
Fitohormonų įtaka *Sinorhizobium meliloti* ir *Rhizobium trifolii* kamienų efektyvumui

Edmundas Lapinskas

Lietuvos žemdirbystės institutas,
Vėžaičių filialas,
Vėžaičiai, Klaipėdos rajonas
El. paštas: filialas@gargzdai.omnitel.net

1991–1999 m. Lietuvos žemdirbystės instituto Vėžaičių filiale daryti laboratoriniai, vegetaciniai ir lauko bandymai. Dirvožemis – velėninis jaurinis glėjiškas lengvas priemolis (pagal tarptautinę klasifikaciją – tipingas pasotintasis balkšvažemis, JIb2). Dirvožemio pH_{KCl} 5,2–6,0, humuso 1,82–2,08%, judriojo P₂O₅ – 85–220, judriojo K₂O – 207–322 mg/kg dirvožemio.

Nustatyta, kad fitohormonai β-indolilacto rūgštis (heteroauksinas) ir kinetinas skatino liucernų gumbelių bakterijų (*Sinorhizobium meliloti*), o kinetinas – dobilų bakterijų (*Rhizobium trifolii*) kamienų biomasės augimą (kolonijų dydį).

Nuo heteroauksino padidėjo liucernų gumbelių bakterijų kamienų simbiotinis efektyvumas vegetaciniuose bandymuose.

Raktažodžiai: *Rhizobium trifolii* ir *Sinorhizobium meliloti* kamienai, fitohormonai, bakterijų biomasė, simbiotinis efektyvumas, liucernos, dobilai

IVADAS

Simbiozei palankiomis sąlygomis gumbelinės bakterijos ne tik efektyviai fiksuoja atmosferos azotą, bet ir sintetina daugelį biologiškai aktyvių medžiagų, skatinančių ankštinių augalų augimą: B grupės vitaminus [8], fitohormonus – β-indolilacto rūgštį [9], indolil-3-acto rūgštį, indolil-3-piruvo rūgštį, indolilacto nitrilą [13], gibereliną ir kt. [1].

Paprastai neutraliuose ir maisto medžiagų turtinguose dirvožemiuose didelę dalį vitaminų ir fitohormonų susintetina ir patys ankštiniai augalai [8, 9]. Tačiau rūgščiuose dirvožemiuose, trūkstant maisto medžiagų arba vyraujant žemai temperatūrai, ankštiniai nepajėgia visiškai patenkinti vitaminų ir fitohormonų poreikio.

J. Gruodienės tyrimais, ankštinių sėklos apdorojimas indolil-3-acto rūgštimi, citokininu ir kitais fitohormonais padidino gumbelių bakterijų fermentų aktyvumą, ypač malat- ir sukcinatdehidrogenazės aktyvumą, dėl to suintensyvėjo simbiotinio azoto fiksacijos procesai [9]. Be to, fitohormonai stimuliuoja gumbelių bakterijų nitrogenazės, DNR ir RNR sintezę, skatinančią aminorūgščių ir baltymų kaupimąsi augaluose, taip pat stimuliuoja gumbelių susiformavimą [7, 8].

Fitohormonų vartojimas būna ypač veiksmingas, kai ankštiniams inokuliuoti naudojami gumbelių

bakterijų defektuoti mutantai fitohormonų sintezei [4, 11].

Varpinių augalų dygstančios sėklos taip pat išskiria veiksmingus biostimuliuojančius, kurie su gumbelių bakterijų preparatais suaktyvina gumbelių formavimąsi ankštiniuose augaluose ir padidina jų derlių [12]. J. Tomas su bendradarbiais ekstragavo flavonoidus iš avinžirnių (*Cicer arietinum*) sėklų ir gavo penkis biostimuliuojančius (genisteinas, chrysinas, biochaninas A, etanolio ir eterio frakcijos), kurie kartu su inokuliantais padidino sojų gumbelių masę nuo 0,05 iki 0,93 g/indo ir augalų sausųjų medžiagų derlių nuo 0,8 iki 13,6 g/indo [17].

Lietuvos žemdirbystės instituto Vėžaičių filiale atliktais lauko bandymais raudonųjų dobilų inokuliacijos ir tiarino preparatų derinimas skatino augalų augimą ir derlių [3].

Pagaliau, literatūroje yra nurodymų, kad kai kurie herbicidai, kaip treflanas, naudojant mažas dozes – iki 0,75 kg/ha veikia kaip biostimuliuojančius ir aktyvina azoto fiksaciją iki 34% [14].

Darbo tikslas – nustatyti fitohormonų β-indolil-acto rūgšties (heteroauksino, IAR) ir kientino įtaką liucernų (*Sinorhizobium meliloti*) bei dobilų (*Rhizobium trifolii*) gumbelių bakterijų įvairių kamienų efektyvumui.

TYRIMŲ SĄLYGOS IR METODIKA

1991–1999 m. Lietuvos žemdirbystės instituto Vėžaičių filiale daryti laboratoriniai, vegetaciniai ir lauko bandymai.

Laboratoriniuose bandymuose buvo nustatomas liucernų ir dobilų gumbelinių bakterijų skirtingų kamienų biomasės augimo intensyvumas, naudojant mitybinę Noriso agarą terpę su fitohormonais heteroauksinu ir kinetinu.

Fitohormonų buvo parinkta optimali koncentracija Noriso terpėje – 10^{-6} M [9]. Gumbelinių bakterijų kamienai buvo auginami Petri lėkštelėse kolonijomis 6 dienas termostate, esant 25°C temperatūrai. Kiekvieno kamieno apskaitai buvo užsėjamos ir išmatuojamos 9 kolonijos [3].

Heteroauksino (β -indolilacto rūgštis) cheminė formulė $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}_2$, kinetino – $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{ON}_5$.

Bandymuose buvo tiriami tokie *Sinorhizobium meliloti* kamienai: 425a, efektyvus, nevietinis, gautas iš Rusijos žemės ūkio mikrobiologijos instituto (Sankt Peterburgas); AL 3, efektyvus, nevietinis, išskirtas iš Australijoje (Naujasis Pietų Velsas, Augalininkystės institutas) pagaminto durpinio nitragino (atsiuntė prof. G. Griffithsas); M41, efektyvus, nevietinis, išskirtas iš JAV (Havajų universitetas) pagaminto durpinio nitragino; M1, M9, M37, 2M24 ir 2M32 įvairaus efektyvumo vietiniai kamienai, išskirti iš Lietuvoje įvairiose vietovėse augusių liucernų gumbelių. Vietovių dirvožemių agrocheminė ir mikrobiologinė charakteristika pateikta 1 lentelėje.

Raudonųjų dobilų bandymuose buvo tiriami tokie *Rhizobium trifolii* bakterijų kamienai: 348a, efektyvus, nevietinis, gautas iš Rusijos žemės ūkio mikrobiologijos instituto; D2, efektyvus, nevietinis, išskirtas iš Australijoje pagaminto durpinio nitragino; R165, efektyvus, nevietinis, išskirtas iš JAV pagaminto nitragino; R91, R99, efektyvūs, vietiniai, iš-

skirti iš Šakių ir Kėdainių dirvožemių (jų charakteristiką žr. 1 lentelėje). Kamienai – mutantai: 3RM5, efektyvus; 5RM3, mažai efektyvus; 8RM1, efektyvus. Visi mutantai sukurti Vėžaičių filiale, veikiant pradinį kamieną R91 ultravioletiniais spinduliais. Mutantų kūrimo metodai, sąlygos ir jų efektyvumo duomenys plačiau aprašyti [11].

Vegetaciniai bandymai buvo daromi Mitčerlicho tipo vegetaciniuose induose, pakraunant po 6,5 kg dirvožemio, persijoto per 10 mm akutes turintį sieta. Dirvožemis buvo tręšiamas pagal A. Sokolovą, išberiant po $0,15 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ dirvožemio fosforo (P_2O_5) ir kalio (K_2O) K_2HPO_4 bei KH_2PO_4 trąšų pavidalu.

Sėjos metu atitinkamų variantų sėkla buvo inokuliuojama gumbelinių bakterijų kamieno ne senesne kaip 10–12 dienų kultūra. Bandymai buvo daromi 4 pakartojimais ir baigiami, sužydus augalams.

Iš visų pakartojimų atsitiktine tvarka atrinkus 10 šaknų, buvo suskaičiuojami kiekvienos šaknies gumbeliai.

Antžeminės dalies kiekvieno varianto visų pakartojimų jungtiniame bandinyje buvo nustatomas bendro azoto (žaliųjų baltymų) procentas Kjeldalio metodu.

Lauko bandymai buvo atliekami, vadovaujantis Lietuvos žemdirbystės institute galiojančia lauko bandymų metodika.

Paskutinį kartą akėjant prieš sėją buvo įterpiamos visame plote pakrikai išbertos mineralinės fosforo ir kalio trąšos $\text{P}_{60}\text{K}_{60}$. Mėlynžiedės liucernos 'Žydrūnė' (20 kg/ha) ir raudonieji dobilai 'Liespna' (16 kg/ha) buvo sėjama į antsėlinius miežius 'Roland', kurių sėklos norma – 220 kg/ha.

Sėklų inokuliacijos titras – apie $600 \cdot 10^9$ grynų *Rhizobium* vienam hektarui sėklos kiekio.

Apskaitinių laukelių dydis – 18 m^2 , pakartojimai – 4; variantai išdėstyti pakartojimuose atsitiktine tvarka.

1 lentelė. Liucernų ir raudonųjų dobilų, iš kurių išskirti gumbelinių bakterijų vietiniai kamienai, augimviečių charakteristika

Kamieno Nr. ir ankštinių augalų augimvietė	pH_{KCl}	Dirvožemio agrocheminė charakteristika					<i>Rhizobium</i> skaičius $\times 10^3 \text{ g}$ dirvože- mio
		hidrol. rūgštumas	bazu- mas	pasotinimo bazėmis laipsnis %	judr.	judr.	
					P_2O_5	K_2O	
		m.e.kg dirvožemio			mg/kg dirvožemio		
<i>S. meliloti</i>							
M1, Dūkštas	6,7	3,4	381,6	99,1	142	106	250
M9, Šiauliai	7,0	4,4	376,7	98,8	176	60	200
M37, Marijampolė	6,4	10,9	203,0	94,9	600	123	700
2M24, Zarasai	6,3	4,3	378,9	98,9	90	150	200
2M32, Ukmergė	6,1	6,5	89,4	93,2	149	86	130
<i>R. trifolii</i>							
R91, Šakiai	6,8	5,0	340,0	98,6	500	340	200
R99, Dotnuva	6,6	5,0	179	97,3	188	183	2500

Dirvožemis velėninis jaurinis glėjiškas lengvas priemolis (pagal tarptautinę klasifikaciją – tipingas pasotintasis balkšvažemis, JIb2), kalkintas viena norma dulkių klintmilčių pagal dirvožemio hidrolizinių rūgštumą. Jo agrocheminė charakteristika: pH_{KCl} 5,2–6,0, humusingumas 1,82–2,08%, fosforingumas 85–220, kalingumas 217–322 mg/kg dirvožemio.

Žalieji baltymai buvo nustatomi Kjeldalio metodu grynų ankštinių žolių jungtiniame variante mėginyje.

Bandymo ploto dirvožemio savybėms nustatyti prieš sėją buvo sudaromi armens (20 cm sluoksniu) du jungtiniai mėginiai iš 20 mėginių kiekvienas. Agrocheminės analizės buvo atliekamos Lietuvos žemdirbystės institute galiojančiais metodais.

TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

Fitohormonų įtaka *Rhizobium* kamienų biomasės augimui. *S. meliloti* kamienai sudarė 6,9 mm skersmens kolonijas, auginant 6 paras terpėje be fitohormonų (2 lentelė). Didžiausiomis kolonijomis – 9,7 mm skersmens augo vietinis kamienas M37, kuris dydžiu pranašesnis nei vietinio kamieno 425a kolonijas 2,6 mm, arba 27%. Palyginus nevietinius (425a, A13 ir M41) su vietinių kamienų (M1, M9, M37, 2M32) kolonijomis, pastarosios buvo vidutiniškai 0,3 mm didesnės.

2 lentelė. Fitohormonų įtaka *S. meliloti* ir *R. trifolii* kamienų biomasės augimui

Vėžaičiai, 1991–1996 m.			
Kamienas	Kolonijų skersmuo mm		
	be fitohormonų	heteroauksinas	kinetinas
<i>S. meliloti</i>			
425a	7,1	7,9	7,9
AL3	6,2	6,5	6,5
M41	6,8	6,2	8,0
M1	6,0	6,7	6,8
M9	6,2	6,4	6,4
M37	9,7	10,0	11,0
2M24	6,9	7,1	7,3
2M32	6,2	6,8	6,3
R ₀₅		0,3	
<i>R. trifolii</i>			
348a	8,8	9,3	8,7
D2	9,4	8,5	10,1
R165	9,4	10,0	10,0
R91	9,2	8,9	9,4
R99	8,8	8,4	9,1
3RM5	9,7	9,5	10,2
5RM3	7,8	7,3	9,3
8RM1	8,8	9,0	8,3
R914P	7,5	7,6	8,1
R ₀₅		0,4	

Heteroauksinas skatino liucernų gumbelinių bakterijų augimą, išskyrus kamieną M41, kurio kolonijos nuo fitohormono sumažėjo net 0,6 mm. Labiausiai heteroauksinas skatino kamienų 425a ir M1 augimą.

Kinetinas kai kuriuos kamienus (M37 ir M41) skatino labiau, negu heteroauksinas. Tačiau daugumai kamienų abiejų fitohormonų veikimas buvo panašus.

R. trifolii kamienai be fitohormonų augo vidutiniškai 8,8 mm skersmens kolonijomis, kurios buvo 28% stambesnės, negu liucernų bakterijų. Skirtingi dobilų bakterijų kamienai augo nevienodo dydžio kolonijomis. Didesnes kaip 9 mm skersmens kolonijas sudarė kamienai: D2, R91, 3RM5 ir R165.

Auginant dobilų bakterijas terpėje su heteroauksinu, kamienų kolonijų dydis vidutiniškai nepakito. Tačiau kamienai 348 ir R165 į šį fitohormoną reagavo teigiamai.

Kinetinas dauguma atvejų skatino dobilų gumbelinių bakterijų augimą. Nuo šio fitohormono didžiausias, per 10 mm skersmens, kolonijas sudarė kamienai D2, 3RM5 ir R165, esant kontrolinės terpės kolonijoms – 9,4–9,7 mm. Tokiu būdu kinetinas labiau skatino mažesnio biologinio aktyvumo kamienų biomasės augimą.

Fitohormonų įtaka *S. meliloti* kamienų efektyvumui. *Vegetaciniai bandymai.* Auginant liucernas be fitohormonų, iš tirtų kamienų veiksmingiausias buvo 2M24, padidinęs augalų sausųjų medžiagų derlių 1,6 g/indo, arba 1%, palyginti su kontrole (3 lentelė). Nuo heteroauksino kamienų A13 ir 425a veiksmingumas padidėjo 17 ir 18%. Kinetinas didino visų trijų kamienų efektyvumą 11–13%. Skatinantį tiarmino poveikį gumbelinėms bakterijoms stebėjome anksčiau nei liucernų ir dobilų bandymuose [3]. Liucernų baltymingumą skatino tik vienas kamienas 2M24. Tačiau abu fitohormonai dauguma atvejų žaliųjų baltymų mažino tiek neinokuliuotuose, tiek inokuliuotuose augaluose.

Žaliųjų baltymų masė padidėjo 0,56 g/indo, inokuliuojant kamieniu 2M24 ir nenaudojant fitohormonų bei kamienais 425a ir AL3 kartu su heteroauksinu. Kinetinas neturėjo įtakos baltymų susikaupimui derliuje.

Liucernų inokuliacija teigiamai veikė augalų gumbelių susiformavimą. Didžiausiu virulentiškumu išsiskyrė kamienas 2M24, nuo kurio gumbelių skaičius išaugo net 53%, palyginti su neinokuliuotais augalais.

Heteroauksinas skatino tik AL3 kamieną, o kinetinas – tik spontaninių gumbelinių bakterijų virulentiškumą.

Apskritai augalo gumbelių skaičius parodo simbiozės sąlygas. Paprastai daugiau gumbelių sudarantys augalai daugiau fiksuoja atmosferos azoto [2, 6].

3 lentelė. Fitohormonų įtaka <i>S. meliloti</i> kamienų efektyvumui					
Vėžaičiai, 1991–1994 m.					
Variantas	Sausųjų medžiagų derlius		Žalieji baltymai		Augalo gumbelių skaičius
	g/indo	santyk. sk.	%	g/indo	
Be fitohormonų					
Neinokuliuota	11,0	100	16,23	1,78	12,5
Kamienai:					
425a	12,0	109	15,61	1,87	15,6
AL3	10,8	98	16,33	1,76	14,3
2M24	12,6	114	17,40	2,19	19,1
Heteroauksinas					
Neinokuliuota	10,0	100	13,49	1,35	13,9
Kamienai:					
425a	14,2	142	16,75	2,38	17,6
AL3	12,6	126	17,22	2,17	17,7
2M24	13,4	134	16,03	2,15	17,6
Kinetinas					
Neinokuliuota	10,9	100	11,65	1,27	15,9
Kamienai:					
425a	13,3	122	14,74	1,96	17,4
AL3	12,2	112	15,27	1,86	16,3
2M24	14,1	129	14,49	2,04	20,3
R ₀₅	1,3				2,7

Lauko bandymuose simbiozės efektyvumą geriausiai parodo botaniškai grynų ankštinių augalų sausųjų medžiagų derliaus pokyčiai nuo inokuliacijos ar kitų priemonių [3, 10].

Augalus auginant be fitohormonų, liucernoms veiksmingiausias buvo 2M24 kamienas, nuo kurio gautas sausųjų medžiagų derliaus priedas 0,74 t/ha (4 lentelė). Kiti, 425a ir AL3, kamienai buvo kiek mažiau veiksmingi.

Pažymėtina, kad lauko bandymuose heteroauksinas nedavė laukiamų rezultatų liucernoms. Matyt, spontaninės gumbelinės bakterijos ir inokuliacijai panaudoti gumbelinių bakterijų kamienai pakankamai sintetino šį fitohormoną augaluose.

Žaliųjų baltymų susikaupimą liucernų derliuje teigiamai veikė tik AL3 kamienas.

Heteroauksinas skatino žaliųjų baltymų kaupimąsi neinokuliuotų augalų derliuje (1,03 proc. vnt.). Inokuliuotų ir heteroauksinu paveiktų liucernų žaliųjų baltymų (%) buvo vienodai. Tokiu būdu žaliųjų baltymų masės pokyčiai iš esmės atitiko derliaus pokyčius.

Ekonominiu požiūriu daugiausia grynųjų pajamų gauta inokuliuojant

augalus gumbelinių bakterijų kamienais: 2M24, AL3 ir 425a (atitinkamai 99,3; 92,3 ir 89,5 Lt/ha).

Veikiant neinokuliuotas liucernas heteroauksinu, ekonominis efektas buvo kur kas mažesnis – 40,2 Lt/ha. Inokuliuojant augalus gumbelinių bakterijų 425a ir M41 kamienais, nuo fitohormono grynosios pajamos tesudarė atitinkamai 24,8 ir 20,6 Lt/ha. Tuo tarpu AL3 ir 2M24 kamienų fone heteroauksino naudojimas buvo netgi nuostolingas.

Taigi auginant liucernas, pelningiausia jas inokuliuoti veiksmingais gumbelinių bakterijų kamienais be heteroauksino. Dėl heteroauksino gauta palyginti nedaug grynųjų pajamų (40,2 Lt/ha), kai liucernos buvo sėjamos neinokuliuotos.

Fitohormonų įtaka *R. trifolii* kamienų efektyvumui. Vegetaciniai bandymai. Be fitohormonų, raudoniesiems dobilams buvo efektyvus tik vienas gumbelinių bakterijų kamienas R99 (5 lentelė). Nuo jo gautas 16% derliaus priedas. Heteroauksinas skatino *Rhizobium trifolii* mutanto 8RM1 efektyvumą. Tuo tarpu bakterijų kamienams heteroauksinas nebuvo veiksmingas.

Daugelio autorių nuomone, gumbelinių bakterijų mutantų genomai dažnai būna defektuoti kokia nors fiziologine funkcija, dėl kurios mutantas nepajėgia susintetinti būtiniausių fermentų, fitohormonų, vitaminų [5, 11].

4 lentelė. <i>S. meliloti</i> kamienų ir heteroauksino derinimo įtaka liucernų derliui, jo baltymingumui ir ekonominiam efektyvumui					
Vėžaičiai, 1996–1999 m.					
Variantas	Sausųjų medžiagų derlius t/ha	Liucernų % žolyne	Žalieji baltymai		Grynosios pajamos Lt/ha
			%	kg/ha	
Be fitohormonų					
Neinokuliuota	5,76	93,2	14,67	845	–
Kamienai:					
425a	6,44	89,4	13,60	876	89,5
M41	6,36	86,4	15,31	974	75,5
AL3	6,46	91,5	15,63	1010	92,3
2M24	6,50	92,0	14,98	966	99,3
Heteroauksinas					
Neinokuliuota	6,00	90,1	15,70	942	40,2
Kamienai:					
425a	6,59	89,8	14,78	974	44,3
M41	6,48	91,9	14,32	928	96,1
AL3	6,18	88,8	14,21	878	44,3
2M24	6,31	88,1	14,28	901	66,7
R ₀₅	0,71	3,6	0,78	88	9,1

5 lentelė. Fitohormonų įtaka <i>R. trifolii</i> kamienų efektyvumui					
Vėžaičiai, 1991–1994 m.					
Variantas	Sausųjų medžiagų derlius		Žalieji baltymai		Augalo gumbelių skaičius
	g/indo	santyk. sk.	%	g/indo	
Be fitohormonų					
Neinokuliuota	17,1	100	16,40	2,80	260
Kamienai:					
348a	18,0	105	16,88	3,04	346
R99	19,8	116	17,42	3,45	276
8RM1	17,0	99	16,42	2,70	433
Heteroauksinas					
Neinokuliuota	17,4	100	13,40	2,33	3,74
Kamienai:					
348a	17,6	101	14,94	2,63	320
R99	19,2	110	16,44	3,16	377
8RM1	19,1	110	16,43	3,14	338
Kinetinas					
Neinokuliuota	19,1	100	16,67	3,18	294
Kamienai:					
348a	19,2	101	16,61	3,19	319
R99	18,8	98	17,69	3,32	319
8RM1	17,2	90	16,72	2,88	522
R ₀₅	2,1				15

Kinetinas padidino tik spontaninių gumbelių bakterijų efektyvumą, t. y. buvo veiksmingas neinokuliuotiems augalams. Inokuliuoti augalai į kinetiną nereagavo.

Žaliųjų baltymų sintezė dobiluose priklausė nuo gumbelių bakterijų kamieno ir fitohormono. Derinant inokuliaciją kamieniu R99 arba mutantu 8RM1 su heteroauksinu, žaliųjų baltymų padaugėjo atitinkamai 3,04 ir 3,03 proc. vnt., palyginti su neinokuliuotais, bet heteroauksinu apdorotais augalais. Šių baltymų bendroji masė padidėjo atitinkamai 36 ir 35%.

Raudonieji dobilai savo šaknyse suformavo vidutiniškai 20 kartų daugiau gumbelių, negu liucernos. Dobilus sėjant be fitohormonų, visi inokuliacijai naudoti kamienai (mutantai) didino augalo gumbelių skaičių. Ypač dideliu virulentiškumu išsiskyrė 8RM1 mutantas, nuo kurio gumbelių skaičius augale išaugo net 66%, palyginti su kontrole.

Fitohormonai labiausiai skatino neinokuliuotų dobilų gumbelių formavimąsi: nuo heteroauksino gumbelių skaičius išaugo 44%, o nuo kinetino – 13%.

Inokuliuojant dobilus heteroauksinas didino tik R99 kamieno virulentiškumą, t. y. mažiau virulentiško

kamieno. Panašiai skatino ir kinetinas. Tačiau gauti ir kiek nelaukti rezultatai, kai dideliu virulentiškumu išsiskyręs mutantas 8RM1 nuo kinetino dar padidino virulentiškumą 89 gumbeliais augalui, arba 20% daugiau, negu kontroleje.

Lauko bandymai. Raudonųjų dobilų inokuliacija davė statistiškai patikimus derliaus priedus, taikant 348a kamieną (0,72 t/ha) ir R99 kamieną (0,70 t/ha). Kiti kamienai nebuvo veiksmingi dobilams (6 lentelė).

Į heteroauksiną teigiamai reagavo vienintelis R99 kamienas, padidinęs derlių 0,95 t/ha.

Dobilų baltymingumas nuo inokuliacijos dauguma atvejų nedidėjo. L. Materono ir C. Hagedorno nuomone, nėra aiškaus gumbelių bakterijų kamienų efektyvumo ir ankštinių augalų derliaus baltymingumo ryšio [4].

Heteroauksinas skatino neinokuliuotų dobilų baltymingumą, taip pat jau minėto D2 kamieno teigiamą poveikį šių medžiagų susikaupimui. Abiem atvejais dobilų žaliųjų baltymų padaugėjo atitinkamai 0,86 ir 1,36 proc. vnt.

Raudonųjų dobilų inokuliacija 348a ir R99 kamienais teigiamai veikė žaliųjų baltymų derlių. Pirmuoju atveju baltymų derlius sudarė 961 kg/ha, antruoju – 902 kg/ha, arba nuo inokuliacijos gautas šių medžiagų derliaus priedas atitinkamai 147 ir 88 kg/ha. Inokuliacija kitais kamienais (R165 ir D2) buvo neveiksminga žaliųjų baltymų masės prieaugiui.

6 lentelė. <i>R. trifolii</i> kamienų ir heteroauksino derinimo įtaka raudonųjų dobilų derliui, jo baltymingumui ir ekonominiam efektyvumui					
Vėžaičiai, 1996–1999 m.					
Variantas	Sausųjų medžiagų derlius t/ha	R. dobilų % žolyne	Žalieji baltymai		Grynosios pajamos Lt/ha
			%	kg/ha	
Be fitohormonų					
Neinokuliuota	5,90	90,1	13,80	814	–
Kamienai:					
348a	6,62	91,6	14,32	961	92,10
R165	6,14	92,2	13,88	852	13,85
D2	6,32	90,2	12,90	815	42,20
R99	6,60	92,2	13,67	902	88,10
Heteroauksinas					
Neinokuliuota	6,70	90,4	14,66	982	129,20
Kamienai:					
348a	7,32	95,9	13,33	976	205,15
R165	7,14	93,9	14,05	1003	175,45
D2	7,32	94,2	14,26	1044	205,15
R99	7,65	94,0	13,12	1004	259,15
R ₀₅	0,66	4,0	1,34	117	13,11

7 lentelė. Gumbelinių bakterijų efektyvumo (t/ha, x) ir aplinkos sąlygų (y) ryšys, naudojant heteroauksiną ir be jo

Sąlygos	Heteroauksinas	Regresijos lygtis	η	$\eta_{95}\%$
<i>S. meliloti</i>				
HTK	0	$-24,87+29,950 x -8,4989 x^2$	0,785	0,166
	+	$19,72-22,496 x -6,3353 x^2$	0,672	0,198
pH _{KCl}	0	$-64,56+23,945 x -2,1896 x^2$	0,560	0,222
	+	$21,57-7,709 x +0,7024 x^2$	0,249	0,259
Humusas%	0	$271,94-276,618 x +70,2323 x^2$	0,806	0,158
	+	$-86,17+87,853 x -22,1656 x^2$	0,531	0,227
P ₂ O ₅ mg/kg	0	$-53,94+1,260 x -0,0090 x^2+0,00002 x^3$	0,849	0,141
	+	$28,30-0,647 x +0,0046 x^2-0,00001 x^3$	0,617	0,210
K ₂ O mg/kg	0	$-9,48+0,079 x -0,00015 x^2$	0,486	0,234
	+	$4,89-0,033 x +0,000061 x^2$	0,244	0,259
<i>R. trifolii</i>				
HTK	0	$14,09-17,194 x +5,2368 x^2$	0,749	0,177
	+	$14,33-17,484 x +5,3235 x^2$	0,750	0,177
pH _{KCl}	0	$61,90-23,112 x +2,1648 x^2$	0,697	0,192
	+	$192,96-66,971 x +5,8108 x^2$	0,816	0,155
Humusas %	0	$-364,18+375,238 x -96,1652 x^2$	0,725	0,184
	+	$132,53-133,151 x+33,4430 x^2$	0,324	0,253
P ₂ O ₅ mg/kg	0	$4,01-0,043 x +0,00012 x^2$	0,745	0,178
	+	$133,01-3,147 x +0,0231 x^2-0,00005 x^3$	0,822	0,152
K ₂ O mg/kg	0	$1,46-0,016 x+0,00005 x^2$	0,752	0,176
	+	$41,44-0,295 x+0,00052 x^2$	0,842	0,144

Heteroauksinas dauguma atvejų teigiamai veikė žaliųjų baltymų derlių. Nuo šio fitohormono padidėjo D2, R165 ir R99 kamienų efektyvumas. Heteroauksinas skatino ir neinokuliuotų dobių žaliųjų baltymų derlių.

Inokuliacijos ir fitohormonų derinimo ekonominė analizė parodė, kad daugiausia grynųjų pajamų (atitinkamai 92,10 ir 88,10 Lt/ha) gauta inokuliacijai naudojant 348a ir R99 kamienus. Kadangi heteroauksino preparato agronominis efektyvumas buvo didelis, jo deriniai su gumbelinių bakterijų kamienais buvo veiksmingi ir ekonominiu požiūriu. Priklausomai nuo panaudoto kamieno, inokuliuojant ir heteroauksinu apdorojant dobius, grynosios pajamos buvo skaičiuojamos nuo 113,05 iki 171,05 Lt/ha. Vienas heteroauksinas be inokuliacijos buvo pakankamai veiksmingas ir nuo jo gauta 129,2 Lt/ha grynųjų pajamų.

Rhizobium kamienų efektyvumo, fitohormonų veiksmingumo ir ekologinių sąlygų ryšys. Koreliacinė-regresinė analizė išaiškinta, kad liucernų ir dobių gumbelinių bakterijų efektyvumas, nepriklausomai nuo fitohormonų panaudojimo, buvo glaudžiai susietas su oro drėgmės režimu, apskaičiuotu pagal hidrotėmimo koeficientą (HTK). Paprastai didėjant oro drėgmės režimui, didėdavo ir šių bakterijų simbiotinis efektyvumas (7 lentelė).

Dirvožemio reakcija, humusas ir judrieji fosforo bei kalio junginiai yra laikomi vienais svarbiausių ekologinių veiksnių gumbelinių bakterijų efektyvumui [3, 7, 8]. Tyrimuose didžiausias šių bakterijų

inokuliacijos efektyvumas užfiksuotas, kai dirvožemio pH_{KCl} 5,0. Mažėjant rūgščiai reakcijai iki pH_{KCl} 6,0, mažėjo ir inokuliacijos efektyvumas.

Panašūs kamienų veiksmingumo pokyčiai nustatyti ir didėjant dirvožemių humusingumui nuo 1,82 iki 2,08%, fosforingumui nuo 85 iki 220 ir kalkingumui nuo 217 iki 322 mg/kg dirvožemio.

Pažymėtina, kad be heteroauksino liucernų gumbelinių bakterijų kamienų efektyvumo ir ekologinių sąlygų koreliaciniai ryšiai buvo kur kas glaudesni, kaip naudojant heteroauksiną.

Ir atvirkščiai, dobių gumbelinių bakterijų efektyvumas labiau priklausė nuo aplinkos ekologinių sąlygų, kai bakterijos buvo naudojamos kartu su heteroauksinu.

IŠVADOS

1. Velėniniame jauriniame glėjiškame lengvo priemolio dirvožemyje (pagal tarptautinę klasifikaciją – tipingas pasotintasis balkšvažemis), auginant liucernas be fitohormonų, veiksmingiausias gumbelinių bakterijų kamienas buvo 2M24 (sausųjų medžiagų derliaus priedas – 0,74 t/ha). Raudonųjų dobių derlių labiausiai didino du kamienai: 348a ir R99 (derliaus priedai – po 0,70 t/ha).

2. Heteroauksinas skatino liucernų gumbelinių bakterijų kamienų biomasės augimą iki 12% ir neturėjo įtakos šių bakterijų efektyvumui lauko bandymuose.

3. Nuo heteroauksino didėjo dobilų gumbelinių bakterijų visų kamienų efektyvumas 0,70–1,05 t/ha ir žaliųjų baltymų masės prieaugis 102–229 kg/ha.

4. Koreliacinės-regresinės analizės duomenimis, abiejų rūšių gumbelinių bakterijų kamienų didžiausias inokuliacijos efektyvumas nustatytas, kai dirvožemio pH_{KCl} 5,0. Mažėjant dirvožemio rūgštumui iki pH_{KCl} 6,0, nuosekliai mažėjo ir kamienų efektyvumas.

Panašūs augalų inokuliacijos efektyvumo pokyčiai nustatyti ir didėjant dirvožemio humusingumui, fosforingumui bei kalingumui.

5. Auginant liucernas, daugiausia grynųjų pajamų gauta inokuliacijos efektyviais gumbelinių bakterijų kamienais 2M24, AL3 ir 425a be heteroauksino. Heteroauksiną vartoti ekonomiškai apsimokėjo, sėjant neinokuliuotas liucernas.

6. Raudoniesiems dobilams visi inokuliacijos ir heteroauksino deriniai buvo ekonomiškai efektyvūs ir grynosios pajamos sudarė nuo 113,05 iki 171,05 Lt/ha.

Gauta
2001 10 12

Literatūra

- Hungria M., Stacey G. Molecular signals exchanged between host plants and rhizobia: basic aspects and potential application in agriculture // *Soil Biology and Biochemistry*. 1997. Vol. 29, N 5–6. P. 819–830.
- Kosenko L. V., Antipchuk A. F., Rangelova V. N. Influence of exopolysaccharides from *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* on formation and efficiency of pea symbiosis with homologous nodule bacteria // *Microbiologia*. 1995. Vol. 64(2). P. 205–210.
- Lapinskas E. Biologinio azoto fiksavimas ir nitraginas. Akademija, 1998. 218 p.
- Materon L. A. and Hagedorn C. Responses of crimson clover to inoculation with genetically marked strains of *Rhizobium trifolii* // *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 1984. Vol. 15, N 1. P. 33–45.
- Shukla R. S., Singh S. B., Dubey J. N. Induced genetic variability in *Rhizobium leguminosarum* for nitrogen fixation parameters in *Vicia faba* L. // *Theoretical and Applied Genetics*. 1989. Vol. 78. N 3. P. 433–435.
- Thomas J., Palaniappan Sp., Hopper W. et al. Development of *Rhizobium* and *Azospirillum* inoculants with enhanced potential for field application // *Nitrogen fixation: Fundamentals and Applications // Proceedings of the 10th International Congress on nitrogen fixation*. St. Petersburg, 1995. P. 659–664.
- Thornton F. C. and Davey C. B. Saprophytic competence of acid tolerant strains of *Rhizobium trifolii* in acid soils // *Plant and Soil*. 1984. Vol. 80. P. 337–344.
- Волобуева О. Г., Шильникова В. К. Использование природных регуляторов роста в повышении эффективности бобоворизобияльного симбиоза // Биоло-

гический азот в растениеводстве. Москва, 1996. С. 1262–1281.

- Грудене Я. П. Фитогормоны и эффективность клубеньковых бактерий // *Микробиологические процессы в почвах и урожайность с.-х. культур*. Вильнюс, 1986. С. 92–94.
- Коць С. Я., Голик К. Н. Интенсивность фотосинтеза и дыхания люцерны при формировании эффективного симбиоза // 9-ый Баховский коллоквиум по азотфиксации. Пушино, 1995. С. 108.
- Лапинскас Э. Б. Эффективность мутантов клубеньковых бактерий в посеве клевера, полученных под воздействием многократного ультрафиолетового облучения // *Микробиология*. 1985. Т. 54, № 4. С. 651–655.
- Наумов Г. Ф., Кисель М. С. Биологическая стимуляция семян зернобобовых культур и ее эффективность в повышении урожайности зерна и фиксации атмосферного азота // Доклады Второй всесоюзной научной конференции СОИСаФ. Калуга, 1991. С. 76–79.
- Сабельникова В. И. Симбиотическая азотфиксация и ее физиолого-биохимические основы // *Известия АН Молдавской ССР. Сер. Биол. и химич. науки*. 1979. № 6. С. 12–20.
- Чеботарь Н. И., Пароменская Л. Н., Круглов Ю. В. и др. Средство для повышения симбиотической фиксации атмосферного азота у бобовых растений // *Авт. свидетельство № 702942*, 1981. М. Кл³ А 01 N 33/00.

Edmundas Lapinskas

IMPACT OF PHYTOHORMONES ON *SINORHIZOBIUM MELILOTI* AND *RHIZOBIUM TRIFOLII* EFFICIENCY

S u m m a r y

In 1991–1999, in the Vėžaičiai Branch of Lithuanian Institute Agriculture laboratory, pot and field experiments were carried out. Field trials were arranged in light loam slightly podzolized arthric podzol (pH_{KCl} 5.2–6.0).

It was established that the phytohormone b-indolil-acetic acid (heteroauxin) stimulated the biomass growth of *S. meliloti*, while kinetin stimulated only *R. trifolii*.

Heteroauxin had a positive effect on the efficiency of *S. meliloti* in pot experiments and was of no importance in field trials. Heteroauxin stimulated the efficiency of all strains of *R. trifolii*; the extra dry matter yield was 0.70–1.05 t/ha.

The both phytohormones increased the number of legume nodules in smaller virulence strains of clover bacteria from 16 to 36% and kinetin increased the number of nodules in not inoculated lucerne by 14%.

A correlation-regression analysis showed that most efficient inoculation of lucerne and clover was obtained at soil pH_{KCl} 5.0. A decrease of soil acidity to pH_{KCl} 6.0 lead to a gradual decrease of the efficiency of all strains.

Analogous changes of strains efficiency were observed on increasing the amount of soil humus, labile phosphorus and potassium.

Key words: *Rhizobium* strains, phytohormones, bacterial biomass, symbiotic efficiency, lucerne, clover

Эдмундас Лапинскас

**ВЛИЯНИЕ ФИТОГОРМОНОВ НА
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ШТАММОВ
SINORHIZOBIUM MELILOTI И *RHIZOBIUM
TRIFOLII***

Резюме

В 1991–1999 гг. в Вежайчском филиале Литовского института земледелия проводились лабораторные, вегетационные и полевые опыты. Полевые опыты закладывались на дерново-подзолистом глееватом легком суглинке (pH_{KCl} 5,2–6,0).

Установлено, что фитогормоны β -индолил-уксусная кислота (гетероауксин) и кинетин в конц. 10^{-6} оказали стимулирующее действие на рост биомассы клубеньковых бактерий люцерны (*S. meliloti*), а кинетин – на рост бактерий клевера (*Rhizobium trifolii*).

Гетероауксин положительно сказывался на эффективность штаммов бактерий люцерны в вегетационных опытах и не оказал явного влияния в полевых опытах.

При инокуляции клевера лугового гетероауксин стимулировал эффективность всех штаммов клубеньковых

бактерий, обеспечивая прибавки урожая сухих веществ на 0,70–1,05 т/га.

Гетероауксин и кинетин увеличивали число клубеньков у мало вирулентных штаммов клубеньковых бактерий на 16–36%, а кинетин – у неинокулированной люцерны на 14%.

На основе данных анализа корреляционной регрессии подсчитана наивысшая эффективность инокуляции люцерны и клевера при pH_{KCl} почвы 5,0. Со снижением ее кислотности до pH_{KCl} 6,0 постепенно снижалась и эффективность инокуляции всеми штаммами.

Аналогичные изменения эффективности инокуляции растений наблюдались и при увеличении в почве содержания гумуса, подвижных фосфора и калия.

Наибольшее чистое дохода (113,05–171,05 литов/га) получено при инокуляции клевера эффективными штаммами клубеньковых бактерий в сочетании с обработкой семян гетероауксином.

Ключевые слова: *Rhizobium*, штаммы, фитогормоны, бактериальная биомасса, симбиотическая эффективность, люцерна, клевер