

Dirvožemio sąlygų reikšmė *Rhizobium galegae* kamienų azoto fiksacijai

Edmundas Lapinskas

Lietuvos žemdirbystės instituto,
Vėžaičių filialas, Gargždų g. 29,
LT-96216 Vėžaičiai, Klaipėdos rajonas,
el. paštas filialas@vezaiciai.lzi.lt

Vakarų Lietuvos nepasotintame giliau glėžiškame balkšvažemyje ir pajaurėjusiame giliau glėžiškame išplautžemyje (pH_{KCl} 4,0–6,5) buvo daromi vegetaciniai ir lauko bandymai, nustatant gumbelinių bakterijų skirtingos ekologinės adaptacijos kamienų, mineralinio azoto (pradinė dozė) ir fosforo bei kalio junginių reikšmę ožiarūčių simbiotinio azoto fiksacijai.

Tyrimų duomenimis, ožiarūčių inokuliacijos efektyvumą lemia ne gumbelinių bakterijų kamieno ekologinė adaptacija (geografinė prigimtis), bet jo fiziologinės savybės, svarbiausia – simbiotinis efektyvumas, kurį sudarė, skaičiuojant augalų sausųjų medžiagų derliaus priedu, 0,74–3,17 t ha⁻¹.

Efektiviūs gumbelinių bakterijų kamienai gali visiškai patenkinti ožiarūčių azoto poreikius ir pradinis azotas nereikalingas. Auginant neinokuliuotus ožiarūčius arba inokuliuojant ne specifinėmis gumbelinėmis bakterijomis (asociatyvi azoto fiksacija) pradinė azoto dozė (N_{30}) buvo veiksminga simbiozei.

Derinant ožiarūčių inokuliaciją kamieniu G4 su vidutine fosforo ir kalio trąšų doze ($P_{60}K_{60}$), sukaupta daugiausia (213,3 kg N ha⁻¹) simbiotinio azoto ir našiausiai buvo panaudojamos PK trąšos azoto fiksacijai; už vieną kg PK fiksuota 5,08 kg N.

Azotą fiksuojančio fermento nitrogenazės didžiausias aktyvumas (6,84 $\mu M N_2 g^{-1}$ šaknų h⁻¹) nustatytas, inokuliuojant ožiarūčius kamieniu 812 ir visiškai netręšiant PK trąšomis. Neinokuliuotų augalų aktyviausia nitrogenazė buvo gausiai tręšiant ($P_{40}K_{60}$ ir $P_{80}K_{120}$ mg kg⁻¹).

Aplinkos veiksniai (vegetacijos laikotarpio HTK ir dirvožemio agrocheminės savybės) darė didesnę poveikį neinokuliuotų ožiarūčių ($\eta = 0,63^* - 0,74^{**}$) ir ženkliai mažesnę poveikį inokuliuotų augalų ($\eta = 0,39 - 0,57$) simbiotinio azoto fiksacijai.

Raktažodžiai: *Rhizobium galegae* L., kamienai, efektyvumas, azoto fiksacija, pradinis azotas, PK trąšos

IVADAS

Gumbelinių bakterijų savybė fiksuoti atmosferos azotą simbiozėje su ankštiniais augalais vadinama efektyvumu arba veiksmingumu. Efektyvūs gumbelinių bakterijų kamienai stimuliuoja augalo augimą dar iki gumbelių susiformavimo [6]. Daugelio mikrobiologų nustatyta, kad ekologinėms sąlygoms adaptuoti arba vietiniai gumbelinių bakterijų kamienai sudaro veiksmingesnę simbiozę su ankštiniais augalais [26]. Tai patvirtina ir mūsų ankstesnių liucernų, raudonųjų dobilų, pašarinių pupų bei vasarinių vikių inokuliacijos tyrimų rezultatai, kur ekologiškai adaptuoti kamienai buvo atitinkamai: 18,8; 12,2; 16,6 ir 13,5% veiksmingesni, negu atvežtiniai kamienai [10]. Paprastai auginant ankštinius optimaliomis arba joms artimomis sąlygomis, efektyvią simbiozę lemia ne gumbelinių bakterijų prigimtis, bet jų fiziologinės savybės ir pirmiausia – simbiotinis efektyvumas. Tačiau su-

sidarius nepalankioms sąlygoms (dirvožemio rūgšti reakcija, maža maisto medžiagų, kiti stresiniai veiksniai), neadaptuoti gumbelinių bakterijų kamienai dažniausiai nesuformuoja efektyvios simbiozės, nors fiziologiškai jie gali būti efektyvūs [5, 11, 13]. Tačiau žinoma darbų, kurių autoriai nepatvirtino ekologinės adaptacijos reikšmės gumbelinių bakterijų simbiotiniam efektyvumui [20].

Ožiarūčių gumbelinės bakterijos (*Rhizobium galegae* L.) yra siauro specifiškumo ir užkrečia tik šios rūšies augalus. Mažai žinoma apie jų ekologinės adaptacijos reikšmę azoto fiksacijai. Šiandien nevienareikšmiai traktuojama ankštinių augalų ir jų gumbelinių bakterijų mišybą dirvožemio mineraliniu azotu. Juolab neaiškus klausimas, ar ožiarūčių gumbelinės bakterijos pajėgios visiškai patenkinti augalo azoto poreikius, ar dalį reikalingo azoto būtina padengti mineraliniu. Žinoma, kad tirpūs azoto junginiai dirvožemyje slopina gumbelinių bakterijų

azoto fiksaciją ir ankštinių augalų funkciją šiame procese [17, 25]. Vis dėlto iki susidarant efektyviems gumbeliams, neturtinguose azoto dirvožemiuose, daugelis mokslininkų siūlo labai mažas, vadinamąsias „startinio“ (pradinio) – 20–30 kg N ha⁻¹ azoto dozes [22]. Toks azoto kiekis suaktyvina augalų lapų augimą ir fotosintezės procesus bei pagreitina šaknų gumbelių susiformavimą ir nedaro neigiamo poveikio azoto fiksacijai.

Ankštinių augalų simbiozei sunku pervertinti fosforo ir kalio junginių reikšmę. Fosforas yra azotą fiksuojančių fermentų – nitrogenazės komplekso sudėtyje ir dalyvauja azoto redukcijos procese [1, 17]. Kalio junginiai tiesiogiai azoto fiksacijos procese nedalyvauja, tačiau gerina angliavandenių ir azoto junginių apykaitą ankštiniuose augaluose, stimuliuoja leghemoglobino sintezę gumbelyje ir ATP susidarymą, kurie būtini nitrogenazės veiklai [18]. JAV mažo fosforingumo dirvožemiuose baltieji dobilai fiksavo 90–103 kg N ha⁻¹, tai esant dirvožemio fosforingumui didesniau kaip 200 mg kg⁻¹, azoto buvo fiksuojama 146–167 kg ha⁻¹ [4]. G. Palaitytės lauko bandymuose, įrengtuose paprastajame išplautžemyje, didinant fosforo ir kalio trąšų dozę nuo P₀K₀ iki P₁₂₀K₁₂₀, žirnių azoto fiksacija padidėjo nuo 36 iki 58 kg N ha⁻¹, o raudonųjų dobilų – nuo 85 iki 142 kg N ha⁻¹. Nitrogenazės aktyvumas dobilų šaknyse padidėjo nuo 10,0 iki 40,3 μM N₂ g⁻¹ šaknų h⁻¹ [16].

Apskritai Lietuvoje iki šiol nebuvo daryta tyrimų, kaip fosforo ir kalio trąšos veikia gumbelių bakterijų kamienų efektyvumą ir atmosferos azoto fiksaciją.

Darbo tikslas – įvertinti ožiarūčių gumbelių bakterijų skirtingų kamienų simbiotinį efektyvumą, nustatyti pradinio azoto ir fosforo bei kalio trąšų reikšmę simbiozei.

TYRIMO SĄLYGOS IR METODAI

Ožiarūčių simbiozei apibendrinti 1987–2004 m. daryti vegetaciniai ir lauko tyrimai.

Vegetacinių bandymų dirvožemis – giliau glėjiškas nepasotintasis balkšvažemis, lengvas priemolis. Dirvožemio pH_{KCl} 4,0–6,5, bazėmis pasotinimo laipsnis – 42,7–93,6%, judrieji P₂O₅ ir K₂O – 86–239 ir 148–289 mg kg⁻¹, organinė C – 0,79–1,57%.

Lauko bandymai įrengti pajaurėjusiame giliau glėjiškame išplautžemyje, kurio pH_{KCl} 5,4–6,5, bazėmis pasotinimo laipsnis – 79,4–93,3%, judrieji P₂O₅ ir K₂O – 116–239 ir 114–252 mg kg⁻¹, organinė C – 0,96–1,52%.

Bandymuose buvo tiriami tokie ožiarūčių gumbelių bakterijų efektyvūs kamienai: 740 – gautas iš Rusijos žemės ūkio mikrobiologijos MT instituto (Sankt Peterburgas); 801, 802, 809, 811 ir 812 kamienai gauti iš Estijos žemdirbystės instituto ir G1, G3, G4, G6, G12 bei G16 buvo išskirti iš krašto dirvožemiuose augusių ožiarūčių gumbelių Lietuvos žemdirbystės instituto Vėžaičių filialo laboratorijoje.

Mitčerlicho tipo vegetaciniai indai buvo pakraunami 6,5 kg persijoto per 10 mm akutes turintį sietą dirvožemio. Prieš pakraunant indus, dirvožemis buvo

tręšiamas fosforu ir kaliumu pagal A. Sokolovą, įterpiant po 0,10 g P₂O₅ ir K₂O kg⁻¹ K₂HPO₄ ir KH₂PO₄ druskų pavidalu [2, 24]. Specialiuose tręšimo bandymuose buvo tiriamos PK dozės nuo P₀K₀ iki P₈₀K₁₂₀ mg kg⁻¹ dirvožemio. Azoto trąšomis tręšta pagal D. Prianišnikovą; vieną normą azoto sudarė 84 mg N kg⁻¹ dirvožemio amonio salietros pavidalu.

Rytinių ožiarūčių (*Galega orientalis* L.) veislė ‘Gale’ sėta UV spinduliais išsterilinta sėkla. Sėjos metu sėkla inokuluota gumbelių bakterijų ne senesne kaip 10 d. amžiaus kultūra. Augalai buvo retinami, paliekant 20 vienodo vešlumo augalų indui. Per vegetaciją augalai buvo laistomi vandentiekio vandeniu pagal reikalą.

Bandymai daryti 4–6 pakartojimais ir baigti supdydus augalams.

Simbiotinio azoto fiksacijai nustatyti lygiagrečiai ožiarūčių variantams buvo auginamos azoto nefiksuojančios varpinės žolės – daugiamečės svidrės (*Lolium perenne* L.) veislė ‘Veja’. Iš sukaupto bendrojo azoto ožiarūčių ir daugiamečių svidrių biomasėje skirtumo buvo apskaičiuojamas fiksuoto azoto kiekis pagal formulę

$$F_N = (U_N + R_N) - (U_S + R_S);$$

čia F_N – fiksuotas azotas; U_N – bendrasis azotas ankštinių augalų antžeminėje dalyje; R_N – bendrasis azotas ankštinių augalų šaknyse; U_S – bendrasis azotas varpinių augalų antžeminėje dalyje; R_S – bendrasis azotas varpinių augalų šaknyse. Visų reikšmių dimensija – mg N indo⁻¹ vegetaciniuose bandymuose arba kg N ha⁻¹ lauko bandymuose.

Fiksuoto azoto kiekis Hopkinso–Piterso būdu apskaičiuotas pagal formulę:

$$F_N = (U_N + R_N) \cdot 0,65.$$

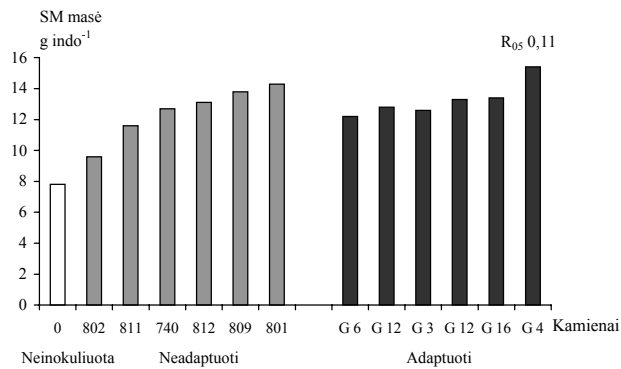
Lauko bandymai buvo vykdomi, vadovaujantis Lietuvos žemdirbystės institute priimta lauko bandymų agrotechnika. Bandymų laukelių dydis: pradinio – 28 m² (14,0 × 2,0 m) ir apskaitomojo – 18 m² (12,0 × 1,5 m). Pakartojimai 4.

Fosforo ir kalio trąšos (P₆₀K₆₀ fonas) buvo išberiamos superfosfato ir kalio druskos (chlorido) pavidalu. Rytinių ožiarūčių ‘Gale’ sėklos (35 kg ha⁻¹) buvo sėjamos į antsėlinius miežius ‘Ula’ (160 kg ha⁻¹). Pradinis azotas buvo išberiamas amonio salietros pavidalu žolių naudojimo metais anksti pavasarį, atsinaujinus žolių vegetacijai. Prieš pat sėją lauke ožiarūčių sėkla buvo inokuluojama gumbelių bakterijų suspensija, skaičiuojant apie 600 × 10⁹ cfu ha⁻¹ pasėlio.

Azoto fiksacijai nustatyti lygiagrečiuose laukeliuose buvo auginamos varpinės žolės – motiejukai (*Phleum pratense* L.) ‘Gintaras’. Sėklos norma – 12 kg ha⁻¹.

Ožiarūčiai buvo pjaunami, pradėjus jiems žydėti, per vegetaciją padarant 2–3 pjūtis; miežiai – pilnos fiziologinės brandos. Ankštinės žolės buvo tiriamos vienerius naudojimo metus.

Tyrimų duomenys apdoroti pagal statistines programas ANOVA ir STAT [19]. Koreliacijos koeficientai *r* (koreliaciniai santykiai η) arba Fišerio kriterijai *t*, pažymėti * ir **, reiškia, kad duomenys statistiškai patikimi, esant 95 ir 99% tikimybės lygiams.



1 pav. *Rhizobium galegae* skirtingų kamienų efektyvumas

TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

***Rhizobium galegae* kamienų efektyvumas** paprastai nustatomas iš inokuliuotų ir neinokuliuotų augalų sausųjų medžiagų derliaus skirtumo [2]. Tyrimų rezultatai rodo, kad vertinimui parinkti 6 efektyviausi vietiniai ir 6 efektyviausi nevietiniai gumbelinių bakterijų kamienai buvo veiksmingi ožiarūčiams (1 pav.). Inokuliuojant augalus vietiniais kamienais, sausųjų medžiagų masė padidėjo vidutiniškai 56–97%, inokuliuojant atvežtiniais kamienais, derliaus priedas sudarė 23–83%, palyginti su neinokuliuotais augalais.

Nepaisant ožiarūčių gumbelinių bakterijų visų kamienų didelio efektyvumo, nenustatyta ekologiškai adaptuotų ir neadaptuotų kamienų statistiškai patikimo skirtumo, išskyrus vieną atvejį, kai vietinio kamieno G4 efektyvumas viršijo efektyviausio iš atvežtinių kamieno 801 veiksmingumą 14%. Tokiu būdu, ožiarūčių inokuliacijos efektyvumą lemia ne gumbelinių bakterijų kamieno geografinė prigimtis, bet jo fiziologinės savybės. Mūsų ankstesniais tyrimais, vertinant liucernų, dobilų, pašarinių pupų ir vikių gumbelinių bakterijų kamienų simbiozę, nustaty-

ta bakterijų simbiotinio efektyvumo ir jų ekologinės adaptacijos derinio svarbus vaidmuo [10]. Paprastai, esant vienodo efektyvumo kamienams, ankštinių augalų inokuliacijos veiksmingumą nulemia jų ekologinė adaptacija, t. y. geresnis prisitaikymas prie dirvožemio aplinkos sąlygų. Tačiau tokio teigiamo ožiarūčių inokuliacijos pavyzdžiu kol kas negalima patvirtinti. Ožiarūčių mažai auginama ir jų spontaniškos gumbelinės bakterijos dar palyginti menkai paplitusios krašto dirvožemiuose [12]. Manoma, kad pagausėjus šių bakterijų vietinėms populiacijoms, turėtų padidėti ožiarūčių inokuliacijos efektyvumas ir ekologiškai adaptuotais kamienais vaidmuo.

Gumbelių susiformavimą stimuliuoja visi tirti gumbelinių bakterijų kamienai (1 lentelė). Priklausomai nuo kamieno, ožiarūčių inokuliacija padidino bendrą gumbelių skaičių nuo 55 (801 kamienas) iki 148% (G3 kamienas). Tačiau tarp skirtingos ekologinės adaptacijos kamienų virulentiškumo nenustatyta statistiškai patikimų skirtumų, formuojant kamienų gumbelius. Dar daugiau, ne visi efektyviausi kamienai sudarė daugiausia gumbelių. Ankstesniuose liucernų ir pašarinių bandymuose buvo atkreiptas dėmesys į augalo sudėtingų (šakotų) gumbelių formavimąsi, priklausomai nuo inokuliacijai parinkto kamieno ir dirvožemio sąlygų. Paprastai efektyvesni kamienai suformuoja santykinai mažiau sudėtingų gumbelių, palyginus su neefektyviais [12].

Tarp kamienų efektyvumo ir augalo bendro gumbelių skaičiaus nenustatyta aiškaus dėsningumo ($\eta = 0,280$), tuo tarpu buvo kamienų efektyvumo ir sudėtingų gumbelių procento stiprus ir patikimas ryšys ($r = 0,76^{**}$).

Mineralinio azoto poveikis simbiozei. *Vegetacinių bandymų* rezultatai rodo, kad ožiarūčiams didesnę teigiamą poveikį darė biologinis ir žymiai mažesnę – mineralinis azotas (2 lentelė). Inokuliuojant vienu efektyviausių gumbelinių bakterijų kamienų G12, augalų sau-

1 lentelė. *Rizobium galegae* skirtingų kamienų įtaka gumbelių susiformavimui ožiarūčių šaknyse

Variantas	Augalo gumbelių skaičius			Sudėtingų gumbelių %
	bendras	sudėtingi	paprasti	
Neinokuliuota	60,0	5,6	54,4	9,3
Neadaptuoti kamienai				
740	120,1	5,9	114,2	4,9
801	132,2	3,8	128,4	2,9
802	118,5	4,5	114,0	3,8
809	92,0	2,8	89,2	3,0
811	121,5	6,3	115,2	5,2
812	125,6	2,9	122,7	2,3
Adaptuoti kamienai				
G1	92,8	4,2	88,6	4,5
G3	149,1	3,1	146,0	2,1
G4	118,5	3,4	115,1	2,9
G6	98,9	3,7	95,2	3,7
G12	144,6	4,3	140,3	3,0
G16	108,5	3,9	104,6	3,6
R ₀₅	23,1	0,5	23,1	0,79

2 lentelė. Mineralinio azoto ir *Rhizobium galegae* įtaka ožiarūčių derliui, gumbelių susiformavimui ir bendrojo azoto susikaupimui derliuje

Variantas	Augalų sausųjų medžiagų masė		Augalo gumbelių skaičius			Sudėtingų gumbelių %	Sukaupta bendrojo azoto augalų masėje mg indo ⁻¹
	g indo ⁻¹	%	bendras	sudėtingi	paprasti		
Kontrolė	10,1	100	80,8	3,1	77,7	3,8	267
28 mg N kg ⁻¹	12,7	126	93,8	5,2	88,6	5,5	324
84 mg N kg ⁻¹	11,0	109	66,3	3,8	62,5	5,7	277
<i>R. galegae</i> G 12	13,3	132	187,9	0,2	187,7	0,1	350
<i>R. galegae</i> G 12, 28 mg N kg ⁻¹	14,6	144	126,9	1,9	124,7	1,5	400
<i>R. galegae</i> G 12, 84 mg N kg ⁻¹	13,0	129	161,9	1,9	160,0	1,2	343
R ₀₅	0,6		18,5	0,5	18,5		16

3 lentelė. Mineralinio azoto ir *Rhizobium galegae* kamienų įtaka ožiarūčių derliui, azoto susikaupimui derliuje ir žaliųjų baltymų masei

Variantas	Bot. grynų žolių SM derlius t ha ⁻¹	Sėtų žolių (%) žolyne	Azotas augaluose %			Baltyminio ir bendrojo azoto santykis	Sukaupta žaliųjų baltymų kg ha ⁻¹
			bendras	baltyminis	nebaltyminis		
Neinokuliuota, be N	4,64	67,3	2,09	1,30	0,79	0,62	606
N ₃₀	5,02	67,3	2,15	1,46	0,69	0,68	674
<i>R. galegae</i> G 12	7,60	84,8	2,24	1,83	0,41	0,82	1064
“ G 16	6,79	83,7	2,31	1,82	0,49	0,79	980
<i>S. meliloti</i> 425a	5,45	71,5	2,04	1,88	0,16	0,92	695
<i>R. galegae</i> G 12, N ₃₀	7,61	83,5	2,15	1,87	0,28	0,87	1022
“ G 16, N ₃₀	7,22	81,0	2,17	1,78	0,39	0,82	979
<i>S. meliloti</i> 425a, N ₃₀	6,48	79,0	2,12	1,63	0,49	0,77	859
R ₀₅	0,45	5,5	0,15	0,12	0,03		70,4

sųjų medžiagų masė padidėjo 32%. Neinokuliuotiems augalams pakankamai veiksminga buvo pradinė azoto (28 mg N kg⁻¹ dirvožemio) dozė. Nors visa azoto norma pagal Prianišnikovą (84 mg N kg⁻¹) dar statistiškai patikimai didina augalų derlių, tačiau ženkliai savo veiksmingumu atsiliko nuo pradinės dozės. Tai rodo, kad didelė mineralinio azoto dozė aiškiai slopina ir kitų ankštinių augalų, ir ožiarūčių simbiozę [17, 25].

Derinant ožiarūčių inokuliaciją su pradine azoto doze, augalai išaugino didžiausią derlių, kuris buvo net 44% didesnis, negu kontrolinių augalų. Taikant visą azoto dozę inokuliuotiems augalams, derlius aiškiai sumažėjo ir prilygo inokuliuotų be azoto trąšų augalų derliui. Tokiu būdu, rūgštokuose, mažo ir vidutinio humusingo balkšvažemiuose ožiarūčiams veiksmingiausias yra biologinis azotas, kurį sukaupia simbiozėje gyvenamos gumbelinės bakterijos. Mineralinio azoto pradinę dozę galima laikyti kaip azoto priedą, iki susiformuojant efektyviai simbiozei, galinčiai visiškai patenkinti ožiarūčių azoto poreikius.

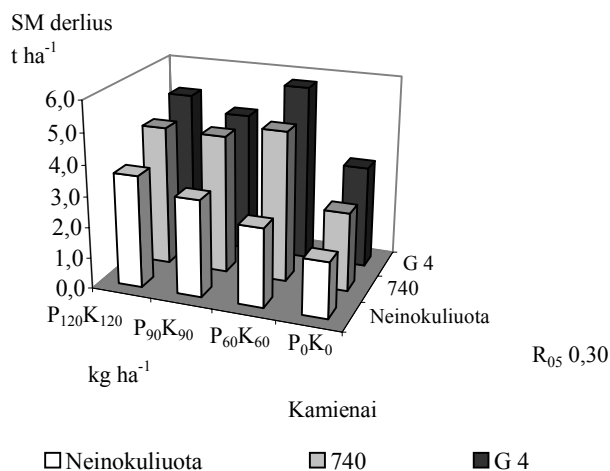
Ankštinių augalų ir gumbelinių bakterijų efektyvi simbiozė daug priklauso nuo gumbelių formavimosi ir jų gausumo augalo šaknyse. Tyrimais nustatyta, kad daugiausia gumbelių susidarė, augalus inokuliuojant ir netrešiant azoto trąšomis – 187,9 vnt. augalo⁻¹. Įdomu pažymėti, kad ir neinokuliuoti augalai taip pat suformavo nemažai gumbelių (80,8 vnt. augalo⁻¹). Juolab, šiame plote Samališkėje iš kur buvo vežamas dirvožemis vegetaciniams bandymams, niekas nežino, kad būtų kada nors auginami ožiarūčiai. Žinoma, kad ten buvusi dvaro žemė ir galėjo šių augalų būti prieš 80–100 metų. Taigi ir ožiarūčių gumbelinių bakterijų, nors nedaug, bet galėjo išsilaikyti dirvožemyje. Vienų seniausių Europoje Rotamstedo ir Voburno bandymų stočių tyrimų duomenimis, doobilų gumbelinės bakterijos išsilaikė dirvožemyje (žemiinių kviečių monokultūra) apie 120 metų, esant titrui – 154 tūkst. g⁻¹ dirvožemio. Ir tik rūgščiuose dirvožemiuose (pH 4,0) šių bakterijų jau nerasta [15].

Mūsų tyrimuose nuo azoto pradinės dozės (28 mg N kg⁻¹) gumbelių pagausėjo 16% neinokuliuotų augalų

4 lentelė. Neinokuliuotų ir inokuliuotų ožiarūčių azoto fiksacijos (y) priklausomumas nuo drėgmės režimo (HTK) ir dirvožemio ekologinių sąlygų (x)

Inokuliacija	Regresijos lygtys	r arba η	t
HTK			
–	130,14–0,551x	0,67	8,01**
+	190,11 + 0,56x–0,005x ²	0,57	2,31*
pH_{KCl}			
–	19272,6–6543,3x + 554,635x ²	0,74	10,82**
+	125,67–41,43x + 3,516x ²	0,39	1,55
Bazėmis pasotinimo laipsnis %			
–	32993,2–781,95x + 4,633x ²	0,74	9,25**
+	20139,6–472,81x + 2,798x ²	0,57	3,74
Judrusis Al mg kg⁻¹			
–	292,3–61,322x	0,65	7,34*
+	347,2–37,192x	0,51	3,54
Judrusis P₂O₅ mg kg⁻¹			
–	–152,7 + 1,310x	0,68	8,56*
+	77,9 + 0,791x	0,53	3,93
Judrusis K₂O mg kg⁻¹			
–	–152,9 + 1,279x	0,73	11,7**
+	79,6 + 0,763x	0,57	4,74
Humusas %			
–	649,37–281,888x	0,63	6,57*
+	546,29–162,125x	0,47	2,82

šaknyse ir sumažėjo 32% inokuliuotų. Visa azoto norma rodė gumbelių formavimuisi slopinimo tendenciją kontroliniuose augaluose ir statistškai patikimai (14%) mažino inokuliuotų augalų gumbelių skaičių. Nustatytas ožiarūčių simbiozės efektyvumo ir augalų bendro gumbelių skaičiaus vidutinio glaudumo ryšys, $\eta = 0,51^*$, o

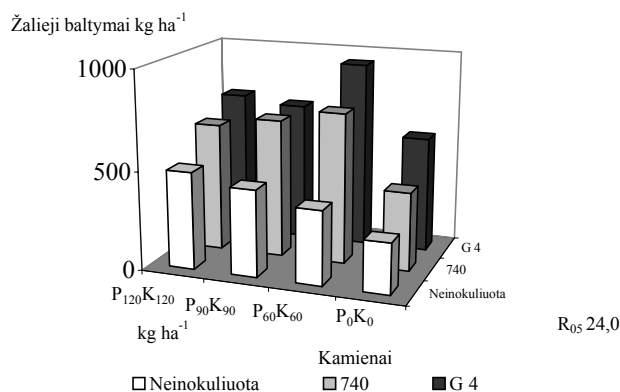
2 pav. *Rhizobium galegae* kamienų ir mineralinio fosforo bei kalio įtaka ožiarūčių sausųjų medžiagų (SM) derliui

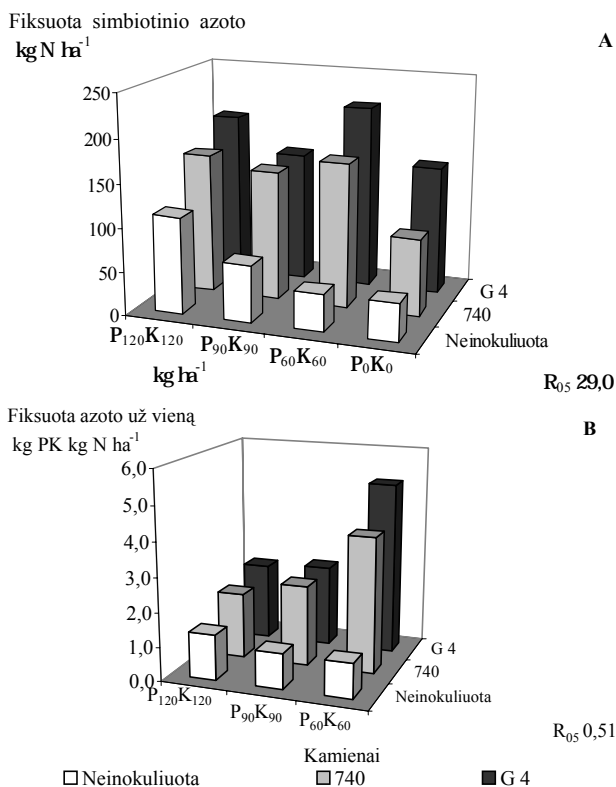
simbiozės efektyvumo ir sudėtingų gumbelių procento apskaičiuotas stiprus ryšys, $r = 0,79^{**}$.

Bendrojo azoto susikauptimui ožiarūčių masėje didžiausią teigiamą poveikį darė augalų inokuliacija ir pradinės azoto dozės derinys, todėl azoto kiekis padidėjo 133 mg indo⁻¹, arba 50%, palyginti su kontroliniais augalais. Palyginti daug azoto sukaupė neinokuliuoti, bet azotu (dozė pradinė) patręšti augalai. Tręšimas, kai azoto visa dozė, nepadėjo daugiau sukaupiti azoto nei inokuliuotų, nei neinokuliuotų augalų masėje.

Lauko bandymuose buvo tiriamas dviejų specifinių gumbelių bakterijų kamienų G12 ir G16 ir vieno nespecifinio – liucernų gumbelių bakterijų kamieno 425a efektyvumas. Kaip žinoma, liucernų gumbelinės bakterijos ožiarūčių šaknyse nesuformuoja gumbelių [8]. Tačiau šių bakterijų efektyvus kamienas gali sudaryti veiksmingą azotą fiksuojančią asociaciją ne šaknų gumbelyje, bet gyvendamas ožiarūčių šaknų paviršiuje (rizoplanoje).

Tyrimais nustatyta, kad geriausiai augo ožiarūčiai, inokuliuoti specifiniais kamienais: G12 ir G16; gautas bot. grynų ožiarūčių sausųjų medžiagų derliaus priedas atitinkamai 2,96 ir 2,15 t ha⁻¹ (3 lentelė). Palyginti veiksmingą (derliaus priedas – 0,81 t ha⁻¹) asociaciją su ožiarūčiais sudarė ir liucernų gumbelių bakterijų kamienas 425a. Kitaip nei biologinio, mineralinio azoto pradinės dozės poveikis, nei auginant neinokuliuotus ožiarūčius, nei inokuliuojant specifinėmis jų gumbelinėmis bakterijomis, statistškai nebuvo įrodomas, nors buvo gana aiški tokio poveikio tendencija. Nepaisant to,

3 pav. *Rhizobium galegae* kamienų ir mineralinio fosforo bei kalio įtaka ožiarūčių žaliųjų baltymų masei



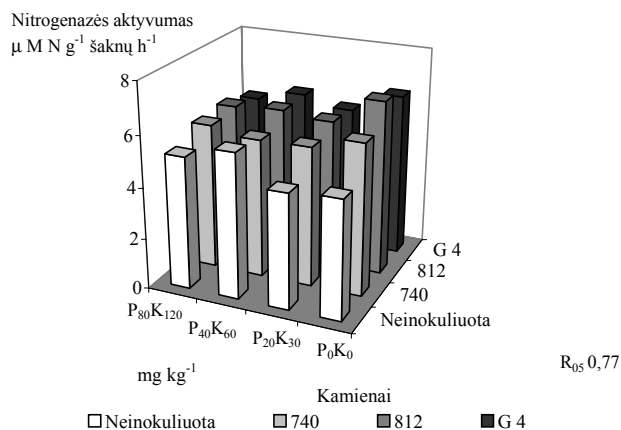
4 pav. *Rhizobium galegae* kamienų ir mineralinio fosforo bei kalio įtaka ožiarūčių simbiotinio azoto fiksacijai (A) ir jos našumui (B)

kad pradinis azotas nebuvo veiksmingas simbiotinio azoto fiksacijai, jis patikimai aktyvino asociatyvios azoto fiksacijos procesus, inokuliuojant augalus *Sinorhizobium* kamieniu 425a, nuo to ožiarūčių derlius padidėjo 1,03 t ha⁻¹, palyginus su inokuliuotais augalais be azoto. Manoma, kad mineralinio azoto nedidelė (N₃₀) dozė teigiamai paveikė augalo fotosintezės procesus ir dėl padidėjusių asimiliatų išskyrų per šaknų sistemą galėjo suintensyvinti azoto fiksaciją [17].

Augalų inokuliuojimas specifiniais bakterijų kamienais gerino ožiarūčių išsilaikymą žolyne 16,4–17,5%. Derinant inokuliuojimą su pradiniu azotu, žolyno botaninė sudėtis kiek pablogėjo. Inokuliuojimas nespecifiniu kamieniu nedarė teigiamo poveikio ožiarūčių kaupimuisi žolyne. Tačiau aiškiai (11,7%) gerėjo žolyno botaninė sudėtis augalus inokuliuojant minėtu kamieniu ir derinant pradinę azoto dozę.

Ožiarūčių inokuliuojimas turėjo palyginti nedidelę įtaką bendrojo azoto susikaupimui (procentui) augalų derliuje ir ženkliai (0,52–0,58 punkto) didino baltyminio azoto sankaupą. Nuo pradinio azoto taip pat didėjo baltyminio azoto procentas, tačiau tik neinokuliuotų augalų derliuje. Tokiu būdu augalų inokuliuojimas, nepriklausomai nuo panaudoto *Rhizobium* kamieno specifiškumo, arba neinokuliuotų augalų negausus tręšimas azotu (pradinė (N₃₀) dozė) gerino augalų derliaus kokybę bei didino baltyminio ir bendrojo azoto santykį.

Vertinant tiriamų priemonių poveikį sukauptų žaliųjų baltymų masei, reikia pažymėti, kad daugiausia bal-



5 pav. *Rhizobium galegae* kamienų ir mineralinio fosforo bei kalio derinimo įtaka ožiarūčių šaknų nitrogenazės aktyvumui

tymų nustatyta inokuliuojant augalus gumbelinėmis bakterijomis. Nuo efektyvių specifinių kamienų žaliųjų baltymų padaugėjo 374–458 kg ha⁻¹. Inokuliuojant ožiarūčius liucernų gumbelinėmis bakterijomis (asociatyvi azoto fiksacija) sukaupta papildomai žaliųjų baltymų 89 kg ha⁻¹, palyginti su neinokuliuotais augalais. Šiuo požiūriu pradinė azoto dozė buvo veiksminga tik neinokuliuotiems ožiarūčiams arba juos inokuliuojant nespecifinėmis gumbelinėmis bakterijomis, t. y. kai augalai sudarė mažesnio efektyvumo simbiozę arba asociaciją su gumbelinėmis bakterijomis.

Fosforo ir kalio poveikis simbiozei. Fosforo ir kalio junginiai laikomi vieni svarbiausių, formuojant simbiozę ir fiksuojant atmosferos azotą [7, 21].

Nepriklausomai nuo PK trąšų dozės visais atvejais didžiausias inokuliuojimo efektas gautas, taikant gumbelinių bakterijų kamieną G4. Veiksmingiausia simbiozė susiformavo P₆₀K₆₀ trąšų fone, inokuliuojant minėtu kamieniu G4; sausųjų medžiagų derliaus priedas sudarė 3,17 t ha⁻¹ (2 pav.). Panašių išvadų priėjo ir V. Brencienė, atlikusi liucernų tręšimo bandymus [3]. Tolesnis trąšų dozės didinimas iki P₉₀K₉₀ ir P₁₂₀K₁₂₀, derinant su inokuliuojimu, nepadėjo suformuoti efektyvesnės simbiozės. Vis dėlto neinokuliuoti ožiarūčiai teigiamai reagavo į visas PK trąšų dozes. Tai rodo, kad spontaninės gumbelinės bakterijos, palyginti su dirbtiniam inokuliuojimui panaudotais kamienais, turi silpnesnę fermentinę sistemą ir azoto fiksacijai labiau vartoja tirpius PK trąšų junginius [14, 21].

Ožiarūčių inokuliuojimo (y) priklausomumą nuo PK trąšų dozių (x) geriausiai parodo trečiojo laipsnio regresijos lygtis: $1,12 + 0,1396x - 0,0026x^2 + 0,00001x^3$, kai $\eta = 0,51^*$.

Žaliųjų baltymų masės susikaupimui ožiarūčių derliuje teigiamai veikė visi inokuliuojimo ir PK trąšų deriniai (3 pav.). Vis dėlto labiausiai baltymų išeiga (388 ir 569 kg ha⁻¹) padidėjo, inokuliuojant ožiarūčius P₆₀K₆₀ trąšų fone. Gausesnis tręšimas (didesnės trąšų dozės) nebuvo itin veiksmingas žaliųjų baltymų susikaupimui. Trąšos padėjo daugiau sukaupti žaliųjų baltymų ir neinokuliuotų ožiarūčių derliuje nuo 256 (P₀K₀ fone) iki 494 kg ha⁻¹ (P₁₂₀K₁₂₀ fone), arba 93% daugiau.

Vertinant simbiotinio azoto fiksaciją, neinokuliuoti augalai visais tręšimo atvejais žymiai mažiau fiksavo azoto, negu inokuliuoti (4 pav., A). Tai rodo, kad spontaninės gumbelinės bakterijos azoto fiksacijos požiūriu ženkliai atsilieka nuo mūsų panaudotų bakterijų kamienų. Vis dėlto vartojant daug PK trąšų ($P_{90}K_{90}$ ir $P_{120}K_{120}$), gumbelinių bakterijų azoto fiksacija iš esmės pasikeitė nuo 43,1 iki 111,6 kg N ha⁻¹.

Inokuliuoti augalai į PK trąšas reagavo kiek kitaip. Daugiausia ožiarūčiai sukaupė iš atmosferos azoto, tręšiant ne didžiausia, bet $P_{60}K_{60}$ trąšų doze. Inokuliuojant ūtamui 740, fiksuota 167,1 kg N ha⁻¹, kamieniu G4 – 213,3 kg N ha⁻¹. Taikant didesnes tręšimo dozes, azoto fiksacijos intensyvumas nuosekliai mažėjo. Taip galėjo atsitikti dėl to, kad efektyvūs gumbelinių bakterijų kamienai geba pasisavinti dalį reikalingo fosforo iš sunkiai tirpių kalcio fosfatų. Todėl perteklinis trąšų fosforas nepadėjo daugiau fiksuoti simbiotinio azoto [23]. Ožiarūčių inokuliacijos įtakos azoto fiksacijai (y) priklausomumą nuo PK trąšų dozių (x) atspindi koreliacinis santykis $\eta = 0,50^*$.

Vertinant vieno kilogramo PK trąšų veiksmingumą azoto fiksacijai, nustatyta, kad didinant trąšų dozę nuo $P_{60}K_{60}$ iki $P_{120}K_{120}$, neinokuliuoti augalai, t. y. spontaninių gumbelinių bakterijų fiksuotas azotas nuosekliai didėjo nuo 1,02 iki 1,33 kg N (4 pav., B). Inokuliuoti augalai, kitaip nei neinokuliuoti, daugiausia biologinio azoto už 1 kg PK trąšų sukaupė $P_{60}K_{60}$ trąšų fone. Inokuliuojant kamieniu G4, fiksuota 5,08, kamieniu 740 – 3,98 kg N. Didinant trąšų dozę iki $P_{120}K_{120}$, azoto fiksacijos veiksmingumas sumažėjo iki 2,27 ir 1,93 kg N už 1 kg PK.

Azotą fiksuojančio fermento nitrogenazės aktyvumo tyrimai parodė, kad inokuliuotų ožiarūčių priklausomai nuo kamieno, minėtas fermentas buvo nuo 13% (kamienas 740) iki 17% (kamienas G4) ir 22% (kamienas 812) aktyvesnis, negu neinokuliuotų augalų (5 pav.). Fosforo ir kalio trąšos darė nevienodą poveikį neinokuliuotų ir inokuliuotų augalų nitrogenazės aktyvumui. Neinokuliuoti augalai teigiamai reagavo į $P_{40}K_{60}$ ir $P_{80}K_{120}$ trąšų dozes, kurios suaktyvino fermentą atitinkamai 22 ir 11%, palyginti su netręštais augalais. Inokuliuoti augalai nuo PK trąšų sumažino nitrogenazės aktyvumą vidutiniškai 11%, t. y. tiek, kiek nuo trąšų padidėjo neinokuliuotų augalų fermento aktyvumas. Tai rodo, kokiu laipsniu trąšos padidina spontaninių gumbelinių bakterijų veiksmingumą, tiek pat sumažėja augalų inokuliacijai panaudotų kamienų efektyvumas.

Aplinkos sąlygų poveikis azoto fiksacijai. Ožiarūčių azoto fiksacijos procesus lėmė augalų inokuliacijos ir aplinkos sąlygos (4 lentelė). Tarp biologinio azoto fiksacijos ir vegetacijos laikotarpio drėgmės režimo (HTK): auginant neinokuliuotus augalus nustatytas stiprus koreliacinis ryšys ($\eta = 0,67^{**}$) ir auginant inokuliuotus – vidutinio stiprumo ($\eta = 0,57^*$) ryšys. Paprastai didėjant HTK reikšmėms, statistiškai patikimai didėjo ir atmosferos azoto fiksacija.

[domu pažymėti tai, kad dirvožemio pH_{KCl} , bazėmis pasotino laipsnis, biogeniniai elementai fosforas ir ka-

lis bei dirvožemio humusingumas turėjo teigiamą ir statistiškai patikimą įtaką neinokuliuotų augalų azoto fiksacijai. Minėtų aplinkos veiksnių įtaka inokuliuotų ožiarūčių azoto fiksacijai statistiškai nebuvo įrodoma, nors daugeliu atvejų buvo galima matyti tik jų teigiamo veikimo tendencijas. Tokiu būdu, ožiarūčiams sudarant efektyvią simbiozę su gumbelinėmis bakterijomis, augalai tampa mažiausiai priklausomi nuo aplinkos sąlygų, fiksuojant simbiotinį azotą.

IŠVADOS

1. Įvairaus rūgštumo (pH_{KCl} 4,0–6,5) giliau glėžiškame nepasotintame balkšvažemyje ar pajaurėjusiame giliau glėžiškame išplautžemyje ožiarūčių inokuliacijos efektyvumą lemia ne gumbelinių bakterijų kamieno ekologinė adaptacija (geografinė prigimtis), bet jo fiziologinės savybės, pirmiausia – simbiotinis efektyvumas. Priklausomai nuo kamieno efektyvumo augalų inokuliacijos padidino nuo 23 iki 97% sausųjų medžiagų derlių vegetaciniuose bandymuose ir nuo 0,74 iki 3,17 t ha⁻¹ lauko bandymuose.

2. Efektyvūs ožiarūčių gumbelinių bakterijų kamienai gali visiškai patenkinti ožiarūčių azoto poreikius ir jiems pradinis (mineralinis) azotas nereikalingas. Vis dėlto auginant neinokuliuotus ožiarūčius arba inokuliuojant nespecifinėmis (liucernų) gumbelinėmis bakterijomis (asociatyvi azoto fiksacija) mažos pradinės mineralinio azoto dozės (N_{30}) buvo veiksmingos simbiozei.

3. Nespecifinės gumbelinės bakterijos ir be pradinio azoto sudarė efektyvią asociaciją su ožiarūčiais, padidindamos pastarųjų sausųjų medžiagų derlių 0,81 t ha⁻¹, žaliųjų baltymų – 89 kg ha⁻¹.

4. Sudėtingų gumbelių sanauja (%) gali būti ožiarūčių simbiozės efektyvumo vienas iš rodiklių. Didėjant simbiozės efektyvumui, paprastai mažėja (%) sudėtingų gumbelių ($\eta = 0,61^*$).

5. Derinant veiksmingą gumbelinių bakterijų kamieną G4 su vidutine fosforo ir kalio trąšų doze ($P_{60}K_{60}$), ožiarūčiai suformavo efektyviausią simbiozę ir papildomai sukaupė žaliųjų baltymų – 688 kg ha⁻¹. Tolesnis PK trąšų dozės didinimas nepadėjo sudaryti veiksmingesnės simbiozės.

6. Derinant ožiarūčių inokuliaciją kamieniu G4 su vidutine fosforo ir kalio trąšų doze ($P_{60}K_{60}$), sukaupė daugiausia (213,3 kg N ha⁻¹) simbiotinio azoto ir našiausiai buvo panaudojamos PK trąšos azoto fiksacijai; už 1 kg PK fiksuota 5,08 kg N.

7. Azotą fiksuojančio fermento nitrogenazės didžiausias aktyvumas ($6,84 \mu M N_2 g^{-1} \text{ šaknų h}^{-1}$) nustatytas, inokuliuojant ožiarūčius kamieniu 812 ir visiškai netręšiant PK trąšomis. Neinokuliuotų augalų aktyviausia nitrogenazė buvo gausiai tręšiant ($P_{40}K_{60}$ ir $P_{80}K_{120}$ mg kg⁻¹).

8. Aplinkos veiksniai (augalų vegetacijos laikotarpio drėgmės režimas – HTK, dirvožemio pH_{KCl} , bazėmis pasotino laipsnis, judrusis Al, judriųjų fosforo ir kalio junginiai bei humusas) darė didesnę poveikį neinokuliuotų ožiarūčių ($\eta = 0,63^* - 0,74^{**}$) ir ženkliai ma-

periments were carried out. They ascertained the importance of different ecological adaptation of *Rhizobium galegae* strains, mineral nitrogen (starting dose) and phosphorous and potassium compounds on *Galegae orientalis* symbiotic nitrogen fixation.

The efficiency by goat's rue inoculations depended on the physiological properties of *Rhizobium* strains and above all on symbiotic efficiency, rather than on ecological adaptation. The goat's rue dry matter yield addition under the effect of *Rhizobium* strains reached from 0.74 to 3.17 t ha⁻¹.

The effective *Rhizobium* strains can fully satisfy the requirements of nitrogen and its starting doses are unnecessary. At growing uninoculated goat's rue or inoculated with nonspecific *Rhizobium* (associative nitrogen fixation in rhizoplane), the starting dose of nitrogen (N₃₀) was effective on symbiosis.

A combination of goat's rue inoculation with *Rhizobium* strain G 4 and medium phosphorous and potassium fertilizer doses (P₆₀K₆₀) fixed the largest amounts (213.3 kg N ha⁻¹) of symbiotic nitrogen.

The highest activity of nitrogenase (6.84 mM N g⁻¹ roots h⁻¹) was established at inoculation with *Rhizobium* strain 812 and the absence of PK fertilizers. On the other hand, the highest activity of nitrogenase of noninoculated plants was found in fertilizing with great doses (P₄₀K₆₀ and P₈₀K₁₂₀ mg kg⁻¹).

The effect of factors (plant vegetation time HTK and soil agrochemical properties) was strongest in uninoculated plants ($\eta = 0.63^*-0.74^{**}$) and markedly less ($\eta = 0.39-0.57$) for symbiotal nitrogen fixation by inoculated plants.

Key words: *Rhizobium galegae*, strains, efficiency, nitrogen fixation, starting nitrogen, PK fertilizers

Yai ofaan Eairinean

AEEEBI EA IT XAAI IU ONET AEE IA ACI OOEENAOEB Rhizobium galegae ODAI IAI E

Dacpi a

Ia aadiiai-iiaciennou ii+aa (pH_{KCl} 4,0-6,5) Caaaiie Eeou idiaieenu aaaaooeiiiua e iieaaua iiuou ii ec+ai ep ci+ei inoe dac+ie yeieie+aneie aai daoe odoi ia eeoai ueiau

aaeoadee, i eiaaeuiiai aci da (noadai au aicu), a oaeaa niaaeiaiee oinoida e eaeey ia nei aeide+aneob aci ooeenaobe eiceyoi eei ai noi +i .

Onoai iaeai i, +oi yodaeeai inou eieoeeyoe danoai ee iidaaeyadny ia yeieie+aneie aai daeae odoi ia Rhizobium, a aai oceieie+aneie e nai enoaa e, aeaaui ia daci i - nei aeide+aneie yodaeeai inoub, ei oi obp ninaaeyao ec dan+ada idaeaeie odi aey noeo aauna daanoai ee - 0,74-3,17 o aa-. Yodaeeai ua odoi u Rhizobium galegae iaoo iieiioub iaani a+eou iodaai inoe aci da e noadai acie aci o (N₃₀) ia ioaeai. I de audaueaai ee iaieieoeedi aai iuo danoai ee eee i de eieoeeyoe ia ni aoeoe+aneie e eeoai ueiau e aaeoadeyi e (anni oaeaeai ay aci ooeenaoy a decieai a danoai ee) noadai ay aica i eiaaeuiiai aci da (N₃₀) au ea aeinoai i e aey nei aeica.

I de niaoi ee eieoeeyoe eiceyoi eea odoi i i G 4 eeoai ueiau aaeoadee ni naai ae aicie oinoidi i-eaeieiu oai adai ee (P₆₀K₆₀) ia eieai i aeai euoaa eie+anoai nei aeide+aneiai aci da (213,3 ea N aa⁻¹) e ia eiaa idiaoeaei eni ieuçi aaeenu DE oai adai ey; ca iaie e DE oeeendi aai i 5,08 ea N.

Iaeai euoay aeoeai inou aci ooeeneobpuai i eodi aai aci iai eiiieaena (6,84 μM N a⁻¹ ei diae +⁻¹) onoai iaeai a i de eieoeeyoe odoi i i 812 e a inoonaee DE oai adai ee. Iaeai euoay aeoeai inou oadi ai da i eodi aai acu iaieieoeedi aai iuo danoai ee iidaaeai a i de oai adai ee aieueie e aica e DE oai adai ee (P₄₀K₆₀ e P₈₀K₁₂₀ ia ea⁻¹).

Oaeoi du iedoaepuae nnau (ADE aaaaooeiiiiai adeiaa, aadi oei e+aneea nai enoaa) i eacu aae eiaaei euoaa aeeyi ea ia aci ooeenaobe iaieieoeedi aai iuo danoai ee ($\eta = 0,63^*-0,74^{**}$) e neaaa aeinoai ae eia eieoeedi aai iua danoai ey ($\eta = 0,39-0,57$).

Eep+aaua nei aa: *Rhizobium galegae* L., odoi u, yodaeeai inou, aci ooeenaoy, noadai acie aci o, DE oai adai ey