

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ŠTUDIJ BIOTEHNOLOGIJE

Anja ANŽEJ

**POMEN PODRASTI ZA ZADRŽEVANJE KOVIN V
TLEH**

MAGISTRSKO DELO

Ljubljana, 2014

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ŠTUDIJ BIOTEHNOLOGIJE

Anja ANŽEJ

POMEN PODRASTI ZA ZADRŽEVANJE KOVIN V TLEH

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študij – 2. stopnja Biotehnologije

**THE SIGNIFICANCE OF THE UNDERSTORY FOR THE
RETENTION OF METALS IN THE SOIL**

M. SC. THESIS

Master Study Programmes – Biotechnology

Ljubljana, 2014

Magistrsko delo je zaključek magistrskega študijskega programa druge stopnje biotehnologije na Biotehniški fakulteti v Ljubljani. Praktični del poskusa je bil opravljen na Inštitutu za ekološke raziskave ERICo v Velenju. Analize so bile narejene na katedri za botaniko in fiziologijo rastlin, Oddelka za biologijo, Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Po sklepu komisije za študij 1. in 2. stopnje je bila za mentorico magistrskega dela imenovana prof. dr. Marjana Regvar, za somentorja doc. dr. Matevž Likar, za recenzenta pa prof. dr. Dominik Vodnik.

Komisija za oceno in predstavitev:

Predsednica: prof. dr. Branka JAVORNIK
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Članica: prof. dr. Marjana REGVAR
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Član: doc. dr. Matevž LIKAR
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Član: prof. dr. Dominik VODNIK
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Datum predstavitev: 22. 8. 2014

Anja Anžej

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Du2

DK 582.681.83:628.4:549(043.2)=163.6

KG bioremediacija/vrbe/težke kovine/plazeča detelja/trstikasta bilnica

AV ANŽEJ, Anja, dipl. bioteh. (UN)

SA REGVAR, Marjana (mentor)/ LIKAR, Matevž (somentor)

KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101

ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Študij biotehnologije

LI 2014

IN POMEN PODRASTI ZA ZADRŽEVANJE KOVIN V TLEH

TD Magistrsko delo (Magistrski študij – 2. stopnja)

OP X, 48 str., 1 pregl., 17 sl., 23 pril., 80 vir.

IJ sl

JII sl/en

AI Namen raziskav je bil primerjati vpliv klonov vrbe 'Tordis' in različnih vrst podrasti na koncentracije kovin v tleh, odcednih vodah ter rastlinah, in določiti, katera vrsta podrasti bi bila najprimernejša za fitostabilizacijo. Klone vrb smo gojili v loncih, v katerih so bila neonesnažena tla (kontrola, oznaka DZ), onesnažena tla (prekomerne koncentracije Zn, oznaka CZ 100 %) ali razredčena tla (1 : 1 mešanica neonesnaženih in onesnaženih tal, oznaka CZ 50 %). V odcednih vodah, substratu in poganjkih vrb smo z atomsko absorpcijsko spektroskopijo (AAS) izmerili koncentracije Cd, Zn in Pb. Vsak mesec smo izmerili koncentracijo fotosintezičnih pigmentov in višino vrb ter število poganjkov. Koncentracija kovin v substratu in poganjkih, koncentracija kovin v odcednih vodah, vsebnost fotosintezičnih pigmentov, prirast vrb ter število poganjkov je odvisno od onesnaženosti substrata. Zasajanje tal s trstikasto bilnico in plazečo deteljo ne vpliva na koncentracijo Cd in Zn v odcednih vodah. Zasajanje substrata CZ 100 % s trstikasto bilnico je zmanjšalo koncentracijo Pb v substratu ter število poganjkov v primerjavi z naravno sukcesijo. Zasajanje substrata DZ z deteljo je vplivalo na povečano koncentracijo Zn v poganjkih. Onesnaženost substrata vpliva na splošno intenzitetu AM kolonizacije. Vrsta substrata in kombinacija podrasti in substrata vplivata na gostoto veziklov pri koreninah vrb.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Du2
DC 582.681.83:628.4:549(043.2)=163.6
CX bioremediation/willows/heavy metals/white clover/tall fescue
AU ANŽEJ, Anja
AA REGVAR, Marjana (supervisor)/LIKAR, Matevž (co-advisor)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Master Study in Biotechnology
PY 2014
TY THE SIGNIFICANCE OF THE UNDERSTORY FOR THE RETENTION OF METALS IN THE SOIL
DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes – Biotechnology)
NO X, 48 p., 1 tab., 17 fig., 23 ann., 80 ref.
LA sl
AI sl/en
AB The aim of the research was to compare the effect of willow clones 'Tordis' and different types of undergrowth on the concentration of metals in the substrate, in the drainage waters and plants and to determine which type of undergrowth would be most appropriate for phytoremediation. Willow clones were grown in pots with uncontaminated soil (control, label DZ), contaminated soil (excessive concentration of Zn, label CZ 100 %) or mixed soil (1:1 mixture of uncontaminated and contaminated soil, label CZ 50 %). In the drainage waters, substrate and in the shoots of willows we measured with atomic absorption spectroscopy (AAS) concentrations of Cd, Zn and Pb. Every month we measured the concentration of photosynthetic pigments, the height of willows and number of shoots. The contamination of substrate influenced the height of willows, the concentration of metals in the soil, the number of shoots, the concentration of metals in the drainage waters and the concentration of photosynthetic pigments. Planting soil with tall fescue and white clover does not affect the concentrations of Cd and Zn in the drainage waters. Planting with tall fescue reduced the number of shoots in the treatment CZ 100 % compared to natural succession and reduced concentrations of Pb in substrate. Planting treatment DZ with clover resulted in an increased concentration of Zn in the shoots. Contamination of the substrate affects the overall intensity of AM colonization. The substrate and the undergrowth affect the density of vesicles in the roots of willows.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	VIII
KAZALO PRILOG	IX
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	X
1 UVOD	1
1.1 NAMEN RAZISKAV.....	2
1.2 HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 ONESNAŽEVANJE S TEŽKIMI KOVINAMI	3
2.2 FITOREMEDIACIJA	4
2.3 FITOEKSTRAKCIJA.....	6
2.4 FITOSTABILIZACIJA	9
2.5 UPORABNOST IZBRANIH RASTLINSKIH VRST PRI FITOREMEDIACIJI .	9
2.5.1 Vrba	9
2.5.2 Trstikasta bilnica	10
2.5.3 Plazeča detelja.....	11
2.6 ARBUSKULARNA MIKORIZA.....	11
3 MATERIAL IN METODE.....	13
3.1 VZGOJA RASTLIN	13
3.2 VZORČENJE RASTLIN, ODCEDNIH VODA IN TAL	16
3.3 PRIPRAVA VZORCEV ODCEDNIH VODA, POGANKOV IN TAL ZA MERJENJE KONCENTRACIJ Cd, Zn IN Pb	17
3.3.1 Priprava vzorcev vode.....	17
3.3.2 Razklop rastlinskega materiala za merjenje vsebnosti Cd, Pb in Zn z metodo atomske absorpcijske spektroskopije (AAS)	17
3.3.3 Priprava vzorcev substrata.....	17

3.4	MERJENJE KONCENTRACIJ Cd, Pb, IN Zn V VZORCIH Z ATOMSKO ABSORPCIJSKO SPEKTROSKOPIO (AAS)	18
3.5	MERJENJE FOTOSINTEZNIH PIGMENTOV	18
3.6	BARVANJE KORENINSKEGA SISTEMA ZA DOLOČANJE GLIVNE KOLONIZACIJE.....	19
3.7	VREDNOTENJE KOLONIZACIJE Z ENDOFITSKIMI GLIVAMI	20
3.8	STATISTIČNE ANALIZE	21
4	REZULTATI	22
4.1	KONCENTRACIJA KOVIN V TLEH	22
4.2	KONCENTRACIJA KOVIN V ODCEDNIH VODAH	25
4.3	KOVINE V POGANJKIH VRB.....	28
4.4	FOTOSINTEZNI PIGMENTI V LISTIH VRB	30
4.5	PRIRAST IN ŠTEVilo POGANJKOV	31
4.6	MIKORIZNA KOLONIZACIJA.....	34
5	RAZPRAVA.....	36
5.1	KOVINE V TLEH	36
5.2	KOVINE V ODCEDNIH VODAH	38
5.3	KOVINE V POGANJKIH VRB.....	39
5.4	FOTOSINTEZNI PIGMENTI V LISTIH VRB	41
5.5	PRIRAST IN ŠTEVilo POGANJKOV	42
5.6	KOLONIZACIJA Z ARBUSKULARNO MIKORIZNIMI GLIVAMI	43
6	SKLEPI	45
7	POVZETEK.....	47
8	VIRI	49

ZAHVALA

PRILOGE

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Koncentracija kovin v tleh pred poskusom	22
---	----

KAZALO SLIK

Sl. 1: Ukoreninjene vrbe	13
Sl. 2: Shematski prikaz lončnega poskusa fitoremediacije	15
Sl. 3: Lončni poskus	16
Sl. 4: Koncentracija Cd, Zn in Pb v substratu po koncu poskusa.....	23
Sl. 5: Posamezne koncentracije kovin v substratu po končanem poskusu glede na vrsto podrasti.....	24
Sl. 6: Koncentracije Cd, Zn in Pb v odcednih vodah	25
Sl. 7: Koncentracije kovin v odcednih vodah (1. in 4. vzorčenje)	26
Sl. 8: Vsebnost Cd, Zn in Pb v odcednih vodah skozi celotno rastno sezono.....	27
Sl. 9: Koncentracije Cd in Zn v poganjkih	28
Sl. 10: Koncentracije kovin v poganjkih glede na vrsto podrasti	28
Sl. 11: BAF Zn in BAF Cd glede na vrsto substrata	29
Sl. 12: Koncentracije fotosinteznih pigmentov v listih vrb	30
Sl. 13: Prirast vrb	31
Sl. 14: Število poganjkov pri vrbah glede na substrat	32
Sl. 15: Število poganjkov pri vrbah glede na podrast.....	32
Sl. 16: Naravna kolonizacija vrb z AM glivami glede na substrat	34
Sl. 17: Naravna kolonizacija vrb z AM glivami glede na podrast.....	35

KAZALO PRILOG

- Pril. A: Mejne, opozorilne in kritične imisijske vrednosti snovi v tleh
- Pril. B: Koncentracija kovin v substratu po poskusu
- Pril. C: Gostota tal v substratu
- Pril. D: Vsebnost kovin v substratu po poskusu
- Pril. E: Vsebnost Cd, Zn in Pb v substratu po koncu poskusa
- Pril. F: Vsebnost kovin v substratih po podrasteh
- Pril. G: Koncentracija kovin v odcednih vodah
- Pril. H: Tabela p vrednosti t-testa za prvo in zadnje vzorčenje odcednih voda
- Pril. I: Korelacje
- Pril. J: Vsebnost kovin v odcednih vodah
- Pril. K: Vsebnost kovin v odcednih vodah v rastni sezoni glede na vrsto podrasti
- Pril. L: Koncentracija kovin v odcednih vodah po vzorčenjih med sezono
- Pril. M: Kovine v poganjkih
- Pril. N: Bioakumulacijski faktor
- Pril. O: Bioakumulacijski faktor glede na podrast
- Pril. P: Fotosintezi pigmenti
- Pril. Q: Vsebnost fotosinteznih pigmentov skozi rastno sezono
- Pril. R: Višina vrb in število poganjkov pri vrbah
- Pril. S: Prirast vrb
- Pril. T: Mikoriza pri koreninah vrb
- Pril. U: Naravna kolonizacija z AM glivami pri koreninah vrb
- Pril. V: Mikoriza pri koreninah podrasti
- Pril. W: Naravna kolonizacija korenin podrasti z AM glivami po vrsti substrata

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

a – gostota arbuskulov v delu skorje z mikorizno kolonizacijo

A – gostota arbuskulov v koreninskem sistemu

AM glive – arbuskularno mikorizne glive

As – arzen

BAF – bioakumulacijski faktor

Cd – kadmij

Co – kobalt

Cr – krom

Cu – baker

CZ 100 % – cinkarniška zemlja

CZ 50 % – redčena zemlja

DZ – družmirska zemlja

EDTA – etilen-diamin-tetraocetna kislina

F – mikorizna frekvenca

FAAS – plamenska absorpcijska atomska spektroskopija

Fe – železo

Hg – živo srebro

HNO₃ – dušikova kislina

KOH – kalijev hidroksid

m – intenziteta mikorize v koloniziranih koreninskih odsekih

M – splošna intenziteta mikorize

Mn – mangan

ms – gostota mikrosklerocijev v delu skorje z mikorizno kolonizacijo

MS – gostota mikrosklerocijev v koreninskem sistemu

Ni – nikelj

Pb – svinec

s – gostota svitkov v delu skorje z mikorizno kolonizacijo

S – gostota svitkov v koreninskem sistemu

Se – selen

U – uran

v – gostota veziklov v delu skorje z mikorizno kolonizacijo

V – gostota veziklov v koreninskem sistemu

Zn – cink

1 UVOD

Ljudje smo skozi stoletja onesnaževali okolje in za sabo pustili velika področja, onesnažena s težkimi kovinami. Čeprav je večina kovin esencialnih, so te v večjih koncentracijah strupene, saj v rastlinskih tkivih povzročajo oksidativni stres z nastankom prostih radikalov. Nadomestijo lahko tudi esencialne kovine v pigmentih ali encimih ter s tem preprečijo njihovo delovanje (Henry, 2000).

Zaradi velike onesnaženosti okolja se tako kaže potreba po učinkovitih metodah čiščenja, pri čemer se kot alternativa konvencionalnim metodam vedno bolj uveljavlja bioremediacija, ki je ekonomična in naravi prijazna metoda.

S tem magistrskim delom smo želeli preučiti vpliv različnih tipov podrasti na koncentracijo težkih kovin v odcednih vodah, tleh in poganjkih. V poskusu smo uporabili vrbe, ki so bile že večkrat uspešno uporabljeni pri ozelenitvi onesnaženih območij s povečano koncentracijo Cd in Zn (Punshon in sod., 1995). Znane so namreč po svoji visoki odpornosti na težke kovine in pomagajo stabilizirati površino tal, zmanjšajo vpliv vetrne in vodne erozije, potreba njihovega koreninskega sistema pa vodi pa zmanjša tveganje izpiranja onesnaževalcev v podtalnico (Sander in Ericsson, 1998).

Klone vrb smo posadili v neonesnažena tla (kontrola), onesnažena tla in razredčena tla (1 : 1 mešanica neonesnaženih in onesnaženih tal). Substrat smo nato posejali z deteljo, travo ali pa dovolili, da se vzpostavi naravna podrast. Primerjali smo vpliv podrasti na koncentracijo kovin v odcednih vodah, tleh in poganjkih. Preučili smo tudi stopnjo kolonizacije z glivnimi endofiti in opazovali vpliv onesnaženja na koncentracije kovin v tleh, v odcednih vodah in poganjkih ter na rast vrb, število poganjkov in koncentracijo fotosinteznih pigmentov.

1.1 NAMEN RAZISKAV

- Primerjati vpliv različnih vrst podrasti klonov vrbe *Salix* spp. na koncentracije kovin v tleh, odcednih vodah ter rastlinah in določili katera vrsta podrasti bi bila najprimernejša za fitoremediacijo.
- Določiti vpliv različnih koncentracij kovin na zadrževalno sposobnost rastlinskega pokrova v podrasti.
- Oceniti prisotnost ter stopnjo kolonizacije avtohtonih gliv v koreninskem sistemu.
- Ugotoviti, ali je uspešnost fitoremediacije mogoče povečati z določenim rastlinskim pokrovom v podrasti.

1.2 HIPOTEZE

- Odcedne vode vrb, zaraščenih s podrastjo, bodo vsebovale manjšo koncentracijo kovin.
- Fitoremediacija bo uspešnejša pri vrbah, ki so zaraščene s podrastjo.
- V onesnaženih tleh se nahajajo tolerantni glivni simbionti, ki bodo uspešno kolonizirali korenine vrbe.

2 PREGLED OBJAV

2.1 ONESNAŽEVANJE S TEŽKIMI KOVINAMI

Težke kovine so kovinski elementi z gostoto $\geq 5 \text{ g/cm}^3$. V tleh in vodah se kopijo kot posledica kurjenja fosilnih goriv, rudarjenja, taljenja rud, komunalnih odpadkov, gnojil, pesticidov, uporabe pigmentov in akumulatorjev (Adriano, 1986). Z odcednimi vodami in prahom se nato širijo tudi na neonesnažena področja. Ker so nerazgradljive predstavljajo resen problem za okolje in človekovo zdravje (Khan in sod., 2010). Glede na vrsto kovine, koncentracijo in oksidacijsko stanje povzročajo različne zdravstvene težave (Ali in sod., 2013). Vplivajo namreč na nedelovanje encimov, blokirajo funkcionalne skupine biološko pomembnih molekul ter povzročajo zamenjavo esencialnih kovin za neesencialne in spremembe v celični membrani, kar vodi do negativnih fizioloških sprememb. Povzročajo pa tudi povečano produkcijo reaktivnih kisikovih spojin, kar vodi v oksidativni stres (Pagliano, 2006; La Rocca in sod., 2009).

Glede na vlogo v biološkem sistemu težke kovine ločimo na esencialne (Fe, Mn, Cu, Zn, Ni), ki so nujno potrebne za življenje organizmov, in neesencialne (Pb, As, Hg, Cd in Cr) (Henry, 2000).

Cink (Zn) je esencialen element in sodeluje v mnogih procesih v rastlini, kot sta aktivacija encimov ter metabolizem proteinov, ogljikovih hidratov, lipidov in nukleinskih kislin. Je tudi kofaktor mnogih encimov, ki imajo pomembno vlogo v primarnem metabolizmu, in je sestavna komponenta določenih transkripcijskih faktorjev (Chang in sod., 2005). Vsebnost cinka v tleh se navadno povečuje s človekovimi dejavnostmi, kot so rudarjenje, uporaba fosilnih goriv in uporaba gnojil na osnovi fosfatov. Prekomerne koncentracije cinka pri rastlinah povzročijo izgubo turgorja, nekroze na starih listih in reducirano rast. Simptomi akutne zastrupitve pri ljudeh pa so bolečina v predelu trebuha, diareja, slabost in bruhanje (Nriagu, 1996).

V Sloveniji znaša mejna opozorilna vrednost koncentracije cinka $200 \text{ } \mu\text{g/g}$, opozorilna vrednost $300 \text{ } \mu\text{g/g}$, kritična vrednost pa $720 \text{ } \mu\text{g/g}$ suhih tal (Ur. l. RS, 68/96).

Kadmij (Cd) je ena izmed najbolj fitotoksičnih težkih kovin, saj je v vodi zelo topen in se hitro absorbira v rastlino. Tako predstavlja nevarnost za vstop v prehransko verigo, s tem pa grožnjo za človekovo zdravje. Že privzem majhnih koncentracij v rastlino negativno vpliva na mineralno prehrano, homeostazo, rast in razvoj rastlin. Kadmij je strupen za ledvice in jetra od koder se izloča zelo počasi. Kadmij vpliva tudi na metabolizem kalcija, posledica česa je lahko osteroporoza (DalCorso in sod., 2010).

V Sloveniji znaša mejna opozorilna vrednost koncentracije kadmija $1 \text{ } \mu\text{g/g}$, opozorilna vrednost $2 \text{ } \mu\text{g/g}$, kritična vrednost pa $12 \text{ } \mu\text{g/g}$ suhih tal (Ur. l. RS, 68/96).

Svinec (Pb) je ena izmed najpogostejših težkih kovin tako na kopnem kot v vodi. Izhaja pretežno iz rudarjenja, taljenja rud ter uporabe goriv in eksploziv. Rastline ga absorbirajo zelo hitro zato predstavlja nevarnost vstopa v prehransko verigo. Pri rastlinah povzroča kloroze in celo smrt (DalCorso, 2012). Pb pri človeku povzroča presnovne, krvne in ledvične bolezni, ovira vezavo železa na protoporfirin, povzoča anemijo in pri odraslih hipertenzijo (Leštan, 2002)

V Sloveniji znaša mejna opozorilna vrednost koncentracije svinca $85 \text{ } \mu\text{g/g}$, opozorilna vrednost $100 \text{ } \mu\text{g/g}$, kritična vrednost pa $530 \text{ } \mu\text{g/g}$ suhih tal (Ur. l. RS, 68/96).

2.2 FITOREMEDIACIJA

Tla, ki so onesnažena s težkimi kovinami, postanejo neprimerna za rast večine rastlin. S tem se zmanjšuje biodiverziteta in spreminja tip vegetacije (Baker in Walker, 1990). Da zmanjšamo vplive na okolje, je čiščenje onesnaženih področij nujno potrebno. Fizikalne in kemične konvencionalne metode čiščenja so *in situ* vitrifikacija, sežig prsti, izkop in odlaganje na drugo mesto, izpiranje tal, solidifikacija ter stabilizacija z elektro-kinetičnimi sistemi. Takšne metode so lahko drage, včasih pa predstavljajo tudi sekundarni

okoljevarstveni problem, saj škodljivo vplivajo na naravno mikrofloro tal. V zadnjem času se zato pojavlja potreba po ekonomičnih, učinkovitih in okolju prijaznih metodah (Ali in sod., 2013).

Ena izmed okolju bolj prijaznih metod čiščenja okolja je fitoremediacija, ki se uporablja za remediacijo tal ali vode. Količino onesnažil ali njihove strupene učinke na okolje zmanjšamo z uporabo odpornih rastlin in z njimi povezanih mikrobov (Greipsson, 2011).

Poznamo tri osnovne strategije mehanizmov, ki jim omogočajo preživetje na onesnaženih tleh (Ali in sod., 2013):

1) Izključevalci kovin

Rastline lahko v korenine absorbirajo velike količine kovin, ki pa se ne prenesejo v nadzemne dele.

2) Indikatorji kovin

Rastline, ki v nadzemnih delih akumulirajo količino kovin, ki je sorazmerna količini kovin v tleh.

3) Hiperakumulatorji kovin

Rastline, ki so zmožne ekstrahirati velike količine kovin, ki jih skoncentrirajo v zgornjih delih rastlin.

Fitoremediacija se deli na fitoekstrakcijo, fitofiltracijo, fitostabilizacijo, fitovolatizacijo in fitodegradacijo (Ali in sod., 2013).

Z rastlinami lahko odstranimo različne organske komponente, ksenobiotike, pesticide in težke kovine (Suresh in Ravishankar, 2004). Za fitoremediacijo so še posebej primerne vrste, ki tvorijo velik koreninski sistem in veliko biomaso poganjkov, ki preprečita intenzivno vetrno erozijo (Leyval in sod., 1997). Proces običajno poteka nekaj let, zaključi pa se, ko kontaminanti ne predstavljam več nevarnosti za okolje in ljudi (Suresh in Ravishankar, 2004). Prednosti bioremediacije so prijavnost do okolja in ekonomičnost ter preprečevanje ali zmanjšanje prehoda kovin v odcedne vode, kovine, ki so absorbirane v rastlino, pa lahko še ekstrahiramo iz rastline in nato recikliramo (Shao in sod., 2010).

Fitoremediacija ima tudi nekaj omejitev. Je počasnejša v primerjavi z drugimi metodami, saj rastline z nizko prirastjo in majhnim koreninskim sistemom ne zagotavljajo učinkovite bioremediacije ter navadno ne preprečujejo izpiranje kontaminantov v vodni sistem (Danh in sod., 2009). Fitoremediacija je primerna za področja, ki so malo oziroma zmerno onesnažena s težkimi kovinami, saj je na zelo onesnaženih področjih rast rastlin slaba. Rastline, ki privzamejo težke kovine, predstavljajo grožnjo za živali, ki bi jih lahko pojedle (Shao in sod., 2010). Kovine morajo biti v obliki, ki je dostopna rastlini, in ne smejo biti topne v vodi. Problemi se lahko pojavijo v okoljih, ki so onesnažena z več vrstami kovin, saj lahko pride do občutljivosti rastline na katero izmed njih. Uspešnost bioremediacije je odvisna od temperature in padavin, ki vplivata na rast rastlin, reakcije onesnažil in erozijo prsti. Večina onesnaženih področij nima dostopa do vode za zalivanje, tako je rast rastlin v veliki meri odvisna od padavin. Padavine vplivajo tudi na izpiranje onesnažil. Temperatura vpliva na rast rastlin in na nastanek skorje in razpok na zemlji. Slednje lahko pospešijo odtekanje meteorne vode in onesnažil v podtalnico. Suha tla so tudi bolj podvržena vetrni eroziji (Bolan in sod., 2011).

V zadnjih letih so raziskave na področju bioremediacije v veliki meri namenjene izboljševanju privzema kovin v rastline, ki ga otežuje predvsem dostopnost kovin. Dostopnost kovin povečuje keliranje kovin z EDTA, kar pa ima pomanjkljivosti (draga metoda, dodatno onesnaževanje okolja, saj se kovine s keliranjem lažje spirajo) (Strobel 2001; Evangelou in sod. 2006). Topnost kovin povečuje tudi znižanje pH, kar lahko dosežemo z gnojili, kot so žveplove soli ali elementarno žveplo. Nižji pH je tudi v primeru, če je elementarno žveplo oksidirano z bakterijami (Kayser in sod., 2000).

2.3 FITOEKSTRAKCIJA

V procesu fitoekstrakcije rastline s pomočjo koreninskega sistema privzamejo kovine in jih prenesejo v nadzemne dele, kjer se kovine akumulirajo (Babula in sod., 2008).

Fitoekstrakcija ima štiri pomembne korake: mobilizacijo težkih kovin v tleh, privzem ionov težkih kovin preko korenin, prenos iz korenin v nadzemne dele in skladiščenje kovin v

rastlinskih organih. Osnovni pogoj za uspeh je odpornost uporabljeni rastline na težke kovine. To zagotavljajo mehanizmi, kot so vezava kovin na celično steno, aktivni transport ionov v vakuolo, kelacija z nastankom peptidov, na katere se vežejo kovine, in nastanek kovinskih kompleksov. Težke kovine se skladijo večinoma v vakuolah, kar omogoča, da presežki kovin v citosolu ne vplivajo na celične metabolne procese (Ali in sod., 2013).

Za fitoekstrakcijo težkih kovin navadno uporabimo hiperakumulatorje ali hitro rastoče rastlinske vrste. Hitro rastoče vrste imajo manjšo sposobnost fitoekstrakcije kot hiperakumulatorji, vendar pa je produkcija biomase veliko večja (Babula in sod., 2008).

Prednosti fitoekstrakcije so predvsem ekonomičnost in končni rezultat, ki oblikuje sprejemljivo raven onesnaženja, lahko pa dosežemo celo stanje pred onesnaženjem. Pri uporabi fitoekstrakcije v okoljih, onesnaženih z industrijo, uporabijo predvsem letne rastline, ki so odporne na onesnažila. Zaželene so tudi lastnosti, kot sta dober prenos kovin v nadzemne dele in visok letni prirastek. Fitoekstrakcija se boljše obnese na področjih, ki so zmerno onesnažena (Babula in sod. 2008). Fitoekstracija s hipeakumulatorji se v praksi že uporablja za ekstracijo Ni in Cd iz tal (Rascio in Navari-Izzo, 2011).

Biodostopnost težkih kovin ima velik vpliv na uspešnost fitoekstrakcije. Biodostopnost se nanaša na tisti delež oziroma frakcijo celokupne koncentracije toksičnih kovin, ki jo organizem lahko sprejme oziroma ima vpliv na biološki material (Geebelin in sod., 2003). Biodostopnost kovin je odvisna od vezave kovin na talne delce. Prehajanje kovin iz ene frakcije v drugo pa je odvisno od talnih lastnosti. Na biodostopnost kovin tako vplivajo pH tal, delež gline v tleh, vsebnost organske snovi, redoks potencial, železovi in manganovi oksidi ter kationi in anioni v talni raztopini (Leštan, 2002). Celokupna koncentracija kovin nam tako ne da realnega pogleda v to, koliko kovin je sploh dostopnih rastlini. Različne oblike kovin imajo namreč različno topnost in s tem tudi različno mobilnost in biološko dosegljivost. Za določanje biodostopnega deleža kovin se uporablja različna ekstrakcijska sredstva: CaCl_2 , DTPA, EDTA, NH_4Ac , NH_4NO_3 (Tessier in sod., 1979; Ross, 1994).

Rastline so razvile določene mehanizme, ki omogočajo večjo biodostopnost težkih kovin v tleh. Nekatere skozi korenine izločajo fitosiderofore, ki nase vežejo kovine. Biodostopnost

kovin povečajo tudi izločki korenin, ki zakisajo tla. Rastlinske korenine izločajo H⁺ ione, ki prav tako zakisajo rizosfero in povečajo raztopljanje kovin. H⁺ ioni lahko zamenjajo katione težkih kovin, ki so vezani na delce zemlje, in tako povečajo dostopnost kovin (Alford in sod., 2010). K uspešnejši fitoekstrakciji prispevajo tudi rizosferni mikroorganizmi, kot so bakterije in mikorizne glive. Privzem kovin v rastline povečajo interakcije med siderofori, ki jih izločajo mikroorganizmi (Mench in sod., 2009).

Fitoekstrakcijo lahko izvajamo naravno ali inducirano. Pri naravnih rastline uporabljamo pod naravnimi pogoji, pri inducirani pa dodamo različne kelatorje, na primer EDTA, citronsko kislino ali elementarno žveplo. S kelati povečamo biodostopnost kovin in s tem olajšamo privzem v rastlino, lahko pa povzročijo tudi sekundarno onesnaženje, zato jih moramo uporabljati s previdnostjo (Ali H. in sod., 2013).

Po končani fitoekstrakciji je pomembno vprašanje, kaj se bo zgodilo z ostanki rastlin, ki vsebujejo velike količine težkih kovin. Po sežigu rastlinsko biomaso shranimo na posebej namenjenih odlagališčih ali pa se lotimo fitorudarjenja oziroma pridobivanja vrednih kovin iz biomase rastlin, ki absorbirajo kovine iz tal (Ali in sod., 2013).

Za uspešnost fitoekstrakcije so pomembne lastnosti (Ali H. in sod., 2013):

- a) Hitra rast
- b) Velika produkcija nadzemne biomase
- c) Razširjen in razvejan koreninski sistem
- d) Akumulacija tarčne težke kovine iz tal
- e) Prenos akumulirane težke kovine iz korenin v poganjke
- f) Odpornost na strupene učinke težkih kovin
- g) Dobra prilagodljivost na prevladujoče okoljske in vremenske pogoje
- h) Odpornost na škodljivce
- i) Enostavna pridelava in spravilo

Pomembno je tudi, da z izborom rastlin, ki jih herbivori ne uživajo, preprečimo vstop težkih kovin v prehrambeno verigo.

2.4 FITOSTABILIZACIJA

Metoda fitostabilizacije temelji na shranjevanju težkih kovin v rastlinskih tkivih ali tleh v obliki z zmanjšano topnostjo (Babula in sod. 2008; Cotter-Howells in Caporn, 1996). Za njeno uspešnost je predpogoj zaraščenost onesnaženih tal z rastlinskim pokrovom, saj rastline pomagajo kontrolirati erozijo, zagotavljajo organsko snov tlem in agregacijo tal ter vezavo onesnažil (Pulford in Watson, 2003; Robinson in sod., 2006). Rastlinski pokrov zmanjšuje tudi prehod kovin v vodo (Vangrosveld in sod., 1991). Zmanjševanje erozije z rastlinskim pokrovom je odvisno od tipa, obsega in kvalitete pokrova (Bronick in Lal, 2005; McCallum in sod., 2004), saj zaraščenost omogoča boljše vpijanje deževnice v tla ter s tem preprečevanje spiranja tal in onesnažil v neonesnaženo okolico (Bolan in sod., 2011). Ko so rastline neaktivne, tla delujejo kot goba, ki preprečuje pronicanje onesnaženih voda. V rastni sezoni rastline s transpiracijo in koreninskim sistemom zmanjšajo vlažnost tal. Dolgoročni vpliv rastlinskega pokrova je znižanje pH, kar je posledica eksudatov iz rastlin in sprememb mobilnosti težkih kovin. Fitostabilizacija je primerna tudi za bolj onesnažena področja (Frey in sod., 2006).

2.5 UPORABNOST IZBRANIH RASTLINSKIH VRST PRI FITOREMEDIACIJI

2.5.1 Vrba

Med drevesnimi vrstami za namene fitoremediacije najpogosteje uporabljamо vrbe. Te spadajo v rod *Salix* in družino Salicaceae. Zanje je značilna hitra rast, razširjen koreninski sistem, hitro razmnoževanje, velika biomasa ter odpornost na veliko vrst onesnažil (Gawronski in sod., 2011).

Vrbe navadno rastejo ob vodi ali na mokriščih. Spadajo med rastline, ki hitro poselijo področja, kjer so ljudje s svojo aktivnostjo povzročili spremembe v pokrajini. S svojo kolonizacijo omogočijo stabilizacijo terena ter letno količino organskih odpadkov (listi in veje), iz katerih čez čas nastane humus. S tem se izboljša struktura tal in količina hranič v

tleh (Stott, 1992). Vrbe iz tal izdatno črpajo vodo, s čimer je zmanjšana nevarnost spiranja tal, preživijo pa tudi sušna obdobja (Sander in Ericsson, 1998). Enostavno jih križamo, zato je komercialno dostopnih že veliko križancev (Pulford in sod., 2002).

Vrbe so odporne na Cd, Cu, Zn, Ni, Pb in Fe, ki so jih sposobne akumulirati v nadzemne dele. Njihova prednost pred hiperakumulatorji kovin je globlji koreninski sistem, ki omogoča črpanje kovin iz globljih delov tal, pomanjkljivost pa je dolgotrajnost postopka (Felix, 1997). Med predstavniki rodu je velika razlika v privzemu, translokaciji v poganjke in odpornosti na določene kovine. Razlike so še posebej opazne med kloni iste vrste. Poiščemo lahko klon, ki je najprimernejši za določeno nalogu (Landberg in Greger, 1996). V fitoremediaciji je zelo pogosto uporabljena vrsta *Salix viminalis*, katere prednosti sta visoka biomasa (uporabna kot vir alternativne energije) in enostavno razmnoževanje s potaknjenci. Kloni vrste *Salix viminalis* so večinoma izključevalci težkih kovin in bolje rastejo na vlažnih tleh, preživijo pa lahko tudi več kot deset let (Landberg in Greger, 1996).

Kljub velikem številu raziskav pri vrbah biokemijski mehanizmi odpornosti še niso znani. Nekateri dokazi kažejo na to, da so vrbe odporne na težke kovine zaradi sinteze fitokelatinov. Ti tvorijo komplekse in pomagajo pri razstrupljanju kovin (Ali in sod., 2003). Možna razloga za odpornost nekaterih klonov so razlike v peroksidaciji lipidov in delovanju encimov (Landberg in Greger, 1996).

Les vrb lahko po končani bioremediaciji uporabimo v več namenov. Uporablja se v proizvodnji papirja, ivernih plošč in oglja, kot vir viskoze za tekstilno industrijo ter za proizvodnjo briketov in lesnih sekancev (McElroy in Dawson, 1986). Po sežigu lesne biomase lahko iz pepela pridobimo vredne težke kovine in jih ponovno uporabimo (Perttu in Kowalik, 1997).

2.5.2 Trstikasta bilnica

Trstikasta bilnica (*Festuca arundinacea*) spada v rod *Festuca* in v družino Poaceae. Odporna je na visoko koncentracijo težkih kovin v tleh ter dobro raste tudi v težjih okoljskih razmerah,

kot sta visoka koncentracija soli v okolju in suša. Trstikasto bilnico je tako kot druge trave možno pokositi od 2 do 3-krat v sezoni, kar omogoča relativno dober donos biomase (Gawronski in sod., 2011). Običajno ne pride do prenosa kovin iz korenin v poganjke, za kar vzrok verjetno tiči v nizki koncentraciji histidina v ksilemu (Krämer in sod., 1996). Pogosto tudi tvori simbiozo z endofitskimi glivami. Ravno ti dve lastnosti zmanjšujeta možnost vstopa kovin v prehransko verigo (Krzyzak in sod., 2006). Poleg tega obstajajo za gojenje trstikaste bilnice že uveljavljene kultivacijske metode, zato je idealen kandidat za fitoremediacijske projekte. Begonia in sod. (2005) so dokazali, da trstikasta bilnica uspešno preživi v tleh z visokimi koncentracijami Pb, v poganjke pa lahko prenese tudi njegove večje koncentracije.

2.5.3 Plazeča detelja

Plazeča detelja (*Trifolium repens*) spada v rod *Trifolium* in v družino Fabaceae. Pri plazeči detelji (*Trifolium repens*), rastoči na onesnaženih tleh, so v preteklosti raziskovali predvsem simbiotski privzem dušika, nekaj raziskav pa se je osredotočilo tudi na privzem kovin (Ben Rebah in sod., 2002; Broos in sod., 2004; Obbard in Jones, 2001). Bidar in sod. (2007) so preučevali vpliv Cd, Zn in Pb na rast plazeče detelje. Ugotovili so, da so se težke kovine v večji meri kot v poganjkih akumulirale v koreninah v naslednjem vrstnem redu: Pb > Zn > Cd. Kljub oksidativnemu stresu, ki ga povzročajo, je plazeča detelja vseeno uspešno rastla. Zaključili so, da je primerna za fitoremedacijo področij, onesnaženih s težkimi kovinami.

2.6 ARBUSKULARNA MIKORIZA

Arbuskularno mikorizne (AM) glive se nahajajo v tleh in tvorijo simbiozo z večino višjih rastlin ter prispevajo k rasti rastlin, kar je še posebej zaželeno na področjih, onesnaženih s težkimi kovinami (Barea in Jeffries, 1995). Gliva tvori v koreninski skorji ali korteksu enega ali več rastlinskih partnerjev, značilne morfološke strukture vezikle in (ali) arbuskule, po katerih so omenjene glive tudi poimenovali (Maček in Vodnik, 2005). Zunanji micelij dodatno zavzema volumen zemlje, s čimer so kovine absorbirane z večjega volumna zemlje.

Glive tako predstavljajo dodatni založni material za kovine (Zhu in sod., 2001). Glive rastlinam povečajo dostop do relativno nemobilnih mineralov (Vivas in sod., 2003), povečajo privzem vode, izboljšujejo teksturo tal z vezavo delcev zemlje v stabilne aggregate, odporne na veter in vodno erozijo (Rillig in Steinberg, 2002; Steinberg in Rillig, 2003), ter vežejo težke kovine na korenine, s čimer je omejen prenos v poganjke (Dehn in Schuepp, 1989). Pospešijo revegetacijo onesnaženih tal in blažijo stres na rastline, ki je posledica težkih kovin (Gonzalez-Guerrero in sod., 2007).

Preučevanja pozitivnih učinkov kolonizacije z glivami so se lotili tudi pri vrbah, saj so predstavniki rodu *Salix* gostiteljske rastline endomikoriznim in ektomikoriznim glivam (Lodge, 1989). Uspešnejšo bioremediacijo in skrajšanje postopka dosežemo tudi z inokuliranjem z mikoriznimi glivami (Jone in Leyval, 2001).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 VZGOJA RASTLIN

V poskusu smo uporabili klone "Tordis" (*(Salix viminalis x Salix schwerinii)* x *Salix viminalis* = Züchtung Torijera x Z. Ulv.); gojitelja Reinharda Sperra iz Avstrije (www.DerServiceGaertner.at, www.Energiepflanzen.at), ki so bili na Švedskem potrjeni kot primerni za fitoremediacijo (Dimitriou in Aronsson, 2005). Klone smo prejeli v začetku marca, nato pa so potaknjenci uspevali v rastlinjaku v kontroliranih razmerah. Nasadili smo jih v lončke z volumnom 200 ml v zemljo Klassman Tonsubstrat. V mesecu maju smo sadike prenesli v lonec z volumnom 15 l, ki so imeli na spodnji strani luknje, skozi katere je lahko odtekala voda. Te smo postavili v večji lonec, tako da smo lahko pobirali odcedne vode. Poskus smo izvajali na prostem na območju Inštituta za ekološke raziskave ERICo.



Slika 1: Ukoreninjene vrbe (Slika Nives Kugonič)

Vrbe smo nasadili v 36 loncev. 12 loncev je sestavljala zemlja s področja stare cinkarne v Celju (cinkarniška zemlja, ki je označena kot CZ 100 %), 12 loncev neonesnažena zemlja iz

Družmirja (družmirska zemlja, ki je označena kot DZ), 12 loncev pa zemlja, sestavljena iz 50 % onesnažene ter 50 % neonesnažene zemlje (zemlja , ki je označena kot CZ 50 %).

Med rastjo smo vrbe po potrebi zalivali z vodovodno vodo. Opravili smo tudi popis obstoječe podrasti. 26. 4. 2012 smo je del popleli in določene lonce posejali s plazečo deteljo (*Trifolium repens* 'Grasslands Tribute'; gostota setve: 0,08 g/lonec; detelja) ter trstikasto bilnico 'Finelawn' (*Festuca arundinacea* 'Finelawn'; gostota setve: 0,3 g/lonec; trava). Seme smo stehtali s tehtnico AT201 Mettler Toledo.

1D	2D	3D	4D	5D	6D	7D	8D	9D	10D	11D	12D
D	T	NS	D	T	NS	D	T	NS	D	T	NS
1R	2R	3R	4R	5R	6R	7R	8R	9R	10R	11R	12R
D	T	NS	D	T	NS	D	T	NS	D	T	NS
1C	2C	3C	4C	5C	6C	7C	8C	9C	10C	11C	12C
D	T	NS	D	T	NS	D	T	NS	D	T	NS

Legenda:

V neonesnažena tla (DZ) nasajena rastlina vrbe



V razredčena tla (CZ 50 %) nasajena rastlina vrbe



V onesnažena tla (CZ 100 %) nasajena rastlina vrbe

D = Nasajena plazeča detelja

T= Nasajena trstikasta bilnica

NS= Naravna sukcesija

Slika 2: Shematski prikaz lončnega poskusa fitoremediacije



Slika 3: Lončni poskus

3.2 VZORČENJE RASTLIN, ODCEDNIH VODA IN TAL

Odcedne vode smo vzorčili mesečno. Vodo smo odvzeli iz večjega lončka in izmerili količino, pH in temperaturo (pH meter WTW Multi 197i). Iz vsakega lonca smo odvzeli tudi vzorec, v katerem smo nato določili koncentracije kovin.

Mesečno smo merili tudi višino in obseg rastline ter število, obseg in dolžino poganjkov vrb. Obseg poganjka smo izmerili 5 cm od začetka poganjka. Hkrati smo od glavnega poganjka za analizo fotosinteznih pigmentov vsakič odvzeli 2 popolnoma razvita lista. Shranjevali smo jih v plastične vrečke ter zamrznili do analize.

V septembru 2012 smo vzorčili korenine, ki so služile za opazovanje stopnje mikorizacije. V oktobru 2012 smo za analizo kovin v poganjkih odrezali 10 cm glavnega poganjka. V marcu 2013 smo iz vsakega lonca odvzeli tudi vzorec tal.

Za izračun vsebnosti kovin v loncih smo izmerili tudi volumsko gostoto zemlje. Vzorce zemlje smo odvzeli s pomočjo Kopeckijevih cilindrov iz globine 2–8 cm. Nato smo vzorec

zemlje posušili v sušilniku pri 105 °C (48 ur) ter zatem stehtali vzorce. Volumsko gostoto tal smo izračunali po enačbi 1:

$$\rho = \frac{m}{V} \quad \dots (1)$$

3.3 PRIPRAVA VZORCEV ODCEDNIH VODA, POGANJKOV IN TAL ZA MERJENJE KONCENTRACIJ Cd, Zn IN Pb

3.3.1 Priprava vzorcev vode

Vzorce odcednih voda z volumnom 100 ml smo zakisali z dodatkom 1 ml 0,2 % dušikove kislino. Nato smo jih prefiltrirali skozi filter s 0,45 µm porami in izmerili koncentracije kovin z atomsko absorpcijsko spektroskopijo.

3.3.2 Razklop rastlinskega materiala za merjenje vsebnosti Cd, Pb in Zn z metodo atomske absorpcijske spektroskopije (AAS)

Poganjke smo zmleli v mlinčku. V steklene epruvete smo nato zatehtali 30 mg materiala (tehnica Sartorius Handy) in jim dodali 3 ml 65% HNO₃. Zmes smo premesali in nato čez noč pustili v digestoriju, da se je material prepojil s kislino. Vzorce smo zatem postopno segrevali v termobloku, dokler material ni v celoti mineraliziral.

3.3.3 Priprava vzorcev substrata

Vzorce tal smo sušili 5 dni, nato pa smo jih presejali skozi sito z odprtinami 2 mm ter jih po 1 g zatehtali v steklene čaše. Zatem smo jih ekstrahirali z 20 ml 1 M amonijevega acetata (Baker in sod., 1994). Čaše smo pokrili s plastično folijo, zatesnili z elastiko ter dve uri stresali na stresalniku pri 200 rpm. Posedene vzorce smo prefiltrirali skozi filter z 0,45 µm porami v epruvete ter jih zatesnjene shranili v hladilniku do meritev.

3.4 MERJENJE KONCENTRACIJ Cd, Pb, IN Zn V VZORCIH Z ATOMSKO ABSORPCIJSKO SPEKTROSKOPIJO (AAS)

Koncentracije kovin v vodi, poganjkih in substratu smo merili s plamensko atomsko spektrometrijo (FAAS) (plamenski atomski absorpcijski spektrofotometer Perkin Elmer Analyst 100).

FAAS je tehnika s področja atomske absorpcijske spektroskopije, pri kateri prosti uparjeni atomi absorbirajo elektromagnetno valovanje pri specifični valovni dolžini. Rezultat je absorpcijski signal, ki je sorazmeren s koncentracijo prostih atomov na optični poti. V plamenski AAS (FAAS) tekoče vzorce uvajamo v plamen preko razpršilnika, v katerem se vzorec pretvori v aerosol. Aerosol uvajamo v razpršilno komoro, kjer se pomeša z oksidantom in gorilnim plinom. Vzorec nato kontinuirano uvajamo v plamen, ki predstavlja vir nevtralnih atomov ali molekul. Ta absorbira energijo in služi za izparevanje topila in atomizacijo vzorca. Za plamen smo uporabili mešanico acetilen/zrak, ki gori v temperaturnem območju 2120-2400 °C (Rajh, 2011).

Razklopljeni material poganjkov smo redčili v 10 ml 0,2 % HNO₃. S pomočjo standardnih vzorcev smo za vsako kovino naredili umeritveno krivuljo, ki je služila za določanje neznanih koncentracij kovin v vzorcih. Po potrebi smo vzorce dodatno redčili z 0,2 % HNO₃, tako da je izmerjena vrednost ležala v območju umeritvene krivulje.

3.5 MERJENJE FOTOSINTEZNIH PIGMENTOV

Zamrznjene liste smo namočili v 5 ml 80 % acetona, s čimer smo ekstrahirali fotosintezne pigmente. Vsebino smo premešali z vorteksom in jo centrifugirali pri 2500 obratih. S spektrofotometrom Shimadzu UV-1800 smo nato pri valovnih dolžinah 470 nm, 647 nm in 664 nm izmerili absorpcijo.

Za umeritev spektrofotometra smo uporabili 80 % aceton. Koncentracijo klorofila a smo izračunali po enačbi 2, koncentracijo klorofila b po enačbi 3, koncentracijo karotenoidov pa po enačbi 4. Pretvorbo v mg/g smo naredili po enačbi 5 (Graan in Ort, 1984).

$$chl_a \text{ (mg/ml)} = 13,19 \times A_{664} - 2,57 \times A_{647} \quad \dots (2)$$

$$chl_b \text{ (mg/ml)} = 22,10 \times A_{647} - 5,26 \times A_{664} \quad \dots (3)$$

$$\sum kar \text{ (mg/l)} = \frac{1000 \times A_{470} - 1,82 \times chl_a - 85,02 \times chl_b}{198} \quad \dots (4)$$

$$X = \frac{conc_{pigmenta} \times V_{ekstrakta}}{m_{poganjkov} \times 1000} \quad \dots (5)$$

3.6 BARVANJE KORENINSKEGA SISTEMA ZA DOLOČANJE GLIVNE KOLONIZACIJE

Opazovanje glivnih struktur pod svetlobnim mikroskopom nam omogoča selektivno barvanje hitina, ki je sestavina celične stene simbiotske glive (Pongrac in Regvar, 2007).

Za barvanje s tripan modrim smo koreninski sistem oprali najprej s tekočo, nato pa z destilirano vodo. Narezali smo ga na fragmente 1 cm in položili v 16 cm dolge epruvete. Vzorce korenin podrasti in vrb smo prelili s 10 % KOH (100 g KOH in 1000 ml destilirane vode) in 30 minut segrevali pri 90 °C. Nato smo bazo odlili in koreninice sprali pod tekočo in destilirano vodo. V epruvete smo dolili 0,05 % tripan modrega (40 g destilirane vode, 40 g mlečne kisline, 80 g glicerola in 0,08 g tripan modrega) in korenine vrb segrevali v sušilniku 45 minut pri 90 °C. Korenine podrasti smo segrevali 15 minut pri 90 °C (Philips in Hayman, 1970). Barvilo smo zatem odlili in koreninice sprali pod tekočo in destilirano vodo.

3.7 VREDNOTENJE KOLONIZACIJE Z ENDOFITSKIMI GLIVAMI

Ocenjevanje stopnje kolonizacije koreninskega sistema z AM-glivami temelji na opazovanju obarvanih, naključno izbranih koreninskih fragmentov.

Koreninske fragmente smo položili na objektno stekelce in jih pregledali pod svetlobnim mikroskopom. Pri vsakem fragmentu smo ocenili splošno stopnjo mikorizne kolonizacije na osnovi šeststopenjske lestvice, gostoto struktur (arbuskulov, svitkov, veziklov) pa na osnovi štiristopenjske lestvice. Ocene fragmentov smo si sproti beležili v ocenjevalno tabelo. Parametre smo izračunali s pomočjo računalniškega programa Mycocalc (Trouvelot in sod. 1986).

Parametri:

Mikorizna frekvenca:

$$F \% = (\text{št. mikoriznih korenin} / \text{št. vseh korenin}) * 100$$

Splošna intenziteta mikorize:

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

Pri tem je n_5 število fragmentov razvrščenih v razred 5, n_4 število fragmentov razvrščenih v razred 4 in tako naprej.

Gostota arbuskolov v koreninskem sistemu:

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

Gostota veziklov v koreninskem sistemu:

$$V \% = v * (M / 100)$$

Gostota svitkov v koreninskem sistemu:

$$S \% = s * (M / 100)$$

Gostota mikrosklerocijev v koreninskem sistemu:

$$MS \% = ms * (M / 100)$$

Intenziteta mikorize v koloniziranih koreninskih odsekih:

$$M \% = M * (\text{število vseh korenin}) / (\text{št. mikoriznih korenin}) = M * 100 / F$$

Gostota arbuskolov v delu skorje z mikorizno kolonizacijo:

$$a \% = (100mA3 + 50 mA2 + 10 mA) / 100$$

Gostota veziklov v delu skorje z mikorizno kolonizacijo:

$$v \% = (100mV3 + 50 mV2 + 10 mV) / 100$$

Gostota svitkov v delu skorje z mikorizno kolonizacijo:

$$s \% = (100mS3 + 50 mS2 + 10 mS) / 100$$

Gostota mikrosklerocijev v delu skorje z mikorizno kolonizacijo:

$$ms \% = (100mMS3 + 50 mMS2 + 10 mMS) / 100$$

3.8 STATISTIČNE ANALIZE

Statistične analize smo naredili s pomočjo programa Excel (MS Office 2013) in vtičnika XL Toolbox (<http://xltoolbox.sourceforge.net/>). Za izračun statistično značilnih razlik med različnimi tretmaji smo uporabili program enosmerna ter dvosmerna ANOVA in Holm-Sidak posthoc test pri $p < 0,05$. Analize smo opravili s Studentovim t-testom ($p < 0,05$). Določali smo korelacijske povezave, pri čemer smo uporabili Pearsonov korelacijski indeks. Izračunali smo tudi bioakumulacijski faktor (BAF), ki je pokazatelj zmožnosti akumuliranja kovine iz tal za preučevano rastlino. Izračuna se kot razmerje med koncentracijama kovine v poganjkih in kovine v tleh.

4 REZULTATI

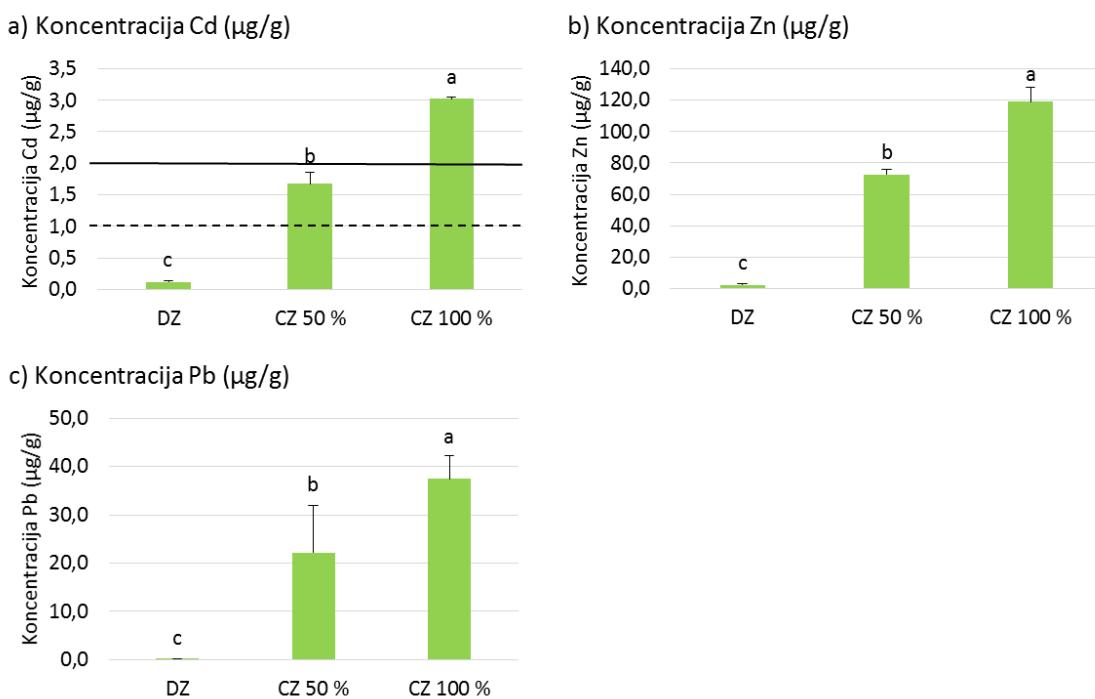
4.1 KONCENTRACIJA KOVIN V TLEH

Pred poskusom smo izmerili koncentracije kovin v tleh (Pregl. 1). Koncentracije Cd, Zn in Pb pri CZ 50 % in CZ 100 % presegajo kritične vrednosti kovin v tleh, določene v Sloveniji, koncentracije Cd in Pb pri substratu DZ presegajo mejne vrednosti, koncentracije Zn pri DZ pa presegajo opozorilne vrednosti v tleh, določene v Sloveniji (Ur. l. RS, št. 68/1996) (Pril. A).

Preglednica 1: Koncentracija kovin v tleh pred poskusom

Substrat	Cd ($\mu\text{g/g}$)	Zn ($\mu\text{g/g}$)	Pb ($\mu\text{g/g}$)
DZ	1,39	437,3	96,7
CZ 50 %	146	44630	8263
CZ 100 %	207	62800	11510

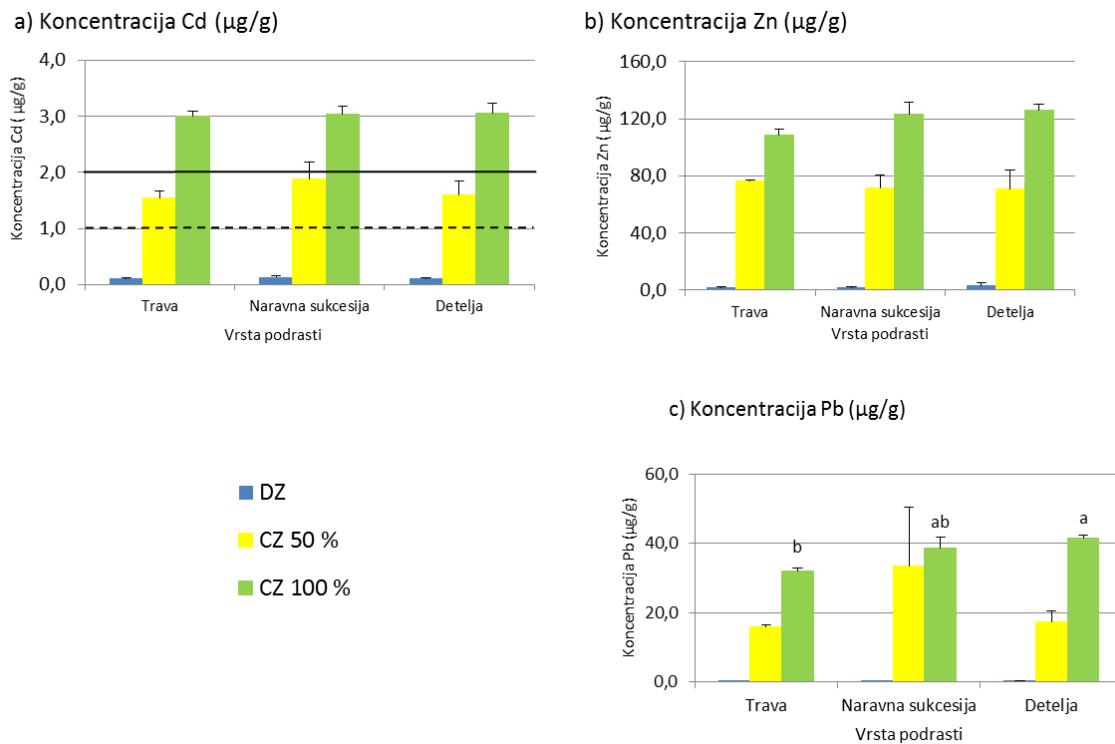
Po koncu poskusa smo prav tako izmerili koncentracije kovin v tleh (Pril. B). Vrednosti Cd, Zn in Pb v tleh so se izrazito znižale, saj so bile vse pod mejno vrednostjo kovin v tleh. Izjema je le koncentracija Cd pri CZ 50 %, kjer je koncentracija znašala več kot mejna vrednost kovin v tleh. Koncentracija Cd pri CZ 100 % pa je presegala opozorilno vrednost. (Pril. A in B). Koncentracije Cd, Zn in Pb v substratu po koncu poskusa so odvisne od vrste substrata. Koncentracije Cd, Zn in Pb so bile najvišje pri substratu CZ 100 %, najmanj kovin pa je bilo pri substratu DZ (Sl. 4).



Slika 4: Koncentracija Cd, Zn in Pb v substratu po koncu poskusa

(Povprečje \pm standardna napaka, N = 12) Različne črte nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med posameznimi substrati (enosmerna ANOVA, Holm-Sidak posthoc test, p < 0,05). S črtkano črto je označena mejna vrednost Pb v tleh, s polno pa njegova opozorilna vrednost.

Vrsta podrasti ne vpliva na koncentracijo Cd in Zn v substratu po končanem poskusu (Sl. 5a in 5b). Statistično značilne razlike v koncentracijah Pb v substratu smo opazili med deteljo in travo pri substratu CZ 100 %, kjer je bila koncentracija Pb v substratu manjša v primeru trave (Sl. 5c).

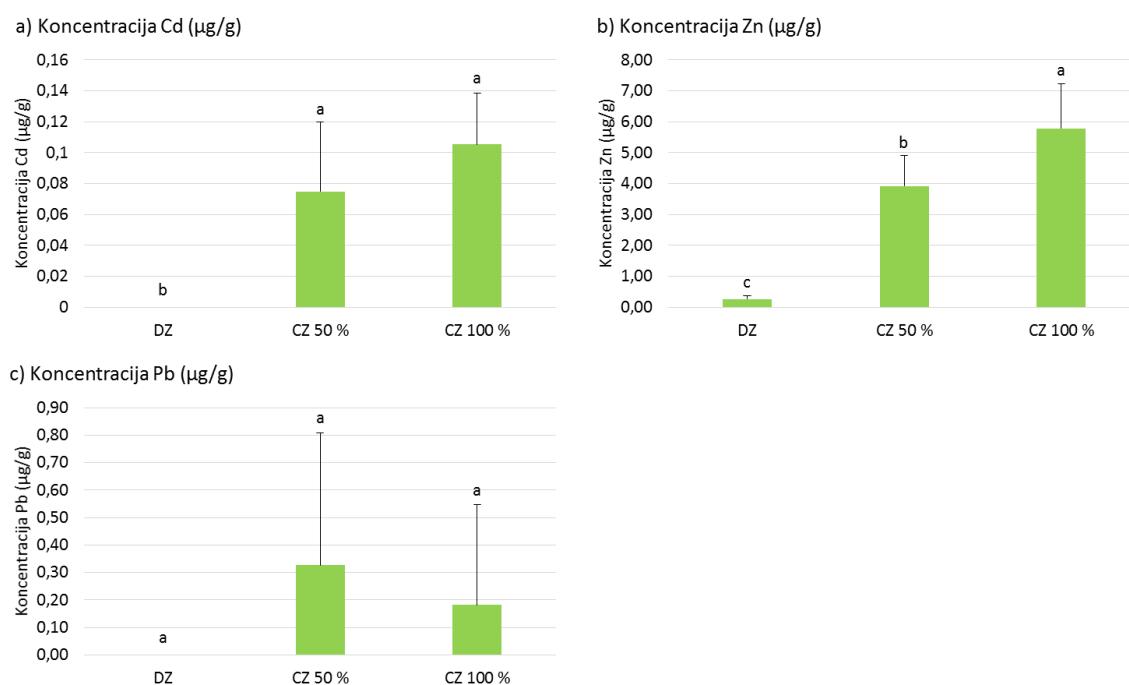


Slika 5: Posamezne koncentracije kovin v substratu po končanem poskusu glede na vrsto podrasti (Povprečje ± standardna napaka, N = 4) Različne črte nad stolci označujejo statistično značilno razliko med posameznimi podrastmi (enosmerna ANOVA, Holm-Sidak posthoc test, p < 0,05). S črtkano črto je označena mejna vrednost Pb v tleh, s polno pa njegova opozorilna vrednost.

Izračunali smo tudi vsebnosti kovin v substratih po koncu poskusa (Pril. C in D). Vsebnosti kovin v substratih so odvisne od vrste le tega (Pril. E). Vrsta podrasti ne vpliva na vsebnost Cd in Zn v substratu. Statistično značilne razlike v vsebnosti Pb v substratu smo opazili med deteljo in travo pri substratu CZ 100 %, kjer je bila vsebnost Pb v substratu manjša v primeru trave (Pril. F).

4.2 KONCENTRACIJA KOVIN V ODCEDNIH VODAH

Koncentracije Cd, Zn in Pb v odcednih vodah so bile sorazmerne s stopnjo onesnaženja substrata, v katerem so rastle rastline. Najvišje koncentracije Cd in Zn v odcednih vodah smo izmerili pri substratu CZ 100 %, najmanjše pa pri substratu DZ. Odvisnost koncentracij Cd in Zn v odcednih vodah od vrste substrata je bila tudi statistično potrjena (Sl. 6 in Pril. G).



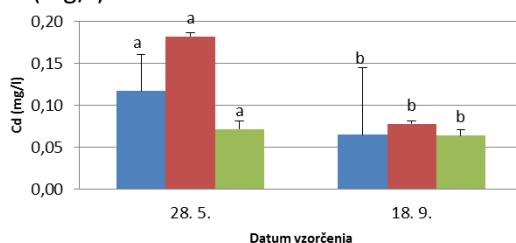
Slika 6: Koncentracije Cd, Zn in Pb v odcednih vodah

(Povpreče \pm standardna napaka, N = 8 do 12) Različne črte nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med posameznimi substrati (enosmerna ANOVA, Holm-Sidak posthoc test, p < 0,05).

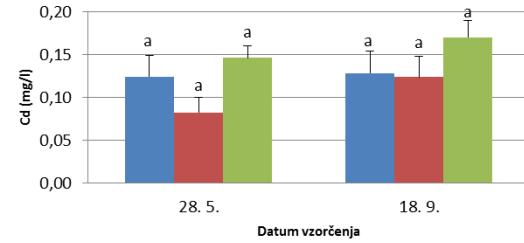
Med sabo smo primerjali koncentracije kovin v odcednih vodah pri prvem in zadnjem vzorčenju. Koncentracije Cd, Zn in Pb v odcednih vodah so v večini primerov manjše pri zadnjem vzorčenju. Koncentracije pri zadnjem vzorčenju so višje le v primeru Cd pri substratu CZ 50 % (podrast detelja), izjema je tudi koncentracija Cd pri CZ 100 % in koncentracija Zn pri CZ 100 % (naravna sukcesija) (Pril. H). Opazovali smo tudi statistično značilne razlike v koncentraciji kovin med prvim in zadnjim vzorčenjem, ki se v večini med

sabo statistično razlikujejo, razlik ni le pri Cd (Slika 7b), Zn (Sl. 7e) in Pb (Sl. 7g) pri substratu CZ 100 %.

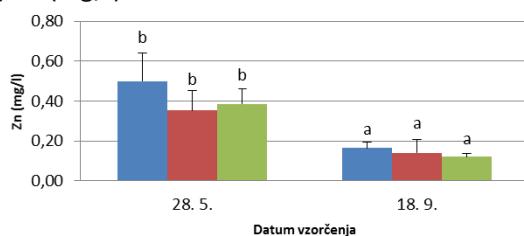
a) Cd (mg/l) – CZ 50 %



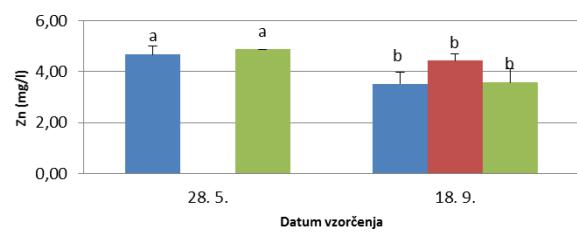
b) Cd (mg/l) – CZ 100 %



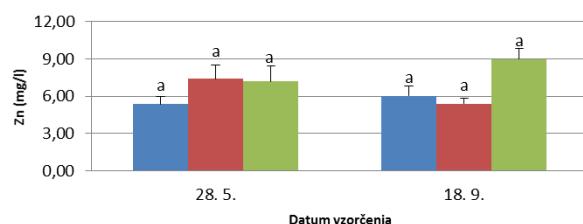
c) Zn (mg/l) – DZ



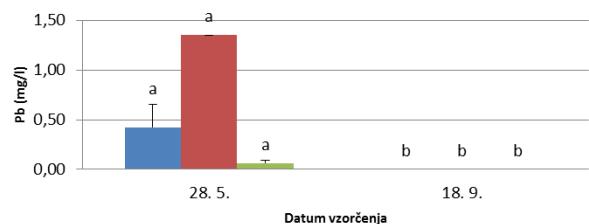
d) Zn (mg/l) – CZ 50 %



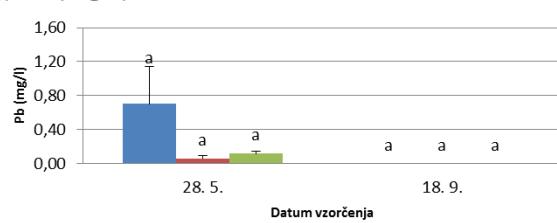
e) Zn (mg/l) – CZ 100 %



f) Pb (mg/l) – CZ 50 %



g) Pb (mg/l) – CZ 100 %

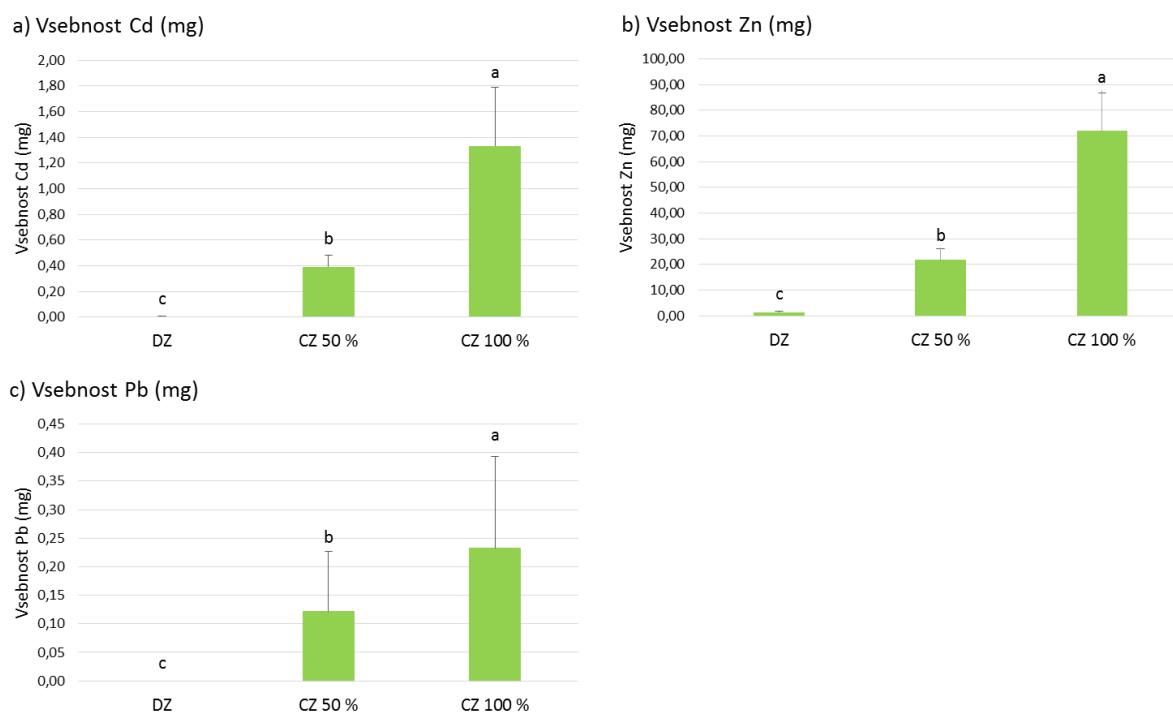


- DETELJA
- TRAVA
- NARAVNA SUKCESIJA

Slika 7: Koncentracije kovin v odcednih vodah (1. in 4. vzorčenje)

(Povprečje ± standardna napaka, N = 1 do 4) Različne črte nad stolpcem označujejo statistično značilno razliko med datumi vzorčenj (enosmerna ANOVA, Holm-Sidak posthoc test, p < 0,05).

Celokupne vsebnosti Cd, Zn in Pb akumulirane v odcednih vodah v celotni rastni sezoni, so odvisne od vrste substrata. Najvišje vsebnosti kovin smo izmerili pri substratu CZ 100 %, najnižje pa pri DZ (Sl. 8 in Pril. J).



Slika 8: Vsebnost Cd, Zn in Pb v odcednih vodah skozi celotno rastno sezono

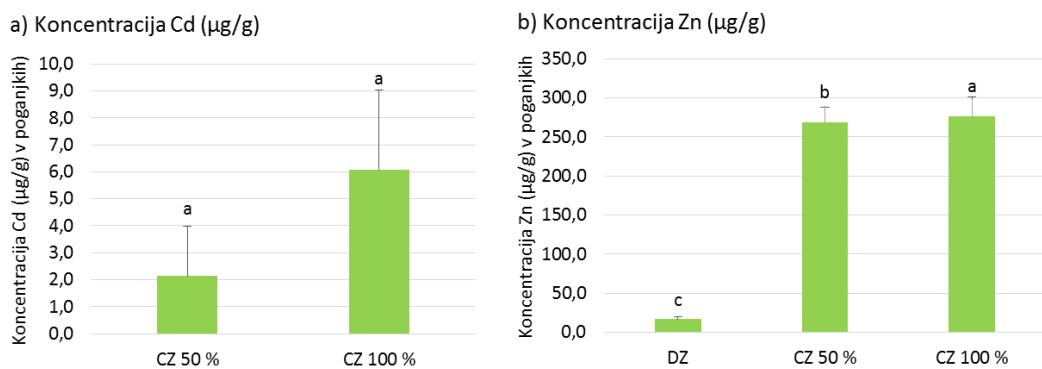
(Povprečje ± standardna napaka, N = 8 do 12) Različne črte nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med posameznimi substrati (enosmerna ANOVA, Holm-Sidak posthoc test, p < 0,05).

Vrsta podrasti ne vpliva na vsebnost Cd, Zn in Pb v odcednih vodah v rastni sezoni (Pril. K).

Opazovali smo vpliv podrasti na koncentracije kovin v odcednih vodah po vzorčenjih med sezono. Opazili smo le statistično značilne razlike v koncentraciji Zn v mesecu juliju med deteljo in travo pri substratu CZ 50 %, kjer je bila koncentracija Zn večja pri detelji. Koncentracija Zn pri tretmaju DZ se je skozi rastno sezono zniževala (Pril. L).

4.3 KOVINE V POGANJKIH VRB

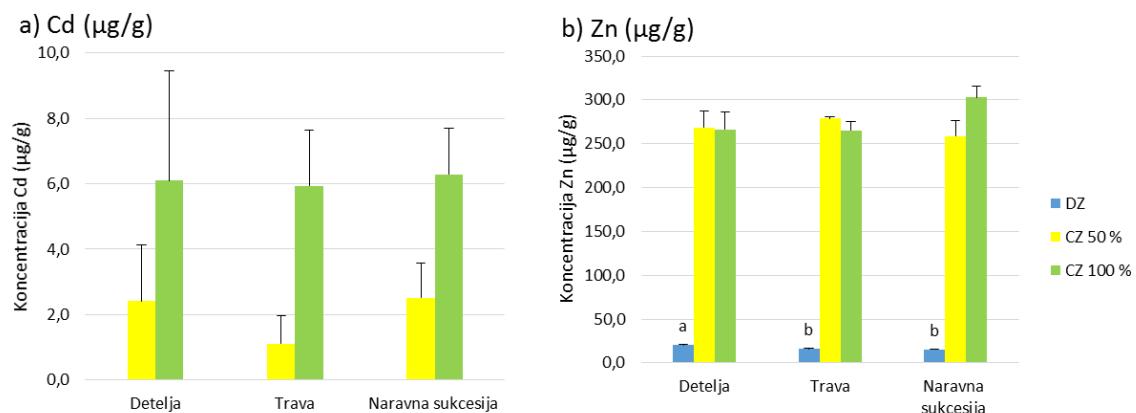
Koncentracije Zn v poganjkih vrba so odvisne od vrste substrata. Najvišje koncentracije Cd in Zn v poganjkih pri vrbah smo izmerili pri CZ 100 %, najmanjše pa pri substratu DZ. Koncentracije Pb so bile pri vseh substratih pod mejo detekcije (Sl. 9 in Pril. M).



Slika 9: Koncentracije Cd in Zn v poganjkih vrb

(Povprečje ± standardna napaka, N = 7 do 12) Različne črte nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med posameznimi substrati (enosmerna ANOVA, Holm-Sidak posthoc test, p < 0,05).

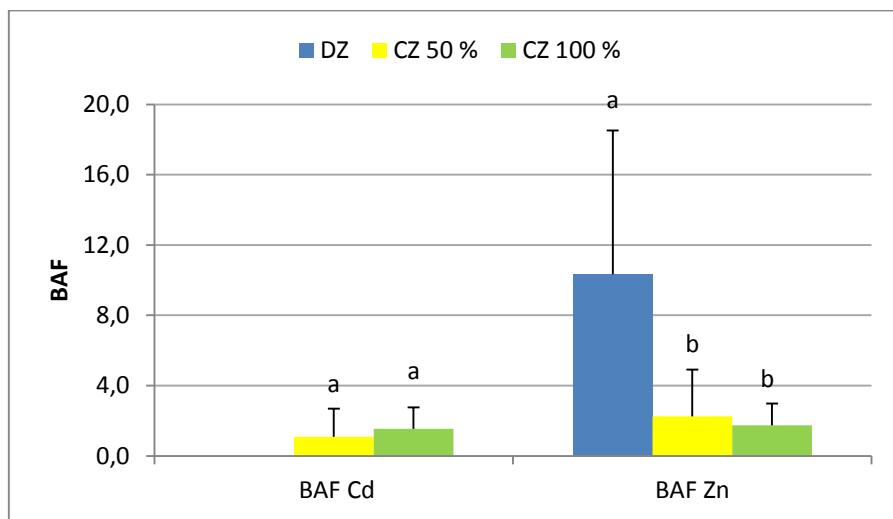
Primerjali smo vpliv vrste podrasti na koncentracijo kovin v poganjkih vrba. Z analizo variance smo ugotovili, da vrsta podrasti ne vpliva na koncentracijo Cd v poganjkih vrba. Statistično značilne razlike smo opazili med koncentracijami Zn v poganjkih vrba pri substratu DZ, kjer je bila najvišja koncentracija Zn v poganjkih, kjer je rasla detelja (Sl. 10).



Slika 10: Koncentracije kovin v poganjkih vrb glede na vrsto podrasti

(Povprečje ± standardna napaka, N = 2 do 4) Različne črte nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med posameznimi substrati (enosmerna ANOVA, Holm-Sidak posthoc test, p < 0,05).

Izračunali smo bioakumulacijski faktor (BAF), ki nam je pokazal zmožnost akumuliranja kovin v vrbe (Pril. N). Vrednosti BAF Cd in BAF Zn sta padali glede na onesnaženost substrata. Vrednosti BAF Zn so odvisne od vrste substrata ter kombinacije substrata in podrasti (Sl. 11). Ugotovili smo, da vrednosti BAF niso odvisne od vrste podrasti (Pril. O).

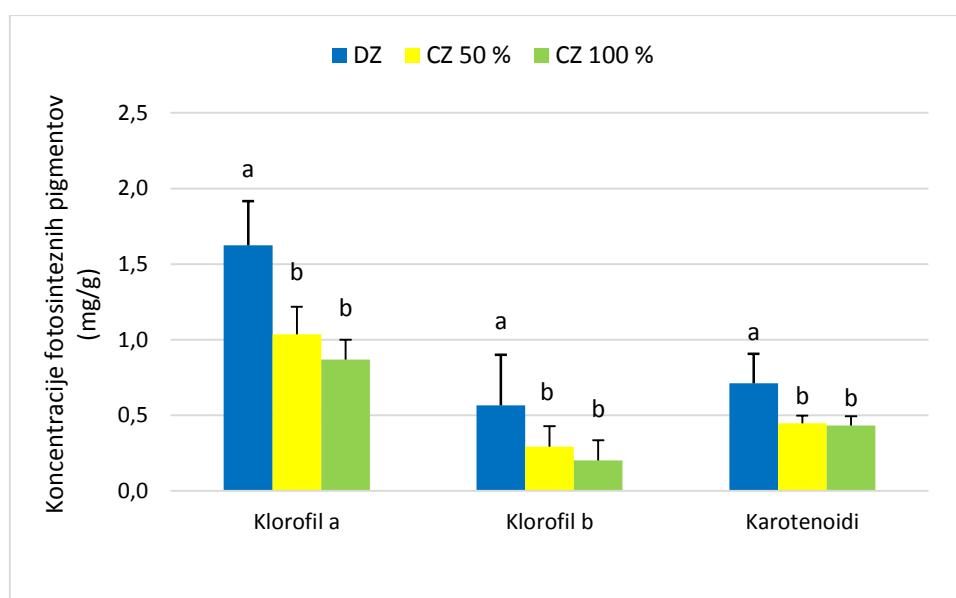


Slika 11: BAF Zn in BAF Cd glede na vrsto substrata

(Povprečje ± standardna napaka, N = 10 do 12) Različne črte nad stolpcem označujejo statistično značilno razliko med substrati (enosmerna ANOVA, Holm-Sidak posthoc test, p < 0,05).

4.4 FOTOSINTEZNI PIGMENTI V LISTIH VRB

Koncentracije fotosinteznih pigmentov v listih vrba so bile najvišje pri substratu DZ, najmanjše pri substratu CZ 100 %. Koncentracije pigmentov se statistično značilno razlikujejo pri substratu DZ v primerjavi s substratoma CZ 100 % in CZ 50 % (Sl. 12 in Pril. P in Q).



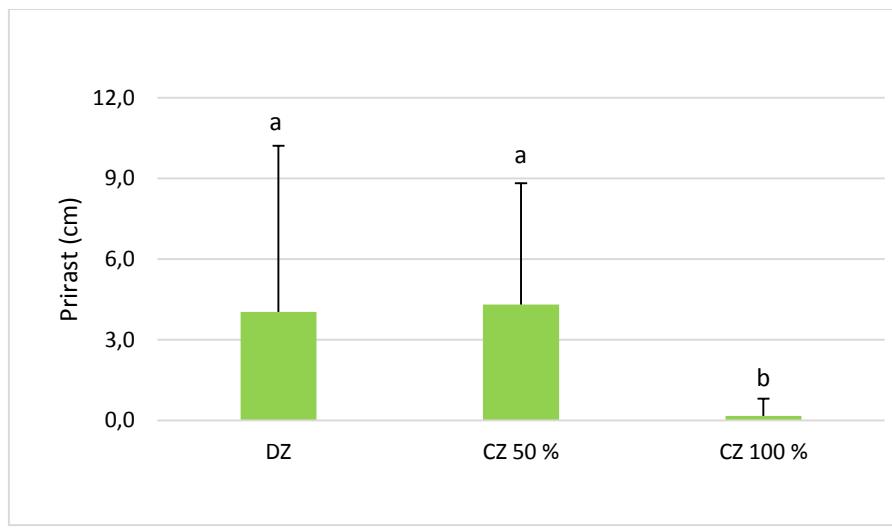
Slika 12: Koncentracije fotosinteznih pigmentov v listih vrba

(Povprečje ± standardna napaka, N = 3 do 4) Razlike med stolpcem označujejo statistično značilno razliko med posameznimi substrati (enosmerna ANOVA, Holm-Sidak posthoc test, p < 0,05).

Ugotavljali smo vpliv vrste podrasti na vsebnost fotosinteznih pigmentov v listih vrba. Statistično značilne razlike med različnimi vrstami podrasti v vsebnosti klorofila b v vrbah so bile v mesecu septembru pri substratu DZ med deteljo in naravno sukcesijo, kjer je bila vsebnost višja pri naravni sukcesiji (Pril. Q).

4.5 PRIRAST IN ŠTEVILO POGANJKOV

Statistično značilne razlike v prirasti so bile med substratom DZ in CZ 50 % ter substratom CZ 100 %. Prirast je bila največja pri substratu DZ, najmanjša pa pri CZ 100 % (Sl. 13 in Pril. R).

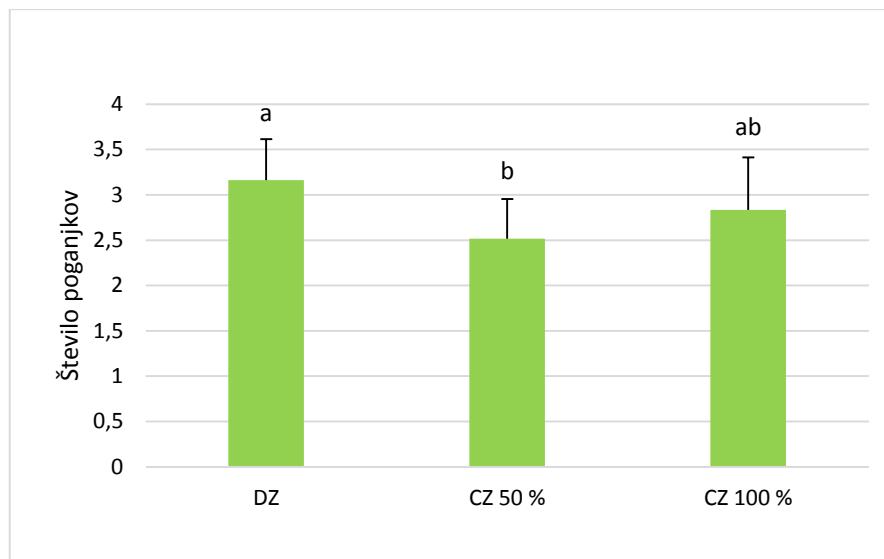


Slika 13: Prirast vrba

(Povprečje ± standardna napaka, N = 45 do 60) Različne črte nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med posameznimi substrati (enosmerna ANOVA, Holm-Sidak posthoc test, p < 0,05).

Prirast vrba je neodvisna od vrste podrasti ter je skozi sezono nihala brez opaznih trendov rasti ali padanja. Prirast je bila največja v mesecih juliju in avgustu, vendar pa nismo opazili statistično značilnih razlik med meseci (Pril. S).

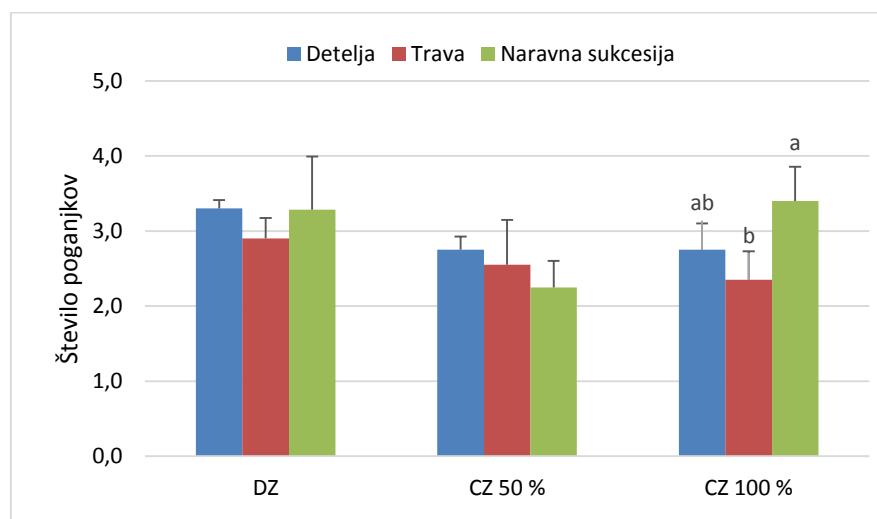
Število poganjkov je odvisno od vrste substrata ter je največje pri substratu DZ, najmanjše pa pri CZ 50 % (Sl. 14).



Slika 14: Število poganjkov pri vrbah glede na substrat

(Povprečje ± standardna napaka, N = 45 do 60) Različne črte nad stolpcji označujejo statistično značilno razliko med posameznimi substrati (enosmerna ANOVA, Holm-Sidak posthoc test, p < 0,05).

Primerjali smo vpliv vrste podrasti na število poganjkov pri vrbah. Statistično značilno razliko smo opazili pri substratu CZ 100 % med podrastjo travo in naravno sukcesijo, kjer je število poganjkov večje pri naravnici sukcesiji (Sl. 15).



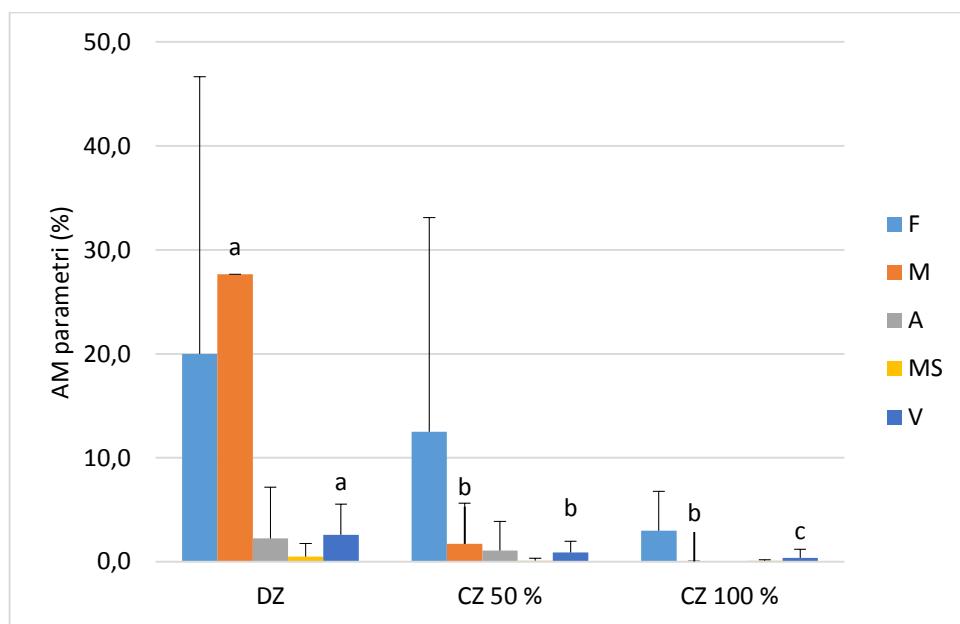
Slika 15: Število poganjkov pri vrbah glede na podrast

(Povprečje ± standardna napaka, N = 5) Različne črte nad stolpcji označujejo statistično značilno razliko med posameznimi podrastmi (enosmerna ANOVA, Holm-Sidak posthoc test, p < 0,05).

Korelacijske med koncentracijo kovin v odcednih vodah in višino vrba so bile negativne. Najvišja negativna korelacija je bila med koncentracijo Zn v vodi in višino vrba ($r = -0,519$, $p < 0,05$). Negativna korelacija je tudi med koncentracijo Cd in višino vrba ($r = -0,319$, $p < 0,05$). Pozitivne korelacijske so bile med koncentracijo kovin in količino odcednih voda, vendar pa niso bile statistično značilne (Cd: $r = 0,235$, $p = 0,05$; Zn: $r = 0,258$, $p = 0,05$; Pb: $r = 0,246$, $p = 0,05$) (Pril. I).

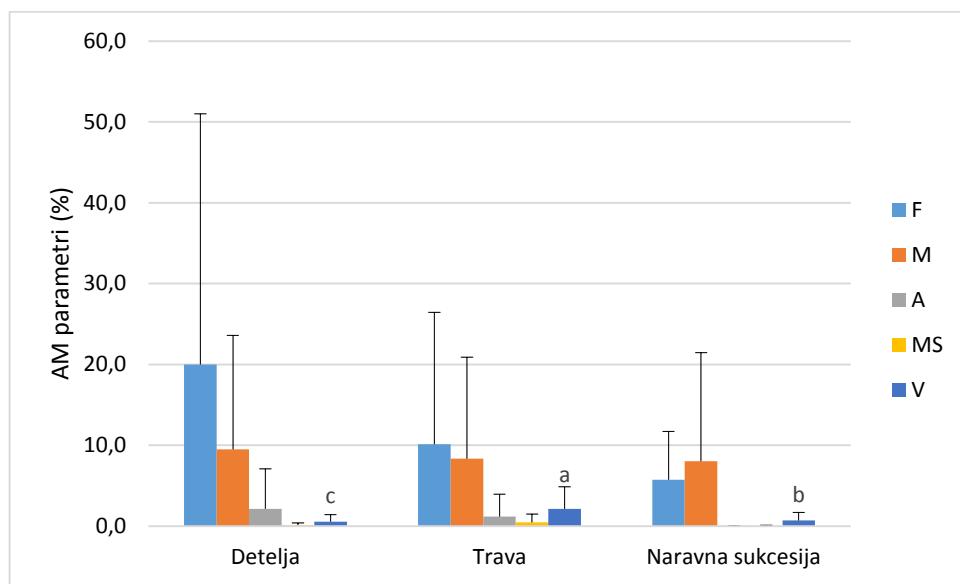
4.6 MIKORIZNA KOLONIZACIJA

Primerjali smo vpliv vrste podrasti in vrste substrata na stopnjo glivne kolonizacije na koreninah vrb. Opazili smo veliko variabilnost, pri primerjavi vpliva podrasti in vrste substrata na stopnjo glivne kolonizacije pa nismo opazili statistično značilnih razlik. Parametri F (frekvenca glivne kolonizacije), M (splošna intenziteta glivne kolonizacije), A (gostota arbuskolov), MS (gostota mikrosklerocijev) in V (gostota veziklov) so največji pri substratu DZ, sledi CZ 50 %, nato pa CZ 100 % (Sl. 16). Splošna intenziteta glivne kolonizacije je odvisna od vrste substrata (Sl. 16). Od vrste substrata in podrasti je odvisna gostota veziklov (Sl. 16). Ta je največja pri substratu DZ, najmanjša pa pri CZ 100 %. Največ veziklov imamo pri travi, najmanj pa pri detelji (Sl. 17 in Pril. T in U).



Slika 16: Naravna kolonizacija vrb z AM glivami glede na substrat

(Povprečje ± standardna napaka, N = 6 do 8) (F – frekvenca glivne kolonizacije, M – splošna intenziteta glivne kolonizacije, MS – gostota mikrosklerocijev, A – gostota arbuskolov, V – gostota veziklov) Različne črte nad stolpcii označujejo statistično značilno razliko med posameznimi substrati (enosmerna ANOVA na $y = \arcsin(x)$ transformiranih podatkih, Holm-Sidak posthoc test, $p < 0,05$).



Slika 17: Naravna kolonizacija vrba z AM glivami glede na podrost

(Povprečje ± standardna napaka, N = 6 do 8) (F – frekvenca glivne kolonizacije, M – splošna intenziteta glivne kolonizacije, MS – gostota mikrosklerocije, A – gostota arbuskolov, V – gostota veziklov) Različne črte nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med posameznimi substrati (enosmerna ANOVA na $y = \arcsin(x)$ transformiranih podatkih, Holm-Sidak posthoc test, $p < 0,05$).

Primerjali smo vpliv vrste podrasti in vrste substrata na stopnjo glivne kolonizacije na koreninah podrasti (detelja, trstikasta bilnica in naravna sukcesija). Z analizo variance smo ugotovili, da ni statistično značilnih razlik med različnimi podrastmi in vrstami substrata, opazili pa nismo tudi nobenega določenega trenda kolonizacije (Pril. V in W).

5 RAZPRAVA

5.1 KOVINE V TLEH

Z atomsko absorpcijsko spektroskopijo smo določili dostopne oblike kovin v substratu. Uredba o mejnih, opozorilnih in kritičnih imisijskih vrednostih nevarnih snovi v tleh (Ur. l. RS, št. 68/1996) določa mejne vrednosti celokupnih kovin v tleh, ki pa znašajo več kot dostopne.

Celokupna vsebnost kovin predvideva, da imajo vse oblike kovin v tleh enak vpliv na okolje in da je tako določena vsebnost kovin v celoti na razpolago rastlinam. Tako ne upošteva različnih oblik, v katerih se pojavljajo kovine, in ne odraža dejanske stopnje tveganja. Težke kovine v tleh imajo različne geokemične lastnosti in se nahajajo v različnih oblikah. S tem so različno dostopne rastlinam, saj imajo različno topnost in s tem različno mobilnost ter biološko dosegljivost (Tessier in sod., 1979; Ross, 1994).

Za natančnejše ovrednotenje uspešnosti bioremediacije bi morali opraviti tudi osnovne pedološke analize, ki bi nam več povedale o topnosti, mobilnosti in dostopnosti kovin. Več informacij o biodostopnosti kovin za rastline bi nam dale tudi sekvenčne ekstrakcije, s katerimi ugotavljamo vezavo kovin na posamezne talne komponente.

Koncentracije kovin v substratu smo izmerili pred in po poskusu. Koncentracije Cd, Zn in Pb pri substratih CZ 100 % in CZ 50 % pred poskusom so presegale kritične vrednosti. Opozorilne vrednosti Zn ter mejne vrednosti za Cd in Pb so bile presežene tudi pri substratu DZ, vzrok česar je lahko kmetijsko obdelovanje. Morda bi bilo smiselno, da bi kot neonesnaženo kontrolo vzeli manj onesnaženo zemljo. Glede na onesnaženost substrata pred poskusom je substrat primeren za fitostabilizacijo. Fitoekstrakcija se namreč slabše obnese na zelo onesnaženih tleh, medtem ko je fitostabilizacija primerna tudi za bolj onesnažena tla (Frey in sod., 2006).

Po koncu poskusa so bile vrednosti kovin v substratu pod mejno vrednostjo. Mejne vrednosti Cd so bile presežene le pri substratu CZ 50 %. Pri substratu CZ 100 % so bile presežene

opozorilne vrednosti Cd v tleh. Pojavile so se velike variabilnosti podatkov pri substratu CZ 50 %, katerih možen vzrok je nehomogenost substrata. To dokazuje, da se kovine intenzivno izpirajo iz substrata.

Vrsta substrata je po pričakovanjih vplivala na izmerjeno koncentracijo kovin in vsebnost kovin v substratu po poskusu. Podrast ni vplivala na koncentracijo in vsebnost Cd in Zn v substratu. Opazili smo statistično značilno razliko v koncentraciji in vsebnosti Pb v substratu med trstikasto bilnico in deteljo pri substratu CZ 100 %. Koncentracija in vsebnost Pb v substratu po poskusu je bila večja pri plazeči detelji. Možni vzrok je akumulacija Pb v trstikasto bilnico. Trstikasta bilnica je namreč sposobna rasti na področjih z večjimi koncentracijami Pb, Pb pa tudi akumulira v poganjke (Begonia in sod., 2005).

5.2 KOVINE V ODCEDNIH VODAH

Rastline z akumulacijo oziroma stabilizacijo težkih kovin zmanjšajo količino onesnažil, ki bi lahko prehajale v odcedne vode (Bronick in Lal, 2005; McCallum in sod., 2004). Črpanje vode v koreninski sistem zagotavlja manjšo količino onesnažene vode, ki bi se lahko razširila v neonesnažena področja (Clothier in Green, 1997; Barton in sod., 2005).

Ugotovili smo, da vrsta substrata vpliva na koncentracijo Cd in Zn v odcednih vodah. Glede na to, da je bilo v onesnaženem substratu več težkih kovin, tudi ni presenetljivo, da se je v odcedne vode spralo več kovin pri onesnaženem substratu.

V našem poskusu smo ugotovili, da zasajanje loncev s trstikasto bilnico in plazečo deteljo ni vplivalo na koncentracije Cd in Pb v odcednih vodah. Tako nam s podrastjo ni uspelo stabilizirati Cd in Pb v substratu in preprečiti spiranja v odcedne vode. Statistično značilno razliko smo opazili pri Zn, pri tretmaju CZ 100 % v mesecu juliju, kjer so bile koncentracije Zn v odcednih vodah večje, kjer je rasla detelja. Plazeča detelja je tako slabše vezala Zn kot naravna sukcija in trstikasta bilnica in je zato manj primerna za podrast.

Ena izmed možnih razlag, da podrast ni vplivala na koncentracije kovin v odcednih vodah, je slaba rast trstikaste bilnice in plazeče detelje, saj podrast večinoma ni prekrila celotnega lonca. Najbolj primeren rastlinski pokrov prekrije celotno površino in s tem prestreže vso deževnico. S posrkanjem deževnice se prepreči erozija zemlje in širjenje onesnaženja (Bronick in Lal, 2005; McCallum in sod., 2004). Ravno zaradi slabe rasti podrasti so se kovine hitreje spirale v odcedne vode.

Koncentracije kovin v odcednih vodah pri primerjavi prvega in zadnjega vzorčenja so bile v večini primerov višje pri prvem vzorčenju. Razlog za to je verjetno v tem, da se je večina kovin iz tal sprala v začetku poskusa. Spiranje kovin iz tal predstavlja nevarnost onesnaženja podtalnice in pitne vode. Za nadzorovanje spiranja lahko tako uporabimo rastline, ki z akumulacijo oziroma vezavo težkih kovin zmanjšajo količino kovin, ki bi se lahko prenesle v podtalnico. Rastline delujejo kot naravne črpalke, saj skozi transpiracijo privzamejo velike

količine vode ter s tem nadzorujejo pretok vode skozi tla (Bolan in sod., 2011). Raziskovanja vpliva zasajanja onesnaženih tal na zmanjšanje onesnažil v odcednih vodah so se lotili že v preteklosti. Barton in sod. (2005) so v svoji raziskavi odlagališče premoga zasadili z dvema vrstama bora (*Pinus taeda* in *Pinus virginiana*). Ugotovili so, da je zasajanje vodilo v zmanjšanje količine odcednih voda zaradi transpiracije.

Vsebnosti kovin, ki so se izločile v odcedne vode, so bile odvisne od vrste substrata, niso pa bile odvisne od vrste podrasti, verjetno zaradi slabše rasti podrasti. Med koncentracijo Zn, Pb in Cd v odcednih vodah in količino odcednih voda je pozitivna korelacija, vendar pa ni bila statistično značilna. Znotraj substratov smo imeli velike variabilnosti podatkov, zaradi česar statističen test v nekaterih primerih ni pokazal razlik med substrati.

5.3 KOVINE V POGANJKIH VRB

V našem poskusu smo uporabili vrbe, ki so se že v številnih poskusih izkazale kot primerne za bioremediacijo. Njeni glavni prednosti sta odpornost na težke kovine in globok koreninski sistem. Najbolj primerne so za bioremediacijo okolij, onesnaženih s kadmijem. Zasajanje z vrbami zmanjša biodostopne oblike Cd, Zn in Pb (Pulford in Watson, 2003). Znotraj različnih vrst vrb obstajajo velike razlike v stopnji transporta kovin iz korenin v poganjke in akumulaciji v posamezni rastlini. V raziskavah uspešnosti bioremediacije je potrebno upoštevati, da je ovrednotenje privzema kadmija v vrbo odvisno od količine nadzemne biomase in koncentracije kovin v listih in poganjkih (Klang-Westin in Eriksson, 2003). Pulford in Watson (2003) sta ugotovila, da se Pb, Cr in Cu običajno imobilizirajo v koreninah, medtem ko se Cd, Ni in Zn navadno transportirajo v poganjke. V našem poskusu je prišlo do akumulacije Cd in Zn v poganjke. Stopnja akumulacije Zn je bila odvisna od vrste substrata.

Koncentracija Pb v poganjkih vrb je bila tako nizka, da ga nismo zaznali. Pb se običajno imobilizira v koreninah, tako da bi bilo mogoče dobro, če bi izmerili še koncentracijo kovin v koreninah. Podrast ni vplival na koncentracije Cd v poganjkih vrb. Pri tretmaju DZ je bilo

največ Zn v poganjkih vrba, kjer je rasla detelja. Rast detelje je tako pripomogla k akumulaciji Zn v poganjke vrba pri substratu DZ.

V naši raziskavi smo izračunali tudi bioakumulacijski faktor, ki kaže uspešnost akumulacije kovine iz substrata pri izbrani vrsti (Ladislav in sod., 2012). Na BAF Zn sta vplivali vrsta substrata in kombinacija vrste substrata in podrasti. BAF Zn je bil najvišji pri substratu DZ, najnižji pa pri CZ 100 %. Iz tega lahko sklepamo, da so velike koncentracije težkih kovin inhibitorno vplivale na akumulacijo Zn v vrbe. Opazili smo, da je na BAF Zn vplivala tudi kombinacija substrata in vrsta podrasti. Najnižje vrednosti BAF Zn pri vseh treh substratih so bile, kjer je rasla detelja. V našem poskusu smo želeli, da se elementi zadržijo v tleh ali koreninah in se ne prenašajo v prehranjevalno verigo s poganjki. Detelja je s svojo rastjo tako vplivala na zmanjšano akumulacijo kovin iz substrata.

5.4 FOTOSINTEZNI PIGMENTI V LISTIH VRB

Koncentracija fotosinteznih pigmentov v listih vrba nam je služila kot pokazateljica odpornosti vrba na onesnaženje tal. Presežki težkih kovin namreč vplivajo na rastlinski metabolizem, še posebej na fotosintezo. Kovinski ioni lahko inhibirajo aktivnost fotosinteznih encimov in biosintezo klorofilov. Kovine vplivajo tudi na membranski sistem kloroplastov in fotosintetski prenos elektronov. Vpliv kovin na fotosintezne reakcije se deli na direkten ali indirekten. Direktno težke kovine vplivajo na redukcijo NADP, fosforilacijo in nastanek kisika. Indirektno težke kovine vplivajo na sintezo in razgradnjo klorofilov, razmerje klorofilov a in b ter tekmovanje z drugimi esencialnimi kovinami (Aggarwal in sod., 2012).

Statistično značilne razlike so bile med različnimi vrstami substrata. Koncentracije klorofila a, klorofila b in karotenoidov, so bile v povprečju najvišje pri substratu DZ, najnižje pa pri CZ 100 %. Onesnaženost substrata je tako negativno vplivala na koncentracije fotosinteznih pigmentov v listih pri izbranem klonu vrbe 'Tordis'. Toleranca vrba na težke kovine v tleh je bila v preteklosti dokazana s strani več raziskovalcev, res pa je, da med vrstami obstaja velika variabilnost v odpornosti (Landberg in Greger, 1996). V našem poskusu je bila toleranca klonov 'Tordis' na težke kovine presežena. Pri vrbah, ki so rasle na substratu CZ 100 %, so bili znaki zastrupitve (kloroze, nekroze) izraženi v največji meri. Znaki zastrupitve so bili v določeni meri izraženi tudi pri CZ 50 %, medtem ko so vrbe na substratu DZ lepo rasle.

V koncentracijah fotosinteznih pigmentov v listih vrba pri primerjavi različnih tipov podrasti nismo opazili trendov. Izjema je koncentracija klorofila b pri merjenju v septembru, kjer smo opazili razlike med deteljo in naravno sukcesijo. Več fotosinteznih pigmentov je bilo pri naravni sukcesiji. Naravna sukcesija je bolj pozitivno vplivala na odpornost vrba.

5.5 PRIRAST IN ŠTEVILO POGANJKOV

Pokazatelj odpornosti na onesnaženost tal sta med drugim tudi prirast in število poganjkov. Punshon in sod. (1995) so raziskovali odpornost vrb na Zn, Cd, Cu in Ni. Ugotovili so, da med in znotraj klonov vrb obstajajo precejšnje razlike v rasti. Največje razlike so bile znotraj klonov na najbolj onesnaženih tleh. Velike razlike v rasti so se pojavile tudi pri vrbah na neonesnaženih tleh. Ravno zaradi teh razlik v rasti se pojavljajo težave pri fitoremediacijskih programih.

Opazili smo razlike v prirasti vrb, ki so rasle na različnih vrstah substrata. Prirast vrb je bila v povprečju najvišja na neonesnaženem substratu, najnižja pa pri substratu CZ 100 %. Težke kovine lahko namreč na močno onesnaženih področjih inhibirajo rast in uspevanje dreves. Sistem, ki omogoča imobilizacijo kovin v koreninah, namreč ne zmore preprečiti prenosa težkih kovin v nadzemne dele (Pulford, 1991).

Povprečno število poganjkov je bilo po pričakovanjih največje pri substratu DZ, najmanjše pa proti pričakovanjem pri CZ 50 %. Pričakovali bi namreč, da bi bilo najmanj novih poganjkov pri CZ 100 %. Greger in Landberg (2001) sta namreč v svoji raziskavi ugotovila, da je bilo pri vrbah, ki so rasle v gojitvenem mediju z visoko količino težkih kovin, manjše število poganjkov kot pri vrbah, ki so rasle na neonesnaženem mediju.

Trstikasta bilnica kot podrast je s svojo rastjo vplivala na zmanjšanje števila poganjkov vrbe, kadar je rasla v najbolj onesnaženem substratu (CZ 100 %), kjer smo izmerili tudi najvišje koncentracije Pb. Poleg kovin bi eden od vzrokov lahko bil tudi v kompeticiji za vodo in minerale, ko so rastline izpostavljene stresu (Miransari, 2011).

5.6 KOLONIZACIJA Z ARBUSKULARNO MIKORIZNIMI GLIVAMI

Arbuskularne glive tvorijo mrežo ekstraradikalnih hif, prek katerih se absorbirajo in transportirajo hranila in kovine (Harrison, 1997). Ekstraradikalne hife absorbirajo nemobilne kovine, kot so P, Zn, Cu, in jih transportirajo v rastlinska tkiva (Karandasov in Bucher, 2004). AM glive tako pomagajo pri vzpostavitvi in preživetju rastlin pri bioremediaciji (Leyval C. in sod., 2002).

V našem poskusu so glive slabo kolonizirale korenine vrb. Splošna intenziteta glivne kolonizacije je odvisna od vrste substrata, ter je najvišja pri substratu DZ. Glive so tako bolje kolonizirale manj onesnaženo tla. Sklepamo, da v onesnaženih tleh že pred poskusom ni bilo gliv oziroma so bili dani pogoji za uspevanje gliv neugodni. Zelo onesnažena področja imajo namreč nizko mikorizno kolonizacijo in manjše število različnih vrst gliv (Gadd, 1993; Hartley in sod., 1997; Leyval in sod., 1997; Markkola in sod., 2002).

Pri koreninah vrb so se v največji meri pojavljali vezikli. Prisotnost veziklov, ki so založne strukture, sovpada s časom vzorčenja korenin (september). Opazili smo, da je gostota veziklov pri koreninah vrb odvisna od vrste podrasti. Gostota veziklov je bila tako najvišja pri DZ, najnižja pa pri CZ 100 %. Gostota veziklov je bila najvišja, kjer je rasla trstikasta bilnica. Iz tega lahko sklepamo, da je prisotnost trstikaste bilnice vplivala na gostoto veziklov pri vrbah. Glive lahko namreč tvorijo hifne mreže, ki med sabo povezujejo rastline. Mikorizne povezave povečajo področje črpanja kovin iz tal, privzem mineralov in vode v rastline ter prenos snovi med rastlinami. Tako lahko pride do stimuliranja kolonizacije rastlin. AM glive delujejo tudi kot filter in s tem preprečujejo akumuliranje strupenih kovin v rastline (Gaur in Adholeya, 2004).

Substrat in podrast nista vplivala na ostale AM parametre. V nekaterih primerih smo opazili veliko variabilnost v kolonizaciji z AM glivami znotraj substratov. Zato bi bilo mogoče primerno, da bi v naslednjih raziskavah uporabili večje število vzorcev.

V našem poskusu smo opazovali glivno kolonizacijo na koreninah podrasti. Ugotovili nismo nobenih razlik v kolonizaciji pri različnih podrasteh in različnih vrstah substrata. Opazovani vzorci podrasti so bili slabo kolonizirani, saj smo glivne strukture opazili le pri 46 % opazovanih korenin podrasti.

6 SKLEPI

- 1) Onesnaženost substrata negativno vpliva na koncentracijo kovin v substratu in poganjkih, koncentracijo kovin v odcednih vodah, vsebnost fotosinteznih pigmentov, prirast vrb ter število poganjkov.
- 2) Zasajanje loncev s trstikasto bilnico in plazečo deteljo ni vplivalo na vsebnost Cd in Zn v odcednih vodah.
- 3) Zasajanje substrata CZ 100 % s trstikasto bilnico je zmanjšalo koncentracijo Pb v substratu.
- 4) Zasajanje substrata DZ s plazečo deteljo je povečalo akumulacijo Zn v poganjke.
- 5) Bioakumulacijski faktor nam je pokazal, da na akumulacijo Zn v poganjke vplivata kombinacija vrste substrata in podrasti.
- 6) Prirast vrb je padala glede na onesnaženost substrata, kar kaže na to, da je bila odpornost uporabljenih klonov na težke kovine presežena.
- 7) Zasajanje substrata CZ 100 % s trstikasto bilnico je vplivalo na zmanjšanje števila poganjkov.
- 8) Onesnaženost substrata negativno vpliva na splošno intenziteto glivne kolonizacije in gostoto veziklov pri koreninah vrb.
- 9) Zasajanje substrata s trstikasto bilnico je povečalo gostoto veziklov pri koreninah vrb.
- 10) Onesnaženost substrata in vrsta podrasti ne vplivata na mikorizacijo korenin podrasti.

11) Za natančnejše ovrednotenje uspešnosti bioremediacije bi morali bolje poznati frakcionacijo kovin v tleh.

7 POVZETEK

Posledice dolgoletnega onesnaževanja okolja so področja, ki so močno onesnažena s težkimi kovinami. Te se lahko razširijo tudi v odcedne vode, s čimer se onesnaženje širi na neonesnažena področja. Okolja, onesnažena s težkimi kovinami, so neprimerna za rast rastlin, s čimer se spremeni biodiverziteta. Težke kovine lahko negativno delujejo tudi na zdravje ljudi in živali.

V našem poskusu nas je zanimal vpliv določene podrasti klonov vrbe *Salix* spp. na koncentracije kovin v tleh, odcednih vodah ter rastlinah. Želeli smo tudi določiti, katera podrast bi bila najprimernejša za bioremediacijo. Opazovali smo stopnjo glivne kolonizacije koreninskega sistema.

Klone vrb smo gojili na prostem v lončkih, v katerih je bila družmirska (DZ), cinkarniška zemlja (CZ 100 %) ali razredčena zemlja (CZ 50 %). Odcedne vode smo vzorčili mesečno tekom dveh rastnih sezont. Nato smo z atomsko absorpcijsko spektroskopijo (AAS) izmerili koncentracijo Cd, Zn in Pb v odcednih vodah, poganjkih vrb in substratu. Vsak mesec smo vzorčili tudi liste vrb, ki smo jim nato izmerili koncentracijo fotosinteznih pigmentov. Mesečno smo merili tudi višino vrb ter dolžino, obseg in število poganjkov. Ocenili smo stopnjo kolonizacije koreninskega sistema.

Rezultati so pokazali, da onesnaženost substrata negativno vpliva na koncentracijo kovin v substratu in poganjkih vrb, koncentracijo kovin v odcednih vodah, vsebnost fotosinteznih pigmentov, prirast vrb ter število poganjkov. Zasajanje loncev s trstikasto bilnico in plazečo deteljo ni vplivalo na koncentracije Cd in Zn v odcednih vodah. Zasajanje substrata DZ z deteljo je povečalo akumulacijo Zn v poganjke vrb. Zasajanje substrata CZ 100 % s trstikasto bilnico je vplivalo na zmanjšanje števila poganjkov pri vrbah. Onesnaženost substrata negativno vpliva na splošno intenziteto glivne kolonizacije. Onesnaženost substrata in zasajanje s trstikasto bilnico vplivata na gostoto veziklov pri koreninah vrb.

Zasajanje s trstikasto bilnico in plazečo deteljo v tej raziskavi ni povečalo uspešnosti fitoremediacije tal, onesnaženih s Cd, Zn in Pb. V prihodnjih poskusih bi bilo zaželeno, da bi opravili pedološke analize tal, ki bi nam več povedale o biodostopnosti kovin.

8 VIRI

- Adriano D. C. 1986. Trace Elements in Terrestrial Environments. 1. izd. Berlin, Springer: 533 str.
- Aggarwal A., Sharma I., Tripathi B. N., Munjal A. K., Baunthiyal M., Sharma V. 2012. Metal Toxicity and Photosynthesis. V: Photosynthesis: Overviews on Recent Progress & Future Perspectiv. Itoh S., Mohant. P., Guruprasad K. N. (ur.). New Delhi, I.K. International Publishing House: 229–236
- Alford E. R., Pilon-Smits E. A. H., Paschke M. W. 2010. Metallophytes – a view from the rhizosphere. Plant and Soil, 337: 33–50
- Ali H., Khan E., Sajad M. A. 2013. Phytoremediation of heavy metals - concepts and applications. Chemosphere, 91: 869–881
- Ali M. B., Vajpayee P., Tripathi R. D., Rai U. N., Singh S. N., Singh S. P. 2003. Phytoremediation of Lead, Nikel, and Copper by *Salix acmophylla* Boiss: Role of antioxidant enzymes and antioxidant substances. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 70: 462–469
- Babula P., Adam V., Opatrilova R., Zehnalek J., Havel L., Kizek R. 2008. Uncommon heavy metals, metalloids and their plant toxicity: a review. Environmetal Chemistry Letters, 6:189–213
- Baker A. J. M., Walker P. L. 1990. Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. V: Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects. Shaw J. (ur.), Florida, CRC Press: 155–177
- Barea J. M., Jeffries P. 1995. Arbuscular mycorrhizas in sustainable soil plant systems. V: Mycorrhiza: Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology. Hock, B., Varma A. (ur.). Heidelberg, Springer: 521–559
- Barton C., Marx D., Adriano D. C., Koo B. J., Newman L., Czapka S., Blake J. 2005. Phyzostabilization of a landfill containing coal combustion waste. Environmetal Geology, 12: 251–265
- Begonia M. F. T., Begonia G. B., Igboavodha M., Okuyiga-Ezem O., Crudup B. 2001. Chelate-induced phytoextraction of lead from contaminated soils using tall fescue (*Festuca arundinacea*). Journal of the Mississippi Academy of Sciences, 46, 1: 15
- Ben Rebah F., Prevost D., Tyagi R.D. 2002. Growth of alfalfa in suldgeamended soils and inoculated with rhizobia produced in suldge. Journal of Environmetal Quality, 31: 1339–1348
- Bidar G., Garçon G., Pruvot C., Dewaele D., Cazier F., Douay F., Shirali P. 2007. Behaviour of *Trifolium repens* and *Lolium perenne* growing in a heavy metal contaminated field: Plant metal concentration and phytotoxicity. Environmetal Pollution, 147: 546–553

- Bolan N. S., Park J. H., Robinson B., Naidu R., Huh K. Y. 2011. Phytostabilization: A Green Approach to Contaminant Containment. *Advances in Agronomy*, 112: 145–204
- Bronick C. J., Lal R. 2005. Soil structure and management: A review. *Geoderma*, 124: 3–22
- Broos K., Uyttebroek M., Mertens J., Smolders E. 2004. A survey of symbiotic nitrogen fixation by white clover grown on metal contaminated soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 36: 633–640
- Chang H. B., Lin C. W., Huang H. J. 2005. Zinc-induced cell death in rice (*Oryza sativa* L.) roots. *Plant Growth Regulation*, 46: 261–266
- Clothier B. E., Green S. R. 1997. Roots: The big movers of water and chemical in soil. *Soil Science*, 162: 534–543
- DalCorso G. 2012. Heavy metal Toxicity in Plants. V: Plants and Heavy Metals. Furini A. (ur.). London, Springer: 1–19
- DalCorso G., Farinati S., Furini A. 2010. Regulatory networks of cadmium stress in plants. *Plant Signaling & Behaviour*, 5: 663–667
- Danh L.T., Truong P., Mammucari R., Tran T., Foster N. 2009. Vetiver grass, *Vetiveria zizanioides*. A choice plant for phytoremediation of heavy metals and organic wastes. *International Journal of Phytoremediation*, 11: 664–691
- Dehn B., Schuepp H. 1989. Influence of VA mycorrhizae on the uptake and distribution of heavy metals in plants. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 29: 79–83
- Dimitrova I., Aronsson P. 2005. Willows for energy and phytoremediation in Sweden. *Unasylva*, 56: 46–50
- Evangelou M. W. H., Ebel M., Schaeffer A. 2006. Evaluation of the effect of small organic acids on phytoextraction of Cu and Pb from soil with tobacco *Nicotiana tabacum*. *Chemosphere*, 63: 996–1004
- Felix H. 1997. Field trials of the in situ decontamination of heavy metal polluted soils using crops of metal accumulating plants. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, 160: 525–529
- Frey B., Stemmer M., Widmer F., Luster J., Sperisen C. 2006. Microbial activity and community structure of a soil after heavy metal contamination in a model forest ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry*, 38: 1745–1756

- Gaur A., Adholeya A. 2004. Prospects of arbuscular mychorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Current Science*, 86: 528–534
- Gadd G. M. 1993. Interaction of fungi with toxic metals. *New Phytologist*, 124: 25–60
- Gawronski S. W., Grener M., Gawronska H. 2011. Plant Taxonomy and Metal Phytoremediation. V: Detoxification of Heavy Metals. Sherameti I., Varma A. (ur.). Berlin, Springer: 91–109
- Geebelen W., Adriano D.C., Van der Leile D., Mench M., Carleer R., Clijsters H., Vangronsveld J. 2003. Selected bioavailability assays to test the efficacy of amendment-induced immobilization of lead in soils. *Plant Soil*, 249: 217–228
- Gonzalez-Guerrero M., Cano C., Azcon-Aguilar C., Ferrol N. 2007. GintMT1 encodes a functional metallothionein in *Glomus intraradices* that responds to oxidative stress. *Mycorrhiza*, 17: 327–335
- Greger M., Landberg T. 2001. Tolerance to and uptake of metals in different clones of *Salix viminalis* grown in wastewater V: Salix clones with different properties to accumulate heavy metals for production of biomass. Greger M., Landberg T., Berg B. (ur.). Debru, Akademityck AB: 28–37
- Greipsson S. 2011. Phytoremediation. *Nature Education Knowledge*, 2: 7
- Hartley J., Cairney J. W. G., Meharg A. 1997. Do ectomycorrhizal fungi exhibit adaptive tolerance to potentially toxic metals in the environment?. *Plant and Soil*, 189: 303–319
- Henry J. R. 2000. An Overview of Phytoremediation of Lead and Mercury. The National Network for Environmental Management Studies Fellowship, Washington: 3–9
- Karandasov V., Bucher M. 2005. Symbiotic phosphate transport and arbuscular mycorrhizas. *Trends in Plant Science*, 10: 22–29
- Kayser A., Vegner K., Keller A., Attinger W., Felix H. R., Gupta S. K., Schulin R. 2000. Enhancement of phytoextraction of Zn, Cd and Cu from calcareous soil: the use NTA and sulfur amendments. *Environmetal Science Technology*, 34: 1778–1783
- Khan S., Hesham A. E. L., Qiao M., Rehman I., He J. Z. 2010. Effect of Cd and Pb on soil microbial community structure and activities. *Environmental Science and Pollution Research*, 17: 288–296
- Klang-Westin E., Eriksson J. 2003. Potential of *Salix* as phytoextractor for Cd on moderately contaminated soils. *Plant and Soil*, 249: 127–137

- Kłos A., Czora M., Rajfur M., Waclawek M. 2012. Mechanisms for translocations of heavy metals from soil to epigeal mosses. *Water, Air & Soil Pollution*, 222: 1829–1836
- Krämer U., Cotter-Howells J., Charnock J., Baker A., Smith J. 1996. Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. *Nature*, 379: 635–638
- Krzyzak J., Lane T., Czerwinska A. 2006. The Potential Use of *Festuca* Cultivars and Lignite for phytostabilization of Heavy Metal Polluted Soils. V: Chemicals as Intentional and Accidental Global Environmental Threats. Simeonov L., Chirila E. (ur.). Borowetz, Springer: 367–374
- La Rocca N., Andreoli C., Giacometti G. M., Rascio N., Moro I. 2009. Responses of the Antarctic microalga *Koliella antartica* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) to cadmium contamination. *Photosynthetica*, 47: 471–479
- Leyval C., Turnau K., Haselwandter K. 1997. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza*, 7: 139–153
- Ladislas S., El Mufleh A., Gerente C., Chazarenc F., Andres Y., Bechet B. 2012. Potential of Aquatic Macrophytes as Bioindicators of Heavy Metal Pollution in Urban Stormwater Runoff. *Water, Air & Soil Pollution*, 223: 877–888
- Landberg T., Greger M. 1996. Differences in uptake and tolerance to heavy metals in *Salix* from unpolluted and polluted areas. *Applied Geochemistry*, 11:175–180
- Leštan D., 2002. Ekopedologija, študijsko gradivo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za pedologijo in varstvo okolja: 268 str.
- Leyval C., Del Val C., Haselwandter K. 2002. Potential of arbuscular mycorrhizal fungi for bioremediation. *Mycorrhizal Technology in Agriculture*: 175–186
- Lodge D. J. 1989. The influence of soil moisture and flooding on formation of VA-, endo- and ectomycorrhizae in *Populus* and *Salix*. *Plant and Soil*, 117: 255–262
- Maček I., Vodnik D. 2005. Glomalin, lepilo strukturnih agregatov in pomembna sestavina organske snovi tal. *Proteus*, 67, 6: 244–251
- Markkola A. M., Ahonen J. U., Roitto M., Strommer R., Hyvarinen M. 2002. Shift in ectomycorrhizal community composition in Scots pine (*Pinus sylvestris L.*) seedling roots as a response to nickel deposition and removal of lichen cover. *Environmental Pollution*, 120: 797–803

- McCalum M. H., Kirkegaard J. A., Green T. W., Creswell H. P., Davies S. L., Angus J. F., Peoples M. B. 2004. Improved subsoil macroporosity following perennial pastures. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 44: 299–307
- McElroy G. H., Dawson W. M. 1986. Biomass from short-rotation coppice willow on marginal land. *Biomass*, 10: 225–240
- Mench M., Schwitzguebel J. P., Schroeder P., Bert V., Gawronski S., Gupta S. 2009. Assessment of successful experiments and limitations od phytotechnologies: contaminant uptake, detoxification and sequestration, and consequences for food safety. *Environmental Science and Pollution Research*, 16: 876–900
- Miransari M. 2011. Hyperaccumulators, arbuscular mycorrhizal fungi and stress of heavy metals. *Biotechnology Advances*, 29: 645–653
- Nriagu J.O. 1996. A history of global metal pollution. *Science*, 272: 223–224
- Obbard J. P., Jones K. C., 2001. Measurement of symbiotic nitrogen fixation in leguminous host-plants grown in heavy metal-contaminated soils amended with sewage sludge: Environmetal Pollution, 111: 311–320
- Pagliano C. 2006. Evidence for PSII-donor side damage adn photoinhibition induced by cadmium treatment on rice (*Oryza sativa* L.). *The Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 84: 70–78
- Perttu K. L., Kowalik P. J. 1997. *Salix* vegetation filters for purification of waters and soils. *Biomass Bioenergy*, 12: 9–19
- Philips J. M., Hayman D. S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular – arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection. *Transaction of the British Mycological Society*, 55: 158–160
- Prasad M. N. V. 2003. Phytoremediation of metal- polluted ecosystem: hype for commercialization. *Russion Journal of Plant Physiology*, 50: 686–700
- Pulford I. D. 1991. Nutrient provision and cycling in soils in urban areas. V: Soils in the urban environment. Bullock P., Gregory P. J. (ur.). Oxford, Blackwell: 119–138
- Pulford I. D., Riddell-Black D., Stewart C. 2002. Heavy metal uptake by willow clones from sewage sludge-treated soil: the potential for phytoremediation. *International Journal of Phytoremediation*, 4: 59–72
- Pulford I. D., Watson C. 2003. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees - a review. *Environment International*, 103: 91–101

- Punshon T., Lepp N. W., Dickinson N. M. 1995. Resistance to copper toxicity in some British willows. *Journal of Geochemical Exploration*, 52: 259–266
- Rascio N., Navari – Izzo F. 2011. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why they do it? And what makes them so interesting. *Plant Science*, 180: 169–181
- Rajh E. 2011. Uporaba atomske spektroskopije v farmacevtski industriji. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo: 45 str.
http://abra.fkkt.uni-lj.si/pihlar/NPAK2011/NPAK2011_ERajh.pdf (oktober 2013)
- Rillig M. C., Steinberg P. D. 2002. Glomalin production by an arbuscular mycorrhizal fungus: a mechanism of habitat modification. *Soil Biology & Biochemistry*, 34: 1371–1374
- Ross S. M. 1994. Toxic Metals in Soil Plant System. New York, John Wiley and Sons: 496 str.
- Sander M. L., Ericsson T. 1998. Vertical distributions of plant nutrients and heavy metals in *Salix viminalis* stems and their implications for sampling. *Biomass Bioenergy*, 14: 57–66
- Shao H.B., Chu Li-Ye, Ni T. F., Guo D. G., Li H., Li W. X. 2010. Perspective on Phytoremediation for Improving Heavy Metal-Contaminated Soils. V: Plant Adaptation and Phytoremediation. Ashraf M., Ozturk M., Ahmad M. S. A. (ur.). Dordrecht, Springer: 227–244
- Steinberg P. D., Rillig M. C. 2003. Differential decomposition of arbuscular mycorrhizal fungal hyphae and glomalin. *Soil Biology & Biochemistry*, 35: 191–194
- Stott K. G. 1992. Willows in the service of man. V Willow Symposium. Proceedings of The Royal Society of Edinburgh. Watling R., J. A. Raven J. A (ur.). Edinburgh, The Royal Society of Edinburgh, 98: 169–182
- Strobel B. W. 2001. Influence of vegetation on low-molecular-weight carboxylic acids in soil solution – a review. *Geoderma*, 99: 169–198
- Suresh B., Ravishankar G. A. 2004. Phytoremediation-a novel and promising approach for environmental clean-up. *Critical Reviews in Biotechnology*, 24: 97–124
- Tessier A., Campbell P. G. C., Bisson M. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analitical Chemistry*, 51, 7: 844–851
- Uredba o mejnih, opozorilnih in kritičnih imisijskih vrednostih nevarnih snovi v tleh. 1996. Ur. L. RS, št. 68/1996
- Vangronsveld J., Herzig R., Weyens N., Boulet J., Adriaensen K., Ruttens A., Thewys T., Vassilev A., Meers E., Nehnevajova E., van der Lelie D., Mench M. 2009. Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field. *Environmetal Science and Pollution Research*, 16, 7: 765–794

Vangrosveld J., Van Assche F., Clijsters H. 1991. Reclamation of a desert like site in the North East of Belgium: Evolution of the metal pollution and experiments in situ. V: International Conference on heavy metal in the environment. Farine J. G. (ur.). Edinburg, CEP Consultants: 58–91

Vivas A., Marulanda A., Gómez M., Barea J. M., Azcón R. 2003. Physiological characteristics (SDH and ALP activities) of arbuscular mycorrhizal colonization as affected by *Bacillus thuringiensis* inoculation under two phosphorus levels. *Soil Biology & Biochemistry*, 35: 987–996

Zhu Y. G., Christie P., Laidlaw A. S. 2001. Uptake of Zn by arbuscular mycorrhizal white clover from Zn-contaminated soil. *Chemosphere*, 42: 193–199

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem prof. dr. Marjani Regvar za mentorstvo, strokovno usmerjanje in svetovanje med nastajanjem magistrskega dela.

Doc. dr. Matevžu Likarju se zahvaljujem za pomoč in vodenje med praktičnim delom.

Zahvaljujem se tudi prof. dr. Dominiku Vodniku za pregled naloge.

Zahvaljujem se tudi gospe Ireni Podgoršek in gospe Nives Vrbič Kugonič za idejo in pomoč pri poskusu. Hvala tudi inštitutu ERICo in podjetju PV Invest d. o. o. za pomoč pri izvedbi poskusa.

Iskrena hvala tudi mojim staršem in bratu, ki so mi omogočili študij ter mi stali ob strani.

Zahvaljujem se tudi Bojanu za podporo skozi celoten študij.

Najlepša hvala tudi prijateljem in sošolcem.

PRILOGE

Priloga A: Mejne, opozorilne in kritične imisijske vrednosti snovi v tleh
(Ur. l. RS, št. 68/1996)

Nevarna snov	Mejna vrednost (mg/kg suhih tal)	Opozorilna vrednost (mg/kg suhih tal)	Kritična vrednost (mg/kg suhih tal)
Kadmij in njegove spojine, izražene kot Cd	1	2	12
Cink in njegove spojine, izražene kot Zn	200	300	720
Svinec in njegove spojine, izražene kot Pb	85	100	530

Priloga B: Koncentracija kovin v substratu po poskusu

Vzorec	Substrat	Cd ($\mu\text{g/g}$)	Srednje vrednosti Cd ($\mu\text{g/g}$)	Zn ($\mu\text{g/g}$)	Srednje vrednosti Zn ($\mu\text{g/g}$)	Pb ($\mu\text{g/g}$)	Srednje vrednosti Pb ($\mu\text{g/g}$)
D1	DZ	0,12	0,116	8,43	2,233	0,247	0,065
D2	DZ	0,09		1,38		0,067	
D3	DZ	0,09		2,67		0,06	
D4	DZ	0,09		2,58		0,058	
D5	DZ	0,13		3,16		0,076	
D6	DZ	0,12		1,01		0,025	
D7	DZ	0,11		1,13		0,042	
D8	DZ	0,1		1,55		0,023	
D9	DZ	0,11		0,6		0,04	
D10	DZ	0,11		1,08		0,044	
D11	DZ	0,11		0,97		0,02	
D12	DZ	0,21		2,99		0,079	
R1	CZ 50 %	0,85	1,675	33,05	71,400	7,637	21,868
R2	CZ 50 %	1,4		76,7		16,64	
R3	CZ 50 %	1,1		45,2		9,842	
R4	CZ 50 %	2		89		21,64	
R5	CZ 50 %	1,75		60,65		15,32	
R6	CZ 50 %	2,45		74		24,46	
R7	CZ 50 %	1,8		69,55		20,08	
R8	CZ 50 %	1,75		77,85		14,41	
R9	CZ 50 %	2,15		88,5		29,57	
R10	CZ 50 %	1,7		90,25		19,73	
R11	CZ 50 %	1,3		74,75		16,99	
R12	CZ 50 %	1,85		77,3		66,1	
C1	CZ 100 %	3,4	3,025	126,7	119,142	43,2	37,480
C2	CZ 100 %	3,1		119,8		32,76	
C3	CZ 100 %	3,3		117,9		37,87	
C4	CZ 100 %	3		115,1		39,8	
C5	CZ 100 %	2,9		103,3		32,75	
C6	CZ 100 %	3,1		138,2		42,32	
C7	CZ 100 %	3,2		136,3		40,43	
C8	CZ 100 %	3,2		103,9		33,33	
C9	CZ 100 %	3,1		99,9		30,34	
C10	CZ 100 %	2,6		125		42,97	
C11	CZ 100 %	2,8		107,9		29,52	
C12	CZ 100 %	2,6		135,7		44,47	

Priloga C: Gostota tal v substratu

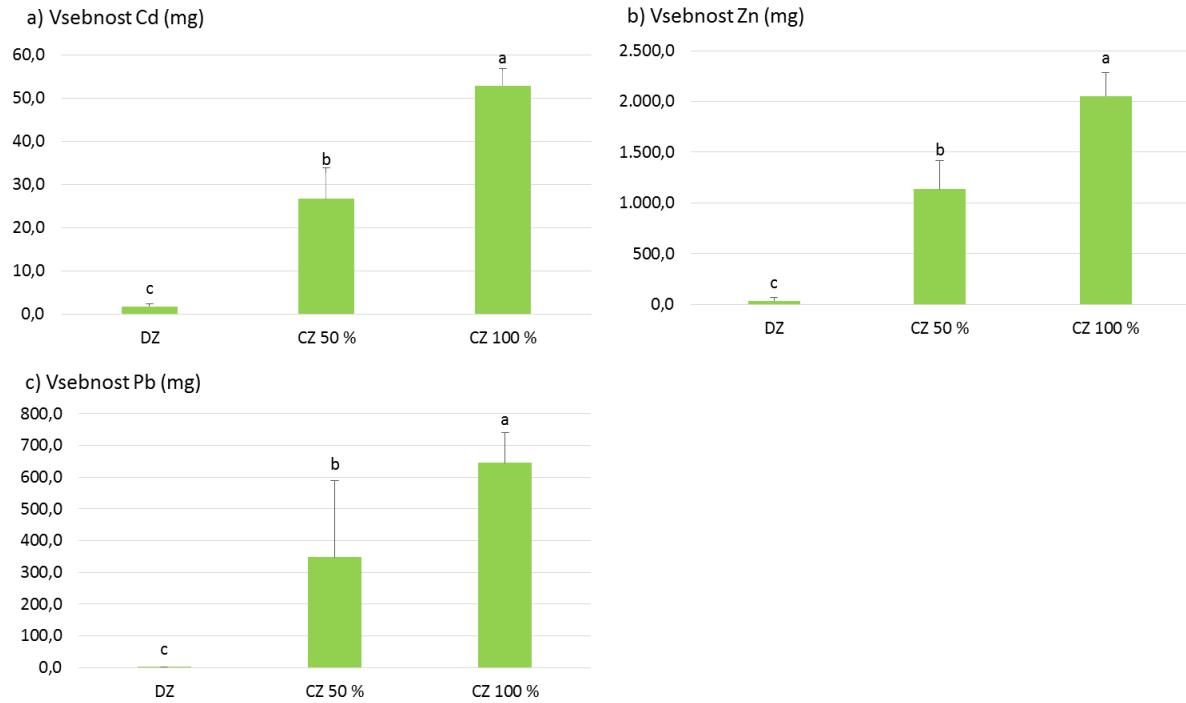
Substrat	Gostota tal (g/cm ³)
DZ	1,03
CZ 50 %	1,06
CZ 100 %	1,15

Priloga D: Vsebnost kovin v substratu po poskusu

Vzorec	Substrat	Cd (mg)	Zn (mg)	Pb (mg)
D1	DZ	1,86	130,63	3,83
D2	DZ	1,39	21,38	1,04
D3	DZ	1,39	41,37	0,93
D4	DZ	1,39	39,98	0,90
D5	DZ	2,01	48,97	1,18
D6	DZ	1,86	15,65	0,39
D7	DZ	1,70	17,51	0,65
D8	DZ	1,55	24,02	0,36
D9	DZ	1,70	9,30	0,62
D10	DZ	1,70	16,74	0,68
D11	DZ	1,70	15,03	0,31
D12	DZ	3,25	46,33	1,22
R1	CZ 50 %	13,52	525,70	121,48
R2	CZ 50 %	22,27	1220,01	264,68
R3	CZ 50 %	17,50	718,96	156,55
R4	CZ 50 %	31,81	1415,66	344,21
R5	CZ 50 %	27,84	964,72	243,68
R6	CZ 50 %	38,97	1177,07	389,07
R7	CZ 50 %	28,63	1106,28	319,40
R8	CZ 50 %	27,84	1238,31	229,21
R9	CZ 50 %	34,20	1407,71	470,35
R10	CZ 50 %	27,04	1435,54	313,83
R11	CZ 50 %	20,68	1189,00	270,25
R12	CZ 50 %	29,43	1229,56	1051,41
C1	CZ 100 %	58,60	2183,64	744,54
C2	CZ 100 %	53,43	2064,72	564,61
C3	CZ 100 %	56,87	2031,97	652,68
C4	CZ 100 %	51,70	1983,71	685,94
C5	CZ 100 %	49,98	1780,34	564,44
C6	CZ 100 %	53,43	2381,84	729,37
C7	CZ 100 %	55,15	2349,09	696,80
C8	CZ 100 %	55,15	1790,69	574,43
C9	CZ 100 %	53,43	1721,75	522,90
C10	CZ 100 %	44,81	2154,34	740,58
C11	CZ 100 %	48,26	1859,62	508,77
C12	CZ 100 %	44,81	2338,75	766,43

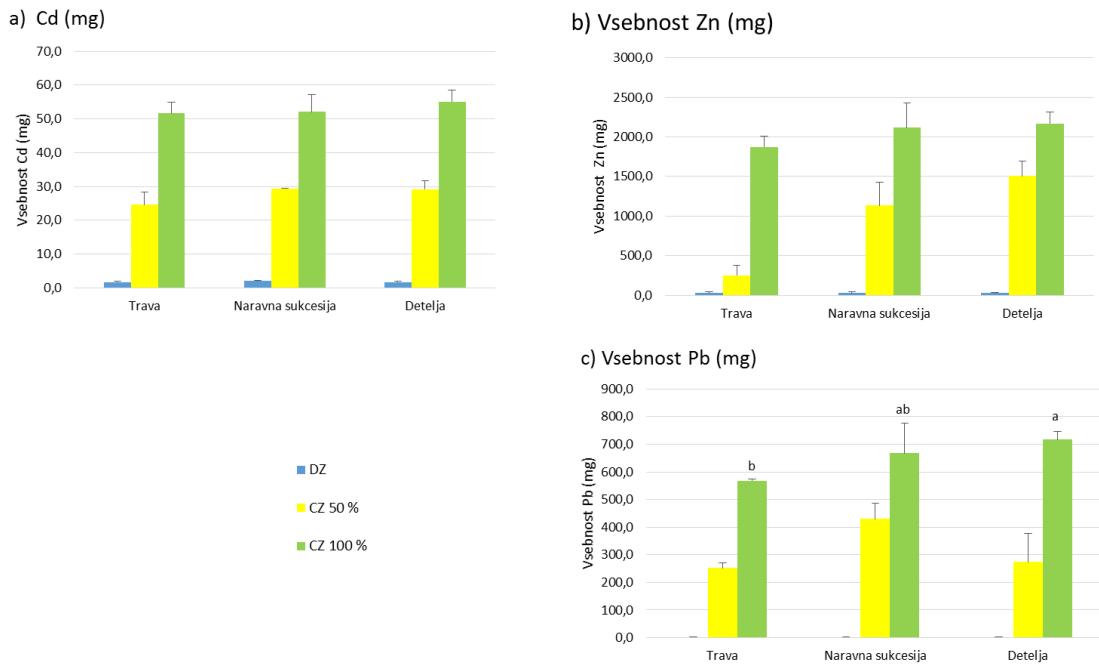
Priloga E: Vsebnost Cd, Zn in Pb v substratu po koncu poskusa

Povprečje ± standardna napaka, N = 12. Različne črte nad stolpcem označujejo statistično značilno razliko med posameznimi substrati (enosmerna ANOVA, Holm-Sidak posthoc test, p < 0,05).



Priloga F: Vsebnost kovin v substratih po podrasteh

Povprečje ± standardna napaka, N = 4. Različne črte nad stolpcji označujejo statistično značilno razliko med posameznimi podrastmi (enosmerna ANOVA, Holm-Sidak posthoc test, $p < 0$).



Priloga G: Koncentracija kovin v odcednih vodah

Datum vzorčenja	Substrat	Vzorec	Količina (ml)	Cd (mg/l)	Zn (mg/l)	Pb (mg/l)
28. 5. 2012	DZ	D1	1100	0	0,811	0
28. 5. 2012	DZ	D2	4000	0	0,550	0
28. 5. 2012	DZ	D3	1200	0	0,604	0
28. 5. 2012	DZ	D4	1200	0	0,663	0
28. 5. 2012	DZ	D5	0	/	/	/
28. 5. 2012	DZ	D6	1025	0	0,344	0
28. 5. 2012	DZ	D7	1245	0	0,233	0
28. 5. 2012	DZ	D8	460	0	0,278	0
28. 5. 2012	DZ	D9	760	0	0,302	0
28. 5. 2012	DZ	D10	780	0	0,289	0
28. 5. 2012	DZ	D11	940	0	0,230	0
28. 5. 2012	DZ	D12	1140	0	0,290	0
5. 7. 2012	DZ	D1	3340	0	0,227	0
5. 7. 2012	DZ	D2	2000	0	0,422	0
5. 7. 2012	DZ	D3	850	0	0,316	0
5. 7. 2012	DZ	D4	760	0	0,308	0
5. 7. 2012	DZ	D5	0	/	/	/
5. 7. 2012	DZ	D6	630	0	0,269	0
5. 7. 2012	DZ	D7	970	0	0,234	0
5. 7. 2012	DZ	D8	1630	0	0,231	0
5. 7. 2012	DZ	D9	1160	0	0,225	0
5. 7. 2012	DZ	D10	1530	0	0,348	0
5. 7. 2012	DZ	D11	2100	0	0,222	0
5. 7. 2012	DZ	D12	1680	0	0,255	0
9. 8. 2012	DZ	D1	2100	0	0,276	0
9. 8. 2012	DZ	D2	1200	0	0,163	0
9. 8. 2012	DZ	D3	2750	0	0,316	0
9. 8. 2012	DZ	D4	520	0	0,234	0
9. 8. 2012	DZ	D5	0	/	/	/
9. 8. 2012	DZ	D6	2240	0	0,145	0
9. 8. 2012	DZ	D7	2510	0	0,145	0
9. 8. 2012	DZ	D8	1760	0	0,129	0
9. 8. 2012	DZ	D9	200	0	0,271	0
9. 8. 2012	DZ	D10	1890	0	0,293	0
9. 8. 2012	DZ	D11	540	0	0,123	0
9. 8. 2012	DZ	D12	1920	0	0,125	0
18. 9. 2012	DZ	D1	4040	0,003	0,251	0
18. 9. 2012	DZ	D2	3610	0,002	0,246	0
18. 9. 2012	DZ	D3	4230	0,001	0,157	0
18. 9. 2012	DZ	D4	930	0,001	0,146	0
18. 9. 2012	DZ	D5	4460	0,001	0,099	0
18. 9. 2012	DZ	D6	4700	0	0,103	0
18. 9. 2012	DZ	D7	2230	0,001	0,158	0
18. 9. 2012	DZ	D8	3580	0,001	0,077	0
18. 9. 2012	DZ	D9	1280	0,001	0,139	0
18. 9. 2012	DZ	D10	4600	0	0,107	0
18. 9. 2012	DZ	D11	3700	0	0,144	0
18. 9. 2012	DZ	D12	4600	0,001	0,083	0

Se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice Koncentracija kovin v odcednih vodah

Datum vzorčenja	Substrat	Vzorec	Količina (ml)	Cd (mg/l)	Zn (mg/l)	Pb (mg/l)
28. 5. 2012	CZ 50 %	R1	0	/	/	/
28. 5. 2012	CZ 50 %	R10	760	0,060	4,092	0,111
28. 5. 2012	CZ 50 %	R11	180	0,182		1,350
28. 5. 2012	CZ 50 %	R12	1280	0,062	4,888	0,091
28. 5. 2012	CZ 50 %	R2	0	/	/	/
28. 5. 2012	CZ 50 %	R3	0	/	/	/
28. 5. 2012	CZ 50 %	R4	145	0,203	4,787	0,883
28. 5. 2012	CZ 50 %	R5	0	/	/	/
28. 5. 2012	CZ 50 %	R6	0	/	/	/
28. 5. 2012	CZ 50 %	R7	620	0,087	5,166	0,274
28. 5. 2012	CZ 50 %	R8	0	/	/	/
28. 5. 2012	CZ 50 %	R9	520	0,081	4,859	0,033
28. 5. 2012	CZ 50 %	R10	760	0,060	4,092	0,111
28. 5. 2012	CZ 50 %	R11	180	0,182		1,350
28. 5. 2012	CZ 50 %	R12	1280	0,062	4,888	0,091
5. 7. 2012	CZ 50 %	R1	90	0,282		2,840
5. 7. 2012	CZ 50 %	R2	690	0,035	3,489	0,036
5. 7. 2012	CZ 50 %	R3	390	0,034	4,685	0,140
5. 7. 2012	CZ 50 %	R4	60	/	/	/
5. 7. 2012	CZ 50 %	R5	980	0,013	3,115	0,068
5. 7. 2012	CZ 50 %	R6	1000	0,032	3,627	0,000
5. 7. 2012	CZ 50 %	R7	490	0,050	5,534	0,232
5. 7. 2012	CZ 50 %	R8	1400	0,025	3,824	0,019
5. 7. 2012	CZ 50 %	R9	700	/	/	/
5. 7. 2012	CZ 50 %	R10	550	0,035	6,427	0,403
5. 7. 2012	CZ 50 %	R11	650	0,036	3,806	0,010
5. 7. 2012	CZ 50 %	R12	670	0,017	3,226	0,000
9. 8. 2012	CZ 50 %	R1	60	0,025	2,946	0
9. 8. 2012	CZ 50 %	R2	900	0,054	2,450	0
9. 8. 2012	CZ 50 %	R3	1000	0,042	2,130	0
9. 8. 2012	CZ 50 %	R4	480	0,039	2,410	0
9. 8. 2012	CZ 50 %	R5	390	0,038	3,410	0
9. 8. 2012	CZ 50 %	R6	1020	0,05	2,450	0
9. 8. 2012	CZ 50 %	R7	850	0,068	3,150	0
9. 8. 2012	CZ 50 %	R8	3000	0,052	3,950	0
9. 8. 2012	CZ 50 %	R9	1920	0,082	3,950	0
9. 8. 2012	CZ 50 %	R10	0	/	/	0
9. 8. 2012	CZ 50 %	R11	1050	0,059	2,870	0
9. 8. 2012	CZ 50 %	R12	810	0,028	2,110	0
18. 9. 2012	CZ 50 %	R1	3050	0,059	3,351	0
18. 9. 2012	CZ 50 %	R2	4580	0,073	4,011	0
18. 9. 2012	CZ 50 %	R3	4430	0,055	2,874	0
18. 9. 2012	CZ 50 %	R4	4210	0,075	3,782	0
18. 9. 2012	CZ 50 %	R5	4070	0,072	4,906	0
18. 9. 2012	CZ 50 %	R6	4360	0,076	4,522	0
18. 9. 2012	CZ 50 %	R7	3650	0,073	4,408	0
18. 9. 2012	CZ 50 %	R8	4040	0,085	/	0
18. 9. 2012	CZ 50 %	R9	4230	0,077	4,483	0
18. 9. 2012	CZ 50 %	R10	4000	0,052	2,581	0
18. 9. 2012	CZ 50 %	R11	4250	0,081	4,372	0
18. 9. 2012	CZ 50 %	R12	3950	0,048	2,424	0

Se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice Koncentracija kovin v odcednih vodah

Datum vzorčenja	Substrat	Vzorec	Količina (ml)	Cd (mg/l)	Zn (mg/l)	Pb (mg/l)
28. 5. 2012	CZ 100 %	C1	2640	0,174	/	0,491
28. 5. 2012	CZ 100 %	C2	1990	0,117	6,249	0,016
28. 5. 2012	CZ 100 %	C3	2900	0,171	9,572	0,168
28. 5. 2012	CZ 100 %	C4	860	0,105	5,378	1,550
28. 5. 2012	CZ 100 %	C5	1300	0,060	8,536	0,074
28. 5. 2012	CZ 100 %	C6	2160	0,123	6,677	0,061
28. 5. 2012	CZ 100 %	C7	3360	0,094	/	0,066
28. 5. 2012	CZ 100 %	C8	0	/	/	/
28. 5. 2012	CZ 100 %	C9	2480	0,145	5,358	0,121
28. 5. 2012	CZ 100 %	C10	0	/	/	/
28. 5. 2012	CZ 100 %	C11	880	0,071	/	0,092
28. 5. 2012	CZ 100 %	C12	0	/	/	/
5. 7. 2012	CZ 100 %	C1	4140	0,104	5,991	0,000
5. 7. 2012	CZ 100 %	C2	3180	0,090	5,042	0,000
5. 7. 2012	CZ 100 %	C3	3810	0,109	5,782	0,000
5. 7. 2012	CZ 100 %	C4	1150	0,036	3,912	0,150
5. 7. 2012	CZ 100 %	C5	1670	0,017	5,927	0,388
5. 7. 2012	CZ 100 %	C6	3460	0,080	6,571	0,018
5. 7. 2012	CZ 100 %	C7	4250	0,104	4,879	0,013
5. 7. 2012	CZ 100 %	C8	0	/	/	/
5. 7. 2012	CZ 100 %	C9	2060	0,125	7,000	0,000
5. 7. 2012	CZ 100 %	C10	0	0,164	/	4,480
5. 7. 2012	CZ 100 %	C11	1840	0,092	4,438	0,014
5. 7. 2012	CZ 100 %	C12	2000	0,038	3,141	0,000
9. 8. 2012	CZ 100 %	C1	1820	0,126	2,150	0
9. 8. 2012	CZ 100 %	C2	3260	0,078	3,630	0
9. 8. 2012	CZ 100 %	C3	3600		5,330	0
9. 8. 2012	CZ 100 %	C4	990	0,04	4,400	0
9. 8. 2012	CZ 100 %	C5	2910	0,064	3,950	0
9. 8. 2012	CZ 100 %	C6	2760	0,058	4,390	0
9. 8. 2012	CZ 100 %	C7	3770	0,086	4,660	0
9. 8. 2012	CZ 100 %	C8	0	/	/	0
9. 8. 2012	CZ 100 %	C9	2070	0,085	6,510	0
9. 8. 2012	CZ 100 %	C10	0	/	/	0
9. 8. 2012	CZ 100 %	C11	3740	0,089	4,860	0
9. 8. 2012	CZ 100 %	C12	0	/	/	0
18. 9. 2012	CZ 100 %	C1	4530	0,143	7,690	0
18. 9. 2012	CZ 100 %	C2	4550	0,154	7,410	0
18. 9. 2012	CZ 100 %	C3	4400	0,183	8,180	0
18. 9. 2012	CZ 100 %	C4	4360	0,117	5,020	0
18. 9. 2012	CZ 100 %	C5	4470	0,096	3,500	0
18. 9. 2012	CZ 100 %	C6	4350	0,149	8,910	0
18. 9. 2012	CZ 100 %	C7	4560	0,157	7,450	0
18. 9. 2012	CZ 100 %	C8	4780	0,1	3,620	0
18. 9. 2012	CZ 100 %	C9	4580	0,18	9,820	0
18. 9. 2012	CZ 100 %	C10	4330	0,097	4,000	0
18. 9. 2012	CZ 100 %	C11	2100	0,145	7,080	0
18. 9. 2012	CZ 100 %	C12	0	/	/	0

Priloga H: Tabela p vrednosti t-testa za prvo in zadnje vzorčenje odcednih voda

Vrednosti, ki so statistično značilne, so označene odebeleno.

Substrat	Kovina		Detelja	Trava	Naravna sukcesija
DZ	Cd	1. vzorčenje	0,000	0,000	0,000
		4. vzorčenje	0,000	0,000	0,000
		Razlika	0,000	0,000	0,000
		p vrednost	/	/	/
	Zn	1. vzorčenje	0,499	0,353	0,385
		4. vzorčenje	0,166	0,156	0,121
		Razlika	0,334	0,197	0,265
		p vrednost	0,030	0,075	0,006
CZ 50 %	Cd	1. vzorčenje	0,117	/	0,072
		4. vzorčenje	0,139	/	0,063
		Razlika	0,022	/	0,009
		p vrednost	0,324	/	0,328
	Zn	1. vzorčenje	4,682	/	4,874
		4. vzorčenje	3,590	/	3,454
		Razlika	1,091	/	1,420
		p vrednost	0,077	/	0,151
	Pb	1. vzorčenje	0,423	/	0,062
		4. vzorčenje	0,000	/	0,000
		Razlika	0,423	/	0,062
		p vrednost	0,073	/	0,083
CZ 100 %	Cd	1. vzorčenje	0,124	0,083	0,146
		4. vzorčenje	0,139	0,132	0,171
		Razlika	0,015	0,049	0,024
		p vrednost	0,312	0,061	0,120
	Zn	1. vzorčenje	/	7,393	7,202
		4. vzorčenje	/	5,455	8,970
		Razlika	/	1,938	1,768
		p vrednost	/	0,241	0,128
	Pb	1. vzorčenje	0,702	0,061	0,117
		4. vzorčenje	0,000	0,000	0,000
		Razlika	0,702	0,061	0,117
		p vrednost	0,093	0,029	0,010

Priloga I: Korelacijske tablice

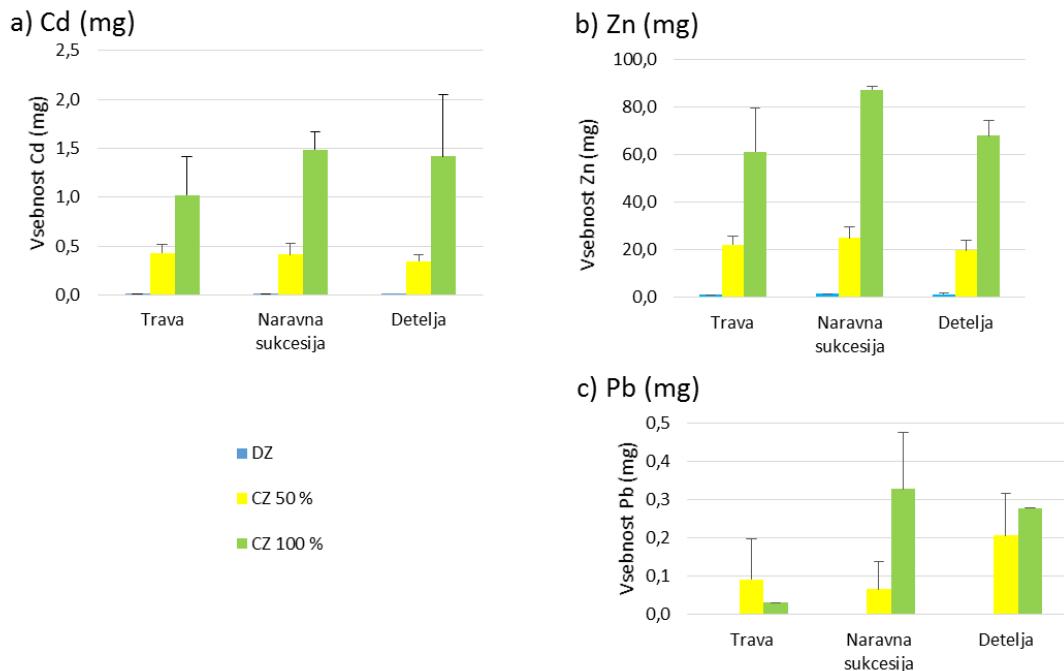
Vrednosti, ki so statistično značilne, so označene odebeleno.

Par	r	p
Višina vrb – koncentracija Cd	-0,319	0
Višina vrb – koncentracija Zn	-0,519	0
Višina vrb – koncentracija Pb	-0,103	0,247
Količina vode – koncentracija Cd	0,235	0,005
Količina vode – koncentracija Zn	0,258	0,005
Količina vode – koncentracija Pb	0,246	0,005

Priloga J: Vsebnost kovin v odcednih vodah

Vzorec	Substrat	Masa Cd (mg)	Masa Zn (mg)	Masa Pb (mg)
D1	DZ	/	/	0,000
D2	DZ	0,007	/	0,000
D3	DZ	0,004	2,527	0,000
D4	DZ	0,001	1,287	0,000
D5	DZ	0,004	/	0,000
D6	DZ	/	1,331	0,000
D7	DZ	0,002	1,233	0,000
D8	DZ	0,004	1,007	0,000
D9	DZ	0,001	0,723	0,000
D10	DZ	0,000	1,804	0,000
D11	DZ	0,000	1,282	0,000
D12	DZ	0,005	1,381	0,000
R1	CZ 50 %	/	/	0,256
R2	CZ 50 %	0,407	22,983	0,025
R3	CZ 50 %	0,299	16,689	0,055
R4	CZ 50 %	0,364	17,773	0,128
R5	CZ 50 %	0,321	24,350	0,067
R6	CZ 50 %	0,414	25,842	/
R7	CZ 50 %	0,403	24,681	0,284
R8	CZ 50 %	0,534	17,204	0,027
R9	CZ 50 %	0,525	29,074	0,017
R10	CZ 50 %	0,273	16,969	/
R11	CZ 50 %	0,462	24,068	0,250
R12	CZ 50 %	0,303	19,702	0,116
C1	CZ 100 %	1,767	63,551	/
C2	CZ 100 %	1,474	74,018	0,032
C3	CZ 100 %	1,716	/	0,487
C4	CZ 100 %	0,681	/	/
C5	CZ 100 %	0,722	48,134	/
C6	CZ 100 %	1,351	88,033	0,194
C7	CZ 100 %	1,798	72,276	0,277
C8	CZ 100 %	/	/	/
C9	CZ 100 %	1,617	86,159	0,300
C10	CZ 100 %	/	/	/
C11	CZ 100 %	0,869	/	0,107
C12	CZ 100 %	/	/	/

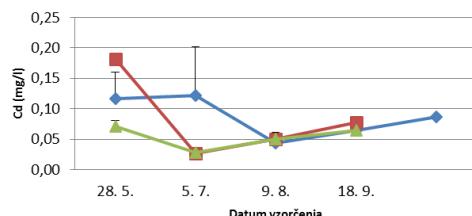
Priloga K: Vsebnost kovin v odcednih vodah v rastni sezoni glede na vrsto podrasti
 Povprečje ± standardna napaka, N= 1 do 4. Različne črte nad stolpcem označujejo statistično
 značilno razliko med posameznimi podrastmi (enosmerna ANOVA, Holm-Sidak posthoc
 test, p < 0,05)



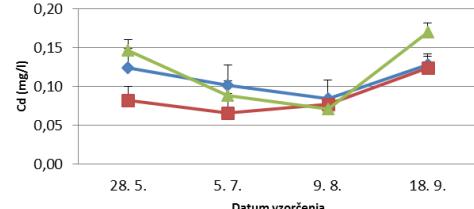
Priloga L: Koncentracija kovin v odcednih vodah po vzorčenjih med sezono

Povprečje ± standardna napaka, N= 1 do 4. Različne črte nad stolpcih označujejo statistično značilno razliko med podrastmi (enosmerna ANOVA, Holm-Sidak posthoc test, $p < 0,05$).

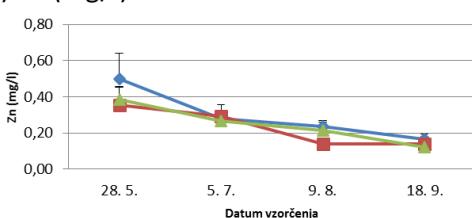
a) Cd (mg/l) – CZ 50 %



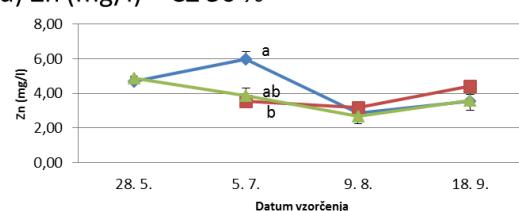
b) Cd (mg/l) – CZ 100 %



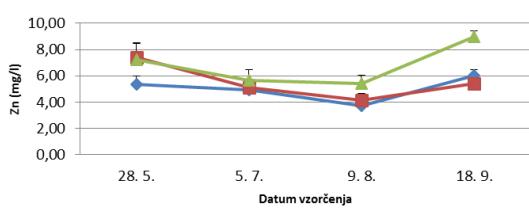
c) Zn (mg/l) – DZ



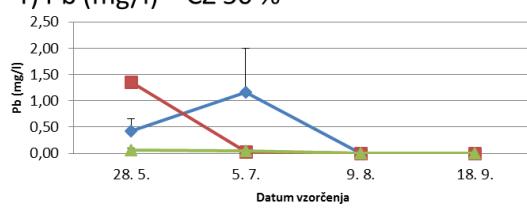
d) Zn (mg/l) – CZ 50 %



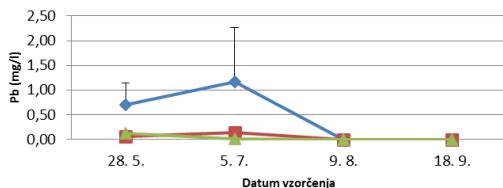
e) Zn (mg/l) – CZ 100 %



f) Pb (mg/l) – CZ 50 %



g) Pb (mg/l) – CZ 100 %



DETELJA

TRAVA

NARAVNA SUKCESIJA

Priloga M: Kovine v poganjkih

Vzorec	Substrat	Cd ($\mu\text{g/g}$)	Zn ($\mu\text{g/g}$)	Pb ($\mu\text{g/g}$)
D1	DZ	0	19,17	0
D2	DZ	0	/	0
D3	DZ	0	16,43	0
D4	DZ	0	20	0
D5	DZ	0	16,9	0
D6	DZ	0	16,3	0
D7	DZ	0	21,93	0
D8	DZ	0	14,83	0
D9	DZ	0	15,97	0
D10	DZ	0	/	0
D11	DZ	0	15,57	0
D12	DZ	0	12,9	0
R1	CZ 50 %	4,12	249,4	0
R2	CZ 50 %	1,96	/	0
R3	CZ 50 %	3,9	277	0
R4	CZ 50 %	/	287,6	0
R5	CZ 50 %	/	/	0
R6	CZ 50 %	4,76	/	0
R7	CZ 50 %	0,72	/	0
R8	CZ 50 %	/	277,2	0
R9	CZ 50 %	0,28	240,8	0
R10	CZ 50 %	/	/	0
R11	CZ 50 %	0,26	280,4	0
R12	CZ 50 %	1,1	/	0
C1	CZ 100 %	/		0
C2	CZ 100 %	4,24	/	0
C3	CZ 100 %	/		0
C4	CZ 100 %	9,46	286,8	0
C5	CZ 100 %	9	270,4	0
C6	CZ 100 %	9,14	/	0
C7	CZ 100 %	/	/	0
C8	CZ 100 %	8,5	280	0
C9	CZ 100 %	4,76	315,2	0
C10	CZ 100 %	2,72	246,2	0
C11	CZ 100 %	2,02	245,6	0
C12	CZ 100 %	4,94	290,6	0

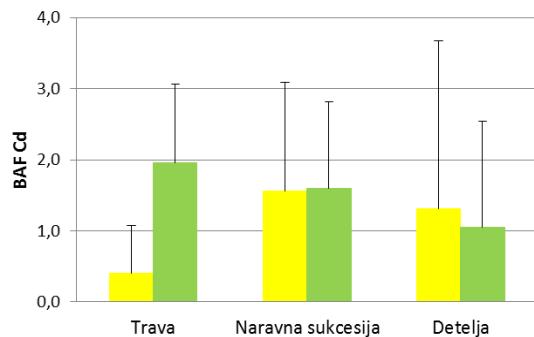
Priloga N: Bioakumulacijski faktor

Vzorec	Substrat	BAF Cd	BAF Zn	BAF Pb
D1	DZ	0	2,27	0
D2	DZ	0	/	0
D3	DZ	0	6,15	0
D4	DZ	0	7,75	0
D5	DZ	0	5,35	0
D6	DZ	0	16,14	0
D7	DZ	0	19,41	0
D8	DZ	0	9,57	0
D9	DZ	0	26,62	0
D10	DZ	0	0,00	0
D11	DZ	0	16,05	0
D12	DZ	0	4,31	0
R1	CZ 50 %	4,85	7,55	0
R2	CZ 50 %	1,40	0,00	0
R3	CZ 50 %	3,55	6,13	0
R4	CZ 50 %	0,00	3,23	0
R5	CZ 50 %	0,00	0,00	0
R6	CZ 50 %	1,94	0,00	0
R7	CZ 50 %	0,40	0,00	0
R8	CZ 50 %	0,00	3,56	0
R9	CZ 50 %	0,13	2,72	0
R10	CZ 50 %	0,00	0,00	0
R11	CZ 50 %	0,20	3,75	0
R12	CZ 50 %	0,59	0,00	0
C1	CZ 100 %	0,00	0,00	0
C2	CZ 100 %	1,37	/	0
C3	CZ 100 %	0,00	/	0
C4	CZ 100 %	3,15	2,49	0
C5	CZ 100 %	3,10	2,62	0
C6	CZ 100 %	2,95	0,00	0
C7	CZ 100 %	0,00	0,00	0
C8	CZ 100 %	2,66	2,69	0
C9	CZ 100 %	1,54	3,16	0
C10	CZ 100 %	1,05	1,97	0
C11	CZ 100 %	0,72	2,28	0
C12	CZ 100 %	0,72	2,28	0

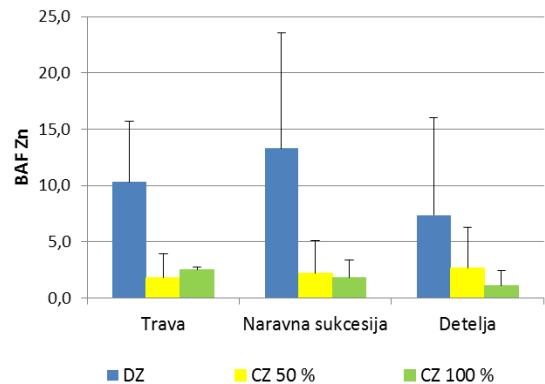
Priloga O: Bioakumulacijski faktor glede na podrast

Povprečje ± standardna napaka, N = 3 do 4.

a) BAF Cd



b) BAF Zn



Priloga P: Fotosintezni pigmenti

Datum vzorčenja	Vzorec	Substrat	Klorofil a (mg/g)	Klorofil b (mg/g)	Karotenoidi (mg/g)
28. 5. 2012	1C	CZ 100 %	0,367	0,037	0,225
28. 5. 2012	2C	CZ 100 %	0,546	0,080	0,353
28. 5. 2012	3C	CZ 100 %	0,867	0,201	0,455
28. 5. 2012	4C	CZ 100 %	1,504	0,398	0,628
28. 5. 2012	5C	CZ 100 %	0,223	/	0,216
28. 5. 2012	6C	CZ 100 %	0,724	0,108	0,363
28. 5. 2012	7C	CZ 100 %	0,264	/	0,217
28. 5. 2012	8C	CZ 100 %	0,581	0,065	0,300
28. 5. 2012	9C	CZ 100 %	1,664	0,505	0,770
28. 5. 2012	10C	CZ 100 %	1,261	0,278	0,563
28. 5. 2012	11C	CZ 100 %	1,633	0,491	0,743
28. 5. 2012	12C	CZ 100 %	1,432	0,354	0,656
28. 5. 2012	1R	CZ 50 %	1,391	0,335	0,562
28. 5. 2012	2R	CZ 50 %	1,273	0,282	0,543
28. 5. 2012	3R	CZ 50 %	1,212	0,269	0,506
28. 5. 2012	4R	CZ 50 %	0,711	0,109	0,338
28. 5. 2012	5R	CZ 50 %	1,654	0,507	0,707
28. 5. 2012	6R	CZ 50 %	1,750	0,735	0,825
28. 5. 2012	7R	CZ 50 %	0,556	0,090	0,286
28. 5. 2012	8R	CZ 50 %	0,689	0,107	0,322
28. 5. 2012	9R	CZ 50 %	1,495	0,396	0,598
28. 5. 2012	10R	CZ 50 %	0,504	0,047	0,266
28. 5. 2012	11R	CZ 50 %	1,559	0,415	0,683
28. 5. 2012	12R	CZ 50 %	1,403	0,338	0,595
28. 5. 2012	1D	DZ	1,071	0,317	0,506
28. 5. 2012	3D	DZ	1,682	0,563	0,717
28. 5. 2012	4D	DZ	1,762	0,907	0,859
28. 5. 2012	5D	DZ	1,654	0,545	0,708
28. 5. 2012	6D	DZ	1,244	0,309	0,530
28. 5. 2012	7D	DZ	1,523	0,421	0,634
28. 5. 2012	8D	DZ	1,594	0,459	0,670
28. 5. 2012	9D	DZ	1,601	0,487	0,680
28. 5. 2012	10D	DZ	1,529	0,419	0,663
28. 5. 2012	11D	DZ	1,627	0,602	0,759
28. 5. 2012	12D	DZ	1,515	0,415	0,628
5. 7. 2012	1C	CZ 100 %	0,577	0,093	0,331
5. 7. 2012	2C	CZ 100 %	0,743	/	0,512
5. 7. 2012	3C	CZ 100 %	0,991	0,196	0,442
5. 7. 2012	4C	CZ 100 %	1,048	0,183	0,458
5. 7. 2012	5C	CZ 100 %	0,543	0,057	0,353
5. 7. 2012	6C	CZ 100 %	0,821	0,159	0,422
5. 7. 2012	7C	CZ 100 %	0,387	/	0,380
5. 7. 2012	8C	CZ 100 %	0,059	/	0,167
5. 7. 2012	9C	CZ 100 %	1,102	0,206	0,462
5. 7. 2012	10C	CZ 100 %	0,978	0,219	0,378
5. 7. 2012	11C	CZ 100 %	0,808	0,190	0,394
5. 7. 2012	12C	CZ 100 %	0,994	0,218	0,424
5. 7. 2012	1D	DZ	1,705	1,675	0,935
5. 7. 2012	3D	DZ	1,728	0,669	0,786
5. 7. 2012	4D	DZ	1,320	1,064	0,874

Se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice Fotosintezi pigmenti

Datum vzorčenja	Vzorec	Substrat	Klorofil a (mg/g)	Klorofil b (mg/g)	Karotenoidi (mg/g)
5. 7. 2012	5D	DZ	1,720	0,628	0,726
5. 7. 2012	6D	DZ	1,753	0,870	0,832
5. 7. 2012	7D	DZ	1,627	0,391	0,727
5. 7. 2012	8D	DZ	0,650	0,132	0,296
5. 7. 2012	9D	DZ	0,301	0,025	0,158
5. 7. 2012	10D	DZ	1,561	0,430	0,645
5. 7. 2012	11D	DZ	0,628	0,123	0,284
5. 7. 2012	12D	DZ	1,708	0,626	0,713
5. 7. 2012	1R	CZ 50 %	2,015	0,513	0,807
5. 7. 2012	2R	CZ 50 %	0,824	0,175	0,322
5. 7. 2012	3R	CZ 50 %	1,412	0,349	0,558
5. 7. 2012	4R	CZ 50 %	1,000	0,262	0,456
5. 7. 2012	5R	CZ 50 %	1,524	0,406	0,634
5. 7. 2012	6R	CZ 50 %	0,584	0,088	0,230
5. 7. 2012	7R	CZ 50 %	1,684	0,574	0,735
5. 7. 2012	8R	CZ 50 %	0,275	0,003	0,128
5. 7. 2012	9R	CZ 50 %	0,813	0,176	0,324
5. 7. 2012	10R	CZ 50 %	0,138	/	0,117
5. 7. 2012	11R	CZ 50 %	0,686	0,121	0,274
5. 7. 2012	12R	CZ 50 %	0,731	0,226	0,285
9. 8. 2012	1C	CZ 100 %	0,506	/	0,533
9. 8. 2012	2C	CZ 100 %	/	/	0,348
9. 8. 2012	3C	CZ 100 %	0,263	/	0,231
9. 8. 2012	4C	CZ 100 %	0,296	/	0,324
9. 8. 2012	5C	CZ 100 %	/	/	0,157
9. 8. 2012	6C	CZ 100 %	0,544	0,008	0,312
9. 8. 2012	8C	CZ 100 %	0,456		0,327
9. 8. 2012	9C	CZ 100 %	1,416	0,341	0,585
9. 8. 2012	10C	CZ 100 %	1,367	0,228	0,554
9. 8. 2012	11C	CZ 100 %	0,238	/	0,211
9. 8. 2012	12C	CZ 100 %	1,076	0,220	0,458
9. 8. 2012	1R	CZ 50 %	1,413	0,238	0,566
9. 8. 2012	2R	CZ 50 %	1,524	0,390	0,636
9. 8. 2012	3R	CZ 50 %	1,204	0,199	0,509
9. 8. 2012	4R	CZ 50 %	1,007	0,186	0,446
9. 8. 2012	5R	CZ 50 %	1,442	0,346	0,548
9. 8. 2012	6R	CZ 50 %	1,715	0,608	0,776
9. 8. 2012	7R	CZ 50 %	0,457	0,050	0,258
9. 8. 2012	8R	CZ 50 %	0,885	0,183	0,342
9. 8. 2012	9R	CZ 50 %	1,722	0,651	0,727
9. 8. 2012	10R	CZ 50 %	0,972	0,095	0,417
9. 8. 2012	11R	CZ 50 %	1,588	0,472	0,616
9. 8. 2012	12R	CZ 50 %	1,292	0,316	0,517
9. 8. 2012	1D	DZ	1,449	0,364	0,578
9. 8. 2012	3D	DZ	1,750	1,044	0,874
9. 8. 2012	4D	DZ	1,683	0,577	0,663
9. 8. 2012	5D	DZ	1,532	0,420	0,601
9. 8. 2012	6D	DZ	1,503	0,381	0,557
9. 8. 2012	7D	DZ	1,641	0,489	0,662
9. 8. 2012	8D	DZ	2,043	0,515	0,769

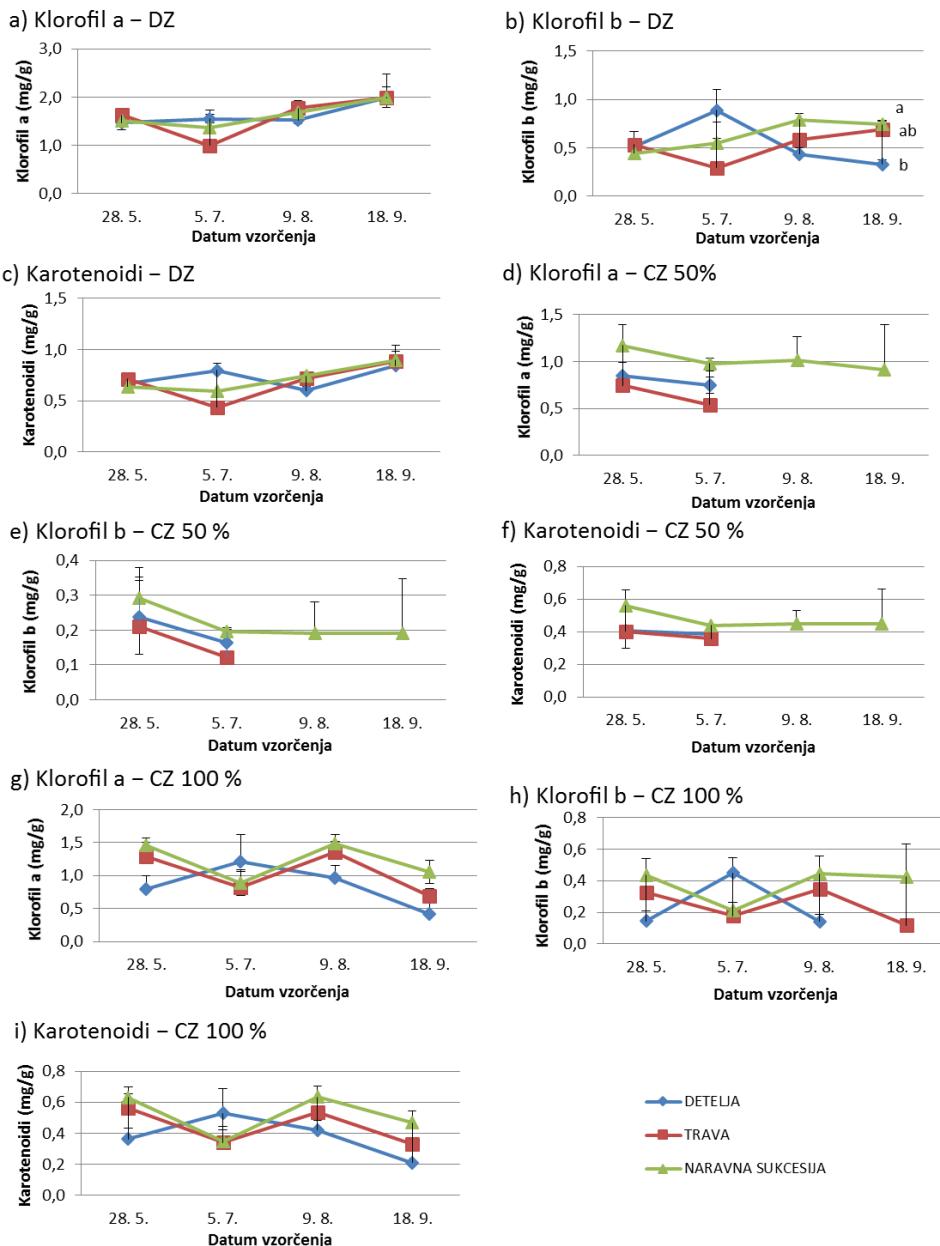
Se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice Fotosintezi pigmenti

Datum vzorčenja	Vzorec	Substrat	Klorofil a (mg/g)	Klorofil b (mg/g)	Karotenoidi (mg/g)
9. 8. 2012	9D	DZ	1,751	1,039	0,823
9. 8. 2012	10D	DZ	1,326	0,308	0,496
9. 8. 2012	11D	DZ	1,740	0,811	0,782
9. 8. 2012	12D	DZ	1,727	0,694	0,710
18. 9. 2012	9C	CZ 100 %	1,395	0,349	0,663
18. 9. 2012	10C	CZ 100 %	0,553	0,067	0,268
18. 9. 2012	12C	CZ 100 %	0,423	0,035	0,236
18. 9. 2012	1R	CZ 100 %	0,722	0,129	0,334
18. 9. 2012	2R	CZ 100 %	0,902	0,177	0,360
18. 9. 2012	3R	CZ 100 %	1,235	1,004	0,587
18. 9. 2012	4R	CZ 100 %	0,113	/	0,084
18. 9. 2012	5R	CZ 100 %	0,634	0,099	0,315
18. 9. 2012	6R	CZ 100 %	0,946	0,196	0,420
18. 9. 2012	9R	CZ 100 %	1,416	0,405	0,582
18. 9. 2012	11R	CZ 100 %	0,532	0,081	0,314
18. 9. 2012	12R	CZ 100 %	0,616	0,095	0,283
18. 9. 2012	1D	DZ	2,025	0,352	0,797
18. 9. 2012	3D	DZ	1,759	0,922	0,888
18. 9. 2012	4D	DZ	2,534	0,532	1,007
18. 9. 2012	5D	DZ	2,433	0,814	1,061
18. 9. 2012	6D	DZ	2,207	0,551	0,890
18. 9. 2012	7D	DZ	0,644	0,095	0,329
18. 9. 2012	8D	DZ	1,757	0,866	0,875
18. 9. 2012	9D	DZ	2,386	0,740	1,017
18. 9. 2012	10D	DZ	2,783	0,350	1,245
18. 9. 2012	11D	DZ	1,803	0,383	0,735
18. 9. 2012	12D	DZ	1,748	0,746	0,800

Priloga Q: Vsebnost fotosinteznih pigmentov skozi rastno sezono

Povprečje ± standardna napaka, N = 3 do 4. Različne črte nad stolpcji označujejo statistično značilno razliko med posameznimi podrastmi (enosmerna ANOVA, Holm-Sidak posthoc test, p < 0,05).



Priloga R: Višina vrb in število poganjkov pri vrbah

Datum merjenja	Vzorec	Substrat	Višina rastline	Št. poganjkov
7. 7. 2011	1D	DZ	83	4
7. 7. 2011	2D	DZ	73	2
7. 7. 2011	3D	DZ	78	4
7. 7. 2011	4D	DZ	56	2
7. 7. 2011	5D	DZ	43	2
7. 7. 2011	6D	DZ	60	3
7. 7. 2011	7D	DZ	84,5	3
7. 7. 2011	8D	DZ	78,5	4
7. 7. 2011	9D	DZ	71	2
7. 7. 2011	10D	DZ	75,5	3
7. 7. 2011	11D	DZ	61	3
7. 7. 2011	12D	DZ	73	2
7. 7. 2011	1R	CZ 50 %	76,5	2
7. 7. 2011	2R	CZ 50 %	62	2
7. 7. 2011	3R	CZ 50 %	80	2
7. 7. 2011	4R	CZ 50 %	76	3
7. 7. 2011	5R	CZ 50 %	60	3
7. 7. 2011	6R	CZ 50 %	61,5	2
7. 7. 2011	7R	CZ 50 %	78,5	2
7. 7. 2011	8R	CZ 50 %	82	3
7. 7. 2011	9R	CZ 50 %	67,5	2
7. 7. 2011	10R	CZ 50 %	56,5	3
7. 7. 2011	11R	CZ 50 %	61,5	3
7. 7. 2011	12R	CZ 50 %	79,5	3
7. 7. 2011	1C	CZ 100 %	80	3
7. 7. 2011	2C	CZ 100 %	82	3
7. 7. 2011	3C	CZ 100 %	89	3
7. 7. 2011	4C	CZ 100 %	82	3
7. 7. 2011	5C	CZ 100 %	68,5	3
7. 7. 2011	6C	CZ 100 %	72	3
7. 7. 2011	7C	CZ 100 %	64,5	3
7. 7. 2011	8C	CZ 100 %	81,5	2
7. 7. 2011	9C	CZ 100 %	65	3
7. 7. 2011	10C	CZ 100 %	82,5	3
7. 7. 2011	11C	CZ 100 %	59	3
7. 7. 2011	12C	CZ 100 %	81	4

Se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice Višina vrb in število poganjkov pri vrbah

Datum merjenja	Vzorec	Substrat	Višina rastline	Št. poganjkov
7. 8. 2011	1D	DZ	101	5
7. 8. 2011	2D	DZ	111	3
7. 8. 2011	3D	DZ	135	5
7. 8. 2011	4D	DZ	124	4
7. 8. 2011	5D	DZ	76	4
7. 8. 2011	6D	DZ	116,5	4
7. 8. 2011	7D	DZ	135	4
7. 8. 2011	8D	DZ	135,5	5
7. 8. 2011	9D	DZ	122	3
7. 8. 2011	10D	DZ	113	4
7. 8. 2011	11D	DZ	159	4
7. 8. 2011	12D	DZ	124	3
7. 8. 2011	1R	CZ 50 %	127	3
7. 8. 2011	2R	CZ 50 %	129,5	3
7. 8. 2011	3R	CZ 50 %	126	3
7. 8. 2011	4R	CZ 50 %	114	3
7. 8. 2011	5R	CZ 50 %	94	3
7. 8. 2011	6R	CZ 50 %	114	3
7. 8. 2011	7R	CZ 50 %	98	3
7. 8. 2011	8R	CZ 50 %	110	4
7. 8. 2011	9R	CZ 50 %	99,5	3
7. 8. 2011	10R	CZ 50 %	80	4
7. 8. 2011	11R	CZ 50 %	117	4
7. 8. 2011	12R	CZ 50 %	90	4
7. 8. 2011	1C	CZ 100 %	118	3
7. 8. 2011	2C	CZ 100 %	121	3
7. 8. 2011	3C	CZ 100 %	114	3
7. 8. 2011	4C	CZ 100 %	117	3
7. 8. 2011	5C	CZ 100 %	92	3
7. 8. 2011	6C	CZ 100 %	106	3
7. 8. 2011	7C	CZ 100 %	95	2
7. 8. 2011	8C	CZ 100 %	135	2
7. 8. 2011	9C	CZ 100 %	93,5	3
7. 8. 2011	10C	CZ 100 %	90	3
7. 8. 2011	11C	CZ 100 %	94,5	3
7. 8. 2011	12C	CZ 100 %	87	4

Se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice Višina vrb in število poganjkov pri vrbah

Datum merjenja	Vzorec	Substrat	Višina rastline	Št. poganjkov
8. 9. 2011	1D	DZ	117	4
8. 9. 2011	2D	DZ	118	3
8. 9. 2011	3D	DZ	133	5
8. 9. 2011	4D	DZ	137	4
8. 9. 2011	5D	DZ	92,5	3
8. 9. 2011	6D	DZ	118	4
8. 9. 2011	7D	DZ	152	3
8. 9. 2011	8D	DZ	184	5
8. 9. 2011	9D	DZ	135	3
8. 9. 2011	10D	DZ	125	4
8. 9. 2011	11D	DZ	174	4
8. 9. 2011	12D	DZ	142	3
8. 9. 2011	1R	CZ 50 %	138	3
8. 9. 2011	2R	CZ 50 %	151	3
8. 9. 2011	3R	CZ 50 %	141	3
8. 9. 2011	4R	CZ 50 %	135	3
8. 9. 2011	5R	CZ 50 %	98	3
8. 9. 2011	6R	CZ 50 %	142	4
8. 9. 2011	7R	CZ 50 %	111,5	3
8. 9. 2011	8R	CZ 50 %	112	4
8. 9. 2011	9R	CZ 50 %	110,5	3
8. 9. 2011	10R	CZ 50 %	84	4
8. 9. 2011	11R	CZ 50 %	115	4
8. 9. 2011	12R	CZ 50 %	118	3
8. 9. 2011	1C	CZ 100 %	126	2
8. 9. 2011	2C	CZ 100 %	124,5	3
8. 9. 2011	3C	CZ 100 %	115,5	4
8. 9. 2011	4C	CZ 100 %	113,5	4
8. 9. 2011	5C	CZ 100 %	97	4
8. 9. 2011	6C	CZ 100 %	111,5	4
8. 9. 2011	7C	CZ 100 %	96	3
8. 9. 2011	8C	CZ 100 %	138	3
8. 9. 2011	9C	CZ 100 %	108	4
8. 9. 2011	10C	CZ 100 %	92	4
8. 9. 2011	11C	CZ 100 %	98	4
8. 9. 2011	12C	CZ 100 %	102	4

Se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice Višina vrb in število poganjkov pri vrbah

Datum merjenja	Vzorec	Substrat	Višina rastline	Št. poganjkov
10. 9. 2011	1D	DZ	119	4
10. 9. 2011	2D	DZ	121,5	3
10. 9. 2011	3D	DZ	135,5	5
10. 9. 2011	4D	DZ	141,5	4
10. 9. 2011	5D	DZ	94	4
10. 9. 2011	6D	DZ	119,5	4
10. 9. 2011	7D	DZ	155	3
10. 9. 2011	8D	DZ	187,5	5
10. 9. 2011	9D	DZ	138	3
10. 9. 2011	10D	DZ	127,5	4
10. 9. 2011	11D	DZ	175,5	4
10. 9. 2011	12D	DZ	145	3
10. 9. 2011	1R	CZ 50 %	139	3
10. 9. 2011	2R	CZ 50 %	151,5	3
10. 9. 2011	3R	CZ 50 %	142,5	3
10. 9. 2011	4R	CZ 50 %	138	3
10. 9. 2011	5R	CZ 50 %	102	3
10. 9. 2011	6R	CZ 50 %	144,5	4
10. 9. 2011	7R	CZ 50 %	114	3
10. 9. 2011	8R	CZ 50 %	115	4
10. 9. 2011	9R	CZ 50 %	112	3
10. 9. 2011	10R	CZ 50 %	87,5	4
10. 9. 2011	11R	CZ 50 %	119	4
10. 9. 2011	12R	CZ 50 %	121,5	3
10. 9. 2011	1C	CZ 100 %	128	2
10. 9. 2011	2C	CZ 100 %	127	3
10. 9. 2011	3C	CZ 100 %	120	4
10. 9. 2011	4C	CZ 100 %	117,5	4
10. 9. 2011	5C	CZ 100 %	101	4
10. 9. 2011	6C	CZ 100 %	112,5	4
10. 9. 2011	7C	CZ 100 %	97	4
10. 9. 2011	8C	CZ 100 %	141	3
10. 9. 2011	9C	CZ 100 %	109,5	4
10. 9. 2011	10C	CZ 100 %	93,5	4
10. 9. 2011	11C	CZ 100 %	99,5	4
10. 9. 2011	12C	CZ 100 %	103	4

Se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice Višina vrb in število poganjkov pri vrbah

Datum merjenja	Vzorec	Substrat	Višina rastline	Št. poganjkov
17. 4. 2012	1D	DZ	118	3
17. 4. 2012	2D	DZ	112	2
17. 4. 2012	3D	DZ	141	2
17. 4. 2012	4D	DZ	138	4
17. 4. 2012	5D	DZ	100	2
17. 4. 2012	6D	DZ	135	3
17. 4. 2012	7D	DZ	166	3
17. 4. 2012	8D	DZ	196	3
17. 4. 2012	9D	DZ	143	3
17. 4. 2012	10D	DZ	141	4
17. 4. 2012	11D	DZ	182	4
17. 4. 2012	12D	DZ	150	3
17. 4. 2012	1R	CZ 50 %	146	3
17. 4. 2012	2R	CZ 50 %	166	3
17. 4. 2012	3R	CZ 50 %	147	3
17. 4. 2012	4R	CZ 50 %	139	3
17. 4. 2012	5R	CZ 50 %	109	3
17. 4. 2012	6R	CZ 50 %	147	3
17. 4. 2012	7R	CZ 50 %	100	3
17. 4. 2012	8R	CZ 50 %	130	4
17. 4. 2012	9R	CZ 50 %	116	2
17. 4. 2012	10R	CZ 50 %	83	4
17. 4. 2012	11R	CZ 50 %	145	4
17. 4. 2012	12R	CZ 50 %	109	3
17. 4. 2012	1C	CZ 100 %	140	2
17. 4. 2012	2C	CZ 100 %	130	4
17. 4. 2012	3C	CZ 100 %	118	4
17. 4. 2012	4C	CZ 100 %	113	4
17. 4. 2012	5C	CZ 100 %	101	4
17. 4. 2012	6C	CZ 100 %	119	3
17. 4. 2012	7C	CZ 100 %	103	3
17. 4. 2012	8C	CZ 100 %	144	2
17. 4. 2012	9C	CZ 100 %	118	4
17. 4. 2012	10C	CZ 100 %	106	4
17. 4. 2012	11C	CZ 100 %	111	4
17. 4. 2012	12C	CZ 100 %	110	5

Se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice Višina vrb in število poganjkov pri vrbah

Datum merjenja	Vzorec	Substrat	Višina rastline	Št. poganjkov
18. 5. 2012	1D	DZ	120	3
18. 5. 2012	2D	DZ	113	2
18. 5. 2012	3D	DZ	142	2
18. 5. 2012	4D	DZ	139	3
18. 5. 2012	5D	DZ	102	2
18. 5. 2012	6D	DZ	136	2
18. 5. 2012	7D	DZ	167	3
18. 5. 2012	8D	DZ	200	3
18. 5. 2012	9D	DZ	143	3
18. 5. 2012	10D	DZ	142	4
18. 5. 2012	11D	DZ	183	4
18. 5. 2012	12D	DZ	152	3
18. 5. 2012	1R	CZ 50 %	149	2
18. 5. 2012	2R	CZ 50 %	168	3
18. 5. 2012	3R	CZ 50 %	148	3
18. 5. 2012	4R	CZ 50 %	139	3
18. 5. 2012	5R	CZ 50 %	111	3
18. 5. 2012	6R	CZ 50 %	150	3
18. 5. 2012	7R	CZ 50 %	102	3
18. 5. 2012	8R	CZ 50 %	132	4
18. 5. 2012	9R	CZ 50 %	118	2
18. 5. 2012	10R	CZ 50 %	85	4
18. 5. 2012	11R	CZ 50 %	148	4
18. 5. 2012	12R	CZ 50 %	112	3
18. 5. 2012	1C	CZ 100 %	140	2
18. 5. 2012	2C	CZ 100 %	129,5	3
18. 5. 2012	3C	CZ 100 %	118	4
18. 5. 2012	4C	CZ 100 %	118	4
18. 5. 2012	5C	CZ 100 %	102	3
18. 5. 2012	6C	CZ 100 %	121	2
18. 5. 2012	7C	CZ 100 %	95	3
18. 5. 2012	8C	CZ 100 %	141	2
18. 5. 2012	9C	CZ 100 %	122	3
18. 5. 2012	10C	CZ 100 %	109	3
18. 5. 2012	11C	CZ 100 %	112	4
18. 5. 2012	12C	CZ 100 %	114	4

Se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice Višina vrb in število poganjkov pri vrbah

Datum merjenja	Vzorec	Substrat	Višina rastline	Št. poganjkov
23. 6. 2012	1D	DZ	120	3
23. 6. 2012	2D	DZ	110	2
23. 6. 2012	3D	DZ	144	4
23. 6. 2012	4D	DZ	134	3
23. 6. 2012	5D	DZ	107	3
23. 6. 2012	6D	DZ	137	2
23. 6. 2012	7D	DZ	181	2
23. 6. 2012	8D	DZ	203	3
23. 6. 2012	9D	DZ	147	2
23. 6. 2012	10D	DZ	138	2
23. 6. 2012	11D	DZ	186	4
23. 6. 2012	12D	DZ	161	3
23. 6. 2012	1R	CZ 50 %	150	2
23. 6. 2012	2R	CZ 50 %	170	2
23. 6. 2012	3R	CZ 50 %	170	2
23. 6. 2012	4R	CZ 50 %	140	2
23. 6. 2012	5R	CZ 50 %	134,5	2
23. 6. 2012	6R	CZ 50 %	154,5	2
23. 6. 2012	7R	CZ 50 %	103	3
23. 6. 2012	8R	CZ 50 %	132	2
23. 6. 2012	9R	CZ 50 %	123	1
23. 6. 2012	10R	CZ 50 %	89	3
23. 6. 2012	11R	CZ 50 %	128	2
23. 6. 2012	12R	CZ 50 %	112,5	2
23. 6. 2012	1C	CZ 100 %	136	2
23. 6. 2012	2C	CZ 100 %	129,5	3
23. 6. 2012	3C	CZ 100 %	118	4
23. 6. 2012	4C	CZ 100 %	114,5	4
23. 6. 2012	5C	CZ 100 %	100	4
23. 6. 2012	6C	CZ 100 %	119	2
23. 6. 2012	7C	CZ 100 %	96	3
23. 6. 2012	8C	CZ 100 %	139	2
23. 6. 2012	9C	CZ 100 %	122,5	3
23. 6. 2012	10C	CZ 100 %	100	3
23. 6. 2012	11C	CZ 100 %	104,5	3
23. 6. 2012	12C	CZ 100 %	107	6

Se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice Višina vrb in število poganjkov pri vrbah

Datum merjenja	Vzorec	Substrat	Višina rastline	Št. poganjkov
26. 7. 2012	1D	DZ	134,5	3
26. 7. 2012	2D	DZ	112	2
26. 7. 2012	3D	DZ	157	5
26. 7. 2012	4D	DZ	120	3
26. 7. 2012	5D	DZ	110	2
26. 7. 2012	6D	DZ	145	2
26. 7. 2012	7D	DZ	192	4
26. 7. 2012	8D	DZ	204	3
26. 7. 2012	9D	DZ	146	3
26. 7. 2012	10D	DZ	148	3
26. 7. 2012	11D	DZ	184	4
26. 7. 2012	12D	DZ	200	4
26. 7. 2012	1R	CZ 50 %	161	2
26. 7. 2012	2R	CZ 50 %	175	2
26. 7. 2012	3R	CZ 50 %	199	3
26. 7. 2012	4R	CZ 50 %	142	3
26. 7. 2012	5R	CZ 50 %	167	2
26. 7. 2012	6R	CZ 50 %	175	2
26. 7. 2012	7R	CZ 50 %	103	3
26. 7. 2012	8R	CZ 50 %	131	2
26. 7. 2012	9R	CZ 50 %	128	2
26. 7. 2012	10R	CZ 50 %	89	3
26. 7. 2012	11R	CZ 50 %	125	3
26. 7. 2012	12R	CZ 50 %	128	2
26. 7. 2012	1C	CZ 100 %	136	2
26. 7. 2012	2C	CZ 100 %	129	2
26. 7. 2012	3C	CZ 100 %	103	4
26. 7. 2012	4C	CZ 100 %	115	3
26. 7. 2012	5C	CZ 100 %	100	3
26. 7. 2012	6C	CZ 100 %	121	1
26. 7. 2012	7C	CZ 100 %	94	2
26. 7. 2012	8C	CZ 100 %	138	2
26. 7. 2012	9C	CZ 100 %	123	3
26. 7. 2012	10C	CZ 100 %	100	3
26. 7. 2012	11C	CZ 100 %	103	3
26. 7. 2012	12C	CZ 100 %	111	4

Se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice Višina vrb in število poganjkov pri vrbah

Datum merjenja	Vzorec	Substrat	Višina rastline	Št. poganjkov
28. 8. 2012	1D	DZ	133	3
28. 8. 2012	3D	DZ	157	5
28. 8. 2012	4D	DZ	142	3
28. 8. 2012	5D	DZ	123	2
28. 8. 2012	6D	DZ	143	2
28. 8. 2012	7D	DZ	195	4
28. 8. 2012	8D	DZ	214	3
28. 8. 2012	9D	DZ	150	3
28. 8. 2012	10D	DZ	150	3
28. 8. 2012	11D	DZ	185	3
28. 8. 2012	12D	DZ	195	4
28. 8. 2012	1R	CZ 50 %	164	2
28. 8. 2012	2R	CZ 50 %	175	2
28. 8. 2012	3R	CZ 50 %	209	3
28. 8. 2012	4R	CZ 50 %	143	3
28. 8. 2012	5R	CZ 50 %	172	2
28. 8. 2012	6R	CZ 50 %	177	2
28. 8. 2012	7R	CZ 50 %	105	3
28. 8. 2012	8R	CZ 50 %	135	2
28. 8. 2012	9R	CZ 50 %	135	2
28. 8. 2012	10R	CZ 50 %	93	3
28. 8. 2012	11R	CZ 50 %	130	3
28. 8. 2012	12R	CZ 50 %	137	2
28. 8. 2012	1C	CZ 100 %	136	2
28. 8. 2012	2C	CZ 100 %	128	1
28. 8. 2012	3C	CZ 100 %	103	4
28. 8. 2012	4C	CZ 100 %	115	3
28. 8. 2012	5C	CZ 100 %	100	3
28. 8. 2012	6C	CZ 100 %	121	1
28. 8. 2012	7C	CZ 100 %	94	2
28. 8. 2012	8C	CZ 100 %	139	2
28. 8. 2012	9C	CZ 100 %	123	3
28. 8. 2012	10C	CZ 100 %	100	5
28. 8. 2012	11C	CZ 100 %	103	3
28. 8. 2012	12C	CZ 100 %	111	4

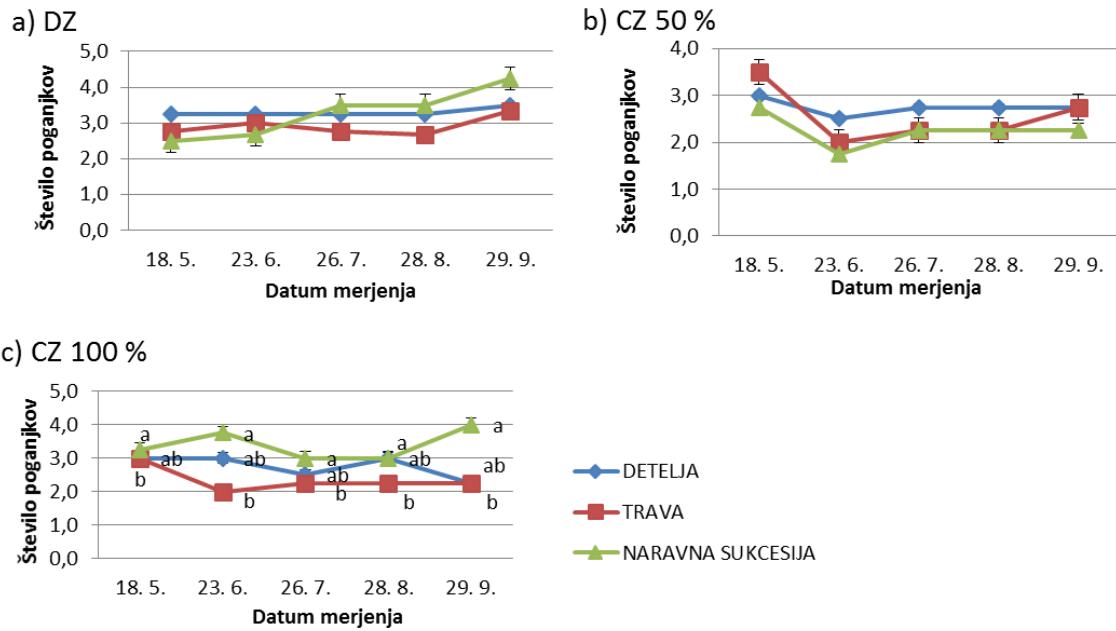
Se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice Višina vrb in število poganjkov pri vrbah

Datum merjenja	Vzorec	Substrat	Višina rastline	Št. poganjkov
29. 9. 2012	1D	DZ	133	3
29. 9. 2012	3D	DZ	157	2
29. 9. 2012	4D	DZ	141	2
29. 9. 2012	5D	DZ	121	3
29. 9. 2012	6D	DZ	144	5
29. 9. 2012	7D	DZ	192	6
29. 9. 2012	8D	DZ	211	4
29. 9. 2012	9D	DZ	149	6
29. 9. 2012	10D	DZ	149	3
29. 9. 2012	11D	DZ	189	3
29. 9. 2012	12D	DZ	193	4
29. 9. 2012	1R	CZ 50 %	159	3
29. 9. 2012	2R	CZ 50 %	175	4
29. 9. 2012	3R	CZ 50 %	204	3
29. 9. 2012	4R	CZ 50 %	140	4
29. 9. 2012	5R	CZ 50 %	171	2
29. 9. 2012	6R	CZ 50 %	173	2
29. 9. 2012	7R	CZ 50 %	104	2
29. 9. 2012	8R	CZ 50 %	132	2
29. 9. 2012	9R	CZ 50 %	163	2
29. 9. 2012	10R	CZ 50 %	85	2
29. 9. 2012	11R	CZ 50 %	129	3
29. 9. 2012	12R	CZ 50 %	139	2
29. 9. 2012	1C	CZ 100 %	136	2
29. 9. 2012	2C	CZ 100 %	127	1
29. 9. 2012	3C	CZ 100 %	103	4
29. 9. 2012	4C	CZ 100 %	115	3
29. 9. 2012	5C	CZ 100 %	98	3
29. 9. 2012	6C	CZ 100 %	119	3
29. 9. 2012	7C	CZ 100 %	88	2
29. 9. 2012	8C	CZ 100 %	139	2
29. 9. 2012	9C	CZ 100 %	122	3
29. 9. 2012	10C	CZ 100 %	99	2
29. 9. 2012	11C	CZ 100 %	103	3
29. 9. 2012	12C	CZ 100 %	109	6

Priloga S: Prirast vrba

Povprečje ± standardna napaka, N = 4



Priloga T: Mikoriza pri koreninah vrb

Vzorec	Substrat	Vegetacija	F %	M %	A %	MS %	S %	V %
D1	DZ	Detelja	60	27,67	12,23	0	0	0,6
D5	DZ	Trava	46,67	5,4	1,34	3,07	0	5,33
D6	DZ	N. sukcesija	0	0	0	0	0	0,03
D7	DZ	Detelja	0	0	0	0	0	0,03
D8	DZ	Trava	0	0	0	0	0	7
D9	DZ	N. sukcesija	13,33	0,13	0	0	0	2,52
R2	CZ 50 %	Trava	0	0	0	0	0	1,5
R3	CZ 50 %	N. sukcesija	0	0	0	0	0	1,36
R4	CZ 50 %	Detelja	60	1,67	0,55	0,67	0	0,27
R5	CZ 50 %	Trava	0	0	0	0,04	0	0,01
R6	CZ 50 %	N. sukcesija	6,67	0,07	0,01	0	0	1
R7	CZ 50 %	Detelja	0	0	0	0	0	0,04
R8	CZ 50 %	Trava	20	11,33	8	0,03	0	3,03
R9	CZ 50 %	N. sukcesija	13,33	0,67	0,07	0,04	0	0,06
C1	CZ 100 %	Detelja	0	0	0	0	0	0
C2	CZ 100 %	Trava	7,69	0,08	0	0,24	0	0,03
C3	CZ 100 %	N. sukcesija	0	0	0	0,51	0	0,56
C4	CZ 100 %	Detelja	0	0	0	0	0	2,27
C5	CZ 100 %	Trava	0	0	0	0	0	0
C6	CZ 100 %	N. sukcesija	0	0	0	0	0	0
C8	CZ 100 %	Trava	6,67	0,07	0,01	0,2	0	0,26
C9	CZ 100 %	N. sukcesija	6,67	0,07	0	0,17	0	0

Priloga U: Naravna kolonizacija z AM glivami pri koreninah vrb

Substrat	Vegetacija		F %	M %	A %	MS %	S %	V %
DZ	Trava	Povprečje	23,34	2,7	0,67	1,54	0	6,17
		Minimalna vrednost	0	0	0	0	0	5,33
		Maksimalna vrednost	46,67	5,4	1,34	3,07	0	7
	Detelja	Povprečje	30	13,84	6,115	0	0	0,315
		Minimalna vrednost	0	0	0	0	0	0,03
		Maksimalna vrednost	60	27,67	12,23	0	0	0,6
	N. sukcesija	Povprečje	6,67	0,07	0	0	0	1,28
		Minimalna vrednost	0	0	0	0	0	0,03
		Maksimalna vrednost	13,33	0,13	0	0	0	2,52
CZ 50 %	Trava	Povprečje	6,67	3,78	2,67	0,02	0	1,51
		Minimalna vrednost	0	0	0	0	0	0,01
		Maksimalna vrednost	20	11,33	8	0,04	0	3,03
	Detelja	Povprečje	30	0,84	0,28	0,34	0	0,155
		Minimalna vrednost	0	0	0	0	0	0,04
		Maksimalna vrednost	60	1,67	0,55	0,67	0	0,27
	N. sukcesija	Povprečje	6,67	0,37	0,027	0,01	0	0,81
		Minimalna vrednost	0	0	0	0	0	0,06
		Maksimalna vrednost	13,33	0,67	0,07	0,04	0	1,36
CZ 100 %	Trava	Povprečje	4,79	0,05	0	0,15	0	0,1
		Minimalna vrednost	0	0	0	0	0	0
		Maksimalna vrednost	7,69	0,08	0,01	0,24	0	0,26
	Detelja	Povprečje	0	0	0	0	0	1,14
		Minimalna vrednost	0	0	0	0	0	0
		Maksimalna vrednost	0	0	0	0	0	2,27
	N. sukcesija	Povprečje	0	0	0	0,26	0	0,28
		Minimalna vrednost	0	0	0	0	0	0
		Maksimalna vrednost	0	0	0	0,51	0	0,56

Priloga V: Mikoriza pri koreninah podrasti

Vzorec	Substrat	Vegetacija	F %	M %	A %	MS %	S %	V %
D1/1	DZ	Detelja	0	0	0	0	0	0
D1/2	DZ	Detelja	0	0	0	0	0	0
D1/3	DZ	Detelja	0	0	0	0	0	0
D2/1	DZ	Trava	0	0	0	0	0	0
D2/2	DZ	Trava	0	0	0	0	0	0
D2/3	DZ	Trava	20	0,73	0,15	0	0	0,03
D5/1	DZ	Trava	6,67	0,07	0	0	0	0
D5/2	DZ	Trava	6,67	0,07	0	0,03	0	0,01
D5/3	DZ	Trava	86,67	41	19,77	0	0	0
D7/2	DZ	Detelja	53,33	9,33	1,73	0	0	0
D7/3	DZ	Detelja	40	7,73	2,63	0	0	0,17
D8/1	DZ	Trava	6,67	2	0,2	0	0	0,2
D8/2	DZ	Trava	6,67	2	0,2	0	0	0,2
R2/1	CZ 50 %	Trava	0	0	0	0	0	0
R2/2	CZ 50 %	Trava	0	0	0	0	0	0
R4/1	CZ 50 %	Detelja	26,67	2,47	0,24	0	0	0
R4/2	CZ 50 %	Detelja	20	0,47	0	0	0	0
R5/1	CZ 50 %	Trava	26,67	0,53	0	0	0	0,07
R5/2	CZ 50 %	Trava	0	0	0	0,03	0	0,03
R7/1	CZ 50 %	Detelja	13,33	0,67	0,07	0	0	0,1
R7/2	CZ 50 %	Detelja	73,33	27,4	13,84	0	0	11,67
R7/3	CZ 50 %	Detelja	6,67	0,07	0	0	0	0,4
R8/1	CZ 50 %	Trava	46,67	12,4	6,77	0	0	0,1
R8/2	CZ 50 %	Trava	0	0	0	0	0	0
R8/3	CZ 50 %	Trava	0	0	0	0	0	0
C2/1	CZ 100 %	Trava	0	0	0	0	0	0
C2/2	CZ 100 %	Trava	0	0	0	0	0	0
C2/3	CZ 100 %	Trava	0	0	0	0	0	0
C4/1	CZ 100 %	Detelja	0	0	0	0	0	0
C5/1	CZ 100 %	Trava	0	0	0	0	0	0
C5/2	CZ 100 %	Trava	0	0	0	0	0	0
C5/3	CZ 100 %	Trava	0	0	0	0	0	0
C8/1	CZ 100 %	Trava	73,33	40,67	17,8	0	0	1,43
C8/2	CZ 100 %	Trava	80	30,07	20,27	0	0	5,73
C8/3	CZ 100 %	Trava	86,67	18,87	8,81	0	0	0,62
C3/1	CZ 100 %	N. sukcesija	0	0	0	0,51	0	0,56

Priloga W: Naravna kolonizacija korenin podrasti z AM glivami po vrsti substrata
F – frekvenca glivne kolonizacije, M – splošna intenziteta glivne kolonizacije, MS –
gostota mikrosklerocijev, A – gostota arbuskolov, V – gostota veziklov. Povprečje ±
standardna napaka, N = 1 do 8 (enosmerna ANOVA na $y = \arcsin(x)$ transformiranih
podatkih, Holm-Sidak posthoc test, $p < 0,05$).

