

USEFULNESS OF NOD PREPARATION (LCOs) USE TO PRESOWABLE DRESSING OF PEA SEEDS (*Pisum sativum* L.)

Summary

The studies conducted till now on symbiosis of papilionaceous plants and rhizobia discovered the genetic background of this phenomenon and allowed identification of numerous plant and bacteria metabolites involved at process of starting of symbiosis and development of nodules. One of these compounds are bacteria Nod factors (LCOs), recognised as signal particles participating in change of information between a bacteria and a plant, effected among others on nodules formation on papilionaceous plants. These compounds are often submitted to processes which cause decrease of their concentration on the road from producer to destined organism, diffuse or break-up in the soil solution and are degraded by soil microorganisms. It may be assumed that their insufficient amount is a cause of low efficient symbiosis, what considerably limits plant supply with nitrogen and decreases their yielding. In this studies it was evaluated an effect of Nod factors use on ontogenesis, forming of physiological growth indexes and yielding of two morphological differentiated pea varieties (genotype with normal foliage and narrow leaved genotype - afila type). Using of Nod factors increased among others number and weight of nodules, what in a consequence led to production of greater mass of vegetative and generative organs by pea plants.

Keywords: pea, variety, Nod factors (lipochitooligosacharides – LCOs), seed dressing, emergence of plant, development of plant, yielding

PRZYDATNOŚĆ STOSOWANIA PREPARATU CZYNNIKÓW NOD (LCOs) DO PRZEDSIĘWNEGO ZAPRAWIANIA NASION GROCHU SIEWNEGO (*Pisum sativum* L.)*

Streszczenie

Przeprowadzone dotychczas badania nad symbiozą roślin bobowatych i rizobiów odkryły podłoże genetyczne tego zjawiska i pozwoliły na zidentyfikowanie licznych metabolitów roślinnych i bakteryjnych zaangażowanych w proces nawiązania symbiozy i rozwój brodawek korzeniowych. Jednym z takich związków są bakteryjne czynniki Nod (LCOs), uznawane za cząstki sygnałne uczestniczące w wymianie informacji pomiędzy bakterią i rośliną, wpływające między innymi na powstawanie brodawek korzeniowych na roślinach bobowatych. Związki te, na drodze od producenta do organizmu docelowego, często podlegają procesom powodującym zmniejszenie ich stężenia, dyfundują lub rozpadają się w roztworze glebowym oraz są degradowane przez mikroorganizmy glebowe. Można zatem przypuszczać, że niedostateczna ich ilość jest przyczyną mało wydajnej symbiozy, co znacznie ogranicza zaopatrzenie roślin w azot i zmniejsza ich plonowanie. W badaniach określano wpływ stosowania czynników Nod na ontogenezę, kształtowanie fizjologicznych wskaźników wzrostu oraz plonowanie dwóch zróżnicowanych morfologicznie odmian grochu siewnego (genotyp o normalnym ulistnieniu i genotyp wąsolistny – afila). Zastosowanie czynników Nod zwiększyło m.in. liczbę i masę brodawek korzeniowych, co w konsekwencji prowadziło do wytwarzania większej masy organów wegetatywnych i generatywnych przez rośliny grochu siewnego.

Słowa kluczowe: groch siewny, odmiana, czynniki Nod (lipochitooligosacharydy – LCOs), zaprawianie nasion, wschody roślin, rozwój roślin, plonowanie

1. Wstęp

Jednym z ważniejszych gatunków roślin strączkowych uprawianych w naszej strefie klimatycznej jest groch siewny [18]. Za główną przyczynę małego arealu uprawy tej rośliny uważa się stosunkowo niskie, a przede wszystkim zmienne w latach plony nasion [12]. Obok prowadzonych prac hodowlanych zmierzających do uzyskania nowych odmian ważnym kierunkiem działania jest stosowanie zabiegów zwiększających plonowanie grochu, np. zapewnienie roślinom odpowiedniego zaopatrzenia w azot poprzez zwiększenie efektywności symbiotycznego wiązania azotu [14]. Prace badawcze zmierzające do polepszenia symbiozy grochu z bakteriami *Rhizobium leguminosarum* mają dwukierunkowe działanie. Pierwszy polega na wprowadzeniu do gleby odpowiedniej liczebności bakterii symbiotycznych

specyficznych dla grochu w postaci szczepionki stosowanej najczęściej jako zaprawa nasienna [11, 17]. Zabieg ten przynosi dobre efekty w szczególności w warunkach braku lub niedostatecznej liczby bakterii autochtonicznych. Efektywność tego zabiegu może być pomniejszana także w wyniku dużo większej agresywności autochtonów (z powodu lepszego przystosowania do środowiska glebowego, w którym bytują) w stosunku do bakterii „sztucznie” wprowadzanych do gleby oraz szkodliwego oddziaływania niektórych chemicznych zapraw nasiennych stosowanych w procesie przedsiewnego przygotowania nasion [10]. Drugim kierunkiem działania zmierzającym do wcześniejszego rozpoczęcia i zwiększenia efektywności symbiozy jest ingerencja w proces wymiany sygnałów informacyjnych pomiędzy rośliną a bakterią [5, 15]. Przeprowadzone dotychczas badania nad symbiozą roślin bobowatych i rizo-

biów odkryły podłoże genetyczne tego zjawiska i pozwoliły na zidentyfikowanie licznych metabolitów roślinnych i bakteryjnych zaangażowanych w proces nawiązania symbiozy i rozwój brodawek korzeniowych. Jednym z takich związków są bakteryjne czynniki Nod (lipochitooligosacharydy – LCOs), uznawane za cząstki sygnałne uczestniczące w wymianie informacji pomiędzy bakterią i rośliną, wpływające między innymi na powstawanie brodawek korzeniowych na roślinach bobowatych. Związki te często podlegają procesom powodującym zmniejszenie ich stężenia na drodze od producenta do organizmu docelowego, dyfundują lub rozpadają się w roztworze glebowym oraz są degradowane przez mikroorganizmy glebowe [13]. Można zatem przypuszczać, że niedostateczna ich ilość jest przyczyną mało wydajnej symbiozy, co znacznie ogranicza zaopatrzenie roślin w azot i zmniejsza ich plonowanie. Dlatego dostarczenie rizobiowych czynników Nod do gleby wraz z nasionami może zwiększyć ilość zawiązywanych brodawek, a przez to poprawić wzrost roślin [6, 9].

Symbioza pomiędzy rizobiami a roślinami bobowatymi jest gatunkowo specyficzna, co oznacza, że poszczególne gatunki roślin bobowatych nawiązują symbiotyczne interakcje z określonymi gatunkami lub podgatunkami rizobii [15, 23]. W skrajnych wypadkach można zaobserwować niezgodność konkretnych szczepów bakteryjnych i odmian roślin bobowatych, uniemożliwiającą nawiązanie symbiozy [1, 4, 7], pomimo że zarówno szczepy, jak i odmiany roślin należą do gatunków, które są uważane za zgodne symbiotycznie.

Celem badań było określenie wpływu stosowania czynników Nod na ontogenezę, kształtowanie fizjologicznych wskaźników wzrostu oraz plonowanie dwóch zróżnicowanych morfologicznie odmian grochu siewnego.

2. Metodyka

Badania prowadzono w hali vegetacyjnej Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa-Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach, w wazonach Mitscherlicha zawierających mieszaninę 5 kg ziemi ogrodowej i 2 kg piasku. Każdego roku doświadczenie zakładano w 3 powtórzeniach. Czynnikiem I rzędu była odmiana grochu siewnego Rola (genotyp o normalnym ulistnieniu) i Ramrod (genotyp wąsolistny – afile), a czynnikiem II rzędu – zaprawianie nasion: kontrola (H₂O - woda destylowana), preparat czynników Nod (LCOs) o stężeniu 10⁻¹² M/dm⁻³ wody. Przedśiewne zaprawianie nasion polegało na ich moczeniu w roztworze czynników Nod lub w wodzie destylowanej (obiekt kontrolny), w czasie 1 h. Stosowano 100 ml preparatu Nod lub wody destylowanej na 1 kg nasion. Doświadczenie założono w układzie kompletnie zrandomizowanym. Metodę otrzymywania czynników Nod opisano szczegółowo w pracy Maj i in. [8]. Laboratoryjna zdolność kiełkowania nasion grochu siewnego odmiany Rola wynosiła 94, a odmiany Ramrod 95%. W całym okresie wegetacji utrzymywano wilgotność podłoża wynoszącą 60% połowej pojemności wodnej (ppw). Do podlewania roślin zastosowano urządzenie do precyzyjnego nawadniania gleby, wyposażone w komputer sterujący ilością wody podawanej do wazonów. Dynamikę wschodów roślin określano licząc codziennie rośliny we wszystkich wazonach do czasu, po którym nie przybywało już roślin w wazonie.

Wskaźnik dynamiki wschodów (E_d) obliczono z następującego wzoru:

$$E_d = N_e/N_s \cdot 100\% [\%]$$

gdzie: N_e – liczba wzeszłych roślin,

N_s – liczba wysianych nasion.

Podczas liczenia uwzględniano tylko nasiona normalnie kiełkujące i rośliny w pełni wykształcone. Natomiast dynamikę przyrostu masy określono na podstawie bezwzględnej (GR) i względnej (RGR) szybkości wzrostu wykorzystując wzory Evansa [2]:

$$GR = (W_2 - W_1) (T_2 - T_1)^{-1} [g \cdot \text{dobę}^{-1}]$$

$$RGR = (\ln W_2 - \ln W_1) (T_2 - T_1)^{-1} [g (g \cdot \text{dobę}^{-1})^{-1}]$$

gdzie:

W_1 – sucha masa roślin na początku okresu pomiarowego,

W_2 – sucha masa roślin na końcu okresu pomiarowego,

T_1 – początek okresu pomiarowego,

T_2 – koniec okresu pomiarowego.

W celu określenia dynamiki przyrostu masy grochu rośliny zbierano w 3 terminach opisanych szczegółowo w tab. 1.

Tab. 1. Zbiory i fazy rozwojowe roślin

Table 1. Harvests and developmental stages of plants

Zbiór <i>Harvest</i>	Dni po siewie <i>Days after sowing</i>	Fazy rozwojowe roślin <i>Developmental stages of plants</i>
T1	61	pełnia fazy kwitnienia, 50% otwartych kwiatów <i>full flowering, 50% of flowers open</i> [BBCH 65]
T2	79	50% strąków osiąga typową długość <i>50% of pods have reached typical length</i> [BBCH 75]
T3	98	pełna dojrzałość, wszystkie strąki suche; nasiona suche i twarde <i>fully ripe, all pods dry; seeds dry and hard</i> [BBCH 89]

Podczas każdego zbioru określano świeżą i suchą masę poszczególnych organów roślin. Masę korzeniową określano stosując płukanie na gęstych sitach metalowych. Po płukaniu korzeni obrywano z nich brodawki korzeniowe, a następnie ustalono ich liczbę oraz świeżą i suchą masę.

Ponadto, podczas zbiorów T2 i T3 określano dodatkowo plon nasion i komponenty plonowania: liczbę strąków, liczbę i masę nasion oraz ich wilgotność. Wyniki badań stanowiące średnie z 3 wazonów opracowano statystycznie posługując się w analizie wariancji półprzedziałem ufności Tukeya przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Do obliczeń statystycznych wykorzystano program *Statistica v.10.1*.

3. Wyniki badań

Wschody roślin grochu wyrosłych z nasion zaprawianych i niezaprawianych czynnikami Nod wystąpiły odpowiednio po 5 i 6 dniach od wysiewu. Zastosowanie czynników Nod wpływało korzystnie na dynamikę wschodów roślin (tab. 2). Szczególnie duże różnice w dynamice wschodów spowodowane zastosowaniem czynników Nod stwierdzono w początkowym etapie wschodów roślin. Z badań Prithiviraj i in. [16] wynika, że LCOs mogą powodować polepszenie kiełkowania i wschodów także innych gatunków roślin pod warunkiem, że zostaną zastosowane w odpowiednim stężeniu.

Ze względu na wysoką jakość siewną nasion (zdolność kiełkowania 94-95%) uzyskano bardzo dobre wschody roślin, takie same dla nasion zaprawianych i nie zaprawianych czynnikami Nod. Przebieg wschodów grochu odmia-

ny Rola i Ramrod różnił się zwłaszcza w okresie między 7 a 11 dniem od siewu.

Niezależnie od stosowania rizobiotycznych LCOs, rośliny grochu odmiany Ramrod były wyższe, ale wytwarzały mniejszą powierzchnię liściową niż rośliny grochu odmiany Rola (tab. 3), co wynikało z ich odmiennego pokroju morfologicznego. Odmiany nie różniły się istotnie liczbą liści na roślinie. Zastosowanie czynników Nod istotnie zwiększało wysokość roślin i powierzchnię liści, przy czym zaobserwowany efekt był większy w przypadku odmiany Rola niż Ramrod.

Zastosowanie czynników Nod miało istotny wpływ na gromadzenie masy przez wegetatywne i generatywne organy grochu siewnego (tab. 4). Największy wpływ tego zabiegu na masę organów wegetatywnych obserwowano w fazie kwitnienia grochu (BBCH 65), w więc w okresie szybkiego wzrostu roślin. Przyrost łącznego plonu łodyg i liści na skutek zaprawiania nasion w porównaniu do kontroli wyniósł wówczas dla odmian Rola i Ramrod, odpowiednio: 9,6 i 10,7%. Większy przyrost masy nasion w wyniku stosowania LCOs stwierdzono w fazie zielonego strąka, gdy nie wszystkie nasiona grochu były jeszcze w pełni wykształcone niż w okresie dojrzałości pełnej. Na uwagę zasługuje fakt, że masa łodyg, liści i nasion grochu zwiększała się aż do fazy dojrzałości pełnej, natomiast masa korzeni w końcowym etapie ontogenezy była znacznie mniejsza niż w fazie kwitnienia i zielonego strąka. Podobną tendencję zaobserwowano w przypadku brodawek z korze-

niowych, których liczba w fazie zielonego strąka była niższa niż w fazie kwitnienia (tab. 5). Ubytek masy korzeniowej był prawdopodobnie spowodowany procesami lizy, odpadaniem od korzeni starzejących się brodawek, a także rozkładem starych korzeni [24]. Natomiast związek pomiędzy zastosowaniem czynników Nod a przyrostem masy organów wegetatywnych i generatywnych grochu nawet w końcowym etapie ich wzrostu i rozwoju może świadczyć o lepszym odżywieniu azotem roślin wyrosłych z nasion zaprawianych preparatem czynników Nod.

Groch odmiany Rola w fazach BBCH 65 i BBCH 75 wytwarzał większą liczbę i masę brodawek korzeniowych niż groch odmiany Ramrod, natomiast pojedyncze brodawki odmiany Ramrod w fazie BBCH 75 miały większą masę niż odmiany Rola (tab. 5). Stosowanie czynników Nod spowodowało przyrost liczby i masy brodawek korzeniowych grochu odmiany Rola w okresie kwitnienia w porównaniu do kontroli odpowiednio o: 19,8 i 13,8%, natomiast przyrost liczby i suchej masy brodawek korzeniowych grochu odmiany Ramrod wyniósł odpowiednio: 23,1 i 16,8%. W okresie od kwitnienia do fazy zielonego strąka zmniejszała się liczba brodawek korzeniowych na 1 roślinie, natomiast zwiększała się całkowita masa brodawek, co oznacza, że w analizowanym okresie wzrostu roślin zwiększała się masa pojedynczej brodawki korzeniowej. Jest to efekt określonego sposobu rozwoju brodawek korzeniowych grochu, które zalicza się do tzw. brodawek niezdeterminowanych (*indeterminate nodules*).

Tab. 2. Dynamika wschodów roślin grochu siewnego w zależności od moczenia nasion
Table 2. Dynamic of emergence of pea plants depending on the soaking of seeds [%]

Odmiana Variety	Moczenie nasion Soaking of seeds	Czas od wysiewu [dni] / Time from sowing [days]											
		5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Rola	H ₂ O	0	2	14	32	48	64	71	78	86	90	92	94
	LCOs	2	8	21	42	59	73	85	90	92	93	94	94
Ramrod	H ₂ O	0	3	6	9	24	43	61	70	83	91	93	95
	LCOs	1	6	12	30	47	59	67	87	91	94	95	95
Średnio dla odmiany On average for variety	Rola	1,0	5,0	17,5	37,0	53,5	68,5	78,0	84,0	89,0	91,5	93,0	94,0
	Ramrod	0,5	4,5	9,0	19,5	35,5	51,0	64,0	78,5	87,0	92,5	94,0	95,0
Średnio dla moczenia nasion On average for soaking of seeds	H ₂ O	0,0	2,5	10,0	20,5	36,0	53,5	66,0	74,0	84,5	90,5	92,5	94,5
	LCOs	1,5	7,0	16,5	36,0	53,0	66,0	76,0	88,5	91,5	93,5	94,5	94,5

Tab. 3. Wartości niektórych cech morfologicznych roślin grochu w okresie kwitnienia
Table 3. Values of some morphological features of pea plants in flowering period

Odmiana Variety	Moczenie nasion Soaking of seeds	Cechy morfologiczne roślin / Morphological features of plants		
		wysokość roślin height of plants [cm]	liczba liści na roślinie number of leaves per plant	powierzchnia liści [cm ² -roślina ⁻¹] leaf area [cm ² -plant ⁻¹]
Rola	H ₂ O	61,2	20,4	682
	LCOs	66,4	20,0	616
Ramrod	H ₂ O	69,5	21,6	447
	LCOs	74,4	22,8	415
Średnio dla odmiany On average for variety	Rola	63,8	20,2	649
	Ramrod	71,9	22,2	431
NIR / LSD (α=0,05)		5,26	r.n. / n.s.*	77,4
Średnio dla moczenia nasion On average for soaking of seeds	H ₂ O	65,3	21,0	564
	LCOs	70,4	21,4	515
NIR / LSD (α = 0,05)		2,33	r.n. / n.s.	24,6

* r.n. / n.s. – różnice nieistotne / differences not significant

Tab. 4. Sucha masa organów grochu siewnego w różnych fazach wzrostu i rozwoju roślin [g-roślina⁻¹]
 Table 4. Number and dry matter of nodules of pea in different phases of plant growth and development [g-plant⁻¹]

Odmiana Variety	Moczenie nasion Soaking of seeds	Sucha masa organów roślin grochu / Dry matter of pea organs							
		BBCH 65		BBCH 75			BBCH 89		
		łodygi+liście stems+leaves	korzenie roots	łodygi+liście stems+leaves	nasiona seeds	korzenie roots	łodygi+liście stems+leaves	nasiona seeds	korzenie roots
Rola	H ₂ O LCOs	11,39 12,61	5,50 5,68	16,84 17,96	2,57 2,94	6,56 7,14	21,84 23,36	5,14 5,76	2,56 2,50
Ramrod	H ₂ O LCOs	8,54 9,36	4,72 5,85	14,06 14,47	2,81 3,24	5,76 6,87	20,61 21,40	4,45 5,00	2,14 2,27
Średnio dla odmiany Means for variety	Rola	12,00	5,59	17,40	2,75	6,85	22,60	5,45	2,53
	Ramrod	8,95	5,28	14,26	3,00	6,31	21,00	4,72	2,20
NIR / LSD (α = 0,05)		1,16	0,27	1,24	0,36	r.n./n.s.*	1,31	0,47	r.n. / n.s
Średnio dla moczenia nasion Means for soaking of seeds	H ₂ O	9,96	5,11	15,45	2,69	6,16	21,22	4,79	2,35
	LCOs	10,98	5,76	16,21	2,97	7,00	22,38	5,38	2,38
NIR / LSD (α = 0,05)		0,66	0,41	r.n. / n.s.	0,12	0,54	r.n. / n.s.	0,32	r.n. / n.s.

* r.n. / n.s. – różnice nieistotne / differences not significant

Tab 5. Liczba oraz sucha masa brodawek korzeniowych grochu siewnego w różnych fazach wzrostu i rozwoju roślin
 Table 5. Number and dry matter of nodules of pea in different phases of plant growth and development

Odmiana Variety	Moczenie nasion Soaking of seeds	BBCH 65			BBCH 75		
		liczba brodawek korzeniowych na roślinie number of nod- ules per plant	sucha masa / dry matter [mg]		liczba brodawek korzeniowych na roślinie number of nodules per plant	sucha masa / dry matter [mg]	
			brodawek na roślinie nodules per plant	1 brodawki 1 nodule		brodawek na roślinie nodules per plant	1 brodawki 1 nodule
Rola	H ₂ O LCOs	121 145	166 189	1,37 1,30	110 128	166 182	1,51 1,42
Ramrod	H ₂ O LCOs	78 96	119 139	1,52 1,45	64 81	134 152	2,09 1,88
Średnio dla odmiany On average for variety	Rola	133,0	177,5	1,48	119,0	174,0	1,46
	Ramrod	87,0	129,0	1,33	72,5	142,0	1,96
NIR / LSD (α = 0,05)		36,5	24,7	r.n. / n.s.*	14,82	21,4	0,144
Średnio dla moczenia nasion On average for soaking of seeds	H ₂ O	99,0	142,5	1,44	87,0	138,0	1,59
	LCOs	139,0	164,0	1,18	104,5	167,0	1,60
NIR / LSD (α = 0,05)		18,92	8,24	0,221	17,8	19,6	r.n. / n.s.

* r.n. / n.s. – różnice nieistotne / differences not significant

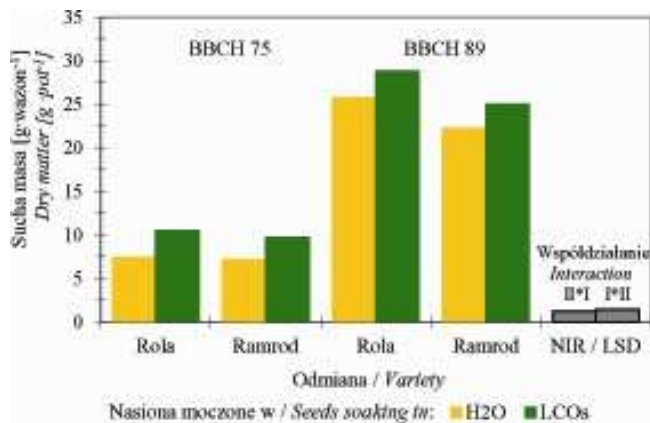
W brodawkach tego typu merystem organu jest aktywny przez cały czas jego rozwoju, dzięki czemu w brodawkach wciąż przybywa nowych komórek, a to skutkuje ciągłym zwiększaniem wymiarów (zwłaszcza długości) i masy tych organów [20, 21].

Następstwem zmian stwierdzonych we wzroście i rozwoju roślin grochu powodowanych stosowaniem czynników Nod była wyższa plonu nasion (rys. 1) oraz polepszenie komponentów plonowania (tab. 6). Przyrost plonu nasion na skutek tego zabiegu dla odmian Rola i Ramrod był podobny i wynosił, odpowiednio: 12,4 i 12,1%.

W przeprowadzonym doświadczeniu stwierdzono dużą zależność pomiędzy liczbą i masą brodawek korzeniowych a plonem grochu, co świadczy o tym, że liczba „miejsc redukcji azotu cząsteczkowego i wymiany symbiotycznej”,

jakimi są poszczególne brodawki korzeniowe wprost proporcjonalnie przekłada się na wielkość plonu, a zwiększenie liczby takich miejsc na korzeniach roślin wskutek morfogenetycznego działania czynników Nod [19] może poprawić ich plonowanie. Potwierdzeniem takiego rozumowania są wyniki badań Vosin i in. [22], w których wykazano ścisłą zależność pomiędzy masą brodawek korzeniowych a uzyskiwanym plonem nasion.

Pomiędzy badanymi odmianami zaobserwowano różnice w zakresie cech struktury plonu. Groch odmiany Rola zawiązywał więcej strąków i nasion na roślinie niż groch odmiany Ramrod. Natomiast nasiona grochu odmiany Ramrod były istotnie większe niż nasiona grochu odmiany Rola. Obydwie odmiany nie różniły się natomiast liczbą nasion w strąku (tab. 6).



Rys. 1. Plon nasion grochu siewnego w zależności od moczenia nasion

Fig. 1. Yield of pea seeds depending on the soaking of seeds

Tab. 6. Komponenty plonowania grochu siewnego w różnych fazach wzrostu i rozwoju roślin
Table 6. Pea yield components at different phases of growth and development of plant

Odmiana Variety	Moczenie nasion Soaking of seeds	BBCH 75				BBCH 89			
		liczba strąków na roślinie number of pots per plant	liczba nasion w strąku number of seeds per pot	liczba nasion na roślinie number of seeds per plant	masa 1000 nasion weight of 1000 seeds [g]	liczba strąków na roślinie number of pots per plant	liczba nasion w strąku number of seeds per pot	liczba nasion na roślinie number of seeds per plant	masa 1000 nasion weight of 1000 seeds [g]
Rola	H ₂ O	3,76	3,52	13,2	69,8	4,34	4,81	20,8	246
	LCOs	4,49	3,79	17,0	74,7	4,76	4,97	23,7	250
Ramrod	H ₂ O	3,14	3,55	11,1	76,6	3,68	4,73	17,4	280
	LCOs	3,78	3,53	13,3	89,0	4,06	5,04	20,5	284
Średnio dla odmiany On average for variety	Rola Ramrod	4,12 3,46	3,66 3,54	15,1 12,2	72,2 82,8	4,55 3,87	4,80 4,90	22,2 18,9	248 282
NIR / LSD ($\alpha = 0,05$)		0,324	r.n. / n.s *	1,48	5,42	0,264	r.n. / n.s.	1,14	24,4
Średnio dla moczenia nasion On average for soaking of seeds	H ₂ O	3,45	3,53	12,1	73,2	4,01	4,76	19,1	263
	LCOs	4,13	3,66	15,1	81,8	4,41	5,26	22,1	267
NIR / LSD ($\alpha = 0,05$)		0,443	r.n. / n.s.	1,24	2,78	0,311	r.n. / n.s.	1,46	r.n. / n.s.

* r.n. / n.s. – różnice nieistotne / differences not significant

Wpływ preparatu z rizobiowymi czynnikami Nod na cechy struktury plonu grochu był większy w okresie zielonego strąka niż w okresie dojrzałości pełnej. W przypadku obu odmian zastosowanie rizobiowych LCOs istotnie zwiększało liczbę strąków na roślinie oraz liczbę nasion na roślinie w obu badanych fazach wzrostu, natomiast zwiększenie masy 1000 nasion po zastosowaniu czynników Nod widoczne było jedynie w fazie zielonego strąka.

Obecnie prowadzone prace genetyczne zmierzają przede wszystkim do uzyskania odmian grochu o wysokim potencjale plonowania oraz odpornych na wyleganie. Z analizy Listy Opisowej Odmian [12] wynika, że nowsze odmiany lepiej plonują niż odmiany starsze. Również w niniejszych badaniach lepiej plonował groch odmiany Rola wpisany na Listę Odmian Roślin Rolniczych w 1999, niż groch odmiany Ramrod wpisany na tę listę już w 1995 roku. W pracach zmierzających do uzyskania nowych odmian nie prowadzi się zazwyczaj selekcji pod kątem efektywności wiązania azotu atmosferycznego. Tymczasem z porównania poziomu plonowania obydwu odmian oraz wytwarzanej liczby i masy brodawek wynika, że później wpisana do rejestru odmiana grochu Rola wyżej plonuje i wytwarza większą liczbę i masę brodawek korzeniowych niż odmiana

starsza słabiej plonująca – Ramrod. Można zatem przypuszczać, że podczas tworzenia odmian dochodzi do uzyskiwania efektów „niezamierzonych”, czyli wyselekcjonowania innych cech mających korzystne działanie plonotwórcze. Efektem prac hodowców zmierzających do uzyskania odmian o zwiększonej odporności na wyleganie było uzyskanie roślin grochu o liściach przekształconych w wąsy czepne tzw. typ afila. Z tego względu większość tworzonych obecnie odmian grochu stanowią odmiany wąsolistne [3]. Z badań Osieckiej i Wiatr [12] prowadzonych w COBORU wynika, że odmiany wąsolistne wpisywane do rejestru w tym samym czasie co odmiany o tradycyjnym ulistnieniu plonują na podobnym poziomie, ale ich odporność na wyleganie jest istotnie większa. Spostrzeżenie to w odniesieniu do poziomu plonowania zróżnicowanych morfologicznie odmian grochu nie znalazło potwierdzenia w niniejszych badaniach, co wynikało być może z faktu, że każda z testowanych przez nas odmian była uzyskana i rejestrowana w innych latach. Pomiedzy badanymi odmianami grochu zaobserwowano liczne różnice dotyczące cech morfologicznych i użytkowych, takich jak wysokość roślin, powierzchnia liści, liczba strąków na roślinie, liczba nasion na roślinie czy masa 1000 nasion. Różnice międzyodmian-

nowe dotyczyły też sposobu interakcji z rizobiotymi mikrosymbiontami. Rośliny grochu odmiany Rola wytwarzały na korzeniach więcej brodawek o niższej średniej masie, natomiast rośliny grochu odmiany Piast wytwarzały mniej brodawek o wyższej średniej masie.

Niezależnie od opisanych morfologicznych i fizjologicznych różnic międzyodmianowych, efekt działania rizobiotycznych czynników Nod był podobny w przypadku wielu badanych cech. Dla obu odmian zaobserwowano istotne: przyspieszenie wschodów, zwiększenie wysokości roślin, powierzchni liści i masy części nadziemnych roślin oraz ich korzeni. Ponadto stwierdzono zwiększenie liczby i suchej masy brodawek korzeniowych, a w konsekwencji zwiększenie plonu nasion.

4. Wnioski

1. Moczenie nasion w preparacie czynników Nod (LCOs) przyspieszało nieznacznie kiełkowanie nasion grochu oraz powodowało istotne różnice w dynamice wschodów w okresie między 7 a 11 dniem od wysiewu nasion.
2. Zastosowanie LCOs wpływało korzystnie na liczbę i masę brodawek korzeniowych, co w konsekwencji prowadziło do wytwarzania przez rośliny grochu większej masy organów wegetatywnych i generatywnych. Największy wpływ tego zabiegu na masę organów wegetatywnych obserwowano w fazie kwitnienia grochu, a na masę organów generatywnych w okresie zielonego strąka.
3. Przyrost plonu nasion grochu na skutek stosowania tego zabiegu był konsekwencją zwiększonej obsady strąków na roślinie, liczby nasion z rośliny oraz lepszego wypełnienia nasion.
4. Groch odmiany Rola wytwarzał więcej brodawek korzeniowych i plonował wyżej niż groch odmiany Ramrod.
5. Stwierdzono małe i niejednoznaczne różnice między badanymi genotypami grochu w odniesieniu do reakcji na działanie preparatu czynników Nod.
6. Stosowanie preparatu czynników Nod (LCOs) może stanowić ważny element ekologicznej metody zwiększania plonowania grochu siewnego.

5. Bibliografia

- [1] Esser-Mönning K., Roskoth P., Röbbelen G.: Two host genes in *Vicia faba* for nodulation deficiency with strain specificity for *Rhizobium leguminosarum*. *Plant Breed.*, 1995, 114: 363-365.
- [2] Evans G.C.: The quantitative analysis of plant growth. Univ. California Press, 1972.
- [3] Gacek E.S.: Polish National List of Agricultural Plant Varieties. Research Centre for Cultivar Testing, 2012, 1-79.
- [4] Hogg B., Davies A.E., Wilson K.E., Bisseling T., Downie A.: Competitive nodulation blocking of cv. Afghanistan pea is related to high levels of nodulation factors made by some strains of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 2002, 15: 60-68.
- [5] Jones K.M., Kobayashi H., Davies B.W., Taga M.E., Walker G.C.: How rhizobial symbionts invade plants: the *Sinorhizobium-Medicago* model. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2007, 5: 619-633.
- [6] Kidaj D., Wielbo J., Skorupska A.: Nod factors stimulate seed germination and promote growth and nodulation of pea and vetch under competitive conditions. *Microbiol. Res.*, 2012, 167: 144-150.
- [7] Lewis-Henderson W.R., Djordjevic M.A.: A cultivar-specific interaction between *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* and subterranean clover is controlled by nodM, other bacterial cultivar specificity genes, and a single recessive host gene. *J. Bacteriol.*, 1991, 173: 2791-2799.
- [8] Maj D., Wielbo J., Marek-Kozaczuk M., Skorupska A.: Response to flavonoids as a factor influencing competitiveness and symbiotic activity of *Rhizobium leguminosarum*. *Microbiol. Res.*, 2010, 165: 50-60.
- [9] Maj D., Wielbo J., Marek-Kozaczuk M., Martyniuk S., Skorupska A.: Pretreatment of clover seeds with Nod factors improves growth and nodulation of *Trifolium pratense* J. *Chem. Ecol.*, 2009, 35: 479-87.
- [10] Martyniuk S., Oroń J., Martyniuk M., Woźniakowska A.: Effects of interactions between chemical seed dressings and *Bradyrhizobium japonicum* on soybean seeds. *Arch. Acker-Pfl. Boden*, 2002, 48: 305-310.
- [11] Martyniuk S.: Production of microbial preparations: symbiotic bacteria of legumes as an example. *J. Res. Appl. Agric. Engng*, 2010, 55(3): 20-23.
- [12] Osiecka, A., Wiatr, K.: Lista Opisowa Odmian. COBORU Słupia Wielka, 2010: 94-104.
- [13] Ovtyna A.O., Schultze M., Tikhonovich I. A., Spaink H.P., Kondorosi E., Staehelin C.: Nod factors of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* and their fucosylated derivatives stimulate a Nod factor cleaving activity in pea roots and are hydrolyzed in vitro by plant chitinases at different rates. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 2000, 13: 799-807.
- [14] Peoples M.B., Brockwell J., Herridge D.F., Rochester I.J., Alves B.J.R., Urquiaga S., Boddey R.M., Dakora F.D., Bhattarai S., Maskey S.L., Sampet C., Rerkasem B., Khan D.F., Haugaard-Nielsen H., Jensen E.S.: The contribution of nitrogen-fixing crop legumes to the productivity of agricultural systems. *Symbiosis*, 2009, 48: 1-17.
- [15] Perret X., Staehelin C., Spaink H.P.: Molecular basis of symbiotic promiscuity. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2000, 64: 180-201.
- [16] Prithiviraj B., Zhou X., Souleimanov A., Kahn W.M., Smith D.L.: A host-specific bacteria-to-plant signal molecule (Nod factor) enhances germination and early growth of diverse crop plants. *Planta*, 2003, 216: 437-445.
- [17] Pytlarz-Kozicka M.: Wpływ ochrony roślin i szczepienia nitryną na zdrowotność i plonowanie dwóch odmian łubinu żółtego. *Prog. Plant Protection*, 2010, 50: 47-51.
- [18] Schneider A.: Overview of the market and consumption of pulses in Europe. *British Journal of Nutrition*, 2002, 88: 243-250.
- [19] Stokkermans T.J.W., Ikeshta S., Cohn J., Carlson R.W., Stacey G., Ogawa T., Peters N.K.: Structural requirements of synthetic and natural lipo-chitin oligosaccharides for induction of nodule primordia on *Glycine soja*. *Plant Physiol.*, 1995, 108: 1587-1595.
- [20] Timmers A.C., Soupene E., Auriac M.C., de Billy F., Vasse J., Boistrad P., Truchet G.: Saprophytic intracellular rhizobia in alfalfa nodules. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 2000, 13: 1204-1213.
- [21] Vasse J., de Billy F., Camut S., Truchet G.: Correlation between ultrastructural differentiation of bacteroides and nitrogen fixation in alfalfa nodules. *J. Bacteriol.*, 1990, 172: 4295-4306.
- [22] Vosin A.S., Munier-Jolain N.G., Salon Ch.: The nodulation process is tightly adjusted to plant growth. An analysis using environmentally and genetically induced variation of nodule number and biomass in pea. *Plant Soil*, 2010, 337: 399-412.
- [23] Willems A.: The taxonomy of rhizobia: an overview. *Plant Soil*, 2006, 287: 3-14.
- [24] Wojcieszka U., Giza A., Wolska E., Łyszcz S.: Dynamika wzrostu i pobierania składników pokarmowych przez groch siewny odmian Ramir i Koral. I. Dynamika przyrostu masy i plon roślin. *Pam. Puł.*, 1993, 102: 119-133.

* Praca została sfinansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki w ramach grantu Nr NN 310 731540