

Latvijas Universitāte
Bioloģijas fakultāte



Ligita Liepiņa

**Arbuskulāro mikorizu ietekmējošie ekoloģiskie faktori
dabiskos biotopos un agrocenozēs**

Doktora grāda iegūšanai bioloģijas nozarē
Apakšnozare: Ekoloģija

Darba vadītājs: Dr. hab. biol., prof. Ģederts Ieviņš

Rīga, 2013



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ

Šis darbs izstrādāts ar Eiropas Sociālā fonda atbalstu projektā „Atbalsts doktora studijām Latvijas Universitātē - 2” Vienošanās Nr. 2011/0054/1DP/1.1.2.1.2/11/IPIA/VIAA/002
LU reģistrācijas Nr. ESS2011/131

Pētījuma publikācijas:

Liepina L. **2012.** Occurrence of fungal structures in bryophytes of the boreo-nemoral zone. *Environmental and Experimental Biology* 10: 35–40.

Druva I., Liepina L., Antonijs A. **2005.** Nitrogen, phosphorus and potassium influence on infections by arbuscular mycorrhizal fungi in *Dactylis glomerata* roots. *Research for Rural Development, Proceedings of the Latvia University of Agriculture, Jelgava*, 63-67.

Liepina L., Skujiņš J. **1999.** Arbuscular endomycorrhizal fungi: presence in temperate boreonemoral ecotype soils of Latvia. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences*, vol. 53, Nr. 6, 336.-342. lpp.

Starptautiskās konferences:

Liepina L. Bryophyte antimicrobial properties and endosymbionts: two sides of the coin. 7th International Symbiosis Congress. Krakova, Polija 22.-28.07.2012.

Liepina L., Brūmelis G. Effect of forest moss cover disturbance on arbuscular mycorrhizal colonization in *Piceetum myrtillosa* communities. 5th International Conference on Mycorrhiza (ICOM5), Granada, Spānija, 23.-27.07.2006.

Tausckhe M., **Liepina L.** Community Structure of AM Fungi Colonizing Roots of Different Varieties of *Hordeum vulgare*. Montreāla, Kanāda, 10.-15.08.2003.

Liepina L. Comparison of arbuscular mycorrhizas in plants from grey dune habitats. XVII Symposium of Baltic Mycologists and Lichenologists, Sāremā sala, Igaunija 17.-21.09.2008.

Liepina L., Skujiņš J. Arbuscular Endomycorrhizal Fungi in Latvia Ecosystems. Proceedings of the XIV Baltic Symposium of Mycologists und Lichenologists, Tartu 24.-28.08.1999.

L. Liepiņa. Arbuskulāro mikorizu ietekmējošie ekoloģiskie faktori dabiskos biotopos un agrocenozēs

KOPSAVILKUMS

Šī darba mērķis bija noskaidrot arbuskulāro mikorizu (AM) ietekmējošos ekoloģiskos faktoros dažādos dabiskos un antropogēni ietekmētos biotopos, kā arī noskaidrot arbuskulārās mikorizas sēņu daudzveidību un sastopamību. Kopumā veikti seši pētījumi dabiskos biotopos un lauksaimniecībā izmantotās zemēs. Darbā izmantota standarta metodika, kas ir atzīta par piemērotu arbuskulārās mikorizas pētījumiem. Pētīto parametru ietekme novērtēta ar vispārīnāto lineāro modeļu (GLM) metodi. Gradienti noskaidroti ar CCA (canonical correspondance analysis) metodi. Pētījumu rezultātā noskaidrots, ka būtiskie biotiskie arbuskulāro mikorizu ietekmējošie faktori ir saimniekauga suga un tā sakņu morfoloģiskās īpatnības. Novērotas atšķirības starp arbuskulāro mikorizu ietekmējošo faktoru būtiskumu dažādos biotopos, kā arī to ietekmes variācijas dažādos gados. Konstatēts, ka vieni no galvenajiem faktoriem, kas ietekmē sēņu aktivitāti saknēs un sporu veidošanos augsnē, ir augsnes granulometriskais sastāvs un pH. Noskaidrots, ka sporu veidošanās nav atkarīga no sakņu kolonizācijas intensitātes. Analizējot arbuskulāro mikorizu (AM) sabiedrības struktūru 21 Latvijā rajonētai *Hordeum vulgare* šķirnei, noskaidrots, ka vecākām šķirnēm mikorizālā aktivitāte ir lielāka. No 43 pētītajām briofītu sugām simbioze konstatēta tikai sešām vienkāršā un saliktā lapaņa aknu sūnām. Pētītajos biotopos konstatētas 13 sporulējošas arbuskulārās mikorizas sēņu sugas. No tām visbiežāk sastopamās sugas ir *Glomus intraradices* un *Glomus mossae*. Šā pētījuma ietvaros iegūtie dati par arbuskulārās mikorizas daudzveidību un to ietekmējošiem faktoriem apstiprina, ka simbioze ir sarežģīta, kompleksa sistēma, tādēļ nepieciešami turpmāki pētījumi, lai produktīvi izmantotu informāciju par mikorizu sabiedrībām kā ekoloģiskiem indikatoriem biotopu kvalitātes noteikšanā un bioloģiskās daudzveidības monitoringā.

Promocijas darbs izstrādāts Latvijas Universitātes Bioloģijas institūtā un Bioloģijas fakultātes Botānikas un ekoloģijas katedrā laika posmā no 1996. gada līdz 2008. gadam.

Atslēgas vārdi: arbuskulārā mikoriza, biotopi, ekoloģiskie faktori, Glomeromycota, saimniekaugs

SUMMARY

L. Liepiņa. Influence of ecological factors on arbuscular mycorrhizal symbiosis in natural habitats and agrocenoses

The main objective of the present work was to determine the ecological factors affecting the arbuscular mycorrhiza (AM) in various natural and anthropologically affected habitats, as well as to determine the diversity and occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi. Altogether six studies were carried out in natural biotopes and agricultural lands. The methods used to perform the work are acknowledged as fitting for arbuscular mycorrhizal research. The influence of the examined parameters was evaluated using the method of generalized linear models (GLM). The gradients were determined using the canonical correspondence analysis (CCA). The results of the research testify that the most important biotic factors affecting the arbuscular mycorrhiza are the host plant identity (species) and the morphological features of its roots. Differences were found among the relevance levels of the factors affecting arbuscular mycorrhiza in various habitats, and variations were detected among the results obtained in different years. The granulometric composition of soil and pH values have been found to be among the main factors affecting the fungal activity in roots and the formation of spores in soil. It has been established, that the formation of spores is not dependent on the intensity of root colonization. The analysis of the structure of AM communities in 21 cultivars of *Hordeum vulgare* approved in Latvia reveals that mycorrhizal activity is higher in older cultivars. Symbiosis was detected only for six simple and complex thalloid liverwort species out of 43 examined bryophyte species. In total 13 species of sporulating arbuscular mycorrhizal fungi were found in the investigated habitats. The most common were the fungi of the genus *Glomus* – *G. intraradices* and *G. mossae*. The data obtained in these studies about the diversity of arbuscular mycorrhiza and the factors affecting it confirm that symbiosis is a very complex system, therefore further research is needed to effectively use the information about mycorrhizal communities as ecological indicators in the determination of habitat quality and monitoring of biodiversity.

The doctoral thesis was conducted in the Institute of Biology of the University of Latvia and the Faculty of Biology, Department of Botany and Ecology, from 1996 to 2008.

Keywords: Arbuscular mycorrhiza, Glomeromycota, habitats, ecological factors, host plant

Saturs

IEVADS	7
1. LITERATŪRAS APSKATS	9
1.1. Mikorizas izcelsme, evolūcija un tipi.....	9
1.2. Arbuskulārā mikoriza.....	13
1.2.1. Arbuskulārās mikorizas taksonomija un filoģenēze.....	13
1.2.2. Arbuskulārās mikorizas dzīves cikls.....	20
1.2.3. Arbuskulārās mikorizas morfoloģija	23
1.2.4. Arbuskulārās mikorizas fenoloģija.....	24
1.2.5. Propagulu (vairvienību) banka un izplatīšanās.....	25
1.2.6. Sporu dīgtspēja un miera periods.....	26
1.2.7. Arbuskulārās mikorizas asociācijas.....	27
1.2.8. Arbuskulārās mikorizas sēņu globālā izplatība un aizsardzība.....	29
1.3. Mikorizu ietekmējošie faktori.....	30
1.3.1. Biotiskie faktori	31
1.3.1.1. Augu mikorizālais statuss un sakņu sistēmu atšķirības.....	32
1.3.1.2. Augu sukcesijas un mikoriza.....	35
1.3.1.3. Mikorizu asociāciju regulācija.....	35
1.3.1.4. Mikorizu sabiedrību telpiskā heterogenitāte	36
1.3.1.5. Mikorizu funkcionālā daudzveidība.....	37
1.3.2. Edafiskie un klimatiskie faktori un AM.....	38
1.3.2.1. Augsnes pH ietekme	38
1.3.2.2. Fosfora, slāpekļa un kālija ietekme	40
1.3.2.3. Temperatūras ietekme	43
2. MATERIĀLS UN METODIKA	45
2.1. Mikorizas ietekmējošo faktoru raksturošanā ietvertie pētījumi.....	45
2.2. Pētījumu vietas un augu sugas	46
2.2.1. Pētījuma vietas mikorizu sastopamības pētījumiem ar vaskulārajiem augiem.....	47
2.2.2. Pētījuma vieta Mazsalacā.....	51
2.2.3. Pētījuma vieta Skrīveros.....	53
2.2.4. Pētījuma vieta Salaspilī.....	57
2.2.5. Pētījuma vieta Vecbērzē	58
2.2.6. Pētījuma vietas mikorizu sastopamības izvērtējumam ar briofītiem.....	59

2.3. Sakņu paraugu ievākšana un histoķīmiskā krāsošana.....	60
2.4. Mikorizas kolonizācijas noteikšana saknēs.....	60
2.5. Sporu ekstrakcija un identifikācija.....	62
2.6. Sporu diedzēšana.....	63
2.7. Sporu audzēšana veģetācijas trauku kultūrās.....	63
2.8. Molekulārās metodes AM sugu noteikšanai.....	64
2.9. Datu statistiskā analīze.....	66
3. REZULTĀTI.....	67
3.1. Mikorizālā simbioze pļavu un mežu biotopos.....	67
3.2. Mikorizālā simbioze priežu lānā	78
3.3. Mikorizālā simbioze ilglaicīgi kultivētā pļavā	85
3.4. Mikorizālā simbioze miežu šķirnēm	86
3.5. Mikorizālā simbioze agrocenozē	89
3.6. Mikorizālā simbioze briofītiem.....	96
4. DISKUSIJA.....	102
5. SECINĀJUMI.....	108
Pateicības	110
IZMANTOTĀ LITERATŪRA.....	111

IEVADS

Augsne ir viens no nozīmīgākajiem dabas resursiem, tā ir dinamiska un mainīga sistēma. Augsne ir nostiprināšanās vieta, barības vielu un ūdens avots augiem, tāpat arī dzīvotne dažādiem dzīvniekiem, baktērijām un arī sēnēm.

Augsnē notiek daudzi un dažādi savstarpēji atkarīgi procesi, tajā skaitā arī simbiotiskie. Jautājumi par simbiozi biologus interesējuši jau sen. Kopš 1894. g., kad A. Franks pirmo reizi izvirzīja hipotēzi par mutuālistiskām saknes un sēnes attiecībām un nosauca šādas attiecības par mikorizu, šīs simbiozes loma tiek plaši pētīta. Šobrīd ir zināms, ka mikorizas ir viens no svarīgākajiem ekosistēmas elementiem (Trappe 1987). Savulaik A. Franks izdalīja divus mikorizu tipus: ektotrofo un endotrofo. Vēlāk endotrofā mikoriza tika nosaukta par arbuskulāro mikorizu (AM). AM simbioze atrasta 92% pasaules vaskulāro augu dzimtās (Wang 2006). Izpētīts, ka šī simbioze ir arī briofītiem un papardēm (Smith 1997). Tomēr vairākām vaskulāro augu dzimtām, kā arī lapu sūnām AM simbioze nav konstatēta. Pašreiz zināmas un aprakstītas apmēram 215 AM sēņu sugas, kas sastopamas dažādās ekosistēmās visā pasaulē (Pearson *et al.* 2006).

AM simbiozei ir svarīga nozīme dzīvības nodrošināšanā uz zemes kā dabiskajās, tā agroekosistēmās (Smith 1997). Pētījumos noskaidrots (Pearson *et al.* 2006), ka AM ir svarīga loma barības vielu transportā – AM sēnes saņem ogļhidrātus no augiem un transportē fosforu, slāpekli un minerālvielas no augsnes uz augiem. Liela daļa simbiozes pētījumu pasaulē tiek veikti, lai risinātu dažādas augu bioloģijas problēmas: lai uzlabotu augu imunitāti, rezistenci pret slimībām un kaitēkļiem, kā arī sausuma, mitruma un aukstuma izturību (Smith 1997), bet mazāk ir tādu, kas veikti, lai pētītu pašu simbiozi.

Noskaidrots, ka AM simbioze ir atkarīga no dažādiem biotiskajiem un abiotiskajiem faktoriem. Ir nedaudzi pētniecības centri, kur tiek attīstītas jaunas metodes AM sugu noteikšanai ar ģenētiskām metodēm, kā arī veikti arbuskulāro mikorizu eksperimenti.

Latvijā mikorizas pētītas jau 20.gs. sākumā, kad zinātnieki pievērsās augstāko augu sakņu bioloģijas izpētei. Tomēr šajos pētījumos netika apskatīta AM, bet apskatītas citas sēnes, kas tolaik uzskatītas par mikorizu (Aut.). Pētījumi par AM sēnēm Latvijā aizsākās tikai 1999.g. J.Skujiņa vadībā. Tika noskaidrota (Liepina 1999) AM klātbūtne un sezonālā dinamika atsevišķos Latvijai tipiskos biotopos 46 augu sugām.

Šajā darbā turpināti AM sēņu izplatības, sastopamības un ekoloģijas pētījumi.

Darba mērķis ir noskaidrot arbuskulārās mikorizas sastopamību dabiskos biotopos un lauksaimniecībā izmantotās zemēs Latvijā un raksturot mikorizu ietekmējošos faktorus.

Mērķa sasniegšanai noteikti sekojoši darba uzdevumi:

1. Novērtēt arbuskulāro mikorizu intensitāti un morfoloģiskās īpatnības vaskulāro augu saknēs;
2. Izvērtēt mikorizu ietekmējošos biotiskos un abiotiskos faktorus dabiskos biotopos un agrocenozēs;
3. Noskaidrot mikorizu veidojošo sēņu sugu sastāvu dažādos biotopos;
4. Analizēt dažādu arbuskulārās mikorizas sēņu audzēšanas iespējas, veicot sporu dīgtspējas pētījumu un audzējot mikorizu sporu audzēšanas kultūrās.

1. LITERATŪRAS APSKATS

Interese par augsnes mikroorganismiem un to darbību ekosistēmas funkcionēšanā ir bijusi jau sen (Lee 1994). Zināšanas par augsnes bioloģisko daudzveidību ir devušas iespēju noteikt tās komponentu funkcionālo nozīmi un ietekmēt šo bioloģisko daudzveidību, lai sasniegtu dažādus, tajā skaitā praktiskus mērķus, kā, piemēram, palielinātu un ilgtermiņā uzturētu augsnes auglību.

Augsnes sēnes ir viens no svarīgākajiem augsnes biomasas komponentiem, kam ir liela nozīme ekosistēmā notiekošo procesu regulēšanā. Augsnes sastāvā var būt patogēnas, saprofitiskas un mikorizālās simbiozes sēnes (Fogel 1980; Hawgsworth 1991), tomēr ne visām šīm sēnēm līdz šim veltīts pietiekoši daudz uzmanības.

Mikorizu veidojošās sēnes uzskata par vienu no būtiskākajiem augsnes organismiem (Power, Mills 1995). Termins „mikoriza” (*mycorrhiza*, grieķu *mykes*, sēne un *rhiza*, sakne) apraksta asociāciju starp sēni un augu tā sakņu līmenī. Ir zināmas vairākas mikorizu definīcijas (Wicklow-Howard 1994; Sylvia 2005; Davies 2011), taču mēs savos pētījumos (ietverot briofītus, kuriem sakņu nav) balstāmies uz definīciju, kurā mikoriza ir funkcionālas attiecības starp augu un sēni (Davies 2011).

1.1. Mikorizas izcelsme, evolūcija un tipi

Dati par embriofītu augu izcelšanos uz sauszemes iegūti jau no pārakmeņojumiem, kas attiecas uz Ordovika perioda vidusdaļu (Strother *et al.* 1996). Uzskata, ka sauszemes kolonizācija ar embriofītiem (Kenrick, Crane 1997) nebūtu notikusi tik veiksmīgi bez sadarbības starp augiem un sēnēm (Pirozynski, Malloch 1975). Iespējams, ka šī asociācija ir veicinājusi arī augu daudzveidību un atšķirības dažādās mūsdienu vidēs, kā, piemēram, tuksnešu, tropisko lietus mežu un mērenās joslas mežu ekosistēmās.

Fosiliju dati liecina, ka mūsdienu AM sēņu tipiskās struktūras (hifas un sporas) eksistēja jau pirms 460 miljoniem gadu – laikā, kad sēņu galvenie potenciālie partneri, visticamāk, bija aknu sūnām līdzīgi briofīti (Redecker *et al.* 2000). Šo partnerību starp augiem un sēnēm 1885. gadā A.B. Franks nosauca par „mikorizu” – „sēnes sakni”. Polisporangiofīta *Aglaophyton* fosilijas (Edwards 1986), kurās atrastas mikorizas sēnēm līdzīgas struktūras, ir novērtētas kā 400 miljonu gadus senas (Taylor *et al.* 1995). Mūsdienu Glomeromycota tipa pārstāvji lielākoties veido simbiozi ar vaskulārajiem augiem un briofītiem. Tomēr zināms, ka viena mikorizas sēņu suga (*Geosiphon pyriformis*) veido asociāciju arī ar ciānbaktērijām, tāpēc tiek pieņemts, ka šīs sēnes bija saistītas ar ciānbaktērijām vai aļģēm piekrastes biotopos vai

mitrājos jau pirms tam, kad tās sāka evolucionēt kopā ar agrīnajiem sauszemes augiem (Schüßler 2002).

Neraugoties uz mikorizu plašo izplatību pasaulē un simbiozes svarīgo funkcionālo nozīmi, dažās mūsdienu augu dzimtās nav konstatēta nekāda simbioze ar mikorizālām sēnēm. I. R. Sanders (2002) uzskata, ka vismaz tiem augiem, kas cēlušies no arbuskulāri-mikorizāliem senčiem, mikorizas zaudēšana ir notikusi evolūcijas ceļā. No otras puses, bazīdijsēņu (*Basidiomycetes*) filoģenētisko analīžu rezultātā konstatētas evolucionāras pārejas starp parazitiskām, saprotrofiskām un mutuālistiskām attiecībām ar augiem (Hibbett *et al.* 2000). Par šo evolucionāro nestabilitāti ir ziņojuši arī citu sēņu pētnieki (James *et al.* 2006).

Laika gaitā attīstījušās dažādas mikorizu formas. Līdz šim tās iedalītas septiņās galvenajās grupās. Ja nākotnē jauni morfoloģiski anatomiski vai molekulāri novērojumi sniegs pārliecinošus jaunus datus, iespējams, ka šo grupu skaits var palielināties (Peterson *et al.* 2004). 1.1.-1. tabulā uzskaitīti partneri šīm galvenajām grupām: arbuskulārajai mikorizai, ektomikorizai, ektendomikorizai, arbutoīdajai mikorizai, monotropoīdajai mikorizai, erikoīdajai mikorizai, orhideju mikorizai.

1.1.- 1. tabula. Svarīgāko mikorizu tipu augu un sēņu partneru taksonomija. Sēņu taksoni saīsinājumā no Glomeromycota, Ascomycota un Basidiomycota, augu taksoni no Bryo = Bryophyta, Pterido = Pteridophyta, Gymno = Gymnospermae un Angio = Angiospermae (pēc Smith, Read 2008 un Moore *et al.* 2011)

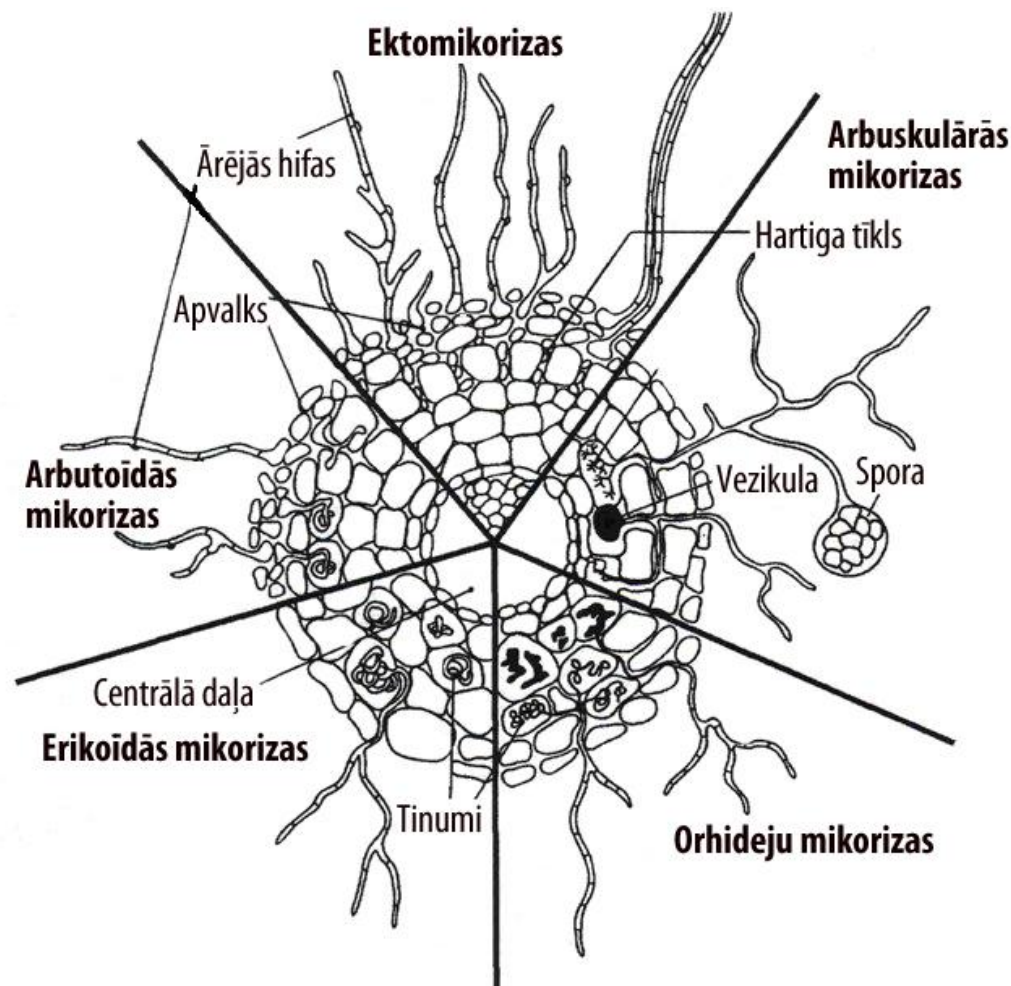
Taksoni	Mikorizas tips						
	Endomikorizas				Ektomikorizas		
	Arbusku lārā	Erikoīdā	Arbutoīdā	Mono tropoīdā	Orhideju	Ekto	Ektendo
Sēņu	Glomero	Asco Basidio/ Asco/ Glomero	Basidio	Basidio	Basidio	Basidio/ Asco /Glomero	Basidio/ Asco
Augu	Bryo Pterido Gymno Angio	Ericales Bryo	Ericales	Mono tropaceae	Orchid aceae	Gymno Angio	Gymno Angio

Ir noskaidrots, ka vairākas augu un sēņu sugas spēj veidot dažādus mikorizu tipus atkarībā no attiecīgā partnera, veidojot līdzīgas īpašības vai pat struktūras, kas ir dažādiem tiem (Smith, Read 2008). Iepriekš minēto mikorizu tipu galvenās struktūras un īpašības atspoguļotas 1.1.-2. tabulā.

1.1.-2. tabula. Svarīgāko mikorizu tipu raksturojums (pieaugušā stadijā) (pēc Smith, Read 2008). Apzīmējumi: + - struktūra sastopama, - struktūra nav sastopama.

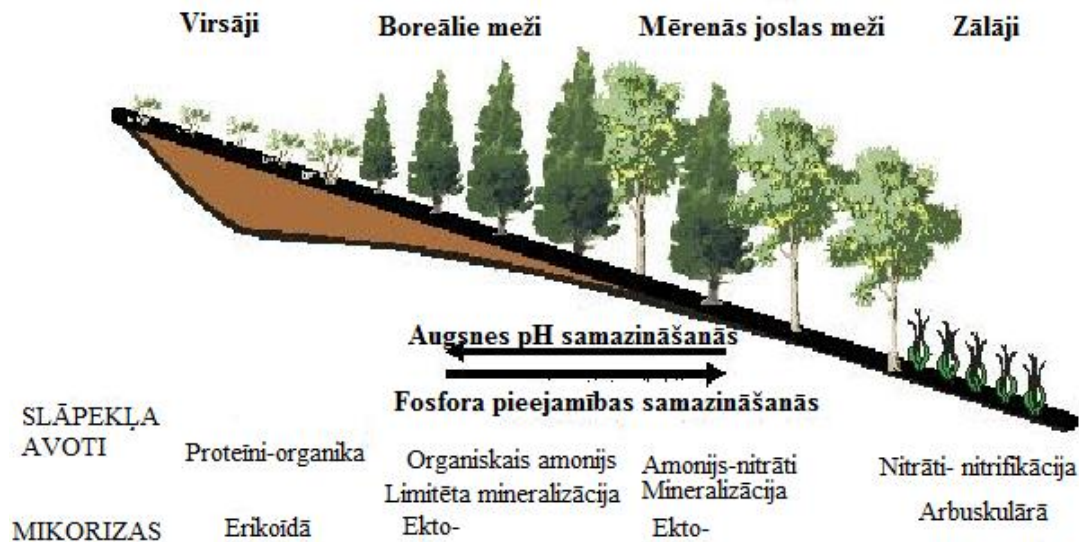
Struktūras	Arbuskulārā	Erikoīdā	Arbutoīdā	Monotropoīdā	Orhideju	Ekto	Ektendo
Septētas hifas	-	+	+	+	+	+	+
Aseptētas hifas	+	-	-	-	-	-	-
Iekššūnas hifas	+	+	+	+	+	-	+
Hifu mantija	-	-	+/-	+	-	+	+/-
Hartiga tīkls	-	-	+	+	-	+	+
Vezikulas	+/-	-	-	-	-	-	-

Ektomikorizām hifu mantija sastāv no sēņu hifām, kas blīvi ietver sakņu galus un aizvieto spurgaliņas un to funkciju. Nākot no mantijas, hifas caururbj rizodermu un ieaug saknē starp epidermas un saknes kortikālo slāni, izveidojot tā saukto Hartiga tīklu (Smith, Read 2008). Visiem līdz šim zināmajiem mikorizu tipiem, izņemot ektomikorizu, ir raksturīgas iekššūnu struktūras – hifas tieši iekļūst saknes šūnās un neaug tikai starp tām (intercelulāri). Iekššūnas struktūras var variēt dažādiem mikorizu tipiem: arbuskulārajai, arbutoīdajai un erikoīdajai mikorizai veidojas tinumi, orhideju mikorizas tinumveida struktūras sauc par pelotoniem. Monotropoīdās mikorizas iekššūnu proliferācijas struktūru sauc par iekššūnu sēņu tapu (*fungal peg*) (Smith, Read 2008). Arbuskulārās mikorizas tipiskākā iekššūnu struktūra ir arbuskula, kas devusi nosaukumu šai simbiozei (Brundrett 2004). Piecu izplatītāko mikorizu tipu svarīgāko struktūru grafisks apskats ir sniegts 1.1.-1. attēlā.



1.1.-1. attēls. Svarīgāko mikorizu tipu augšanas veidi un galvenās struktūras shematisks sakņu šķērs griezumā (modificēts no Selosse, Le Tacon (1988))

Dažādi mikorizu tipi savstarpēji atšķiras ne tikai ar strukturālajām īpašībām, bet arī ar globālo izplatību, kas cieši korelē ar attiecīgo funkcionālo nozīmi. Rīds un Perezs-Moreno (Read, Perez-Moreno 2003) ilustrēja galvenos gradientus, kas parāda kā pH, P un N attiecība, kā arī augstuma virs jūras līmeņa palielināšanās korelē ar erikoīdās, ekto un arbuskulārās mikorizas mainīgo sastopamību (1.1.-2.attēls). Redzams, ka dažādie mikorizu tipi ir sastopami saskaņā ar attiecīgo augu partneru ekoloģiskajām prasībām. Visvairāk augu sugu veido arbuskulāro mikorizu, tai seko orhideju un ektomikoriza. Kopumā ņemot, ektomikorizu veido koki, īpaši meža ekosistēmās (Courty *et al.* 2010) un krūmi, bet reti – lakstaugi, kuriem mērenā klimata apgabalos pārsvarā veidojas AM asociācijas (Smith, Read 2008). Tomēr tropu apvidos arbuskulāro mikorizu bieži konstatē arī koku saknēs (Smith, Read 2008).



1.1.-2. attēls. Vadošo mikorizu grupu izplatība saistībā ar vides gradientiem Ziemeļu puslodes biomās un to loma raksturīgāko augu funkcionālo grupu slāpekļa un fosfora uzņemšanā (pēc Read, Perez-Moreno 2003)

1.2. Arbuskulārā mikoriza

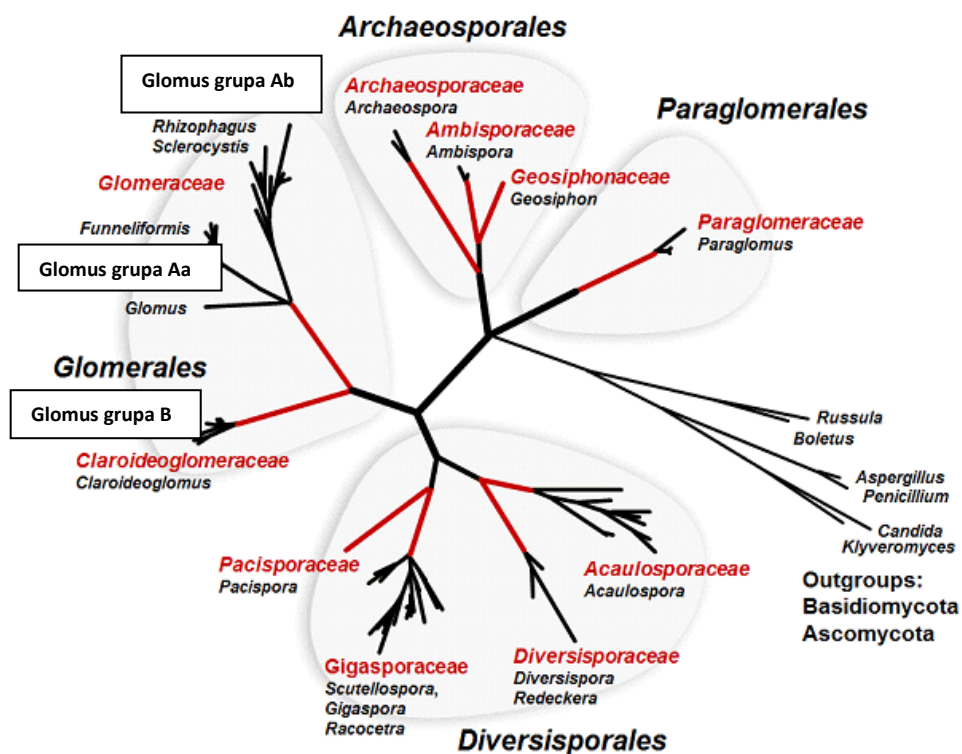
Augsnes mikroorganismi ar globālu izplatību, kuri veido simbiotiskas asociācijas ar 70 - 90% pasaules vaskulāro augu, ir arbuskulārās mikorizas (AM) tipam *Glomeromycota* piederošas sēnes (Smith, Read 2008). Pēdējos gados ir notikušas izmaiņas gan taksonomijā, gan veikti svarīgi ekoloģiski pētījumi par mikorizām.

1.2.1. Arbuskulārās mikorizas taksonomija un filoģenēze

Glomeromycota taksonomija izveidota pēdējos gadu desmitos, kaut gan AM sēņu dabiskās sistemātikas attīstīšana bija sākusies jau pirms šī tipa izveides (Smith, Read 2008). Kopš laika, kad AM sēnes tika klasificētas *Endogonaceae* dzimtā (*Endogonales*, *Zygomycota*) ir publicētas vairākas pārskatītas klasifikācijas. Tagad ir zināms, ka *Zygomycota* ir sēņu tips, kas nav monofilētisks (Schüßler *et al.* 2001). Sporu raksturlielumu kladistiskā analīze (Morton, Benny 1990) un taksonomija ne vienmēr atbilst dabiskajai klasifikācijai. AM neveido zigosporas, turklāt tās ir obligāti simbiotiski, pretēji citiem *Endogonales* pārstāvjiem. Vispirms AM sugas no *Endogone* iedalīja četrās jaunās ģintīs (Gerdemann, Trappe 1974) un publicēja pārskatītu *Endogonales* klasifikāciju (Morton, Benny 1990), kurā no *Endogonales* izdalīja jaunu rindu *Glomales*. Pēc tam Šuslers (Schüßler *et al.* 2001) AM sēnēm izveidoja jaunu tipu *Glomeromycota*. Minētie autori izveidoja augstāko sēņu taksonu filoģenētisko koku, izmantojot ribonukleīnskābes (RNS) gēnu sekvences. Šajā filoģenēzē *Glomeromycota* veido labi izteiktu monofilētisku grupu, kamēr polifilētiskās *Zygomycota* ir atsevišķi

(Schüßler *et al.* 2001). Pilnīgāku filoģenēzi publicēja Džeimss (James *et al.* 2006). *Glomeromycota* ir līdzvērtīga grupa *Basidiomycota* un *Ascomycota* (Schüßler *et al.* 2001; Tehler *et al.* 2003).

Zinātnieki pārliecinājās, ka klasifikācijai jāņem vērā gan morfoloģiskās, gan filoģenētiskās analīzes, un šajā kontekstā Mortons un Redekers (2001) aprakstīja divas jaunas dzimtas *Archaeosporaceae* un *Paraglomeraceae*. Dažas šo dzimtu sugas iepriekš tika iekļautas ģintī *Glomus* no *Glomeraceae* dzimtas (Schwarzott *et al.* 2001). Turpmāk detalizēti šo vislielāko ģinti analizēja un izmainīja dzimtu struktūru, iedalot atlikušos *Glomeraceae* divās dzimtās *Diversisporaceae* un *Glomeraceae*, kas sastāv no divām apakšgrupām: *Glomus* grupās Aa un Ab, *Glomus* grupā B. Šīs apakšgrupas pārstāv divi zari kladistikas diagrammā, kuru filoģenētiskā distance ir līdzīga distancei starp citām dzimtām (1.2.1.-1. attēls).



1.2.1.-1. attēls. AM sēņu filoģenētiskais koks (modificēts no Schüßler *et al.* 2001; Schüßler and Walker 2010).

Nākošais papildinājums sistemātikā bija *Ambisporaceae* izdalīšana parafilētiskās ģints *Archaeospora* ietvaros, bet dzimta *Archeosporaceae* tika saglabāta ar tās tipa sugu (Walker *et al.* 2007). Pēc tam izveidoja jaunu dzimtu - *Entrophosporaceae* (Sieverding, Oehl 2006), tomēr tās filoģenētiskā vieta ir joprojām neskaidra. Citas nesen izveidotas dzimtas un ģintis, kas izveidotas sadalot *Gigasporaceae* (Oehl *et al.* 2008) vēl zinātniskajā literatūrā nav pietiekami pierādītas. Pašreizējā AMF klasifikācija ir atspoguļota 1.2.1.-1. tabulā.

1.2.1.-1. tabula. AM klasifikācija un sugu skaits (pēc Schüßler, Walker 2010; Oehl 2011)

Rindas	Dzimtas	Ģintis	Sugu skaits
Glomales	Glomaceae	<i>Glomales</i>	76
		<i>Funneliformis</i>	11
		<i>Sclerocystis</i>	10
		<i>Rhizophagus</i>	9
	Claroideoglomeraceae	<i>Claroideoglopus</i>	6
Diversisporales	Gigasporaceae	<i>Gigaspora</i>	7
	Scutellosporaceae	<i>Scutellospora</i>	24
	Racocetraceae	<i>Racocetra</i>	11
	Dentiscutataceae	<i>Dentiscutata</i>	2
		<i>Quatunica</i>	2
		<i>Fusculata</i>	2
	Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i>	34
		<i>Kuklospora</i>	1
	Entrophosporaceae	<i>Entrophospora</i>	2
	Pacisporaceae	<i>Pacispora</i>	7
	Divesisporaceae	<i>Diversispora</i>	5
		<i>Tricispora</i>	1
		<i>Otopora</i>	1
<i>Redeckeria</i>		3	
Paraglomerales	Paraglomeraceae	<i>Paraglopus</i>	3
Archeosporales	Geosiphonaceae	<i>Geosiphon</i>	1
	Ambisporaceae	<i>Ambispora</i>	9
	Archeosporaceae	<i>Archeospora</i>	2

Jaunu aprakstu un papildinājumu vēsture norāda, ka taksonu izpratne tiek pielāgota dabiskai klasifikācijai. Pirms filoģenētisko DNS analīžu izveidošanas izmantoja lipīdu analīzes, ko papildināja ar taksonomiskiem pieņēmumiem (Sancholle, Dalpé 1993). Tomēr taksonomija gandrīz pilnībā balstījās uz sporu morfoloģiskajām un anatomiskajām pazīmēm un to attīstības stadijām, jo citu AMF struktūru morfoloģiskās atšķirības ir samērā nelielas. Vairākās AM ģintīs ir tādas sporu morfoloģiskās pazīmes, kuras var viegli novērot, piemēram, sporu veidošanās veids (Redecker, Raab 2006). Tādēļ ir nepieciešamas detalizētas mikroskopiskās analīzes, lai saskatītu sporu apvalku slāņus.

Līdz 2011. gadam *Glomeromycota* sistemātika tika vēlreiz pārskatīta. Vairāki autori akceptē *Glomeromycetes* klasi, piecas rindas (*Archaeosporales*, *Diversisporales*, *Gigasporales*, *Glomerales* un *Paraglomerales*), 14 dzimtas un 29 ģintis un apmēram 230

sugas (Morton, Redecker 2001; Schüßler *et al.* 2001; Oehl, Sieverding 2004; Walker, Schüßler 2004; Sieverding, Oehl 2006; Oehl *et al.* 2008; Oehl *et al.* 2011) (1.2.1-2. tabula).

Pirmo endogēno sporu tipu noteikšanas atslēgu izveidoja Mosse un Bovens (Mosse, Bowen 1968). Sporu veidošanās īpatnības ir svarīgs kritērijs ģinšu noteikšanai. Ģinšu *Glomus* (Berch, Fortin 1984), *Pacispora* (Oehl, Sieverding 2004), *Diversispora* (Walker, Schüßler 2004), *Ambispora* (Walker *et al.* 2007) un *Paraglomus* (Morton, Redecker 2001) sugām sporas veidojas hifu galu plastiskās paplašināšanās ceļā (glomoidās sporas). Bet ģintī *Ambispora* sastopams arī otrs sporu tips (pat vienai un tai pašai „dimorfiskai” sugai), kas ir tipisks ģintīm *Acaulospora* (Gerdemann, Trappe 1974) un *Archaeospora* (*A. trappei*), (Morton, Redecker 2001). Sporu nesēja maisiņš blastiski veidojas hifas galā un akaulosporoīdā spora attīstās pie maisiņa kakla. Pretēji tam, *Entrophospora* (Ames, Schneider 1979) sporas veidojas tieši no maisiņa kakla nevis laterāli, hifas iekšienē – entrosporoīdā sporu veidošanās. Ceturtais gigasporoīdais ir raksturīgs gan *Gigaspora* (Gerdemann, Trappe 1974), gan *Scutellospora* (Walker, Sanders 1986) ģintīm. Sporas veidojas uz sporogēnās šūnas, kuras lielums ir 25 – 50 μm.

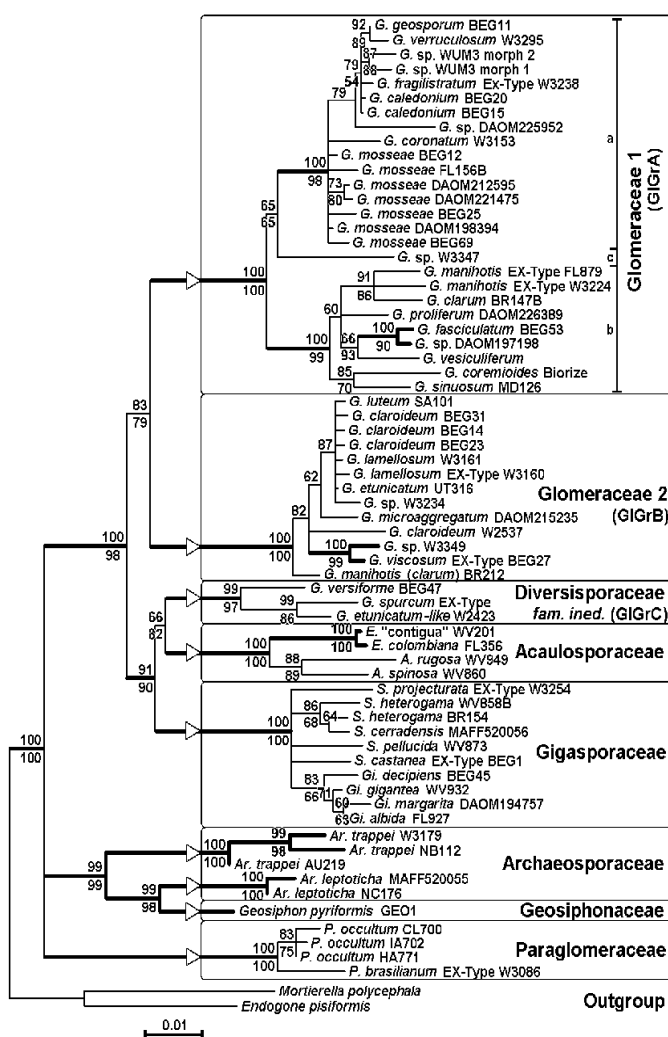
Citas sporu raksturīgās īpašības ir, piemēram, elastīgas iekšējās sienas esamība vai neesamība, un dīgšanas tips: dīgšana notiek caur hifas saiti – piestiprinājumu (*Glomus*) un caur sporas apvalku. Pēdējam dīgšanas tipam dīgļcaurulītes var veidoties no dīgšanas lodes (*Pacispora*), dīgšanas vairoga (*Scutellospora*) vai no kārpainā slāņa, kas ir tipisks *Gigaspora* (Blaszkowski 2012). Tomēr šīs īpašības ir daļēji specifiskas ģintij, tādēļ sugu aprakstīšanai vai noteikšanai nepieciešami turpmāki detalizēti novērojumi. Bez tam jaunākos sugu aprakstus vai to labojumus papildina ar sekvenču analīzi (Aut.).

1.2.1.-2. tabula. Arbuskulāro mikorizu sēņu klasifikācija (pēc Schüßler, Walker 2010)

Arbuskulārās mikorizas sēņu klasifikācija
GLOMEROMYCOTA C. Walker & A. Schüssler
GLOMEROMYCETES Cavalier-Smith
ARCHEOSPORALES C. Walker & A. Schüssler
Ambiporaceae C. Walker, Vestberg & A. Schüssler
<i>Ambispora</i> C. Walker, Vestberg & A. Schüssler
Archeosporaceae J.B. Morton & D. Redecker
<i>Archaeospora</i> J.B. Morton & D. Redecker
<i>Intraspora</i> Oehl & Sieverd.
Geosiphonaceae Engler & E. Gilg
<i>Geosiphon</i> F. Wettst.
DIVERSISPORALES C. Walker & A. Schüssler
Acaulosporaceae J.B. Morton & Benny
<i>Acaulospora</i> Gerd. & Trappe (= <i>Kuklospora</i> Oehl & Sieverd.)
Diversisporaceae C. Walker & A. Schüssler
Diversispora C. Walker & A. Schüssler
<i>Otophora</i> Oehl, Palenz. & N. Ferrol
Entrophosporaceae Oehl & Sieverd.
<i>Entrophospora</i> R.N. Ames & R.W. Schneid.
Gigasporaceae J.B. Morton & Benny
<i>Gigaspora</i> Gerd & Trappe
<i>Racocetra</i> Oehl, F.A. Souza & Sieverd.
<i>Scutellospora</i> C. Walker, Błszk., A. Schüssler
Pacisporaceae C. Walker, Błszk., A. Schüssler & Schwarzott
<i>Pacispora</i> Oehl & Sieverd.
GLOMERALES J.B. Morton & Benny
Glomeraceae Piroz. & Dalpé
<i>Glomus</i> Tul. & C. Tul
PARAGLOMERALES C. Walker & A. Schüssler
Paraglomeraceae J.B. Morton & D. Redecker
<i>Paraglomus</i> J.B. Morton & D. Redecker

Borstlers (Börstler *et al.* 2008) Salīdzinot pašreizējo filoģenēzi un klasifikāciju (1.2.1.-2. attēls), norādīja uz neatbilstībām, kas norādīja uz nepieciešamību pārskatīt ģints koncepciju, it īpaši, *Glomus* ģintij, jo, ņemot vērā filoģenētiskos rādītājus, šī ģints nav salīdzināma ar citām. *Glomeraceae* pārstāv divas, ja ne vēl vairākas dažādas dzimtas, un vairākas *Glomus* sugas, kuras ietilpst *Diversisporaceae* dzimtā (1.2.1.-2. attēls). Šobrīd no jauna izveidoti sugu apraksti, kas pamatojas uz struktūru novērojumiem un filoģenētisko analīzi. Līdz šim zināmas un aprakstītas **232 AM sēņu sugas**, no kurām 50 atrastas pēdējos

10 gados un vairums ir bieži sastopamas, bet atsevišķas ir retas un saistītas ar specifiskiem augiem vai specifiskiem biotopiem.



1.2.1.-2. attēls. Glomeromycota filoģenētiskais koks (balstīts uz SSU rDNS sekvencēm), īpaši fokusēts uz *Glomus* ģinti, (norādot dažādas *Glomus* grupas atšķirīgās dzimtās) (pēc Schüßler, Walker 2010 pēc Börstler 2008).

AM sēņu taksonomija un sugu apraksti apkopoti internetā vietnē <http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota/Taxonomy.html>, kas tika izmantota šā darba izstrādāšanā.

Pētnieks F. Oehl (2011) izdala galvenās morfoloģiskās pazīmes visām līdz šim zināmajām AMF dzimtām (1.2.1.-3. tabula) un šīs pazīmes izmantotas, izstrādājot šo promocijas darbu.

1.2.1.-3. tabula. Galvenās morfoloģiskās pazīmes arbuskulārās mikorizas ģintīm. Sporu veidošanās, sporu apvalku skaits un struktūru krāsošana ar tripānzilo (pēc Oehl 2011)

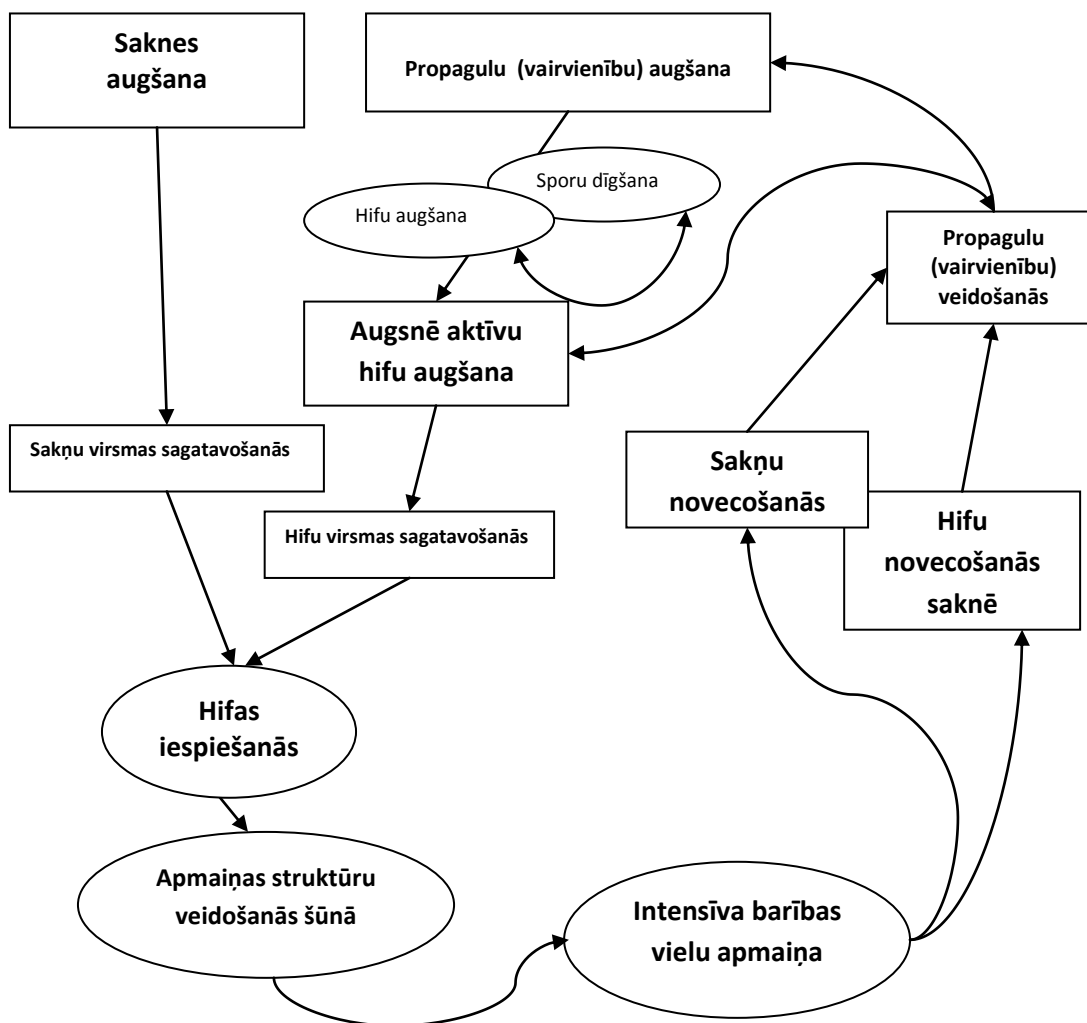
Dzimta	Ģints	Sporu veidošanās	Sporas apvalku skaits	Morfoloģiskās struktūras; krāsošana ar tripānzilo
Diversisporaceae	<i>Tricispora</i>	Entrosporoīda	2	V,A,H; tumši zila
	<i>Otospora</i>	Acaulosporoīda	2	V,A,H; tumši zila
	<i>Diversispora</i>	Glomoīda	1	V,A,H; tumši zila
	<i>Redeckera</i>	Glomoīda	1	La V,A,H; tumši zila
Acaulosporaceae	<i>Kuklospora</i>	Entrosporoīda	3	V,A,H; tumši zila
	<i>Acaulospora</i>	Acaulosporoīda	3	V,A,H; tumši zila
Sacculosporaceae	<i>Sacculospora</i>	Entrosporoīda	3	V,A,H; zila
Pacisporaceae	<i>Pacispora</i>	Pacisporoīda	2	V,A,H; tumši zila
Scutellosporaceae	<i>Orbispora</i>	Skutellosporoīda	2	V,A,H; tumši zila
	<i>Scutellospora</i>	Skutellosporoīda		
Gigasporaceae	<i>Gigaspora</i>	Gigasporoīda	1	A,H; zila
Dentiscutataceae	<i>Dentiscutata</i>	Skutellosporoīda	2	V,A,H; tumši zila
	<i>Quatunica</i>	Skutellosporoīda	2	V,A,H; tumši zila
	<i>Fusculata</i>	Skutellosporoīda	2	V,A,H; tumši zila
Racocetraceae	<i>Cetraspora</i>	Skutellosporoīda	2	V,A,H; tumši zila
	<i>Racocetra</i>	Skutellosporoīda	2	V,A,H; tumši zila
Entrophosporaceae	<i>Viscospora</i>	Glomoīda	1	V,A,H; tumši zila
	<i>Claroideoglofus</i>	Glomoīda	1	V,A,H; tumši zila
	<i>Entrophospora</i>	Entrosporoīds	2	V,A,H; tumši zila
	<i>Albahypha</i>	Glomoīda	1	
Glomeraceae	<i>Simiglofus</i>	Glomoīda – Simiglomoīda	1	V,A,H; tumši zila V,A,H; tumši zila
	<i>Funelliformis</i>	Glomoīda Glomoīda	1	V,A,H; tumši zila
	<i>Septoglofus</i>	Glomoīda	1	V,A,H; tumši zila
	<i>Glomus</i>		1	
Ambisporaceae	<i>Ambispora</i>	Akaulo-Glomo-ambisporoīda	1	V,A,H gaiši zila
Geosiphonaceae	<i>Geosiphon</i>	Glomoīda	1	Asociācija ar cianobaktērijām
Archaeosporaceae	<i>Intraspora</i>	Entro-Glomo-Intrasporoīda	1	V,A,H; gaiši zila A,H; gaiši zila
	<i>Archaeospora</i>	Akaulo-Glomo-Arheosporoīda	1	
Paraglomeraceae	<i>Paraglofus</i>	Glomoīda	1	V,A,H; gaiši zila

Salīdzinājumā ar daudzu augu un dzīvnieku klasifikāciju, kas ir labi attīstīta sugas līmenī, AM sēnēm sugas koncepcija nepastarpināti ir grūti izmantojama. Saskaņā ar sugas bioloģisko koncepciju (Dobzansky 1937 pēc Börstler *et al.* 2008), divi organismi pieder pie vienas un tās pašas sugas, ja tie rada auglīgus pēcnācējus. Šo definīciju nav viegli attiecināt uz AM sēnēm, kuras pašlaik uzskata par aseksuālām, tādēļ AMF sugas koncepcija joprojām balstās uz sporu raksturīgajām īpašībām (Smith, Read 2008). Tomēr pētījumos pieaugošais dezoksiribonukleīnskābes (DNS) sekvenču skaits atklāj daudzus jaunus filotipus, kurus nevar attiecināt uz zināmajām sugām (Kottke *et al.* 2008; Öpik *et al.* 2008, pēc Börstler *et al.* 2008). Šie filotipi varētu pārstāvēt līdz šim neatpazītas sugas, kas liek domāt, ka AM sēņu sugu bagātība līdz šim ir nepietiekami novērtēta. Ir zināmi pētījumu dati, ka pat vienas un tās pašas sugas izolātu ģenētiskā daudzveidība atspoguļo daudzveidību attīstībā, funkcijās un simbiotiskajā darbībā, tātad, fenotipiskajā līmenī (Koch 2004; Munkvol *et al.* 2004).

Kādā pētījumā tika pieņemts, ka anastomozes (hifu šķērstilti) ir sastopamas tikai viena izolāta ietvaros, un tas ir parādīts *G. mosseae* un *G. intraradices* gadījumā (Giovanetti *et al.* 2004; Voets *et al.* 2006). Tomēr salīdzinoši nesen Croll *et al.* (2009) parādīja anostomozes un ģenētisko apmaiņu starp vienas *G. intraradices* populācijas dažādiem izolātiem un *in vitro* tika apstiprināta rekombinācija (Croll, Sanders 2009). Šie novērojumi varētu būt noderīgi pašlaik apspriestās AMF sugas koncepcijas pārskatīšanai.

1.2. 2. Arbuskulārās mikorizas dzīves cikls

AM dzīves cikla pētījumi veikti vairākkārt, galvenokārt pētot *Glomus* ģints izolātus *in vitro* (Friese, Allen 1991; Dalpe *et al.* 2005). Šo pētījumu rezultātā *Glomus* sugām dzīves ciklā izdalāmi vairāki galvenie posmi (Brundrett 2008). Tā, Frīze un Allens (Friese, Allen 1991) AM dzīves ciklā līdz simbiozes izveidošanai izdala četrus mikorizas augšanas un attīstības posmus (propagulu (vairvienību) dīgšanas fāze; presimbiotiskā micēlija fāze; auga saknes un sēnes kontakta fāze; simbiozes fāze), bet Brundrets (Brundrett 2008) šo shēmu papildina ar procesiem līdz jaunu nobriedušu propagulu veidošanai (1.2.2.-1. attēls).



1.2.2.-1. attēls. Shematisks AM dzīves cikls (sagatavots pēc Brundrett 2008).

Visos līdz šim publicētajos aprakstos dzīves cikls tiek attēlots, tam sākoties ar propagulām, kuras var būt gan augsnē, gan augu saknēs. AM sēņu propagulas ir sporas, sakņu fragmenti, kas satur hifas, sporas un vezikulas (uzkrāšanas struktūras) un sēņu hifas augsnē (Tommerup, Abbott 1981).

Noskaidrots, ka ir svarīgi, lai inficēt spējīgas propagulas augsnē būtu sastopamas saknes aktīvās augšanas laikā, jo saknēm ir ierobežots jutīguma periods (Brundrett, Kendrick 1990) un efektīvas asociācijas veidošanai ir nepieciešama ātra sakņu sistēmas kolonizācija (Abbott, Robson 1984). Augsnē esošās lielā izmēra AM sporas daudzi autori uzskata par vissvarīgāko inokuluma avotu, tomēr to skaits bieži vien vāji korelē ar mikorizas intensitāti (Abbott, Robson 1984). Sporu veidošanos ietekmē vairāki faktori, tostarp arī saimniekaugs un fakts, ka augsne ekosistēmās bieži satur maz dzīvu sporu (Read *et al.* 1976; Brundrett, Kendrick 1988). AM sēņu dzīvās sporas, kas ir augsnē, var nefunkcionēt kā propagulas, vairāku iemeslu dēļ - nepiemērotu augsnes apstākļu dēļ, vai arī tām ir dabisks miera periods, kas tām palīdz izdzīvot nelabvēlīgos laika apstākļos (Tommerup 1987). Iespējams, ka AM sporu saturu palīdz aizsargāt melanīni un sēņu pigmenti, bet dažkārt arī tādas struktūras, kā veci

sēklapvalki (Daniels, Hetrick 1984). Pētnieki visbiežāk uzskata, ka sporas ir izturīgākas pret nelabvēlīgiem apstākļiem nekā citas AM sēņu propagulas (Abbott, Robson 1990). Vāja korelācija starp sporu skaitu un mikorizas veidošanās sākumu, kā arī straujais (dažu dienu laikā) AM infekcijas sākums, kas notiek ekosistēmās liecina, ka bieži vien galvenais inokuluma avots ir jau iepriekš eksistējošs hifu tīkls (Jasper *et al.* 1989; McGee 1989 pēc Brundrett 2009). Atmirušu sakņu fragmenti, kas ir augsnē, arī var aizsākt AM, ja vien tie ir tiešā jauno sakņu tuvumā (McGee 1987). Vezikulas, ko veido daudzas AM sēnes (paresninājumi, kas satur citoplazmu un lipīdus), tiek uzskatītas par pagaidu uzkrājējorgāniem, bet tām bieži ir sarežģītas daudzslāņu sienas, līdzīgi sporām. Tās var funkcionēt kā propagulas. Konstatēts, ka dažiem augiem lapu koku mežā ir saknes, kurām 2-10 gadus saglabājas dzīva miza bez sekundārās augšanas, un šajās saknēs bija AM sēņu neaktīvas hifas un sporas (Brundrett, Kendrick 1988). Uzskata, ka augi ar daudzgadīgām saknēm, kurās saglabājas AM sēnes, var funkcionēt kā galvenie mutuālisti, kas sniedz labumu arī citiem saimniekaugiem (Brundrett, Kendrick 1990). Vairāki pētnieki uzskata, ka mikorizu sēņu aktivitāte, ko var izmērīt, nosakot mikorizālu sakņu un sporu klātbūtni, pārsvarā notiek tuvu augsnes virsmai, bet propagulu var būt vairāk lielākā dziļumā (līdz 2-4 metri) (Virginia *et al.* 1986).

Sēnes sporas dīgst bez saimniekauga klātbūtnes (Smith, Read 2008) un snaudošās sporas dīgšanai seko īsa *eksploratīvā* micēlija veidošanās. Ja tiek uztverti auga eksudāti, ko izdala saimnieka sakne, tas izraisa pastiprinātu hifu zarošanos, palielinot iespēju rasties tiešam kontaktam starp simbiontiem (1.2.2.-1. attēls). Tiek uzskatīts, ka jebkurai asociācijai izšķirošs solis ir partneru atpazīšana, kas ir labi izpētīta gumiņbaktēriju un tauriņziežu simbiozes gadījumā (Madigan *et al.* 2000). Līdzīgi šīm partnerattiecībām sakņu eksudāti darbojas kā iniciētājfaktori arī AM veidošanās procesā. Salīdzinoši nesen kā viens no sakņu eksudātu komponentiem, kas stimulē hifu augšanu un zarošanos, kā arī AM sporu dīgšanu, tika identificēti strigolaktoni (Akiyama *et al.* 2005). Lai gan ir zināmas atšķirības attīstībā, gumiņbaktēriju simbiozes un AM izmanto tos pašus komponentus (vismaz septiņas olbaltumvielas), kas atrodami kopējā tauriņziežu signālsistēmā (Sym) (Kosuta *et al.* 2008). Tādējādi iespējams, ka dažādie rizobiālie un mikorizālie signāli (Nod faktori un Myc faktori) rezultējas kopējā signālsistēmā, taču iegūtais rezultāts katrā simbiozē ir atšķirīgs (Kosuta *et al.* 2008). Tiek uzskatīts, ka AM gadījumā Myc faktori ierosina kalcija līmeņa izmaiņas saknes epidermas šūnu citoplazmā un aktivē auga gēnus, kas saistīti ar simbiozi (Kosuta *et al.* 2008).

Šīs mijiedarbības otrais posms ir sēnes piestiprināšanās pie saimnieauga saknes. AM sēnes veido īpašas apresorijas, lai iekļūtu epidermā; tās sauc par hifopodijām, un tās attīstās

nevis no dīglstobriem, kas ir tipiski patogēno sēņu apresorijām, bet no nobriedušām hifām (Bastmeyer *et al.* 2002). Pēc tam sēnes hifas iekļūšanu epidermas šūnā veicina pats augs- tika noskaidrots pētījumā ar *Medicago truncatula* (Genre *et al.* 2005), kur novērots pre- penetrācijas aparāts – iekššūnu pagaidu struktūra, caur kuru aug hifa.

Nākamais posms ir intensīva barības vielu apmaiņa, jeb arbuskulārais cikls. Šis cikls ir variabls. *Triticum aestivum* arbuskulu veidošanās notiek 2 līdz 3 dienas, bet viss arbuskulārais cikls ilgst apmēram 7 dienas, kas saskan vecākiem pētījumiem (Brundrett *et al.* 1985). Tomēr Brundrets un Kendriks (Brundrett, Kendrick 1990) norāda, ka lēni augošos mežu augos arbuskulas ir ne tikai ilgmūžīgākas, bet tām ir arī platāki un robustāki zari. Līdz šim nav zināms kāpēc daudzos augos arbuskulām dzīves ilgums ir tik īss. Nevienu no piedāvātajiem izskaidrojumiem neapstiprina pierādījumi (pretēji idejai par sagremošanu) un šajos izskaidrojumos iekļauta saimnieka aizsargreakcijas izrādīšana pret pieaugošo sēņu kolonizāciju (Brundrett *et al.* 1985). Bet ir zināma arī teorija, ka saimnieka šūnas nav iesaistītas šajā procesā, bet tā ir programmēta sēnes šūnu nāve, kas pakļauta autolīzei.

Novērojot hifām, veidojas biezu šūnu vezikulas. *Scutellospora* un *Gigaspora* neveido vezikulas, bet to vietā veidojas palīgšūnas (auxiliary cells). Pārējās ģintis veido gan arbuskulas, gan vezikulas un hifas.

Pēc aktīvas vielu apmaiņas sākās saknes un hifu novecošanās fāze, kas sakrīt ar sporu un vezikulu veidošanos. Sakņu novecošanās saistās ar saknes mizas zaudēšanu un barības vielu atgriešanos no sēnes saknē un vienlaicīgi ar jaunu propagulu veidošanos.

1.2.3. Arbuskulārās mikorizas morfoloģija

Tipiskā endotrofā mikorizā sēnes micēlijs (hifas – no pieciem līdz septiņiem mikroniem) piepilda mizas parenhīmas šūnas līdz centrālajam cilindram. Sēnes nav sastopamas epidermas šūnās (Smith, Read 2008).

AM divas morfoloģiskās grupas, jeb mikorizu tipus identificēja Galluds (Gallaud 1904 pēc Smith, Read 2008) un nosauca tās par *Arum* un *Paris* tipiem – pēc pirmajiem aprakstītajiem augiem ar šīm struktūrām. Ir noskaidrots, ka *Arum* tipa mikorizas aug salīdzinoši strauji caur saknes mizu pa starpšūnu telpām un īsi hifu sānu zari caurauž mizas šūnas, un, zarojoties dihotomiski, veido tipiskās arbuskulas. Arbuskulas veido smalku zarojumu ar plāniem šūnapvalkiem. *Paris* tipa mikorizai raksturīgi ekstensīvi attīstīti iekššūnas hifu tinumi, kas izplatās no šūnas uz šūnu mizas robežās. Arbuskulas veidojas no hifu rituļiem. Novērota arī intercelulāra augšana, bet augšanas ātrums šim tipam ir daudz lēnāks nekā *Arum* tipam. Šis tips aprakstīts vairākām augu ģintīm, kā *Paris*, *Parnassia*,

Colchicum, *Gentianaceae*, *Erythronium*, *Trillium*, *Asarum* (Smith, Read 2008). Diksons (Dickson 2004), pētot 12 augu sugas ar konkrētām mikorizu sugām kolonizētās saknēs, izdalījis starp *Arum* un *Paris* vairākus pārejas tipus. Kubota (Kubota *et al.* 2005) secina, ka kolonizācijas morfoloģija ir atkarīga no sēnēm, kas kolonizē saimniekaugu, un no augsnes apstākļiem. Bet Ahulu (Ahulu *et al.* 2005) noskaidrojis, ka mūžzaļiem augiem ir galvenokārt *Paris* tipa AM atšķirībā no viengadīgajiem augiem, kam ir *Arum* tipa mikoriza.

Vairāki autori (Badini *et al.* 2000; Cavagnaro *et al.* 2001) noskaidrojuši, ka atsevišķas sugas - *G. mosseae*, *G. viscosum* - veido *Arum* tipa mikorizu daudzās augu sugās, tomēr ar *Smilax aspera* šīs sēnes veidojušas *Paris* tipa mikorizu. *Lycopersicon esculentum* inokulēts ar dažādām AM sugām, veido gan *Arum*, gan *Paris* tipa mikorizas. *Arum* tips ir raksturīgs lauksaimniecības kultūrām, bet *Paris* tips - dabiskajām ekosistēmām (Smith, Smith 1996; Smith, Smith 1997). Paralēli pētījumiem ar gaismas mikroskopu izmantojot elektronmikroskopu, vairākām augu dzimtām atrodami dažādi smalki veidojumi saknē, kas tomēr neatbilst *Arum* tipam raksturīgajām struktūrām. Diksons (2004), izanalizējis esošos rezultātus, *Arum* tipam izdalīja divus apakštipes. A apakštipes- lineāras hifas un pāra arbuskulas; A1 apakštipes – lineāras hifas un nepāra arbuskulas; *Paris* tipam izdalīja četrus apakštipes: I1 apakštipes – iekššūnas hifas, ar termināli veidotām arbuskulām iekšējā mizā un starpšūnu hifas ārējās šūnās; I2 – starpšūnu hifas ar arbuskulām un iekššūnas hifām; I3 – starpšūnu hifu tinumi, starpšūnu arbuskulas, iekššūnu hifu tinumi un iekššūnas hifas. Tā kā šīs abas morfoloģiskās grupas ir grūti diagnosticēt un ir zināmas vairākas starpformas, jautājums par mikorizu apakštipiem joprojām ir neskaidrs (Dickson, 2004).

1.2.4. Arbuskulārās mikorizas fenoloģija

Dabiskajās ekosistēmās konstatētas sezonālas svārstības sakņu augšanas un mikorizālās aktivitātes periodiskumā. Tās var būt pietiekami būtiskas, lai izmainītu augu mikorizālo statusu (Brundrett, Kendrick 1988; Allen 1989). Tomēr lapu koku mežu sabiedrībā netika konstatētas ievērojamas sezonālās svārstības daudzu lakstaugu mikorizālās kolonizācijas pakāpē, jo tikai daļa šo sakņu katru gadu tika aizvietotas ar jaunām (Brundrett, Kendrick 1988; Brundrett, Kendrick 1990). Šīm sugām bija augsts AM līmenis visos gadalaikos, bet aktīvas asociācijas ar arbuskulām bija tikai jaunākajās saknēs, kas veidoja tikai daļu no sakņu sistēmas. Citām lapu koku mežu augu sugām bija viengadīgas saknes ar labi izteiktiem augšanas un novecošanās periodiem un šeit tika konstatētas mikorizālās kolonizācijas līmeņa krasas pārejas. Minētās sezonālās AM izmaiņas regulēja sakņu fenoloģija, jo AM veidojās tikai jaunās saknēs un tām bija ierobežots aktivitātes periods (Brundrett, Kendrick 1990). Vidējās sezonālās svārstības mikorizācijas pakāpē Eiropas lapukoku meža augu saknēs (Mayr,

Godoy 1989) un sālā mitrāja augos (Van Duin *et al.* 1989) bija saistītas arī ar jaunu sakņu veidošanos augšanas sezonā. Konstatēts, ka mikorizas aizkavēja kādas graudzāles fenoloģisko fāzu nomaiņu (Allen, Allen 1986). Mikorizu simbiozes līmenis var korelēt ar vides apstākļiem, kuri valda tad, kad augi veido jaunas saknes. Tas novērots mērenās joslas lapu koku meža sabiedrībā. Šajā lapu koku meža sabiedrībā vairums sugu, kurām saknes auga vasarā (salīdzinoši siltā augsnē), bija mikorizālas, bet tām sugām, kurām saknes bija aktīvas pavasarī vai rudenī (relatīvi aukstā augsnē), mikorizu bija maz vai nebija nemaz (Brundrett, Kendrick 1988).

Kopumā jāsecina, ka mikorizu sezonālā dinamika dažādos biotopos ir atšķirīga un vairāk saistīta ar augu fenoloģiju un aktīvu sakņu augšanu. Tomēr ir salīdzinoši maz šādu pētījumu mērenās joslas biotopos.

1.2.5. Propagulu (vairvienību) banka un izplatīšanās

Lai AM izplatītos jaunās saknēs ir svarīgi, lai vides faktoru un augsnes ietekmē ekosistēmā varētu veidoties propagulas (vairvienības). Vairvienības - t.i. sporas, sakņu fragmenti, kas satur hifas un vezikulas un augsnes hifas parasti ir augsnes virspusē, bet hifas var būt dziļāk augsnē. Mikorizu sēņu infektivitāti vērtē pēc mikorizālu sakņu un sporu klātbūtnes. Tās parasti atrodas augsnes virspusē, bet var būt pat 2-4 m dziļumā (Virginia *et al.* 1986; Zajicek *et al.* 1986)

Sporu veidošanās AM ir atkarīga no daudziem faktoriem – temperatūras, apgaismojuma, mitruma, kā arī saimniekauga. Augsnes ekosistēmā ir maz dzīvotspējīgu sporu (Brundrett, Kendrick 1988), bet šīm sporām var nebūt propagulu funkcijas, tās var būt neaktīvas (jo augsnes apstākļi var būt nepiemēroti) vai tām var būt nepieciešams pēcbriedes periods. Pētnieki uzskata, ka sporas ir izturīgākas pret nelabvēlīgiem apstākļiem nekā citas propagulas (Abbott, Robson 1991).

Atsevišķi augošiem augiem lapu koku mežos ir 2-10 gadus dzīvojošas saknes bez sekundāras augšanas un tās satur neaktīvas hifas un vezikulas (Brundrett, Kendrick 1988), kas liek domāt, ka propagulu dzīves ilgums nav ļoti ierobežots. Liela daļa AM sēņu veido vezikulas (tās sastāv no citoplazmas un lipīdiem). Vezikulu forma var būt apaļa, ovāla, neregulāra, stūraina, ar vairāku slāņu sienām, kas ir atkarīgs no sugas (Smith, Read 2008). Tās ir īslaicīgas uzkrāšanas orgāns. Vezikulas var kļūt par vairvienībām, ja tās izolē no saknēm. AM sēnes vairojas un izplatās ar augsnes (bezdzimuma) sporām, micēlija fragmentiem un kolonizē saknes (Smith, Read 1997). Lielais sporu izmērs (30 – 700 μm) un to veidošanās augsnē ir iemesls ierobežotai sporu izplatībai (Molina *et al.* 1992). Izplatība notiek ar vēju, ūdeni un mazajiem dzīvniekiem (kā sliekas, grauzēji, sienāži u.c.). Ir zināms, ka atsevišķas

mezofaunas sugas (kolembolas un oribatīdu ērces) barojas ar AM sēņu hifām un sporām (Öpik *et al.* 2010).

Sīkākās *Glomus* sporas vējš izplata līdz pat 2 km attālumam (Warner *et al.* 1987) un vēja kā izplatīšanās aģenta loma, iespējams, ir nozīmīgāka vēja erodētās, atklātās ekosistēmās. Grauzējus uzskata par *Glomus* sporokarpus veidojošo sugu izplatītājiem un ir zināms, ka sporas, kas ekstrahētas no grauzēju ekskrementiem, nav zaudējušas spēju veidot mikorizu (Mangan, Adler 2002).

Augsts propagulu blīvums var būt saistīts ar strauju sēnes izplatību saknēs, kas ir svarīgi lauksaimniecības kultūrām. Raksturīgi, ka pēc primārās kolonizācijas no propagulām, ekstraradikālā micēlija augšana aizsāk pastiprinātu augsnes kolonizāciju ar sēnēm un tā rezultātā veidojas arī sekundārās infekcijas vienības, kas palielina savienojumu skaitu starp iekšējām sēņu struktūrām un ārējo micēliju. Primāros un sekundāros hifu iespiešanās punktus saknē ir gandrīz neiespējami atšķirt, tādēļ dati par faktoriem, kas ietekmē to veidošanos ir neskaidri (Allen 1989). Ja lauka augsnē propagulu ir maz, piemēram, erodētās vietās, kolonizācijas līmenis var būt zems (Allen 1989).

1.2.6. Sporu dīgstspēja un miera periods

Mikorizas sēnes aizņem noteiktu biotopu uz tūkstošiem gadu ar nelielām ģenētiskām izmaiņām (Trappe, Molina 1986) un AM sēņu sporas var saglabāt dīgstspēju vairākus gadus (McGee *et al.* 1997). Turklāt sporas var uzdīgt vairākas reizes jau pirms saimniekauga sastapšanas, tas ir, saimniekauga klātbūtne nav nepieciešama sporu dīgšanai (Bago *et al.* 1998). Vairāku sugu sporām ir raksturīgs miera periods. Neaktīvās (miera stāvoklī esošas) sporas veicina AM sēņu izdzīvošanu un uztur sporu banku augsnē. Miera stāvoklī esošu sporu definē kā tādu, kura neuzdīgst, kaut gan atrodas fizikālos un ķīmiskos apstākļos, kuri var nodrošināt acīmredzami morfoloģiski identisku tās pašas sugas sēņu sporu dīgšanu un hifu augšanu (Tommerup 1983). Domājams, ka šis ir fizioloģisks stāvoklis, kura pārtraukšanai nepieciešama aktivācija (Juge *et al.* 2002). Mērenā klimata apgabalos miera stāvoklis var būt svarīgs mehānisms sporu dīgšanas sinhronizācijai ar strauju sakņu augšanu un kolonizācijai piemērotu apstākļu izveidošanos (Tommerup 1985). Sporu miera stāvoklis un aktivācija kā atbildes reakcija uz specifiskiem signāliem ļauj izdzīvot augsnē, kad apstākļi ir nelabvēlīgi.

Ir zināmi eksperimentāli dati par to, ka sporu miera stāvoklis dažādām AM sēņu sugām ir atšķirīgs (Juge *et al.* 2002). Tomēr *Glomus mosseae* sugas robežās izolātiem no dažādām ģeogrāfiskām vietām miera stāvoklis vai nu nav konstatēts (Douds, Schenck 1991) vai arī šai sugai ir nepieciešama glabāšana zemā temperatūrā (+6 °C) (Hepper, Smith 1976) vai negatīvā

temperatūrā (-10 °C) (Safir *et al.* 1990), lai pārtrauktu miera stāvokli, kas norāda uz adaptāciju atšķirīgiem temperatūras režīmiem.

Pētījumā noskaidrots, ka mitrā augsnē *Glomus caledonium* un *G. monosporum* miera periods bija apmēram sešas nedēļas, un 12 nedēļas *Gigaspora calospora* (Tommerup 1983). Sausā augsnē šis periods samazinās līdz vienai nedēļai *Glomus* spp. un 6 nedēļām *Gigaspora calospora*. Tomēr, *Acaulospora laevis* sporu miera periods bija 6 mēneši gan sausā, gan mitrā augsnē (Tommerup 1983).

AM sēņu sporu dīgšanu un hifu augšanu var gan stimulēt, gan kavēt brīvi dzīvojošas baktērijas un sēnes, bet augu sakņu eksudāti var veicināt sporu dīgšanu un hifu augšanu augsnē rizosfēras zonā. Noskaidrots, ka sakņu eksudāti un flavonoīdi, ko tie satur, stimulē strauju sporu dīgšanu un hifu augšanu (Gianinnazzi-Pearson 1988). Zināms arī, ka sakņu izdalītās gaistošās vielas var stimulēt augsnē esošo hifu augšanu, dīgļcaurulītēm pozitīvi reaģējot uz sakņu izdalītajiem gaistošajiem savienojumiem (Gemma, Koske 1999). AM sporu dīgšanu un izdzīvošanu ietekmē arī augsnes mitrums, pH un sāļums.

1.2.7. Arbuskulārās mikorizas asociācijas

AM sēnes ir saistītas ar dažādu augu taksoniem, arī papardēm un aknu sūnu sporofītiem un pat gametofītiem (1.2.7.- 1.tabula) (Smith, Read 2008).

Vienu no detalizētākajiem darbiem par mikorizu sastopamību augu sugas līmenī publicēja britu pētnieki (Harley, Harley 1987). Nesen publicētā 3 617 augu sugu apskatā (Wang, Qiu 2006) parādīts, ka 92% augu dzimtu (80% sugu) potenciāli veido viena tipa mikorizu. Ļoti detalizētu apskatu par mikorizālām asociācijām nesen publicēja arī Brundrets (Brundrett 2009).

Smita un Rīds (Smith, Read 2007) uzskata, ka vairums sugu dzimtās *Chenopodiaceae*, *Brassicaceae*, *Caryophyllaceae*, *Polygonaceae*, *Juncaceae* un *Proteaceae* ir nemikorizālas, vai tikai vāji vai nepastāvīgi mikorizālas. Tomēr šādi vispārinājumi jāuztver piesardzīgi, jo daudzu sugu mikorizālais stāvoklis var būt atkarīgs no dažādiem faktoriem, piemēram, sezonāliem vai ģeogrāfiskiem kritērijiem, tādēļ viena un tā pati augu suga var būt sastopama gan mikorizālā, gan nemikorizālā stāvoklī. Arī bioloģiskās daudzveidības pētījumos, kas balstīti uz molekulāro marķieru gēniem (Börstler *et al.* 2006), vai mikroskopiskajās analīzes (Orlowska *et al.* 2002) AM sēnes atrastas augu sugās, kuras uzskatītas par tipiski nemikorizālām (Harley, Harley 2008). No otras puses, metodes, kas balstītas uz PCR (Polymerase Chain Reaction) jutību var noteikt arī pieķērušās, vai vāji kolonizējošas hifas, kas nav funkcionāli aktīvas AMS. Tādējādi mikorizālā stadija var tikt droši pierādīta tikai ar pētījumiem mikroskopā, izmantojot iekrāsošanas metodes. Daudzas augu sugas ir

nepietiekami izpētītas un detalizēti pētījumi par vidēm, kurās, kā iepriekš uzskatīja, aug galvenokārt nemikorizāli augi (sausie biotopi, mitrāji un sāls purvi) jau ir mainījuši agrākos pieņēmumus – jo vairāk pētījumu veic, jo vairāk sugu tiek atpazītas kā mikorizālas (Smith, Read 2008).

No iepriekš minētā pieņēmuma, ka iespējams aptuveni 200 000 augu sugas ir potenciālie saimnieki aptuveni 200 AM sēņu sugām izriet pieļāvums, ka katrai sēņu sugai jābūt daudziem saimniekiem (Smith, Read 2008). Molekulārie pētījumi parādījuši, ka vienu augu sugu var kolonizēt līdz 20 AM sēņu sugām (Fitter 2005). Tādējādi, agrākie pieņēmumi, ka AM neeksistē absolūts sugu specifiskums apstiprināti nesenos pētījumos (Stahl 1949; Gerdemann 1955, cit pēc Smith, Read 2008).

Tomēr nevar pilnībā izslēgt to, ka sēņu-augu asociācijās ir zināms specifiskums, jo daudzi secinājumi par sugu specifiskumu izriet no siltumnīcās veiktiem eksperimentiem (Smith, Read 2008). Bet tā ir mākslīga sistēma, kas var būt piemērota AM sēņu sugām, kuras pielāgojušās konkrētajiem apstākļiem. Vēl vairāk, izmainītā sugas koncepcija var palielināt sugas specifisku mijiedarbību iespējamību (Smith, Read 2008). Jaunākos pētījumos, kuros ietilpst AM sabiedrību molekulārās identifikācijas metodes, siltumnīcu eksperimenti, gan dabiskās ekosistēmās parādītas vismaz biežāk sastopamās sēņu-augu specifiskās mijiedarbības, vai pat pierādījumi tam, ka saimnieka specifiskumu var konstatēt dažām sugām starp daudzām nespecifiskām sugām (van der Heijden *et al.* 1998 a un 1998 b; Helgason *et al.* 2002; Vandenkoornhuyse *et al.* 2002; 2003; Gollotte *et al.* 2004; Johnson *et al.* 2005; Sýkorivá *et al.* 2007).

Viss iepriekš minētais kopumā ļauj secināt, ka līdz šim AMF asociācijās ar augiem nav novērots strikts saimnieka specifiskums.

Parasti viena biotopa augsne satur vairāk par vienu AM sēņu sugu un to bioloģiskā daudzveidība var būt salīdzinoši plaša un to apstiprina AM populāciju pētījumi visā pasaulē – Amerikas smilšainās kāpās ir ap 9 - 18 sugu (Koske 1987), tuksnešainās pļavās četras (Henkel *et al.* 1989), lauksaimniecības zemēs trīs līdz četras sugas, bet visvairāk sugu konstatēts prērijā – 21 (Hetrick, Bloom 1983).

AM sēnes reti ir augu sugām specifiskas, bet nekas nav zināms par to augu un sēnes savstarpējo mijiedarbību dabā. Augu sugu dabisko izplatību ierobežo to izturība pret vides apstākļiem, it sevišķi, zemām temperatūrām vai sausumu (Barbour *et al.* 1987). Domājams, ka AM ietekmē tie paši faktori – augsta vai zema temperatūra, mitrums, pH u.c. Ir zināmi pierādījumi, ka silto apgabalu izolāti dīgst pie augstākas temperatūras, bet auksto reģionu – pie zemākas (Schenck *et al.* 1975).

Brundrets (Brundrett *et al.* 1980) savā darbā par mikorizām dabiskās ekosistēmās ierosināja veikt pētījumus ar zināmiem vai atkārtot pētījumus ar jau pētītiem izolātiem. Šobrīd pasaulē ir izveidotas četras gēnu bankas, kurās tiek uzturēti dzīvotspējīgi sporu izolāti (Brundrett *et al.* 1980).

Ir noskaidrots, ka lielākā daļa AM sēņu sporulē sezonāli, vai arī lauka apstākļos neveido sporas vispār (Brundrett *et al.* 1999; Stutz, Morton 1996). *Gigaspora* un *Scutellospora* sugas konstatētas galvenokārt siltās un smilšainās augsnēs (Schenck *et al.* 1975; Koske 1981), bet *Acaulospora* biežāk ir sastopamas skābās augsnēs (Porter *et al.* 1987; Klironomos *et al.* 1993), un tā nav dominējošā ģints šo sēņu sabiedrībās (Gerdemann, Trappe 1974; Błaszkowski 1991).

1. 2.8. Arbuskulārās mikorizas sēņu globālā izplatība un aizsardzība

Tiek prognozēts, ka pasaulē ir no 0,5 līdz 9,9 miljoni sēņu sugu (Hawksworth 2001) un tieši arbuskulārā mikorizas sēnes ir viens no ekoloģiski svarīgākajiem organismiem uz planētas (Fitter *et al.* 2005).

AM veicina augsnes struktūras veidošanos ar hifu tīklu un tām veidojot proteīnu glomalīnu, kas uzlabo augsnes agregātu stabilitāti (Gadkar *et al.* 2006; Bedini *et al.* 2009). AM sēnes ir obligāti simbionti un līdz ar to apstiprina hipotēzi, ka sēnes kļūst retas, ja saimniekaugs ir reti sastopams. Atsevišķas sugas samazinās antropogēni ietekmētos biotopos (Gianianazzi-Perason *et al.* 1994; Helgason *et al.* 1998). Turklāt Opika (Öpik *et al.* 2010) parādīja, ka lielākā daļa SSU rRNA gēni virtuālajām sugām varētu būt endēmi kontinentiem, klimatiskajām zonām, ierosinot, ka Glomeromycota sugām ir limitēta izplatība.

Pagājušā gadsimta 90-gados Sieverdings (Sieverding 1991) agroekosistēmās konstatēja 5 līdz 15 AM sēņu sugas salīdzinājumā ar 25 līdz 30 sugām dabiskajās ekosistēmās. Helgasons (Helgason *et al.* 1998) konstatēja AM sēņu daudzveidības samazināšanos dabiskā ekosistēmā. Dumbrels (Dumbrell *et al.* 2011) izteica hipotēzi, ka globālā sasilšana var palielināt AM dominējošo sugu bagātību biotopā. Nav datu par invazīvajām AM sugām, taču, lietojot sēņu inokulus, kāda no sugām var kļūt par invazīvu (Schwartz *et al.* 2006).

Ar molekulārajām analīzēm pierādīts, ka *Gigasporaceae* un *Acaulosporaceae* dzimtu pārstāvju daudzveidība intensīvas lauksaimniecības rezultātā tiek apdraudēta. Tā Helgasons (Helgason *et al.* 1998) novērojis *Glomus* sekvenču (92%) dominanci lauksaimniecības zemēs kukurūzas saknēs, savukārt *Acaulospora* un *Scutellospora* sekvences bija galvenokārt tuvējā mežā.

Lauku apsaimniekošanas intensitāte dažādi ietekmē AM (Oehl *et al.* 2003, 2004, 2005; Hijri *et al.* 2006). Bioloģiskā lauksaimniecība salīdzinājumā ar tradicionālo neietekmē AM

sēņu daudzveidību (Oehl *et al.* 2004), tomēr zināms, ka intensīva lauksaimniecība un ilgstoša monokultūru audzēšana reducē AM daudzveidību (Hijri *et al.* 2006).

Molekulārie pētījumi parāda, ka *Gigasporaceae* pārstāvji ir jutīgi pret minerālmēsliem un pesticīdiem. Pēc minerālmēsli lietošanas pēc 8 gadiem samazinās *Gigaspora gigantea*, *Gigaspora margarita*, *Scutellospora calospora* un *Paraglomus occultum* sporu skaits, bet *Glomus intraradices* palielinās (Johnson 1993). Citi autori izpētījuši, ka augsnēs, kurās audzē graudaugus, nav *Scutellospora*, *Acaulospora* un *Entrophospora* ģinšu sugu salīdzinājumā ar augsnēm, kurās tos neaudzē (Jansa *et al.* 2002). Bioloģiskās lauksaimniecības zemēs *Acaulospora* sastāda 33%, bet *Scutellospora* 66% sekvenču (Hijri *et al.* 2006).

Intensīvi apsaimniekotos kukurūzas laukos *Scutellospora* divi ekotipi atrasti ļoti dziļi augsnē, norādot uz tendenci AM sēnēm ieņemt nišas, kuras netiek antropogēni (mehāniski vai ķīmiski) ietekmētas (Oehl *et al.* 2005)

Verburgens (Verburggen *et al.* 2010) izpētījis, ka atsevišķas sēņu sekvences *G. intraradices* bijis 79%, *G. mosseae* - 70%, bet *G. coronatum* - 67%. Noskaidrots, ka *Acaulosporaceae* un *Gigasporaceae* ir jutīga attiecībā uz CO₂ līmeni (Kilironomos *et al.* 2005).

Vairākas AM sēņu sugas tiek uzskatītas par endēmām, piemēram, *Otospora bareai* un *Acaulospora alpina*. Atsevišķas sugas ir kosmopolīti, piemēram, *G. mosseae* (Rosendahl *et al.* 2009), kas izolēti no lauksaimniecības zemēm un *G. intraradices*, kas ir pret augsnes mehāniskiem traucējumiem toleranta suga (Öpik *et al.* 2006; van der Hejden, Scheublin 2007).

Pirmais rezervāts AM aizsardzībai pasaulē izveidots UNESCO biosfēras rezervātā „Selva Pisana” Itālijā (Turrini *et al.* 2008). Tas izveidots Itālijas smilšu kāpu aizsardzībai, kur *Scutellospora fulgida* un *S. persica* ir regulāri komponenti *Ammophila arenaria* un *Helichrysum stoechas* rizosfērā (Turrini *et al.* 2008). Tieši jaunu un retu sugu identificēšana būtu nākotnes uzdevums zinātniekiem.

1.3. Mikorizu ietekmējošie faktori

Ir noskaidrots, ka apmēram 80% vaskulāro augu dzimtu, papardes un brioīti ir ar mikorizu asociācijām. Tās regulē saimniekaugs un sēne (1.3.-1. attēls), kā arī ietekmē mikorizu asociācijas sastopamību un efektivitāti. Mikorizu veidošanos nosaka: (i) sakņu īpatnības, (ii) edafiskie un klimatiskie faktori, (iii) augsnes organismi, (iv) augsnes traucējums, (v) sēnes-saimniekauga saderība (Brundrett 2009).



1.3.-1. attēls. Mikorizu asociācijas ir trīs faktoru ietekme starp mikorizas sēnēm saimniekaugu un vides un augsnes apstākļiem (pēc Brundrett 2009).

1.3.1. Biotiskie faktori

AM simbiozes veidošanās ievērojami izmaina saimniekauga fizioloģiju, izmaiņas skar dažādus aspektus no hormonu līdzsvara svārstībām un transkripcijas profila līdz izmainītai primārajam un sekundārajam metabolismam (Liu *et al.* 2007; Harley, Smith 1983). Šai augu funkciju „pārprogrammēšanai” ir ietekme uz augu mijiedarbību uz vidi, izmainot auga atbildes reakcijas uz abiotiskiem un biotiskiem stresiem. Tā rezultātā, mikorizālie augi ir izturīgāki pret vides stresiem. Šo mijiedarbību sekas pārsniedz indivīda līmeni, jo var ietekmēt auga daudzveidību vai produktivitāti sauszemes ekosistēmās. Jāatzīmē, ka simbiozes ietekme, ja to novērtē kā rezistenci vai toleranci pret biotiskajiem stresiem, atšķiras dažādiem AM izolātiem, konkrētās auga–sēnes mijiedarbības ietvaros. Vēl vairāk, šādu ietekmi var izmainīt arī vides apstākļi (Harley, Smith 1983; Pozo, Azcón–Aguilar 2007). Pētījumu rezultāti iezīmē vispārīgus mijiedarbību trendus (Pozo, Azcón–Aguilar 2007).

Senākie darbi par mikorizām un biotiskajiem stresiem galvenokārt bija aprakstoši. Šie raksti bija par simbiozes savstarpēji izdevīgo efektu, ar mērķi izmantot AM kā potenciālu biokontroles aģentu integrēta menedžmenta programmās augu slimību kontrolei (Whipps 2004).

1.3.1.1. Augu mikorizālais statuss un sakņu sistēmu īpatnības

Līdzšinējie pētījumi apstiprinājuši, ka ir izdalāmi (i) obligāti mikorizāli, (ii) fakultatīvi mikorizāli un (iii) nemikorizāli augi (1.3.1.1.-1 tabula) (Brundrett, Kendrick 1988; Koske, Gemma 1990).

Par **obligāti mikorizāliem** augiem uzskata tādus augus, kuri savās dabiskajās augtenēs neizdzīvotu līdz reprodiktīva nobrieduša vecuma sasniegšanai bez asociācijas ar AM sēnēm augsnēs (jebkuras auglības augsnēs). Šīm sugām pastāvīgi notiek mikorizāla kolonizācija no to jaunajām saknēm (Janos 1980), zināms, ka obligāti mikorizāli augi nespēj dabiskos apstākļos izdzīvot bez saimniekauga un ražot sēklas.

1.3.1.1.-1. tabula. Tipiskās saimniekauga sakņu sistēmu struktūras un mikorizālā veidošanās, kas ir asociēta ar mikorizu veidošanos

Apzīmējums	Obligāti mikorizāli	Fakultatīvi mikorizāli	Nemikorizāli
Kolonizācija			
Arbuskulas	Jaunas saknes	Reti vai mainīgi	Nav zināmi
Hifas un vezikulas	Vecākas saknes	Reti vai mainīgi	Iespējams vecās saknēs
Saknes			
Morfoloģija	Bieži raupjas	Parasti smalkas	Parasti smalkas
Spurgaliņas	Īsas un reti sastopams	Spurgaliņas garas un daudz	Spurgaliņas garas un daudz

Mikorizas ir vairāk pētītas mērenā klimata ekosistēmās Ziemeļu puslodē. Trappe izpētījis, ka tās var izveidot korelāciju starp klimatiskajiem un augsnes apstākļiem (Trappe 1987). Mazāk ir zināms par sugu sastopamību ar zemu vai ļoti variablu mikorizas kolonizācijas pakāpi (Trappe 1987). Tika noteikts, ka augi, kuri veido vairāk nekā vienu mikorizu tipu ekosistēmā ir reti. Ir novērotas nedaudzas korelācijas starp mikorizu stratēģiju un augu dzīves vēsturi (viengadīgi un daudzgadīgi augi) vai augšanas formu (lakstaugi, koki utt.).

Parazītiskie augi ir nemikorizāli (Currah, Van Dyk 1986; Harley, Harley 1987; Lesica, Antibus 1986), bet dažas augu dzimtas kā *Scrophulariaceae* satur mikorizālus, ne-parazītiskus un ne-mikorizālus parazītiskus pārstāvjus (Alexander, Weber 1984) (cit. pēc Smith, Read 1997).

Zinātniskajā literatūrā ir vispārpieņemts, ka nemikorizālās attiecības ir attīstījušās vairākas reizes dažādos taksonos un aptver sugas, kas neveido nekādas mikorizas. Piemēram, daudzi *Cruciferaeae*, *Chenopodiaceae*, *Juncaceae*, *Caryophyllaceae*, *Proteaceae* dzimtu pārstāvji (1.3.1.1.2. tabula). Tipiskas nemikorizālu augu dzimtas, kas raksturīgas mūsu biotopiem, apkopotas eksperimentos augu mikorizālās atkarības variācijas var nomaskēt konkurences efektus (Hayman 1983).

1.3.1.1.-2. tabula. Boreonemorālā zonā izplatītas augu dzimtas, kuras ir nemikorizālas (pēc Hayman 1988)

Rinda	Dzimta	Dzīvības forma
Nymphaelales	5 dzimtas Nymphaeaceae	Ūdensaugi
Papaverales	Papaveraceae Fumariaceae	Lakstaugi Lakstaugi
Urticales	Urticaceae	Lakstaugi
Caryophyllales	Phytolaccaceae Nyctaginaceae Aizoaceae Chenopodiaceae Amaranthaceae Portulacaceae Caryophyllaceae	Lakstaugi Lakstaugi Lakstaugi Lakstaugi Lakstaugi Lakstaugi Lakstaugi
Polygonales	Polygonaceae	lakstaugi
Nepenthales	Nepenthaceae	Kukaiņēdāji
Capparales	Brassicaceae	Lakstaugi
Scrophulariales	Scrophulariaceae (AM)	Parazītaugi
Alismatales	3 dzimtas	Ūdensaugi
Najadales	10 dzimtas	Ūdensaugi
Commelinales	Commelinaceae	krūmi
Juncales	Juncaceae	Lakstaugi
Cyperales	Cyperaceae	Lakstaugi

Dabiskās ekosistēmās veikti eksperimenti var nedod viennozīmīgi un skaidri interpretējamus rezultātus, ja apstrādes efektus aizēno citi pazīmju mainības avoti, bet kontrolētie eksperimenti uzskatāmi par mākslīgiem (Allen, Allen 1986). Izmērāmās augu reakcijas uz mikorizas sēnēm ir lielā mērā atkarīgas no augsnes īpašībām, saimniekauga prasībām pēc barības vielām un sakņu sistēmas īpatnībām, kuras nosaka barības vielu uzņemšanas efektivitāti. Šīs atbildes reakcijas uz mikorizas sēnēm būtu jāmēra salīdzinot pieaugumus augu augšanā, stresa tolerancē u.c. parametriem mikorizāliem augiem un nemikorizāliem kontroles augiem, salīdzinot mikorizālu augu augšanu un toleranci ar attiecīgo nemikorizālo augu rādītājiem.

Tomēr vairums augu dabiskajās ekosistēmās ir nemikorizāli, tādēļ patiesībā pētījumos tiek noteikta augšanas samazināšanās pakāpe, kuru rada minerālvielu deficīts, nemikorizāliem kontroles augiem, un kas ir atkarīga no augstāk minētiem faktoriem.

Fakultatīvi mikorizāli augi ir potenciāli labākie eksperimentu subjekti pētījumos, jo tie var būt dabiski sastopami bez mikorizām. Ir zināmas arī tādas sugas, kuras var veidot vairāk nekā viena tipa mikorizālās asociācijas. Mehānismi, kas veicina VA mikorizālo kolonizāciju eksistē kopā ar mehānismiem, kas veicina cita veida mikorizu. Domājams, ka mikorizācija balstās uz vienu vai dažu gēnu klātbūtni, kas nosaka rezistenci, vai uz viena receptora gēna zuduma (Brundrett 2009).

Briofītiem ir novērota visu zināmo sēņu grupu klātbūtne, pie tam, tās savstarpēji specializējušās pa briofītu klasēm, dzimtām un ģintīm. Tieši sūnām līdzīgiem organismiem novērotas filoģenētiski vecākās AM simbiozes (Redecker *et al.* 2000). 19. gs. tika pētītas simbiotiskās asociācijas briofītos un konstatēts, ka *Lepidoziaceae* simbiozes ietekmē ir uzbiezināti rizoīdi, bet *Lophoziaaceae* ir mozaīkveidā gan kolonizēti, gan nekolonizēti laukumi stumbra šūnās, un atrasti hifu tinumi gan salikto, gan vienkāršo lapoņu aknu sūnām. Piemēram, K. Turnau (2001) uz celmiem atsevišķiem *Lophocolea heterophylla* lapoņiem konstatējusi tipiskus erikoīdās mikorizas hifu tinumus rizoīdos.

Šobrīd molekulārie un elektronmikroskopijas pētījumi ne tikai papildina iepriekšējos pētījumus, bet mēģina skaidrot atklājumus filoģenētiski un evolūcionārā skatījumā.

Saknes, tikai ar dažiem izņēmumiem augu valstī, ir svarīgākais orgāns augu augšanai un izdzīvošanai, jo apmēram 30% no augu genoma piedalās sakņu pazīmju noteikšanā (Zobel, 1986) un saknes kalpo resursu ieguvei (ūdens un minerālvielas), kas bieži ir limitējošais faktors ekosistēmā (Chapin *et al.* 1986; Fitter 2005). Sakņu primārās funkcijas ietver (i) ūdens un barības vielu absorbciju, (ii) balsta funkciju, (iii) uzkrājēja un (iv) mikorizu veidošanu (Esau 1965; Russell, 1977, cit. pēc Brundrett 1991). Saknes var uzturēt simbiotisko slāpekļa fiksētāju asociācijas (Gibson, Jordan 1983), ietekmēt dzinumus ar augšanas regulatoru sintēzi (Carmi, Heuer 1981) un var būt saistītas ar veģetatīvo vairošanos vai parazītu piesaisti (Esau 1965) (cit. pēc Brundrett 1991).

Strukturālā un funkcionālā sakņu daudzveidība ir zemāka nekā augu dzinumus daudzveidība (Fitter 1987). Saknes ir pagarināti cilindri, bet anatomiskās un ķīmiskās atšķirības starp dažādu sugu saknēm ir ievērojamas un tās dabā grūti identificēt (Brundrett *et al.* 1990). Individuālas saknes iziet trīs atšķirīgas augšanas fāzes: (i) augšana; (ii) nobriešana un reizēm (iii) sekundārā augšana. Šo fāžu ilgums variē atkarībā no augu un sakņu sistēmas komponentiem. Augi veido dažāda veida saknes – mietsaknes un bārkšsaknes, sānsaknes, bazālās un adverntīvās saknes, kas ir fizioloģiski, strukturāli un ģenētiski atšķirīgas (Zobel, 1986). Sānsaknes vienmēr ir smalkākas, neaug tik ātri un tām ir īsāks dzīves cikls.

Ir daudz zināms par sakņu fenoloģiju, tā sakņu strukturālais komplekss (aizsargājošās funkcijas, kā uzbiezināti epidermas, hipodermas vai peridermas šūnapvalki) korelē ar saknes

dzīves ilgumu (Brundrett, Kendrick 1988) vai arī dažādiem substrātiem (Luhan 1955). Augiem, kuri dzīvo ar ūdeni piemirkušās augsnēs, ir lielas gaisa kameras mizas slānī, kas palīdz izdzīvot anaerobās augsnēs (Justin, Armstrong 1987). Saknēm, kuras ir sastopamas sausos reģionos, nelabvēlīgos apstākļos noārdās mizas ārējā kārtā (Drew 1987).

Saknes absorbē un transportē barības vielas ar mehānismiem, kas ir labi izpētīti eksperimentālajās sistēmās (Marschner 1986), bet tos nav iespējams izmantot augu pētījumos ekosistēmās, jo tajās darbojas daudzi komplicēti faktori (Tinker 1990). Šie faktori ietver pH izmaiņas, sakņu spurgaliņas, eksudātus un baktērijas rizosfērā (Tinker 1990). Eksodermas klātbūtne (kā barjera mikroorganismiem un šķīdumiem augsnē) ir morfoloģiski noteicošais faktors mikorizu veidošanai.

1.3.1.2. Augu sukcesija un mikoriza

Sukcesionālas izmaiņas augu populācijās rodas pēc traucējumiem vai jaunu substrātu rašanās (Barbour *et al.* 1987). Šajā procesā ruderālās sugas tiek nomainītas ar vairāk specializētām sugām. Ruderālās sugas, kuras ir vienmēr reti sastopamas netraucētos biotopos, ir ar sakņu sistēmām, kuras ir mazāk atkarīgas no mikorizām, nekā dabiska, netraucēta veģetācija. Pirmie traucētu biotopu kolonizētāji bieži ir nemikorizālas vai fakultatīvi mikorizālas sugas, turpretī obligāti mikorizāli augi kļūst dominanti vēlākās sukcesijās.

Sausajos reģionos nemikorizāli augi dominē. Traucēti biotopi iepriekšējo mikorizālo augu proporciju līmeni sasniedz 20 līdz 30 gados. Mitrākos apgabalos mikorizāli augi sastopami arī agrīnās sukcesijas stadijās (Miller 1987). Mērenos lapkoku mežu reģionos augi ar AM kā *Solidago* un *Aster* ir svarīgi agrīnajās sukcesijas stadijās un nemikorizāli augi dominē pēc masīvas mēslojumu vai biocīdu pielietošanas. Fungicīdu lietošana reducē atsevišķu augu augšanu un ieviešanos pirmajos sukcesijas gados pēc kultivēšanas. Sukcesijas process bieži rezultējas ar obligāto mikorizālo augu dominances pieaugumu.

1.3.1.3. Mikorizu asociāciju regulācija

Lai patogēnā sēne veiksmīgi iekļūtu auga saknēs, var būt nepieciešami daudzi nesekmīgi saknes un sēnes kontakti, bet šādi kontakti starp mikorizas sēnēm un saimniekaugu ir reti. Dabiskajās ekosistēmās ir tādi augi, kuri pretojas mikorizas sēnēm, bet šis mehānisms vēl nav noskaidrots. Nemikorizālo sugu saknes var augt kopā ar citas augu sugas mikorizālām sugām, tā, ka problēma nav inokuluma (simbiozi veidot spējīgu vienību) trūkumā. Nemikorizālo augu saknes var augt vienuviet ar citu sugu mikorizālām saknēm (Brundrett, Kendrick 1988). Mikorizālās sēnes nespēju kolonizēt saknes var novērot vairākās stadijās, bet visbiežāk novēro to, ka hifas neaug uz sakni. Vai arī hifa nespēj iekļūt saknē, jo hifu

aktivitāte samazinās pirms saknes. Ir izteikti minējumi, ka mikorizālās saknes iekļūšana var kavēt un novērst fizikālas vai ķīmiskas barjeras, vai arī tāda faktora trūkums, kurš veicina hifu augšanu.

Daudzu segsēkļu sakņu epidermālais slānis diferencējas suberizētā eksodermā ar kasparī joslām un suberīna lamellām (Bramhall, Higin 1988). Šī slāņa šūnām var būt liela nozīme sakņu rezistencē pret augu patogēniem (Bramhall, Higin 1988) un var arī neļaut saknē iekļūt mikorizālām sēnēm. Saknēs kurās ir potenciālā barjera šis slānis var sastāvēt no vienmērīgi suberizētām šūnām, vai arī no suberizētām garām šūnām, kas mijas ar nesuberizētām īsām šūnām. Augos ar īsām šūnām mikorizas sēnes parasti iekļūst caur šīm ieejas šūnām (Bonfante 2001).

Līdz šim nav zināms, vai šūnas ar suberizētiem (ar suberīnu impregnēti šūnapvalki – notiek pārkorķošanās) šūnapvalkiem bloķē mikorizas sēņu iekļūvi (mikorizas šūnām var nebūt enzīmu kas nepieciešami, lai sagrautu šos šūnapvalkus), vai arī sēnes izvairās no šīm šūnām izvēloties vieglākus ceļus iekļūšanai citās saknēs (Bonfante 2001).

1.3.1.4. Mikorizu sabiedrību telpiskā heterogenitāte

Pētījumu par AM sabiedrību telpisko heterogenitāti nav daudz. Vairums pētījumu par mikorizu sabiedrību telpisko heterogenitāti ir veikti augu sabiedrībās. Būtisks faktors, kas var ietekmēt mikorizālo sabiedrību telpisko struktūru, ir attiecīgo saimniekaugu izplatība augu sabiedrībā. Vairākos pētījumos ir konstatēts, ka gan EM, gan AM sēnēm ir mainīgs saimnieka specifiskuma līmenis, jeb tās dod priekšroku dažādām augu sugām (Molina, Trappe 1982; Bever *et al.* 1996; Massicotte *et al.* 1999; Vadenkoornhuysse *et al.* 2003). Tā kā virszemes augu sabiedrības var būt telpiski strukturētas, individuāla augu izplatība var radīt atbilstošu mikorizālo sabiedrību telpisko struktūru zem zemes (Seabloom *et al.* 2005 pēc Öpik *et al.* 2008).

Lokālā augu sabiedrību daudzveidība var ietekmēt mikorizu sabiedrību sastāvu un to apstiprina eksperimentālie pētījumi atklājot, ka augu sabiedrību sastāvs var ietekmēt mikorizālo sabiedrību sastāvu kvadrātmetra mērogā (Burrows, Pflieger 2002). Ilglaicīgi kultivētā ekosistēmā Šulcs (Schultz 1996) konstatēja, ka atšķirīgas AM sēņu morfosugas aizņēma dažādus laukumus un AM sēņu sabiedrību sugu bagātība bija pozitīvi saistīta ar augu sugu bagātību. Konstatēts arī, ka AM sēņu sugu bagātība pozitīvi korelē ar augu sugu bagātību un augsnes slāpekļa saturu savvanās (Landis *et al.* 2004), arī Pringls un Bīvers (Pringle, Bever 2002) savvanās konstatēja augstu telpisko heterogenitāti AM sēņu sabiedrību sastāvā vairāku metru mērogā. Atklāts, ka AM sēņu propagulu daudzums vairākās augu sabiedrībās bija telpiski heterogēns vairāku metru robežās un ka laukumi ar zemu AM sēņu

sastopamību dažās vietās bija saistīti ar augstu nemikorizālo augu sugu blīvumu (Boerner *et al.* 1996; Lilleskow *et al.* 2004). Pētījumā par sāļo mitrāju augu sabiedrībām Portugālē AM sēņu sporu telpiskā izplatība bija cieši saistīta ar vides faktoriem un attālumu starp atsevišķiem augiem. Līdzīga AM sēņu sporu izplatība saistībā ar dominējošo krūmu sugu atrasta Dievidkalifornijas čaparalu ekosistēmā. Dažos citos pētījumos bijuši mēģinājumi saistīt mikorizas sēņu telpiskos modeļus uz lauka ar vietējiem vides apstākļiem. Tas apgrūtina izziņāt relatīvo auga un vides ieguldījumu mikorizālo sabiedrību telpiskā struktūrā.

1.3.1.5 Mikorizu funkcionālā daudzveidība

Funkcionālā daudzveidība ir jauna koncepcija un biologi tam piešķir vairākas nozīmes. Zaks (Zak *et al.* 1994) definēja mikrobioloģisko daudzveidību saistībā ar substrātu izmantošanu. AM sēņu sugu izmantošana un regulēšana būs atkarīga ne tikai no to pielāgojumiem vides faktoriem, bet arī no to spējas izmantot barības vielas un uzlabot augu augšanu. Mikorizas sēnes izmaina augu dzīvības procesus. Tās veicina augu augšanu, palielinot absorbciju un barības vielu pārvadi (Francis *et al.* 1986; Fogel 1980), uzlabo augsnes agregāciju (Forster, Nicolson 1981) un pagarina sakņu dzīves ilgumu, kā arī aizsargā saknes pret augsnē mītošajiem patogēniem (Harley, Smith 1983).

Līdzīgi citām mikorizām, AM parasti uzskata par mutuālistisku. Oglekļa pārnese ir galvenais ieguvums no auga uz sēni, kura to nevar uzņemt ar savu ārpusaknes micēliju (Pfeffer *et al.* 1999). Tomēr nav pierādījumu par mutuālismu mikorizās: mikoheterotrofi bezhlorofila augi saņem nepieciešamo oglekli caur sēni, kura ir saistīta ar kaimiņos esošiem autotrofiem augiem. Tādējādi bezhlorofila augi darbojas kā epiparazīti (Smith, Read, 2008). Kopumā AM asociācijās var atrast nepārtrauktību – no parazitisma uz mutuālismu un konkrētais iznākums konkrētajā gadījumā var būt atkarīgs no auga identitātes un tā sēņu partneriem, tāpat kā no zināmiem vides apstākļiem (Jones, Smith 2004). Biotrofās AM ir stipri atkarīgas no auga fotosintētiskajiem produktiem un gūst labumu arī no samērā konstantās vides saknes iekšienē. Ir pat izteikti pieņēmumi, ka šie homogēnie apstākļi var izskaidrot AM sēņu potenciālo bezdzimuma dabu. Tomēr šis pieņēmums izslēdz ekstraradikālo AM sēņu fāzi, kas pakļauta daudzām vides izmaiņām (Smith, Read 2008). Nevar izslēgt, ka augs var nodrošināt sēnei papildus ieguvumus, piemēram, piegādājot vitamīnus, vai regulējot hormonus. Ieguvumi, ko sēne nodrošina augam var būt daudzveidīgi. AM doto labumu kontekstā liela uzmanība ir pievērsta augu minerālajai barošanai. Pētījumos parādīts, ka šis AM sēņu ieguldījums veicina augu augšanu (Smith, Read 2008).

1.3.2. Edafiskie un klimatiskie faktori

Būtiskākākā AM sēņu loma ir **fosfātu** mobilizācija, un tas atbilst plašajai AM sastopamībai minerālaugsnēs. Kaut gan fosfors ir ļoti nepieciešams augam, tas ir limitējošs faktors daudzās ekosistēmās un hifu tīkls pārvar ar fosforu nabadzīgās zonas, kas izveidojas ap augu saknēm. Pateicoties mazajam diametram, hifas spēj iekļūt augsnes porās, kas ir nepieejamas saknēm (Smith, Read 2008). Ir ziņojumi, ka tas ne vienmēr korelē ar augu augšanas atbildi. Barības vielu uzņemšana notiek, bet nekļūst acīmredzama. Vēl vairāk, AM kolonizācija var samazināt vai inaktivēt tiešo fosfora uzņemšanu augā. Pat vāji kolonizētiem augiem var novērot augšanas samazinājumu, kam var būt ietekme uz augu konkurētspēju, it īpaši mikorizāliem un nemikorizāliem augiem (Facelli 2010).

AM sēnes kolonizē augu saknes un uzlabo saimniekaugu augšanu un minerālo barības vielu uzņemšanu, īpaši tiem augiem, kuri aug neauglīgās, minerālvielām nabadzīgās un traucētās augsnēs (Abbot, Robson 1991; Sylvia, Williams 1992).

1.3.2.1. Augsnes pH ietekme

Kaut gan arī daudzi citi faktori ietekmē AM sēņu asociācijas augsnē un saknēs, informācijas par skābas augsnes ietekmi uz AM sēnēm un to funkcijām ir maz (Sylvia, Williams 1992). Pēc definīcijas skāba augsne ir tāda, kurā ir relatīvi augsta H^+ koncentrācijas un pH kā tāds nav šķērslis augu augšanai. Bieži vien pH jābūt zem 3, lai H^+ kļūtu toksisks (Bohn *et al.* 1979). Augsnē pH vērtības zem 5 parasti ir saistītas ar alumīnija un mangāna toksicitāti, kā arī, ar fosforu, kalciju, magniju un kālija trūkumu (Sanchez 1976; Marschner 1991). Augu tolerance un spēja augt skābās augsnēs var būt saistīta ar AM kolonizāciju saknēs un AM sēņu piemērošanos zemam pH (Siqueira 1982; Koslowsky, Boerner 1989).

Daudzas AM sēnes ir izdalītas no skābām augsnēm, bet dažas gan no sārmainām, gan skābām (Robson, Abbott 1989). Vairāki AM sēņu izolāti kā grupa funkcionē diezgan plašā augsnes pH diapozonā, tomēr, izpētīts, ka vairums AM sēņu ir adaptējušās augsnei ar noteiktu pH mainību (Sylvia, Williams 1992). AM sēnes atrastas pH 2,7 līdz 9,2, bet atšķirīgiem izolātiem ir dažādi pH tolerances līmeņi (Siqueira *et al.* 1986). Ir raksturoti daudzi sēņu izolāti no skābām augsnēm (Morton *et al.* 1993), bet Sīverdings (Sieverding 1991) vispārināja, ka dabiskās augsnēs atsevišķu AM sēņu sugu sporas sastopamas notiektos pH intervālos (1.3.2.1.-1. tabula).

1.3.2.1.-1. tabula. Atsevišķas AM sugas dažādos augsnes pH (pēc Sieverding 1991)

Augsnes pH		
<5,5	>5,5	3,8-8,0
<i>Entrophospora columbiana</i>	<i>Glomus mosseae</i>	<i>Acaulospora longula</i>
	<i>Gigaspora margarita</i>	<i>Acaulospora morrowiae</i>
		<i>Acaulospora myriocarpa</i>
		<i>Acaulospora scrobiculata</i>
		<i>Glomus aggregatum</i>
		<i>Glomus versiforme</i>
		<i>Scutellospora pellucida</i>

Vienā no pētījumiem konstatēts, ka tikai *Acaulospora laevis* ir sastopama augsnēs ar pH 4,0 līdz 4,5 un otrā pētījumā – *G. aggregatum*, kur pH ir mazāks par 4,9 (Nicolson, Schenk 1979). *A. laevis* netika atrastas augsnēs, kuras pH ir lielāks par 6,4, turpretī *G. monosporum* atrastas augsnē ar pH 4,0 līdz 4,5 (Porter *et al.* 1987). *Acaulospora* sp. tika atrastas augsnēs ar augstu Al saturu un zemu pH pamestās ogļu raktuvēs (Morton 1986). Ilgtermiņa pētījumos Rotemstedā un Vobernā Anglijā *Acaulospora*, *Scutellospora* un *Glomus albidum*, *G. caledonium*, *G. fasciculatum*, *G. etunicatum*, *G. macrocarpum*, *Glomus* sp. hialīna un daudzsienu sugas tika atrastas augsnēs ar pH lielāku par 5,5, bet netika atrastas, ja pH bija 4,5.

Vairumā pētījumu ir dati vai nu par sporu dīgšanu un hifu augšanu vai par sakņu kolonizāciju, bet reti par abiem (Smith, Read 2008). *Gigaspora* sugām ir augsta tolerance pret augsni ar augstu alumīnija saturu. *Scutellospora* sporu dīgstspēja un hifu augšanu augsts alumīnija saturs ietekmēja dažādi. *A. scrobiculata* bija jutīgāka pret augstu alumīnija saturu augsnē, arī *Glomus* sporas *G. etunicatum* un *G. clarum* bija visai jutīgas uz alumīniju. Vienīgā tolerantā *Glomus* suga ir *G. manihot* (Bartolome-Esdtema, Schenck 1994). *Gi. margarita* bija vairāk piemērota skābām augsnēm nekā *G. mosseae* attiecībā uz sakņu kolonizāciju, sporu dīgšanu un dīgļstobru augšanu. Turklāt *Gi. margarita* mazāk ietekmēja pievienotais kalķis nekā *G. mosseae*. *A. laevis* sporu dīgstspēja bija visaugstākā pie zemiem pH 4,2 un 4,9. *A. laevis* visaugstākā bija augsnēs ar zemu pH – 4,2 un 4,9, bet viszemākā augsnēs ar augstu pH 7,1 un 8,1 (Hepper 1984). Līdzīga tendence tika atzīmēta kad augsnes ar viszemāko pH kalķoja, lai palielinātu pH dažādās pakāpēs. Augsta dīgstspēja bija pie pH no 4,5 līdz 5,1 (vairāk nekā 80%), bet zema dīgstspēja pie pH, kas lielāks par 7 (mazāk nekā 10%). *Glomus* sp. celma sporas bija mazāks pie pH 4,9, bet lielāks pie pH 5,5.

Smilšainās augsnēs ar pH 4,5. *G. macrocarpum*, *Gi. margarita* un *S. gilmorey* dīgļstobru augšana samazinājās, kad alumīnija saturs augsnēs palielinājās no 0 līdz 30 μmol.

Vislielākā ietekme novērota sugai *G. macrocarpum*. Šai sugai ne sporu dīgšana ne dīgļstobru augšana netika novērota, kad alumīnija saturs pārsniedza 90 μmol . *Gi. margarita* sporu dīgšana netika būtiski ietekmēta, tomēr dīgļstobru augšana samazinājās palielinoties alumīnija saturam. Citos pētījumos ar alumīniju pietika ar 30 $\mu\text{g g}^{-1}$ alumīnija, lai inicētu *Gi. margarita* sporu dīdžību, bet hifu augšanas inhibēšanai vajadzēja 30 mg g^{-1} , bet lai to pašu sasniegtu ar *G. mosseae* vajadzēja 1,5 mg g^{-1} alumīnija (Siqueira *et al.* 1986).

Nekalķotās augsnēs (pH 4,5) un kalķotās augsnēs (pH 6,0) netika konstatēta liela atšķirība *Brachiaria decumbens* sakņu kolonizācijā, kurā bija iesaistīti pieci dažādi AM kompleksi, un visi saturēja *G. etunicatum*, četri saturēja *G. diaphanum* un *G. occultum*, divi *Gi. margarita* un viens saturēja *A. morrawiae*. Nav zināms, vai ilglaicīga kalķa lietošana ietekmē populācijas arbuskulāro mikorizu (Siqueira *et al.* 1986).

1.3.2.2. Fosfora, slāpekļa un kālija ietekme

Mikorizu asociācijas saimniekaugu apgādā ar minerālvielu šķīdumu un sevišķi ar **fosforu** (Smith, Gianinazzi-Pearson 1988). Slāpekli galvenokārt palīdz uzņemt ektomikorizas un erikoīdās asociācijas, bet arī arbuskulārā mikoriza uzlabo slāpekļa uzņemšanu (Barea *et al.* 1989). AM uzlabo tādu mikroelementu uzņemšanu, kā magnijs, varš un cinks, bet samazina mangāna uzņemšanu (Harley, Smith, 1983; Hayman, 1983). Mikorizu sēnes var ietekmēt saimniekauga morfoloģiju un fizioloģiju producējot fitohormonus, kā etilēnu un augsni, kuri var inhibēt sakņu augšanu. AM to ietekmē nedaudz, bet vienmēr (Harley, Smith, 1983).

Fosfora daudzums augsnē un faktori, kas to ietekmē ir svarīgi nosakot veidu kādā mikorizālās sēnes ietekmē tā uzņemšanu augos (Tinker 1975). Fosfors ir nepieciešamas samērā lielos daudzumos un tas tiek uzņemts kā PO_4^- no augsnes šķīduma veidā, kurā tas ir ļoti zemā koncentrācijā. Kopējā augsnes fosfora šķīdumā proporcija ir mazāka par 1% . To kontrolē galvenokārt augsnes ķīmiskās reakcijas un mazākā pakāpē arī bioloģiskie procesi. Fosfors var būt nevienmērīgi izplatīts gan telpā, gan laikā. Tas ietekmē tā pieejamību un izmantojamību augiem. Augsnē visu fosforu vai iedalīt organiskajā un neorganiskajā fosforā.

Ir ziņas par to, ka daudzi **slāpekļa** mēslojumi samazina kolonizāciju gan podu kultūrās, gan uz lauka (Lanowska, 1966; Hayman 1970; Chambers *et al.* 1980) un dažos gadījumos tieši iedarbojas uz sēni, nevis vienkārši izmana sakņu augšanas ātrumu. Zināma mijiedarbība starp slāpekļa un fosfora ietekmi uz augu augšanu un uz kolonizāciju. Fosforam ir izteiktāka ietekme tad, ja augiem slāpekļa pietiek, nekā tad, ja augiem slāpekļis ir, tomēr šādu ietekmju mehānismi nav skaidri (Smith, Read 1998).

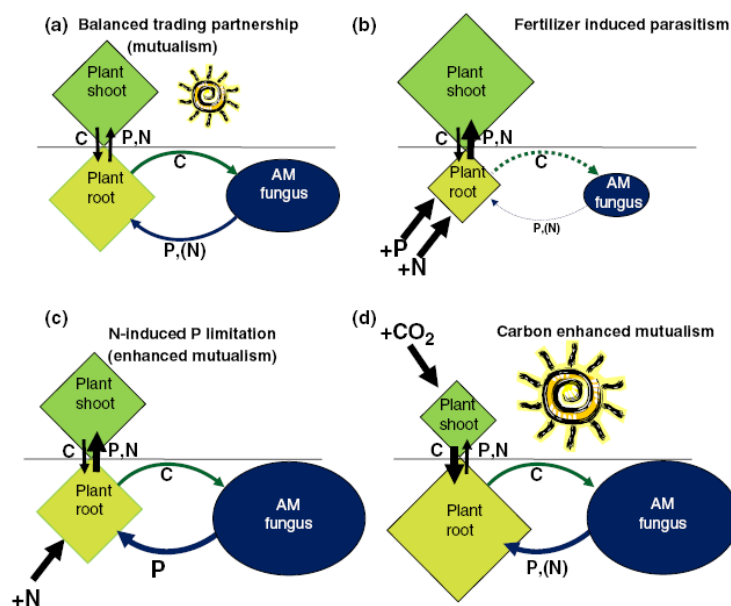
Literatūrā bieži tiek atzīmēts, ka augsta fosfora koncentrācija ierobežo un pārtrauc kolonizāciju. Ir labi zināms, ka fosfora pieejamība ietekmē kolonizācijas procentu. Tomēr šo

efektu stipri ietekmē saimniekauga suga un vides faktori. Jo vairāk fosfora, jo kolonizācijas % krītās. Ļoti zema fosfora pieejamība var kavēt kolonizāciju, tādēļ nelielas fosfora devas palielina kolonizācijas % (Tinker 1975) un lielākas fosfora devas vienmēr izraisa samazinājumu un dažādu augu atšķirīgas atbildes reakcijas.

Organiskā un neorganiskā **slāpekļa** transports ir tipiska ektomikorizas vai erikoīdās mikorizas sēņu īpašība ar organiskām vielām bagātās augsnēs. Tomēr šī īpašība ir novērota arī abuskulārajām mikorizām (Jahansen *et al.* 1992, 1993, 1996; Hawkins *et al.* 2000; Hodge *et al.* 2001; Leigh *et al.* 2009). Un par AM spēju noārdīt sarežģītas molekulas joprojām notiek diskusijas. Govindarajulun *et al.* (2005) un Jin *et al.* (2005) pētīja ar ¹⁵N iezīmēta neorganiskā slāpekļa, arginīna uzņemšanu un metabolisma pārvadi AM un izveidoja modeļus neorganiskā slāpekļa kustībai šajā procesā: ekstraradikālais micēlijs uzņem neorganisko slāpekli, kurš tiek asimilēts ar nitrāta reduktāzes palīdzību. Tam seko glutamāta sintēzes cikls un nobeigumā galaprodukts tiek konvertēts par arginīnu. Šī aminoskābe tad tiek pārdislocēta uz intraradikālo micēliju, tur tiek noārdīta un amonijs tiek atbrīvots un padarīts pieejams saimniekaugam.

Slāpekļa loma AM ir pētīta arī lauka apstākļos. Blanke *et al.* (2005) veica pētījumus ar fosfātu piesārņotā vietā un atklāja, ka mikorizācijas pakāpe bija augsta parauglaukumos ar zemu slāpekļa pieejamību, bet zema – ar augstāku slāpekļa pieejamību. Tādējādi bija ļoti nesabalansēta slāpekļa: fosfora attiecība. Slāpekļa deficīts stimulēja sakņu kolonizāciju ar AM sēni ar fosfora bagātajā vietā. Šis pētījums parāda ka, pētot resursu interaktīvās ietekmes uz simbiotiskajām attiecībām, papildus ogleklim, jāņem vērā arī fosfora un slāpekļa daudzums. Pirmajos šāda veida devuma-ieguvuma (*Cost benefit*) modeļos tika ņemta vērā tikai oglekļa un fosfora apmaiņa (Smith, Read 2008).

Džonsons (Johnson 2010) apskatīja iespējamus scenārijus, kas izriet no šiem iepriekš izveidotajiem modeļiem. Tika pieņemts, ka relatīvā oglekļa, fosfora un slāpekļa pieejamība nosaka AM simbiotisko funkciju. Dažāda šo resursu pieejamībai vajadzētu noteikt barības vielu kustību uz augu vai sēņu struktūrām dažādās dinamikās, kā parādīts 1.3.2.2.-1.attēlā.



1.3.2.2.-1. attēls. Funkcionālā līdzsvara modelis paredz, ka virszemes un apakšzemes resursu bagātināšana izmainīs AM dinamiku. **(a)** Mutuālistiska AM simbioze notiek tad, kad ir sabalansēta apmaiņas partnerība starp augu un sēni. Augs nodod oglekļa savienojumus sēnei, bet pretī saņem minerālās barības vielas: vissvarīgākās no tām ir fosfors un dažos apstākļos slāpekli. **(b)** Ja ar fosforu bagātu sistēmu bagātina ar slāpekli, rodas parazitiska AM simbioze, jo apstākļos, kad apakšzemes resursi nav limitēti, augi samazina devumu saknēm un mikorizām par labu virszemes struktūrām. **(c)** Ja ar slāpekli bagātina sistēmu, kurā ir ierobežots fosfora daudzums, rodas mutuālistiska AM simbioze, jo ar slāpekli bagātīgi saņemošiem augiem nepieciešams papildus fosfors, lai sintezētu biomasu, tādēļ palielinās AM apmaiņas partnerības vērtība. **(d)** Ja palielina gaismas intensitāti vai CO₂ pieejamību augiem, kuri aug barības vielām nabadzīgās augsnēs, palielinās augu prasība pēc apakšzemes resursiem un līdz ar to apmaiņas partnerības vērtība (pēc Johnson 2010).

Tāpat kā neorganiskie fosfāti un amonijs, arī mikroelementi, piemēram, cinks un varš augsnes šķīdumā ir mazkustīgi. Kaut gan tas ir ticis mazāk uzsvērts, pētījumos ir gūti pierādījumi, ka AM sēnēm ir ievērojama loma arī mikorizā iesaistīto mikroelementu mobilizācijā (Smith, Read 2008). Ņemot vērā, ka daudzi no šiem elementiem augstākās koncentrācijās kļūst toksiski, tika pētītas mijiedarbības starp tiem un AM sēni (Gadd 1993; Meharg 2003). AM sēņu spēja uzkrāt hifās toksiskos metālus ir vēl viens kolonizēto augu ieguvums, un vairāki pētījumi to apliecina (Christie *et al.* 2004; Chen *et al.* 2005). Ir gūti apliecinājumi tam, ka mikorizālie augi ir izturīgāki pret arsēnu (Gonzalez-Chavez *et al.* 2002; Liu *et al.* 2005). Smits (Smith 2009) izteica pieņēmumu, ka samazināta tiešā fosfora uzņemšana kolonizētos augos var palielināt izturību pret arsēnu, jo mikorizālajai fosfora uzņemšanai var būt ļoti augsta fosfora-arsēna selektivitāte. Ja tas apstiprinās pētījumos, tad "slēptā" fosfora uzņemšana ko veic AM sēne arī ir mikorizālo augu ieguvums salīdzinājumā ar nemikorizālajiem augiem. AM sēņu ietekme var būt svarīga ne tikai tiem augiem, kuri aug ar smagajiem metāliem piesārņotās augsnēs (Leyval *et al.* 1997), bet arī augiem, kuri aug sālās augsnēs: tipisku memikorizālu dzimtu pārstāvji sausās sāls māršās bija kolonizēti

(Hildebrandt *et al.* 2001). AM sēnes samazināja augu ražas zudumus augstas augsnes sāļuma apstākļos (Al-Karaki 2000).

Vēl nav pierādīts, ka AM sēnes transportētu **ūdeni** pa hifām uz saimniekuaugu (George *et al.* 1992; Smith, Read 2008), lai gan ir izteikti pieņēmumi, ka sausuma apstākļos hifām ir lielāka iespēja piekļūt ūdenim mazās augsnes porās. Augi, kuri pakļauti ūdens stresam iegūst no AM klātbūtnes (Auge *et al.* 2001). Ja to neizskaidro ar tiešu ūdens pārvadi, AM ietekme uz auga ūdens režīmu var būt tādēļ, ka ekstraradikālais micēlijs izmaina augsnes īpašības, un parasti tas stabilizē augsnes struktūru. AM var būt netieša pozitīva ietekme sausuma apstākļos. Barības vielu uzņemšana ar AM kļūst vēl svarīgāka sausās augsnēs, kurās augiem vieniem pašiem ir apgrūtināta pieeja barības vielām (Smith, Read 2008).

Kālija koncentrācijas analīzēs augu audos reizēm konstatēta kālija uzņemšanas palielināšanās. Tā varētu būt prognozējama ņemot vērā šī jona relatīvo mazkustīgumu augsnē (Mosse 1957; Huang *et al.* 1985). Tomēr vairumā pētījumu konstatēts, ka kālija koncentrācija bija zemāka mikorizālo augu audos, nekā nemikorizālo augu audos. Ekstrapolēšana no audu koncentrācijām var būt bīstama kā tas ir pierādījies citu barības vielu gadījumos, jo pastāv simultāna uzņemtā fosfora ietekme uz augšanu (Smith *et al.* 1981). Audzējot augus ar fosforu nabadzīgās augsnēs, novēroja paaugstinātu kālija koncentrāciju mikorizāla *Trifolium subterraneum* dzinumos, bet ne saknēs, bet kad augsnei tika dots fosfors pietiekamā daudzumā, lai likvidētu jebkādu mikorizālu augšanas atbildes reakciju, kālija koncentrācija abās augu grupās bija līdzīga. Tas liecina par mikorizu netiešo ietekmi uz PO_4^- uzņemšanu augos kam trūka fosfora; šis efekts ir konstatēts arī ar sulfātiem. (Rhodes, Gerdemann 1978). Tomēr ir novērota arī kālija koncentrācijas samazināšanās hifu zonā (rizosfērā), kas kolonizēts ar *Glomus mosseae*, un palielināta akumulācija asociētā mikorizālā *Agropyron repens* (George *et al.* 1992).

Kālija akumulāciju būtiski ietekmē tas, kādā formā ir pieejams slāpekļis (NO_3^- vai NH_4^+) kā arī citi katjoni, it īpaši Na^+ . To var ietekmēt arī polifosfātu sintēze un uzglabāšana (George *et al.* 1992). Tādēļ eksperimentos, kuros tiek pētīta mikorizālas kolonizācijas ietekme uz kālija uzņemšanu augos, jāņem vērā visi šie cits ar citu saistītie faktori.

1.3.2.3. Temperatūras ietekme

Temperatūras ietekme uz mikorizu kolonizācijas ātrumu un pakāpi saknēs ir dažāda. Atbildes reakcijas uz temperatūras izmaiņām variē mainoties saimniekaugiem un sēnēm; parasti novēro kolonizācijas procenta pieaugumu līdz aptuveni 30 °C temperatūrai. Tomēr dažas auga–sēnes kombinācijas normāli attīstās līdz pat 35 °C vai vairāk (Bowen 1987). Variācijas var reprezentēt adaptācijas dažādām vidēm – strauja dīgšana vai kolonizācija

varētu būt priekšrocība mitrajos tropos, turpretī vidēs, kur ir izteiktāki gadalaiki iespējams, ir attīstījušās sarežģītākas mijiedarbības starp augsnes mitrumu un optimālo temperatūru dīgšanai un kolonizācijai. Eksperimenti bieži veikti temperatūrās virs 15 °C, bet mērenā klimata apgabalos daudzi savavaļas un kultivētie augi, attīsta mikorizas zemākās augsnes temperatūrās.

Konstatēts, ka miežus nekolonizēja *Glomus etunicatum*, kad saknēm uzturēja 10 °C temperatūru, bet kolonizēja pie 15 °C. Tomēr, augsta (40 – 60%) *Agropyron sp.* sakņu kolonizācija konstatēta gan uz lauka (*Glomus sp.*), gan sporu audzēšanas kultūrā ar *G. margarita*) pie 12 °C (Allen, Friese 1989). Noskaidrots, ka pahiacintēm kolonizācija strauji palielinājās, kad augsnes temperatūra bija tuvu 5 °C (Daft *et al.* 1980). Nepieciešami pētījumi propagulu izdzīvošanas un to bioloģijas izpratnei, kā arī sakņu kolonizācijas izpētei atšķirīgos biotopos.

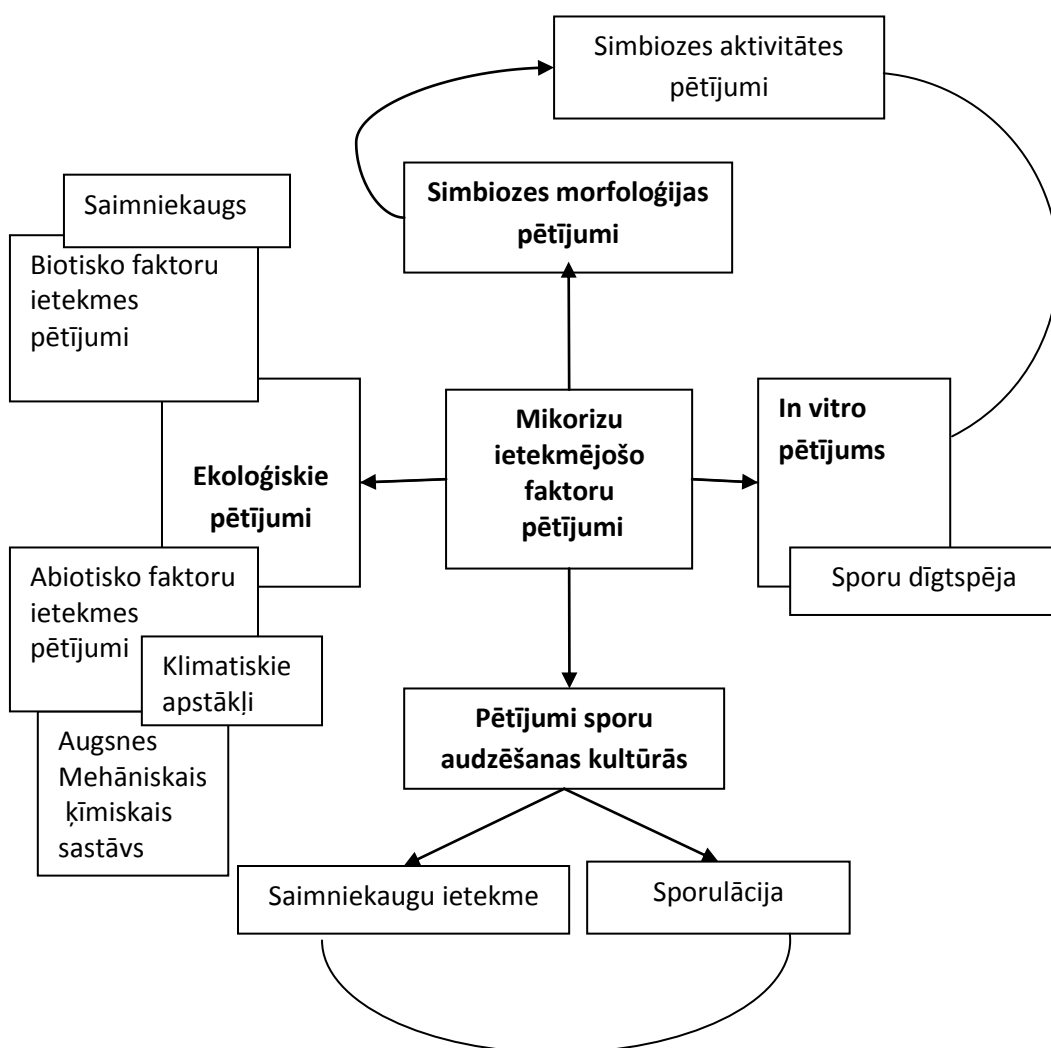
AM sēņu micēlijs spēj izdzīvot zināmu laiku sasaldētā stāvoklī (Kabir *et al.* 1997). Noskaidrots, ka ziemas simulācija nākamajā sezonā visai maz ietekmē sakņu kolonizāciju ar *Glomus* sēnēm, bet krasi samazina nākamās sezonas kolonizāciju ar *Scutellospora* un *Acaulospora* sēnēm. Sēņu atbildes reakciju uz sasaldēšanu ietekmē arī saimniekauga un sēnes sugas kombinācija (Klironomos *et al.* 2001). Tādējādi izturība pret sasalšanu ir vēl viens rādītājs, kas raksturo AM sēnes periodiski sasalstošās augsnēs. Tas būtu nākotnes pētījumu objekts mūsu klimata joslā.

Sēnes kas veido tievas hifas - *G.tenuis* ir aktīvas ziemā, kamēr citi endofīti ir aktīvāki citos gadalaikos, tie parasti ir augsnes virspusē, kad citas sēnes ir dziļāk augsnē (Dodd, Jeffries 1986).

2. MATERIĀLS UN METODIKA

2.1. Mīkorizas ietekmējošo faktoru raksturošanā ietvertie pētījumi

Arbuskulārās mīkorizas ietekmējošo faktoru raksturošanai veiktie pētījumi shematiski parādīti 2.1.-1. attēlā. Vispirms ekoloģiskos simbiozes morfoloģijas un simbiozes aktivitātes pētījumus veica lauka eksperimentos, vēlāk, apgūstot molekulārās metodes un arbuskulāro mīkorizu sēņu sugu noteikšanu, noskaidroja sugu daudzveidību, bet, lai izpētītu sporu dīgstspēju un mīkorizu audzēšanu maksimālai sporu produkcijai, izmantoja *in vitro* un sporu audzēšanas kultūras (Trap cultures).

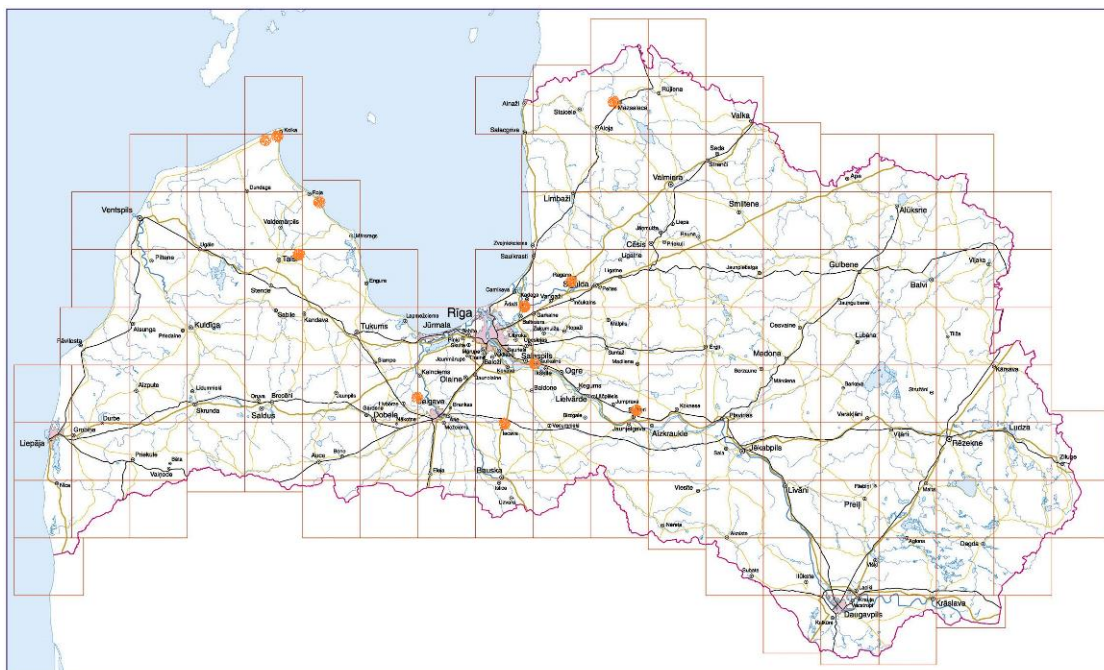


2.1.-1. attēls. AM ietekmējošo faktoru pētījumu shēma.

2.2. Pētījumu vietas un augu sugas

Sešiem pētījumiem izvēlējās 11 novērojumu vietas (2.1.-1. attēls) Latvijas teritorijā. Pētījuma gaitā analizēja mikorizu piecdesmit vaskulāro augu sugu, piecu lauksaimniecības kultūru sakņu un rizosfēras paraugos un pētīja mikorizu četrdesmit trīs brioftītu sugām. Vaskulāro augu sugas noteica, izmantojot Floran (Mosberg, 1999), bet taksonomiju aprakstīja pēc Gavrilovas (1999).

Kopumā darba ietvaros veica sešus atsevišķus pētījumus. **Pirmajam** pētījumam izvēlējās piecus biotopus ar atšķirīgu veģētāciju (Silciemā, Vandzenē, Iecavā, Jaunciemā, Carnikavā). **Otrajam** pētījumam parauglaukumus iekārtoja pie Skaņākalna Mazsalacas tuvumā, priežu lānā, un veica eksperimentu ar sūnu stāva transformēšanu un noņemšanu. **Trešajam** pētījumam, lai noskaidrotu apsaimniekošanas veidu ietekmi uz mikorizu, izvēlējās ilglaicīgi kultivētas pļavas Skrīveros. **Ceturtajam** pētījumam iekārtoja parauglaukumus LU Bioloģijas institūta eksperimentālā lauka teritorijā Salaspilī, lai noskaidrotu 21 *Hordeum vulgare* šķirnes kolonizāciju, sporu skaitu un mikorizu asociācijas. **Piektajam** pētījumam izvēlējās apsaimniekotas polderus Līvberzes pagastā un pētīja trīs saimniekaugu un mitruma ietekmi uz mikorizām. **Sestajā** pētījumā analizēja brioftītiem sastopamās mikorizas un to funkcionālo aktivitāti.



2.2.-1. attēls. Pētījumu vietu izvietojums Latvijas teritorijā (parauglaukumi apzīmēti ar sarkaniem punktiem) ("LR satelītkarte", Valsts zemes dienests).

Katrā novērojumu vietā mikorizas pētījumiem izvēlējās un pētīja dominējošās augu sugas vai kultūraugus. Pētījumus veica augu ziedēšanas fāzē. Arbuskulāro mikorizu sēņu sporu pētījumiem paralēli ievāca augsnes paraugus no sakņu rizosfēras zonas.

Pirmo, trešo un ceturto pētījumu veica LZZP granta Nr. 01.0479 „Arbuskulāro mikorizu simbiozes Latvijai tipiskos biotopos” ietvaros LU Bioloģijas institūtā. Otro un sesto pētījumu LU Pētniecības projektu „Koku augšanas izmaiņas klimata un vides faktoru ietekmē un to saistība ar bioloģiskās daudzveidības indikatoriem” un „Pārmitro mežu bioloģiskā daudzveidība klimata pārmaiņu ietekmē” ietvaros LU Bioloģijas fakultātē. Piekto pētījumu veica doktorantūras ietvaros.

Augsņu raksturošanu **pirmajam** pētījumam veica Latvijas Lauksaimniecības Universitātē prof. A.Kārkliņa vadībā. Augsnes analīzes **trešajam** pētījumam - LU Bioloģijas institūtā un LU Bioloģijas fakultātē. No katra parauglaukuma ievāktos 100 g augsnes paraugus izmantoja minerālvielu ķīmiskajām analīzēm. Tās veica Dr. biol. A. Osvalde Latvijas Universitātes Bioloģijas Institutā, Augu minerālās barošanās laboratorijā, Salaspilī. **Otrajam** un **piektajam** pētījumam augsnes analīzes veica Dr. biol. G. Tabors LU Bioloģijas fakultātes Botānikas un ekoloģijas katedrā.

Augsnes pH noteica 1 N KCl izvilkumā (Skujāns *et al.* 1960). Slāpekli (N) analizēja pēc modificētas Kendala metodes. Fosforu (P) noteica kolorimetriski (ar molibdāta metodi, pēc krāsu skalas). Kāliju (K) – ar liesmas fotometru. Kalciju (Ca) un magniju (Mg) – ar atomabsorbcijas metodi (AAS Perkin-Elmer 403). Organisko vielu daudzumu, no kura izrēķināja oglekļa (C) saturu, analizēja pēcTjurina metodes. Visus minerālelementus noteica 1 M HCl izvilkumā pēc Augu minerālās barošanās laboratorijā laboratorijā izstrādātās metodikas.

Lai noskaidrotu temperatūras un nokrišņu ietekmi uz mikorizām, apkopoja meteoroloģisko informāciju, ko ieguva no pētījuma vietām tuvākajām meteostacijām (Dobelē 2009. g., Rūjienā no 2002 līdz 2005. g., Bauskā 2003. un 2004. g.) Latvijas Vides, ģeoloģijas un meteoroloģijas centra (LVĢMC) interneta mājas lapā <http://www.meteo.lv>

Lai noskaidrotu mikorizu sugu sastāvu veica molekulārās analīzes *Leibnitz–Centre for Agricultural Landscape Research* (Vācija) Dr. M. Tauschke vadībā.

2.2.1. Pētījuma vietas mikorizu sastopamības novērtējumam ar vaskulārajiem augiem

Šo pētījumu mērķis bija noskaidrot mikorizu populāciju izplatību, to sezonālo dinamiku un saimniekaugu sugas vairākos atšķirīgos boreonemorālas zonas raksturīgos biotopos.

Laikā no 1996. gada jūnija līdz 1997. gada septembrim vaskulāro augu arbuskulāro mikorizu pētījumam ievāca paraugus no 41 vaskulāro augu sugas (1. Pielikums 2.2.1.-1. tabula). Pētījumā analizēja 14 vaskulāro augu dzimtu un 27 briofītu dzimtu sugas, ietverot tādas sugas, kas literatūrā minētas gan kā obligāti mikotrofi, gan daļēji mikotrofi, gan arī

nemikorizālas sugas. Četras sugas ievāca atkārtoti vairākos biotopos. Augsnes analizēja sadarbībā ar Latvijas Lauksaimniecības Universitātes prof. A. Kārkliņu. Pētītajos biotopos augsnes pH bija no 4 līdz 7 un tās struktūra – no smalkas un vidējas līdz smalkai mālainai smiltij (3.2.1.-2. tabula).

2.2.1.-1. tabula. Pētījumā izmantotās augu sugas, raksturīgie biotopi un atrašanās vietas

Dzimta	Izvēlētās augu sugas	Biotops	Pētījumu vieta	Koordinātes
Poaceae	<i>Agrostis tenuis</i>	Priežu sils	Silciems	57°05'N 24°25'E
	<i>Dactylis glomerata</i>	Priežu sils	Silciems	57°05'N 24°25'E
	<i>Nardus stricta</i>	Priežu sils	Silciems	57°05'N 24°25'E
	<i>Phleum pratense</i>	Priežu sils	Silciems	57°05'N 24°25'E
	<i>Festuca rubra</i>	Smilšaina kāpa	Jaunciems	57°05'N 24°12'E
	<i>Koeleria glauca</i>	Smilšaina kāpa	Jaunciems	57°05'N 24°12'E
	<i>Lerchenfeldia flexuosa</i>	Smilšaina kāpa	Jaunciems	57°05'N 24°12'E
	<i>Agrostis alba</i>	Lauksaimniecības zemes	Vandzene	57 °19'N 24°48'E
	<i>Dactylis glomerata</i>	Lauksaimniecības zemes	Vandzene	57 °19'N 24°48'E
	<i>Elytrigia repens</i>	Lauksaimniecības zemes	Vandzene	57 °19'N 24°48'E
	<i>Phleum pratense</i>	Lauksaimniecības zemes	Vandzene	57 °19'N 24°48'E
	<i>Agrostis tenuis</i>	Egļu vēris	Iecava	56 °36'N 24°14'E
	<i>Festuca rubra</i>	Egļu vēris	Iecava	56 °36'N 24°14'E
	<i>Lerchenfeldia flexuosa</i>	Egļu vēris	Iecava	56 °36'N 24°14'E
	<i>Luzula pilosa</i>	Egļu vēris	Iecava	56 °36'N 24°14'E
	<i>Briza media</i>	Pļava	Carnikava	57°06'N 24°28'E
	<i>Dactylis glomerata</i>	Pļava	Carnikava	57°06'N 24°28'E
	<i>Phleum phleoides</i>	Pļava	Carnikava	57°06'N 24°28'E
	<i>Phleum pratense</i>	Pļava	Carnikava	57°06'N 24°28'E
	<i>Agrostis tenuis</i>	Jauktu koku mežs	Silciems	57°05'N 24°25'E
	<i>Dactylis glomerata</i>	Jauktu koku mežs	Silciems	57°05'N 24°25'E
	<i>Lerchenfeldia flexuosa</i>	Jauktu koku mežs	Silciems	57°05'N 24°25'E
	<i>Melica nutans</i>	Jauktu koku mežs	Silciems	57°05'N 24°25'E
	<i>Phleum pratense</i>	Jauktu koku mežs	Silciems	57°05'N 24°25'E

	<i>Calamagrostis arundinacea</i>	Jauktu koku mežs	Silciems	57°05'N 24°25'E
Asparagaceae	<i>Maianthemum bifolium</i>	Priežu sils	Silciems	57°05'N 24°25'E
	<i>Maianthemum bifolium</i>	Egļu vēris	Iecava	56°36'N 24°14'E
Polygonaceae	<i>Rumex acetosella</i>	Priežu sils	Silciems	57°05'N 24°25'E
	<i>Rumex acetosella</i>	Lauksaimniecības zemes	Vandzene	57°19'N 24°48'E
	<i>Rumex acetosa</i>	Jauktu koku mežs	Silciems	57°05'N 24°25'E
Asteraceae	<i>Hieracium umbellatum</i>	Priežu sils	Silciems	57°05'N 24°25'E
	<i>Hieracium pilosella</i>	Priežu sils	Silciems	57°05'N 24°25'E
	<i>Senecio vulgaris</i>	Priežu sils	Silciems	57°05'N 24°25'E
	<i>Mycelis muralis</i>	Priežu sils	Silciems	57°05'N 24°25'E
	<i>Hieracium umbellatum</i>	Smilšaina kāpa	Jaunciems	57°05'N 24°12'E
	<i>Achillea millefolium</i>	Lauksaimniecības zemes	Vandzene	57°19'N 24°48'E
	<i>Centaurea cyanus</i>	Lauksaimniecības zemes	Vandzene	57°19'N 24°48'E
	<i>Centaurea jacea</i>	Lauksaimniecības zemes	Vandzene	57°19'N 24°48'E
	<i>Leucanthemum vulgare</i>	Lauksaimniecības zemes	Vandzene	57°19'N 24°48'E
	<i>Tussilago farfara</i>	Lauksaimniecības zemes	Vandzene	57°19'N 24°48'E
	<i>Leucanthemum vulgare</i>	Pļava	Carnikava	57°06'N 24°28'E
Plantaginaceae	<i>Plantago major</i>	Priežu sils	Silciems	57°05'N 24°25'E
Brassicaceae	<i>Arabis cardaminopsis</i>	Smilšaina kāpa	Jaunciems	57°05'N 24°12'E
	<i>Capsella bursa</i>	Jauktu koku mežs	Silciems	57°05'N 24°25'E
Fabaceae	<i>Trifolium arvense</i>	Smilšaina kāpa	Jaunciems	57°05'N 24°12'E
	<i>Trifolium arvense</i>	Pļava	Carnikava	57°06'N 24°28'E
Caryophyllaceae	<i>Dianthus arenarius</i>	Smilšaina kāpa	Jaunciems	57°05'N 24°12'E
	<i>Stellaria holostea</i>	Jauktu koku mežs	Silciems	57°05'N 24°25'E
Scrophulariaceae	<i>Melampyrum pratense</i>	Smilšaina kāpa	Jaunciems	57°05'N 24°12'E
	<i>Melampyrum</i>	Egļu vēris	Iecava	56°36'N 24°14'E

	<i>pratense</i>			
	<i>Veronica chamaedrys</i>	Egļu vēris	Iecava	56 °36'N 24°14' E
	<i>Veronica spicata</i>	Pļava	Carnikava	57°06' N 24°28' E
Lamiaceae	<i>Thymus serpyllum</i>	Smilšaina kāpa	Jaunciems	57°05' N 24°12' E
	<i>Clinopodium vulgare</i>	Jauktu koku mežs	Silciems	57°05' N 24°25' E
Oxalidaceae	<i>Oxalis acetosella</i>	Egļu vēris	Iecava	56 °36'N 24°14' E
Primulaceae	<i>Trientalis europaea</i>	Egļu vēris	Iecava	56 °36'N 24°14' E
Rubiaceae	<i>Galium verum</i>	Pļava	Carnikava	57°06' N 24°28' E
Dipsacaceae	<i>Knautia arvensis</i>	Jauktu koku mežs	Silciems	57°05' N 24°25' E

2.2.1.-2. tabula. Biotopu augsnes raksturojums

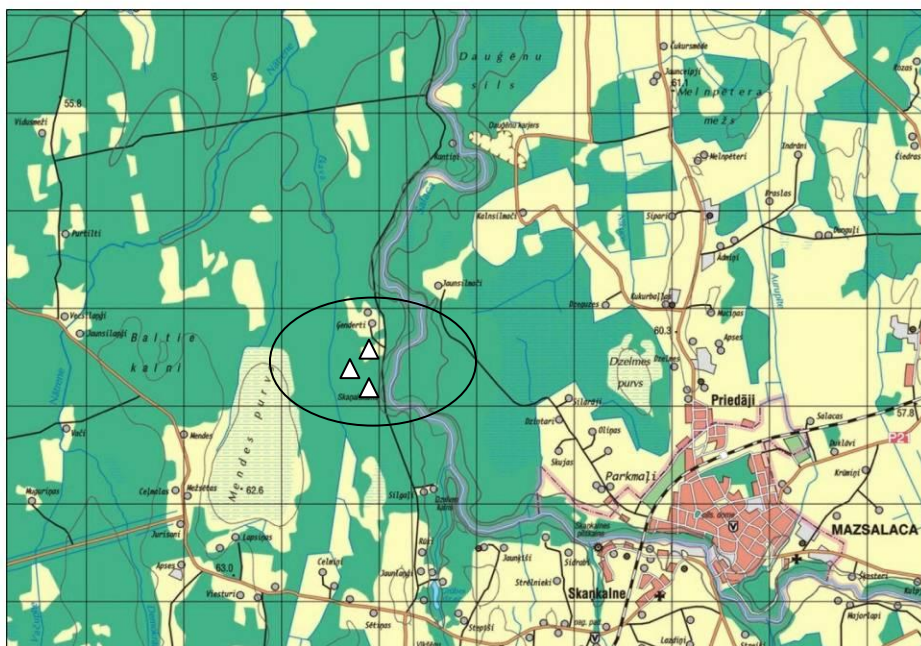
Hori zonts	Dziļums, cm	Krāsa	pH (H ₂ O)	pH (KCl)	OM, %	Struktūra
Silciems						
Ap	0 - 30	7.5YR 4/3	6.7	6.0	2.5	Mālaina smilts
A/C	30 - 50					Mālaina smilts
C	50 +	10YR 7/4				Vidēja smilts
Carnikava						
A	0 - 8	7.5YR 4/1	7.0	6.0	1.5	Vidēja smilts
B	8 - 103	10YR 7/4	7.8	6.8		Vidēja smilts
C	103 +	10YR 7/4	8.0	7.3		Vidēja smilts
Silciems						
Oi	5 - 0					
A	0 - 14	7.5YR 5/1	4.2	4.3	1.0	Vidēja smilts
E	14 - 30	7.5YR 8/1	4.8	4.8		Vidēja smilts
Bs	30 - 60	5YR 5/8	5.2	5.2		Mālaina smalka smilts
C1	60 - 95	7.5YR 5/6	5.8	5.5		Vidēja smilts
C2	95 +	7.5YR 5/8	5.8	5.7		Raupja smilts
Jaunciems						
A	0 - 7	7.5YR 4/1	5.0	4.6	1.0	Vidēja smilts
C/B	7 - 34	7.5YR 6/6	6.6	6.0		Vidēja smilts
C	34 +	7.5YR 7/6	6.6	6.0		Vidēja smilts
Iecava						
Oi	4 - 0					
EA	0 - 12	7.5YR 5/1	4.5	4.5	1.0	Smalka smilts
CB	12 - 45	7.5YR 6/8	6.6	6.4		Smalka smilts

C	45 +	7.5YR 7/8	6.6	6.4		Mālaina smalka smilts
Vandzene						
Ap	0 - 28	5YR 4/2	6.9	6.4	2.5	Mālaina smalka smilts
Bg	28 - 38	7.5YR 6/6	7.0	6.0		Māls
Cg	38 - 43	7.5YR 5/6	7.2	7.0		Mālaina smilts
C1	43 - 63	5YR 4/6	7.0	6.8		Smilšains māls
C2	63 +	7.5YR 6/6	karbonātu ar dolomīta fragmentiem			Vidēja smilts

2.2.2. Pētījumu vieta Mazsalacā

Otrajā pētījumā, lai noskaidrotu arbuskulārās mikorizas aktivitāti priežu lānā zemesdzies un sūnu stāva traucējuma ietekmē, 2001. gada pavasarī (7. - 8. jūnijs) netālu no Mazsalacas pie Skaņākalna, izveidoja deviņus parauglaukumus.

Katrs no šiem deviņiem parauglaukumiem bija 100 m² (katra kvadrātveida laukuma malas garums 10 m). Parauglaukumus izvēlējās pēc iespējas viendabīgākus, veģetāciju noteica pēc Brauna-Blankē metodes. Trīs no šiem parauglaukumiem palika neskarti un bija kontroles parauglaukumi (K). Trijos sūnas apgrieza otrādi (SA), bet citos trijos sūnas noņēma nost (SN), tādējādi parauglaukumos radījām traucējumu. Katru gadu (no 2001. līdz 2005. gadam) ievāca *Lerchenfeldia flexuosa* sakņu un augsnes paraugus ar augsnes zondi pēc Giovannetti, Mosse (1979) metodikas. Katru gadu (no 2001. līdz 2005. gadam) vasarā ievāca augsnes un sakņu paraugus trīs atkārtojumos (27 paraugi, kas ņemti ar augsnes zondi, kuras diametrs ir 4,5 cm).



2.2.2.-1. attēls. Mazsalacas parauglaukuma atrašanās vieta ("LR topogrāfiskā karte veidota WMS servera datiem").

Paraugu vākšanu veica aktīvajā veģetācijas periodā: 2001. g. 7. - 8.jūnijs (1. reize); 2002. g. 6.-7.jūnijs (2. reize); 2003. g. 19.jūnijs (3. reize); 2004. g. 15.jūnijs (4. reize); 2005. g. 15.jūnijs (5. reize).

Meža augšanas apstākļu tips – lāns, kam raksturīga tipiska vidēji auglīga podzola augsne. Kokaugu stāvā dominē II bonitātes priedes, vietām piemistrojumā egles un bērzi. Pamežs rets, sastopami pīlādži (*Sorbus aucuparia*). Sīkkrūmu un lakstaugu stāvā lielākais segums ir mellenēm, sastopamas (*Lerchenfeldia flexuosa*) niedru ciskas (*Calamagrostis arundinaceae*). Sūnu un ķērpju stāvā dominē *Hylocomium splendens* 70%, *Pleurozium schreberi* 30%, *Ptilium crista-castrensis* 10%, sastopamas divzobes *Dicranum polysetum* un *Dicranum scoparium*). Klajās vietās aug arī ķērpji (*Cladina sp.*)

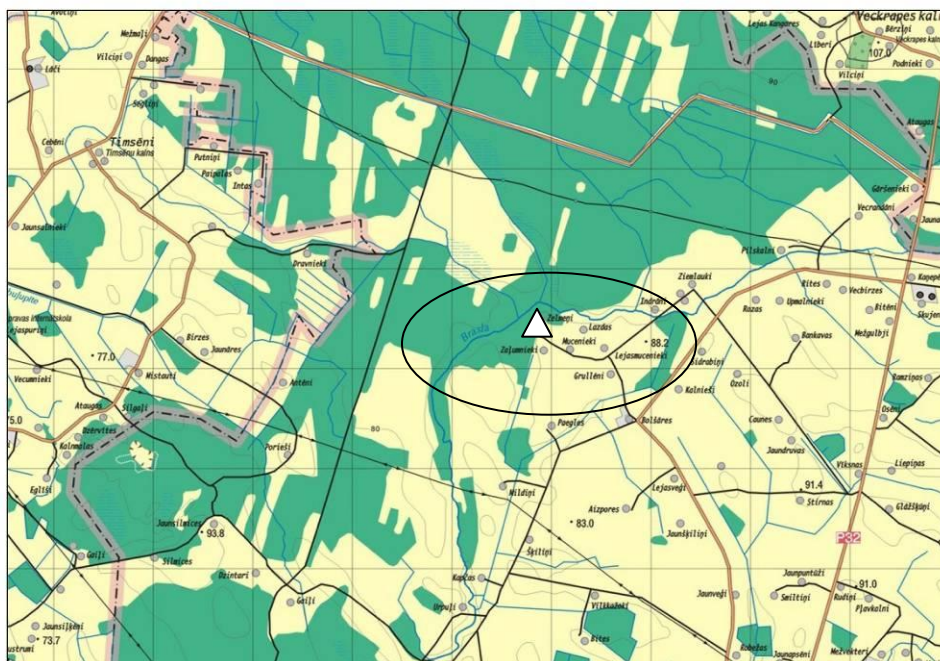
Klimatiskos datus ieguva no Latvijas Vides, ģeoloģijas un meteoroloģijas centra. Datu analīzei izmantoja klimatiskos datus no Rūjienas meteoroloģiskās stacijas (2.2.2.-1.tabula).

2.2.2.-1. tabula. Pētījuma Mazsalacā meteoroloģiskie apstākļi (Rūjienas meteostacijas dati)

Gads	Gada nokrišņu summa (mm)	Vidējā gaisa temperatūra (gadā) °C	Gaisa temperatūra jūlijā °C	Nokrišņi jūlijā (mm)	Nokrišņi augustā (mm)
2000	565,3	7,14	16,12	98,8	77,5
2001	799,3	7,46	20,69	133	85,6
2002	614,6	6,38	19,25	65,5	0
2003	687,7	5,72	19,7	80,1	151,5
2004	780,8	5,77	16,63	67,4	108,8
2005	615,7	5,67	18,1	65,5	133,4

2.2.3. Pētījuma vieta Skrīveros

Trešā pētījuma realizēšanai parastās kamolzāles (*Dactylis glomerata*) saknes un augsnes paraugus ķīmiskajām analīzēm un sporām ievāca Latvijas Lauksaimniecības Universitātes Skrīveru zinātnes centrā. Parauglaukumu izmēri bija 2 x 5 m (2.2.3.-1 attēls).



2.2.3.-1 attēls. Skrīveru parauglaukuma atrašanās vieta ("LR topogrāfiskā karte veidota WMS servera datiem").

1974. gadā Dr. hab. agr. Arturs Antonijs iekārtoja parauglaukumus ar graudzāļu maisījumiem – timotiņš (*Phleum pratense*) 4 kg ha⁻¹, daudzgadīgā airene (*Lolium perenne*) 4 kg ha⁻¹, pļavas skarene (*Poa pratensis*) 3 kg ha⁻¹, parastā kamolzāle (*Dactylis glomerata*),

pļavas auzene (*Festuca pratensis*) 10 kg ha⁻¹, sarkanais āboliņš (*Trifolium pratense*) 4 kg ha⁻¹, baltais āboliņš (*Trifolium repens*) 2 kg ha⁻¹. Mūsu pētījumam izvēlējās *Dactylis glomerata*, jo tā bija suga, ko konstatēja visos laukumos.

Pirms 1974. gada parauglaukumu vietā audzēja miežus (Antonijs, pers. ziņ.). Tie mēsloti ar N 90, P 80, K 100. Iegūta 2 t ha⁻¹ liela raža. 1973. gadā lauku uzara. 1974. gada to kaļķoja 3 t ha⁻¹ ar CaCO₃. Pēc tam lauks ir divas reizes kultivēts un iesēts graudzāļu maisījums. 1987. gadā parauglaukumus kaļķoja ar CaCO₃. 2001. gadā tos nokaisīja ar dolomīta miltiem. Ar minerālmēsliem parauglaukumi ielaboti (mēsloti) katru gadu. Fosfors un kālijs pievienoti augsnei rudenī. Slāpekļlis lietots trīs reizes veģetācijas sezonā. Pirmo reizi slāpekli iestrādāja pavasarī, otro – pēc pirmās biomasas nopļaušanas, trešo – kad otro reizi sezonā parauglaukumi bija nopļauti.

Veģetācijas projektīvo segumu noteica pēc Brauna - Blankē metodes (Pakalne *et al.* 1992) 2 x 5 m lielajā parauglaukumā. Salīdzinot pirms 30 gadiem iesēto augu sugu daudzveidību ar tagadējo, var secināt, ka agresīvākās sugas, piemēram, *Dactylis glomerata*, *Poa pratensis*, ir izspiedušas citas sugas. Piemēram, daudzgadīgā airene (*Lolium perenne*) izzuda pēc pieciem gadiem (Antonijs, pers. ziņ.). Parauglaukumos, kuri mēsloti ar lielāku slāpekļa devu, bija novērojama lielāka augu biomasa, salīdzinot ar citiem. Parauglaukumos dominēja iesētās sugas - *Dactylis glomerata*, *Poa pratensis*, *Festuca pratensis* un *Trifolium repens*, pie tam kaļķotajos laukumos daudzveidība ir lielāka (2.2.3.-2. tabula).

2.2.3.-1. tabula. Augsnes parametri Skrīveru parauglaukumos

Parauga Nr.	pH _{KCl}	N (mg/kg)	P (mg/kg)	K (mg/kg)	Mg (mg/kg)	Ca (mg/kg)	NPK
1	5,76	86,25	261,05	52,90	546,25	1682,45	311
2	6,33	95,45	1202,90	322,00	647,45	2832,45	313
3	6,04	109,25	815,35	65,55	819,95	2688,70	333
4	6,11	195,50	185,15	143,75	776,25	2113,70	133
5	5,78	83,95	133,40	75,90	258,75	1035,00	k kontr
6	6,03	112,70	1278,80	83,95	388,70	2257,45	131
7	5,21	103,50	87,40	78,20	126,50	718,75	n kontr
8	3,91	143,75	286,35	93,15	80,50	431,25	131
9	5,93	72,45	565,80	73,60	216,20	1682,45	311
10	3,95	178,25	165,60	143,75	39,10	273,70	313
11	4,34	115,00	1228,20	258,75	29,90	661,25	133
12	4,47	109,25	1353,55	64,40	35,65	906,20	333

Ķīmisko analīžu rezultāti rādīja (2.2.3.-1.tabula), ka augsnes kaļķošana NPK mēslojuma fonā samazinājusi augsnes skābumu, sevišķi ar lielākām slāpekļa mēslojuma devām, kā arī palielinājusi kalcija saturu augsnē. Augsnes kaļķošana palielinājusi augsnē kālija oksīda saturu ar NPK sabalansētajos variantos (var. 111 un 333), kā arī ar slāpekli (var. 311 un 300) un fosforu (var. 131 un 133) bagātīgāk nodrošinātajos variantos. Augsnes kaļķošana samazinājusi fosfora oksīda saturu augsnē ar NPK sabalansētajos (var. 111 un 333) un ar slāpekli bagātāk mēslotajos (311, 331, 300) variantos, bet palielinājusi fosfora saturu augsnē ar kāliju bagātīgāk mēslotajos (variantos 113, 133) un variantā bez NPK mēslojuma.

2.2.3.-2. tabula Augu sugas kaļķotos un nekaļķotos Skrīveru parauglaukumos

N:P:K	Kaļķoti parauglaukumi	Nekaļķoti parauglaukumi
1:3:1	<i>Angelica vulgaris</i> <i>Alopecurus vulgaris</i> <i>Taraxacum officinalis</i> <i>Stellaria graminea</i> <i>Ranunculus acris</i> <i>Dactylis glomerata</i> <i>Trifolium repens</i> <i>Potentilla anserina</i>	<i>Convolvulus arvensis</i> <i>Poa pratensis</i> <i>Dactylis glomerata</i> <i>Phleum pratense</i> <i>Festuca pratensis</i> <i>Veronica chamaedrys</i> <i>Vicia cracca</i>
1:3:3	<i>Dactylis glomerata</i> <i>Poa pratensis</i> <i>Festuca pratensis</i> <i>Phleum pratense</i> <i>Lolium perenne</i> <i>Trifolium repens</i> <i>Taraxacum officinale</i> <i>Stellaria graminea</i> <i>Carex globularis</i> <i>Veronica chamaedrys</i>	<i>Dactylis glomerata</i> <i>Phleum pratense</i> <i>Poa pratensis</i> <i>Taraxacum officinale</i> <i>Achillea millefolium</i> <i>Festuca pratensis</i> <i>Trifolium repens</i> <i>Leontodon hispidus</i> <i>Ranunculus acris</i> <i>Veronica chamaedrys</i> <i>Lysimachia vulgaris</i>
3:1:1	<i>Lolium perenne</i> <i>Angelica vulgaris</i> <i>Ranunculus repens</i> <i>Taraxacum officinale</i> <i>Festuca pratensis</i> <i>Leontodon hispidus</i> <i>Luzula campestris</i> <i>Artemisia vulgaris</i> <i>Dactylis glomerata</i>	<i>Poa pratensis</i> <i>Lolium perenne</i> <i>Carex leporina</i> <i>Rumex acetosa</i> <i>Dactylis glomerata</i>
3:1:3	<i>Dactylis glomerata</i> <i>Ranunculus acris</i> <i>Taraxacum officinale</i> <i>Lolium perenne</i> <i>Poa pratensis</i>	<i>Dactylis glomerata</i> <i>Phleum pratense</i> <i>Taraxacum officinale</i>
3:3:3	<i>Dactylis glomerata</i> <i>Poa pratensis</i> <i>Taraxacum officinale</i> <i>Stellaria holostea</i> <i>Phleum pratense</i> <i>Lolium perenne</i> <i>Festuca pratensis</i>	<i>Dactylis glomerata</i> <i>Poa pratensis</i> <i>Ranunculus acris</i> <i>Achillea millefolium</i>
Kontrole	<i>Festuca pratensis</i> <i>Prunella vulgaris</i> <i>Lolium perenne</i> <i>Leontodon hispidus</i> <i>Antoxantum odoratum</i> <i>Achillea millefolium</i> <i>Pimpinella saxifraga</i> <i>Veronica chamaedrys</i> <i>Veronica serpyllifolia</i> <i>Carex leporina</i> <i>Taraxacum officinale</i> <i>Trifolium repens</i> <i>Dactylis glomerata</i> <i>Plantago lanceolata</i>	<i>Veronica chamaedrys</i> <i>Veronica serpyllifolia</i> <i>Stellaria graminea</i> <i>Taraxacum officinale</i> <i>Alchemilla vulgaris</i> <i>Prunella vulgaris</i> <i>Antoxantum odoratum</i> <i>Dactylis glomerata</i> <i>Trifolium repens</i> <i>Carex leporina</i> <i>Achillea millefolium</i> <i>Leontodon hispidus</i> <i>Leucanthemum vulgare</i>

2.2.4. Pētījumu vieta Salaspilī

Ceturtajam pētījumam Salaspilī (56°52'35.5"N 24°22'12.0"E) 2002. gadā izveidoja 21 lauciņu Bioloģijas institūta eksperimentālajā laukā (izveidoja 21 1 x 1 m dobes) un iesēja 100 sēklas no katras *Hordeum vulgare* Latvijā rajonētās šķirnes no Ģenētisko resursu centra Latvijas laukaugu gēnu bankas (www.genres.lv) (2.2.4.-1. tabula). Augus audzēja līdz piena gatavības fāzei.

2.2.4.-1. tabula. Pētījumā izmantotās *Hordeum vulgare* varietātes un selekcijas parametri (Latvijas laukaugu gēnu bankas dati)

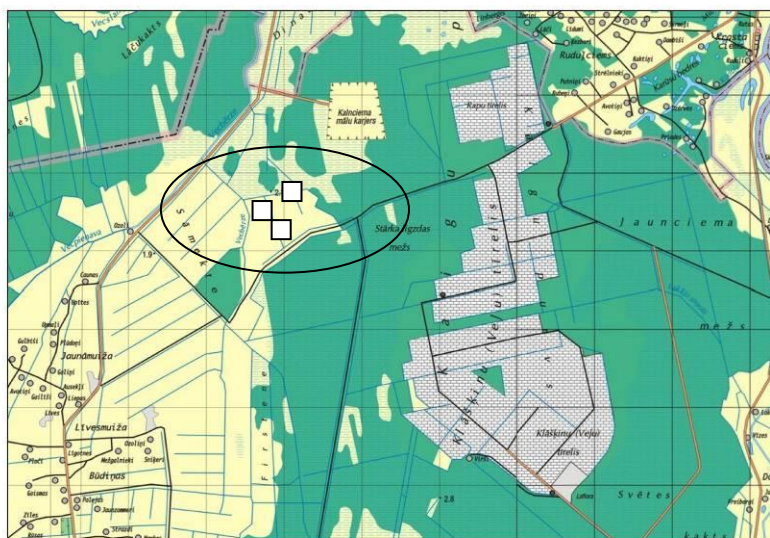
Varietāte	Izcelšanās	Selekcija	Selekcijas gads	Komercializācijas gads
Abava	Mari/Elsa/Domen	Stende PBS	1978	1980
Agra	Priekuļu 1/Priekuļu 60	Priekuļi P	1984	0
Ansis	Jarek/Taifum	Stende PBS	1995	2001
Balga	Gunilla/KM-1192	Priekuļi P	1990	1994
Dzintars	-	-	-	-
Gāte	Emir/2'Nadja//H497/ Hadmersleben/70179/70	Priekuļi P	1995	1999
Idumeja	-	-	-	-
Ilga	KM-1192/Hadmersleben/ 70179/70	Priekuļi P	1983	0
Imula	Imula/ 2' Akka	Priekuļi P	1985	1990
Klinta	Torkel/CF-42	LLU	1993	1998
Kombainieris	Maja/Talsu vietējais	Stende PBS	1950	1955
Linga	Gunilla/KM-1192	Priekuļi P	1985	1990
Malva	-	-	-	-
Priekuļu 1	No Norvēģijas vietējā	Priekuļi P	1954	1959
Priekuļu 60	Talsu vietējais/ 2'Maja///Talsu lokālais/2'Maja//Tammi	Priekuļi P	1972	0
Rasa	Frankelgold/HE-R-54	Stende PBS	1991	1996
Rūja	Abava/Kombainieris/ Trumph	Priekuļi P	1992	1996
Sencis	Rupal/Ofir/Torkil	Stende PBS	1994	2000
Stendes	Drost/Maja	Stende PBS	1972	0
Vairogs	Priekuļi	Stende PBS	1930	1930
Latvijas vietējie	-	-	-	-

2.2.5. Pētījuma vieta Vecbērzē

Termins „polderis” apzīmē nosusinātu platību, kas ar aizsargdambi norobežota no uzplūstošiem ūdeņiem, bet ūdens noteci no aizsargātās platības novada ar sūkņēšanu Latvijā patreiz ir 58 polderi, kas aizņem 40 000 hektāru zemes. Tas ir aptuveni 1,6% no kopējās lauksaimniecībā izmantojamās platības. Saskaņā ar Ministru kabineta 2006.gada 17.februāra noteikumiem Nr.142 „Noteikumi par nacionālās nozīmes lauksaimniecības teritorijām” 37 polderi ir noteikti par nacionālās nozīmes lauksaimniecības teritorijām un viens no tiem ir izmantots pētījumā.

Tā kā polderi ir Zemgales un arī Latvijas auglīgākās zemes, lai noskaidrotu AM sporu daudzveidību mākslīgā ekosistēmā, piektajā pētījumam iekārtoja parauglaukumus agrocenozē.

Parauglaukumi atradās Vecbērzēs polderī (2.2.5.-1.attēls) ($56^{\circ}43'52''N$ $23^{\circ}35'13''E$, ar baseina platību 8429 ha). 2009. g. 18. jūlijā izvēlējās trīs parauglaukumus ar trim atšķirīgām lauksaimniecības kultūrām. Attālums starp parauglaukumiem 300 m.



2.2.5.-1. attēls. Parauglaukumi Vecbērzēs polderī (pēc Jelgavas novada teritorijas plānojums 2011.-2013.g.) □- paraugu ņemšanas vietas. ("LR topogrāfiskā karte veidota WMS servera datiem")

Vecbērzēs pagastā lauksaimniecībā izmantojamo zemju kvalitātes novērtējums ir 62 balles (Boruks 2004). Augsne gramelometriskās īpašības – glejota mālsmilts. Dati par augšņu ķīmiskajām īpašībām apkopoti 2.2.5.-1. tabulā. Augsne ir intensīvi apstrādāta. Pirmajā parauglaukumā iepriekšējā gadā bija iestrādāts organiskais mēslojums 80 t ha^{-1} . Minerālmēsli – 500 kg ha^{-1} iestrādāti 3. parauglaukuma augsnē. Herbicīdi lietoti visos parauglaukumos. Iepriekšējos gados ievērota augu sekas rotācija ar esošajām kultūrām.

2.2.5.-1. tabula. **Augsnes raksturīgās īpašības parauglaukumos Vecbērzes polderī.** Dati ir vidējie no pieciem neatkarīgiem mērījumiem katram parauglaukumam.

Paraug laukums	pH KCl	pH H ₂ O	P mg kg ⁻¹	N %	Ca mg kg ⁻¹	Mg mg kg ⁻¹	K mg kg ⁻¹	Na mg kg ⁻¹	Augsnes mitruma saturs (1-8)
Nr.1.	5,35 ± 0,03	6,30 ± 0,01	518,62± 6,17	0,28 ± 0,01	3218 ± 1086	3646 ± 1674	121 ± 8	91,3 ± 12,67	3
Nr. 2.	5,30± 0,08	6,24± 0,02	498,91± 6,15	0,19± 0,00	3086 ± 650	3286 ± 274	1066± 22	68,66± 7,34	2-3
Nr. 3.	5,30 ± 0,05	6,18 ± 0,02	961,43 ± 6,57	0,70 ± 0,21	3500 ± 240	7186 ± 854	1221± 5	112,00 ± 4	1-2

Parauglaukums ar saimniekaugu *Z. mays* atradās tuvāk Kaigu kūdras masīva lapu koku mežam un bija mitrāks. Parauglaukums ar *B. napus* atradās 300 m uz dienvidiem no iepriekšējā laukuma atklātā vietā un bija sausākais no visiem. Parauglaukums ar *T. aestivum* bija 300 m uz rietumiem no abiem iepriekšējiem laukumiem atklātā vietā. Parauglaukuma augsne bija vidēji mitra. Visus trīs parauglaukumus atdalīja meliorācijas grāvji un piebraucamie ceļi. Katrā parauglaukumā vienā transektē Z-D virzienā, ik pēc 10 m savāca 30 saimniekaugu sakņu (2009. g. 18. jūlijā) un augsnes paraugus.

Informācija par temperatūras un nokrišņu izmaiņām 2009. gadā pēc parauglaukumam tuvākās meteostacijas datiem apkopota 2.2.5.-2. tabulā.

2.2.5.-2. tabula. Gaisa vidējās temperatūras izmaiņas un nokrišņu summas 2009. gadā parauglaukumiem tuvākajā meteostacijā Dobelē

Mēneši	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
Tempera tūra (°C)	-2	-3,35	0,05	8,03	12,17	14,44	17,72	16,63	14,15	5,14	3,73	-2,61
Nokrišņi (mm)	41,1	19	56	8,8	17,6	92,7	84,1	43,9	29,9	79,4	45,7	55,7

2.2.6. Pētījuma vietas mikorizu sastopamības izvērtējumam ar briofītiem

Laikā no 2006. gada līdz 2011. gada jūlijam sestajam - briofītu un arbuskulāro mikorizu pētījumam ievāca paraugus ar 43 briofītu sugām. Paraugus ievāca no dažādiem substrātiem (trupoša koksne, koku stumbri, augsne, meži, pļavas, purvi, smilšakmeņi). Teritorijas un biotopi bija sekojoši: nogāžu meži Slīteres Nacionālajā parkā (57°37'48.5"N 22°17'38.7"E), lauksaimniecības zemes un augsne Iecavā (56°41'16"N, 23°42'04"E), platlapju mežs Kaltenē (57°28'00"N, 22°54'00"E) un ruderāli biotopi Salaspilī (56°51'40"N, 24°20'58"E).

2.3. Sakņu paraugu ievākšana un histoloģiskā krāsošana

Katrā pētītajā biotopā randomizēti izvēlējās un pētīja biotopos biežāk sastopamās (pēc Brauna-Blankē metodes) augu sugas. Katrā pētītā biotopa parauglaukumā ievāca trīs vienādu sugu augu sakņu paraugus (vienā fenoloģiskajā fāzē, ar līdzīgu, labu vitalitāti) Augu saknes izraka kopā ar augsni, atbrīvoja no citu augu saknēm. Saknes atbrīvoja no augsnes un uzglabāja plastmasas maisiņos 4 °C turpmākajām mikorizu simbiozes analīzēm, vai pētīšanai paredzētās sīkās saknes sagrieza apmēram 1 cm garos gabaliņos un atkrāsoja uzreiz 10% KOH šķīdumā 24 h apkārtējās vides temperatūrā. Autore saknes aprakstīja un sagrupēja morfoloģiskās klasēs: 1) saknes smalkas; 2) saknes robustas 3) saknes vidēji smalkas, nezarotas un pēc krāsas 1) saknes pigmentētas; 2) saknes bez pigmenta (Zobel 1986).

2.4. Mikorizas kolonizācijas noteikšana saknēs

Saknes skaloja krāna vai citā pieejamā ūdenī apkārtējās vides temperatūrā, līdz saknes bija atbrīvotas no augsnes daļiņām, sagrieza apmēram 1 cm garos gabaliņos un sagatavotas pēc Haumana (Hayman 1970) metodes. Saknes atkrāsoja no pigmentiem sildot tās 10% KOH šķīdumā 90 °C ūdens peldē līdz stundai vai 50 °C uz 12 h atstājot termostatā, atkarībā no sakņu morfoloģiskajām īpatnībām, vai gaišas saknes nekarsējot, bet atstājot uz 24 h istabas temperatūrā. Ļoti tumšas saknes apstrādāja atkārtoti (Hayman 1970).

Lai noskaidrotu piemērotāko krāsu mikorizu struktūru vizualizēšanai ar metil zilo, tripān zilo, melno hlorozolu, fuksīnu, un melno tinti autore veica priekšizpēti (nav apskatīts šajā darbā) un adaptēja labāko metodi, tūlītējai sakņu krāsošanai laboratorijā vai lauka apstākļos, kad nebija iespējams nodrošināt sakņu uzglabāšanu vēsumā 24 stundu laikā pēc paraugu ievākšanas. Maksimāla rezultāta sasniegšanai laboratorijas apstākļos izmantoja Trouvelot metodi (Trouvelot *et al.* 1986) ar tripānzilo, bet lauka apstākļos ar melno (parker) tinti pēc Vierheilinga (Vierheilig 1998) metodes.

Saknes krāsoja ar 0,05% tipānzilo 20 min 90 °C vai ar 5% tintes šķīdumu 8% etiķskābes šķīdumā 5 minūtes 90°C. Saknes skaloja un inkubēja 15 - 25 min 2% sāļsskābes šķīdumā, vai attiecīgi 8% etiķskābes šķīdumā. Nosausinātas saknes sagatavoja tālākai izpētei vai uzglabāja glicerīna, pienskābes un destilēta ūdens maisījumā (1:1:1). Sakņu paraugu analīzei 15 sakņu paraugus sakārtoja uz diviem priekšmetstikliņiem (katram augam trīs atkārtojumus) un pētīja pēc Trouvelot *et al.* (1986) metodes, izmantojot MYCOCALC datorprogrammu, kur mikorizācijas klases no 0 līdz 5, un arbuskulu klātbūtnes klases no 0 līdz 3 (2.4.-1.att.). Datorprogramma MYCOCALC atbilstoši formulām programmēta darbam ar MS Excel. AM parametrus noteica izmantojot 2.4.-1. attēlā redzamās mikorizu kolonizācijas klases un

arbuskulu daudzumu. Katram no 30 saknes parauga fragmentiem (Trouvelot *et al.* 1986) novērtēja kolonizācijas un arbuskulu klases pēc to aizņemtās telpas saknes audos un datorprogrammā MYCOCALC izrēķināja mikorizas frekvenci, jeb sēņu struktūru sastopamību sakņu sistēmā (F%), mikorizācijas kolonizācijas intensitāti sakņu fragmentos (M%), mikorizas intensitāti sakņu sistēmā (m%), arbuskulu sastopamību pētītajos paraugos (a%) un arbuskulu daudzumu visā sakņu sistēmā (A%). Mikorizu simbiozes parametrus aprēķināja pēc formulām:

1. Mikorizu kolonizācijas frekvence jeb sastopamība sakņu sistēmā

$F\% = \text{kolonizēto fragmentu skaits} / \text{kopējais paraugu skaits} \times 100$

2. Mikorizas kolonizācijas intensitāte sakņu sistēmā

$M\% = (95 n_5 + 70 n_4 + 30 n_3 + 5n_2 + n_1) / (\text{kopējais skaits})$, kur n_5 ir fragmentu skaits, atbilstošs piektajai klasei; n_4 – fragmentu skaits atbilstošs ceturtajai klasei, n_3 ir fragmentu skaits atbilstošs trešajai klasei, n_2 ir fragmentu skaits atbilstošs otrajai klasei, n_1 ir fragmentu skaits atbilstošs pirmajai klasei.

3. Mikorizālās kolonizācijas intensitāte sakņu fragmentos

$m\% = M * (\text{kopējais skaits}) / (\text{mikorizālo sakņu skaits})$

4. Arbuskulu sastopamība mikorizālajās sakņu fragmentu daļās

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

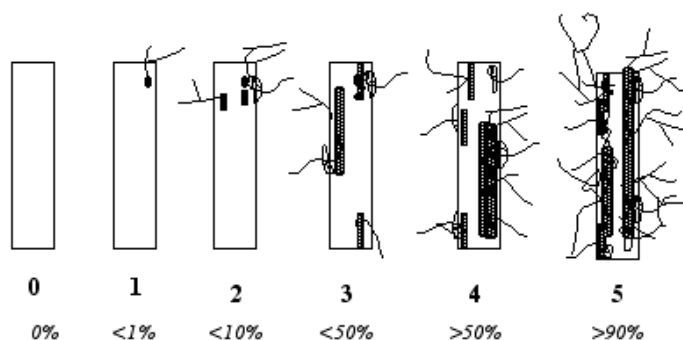
Kur m_{A3} , m_{A2} , m_{A1} ir arbuskulu sastopamība mikorizācijas kolonizācijas intensitātes sakņu fragmentos $m\%$.

5. Arbuskulu daudzums sakņu sistēmā

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

Tālākai statistiskai analīzei izmantoja F% parametrus.

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



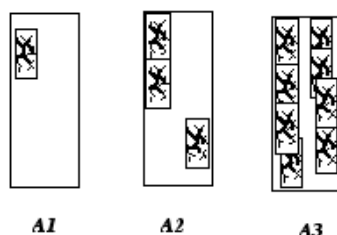
SCORING ARBUSCULE ABUNDANCE

None : A0

Few arbuscules : A1

Frequent : A2

Abundant : A3



2.4.-1. attēls. Mikorizu kolonizācijas klases un arbuskulu daudzums pēc Mycorrhiza manual (2001).

2.5. Sporu ekstrakcija un identifikācija

AM sēņu sporu iegūšanai sugu identifikācijai izmantoja Gerdemana un Nikolsona (1963) izstrādāto slapjās sijāšanas metodi. Sekojot metodikai veica vairākas procedūras: 1) augsnes paraugus savāca no augu rizosfēras zonas 0 - 20 cm dziļumā; 2) 50 g augsnes iepildīja 1 l ūdens, 12 h mērcēja 4 °C; 3) skaloja caur sietiem ar 710, 250 un 50 μm izmēra acīm; 4) sporas ieskaloja 50 ml ūdens, un centrifugēja 5 min 2000 apgriezīenos; 5) pēc ūdens noliešanas stobriņu uzpildīja ar 50% saharozes šķīdumu un centrifugēja atkārtoti 2000 apgriezīenos 1 - 2 minūtes; 6) sporas no saharozes-ūdens robežas nosūca ar šļirci un pārlēja Petri traukos ar destilētu ūdeni; 7) sporas un sporokarpus ar pipeti vai adatu sadalīja pa morfotipiem un sakārtoja uz priekšmetstikliem. Morfoloģiskās sporu apvalku struktūras noteiktas materiālā polyvinilalkohola/pienskābes/ glicerīna (PVLG) pilienā un Melcera reaģenta maisījumā (4:1) uz priekšmetstikla (Omar 1979). Arbuskulāro mikorizu sēņu sugu noteikšanai apskatītāja sekojošus sporu parametrus: sporu izmērs, sporu krāsa, hifu struktūra, sporu apvalku struktūra un sporu apvalku krāsošanos ar Melcera reaģentu. Morfoloģiskās sporu apvalku struktūras un šūnu struktūras noteiktas sporu materiālu ievietojot polivinilspirta / pienskābes / glicerīna (PVLG) pilienā un sporas saspiežot ar segstikliņu.

AM sugu identifikācija veica, izmantojot sugu aprakstus un identifikāciju rokasgrāmatas (Schenck, Pérez 1990; Blaszkowski 2012) un interneta resursus: International Culture

Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal fungi (<http://invam.caf.wvu.edu/fungitaxonomy/speciesID.htm>), <http://invam.caf.wvu.edu/>, <http://www.agro.ar.szczecin.pl/~jblaszkowski/Introduction.html>. Identifikāciju veica izmantojot gaismas mikroskopus un Olympus BX41 palielinājumā no 100 līdz 400 reizēm. Sēņu nosaukumi un autori ir no "Authors of Fungal Names" mājas lapas (<http://www.indexfungorum.org/AuthorsOfFungalNames.htm>).

2.6. Sporu diedzēšana

No pirmajā pētījumā (4.1. nodaļa) iegūtā sporu materiāla [pēc Gerdemana un Nikolsona (1963) metodes] atlasīja tikai veselas un gaišas sporas (apmēram 100 – 250 μm lielas), bet ļoti tumšās, un deformētās sporas eksperimentā neizmantoja. Sporu diedzēšanai tās apstrādāja 0,025% streptomicīna sulfāta - Ringera šķīdumā (Allen *et al.* 1979) 15 min, bet pēc tam piecas reizes skaloja ar 10 ml destilētu ūdeni. Apmēram 25 sporas uzlēja uz Petri traukiem un tos noslēdza ar parafilmu.

Sporas diedzēja termostatā 20 °C tumsā uz trīs dažādām barotnēm 60 dienas:

- 1) 5% augsnes ekstrakta – agara (augšnes ekstraktu ieguva filtrējot 200 g augsnes, sajauktu ar 600 ml destilēta ūdens);
- 2) 1% agara-ūdens barotne ar hloramfenikolu (100 mg l⁻¹);
- 3) 5% agara-ūdens barotne (5 g l⁻¹ agara).

2.7. Sporu audzēšana veģetācijas trauku kultūrās

Sporu iegūšanu veģetācijas traukos veica pēc Mortona un kolēģu izstrādātas metodikas (Morton *et al.* 1993). Augšnes paraugus, kas ievākti no rizosfēras zonas (0 - 20 cm) pētītajām augu sugām izmantoja sporu audzēšanai veģetācijas traukos. Veģetācijas trauku kultūru izveidošanai, augsni ar sakņu fragmentiem (100 g svaigas augsnes) iebēra 9 x 12,5 cm plastikāta podos (0,5 l) vai kastēs (2 l) autoklāvētās kvarca smiltīs (1,0-10 mm diametrā 80,5%; graudi 0,1-1,0 mm diametrā 17,28%; graudi < 0,1 mm diam – 2,22%). *Plantago lanceolata* L., *Trifolium repens* L. un *Allium porum* L. izmantoja par saimniekaugiem (3.6.1. attēls). Kultūras audzēja privātā siltumnīcā. Divus un sešus mēnešus pēc veģetācijas kultūru izveidošanas AM sēņu sporas ekstrahēja izmantojot slapjās sijāšanas metodi (pēc Gerdemana un Nikolsona (1963)). Morfoloģiskās sporu apvalku struktūras un šūnu struktūras noteica materiālā polivinilspirta / pienskābes / glicerīna (PVLG) pilienā, kam pievienoja Melcera reaģenta maisījuma (4:1) pilienu uz priekšmetstikla (Omar *et al.* 1979). Identifikāciju veica, izmantojot gaismas mikroskopu Olympus BX41 palielinājumā no 100 līdz 400 reizēm. Sēņu

nosaukumi un autori ir no "Authors of Fungal Names" mājas lapas (<http://www.indexfungorum.org/AuthorsOfFungalNames.htm>).



3.6.1. attēls. Veģetācijas trauku kultūras ar saimniekaugiem *Trifolium repens* un *Allium porrum*. Autores foto.

2.8. Molekulārās metodes AM sugu noteikšanai

AM sēņu identificēšanai dažādos līmeņos (Glomeromycota ģints, taksons) izmantoja kodolu ribosomālās DNS (rDNS) sekvences (van Tuinen *et al.* 1998 a, b; Gollotte *et al.* 2004; Farmer *et al.* 2007). Metodi pielietoja, izmantojot sporas un saknes un tai bija vairākas fāzes.

DNS ekstrakcija no sakņu paraugiem

DNS ekstrahēja Dr. M. Trauschke vadībā, izmantojot *NucleoSpin Plant II* ekstrakcijas komplektu (Macherey-Nagel). Atbilstoši DNS ekstrakcijas metodikai vispirms katram paraugam veica 100 mg sakņu apstrādi ar miezerēšanu līdz šūnu lizēšanai 100 µl buferī PL2. Papildināja ar 200 µl ar buferi PL2 un 10 µl RNase A un inkubēja 10 min 65 °C. Pievienoja 75 µl buferi PL3. Inkubēja 5 minūtes uz ledus. Pēc tam centrifugēja 5 min 11000 apgriezios 4 °C.

Nākošais etaps bija filtrācija. Pēc filtrācijas paraugus centrifugēja 2 min 11000 apgriezios 20 °C.

DNS saistīšanai uz membrānas paraugam pievienoja 450 µl PC bufera, samaisīja un pārnesa uz NucleoSpin stobriņu. Centrifugēja 1 min 11000 apgriezios 20 °C. Paraugu skaloja. Šķīdumu sadalīja un stobriņā pievienoja 400 µl bufera PW 1. Centrifugēja 1 min 11000 apgriezios 20 °C. Sadalīja šķīdumu un pievienoja 700 µl bufera PW 2. Centrifugēja 1 min 11000 apgriezios 20 °C. Sadalīja šķīdumu un pievienoja 200 µl bufera PW 2. Centrifugēja 1 min 11000 apgriezios 20°C.

DNS atdalīšanai stobriņu 1,5 ml mikrocentrifūgas tūbiņā, pievienoja 50 µl sterilu ultratīru ūdeni stobriņa centrā un izturēja 1 min istabas temperatūrā.

DNS izskalošanai paraugu centrifugēja 1 min 11000 apgriezienos 20°C. Sagatavoja trīs atkārtojumu paraugus 15 µl un glabāja -20 °C (Gollotte *et al.* 2004).

Polimerāzes ķēdes reakcija

Polimerāzes ķēdes reakciju (PĶR) realizēja, sekojot standarta metodikai (van Tuinen *et al.* 1998). Pirmās pakāpes DNS polimerāze (Taq polimerāze) izolēta no (*Thermus aquaticus*).

Pirmā PĶR sastāvēja no sešiem paraugiem 19 µl PĶR mix kam pievienoja no sagatavotā 1 µl DNS. Papildus pievienoja negatīvo kontroli bez DNS – tikai ūdens un pozitīvo kontroli. Sagatavoja reakciju mix 16 0,5 ml stobriņos attiecīgi: 32 µl PĶR buferi 10x koncentrēts (MP Biomedicals), 32 µl dNTP (1 mM) 1,6 µl ITS3 (100 µM) 1,6 µl FLR2 (100 µM) 0,8 µl Taq polimerāzi (MP Biomedicals, 15 U/µl) un 16 µl DNS pievienoja pēc tam, 236 µl sterila ultratīra ūdens. Katrā 0,2 ml stobriņā sadalīja 19 µl reakcijas maisījumu un pievienoja 1µl DNS. Noslēdza šķīdumu ar minerāleļļas pilienu. Stobriņus salika termociklerī un uzstādīja programmu: 40 cikli - 94 °C 1 min, 55 °C 1 min, 72 °C 30 min un 72 °C 10 min.

Otro PĶR veica ar specifiskiem praimeriem, izmantojot pirmās PCR produktus. Izveidoja reakciju mix katram praimerim 0,5 ml stobriņos. 34 µl PĶR buferi 10x koncentrētu (MP Biomedicals) 34 µl dNTP (1 mM), 1,7 µl Praimeri 1 (100 µM), 1,7 µl Praimeri 2 (100 µM), 0,6 µl Taq polimerāzi (MP Biomedicals, 15 U µl⁻¹) un 17 µl DNS pievienoja pēc tam, 251 µl sterilu ultratīru ūdeni. Katrā 0,2 ml stobriņā sadalīja 19 µl reakcijas mix. Pievienoja 1 µl PĶR produkta. Nosedza ar pilienu minerāleļļas. Stobriņus salika termociklerī un uzstādīja programmu: 40 cikli - 94 °C 1 min, 58 °C 1 min, 72 °C 1 min un 72 °C 10 min.

Izmantoja praimeris AM1 (5'- GTTTCGGTAAGGCGCCGAA-3), kas ir specifisks AM sēņu 18S ribosomālās DNS amplifikācijai (Helgason *et al.* 1998)

Gēla elektroforēze

DNS molekulas vizualizēja, pēc elektroforēzes krāsojot ar etilbromīdu (EtBr). Sākotnēji sagatavoja 1,4% agarozes gelu 0,5% TAE buferī. Gēlu salēja elektroforēzes tvertnē un nosedza ar 0,5% TAE buferi. Pirmajā ceļā iepildīja 5 µl 1kb plus DNS. Miksēja 7 µl no katra PĶR produkta ar pilienu bufera un iepildīja gelā. Palaida elektroforēzi uz 20 - 30 min. Krāsoja etilbromīdā 5 min. Atstāja nostiprināt krāsu uz 5 min istabas temperatūrā destilētā ūdenī. Apskatīja gēlu zem UV gaismas un salīdzināja joslu izmērus katram praimeru pārim.

AM morfotipu identifikācija

T-RFL metodi izmantoja, lai noteiktu AM sēņu ģenētisko struktūru (Osborn et al. 2000). Iegūtās sekvences (www.ncbi.nlm.nih.gov/) ar BLAST rīku (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) salīdzināja ar sekvencēm NCBI nukleotīdu datu bāzē. Atkarībā no rezultātiem ģinšu līmenī praimeru pārus vērtēja sugu identifikācijai.

2.9. Datu statistiskā analīze

Ar dispersijas analīzi (ANOVA (Analysis of Variance)) novērtēja dažādu edafisko faktoru (pH, augsnes granulometriskais sastāvs, humusa slāņa biezums, augsnes mitrums, kālijs, kalcījs, magnijs, dzelzs, cinks) būtiskums uz parametriem (sporu skaits augsnē un kolonizācijas frekvence). Ar Kruskal Wallis testu salīdzinātas atšķirības starp parauglaukumiem piektajā pētījumā. Veikta divu paraugkopu salīdzināšana ar Vilksona testu un pāru salīdzināšana.

Vispārināto lineāro modeli (Generalized linear model (GLM)) lietoja būtisku ($p < 0,05$) faktoru noskaidrošanā, kas ietekmē mikorizas kolonizāciju un sporu skaitu. GLM izvēlēts, jo dati neatbilst teorētiskajam sadalījumam arī pēc transformēšanas. Izvēlējas labāko GLM modeli ar pakāpenisku pievienošanas iespēju. Modeļus savā starpā salīdzināja ar ANOVA un izvēlējas labāko ar mazāko AIC (Akaike's Information Criterion) vērtību. Novērtēja arī katra modeļa piemērotību parametra izskaidrošanā ar atlikuma procentu (deviance percentage), izmantojot Biodiversity R paketi. Datus analizēja datorprogrammā R (ver.2.15.1.).

Ar datorprogrammas PC-ORD for Windows (ver. 5,0) palīdzību veica ordināciju (CCA – *Canocial Correspondance Analysis*), lai noskaidrotu arbuskulāro mikorizu sugu sastāvu un vides faktoriem, kas ietekmējuši saimniekaugus un sēnes. Rezultātu vizualizācijā galvenā datu kopa (Main matrix) ietvēra arbuskulāro mikorizu sugas, bet faktoru kopa (Second matrix) pētāmos faktoros - atkarībā no pētījuma iekļauti augsnes pH, mitruma, augsnes struktūra.

Indikatoru sugu analīze ar Monte Carlo testu veikta arbuskulāro mikorizu sugām piektajā pētījumā.

3. REZULTĀTI

3.1. Mikorizālā simbioze pļavu un mežu biotopos

Pirmajā pētījumā, lai noskaidrotu mikorizas struktūras augu saknēs un mikorizu ietekmējošos faktorus dominējošās augu sugās dažādos biotopos (sausā kāpu pļava, ruderāla pļava, humusvielām bagāta pļava, priežu mežs, egļu mežs, lapu koku mežs), analizēja mikorizas simbiozi 46 vaskulāro augu sugām.

Mežu biotopos analizēja 23 tajos dominējošo augu sugu mikorizu. Mikorizu morfoloģijas rezultāti apkopoti 3.1.-1. tabulā. No 23 pētītajām mežu biotopu sugām arbuskulārajām mikorizām raksturīgas struktūras – hifas, vezikulas un arbuskulas – novēroja visu augu saknēs. Lineāras hifas un hifu tinumus novēroja visu augu sakņu paraugos. Jaukta tipa mikorizu konstatēja 17 augu saknēs, 21 augu sugai bija *Arum* tips (90%) bet *Paris* tipu novēroja divām sugām – *Veronica chamaedrys* un *Knautia arvensis*. Vienpadsmit augu sugām bija gan *Arum*, gan jaukta tipa mikorizas. Mežu biotopos dominēja *Arum* tipa mikoriza.

Vezikulas konstatēja 23 augu sugu saknēs, bet to nebija septiņu sugu saknēs. Vezikulām konstatēja vairākas formas. Paraugos dominēja apaļas formas vezikulas hifu galos, bet bija arī abos galos nosmaļotas vezikulas hifas vidusdaļā. Vezikulas ar neregulāru formu (izstieptas vai stūrainas) bija *Lerchenfeldia flexuosa* un *Agrostis tenuis* saknēs, pie tam, šīs struktūras novēroja sakņu paraugos no dažādiem mežu biotopiem, kas liecina par saimniekauga nozīmi mikorizas veidošanā, kurā iesaistītas dažādas sēņu sugas.

Arbuskulas konstatēja 16 augu sugu paraugos, bet to nebija 14 sugām. Arbuskulām varēja izdalīt divus veidus. Viens no tiem bija robustas (*Luzula pilosa*), izteiktiem, salīdzinoši lieliem zariem (*Lerchenfeldia flexuosa*), bet otrs – smalkiem dihotomiem zariem (*Dactylis glomerata*) un paraugos bieži saskatāms kā izplūdis stūrainis tumšāks krāsojums, ar vai bez saskatāmām struktūrām (100 - 400 × palielinājumā).

Poaceae sugu saknēs novēroja sporu veidošanos. Tās bija sakārtotas grupās pa piecām sporām vairākās vietās. Morfoloģiski sporas atbilst sugai *G. intraradices*.

Četru augu sakņu paraugos nebija ne arbuskulu, ne vezikulu, bet bija novērojamas lineāras hifas. Šādas sugas bija *Capsella bursa-pastoris*, *Melampyrum pratense*, *Oxalis acetosella*, *Rumex acetosella*.

Kopumā jāsecina, ka visos biotopos novēroja mikorizas aktivitāti.

3.1. -1. tabula. Mežu biotopu arbuskulārās mikorizas morfoloģija

Augu sugas	Biotops	Mikorizu tips	Vezikulas	Arbuskulas	Hifu krāsa
<i>Agrostis tenuis</i>	PM	A, J	Ap, Ne	+	Tz, Z
	EM	J	Ne	+	Tz
	JKM	J	Ne	+	Tz, Z
<i>Calamagrostis arundinacea</i>	JKM	A, J	Ap	+	Tz, Z
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	JKM	A	–	–	Z
<i>Clinopodium vulgare</i>	JKM	A, J	Ap, Ov	–	Z
<i>Dactylis glomerata</i>	PM	A, J	Ap	+	Z
	JKM	J	Ap	+	Tz, Z
<i>Festuca rubra</i>	EM	A, J	Ap	+	Tz, Z
<i>Hieracium umbellatum</i>	PM	A, J	Ap, Ov	–	Tz
<i>Hieracium pilosella</i>	PM	A, J	Ap	–	Z
<i>Knautia arvensis</i>	JKM	P, J	Ap	+	Z
<i>Lerchenfeldia flexuosa</i>	EM	A, J	Ap, Ne	+	Tz, Z
	JKM	A, J	Ap, Ne	+	Tz, Z
<i>Luzula pilosa</i>	EM	A, J	Ap	+	Z, Gz
<i>Maianthemum bifolium</i>	PM	A, J	Ap	+	Z
	EM	A	Ov	–	Z
<i>Melica nutans</i>	JKM	J	Ap	–	Z
<i>Melampyrum pratense</i>	EM	A	–	–	Z
<i>Mycelis muralis</i>	PM	A	Ne	–	Z
<i>Nardus stricta</i>	PM	A	Ap, Ov	+	Z
<i>Oxalis acetosella</i>	EM	J	–	–	Z
<i>Phleum pratense</i>	PM	A	Ov	+	Tz
	JKM	A	Ov	+	Tz
<i>Rumex acetosella</i>	PM	A	–	–	Tz
	JKM	A	–	–	Tz
<i>Senecio vulgaris</i>	PM	A	Ov	–	Tz
<i>Stellaria holostea</i>	JKM	A	–	–	Z
<i>Trientalis europaea</i>	EM	A	–	–	Z
<i>Veronica chamaedrys</i>	EM	P	Ov	+	Z

Apzīmējumi: **Biotops:** PM – priežu mežs; JKM – jauktu koku mežs; EM – egļu mežs. **Mikorizu tips:** A – *Arum* tips, P – *Paris* tips, J – jaukts tips; **Vezikulu forma:** Ap – apaļas, Ov – ovālas, Ne – neregulāras. **Hifu krāsa:** Tz – tumši zila, Z – zila, Gz – gaiši zila

Plāvu biotopos analizēja mikorizu dominējošo augu sugu saknēs. Mikorizu morfoloģijas rezultāti plāvu biotopos apkopoti tabulā 3.1.-2. tabulā. No 23 pētītajām plāvu biotopu sugām arbuskulārajām mikorizām raksturīgas struktūras – lineāras hifas un hifu tinumus – novēroja visu augu sakņu paraugos. Jaukta tipa mikorizu konstatēja 17 augiem, 19 augu sugām *Arum* tipu, bet *Paris* tipu varēja izdalīt tikai vienai sugai – *Dactylis glomerata*. Hifu krāsa galvenokārt bija intensīvi zila, bet atsevišķos paraugos arī tumši vai gaiši zila.

Vezikulas 15 sugu saknēs bija apaļas, astoņām sugām bija ovālas vezikulas, bet četru sugu (*Trifolium arvense*, *Dactylis glomerata*, *Galium verum* un *Leucanthemum vulgare*) saknēs novēroja neregulāras formas vezikulas. Vezikulas nekonstatēja septiņu sugu sakņu paraugos. Arbuskulas bija redzamas 14 augu sugu sakņu paraugos, bet 13 augu sugu sakņu paraugos to nebija.

3.1.-2. tabula. Mikorizas kolonizācija un sporu skaits pļavu un mežu biotopos (n = 3)

Dzimta	Augu sugas	Sakņu kolonizācijas frekvence (%)			Sporu skaits (100 g augsnes)		
		1996.g. vasara	1997.g. vasara	1997.g. rudens	1996.g. vasara	1997.g. vasara	1997.g. rudens
Kāpu pļava (KP)							
Poaceae	<i>Festuca rubra</i>	45±5,2	76±2,2	70±1,9	36±3,2	85±2,3	83±18,5
	<i>Koeleria glauca</i>	30±2,1	32±2,6	66±1,6	32±3,3	117±1,6	122±17,4
	<i>Lerchenfeldia flexuosa</i>	17±1,3	50±4,2	7±1,5	40±3,2	126±2,6	133±15,8
Brassicaceae	<i>Arabis cardaminopsis</i>	9±2,1	23±2,1	7±0,03	37±3,3	130±8,2	126±16,5
Asteraceae	<i>Hieracium umbellatum</i>	3±2,0	13±3,1	10±1,3	34±2,2	111±8,4	137±19,0
Fabaceae	<i>Trifolium arvense</i>	21±3,2	51±3,0	13±2,5	34±1,7	136±2,2	123±15,6
Caryophyllaceae	<i>Dianthus arenarius</i>	90±1,4	98±7,8	96±6,7	36±3,2	45±2,5	117±6,4
Scrophulariaceae	<i>Melampyrum pratense</i>	15±5,0	4±0,01	3±0,01	28±1,7	69±5,1	118±10,3
Lamiaceae	<i>Thymus serpyllum</i>	81±2,3	41±1,2	6±0,02	32±2,3	95±3,2	122±12,9
Ruderāla pļava (RP)							
Poaceae	<i>Agrostis alba</i>	49±2,1	45±4,3	20±3,0	35±4,1	118±10,9	124±7,8
	<i>Dactylis glomerata</i>	58±4,4	76±6,1	48±1,7	60±12,0	114±8,8	169±13,1
	<i>Elytrigia repens</i>	14±0,5	16±5,1	4±1,3	31±6,1	161±6,9	149±8,5
	<i>Phleum pratense</i>	55±2,0	76±3,4	36±6,1	53±18,1	95±5,4	187±9,8
Asteraceae	<i>Achillea millefolium</i>	61±3,1	52±5,3	27±2,2	35±3,4	141±8,0	156±9,8
	<i>Centaurea cyanus</i>	48±4,2	32±3,4	5±2,4	32±1,6	120±10,7	217±17,8
	<i>Centaurea jacea</i>	2±0,2	10±5,1	4±2,1	62±8,3	133±16,9	211±18,9
	<i>Leucanthemum vulgare</i>	27±1,1	20±1,8	15±3,4	38±1,6	139±9,7	150±12,9
	<i>Tussilago farfara</i>	13±3,0	13±0,8	6±1,2	43±3,7	163±7,8	193±9,6
Polygonaceae	<i>Rumex acetosella</i>	25±1,9	15±2,2	19±0,8	37±3,1	136±4,8	135±10,4
Mēreni mitra pļava (HP)							
Poaceae	<i>Brizia media</i>	48±4,3	49±5,1	2±0,00	14±1,2	93±4,3	102±9,5
	<i>Dactylis glomerata</i>	69±2,4	52±2,2	65±6,1	37±2,1	76±5,1	113±10,2
	<i>Phleum phleoides</i>	49±2,1	25±0,9	42±4,2	23±0,9	124±10,2	111±8,6
	<i>Phleum pratense</i>	57±2,0	26±5,1	28±2,1	43±	131±7,9	144±4,3
Asteraceae	<i>Leucanthemum vulgare</i>	27±1,6	12±1,6	7±0,6	26±3,1	90±6,9	126±10,9
Fabaceae	<i>Trifolium arvense</i>	31±2,6	57±3,2	6±0,1	21±3,4	128±19,9	167±11,3
Rubiaceae	<i>Galium verum</i>	34±3,2	53±2,4	5±1,1	13±1,6	82±5,8	111±8,6
Scrophulariaceae	<i>Veronica spicata</i>	35±1,9	18±3,4	5±0,8	22±2,2	76±4,9	113±8,9
Jauktu koku mežs (JKM)							
Poaceae	<i>Agrostis tenuis</i>	44±4,5	32±2,4	29±1,4	19±1,0	78±27,3	91±4,3
	<i>Dactylis glomerata</i>	81±2,5	48±5,1	55±4,2	45±4,2	148±4,3	134± 8,9
	<i>Lerchenfeldia flexuosa</i>	40±7,5	18±4,6	46±7,2	38±1,6	95±10,9	99±8,6
	<i>Melica nutans</i>	37±5,6	15±3,8	6±1,0	45±4,5	96±7,9	134±4,9
	<i>Phleum pratense</i>	67±6,1	59±2,6	18±3,2	42±2,2	82±9,2	102±8,8
	<i>Calamagrostis arundinacea</i>	29±3,2	16±4,2	10±1,0	15±1,6	80±8,5	94±6,6
Brassicaceae	<i>Capsella bursa-pastoris</i>	16±3,4	10±1,9	1±0,00	42±2,0	133±14,6	128±5,1
Lamiaceae	<i>Clinopodium vulgare</i>	33±1,3	14±0,8	16±2,1	18±1,1	88±2,3	91±6,0
Dipsacaceae	<i>Knautia arvensis</i>	26±2,4	22±6,9	7±1,2	12±2,7	93±9,7	110±9,6
Polygonaceae	<i>Rumex acetosa</i>	37±1,2	20±7,5	6±1,2	14±3,0	73±3,7	119±10,6
Caryophyllaceae	<i>Stellaria holostea</i>	15±1,2	9±1,4	5±2,6	17±4,3	84±6,4	94±6,7

Priežu mežs (PM)							
Poaceae	<i>Agrostis tenuis</i>	47±3,2	69±4,6	32±10,1	17±3,5	51±11,0	116±12,4
	<i>Dactylis glomerata</i>	51±12,3	51±7,2	47±15,1	21±8,6	82±12,9	75±4,5
	<i>Nardus stricta</i>	37±1,2	7±1,9	20±6,2	16±5,4	49±13,0	86±2,8
	<i>Phleum pratense</i>	60±4,3	81±3,2	34±3,4	17±2,3	62±9,7	97±7,9
Asparagaceae	<i>Maianthemum bifolium</i>	10±4,5	8±4,2	22±1,9	16±6,8	57±8,9	50±10,4
Polygonaceae	<i>Rumex acetosella</i>	20±6,9	7±3,1	5±1,4	24±11,7	43±12,8	75±9,8
Asteraceae	<i>Hieracium umbellatum</i>	48±12,3	25±5,1	19±2,3	18±6,5	61±13,7	89±9,9
	<i>Hieracium pilosella</i>	59±3,2	63±4,5	13±0,4	21±2,9	68±23,4	103±17,0
	<i>Senecio vulgaris</i>	39±1,4	19±0,1	11±4,0	15±1,7	48±13,7	114±12,4
	<i>Mycelis muralis</i>	36±3,2	15±2,1	38±5,1	18±1,9	68±4,8	99±9,5
Plantaginaceae	<i>Plantago major</i>	6±0,5	4±2,5	21±2,3	15±2,9	57±13,0	96±8,3
Eglu mežs (EM)							
Poaceae	<i>Agrostis tenuis</i>	31±2,1	38±2,2	22±5,5	17±2,3	111±22,8	157±5,7
	<i>Festuca rubra</i>	46±14,5	62±3,2	31±7,8	23±8,9	134±17,5	164±11,0
	<i>Lerchenfeldia flexuosa</i>	53±2,3	51±1,2	32±4,2	15±5,8	72±9,5	118±17,1
	<i>Luzula pilosa</i>	51±4,3	22±3,4	6±0,9	20±4,2	116±10,0	119±13,1
Asparagaceae	<i>Maianthemum bifolium</i>	10±2,1	5±1,2	9±1,5	15±2,3	94±10,8	140±27,0
Oxalidaceae	<i>Oxalis acetosella</i>	25±2,1	9±2,0	3±1,2	21±6,9	45±2,8	83±12,8
Primulaceae	<i>Trientalis europaea</i>	17±4,3	12±3,4	4±0,9	20±5,1	91±4,3	139±17,6
Scrophulariaceae	<i>Melampyrum pratense</i>	26±1,2	4±2,4	2±2,1	20±2,3	53±5,6	91±20,0
	<i>Veronica chamaedrys</i>	48±3,1	26±5,3	3±0,3	15±2,3	75±12,0	146±19,8

Divu augu sugu sakņu paraugos (*Arabis cardaminopsis*, *Rumex acetosella*) konstatēja tikai hifas, bet nebija ne arbuskulu, ne vezikulu.

3.1.-2. tabula. Pļavu biotopu arbuskulārās mikorizas morfoloģija

Augu sugas	Biotops	Mikorizu tips	Vezikulas	Arbuskulas	Hifu krāsa
<i>Achillea millefolium</i>	RP	A, J	Ap, Ov	–	Tz, Z
<i>Agrostis alba</i>	RP	A, J	Ap, Ov	+	Z
<i>Arabis cardaminopsis</i>	KP	A	-	–	Z
<i>Briza media</i>	HP	A, J	Ov	–	Tz, Z
<i>Centaurea cyanus</i>	RP	A	Ap	–	Tz
<i>Centaurea jacea</i>	RP	A, J	Ap, Ov	–	Z
<i>Dactylis glomerata</i>	RP	P, A, J	Ap, Ov	+	Z, Gz
	HP	A	Ov, Ne	+	Z
<i>Dianthus arenarius</i>	KP	A	Ov	–	Tz
<i>Elytrigia repens</i>	RP	A, J	Ap, Ov	+	Z
<i>Festuca rubra</i>	KP	A, J	Ap	+	Z
<i>Galium verum</i>	HP	A, J	Ov, Ne	–	Z
<i>Hieracium umbellatum</i>	KP	J	Ap	+	Z
<i>Koeleria glauca</i>	KP	A, J	Ov	–	Tz, Gz
<i>Lerchenfeldia flexuosa</i>	KP	A, J	Ap	+	Z
<i>Leucanthemum vulgare</i>	RP	J	Ov	+	Z
	HP	J	Ov, Ne	+	Z
<i>Melampyrum pratense</i>	KP	A, J	Ap	–	Z
<i>Phleum phleoides</i>	HP	J	Ap, Ov	+	Z
<i>Phleum pratense</i>	RP	A, J	Ov	+	Z
	HP	A, J	Ap, Ov	+	
<i>Rumex acetosella</i>	RP	A	–	–	Z

<i>Thymus serpyllum</i>	KP	J	–	+	Z
	KP	A	Ov	–	Z
<i>Trifolium arvense</i>	HP	J	Ov, Ne	–	Tz, Z
<i>Tussilago farfara</i>	RP	A, J	Ap, Ov	+	Z, Gz
<i>Veronica spicata</i>	HP	J	Ap	–	Z

Apzīmējumi: **Biotops:** KP- sausa kāpu pļava, RP- ruderāla pļava; HP- mēreni mitra pļava, **Mikorizu tips:** A- Arum tips, P- Paris tips, J- jaukts tips; **Vezikulas:** Ap- apaļas, Ov- ovālas, Ne- neregulāras. **Hifu krāsa:** Tz- tumši zils, Z- zils, Gz- gaiši zils

Salīdzinot pļavu un mežu biotopus var secināt, ka mežu biotopos konkrētajā paraugu ievākšanas laikā mikorizas morfoloģija bija daudzveidīgāka.

Pļavu biotopos sakņu kolonizācijas frekvence variēja no 5% *Capsella bursa-pastoris* līdz 96 % *Dianthus arenarius* (3.1.-2.tabula). Vidējais sporu skaits 100 g augsnes no rizosfēras zonas variēja augu sugām, ka sastopamas vairākos dažādos biotopos, piemēram, *Dactylis glomerata*, *Phleum pratense*, *Agrostis tenuis* un *Lerchenfeldia flexuosa*.

Vidējā visu augu mikorizas kolonizācijas frekvence bija 51%. Ziedēšanas periodā sakņu kolonizācija sasniedza maksimumu (61% no apskatītajiem paraugiem). Sēklu nobriešanas laikā vai arī rudens atkārtotas augšanas laikā kolonizācijas pakāpe bija viszemākā.

Sporas no augsnes izdalot ar slapjās sijāšanas metodi bija 52% no visiem paraugiem. Vidējais sporu skaits 100 gramos augsnes bija 50, tas variēja robežās no 5 līdz 217 (3.1.-2. tabula). Visaugstāko sporu daudzumu konstatēja rudens paraugos. Netika konstatēta korelācija starp sporu skaitu un sakņu kolonizāciju.

Mikorizu ietekmējošo faktoru analīze

Sporu skaitam augsnē un sakņu kolonizācijas intensitātei nebija būtiskas korelācijas. Tāpēc ietekmējošos faktorus analizēja katram parametram atsevišķi. Pēc GLM analīzes rezultātiem varēja konstatēt, ka sakņu kolonizācijas frekvenci parauglaukumos vislabāk izskaidro modelis ar visu pētīto faktoru kombināciju, izņemot augsnes pH (AIC: 910.32). Modelī, kas kopējo ietekmi izskaidro nepietiekami (AIC: 358,5) bija iekļauta augsnes reakcija. Salīdzinot abus modeļus ar ANOVA testu, tie būtiski atšķīrās ($p = 0,01$), tādēļ modelis bez augsnes pH uzskatāms par piemērotāku sakņu kolonizācijas skaidrošanā.

3.1.-3. tabula. GLM modeļi mikorizu kolonizācijas frekvences ietekmējošiem faktoriem

Modeļi	AIC	Novirze Deviance	Standartklūda Std. Error	Novērtējums Estimate	p
F ~ stav (stav A- reference)	936,53		0,0308	3,8239	< 0,01
stav		70,81			< 0,01
stavI			0,05	-0,38	< 0,01
stavV			0,05	-0,35	< 0,01
F ~ stav + sakmor (sakmorB un stavA -references -)	914,94		0,031	3,86	< 0,01
Sakmor		28,08			<0,01
SakmorM			0,0718	-0,35	< 0,01
sakmorT			0,0755	-0,27	< 0,01
stav		70,81			<0,01
F ~ stav + sakmor + pH (sakmorB un stavA - references)	915,60		0,11	3,73	< 0,01
sakmor		28,08			<0,01
sakmorM			0,0760	-0,2691	< 0,01
sakmorT			0,0192	0,0222	< 0,01
stav		70,81			<0,01
stavI			0,08	-0,17	<0,01
F ~ stav + sakmor + soil (15.07 %) (soilms - reference)	910,32		0,04	3,90	< 0,01
stav		70,81			<0,01
stavI			0,06	-0,15	< 0,05
stavV			0,07	0,14	<0,05
sakmor		28,08			<0,01
sakmorT			0,07	-0,24	<0,01
sakmorM			0,07	-0,36	<0,01
soil		10,74			<0,01
soilvs			0,05	-0,18	<0,01

Apzīmējumi. Faktors: F - sakņu kolonizācija; Parametri: Stav- **stāvījums** Stavv- vidējs, StavI- augsts, StavM- zems; pH – augsnes pH; Sakmor – **sakņu morfoloģija** SakmorT- taisnas saknes; sakmorM – mietsakne; sakmorB – bārķšsakne; soil – **augšnes granulometriskais sastāvs**: soilvs – vidēja smilts; soilss – smalka smilts; soilms – mālsmilts; biot – **biotops**: biotjm – jauktu koku mežs ; biotds-smilšaina kāpa. Modeļos iekļauti visi analizējamie faktori, bet zemāk norādīti tikai būtiskie faktori. Labākā modeļa parametri izcelti trekninātiem burtiem.

Sakņu kolonizācijas frekvence saimniekaugos būtiski atšķīrās starp pētītajiem biotopiem ($p < 0,05$). Sakņu kolonizācijas frekvence (3.1.-3.tabula) bija būtiski atkarīga no sakņu morfoloģijas – to būtiski negatīvi ietekmēja mietsakne ($p < 0,01$) un pozitīvi – taisnas saknes ($p < 0,01$), bet neietekmēja bārkšsaknes. Tāpat kopējo kolonizācijas frekvenci būtiski pozitīvi ietekmēja augsnes granulometriskais sastāvs ($p < 0,01$), vidēja smilts ($p < 0,01$), bet neietekmēja smalka smilts vai mālsmilts ($p > 0,05$).

Sporu skaitu augsnē (3.1.-4.tabula) vislabāk izskaidroja modelis, kurā iekļauti visi pētītie faktori (AIC: 435,07). Sporu skaits bija būtiski atkarīgs no auga atrašanās augāja stāvokumā jeb auga augstuma. Augiem ar zemu ($p < 0,01$) un vidēju augstumu ($p < 0,001$) bija būtiska korelācija ar sporu skaitu augsnē. Sporu skaits bija būtiski atkarīgs arī no augsnes pH ($p < 0,05$). Būtiski sporu skaitu ietekmēja arī augsnes granulometriskais sastāvs (vidēji rupja smilts ($p < 0,005$) un smalka smilts ($p < 0,01$)). Būtiska nozīme bija atsevišķiem biotopiem, tā, piemēram, smilšaina kāpa būtiski ietekmēja sporu skaitu augsnē ($p < 0,005$), un arī, jauktu koku mežam bija līdzīga ietekme ($p < 0,05$).

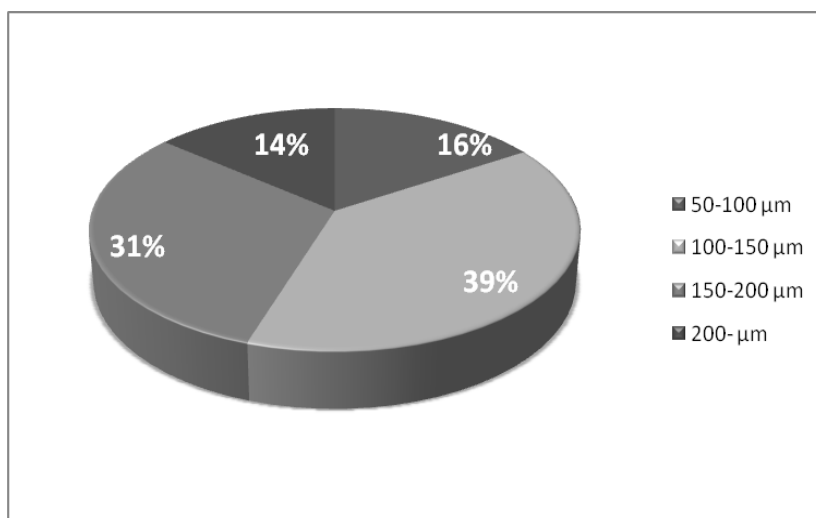
3.1.-4. tabula. GLM modeļi sporu skaita ietekmējošiem faktoriem

Modeļi	AIC	Novirze Deviance	Standartklūda Std. Error	Novērtējums Estimate	<i>p</i>
S ~ stav	568,96	268,82	0,03	3,45	< 0,01
stav					< 0,01
stavI			0,06	-0,34	< 0,01
stavV			0,05	-0,13	< 0,01
S ~ stav + sakmor	572,16	268,82	0,03	3,44	< 0,01
stav					< 0,01
stavI			0,09	-0,40	< 0,01
stavV			0,07	-0,18	< 0,01
S~stav+pH	566,34	264,20	0,12	3,71	< 0,01
stav		30,29			< 0,01
stavI			0,06	-0,31	< 0,01
stavV			0,05	-0,14	< 0,01
pH		4,62	0,02	-0,04	< 0,05
Sv ~ stav + pH + soil	529,53		0,20	3,12	< 0,01
stav					< 0,01

stavI			0,06	-0,39	< 0,01
soil					< 0,01
soilvs			0,07	0,36	< 0,01
S ~ stav + pH + soil + biot (58.23%)	435,07		0,79	9,43	< 0,01
stav		30,29			< 0,01
stavI			0,07	-0,25	< 0,01
stavV			0,05	-0,14	< 0,01
pH		4,62	0,11	-0,95	< 0,01
soil		40,81			< 0,01
soilss			0,27	-1,84	< 0,01
soilvs			0,28	-1,59	< 0,01
biot		98,46			< 0,01
biotjm			0,09	0,62	< 0,01
biotsd			0,30	2,54	< 0,01

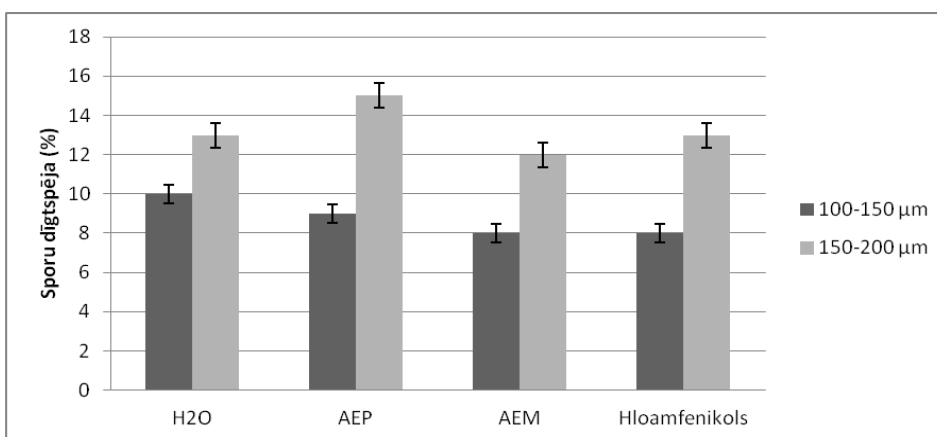
Apzīmējumi. Faktors: F - sakņu kolonizācija; Parametri: Stav- **stāvojum** Stavv- vidējs, StavI- augsts, Stavm- zems; pH – augsnes pH; Sakmor – **sakņu morfoloģija** SakmorT- taisnas saknes; sakmorM – mietsakne; sakmorB – bārkšsakne; soil – **augšnes granulometriskais sastāvs**: soilvs – vidēja smilts; soilss – smalka smilts; soilms – māļsmilts; biot – **biotops**: biotjm – jauktu koku mežs ; biotsd-smilšaina kāpa. Labākais modelis izcelts trekninātiem burtiem.

Pirmajā pētījumā iegūto (pieci biotopi) veselo sporu izmērs variēja no 50 līdz 280 μm (3.1.-1.attēls). Visvairāk sporu bija 100 līdz 150 μm lielas (39%), bet vismazākās un vislielākās sporas bija vienādā daudzumā (14 % un 16%). Nedaudz mazāk bija 150 līdz 200 μm lielas sporas (31%). Bojātas bija 30% sporu (melns, saplīsušas).

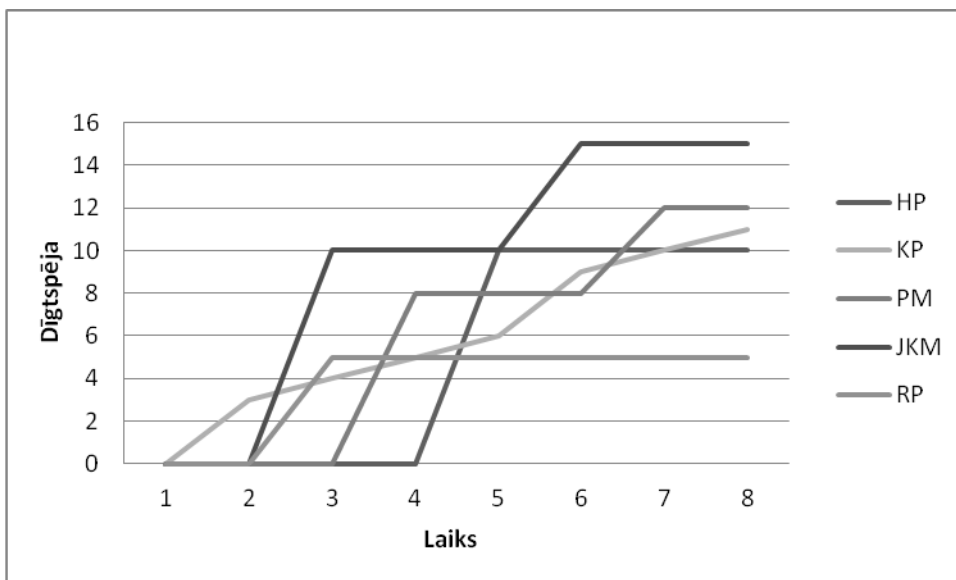


3.1-1. attēls. Dažādu izmēru arbuskulāro mikorizu sporu daudzums.

Sporu dīgtspēja bija atkarīga no to lieluma. Dīgstošas bija sporas no 100 līdz 200 μm lielas. Nedīga sporas, kas bija lielākas un mazākas par šo izmēru. Kopumā sporu dīgtspēja bija zema – 15%. Sporu dīgšanu neietekmēja atšķirīgi barotnes veidi, to atšķirības nebija lielas (3.1-2. attēls). Lielāko sporu dīgtspēja bija labāka, salīdzinājumā ar mazākajām, bet atšķirības nebija būtiskas ($p < 0,05$).



3.1-2. attēls. Sporu dīgtspēja (60 dienas pēc eksperimenta sākuma) atkarībā no sporu lieluma un barotnes veida. AEP – augsnes ekstrakts no sausas kāpu pļavas; AEM – augsnes ekstrakts no jauktu koku meža; H₂O – ūdens agara barotne; Hloramfenikols – ūdens agara barotne ar hloramfenikolu



3.1-3. attēls. Sporu dīgtspējas dinamika. HP – mēreni mitra pļava; KP – sausa kāpu pļava; PM – priežu mežs; JKM – jauktu koku mežs; RP – ruderāla pļava. 1 – 5. diena, 2 – 10. diena 3 - 15. diena; 4 – 20. diena, 5 – 25. diena; 6 – 30. diena; 7 – 45. diena; 8 – 60. diena.

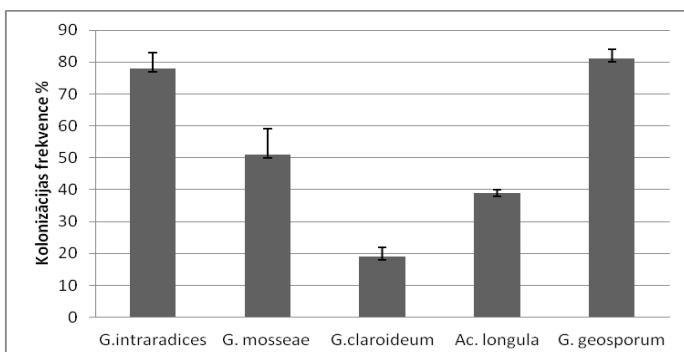
Salīdzinot sešu biotopu augšņu paraugus, nedīga tikai sporas no egļu meža. Sākot ar desmito dienu konstatēja dīgstošas sporas no kāpu pļavas un jauktu koku meža iegūtajām sporām (3.1.-3. attēls). Piecpadsmītajā dienā konstatēja sporu dīgšanu arī no ruderālas pļavas

paraugiem iegūtajām sporām. Intensīvāka dīgšana notika no 25. līdz 30. dienai. Tikai 25. dienā konstatēja dīgstošas sporas no visām pētījumu vietām. Novērojumus turpināja līdz sešdesmitajai dienai. Kopumā 50% no dīgstošajām sporām uzdīga līdz 30. dienai, 5% – turpmākajās 15 dienās, bet 1% dīga 60 dienas (3.1.-3. attēls). Uzdīgušās sporas izveidoja īsu hifu (līdz 0,5 mm) un augšana apstājās.

Mikorizu struktūras dažādām mikorizas sēņu sugām

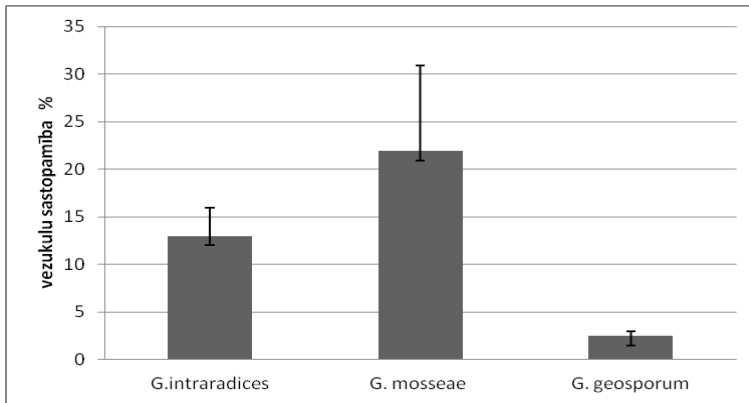
No BEG (*Bank of European Glomales*) iegūtajiem sporu izolātiem (BEG12 – *Glomus mosseae*; BEG 11 – *G. geosporum*; BEG14 – *G. claroideum*; BEG9 – *G. intraradices*; BEG8 – *Acaulospora longula*) izveidoja sporu audzēšanas kultūras ar augu *Lerchenfeldia flexuosa* (kā kontroles augu izmantoja *Allium porrum*).

Sakņu kolonizācijas frekvence variēja atkarībā no sēņu sugas (3.1.-4.attēls). Kolonizācija bija no 40 līdz 85%, izņemot *G. claroideum* (13,7%). Astoņas nedēļas pēc iestādīšanas vidējā *A. porrum* sakņu kolonizācija ar *G. intraradices*, *G. mosseae*, *G. geosporum*, *G. claroideum* un *A. longula* bija attiecīgi 83,7^b; 67,3^b; 41,2^a; 77,1^b un 88,5^b % (3.1.-4. attēls). Vidējiem kuriem ir vienādi burti nav būtiskas atšķirības ($p < 0,05$). Novēroja salīdzinoši lielas atšķirības starp *L. flexuosa* kolonizācijas modeļiem ar dažādām sēnēm. Kopumā mikoriza vērtējama kā intensīva.



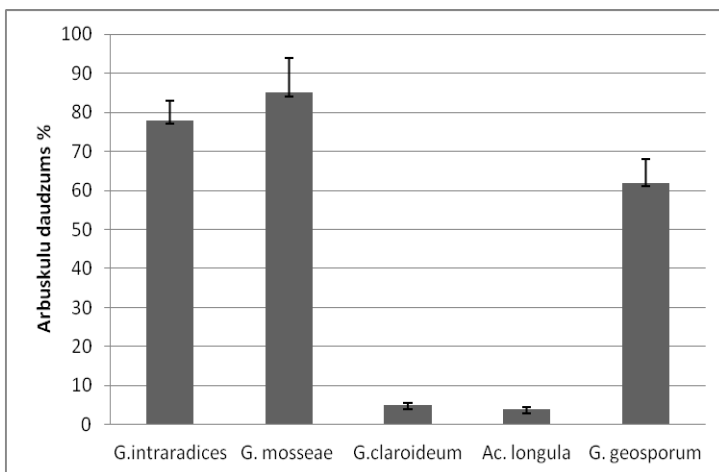
3.1.-4. attēls. Sakņu kolonizācijas frekvence atkarībā no arbuskulārās mikorizas sēņu sugas

Vezikulas novēroja tikai tajos *Lerchenfeldia flexuosa* sakņu paraugos, kas bija inokulēti ar *G. intraradices*, *G. mosseae*, *G. geosporum*. Vidējā kolonizēto sakņu daļa, kurā konstatēja vezikulas bija attiecīgi 12,0^b; 21,8^c; 2,3^a % (3.1.-5. attēls).



3.1-5. attēls. Vezikulu sastopamība kolonizēto sakņu fragmentos (%).

Vidējās kolonizācijas intensitātes bija būtiski atšķirīgas ($p < 0,05$). Kolonizējot *Lerchenfeldia flexuosa* saknes *G. intraradices*, *G. mosseae* un *G. geosporum* veidoja *Arum* tipa mikorizas. *A. longula*, *G. claroideum* veidoja *Paris* tipa mikorizu ar iekššūnu hifu tinumiem un arbuskulāriem tinumiem (hifas veidoja vijumu pirms arbuskulas formēšanās). *G. claroideum* un *A. longula* iekššūnu hifu frekvence bija zema. *G. mosseae* veidoja arī hifu tinumus, bet tie bija hifas iespiešanās vietās ārējās mizas šūnu kārtās. Atšķirības konstatēja arī morfoloģiskajās grupās. *G. claroideum*, *A. longula* visas bija *Paris* tipa un veidoja līdzīgu daudzumu hifu tinumu, bet atšķirīgu daudzumu arbuskulu. Arbuskulu daudzums bija atšķirīgs dažādām mikorizas sēņu sugām ar *Lerchenfeldia flexuosa* (3.1-6. attēls).

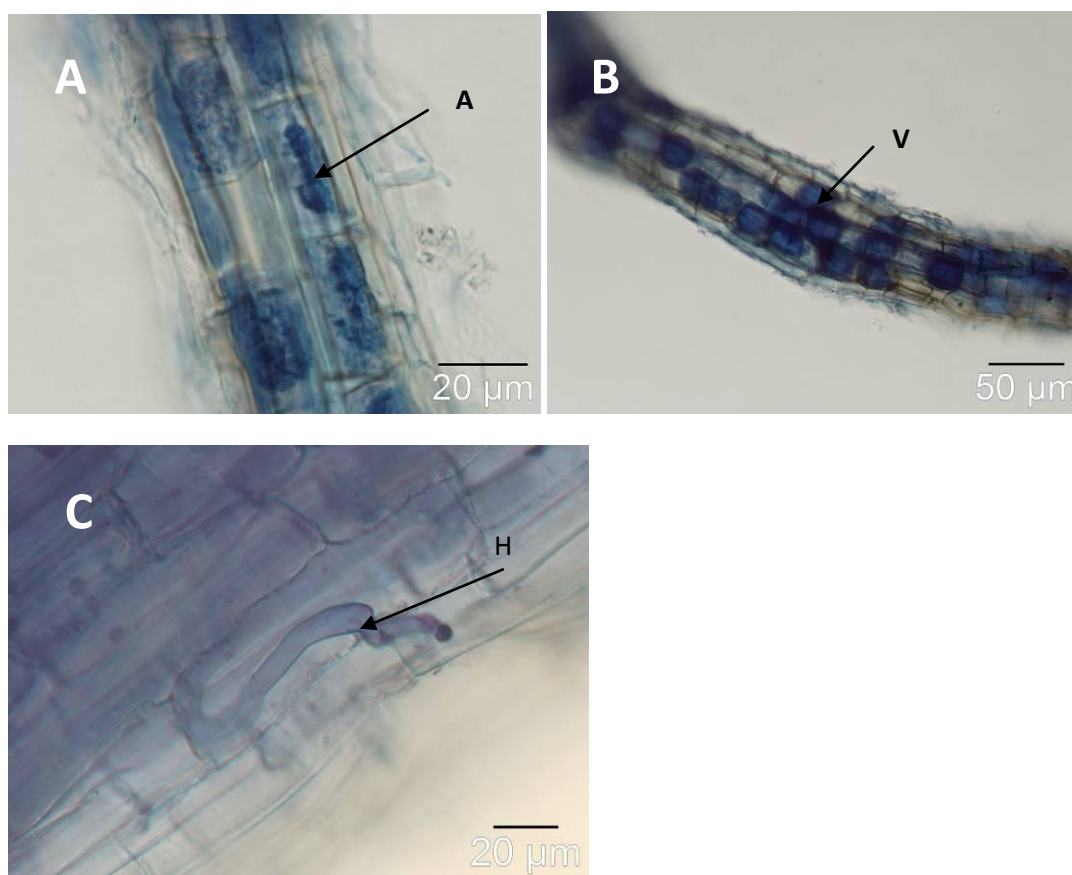


3.1-6. attēls. Arbuskulu daudzums mikorizālajā daļā sakņu fragmentos (%).

3.2. Mikorizālā simbioze priežu lānā

Uz iepriekšējā pētījuma bāzes turpināja otro pētījumu ar liekto sariņsmilgu *Lerchenfeldia flexuosa*, kas ir bieži izmantota kā modeļsuga dažādos ekoloģiskos pētījumos. Pētījumu veica priežu lānā, lai noskaidrotu mikorizu simbiozi ilglaicīgi nemainīgā biotopā.

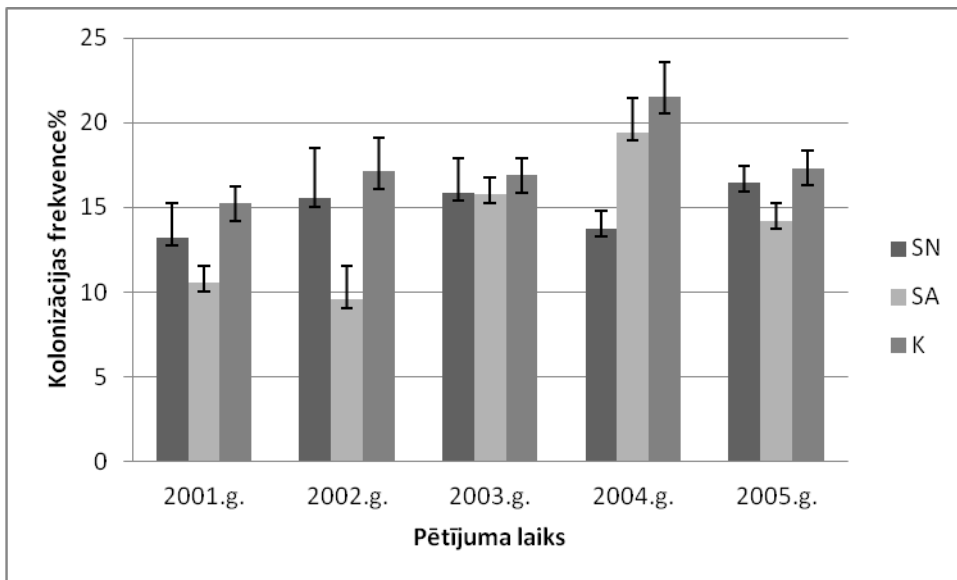
Mikorizu klātbūtni novēroja augu saknēs visos parauglaukumos, bet 10% paraugu kolonizācijas nebija. *L. flexuosa* saknēs konstatēja tipiskas *Arum* un jaukta tipa mikorizas hifas (3.2.-1. attēls). Sakņu paraugos novēroja gan arbuskulas, gan vezikulas. Sporu sakņu paraugos nebija. Maksimālā atsevišķos paraugos novērotā mikorizas kolonizācijas intensitāte bija 30%, bet zemākā – 2%. Kopējais kolonizācijas līmenis uzskatāms par zemu.



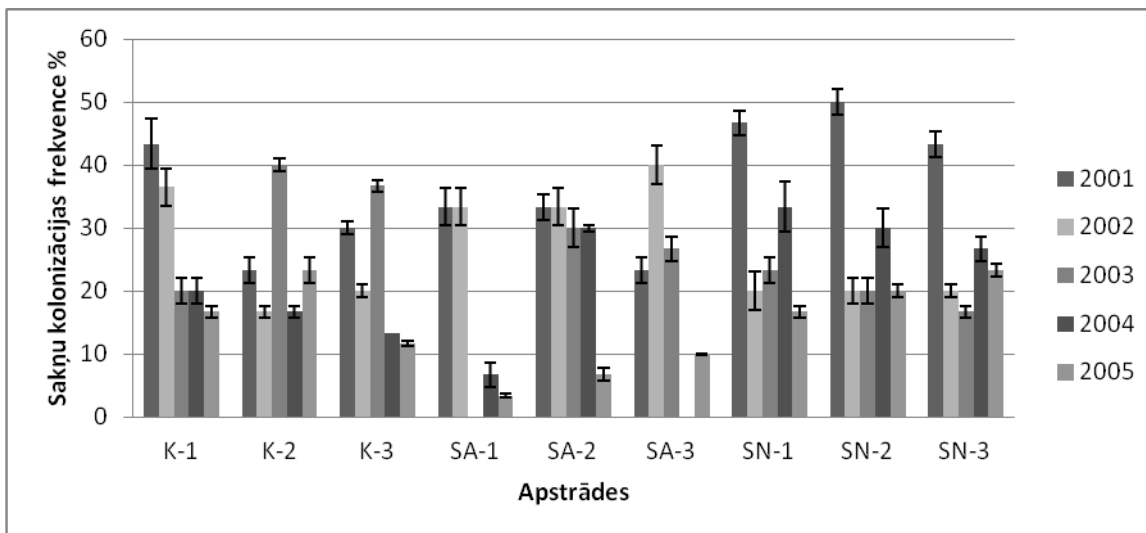
3.2.-1. attēls. Mikorizas struktūras *Lerchenfeldia flexuosa* saknēs. A – arbuskulas; V – vezikulas; H – hifas.

Salīdzinot *L. flexuosa* sakņu kolonizācijas frekvenci (3.2.-2. attēls) piecās veģetācijas sezonās novēroja, ka sakņu kolonizācijas frekvence ir atšķirīga gan starp pētījuma gadiem, gan apstrādēm. Tā bija atšķirīga starp parauglaukumiem jau pirmajā pētījuma gadā, kad eksperiments tika uzsākts un sūnu stāva traucējuma ietekmes vēl nebija. Nākošajos trīs gados sakņu kolonizācijai bija tendence (parauglaukumam ar apkārt apvērstām sūnām un kontroles laukumam, jeb netraucētiem laukumiem) nedaudz paaugstināties salīdzinājumā ar katru iepriekšējo gadu, bet piektajā gadā tā samazinājās. Šo tendenci varētu skaidrot ar

klimatiskajiem apstākļiem – nokrišņu daudzumu, jo pētījuma otrajā gadā vasara bija ļoti sausa [jūlija nokrišņi bija vismazākie starp pētījuma gadiem (65.5 mm), bet augustā nokrišņu nebija (0 mm)]. Kontroles laukumos kolonizācija bija augstāka jau pētījuma sākumā un tā palika praktiski nemainīga visu pētījuma laiku. Sūnas noņēmot vai apgriezot, sakņu kolonizācijas frekvence nedaudz palielinājās visos turpmākajos gados. Traucējumiem bija nebūtiska pozitīva ietekme uz mikorizas kolonizācijas frekvenci.



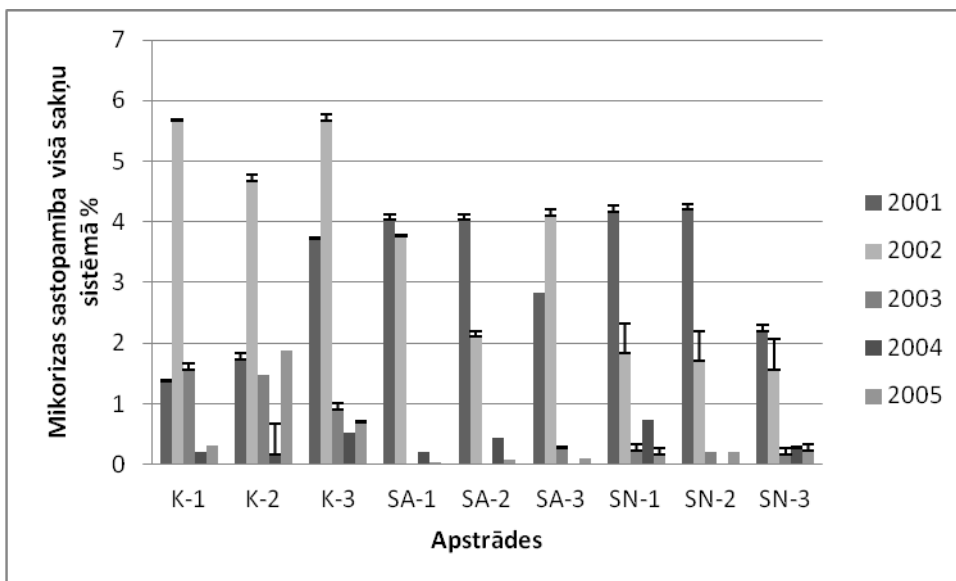
3.2.-2. attēls. *Lerchenfeldia flexuosa* sakņu kolonizācijas frekvence piecās veģetācijas sezonās. SN- sūnas noņemtas; SA- sūnas apvērstas; K – kontrolle



3.2.-3. attēls. *Lerchenfeldia flexuosa* sakņu kolonizācijas frekvence piecās veģetācijas sezonās starp trīs dažādām apstrādēm un trīs parauglaukumiem. Apzīmējumi. SN- sūnas noņemtas; SA- sūnas apvērstas; K – kontrolle

Kolonizācijas frekvences starp gadiem vienas apstrādes robežās variēja (3.2.-3. attēls) no $46,67 \pm 6\%$ līdz $3,33 \pm 0,5\%$. Traucētos biotopos ar zemāku humusa slāņa biezumu (5 cm) novēroja tendenci kolonizācijas līmenim palielināties. Tomēr pirmā gada sakņu kolonizācijas

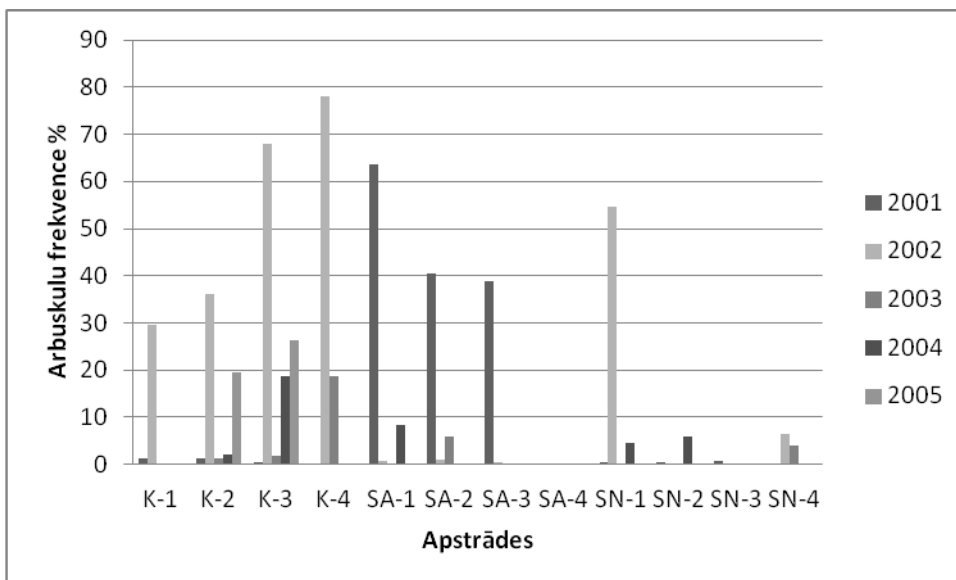
frekvences bija vislielākās, kas sakrīt ar gaisa temperatūras gada vidējo vislielāko vērtību (7,46 °C) pētījuma laikā. Mikorizas sastopamība (%) visā sakņu sistēmā (3.2.-4. attēls) otrajā pētījuma gadā bija visaugstākā.



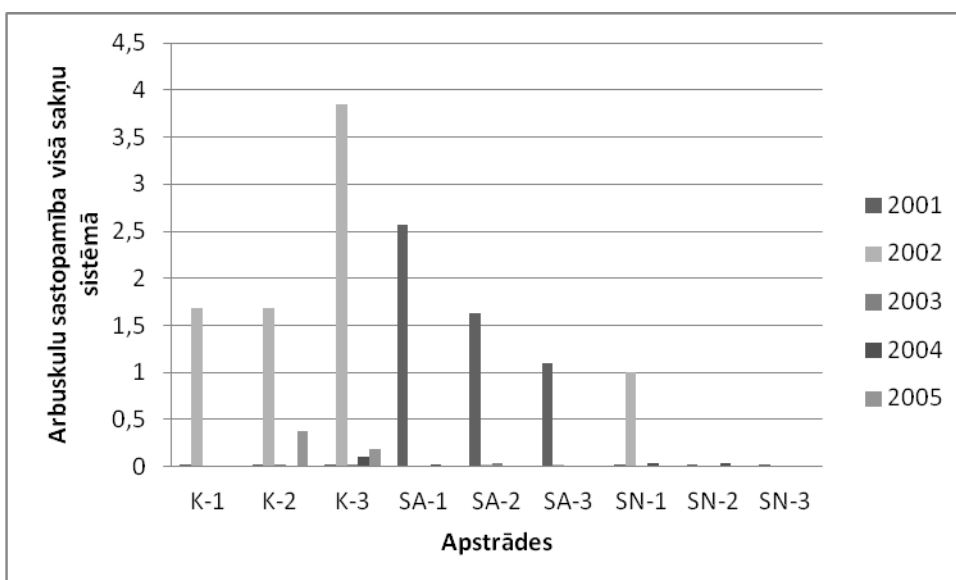
3.2.-4. attēls. Mikorizas sastopamība visā sakņu sistēmā (%). Apzīmējumi. SN- sūnas noņemtas; SA- sūnas apvērstas; K – kontrole

Salīdzinot *L. flexuosa* kolonizācijas frekvenci ar līdzīgiem biotopiem (autora personīgie novērojumi), kolonizācijas līmenis ir zems (no 0 līdz 50%). Acīmredzot kolonizācijas līmeni ietekmē vairāki nemainīgi faktori biotopā, kas ir raksturīgi lānam – zemsedzes stāva biezums, ķīmisko elementu sastāvs augsnē un augsnes skābums.

Arbuskulārās mikorizas funkcionalitātes rādītājs – **arbuskulu frekvence** (3.2.5. attēls) izvēlēts lai raksturotu barības vielu apmaiņu starp saimniekaugu un sēni. Arbuskulu sastopamība pētītajos sakņu fragmentos bija mainīga starp apstrādēm un pa gadiem, tā bija ļoti zema, bet 19 paraugos arbuskulas nekonstatēja.



3.2.-5. attēls. Arbuskulu relatīvā frekvence (%) pētītajos sakņu fragmentos. SA- sūnas noņemtas, SA- sūnas apgrieztas; K- kontrole.



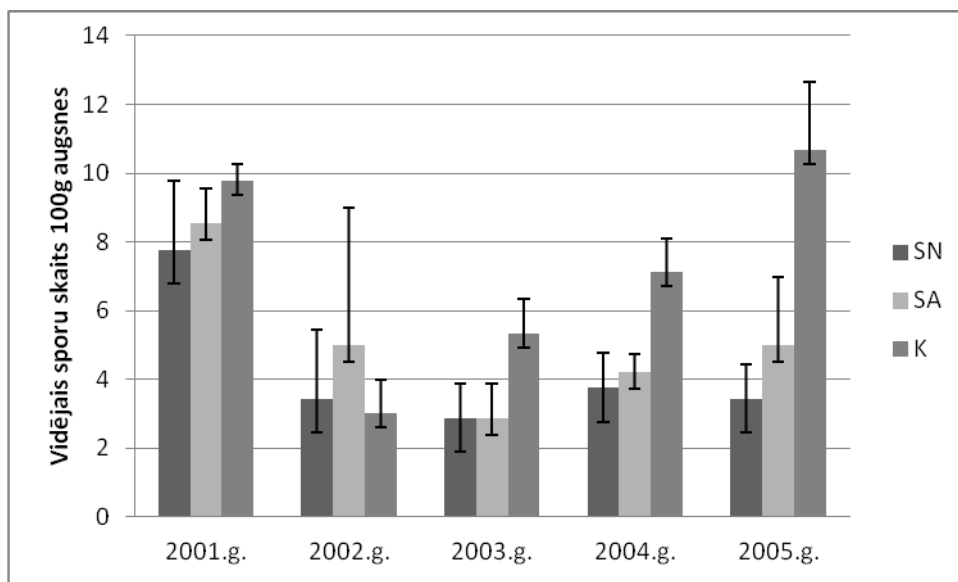
3.2.-6. attēls. Arbuskulu relatīvā sastopamība visā sakņu sistēmā (%).

Arbuskulu sastopamība visā *L. flexuosa* sakņu sistēmā bija zema (maksimums bija 3,87% - kontroles parauglaukumos) – tā variēja vidēji no 0,02 līdz 0,9% (3.2.6. attēls). Parauglaukumos ar traucējumu (sūna noņemta) arbuskulas bija tikai pusei no parauglaukumiem, kas varēja veicināt grāku un straujāku sausuma iestāšanos un auga sakņu augšanas aktivitātes samazināšanos.

Kopumā priežu lānā ievāca 512 sporas. Vairākos blakus ņemtus paraugos sporu nebija vairākus gadus, neatkarīgi no apstrādēm. Sporu skaits pirmajā pētījuma gadā bija visaugstākais (235 sporas). Nākošajos trīs gados sporu skaits nerasniedza pirmā gada rezultātus (attiecīgi 111 bija 2002. g.; 97 bija 2003. g.; 132 bija 2004. g. un 172 bija 2005. g.).

Analizējot apstrādes variantus, noskaidrots, ka, noņemot sūnas, sporu skaits arī ceturtajā pētījuma gadā nepalielinājās.

Būtisks sporu skaita palielinājums pētījuma laikā netika konstatēts ($p > 0,05$). Tas sakrīt ar klimatiskajiem apstākļiem, jo 2002. g. vasarā jūlijā bija vismazākais nokrišņu daudzums starp gadiem (65,5 mm), bet augustā to vispār nebija (0 mm), kas varētu būt iemesls tam, ka augšanas un attīstības procesi palēninājās un sporas neveidojās.



3.2.-7. attēls. Sporū skaita izmaiņas pētījuma piecos gados starp dažādām apstrādēm.

Sporu skaits pirmajā pētījumu gadā bija vislielākais (3.2.-7. attēls) visos parauglaukumos. Parauglaukumos kur sūnas noņēma, sporu skaits nepieauga visu pētījuma laiku, bet parauglaukumos, kur sūnas apvērstas, kā arī kontroles parauglaukumā, bija vērojamas sporu daudzuma izmaiņas pa gadiem.

Salīdzinot *L. flexuosa* sakņu kolonizācijas frekvenci un sporu skaitu sakņu-augsnes paraugos parauglaukumos ar trim atšķirīgām apstrādēm (sūnas apgrieztas, sūnas noņemtas un kontrole, kur sūnas nav ietekmētas) starp pieciem pētījumu gadiem konstatēts, ka korelācija starp sporu skaitu un sakņu kolonizāciju nebija būtiska ($p > 0,05$).

Veicot kolonizācijas frekvences būtiskuma analīzi starp pieciem pētījuma gadiem noskaidrots, ka būtiskas atšķirības bija starp *pirmo* un *ceturto* pētījuma gadu (Vilkoksona tests, $p < 0,05$). Taču, veicot sporu skaita būtiskuma analīzi starp visiem pētījuma gadiem konstatēja, ka sporu skaits rudens paraugiem bija būtiski atšķirīgs starp *pirmo* un *trešo* ($p = 0.03179$) un *trešo* un *piekto* gadu ($p = 0.04312$). Šos rezultātus izmantoja tālākai faktoru analīzei.

Lai noskaidrotu *L. flexuosa* sakņu kolonizācijas frekvenci ar trim atšķirīgām apstrādēm un starp pieciem pētījuma gadiem, ar GLM analizēja kolonizācijas frekvences

iespējamās atšķirības pa parauglaukumiem un gadiem. Noskaidrots, ka atšķirīgām apstrādēm (sūnu slāņa traucējums) kolonizācijas frekvence starp gadiem būtiski neatšķirās.

3.2.-1. tabula. GLM modeļi sakņu kolonizācijas frekvences ietekmējošiem faktoriem priežu lānā

Modeļi	AIC	Standartklūda Std. Error	Novērtējums Estimate	<i>p</i>
V ~ visam modelim ar trim dažādām apstrādēm	341.96	0.09167	2.58190	< 0,01
V ~ H,	325.85	0.10330	-0.4861	< 0,01
V~H+pH	324.27	0.10770	-0.5324	< 0,01
V~ H + Ca	312.00	0.70672	6.8836277	< 0,01
H		0.10522	-0.60603	< 0,01
Ca		0.00022	-0.00088	< 0,01
V ~ H + Ca + Mg	996.43	0.05745	3.63040	< 0,01
V ~ H + Ca + K	314	0.04862	3.48162	< 0,01
V~H+Ca+Fe	312.75	0.84170	7.36416	< 0,01
V ~ H + pH + Ca + Mg + K + Fe + ZnV	299.14	1.374e-01	2.872e+00	> 0,05

Apzīmējumi. Faktors: V - sakņu kolonizācija; Parametri: H – humusa slāņa biezums; pH – augsnes pH; Ca – kalcijš; Mg- magnijs; K – kālijs; Fe – dzelzs; Zn – cinks. Būtiskais modelis izcelts. Vislabākais modelis ar trekninātiem burtiem.

Pētot dažādu faktoru (pH, humusa slāņa biezums, kalcija, magnija, kālija, dzelzs un cinka saturs augsnē) ietekmi, noskaidroja, ka sakņu kolonizācijas frekvenci vislabāk raksturo modelis ar humusa slāņa biezumu un kalcija saturu augsnē (AIC: 312.00, $p > 0,05$) (3.2.-1. tabula).

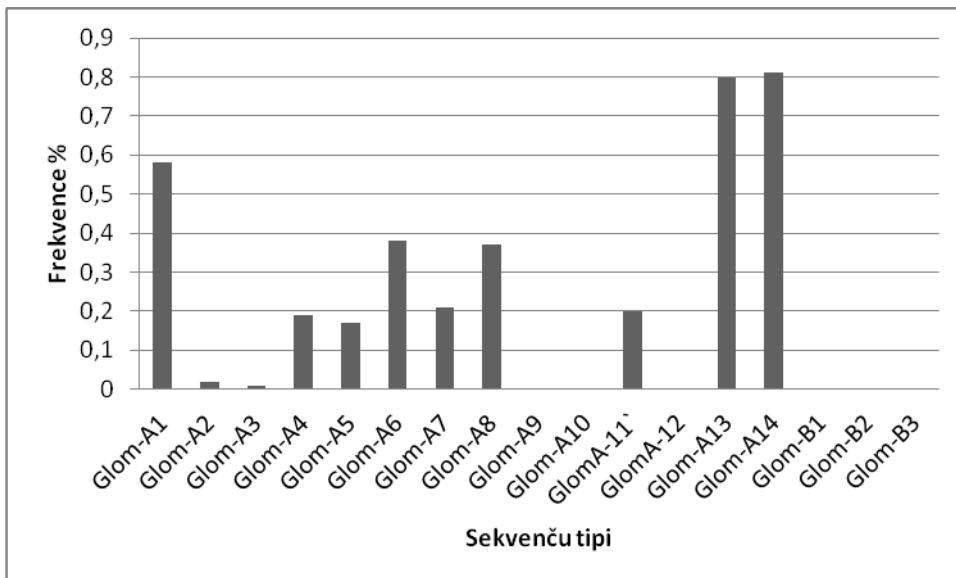
3.2.-2. tabula. GLM modeļi sporu skaita ietekmējošiem faktoriem priežu lānā

Modeļi	AIC	Standartklūda Std. Error	Novērtējums Estimate	<i>p</i>
S ~ H	314.24	0.56081	2.20779	< 0,01
S~pH	292.22	3.555	-14.162	< 0,01
pH		1.049	4.830	< 0,01
S ~ pH + Ca	294.02	3.578	-1.428e+01	< 0,01
S~pH+Mg	272.59	4.075353	-20.329243	< 0,01
pH		1.295039	7.620685	< 0,01
Mg		0.001388	-0.006192	< 0,01
S~pH+Mg+K	274.45	4.104e+00	-2.030e+01	< 0,01
S~pH+Mg+Fe	274.58			< 0,01
S~pH+Mg+Zn	271.78	4.161949	-18.03394	< 0,01
pH		1.28906	7.12027	< 0,01

Apzīmējumi. *Faktors:* S – sporu skaits; *Parametri:* H – humusa slāņa biezums; pH – augsnes pH; Ca – kalciji; Mg- magnijs; K – kālijs; Fe – dzelzs; Zn – cinks. Būtiskais modelis ar trekninātiem burtiem

Nosakot sporu **skaita ietekmējošos faktorus** pa pētījuma sezonām, jeb gadiem, *pirmajā pētījumā gadā* starp apstrādēm (sūnas noņemtas, sūnas apgrieztas un kontrole) būtiski ietekmēja augsnes pH ($p < 0,05$) un magnija daudzums ($p < 0,05$; modelis izskaidro 19,29%). *Otrajā pētījumā gadā* būtisks bija humusa slāņa biezums ($p < 0,05$; modelis izskaidro 5%), kālija saturs un dzelzs saturs augsnē (izskaidro 8,06%). *Trešajā pētījumā gadā* sporu skaits bija atkarīgs no augsnes pH un kalcija satura augsnē ($p < 0,05$; modelis izskaidro 24,38%). *Ceturtajā gadā* sporu skaitu būtiski ietekmēja kālija saturs ($p < 0,05$; modelis izskaidro 18,53%). *Piektajā gadā* būtisks bija augsnes pH un kalcija saturs augsnē ($p < 0,05$; modelis izskaidro 31,81%). Kopumā sporu skaitu augsnē būtiski var ietekmēt **augšnes pH un humusa slāņa biezums, kā arī kalcija un kālija, dzelzs un magnija saturs** (AIC = 271,78) (3.2.-2. tabula). Sporu skaitu augsnē neietekmēja cinka saturs.

Lai noskaidrotu kādas AM sēņu sugas kolonizē *L. flexuosa* saknes, veica **sakņu molekulārās analīzes**. AM sēņu sabiedrības molekulārā analīze Mazsalacas parauglaukumos (deviņos *L. flexuosa* sakņu paraugos) atklāja 17 sekvenču tipus, kas pieder Glomeraceae (3.2.- 8. attēls).

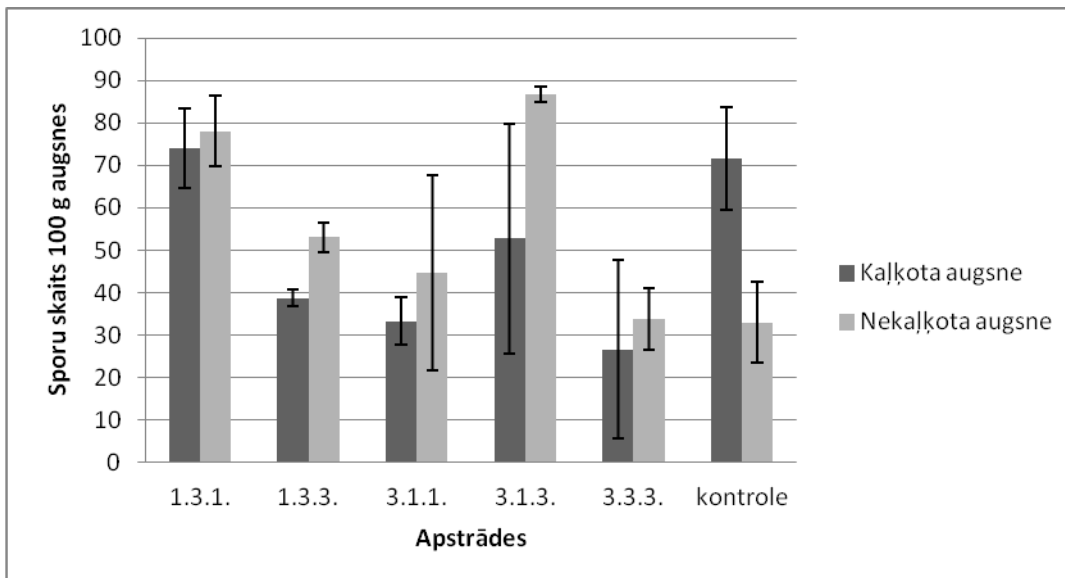


3.2.-8. attēls. AM sekvenču relatīvā sastopamība sakņu fragmentos (visām apstrādēm).

Analīžu rezultātā noskaidroja, ka iespējams konstatēt lielāko daļu apskatīto AM sēņu daudzveidību sakņu paraugos, kas tika ievākti visos trīs pirmajos parauglaukumos pēdējā pētījuma gadā. Lielākā daļa parauglaukumā atrasto sekvenču tipu piederēja *Glomus* grupai A, ar 14 sekvenču tipiem. Atlikušie trīs sekvenču tipi piederēja *Glomus* grupai B. Sekvenču references, kas iegūtas no *Genbank* bija cieši saistītas ar vairākiem no sekvenču tipiem. Trīs no biežāk noteiktajiem sekvenču tipiem, kas atrasti TBI datu bāzē bija Glom-A11 (*Glomus constrictum*), Glom-A13 (*Glomus viscosum*) un Glom-A14 (*Glomus intraradices*). Glom-A9 (*Glomus mosseae*) un Glom-B3 (*Glomus etunicatum*) bija vienīgie atšķirīgie tipi, kuriem tika atrastas cieši saistītas zināmo AM sēņu sugu sekvences. Atlikušajiem sekvenču tipiem (tajā skaitā Glom-A1, Glom-A4, Glom-A6 un Glom-A8) nebija cieši saistītu Glomeromycotan sekvenču pieejamajā gēnu bankā. Gandrīz visas sastopamās sekvences piederēja *Glomus*-A grupai, bet *Glomus*-B grupa konstatēta 2% sakņu paraugu.

3.3. Mikorizālā simbioze ilglaicīgi kultivētā pļavā

AM sēņu efektivitāti ietekmē vairākas augsnes īpašības, sevišķi pH. Tomēr nav skaidrs, vai ilglaicīga ikgadēja kaļķošana un minerālmēsļu lietošana ietekmē kultivētas pļavas arbuskulārās mikorizas daudzveidību. Sporu audzēšanas kultūrās kopumā ieguva 643 sporas, no kurām varēja noteikt piecas sugas – *G. mossea*, *G. claroideum*, *G. fasciculatum*, *G. aggregatum*, *G. constrictum*, *A. laetum*.



3.3.-1. attēls. Mikorizas sporu skaits atkarībā no apstrādes ar minerālmēsliem (1.3.1., 1.3.3., 3.1.1., 3.3.3.- NKP – slāpekļa, kālija un fosfora mēslojuma attiecība).

Veicot GLM modeļu analīzi (3.3.-1. tabula.) noskaidroja, ka *G. constrictum* būtiski ietekmē trīs faktori – papildus mēslošana, kālija un kalcija saturs augsnē. *A. laevis* būtiski ietekmēja augsnes kalķošana, *G. aggregatum* būtiski ietekmēja apstrāde ar kalķošana, bet *G. fasciculatum* neviens no pētītajiem parametriem būtiski neietekmēja.

G. mosseae būtiski ietekmēja kalcija saturs augsnē, bet *G. claroideum* būtiski ietekmēja kalcija un fosfora saturs. Kopumā jāsecina, ka vairāku sugu mikorizas sporu veidošanos ietekmē kalcija saturs augsnē.

3.3.-1. tabula. Sporulāciju ietekmējošo būtisko faktoru GLM analīze

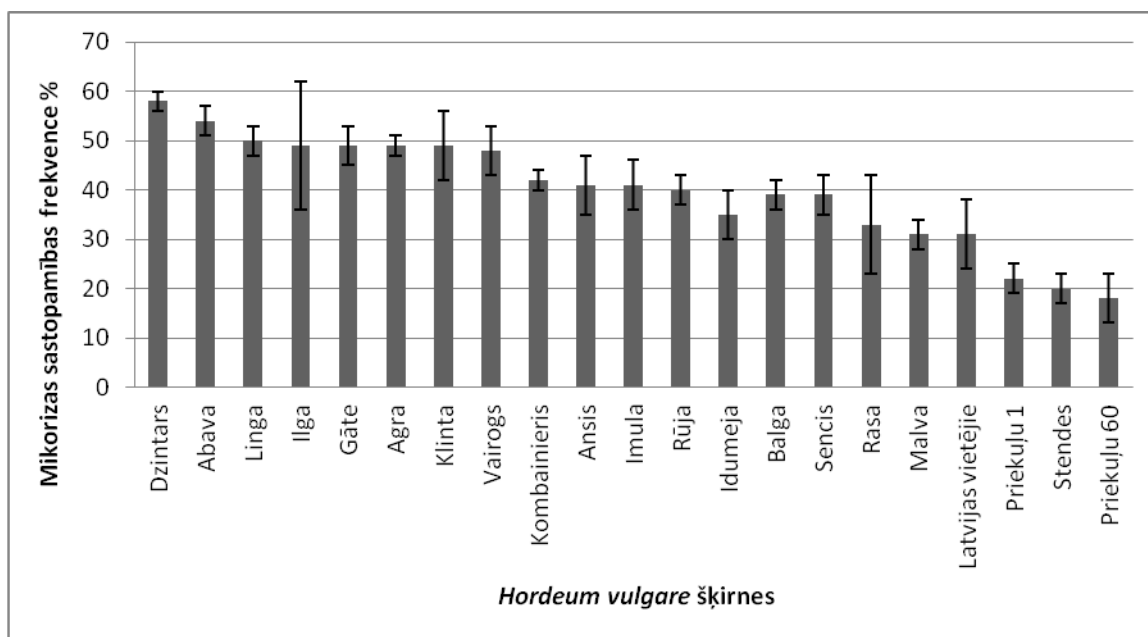
AM sēnes suga	Akronīms	Faktors	p	AIC
<i>Glomus constrictum</i>	Glocon	N:P:K	0.011	124.46
		K	0.007	124.46
		Ca	0.004	124.46
<i>Glomus aggregatum</i>	Gloagg	AN	0.007	116.09
<i>Acaulospora laevis</i>	Acalae	AK	0.027	118.89
<i>Glomus fasciculatum</i>	Glofas	nav	0,07	149.5
<i>Glomus mosseae</i>	Glomos	Ca	0.038	149.5
<i>Glomus claroideum</i>	Glocla	Ca	0.00 3	127.3
		F	0.038	

Apzīmējumi: N:P:K – kopējā attiecība; K- kālija mēslojums; F – fosfora mēslojums; Ca – kalcija saturs augsnē; AN - Nekalķota augsne; AK - Kalķota augsne, AM – arbuskulārā mikoriza

3.4. Mikorizālā simbioze miežu šķirnēm

Ceturtajā pētījumā, lai noskaidrotu vai atšķirības sakņu kolonizācijā ir atkarīgas no šķirnes, pētīja mikorizas kolonizācijas frekvenci 21 *Hordeum vulgare* Latvijā rajonētajām šķirnēm. Visām *H. vulgare* šķirnēm sakņu fragmentos konstatēja mikorizas kolonizāciju.

Sakņu kolonizācijas frekvence variēja no maksimumālās 58% šķirnei ‘Dzintars’ līdz minimālajai frekvencei 18% šķirnei ‘Priekuļu 60’ (3.4.-1. attēls). Astonām šķirnēm bija salīdzinoši augstāka mikorizas sastopamības frekvence (no 58 līdz 48%).

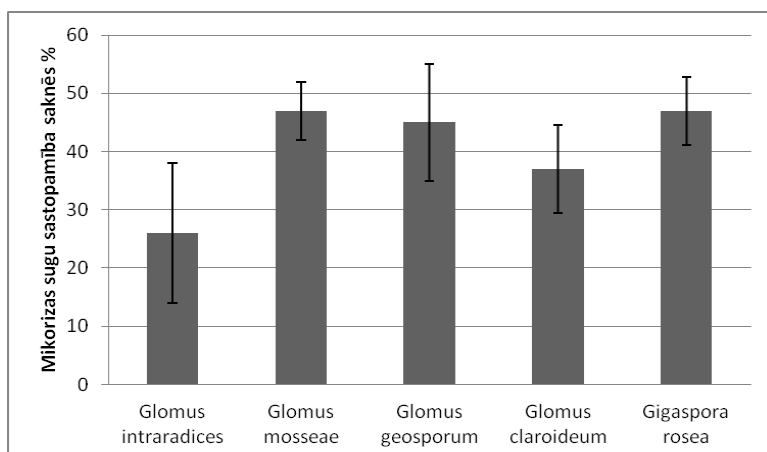


3.4.-1. attēls. Mikorizas sastopamības frekvence (%) *Hordeum vulgare* Latvijā rajonētajām šķirnēm.

No biežāk kultivētajām šķirnēm augstākā mikorizas sastopamības frekvence bija šķirnei ‘Abava’ 73% un ‘Rūja’ 49%, turpretī šķirnēm ‘Balga’ bija 61%, ‘Klinta’ 60% un ‘Linga’ 54% un ‘Rasa’ 49%. Salīdzinot ar šķirņu izveidošanas gadu secinām, ka augstākā sakņu kolonizācijas frekvence atbilst šķirnēm, kas izveidotas no 1990.- 1993.gadam un to mātesaugi nav vietējie. Zemākā mikorizas sastopamības frekvence bija šķirnēm ‘Priekuļu 60’, ‘Priekuļu 1’ un ‘Stendes’, kuras selekcionētas no 1954.- 1970. gadam un tām ir vietējas izcelsmes mātesaugi.

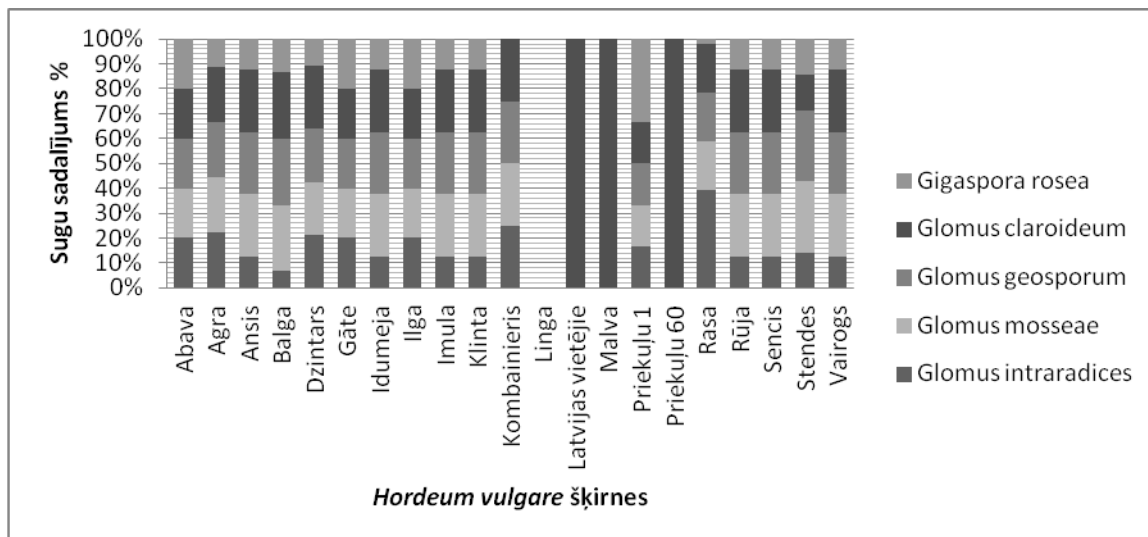
No 21 analizētās šķirnes sakņu paraugiem ar molekulārām metodēm 17 paraugos konstatēja piecas arbuskulārās mikorizas sugas ar dažādām sastopamības frekvencēm- *G. intraradices*, *G. mosseae*, *G. geosporum*, *G. claroideum*, *Gi. rosea* (3.4.-2. attēls). Lielākā sēņu daudzveidība bija šķirnei ‘Abava’, bet ar vienu sugu (*G. claroideum*) kolonizēta bija šķirne ‘Malta’, ‘Latvijas vietējie’ un ‘Balga’, bet šķirnei ‘Linga’ nekonstatēja nevienu sugu,

kaut gan sakņu kolonizācija bija 54%, kas norāda uz kādas citas sugas klātbūtni, kurai nebija praimeru.



3.4.-2. attēls. Arbuskulārās mikorizas sugu sastopamība miežu saknēs (visām šķirnēm).

Kopumā AM sugu sastopamība visām piecām sugām būtiski neatšķiras (3.4.-2. attēls). Aktīvākās sugas, bija *G. mosseae* (47%), *G. geosporum* (45%) un *Gi. rosea* (47%), mazāk aktīvas *G.claroideum* (37%) un *G.intraradices* (29%). Domājams, ka šo aktivitāti ietekmēja saimniekauga šķirnes īpatnības.



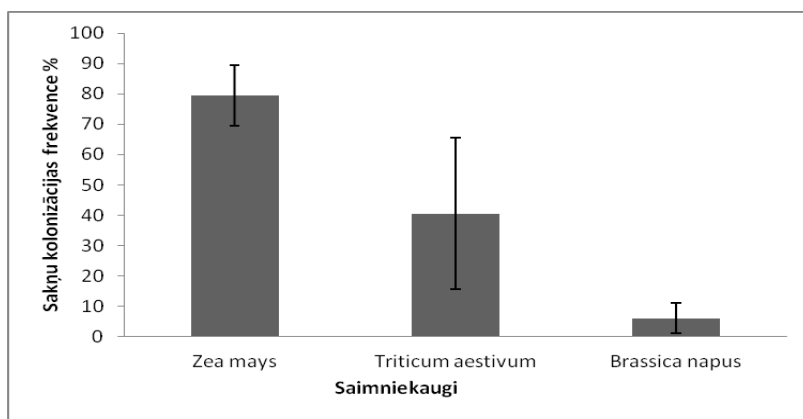
3.4.-3. attēls. Arbuskulārās mikorizas sugu % sadalījums *Hordeum vulgare* šķirnēs.

Arbuskulārās mikorizas sugu % sadalījums atšķiras dažādām šķirnēm (3.4.-3. attēls). Visas piecas sugas konstatēja 15 šķirnēs, taču trim šķirnēm bija tikai *G. claroideum*, bet vienai šķirnei 'Linga' nekonstatēja nevienu no arbuskulārās mikorizas sēnēm.

3.5. Mikorizālā simbioze agroceņozē

Piektā pētījuma mērķis bija noskaidrot, vai dažādiem mikorizas simbiozes saimniekaugiem *Zea mays*, *Triticum aestivum*, *Brassica napus* agroceņozē bija atšķirīgs augsnē sporulējošo arbuskulāro mikorizu sugu sastāvs.

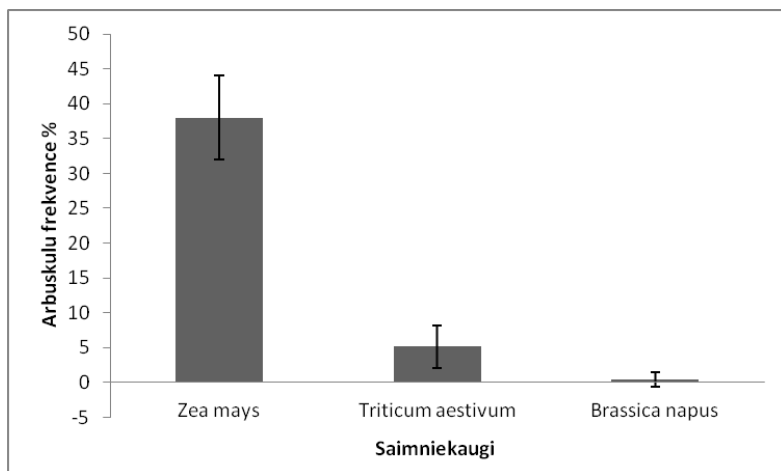
Analizējot mikorizas simbiozes parametrus trīs saimniekaugu sakņu paraugos noskaidrots, ka augstāka AM sakņu kolonizācija bija *Z. mays* saknēs, vidēja *T. aestivum*, bet sakņu kolonizācijas praktiski nebija *B. napus* (3.5.-1. attēls).



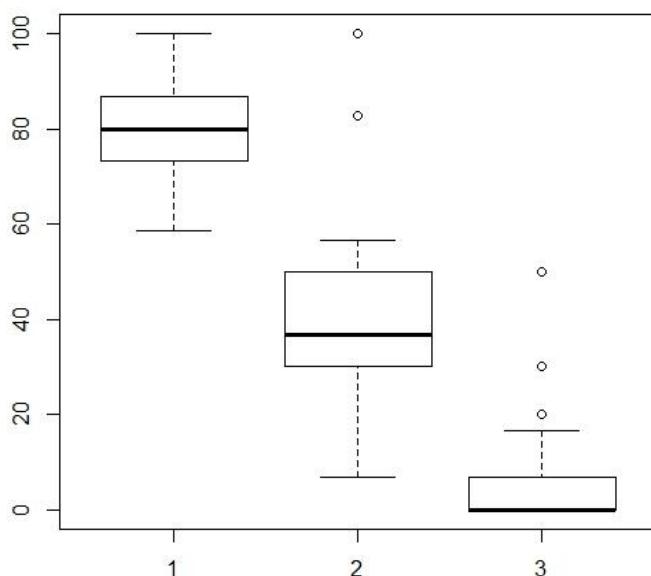
3.5.-1. attēls. Mikorizu kolonizācijas frekvence F% parauglaukumos ar saimniekaugiem *Z. mays*, *T. aestivum* un *B. napus*.

Pētījumā novēroja visas mikorizu raksturojošās struktūras: arbuskulas, vezikulas un hifas. Hifas konstatēja visu *Z. mays* un *T. aestivum* paraugu saknēs un 11 (31%) paraugos *B. napus* saknēs. Sakņu kolonizācijas frekvence trīs *Z. mays* paraugos sastādīja 100%, bet vidējais līmenis bija 79,43%. *T. aestivum* saknēs kolonizācijas frekvence bija 40,48%. *B. napus* vidējā kolonizācijas frekvence sastādīja tikai 6%.

Lielāko arbuskulu frekvenci sakņu sistēmā un pētītajos paraugos konstatēja *Z. mays* saknēs (3.5-2.attēls).



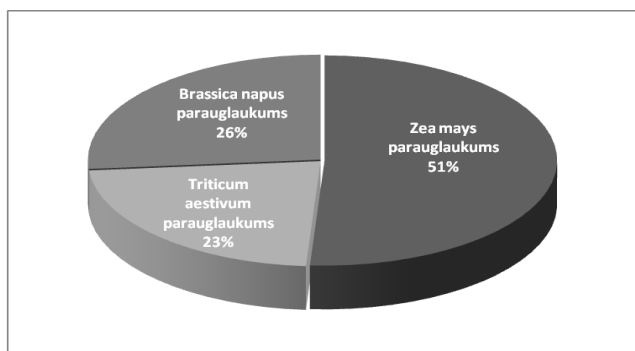
3.5.-2. attēls. Arbuskulu frekvence apskatītajos sakņu fragmentos dažādiem saimniekaugiem.



3.5.-3. attēls. Sakņu kolonizācijas frekvence dažādiem saimniekaugiem. Uz horizontālās ass - saimniekaugi: 1 –*Zea mays*, 2 – *Brassica napus*, 3 – *Triticum aestivum*. Uz vertikālās ass sakņu kolonizācijas (%).

Sakņu kolonizācijas frekvence (3.5.-3. attēls) bija būtiska starp visiem parauglaukumiem (Kruskal Wallis tests, $p < 0,05$). Visos 90 augsnes paraugos konstatēja dažādas morfoloģiski atšķirīgas sporas pa vienai, sporokarpos vai sporu klāsteros.

Sporu skaits parauglaukumā ar saimniekaugu *Zea mays* bija divas reizes lielāks, nekā parauglaukumos ar *Brassica napus* un *Triticum aestivum* (3.5.-4.attēls).



3.5.-4. attēls. Kopējā sporu skaita % attiecība trīs parauglaukumos ar atšķirīgiem saimniekaugiem.

Apmēram 25% no izdalītajām sporām bija bojātas, melnas, invadētas ar nematodēm. Šīs sporas tālākam pētījumam neizmantoja. Kopumā 90 augsnes paraugos konstatēja 12 AM sēņu sugas un vienu nenoteiktu *Scutellospora* ģints sugu. AM sporulējošo sēņu sugu skaits bija līdzīgs visos parauglaukumos (3.5.-1.tabula). Kopējais sporu skaits bija 2294. Līdzīgs (attiecīgi 518 un 606 sporas) tas bija saimniekaugiem, kuru veģetācijas periods ir īss un paraugu vākšanas laikā bija augļu briedināšanas fāzē (*B. napus* un *T. aestivum*), turpretī *Z. mays* tas bija augšanas un ziedēšanas fāzē un sporu skaits bija apmēram divas reizes lielāks

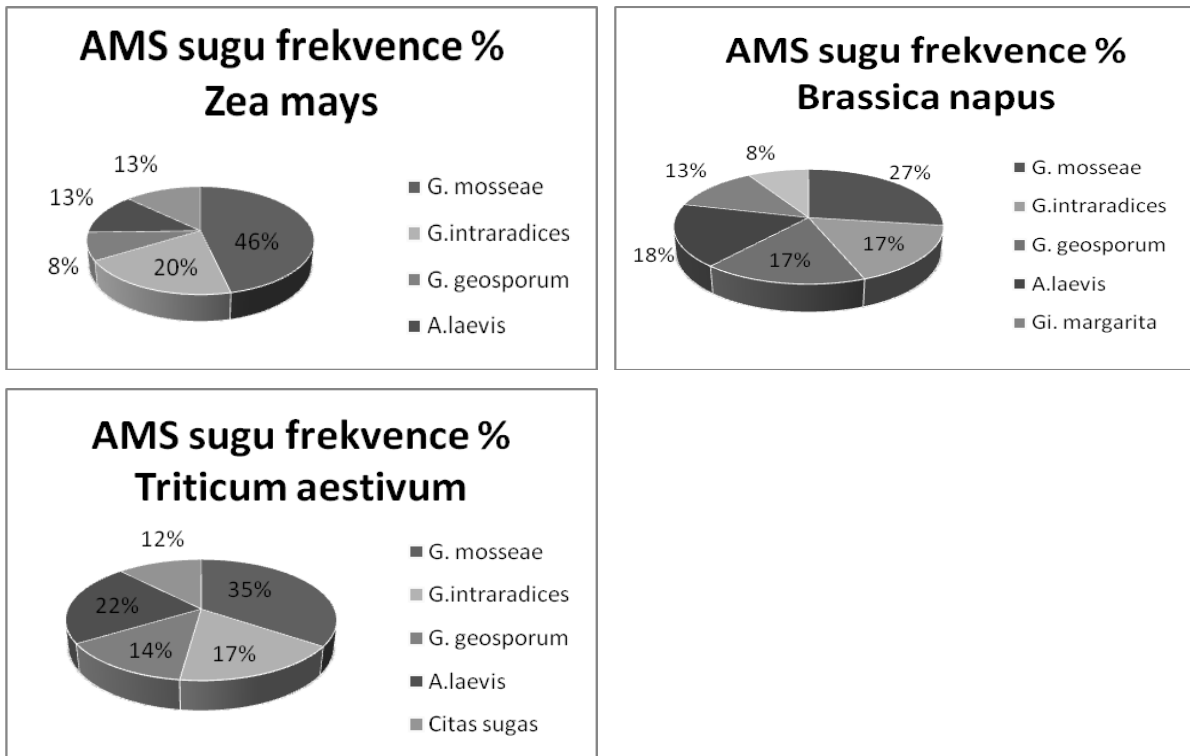
(1170 sporas). Izmantojot *Kruskal Wallis* testu noskaidroja, ka sporu skaits neatšķiras būtiski starp saimniekaugu sugām vai parauglaukumiem ($p > 0.05$).

Sporulējošās AM sēņu ģintis bija *Glomus*, *Acaulospora*, *Scutellospora* un *Sclerocystis*. Dominējošā ģints bija *Glomus*. Sopurulējošo AM sēņu sugu skaits parauglaukumos bija līdzīgs, bet atšķīrās sporu skaits atsevišķām sugām (3.5.-1. tabula).

3.5.-1. tabula. Parauglaukumos ar dažādiem saimniekaugiem konstatētās mikorizu sēņu sugas un to relatīvais sporu skaits

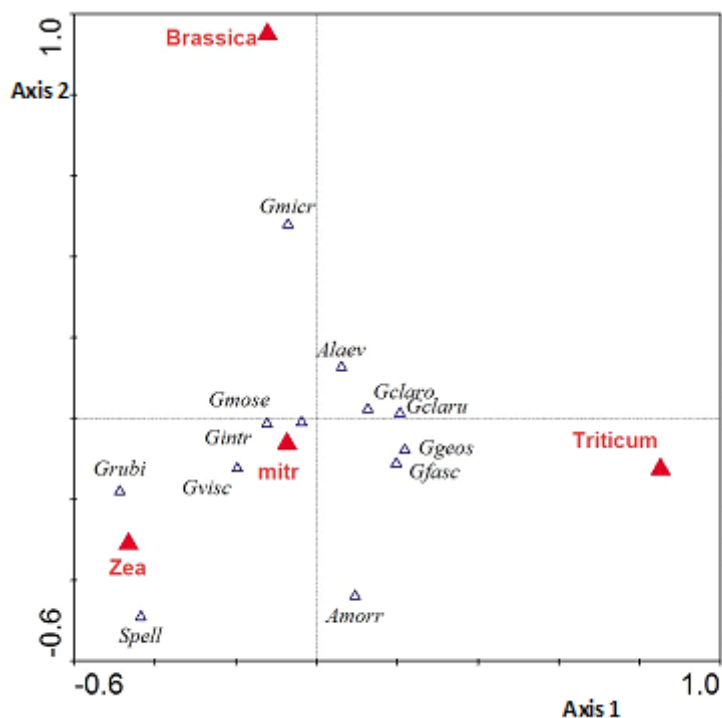
Konstatētās AM sēņu sugas	Sporu skaits 1. parauglaukumā	Sporu skaits 2. parauglaukumā	Sporu skaits 3. parauglaukumā
<i>Acaulospora laevis</i>	147	114	125
<i>A.morrowiae</i>	15	0	10
<i>Glomus clarum</i>	69	31	89
<i>G.claroideum</i>	18	10	18
<i>G. fasciculatum</i>	21	12	25
<i>G. geosporum</i>	98	72	120
<i>G.intraradices</i>	233	90	120
<i>G. microcarpum</i>	5	6	3
<i>G. mosseae</i>	543	180	192
<i>G.viscosum</i>	13	3	3
<i>Sclerocystis rubiformis</i>	2	0	0
<i>Scutellospora pellucida</i>	5	0	0
<i>Scutellospora sp.</i>	0	2	0
Kopējais sporu skaits	1170	518	606
Kopējais sugu skaits	13	9	10

Varēja izdalīt četras dominējošās sugas (3.5.-5.attēls) un pārējās, kuru frekvence bija mazāka par 10%. Saimniekaugam *Zea mays* dominējošās sugas bija *Glomus mosseae*, *G. geosporum* *G. intraradices*, *A. laevis*.



3.5-5. attēls. AM sēņu (AMS) sugu frekvence dažādos parauglaukumos (saimniekaugu *Zea mays*, *Triticum aestivum*, *Brassica napus* rizosfēras zonas augsnes paraugos).

Līdzīgi rezultāti iegūti pētot augsnes paraugus ar saimniekaugu *T. aestivum*. Tomēr dominējošā suga *G. mosseae* sastāda tikai 35% no kopējā sporu skaita un kopējais sadalījums ir vienmērīgāks. Augsnes paraugos ar saimniekaugu *B. napus* AMS (arbuskulārās mikorizas sēņu) sugu sadalījums bija vienmērīgs (3.5.-5. attēls). Dominēja *G. mosseae*, *G. geosporum*, *G. intraradices* un *A. laevis*. Pārējās sugas sastādīja 12% no kopējā sporu skaita. Sporu skaits pozitīvi korelēja ar AM sugu daudzveidību. Analizējot parauglaukumus, noskaidrots, ka sporu skaits visos trijos parauglaukumos būtiski neatšķīrās ($p = 0.43$), bet būtiski atšķīrās AM sporu skaits starp 12 sēņu sugām ($p < 0.05$).



3.5.-6. attēls. Arbuskulāro mikorizu sēņu sugu daudzveidības CCA ordinācija (CANOCO). nparaugl = 90, nsugas = 12. Eigenvalue Axis1 = 0,265; Axis 2 = 0,321. Vektori: mitr- mitruma gradients; **Zea** – saimniekaugs *Zea mays*; **Brassica** – saimniekaugs *Brassica napus*; **Triticum** – *Triticum aestivum*, *Alev*- *Acaulospora laevis*, *Gmose*- *Glomus mosseae*, *Gintr*- *Glomus intraradices*, *Grubi*-*Glomus rubiforme*; *Gvise*-*Glomus viscosum*; *Spell*- *Scutellospora pellucida*; *Amorr*- *Acaulospora morrawiae* *Gfasc*- *Glomus fasciculatum*; *Ggeos*- *Glomus geosporum*; *Gclaru*- *Glomus clarum*; *Gclaru* – *Glomus claroideum*

Meklējot AM daudzveidību ietekmējošo faktoru ekoloģiskos gradientus, ordinācijas pirmā (Axis1) ass izskaidroja vājāko ekoloģisko gradientu (3.5.-6. att). AM sēņu sugu sporulācija cieši saistīta ar saimniekaugu. Negatīvu korelāciju novēroja starp *Z. mays* un *T. aestivum*, bet pozitīvu korelāciju novēroja ar saimniekaugu *B. napus*. Otrā ass (Axis 2), spēcīgākais gradients, norādīja uz mitrumu, un šis faktors bija svarīgs gan saimniekaugam *B. napus* un AM sugai *G. microcarpum*. Kas varētu norādīt uz *G. microcarpum* sausumizturību. Mitruma gradients vairāk saistīts ar *Z. mays* un *T. aestivum*. Mitruma gradienta virzienā izvietotas sugas, kuras ir prasīgas attiecībā uz mitrumu. Ordinācija kreisajā pusē sugas ar vidēju mitrumizturību.

Šanona - Vienera bioloģiskās daudzveidības indekss 2. parauglaukumam ar *T. aestivum* uzrādīja augstāko vērtību starp trim parauglaukumiem atšķirīgiem saimniekaugiem (*Zea mays* 1,62; *Brassica napus* 1,69; *Triticum aestivum* 1,85). Augstāka AM sēņu bioloģiskā daudzveidība bija otrajā parauglaukumā ar *T. aestivum*. Visos parauglaukumos dominējošā AMS suga bija *G. mosseae*. Tā bija atrodama dažādās attīstības stadijās, sākot no juvenilas līdz nobriedušām, gan pa vienai gan veidojot klāsterus. Pētot korelāciju starp dažādām 12 AM

sēnēm noskaidroja, ka būtiski atšķirās korelācija starp *Glomus mosseae* un *Scutellospora pellucida* ($p < 0,05$).

Analizējot indikatoraugu simbiozei ar Monte Carlo testu noskaidroja, ka *Zea mays* iespējamas divas indikatoraugu, *Acaulospora morrowiae* un *Scutellospora pellucida*. *G. geosporum*, *G. clarum* iespējamas kā indikatoraugu *Triticum aestivum*. Tomēr, trešajam saimniekaugam *Brassica napus* tests indikatoraugu neuzrādīja. *G. mosseae*, *G. intraradices* no analīzes izslēdza, jo tās ir bieži sastopamas.

Identificēto arbuskulārās mikorizas sēņu morfoloģiskās pazīmes

***Acaulospora laevis* Gerd. & Trappe**

Sporas augsnē pa vienai, veidojas laterāli uz sporas maisiņa kakliņa, pelēcīgi oranžas līdz brūni oranžas, apaļas vai globulāras, 140-260 μm . Sporai trīs apvalki un divi iekšējie slāņi. Sporu audzēšanas kultūrā audzēta *A. laevis* veido mikorizu, kur redzamas arbuskulas, vezikulas, iekšējais un ārējais micēlijs, kas krāsojas variablas intensitātes krāsā ar 0,05% tripānzilo krāsvielu.

***Acaulospora morrowiae* Spain & N.C. Schenck**

Sinonīms *A. rugosa* un *A. longula*

Sporas pa vienai augsnē, veidojas laterāli sporas maisiņa kakliņa, bāli dzeltenā krāsā, apaļas vai globulāras, reizēm ovoīdas 70-120 μm . Viens sporu apvalks un trīs iekšējie slāņi, kas bieži nav skaidri saskatāmi saspīestām sporām paraugos, Melcera reaģentā krāsojas tumši sarkanā krāsā. Saaugums (cicatrix) apaļš vai elipsveida.

***Glomus clarum* Nicol. & Smith**

Sporas pa vienai augsnē, bāli dzeltenas, apaļas vai globulāras, reizēm ovoīdas 95-160 μm ar vienu pretī esošu hifu gaiši dzeltenā krāsā, piltuvveida vai cilindrisku. Sporām ir viens sporas apvalks ar trim slāņiem.

***Glomus claroideum* N.C. Schenck & G.S.Sm**

Sporas pa vienai augsnē, bāli dzeltenas līdz pelēcīgi oranžas, apaļas vai globulāras, reizēm ovoīdas 95 - 160 μm ar vienu pretī esošu hifu gaiši dzeltenā krāsā, piltuvveida vai cilindrisku. Viens sporas apvalks ar četriem slāņiem. Juvenilām sporām sporu apvalkā saskatāmi divi slāņi. Melcera reaģentā krāsojas rozā vai purpura krāsā.

Glomus fasciculatum (Thaxt.) Gerd. & Trappe

Sporas pa vienai augsnē vai agregātos 2-20 sporas, bāli dzeltenas, apaļas vai globulāras 100-130 μm, sporām viens apvalks ar trim slāņiem.

Glomus geosporum (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker

Sporas pa vienai augsnē dzeltenī oranžas 130-260 μm, apaļas, glomoīdas vai ovoīdas. Sporām ir viens apvalks un trīs slāņi, hifa ar piltuvi. Melcera reaģentā viens no slāņiem krāsojas sarkanīgs.

Glomus intraradices N.C. Schenck & G.S.Sm.

Sporas veido klāsterus vai pa vienai augsnē un bieži veido sporas saknēs. Sporas blāvi dzeltenas, ovoīdas un 46-120 μm lielas. Sporas viens apvalks, trīs slāņi.

Glomus microcarpum Tul.&C.Tul.

Sporas kompaktos sporokarpus ar perīdiju. Sporokarpi bāli dzeltenbalti, olveida līdz neregulāri, 4-8 mm lieli, vienmēr satur arī augsnes daļiņas.

Glomus mosseae (T.H.Nicolson &Gerd.) Gerd.& Trappe

Sinonīms *Funeliiformis mosseae*

Sporas zelta dzeltenā krāsā, 180-200 μm diametrā, 3 slāņi sporu apvalkā, 1 hialīslānis sporu apvalkā, ar piltuvveida pretī esošo hifu. Mezcera reaģentā jaunas sporas krāsojas sarkanīgas.

Glomus viscosum T.H.Nicolson

Sporas caurspīdīgas, viegli duļķainas, ar gļotainu apvalku, vidēji lielas (80 – 100 μm) sporas, pa vienai vai kopā.

Sclerocystis rubiformis (Gerd. & Trappe)

Sinonīms *Glomus rubiforme* (Gerd. &Trappe) R.T. Almeida & N.C.Schenck

Sporas veido sporokarpus augsnē. Sporokarps blāvi dzeltens, līdz brūngans, apaļš vai ovoīds, 200-260 μm diametrā. Sporas apaļas līdz globulāras 40-70 μm diametrā, viens apvalks ar trim slāņiem, pretī esošā hifa piltuvveida. Sporokarpā 10 sporas.

Scutellospora pellucida (Nicol. & N.C. Schenck) C. Walker & F.E. Sanders

Sporas, klātas ar hifu tinumu, konstatētas augsnē pa vienai 150 μm diametrā, apaļas un eliptiskas.

Scutellospora sp.

Sporas pa vienai augsnē 100 µm diametrā sarkani brūnas, ar vienu apvalku, ka sastāv no trim slāņiem. Melcera reaģentā iekšējais slānis kļuva ļoti tumšas.

3.6. Mikorizālā simbioze briofītiem

Lai konstatētu dažādu sēņu iespējamo klātbūtni briofītos, sestajā pētījumā kopā ievāca 43 briofītu sugu paraugus no 28 dzimtām. AM sēņu struktūras konstatēja piecu sūnu sugu lapaņos (11,6%; 3.6.1. tabula), bet septētās sēnes varēja novērot lapaņos un stumbru struktūrās 13 sugām (30.2%). Lielākajai daļai sugu (25 sugas jeb 58,1% no pētīto sugu kopskaita) sēņu asociācijas paraugos nebija konstatējamas.

Būtiski, ka pētītajos paraugos mikorizu simbiozes asociācijas nebija pārstāvētas epifītiskajiem un epiksilajiem briofītiem, bet tās tika atrastas tikai epigeiskajiem briofītiem.

Pētījumā AM iekšsūnas un un starpsūnu hifas konstatētas tikai gametofītos (3.6.-1. tabula): Marchantiophyta (vienkāršā un salikto lapaņu sugas) lapaņu struktūrās un Anthocerotophyta lapaņos. Tās nekonstatēja Bryophyta stumbru un lapu struktūrās un citu lapaino Marchantiophyta sugu struktūrās.

3.6.-1. tabula. Briofītu sugas un to paraugos novērotās sēņu struktūras

Briofītu klases un sugas	Glomeromycota		Ascomycota / Basidiomycota	Ekoloģiskais tips / substrāts
	Arbuskulas vai vezikulas	Starpšūnu un iekššūnu neseptētas hifas	Septētas hifas audu struktūrās	
Anthocerotophyta (Ragvācelītes)				
<i>Anthoceros agrestis</i> (Paton) Damsholt	-	+	-	Epigeisks / māls
Marchantiophyta (Aknu sūnas)				
<i>Aneura pinguis</i> (L.) Dum.	-	-	+	Epigeisks / purvs
<i>Blasia pusilla</i> L.	-	-	-	Epigeisks / māls
<i>Cephalozia bicuspidata</i> (L.) Dum.	-	-	+	Epigeisks / purvs
<i>Cephalozia pleniceps</i> (Aust.) Lindb.	-	-	+	Epigeisks / purvs
<i>Conocephalum conicum</i> (L. Dumort.)	+	+	-	Epigeisks / māls
<i>Conocephalum salebrosum</i> Szweyk., Buczkowski & Odrzykoski	+	+	-	Epigeisks / māls
<i>Fossombronina floevolata</i>	+	+	-	Epigeisks / māls

Lindb.				
<i>Frullania dilatata</i> (L.) Dum.	-	-	-	Epifitiskis / koks
<i>Frullania fragilifolia</i> (L.) Dum.	-	-	-	Epifitiskis / koks
<i>Homalia trichomanoides</i> (Hedw.) B., S. et G.	-	-	+	Epifitiskis / koks
<i>Kurzia pauciflora</i> (Dicks.) Grolle	-	-	+	Epigeiskis / purvs
<i>Lophocolea heterophylla</i> (Schrad.) Dum.	-	-	-	Epiksils / trupoša koksne
<i>Marchantia polymorpha</i> <i>subsp. ruderalis</i> L. emend. Burgeff	-	-	-	Epigeiskis / māls
<i>Metzgeria furcata</i> (L.) Dum	-	-	-	Epifitiskis / koks
<i>Mylia anomala</i> (Hook.) S. Gray	-	-	-	Epigeiskis / purvs
<i>Nowellia curvifolia</i> (Dicks.) Mitt.	-	-	-	Epiksils / trupoša koksne
<i>Pellia endiviifolia</i> (Dicks.) Dum.	-	+	-	Epigeiskis / māls
<i>Radula complanata</i> (L.) Dum.	-	-	-	Epifitiskis / koks
<i>Riccia fluitans</i> L. emend. Lorbeer	-	-	-	Epigeiskis / māls
<i>Riccia glauca</i> L.	-	-	-	Epigeiskis / māls
<i>Riccardia palmata</i> (Hedw.) Carruth.	-	-	-	Epiksils / trupoša koksne
<i>Trichocolea tomentella</i> (Ehrh.) Dum.	-	-	+	Epigeiskis meža augšne
Bryophyta (Sūnas)				
<i>Antitrichia curtispindula</i> (Hedw.) Brid.	-	-	+	Epifitiskis / koks
<i>Atrichum tenellum</i> (Röhl.) B. et S.	-	-	-	Epigeiskis / māls
<i>Aulacomnium palustre</i> (Hedw.) Schwaegr.	-	-	-	Epigeiskis / meža augšne
<i>Brachythecium rutabulum</i> (Hedw.) B., S. et G.	-	-	+	Epifitiskis / koks
<i>Bryum argenteum</i> Hedw.	-	-	+	Epigeiskis / augšne
<i>Ceratodon purpureus</i> (Hedw.) Brid.	-	-	+	Epigeiskis / augšne
<i>Cinclidium stygium</i> Sw.	-	-	-	Epigeiskis / purvs
<i>Dicranum scoparium</i> Hedw.	-	-	-	Epigeiskis / meža augšne
<i>Ditrichum flexicaule</i> (Schwaegr.) Hampe	-	-	-	Epigeiskis / smilšakmeņi
<i>Hylocomium splendens</i> (Hedw.) B., S. et G.	-	-	+	Epigeiskis / meža augšne
<i>Leucobryum glaucum</i> (Hedw.) Ångstr.	-	-	-	Epigeiskis / meža augšne
<i>Neckera complanata</i> (Hedw.) Hüb.	-	-	-	Epifitiskis/koks
<i>Plagiomnium cuspidatum</i> Hedw.	-	-	-	Epigeiskis / meža augšne
<i>Pleurozium schreberi</i> (Brid.) Mitt.	-	-	-	Epigeiskis / meža augšne
<i>Pogonatum urnigerum</i> (Hedw.) P. Beauv.	-	-	-	Epigeiskis / māls
<i>Sphagnum angustifolium</i> (C. Jens. ex Russ.) C.	-	-	-	Epigeiskis / purvs

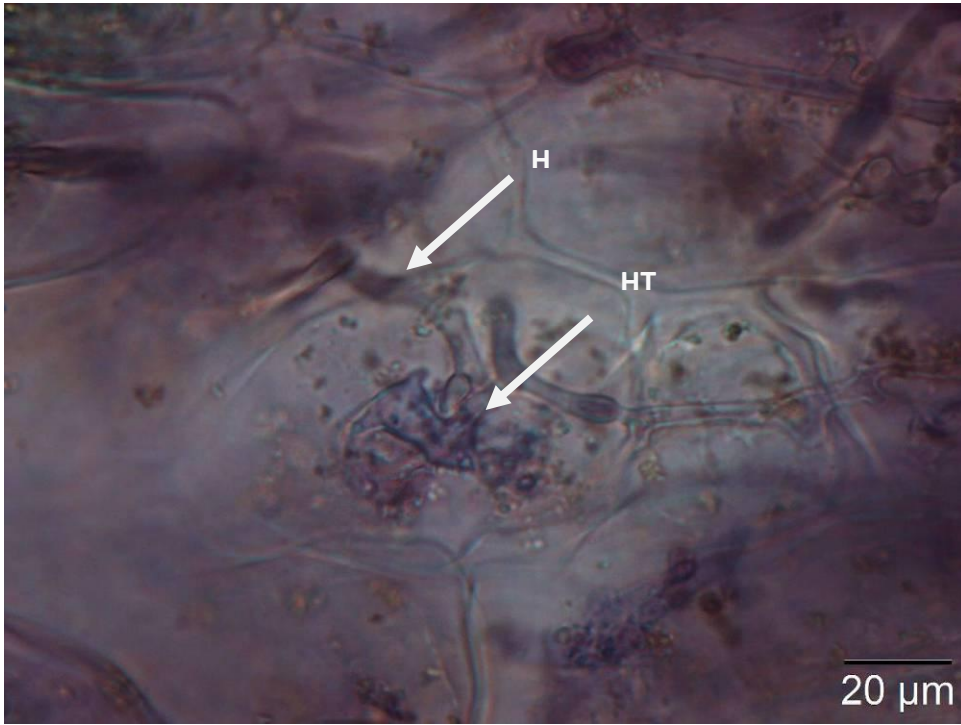
Jens.				
<i>Sphagnum magelanicum</i> Brid.	-	-	+	Epigeisks / purvs
<i>Syntrichia ruralis</i> (Hedw.) Gaertn., Meyer et Scherb.	-	-	+	Epigeisks / augsne
<i>Tetraphis pellucida</i> Hedw.	-	-	+	Epiksilisks / trupoša koksne
<i>Tortula lingulata</i> Lindb.	-	-	-	Epigeisks / smilšakmeņi

Tādas AM struktūras kā hifas un vezikulas konstatēja *Conocephalum salebrosum* (3.6.-1. attēls) un *Fossombronia floevolata* (3.6.-2., 3.6.-3. attēli) paraugos. Arbuskulas atrada *Conocephalum salebrosum* un *C. conicum* audos.

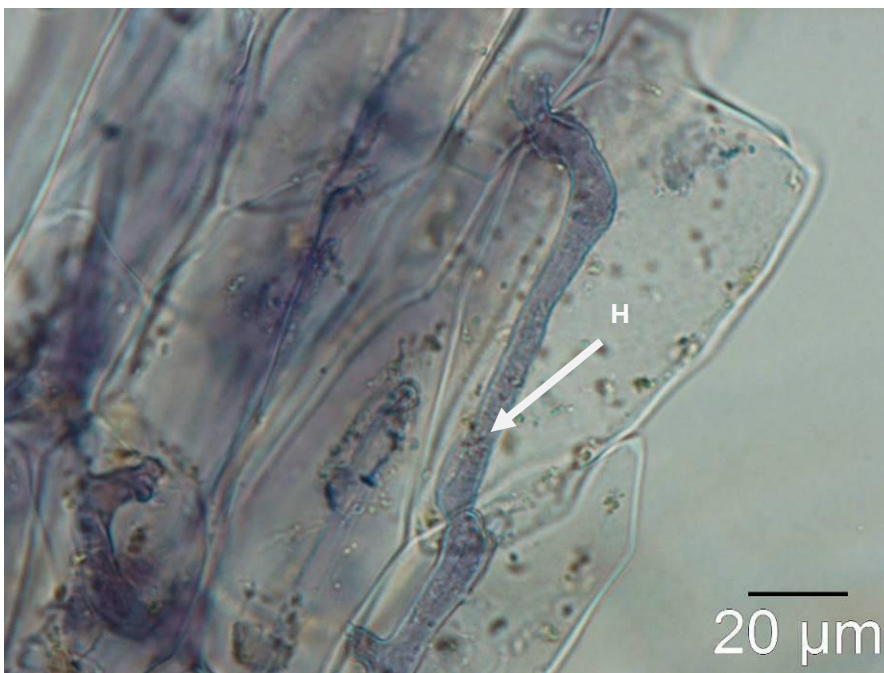
Hifu iekļūšanas vietas briofītos bija augoši jauni rizoīdi. AMS kolonizācijas klātbūtnē *Conocephalum salebrosum* rizoīdi, kuros konstatēja aseptētas sēņu hifas, nebija izmainīti (3.5.-4. attēls), bet sugai *Kurzia pauciflora* rizoīdi septētu sēņu ietekmē bija pāresnināti.

Sēņu endofītus konstatēja *Cephalozia bicuspidata* starpšūnu telpā (3.6.-5. attēls) un *C. pleniceps* stumbra audos. Septētās sēnes, kas pieder Ascomycetes vai Basidiomycetes konstatēja uz 13 briofītu sugu audiem (3.6.-1. tabula): *Aneura pinguis*, *Cephalozia bicuspidata*, *C. pleniceps*, *Homalia trichomanoides*, *Kurzia pauciflora*, *Trichocolea tomentella*, *Antitrichia curtispindula*, *Brachythecium rutabulum*, *Bryum argenteum*, *Ceratodon purpureus*, *Hylocomium splendens*, *Sphagnum magelanicum*, *Syntrichia ruralis*.

Pētījumā vidējais kolonizācijas līmenis aseptētajiem endofītiem variēja no 5 līdz 45% (3.6.-6. attēls) un no 10 līdz 25% septētajiem endofītiem. Sēņu kolonizācijas līmenis Hepaticophyta sugām bija 45% un mazāk. Kopumā pētīto briofītu sugām kolonizācijas līmenis variēja no zema līdz vidējam. AM sēņu hifas sūnu lāpoņos veidoja gan tinumus, gan bija taisnas (lineāras).



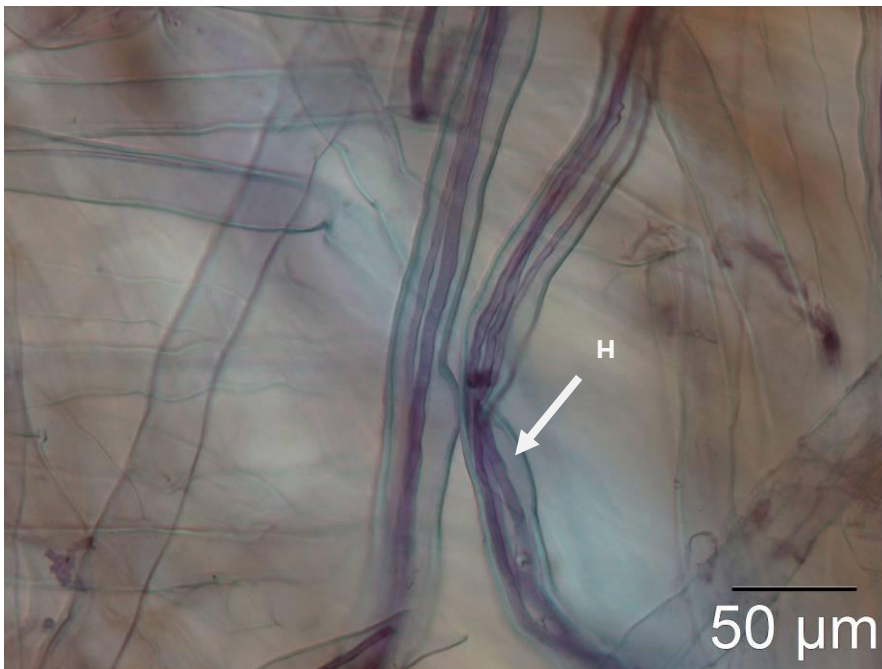
3.6.-1. attēls. *Conocephalum salebrosum* un AM hifas augošanas no šūna uz šūnu (H –hifas, HT – hifu tinumi).



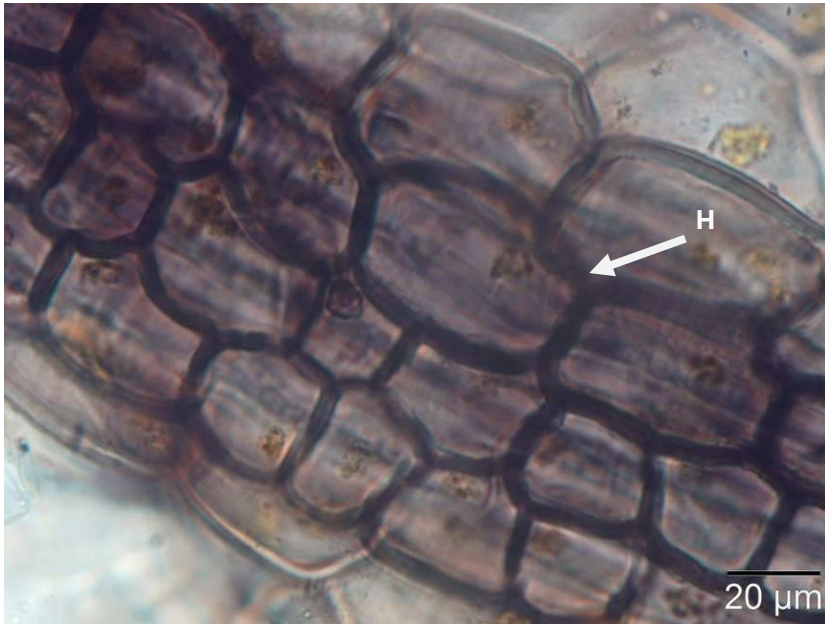
3.6.-2. attēls. AM struktūtras *Fossombronina floevolata*, hifas augošanas no sūnas uz šūnu (H).



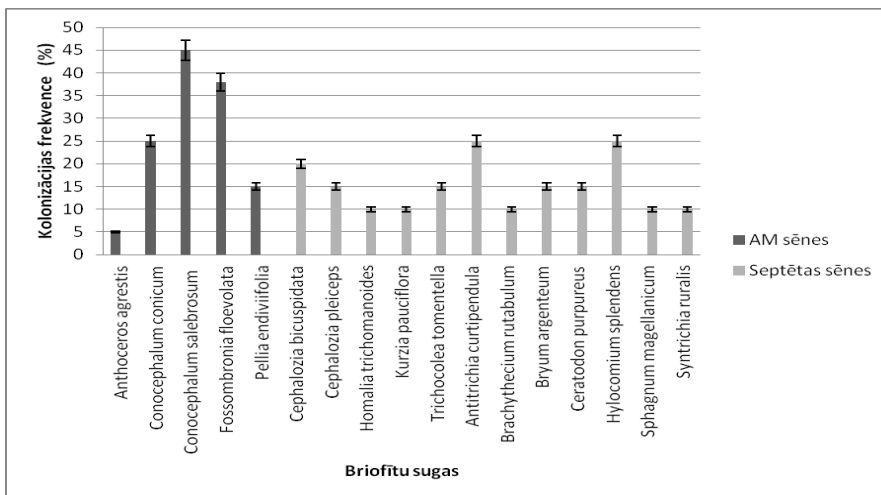
3.6.-3. attēls. *Fossombronina floevolata* hifa (H) un vezikula (V).



3.6.-4. attēls. *Conocephalum conicum* rizoīdi un hifas.



3.6.-5. attēls. *Cephalozia bicuspidata* un sēņu endofīti starpšūnu telpā.



3.6.-6. attēls. Briofītu kolonizācijas frekvence (%) ar septētām sēnēm un AM sēnēm.

4. DISKUSIJA

Zinātnieki lieto dažādus kritērijus augu **mikorizācijas statusa** noskaidrošanai. Arbuskulu klātbūtne (saimniekauga- sēnes barības vielu apmaiņas struktūras) norāda uz AM asociāciju, tāpat arī hifas un vezikulas (Harley and Smith 1983; Smith and Gianinazzi-Pearson 1988). Tādējādi bija būtiski pārbaudīt plašāku augu spektru, kas aug dažādos biotopos, lai saprastu šo AM morfoloģijas variēšanu. Mūsu pētījumā konstatējām, ka katra pētītā augs saknēs ir atšķirīgi krāsotas hifas, un tās veidoja gan lineāras hifas, gan tinumus un bija arī starposms. Cavagnaro *et al.* (2001) atklāja, ka *Lycopersicon esculentum* abi AM morfoloģiskie tipi bija atkarīgi no sēņu sugām. Yamato (2004) atzīmēja, ka AM morfoloģisko tipu nosaka augs un sēnes identitāte. Taču mēs konstatējām, ka daudziem augiem ir tendence veidot arī tikai vienu morfoloģisko tipu un mūsu pētījumā dominēja *Arum* tipa mikoriza. Tā kā šīs abas morfoloģiskās grupas ir grūti diagnosticēt un ir zināmas vairākas starpformas, jautājums par mikorizu apakštipiem joprojām ir neskaidrs, kā to jau norādīja Diksons (Dickson, 2004). Tāpat, iespējams, ka pētījumi, kuros apskatītas augu dzimtas, kurās ir aprakstīti *Arum* vai *Paris* tipi vai pārejas tipi (Smith & Smith 1997), var tikt skaidroti ar vairāku AM sugu sēņu klātbūtni. Mūsu rezultāti parādīja, ka AM morfoloģija, izmantojot *L. flexuosa* ir atkarīga no sēnes sugas, kas kolonizējusi saimniekauga saknes. Rezultāti atšķīrās gan kvantitatīvi, gan kvalitatīvi. *L. flexuosa* bija sinhroni kolonizējušas dažādas AM sēnes. Šis rezultāts ir svarīgs, jo bieži domā, ka AM morfoloģija ir atkarīga tikai no augs sugas (Smith & Smith 1997). Vajadzētu pētāmo augu audzēt ar vairākām zināmām sēņu sugām vienlaicīgi paralēli, lai nodrošinātu, ka veidosies tikai viens noteikts morfoloģiskais mikorizas tips.

Ir zināms, ka arbuskulas ir efemerālas struktūras un tās var nebūt atrodamas saknēs, ja paraugi tiek vākti saknēm neaktīvā laikā. Mūsu pētījumi bija augu ziedēšanas laikā, kad tiek uzskatīts, ka sakņu augšana turpinās, taču pusei augu sakņu paraugos arbuskulas nenovēroja. Arbuskulas un vezikulas nenovēroja sugām, kuras tiek uzskatītas par nemikorizālām un ir no *Brassicaceae* un *Chenopodiaceae* dzimtas, kas saskan ar literatūras datiem (Smith & Smith 1997). Iespējams, ka simbiozes funkcionālā aktivitāte, kas tiek raksturota ar arbuskulu klātbūtni, bija mainīga rakstura - saknes agrāk kolonizējušas hifas bija novecošanās un atradās mikorizas nobriešanas fāzē.

Kolonizējot *Lerchenfeldia flexuosa* saknes *G. intraradices*, *G. mosseae* un *G. geosporum* veidoja *Arum* tipa mikorizas. *A. longula*, *G. claroideum* veidoja *Paris* tipa mikorizu ar iekššūnu hifu tinumiem un arbuskulāriem tinumiem (hifas veidoja vijumu pirms arbuskulas

formēšanās). *G. mosseae* veidoja arī hifu tinumus, bet tie bija hifas iespiešanās vietās ārējās mizas šūnu kārtās, kas atbilst literatūras datiem (Blazszkowski 2012).

Ir noskaidrots, ka **AM kolonizācijas** veidošanos un morfoloģiju ietekmē arī saimniekauga genoms. Mūsu pētījums ar dažādām *Hordeum vulgare* šķirnēm apstiprina šos rezultātus. Informācija par dažādu šķirņu atkarību no mikorizas dod iespēju pielietot mikorizas kultūraugu audzēšanā arī mūsu valstī, kas uzlabotu augu ražošanas apjomu un kvalitāti, ņemot vērā mikorizas sēņu ietekmi. Arbuskulārās mikorizas sugu % sadalījums atšķirās dažādām šķirnēm. Visas piecas sugas konstatēja 15 šķirnēm, taču trīs šķirņu saknēs noteica tikai *G. claroideum*, kas varētu liecināt par AMS aktivitāti vai savstarpēju konkurenci starp sēnēm, bet vienai šķirnei nekonstatēja nevienu no AMS, ko varētu izskaidrot ar to, ka šo šķirni kolonizējusi citas ģints suga vai vairākas.

Ir zināmas **mikorizu sporu skaita** sezonālās atšķirības un tā saistība ar saimniekauga fenoloģiju (Lugo, Cabello 2002). Sezonālās sporu skaita izmaiņas raksturo trīs sporulācijas modeļi: pirmās grupas sēnēm sporulācija notiek rudenī – *Glomus sp.* sporokarpi un *Scerocystis rubiformis*, otrās grupas sēnēm sporulācija notiek pavasarī (*Acaulospora mellea* A. *excavata* A. *gerdenmanii*, A. *scrobiculata*). *Glomus dimorficum*, *Scutellospora biornata* trešajā grupā sporulācija notika visu gadu. Šādu sēņu sukcesiju ir atzīmējuši vairāki autori (Walker *et al.* 1982; Smith, Read 1987). Varētu uzskatīt, ka mūsu pētījumā šis fakts apstiprinājās, jo pētījumā konstatētās dominējošās sugas bija *G. mosseae*, *G. intraradices*, kas pieder trešajai grupai, tomēr, tā kā no augsnes izdalītas sporas tikai vienā eksperimentā, tad nepieciešami papildus pētījumi, vai arī sporu audzēšanas kultūras jāaudzē vairākus gadus.

Oehl (Oehl *et al.* 2009) izteicis hipotēzi, ka dažādos augsnes tipos ir specifiskas arbuskulārās mikorizas sēņu sabiedrības, un tas ir atkarīgs no augsnes tipa vai augsnes apstrādāšanas. Šai hipotēzei varam piekrist, jo gan sporu audzēšanas kultūrās, gan iegūstot sporas no biotopiem sugu sastāvs bija nedaudz atšķirīgs, tomēr visos pētītajos biotopos, neatkarīgi no sporu iegūšanas metodes, bija biežāk sastopamās sugas (*G. mosseae*, *G. intraradices*) – ģenerālisti. Aī mūsu darbs apliecina, ka dažas arbuskulārās mikorizas sugas var uzskatīt par ģenerālistiem, jo tās bija sastopamas gandrīz visos pētītajos augsnes tipos, bet citas mikorizas sugas varētu raksturot kā speciālistus, jo tās bija sastopamas tikai kādā noteiktā biotopā, kā tas bija pētījumā Igaunijā (Öpik *et al.* 2006).

Kā zināms, saimniekauga klātbūtne nav nepieciešama **sporu dīgšanai**, bet hifu augšanu un simbiozes veidošanos ietekmē sakņu izdalītās vielas (Bago *et al.* 1998). Sporas dziedēja ūdens-agara barotnēs ar un bez augsnes ekstrakta izvilkumiem. Daļa sporu uzdīga pirmajās 15 dienās. Interesanti, ka sporu dīgspēja bija atkarīga no to lieluma. Dīgstošas bija sporas no 100 līdz 200 μm lielas. Nedīga sporas, kas bija lielākas un mazākas par šo izmēru. Kopumā sporu

dīgstspēja bija ļoti zema – 15%. Sporu dīgšanu neietekmēja atšķirīgi barotnes apstrādes veidi. Šo faktu varētu skaidrot ar to, ka dažādām mikorizas sugām ir atšķirīgi sporu izmēri vai arī nedīga jaunas – juvenilas sporas. Domājams, ka sporām nepieciešams miera periods un tāpēc tās nedīga, vai arī apstiprinājās citu zinātnieku pētījumu rezultāti, ka sporas nav labākais propagulu (vairvienību) veids un tās nedīgst neizgājušas miera periodu. Tāpat zināms, ka sporas dīgstspēju saglabā vairākus gadus, bet mēs nezinām cik vecas bija eksperimentā izmantotās sporas. Turklāt sporas var uzdīgt vairākas reizes jau pirms saimniekauga sastapšanas; saimniekauga klātbūtne nav nepieciešama sporu dīgšanai (Bago *et al.* 1998), bet mēs savā eksperimentā to nenovērojām.

Pēc sporu materiāla analizējot **indikatorsugas** (3.5. nodaļa) noskaidroja, ka *Z. mays* iespējamas divas indikatorsugas *A. morrowiae*, *S. pellucida*, bet *G. geosporum*, *G. clarum* iespējamas kā indikatorsugas - *T. aestivum*. Veidojot jaunus augsnes-mikorizu produktus, būtu lietderīgi *Z. mays* audzēšanai pārbaudīt abu sugu *A. morrowiae*, *S. pellucida* ietekmi uz augu augšanu un produktivitāti, bet *T. aestivum* testēt *G. geosporum*, *G. clarum*.

Kubato *et al.* (2005) rakstīja, ka AM tipa morfoloģija ir rezultāts mijiedarbībai starp augu un sēni. Mūsu pētījumā ar augu audzēšanas kultūrām (3.1. nodaļa) ar konkrētām AM sugām šādus pārliecinošus rezultātus neguvām.

Ir pierādīts, ka lielāka augu daudzveidība pozitīvi ietekmē arī AMS daudzveidību (Helgason *et al.* 1998; Burrows, Pflieger 2002). Lai gan priežu lāns nav augu sugām bagāts biotops un *L. flexuosa* sakņu kolonizācija nebija augsta (3.2. nodaļa), mikorizas atšķirīgās un krāsas un hifu morfoloģija norādīja, ka parauglaukumā vajadzētu būt daudzveidīgai AM sēņu sabiedrībai, kurā ietilptu arī taksoni, kas nepieder Glomeraceae. Tomēr visas AM sēņu sekvences, kas tika iegūtas šajā pētījumā piederēja Glomus grupai A (14 sekvenču tipi) vai Glomus grupai B. šie rezultāti ir salīdzināmi ar citiem pētījumiem, kuros pētīta AM sēņu sabiedrību molekulārā daudzveidība.

Faktu, ka ar **molekulārām metodēm** mūsu pētījumā *H. vulgare* un *L. flexuosa* netika noteiktas AM sēnes, kas nepieder pie Glomeraceae varētu daļēji izskaidrot ar šajā pētījumā izmantoto metodiku. Paraugus ievāca vienā reizē. Tas varēja ietekmēt AM sēņu sabiedrību, kas tika konstatētas šajos biotopos. Oehl *et al.* (2009) konstatēja, ka lauksaimniecības sistēmās var pastāvēt sukcesionāla sporulācijas dinamika. Šie autori konstatēja sezonālu sporulācijas variēšanu dažādām AM sugām. Bez tam, Hijri *et al.* (2006) konstatēja, ka atsevišķas AM sēņu sugas tiek biežāk noteiktas dažādos laikos. Piemēram, *Acaulospora* sugas tika biežāk noteiktas augšanas sezonas sākumā. To, kuri AM sēņu taksoni tika noteikti varēja ietekmēt arī pētījumā izmantotās molekulārās metodes. Praimeri FLR3 un FLR4, kurus izmantoja šajā pētījumā ir AM sēņu specifiski, bet tie var amplificēt ne visas AM sēņu grupu

sekvences līdzvērtīgi (Gamper *et al.* 2009). Tomēr šie praimerī ir sekmīgi izmatori sēņu amplificēšanai no visām lielajām Glomeromycota grupām, tostarp Glomeraceae, Acaulosporaceae, Gigasporaceae, Paraglomeraceae, Diversisporaceae (Gollotte *et al.* 2004). Mūsu pētījumā lielākā daļa parauglaukumā atrasto sekvenču tipu piederēja *Glomus* grupai A, ar 14 sekvenču tipiem. Atlikušie trīs sekvenču tipi piederēja *Glomus* grupai B. Citos pētījumos izdalīti 13 arbuskulārās mikorizas sēņu sekvenču tipi no mērenās joslas platlapju mežiem, 10 līdz 24 sekvenču tipi no mērenās joslas zālājiem, 19 no tropu lietus mežiem, 2 līdz 7 no mērenās joslas aramzemēm un no laukiem, 14 līdz 20 no mērenās joslas mitrājiem (Helgason *et al.* 1988, 2002, Daniell *et al.* 2001, Wirsell 2004, Wubet *et al.* 2004). Iespējams, ka pasaulē visaugstākā zināmā AM sugu daudzveidība vienā biotopā ir 37 taksoni. Tā tika noteikta ar sporu audzēšanas kultūru metodi kādā atmatā (Bever *et al.* 2001).

Molekulāros marķierus pārlicinoši izmanto AM sabiedrību pētījumiem dabā (Öpik *et al.* 2006; Hempel *et al.* 2007). Tomēr šai metodei ir trūkumi, jo daudzi no praimeriem kurus lieto AM sēņu raksturošanai neatklāj visas AM sēņu sugas, nav sugām specifiskas un amplificē ne tikai Glomeromycota sēnes (Alguicil *et al.* 2008; Krüger *et al.* 2009).

Augsnes tipi atšķiras cits no cita ar fizikālajām īpašībām un ir jautājums vai šīs īpašības ietekmēja specifisku mikorizas sugu sastopamību. Agrākie pētījumi parādīja, ka arbuskulāro mikorizu sabiedrību sastāvu un specifisku sugu sastopamību ietekmē pH (Clark 1997) un organisko vielu saturs (Sieverding 1989). Mūsu dati liecina, ka augsnes pH ir parametrs, kas neietekmē sakņu kolonizāciju, bet ietekmē sporu veidošanos (3.1. nodaļa). Mūsu pētījumā **sakņu kolonizācijas frekvence** (3.1.-5. tabula) bija būtiski atkarīga no sakņu morfoloģijas – to būtiski negatīvi ietekmēja mietsakne un pozitīvi – taisnas saknes, bet neietekmēja bārkšsaknes. Tāpat kopējo kolonizācijas frekvenci būtiski pozitīvi ietekmēja augsnes granulometriskais sastāvs. Statistiski būtiski ietekmēja vidēja smilts, bet neietekmēja smalka smilts vai mālsmilts, norādot uz augsnes graudainības pozitīvo lomu mikorizas attīstībā.

Sporu skaitu augsnē būtiski ietekmēja vairāki **faktori**. Dabiskā biotopā sporu skaits bija būtiski atkarīgs no auga atrašanās augāja stāvokļa, jeb auga augstuma. Augiem ar zemu un vidēju augstumu bija būtiska korelācija ar sporu skaitu augsnē. Sporu skaits bija būtiski atkarīgs arī no augsnes pH. Būtiski sporu skaitu ietekmēja arī augsnes granulometriskais sastāvs - vidēji rupja smilts un smalka smilts. Būtiska nozīme bija atsevišķiem biotopiem, tā piemēram, smilšaina kāpa būtiski pozitīvi ietekmēja sporu skaitu augsnē, arī, jauktu koku mežam bija līdzīga ietekme.

Mūsu pētījumā noskaidrots, ka *G. constrictum* būtiski ietekmē trīs faktori, kā papildus mēslošana, kālija un kalcija saturs augsnē. *A. laevis* būtiski ietekmē augsnes kaļķošana, *G. aggregatum* būtiski ietekmē apstrāde ar kaļķošanu, *G. fasciculatum* neviens no pētītajiem

parametriem neietekmē būtiski. *G. mosseae* un *G. claroideum* būtiski ietekmē kalcija saturs augsnē, bet *G. claroideum* arī fosfora saturs. Kopumā jāsecina, ka vairāku sugu mikorizas vitalitāti ietekmē kalcija saturs augsnē.

Briofītu audos konstatēja divu dažādu veidu endofītus: ar septētām un aseptētām hifām. Septētās sēnes piederēja vairākām asku un bazīdiju sēņu sugām. Vairāki autori aprakstījuši aknu sūnu un bazīdijū sēņu asociāciju morfoloģiju (Kottke *et al.* 2003; Duckett *et al.* 2006; Davey 2006; Duckett, Lignore 2008). Saskaņā ar publicētajiem datiem *Cephalozia* sugas ir nemikorizālas, bet aug kopā ar asku sēnēm. Abu *Cephalozia* sugu stumbra audos mēs atradām gan kolonizētas, gan nekolonizētas šūnas. Aknu sūnas ar plānām lapām *Kurzia pauciflora* un *Trichocolea tomentella* bija kolonizētas ar septētām sēnēm. Lapu sūnas veidoja asociācijas tikai ar septētām sēnēm. Rabatins (Rabatin 1980) ziņoja par *G. tenuis* un neidentificētu AM sēņu asociāciju uz lauka savāktu *Pogonatum sp.* paraugos. Mūsu pētījumā ar *P. urnigerum* netika konstatēta sēņu endofītu klātbūtne sūnas gametofītos.

Kā jau tika gaidīts, mikorizālas asociācijas veidoja tikai epigeiski briofīti. Tās bija aseptētās sēnes, kas reprezentē *Glomaceae* dzimtu un veido simbiozi ar briofītu audiem (Pressel 2010). Šajā pētījumā *Marchantia polymorpha subsp. ruderalis* ar saliktu laponi bija nemikorizāla. *Conocephalum salebrosum* un *C. conicum* bija vidēji mikorizālas. *Blassia pusilla* un vairākām *Riccia* sugām nebija sēņu endofītu. Aknu sūnas ar vienkāršu laponi *P. endiiviifolia* un *F. floevolata* bija mikoizālas. Divas aknu sūnu sugas ar vienkāršu laponi *A. pinguis* un *F. floevolata* auga kopā vienā un tajā pašā biotopā, bet AM hifas tika atrastas tikai *F. floevolata* laponos. Šai simbiozei bija vidējas intensitātes līmenis. *Aneura pinguis* saturēja citus septētus endofītus, kas apliecina literatūras datus par Bazidiomicētes *Tulasnella sp.* simbiozi ar šo aknu sūnu (Nebel *et al.* 2004). Arī Metzgeriaceae, Ricciaceae nebija mikorizas struktūru, kas arī atbilst literatūras datiem (Nebel *et al.* 2004).

Ragvācelišu ģints sugai *Anthoceros agrestis* konstatēja zemu mikorizālu intensitāti. Tas saskan ar iepriekš publicētajiem datiem (Ligrone 1988, Kottke *et al.* 2003). Pēc Ligrones (2007) datiem aknu sūna *C. conicum* un *C. salebrosum* satur Glomeromycota endofītus. Tie tika noteikti ar molekulārajām metodēm. Mūsu pētījumā AM struktūras (neseptētās hifas, vezikulas, arbuskulas tika atrastas *C. conicum*, *C. salebrosum*, *F. floevolata* un *P. endiiviifolia* laponos. Tas norādīja uz funkcionāli aktīvu mikorizālo simbiozi. Funkcionālas struktūras vienmēr bija klātesošas parenhīmas audos, ap vidus dzīslu. Jakucs *et al.* (2003) izsaka pieņēmumu, ka arbuskulu trūkums ar AM sēnēm kolonizētās sūnās var būt barības vielu pieejamības sezonālo svārstību, vai arbuskulu efemerālās dabas dēļ.

Novērotās hifas bija lineāras AM hifu iespīšanās vietas bija rizoīdi. Detalizētāka rizoīdu izpēte veikta *Conocephalum conicum*, *Conocephalum salebrosum* un *Preissia*

quadrata. Sēnes iekļūšana rizoīdā notiek no rizoīda sāniem. Līdzīgi kā novēro saknēm, hifa pie saknes paresninās veidojas apresorija un hifa iekļūst rizoīdā. Tālāk seko augšana virzienā uz laponi, vai abos virzienos gan vienlaicīgi, gan pārmaiņus. Rizoīdos neveidojas ne arbuskulas, ne vezikulas. Hifas rizoīdā var zaroties. Veidojošie hifu sānzari nokļūst līdz rizoīdu malām, neiziet tam cauri, bet noliecas. Vienā rizoīdā var būt viena vai vairākas hifas. Ļoti jaunos rizoīdos neveidojas kolonizācija. Mēs guvām pierādījumus tam, ka šajā pētījumā novērotās hifas pieder Glomeromycota grupas sēnēm. Lielākā daļa aknu sūnu bija nemikorizālas. Mikorizālajām sugām arbuskulu klātbūtne liecināja par funkcionālo simbiozi. Šie fakti apstiprina atziņu, ka AM sēņu – briofītu asociācijas ir funkcionālas un sugu specifiskas.

AM simbiozes sastopamība briofītos var būt atkarīga arī no aizsardzības sistēmām, kā allelopātijas un fungicīdu aktivitātes (Pocock 1985). Vairākām aknu sūnu sugām (*Conocephalum conicum*, *Marchantia polymorpha*, *Plagiochila* sp., *Radula* sp.) konstatēta neliela pretsēņu aktivitāte, bet *Trichocolea tomentella* mērena pretsēņu aktivitāte. *Bryum argenteum* un *Ceratodon purpureus* ir stipra pretsēņu aktivitāte (Asakawa 2007), ko nodrošina šūnu sienas, kas satur ar polifenoliem bagātus savienojumus, kas ir toksiski vairumam mikroorganismu (Davey *et al.* 2006). Epifītiskiem un epiksiliskiem briofītiem nebija AM simbiozes. Tomēr epifītiem *Brachythecium rutabulum* un *Antitrichia curtispindula* un epiksilalajam *Tetraphis pellucida* bija septētas hifas stumbra audos.

Septēti un neseptēti endofīti kopā netika atrasti vienā un tajā pašā paraugā. Atsevišķām briofītu sugām no dažiem biotopiem nebija AM. Piemēram, atsevišķi augošiem *C. conicum* un *P. endiivifolia* jauniem lapoņiem ļoti mitros biotopos un *M. polymorpha subsp. ruderalis* ar barības vielām bagātā lauksaimniecības biotopā. Tas saskan ar domu, ka mikorizālās asociācijas ir atkarīgas no edafiskajiem faktoriem (Brundrett 1991). Vairāki autori ir eksperimentāli izveidojuši arbuskulārai mikorizai līdzīgu simbiozi starp sēnēm, kas pieder pie *Glomales* rindas un briofītiem (Parke 1980; Schüßler 2000; Fonseca 2006; Zhang 2007).

Vairāki autori ir minējuši, ka *Glomus tenuis* kolonizē aknu sūnas. Ir daži mēģinājumi kultivēt AM *G. claroideum* ar *Anthoceros punctatus*, kas bijuši veiksmīgi. Tomēr mūsu eksperiments ar veģetācijas trauku kultūru neuzrādīja simbiozi starp sēnēm no briofīta saimniekaugu *Plantago lanceolata*. Iespējams, ka šajā pētījumā bija pārāk maz laika simbiozes attīstībai, vai arī vairvienības (hifas lapoņos) nebija pietiekoši nobriedušas.

Atsevišķas *Glomeromycota* sēnes spēj veidot sporas ļoti agri – trīs līdz četras nedēļas pēc primārās sakņu kolonizācijas, turpretī citām, lai sāktu šo procesu, nepieciešami vairāk nekā seši mēneši (Sieverding 1991; Velazquez *et al.* 2011). Lai labāk izprastu šo mijiedarbību

fizioloģiju un etioloģiju ir nepieciešams audzēt briofitus un briofilās sēnes kultūrā un veidot pētīšanai mākslīgās aksēniskās sistēmas.

5. SECINĀJUMI

1. Mikorizas simbiozei raksturīgas struktūras – hifas – novērotas sakņu paraugos visām pētītajām augu sugām. Funkcionāli aktīva simbioze (arbuskulas) konstatēta pusei pētīto augu augu. Saknēs vienlaicīgi norisinās visas trīs fāzes: saknes kolonizācija, aktīva simbioze un nobriešanas fāze ar vairvienību (propagulu) veidošanos. Morfoloģiski atšķirīgas struktūras novēroja visu augu saknēs, kas varētu liecināt par vairāku arbuskulārās mikorizas sugu klātbūtni viena auga saknēs.

2. Pētītajos biotopos konstatēja 13 sporulējošu arbuskulārās mikorizas sēņu sugas, kas ir jaunas sēņu sugas Latvijai. No tām piecas sugas ir bieži sastopamas. Ar molekulārām metodēm konstatēja piecas arbuskulārās mikorizas sugas (*Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Glomus geosporum*, *Glomus claroideum*, *Gigaspora rosea*). Sporu audzēšanas kultūrās iegūtas sešas arbuskulārās mikorizas sugas (*Glomus mossea*, *Glomus claroideum*, *Glomus fasciculatum*, *Glomus aggregatum*, *Glomus constrictum*, *Acaulospora laetum*). Ar molekulārām metodēm noteica trīs sekvenču tipus kas atbilst *Glomus* A grupai. Latvijā konstatētās ģintis: *Glomus*, *Acaulospora*, *Sclerocystis* un *Scutellospora* un *Gigaspora*. Dominējošā ģints ir *Glomus*, bet visbiežāk sastopamās sugas agrocenozē bija *Glomus mosseae* un *Glomus intraradices*.

3. Galvenie sakņu kolonizācijas frekvenci būtiski pozitīvi ietekmējošie faktori ir kalcija saturs augsnē un sakņu morfoloģiskās īpatnības (mietsakne), kas atkarīgas no saimniekauga sugas. Pētījumā ar *Hordeum vulgare* novēroja mainīgu kolonizācijas frekvences tendenci, kas bija saistīta ar atšķirīgām šķirnēm.

4. Sporu veidošanos meža augsnē būtiski var ietekmēt augsnes pH un humusa slāņa biezums, kā arī kalcija un kālija, dzelzs un magnija saturs. Agrocenozēs arbuskulāro mikorizu sporu veidošanos ietekmē kalcija saturs augsnē un papildus mēslošana ar kāliju. *Glomus constrictum* būtiski ietekmē papildus mēslošana ar kāliju un kalcija saturs augsnē. *Acaulospora laevis*, *Glomus aggregatum* būtiski ietekmē augsnes kaļķošana. *Glomus mosseae* un *Glomus claroideum* būtiski ietekmē kalcija saturs augsnē, bet *Glomus claroideum* arī fosfora saturs.

5. Veicot indikatoru analīzi noskaidroja četras iespējamās indikatoru sugas agrocenozei – *Acaulospora morrowiae*, *Scutellospora pellucida*, *Glomus geosporum*, *Glomus clarum*. Sporu skaits un sugu sastāvs ir piemērots indikatoru lauksaimniecības augu “veselības” stāvokļa un auglības noteikšanai.

6. Mikorizas struktūras atrastas tikai atsevišķām aknu sūnām un antocerotām. Zinātnei pirmo reizi konstatēta arbuskulārā mikoriza aknu sūnai *Fossombronia floevolata*. Briofītu un arbuskulāro mikorizu simbiozes intensitāte ir zema līdz vidēja (no 10 līdz 45%), kas norāda uz fakultatīvu vai sugai specifisku tās raksturu. Konstatētas arbuskulas, kas norāda uz simbiozes funkcionālo aktivitāti.

7. Sporu dīgtspēja ir zema Arbuskulāro mikorizu sporām raksturīgs miera periods, tām ir zema kvalitāte. Sporas dīgst piecas līdz divdesmit vienu dienu. Sporu dīgtspēju ietekmē sporu izmērs un dziedēšanas apstākļi.

8. Izmantojot sporu audzēšanas kultūras var iegūt dažādu arbuskulāro mikorizu sugu sporas. Pētījumu rezultāti var praktiski kalpot jauna produkta izstrādē, kas selektīvi uzlabotu augu vitalitāti.

9. Novērotas arbuskulāro mikorizu sugu sastāva atšķirības agrocenozē un , bet dominējošās sugas ir līdzīgas visos pētītajos biotopos.

10. Arbuskulāro mikorizu pētījumiem ir iespējams izmantot sugu noteikšanu pēc morfoloģiskām pazīmēm izmantojot sporu audzēšanas kultūrās vai dabā iegūtu sporu materiālu.

Darba hipotēzes

Mikorizas simbiozes intensitāte augu saknēs tiek ietekmēta mijiedarbojoties abiotiskajiem un biotiskajiem faktoriem, bet sporu veidošanos galvenokārt ietekmē biotiskie faktori.

Arbuskulārās mikorizas bioloģiskā daudzveidība ir līdzīga kā lauksaimniecības zemēs tā dabiskos biotopos.

Pateicības

Izsaku pateicību promocijas darba vadītājam Dr. habil. biol., prof. Ģedertam Ieviņam par darba rakstīšanas stingru vadīšanu un zinātniskām diskusijām un Botānikas un ekoloģijas katedrai un profesoram Guntim Brūmelim izsaku visdziļāko pateicību par atbalstu doktorantūras studiju laikā un rakstu noslīpēšanā un profesoram Valdim Segliņam par visa izlasīšanu, izkritizēšanu, par konstruktīviem ieteikumiem, kas novērsa būtiskas darba nepilnības.

Darba gaitā neatsverama nozīme bija LU Akadēmiskā departamenta kolektīvam-priekšniekam Antonam Pujātam, kolēģēm Indraī Dedzei un Tamārai Lipšānei paldies par uzmundriņošajiem vārdiem, sevišķs paldies doktorantūras daļai- Ilzei Danusēvičai un Anitai Siņavskai un Bioloģijas DSP sekretārei Dainai Ezei kuras rūpējas, lai viss notiktu bez aizķeršanās. Paldies Inovāciju centram par ieinteresētību rezultātu praktiskajā pielietojamībā un Attīstības un plānošanas departamentam par šī darba finansiālā atbalsta nodrošināšanu.

Pateicos visām mūsu sūnu divīzijas meitenēm – Līgai Strazdiņai par labajiem noformēšanas un citiem padomiem, Annai Mežakai par statistiskajām analīzēm un jaunu terminu idejām un reālu zinātnisku garu, Lindai Inohosai- Gerrai par iedvesmošanu.

Bioloģijas institūta Bioindikācijas laboratorijas kolektīvam par vecajiem labajiem laikiem, kad viss sākās, ekspedīcijām, sniegto palīdzību un atbalstu. Ainai Karpai, Inetai Salmanei, Viesturam Melecim. BI Augu minerālās barošanās laboratorijai par augsnes analīzēm.

Latvijas Lauksaimniecības universitātes profesoram A. Kārkliņam par augšņu morfoloģiskajām analīzēm.

Ģenētikas laboratorijai un Latvijas kultūraugu gēnu bankai profesora Ī.Rašala vadībā par 21 miežu šķirņu sēklām un iespēju darboties izmēģinājumu lauciņā. G.Margai par palīdzību miežu pētījumā.

Docentam Sandrim Lācim par MYCOCALC programmas programmēšanu. Guntim Taboram par ķīmiskajām augšņu analīzēm, Didzim Elfertam par meteoroloģiskajiem datiem.

LZA un Eiropas programmu nodaļai (dr. Maijai Bundulei), kas deva iespēju piedalīties COST 838 akcijā, bez šī atbalsta nebūtu iespējams tik daudz uzzināt un saprast par svarīgākajiem un šobrīd aktuālākiem jautājumiem par arbuskulāro mikorizu Eiropā un pasaulē.

Pateicos Austrai Āboliņai un Edgaram Vimbam par sūnu un sēņu konsultācijām, ne tikai šī darba ietvaros.

Un visbeidzot, šī darba nebūtu arī bez bioķīmiķa, profesora Jāņa Skujiņa, kurš atveda no Amerikas ideju par arbuskulāro mikorizu.

Šī darba rakstīšanas process nebūtu paveicams bez manas ģimenes morālā atbalsta. Paldies par angļu valodu, kritisko attieksmi pret zinātni un diskusijām.

Paldies visiem, kuri nelika man mieru, un turēja zinātnes tuvumā un kuru izrādītā interese gan par sūnām, gan mikorizām uzmundrināja un palīdzēja šī darba veikšanas procesā.

IZMANTOTĀ LITERATŪRA

- Abbott LK, Robson AD (1991) Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Agricultural Ecosystems and Environment* 35, 121-150.
- Ahulu EM, Nakata M, Nonaka M (2005) *Arum*- and *Paris*-type arbuscular mycorrhizas in a mixed pine forest on sand dune soil in Niigata Prefecture, central Honshu, Japan. *Mycorrhiza* 15:129–136. doi:10.1007/s00572-004-0310-9
- Akiyama K, Matsuzaki K, Hayashi H (2005) Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature* 435: 824-827.
- Alexander. V. T. and Weber, H. C. (1984). Zur parasitischen lebensweise von *Parentucellia latifolia* (L.) Caruel (Scrophulariaceae). *Beitr. Biol. Pflanzen.* 60, 23-34.
- Alguacil, MM; Caravaca, F; Azcon, R; Roldan, A. (2008), Changes in biological activity of a degraded Mediterranean soil after using microbially-treated dry olive cake as a biosolid amendment and arbuscular mycorrhizal fungi. *European Journal of of soil biology* 44(3):347-354. .
- Al-Karaki GN (2000) Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. *Mycorrhiza* 10: 51-54.
- Allen, EB; Allen MF, Helm DJ, Trappe JM, Molina R, Rincon E (1995), "Patterns and regulation of mycorrhizal plant and fungal diversity". *Plant and Soil* 170: 47–62.
- Allen, M. F., Allen, E. B. and Friese, C. F. (1989a). Responses of the non-mycotrophic plant *Salsola kali* to invasion by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 111, 45-49.
- Allen, M. F., Richards, J. H. and Busso, C. A. (1989b). Influence of clipping and soil water status on vesicular-arbuscular mycorrhizae of two semi-arid tussock grasses. *Biol. Fertil. Soils* 8, 285-289.
- Ames RN, Schneider RW (1979) *Entrophospora*, a new genus in the Endogonaceae. *Mycotaxon* 8: 347-352.
- Asakawa Y. (2007), Biologically active compounds from bryophytes. *Pure appl. Chem.*, Vol. 4, pp 557-580
- Augé RM, Stodola AJW, Tims JE, Saxton AM (2001) Moisture retention properties of a mycorrhizal soil. *Plant and Soil* 230: 87-97.
- Badini, O, and L. Dioni. (2000). Etude morpho-pedologique de la commune de Madiama. SANREM-CRSP/IER.Rep. Mali. Working paper N. 01-04.
- Bago B, Pfeffer PE, Douds DD, Brouillette J, Bécard G, Shachar-Hill Y (1999) Carbon metabolism in spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* as revealed by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Plant Physiology* 121: 263–271.

- Bago B, Azcón-Aguilar C, Piché Y (1998), Architecture and developmental dynamics of the external mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* grown under monoxenic conditions. *Mycologia* 90:52–62.
- Barbour, M.B., J.H. Burk, W.D. Pitti. (1987), *Terrestrial Plant Ecology*. 2nd ed. Benjamin/Cummings Publ. Co., Inc., Menlo Park, California. 634 p.
- Barea J.M, Azcon R. (1989) In *Frontiers in Applied Microbiology* (K.G. Mukerji, V.P. Singh and K.L. Garg. Eds) Vol. 3, pp 135-166. Rastogy and Company, Subhash Bazar, Meerut, India.
- Bartolome-Esdteban H, Schenck N C (1994) Spore germination and hyphal growth of arbuscular mycorrhizal fungi in relation to soil aluminium saturation. *Mycologia* 86: 217-226.
- Bastmeyer M, Deising HB, Bechinger C (2002) Force exertion in fungal infection. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure* 31: 321-341.
- Bedini, S; Pellegrino, E; Avio, L; Pellegrini, S; Bazzoffi, P; Argese, E; Giovannetti, M. (2009). Changes in soil aggregation and glomalin-related soil protein content as affected by the arbuscular mycorrhizal fungal species *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*. *SOIL BIOLOGY & BIOCHEMISTRY*. 41(7):1491-1496.
- Berch SM, Fortin JA (1984) A lectotype for *Glomus microcarpum* (Endogonaceae, Zygomycetes). *Mycologia* 76: 190-193.
- Bever JD, Morton JB, Antonovics J, Schultz PA (1996) Host-dependent sporulation and species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a mown grassland. *Journal of Ecology* 84: 71-82.
- Bever JD, Schultz PA, Pringle A, Morton JB (2001), Arbuscular mycorrhizal fungi: more diverse than meets the eye, and the ecological tale of why. *Bioscience*, 51, 923–931.
- Blanke V, Renker C, Wagner M, Füllner K, Held M, Kuhn AJ, Buscot F (2005) Nitrogen supply affects arbuscular mycorrhizal colonization of *Artemisia vulgaris* in a phosphate-polluted field site. *New Phytologist* 166: 981-992.
- Blaszkowski J (1993), Comparative studies of the occurrence of arbuscular fungi and mycorrhizae (Glomales) in cultivated and uncultivated soils of Poland. *Acta Mycol.* 28: 93-140.
- Blaszkowski J (2012), *Glomeromycota* W.Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Krakow: 301.
- Blaszkowski J (1991), Occurrence and distribution of the Endogonaceae in cultivated soils of Poland. *Bull. Pol. Ac. Sci. Biol. Sci.* 39, 27-39.
- Blee KA, Anderson AJ. (1996), Defense-related transcript accumulation in *Phaseolus vulgaris* L. colonized by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*, Schenk &

- Smith. *Plant Physiology* 110, 675–688
- Boerner REJ, DeMars BG, Leight PN (1996) Spatial patterns of mycorrhizal infectiveness of soils along a successional chronosequence. *Mycorrhiza* 6, 79-90.
- Bohn, B., Degens, E T., Kempe, S., and Ketner, P (1979), *The Global Carbon Cycle*, SCOPE Report No 13, John Wiley and Sons, New York.
- Boller T, Wiemken A, Sanders IR (1998) Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396: 69-72.
- Bonfante, P. (2001), At the interface between mycorrhizal fungi and plants: the structural organization of cell wall, plasma membrane and cytoskeleton. Pp. 45–91 in *Mycota, IX: Fungal Associations*, B. Hock, ed. Springer Verlag, Berlin
- Börstler B, Raab PA, Thiéry O, Morton JB, Redecker D (2008), Genetic diversity of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* as determined by mitochondrial large subunit rRNA gene sequences is considerably higher than previously expected. *New Phytologist* 180: 452-465.
- Börstler B, Renker C, Kahmen A, Buscot F (2006), Species composition of arbuscular mycorrhizal fungi in two mountain meadows with differing management types and levels of plant biodiversity. *Biology and Fertility of Soils* 42: 286-298.
- Bowen, G. D. (1987), The biology and physiology of infection and its development. In: *Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants* (Ed. by G. R. Safir). pp. 27-57. CRC Press. Boca Raton. Florida.
- Brammall, R. A. and Higgins, V. J. (1988), A histological comparison of fungal colonization in tomato seedlings susceptible or resistant to *Fusarium* crown and root rot disease. *Can. J. Bot.* 66, 915-925.
- Brundrett MC & Kendrick WB. (1988), Roots and mycorrhizae in a hardwood forest. In: *Canadian Workshop on Mycorrhizae in Forestry*. Ed. by: M. Lalonde & Y. Piché. CRBF Faculty of Foresterie and Geology, University of Laval, Quebec. pp. 89-95. Burrows, Pflieger 2002.
- Brundrett MC (2004), Diversity and classification of mycorrhizal associations. *Biol Rev Camb Philos Soc* 79:473–495.
- Brundrett MC (2009), Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant and Soil* 320: 37-77.
- Brundrett MC, Abbott LK, Jasper DA (1999), Glomalean mycorrhizal fungi from tropical Australia. I. Comparison of the effectiveness and specificity of different isolation procedures. *Mycorrhiza* 8 :305–314

- Brundrett MC, Kendrick B, Peterson CA. (1991), Efficient lipid staining in plant material with Sudan red 7B or Fluorol yellow 088 in polyethylene glycol-glycerol. *Biotechnic and Histochemistry* 66: 111-116.(94).
- Brundrett, M. C. and Kendrick, B. (1990a), The roots and mycorrhizas of herbaceous woodland plants I. Quantitative aspects of morphology. *New Phytol.* 14, 457-468.
- Brundrett, M. C. and Kendrick, B. (1990b), The roots and mycorrhizas of herbaceous woodland plants II. Structural aspects of morphology. *New Phytol.* 114, 469-479.
- Burrows, R.L., Pflieger, F.L., (2002), Arbuscular mycorrhizal fungi respond to increasing plant diversity. *Can. J. Bot.* 80, 120-130. Cambridge.
- Carmi, A. and Heuer, B. (1981), The role of roots in control of bean shoot growth. *Ann. Bot.* 48, 519-527.
- Carvalho LM, Correia PM, Ryel RJ, Martin-Loucao MA (2003), Spatial variability of arbuscular mycorrhizal
- Cavagnaro TR, Gao L-L, Smith FA, Smith SE (2001), Morphology of arbuscular mycorrhizas is influenced by fungal identity. *New Phytologist* 151: 469–475.
- Chambers C.A., Smith S.E., Smith F. A., (1980), Effects of ammonium and nitrate ions on mycorrhizal infection nodulation and growth of *Trifolium subterraneum*. *New Phytol.* 85 47-62.
- Chapin, F. S. III, Vitousek, P. M. and Cleve, K. Van. (1986), The nature of nutrient limitations in plant communities. *Am. Natur.* 127, 48-58.
- Chen BD, Roos P, Borggaard OK, Zhu YG, Jakobsen I (2005), Mycorrhiza and root hairs in barley enhance acquisition of phosphorus and uranium from phosphate rock but mycorrhiza decreases root to shoot uranium transfer. *New Phytologist* 165: 591-598.
- Christie P, Li XL, Chen BD (2004), Arbuscular mycorrhiza can depress translocation of zinc to shoots of host plants in soils moderately polluted with zinc. *Plant and Soil* 261: 209-217.
- Clapp JP, Young JPW, Merryweather JW, Fitter AH (1995), Diversity of fungal symbionts in arbuscular mycorrhizas from a natural community. *New Phytologist* 130: 259-265.
- Clark R.B. (1997), Arbuscular mycorrhizal adaptation, spore germination, root colonization, and host plant growth and mineral acquisition at low pH. *Plant and Soil*, 192: 15–22.
- Clark RB (1997), Arbuscular mycorrhizal adaptation, spore germination, root colonization, and host plant growth and mineral acquisition at low pH. *Plant Soil* 192: 15–22.
- Courty PE, Bue' e M, Diedhiou AG, Frey-Klett P, Le Tacon F, Rineau F, Turpault MP, Uroz S, Garbaye J. (2010), The role of ectomycorrhizal communities in forest ecosystem processes: new perspectives and emerging concepts. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 679–698.
- Croll D, Giovannetti M, Koch AM, Sbrana C, Ehinger M, Lammers PJ, Sanders IR (2009),

- Nonsel self vegetative fusion and genetic exchange in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *New Phytologist* 181: 924-937.
- Croll D, Sanders IR (2009), Recombination in *Glomus intraradices*, a supposed ancient asexual arbuscular mycorrhizal fungus. *BMC Evolutionary Biology* 9: 13.
- Currah, R. S. and Van Dyk, M. (1986), A survey of some perennial vascular plant species native to Alberta for occurrence of mycorrhizal fungi. *Can. Field Nat.* 100, 330-342.
- Daft, M. J., Chilvers, M. T. and Nicolson, T. H. (1980), Mycorrhizas of the Liliiflorae I. Morphogenesis of *Endymion non-scriptus* (L.) Garke and its mycorrhizas in nature. *New Phytol.* 85, 181-189
- Dalpe Y. (2005), Mycorrhizae: a potential tool for plant protection but not a panacea. *Phytoprotection* 86, 53-59.
- Daniell T.J., Husband R., Fitter A.H., Young J.P.W. (2001), Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising arable crops. *FEMS Microbiol. Ecol.* 36:203-209.
- Daniell TJ, Husband R, Fitter AH, Young JPW. (2001), Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising arable crops. *FEMS Microbiology Ecology* 36: 203-209
- Daniels Hetrick, B. A. (1984), The ecology of VA mycorrhizal fungi. *VA Mycorrhiza* (Ed. by Conway LI. Powell and D. Joseph Bagyaraj), pp. 35-36. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Davey, ML; Currah, RS. (2006), Interactions between mosses (Bryophyta) and fungi. *Canadian Journal of Botany* 84(10):1509-1519.
- Davies, F.T., (2011), Mycorrhizal effects on host plant: Texas A&M University, access date June 28, 2011.
- de Souza FA, Kowalchuk GA, Leeflang P, van Veen JA, Smit E (2004), PCR-denaturing gradient gel electrophoresis profiling of inter- and intraspecies 18S rRNA gene sequence heterogeneity is an accurate and sensitive method to assess species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi of the genus *Gigaspora*. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 1413-1424.
- Dickson S. (2004), The Arum-Paris continuum of mycorrhizal symbioses. *New Phytologist* 163: 187-200.
- Dickson S. (2004), The Arum-Paris continuum of mycorrhizal symbioses. *New Phytologist* 163: 187-200.
- Dobzhansky T (1937), *Genetics and the origin of species*. Columbia University Press, New York, NY, USA.
- Dodd, J. C. & Jefferies, P. (1986), Early development of vesicular-arbuscular mycorrhizas in autumn-sown cereals. *Soil Biology and Biochemistry* 18, 149-154.

- Douds DJ, Scenck NC. (1991), Germination and hyphal growth of VAM fungi during and after storages in soil at five matric potentials. *Soil. Biol Biochem* 23:177-183.
- Drew, M. C. (1987), Function of root tissues in nutrient and water transport. In: *Root Development and Function* (Ed. by P. J. Gregory, J. V. Lake & D. A. Rose), pp. 71-101. Cambridge University Press, Cambridge.
- Drigo, B; Pijl AS, Duyts H, Kielak AM, Gamper HA, Houtekamer MJ, Boschker HTS, Bodelier PLE, Whiteley AS, Veen JAV, Kowalchuk GA (2010), "Shifting carbon flow from roots into associated microbial communities in response to elevated atmospheric CO₂". *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America* 107: 10938–10942.
- Duckett , JG , Ligrone (2008), Endophytic fungi in New Zealand liverworts. In J. Engels and D. Glenn [eds.], *The liverwort flora of New Zealand*. Chicago University Press, Chicago, Illinois, USA
- Duckett JG, Carafa A.R . Ligrone (2006), A highly differentiated glomeromycotean association with the mucilage-secreting antipodean liverwort *Treubia* : Clues to the origins of mycorrhizas. *American Journal of Botany* 93 : 797 – 813.
- Dumbrell A. J. (2011), Distinct seasonal assemblages of arbuscular mycorrhizal fungi revealed by massively parallel pyrosequencing. *New Phytol.* Vol. 190, Issue 3, 794-804.
- Edwards DS (1986), *Aglaophyton major*, a non-vascular land-plant from the Devonian Rhynie Chert. *Botanical Journal of the Linnean Society* 93: 173-204.
- Esau, K. (1965). *Plant Anatomy*. John Wiley, New York.
- Facelli E, Smith SE, Facelli JM, Christophersen HM, Smith FA (2010), Underground friends or enemies: model plants help to unravel direct and indirect effects of arbuscular mycorrhizal fungi on plant competition. *New Phytologist* 185: 1050-1061.
- Farmer MJ Li X, Feng G, Zhao B, Chatagnier O, Gianinazzi S, Gianinazzi-Pearson V, van Tuinen (2007), Molecular monitoring of field-inoculated AMF to evaluate persistence in sweet potato crops in China. *Applied Soil Ecology* 35: 599-609.
- Fitter AH (2005), Darkness visible: reflections on underground ecology. *Journal of Ecology* 93: 231-243.
- Fitter, A. H. (1987), An architectural approach to the comparative ecology of plant root systems. *New Phytol.* 106 (Suppl.), 61-77.
- Fogel, R. (1980), Mycorrhizae and nutrient cycling in natural forest ecosystems. *New*
- Fonseca HMAC , Berbara RLL, Pereira ML. (2006), *Lunularia cruciata* a potential *in vitro* host for *Glomus proliferum* and *G. intraradices* Mycorrhiza, 16 pp. 503–508

- Forster, S. M., and T. H. Nicolson (1981), Microbial aggregation of sand in a maritime dune succession. *Soil Biol . Biochem.* 13: 205-208.
- Francis, R., Finlay, R. D. and Read, D. J. (1986), Vesicular-arbuscular mycorrhiza in natural vegetation systems IV. transfer of nutrients in inter- and intra-specific combinations of host plants. *New Phytol.* 102, 103-111.
- Friese CF, Allen MF (1991), The spread of VA mycorrhizal fungal hyphae in the soil: Inoculum types and external hyphal architecture. *Mycologia* 83: 409-418.
- Gadd GM (1993), Interactions of fungi with toxic metals. *New Phytologist* 124: 25-60.
- Gadkar, V., Driver, J.D., and Rillig, M.C. (2006), A novel in vitro cultivation system to produce and isolate soluble factors released from hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Biotechnol. Lett.* 28, 1071–1076
- Gallaud I (1905), Études sur les mycorrhizes endotrophes. *Revue Générale de Botanique* 17: 5-48, 66-83, 123-135, 223-239, 313-325, 425-433, 479-500.
- Gamper HA Walker C & Schussler A. (2009), *Diversispora celata* sp.nov: molecular ecology and phylotaxonomy of an conspicuous arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytol.*182: 495-506.
- Gavrilova Ģ., Šulcs V. (1999), Latvijas vaskulāro augu flora: Taksonu saraksts. – Rīga: Latv. Akad. B-ka, 136 lpp.
- Gemma, J. N., Koske, R. E. and Carriero, M. (1989), Seasonal dynamics of selected species of V-A mycorrhizal fungi in a sand dune. *Mycol. Res.* 92, 317-321.
- Genre A, Chabaud M, Timmers T, Bonfante P, Barker DG (2005), Arbuscular mycorrhizal fungi elicit a novel intracellular apparatus in *Medicago truncatula* root epidermal cells before infection. *Plant Cell* 17: 3489-3499.
- George E, Häussler KU, Vetterlein D, Gorgus E, Marschner H (1992), Water and nutrient translocation by hyphae of *Glomus mosseae*. *Canadian Journal of Botany* 70: 2130-2137.
- George, E., K.U. Haussler, S.K. Kothari, X.-L. Li, and H. Marschner (1992), Contribution of mycorrhizal hyphae to nutrient and water uptake of plants, pp 43-47. In Read, D.J., D.H. Lewis, A.H. Fitter, and I.J. Alexander (Eds.).
- Gerdemann J. W., Nicolson T. H. (1963), Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 46: 235-244.
- Gerdemann JW (1955), Relation of a large soil-borne spore to phycomycetous mycorrhizal infections. *Mycologia* 47: 619-632.
- Gerdemann JW, Trappe JM (1974), Endogonaceae in the Pacific Northwest. *Mycologia Memoirs* 5: 1-76.

- Gibson, A. H. and Jordan, D. C. (1983), Ecophysiology of nitrogen fixing systems. In: *Physiological Plant Ecology III: Responses to the Chemical and Physical Environment* (Ed. by Q. L. Lang, P. S. Nobel, C. B. Osmond and H. Ziegler), pp. 301-390. Springer-Verlag, New York.
- Giovannetti M, Sbrana C, Avio L, Strani P (2004), Patterns of below-ground plant interconnections established by means of arbuscular mycorrhizal networks. *New Phytologist* 164: 175-181.
- Giovannetti M. (2000), Spore germination and pre-symbiotic mycelial growth, pp. 47-68. In: *Arbuscular mycorrhizas: physiology and function*. Eds: Y Kapulnick and DD Douds Jr. Kluwer Academic Press.
- Giovannetti M., Sbrana C., Citernes A.S., Avio L., Gollotte A., Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S., (1994), Recognition and infection process, basis for host specificity of arbuscular mycorrhizal fungi. In : 'Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems', Gianinazzi S., Schüepp H. (eds)., Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland, 61-72.
- Gollotte A, van Tuinen D, Atkinson D (2004), Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising roots of the grass species *Agrostis capillaris* and *Lolium perenne* in a field experiment. *Mycorrhiza* 14: 111-117.
- Gonzalez-Chavez C, Harris PJ, Dodd J, Meharg AA (2002), Arbuscular mycorrhizal fungi confer enhanced arsenate resistance on *Holcus lanatus*. *New Phytologist* 155: 163-171.
- Govindarajulu M, Pfeffer PE, Jin HR, Abubaker J, Douds DD, Allen JW, Bücking H, Lammers PJ, Shachar-Hill Y (2005) Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Nature* 435: 819-823.
- Harley and Smith (1983), *Mycorrhizal Symbiosis*. 3rd edition. Academic Press, London: 483
- Harley JL, Harley EL (1987), A check-list of mycorrhiza in the British Flora. *New Phytologist* 105: 1-102.
- Harrier, L. A. and Watson, C. A. (2004), The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioprotection of plants against soil-borne pathogens in organic and/or other sustainable farming systems. *Pest Manag. Sci.* 60: 149-157.
- Hawkins HJ, Johansen A, George E (2000), Uptake and transport of organic and inorganic nitrogen by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 226: 275-285.
- Hawksworth DL (1991) The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycological Research* 95: 641-655.
- Hawksworth, D.L. (2001), The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research* 105: 1422-1432.

- Hayman, D. S. (1970), Endogone spore numbers in soil and vesicular-arbuscular mycorrhiza in wheat as influenced by season and soil treatment. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 54, 53-63.
- Hayman, D. S. (1983), The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. *Can. J. Bot.* 61, 944-963.
- Helgason T, Daniell TJ, Husband R, Fitter AH, Young JPW (1998), Ploughing up the wood-wide web? *Nature* 394: 431.
- Helgason T, Fitter AH, Young JPW (1999), Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing *Hyacinthoides nonscripta* (Bluebell) in a seminatural woodland. *Molecular Ecology*, 8, 659–666.
- Helgason T, Merryweather JW, Denison J, Wilson P, Young JPW, Fitter AH (2002), Selectivity and functional diversity in arbuscular mycorrhizas of co-occurring fungi and plants from a temperate deciduous woodland. *Journal of Ecology* 90: 371-384.
- Hempel S, Renker C, Buscot F (2007), Differences in the species composition of arbuscular mycorrhizal fungi in spore, root and soil communities in a grassland ecosystem. *Environ Microbiol* 9:1930–1938.
- Henkel, T. W., Smith, W. K. and Christensen, M. (1989), Infectivity and effectivity of
- Hepper CM (1984) Isolation and culture of VA mycorrhizal (VAM) fungi. in VA Mycorrhiza. eds Powell CL, Bagyaraj DJ (CRC Press, Boca Raton, FL), pp 95–112.
- Hepper, C. M. & Smith, G. A. (1976), Observations on the germination of *Endogone* spores. *Transactions of the British mycological Society*, 66, 189-194.
- Hetrick B. A. D., Bloom J. (1983), Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with native tall grass prairie and cultivated winter wheat. *Canad. J. Bot.* 61, 2140-2146.
- Hibbett DS, Gilbert LB, Donoghue MJ (2000), Evolutionary instability of ectomycorrhizal symbioses in basidiomycetes. *Nature* 407: 506-508.
- Hijri I, Sýkorová Z, Oehl F, Ineichen K, Mäder P, Wiemken A, Redecker D (2006), Communities of arbuscular mycorrhizal fungi in arable soils are not necessarily low in diversity. *Molecular Ecology* 15: 2277-2289.
- Hijri M, Sanders IR (2005), Low gene copy number shows that arbuscular mycorrhizal fungi inherit genetically different nuclei. *Nature* 433: 160-163.
- Hildebrandt U, Janetta K, Ouziad F, Renne B, Nawrath K, Bothe H (2001), Arbuscular mycorrhizal colonization of halophytes in Central European salt marshes. *Mycorrhiza* 10: 175-183.
- Hodge A, Campbell CD, Fitter AH (2001), An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. *Nature* 413: 297-299.

- Huang, R.S., Smith, W.K. and Yost, R.S. (1985), Influence of vesicular arbuscular mycorrhiza on growth, water relations and leaf orientation in *leuceana leucocephala* (Lam) Wit. *New Phytol.* 101: 229 – 243.
- Husband, R; Herre EA, Turner SL, Gallery R, Young JPW (2002), "Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and patterns of associations over time and space in a tropical forest". *Molecular Ecology* 11: 2669–2678.
- Jakucs E., Naar Z., Szedlay G., Orban S. (2003), Glomalen and septate endophytic fungi in *Hypopterigium* mosses (Bryopsida). *Cryptogam. Mycol.* 24: 27-37.
- Jakucs E., Naar Z., Szedlay G., Orban S. (2003), Glomalen and septate endophytic fungi in *Hypopterigium* mosses (Bryopsida). *Cryptogam. Mycol.* 24: 27–37.
- James TY, Kauff F, Schoch C, Matheny PB, Hofstetter V, Cox C, Celio G, Gueidan C, Fraker E, Miadlikowska J, Lumbsch HT, Rauhut A, Reeb V, Arnold AE, Amtoft A, Stajich JE, Hosaka K, Sung G-H, Johnson D, O'Rourke B, Crockett M, Binder M, Curtis JM, Slot JC, Wang Z, Wilson AW, Schüßler A, Longcore JE, O'Donnell K, Mozley-Standridge S, Porter D, Letcher PM, Powell MJ, Taylor JW, White MM, Griffith GW, Davies DR, Humber RA, Morton JB, Sugiyama J, Rossmann AY, Rogers JD, Pfister DH, Hewitt D, Hansen K, Hambleton S, Shoemaker RA, Kohlmeyer J, Volkmann-Kohlmeyer B, Spotts RA, Serdani M, Crous PW, Hughes KW, Matsuura K, Langer E, Langer G, Untereiner WA, Lücking R, Büdel B, Geiser DM, Aptroot A, Diederich P, Schmitt I, Schultz M, Yahr R, Hibbett D, Lutzoni F, McLaughlin D, Spatafora J, Vilgalys R.(2006), Reconstructing the early evolution of the fungi using a six gene phylogeny. *Nature* 443:818–822.
- Janos D.P. (1980), Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae Affect Lowland Tropical Rain Forest Plant Growth. *Ecology* 61:151–162.
- Jansa J, Gryndler M, Matucha M (1999), Comparison of the lipid profiles of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi and soil saprophytic fungi. *Symbiosis* 26: 247-264.
- Jansa J, Mozafar A, Anken T, Ruh R, Sanders IR, Frossard E (2002a), Diversity and structure of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil. *Mycorrhiza* 12: 225-234.
- Jansa J, Mozafar A, Banke S, McDonald BA, Frossard E (2002b), Intra- and intersporal diversity of ITS rDNA sequences in *Glomus intraradices* assessed by cloning and sequencing, and by SSCP analysis. *Mycological Research* 106: 670-681.
- Jasper, D. A., Abbott, L. K. and Robson, A. D. (1989), Soil disturbance reduces the infectivity of external hyphae of VA mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 112, 93-99.
- Jin H, Pfeffer PE, Douds DD, Piotrowski E, Lammers PJ, Shachar-Hill Y (2005), The uptake, metabolism, transport and transfer of nitrogen in an arbuscular mycorrhizal symbiosis.

- New Phytologist* 168: 687-696.
- Johansen A, Finlay RD, Olsson PA (1996), Nitrogen metabolism of external hyphae of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *New Phytologist* 133: 705-712.
- Johansen A, Jakobsen I, Jensen ES (1992), Hyphal Transport of ¹⁵N-labeled nitrogen by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and its effect on depletion of inorganic soil N. *New Phytologist* 122: 281-288.
- Johansen A, Jakobsen I, Jensen ES (1993), Hyphal transport by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus of N applied to the soil as ammonium or nitrate. *Biology and Fertility of Soils* 16: 66-70.
- Johnson D, IJdo M, Genney DR, Anderson IC, Alexander IJ (2005), How do plants regulate the function, community structure, and diversity of mycorrhizal fungi? *Journal of Experimental Botany* 56: 1751-1760.
- Johnson NC (1993), Can fertilization of soil select less mutualistic mycorrhizae? *Ecological Applications* 3: 749-757.
- Johnson NC (2010), Resource stoichiometry elucidates the structure and function of arbuscular mycorrhizas across scales. *New Phytologist* 185: 631-647.
- Jones MD, Smith SE (2004), Exploring functional definitions of mycorrhizas: Are mycorrhizas always mutualisms? *Canadian Journal of Botany* 82: 1089-1109.
- Juge C, Samson J, Bastien C, Vierheilig H, Coughlan A, Piche Y. (2002), Breaking dormancy in spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* : A critical cold-storage period. *Mycorrhiza* 12:37, 42.
- Justin, S. H. F. W. and Armstrong, W. (1987), The anatomical characteristics of roots and plant response to soil flooding. *New Phytol.* 106, 465-495.
- Kabir Z, O'Halloran IP, Fyles JW, Hamel C (1997), Seasonal changes of arbuscular mycorrhizal fungi as affected by tillage practices and fertilization: Hyphal density and mycorrhizal root colonization. *Plant and Soil* 192: 285–293
- Kenrick P, Crane PR (1997), The origin and early evolution of plants on land. *Nature* 389: 33-39.
- Kivlin, S; Christine V. Hawkes, Kathleen K. Treseder (2011), "Global diversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi". *Soil Biology and Biochemistry* 43 (11): 2294–2303.
- Klironomos, J (2000), *Host-specificity and functional diversity among arbuscular mycorrhizal fungi*. Halifax, Canada: Microbial Biosystems: New Frontiers. Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology. Atlantic Canada Society for Microbial Ecology. pp. 845–851.
- Klironomos, JN; Hart MM, Gurney JE, Moutoglis P (2001), "Interspecific differences in the

- tolerance of arbuscular mycorrhizal fungi to freezing and drying". *Canadian Journal of Botany* 79: 1161–1166.
- Koch AM, Kuhn G, Fontanillas P, Fumagalli L, Goudet J, Sanders IR (2004), High genetic variability and low local diversity in a population of arbuscular mycorrhizal fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101: 2369-2374.
- Koske RE (1987), Distribution of VA mycorrhizal fungi along a latitudinal temperature gradient. *Mycologia* 79: 55-68
- Koske, R. E. (1981), A preliminary study of interactions between species of vesiculararbuscular fungi in a sand dune. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 76, 411-416.
- Koske, R. E. and Gemma, J. N. (1990), VA mycorrhizae in strand vegetation of Hawaii - evidence for long distance codispersal of plants and fungi. *Am. J. Bot.* 77, 466-474.
- Koslowsky SD, Boerner RE (1989), Interactive effects of aluminum, phosphorus and mycorrhizae on growth and nutrient uptake of *Panicum virgatum* L. (Poaceae). *Environmental Pollution* 61,:107-125.
- Kosuta S, Chabaud M, Loughon G, Gough C, Dénarié J, Barker DG, Bécard G (2003), A diffusible factor from arbuscular mycorrhizal fungi induces symbiosis-specific *MtENOD11* expression in roots of *Medicago truncatula*. *Plant Physiology* 131: 952-962.
- Kosuta S, Hazledine S, Sun J, Miwa H, Morris RJ, Downie JA, Oldroyd GED (2008), Differential and chaotic calcium signatures in the symbiosis signaling pathway of legumes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105: 9823-9828.
- Kottke I, Beiter A, Weiss M, Haug I, Oberwinkler F, Nebel M. (2003), Heterobasidiomycetes form symbiotic associations with hepatics: Jungermanniales have sebacinoid mycobionts while *Aneura pinguis* (Metzgeriales) is associated with a *Tulasnella* species. *Mycological Research* 107: 957–968.
- Kottke I, Haug I, Setaro S, Suárez JP, Weiß M, Preußing M, Nebel M, Oberwinkler F (2008), Guilds of mycorrhizal fungi and their relation to trees, ericads, orchids and liverworts in a neotropical mountain rain forest. *Basic and Applied Ecology* 9: 13-23.
- Krüger, M., Stockinger, H., Krüger, C., and Schüßler, A. (2009), DNA-based species-level detection of *Glomeromycota*: one PCR primer set for all arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol* 183: 212–223.
- Kubota, M., McGonigle, T.P. & Hyakumachi, M. (2005), Co-occurrence of Arum- and Paristype morphologies of arbuscular mycorrhizae in cucumber and tomato. *Mycorrhiza* 15, 73-77.
- Kuhn G, Hijri M, Sanders IR (2001) Evidence for the evolution of multiple genomes in

- arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature* 414: 745-748.
- Landis FC, Gargas A, Givnish TJ (2004), Relationships among arbuscular mycorrhizal fungi, vascular plants, and environmental conditions in oak savannas. *New Phytol* 164:493–504
- Lanowska, J. (1966). Influence of different sources of nitrogen on the development of mycorrhiza in *Pisum sativum*. *Pamiętnik Pulawski*, 21, 365-386.
- Lee PJ, Koske RE. (1994), *Gigaspora gigantea* seasonal abundance and aging of spores in a sand dune. *Mycol Res.* 98:453–457.
- Leigh J, Hodge A, Fitter AH (2009), Arbuscular mycorrhizal fungi can transfer substantial amounts of nitrogen to their host plant from organic material. *New Phytologist* 181: 199-207.
- Lesica, P. L. and Antibus, R. K., (1986), Mycorrhizal status of hemiparasitic vascular plants in Montana, U.S.A. *Transactions of the British Mycological Society*, 86: 341–343.
- 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.
- Ligrone R. (1988), Ultrastructure of a fungal endophyte in *Phaeroceros laevis* (L.) prosc. (Anthocerotophyta). *Bot. Gaz* 149:92-100
- Lilleskow EA, Bruns TD, Horton TR, Taylor DL, Grogan P (2004), Detection of forest stand-level spatial structure in ectomycorrhizal fungal communities. *FEMS Microbiol Ecol* 49: 319-332
- Liu Y, Zhu YG, Chen BD, Christie P, Li XL (2005), Influence of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on uptake of arsenate by the As hyperaccumulator fern *Pteris vittata* L. *Mycorrhiza* 15: 187-192.
- Lugo M, Cabello M. (2002), Native arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from mountain grassland (Córdoba, Argentina) I. Seasonal variation of fungal spore diversity. *Mycologia* 94:579–586.
- Lugo MA, Lugo MA, Cabello MN (1999), Acaulosporaceae (Glomales, Zygomycetes) en pastizales autóctonos del centro de Argentina. II. *Darwiniana* 37: 323-332.
- Luhan, M. (1955), Das abshluBgewebe der wurzeln unserer alpenpflanzen. *Ber. Deut. Bot. Ges.* 68, 87-92.
- Madigan MT, Martinko JM, Parker J (2000), *Brock, Biology of Microorganisms*, 9th ed. Prentice-Hall, Inc., Upper saddle River, New Jersey 07458.
- Mangan SA; Adler GH. (2002), Seasonal dispersal of arbuscular mycorrhizal fungi by spiny rats in a neotropical forest. *Oecologia*. 131(4):587-597.
- Marschner, H. (1986), *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press. London.

- Marschner, H. (1991), Mechanisms of adaptation of plants to acid soils. *Dev. of Plant and Soil Sci.*, 45: 683-702.
- Massicotte, H.B., Molina, R., Tackaberry, L.E., Smith, J.E., Amaranthus, M., (1999), Diversity and host specificity of ectomycorrhizal fungi retrieved from three adjacent forest sites by five host species. *Can. J. Bot.* 77, 1053–1076.
- Mayr, R. and Godoy, R. (1989), Seasonal patterns in vesicular-arbuscular mycorrhiza in melic beech forest. *Agric. Ecos. Envir.* 29, 281-288.
- McGee, P. A. (1987), Alteration of growth of *Solanum opacum* and *Plantago drummondii* and inhibition of regrowth of hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi from dried root pieces by manganese. *Plant Soil* 101, 227-233.
- McGee, P. A. (1989), Variation in propagule numbers of vesicular-arbuscular mycorrhizal in a semi-arid soil. *Mycol. Res.* 92, 28-33.
- McGee, P.A. G.S. Pattinson, R.A. Heath and C.A. Newman, (1997), Survival of propagules of arbuscular mycorrhizal fungi in soils in eastern Australia used to grow cotton. *New Phytol.*, 135: 773-780.
- Medve R. (1984), The mycorrhizae of pioneer species in disturbed ecosystems in western Pennsylvania. *American Journal of Botany* 71 (6): 787-794.
- Meharg A. (2003), The mechanistic basis of interactions between mycorrhizal associations and toxic metal cations. *Mycological Research* 107: 1253-1265.
- Merryweather J, Fitter A (1998), The arbuscular mycorrhizal fungi of *Hyacinthoides non-scripta*. II. Seasonal and spatial patterns of fungal populations. *New Phytologist* 138: 131-142.
- Miller, R. M. (1987), The ecology of vesicular-arbuscular mycorrhizae in grassland. *Mol. Biol.* 39, 221-244.
- Molina, R. and Trappe, J. M. (1982), Patterns of ectomycorrhizal host specificity and potential among Pacific Northwest conifers and fungi. *Forest Sci.* 28, 423-458.
- Molina, R., H. Massicotte, and J. M. Trappe. (1992), Specificity phenomena in mycorrhizal symbioses: Community-ecological consequences and practical implications. In M. F. Allen (ed.), *Mycorrhizal functioning: An integrative plant-fungal process*, pp. 357–423. Chapman and Hall, New York.
- Moore D., Robson G, Trinci A. (2011), 21st Century Guidebook to Fungi University of Manchester, 639
- Morton J. B., Bentivenga S. P., Wheeler W. W. (1993), Germ plasm in the International Collection of Arbuscular and Vesicular-arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM) and procedures for culture development, documentation and storage. *Mycotaxon* 48, 491-528

- Morton JB (1986) Three new species of Acaulospora (Endogonaceae) from high – aluminium, low- pH soils in West Virginia. *Mycologia* 78: 641-648.
- Morton JB, Benny GL (1990), Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon* 37: 471-491.
- Morton JB, Redecker D (2001), Two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera *Archaeospora* and *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters. *Mycologia* 93: 181-195.
- Mossberg B, Stenberg L , Ericson S (1999), Den store nordiske FLORAN , pp 709
- Mosse, B. and Bowen, G. D. (1986), The distribution of *Endogone* spores in some Australian and New Zealand soils and in an experimental field soil at Rothamsted. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 51, 485-492.
- Mosse, B.. (1957), Growth and chemical composition of mycorrhizal and non-mycorrhizal apples. *Nature (London)* 179, 922-924.
- Munkvold L, Kjølner R, Vestberg M, Rosendahl S, Jakobsen I (2004), High functional diversity within species of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 164: 357-364.
- Nebel M, Kreier HP, Preußing M, Weiß M, Kottke I. (2004), Symbiotic fungal associations of liverworts are the possible ancestors of mycorrhizae. *In: AgererR, PiepenbringM, BlanzP, eds. Frontiers in Basidiomycote Mycology. Eching, Germany: IHW-Verlag, 339–360.*
- Nicolson, T. H. & Schenck, N. C. (1979), Endogonaceous mycorrhizal endophytes in Florida. *Mycologia* 71, 178-198.
- Oehl F, de Souza FA, Sieverding E (2008), Revision of *Scutellospora* and description of five new genera and three new families in the arbuscular mycorrhiza-forming Glomeromycetes. *Mycotaxon* 106: 311-360.
- Oehl F, Sieverding E (2004), *Pacispora*, a new vesicular arbuscular mycorrhizal fungal genus in the Glomeromycetes. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 78: 72-82.
- Oehl F, Sieverding E (2011), Advances in *Glomeromycota* taxonomy and classification <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3359817/>
- Oehl F, Sieverding E, Ineichen K, Mäder P, Boller T, Wiemken A (2003), Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of Central Europe. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 2816-2824.
- Oehl F, Sieverding E, Mäder P, Dubois D, Ineichen K, Boller T, Wiemken A (2004), Impact of long-term conventional and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal

- fungi. *Oecologia* 138: 574-583
- Oehl F., Sieverding E., Ineichen K., Mäder P., Wiemken A., Boller T. (2009), Distinct sporulation dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities from different agroecosystems in long-term microcosms. *agric., Ecosystems, Environment* 134: 257–268.
- Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Ris, E.A., Boller, T., Wiemken, A., (2005), Community structure of arbuscular mycorrhizal fungi at different soil depths in extensively and intensively managed agroecosystems. *New Phytol.* 165, 273-283.
- Omar MB, Bolland L, Heather (1979), WA.A permanent mounting medium for fungi. *Bull Br Mycol Soc.* 13:13-32.
- Öpik M, Moora M, Liira J, Zobel M (2006), Composition of root-colonizing arbuscular mycorrhizal fungal communities in different ecosystems around the globe. *Journal of Ecology* 94: 778-790.
- Öpik M, Moora M, Zobel M, Saks U, Wheatley R, Wright F, Daniell T (2008), High diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a boreal herb-rich coniferous forest. *New Phytologist* 179: 867-876.
- Öpik, M; Vanatoa A, Vanatoa E, Moora M, Davidson J, Kalwij JM, Reier U, Zobel M (2010), "The online database MaarjAM reveals global and ecosystemic distribution patterns in arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota)". *New Phytologist* 188: 233–241
- Orłowska E, Zubek S, Jurkiewicz A, Szarek-Lukaszewska G, Turnau K (2002), Influence of restoration on arbuscular mycorrhiza of *Biscutella laevigata* L. (Brassicaceae) and *Plantago lanceolata* L. (Plantaginaceae) from calamine spoil mounds. *Mycorrhiza* 12: 153-160.
- Osborn AM, Moore ERB, Timmis KN (2000), An evaluation of terminal-restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis for the study of microbial community structure and dynamics. *Environmental Microbiology* 2: 39–50.
- Parke JL, Linderman RG (1980), Association of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi with the moss *Funaria hygrometrica*. *Can J Bot* 58:1898-1904.
- Pawlowska TE, Taylor JW (2004), Organization of genetic variation in individuals of arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature* 427: 733-737.
- Peterson, C. A. (1988), Exodermal Casparian bands: their significance for ion uptake by roots. *Physiol Plant.* 72, 204-208.
- Peterson, R.L. (2006), *Mycorrhizas: Anatomy and Cell Biology Images*. NRC Research Press.
- Pfeffer PE, Douds DD, Bécard G, Shachar-Hill Y (1999), Carbon uptake and the metabolism and transport of lipids in an arbuscular mycorrhiza. *Plant Physiology* 120: 587-598.

- Phillips J. M., Hayman D. S. (1970), Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55: 158-161.
- Physiological Plant Ecology III: Responses to the Chemical and Physical Environment* (Ed. by Q. L. Lang, P. S. Nobel, C. B. Osmond and H. Ziegler), pp. 301-390.
- Pirozynski KA, Malloch DW (1975), The origin of land plants: a matter of mycotropism. *Biosystems* 6: 153-164.
- Pocock K., Duckett J.G. (1985a), Fungi in hepatics. *Bryol. Times* 31: 2–3.
- Pocock K., Duckett J.G. (1985b), On the occurrence of branched and swollen rhizoids in British hepatics: Their relationships with the substratum and associations with fungi. *New Phytologist* 99:281-304.
- Porter, W. M., Robson, A. D. and Abbott, L. K. (1987). Factors controlling the distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in relation to soil pH. *J. Appl. Ecol.* 24, 663- 672.
- Power, M.E., Mills, L.S. (1995), The keystone cops meet in Hilo. *Tree*. 10: 182-184.
- Pozo M. J., Azcón-Aguilar C. (2007), Unravelling mycorrhiza-induced resistance. *Current Opinion in Plant Biology* 10: 393-398
- Pressel S., Bidartondo M.I., Lignore R., Duckett J. (2010), Fungal symbioses in bryophytes: New insights in the twenty first century. *Phytotaxa* 9: 238–53.
- Pringle A, JD Bever. (2002), Divergent phenologies may facilitate the coexistence of arbuscular mycorrhizal fungi in a North Carolina grassland. *American Journal of Botany* 89: 1439-1446
- Rabatin SC. (1980), The occurrence of the vesicular-arbuscular –mycorrhizal fungus *Glomus tenuis* with moss. *Mycologia* 72:191-195
- Read DJ, Kouček HK, Hodgson J (1976), Vesicular-arbuscular mycorrhiza in natural vegetation systems. I. The occurrence of infection. *New Phytologist* 77: 641–653.
- Read DJ, Perez-Moreno J (2003), Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems – a journey towards relevance? *New Phytologist* 157: 475–492.
- Redecker D (2006), Molecular ecology of arbuscular mycorrhizal fungi: a review of PCR-based techniques. In: J Cooper, JR Rao, eds. *Molecular Techniques for Soil and Rhizosphere Microorganisms*. CABI Publishing, Wallingford, Oxfordshire, UK, 198-212.
- Redecker D, Kodner R, Graham LE (2000), Glomalean fungi from the Ordovician. *Science* 289: 1920-1921.
- Redecker D, Raab P (2006), Phylogeny of the Glomeromycota (arbuscular mycorrhizal fungi): recent developments and new gene markers. *Mycologia* 98: 885-895.

- Rhodes LH, Gerdemann JW (1978), Influence of phosphorus nutrition on sulfur uptake by vesicular-arbuscular mycorrhizae of onion. *Soil Biol Biochem* 10 361–364.
- Robson A D and Abbott, L. K. (1989), The effect of soil acidity on microbial activity in soils. In: *Soil Acidity and Plant Growth* (Ed. by A. D. Robson). pp. 139-165. Academic Press, Sydney.
- Rosendahl S and RosenSpatial dahl CN (1992), Seasonal variation in occurrence of VA mycorrhizal infection types in a Danish Grassland community. In: Read DJ, Lewis DH, Fitter AH, Alexander IJ, eds. *Mycorrhizas in Ecosystems*. Cambridge, K: CAB, 400 p.
- Rosendahl S, McGee P, Morton JB (2009), Lack of global population genetic differentiation in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* suggests a recent range expansion which may have coincided with the spread of agriculture. *Molecular Ecology* 18: 4316-4329.
- Rupp, L.A., K.W. Mudge and F.B. Negr. (1989), Involvement of ethylene in ectomycorrhiza formation and dichotomous branching of roots of mugo pine seedlings. *Can. J. Bot.* 67:477–482.
- Russell, R. S. (1977), *Plant Root Systems: Their Function and Interaction with the Soil*. McGraw-Hill, London.
- Sanchez, P. (1976), *Properties and Management of Soils in the Tropics*. Wiley, NY, NY.
- Sancholle M, Dalpé Y (1993), Taxonomic relevance of fatty acids of arbuscular mycorrhizal fungi and related species. *Mycotaxon* 69: 187-193.
- Sanders IR (2002), Ecology and evolution of multigenomic arbuscular mycorrhizal fungi. *American Naturalist* 160: S128-S141.
- Schenck N C, Perez Y. (1990), *Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi*. Third edition. Synergistic Publications. Gainesville, Florida, USA.
- Schenck, N. C., Graham, S. O. and Green, N. E. (1975). Temperature and light effect on contamination and spore germination of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycologia* 67, 1189-1192
- Schultz, P. A. (1996), *Arbuscular mycorrhizal species diversity and distribution in an old field community*. Ph.D. dissertation, Duke University, Durham, North Carolina, USA.
- Schüßler A (2000), *Glomus claroideum* forms an arbuscular mycorrhiza-like symbiosis with the hornwort *Anthoceros punctatus*. *Mycorrhiza* 10: 15-21
- Schüßler A (2002), Molecular phylogeny, taxonomy, and evolution of *Geosiphon pyriformis* and arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 244: 75-83.
- Schüßler A, Schwarzott D, Walker C (2001), A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research* 105: 1413-1421.

- Schüßler A, Walker C (2010), The *Glomeromycota*: a species list with new families and new genera. In: Arthur Schüßler, Christopher Walker, Gloucester. Published in libraries at The Royal Botanic Garden Edinburgh, The Royal Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich, and Oregon State University
- Schüßler A. (2000), *Glomus claroideum* forms an arbuscular mycorrhiza-like symbiosis with the hornwort *Anthoceros punctatus*. *Mycorrhiza* 10: 15-21
- Schwartz MW, Hoeksema JD, Gehring CA, Johnson NC, Klironomos JN, Abbott LK, Pringle A (2006), The promise and the potential consequences of the global transport of mycorrhizal fungal inoculum. *Ecol Lett* 9:501–515
- Schwarzott D, Walker C, Schüßler A (2001), *Glomus*, the largest genus of the arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales), is nonmonophyletic. *Molecular Phylogeny and Evolution* 21: 190–197.
- Seabloom EW, Bjornstad ON, Bolker BM, Reicman OJ (2005), Spatial signature of environmental heterogeneity, dispersal and competition in successional grasslands. *Ecol Monogr* 75:199-214.
- Selosse MA, Le Tacon F (1998), The land flora: a phototroph-fungus partnership? *Trends in Ecology & Evolution* 13: 15-20.
- Sieverding E, Oehl F (2006), Revision of *Entrophospora* and description of *Kuklospora* and *Intraspora*, two new genera in the arbuscular mycorrhizal Glomeromycetes. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 80: 69-81.
- Sieverding E. (1991), Vesicular-arbuscular Mycorrhizal Management in Tropical Agroecosystems. Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit, GTZ N° 224 Eschborn pp.371.
- Sieverding, E. (1989), Ecology of VAM fungi in tropical ecosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 29, 369-390.
- Singh M., Rawat A.K., Govindarajan R (2007), Antimicrobial activity of some Indian mosses. *Fitoterapia*, v. 78, p. 156-158.
- Singh M., Rawat A.K., Govindarajan R. (2007), Antimicrobial activity of some Indian mosses. *Fitoterapia* 78: 156–158.
- Siqueira J O, Mahmud A W and Hubbell D H (1986), Differential behavior of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in relation to soil acidity. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo* 10: 11-16.
- Smith FA, Smith SE. (1996), Mutualism and parasitism: diversity in function and structure in the 'arbuscular'(VA) mycorrhizal symbiosis. *Advances in Botanical Research* 22: 1- 43.
- Smith S.E., Gianinazzi-Pearson V., (1988), Physiological interactions between symbionts in

- vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 39, 221-244.
- Smith SE (2009), 'Hidden' phosphorus transfer in arbuscular mycorrhizas: what should it mean for you? In: "Beyond The Roots", Abstract of 6th International Conference On Mycorrhiza (ICOM6), Belo Horizonte, Brazil.
- Smith SE, Read DJ (1997), *Mycorrhizal symbiosis*, 2nd edn. Academic Press, London.
- Smith SE, Read DJ (2008), *Mycorrhizal Symbiosis*. 3rd edition. Academic Press, London.
- Smith, T.J., A.J. Noack, and S.M. Cosh. (1981), The effect of some herbicides on vesicular-arbuscular endophyte abundance in the soil and on infection of host roots. *Pesticide Sci.* 12:91–97.
- Stahl M (1949), Die Mycorrhiza der Lebermoose mit besonderer Berücksichtigung der thallosen Formen. *Planta* 37: 103-148.
- Strother PK, Al-Hajri S, Traverse A (1996), New evidence for land plants from the lower Middle Ordovician of Saudi Arabia. *Geology* 24: 55-58.
- Stutz J.C. and J.B. Morton. (1996), Successive pot cultures reveal high species richness of arbuscular endomycorrhizal fungi in arid ecosystems. *Canadian Journal of Botany* 74:1883-1889.
- Sýkorová Z, Ineichen K, Wiemken A, Redecker D (2007), The cultivation bias: different communities of arbuscular mycorrhizal fungi detected in roots from the field, from bait plants transplanted to the field, and from a greenhouse trap experiment. *Mycorrhiza* 18: 1-14.
- Sýkorová Z, Wiemken A, Redecker D (2007), Cooccurring *Gentiana verna* and *Gentiana acaulis* and their neighboring plants in two swiss upper montane meadows harbor distinct arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Applied and Environmental Microbiology* 73: 5426-5434.
- Sylvia D M, Williams S E (1992), Vesicular-arbuscular mycorrhizae and environmental stress. In *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture* Eds, G J Bethlenfalvay and R G Lindeman. Pp 101- 124. American Society of Agronomy Special publication Nr 54, Madison, WI.
- Sylvia DM, Neal LH. (1990), Nitrogen affects the phosphorus response of VA mucorrhiza. *New Phytol.* 115, 303-310.
- Sylvia, D.M., (2005), Overview of mycorrhizal symbioses, in Sylvia, D.M., Fuhrmann, J.J., Hartel, P.G., and Zuberer, D.A., eds., *Principles and Applications of Soil Microbiology*: Upper Saddle River, NJ, Prentice Hall, p. 408-426.
- Taylor TN, Remy W, Hass H, Kerp H (1995), Fossil arbuscular mycorrhizae from the Early Devonian. *Mycologia* 87: 560-573.

- Tehler A, Little DP, Farris JS (2003), The full-length phylogenetic tree from 1551 ribosomal sequences of chitinous fungi, *Fungi. Mycological Research* 107: 901-916.
- Tinker PBH. (1975), Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on higher plants. Symposium of the Society of Experimental Biology 29, 325-349.
- Tinker, P. B. (1990), Nutrient uptake by plant roots in natural systems. In: *Nutrient Cycling in Terrestrial Ecosystems: Field Methods, Application and Interpretation* (Ed. by A. F. Harrison, P. Ineson and O. W. Heal). pp. 322-334. Elsevier, London.
- Tommerup, I. C. (1983), Spore dormancy in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Trans Br. Mycol. Soc.* 81, 37-45.
- Tommerup, I. C. (1987), Physiology and ecology of VAM spore germination and dormancy in soil. In: *Mycorrhizae in the Next Decade, Practical Applications and Research*
- Tommerup, I. C. and Abbott, L. K. (1981), Prolonged survival and viability of VA mycorrhizal hyphae after root death. *Soil Biol. Biochem.* 13, 431-433.
- Tommerup, I. C. (1985), Inhibition of spore germination of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Trans.Br.Mycol.Soc.* 85:267-278.
- Tommerup, I.C., Abbott, L.K., (1981), Prolonged survival and viability of VA mycorrhizal hyphae after root death. *Soil Biology and Biochemistry* 13, 431-433.
Trans. Br. Mycol. Soc. 51, 485-492.
- Trappe J. (1987), Phylogenic and ecologic aspects of mycotrophy in the angiosperms from an evolutionary standpoint. In: Safir GR, ed. *Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants*. Boca Raton, Florida, SA: CRC Press. P 6-25.
- Trappe, J. M. and Molina, R. (1986), Taxonomy and genetics of mycorrhizal fungi: their interactions and relevance. In: *Physiology and Genetical Aspects of Mycorrhizae* (Ed. By V. Gianinazzi-Pearson and S. Gianinazzi). pp. 133-146. INRA. Paris
- Trouvelot A, Kough JL, Gianinazzi-Pearson V (1986), Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: Gianinazzi-Pearson V, Gianinazzi S (eds) *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*. INRA Press, Paris, 217-221.
- Turnau K, Ronikier M, Unrug J (1999), Role of mycorrhizal links between plants in establishment of liverworts thalli in natural habitats. *Acta Soc Bot Pol* 68:63-68
- Turnau K., Ryszka P., Van Tuinen D., Gianinazzi-Pearson V. (2001), Identification of arbuscular mycorrhizal fungi in soils and roots of plants colonizing zinc wastes in Southern Poland. *Mycorrhiza* 10: 169-174.

- Turrini, A; Avio, L; Bavila, C; Giovannetti, M. (2008), Characterisation of arbuscular mycorrhizal fungi in roots by means of epifluorescence microscopy and molecular methods. *Annals of microbiology*. 58(1):157-162.
- van der Heijden M.G.A., Scheublin T.R. (2007), Functional traits in mycorrhizal ecology: their use for predicting the impact of arbuscular mycorrhizal fungal communities on plant growth and ecosystem functioning. *New Phytologist* 174: 244-250 (Including Front Cover).
- van der Heijden MGA, Boller T, Wiemken A, Sanders IR (1998), Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. *Ecology* 79: 2082-2091.
- van der Heijden M.G.A., Scheublin T.R. (2007), Functional traits in mycorrhizal ecology: their use for predicting the impact of arbuscular mycorrhizal fungal communities on plant growth and ecosystem functioning. *New Phytologist* 174: 244-250 (Including Front Cover).
- van der Heijden, MGA; Bardgett RD, Van Straalen NM (2008), "The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems". *Ecology Letters* 11: 296–310.
- Van Duin WE, Rozema J, Ernst WHO (1989), Seasonal and spatial variation in the occurrence of (VA) mycorrhiza in salt marsh plants. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 29: 107- 110.
- van Tuinen D, Jacquot E, Zhao B, Gollotte A, Gianinazzi-Pearson V (1998a), Characterization of root colonization profiles by a microcosm community of arbuscular mycorrhizal fungi using 25S rDNA-targeted nested PCR. *Molecular Ecology* 7: 879-887.
- van Tuinen, D Zhao, B and Gianinazzi-Pearson V (1998b), PCR in studies of arbuscular mycorrhizal fungi: from Primers to Application. In *Mycorrhiza Manual*. AK Varma (ed) Springer-Verlag: Heidelberg, pp. 387-400.
- Vandenkoornhuyse P, Husband R, Daniell TJ, Watson IJ, Duck JM, Fitter AH, Young JPW (2002), Arbuscular mycorrhizal community composition associated with two plant species in a grassland ecosystem. *Molecular Ecology* 11: 1555-1564.
- Vandenkoornhuyse P, Ridgway KP, Watson IJ, Fitter AH, Young JPW (2003), Co-existing grass species have distinctive arbuscular mycorrhizal communities. *Molecular Ecology* 12: 3085-3095.
- Vandenkoornhuyse P. (2003), Co-existing grass species have distinctive arbuscular mycorrhizal communities. *Molecular Ecology* 12:3085-3095.
- Vannette, RL; Rasmann S (2012), "Arbuscular mycorrhizal fungi mediate below-ground plant–

- herbivore interactions: a phylogenetic study". *Functional Ecology* 26: 1033–1042.
- Velázquez S., Cabello M. (2011), Occurrence and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in trap cultures from El Palmer National Park soils. *European Journal of Soil biology*. 47 230-235.
- Venables WN, Smith DM, R development team (2008), An introduction to R.
- Verbruggen E, Röhling WFM, Gamper HA, Kowalchuk GA, Verhoef HA, van der Heijden MGA (2010), Positive effects of organic farming on below-ground mutualists: large-scale comparison of mycorrhizal fungal communities in agricultural soils. *New Phytologist*
- Vierheilig H, Coughlan AP, Wyss U, Piché Y (1998), Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology* 64: 5004–5007.
- Virginia, R. A., Jenkins, M. B. and Jarrell, W. M. (1986), Depth of root symbiont occurrence in soil. *Biol. Fertil. Soils* 2, 127-130.
- Voets L, de la Providencia IE, Declerck S (2006), Glomeraceae and Gigasporaceae differ in their ability to form hyphal networks. *New Phytologist* 172: 185-188.
- Walker C, Sanders FE (1986), Taxonomic concepts in the Endogonaceae: III. The separation of *Scutellospora* gen. nov. from *Gigaspora* Gerd. & Trappe. *Mycotaxon* 27: 169-182.
- Walker C, Schüßler A (2004), Nomenclatural clarifications and new taxa in the Glomeromycota. *Mycological Research* 108: 981-982.
- Walker C, Vestberg M, Demircik F, Stockinger H, Saito M, Sawaki H, Nishmura I, Schüßler A. (2007), Molecular phylogeny and new taxa in the Archaeosporales (Glomeromycota): *Ambispora fennica* gen. sp. nov., *Ambisporaceae* fam. nov., and emendation of *Archaeospora* and *Archaeosporaceae*. *Mycological Research* 111: 137–153.
- Walker, C., Mize, C. W. and McNabb, H. S. Jr. (1982), Populations of Endogonaceous fungi at two locations in central Iowa. *Can. J. Bot.* 60, 2518-2529.
- Wang B, Qiu YL (2006), Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza* 16: 299-363.
- Warner, N.J., Allen, M.F. and MacMahon, J.A. (1987), Dispersal agents of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a disturbed arid ecosystem. *Mycologia* 79: 721 -730.
- Whipps JM (2004), Prospects and limitations for mycorrhizas in biocontrol of root pathogens. *Canadian Journal of Botany* 82: 1198–1227.
- Wicklów-Howard, M.C., (1994), Vesicular-arbuscular mycorrhizae from sagebrush steppe habitat in Western Idaho and parts of Eastern and Central Oregon: Boise State University, 37 p.
- Wirsel SGR (2004), Homogeneous stands of a wetland grass harbour diverse consortia of

- arbuscular mycorrhizal fungi. *FEMS Microbiol Ecol* 48:129–138.
- Woodward, F. I. (1987), *Climate and Plant Distribution*. Cambridge University Press,
- Wubet T, Weiß M, Kottke I, Teketay D, Oberwinkler F. (2004), Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in *Prunus africana*, an endangered medicinal tree species in dry Afromontane forests of Ethiopia. *New Phytologist* 161: 517–528.
- Yamato, M. (2004), Morphological types of arbuscular fungi in roots of weeds on vacant land. *Mycorrhiza*, 14: 127-131.
- Zajicek, J. M., Daniels Hetrick, B. A. and Owensby, C. E. (1986), The influence of soil depth on mycorrhizal colonization of forbs in the tallgrass prairie. *Mycologia* 78, 316- 320.
- Zak DR, Tilman D, Parmenter RR, Rice CW, Fisher FM, Vose J, Milchunas D, Martin CW (1994), Plant production and soil microorganisms in late- successional ecosystems: a continental -scale study. *Ecology* 75, 2333-2347.
- Zhang Y, Guo LD, (2007), *Mycorrhiza* Jun;17(4):319-25. Epub 2007 Feb 3. Arbuscular mycorrhizal structure and fungi associated with mosses.
- Zobel, R. W. (1986), Rhizogenetics (root genetics) of vegetable crops. *Hortscience* 21, 956- 959.