

## Simbiotiskās sistēmas efektivitātes izvērtējums pupu (*Vicia faba* L.) sējumos Symbiotic System Efficiency Assessment in Field Beans (*Vicia faba* L.)

*Laila Dubova, Alise Šenberga, Ina Alsiņa, Daiga Sergejeva*  
LLU Lauksaimniecības fakultāte

**Abstract.** Legumes are important crop all over the world due to their protein content, possibility to fix atmosphere nitrogen and provide sustainable soil quality. Experiments were carried out to assess the role of symbiotic relationships on some plant characteristics (chlorophylls content, plant biomass, nodule weight, dehydrogenases activity, yield, protein content in plants and seeds). Results showed that the use of rhizobia may contribute to protein accumulation in seed, but certain strains effectiveness depends on soil properties and plant varieties. Plant and rhizobia interaction efficiency can be described with dehydrogenase activity. In order to obtain a more stable symbiotic nitrogen fixation effect, it is necessary to combine different rhizobia strains.

**Key words:** rhizobia, mycorrhizae, protein content.

### Ievads

Pākšaugi ir otra nozīmīgākā kultūraugu grupa pēc graudaugi. Pākšaugus audzē dažādās klimatiskajās zonās gan kā vērtīgu pārtikas produktu cilvēku uzturā, gan lopbarībai. To nozīmīgums saistīts ne tikai ar vērtīgo ķīmisko sastāvu, bet arī to lomu dabīgajās un lauksaimniecības ekosistēmās. Zināmākā un būtiskākā pākšaugu īpašība ir simbiotiskā atmosfēras molekulārā slāpekļa ( $N_2$ ) saistīšana. Mazāk pētīta, bet būtiska ir pākšaugu mijiedarbība ar rizosfēras mikroorganismiem, to ietekme uz pēcaugiem dažādās augu maiņas sistēmās, augsnes īpašībām un tās bioloģisko aktivitāti (Graham, Vance, 2003; Kōpke, Nemecek, 2010; Maltais-Landry, 2015; Siczek, Lipiec, 2016).

Mērenajā klimata zonā zirņi, pupiņas un pupas ir plašāk kultivētie pākšaugi, kuri, veidojot simbiotiskās attiecības ar *Rhizobium* ģints baktērijām, saista atmosfēras  $N_2$ , tādējādi samazina augu audzēšanai nepieciešamo minerālmēslojuma apjomu. U. Kōpke un T. Nemeceks (Kōpke, Nemecek, 2010) raksta, ka atkarībā no augsnes auglības 60–95% no pupās uzņemtā slāpekļa ir simbiotiski saistītais  $N_2$ . Efektīvu simbiotisko attiecību izveidošanos nosaka ne tikai saderīga saimniekauga un gumiņbaktēriju klātbūtne, bet arī citu mikroorganismu klātbūtne rizosfērā, izmantojamie minerālelementi augsnē un meteoroloģiskie apstākļi. Efektīvai gumiņbaktēriju darbībai limitējoši ir virkne mikroelementu (B, Mo, Fe), kā arī makroelementi, piemēram, fosfors (P). Atmosfēras  $N_2$  reducēšana par amonija joniem

baktērijām ir enerģētiski ietilpīgs process, tāpēc tā efektivitāti var paaugstināt, optimizējot vides apstākļus (Graham, Vance, 2003).

Veidojoties trīspusējai simbiozei starp pākšaugiem, gumiņbaktērijām un mikorizas sēnēm, iespējams optimizēt efektīvai simbiozei nepieciešamos apstākļus. Arbuskulārās mikorizas sēnes var uzlabot pākšaugu nodrošinājumu ar fosforu, kā arī mazina ūdens deficīta negatīvo ietekmi. Pētnieki (Jia et al., 2004) konstatējuši, ka mikorizas sēnes uzlabo auga nodrošinājumu ar fosforu, tādejādi panākot augstāku  $N_2$  saistīšanas efektivitāti, kas rezultējas fotosintēzes produktivitātē. Pēc citu autoru datiem (Kaschuk et al., 2010) dubultinokulācija ar gumiņbaktērijām un mikorizas sēnēm palielināja proteīna saturu pākšaugu sēklās vidēji par 14%, kopējo ražu par 7%. Gumiņbaktērijas nodrošina sistēmu ar nepieciešamo slāpekli. Savukārt augi ar fotosintēzes starpniecību sistēmu apgādā ar oglekli (C) saturošajiem organiskajiem savienojumiem. Tāpēc par simbiotiskās sistēmas funkcionēšanu var spriest ne tikai pēc kultūrauga ražas pieauguma, bet arī pēc saimniekauga fizioloģisko un bioķīmisko parametru izmaiņām veģetācijas periodā (Jia et al., 2004; Johansson et al., 2004) un mikroorganismu aktivitātes izmaiņām rizosfērā (Gianfreda, 2015; Siczek and Lipiec, 2016).

Darba mērķis: noskaidrot simbiotiskās sistēmas partneru – pākšaugu, gumiņbaktēriju un mikorizas sēņu – mijiedarbības ietekmi uz pupu augšanu un sēklu kvalitāti.

## **Materiāli un metodes**

Simbiozes efektivitāti ietekmējošo faktoru skaidrošanai iekārtoti lauka izmēģinājumi. Salīdzināti sīksēklu pupu šķirņu ‘Lielplatone’, ‘Fuego’, ‘Boxer’ un rupjsēklu pupu ‘Bartek’ augšanas parametri (pigmentu saturs, augu masa un sausna, proteīna saturs sausnē) un gumiņu aktivitāte (pēc dehidrogenāžu aktivitātes) ziedēšanas fāzē. Pēc ražas novākšanas noteikts olbaltumvielu saturs sēklās. Kontroles augi audzēti bez inokulēšanas ar mikroorganismiem. Izmēģinājuma variantos sēklas inokulēta ar kādu no LLU gumiņbaktēriju kolekcijas celmiem (RP003, RP023, RV407, RV505), un atsevišķi varianti papildus inokulēti ar mikorizas preparātu (Symbiom).

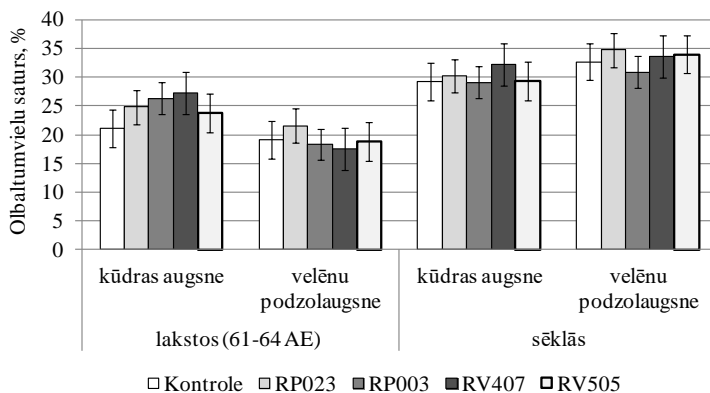
Simbiozes efektivitātes salīdzināšanai pupas audzētas augsnēs ar atšķirīgu minerālvielu saturu (kūdras augsnē, velēnu podzolaugsnē). Pigmentu daudzums noteikts ar rokas spektrometru *at Leaf*. Rezultāts izteikts SPAD vienībās. Olbaltumvielu saturs sēklās noteikts LLU Agronomisko analīžu zinātniskajā laboratorijā pēc Kjeldāla metodes. Dehidrogenāzes aktivitāte gumiņos noteikta reakcijā ar INT (tetrazolija hlorīdu) un izveidotā formazāna daudzums noteikts spektrofotometriski pie 460 nm.

Rezultātiem veikta dispersijas analīze un aprēķināts korelācijas koeficients gumiņu masas un aktivitātes vērtēšanai.

## Rezultāti un diskusija

Gumiņbaktēriju celmu efektivitātes pārbaudē iegūtie rezultāti neuzrādīja kāda konkrēta celma pārākumu, veicinot augu augšanu un pigmentu daudzuma palielināšanos augos. Pupu sēklu inokulācija ar gumiņbaktēriju atsevišķi vai kopā ar mikorizas sēnēm tikai atsevišķos variantos nebūtiski palielināja pigmentu daudzumu augu lapās. Salīdzinot pigmentu daudzumu lapās ziedēšanas laikā (61. AE–64) šķirnei ‘Lielplatone’, inokulētajos variantos, pigmentu daudzums palielinājās tikai par 1–2%, salīdzinot ar kontroles neinokulētajiem augiem. Savukārt šķirnei ‘Bartek’ ar mikorizu inokulētajā variantā pigmentu daudzums palielinājās par 5%, bet pārējos inokulētajos variantos tikai par 1–2%, salīdzinot ar kontroli. Kā konstatējuši arī citi autori (Jia et al., 2004) pigmentu daudzums un līdz ar to arī fotosintēzes intensitāte var ietekmēt arī simbiotisko mikroorganismu darbību augu saknēs. Neizveidojoties saderīgai simbiotiskai sistēmai, gumiņbaktērijas var veidot gumiņus, bet to darbība nav pietiekoši efektīva, lai būtiski palielinātu olbaltumvielu uzkrāšanās pupu sēklās.

Par saimniekauga un gumiņbaktēriju mijiedarbības efektivitāti var spriest pēc fermentu aktivitātes izmaiņām gumiņos. Nosakot 100 gumiņu masu un dehidrogenāžu aktivitāti inokulēto un neinokulēto augu gumiņos, iegūti dati, ka atkarībā no pupu šķirnes var konstatēt korelāciju starp gumiņu masu un aktivitāti. Pupu šķirnēm ‘Fuego’ un ‘Boxer’ inokulētajiem augiem 100 gumiņu masa pārsniedza uz kontroles augu saknēm izveidojušos gumiņu masu attiecīgi par 11% un 29%. Abām šķirnēm konstatēta korelācija starp gumiņu lielumu un dehidrogenāžu aktivitāti. Korelācijas koeficienti attiecīgi  $r = 0.86$  un  $r = 0.93$  ( $p < 0.05$ ). Tomēr pēc sēklu bioķīmiskajām analizēm var secināt, ka aktīvāka gumiņu darbība vēl nenodrošina augstāku olbaltumvielu saturu sēklās (1. att.).



1. att. Gumiņbaktēriju celmu ietekme uz olbaltumvielu uzkrāšanos pupu ‘Bartek’ veģetatīvajā masā un sēklās.

Konstatēts olbaltumvielu satura pieaugums vidēji par 2%, kas nav statistiski būtisks. Šķirnei ‘Fuego’ olbaltumvielu pieaugums konstatēts, inokulējot ar RP003, bet šķirnei ‘Boxer’ ar RV407. Gumiņbaktēriju celmu atšķirīga efektivitāte konstatējama, audzējot pupas dažādās augsnēs (1. att.), kur to efektivitāti, kā norādīts arī literatūrā (Johansson et al., 2004), var ietekmēt citu rizo sfēras mikroorganismu aktivitāte. Gumiņbaktēriju atšķirīgā efektivitāte novērojama jau veģetācijas perioda laikā, uzkrājoties fotosintēzes produktiem augu lakstos.

### Secinājumi

Izvērtējot simbiotisko sistēmu efektivitāti konstatēts, ka sēklu inokulācija veicina proteīnu uzkrāšanās sēklā, bet atsevišķu celmu efektivitāte ir atkarīga no augsnes īpašībām un auga šķirnes. Augu un baktēriju savstarpējās mijiedarbības efektivitāti var raksturot ar dehidrogenāžu aktivitāti. Lai iegūtu stabilāku simbiotiskās slāpekļa saistīšanas efektu, nepieciešams preparātos kombinēt dažādus gumiņbaktēriju celmus.

### Pateicība

Finansējums no ES 7. ietvarprogrammas projekta Nr. 613781 „Enhancing of legumes growing in Europe through sustainable cropping for protein supply for food and feed” (EUROLEGUME).

### Literatūra

1. Gianfreda, L. (2015). Enzymes of importance to rhizosphere processes. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 15 pp. 283–306
2. Graham, P.H., Vance, C.P. (2003). Legumes: Importance and constraints to greater use. *Plant Physiology*, 131, pp. 872–877.
3. Jia, Y., Gray, V.M., Straker, C.J. (2004). The Influence of *Rhizobium* and Arbuscular mycorrhizal fungi on nitrogen and phosphorus accumulation by *Vicia faba*. *Annals of Botany*, 94, pp. 251–258.
4. Johansson, J.J., Paul, L.R., Finlay, R.D. (2004). Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbial Ecology*, 48, pp. 1–13.
5. Kaschuk, G., Leffelaar, P.A., Giller, K.E., Alberton, O., Hungria, M., Kuyper, T.W. (2010). Responses of legumes to rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi: A meta-analysis of potential photosynthate limitation of symbioses. *Soil Biology and Biochemistry*, 42, pp. 125–127.
6. Köpke, U., Nemecek, T. (2010). Ecological services of faba bean. *Field Crops Research*, 115, pp. 217–233.
7. Maltays-Landry, G. (2015). Legumes have a greater effect on rhizosphere properties (pH, organic acids and enzyme activity) but a smaller impact on soil P compared to other cover crops. *Plant and Soil*, 394, pp. 139–154.
8. Siczek, A., Lipiec, J. (2016). Impact of faba bean-seed rhizobial inoculation on microbial activity in the rhizosphere soil during growing season. *Int. J. Mol. Sci.*, 17(5), 784; doi: 10.3390/ijms17050784.