

ATSKAITE  
par ZM subsīdiju projektu  
**INCREASE — Intelektuālas pārtikas pākšaugu ģenētisko resursu kolekcijas Eiropas  
lauksaimniecības pārtikas sistēmām**

LAD 12.06.2023 lēmums Nr. 10.9.1-11/23/1980-e  
Dienestā reģistrēts ar Nr. 23-00-S0INZ03-000017

Projekta vadītāja

Ina Alsiņa  
Dr. biol., prof.

Jelgava  
2023

Projekta izpildītāji:

Ina Alsiņa	Vadošā pētniece, Dr, biol.
Laila Dubova	Pētniece, PhD
Alise Klūga	Pētniece, PhD
Gunārs Lācis	Vadošais pētnieks, PhD
Shreya Jagtap	Studente

Saturs	
1.	Dārza pupiņu raksturojums.....6
2.	Genotipu izvēle.....8
2.1.	Latvijas genotipi .....8
2.2.	Eksperimentos izmantotās šķirnes.....8
2.3.	Projekta Increase ietvaros saņemtie genotipi.....9
3.	Audzēšanas apstākļu raksturojums..... 10
3.1.	Lauka izmēģinājumi..... 10
4.	Izmēģinājumi veģetācijas traukos ..... 10
5.	Izmēģinājumu metodika. Izmantotie deskriptori..... 11
6.	Rezultāti..... 14
6.1.	Pupiņu raža..... 14
6.2.	Pākšu skaits vienam augam..... 15
6.3.	Pupiņu sēklu masa..... 16
6.4.	Kopproteīna saturs pupiņu sēklās ..... 17
6.5.	Pupiņu skaits pākstī..... 18
6.6.	Klonu simbiozes efektivitātes novērtējums. .... 19
7.	Projekta koordinācija un zināšanu popularizēšana..... 21

## IEVADS

Parastās pupiņas (*Phaseolous vulgaris* L.) ir viengadīgs augs no *Fabaceae* dzimtas. To dzimtene ir Amerikas tropu apgabali.

Parastās jeb dārza pupiņas ir diploīda ( $2n=2x=22$ ; genoma izmērs  $\sim 520\text{Mbp}$ ), viengadīga un pārsvarā pašapputes suga.

Dārza pupiņas vissvarīgākais sēklu pākšaugš tiešam patēriņam visā pasaulē un visvairāk patērētais sēklu pākšaugš Eiropā. Parastās pupiņas var uzskatīt par sociāli un ekonomiski nozīmīgu augu. 76 sugas ietilpst *Phaseolous* L. ģintī. Piecas *Phaseolus* ģints sugām ir domesticētas un mūsdienās tiek kultivētas un patērētas (t.i., *Phaseolus vulgaris*, *P. coccineus*, *P. dumosus*, *P. acutifolius* un *P. lunatus*).

Pupiņas lielākoties audzē kā sēklas (sausās pupiņas) vai kā svaigu dārzeņu (zaļās jeb pākšu pupiņas). Lielākie sauso pupiņu ražotāji pasaulē ir Indija- 6,12 milj. t, Brazīlija 2.9 milj. t, Mjanma 2.5 milj. t, Tanzānija- 1,3 milj. t, un Ķīna – 1,3 milj. t. (FAO, 2021)<sup>1</sup>

Eiropā pupiņas tiek kultivētas 544 330 ha platībā, kopraža 1,9 miljonus tonnu.<sup>2</sup>

Informācijas par audzēšanas apjomiem Latvijā ir skopa. Pamatojoties uz statistiskas pārvaldes datiem pupiņu sējumu kopplatība 2020. gadā bija 0,6 tūkst. ha, bet 2022. gadā tikai 0,1 tūkst. ha.<sup>3</sup> Iegūtā kopraža 2020. gadā sastādīja 1,9 tūkst. t, kas sastāda 3.17 t no hektāra, bet 2022. gadā 0,2 tūkst. t, kur raža pārrēķinot bijusi 2 t no hektāra<sup>3</sup>.

Pākšu dārzeni norādīti kā trešā svarīgākā Latvijas lauksaimniecības produktu eksporta grupa – ar 4,3 tūkst. tonnām (12,0 % no kopējā eksporta apjoma) 1,8 milj. eiro vērtībā – 2022. gadā veidoja 3,6 % Latvijas dārzeņu kopējās eksporta vērtības.<sup>4</sup>

Pupiņas ir galvenais pārtikas produkts daudzās pasaules valstīs, kas nodrošina lētu olbaltumvielu, šķiedrvielu, vitamīnu, minerālvielu un bioaktīvo savienojumu avotu (Rebello et al., 2014).

Visas pupiņas veicina vides ilgtspējību, pateicoties to bioloģiskajai slāpekļa piesaistei, labvēlīgajai ietekmei uz augsni un nezāļu apkarošanai. Pupiņu un gumiņ baktēriju simbioze ir salīdzinoši šauri specifiska. Latvijā pieņemtajā klasifikācijā dārza pupiņas inficē *Rhizobium phaseoli* celmi (Karpova, 2008).

Parastajām jeb dārza pupiņām ir plašs pielietojums, to ēdamo sauso sēklu dēļ, 90% no pupiņu audzēšanas veido parastās pupiņas. Raža tiek pārstrādāta, lai izmantotu kā sausas sēklas, pupiņas kā dārzeņus un kā konservētu produktu, tāpat kā citas rūpnieciskas kultūras. Pākšaugiem ir būtiska loma proteīna nodrošināšanā cilvēka pārtikā un dzīvnieku barībā, kā arī vides ilgtspējas nodrošināšanā. Pākšaugu audzēšanas palielināšana nodrošinātu Eiropas pašpietiekamību proteīna apgādē un dažādotu lauksaimniecisko ražošanu.

**Projekta INCREASE** mērķis ir uzlabot augu ģenētisko resursu ilgtspējīgu izmantošanu, uzlabojot četru svarīgu pārtikas pākšaugu ģenētisko resursu statusu: aunazirņus, **parastās**

<sup>1</sup> [https://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries\\_by\\_commodity](https://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity)

<sup>2</sup> <https://www.pulsesincrease.eu>

<sup>3</sup> [https://data.stat.gov.lv/pxweb/lv/OSP\\_PUB/START\\_\\_NOZ\\_\\_LA\\_\\_LAG/LAG020/table/tableViewLayout1/](https://data.stat.gov.lv/pxweb/lv/OSP_PUB/START__NOZ__LA__LAG/LAG020/table/tableViewLayout1/)

<sup>4</sup> <https://www.zm.gov.lv/lv/media/12006/download?attachment>

**pupiņas**, lēcas, lupīnas. Izstrādājot efektīvus un iedarbīgus saglabāšanas rīkus un metodes, ko varētu izmantot visa veida ģenētiskajiem resursiem, INCREASE mērķis ir veicināt agrobioloģisko daudzveidību un tās izmantošanu Eiropā un ārpus tās.

Mērķa realizācijai izvirzītie uzdevumi:

1. Pārtikas pākšaugu ģenētisko resursu datu pārvaldības un koplietošanas uzlabošana, izmantojot optimizētas datu bāzes un viegli pieejamus rīkus.
2. Liela apjoma augstas kvalitātes genotipisko un **fenotipisko datu iegūšana**.
3. **Inteliģentu kolekciju izstrāde ģenētisko resursu daudzveidības izpētei un inovatīvu saglabāšanas pārvaldības pieeju izstrāde, veicot līdzdalības sabiedrības zinātnes eksperimentu.**
4. Jaunu zināšanu attīstīšana, piemēram, gēnu atklāšana vai genoma prognozēšana, kas ir viegli pieejamas, izmantojot tīmekļa meklēšanas un vizualizācijas rīku.
5. **Labākās prakses izstrāde, pārbaude un izplatīšana ģenētisko resursu dinamiskai pārvaldībai Eiropas un ārpus Eiropas institūcijās un iniciatīvās.**
6. Decentralizētu informācijas tehnoloģiju pieeju izstrāde datu apmaiņai un ģenētisko resursu saglabāšanai.

Projekts balstās uz sinerģisku un metodoloģisku integrāciju ar fokusu uz selekciju, menedžmentu un zināšanu izplatību. Projekts aptver visus Eiropas agroklimatiskos reģionus, vides un sociālekonomiskās iespējas, tādējādi palielinot pākšaugu produkcijas potenciālu Eiropā, veicinot pākšaugu iekļaušanu lauksaimniecības sistēmās, veicinot ilgtspējību attīstību globālo pārmaiņu kontekstā.

Latvijas partneri ir integrējušies projekta pētnieku grupā un fokusējas uz pupiņu ģenētisko daudzveidību un to ietekmējošo faktoru skaidrošanu.

### Projekta darba uzdevumi

- 1) Apzināt izplatītākos dārza pupiņu (*Phaseolus vulgaris*) klonus;
- 2) Veikt to fenotipisko izvērtējumu un papildināsim projektā esošo datu bāzi ar Latvijā audzēto pupiņu klonu aprakstiem. Pašreiz datu bāzē nav iekļautas Baltijā audzētās pupiņas.
- 3) Veikt lauka izmēģinājumus, iekļaujot vismaz 20 Latvijā audzētos dārza pupiņu klonus, salīdzinot ar projektā piedāvātajiem genotipiem. Tiks audzēti gan Latvijas kloni, gan projekta partneru atsūtītie paraugi (ne vairāk kā 5).
- 4) Noteikt katra klona ražu un ražas kvalitāti ( proteīna saturu noteikti, citi parametri atkarībā no cenas);
- 5) Veikt sēklu apstrādi ar LBTUU kolekcijā esošajām gumiņ baktērijām un noteiksim klonu simbiozes efektivitāti.
- 6) Iesaistīties projektā plānotajās aktivitātēs un informēsim sabiedrību par rezultātiem.

## 1. Dārza pupiņu raksturojums

Dārza pupiņas (*Ph. vulgaris*) raksturo ļoti sarežģīta ģenētiskā struktūra ar diviem galvenajiem ģeogrāfiski atšķirīgiem un daļēji izolētiem gēnu fondiem – Mezoameriku un Andiem. Dārza pupiņas uz Eiropu pirmo reizi ieveda Kristofers Kolumbs, un pēc tam tos ātri izplatīja daudzās dažādās Eiropas teritorijās, ko raksturo dažādi vides apstākļi un agronomiskā prakse. Eiropā hibridizācija un introgresija starp Andu un Mezoamerikas gēnu fondiem ir īpaši interesanta, attīstot Eiropas gēnu fondu ar lielāku pielāgošanās spēju Eiropas vides apstākļiem un patērētāju vēlmēm. Ar savām unikālajām īpašībām *Phaseolus* spp. ir ideāls modelis, lai izpētītu to evolūcijas vēsturi, adaptēšanos un pielāgošanos. (Bellucci et al. 2023).

Uzskata, ka daļa pupiņu nākušas no Āzijas un kultivētas vēl pirms Kolumba, daļa autoru norāda, ka tās pieder citām ģintīm kā *Vigna*, *Lablab*. u.c. (Rendón-Anaya et al., 2017)

Pupiņas aug vai nu kā krūmi, vai kā kāršu pupiņas, bet var būt arī starpstāvoklis. Pupiņas ļoti atšķiras pēc lieluma, formas, krāsas un nobriedušu pākšu šķiedrainības. Parasti šķirnes, kas audzētas sausām nobriedušām sēklām, veido pākstis, kas ir ar šķiedrām. Ar pākstīm ēdamajām pupiņām šķiedras neveidojas. Sēklu krāsas ir no baltas līdz zaļai, dzeltenai, dzeltenbrūnai, rozā, sarkanai, brūnai un violetai līdz melnai. Tās var būt vienkāršainas, divkrāsainas un iespējamās pat trīskrāsainas pupiņas ar dažādu krāsu izvietojumu. Sēklu formas ir no gandrīz sfēriskas līdz saplacinātām, iegarenām un nieres formas. Pākstis ir ar dažādu zaļu, dzeltenu, sarkanu un purpursarkanu nokrāsu un raibas.

Pupiņu diētiskā vērtība ir atkarīga no to izmantošanas veida. Pākšu pupiņās ir daudz C un K vitamīna, bet sausas pupiņas ir bagātīgs proteīna avots, kā atsevišķu minerālelementu avots (Mn, Zn, Mg, Fe).<sup>5</sup>

Dārza pupiņās ir arī toksiski savienojums lektīns- fitohemaglutinīns, kura saturs mainās atkarībā no pupiņu genotipa, īpaši daudz tā ir sarkanajās pupiņās. Fitohemaglutinīnu var inaktivēt, vārot pupiņas vairāk nekā desmit minūtes vārīšanās temperatūrā vismaz 100 °C). Lai droši pagatavotu pupiņas, ASV Pārtikas un zāļu pārvalde iesaka vārīt 30 minūtes, lai nodrošinātu, ka tās sasniedz pietiekami ilgu temperatūru, lai toksīnu pilnībā iznīcinātu. (Bad Bug Book, 2012).

Pupiņās ir daudz purīnu, kas tiek metabolizēti par urīnskābi. Urīnskābe nav toksīns, bet var veicināt podagras attīstību vai saasināšanos. Tomēr ir pētījumi, kas apšaubījuši šo saistību, atklājot, ka mērena purīnu saturošas pārtikas lietošana nav saistīta ar paaugstinātu podagras risku. (Choi, et al, 2003)

Tāpat kā daudzas pākšaugu sugas, parastās pupiņas veido sakņu gumiņus simbiozē ar gumiņbaktērijām, kas pieder dažādām alfa un beta proteobaktēriju ģintīm un sugām (Peix et al., 2015, Pastor-Bueis et al., 2019). Alfa proteobaktēriju sugas, kas veido simbiozi ar parasto pupiņu, lielākoties pieder pie *Rhizobium* ģints, bet arī citām cieši saistītām ģintīm, piemēram, *Ensifer* (*Sinorhizobium*) un *Pararhizobium* (Mousavi et al., 2015), kā arī attālāk radniecīgām ģintīm, piemēram, *Bradyrhizobium* (Andrews et al, 2017; Mwenda et al., 2018). Dall’Agnol et al. (2013) ziņoja par vismaz 27 parasto pupiņu gumiņbaktēriju sugām; tie ietver gan slāpekli

<sup>5</sup> <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/169961/nutrients>

fiksējošus, gan slāpekli nefiksējošus celmus. Zināms, ka simbiotiskos gēnus, kas ietver augu gumiņu (nod) un slāpekļa fiksācijas (nif, fix) gēnus, *Rhizobium* pārnēsā plazmīdas (López-Guerrero et al., 2012).

Parasto pupiņu gumiņbaktērijas bieži vien ir ļoti konkurētspējīgas, bet neefektīvas, kā rezultātā ir zema bioloģiskā slāpekļa saistīšanas efektivitāte, kas tiek uzskatīta par zemāko starp audzētajiem sēklu pākšaugiem (Martínez-Romero, 2003)

LBTU Gumiņbaktēriju kolekcijā ir pieci celmi, kas ir izdalīti no pupiņu gumiņiem. Divi no šiem celmiem (RPh00501 un RPh00601), izdalīti 2016. gadā, identificēti, kā *Rhizobium leguminosarum*. Šo celmu 16S rRNS gēna sekvences ir ģenētiski atšķirīgas. Trīs atlikušie identificētie celmi ir vēsturiskās gumiņbaktēriju kolekcijas "116" celmi, izdalīti 1963. gadā. Viens no šiem izolātiem (RPh11603) identificēts, kā *Rhizobium* sp., divi (RPh11601 un RPh11602) – kā *Paenibacillus polymyca* (ģenētiski identiskas 16S rRNS gēna sekvences). (Klūga, 2023)

## 2. Genotipu izvēle

Projekta pētījumā iekļauti 29 Latvijā audzēti genotipi, no tiem 25 genotipi ir *Phaseolus vulgaris*, bet četri genotipi pieder sugai *Ph. coccineus*. Paraugi iegūti no četriem dārza pupiņu audzētājiem. No Itālijas saņemti seši genotipi, no kuriem viens ir šķirne

### 2.1. Latvijas genotipi

No Latvijas genotipiem LV1 līdz LV15 un LV20, LV21, LV22, LV24, LV28 ir lobāmās pupiņas, genotipi LV0 (šķirne 'Sundance') un LV16 līdz LV19 ar pākstīm ēdamās pupiņas, LV0 līdz LV22 krūmu pupiņas, LV23 līdz LV29 kāršu pupiņas.



1. attēls. Eksperimentos izmantotie Latvijas pupiņu genotipi.

### 2.2. Eksperimentos izmantotās šķirnes

Kā kontrole izvēlēta *Ph. vulgaris* šķirne SUNDANCE F1. ražotājs Vilmorin Francija. Pēc ražotāja informācijas: Augstražīga krūmu pupiņu šķirne. Sviesta pupiņas ar dzeltenām 13-14 cm garām pākstīm, kuras var lietot gan pārstrādei, gan saldēšanai. Veģetācijas periods 70 dienas.

Arī LV18 - paraugs ir šķirne iespējams 'Purple Queen', kura vismaz 10 gadus ir ataudzēta no sava sēklas materiāla. Pēc ražotāja informācijas: agra ļoti ražīga šķirne ar violetām pākstīm,









lavandzilas krāsas ziedīņiem. Krūma augstums līdz 60 cm. Bezšķiedru pākstis līdz 15 cm garas. Izmēģinājumā iekļauta sava atšķirīgā izskata dēļ.

### 2.3. Projekta Increase ietvaros saņemtie genotipi

No Itālijas projekta INCREASE – Intelligent Collections of Food Legumes Genetic Resources for European Agrofood Systems ietvaros saņemtie paraugi norādīti 1. tabulā.

1.tabula.

No Itālijas projekta ietvaros saņemtie genotipi

<p>INCBN_00000 cv 'Meccearly'</p>		<p>INCBN_01700</p>	
<p>INCBN_00338</p>		<p>INCBN_09250</p>	
<p>INCBN_01551</p>		<p>INCBN_03510</p>	

### 3. Audzēšanas apstākļu raksturojums

#### 3.1. Lauka izmēģinājumi

Lauka izmēģinājumi iekārtoti:

- Latvijas Biozinātņu un Tehnoloģiju universitātes Lauksaimniecības un Pārtikas tehnoloģiju fakultātes izmēģinājumu laukā Strazdu ielā 1, Jelgavā, koordinātes: 56°39'48.5"N 23°45'10.0"E 2023. gada 8. jūnijā. Augsnes raksturojums redzams 2. tabulā.
- D/S Ziedonis, Tuškos Līvberzes pagasts, Jelgavas novadā, koordinātes: 56°39'48.5"N 23°45'10.0"E, 2023. gada 11. jūnijā. Augsnes raksturojums skatīt 2. tabulu.

Visas pupiņas pirms sējas apstrādātas ar Lauksaimniecības fakultātes Gumiņbaktēriju kolekcijā esošo gumiņbaktēriju celmu.

2. tabula

Augsnes agroķīmiskais raksturojums (mg L<sup>-1</sup>)

Parametri	Strazdi	Ziedonis
N	90	83
P	567	981
K	285	155
Ca	25850	10200
Mg	3490	1970
S	175	30
Fe	1645	675
Mn	185	105
Zn	9.5	180
Cu	6.5	33
Mo	0.04	0.04
B	1.3	1.9
pH <sub>KCl</sub>	7.48	6.52
EC mS cm <sup>-1</sup>	0.69	1.19

#### 4. Izmēģinājumi veģetācijas traukos

Tā kā projekta ietvaros no Itālijas pupiņas saņemtas 27. jūnijā, tad pieņemts lēmums izmēģinājumus iekārtot arī veģetācijas traukos. Lēmums izrādījās tālejošs, jo uz lauka jūnija

beigās iesētās pupiņas diemžēl apēda Spānijas kailgliemeži. Izmēģinājums veģetācijas traukos iekārtots 3 atkārtojumos. No sākuma pupiņas iesētas kasetēs, kur šūnu izmērs bija 5x5 cm. Pupiņas sadīga vidēji 5-7 dienu laikā. Pēc sadīgšanas pupiņas pārstādītas 5 L veģetācijas traukos, kuros iepildīta tā pati augsne, kurā augs pupiņas uz lauka Strazdu ielas izmēģinājumu laukā. Lai iegūtie rezultāti būtu salīdzināmi, veģetācijas traukos iesētas arī kontroles 'Sundance' un LV1 genotipa pupiņas.

## 5. Izmēģinājumu metodika. Izmantotie deskriptori

Genotipu raksturošanai izmantota projekta INCREASE – Intelligent Collections of Food Legumes Genetic Resources for European Agrofood Systems ieteiktā metodika, kas aprakstīta projekta mājaslapā un Cortinovis et al. 2021 publikācijā Towards the Development, Maintenance, and Standardized Phenotypic Characterization of Single-Seed-Descent Genetic Resources for Common Bean aprakstītā metodika.

- 1) Novērtēta sēklu dīgtspēja ceturtajā, septītajā un 10. dienā pēc sējas.
- 2) Noteikts, vai dīgšana ir epigejiska vai hipogejiska
- 3) Noteikta hipokotila pigmentācija ar trīs gradācijas klasēm
  1. Violēta - purple
  2. Sarkana (sārta)-red
  3. Zaļa - green
- 4) Novērtēta lapu forma
  1. trīsstūrveida (triangular)
  2. apaļa (round)
  3. kvadrātveida- (quadrangular)
- 5) Augu ziedēšanas laikā noteikts hlorofila saturs lapās, izvēloties pirmo, pilnībā attīstījušos lapu sākot no auga apikālās daļas, izmantojot portatīvo hlorofila mērītāju atLeaf.
- 6) Konstatēts vai lapās sintezējas antociāni. Divas gradācijas klases, ir vai nav.
- 7) Novērtēts augšanas veids:
  1. Krūmu (bush)
  2. Kāršu (climbing)
- 8) Konstatēts vai stumbros sintezējas antociāni. Divas gradācijas klases, ir vai nav.
- 9) Noteikta ziedu krāsa (ziedi nofotogrāfēti)
  1. Balta
  2. Krēmkrāsas
  3. Rozā
  4. Violēta
- 10) Izmērīts stumbra diametrs
- 11) Svaigām pākstīm novērtēts pāksts šķērsriezums, nofotografēts
- 12) Novērtēts svaigu pākšu liekums

1. Taisns
  2. Viegli liekts
  3. Liekts
  4. Dubultliekts
- 13) Augšanas tips. Divas gradācijas klases, determinants vai indeterminants
- 14) Novērtēta svaigu pākšu krāsa, nofotografēts
- 15) Novērtēta sausu pākšu krāsa, nofotografēts
1. Gaišas light
  2. Tumšas dark
  3. Zaļgans greenish
  4. Raibs
- 16) Novērtēta pāksts šķiedrainība:
1. Šķiedru nav (strongly contracting)
  2. Šķiedrains (leathery podded)
  3. Izteikti šķiedrains (extensively shattering)
- 17) Sēklapvalka krāsojums (Seed coat pattern)
1. Iztrūkst (absent)
  2. Plankumains (mottled/spotted)
  3. Stīpains (striped)
  4. Dubults (bipartite)
  5. Ap nabiņu (around hilium)
  6. Cits (other)
- 18) Sēklas pamatkrāsa Seed coat ground colours
1. Balta (white)
  2. Dzeltenīga (yellowish)
  3. Krēmkrāsas (cream)
  4. Zaļgana (greenish)
  5. Pelēcīga (greyish)
  6. Brūngana (brownish)
  7. Violeta (purple)
  8. Melna (black)
  9. Sarkana (red)
  10. Sārta (pink)
  11. Zilgana (blueish)
  12. Cita (other)
- 19) Sekundārā krāsa Seed coat secondary colours, skatīt iepriekšējo punktu
- 20) Pupiņas forma Seed shape
1. Apaļas (round)
  2. Ovālas (oval)
  3. Kuboidālas (cuboid)
  4. Nierveida (kidney shaped)

- 21) Pupiņas nofotografētas
- 22) Pupiņām noteikts garums, platums, augstums, aprēķināts tilpums
- 23) Noteikts pākšu skaits augam
- 24) Noteikta sausu pākšu masa augam
- 25) Noteikta pupiņu masa no auga
- 26) Noteikta 100 pupiņu masa ( četros atkārtojumos)
- 27) Noteikta absolūtā sausne (LBTU Biotehnoloģiju zinātniskajā laboratorijā pēc ISO 6496:199)
- 28) Noteikts kopproteīna saturs (LBTU Biotehnoloģiju zinātniskajā laboratorijā pēc LVS EN ISO 5983-2:2009)

Iegūtajiem rezultātiem veikta datu matemātiskā apstrāde izmantojot divfaktoru dispersijas analīzi, korelācijas analīzi.

Lai samazinātu veģetācijas perioda un pētījumu vietas ietekmi, katrai izmēģinājuma vietai aprēķināts genotipa novērtējums (GN).

$$GN = \frac{X_i}{X_v} \quad (1)$$

kur  $X_i$ - pētāmā genotipa parametrs konkrētajā izmēģinājuma vietā

$X_v$ - konkrētās vietas maksimālais pētāmo genotipu parametru novērtējums

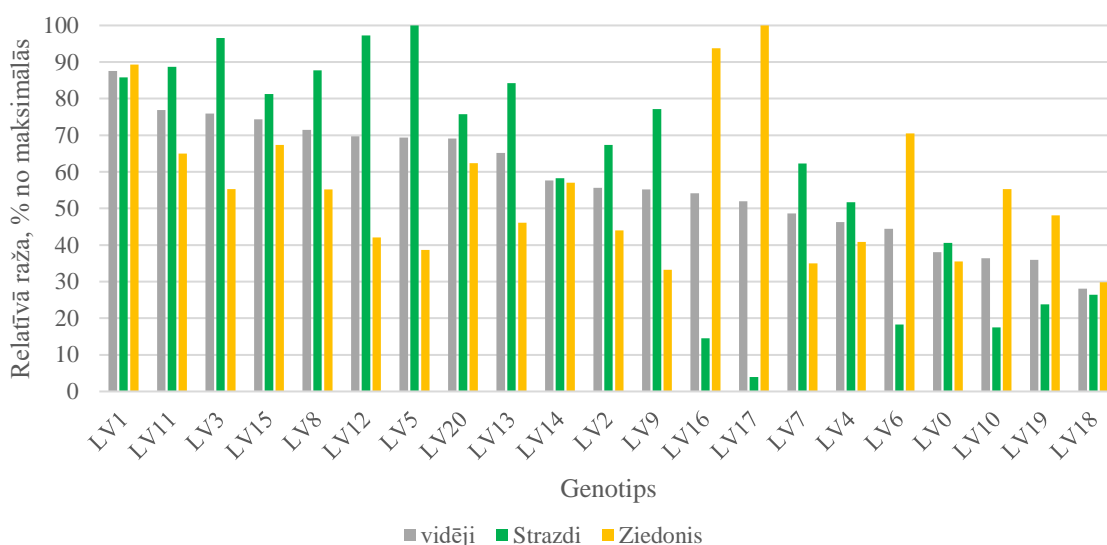
## 6. Rezultāti

### 6.1. Pupiņu raža

Izmēģinājumos noskaidrots, ka audzēšanas vietai ir būtiska ietekme uz pupiņu ražu. Vidēji abās audzēšanas vietās labākie rezultāti tika iegūti, audzējot LV1 genotipu. Šeit rezultāti maz atšķirās arī pa audzēšanas vietām. LBTU izmēģinājuma laukā Strazdos, labākās ražas iegūtas no LV5, LV12, LV3, LV11 un LV8. Visi genotipi ir lobāmās pupiņas. (2.attēls)

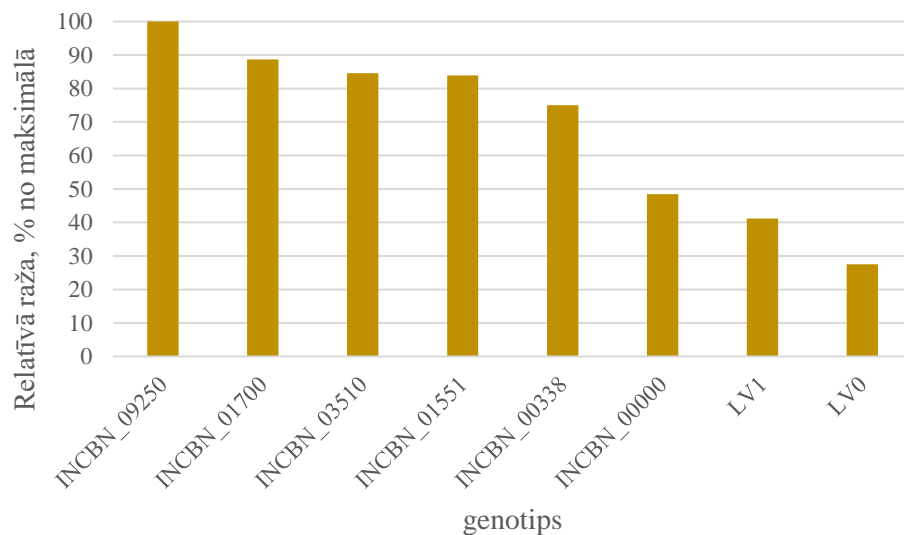
D/S Ziedonis teritorijā ražīgākās izrādījās LV17, LV16, LV1, LV6 un LV1. LV16 un LV17 ir ar pākstīm ēdamās pupiņas un audzētas šajā teritorijā jau gadu desmitiem un atlasē ceļā izvēlētas kā vienas no stabilāk ražojošām.

Ja salīdzina ar pākstīm ēdamās pupiņas un lobāmās pupiņas, tad likumsakarīgi, ka no lobāmajām pupiņām sauso sēklu raža vidēji ir par 41 % augstāka. (2.attēls)



2.attēls. Relatīvā Latvijas genotipu raža

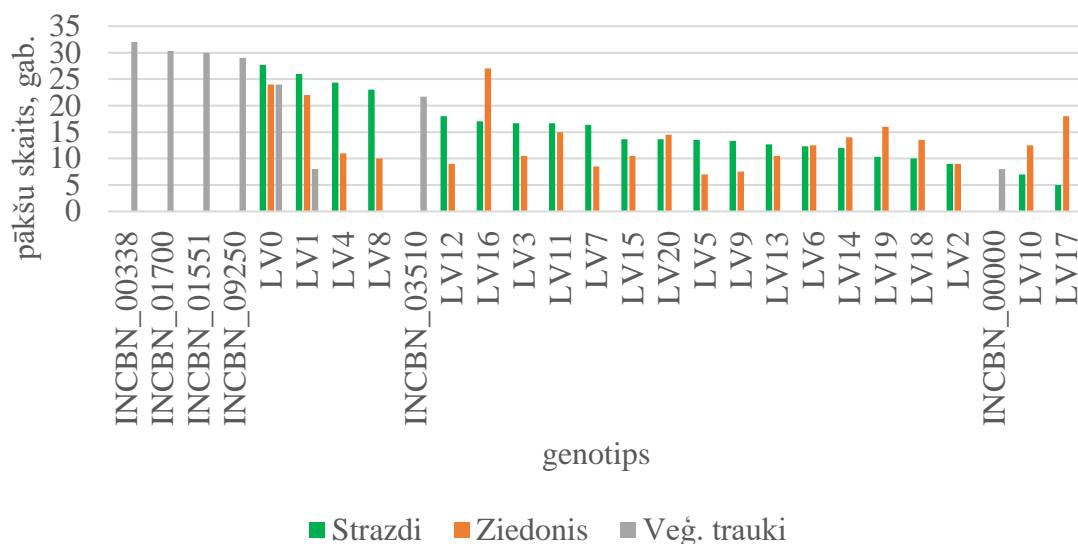
No Itālijas saņemto pupiņu klonu, kas audzēti veģetācijas traukos, sēklu raža vidēji ir par 75% augstāka nekā viņu pašu šķirnei 'Meccearly' un mūsu genotipam LV1. Jāatzīst gan, ka normāli Latvijas lauku apstākļos itāļu genotipi diez vai būtu nogatavojušies, jo pupiņas ar visiem veģetācijas traukiem tika ienestas siltumnīcā. (3.attēls).



**3.attēls.** Relatīvā Itālijas genotipu raža ( veģetācijas trauku izmēģinājumi)

## 6.2. Pākšu skaits vienam augam

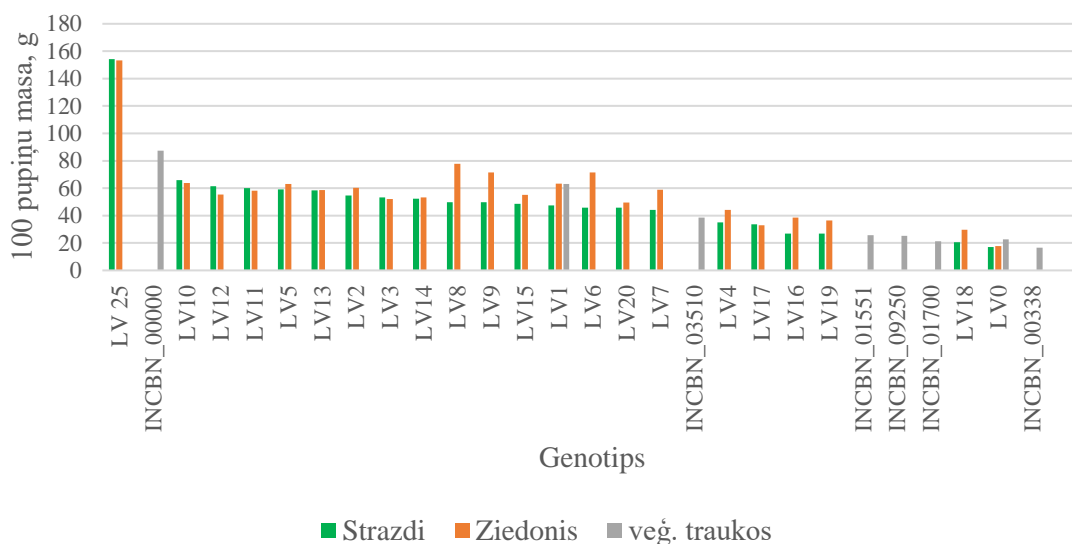
Pākšu skaits vienam, augam variēja no 32 pākstīm no viena auga ( INCBN-00338) līdz 5 pākstīm no viena auga (LV17). Itālijas pupiņas izcēlās ar daudz lielāku pākšu skaitu no viena auga, kas liecina par izteikti savādāku ģenētisko materiālu. Arī izmēru ziņā šīs pupiņas bija būtiski mazākas. No Itālijas atsūtītā šķirne ‘Meccearly’ maz atšķīrās no Latvijas genotipiem (4. att.). No Latvijas genotipiem lielākais pākšu skaits bija LV1, šeit gan jāatzīst, ka būtiski atšķīrās pākšu skaits no viena auga abās audzēšanas vietās, jo šis genotips bija vēls un Strazdu ielā visas pupiņas tika novāktas vienlaicīgi, atšķirībā no Ziedoņa, kur tām jāva nogatavoties. Vidēji vairāk pākšu ir pupiņām, kuras var izmantot kā pākšu pupiņas. Vieni no izlīdzinātākajiem pākšu skaita ziņā abās audzēšanas vietās bija genotipi LV11 un LV20.



4. attēls. Pākšu skaits no viena auga

### 6.3. Pupiņu sēklu masa.

Simts pupiņu sēklu masa varēja robežās no 154 g (LV25) līdz 16.7 g Itālijas genotips INCBN-00338. jāatzīst, ka LV25 nav *Ph. vulgaris* bet gan *Ph. coccineus*, kas ir cita suga un raksturojas ar lielākām sēklām. No parastajām pupiņām lielākā 100 sēklu masa konstatēta šķirnei 'Meccearly' ( 87.3 g) un Latvijas 10. genotipam 64,9 g. Jāatzīst, ka V10 bija izteikti vēls genotips. Novērotas arī salīdzinoši lielas pupiņu masas atšķirības starp audzēšanas vietām. Vidēji Ziedonī pupiņas bija lielākas, kas skaidrojams ar garāku veģetācijas periodu. (5. attēls)



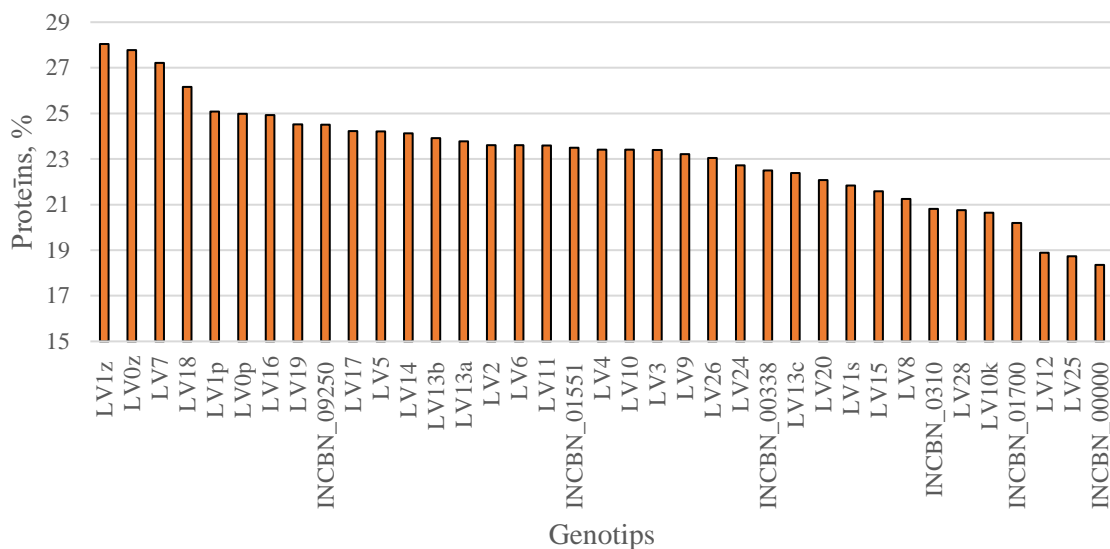
5. attēls. Simts pupiņu masa, g



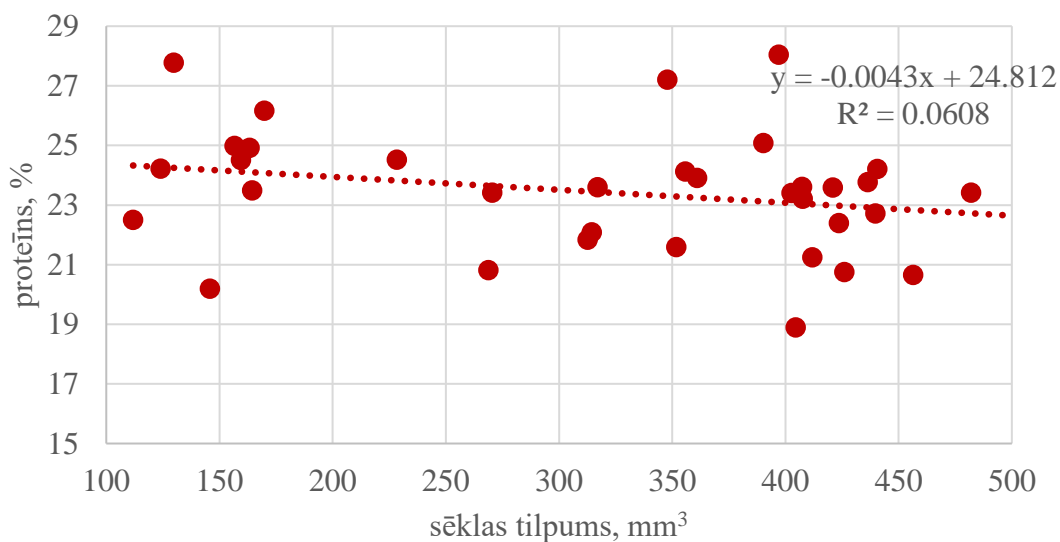
#### 6.4. Kopproteīna saturs pupiņu sēklās

Proteīns ir pupiņu būtiskākā sēklas sastāvdaļa, kas nosaka šī auga piederību proteīna avotiem cilvēku pārtikā. Proteīna saturs pupiņās varēja no 28.04 % (LV1, kas audzētas Ziedonī), līdz INCBN\_00000 jeb šķirnei 'Meccearly', kur proteīna saturs sastādīja 18,4 %. Proteīna saturs būtiski variēja atkarībā no audzēšanas vietas. Genotipam LV1, kurš tika audzēts visās trijās vietās, kā, jau minēts Ziedonī audzētajās pupiņās, sastādīja 28.0%, Strazdos veģetācijas traukos audzētajās pupiņās 25.1 %, bet uz lauka augušajās pupiņās tikai 21.8%. Šis ir pierādījums, ka proteīna uzkrāšanā sēklā būtiska nozīme ir audzēšanas agrotehnikai (6. attēls).

Šķīta likumsakarīgi, ka proteīna saturam vajadzētu korelēt ar pupiņas lielumu, jo mazākā pupiņā lielāku daļu vajadzētu aizņemt sēklapvalkiem. Diemžēl tādu likumsakarību novērot neizdevās (7. attēls)



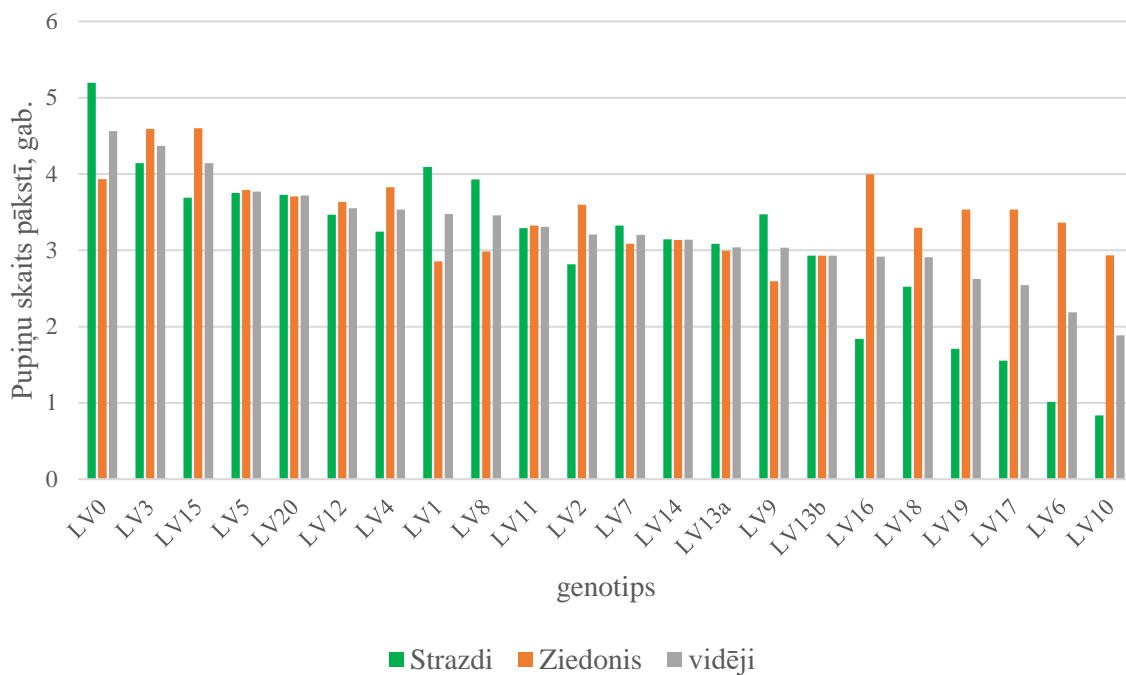
6. attēls. Proteīna saturs pupiņās



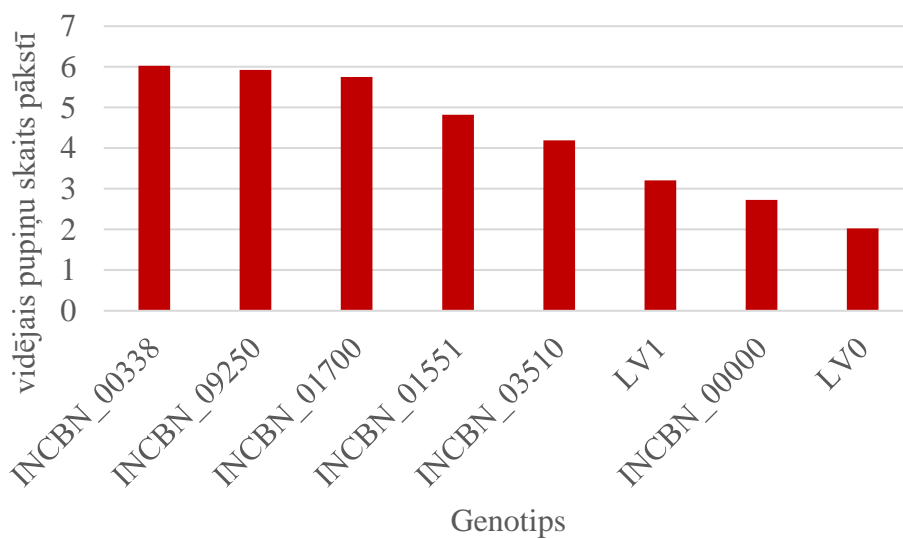
7. attēls. Kopsakarības starp pupiņu lielumu un proteīna saturu.

### 6.5. Pupiņu skaits pāktī

Vidējais pupiņu skaits pāktī variēja robežās no sešām (INCBN-00338) līdz vienai sēklai (LV6 un LV10). Visi Itālijas genotipi raksturojās ar lielāku sēklu skaitu pāktī, Atšķirības starp šķirni 'Meccarly' un Latvijas genotipiem nebija būtiskas. Arī par kontroli izvēlētā šķirne 'Sundance' raksturojās ar salīdzinoši lielu pupiņu skaitu pāktī (8. attēls). Lai gan datu matemātiskā apstrāde liecina, ka ir būtiska audzēšanas vietas ietekme uz pupiņu skaitu pāktī, tomēr atsevišķiem genotipiem atšķirības starp audzēšanas vietām bija nelielas. Tā šis parametrs maz mainījās genotipiem LV5, LV20, LV14 un LV13b. Lielākās atšķirības novērojas genotipiem ar vēlu sēklu nogatavošanās laiku. (8. un 9. attēls)



8. attēls. Pupiņu skaits pākstī Latvijas genotipiem.

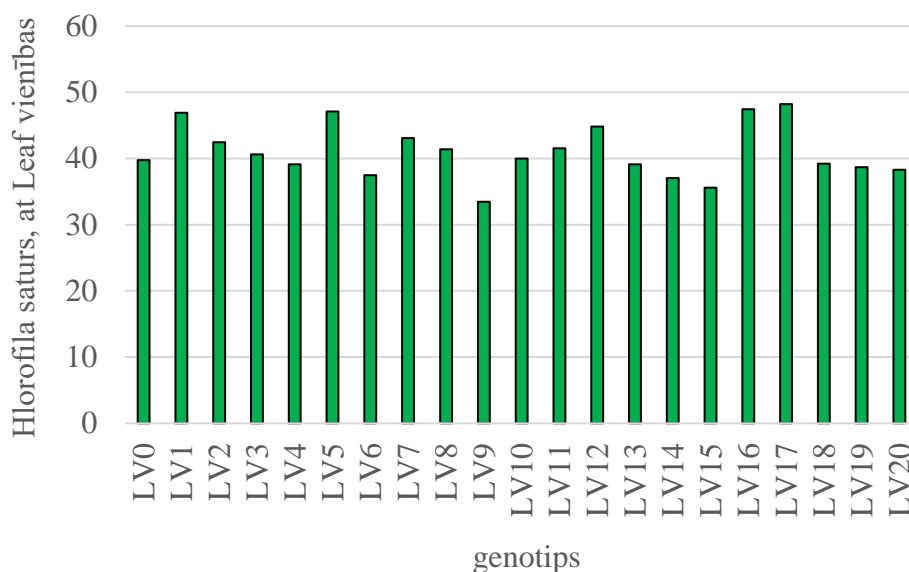


9. attēls. Pupiņu skaits pākstī veģetācijas traukos audzētiem genotipiem.

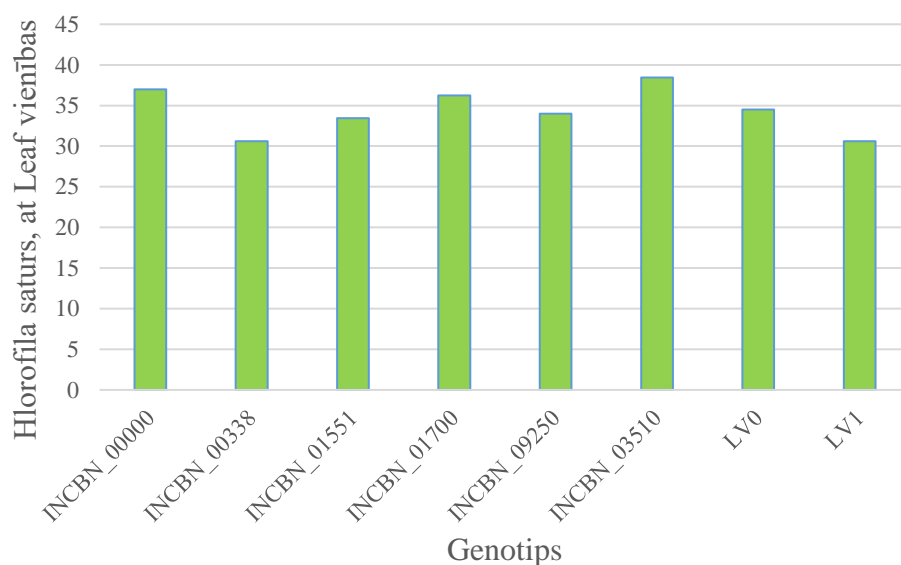
### 6.6. Klonu simbiozes efektivitātes novērtējums.

Kā simbiozes efektivitātes vērtējuma kritērijs izmantots hlorofila saturs pupiņu lapās. Hlorofila saturs noteikts ar portatīvo hlorofila mērītāju at Leaf. Ja mērījums ir mazāks par 40 vienībām, tas liecina, ka augu apgāde ar slāpekli nav pietiekama, tātad simbiotiskā sistēma nestrādā pietiekoši efektīvi. Kā redzams 10. attēlā pupiņu lapas atšķiras ar hlorofila saturu tajās.

Labā simbiotiskā efektivitāte izveidojusies ar genotipiem LV1, LV5, LV12, LV16 un LV17, mazefektīva simbioze ar genotipiem LV9, LV15, LV6. (10. attēls). Datu matemātiskā apstrāde liecina, ka genotipam ir būtiska ietekme uz simbiotiskās sistēmas efektivitāti.



10. attēls. Hlorofila saturs pupiņu lapās Latvijas genotipiem.



11. attēls. Hlorofila saturs pupiņu, kas audzētas veģetācijas traukos, lapās.

Veģetācijas traukos audzētajām pupiņām hlorofila saturs nevienā no variantiem nepārsniedza 40 vienības, kas liecina par nepilnīgas simbiozes izveidošanos. Tas varētu būt skaidrojams arī ar audzēšanas apstākļiem, jo veģetācijas traukos bija ierobežots substrāta daudzums, kas varēja izraisīt ne tikai nepilnīgas simbiotiskās sistēmas veidošanos, bet arī atsevišķu minerālelementu deficītu vai nesabalansētību.

## 7. Projekta koordinācija un zināšanu popularizēšana.

Projekta partneriem ir nosūtīta informācija par:

- 1) No Itālijas saņemto pupiņu ontoģenēzes īpatnībām. Nosūtītas nepieciešamās fotogrāfijas, kas papildina genotipu aprakstus
- 2) Sagatavota informācija par Latvijas genotipiem. Saņemta piekrišana par genotipu iekļaušanu kopējā datu bāzē, bet, lai korekti veiktu ģenētiskās analīzes, nepieciešamas Itālijas partneri ierosināja no kloniem iegūt vienas sēklas līnijas (Single-Seed Descent (SSD)).
- 3) Tiek gatavots raksts par Latvijas dārza pupiņu kloniem, kurā apkopota informācija gan par Latvijas, gan projekta ietvaros saņemtajiem kloniem, to ontoģenēzes īpatnībām un fenotipiskajām atšķirībām.

# SECINĀJUMI

Iegūts dārza pupiņu (*Phaseolus vulgaris*) sēklu materiāls no četriem pupiņu audzētājiem. Projekta pētījumā iekļauti 29 Latvijā audzēti genotipi, no tiem 25 genotipi ir *Phaseolus vulgaris*, bet četri genotipi pieder sugai *Ph. coccineus*. Diemžēl sadīga 24 genotipi.

No Itālijas saņemti seši genotipi.

Lauka izmēģinājumi iekārtoti divās lokācijās.

Tā kā paraugi no Itālijas saņemti jūnija beigās, tad iekārtoti izmēģinājumi veģetācijas traukos.

Veikta visu genotipu fenotipiskā izvērtēšana.

Veicot fenotipisko izvērtēšanu:

- 1) apvienoti LV16 un LV19 paraugi. Sējot atšķirās pupiņu krāsa, kas diemžēl pēc ražas novākšanas neizrādījās noturīga pazīme.
- 2) Genotips LV13 sadalīts trīs apakštipos, kas atšķiras pēc sēklu formas un krāsojuma izvietojuma. Šiem paraugiem noteikti nepieciešamas tālāks izvērtējums, izveidotas (Single-Seed Descent (SSD). lai noskaidrotu genotipiskās atšķirības
- 3) Vizuāli vienāda, bet no diviem audzētājiem iegūtais, LV10 genotips, atšķirās pēc genotipa agrīnuma pakāpes.

Noteikta katra klona raža un proteīna saturs sēklās.

Veikta sēklu apstrāde ar LBTU kolekcijā esošajām gumiņbaktērijām un noteikta klonu simbiozes efektivitāte.

Tiek gatavots raksts par Latvijas dārza pupiņu kloniem, kurā apkopota informācija gan par Latvijas, gan projekta ietvaros saņemtajiem kloniem, to ontoģenēzes īpatnībām un fenotipiskajām atšķirībām.

## **Nākamajā gadā plānots:**

- 1) No atlasītajiem dārza pupiņu (*Phaseolus vulgaris*) kloniem iegūt vienas sēklas līnijas (Single-Seed Descent (SSD)), lai to varētu nodot projekta partneriem ģenētiskajām analīzēm
- 2) Veikt SSD fenotipisko izvērtējumu.
- 3) Nosūtīt SSD paraugus partneriem ģenētiskajai izvērtēšanai.
- 4) Papildināt atlasīto klonu kolekciju ar jauniem kloniem. 2024. gadā vairāk uzmanības veltīt kāršu pupiņām.

# Izmantotā literatūra

1. Andrews, M., and Andrews, M. E. (2017). Specificity in legume-rhizobia symbioses. *Int. J. Mol. Sci.* 18:705. doi: 10.3390/ijms18040705
2. Bad Bug Book (2012)". *Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook: Phytohaemagglutinin. Food and Drug Administration. 2012.*
3. Bellucci E., Benazzo A., Xu C., Bitocchi E., Rodriguez M., Alseekh S., Di Vittori V., Gioia T., Neumann K., Cortinovis G., Frascarelli G., Murube E, Trucchi E., Nanni L., Ariani A, Logozzo G, Shin J.H., Liu C, Jiang L., Ferreira J.J., Campa A, Attene G., Morrell P.L., Bertorelle G., Papa R. (2023) Selection and adaptive introgression guided the complex evolutionary history of the European common bean *Nature Communications* 14:1908, doi: 10.1038/s41467-023-37332-z
4. Choi HK, Atkinson K, Karlson EW, Willett W, Curhan G (March 2004). "Purine-rich foods, dairy and protein intake, and the risk of gout in men". *N. Engl. J. Med.* 350 (11): 1093–103. doi:10.1056/NEJMoa035700
5. Cortinovis G., Oppermann M., Neumann K., Graner A., Gioia T., Marsella M., Alseekh S., Fernie A.R., Papa R., Bellucci E., et al. Towards the Development, Maintenance, and Standardized Phenotypic Characterization of Single-Seed-Descent Genetic Resources for Common Bean. *Curr. Protoc.* 2021;1:e133. doi: 10.1002/cpz1.133.
6. Dall'Agnol, R. F., Ribeiro, R. A., Ormeno-Orrillo, E., Rogel, M. A., Delamuta, J. R. M., Andrade, D. S., et al. (2013). *Rhizobium freirei* sp. nov., a symbiont of *Phaseolus vulgaris* that is very effective at fixing nitrogen. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 63, 4167–4173. doi: 10.1099/ijs.0.052928-52920
7. Karpova I., 2008 Guniņbaktēriju ietekme uz zirņu un pupiņu ražas formēšanosm Zinātniskais darbs bakalaura ieguvei, Jelgava, 50lpp.
8. Klūga A. Guniņbaktēriju daudzveidība Latvijas augsnēs : promocijas darbs zinātnes doktora grāda (Ph.D.) iegūšanai lauksaimniecības, meža un veterinārajās zinātnēs Jelgava : LBTU, 2023. - 133 lpp.
9. López-Guerrero, M. G., Ormeño-Orrillo, E., Acosta, J. L., Mendoza-Vargas, A., Rogel, M. A., Ramírez, M. A., et al. (2012). Rhizobial extrachromosomal replicon variability, stability and expression in natural niches. *Plasmid* 68, 149–158. doi: 10.1016/j.plasmid.2012.07.002
10. Martínez-Romero, E. (2003). Diversity of rhizobium-phaseolus vulgaris symbiosis: overview and perspectives. *Plant Soil* 252, 11–23. doi: 10.1023/A:1024199013926
11. Mousavi, S. A., Willems, A., Nesme, X., de Lajudie, P., and Lindström, K. (2015). Revised phylogeny of Rhizobiaceae: proposal of the delineation of *Pararhizobium* gen. nov., and 13 new species combinations. *Syst. Appl. Microbiol.* 38, 84–90. doi: 10.1016/j.syapm.2014.12.003
12. Mwenda, G. M., O'Hara, G. W., De Meyer, S. E., Howieson, J. G., and Terpolilli, J. J. (2018). Genetic diversity and symbiotic effectiveness of *Phaseolus vulgaris* -nodulating rhizobia in Kenya. *Syst. Appl. Microbiol.* 41, 291–299. doi: 10.1016/j.syapm.2018.02.001
13. Pastor-Bueis R,, Sánchez-Cañizares C, James EK and González-Andrés F (2019) Formulation of a Highly Effective Inoculant for Common Bean Based on an Autochthonous Elite Strain of *Rhizobium leguminosarum* bv. phaseoli, and Genomic-

- Based Insights Into Its Agronomic Performance. *Front. Microbiol.* 10:2724. doi: 10.3389/fmicb.2019.02724
14. Peix, A., Ramírez-Bahena, M. H., Velázquez, E., and Bedmar, E. J. (2015). Bacterial associations with legumes. *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* 34, 17–42. doi: 10.1080/07352689.2014.897899
  15. Rebello, C. J., Greenway, F. L., & Finley, J. W. (2014). Whole grains and pulses: A comparison of the nutritional and health benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(29), 7029–7049. <https://doi.org/10.1021/jf500932z>
  16. Rendón-Anaya, M., Montero-Vargas, J.M., Saburido-Álvarez, S. *et al.* Genomic history of the origin and domestication of common bean unveils its closest sister species. *Genome Biol* **18**, 60 (2017). <https://doi.org/10.1186/s13059-017-1190-6>
  - 17.