i>	Zaprte komore	Jifon in sod. 2002	0,077	Dodan	9,10	9,20	11,60	9,90	8	700	% Hife	Polno hranilo		1,01
<i>Citrus aurantium</i>	Zaprte komore	Jifon in sod. 2002	0,115	Dodan	9,00	11,10	12,73	12,73	8	700	% Hife	Polno hranilo		1,23
<i>Citrus aurantium</i>	Zaprte komore	Jifon in sod. 2002	0,153	Dodan	9,00	7,90	12,73	11,03	8	700	% Hife	Polno hranilo		0,88
<i>Citrus aurantium</i>	Zaprte komore	Jifon in sod. 2002	0,21	Dodan	11,50	9,20	9,62	9,90	8	700	% Hife	Polno hranilo		0,80
<i>Citrus sinensis</i>	Zaprte komore	Jifon in sod. 2002	0,077	Dodan	12,30	12,50	13,29	10,75	8	700	% Hife	Polno hranilo		1,02
<i>Citrus sinensis</i>	Zaprte komore	Jifon in sod. 2002	0,115	Dodan	15,90	12,20	15,84	12,16	8	700	% Hife	Polno hranilo		0,77
<i>Citrus sinensis</i>	Zaprte komore	Jifon in sod. 2002	0,153	Dodan	14,10	12,50	15,27	10,75	8	700	% Hife	Polno hranilo		0,89
<i>Citrus sinensis</i>	Zaprte komore	Jifon in sod. 2002	0,21	Dodan	17,70	12,50	12,16	10,75	8	700	% Hife	Polno hranilo		0,71
<i>Lolium perenne</i>	FACE	Staddon in sod. 2004	10	Brez	36,98	28,46	24,07	8,24	12	600	% Hife	Voda	Malo dušika	0,77
<i>Lolium perenne</i>	FACE	Staddon in sod. 2004	10	Brez	46,89	32,18	14,84	1,98	12	600	% Hife	Voda	Malo dušika	0,69
<i>Lolium perenne</i>	FACE	Staddon in sod. 2004	10	Brez	45,65	47,98	26,71	23,74	12	600	% Hife	Voda	Malo dušika	1,05
<i>Trifolium repens</i>	FACE	Staddon in sod. 2004	10	Brez	31,54	16,47	24,07	4,29	12	600	% Hife	Voda	Malo dušika	0,52
<i>Trifolium repens</i>	FACE	Staddon in sod. 2004	10	Brez	24,40	25,04	9,56	16,16	12	600	% Hife	Voda	Malo dušika	1,03
<i>Trifolium repens</i>	FACE	Staddon in sod. 2004	10	Brez	19,44	19,42	9,89	15,17	12	600	% Hife	Voda	Malo dušika	1,00
<i>Trifolium repens + Lolium perenne (mešana)</i>	FACE	Staddon in sod. 2004	10	Brez	31,07	28,56	2,97	16,16	12	600	% Hife	Voda	Malo dušika	0,92
<i>Trifolium repens + Lolium perenne (mešana)</i>	FACE	Staddon in sod. 2004	10	Brez	43,36	30,84	19,13	7,58	12	600	% Hife	Voda	Malo dušika	0,71
<i>Trifolium repens + Lolium perenne (mešana)</i>	FACE	Staddon in sod. 2004	10	Brez	34,31	34,27	19,13	24,73	12	600	% Hife	Voda	Malo dušika	1,00
<i>Lolium perenne</i>	FACE	Staddon in sod. 2004	10	Brez	16,20	22,28	8,57	5,94	12	600	% Hife	Voda	Veliko dušika	1,38
<i>Lolium perenne</i>	FACE	Staddon in sod. 2004	10	Brez	21,73	27,04	3,63	12,53	12	600	% Hife	Voda	Veliko dušika	1,24
<i>Lolium perenne</i>	FACE	Staddon in sod. 2004	10	Brez	24,78	32,37	25,06	42,21	12	600	% Hife	Voda	Veliko dušika	1,31
<i>Trifolium repens</i>	FACE	Staddon in sod. 2004	10	Brez	7,15	13,99	6,27	10,55	12	600	% Hife	Voda	Veliko dušika	1,96
<i>Trifolium repens</i>	FACE	Staddon in sod. 2004	10	Brez	13,15	22,85	10,55	23,08	12	600	% Hife	Voda	Veliko dušika	1,74
<i>Trifolium repens</i>	FACE	Staddon in sod. 2004	10	Brez	8,96	14,95	10,55	13,19	12	600	% Hife	Voda	Veliko dušika	1,67
<i>Trifolium repens + Lolium perenne (mešana)</i>	FACE	Staddon in sod. 2004	10	Brez	12,67	20,56	2,97	16,49	12	600	% Hife	Voda	Veliko dušika	1,62
<i>Trifolium repens + Lolium perenne (mešana)</i>	FACE	Staddon in sod. 2004	10	Brez	12,77	19,61	11,54	6,60	12	600	% Hife	Voda	Veliko dušika	1,54
<i>Trifolium repens + Lolium perenne (mešana)</i>	FACE	Staddon in sod. 2004	10	Brez	18,11	21,52	11,21	27,70	12	600	% Hife	Voda	Veliko dušika	1,19

Priloga A: Preglednica meritev iz 29 študij, uporabljenih v metaanalizi (nadaljevanje).

<i>Pisum sativum</i>	Zaprte komore	Gavtio in sod. 2003	0,129	Brez	51,60	44,60	42,13	39,19	6	700	% Hife	Polno hranilo	0,86
<i>Pisum sativum</i>	Zaprte komore	Gavtio in sod. 2003	0,129	Brez	77,20	77,39	51,68	41,89	6	700	% Hife	Polno hranilo	1,00
<i>Pisum sativum</i>	Zaprte komore	Gavtio in sod. 2003	0,129	Dodan	33,40	36,80	37,72	84,38	6	700	% Hife	Polno hranilo	1,10
<i>Pisum sativum</i>	Zaprte komore	Gavtio in sod. 2003	0,129	Dodan	70,00	62,90	26,45	29,39	6	700	% Hife	Polno hranilo	0,90
<i>Tsuga canadensis</i>	Zaprte komore	Godbold in sod. 1997	0,67	Brez	18,00	26,40	7,20	10,80	9	700	% Hife	Voda	1,47
<i>Artemisia tridentata</i>	Zaprte komore	Klironomos in sod. 1998	0,31	Dodan	41,75	58,60	16,21	18,99	10	700	% Hife	Polno hranilo	1,40
<i>Artemisia tridentata</i>	Zaprte komore	Klironomos in sod. 1998	0,31	Dodan	33,26	47,91	14,36	15,75	10	700	% Hife	Polno hranilo	1,44
<i>Artemisia tridentata</i>	Zaprte komore	Klironomos in sod. 1998	0,31	Dodan	36,19	39,12	17,60	14,82	10	700	% Hife	Polno hranilo	1,08
<i>Artemisia tridentata</i>	Zaprte komore	Klironomos in sod. 1998	0,31	Dodan	29,74	33,26	16,21	21,77	10	700	% Hife	Polno hranilo	1,12
<i>Artemisia tridentata</i>	Zaprte komore	Klironomos in sod. 1998	0,31	Dodan	41,13	36,64	17,67	19,99	10	700	% Vezikli	Polno hranilo	0,89
<i>Artemisia tridentata</i>	Zaprte komore	Klironomos in sod. 1998	0,31	Dodan	25,37	21,07	21,15	15,93	10	700	% Vezikli	Polno hranilo	0,83
<i>Artemisia tridentata</i>	Zaprte komore	Klironomos in sod. 1998	0,31	Dodan	13,56	15,30	15,35	12,46	10	700	% Vezikli	Polno hranilo	1,13
<i>Artemisia tridentata</i>	Zaprte komore	Klironomos in sod. 1998	0,31	Dodan	22,53	37,19	13,03	15,93	10	700	% Arbuskuli	Polno hranilo	1,65
<i>Artemisia tridentata</i>	Zaprte komore	Klironomos in sod. 1998	0,31	Dodan	16,03	29,77	10,72	13,03	10	700	% Arbuskuli	Polno hranilo	1,86
<i>Artemisia tridentata</i>	Zaprte komore	Klironomos in sod. 1998	0,31	Dodan	18,05	20,34	13,32	10,43	10	700	% Arbuskuli	Polno hranilo	1,13
<i>Artemisia tridentata</i>	Zaprte komore	Klironomos in sod. 1998	0,31	Dodan	12,73	14,01	14,19	14,19	10	700	% Arbuskuli	Polno hranilo	1,10
<i>Bromus hordeaceus</i>	Oprte komore	Rillig in sod. 1998a,b	0,33	Brez	75,51	83,53	5,82	5,96	4	700	% Hife	Voda	1,11
<i>Vulpia microstachys</i>	Oprte komore	Rillig in sod. 1998a	0,33	Brez	41,47	47,22	4,57	3,97	3	700	% Hife	Voda	1,14
<i>Avena barbata</i>	Oprte komore	Rillig in sod. 1998a	0,33	Brez	64,20	75,15	7,42	4,52	4	700	% Hife	Voda	1,17
<i>Linanthus parviflorus</i>	Oprte komore	Rillig in sod. 1998a	0,33	Brez	56,93	71,39	9,52	3,36	4	700	% Hife	Voda	1,25
<i>Calycadenia multiglandulosa</i>	Oprte komore	Rillig in sod. 1998a	0,33	Brez	51,18	57,13	6,30	8,02	4	700	% Hife	Voda	1,12
<i>Linanthus parviflorus</i>	Oprte komore	Rillig in sod. 1998a, b	0,33	Brez	40,43	55,25	6,84	6,70	4	700	% Hife	Polno hranilo	1,37
<i>Vulpia microstachys</i>	Oprte komore	Rillig in sod. 1998a	0,33	Brez	59,91	52,95	5,13	6,36	3	700	% Hife	Polno hranilo	0,88
<i>Avena barbata</i>	Oprte komore	Rillig in sod. 1998a	0,33	Brez	64,61	45,26	2,96	5,92	4	700	% Hife	Polno hranilo	0,70
<i>Linanthus parviflorus</i>	Oprte komore	Rillig in sod. 1998a	0,33	Brez	41,12	53,62	5,48	9,80	4	700	% Hife	Polno hranilo	1,30
<i>Calycadenia multiglandulosa</i>	Oprte komore	Rillig in sod. 1998a	0,33	Brez	40,85	43,17	2,82	8,76	4	700	% Hife	Polno hranilo	1,06
<i>Plantago lanceolata</i>	Zaprte komore	Rouhier in Read 1998	0,12	Brez	50,00	50,00	45,03	15,59	12	540	% Hife	Voda	1,00
<i>Plantago lanceolata</i>	Zaprte komore	Rouhier in Read 1998	0,21	Brez	50,65	106,83	55,43	38,11	12	540	% Hife	Voda	2,11
<i>Plantago lanceolata</i>	Zaprte komore	Rouhier in Read 1998	0,29	Brez	52,93	95,14	50,23	22,52	12	540	% Hife	Voda	1,80
<i>Plantago lanceolata</i>	Zaprte komore	Rouhier in Read 1998	0,12	Brez	55,85	61,37	32,91	13,86	12	540	% Arbuskuli	Voda	1,10
<i>Plantago lanceolata</i>	Zaprte komore	Rouhier in Read 1998	0,21	Brez	33,12	58,45	41,57	25,98	12	540	% Arbuskuli	Voda	1,76
<i>Plantago lanceolata</i>	Zaprte komore	Rouhier in Read 1998	0,29	Brez	38,31	54,55	31,18	22,52	12	540	% Arbuskuli	Voda	1,42
<i>Plantago lanceolata</i>	Zaprte komore	Rouhier in Read 1998	0,12	Brez	17,86	4,87	3,46	10,39	12	540	% Vezikli	Voda	0,27
<i>Plantago lanceolata</i>	Zaprte komore	Rouhier in Read 1998	0,21	Brez	13,96	58,12	29,44	39,84	12	540	% Vezikli	Voda	4,16
<i>Plantago lanceolata</i>	Zaprte komore	Rouhier in Read 1998	0,29	Brez	25,00	63,32	38,11	20,78	12	540	% Vezikli	Voda	2,53
<i>Gutierrezia sarothrae</i>	Zaprte komore	Rillig in Allen 1998c	0,33	Brez	66,25	76,78	19,58	12,24	10	740	% Hife	Voda	1,16
<i>Gutierrezia sarothrae</i>	Zaprte komore	Rillig in Allen 1998c	0,33	Brez	1,85	27,98	5,25	23,73	10	740	% Arbuskuli	Voda	15,17
<i>Gutierrezia sarothrae</i>	Zaprte komore	Rillig in Allen 1998c	0,33	Brez	18,70	18,70	8,17	11,09	10	740	% Vezikli	Voda	1,00
<i>Gutierrezia sarothrae</i>	Zaprte komore	Rillig in Allen 1998c	0,33	Brez	58,20	64,71	23,01	20,56	10	740	% Hife	Voda	1,11
<i>Gutierrezia sarothrae</i>	Zaprte komore	Rillig in Allen 1998c	0,33	Brez	1,78	2,21	2,53	5,06	10	740	% Arbuskuli	Voda	1,24
<i>Gutierrezia sarothrae</i>	Zaprte komore	Rillig in Allen 1998c	0,33	Brez	11,56	24,78	7,20	5,83	10	740	% Vezikli	Voda	2,14
<i>Naravno travišče</i>	Oprte komore	Rillig in sod. 1999	5	Brez	44,00	76,00	12,65	15,81	10	700	% Vezikli	Voda	1,73
<i>Naravno travišče</i>	Oprte komore	Rillig in sod. 1999	5	Brez	54,00	84,00	9,49	6,32	10	700	% Vezikli	Voda	1,56
<i>Latus wrangelianus</i>	Oprte komore	Rillig in Field 2003	3	Brez	57,90	41,49	35,60	4,33	4	700	% Arbuskuli	Voda	0,72
<i>Latus wrangelianus</i>	Oprte komore	Rillig in Field 2003	3	Brez	40,87	42,11	14,24	34,37	4	700	% Hife	Polno hranilo	1,03
<i>Latus wrangelianus</i>	Oprte komore	Rillig in Field 2003	3	Brez	25,54	26,63	11,15	39,63	4	700	% Arbuskuli	Polno hranilo	1,04
<i>Latus wrangelianus</i>	Oprte komore	Rillig in Field 2003	3	Brez	9,13	22,45	11,15	6,50	4	700	% Hife	Voda	2,46
<i>Latus wrangelianus</i>	Oprte komore	Rillig in Field 2003	3	Brez	4,80	8,51	4,95	7,74	4	700	% Arbuskuli	Voda	1,77
<i>Latus wrangelianus</i>	Oprte komore	Rillig in Field 2003	3	Brez	2,01	2,48	3,41	5,26	4	700	% Hife	Polno hranilo	1,23
<i>Latus wrangelianus</i>	Oprte komore	Rillig in Field 2003	3	Brez	1,24	0,15	0,62	0,31	4	700	% Arbuskuli	Polno hranilo	0,13
<i>Bromus hordeaceus</i>	Oprte komore	Rillig in Field 2003	3	Brez	57,12	61,15	17,96	20,74	4	700	% Hife	Voda	1,07
<i>Bromus hordeaceus</i>	Oprte komore	Rillig in Field 2003	3	Brez	6,19	24,46	8,05	25,70	4	700	% Arbuskuli	Voda	3,95
<i>Bromus hordeaceus</i>	Oprte komore	Rillig in Field 2003	3	Brez	41,64	58,05	4,95	7,12	4	700	% Hife	Polno hranilo	1,39
<i>Bromus hordeaceus</i>	Oprte komore	Rillig in Field 2003	3	Brez	24,92	9,60	5,57	5,57	4	700	% Arbuskuli	Polno hranilo	0,39
<i>Bromus hordeaceus</i>	Oprte komore	Rillig in Field 2003	3	Brez	7,59	56,97	5,88	24,77	4	700	% Hife	Voda	7,51
<i>Bromus hordeaceus</i>	Oprte komore	Rillig in Field 2003	3	Brez	2,79	28,02	3,72	40,87	4	700	% Arbuskuli	Voda	10,06
<i>Bromus hordeaceus</i>	Oprte komore	Rillig in Field 2003	3	Brez	4,02	6,50	4,95	11,46	4	700	% Hife	Polno hranilo	1,62
<i>Medicago sativa</i>	Zaprte komore	Baslam in sod. 2012	0,13	Dodan	38,08	47,60	5,82	7,95	3	700	% Hife	Polno hranilo	1,25
<i>Medicago sativa</i>	Zaprte komore	Baslam in sod. 2012	0,17	Dodan	52,86	46,82	5,24	1,94	3	700	% Hife	Polno hranilo	0,89
<i>Echinochloa crusgalli</i>	Zaprte komore	Tang in sod. 2009	0,33	Dodan	32,44	39,47	12,29	25,14	30	700	% Hife	Voda	1,22
<i>Oryza sativa</i>	Zaprte komore	Tang in sod. 2009	0,33	Dodan	24,79	22,03	12,29	5,59	30	700	% Hife	Voda	0,89
<i>Echinochloa crusgalli</i>	Zaprte komore	Tang in sod. 2009	0,33	Dodan	27,13	35,39	12,29	19,55	30	700	% Hife	Voda	1,30
<i>Oryza sativa</i>	Zaprte komore	Tang in sod. 2009	0,33	Dodan	21,62	23,05	12,29	17,32	30	700	% Hife	Voda	1,07
<i>Združba: Pinus taeda dominanta</i>	FACE	Garcia in sod. 2008	23	Brez	33,17	38,72	4,86	7,08	12	550	% Hife	Voda	1,17
<i>Združba: Pinus taeda dominanta</i>	FACE	Garcia in sod. 2008	23	Brez	39,54	37,84	7,69	10,12	12	550	% Hife	Voda	0,96
<i>Plantago lanceolata</i>	Zaprte komore	Chen in sod. 2007	0,27	Dodan	28,85	46,43	12,10	16,02	10	730	% Hife	Polno hranilo	1,61
<i>Plantago lanceolata</i>	Zaprte komore	Chen in sod. 2007	0,27	Dodan	27,50	36,40	14,39	21,91	10	730	% Hife	Polno hranilo	1,32
<i>Populus tremuloides</i>	Oprte komore	Klironomos in sod. 1997	1,16	Brez	51,66	53,94	52,81	40,49	8	700	% Hife	Voda	1,04
<i>Populus tremuloides</i>	Oprte komore	Klironomos in sod. 1997	1,16	Brez	44,81	44,19	66,90	61,03	8	700	% Hife	Voda	0,99
<i>Populus tremuloides</i>	Oprte komore	Klironomos in sod. 1997	1,16	Brez	14,56	21,10	26,76	17,60	8	700	% Arbuskuli	Voda	1,45
<i>Populus tremuloides</i>	Oprte komore	Klironomos in sod. 1997	1,16	Brez	14,19	12,88	21,65	27,64	8	700	% Arbuskuli	Voda	0,91
<i>Populus tremuloides</i>	Oprte komore	Klironomos in sod. 1997	1,16	Brez	23,84	23,22	18,31	15,40	8	700	% Vezikli	Voda	0,97
<i>Populus tremuloides</i>	Oprte komore	Klironomos in sod. 1997	1,16	Brez	18,42	21,41	18,66	16,55	8	700	% Vezikli	Voda	1,16
<i>Populus euramericana x Populus spp.</i>	Oprte komore	Lussenhop in sod. 1998	0,42	Brez	0,27	0,19	0,08	0,04	5	700	% Hife	Voda	1,42
<i>Populus euramericana x Populus spp.</i>	Oprte komore	Lussenhop in sod. 1998	0,42	Brez	0,32	0,67	0,12	0,16	5	700	% Hife	Voda	0,48
<i>Gossypium hirsutum</i>	FACE	Rogers in sod. 1992	0,33	Brez	33,00	39,40	4,95	1,10	4	550	% Hife	Voda	0,84
<i>Robinia pseudoacacia</i>	Zaprte komore	Olesniewicz in Thomas 1998	0,153	Dodan	22,90	30,20	0,64	1,07	12	710	% Hife	Polno hranilo	0,76

Priloga B: Preglednica meritev, opravljenih na vzorcih korenin iz poskusa FACE v Giessnu.

Št.	elevated		Obroč	F%	M%	m%	a%	A%	n
1		E 1/1	E1	96,67	28,33	29,31	16,18	4,58	30,00
2		E 1/2	E1	93,33	26,83	28,75	34,97	9,38	30,00
3		E 1/3	E1	96,67	43,67	45,17	28,74	12,55	30,00
4		E 1/4	E1	96,67	22,00	22,76	19,39	4,27	30,00
5		E 1/5	E1	76,67	14,67	19,13	12,39	1,82	30,00
6		E 1/6	E1	56,67	11,67	20,59	28,57	3,33	30,00
7		E 2/1	E2	80,00	19,17	23,96	55,13	10,57	30,00
8		E 2/2	E2	96,67	22,50	23,28	30,89	6,95	30,00
9		E 2/3	E2	100,00	29,76	29,76	22,47	6,67	30,00
10		E 2/4	E2	93,33	26,83	28,75	12,17	3,27	30,00
11		E 2/5	E2	100,00	27,07	27,07	12,87	3,48	30,00
12		E 2/6	E2	96,67	23,87	24,69	12,64	3,02	30,00
13		E 3/1	E3	86,67	16,83	19,42	7,13	1,20	30,00
14		E 3/2	E3	96,67	25,33	26,21	34,14	8,65	30,00
15		E 3/3	E3	100,00	23,97	23,97	2,16	0,52	29,00
16		E 3/4	E3	70,00	7,53	10,76	0,00	0,00	30,00
17		E 3/5	E3	93,33	30,50	32,68	21,91	6,68	30,00
18		E 3/6	E3	66,67	11,67	17,50	34,29	4,00	30,00
	ambient								
19		A 1/1	A1	93,33	31,83	34,11	48,38	15,40	30,00
20		A 1/2	A1	83,33	21,20	25,44	23,98	5,08	30,00
21		A 1/3	A1	93,10	30,86	33,15	26,70	8,24	29,00
22		A 1/4	A1	83,33	15,00	18,00	15,33	2,30	30,00
23		A 1/5	A1	76,67	18,50	24,13	11,17	2,07	30,00
24		A 1/6	A1	93,33	22,53	24,14	11,24	2,53	30,00
25		A 2/1	A2	72,41	10,52	14,52	14,10	1,48	30,00
26		A 2/2	A2	51,61	7,77	15,06	48,96	3,81	30,00
27		A 2/3	A2	96,67	27,20	28,14	35,66	9,70	30,00
28		A 2/4	A2	93,33	16,33	17,50	10,51	1,72	30,00
29		A 2/5	A2	86,67	21,87	25,23	16,62	3,63	30,00
30		A 2/6	A2	93,33	18,17	19,46	27,34	4,97	30,00
31		A 3/1	A3	75,00	11,29	15,05	4,27	0,48	28,00
32		A 3/2	A3	73,33	10,33	14,09	7,10	0,73	30,00
33		A 3/3	A3	83,33	13,33	16,00	3,00	0,40	30,00
34		A 3/4	A3	76,67	9,40	12,26	3,37	0,32	30,00
35		A 3/5	A3	86,67	16,00	18,46	4,38	0,70	30,00
36		A 3/6	A3	92,86	30,00	32,31	31,67	9,50	28,00

F % = Frekvenca pojavnosti mikorize v koreninskem sistemu

M % = Intenziteta mikorizne kolonizacije v koreninskem sistemu

m % = Intenziteta mikorizne kolonizacije v koreninskih odsekih

a % = Številčnost arbuskulov v mikoriznih odsekih fragmentov

A % = Številčnost arbuskulov v koreninskem sistemu