

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Patricija LUDVIK

**RAST IN RAZVOJ SORT IZBRANIH PREHRANSKO
POMEMBNIH RASTLIN V ODVISNOSTI OD
INOKULACIJE Z ARBUSKULARNIMI
MIKORIZNIMI GLIVAMI**

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študij - 2. stopnja

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Patricija LUDVIK

**RAST IN RAZVOJ SORT PREHRANSKO POMEMBNIH RASTLIN V
ODVISNOSTI OD INOKULACIJE Z ARBUSKULARNIMI
MIKORIZNIMI GLIVAMI**

MAGISTRSKO DELO
Magistrski študij - 2. stopnja

**GROWTH AND DEVELOPMENT OF SELECTED EADABLE
PLANTS AS A FUNCTION OF INOCULATION WITH
ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI**

M. SC. THESIS
Master Study Programmes

Ljubljana, 2016

Magistrsko delo je zaključek Magistrskega študijskega programa 2. stopnje Agronomija. Delo je bilo opravljeno na Katedri za botaniko, ekologijo, fiziologijo rastlin in informatiko, Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete UL.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorico magistrskega dela imenovala doc. dr. Ireno MAČEK in somentorja doc. dr. Dragana ŽNIDARČIČA.

Komisija za oceno in zagovor:

- Predsednik: izr. prof. dr. Gregor OSTERC
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
- Članica: doc. dr. Irena MAČEK
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
- Član: doc. dr. Dragan ŽNIDARČIČ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
- Član: prof. dr. Domen LEŠTAN
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

Podpisana izjavljam, da je magistrsko delo rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Md
DK	UDK 635.262:635.57:631.466(043.2)
KG	mikorizne glive / <i>Allium sativum</i> / <i>Valerianella locusta</i> / inokulacija / rast / razvoj
AV	LUDVIK, Patricija
SA	MAČEK, Irena (mentorica)/ŽNIDARČIČ, Dragan (somentor)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
LI	2016
IN	RAST IN RAZVOJ SORT IZBRANIH PREHRANSKO POMEMBNIH RASTLIN V ODVISNOSTI OD INOKULACIJE Z ARBUSKULARNIMI MIKORIZNIMI GLIVAMI
TD	Magistrsko delo (Magistrski študij - 2. stopnja)
OP	X, 47, [3] str., 7 pregl., 8 sl., 1 pril., 48 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	Namen naloge je bil preučiti vpliv arbuskularnih mikoriznih (AM) gliv na rast in razvoj motovilca (<i>Valerianella locusta</i> L. Laterrade) in česna (<i>Allium sativum</i> L.). Poskus smo postavili v rastlinjaku, uporabili smo komercialni inokulum Symbivit (Symbiom Ltd., CZ) in vrtna tla. Po 19 tednih rasti smo izmerili dolžino korenin, dolžino listov, stehali svežo ter suho maso rastlin in izračunali vsebnost vode v rastlini. Preverili smo tudi stopnjo kolonizacije korenin rastlin z AM glivami. Inokulacija rastlin z AM glivami ni vplivala na maso korenin in poganjkov. Večje razlike v rasti rastlin med obravnavanji so se pokazale pri rastlinah motovilca. Dolžina listov motovilca je bila največja pri obravnavanju z avtoklaviranimi tlemi in dodanim inokulumom. Pri motovilcu so bile korenine najbolj kolonizirane z AM glivami pri uporabi neavtoklaviranih vrtnih tal z dodatkom inokuluma in pri neavtoklaviranih vrtnih tleh brez inokuluma.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Md

DC UDC 635.262:635.57:631.466(043.2)

CX mycorrhizal fungi / *Allium sativum* / *Valerianella locusta* / inoculation / growth / development

AU LUDVIK, Patricija

AA MAČEK, Irena (supervisor) ŽNIDARČIČ, Dragan (co-advisor)

PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy

PY 2016

TI GROWTH AND DEVELOPMENT OF SELECTED EADABLE PLANTS AS A FUNCTION OF INOCULATION WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI

DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes)

NO X, 47, [3] p., 7 tab., 8 fig., 1 ann., 48 ref.

LA sl

AL sl/en

AB The purpose of the thesis was to examine the impact of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi on the growth and development of two plant species, corn salad (*Valerianella locusta* L. Laterrade), and garlic (*Allium sativum* L.). In a greenhouse experiment, commercial inoculum Symbivit (Symbiom Ltd., CZ) and garden soil was used and plants were grown for 19 weeks. Measurements of the growth and development of plants were performed in the end of the experiment and included root length and biomass. Fresh and dry weight was measured to obtain the data of the plant water content. Also, the level of colonization with AM fungi in the roots was recorded. There were bigger differences in plant growth found for *Valerianella* plants compared to *Allium*. The impact of the AM fungal colonization on root and stem weight was not significant. *Valerianella* had the longest leafs when autoclaved garden soil with the commercial inoculum addition was used as a substrate and roots were most colonized with AM fungi when the non-autoclaved soil was used with or without added commercial inoculum.

KAZALO VSEBINE

	str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	VIII
KAZALO PRILOG	IX
OKRAJŠAVE	X
1 UVOD	1
1.1 VZROK ZA RAZISKAVO	1
1.2 NAMEN RAZISKAVE	1
1.3 DELOVNE HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 MIKORIZA	3
2.1.1 Ekofiziološka vloga gliv	4
2.1.2 Vpliv agronomskih praks na AM glive	5
2.1.3 Inokulumi z AM glivami in njihova uporaba v hortikulturi	6
2.2 PREDSTAVITEV UPORABLJENIH HORTIKULTURNIH RASTLIN V NAŠEM POSKUSU	7
2.2.1 Motovilec (<i>Valerianella locusta</i> L. Laterrade)	7
2.2.2 Česen (<i>Allium sativum</i> L.)	14
2.3 PREGLED OBJAVLJENIH RAZISKAV O UPORABI MIKORIZE PRI MOTOVILCU IN ČESNU	16
3 MATERIAL IN METODE	21
3.1 MATERIAL	21
3.2 MERITVE NA RASTLINSKEM MATERIALU	24
3.3 DOLOČANJE MIKORIZNE KOLONIZACIJE V KORENINAH RASTLIN	25

3.4	BARVANJE KORENIN ZA OCENO KOLONIZACIJE Z ARBUSKULARNIMI MIKORIZNIMI GLIVAMI	25
3.5	OCENJEVANJE MIKORIZNE KOLONIZACIJE	26
3.6	STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV	28
4	REZULTATI	29
4.1	MOTOVILEC	29
4.2	MIKORIZNA KOLONIZACIJA KORENIN MOTOVILCA	33
4.3	ČESEN	36
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	39
5.1	RAZPRAVA	39
5.2	SKLEPI	41
6	POVZETEK	43
7	VIRI	44
	ZAHVALA	
	PRILOGA	

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Vsebnosti snovi v motovilcu (Lešić, 2002)	10
Preglednica 2: Vsebnost najpomembnejših mineralov in vitaminov v mg/100 g jedilnega dela (Lešić, 2002)	10
Preglednica 3: Znanstveni članki s področja raziskav česna in arbuskularne mikorize od leta 1996 do 2014	17
Preglednica 4: Zasnova poskusa po obravnavanjih za rastlini motovilec in česen	24
Preglednica 5: Vpliv avtoklaviranja in dodatka inokuluma na morfološke lastnosti motovilca, kot so dolžina korenin (cm), masa korenin (g), višina listov (cm) in vsebnost vode v rastlini (%). Podane so povprečne vrednosti $\pm$ standardna napaka (se) (n = 4). Različne črke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji, ki smo jih pridobili s Tukeyevimi kontrasti	29
Preglednica 6: Vpliv avtoklaviranja in dodatka inokuluma na kolonizacijo korenin motovilca glede lastnosti, kot so: gostota arbuskulov v koreninskem sistemu (A %), frekvenca delov korenin z glivo (F %), intenziteta mikorize v koloniziranih delih korenin (m%) in intenziteta mikorize (M %). Podane so povprečne vrednosti $\pm$ standardna napaka (se) (n = 4). Različne črke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji, ki smo jih pridobili s Tukeyevimi kontrasti	34
Preglednica 7: Vpliv avtoklaviranja in dodatka inokuluma na kolonizacijo korenin česna glede lastnosti, kot so: gostota arbuskulov v koreninskem sistemu (A %), frekvenca delov korenin z glivo (F %), intenziteta mikorize v koloniziranih delih korenin (m %) in intenziteta mikorize (M %). Podane so povprečne vrednosti $\pm$ standardna napaka (se) (n = 4). Različne črke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji, ki smo jih pridobili s Tukeyevimi kontrasti	36

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Ocenjevanje mikorizne kolonizacije v koreninah	27
Slika 2: Grafični prikaz povprečne dolžine korenin pri motovilcu po posameznih obravnavah (povprečje $\pm$ SE)	30
Slika 3: Grafični prikaz povprečne mase korenin motovilca po obravnavanjih (povprečje $\pm$ SE)	31
Slika 4: Grafični prikaz povprečne višine (dolžine) listov motovilca po posameznih obravnavanjih (povprečje $\pm$ SE)	32
Slika 5: Slika lončnega poskusa z motovilcem (<i>Vallerianella locusta</i> L. Laterrade)	32
Slika 6: Grafični prikaz povprečij vsebnosti vode v motovilcu po obravnavanjih (povprečje $\pm$ SE)	33
Slika 7: Grafični prikaz mikorizne kolonizacije	35
Slika 8: Grafični prikaz različnih parametrov mikorizne kolonizacije pri česnu	37

KAZALO PRILOG

Priloga A	Specifikacija inokuluma Symbivit (Symbiom Ltd., CZ)
-----------	---

OKRAJŠAVE

ANOVA	analiza variance
AM	arbuskularna mikoriza/arbuskularne mikorizne
°C	stopinje celzija
Ca	kalcij
Cu	baker
CZ	Češka
EU	Evropska unija
F %	frekvenca kolonizacije korenin z mikoriznimi glivami
K	kalij
KOH	kalijev hidroksid
HCl	vodikov klorid
Na	natrij
P	fosfor
pH	mera kislosti oz. koncentracije vodikovih ionov v raztopini
SN	standardna napaka

1 UVOD

1.1 VZROK ZA RAZISKAVO

Za tovrstno raziskavo smo se odločili z namenom, da v praksi preverimo učinek komercialnega inokuluma z arbuskularnimi mikoriznimi (AM) glivami Symbivit (Symbiom, Češka), ki se prodaja tudi v Sloveniji. Izbrali smo dve prehransko pomembni rastlini, in sicer česen – *Allium sativum* L., ker je bilo s to rastlino predhodno opravljenih veliko raziskav na temo mikorize, in navadni motovilec – *Valerianella locusta* L. Laterrade, za katerega pa nismo zasledili praktičnih poskusov na temo arbuskularne mikorize. Dodatek inokuluma Symbivit, ki smo ga uporabili v poskusu, naj bi povečal mikorizacijo korenin teh rastlin.

AM glive so koreninski endosimbionti pri približno 2/3 vseh kopenskih rastlin (Fitter in Moyersoen, 1996; Brundrett, 2009). Naravno stanje rastlin v kopenskih ekosistemih je mikorizirano stanje. Izguba mikorizacije je sekundarna, v naravi je omejena na predstavnike nekaj rastlinskih družin (npr. pri križnicah – Brassicaceae, metlikovkah – Chenopodiaceae, klinčnicah – Caryophyllaceae). Poleg izboljšane mineralne prehrane ima simbioza rastlin z AM glivami še druge pozitivne učinke na rastline, kot so izboljšana rast rastlin in preskrba rastlin z vodo, varovanje pred patogeni in boleznimi ter varovanje pred škodljivimi snovmi (Fitter, 2005; Smith in Read, 2008). Mikoriza lahko vpliva tudi na vsebnost bioaktivnih snovi v rastlinah, na barvo rastlin in njihov razvoj.

1.2 NAMEN RAZISKAVE

Namen naše raziskave je ugotoviti:

- mikorizni potencial naravnega (njivska tla) in komercialnega inokuluma z AM glivami (Symbivit, proizvajalca Symbiom) pri izbranih sortah prehransko pomembnih rastlin, tj. česna – *Allium sativum* L. in navadnega motovilca – *Valerianella locusta* L. Laterrade;
- stopnjo kolonizacije korenin rastlin z AM glivami pri različnih obravnavanjih ter
- vpliv inokulacije rastlin z AM glivami na rast in razvoj rastlin (biomasa nadzemnega in podzemnega dela rastline, razvoj rastline) v odvisnosti od tipa inokuluma.

1.3 DELOVNE HIPOTEZE

Zastavili smo si tri delovne hipoteze, ki so bile preverjene v sklopu raziskovalnega dela naloge.

H1: Pri inokuliranih rastlinah s komercialnim inokulumom bo večji delež korenin koloniziran z AM glivami.

H2: Neavtoklavirana njivska tla imajo manjši mikorizni potencial kot tla z dodanim komercialnim inokulumom, na kar kaže nižja stopnja kolonizacije korenin z AM glivami.

H3: Mikorizirane rastline bodo imele bolj razvite korenine ter večjo biomaso korenin in nadzemnega dela.

2 PREGLED OBJAV

2.1 MIKORIZA

Mikoriza je pojem, ki označuje sožitje med rastlinami in AM glivami. Govorimo o mutualizmu oziroma sožitju, kjer je korist obojestranska. Gostiteljska rastlina prejema mineralna hranila, medtem ko gliva prejema ogljikove spojine, ki nastanejo v procesu fotosinteze (Smith in Read, 2008). Ta simbioza je poznana v vseh kopenskih habitatih in se razvija že od prihoda rastlin na kopno. Poznamo najmanj sedem tipov mikorize, ti pa se med seboj razlikujejo po glivnem partnerju. Glivni partner so različne glive iz debel Ascomycota, Basidiomycota in Glomeromycota, gostitelj pa je večina višjih rastlin (Schüßler in sod., 2001). Tako ločimo: ektomikorizo, endomikorizo, arbuskularno mikorizo, ektendomikorizo, arbutoidno, monotropoidno, erikoidno in orhidejsko mikorizo (Smith in Read, 2008).

Preko 90 % rastlinskih vrst živi v sožitju z mikoriznimi glivami, pri čemer imajo koristi tako glive kot gostiteljske rastline. Za kmetijske rastline je med različnimi tipi mikorize najpogostejša arbuskularna mikoriza, ki jo tvori večina rastlinskih vrst, vključno z velikim številom rastlin, ki dajejo komercialno pomembne pridelke. Prisotna je tudi pri nekaterih predstavnikih praproti, mahov in lisičnjakovcev ter pri velikem številu golosemenk in kritosemenk. Simbiotske glive tega tipa mikorize uvrščamo v deblo Glomeromycota (Schüßler in sod., 2001). Hife mikoriznih gliv penetrirajo korenine dovzetnih rastlin in v njih tvorijo specializirane strukture, znane kot arbuskule, včasih tudi vezikle. Mikorizne hife tvorijo micelij znotraj in zunaj korenine, kjer se razširja v tla. Zunanje hife pogosto tvorijo spore, pri nekaterih vrstah AM gliv pa se spore tvorijo tudi znotraj korenine. Vsaka simbiotska struktura ima svojo funkcijo. Arbuskuli so strukture, pomembne za pretok hranil med glivo in gostiteljsko rastlino. Primarna vloga veziklov je založna (hranila). Zunanji micelij služi pridobivanju in transportu hranil, funkcija spor pa je preživetje neugodnih razmer in razmnoževanje. Asociacija med AM glivami in rastlinami tako prinese prednosti vsem partnerjem v simbiozi. Gliva pridobi vir ogljika, ki je produkt fotosinteze rastline, zato ji ni treba tekmovati za nezadostne količine ogljika v rizosferi, gostiteljska rastlina pa pridobi boljši dostop do mineralnih hranil, mikoriza pa vpliva tudi na zmanjšanje okoljskega stresa pri rastlini (Hookers in sod., 1994).

Med procesom vzpostavitve mikorize, kjer rastlina na kolonizacijo glive ne reagira z zavrnitvenimi reakcijami, se med organizmoma zgodi serija interakcij, ki zagotavlja integracijo obeh organizmov v simbiozi. Kljub pomanjkanju eksperimentalnih informacij predvidevajo, da je vzpostavitev simbioze rezultat kontinuiranega molekularnega dialoga med rastlino in glivo, ki poteka z izmenjavo prepoznavnih in sprejemnih signalov.

Rezultati tega dialoga so končno odvisni od genomske ekspresije obeh partnerjev (cit. po Azcón-Aguilar in Bago, 1994). Optimalni razvoj kulturnih rastlin je pogosto odvisen od visokega vnosa mineralnih gnojil (posebno dušika) in pesticidov. Vendar pa poleg tega, da je uporaba teh substanc draga, tudi onesnažuje tla in podtalnico. Razvoj rastlin bi lahko izboljšali z uporabo inokulumov s kombinacijo mikoriznih gliv in drugih mikroorganizmov, ki sodelujejo v rizosferi (Puppi in sod., 1994). Uporaba gliv za izboljšanje rasti rastlin je v poljedelstvu vedno pogostejša. Ektomikorizne glive rutinsko uporabljajo tudi za inokulacijo dreves, vzgojenih v drevesnicah (Whipps in Lumsden, 1988), saj jim mikoriza z glivo, ki je prilagojena določenemu rastišču, omogoča uspešno adaptacijo na okolje, mikorizne rastline pa kažejo večji odstotek preživetja po presaditvi (Vodnik, 1993).

2.1.1 Ekofiziološka vloga gliv

AM glive so pomembne za kroženje ogljika in mineralnih hranil v naravi. Pri arbuskularni mikorizi se običajno pojavi mutualističen tip simbioze, kjer je glivni partner energetsko povsem odvisen od gostiteljskih rastlin, ker je na gostitelje vezana preskrba z ogljikovimi hidrati. AM glive preskrbujejo rastline z mineralnimi hranili. Kot primer, fosfor, ki je v tleh slabo mobilen element, predstavlja omejujoč dejavnik rasti rastlin. V zadnjem času pa je vedno več dokazov, da lahko AM glive poleg preskrbe s fosforjem vplivajo tudi na preskrbo rastlin z drugimi hranili, kot so mikroelementi (Cu, Zn) in tudi z dušikom. Poizkusi iz preteklosti kažejo, da mikorizacija vpliva na mikrobnou razgradnjo organske snovi v tleh in s tem poveča privzem dušika v rastline iz organskega materiala (Hodge in sod., 2001). Vloga glive v mikorizi je izboljšati preskrbo rastlin s hranili, vendar ima simbioza rastlin z AM glivami tudi druge pozitivne učinke, kot so: rastline varuje pred boleznimi in patogeni ter izboljšuje preskrbo z vodo (Smith in Read, 2008).

Še pred kratkim so koristi, ki jih ima rastlina v mikoriznem odnosu, pripisovali izključno povečevanju površine zaradi zunanega micelija glive v tleh. Raziskave so pokazale, da kolonizacija z AM glivami znatno spremeni morfologijo korenin gostiteljske rastline. Koreninski sistemi so tako bolj razvejani in imajo večjo absorpcijsko kapaciteto hranil in vode. Kaj povzroči te spremembe, še ni točno znano, mogoče AM glive vplivajo na nivo hormonov (Kovačič, 1998). Gliva sintetizira organske snovi, rastlinske hormone in vitamine, s katerimi vpliva na rast in razvoj rastline. Posledica takšnega delovanja so morfološke in anatomske spremembe, ki jih pri vzpostavitvi mikorize izzove gliva na koreninah. Sodeč po dosedanjih podatkih gliva povzroča morfološke spremembe predvsem z avksini, ki jih izloča v korenino. Citokinini vplivajo na privzem K, Ca, P, Na v ektomikorizne glive in pospešujejo njihov transport, poveča pa se tudi fluidnost glivnih membran (Kovačič, 1998).

2.1.2 Vpliv agronomskih praks na AM glive

Različne kmetijske prakse lahko različno vplivajo na prisotnost in infektivnost inokuluma AM gliv v tleh. Pri tem imajo največjo vlogo gnojenje, kolobarjenje, pokritost tal z rastlinsko odejo tekom hladnih mesecev in mehanska obdelava tal (Gosling in sod., 2006).

Monokulturna pridelava lahko negativno vpliva na diverziteto AM gliv, čeprav to v takih sistemih po navadi sovпада z intenzivno uporabo gnojil in fitofarmacevtskih sredstev ter mehansko obdelavo tal (Oehl in sod., 2003; Hirij, 2006). Dokazano je, da ima sonaravno kmetijstvo manj neugoden vpliv na prisotnost in delovanje arbuskularnih mikoriznih gliv od konvencionalnih kmetijskih praks, kar je pogojeno predvsem z odsotnostjo uporabe lahko topnih gnojil ter večine biocidov, obenem pa je bolj raznoliko v smislu kolobarjenja (Gosling in sod., 2006). Vse to vpliva na večjo količino naravnega inokuluma AM gliv v tleh (spore, kolonizirani deli korenin), večjo kolonizacijo korenin prisotnih rastlin z AM glivami in posledično večji privzem mineralnih hranil v rastline prek glivnega partnerja, kar tudi veliko bolje posnema stanje v naravnih ekosistemih (cit. po Maček, 2004).

V razmerah intenzivnega kmetijstva, kjer je v tleh na voljo velika količina hranil, je pomen mikorize za pridelek manjši, včasih celo negativen, in je ta interakcija vsaj v določenih obdobjih leta za rastline bliže parazitizmu (Johnson in sod., 1997). Intenzivno obdelana kmetijska tla so z vidika prisotnosti AM gliv osiromašena in zato ne nudijo celotnega nabora ekosistemskih storitev, ki jih ti organizmi sicer lahko vršijo. Hipotetično velja, da večja diverziteta omogoča večjo plastičnost sistema v primeru različnih sprememb, ki se lahko pojavljajo v danem okolju, vključno s klimatskimi spremembami. Diverzitetno bogatejše združbe AM gliv v nekem agroekosistemu bi tako lahko vršile večji nabor ekosistemskih storitev. Znano je, da različne skupine AM gliv v določenem ekosistemu zavzemajo različne funkcionalne niše (Fitter, 2005). Gliva, ki je pomembna pri oskrbi rastline s hranili in ima zato zelo dobro razvit zunajkoreninski micelij, ni nujno tudi tista, ki je najučinkovitejša pri varovanju rastline pred patogeni, kar zahteva bolj razvite hife znotraj korenine (Fitter, 2005). Trenutno je področje povezave med posameznim taksonom (vrsto ali molekularno določeno taksonomsko enoto) AM glive in njeno funkcijo v specifičnem okolju še precej neraziskano. Temu botrujejo kompleksna biologija in genetika teh organizmov (Rosendahl, 2008), zahtevnost raziskav AM gliv, ki je v veliki meri pogojena z njihovo odvisnostjo od rastlinskih partnerjev (ne znamo jih gojiti brez rastline), ter kompleksnost in raznolikost njihovega življenjskega okolja, tal oziroma (miko)rizosfere (Helgason in Fitter, 2009).

Dokazano je tudi, da selekcija in žlahtnjenje rastlin v smeri pridobivanja vrst, ki so zelo odzivne na večje količine lahko dostopnih hranil v okolju, znana tudi pod pojmom »zelena revolucija«, lahko vodi v razvoj na arbuskularno mikorizo manj ali celo neodzivnih genotipov rastlin (Hetrick in sod., 1993; Toth in sod., 1990). Pojav po navadi ostaja neopažen, kadar omenjene genotipe rastlin gojimo v intenzivni pridelavi z velikim vnosom hranil. Spremenjeni odziv na mikorizacijo se pokaže šele v primeru zmanjševanja vnosa hranil v to okolje. Kljub temu, kot poročajo (Smith in sod., 2009), mikorizna pot privzema hranil v korenine rastlin še vedno igra pomembno vlogo pri privzemu fosfata v rastline, tudi pri rastlinah, kjer ne zaznamo pozitivnega učinka mikorize na samo rast in biomaso rastlin. Glede na splošno prisotnost AM gliv v agroekosistemi pa bi bilo v prihodnosti smiselno testirati nove kultivarje rastlin tudi na odzivnost na koristne simbiotske organizme (Maček, 2008).

2.1.3 Inokulumi z AM glivami in njihova uporaba v hortikulturi

Poznamo različne inokulume za različne vrste rastlin. Ectovit (proizvajalec Symbiom, CZ) na primer sestavlja mešanica ektomikoriznih gliv za vednozeleno in listopadna drevesa. Uporablja se kot tekoči pripravek. Vsebuje mikorizne glive, ki povečajo preskrbo rastlin z vodo in s hranili ter izboljšajo rast, odpornost in vitalnost rastlin. Drevesa, ki rastejo na naravnih rastiščih, so vedno v simbiozi z mikoriznimi glivami, medtem ko so glive na rastiščih, ki jih ustvari človek, precej redkejša. Mešanica mikoriznih gliv istega proizvajalca, primerna za vresovke (npr. rododendrone, azaleje, borovnice, brusnice, reso), se imenuje Rhodovit. Te rastline imajo zelo plitev koreninski sistem, kar povzroča težave pri preskrbi z vodo in hranili. Prednosti Rhodovita so povečan privzem hranil, izboljšana in kakovostnejša rast, zmanjšana potreba po zalivanju in gnojenju, večja odpornost rastlin na strese, kot so suša in bolezni. Na tržišču lahko dobimo tudi poseben inokulum, imenovan Turfcomp (Symbiom, CZ), ki je primeren za vse vrste trat. Vsebuje tri pomembne komponente arbuskularnih mikoriznih gliv, ki vstopajo v simbiozo s travami in izboljšajo preskrbo rastlin z vodo in minerali. Simbiotske glive zavirajo erozijo tal in zmanjšajo občutljivost rastlin na različne stresne dejavnike. Hidrogel, kot dodatek tovrstnim inokulomom, veže vlogo in jo ob izsuševanju tal znova odda, kar rastlinam zagotavlja optimalno preskrbo z vodo. Prednosti so izboljšan koreninski sistem, kakovostnejša rast, zmanjšana potreba po zalivanju in gnojenju ter povečana prezračenost tal (Mycocal program, 2016).

V našem poskusu smo uporabili inokulum s komercialnim imenom Symbivit (Symbiom, CZ), Priloga A. Symbivit je mešanica propagulov arbuskularnih mikoriznih gliv, primerna za zelnate rastline in sadno drevje. V podatkih proizvajalca vsebuje naslednje taksone AM gliv, (*Glomus constrictum*, *Glomus intraradices*, *Glomus claroideum*, *Glomus mosseae*, *Glomus intraradices*), komercialna različica inokuluma, ki je v prosti prodaji tudi v Sloveniji, še naslednje dodatke (6 vrst mikoriznih gliv, naravne sestavine, ki podpirajo

mikorizne glive (humati, zemeljski minerali, izvlečki morskih organizmov, biorazgradljiv absorpcijski gel), ki lahko vplivajo na rast rastlin. Rastline z vzpostavljeno mikorizo veliko bolje prenašajo pomanjkanje vode in stres ob presaditvi. Po podatkih proizvajalca naj bi bila rast rastlin ob uporabi inokuluma hitrejša, kar se kaže v večjih cvetovih in plodovih. Poleg neposrednih učinkov na rastlino pa mikoriza posredno varuje tudi naše okolje. Zaradi boljše izrabe hranilnih snovi ni potrebno intenzivno gnojenje in zalivanje. Zunajkoreninski micelij pod zemljo sprošča v okolico posebne proteine (glomalin), ki vežejo talne delce v agregate in tako zmanjšajo erozijo tal, kar je posebej pomembno na začetku rasti ali po presajanju rastlin. Mikorizne glive pa rastline ščitijo tudi pred nekaterimi boleznimi (Mycocal program, 2016).

2.2 PREDSTAVITEV UPORABLJENIH HORTIKULTURNIH RASTLIN V NAŠEM POSKUSU

2.2.1 Motovilec (*Valerianella locusta* L. Laterrade)

V nalogi smo uporabili dve prehransko pomembni rastlini, to sta motovilec in česen, ki sta v nadaljevanju na kratko opisani.

Navadni motovilec (*Valerianella locusta* L. Laterrade) (v nadaljevanju motovilec) spada v družino Valerianaceae – špajkovke. V Zahodni Evropi pridelujejo motovilec vse leto v specializiranih obratih v rastlinjakih. Pri nas je povpraševanje po motovilcu na trgu največje jeseni, pozimi in zgodaj spomladi (Černe, 2000).

Motovilec raste na travnikih, žitnih poljih in ob robovih polj v Evropi, Severni Afriki in Aziji do Kavkaza in Indije. Lahko ga gojimo tudi v višinskih legah v tropskem in subtropskem pasu. Predvidevajo, da sta domovina motovilca Sardinija in Sicilija. Ostanke v izkopaninah pričajo, da so ga že v neolitski dobi uporabljali za prehrano. Tudi v bronasti in železni dobi, kot tudi v starorimskih arheoloških najdbah, so našli sledove uporabe motovilca. Ni pa dokazov, da bi ga gojili v času preseljevanj in v zgodnjem srednjem veku. V poznem zgodnjem veku so ga pobirali po poljih jeseni, pozimi in zgodaj spomladi (Černe, 2000).

V večjem obsegu so ga začeli gojiti v začetku 20. stoletja zlasti v Franciji, Belgiji, Švici, Nemčiji, na Nizozemskem, v Veliki Britaniji in Italiji. V Zahodni in Srednji Evropi pozimi pridelujejo motovilec predvsem v rastlinjakih, ker potrebuje izredno malo toplote. V Franciji se je pridelovanje v zadnjih letih povečalo s 300 na 1200 ha, zato ga v osmih mesecih pridelajo 8500 ton in ga od tega 2500 ton izvozijo v Nemčijo. Motovilec tako v Franciji predstavlja 75 % svetovne proizvodnje. V Nemčiji ga pridelujejo na prostem na 500 ha in v rastlinjakih na 200 ha (Černe, 2000).

Po podatkih slovenske kmetijske svetovalne službe so motovilec pridelovali tržni pridelovalci v letu 1999 predvsem na Ljubljanskem barju (8 ha) ter podravskem (2 ha) in koprskem (1 ha) območju. Leta 2000 je bilo v tržnem pridelovanju pridelanega skupaj 20,5 ha motovilca, od tega največ na ljubljanskem (10 ha) in celjskem (4,5 ha) območju ter v Pomurju (1 ha). V Podravju in na koprskem območju so površine enake kot v preteklem letu (Černe, 2000).

Čeprav še vedno večino motovilca pridelujemo na prostem, se predvsem na vrtnarskih kmetijah, ki imajo plastenjake, širi tudi pridelovanje motovilca v zimskem času v zavarovanem prostoru. Z naprednejšo tehnologijo pa je možno pridelovanje tudi izven sezone od aprila do septembra (Černe, 2000; Peron in Rees, 1998).

Morfološke in biološke značilnosti motovilca

Motovilec uvrščamo v družino špajkovk (Valerianaceae). Je enoletna rastlina razmeroma kratke vegetacije. V začetku rasti oblikuje majhno rozeto z listi, ki so zelo odporni na nizke zimske temperature. Listi so podolgovati, na koncu širši, od temnozelene do rumenozelene barve. Rastlina razvije rozeto s šestimi do sedmimi nasproti rastočimi pari listov. Motovilec vernalizira pri temperaturi pod 10° C in preide iz rozete v cvet. Pri temperaturah nad 14° C raste rozeta. Motovilec vernalizira šele po razvoju vsaj dveh parov listov. Pri tako razvitem motovilcu temperature pod 14° C že v dveh tednih povzročajo poganjanje v cvet. Cveti belomodro (Peron in Rees, 1998).

Večinoma se oprašuje z lastnim cvetnim prahom, vendar tudi insekti prenašajo cvetni prah (Černe, 2000). Seme se razvije v tripredalčasti plodnici, en predal je ploden, druga dva jalova in zakrnela. Oba jalova predala sta manjša od plodnega. Pelodni vrat je eden. Plod je roška. Seme je okroglo do jajčaste oblike. Velikost je odvisna od sorte (Martinčič in Sušnik, 1984; Seidel, 1992). V enem gramu je od 600 (za debelosemenske sorte) do 1100 (za malosemenske sorte) semen. Sveže seme zelo slabo kali. Seme po pobiranju dozoreva, tako da je dvo- ali triletno seme boljše kaljivosti kot enoletno. Kali v temi (Černe, 2000).

Motovilec prištevamo med rastline, ki razvijejo korenine po površini. Ob manj ugodnih razmerah požene korenine tudi več kot 60 cm globoko. Stranske korenine se močneje razraščajo v širino kot v globino. V hidroponiki se korenine razvijejo bolj plitvo, vendar se rozeta razvija izredno lepo (Černe, 2000).

- Sortiment

Habitus, značilen za sorto, se spreminja od mlade rastline do tehnološke zrelosti (Siedel, 1992). V slovenski sortni listi za leto 2002 so sorte z različno zgodnostjo ter različno oblikovanimi in obarvanimi listi. Slovenske sorte, vključene v sortno listo 2002, so: 'Žličar', 'Zimko', 'Pomladin', udomačeni sorti sta 'Ljubljanski motovilec' in 'Holandski motovilec', nizozemski sorti sta 'Delika' in 'Macholong', od leta 2001 pa so v sortno listo vpisane še sorte 'Juwabel', 'Juwahit' in 'Masse' (Semenarna, 2016).

- Uporaba

Motovilec se največ uporablja svež v solati pozimi in zgodaj spomladi. S pravilno terminsko načrtovanimi setvami lahko pridelek motovilca uživamo vse leto. Ima večjo hranilno vrednost kot solata, eterična olja pa mu dajejo specifičen priokus (Lešić, 2002; Černe, 2000).

- Hranilna vrednost in zdravilnost

Motovilec ima majhno energetska vrednost. Od vseh solatnic vsebuje največ vitamina C. Motovilec je sorodnik baldrijana in mu pripisujejo zdravilne učinke, saj pomirja živce in krče v mišicah. Torej učinkuje kot pomirjevalo, verjetno zaradi prisotnosti valerinske kisline (Lešić, 2002). Ker vsebuje veliko mineralov, ugodno deluje na čiščenje krvi in kože, pospešuje izločanje vode in strupenih snovi iz telesa, olajša iztrebljanje. Pripomore, da se izognemo spomladanski utrujenosti, ker vsebuje razmeroma veliko železa. Priporočajo ga ledvičnim in srčnim bolnikom pri artritisu in sladkorni bolezni. Ker vsebuje razmeroma veliko karotena, je priporočljivo jesti motovilec tudi pri težavah z očmi, zlasti pri gledanju ponoči (Černe, 2000).

Motovilec predvsem v zimskih mesecih vsebuje veliko nitratov, ki jih nalaga zlasti, če v času rasti ni dovolj sonca, če so v zemlji večje količine dušika in če je vreme deževno. V takih pogojih se nitrati ne morejo vezati v beljakovine in ostajajo v celičnem soku (Černe, 2000; Koch, 1993).

V Nemčiji je v času od novembra do februarja dovoljena količina nitratov 2500 mg/kg svežega motovilca. V Avstriji v tem času dopuščajo 4500 mg/NO₃ v 1 kg sveže snovi, v poletnih mesecih pa od maja do oktobra 3500 mg/NO₃ na 1 kg sveže snovi. V okviru EU še ni določena mejna vrednost nitratov v motovilcu (preglednica 1) (Černe, 2000).

Preglednica 1: Vsebnosti snovi v motovilcu (Lešić, 2002)

Sestava motovilca	Deleži (%)
Voda	93,1–94,8
Surove beljakovine	1,2–2,4
Surove maščobe	0,2–0,5
Ogljikovi hidrati	2,3–3,2
Vlaknine	do 0,6
Minerali	do 0,8

Preglednica 2: Vsebnost najpomembnejših mineralov in vitaminov v mg/100 g jedilnega dela (Lešić, 2002)

Minerali in vitamini	mg/100 g jedilnega dela
Natrij	3–6
Kalij	404–436
Magnezij	13
Kalcij	24–40
Fosfor	48–50
Železo	0,6–2,2
Karoten	0,9–7,5
Vitamin E	0,4–0,8
Vitamin B ₁	0,03–0,08
Vitamin B ₂	0,02–0,2
Vitamin B ₃	0,2–0,4
Vitamin B ₆	0,2–0,3
Vitamin C	15–35

Pridelovalne razmere

- Klima

Motovilec je ena izmed toplotno najmanj zahtevnih zelenjadnic, zato dobro prezimi na prostem. Na zavetnih legah in če je pokrit z različnimi materiali, pozimi ne pozebe, lahko ga sproti pobiramo za svoje potrebe (Osvald in Kogoj Osvald 1994).

Od vseh solatnic najuspešneje prenaša nizke temperature. Nezaščitene ne prizadenejo niti temperature do -25°C , zato motovilec zelo dobro prezimuje na prostem. Če ga zaščitimo z vlaknatimi prekrivali, že pri temperaturi 5°C začne asimilirati, zato ga pozimi pobiramo ob otoplitvah. Motovilec poškodujejo hitre menjave nizkih in visokih temperatur, močno osončenje in močni vetrovi, ki povzročajo pomanjkanje vode, zato se

izsuši, posebno če rastline niso pokrite s snegom. Pogosto odmrzovanje in zamrzovanje tal lahko v zimah brez snega povzroča propadanje rastlin. Prezimujejo uspešnejše manjše rastline, ki niso pretegnjene, in sorte, ki so odporne na mraz (Černe, 2000).

Seme kali pri temperaturi nad 7° C, pri temperaturi 10° C vzkali v 16 dneh, pri temperaturi 15° C pa v 8 dneh. Za gojenje v rastlinjaki priporočajo naslednje temperature: do vznika od 15 do 20° C, od kalitve do presajanja od 8 do 12° C, ob presajanju za 1 dan do 2 dni temperature od 14 do 16° C in nato od 5 do 8° C. Pri temperaturah nad 12° C je povečana nevarnost pojava plesni. Temperature nad 25° C povzročajo, da se listi zvijajo. Pri močni osvetlitvi in višjih temperaturah je treba zračiti, če se v rastlinjaku poviša temperatura na 12 do 14° C. Za celoletno pridelovanje so potrebne temperature okoli 14° C, višje temperature zmanjšujejo kakovost in količino pridelka (Černe, 2000).

Na sončni legi se motovilec dobro razvija, v senci pa so rastline pretegnjene in bolj občutljive na mraz (Bajec, 1988).

- Vlaga

Glede vlage motovilec ni preveč zahteven. V primerno vlažnih tleh pa seme bolje kali in rastlina se razvije hitreje (Bajec, 1988). V takih tleh je tudi bolj sočen, kot če v zemlji primanjkuje vlage. Na prostem po setvi nekoliko suho zemljo povaljajo, da seme dobi več vlage. V rastlinjaki previsoka vlaga lahko povzroči plesen, zato zračimo, ko je več kot 70–80 % relativne vlage v zraku. Zračenje ob sončnih dneh prilagodimo temperaturam (Černe, 2000).

- Tla

Motovilec nima velikih zahtev glede tal. Uspeva na vseh humusnih vrtnih tleh, ki niso zapleveljena in dobro zadržujejo vodo. Najprimernejša so apnena, lahka, ilovnata tla, bogata s humusom. Slabo uspeva na mrzlih in zelo vlažnih tleh (Bajec, 1988). Ustrezajo mu tla s pH 6,5. Za pridelovanje so manj primerna zelo težka, vlažna in mrzla tla, v teh tudi znatno slabše prezimi (Černe, 2000).

- Kolobar

Motovilec v kolobarju pridelujemo za vrtninami, ki jih spravimo do konca avgusta, če želimo motovilec pobirati še pred zimo ali do septembra ali če namenimo motovilec za prezimovanje. Primerni predposevki so krompir, zelje, cvetača, kumare, paradižnik, bučke in na zelo humozni zemlji tudi čebula, česen, korenček in rdeča pesa. Zelo pomembno je, da predposevek ne zapleveli tal in da v zemlji ne ostane preveč hranil. Za motovilec, ki

ga pobereмо spomladi, gojimo različne vrtnine, kot so kumare, paradižnik, zelje in stročji fižol. Čeprav se motovilec dobro prenaša, ga na isto površino sejemo šele po treh letih, ne gojimo ga tudi po solati, ker se na obeh pojavljajo iste bolezni, ki jih povzročajo glive iz rodov *Botrytis*, *Rhizoctonia*, *Phoma*, *Sclerotinia* (Černe, 2000).

- Gnojenje

Motovilec nima velikih potrebe po hranilih. Ima zelo plitek koreninski sistem, ki koristi hranilne snovi iz 15–20 cm globine tal (Lešić, 2002). Motovilec sejemo za vrtninami, ki smo jih pognojili s hlevskim gnojem. Nikoli ga ne smemo gnojiti s svežim gnojem (Bajec, 1988).

Odvzem hranil je pri motovilcu razmeroma skromen, saj raste razmeroma malo časa na površini. Ker pa v zimskem času pokriva tla, ga je zelo priporočljivo pridelovati na vodovarstvenem območju, da v jeseni porabi hranila, drugače se izpirajo v podtalje (Černe, 2000).

Za pridelek okrog 100 dt/ha (1 kg/m^2) priporočamo gnojenje z okrog 50 kg dušika, 30 kg fosforja, 75 kg kalija in 22 kg magnezija na hektar. Priporočamo, da se dušik razdeli na dva dela. Ob setvi damo $1/3$ dušika, preostanek pa ob dognojevanju, ko sta razvita prava dva lista (Černe, 2000).

Vizualno lahko ocenimo, kaj rastlini primanjkuje, in tako s pravočasnim in pravilnim ukrepanjem rastlini pomagamo. Pomanjkanje dušika se kaže s klorozo. Nastanejo svetlozeleni listi, ki se najprej pojavijo na starejših listih. Pri pomanjkanju fosforja starejši listi postanejo bolj rdeče obarvani. Pomanjkanje kalija pa se kaže z nekrozami (Černe, 2000).

Tehnologija pridelave

- Pridelava semena

Za tržno pridelavo motovilca običajno uporabljamo kupljeno seme, ki je dodelano. Za potrebe lastnega gospodinjstva in ekološko pridelavo pa seme pridelamo doma. Možna pa je tudi tržna pridelava semena. Za pridelavo semena opravimo setev septembra ali oktobra v vrste (20 do 10 cm), za kar porabimo 10 do 20 dag semena na ar. Seme dozoreva v mesecu juniju. Dozoreva počasi in neenakomerno. Žanjemo, ko je 50 % semena zrelega. Požete rastline pustimo v senci na gladki podlagi, da se seme posuši in do konca dozori, nato jih otresemo. Na 1 ar lahko pridelamo 3 do 5 kg semena. Prostorska izolacija med sortami je potrebna in znaša 1500 m (Černe, 2000).

- Načini pridelave

Motovilec pridelujemo na prostem. Zaradi večje cene, ki jo dosega pozimi, je razširjena tudi pridelava te zelenjadnice v zavarovanem območju. Pozimi ga lahko uspešno gojimo v neogrevanih rastlinjakih ali nizkih in visokih tunelih, zlasti na območju brez snežne odeje. Na prostem za boljšo prezimitev priporočamo neposredno prekrivanje z vlaknatimi prekrivali (Škof, 2000).

Čas setve je odvisen od časa pobiranja. Pri nas začnemo s setvami motovilca avgusta. Pri tej setvi lahko v ugodnih vremenskih razmerah pobiramo pridelek že oktobra. Ker ne vemo, kakšno bo vreme, je zelo priporočljivo, da sejemo v več terminih. Za prezimitev so primerne rastline, ki imajo čvrsto rozeto s štirimi do šestimi listi in imajo dobro razvite korenine. Za prezimitev so primernejše rastline iz setev od sredine do konca septembra in v ugodnih razmerah še do začetka oktobra. Če so rastline premajhne, jih lahko že v začetku oktobra prekrijemo z vlaknatimi prekrivali, ali pa z vlaknatimi prekrivali prekrijemo neposredno tla po setvi (Černe, 2000).

S pravilno terminsko načrtovanimi setvami lahko pridelek motovilca uživamo vse leto. Tako si lahko kakovosten pridelek zagotovimo tudi v poletnih mesecih. V zimskih mesecih je zaradi porabe energije nekoliko dražji (Černe, 2000).

Posevek motovilca zasnujemo z neposredno setvijo, v novejšem času pa se predvsem pri pridelavi v zavarovanem prostoru uveljavlja zasnova posevka z vzgojo sadik (Škof, 2000).

Motovilec v novejšem času lahko pridelujemo tudi na hidroponski način. To je tehnika gojenja rastlin v hranilni raztopini (voda in hranila) z uporabo inertnih substratov ali brez njih. Tako hidroponiko delimo na agregatno (korenine se razvijejo na inertnih substratih), tekočinsko (korenine so stalno v hranilni raztopini) in zračno-aeroponsko (korenine so prosto viseče v zraku, ki je občasno nasičen s kapljicami hranilne raztopine). Hidroponske sisteme ločimo tudi po tem, ali se hranilna raztopina znova uporabi (zaprti sistem) ali ne (odprti sistem) (Osvald in Petrovič, 2001). V Belgiji so razvili še eno metodo gojenja motovilca na hidroponiki na poliuretanskih trakovih (PUR) in žlebovih, po katerih se pretaka hranilna raztopina. Najprej seme 24 ur namakajo v vodi, potem ga polagajo na PUR-trakove in nato v zabojčke, ki jih prenesejo za tri dni v temen prostor s temperaturo od 14 do 18° C. S predhodnim kaljenjem semena se skrajša čas gojenja za pol tedna. Nakaljena semena položijo v žlebove, po katerih hranilna raztopina kroži v zaprtem sistemu. Ko motovilec tehnološko dozori, ga lahko prodajajo na PUR-trakovih in pakirajo (Černe, 2000).

- Oskrba

Ob suši je treba zalivati že ob setvi. Količina vode, kot tudi število namakanj sta močno odvisna od vremenskih razmer. Enakomerna vlaga pospešuje razvoj in vpliva na povečevanje pridelka. Namakamo predvsem dopoldne, da se rastline do večera posušijo, saj se predvsem v jeseni in v zavarovanih prostorih na mokrih rastlinah pospešeno razvija plesen. Ta se pojavlja tudi v zavarovanih prostorih, zato je potrebno zračenje. Posevek ne sme biti pregost (Černe, 2000).

- Spravilo in skladiščenje pridelka

Motovilec tehnološko dozori v 12 tednih. Najprimernejši čas za pobiranje je, ko ima motovilec razvitih šest do osem parov listov in ko imajo posamezne rastline več kot 1,5 do 2,5 g, zunanji listi pa še ne začno rumeneti. Takrat so rastline še kompaktne in imajo oblikovano rozeto in kratke listne peclje. Če pobiramo prepozno, se poraba ročnih ur za čiščenje poveča, kar zmanjšuje gospodarnost pridelovanja.

Za redno oskrbo in spravilo kakovostnega pridelka je priporočljiva terminska zasnova gojenja (Černe, 2000).

Liste lahko porežemo posamično ali pa porežemo vse in pustimo, da poženejo novi. Na popolnoma ravni površini lahko motovilec kosimo. Za tržno pridelavo spodrežemo cele rastline do 0,5 cm nad rastjo korenin (Černe, 2000).

Če pobiramo spomladi, je treba paziti, saj predvsem pod vlaknatimi prekrivali ali v tunelih motovilec hitreje požene v cvet kot na prostem. Tudi pri pridelovanju na prostem pazimo, da pobiramo pravočasno, ker že nekaj dni trajajoče visoke temperature in pomanjkanje vlage pospešuje poganjanje v cvet (Černe, 2000).

Pri setvi v vrste lahko poberemo na uro 10 do 15 kg motovilca, pri presajenih rastlinah pa celo 18 do 34 kg/uro, vendar samo če posevki niso zapleveljeni in če so listi popolnoma zdravi (Černe, 2000).

2.2.2 Česen (*Allium sativum* L.)

Česen gojimo vegetativno, to je s setvijo stročkov. Česnovi listi so celi in podolgovati, dolgi 40 do 50 cm, v njihovih podpazduhah se oblikujejo posamezni stročki, ki sestavljajo glavico. V glavici, ki jo obdaja tri do šest posušenih ovojnih listov, je od 8 do 16 stročkov, odvisno od sorte. V vsakem stročku je vegetativni poganjek, da iz njega lahko v naslednjem letu zraste nova rastlina. Česen razvije močne in dolge korenine, zato črpa hranilne snovi tudi iz globokih talnih plasti. Pri sajenju česna je treba paziti, da se na isto

mesto ne posadi dveh stročkov, ker se potem česnova glavica ne razvije pravilno. Iz zunanjih stročkov, ki so večji in usločeni, dobimo večje glavice kot iz notranjih, manjših in ravnih stročkov (Černe, 1992).

Razvoj česna

V dolgem dnevu in potem, ko česen razvije že več listov, se začne razvoj stročkov. Če v tem času temperature presegajo 25° C, zavirajo razvoj stročkov ali pa se ti sploh ne razvijejo. Na razvoj stročkov vplivajo tudi temperature med shranjevanjem česnovih glav. Če jih shranimo pri temperaturi od 0 do 10° C 30 do 60 dni, pospešimo tvorbo stročkov. Če česen predolgo izpostavljamo nizkim temperaturam, se oblikuje zelo malo ovojnih listov in česen je slabše kakovosti (Černe, 1992).

Rastne razmere

Zimski česen začne rasti pri temperaturi od 3 do 5° C. Optimalna temperatura za rast je od 15 do 20° C, med dozorevanjem pa morajo biti temperature višje, to je od 25 do 26° C. Stročki za sajenje se shranjujejo pri temperaturi od 4 do 18° C in nizki relativni vlagi. Če se shranjujejo pri nižji temperaturi, se pospeši tvorba stročkov in zgodnejše dozorevanje, pri visokih temperaturah pa se tvori in dozori pozneje (Černe, 1992).

- Vlaga

Česen zahteva v začetku rasti veliko vode, ob dozorevanju pa manj. V začetku razvoja, ko nastajajo korenine, listi in stročki, potrebuje česen enakomerno vlažna tla z manjšimi nihanjem v količini vode. Če primanjkuje vlage v začetnem razvoju, dobimo majhne glavice z drobnimi in maloštevilnimi stročki. Glede vlage je zahtevnejši zimski česen. Ko pa začne česen dozorevati, je prav, da je zemlja bolj suha. Med dozorevanjem naj bo relativna vlaga zraka od 60 do 65 %, kar pospešuje dozorevanje (Černe, 1992).

- Svetloba in dolžina dne

Česen zahteva za svoj razvoj močno osvetlitev. Za pravilen razvoj stročkov je pogoj dolg dan, zato se česen sadi jeseni ali zelo zgodaj spomladi, da v kratkem dnevu tvori čim več listov, v dolgem pa se oblikujejo stročki (Černe, 1992).

- Tla

Česen dobro uspeva v tleh, ki so rodovitna in dobro zadržujejo vlogo. Uspeva v tleh, ki imajo blago kislo do nevtrarno reakcijo, to je pH 6,5 do 7,4. V zelo kisli zemlji slabše uspeva. V nehumozno zemljo dajemo kompost ali druga organska gnojila, v humozno pa

samo mineralna gnojila: za 1 m² se računa 8–13g N, 6–10g P₂O₅ in 10–15g K₂O. Potrebno je naknadno dognojevanje z dušikom (najprimernejši čas je, ko rastlina razvije tri do štiri liste), ker ga rastlina v času, ko se začno oblikovati stročki, potrebuje veliko. V zemlji mora biti dovolj mikroelementov, predvsem žvepla, da je pridelek bolj aromatičen in boljše kakovosti (Černe, 1992).

Ozimni ali zimski česen

Ozimni ali zimski česen razvije večje liste z manj voščene prevleke, glavico ovija manj listov. Glavica jesenskega česna je sestavljena iz 5 do 15 stročkov. Običajno ga sadimo do sredine oktobra. Do začetka mraza se ukorenini in razvije najmanj 10 do 12 korenin, dolgih 10 cm. Za to razvojno fazo je potrebno od 35 do 50 dni pri temperaturi od 5 do 10° C. Pri saditvi mora biti stroček pokrit z najmanj 3 cm tal (Černe, 1992).

2.3 PREGLED OBJAVLJENIH RAZISKAV O UPORABI MIKORIZE PRI MOTOVILCU IN ČESNU

Pregledali smo članke na temo mikorize, za kar smo uporabili bazi Web of Science in Science Direct, vendar o motovilcu (*Valerianella locusta* L. Laterrade) nismo našli nobenega članka, medtem ko je bil česen (*Allium sativum* L.) obravnavan v desetih člankih (preglednica 3).

Povzetki člankov, ki smo jih našli na temo mikorize pri teh dveh vrstah rastlin, so predstavljeni v preglednici 3. Navedeni so po letnicah od leta 1996 do 2014, opisane pa so različne raziskave na temo mikorize. Avtorji so preučevali različne dejavnike, npr. vpliv jasmonske kisline na rast česna z dodanim inokulumom v avtoklaviran substrat, pri čemer so ugotovili pozitivne učinke dodanega inokuluma na rast in debelino čebulice (Regvar in sod., 1996). Izveden je bil poskus z vrtnimi rastlinami v substratu z dodatkom mikoriznega inokuluma ob presajanju na prosto (Hamel, in sod., 1996), inokulacija v povezavi z gnojenjem in dodajanjem fosforja (Ortas in sod., 2007). Različne študije so pokazale, da je za arbuskularno mikorizo uporaba gnojil in biocidov škodljiva (Gosling in sod., 2006). Dokazano je bilo, da je česen mikorizno odvisna rastlina. Uporaba inokuluma z AM glivami poveča stopnjo kolonizacije pri koreninah česna (Borde in sod., 2009).

Članki so bili izbrani na podlagi dveh besednih zvez, tj. »Allium and Arbuscul*« in »Allium and Mycorr*«, in sicer na spletnih portalih Web of Science in Science Direct.

Ludvik P. Rast in razvoj sort rastlin v odvisnosti od inokulacije ... mikoriznimi glivami.

Mag. delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, 2016

V preglednici 3 so predstavljeni znanstveni članki s področja raziskav česna in arbuskularne mikorize od leta 1996 do 2014.

Preglednica 3: Znanstveni članki s področja raziskav česna in arbuskularne mikorize od leta 1996 do 2014

Leto objave	Naslov članka	Vodilni avtor	Lokacija poskusa	Kratek opis poskusa	Objava	A	B	C
1996	Effects of jasmonic acid on mycorrhizal <i>Allium sativum</i>	Regvar M.	Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani, Slovenija	Raziskovali so, kako jasmonska kislina vpliva na rast česna – (<i>Allium sativum</i> L.). Česen so posadili v avtoklaviran substrat, dodan je bil inokulum. Proučevali so odpornost rastlin, dolžino korenin in poganjkov. Ugotovili so, da sta bili pospešeni rast korenin in debelina čebulic, kjer sta bila uporabljena jasmonska kislina in inokulum. Razvidni so bili tudi kolonizacija in arbuskuli po dodatku jasmonske kisline. Jasmonska kislina je bila uporabljena v tem primeru, ker vpliva na endomikorizo.	New Phytologist, 4, 703-707.	2,208	1	Znanost o rastlinah
1996	Prospects and problems pertaining to the management of arbuscular mycorrhizae in agriculture	Hamel C.	Univerza McGill, Kanada	Narejen je bil poskus z vrtnimi rastlinami, med drugimi s česnom. Poskusili so dodati mikorizni inokulum ob presajanju na prosto. Te rastline so bolj prenesle aklimatizacijo. Ko so jih iz rastlinjaka presadili na prosto, se je pokazala boljša rast. Ugotovili so, da lahko inokulacijo uporabijo v povezavi z gnojenjem s fosforjem (P) na območjih, kjer so bila tla posebej slabo založena s tem.	Agriculture, Ecosystems and Environment, 60, 197-210.	0,555	2	Agronomija

"Se nadaljuje"

Ludvik P. Rast in razvoj sort rastlin v odvisnosti od inokulacije ... mikoriznimi glivami.

Mag. delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, 2016

"nadaljevanje preglednice 3"

Leto objave	Naslov članka	Vodilni avtor	Lokacija poskusa	Kratek opis poskusa	Objava	A	B	C
2006	Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming	Gosling P.	Univerza v Warwicku, VB	Študije kažejo, da je uporaba gnojil in biocidov škodljiva za arbuskularno mikorizo. Gojenim rastlinam lahko z mikorizo pomagamo v smislu rasti rastlin in vnosa hranil. Poskusi, ki proučujejo učinek na poljščine, so bili izvedeni v rastlinjakih. Veliko kmetij uporablja vodotopna mineralna gnojila in biocide, ki zmanjšujejo stopnjo mikorizacije rastlin. Ekološko kmetovanje je za arbuskularno mikorizo ugodnejše, ker ima potencial, da nadomesti gnojila, ki niso dovoljena v tem načinu kmetovanja. Potrebne bi bile spremembe pri upravljanju kmetij in izboljšave pri obveščanju kmetov o potencialu za uporabo mikorize v kmetijstvu.	Agriculture, Ecosystems and Environment, 113, 17-35.	1,832	1	Agronomija
2007	Effect of mycorrhizae inoculation on plant growth, yield and phosphorus uptake in garlic under field conditions	Ortas I.	Univerza Çukurova, Turčija	Proučevali so učinek fosforja na rast, pridelek in kakovost česna (<i>Allium sativum</i> L.). Poskus je trajal dve zaporedni leti v zunanjih razmerah. V prvem letu so rastline inokulirali s 1000 sporami, v drugem letu pa z 1000 do 2000 sporami AM gliv na rastlino. Pri dodajanju fosforja so bili pridelki večji in rast rastlin prav tako. Vendar pa je bilo več mikorize in stroki česna so bili večji, kjer niso dodali fosforja. Rezultati so pokazali, da je česen mikorizno odvisen, vendar pa mikorizna inokulacija ni prispevala k rasti rastlin in privzemu fosfornega hranila, prispevala pa je k večjemu pridelku česna.	Communications in Soil Science and Plant Analysis, 33, 13-14.	1,664	1	Agronomija.

"se nadaljuje"

Ludvik P. Rast in razvoj sort rastlin v odvisnosti od inokulacije ... mikoriznimi glivami.

Mag. delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, 2016

"nadaljevanje preglednice 3"

Leto objave	Naslov članka	Vodilni avtor	Lokacija poskusa	Kratek opis poskusa	Objava	A	B	C
2009	Role of bio-inoculant (AM fungi) increasing in growth, flavor content and yield in <i>Allium sativum</i> L. under field condition	Borde M.	Univerza Pune, Indija	V članku je opisano, kako arbuskularna mikoriza (kolonizacija z vrsto glive <i>Glomus fasciculatum</i>), s katero so inokulirali česen, uspešno vpliva na rast česna (<i>Allium sativum</i> L.) na prostem. Pri rastlinah se je pokazalo znatno povečanje parametrov rasti, kot so višina rastlin, biomasa čebulic, teža čebulic in pridelek, ki se je povečal za 21 %. Rezultati so torej pokazali, da mikoriza vpliva na rast in razvoj česna na prostem.	Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 2, 124-128.	0,463	4	Znanost o rastlinah
2012	The effect of mycorrhizal fungal inoculation on plant yield, nutrient uptake and inoculation effectiveness under long-term field conditions	Ortas I.	Univerza Çukurova, Turčija	Poskus je potekal v Turčiji na prostem v sredozemskih razmerah. Pokazalo se je, da pri rastlinah česna (<i>Allium sativum</i> L.) dodatek inokuluma AM gliv poveča kolonizacijo v koreninah česna in še nekaterih drugih vrtninah.	Field Crops Research, 125, 35-48.	2,474	1	Agronomija

"se nadaljuje"

Ludvik P. Rast in razvoj sort rastlin v odvisnosti od inokulacije ... mikoriznimi glivami.

Mag. delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, 2016

"nadaljevanje preglednice 3"

Leto objave	Naslov članka	Vodilni avtor	Lokacija poskusa	Kratek opis poskusa	Objava	A	B	C
2014	Effect of mycorrhizal and organic fertilizer on the growth of garlic	Wicaksone M.	Univerza Sebelas Maret, Indonezija	Namen te študije je bil ugotoviti povezavo med uporabo več vrst mikoriznega inokuluma in organskega gnojila in rastjo česna. Uporabili so različne tipe organskih gnojil in inokulacijo z AM glivami vrst <i>Gigaspora margarita</i> , <i>Acaulospora</i> sp. in <i>Glomus etunicatum</i> . Rezultati so pokazali, da je za inokulacijo v danih razmerah najbolj primerna vrsta <i>Gigaspora margarita</i> , ker poveča rast česna.	Jurnal Ilmu Ilmu Pertanian, 1, 35-43.	/	/	/

LEGENDA:

A – faktor vpliva revije v letu objave

B – četrtina revij z določenega področja raziskav, ki ji revija pripada v letu objave

C – glavno znanstveno področje revije

In situ – v naravnem okolju

/ – ni bilo podatka za leto objave članka

3 MATERIAL IN METODE

3.1 MATERIAL

- Česen (*Allium sativum* L.)

V poskusu smo uporabili avtohtono slovensko sorto česna, 'Ptujski spomladanski'. V nasprotju z jesenskim naredi ta manjše glave z večjim številom strokov. Je rdečevijoličen, ima zelo močan in značilen vonj in okus. Sadimo ga lahko jeseni (oktober–november) in spomladi (februar–marec). Čeprav se sorta imenuje spomladanski, ne pozebe.

Veliko bolje ga je saditi jeseni, ker se s tem pridelek poveča. Za česen je značilno, da za razvoj korenin potrebuje kratek dan, hladna tla in razlike med dnevno in nočno temperaturo. V takih razmerah naredi močan koreninski sistem, s tem pa tudi večji pridelek. Za sorto 'Ptujski spomladanski' je značilno, da prenaša izredno dolgo skladiščenje, saj sorta med skladiščenjem ne izgubi svojih odličnih lastnosti (Semenarna, 2016).

- Navadni motovilec (*Valerianella locusta* L. Laterrade)

Seme motovilca smo kupili v Semenarni Ljubljana, in sicer avtohtono slovensko sorto 'Ljubljanski motovilec', ki ima velike rozete s temnozelenim ožjim listom. Odlično prezimi, listi so odličnega okusa. Najbolje se obnese v jesenski setvi, lahko ga sejemo tudi spomladi.

- Tla

Tla, ki smo jih uporabili za poskus, so iz Šmartnega pri Slovenj Gradcu. Gre za njivska tla, kjer se je zadnjih petdeset let kmetovalo sonaravno, brez uporabe pesticidov, gnojeno pa je bilo izključno s hlevskim gnojem.

- Inokulum

Uporabili smo komercialni inokulum Symbivit, ki ga proizvajajo na Češkem (Symbiom Ltd.), specifikacija je v prilogi A.

Vsebuje nosilce iz naravne gline, pet vrst mikoriznih gliv in naravne sestavine, ki podpirajo razvoj mikorize, kot so: (humati, zemeljski minerali in izvlečki morskih organizmov). Mikorizne glive, ki jih po specifikaciji proizvajalca inokulum vsebuje so: *Glomus constrictum*, *Glomus intraradices*, *Glomus claroideum* in *Glomus mosseae*.

Inokulum Symbivit se lahko uporablja na dva načina, s suho ali mokro aplikacijo. Suh način aplikacije pride v poštev pri sajenju v grede. Symbivit položimo v jamico, preden damo vanjo seme, in sicer toliko, da prekrije dno jamice. Pri sajenju v lonce uporabimo eno zajemalko (ca. 5 g), ki je že priložena k embalaži, na liter substrata oziroma tal. Tako smo naredili tudi mi. Pri že rastočih rastlinah naredimo luknje okoli rastlin oziroma korenin, kjer potem nasujemo inokulum, saj mora ta v vsakem primeru priti v stik s koreninami. Pred sejanjem naneseemo inokulum 3 cm pod površino, nato položimo semena in prekrijemo s tanko plastjo prsti. Pri mokri aplikaciji inokulum mešamo s petkratno količino vode, pomočimo korenine rastlin v zmes, tako da se prime na celotno površino in takoj posejemo. Ta način je bolj primeren za večje rastline, kot so drevesa.

Inokulum je primeren za rože, zelenjavo, sadno drevje, jagodičje, nekatere iglavce in še nekatere rastline. Ni primeren za uporabo pri orhidejah, pri rastlinah, ki spadajo v družini Brassicaceae in Chenopodiaceae, in še pri nekaterih drugih, ki ne tvorijo arbuskularne mikorize (Mikorizne glive ..., 2016).

V lončnem poskusu smo uporabili obe rastlini, navadni motovilec (*Valerianella locusta*) in česen (*Allium sativum*). Rastlinam smo dodali komercialni inokulum arbuskularnih mikoriznih gliv (Symbivit). Poleg tega priprava smo uporabili še naravni inokulum, to so njivska tla (zasnova poskusa je v preglednici 4). Njivska tla, kot tudi del komercialnega inokuluma, smo najprej avtoklavirali. Avtoklaviranje je razkuževanje substrata v avtoklavu pri temperaturi 121° C in pri tlaku 1,3 bara, ki traja 15 min.

V poskus vključena semena in čebulice rastlin smo vsa predhodno površinsko razkužili z 10 % varekino, 15 minut. V poskusu smo spremljali rastni odziv rastlin na inokulacijo z AM glivami z meritvami podzemnega (dolžina korenin, sveža in suha masa) in nadzemnega dela rastlin (dolžina listov, sveža in suha masa). Ovrednotili smo vpliv mikorizacije na rast in razvoj izbranih sort prehransko pomembnih rastlin. Zasnova poskusa je predstavljena v preglednici 4.

V preglednici 4 je predstavljena postavitev poskusa, ki je potekal v rastlinjaku na UL BF v času od 6. 11. 2012 do 15. 3. 2013. Preglednica prikazuje pet obravnavanj, ki so označena posebej pri motovilcu in česnu, in sicer:

- neavtoklavirana tla
- neavtoklavirana tla + z dodatkom inokuluma Symbivit
- avtoklavirana tla + z dodatkom inokuluma Symbivit
- avtoklavirana tla + z dodatkom avtoklaviranega inokuluma Symbivit
- avtoklavirana tla

Pri vsakem obravnavanju smo imeli po štiri ponovitve (štiri lonce volumna 3 l z rastlinami). Skupaj je bilo pet obravnavanj pri vsaki vrsti rastlin, tako pri motovilcu kot pri česnu, kar pomeni skupaj pri vsaki vrsti posebej po dvajset loncev. Uporabili smo suh način aplikacije inokuluma, in sicer uporabili smo po tri zajemalke, ki vsebuje 15 g, pri posejanem semenu v sadilno luknjo. Za zalivanje smo uporabili kapljični sistem namakanja Tropf, proizvajalca Blumat, sistem sestavljata keramični stožec in sesalna cev, ki je bila neposredno priklopljena na vir tekoče vode (Blumat ..., 2016).

Preglednica 4: Zasnova poskusa po obravnavanjih za poskusni rastlini motovilec in česen

MOTOVILEC			ČESEN		
Obravnavanje		Ponovitev	Obravnavanje		Ponovitev
1.	Neavtoklavirana tla brez inokuluma	1	1.	Neavtoklavirana tla brez inokuluma	1
		2			2
		3			3
		4			4
2.	Neavtoklavirana tla z dodatkom inokuluma Symbivit	1	2.	Neavtoklavirana tla z dodatkom inokuluma Symbivit	1
		2			2
		3			3
		4			4
3.	Avtoklavirana tla z dodatkom inokuluma Symbivit	1	3.	Avtoklavirana tla z dodatkom inokuluma Symbivit	1
		2			2
		3			3
		4			4
4.	Avtoklavirana tla z dodatkom avtoklaviranega inokuluma Symbivit	1	4.	Avtoklavirana tla z dodatkom avtoklaviranega inokuluma Symbivit	1
		2			2
		3			3
		4			4
5.	Avtoklavirana tla brez inokuluma	1	5.	Avtoklavirana tla brez inokuluma	1
		2			2
		3			3
		4			4
Št. loncev	5	20	Št. loncev	5	20

3.2 MERITVE NA RASTLINSKEM MATERIALU

Pri motovilcu smo pred pobiranjem rastlin izvedli naslednje meritve: izmerili smo dolžino listov, dolžino korenin ter stehali svežo maso korenin in vsebnost vode v rastlini tako, da smo stehali svežo rastlino in potem suho ter določili razliko.

Ocenili smo tudi mikorizno kolonizacijo korenin: gostoto arbuskulov v delu korteksa z mikorizno kolonizacijo, gostoto arbuskulov v koreninskem delu, frekvenco delov korenine z glivo, intenziteto mikorize v koloniziranih delih korenin in intenziteto mikorize.

Pri česnu smo prav tako pred pobiranjem izmerili dolžino listov, dolžino korenin in stehali maso čebulice, vendar rezultati rasti parametrov rastlin v tem delu niso prikazani, ker smo imeli težave z rastjo česna in zato rastline niso bile primerne za nadaljnje analize. Kljub težavam smo ocenili mikorizno kolonizacijo korenin (glej rezultate). Do slabše rasti česna bi lahko prišlo zaradi začetnega razkuževanja čebulic z razkužilom (Varikina).

Iz vsakega lonca smo pri treh rastlinah izmerili višino petih najdaljših listov. Sledilo je čiščenje korenin in meritve dolžine korenin. Nadzemni del in očiščene korenine rastlin smo kasneje shranili v vrečke. V nadaljevanju smo stehali maso nadzemnega dela rastlin in skupno maso korenin. Nadzemni del smo kasneje posušili v sušilniku in po sušenju stehali suho snov. Za oceno kolonizacije korenin z AM glivami smo sveže korenine shranili v steklene epruvete z 80 % etanolom.

3.3 DOLOČANJE MIKORIZNE KOLONIZACIJE V KORENINAH RASTLIN

Za ocenjevanje kolonizacije korenin z AM glivami je treba presvetliti korenine in obarvati mikorizne strukture v koreninskem korteksu. Eden izmed možnih postopkov je naslednji: najprej z vročim KOH presvetlimo korenine (odstranitev citoplazme iz celic koreninske skorje), sledi specifično barvanje glivnih struktur znotraj korenine z barvilom tripan modro. Za oceno kolonizacije korenin z AM glivami smo uporabili metodo ocenjevanja kolonizacije pod svetlobnim mikroskopom. Ta zahteva podrobnejši pregled mikroskopskih preparatov pobarvanih korenin. V vzorcih smo ocenjevali mikorizno kolonizacijo ter gostoto arbuskulov v različnih razredih. Na podlagi tako dobljenih ocen lahko kolonizacijo ovrednotimo kvantitativno ali kvalitativno.

3.4 BARVANJE KORENIN ZA OCENO KOLONIZACIJE Z ARBUSKULARNIMI MIKORIZNIMI GLIVAMI

Koreninice, ki smo jih imeli shranjene skupaj z laktoglicerolom, smo zlili v petrijevke. Koščke korenin (10 koščkov, dolgih približno 1 cm) smo s pinceto prenesli na objektna stekla. Pregledali smo 1/3 koščkov celotnega vzorca, torej 10 koščkov koreninic za posamezni lonec z rastlinami. Paziti je bilo treba, da korenin nismo poškodovali, zato jih nismo smeli vleči narazen s pinceto, ker bi se lahko olupila koreninska skorja z glivami. Dodali smo nekaj kapljic laktoglicerola in pokrili s krovnim stekelcem. Vsako objektno steklo smo označili s številkami od 1 do 20, tako, kot smo imeli označene lonce v poskusu. Pod različnimi povečavami smo opazovali strukture gliv v koreninski skorji (znotraj koreninske hife, arbuskule in vezikle).

Priprava raztopin

Pri barvanju korenin smo uporabili naslednje raztopine:

- 10 % KOH: v merilni valj smo dali 100 g KOH in dolili destilirano vodo do 1 litra;
- 1N HCl: 41,7 ml kisline smo dodali v 500 ml destilirane vode, priprava je potekala v digestoriju;
- triptan modro, 80 mg: uporabili smo triptan modro do 586 ml, 40 g mlečne kisline do 242 ml, 80 g glicerola do 465 ml, 40 g destilirane vode do 239 ml;
- laktoglicerol: 40 g mlečne kisline do 242 ml, 80 g glicerola do 465 ml, 40 g destilirane vode do 293 ml.

Pred pričetkom barvanja smo sterilizator ogreli na več kot 90° C. Postopek barvanja korenin je sestavljen iz presvetljevanja korenin, barvanja in razbarvanja. Postopki so natančneje opisani v nadaljevanju.

Presvetljevanje in zakisanje korenin

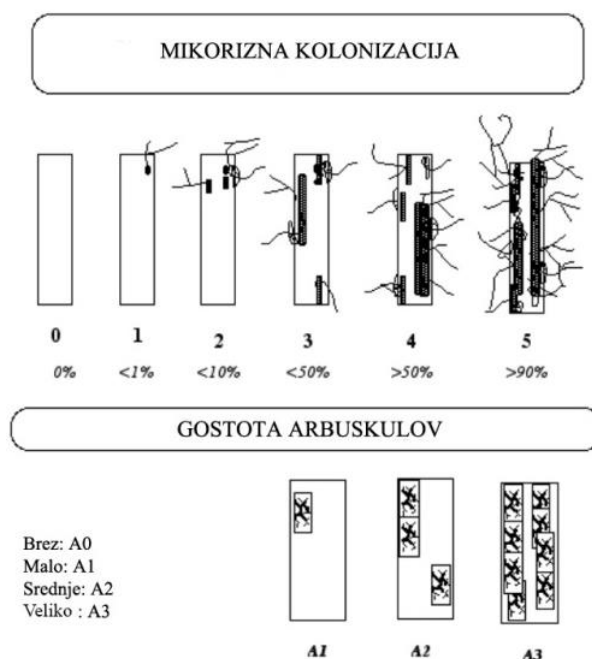
Vodo, v kateri smo spirali korenine, smo odlili ter dodali 10 % KOH, da so bile koreninice prekrite. Nato smo jih za pet minut dali v sterilizator. Raztopina razbarva citoplazmo in jedro koreninskih celic. Sledilo je štirikratno spiranje z vodo. Za zakisanje je treba dodati 1N HCl, ki poveča permeabilnost membrane koreninskih celic in tako olajša prodiranje barvila v koreninsko tkivo. Tega pustimo stati samo 1 minuto.

Barvanje glivnih struktur in razbarvanje

Ko smo odlili 1N HCl, nismo nič spirali. Dolili smo triptan modro, ki selektivno obarva hitin (sestavina celične stene gliv). Delovati smo ga pustili 10 minut v sterilizatorju pri 90° C. Zaradi strupenosti barvila smo po 10 minutah barvilo odlili v posebno posodo in koreninice štirikrat sprali z navadno vodo (toliko da voda ni bila več modra). Koreninam smo na koncu dolili še laktoglicerol in jih shranili v hladilnik.

3.5 OCENJEVANJE MIKORIZNE KOLONIZACIJE

Kolonizacijo korenin z AM glivami smo ocenjevali pod mikroskopom. Iz posameznih vzorcev korenin smo vzeli po 10 koreninic dolžine 1 cm, ki smo jih razporedili na objektna stekelca, dodali kapljico laktoglicerola ter jih pokrili s krovnim stekelcem. Pri posameznem vzorcu smo ocenjevali dva parametra mikorizne kolonizacije: mikorizno kolonizacijo v razredih od 0 do 5 ter gostoto arbuskulov v razredih od A0 do A3 (slika 1). Na podlagi tako pridobljenih ocen smo izračunali frekvenco delov korenine z glivo (F %), intenziteto mikorize (M %), intenziteto mikorize v koloniziranih delih korenin (m %), gostoto arbuskulov v delu korteksa z mikorizno kolonizacijo (a %) in gostoto arbuskulov v koreninskem sistemu (A %).



Slika 1: Ocenjevanje mikorizne kolonizacije v koreninah.

Kolonizacija korenin z arbuskularno mikorizo se na podlagi odstotka mikorizne kolonizacije v korenini rastline razvršča v razred 0 (0 % kolonizacije), razred 1 (< 1 %), razred 2 (< 10 %), razred 3 (< 50 %), razred 4 (> 50 %) in razred 5 (> 90 %). Gostota arbuskulov se razvršča v razrede A0 (brez arbuskulov), razred A1 (malo arbuskulov), razred A2 (srednje veliko arbuskulov) in razred A3 (veliko arbuskulov) (Trouvelot in sod., 1986).

Za izračun parametrov kolonizacije korenin z AM glivami smo uporabili naslednje formule.

Frekvenca delov korenin z glivo

$$F (\%) = (\text{število mikoriziranih korenin} / \text{število vseh korenin}) * 100 \quad \dots (1)$$

F (%) vrednost odraža razpoložljivost propagulov AM gliv v tleh.

Intenziteta mikorize

$$M (\%) = (95 n_5 + 70 n_4 + 30 n_3 + 5 n_2 + n_1) / (\text{število vseh korenin}), \quad \dots (2)$$

kjer je n_5 , n_4 , n_3 , n_2 in n_1 število fragmentov, razvrščenih v posamezni razred.

M (%) nam daje informacijo, kolikšen del koreninske skorje celotnega koreninskega sistema je koloniziran z AM glivami.

Intenziteta mikorize v koloniziranih delih korenine

$$m (\%) = M * (\text{število vseh korenin}) / (\text{število mikoriziranih korenin}) = M * 100 / F \quad \dots (3)$$

m (%) nam pove, kolikšna je infektivnost glive, tudi če glivnega inokuluma v tleh (F %) ni veliko.

Gostota arbuskulov v delu korteksa z mikorizno kolonizacijo

$$a (\%) = (100 m A_3 + 50 m A_2 + 10 m A_1) / 100, \quad \dots (4)$$

kjer je:

$m A_3 =$

$$[(95 n_5 A_3 + 70 n_4 A_3 + 30 n_3 A_3 + 5 n_2 A_3 + n_1 A_3) / \text{št. mikoriziranih korenin}] * 100 / m, \quad \dots (5)$$

kjer je:

$n_1 A_3, n_2 A_3, \dots, n_5 A_3$ = število fragmentov z gostoto arbuskulov v razredu A_3 v posameznih razredih za mikorizno kolonizacijo.

$a (\%)$ je gostota arbuskulov v delu korteksa z mikorizno kolonizacijo. Odraža potencial mikoriznih simbiotov in kaže nivo fiziološke kompatibilnosti.

Gostota arbuskulov v koreninski skorji

$$A (\%) = a * (M / 100) \quad \dots (6)$$

$A (\%)$ je gostota arbuskulov v koreninskem sistemu oziroma kvalitativna ocena mikorizne *in situ*.

Navedene parametre smo izračunali s pomočjo računalniškega programa Mycocalc (Trouvelot in sod., 1986).

3.6 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV

Razlike med povprečji za rastne parametre rastlin in parametre kolonizacije korenin z AM glivami smo izračunali z metodo enosmerna ANOVA. Če so bile razlike statistično značilne, smo uporabili Tukeyeve kontraste, ki pokažejo, med katerimi obravnavami so razlike. Za izračune smo uporabili programski jezik R, različice 3.0.1. s paketom Rcmdr (R Project for Statistical Computing, 2016). Rezultate smo prikazali v obliki slik in preglednic.

4 REZULTATI

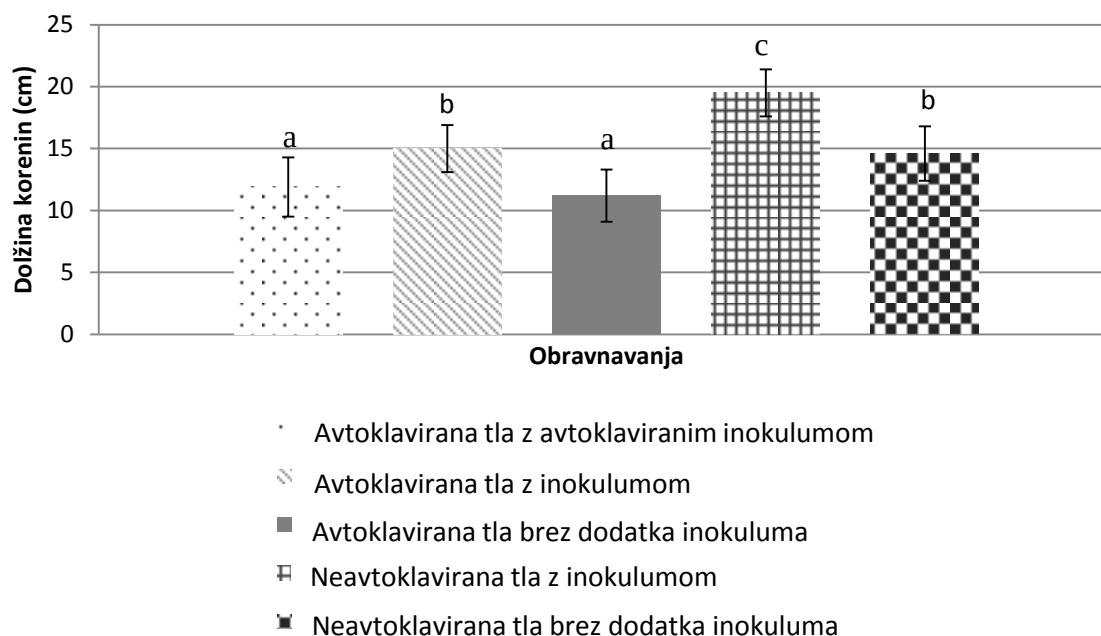
4.1 MOTOVILEC

Vpliv obravnavanj na rast rastlin navadnega motovilca

Preglednica 5: Vpliv avtoklaviranja tal in dodatka inokuluma na rastne parametre pri motovilcu. Dolžina korenin (cm), masa korenin (g), višina listov (cm) in vsebnost vode v rastlini (%). Podane so povprečne vrednosti $\pm$ standardna napaka (SE) ($n = 4$). Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p < 0,05$) med obravnavami, ki smo jih pridobili s Tukeyevimi kontrasti.

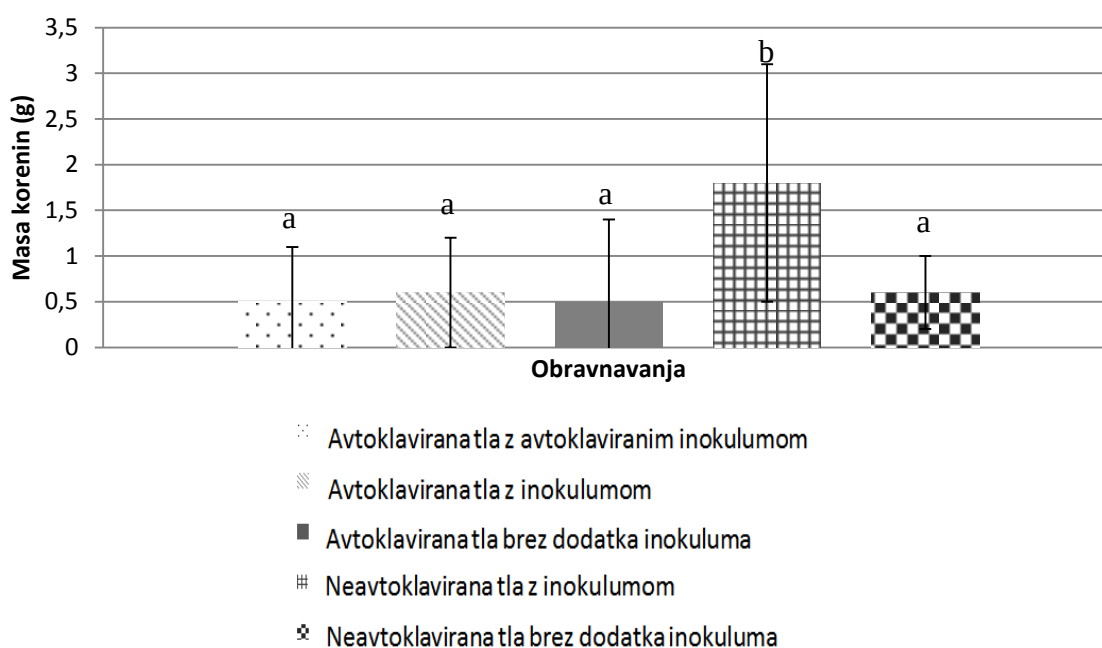
Obravnavanja	Dolžina korenin (cm)	Masa korenin (g)	Dolžina listov (cm)	Vsebnost vode v rastlini (%)
Avtoklavirana tla z avtoklaviranim inokulumom	$11,9 \pm 2,4^a$	$0,5 \pm 0,6^a$	$14,6 \pm 1,9^b$	$92,1 \pm 0,9^a$
Avtoklavirana tla z inokulumom	$15,0 \pm 1,9^b$	$0,6 \pm 0,6^a$	$16,4 \pm 1,9^b$	$92,5 \pm 0,8^a$
Avtoklavirana tla brez dodatka inokuluma	$11,2 \pm 2,1^a$	$0,5 \pm 0,9^a$	$11,1 \pm 2,8^a$	$93,1 \pm 2,6^a$
Neavtoklavirana tla z inokulumom	$19,5 \pm 1,9^c$	$1,8 \pm 1,3^b$	$15,1 \pm 1,6^b$	$92,2 \pm 1,2^a$
Neavtoklavirana tla brez dodatka inokuluma	$14,6 \pm 2,2^b$	$0,6 \pm 0,4^a$	$10,5 \pm 1,4^b$	$92,9 \pm 1,4^a$

Največjo **dolžino korenin** smo zabeležili pri rastlini motovilca, pri kateri tla niso bila avtoklavirana, dodan pa je bil inokulum (povprečna dolžina korenin motovilca je $19,5 \pm 1,9$ cm). Najmanjšo dolžino korenin smo zabeležili pri obravnavi z avtoklaviranimi tlemi brez dodatka inokuluma (povprečna dolžina korenin je $11,2 \pm 2,1$ cm).



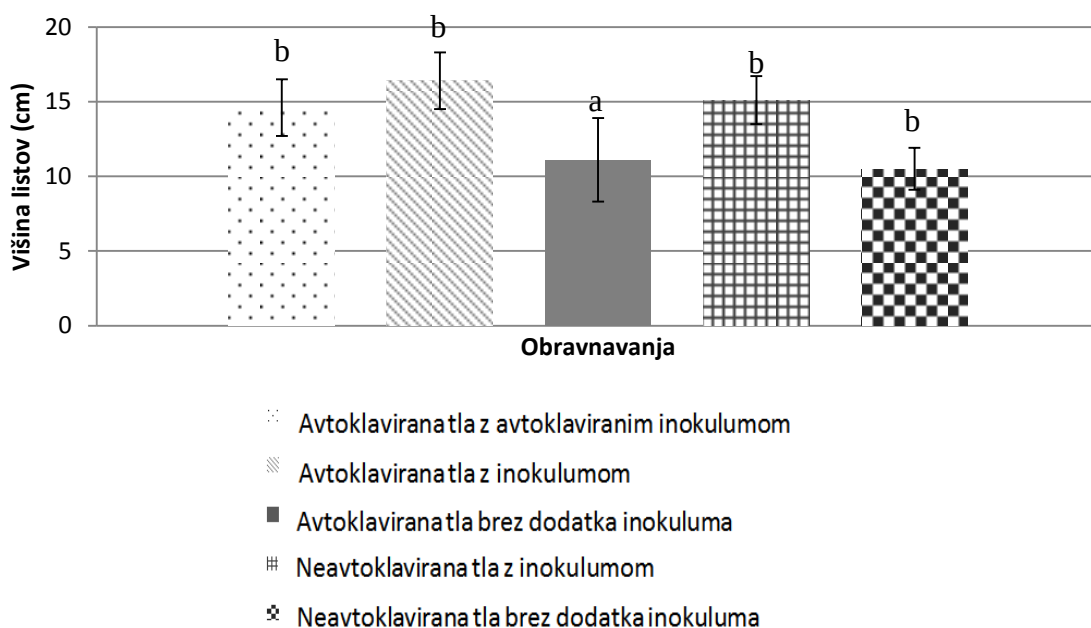
Slika 2: Grafični prikaz povprečne dolžine korenin pri motovilcu po posameznih obravnavah (povprečje $\pm$ SE)

Masa korenin po obravnavanjih ni enaka, ampak so med obravnavanji statistične razlike. Enosmerna ANOVA je rezultate razvrstila v dve skupini. S statistično analizo smo ugotovili, da je bila največja masa korenin v neavtoklaviranih tleh z dodatkom inokuluma (povprečna masa korenin je $1,8 \pm 1,3$ g), kar nam jasno prikazuje tudi slika 3. Najmanjšo maso korenin smo zabeležili pri koreninah, kjer so bila tla avtoklavirana z dodatkom avtoklaviranega inokuluma (povprečna masa korenin $0,5 \pm 0,6$ g) in pri avtoklaviranih tleh z dodatkom inokuluma (povprečna masa korenin $0,5 \pm 0,9$ g). Statistično značilnih razlik v masi korenin ni bilo med obravnavanji avtoklaviranih tal z avtoklaviranim inokulumom, avtoklavirana tla brez dodatka inokuluma, avtoklavirana tla z dodatkom inokuluma in neavtoklaviranih tal brez dodatka inokuluma (glej preglednico 5).



Slika 3: Grafični prikaz povprečne mase korenin motovilca po obravnavanjih (povprečje ± SE)

Največjo **višino (ali dolžino) listov** smo zabeležili pri obravnavanju z avtoklaviranimi tlemi in dodatkom inokuluma (povprečna dolžina listov je $16,4 \pm 1,9$ cm). Najmanjšo dolžino listov smo zabeležili pri obravnavanju neavtoklaviranih tal brez dodatka inokuluma (povprečna dolžina listov je $10,5 \pm 1,4$ cm). Statistično značilne razlike so bile tako prisotne med obravnavanji z dodatkom in brez dodatka inokuluma.

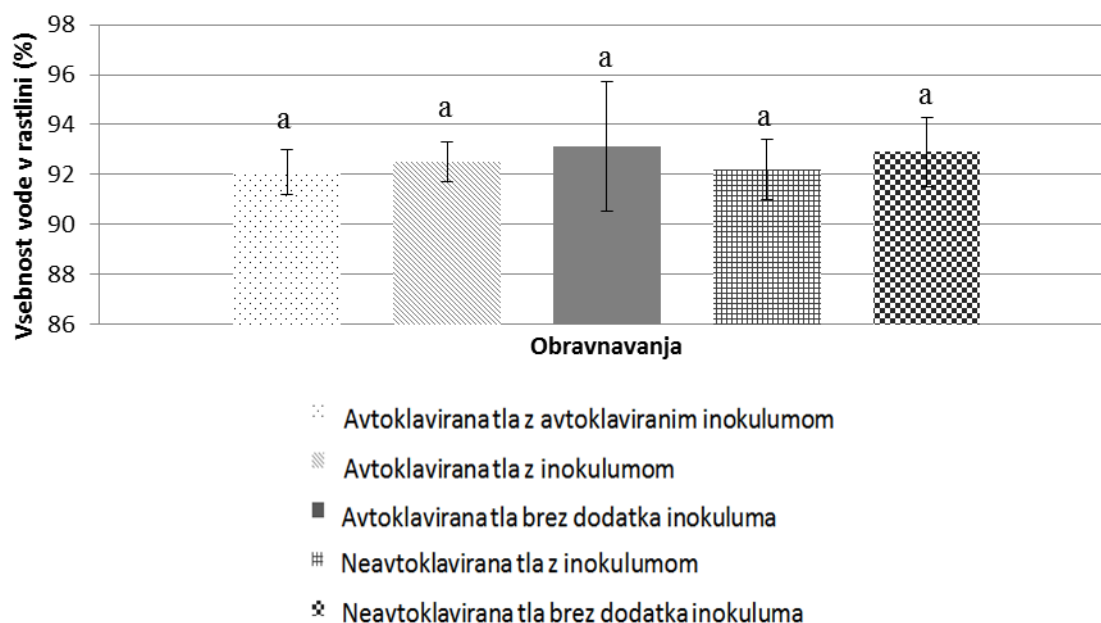


Slika 4: Grafični prikaz povprečne višine (dolžine) listov motovilca po posameznih obravnavanjih (povprečje $\pm$ SE)



Slika 5: Slika lončnega poskusa z motovilcem (*Valleriana locusta* L. Laterrade)

Kot kaže slika 6 pri **vsebnosti vode v rastlini** med obravnavanji ni statistično značilnih razlik. Vsebnost vode v rastlini je med maksimalno $93,1 \pm 2,6$ % in minimalno $92,1 \pm 0,9$ % (slika 6).



Slika 6: Grafični prikaz povprečij vsebnosti vode v motovilcu po obravnavanjih (povprečje $\pm$ SE)

4.2 MIKORIZNA KOLONIZACIJA KORENIN MOTOVILCA

Z metodo enosmerna ANOVA smo preverjali posamezne parametre/ocene kolonizacije korenin z mikoriznimi glivami, ki so bili pomemben del poskusa. Pridobljene ocene so bile zasnovane za izračun gostote arbuskulov v delu korteksa z mikorizno kolonizacijo (a %), gostote arbuskulov v koreninskem sistemu (A %), frekvence delov korenin z glivo (F %), intenzitete mikorize v koloniziranih delih korenin (m %) in intenzitete mikorize (M %).

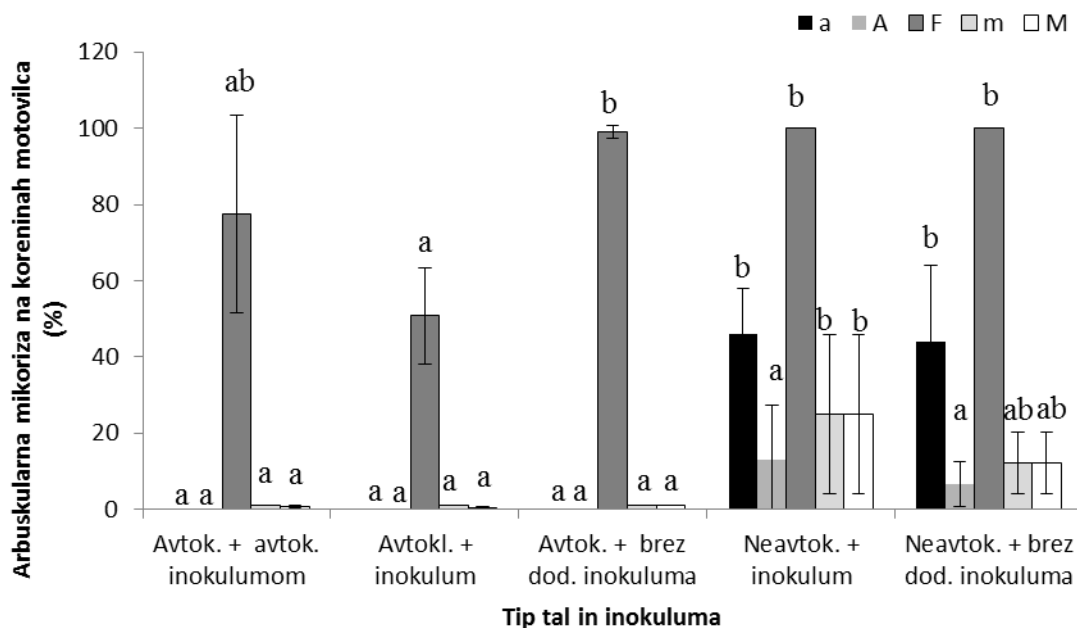
Preglednica 6: Vpliv avtoklaviranja tal in dodatka inokuluma na kolonizacijo korenin motovilca z AM glivami. Podane so povprečne vrednosti $\pm$ standardna napaka (SE) ($n = 4$). Različne črke označujejo statistično značilne razlike med obravnavami, ki smo jih pridobili s Tukeyevimi kontrasti.

Obravnavanja	Gostota arbuskulov v delu korteksa z mikorizno kolonizacijo (a) (%)	Gostota arbuskulov v koreninskem delu (A) (%)	Frekvenca delov korenine z glivo (F) (%)	Intenziteta mikorize v koloniziranih delih korenin (m) (%)	Intenziteta mikorize (M) (%)
Avtoklavirana tla z avtoklaviranim inokulumom	0 ± 0^a	0 ± 0^a	$77,5 \pm 26,0^{ab}$	1 ± 0^a	$0,8 \pm 0,3^a$
Avtoklavirana tla z inokulumom	0 ± 0^a	0 ± 0^a	$50,8 \pm 12,6^a$	1 ± 0^a	$0,5 \pm 0,1^a$
Avtoklavirana tla brez dodatka inokuluma	0 ± 0^a	0 ± 0^a	$99,2 \pm 1,7^b$	1 ± 0^a	$0,9 \pm 0^a$
Neavtoklavirana tla z inokulumom	$45,9 \pm 12,1^b$	$13,1 \pm 14,3^a$	100 ± 0^b	$24,8 \pm 20,9^b$	$24,8 \pm 20,9^b$
Neavtoklavirana tla brez dodatka inokuluma	$44,0 \pm 20,1^b$	$6,5 \pm 5,9^a$	100 ± 0^b	$12,1 \pm 8,1^{ab}$	$12,1 \pm 8,1^{ab}$

Za gostoto arbuskulov v delu korteksa z mikorizno kolonizacijo (a) smo pridobili rezultate le za dve obravnavanji. Pri obravnavanjih, kjer so bila tla avtoklavirana, nismo opazili arbuskulov.

Zanimivo je, da somo opazili kolonizacijo korenin z glivami tudi pri obravnavanjih z avtoklaviranimi tlemi, kar pomeni, da je prišlo do kolonizacije korenin rastlin tudi v tem primeru. Verjetno gre za kontaminacijo, saj v rastlinjaku težko zagotovimo sterilne razmere. V koreninah teh rastlin sicer nismo opazili arbuskulov.

Največja gostota arbuskulov v delu korteksa z mikorizno kolonizacijo (a) je bila v koreninah motovilca, ki je rasel v neavtoklaviranih tleh z dodatkom inokuluma. Pri tej obravnavi je bila povprečna vrednost za gostoto arbuskulov v korteksu z mikorizno kolonizacijo $45,9 \pm 12,1$ %. Graf na sliki 7 prikazuje, da se obravnavanji neavtoklaviranih tal z dodatkom inokuluma ali brez bistveno ne razlikujeta v gostoti arbuskulov v delu korteksa z mikorizno kolonizacijo.



Slika 7: Grafični prikaz mikorizne kolonizacije

a- gostota arbuskulov v delu korteksa z mikorizno kolonizacijo

A- gostota arbuskulov v koreninskem delu

F- frekvenca delov korenine z glivo

m- intenziteta mikorize v koloniziranih delih korenin

M- intenziteta mikorize

Največja frekvenca delov korenin z glivo (F) je bila v koreninah motovilca, ki je rasel v neavtoklaviranih tleh z dodatkom inokuluma (nA + I) in brez dodatka inokuluma (nA + bI). Povprečna vrednost za frekvenco delov korenin z glivo je 100 %. Najmanjša frekvenca korenin z glivo je bila na koreninah motovilca, ki je rasel v avtoklaviranih tleh z dodatkom inokuluma (A + I). Povprečje s standardno napako za frekvenco delov korenin z glivo pri (A + I) je $50,8 \pm 12,6$ %. Obravnavanja se med seboj statistično razlikujejo ($p < 0,05$). (A + bI) (slika 7).

Največja intenziteta mikorize (M) je bila v koloniziranih delih korenin na koreninah motovilca, ki je uspeval na neavtoklaviranih tleh, dodan pa jim je bil inokulum (nA + I). Povprečna vrednost s standardno napako intenzitete mikorize v koloniziranih delih korenin je $24,8 \pm 20,9$ %. Najnižja intenziteta mikorize v koloniziranih delih korenin je bila na koreninah motovilca, ki je rasel v avtoklaviranih tleh, ne glede na dodatek inokuluma (A + AI, A + I in A + bI). Povprečna intenziteta mikorize v koloniziranih delih korenin je 1 %. Graf na sliki 7 kaže, da je bila največja intenziteta mikorize v koloniziranih delih korenin pri obravnavi z neavtoklaviranimi tlemi brez dodatka inokuluma.

4.3 ČESEN

V rezultatih smo prikazali samo podatke o mikorizaciji korenin česna. Že med poskusom je bilo razvidno, da se rastline česna niso dobro razvijale in zato tudi nismo mogli obdelati podatkov o rasti česna tako, kot smo to naredili za motovilec. Rezultati za česen so prikazani v preglednici 7 in sliki 8.

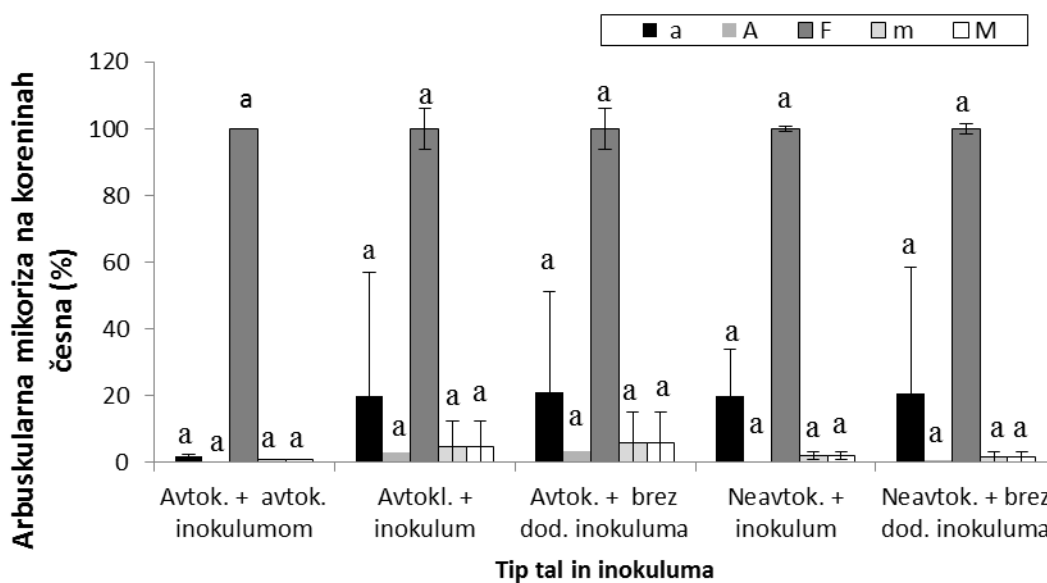
Preglednica 7: Vpliv avtoklaviranja tal in dodatka inokuluma na kolonizacijo korenin česna z AM glivami. Podane so povprečne vrednosti $\pm$ standardna napaka (SE) ($n = 4$). Različne črke označujejo statistično značilne razlike med obravnavami, ki smo jih pridobili s Tukeyevimi kontrasti.

Obravnavanja	Gostota arbuskulov v delu korteksa z mikorizno kolonizacijo (a) (%)	Gostota arbuskulov v koreninskem delu (A) (%)	Frekvenca delov korenine z glivo (F) (%)	Intenziteta mikorize v koloniziranih delih korenin (m) (%)	Intenziteta mikorize (M) (%)
Avtoklavirana tla z avtoklaviranim inokulumom (A + AI)	$1,75 \pm 0,5^a$	$0,02 \pm 0,01^a$	100 ± 0^a	1 ± 0^a	1 ± 0^a
Avtoklavirana tla z inokulumom (A + I)	$19,88 \pm 37,1^a$	$3,09 \pm 6,1^a$	100 ± 0^a	$4,83 \pm 7,65^a$	$4,83 \pm 7,7^a$
Avtoklavirana tla brez dodatka inokuluma (A + bI)	$21,13 \pm 29,9^a$	$3,25 \pm 6,2^a$	100 ± 0^a	$6,00 \pm 9,11^a$	$6,00 \pm 9,11^a$
Neavtoklavirana tla z inokulumom (nA + I)	$20,5 \pm 13,8^a$	$0,5 \pm 0,7^a$	100 ± 0^a	$2,03 \pm 1,3^a$	$2,03 \pm 1,3^a$
Neavtoklavirana tla brez dodatka inokuluma (nA + bI)	$20,5 \pm 37,75^a$	$0,77 \pm 1,5^a$	100 ± 0^a	$1,73 \pm 1,5^a$	$1,73 \pm 1,5^a$

Podobno kot pri motovilcu, smo opazili kolonizacijo korenin z glivami tudi pri obravnavanjih z avtoklaviranimi tlemi, kar pomeni, da je prišlo do kolonizacije korenin rastlin tudi v tem primeru in gre verjetno za kontaminacijo, saj v rastlinjaku težko zagotovimo sterilne razmere. V nasprotju z motovilcem smo v tem primeru v koreninah opazili tudi arbuskule.

Največjo gostoto arbuskulov v delu korteksa z mikorizno kolonizacijo (parameter a) smo opazili pri koreninah česna, ki je rasel v avtoklaviranih tleh brez dodatka inokuluma

mikorizno kolonizacijo pa smo opazili pri avtoklaviranih tleh z avtoklaviranim inokulumom (A + AI), kar je razvidno iz grafa na sliki 8. Povprečna vrednost in standardna napaka za gostoto arbuskulov v delu korteksa z mikorizno kolonizacijo znašata $1,75 \pm 0,5$ %. To lahko vidimo tudi na sliki 7. Med vsemi petimi obravnavanji ni bilo statistično značilnih razlik (enosmerna ANOVA; $p > 0,05$).



Slika 8: Grafični prikaz različnih parametrov mikorizne kolonizacije pri česnu

a- gostota arbuskulov v delu korteksa z mikorizno kolonizacijo

A- gostota arbuskulov v koreninskem delu

F- frekvenca delov korenine z glivo

m- intenziteta mikorize v koloniziranih delih korenin

M- intenziteta mikorize

Največjo gostoto arbuskulov v koreninskem delu (parameter A) smo opazili pri koreninah česna, ki je rasel v avtoklaviranih tleh brez dodatka inokuluma (A + bI). Povprečje in standardna napaka znašata $3,25 \pm 6,2$ %. Visoko vrednost gostote arbuskulov v koreninskem sistemu je bilo opaziti tudi na koreninah česna, ki je rasel v avtoklaviranih tleh z dodatkom inokuluma (A + I), s povprečjem $3,09 \pm 6,1$. Najvišji vrednosti se bistveno ne razlikujeta. Najmanjšo gostoto arbuskulov v koreninskem sistemu pa smo opazili pri avtoklaviranih tleh z avtoklaviranim inokulumom (A + AI), in sicer $0,02 \pm 0,01$ %.

Pri parametru F (frekvenca delov korenin z glivo) smo pri vseh obravnavah zabeležili enako frekvenco delov korenin z glivo na koreninah česna. Frekvenca je tako pri vseh obravnavah znašala 100 ± 0 %. Med vsemi petimi obravnavami ni bilo statistično značilnih razlik. Najvišjo intenziteto mikorize v koreninskem delu pri česnu je dosegla obravnava avtoklaviranih tal brez dodatka inokuluma (A + bI), in sicer $6,00 \pm 9,11$ %. Najnižjo

avtoklaviranih tal brez dodatka inokuluma (A + bI), in sicer $6,00 \pm 9,11$ %. Najnižjo intenziteto mikorize v koreninskem delu je podala obravnava z avtoklaviranimi tlemi in dodatkom avtoklaviranega inokuluma (A + AI). Intenziteta mikorize znaša 1 ± 0 %.

Izkazalo se je, da so rezultati za intenziteto mikorize (parameter M) enaki kot pri intenziteti mikorize v koreninskem delu (parameter m). Najvišjo intenziteto mikorize pri koreninah česna smo zabeležili pri koreninah, ki so bile v avtoklaviranih tleh brez dodatka inokuluma (A + bI), in sicer $6,00 \pm 9,11$ %. Najnižjo intenziteto mikorize v koreninskem delu je podala obravnava z avtoklaviranimi tlemi z dodatkom avtoklaviranega inokuluma (A + AI). Intenziteta mikorize znaša 1 ± 0 %. Pri parametrih m in M smo zabeležili enake vrednosti. Med vsemi petimi obravnavami ni bilo statistično značilnih razlik (enosmerna ANOVA; $P > 0,05$).

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

V nalogi smo v lončnem poskusu spremljali dve vrsti rastlin, motovilec (*Valerianella locusta* L. Laterrade) in česen (*Allium sativum* L.) ter njun odziv na inokulacijo z AM glivami. V poskusu smo uporabili vrtna tla in pri nekaterih obravnavanjih tudi komercialni inokulum Symbivit (Symbiom, CZ). Kontrolna tla so bila sterilizirana z avtoklaviranjem. Spremljali smo rast in razvoj rastlin (nadzemni del in podzemni del), dolžino korenin, maso korenin, dolžino listov in vsebnost vode v rastlini. Ocenjevali smo tudi parametre kolonizacije korenin z AM glivami.

V poglavju Pregled objav lahko iz povzetkov znanstvenih člankov, ki smo jih našli na spletnih portalih Web of Science in Science Direct (preglednica 1), ugotovimo, da člankov na to temo za motovilec ni veliko (v povezavi z mikorizo jih ni), za česen pa smo jih nekaj našli (glej preglednico 1). Večina poskusov, ki so opisani v člankih, je bilo postavljenih v poljskih razmerah.

V poglavju Rezultati smo za česen prikazali rezultate le za mikorizno kolonizacijo, saj so rastline česna zelo neenakomerno in slabo rastle tudi znotraj posameznih obravnavanj. Razlog za to bi lahko bila predhodnja sterilizacija površine korenin z hipokloridom (Varekina), pri tem smo verjetno nehote poškodovali vhodni material (čebulice česna). Korenine česna so bile sicer kolonizirane z AM glivami, vendar med posameznimi obravnavanji ni bilo statistično značilnih razlik. Kolonizacija korenin z AM glivami se je pojavila tudi pri avtoklaviranih kontrolah, kjer sta bila avtoklavirana tako dodani inokulum, kot tudi vrtna tla, kar dokazuje, da je prišlo do kontaminacije in da je v običajnih rastlinjaki brez posebnih prilagoditev težko ohraniti sterilne razmere. Zato je izvedba tovrstnih lončnih poskusov v neprilagojenih rastlinjaki (brez ločenih komor) težavna. Obenem takšni rezultati kažejo tudi, da sta obe vrsti rastlin zelo dovzetni za mikorizno kolonizacijo in da je mikorizacija lahko pomembna za njuno rast tako v lončnih poskusih v rastlinjaku, kot tudi v okoljskih razmerah (Hamel, 1996, Borde in sod., 2009, Ortas in sod., 2012).

Motovilec

Največjo rast nadzemnih delov motovilca (dolžina lista) smo izmerili pri obravnavanjih, kjer je bil dodan komercialni inokulum. Ker gre za komercialni pripravek z različnimi dodatki, vključno z hranili (glej prilogo A), bi lahko na samo rast in razvoj vplivali tudi slednji in je tako zelo težko ločiti mikorizno komponento od mineralne. Po podatkih v literaturi, so potrebe motovilca po mineralnih hranilih majhne: 50 kg N/ha, 30 kg P/ha, 75 kg K/ha in 22 kg Mg/ha. Podatkov o vsebosti hranil v tleh našega poskusa sicer nimamo, vendar pa smo z dodatkom inokuluma poleg mikorize dodali tudi npr. nosilce iz naravne gline, naravne sestavine, ki podpirajo razvoj mikorize (humati, izvlečki morskih organizmov), biorazgradlivi absorpcijski gel za vodo in prav tako mineralna hranila (glej sestavo inokuluma v prilogi A). To bi lahko vplivalo na rast in razvoj rastlin ter na mikorizno kolonizacijo korenin rastlin.

Rast korenin motovilca je bila največja pri rastlinah, kjer je bil dodan mikorizni inokulum in obenem tla niso bila avtoklavirana. Prav tako največja biomasa korenin sovpada z največjo stopnjo kolonizacije korenin z AM glivami pri obravnavanjih, kjer tla niso avtoklavirana in so k kolonizaciji korenin lahko prispevale tudi glive, prisotne v vrtnih tleh.

Največja gostota arbuskulov v delu korteksa z mikorizno kolonizacijo je bila pri koreninah motovilca, ki je rasel na neavtoklaviranih tleh z dodatkom inokuluma. Najmanjša gostota arbuskulov je bila pri koreninah rastlin motovilca, ki je rasel v avtoklaviranih tleh, ne glede na dodatek inokuluma. Iz tega bi lahko sklepali, da vsebujejo navadna nerazkužena tla torej že sama mikorizne glive, ki so fiziološko kompatibilne z motovilcem in lahko tvorijo arbuskule. Slednji so namreč najpomembnejša morfološka struktura, ki omogoča izmenjavo hranil med obema simbiotoma. Večji razvoj arbuskulov pri motovilcu pri obravnavanjih z neavtoklaviranimi vrtnimi tlemi je možen tudi zato, ker naravna tla vsebujejo večjo diverzitetu mikoriznih gliv in ker se pri neavtoklaviranih tleh pojavljajo tudi druge vrste gliv, kot v primeru inokulacije s komercialnim inokulumom. Na podlagi naših rezultatov pa tega ne moremo potrditi, saj bi bilo za določitev sestave združbe AM gliv v koreninah rastlin potrebno uporabiti druge pristope (molekularno identifikacijo gliv s sekvenciranjem), kar pa presega okvire te naloge.

Česen

V članku Hamel in sod. (1996), kjer so gojili česen (*Allium sativum* L.), posajen v avtoklaviranem substratu z dodatkom inokuluma, so proučevali odpornost na bolezni ter dolžino korenin in dolžino poganjkov, tako kot mi pri našem poskusu. Ugotovili so, da je bila rast korenin pospešena, kjer je bil uporabljen naravni inokulum, enako tudi debelina čebulic. Kjer je bil uporabljen neavtoklaviran inokulum, pa so bili razvidni tudi kolonizacija korenin z AM glivami in arbuskuli.

Pri preverjanju raznih parametrov kolonizacije korenin z AM glivami pri česnu ni bilo statistično značilnih razlik med obravnavanji, od tega nekoliko odstopa obravnavanje z avtoklaviranimi tlemi in avtoklaviranim inokulom, kjer arbuskulov praktično ni bilo. Gliva je vezana na asimilate, ki jih dobi v zameno za mineralna hranila od gostiteljskih rastlin. V našem primeru glive verjetno niso dobivale dovolj asimilatov zaradi slabega stanja rastlin česna in lahko je prišlo celo do parazitizma. Posledično so rastline slabo rastle in se ni vzpostavila mikoriza tako, kot pri obravnavanjih z motovilcem.

Z razvojem uporabe mikoriznih inokulumov in boljšim poznavanjem vpliva okoljskih dejavnikov na razvoj mikorize bi se lahko uporabo mikorize v kmetijski praksi bolj rutinsko vrednotilo. Pomembna komponenta komercialnih inokulumov so tudi različni dodatki, ki lahko predstavljajo tudi rastlinska gnojila, zato je direktno vlogo mikorize pri razvoju in rasti rastlin težko vrednotiti. V vsakem primeru pa so odzivi rastlin lahko specifični in zelo variabilni, lahko se razlikujejo med vrstami, med sortami iste vrste, odvisno od taksona gliv v interakciji ter okoljskih razmer (Mikorizne glive ..., 2016), kar kaže na veliko potrebo po nadaljnjih raziskavah tega področja.

5.2 SKLEPI

Sklepi, ki se nanašajo na izhodiščne hipoteze (H):

1. H1: Pri inokuliranih rastlinah s komercialnim inokulumom bo večji delež korenin koloniziran z AM glivami, ter
2. H2: Neavtoklavirana njivska tla imajo manjši mikorizni potencial kot tla z dodanim komercialnim inokulumom, na kar kaže nižja stopnja kolonizacije korenin z AM glivami.

Hipoteze H1 in H2 nismo potrdili. Kolonizacija korenin motovilca je bila pri največji pri obravnavanjih, kjer vrtna tla niso bila avtoklavirana in je bila možna kolonizacija korenin z glivami iz okolja. Sam dodatek komercialnega inokuluma na parametre kolonizacije (npr. razvoj arbuskulov) ni bistveno vplival. Rezultati kažejo, da imajo največji mikorizni potencial prav vrtna tla, ki izvirajo iz vrta z dolgoletno ekstenzivno obdelavo.

Rezultati za rastline česna so vprašljivi, ker smo imeli težave z rastjo rastlin.

3. H3: Mikorizirane rastline bodo imele bolj razvite korenine ter večjo biomaso korenin in nadzemnega dela.

Naši rezultati so potrdili H3. Pri rastlinah motovilca smo izmerili statistično značilno največjo dolžino in biomaso korenin prav pri rastlinah, kjer je bila

kolonizacija korenin z AM glivami največja in so bili prisotni tudi arbuskuli, kar kaže na fiziološko izmenjavo hranil med rastlino in glivami.

6 POVZETEK

Izvedli smo raziskavo, s katero smo v praksi preverili učinek uporabe komercialnega inokuluma z AM glivami (Symbivit proizvajalca Symbiom Ltd. iz Češke) in vpliv uporabe vrtnih tal na razvoj mikorize ter rast in razvoj motovilca (*Valerianella locusta* L. Laterrade) in česna (*Allium sativum* L.). Izbrali smo dve prehransko pomembni vrsti rastlin, in sicer česen, ker je bilo s to rastlino predhodno opravljenih veliko raziskav na temo mikorize, in navadni motovilec, za katerega pa nismo zasledili praktičnih poskusov na temo arbuskularne mikorize. Dodatek inokuluma Symbivit, ki smo ga uporabili v poskusu, naj bi povečal mikorizacijo korenin teh rastlin. Spremljali smo rast in razvoj rastlin, dolžino korenin, maso korenin, dolžino listov in vsebnost vode v rastlini. Ocenjevali smo tudi parametre kolonizacije korenin z AM glivami.

Izvedli smo lončni poskus v rastlinjaku. Pri vsakem obravnavanju smo imeli po štiri ponovitve, skupaj po pet obravnavanj pri vsaki vrsti rastlin. Po devetnajstih tednih rasti rastlin smo pričeli z meritvami na rastlinskem materialu. Tako smo iz rezultatov lahko razbrali, da je pri ocenjevanju morfoloških lastnosti težko doreči, katero obravnavanje se je dejansko najbolje obneslo, vendar pa je preverjanje parametrov mikorizne kolonizacije v koreninah podalo dodatne informacije o rezultatih. Tako se je pri motovilcu mikoriza najbolje razvijala v vrtnih tleh, ki niso bila sterilizirana oziroma avtoklavirana ne glede na dodatek inokuluma, kar omogoča tudi kolonizacijo korenin z združbo AM gliv iz okolja. Dodajanje komercialnega inokuluma je vplivalo predvsem na rast nadzemnega dela rastlin. Tako smo največji prirast biomase nadzemnega dela opazili pri rastlinah z dodanim komercialnim inokulom, kar bi bila lahko posledica dodatkov (hranil) v samem inokulumu. Rezultati s česnom so vprašljivi, ker smo imeli težave z rastjo rastlin, ki bi lahko bile posledica razkuževanja čebulic v začetku poskusa. Kljub temu je bila tudi pri česnu kolonizacija korenin z AM glivami v poskusu prisotna, vendar razlike v kolonizaciji med obravnavanji niso bile statistično značilne.

7 VIRI

- Azcón-Aguilar C., Bago B. 1994. Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems. V: Physiological characteristics of the host plant promoting an undisturbed functioning of the mycorrhizal symbiosis. Gianiazzi S., Schüepp H. (eds.). Basel, Switzerland, Birkhäuser Verlag : 47-60
- Bajec V. 1988. Vrtnarjenje pod folijo in steklom. Ljubljana, Kmečki glas: 419 str.
- Borde M., Dudhane M., Jite P. K. 2009. Role of bio-inoculant (AM fungi) increasing in growth, flavor content and yield in *Allium sativum* L. under field condition. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 2: 124-128
- Brundrett M. C. 2009. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants, *New Phytologist*, 154, 2: 275-304
- Blumat. 2016. Distribution of the automatic watering system. Leingarten, Bambach bewässerung.
<http://www.blumatshop.de/Blumat/?XTCsid=ropo8193qqfkp51ng8b6cbqhn6.html>
(15. okt. 2014)
- Černe M. 1988. Plodovke. Ljubljana, Kmečki glas: 128 str.
- Černe M. 1992. Česen. V: Čebulnice: čebula, česen, por, zimski luk, drobnjak, šalotka. Černe M. (eds). Ljubljana, ČZP: 28-37
- Černe M. 2000. Solatnice. *Sodobno kmetijstvo*, 33, 5: 210-214
- Fitter A. H., Moyersoen B. 1996. Evolutionary trends in rootmicrobe symbioses. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B - Biological Sciences*, 351, 1345: 1367–1375
- Fitter A. H. 2005. Darkness visible: reflections on underground ecology. *Journal of Ecology*, 93, 2: 231-234
- Fitter A. H. 2006. What is the link between carbon and phosphorus fluxes in arbuscular mycorrhizas? A null hypothesis for symbiotic function. *New Phytologist*, 172, 1: 3–6
- Gosling P., Hodge A., Goodlass G., Bending G. D. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 113, 1–4: 17–35
- Hamel C., 1996. Prospects and problems pertaining to the management of arbuscular mycorrhizae in agriculture. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 60: 197-210
- Helgason T., Fitter A. H. 2009. Natural selection and the evolutionary ecology of the arbuscular mycorrhizal fungi (Phylum Glomeromycota). *Journal of Experimental Botany*, 60, 9: 2465–2480

- Hetrick B. A. D., Wilson G. W. T., Cox T. S. 1993. Mycorrhizal dependence of modern wheat cultivars and ancestors – a synthesis. *Canadian Journal of Botany*, 71: 512–518
- Hodge A., Campbell, C. D., Fitter A. H., 2001. An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. *Nature*, 413, 6853: 297–299
- Hookers J. E., Jaizme-Vega M., Atkinson D. 1994. Biocontrol of plant pathogens using arbuscular mycorrhizal fungi. V: *Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems*. Gianinazzi S., Schüepp H. (eds.). Basel, Switzerland, Birkhauser Verlag: 191–200
- Hirij I., Sykorova Z., Oehl F., Ineichen K., Mäder P., Wiemken A., Redecker D. 2006. Communities of arbuscular mycorrhizal fungi in arable soils are not necessarily low in diversity. *Molecular Ecology*, 15: 2277–2289
- Johnson N. C., Graham J. H., Smith F. A. 1997. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytologist*, 135: 557–585
- Koch V., Pavšič M., Salobir K. 1993. Vlakinine v prehrani. V: *Ogljikovi hidrati*. 15. Bitenčevi živilski dnevi 1993, 10. In 11. Junij 1993, Ljubljana. Plestenjak A., Žlender B., Hribar J., Zelenik-Blatnik M. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilsko tehnologijo: 39–58
- Kovačič B., 1998. Mikorizacija rastlin česna *Allium sativum* L. cv. vzgojenih v in vitro. Diplomsko naloga. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo: 76 str.
- Lešić R., Boršič J., Buturac I., Čustić M., Poljak M., Romić D. 2002. *Povrčarstvo*. Čakovec, Zrinski: 576 str.
- Maček I. 2008. Odziv korenin izbranih kmetijsko pomembnih vrst na naravno povečano koncentracijo CO₂ : doktorska disertacija. Ljubljana Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, oddelek za agronomijo: 542 str.
- Maček I., Dumbrell A. J., Nelson M., Fitter A. H., Vodnik D., Helgason T. 2011. Local adaptation to soil hypoxia determines the structure of an arbuscular mycorrhizal fungal community in roots from natural CO₂ springs. *Applied and Environmental Microbiology*, 77, 14: 4770–4777
- Martinčič A., Sušnik F. 1984. *Mala flora Slovenije*. Ljubljana, Državna založba Slovenije: 650 str.
- Mikorizne glive. Svet čebulic. 2016. Mikorizne glive, opis posameznih inokulumov. Ljubljana, Symbivit.
http://www.svetcebulic.si/index.php?cPath=161&gclid=CLzz9PmMkcICFS_MtAodXFMAKg (4. feb. 2015)

- Mycocalc program. 2016. Mycorrhiza Manual, Laboratory of Agricultural Microbiology. Wuhan, Huazhong Agricultural University.
<http://www2.dijon.inra.fr/mychintec/Mycocalc-prg/download.html> (17. feb. 2014)
- Oehl F., Sieverding E., Ineichen K., Mader P., Boller T., Wiemken A. 2003. Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of Central Europe. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 5: 2816–2824
- Ortas I. 2007. Effect of mycorrhizae inoculation on plant growth, yield and phosphorus uptake in garlic under field conditions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 33: 13-14
- Ortas I. 2012. The effect of mycorrhizal fungal inoculation on plant yield, nutrient uptake and inoculation effective-ness under long-term field conditions. *Field Crops Research*, 125 : 35-48
- Osvald J., Kogoj Osvald M. 1994. Pridelovanje vrtnin na vrtu. Ljubljana, ČZD Kmečki glas: 241 str.
- Osvald J., Petrovič N. 2001. Hidroponika, *Sodobno kmetijstvo*, 34, 1: 17–25
- Puppi G., Azcon R., Hoflich G. 1994. Managment of positive interactions of arbuscular mycorrhizal fungi with esential grups of soil microorganisms. V: *Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystem*. Gianinazzi, S., Schuepp, H (eds.). Basel, Switzerland, Birkhausere Verlag: 201–217
- Peron J. Y., Rees D. C. 1998. High-tech production of corn salad (*Valerianella locusta* (L.) Laterr.), a local, French vegetable crop. *Acta Horticulturae*, 467: 259–268
- Regvar M., Gogala N., Zalar P., 1996. Efect of jasmonic acid on mycorrhizal *Allium sativum*. *New Phytologist*, 5: 703-707
- Rosendahl S. 2008. Communities, populations and individuals of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 178, 2: 253–266
- R Project for Statistical Computing. 2016. Development Core Team. 2011. R: A language and environment for statistical computing. Vienna Foundation For Statistical Computing. <http://www.R-project.org> (11. mar. 2015)
- Schüßler A., Schwarzott D., Walker C. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*, 105: 1413–1421
- Seidel D., Eisenreich W. 1992. Slikovni rastlinski ključ. Ljubljana, Državna založba Slovenije: 287 str.
- Semenarna. 2016. Ponudba za kmetovalce. Ljubljana, Semenarna Ljubljana
<http://www.semenarna.si/podrobnosti-artikla-cebulnice/category/semenskicesen/article/cesen-ptujski-spomladanski> (5. maj. 2015)

- Smith S. E., Read D. J. 2008. Mycorrhizal symbiosis. Third Edition. London, Academic Press: 787 str.
- Smith F. A., Grace E. J., Smith S. E. 2009. More than a carbon economy: nutrient trade and ecological sustainability in facultative arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytologist*, 182, 2: 347–358
- Škof M. 2000. Pridelovanje motovilca. *Sodobno kmetijstvo*, 33, 5: 237–238
- Toth R., Toth D., Starke D., Smith D. R. 1990. Vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization in Zea mays affected by breeding for resistance to fungal pathogens. *Canadian Journal of Botany*, 68: 1039–1044
- Trouvelot A., Kough J. L., Gianinazzi-Pearson V. 1986. Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. V: *Physiological and genetical aspects of mycorrhizae*. Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. (eds.). Pariz, INRA press: 217–221
- Vodnik D. 1993. Fiziološke spremembe mikoriznih sejank smreke (*Picea abies* (L.) Karsten). Diplomsko naloga. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo: 66 str.
- Whipps J. M., Lumsden R. D. 1988. Biotechnology of fungi for improving plant growth. Symposium of the British Mycological Society. Cambridge, Cambridge University Press: 191–194
- Wicaksono I. M., Samanhudi R.M. 2014. Effect of mycorrhizal and organic fertilizer on the growth of garlic. *Jurnal Ilmu Ilmu Pertanian*, 29, 1: 35–43

ZAHVALA

Na tej strani bi se zahvalila mentorici doc. dr. Ireni MAČEK in somentorju doc. dr. Draganu ŽNIDARČIČU, ki sta kljub svojemu polnemu urniku priskočila na pomoč in mi pomagala pri izdelavi tega magistrskega dela. Tukaj ne smem pozabiti tudi na dr. Natašo ŠIBANC.

Zahvala tudi recenzentu prof. dr. Domnu LEŠTANU, dr. Karmen STOPAR, ter predsedniku komisije izr. prof. dr. Gregorju OSTERCU, ki so delo natančno pregledali, prav tako hvala, Alenki SLEKOVEC, univ. dipl. inž. agr., za hitro odzivnost in organizacijo zagovora.

Najlepša hvala pa seveda tudi partnerju Romanu, ter mami in vsem ostalim za podporo med študijem in pisanjem magistrskega dela.

Hvala!

Priloga A

Technical Specification Sheet – SYMBIVIT® REMED

Manufacturer: Symbiom Ltd., Sazava 170, Czech Republic

Type of material – Beneficial mycorrhizal fungi for phytoremediation

Description of the product SYMBIVIT® REMED

The product contains reproductive particles of five different isolates of beneficial symbiotic Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) in an inert substrate mix, with small amendment of bioadditive components, which support development of mycorrhizal symbiosis.

Composition:

(A) Bioactive particles (fragments of colonized roots, spores and mycelium fragments) of five mycorrhizal isolates originally isolated from temperate antropogenic sites:

1. *Glomus constrictum*
2. *Glomus intraradices*
3. *Glomus claroideum*
4. *Glomus mosseae*
5. *Glomus intraradices*

Concentration:

minimum number of infective propagules: 150.000 per L, typical average number of infective propagules: 250.000 per L (evaluated by Most Probable Number test)

Inert carrier components:

1. Expanded clay, at 503 g per Kg (brown particles, fraction: 1-2.5mm)
2. Clinoptilolite clay (zeolite), at 390 g per Kg (green particles, fraction: 0.5-2.5mm)

(B) Bioadditive components:

(Natural minerals, sapropel, extracts from sea organisms, natural keratin, humates and powdered biodegradable water-storing polymer granules; the bioadditive part represents 107 g in each Kg of product)

Keratin
Apatite and milled phosphates
Sapropel
Alginates (seaweed)
Chitin
Humates
Potentkali
Dolomite
Water-storing granules

**Average mass of the product is 700-800 Kg/m³. We declare that the product does not contain genetically engineered material.
The product is free of pathogens and soil.**

Method of production:

400 L bags are filled with clean soilless substrate, which is then inoculated with the mycorrhizal fungi. Zea mays, Tagetes sp. and Trifolium sp. seeds are planted into the bags and left to grow in a greenhouse. After 5 months, the grown plants are cut at ground level and the upper parts are thrown away. The substrate with grown colonized roots is sieved to separate the roots from the substrate. The roots are dried, cut into small fragments (1-10 mm) and mixed back into the cultivation substrate. Bioadditive components are subsequently added into the final mix in the above listed amounts.

Use and effect of the product:

Application of SYMBIVIT® REMED when planting (as per manufacturer's directions) will give plants their best growth potential, sustainable and ecological nutrition, reduced mortality at transplanting, greater drought and salt tolerance, increased flowering and fruit yield and reduced transplant stress. A decreased vulnerability to root pathogens and to other stress environmental factors can be expected.

Application: There are two ways of applying SYMBIVIT® REMED:

DRY APPLICATION – Apply 15 g (one scoop) per 1 L of root ball volume. Apply into the planting hole to cover its base (1-2 cm layer) and plant immediately. For grown plants, make several 10 cm deep holes around the plant and apply SYMBIVIT® REMED into each hole, close to the roots. The product can be also layered approx. 3 cm below seeds before sowing, at 150 g/m².

DIP APPLICATION – Recommended for larger plants and trees. Mix the product with 5-fold amount of tap water and stir to obtain slurry. Dip the roots into the slurry to cover the whole root surface and plant immediately. If there is not enough to dip the roots, pour the slurry on the roots or into the planting holes. Use the dipping slurry within one day from mixing.

Dosage: The product must come into direct contact with plant roots. It is impossible to overdose – higher dosage ensures better establishment of mycorrhiza.

Root ball size	Dose per plant	Plants treated (dry app.)
up to 1 L (e.g. pelargonium)	15 g (1 scoop)	50 plants
1 to 3 L (e.g. large rose)	45 g (3 scoops)	16 plants
3 to 5 L (e.g. thuja seedling)	75 g (5 scoops)	10 plants
5 to 10 L (e.g. magnolia)	120 g (8 scoops)	6 plants

Plant suitability:

- majority of flowers (roses, geranium, petunias etc.), creeping plants, house pot plants, vegetables
- fruit trees, grape vine, olive and palm trees
- most ornamental conifers including thuja, yew tree, juniper, cypress, Chamaecyparis, Taxodium, Araucaria, Ginkgo etc.
- some broad-leaved trees including maple, green ash, alder, rowan, dogwood, eucalyptus, acacia
- suitable for establishing lawns, turfs and sporting greens
- suitable for applications in the garden, nursery etc.

NOT SUITABLE FOR:

- orchids
- the Brassicaceae family (broccoli, turnip, cabbage, Brussels sprouts, mustard, cauliflower etc.)
- the Chenopodiaceae, Amaranthaceae, Caryophyllaceae, Cyperaceae, Juncaceae families

For conifers (pine, spruce, fir etc.) and some broad-leaved trees (oak, beech, birch etc.), use the product ECTOVIT®. For ericaceous plants (heather, azaleas, blueberries, rhododendrons etc.), use the product RHODOVIT®.

For a full list of plant compatibility, visit www.symbiom.com

SYMBIVIT® REMED can be combined with the natural fertilizer CONAVIT®.

Storage and Shelf-life: Store in a cool, dry place (less than 20°C, relative air humidity up to 60%). Under these conditions the product can be used for 2 years from production date.

Packaging: The product is supplied in 3 Kg paper bag, 10 Kg and 20 Kg PE bags. A scoop for applying the product is included in 3 Kg, 10 Kg and 20 Kg packages. For large-scale production or further distribution, the product is supplied in 750 Kg plastic big-bags.

Health and safety information: The product contains naturally occurring fungi and is completely biodegradable. It is not toxic or harmful to the environment. The product does not leave toxic residue in the soil. In case of contact with eyes, wash eyes thoroughly with clean water. If irritation persists, seek medical help. Do not ingest.

Precautions: It is essential for a proper function of the product that it comes into direct contact with plant roots. Avoid direct contact of SYMBIVIT® REMED with systemic fungicides during the first 3 weeks after application. The effect of SYMBIVIT® REMED can be reduced by excessive use of chemical fertilizers, especially superphosphate.

Manufacturer: Symbiom Ltd., Sazava 170, 563 01 Lansroun, Czech Republic