

Latvijas Universitāte, Bioloģijas fakultāte

**Pārskats par Latvijas Republikas Zemkopības
ministrijas Lauku atbalsta dienesta zinātniskā
projekta „Ģenētiski modificēto organismu riska
faktoru un ietekmes uz vidi novērtējums” norisi
2008. - 2009. gadā**

Rīga, 2009

Satura rādītājs

KOPSAVILKUMS	4
ZM LAD projekta darba grafiks un tā izpilde 2009. gadā	6
Projekta darba grupas sastāvs 2009. gadā	8
ZM LAD projekta 2008. - 2009. gadā paveiktā darba apraksts	9
Pielikums Nr. 1. Projekta darba grupas sēdes PROTOKOLS Nr. 3	11
Pielikums Nr. 2. Projekta darba grupas sēdes PROTOKOLS Nr. 4	12
Pielikums Nr. 3. Projekta darba grupas sēdes PROTOKOLS Nr. 5	14
Pielikums Nr. 4. Savvaļas augu bioloģiskās daudzveidības monitoringa plāns un protokols	16
Pielikums Nr. 5. Savvaļas augu bioloģiskās daudzveidības raksturojums Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūta (VPLSI) lauku tuvumā	17
Pielikums Nr. 6. Nezāļu daudzveidības analīze Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūtā (VPLSI)	25
Pielikums Nr. 7. Kukurūzas sēklu pieprasījums, adresēts kompānijas Monsanto pārstāvim Latvijā	27
Pielikums Nr. 8. Sarakste ar Monsanto pārstāvi Latvijā	32
Pielikums Nr. 9. Raksts žurnālā Scientific American Magazine „Do Seed Companies Control GM Crop Research?”	33
Pielikums Nr. 10. Pasaules pieredze ģenētiski modificētu kultūraugu vides riska novērtēšanā	35
Pielikums Nr. 11. Izolācijas attālumi ĢMO, konvencionālās un bioloģiskās daudzveidības līdzāspastāvēšanas nodrošināšanai	40
Pielikums Nr. 12. Paraugu ievākšana augsnes mikroorganismu analīzei VPLSI	44
Pielikums Nr. 13. Augsnes paraugu molekulāro analīžu rezultāti	46
Pielikums Nr. 14. 2008.-2009. gada augsnes mikrobioloģisko analīžu apkopojums	75
Pielikums Nr. 15. 04.06.2009 ievākto augsnes paraugu mikrobioloģiskās izpētes rezultāti	103
Pielikums Nr. 16. 25.08.2009 ievākto augsnes paraugu mikrobioloģiskās izpētes rezultāti	117
Pielikums Nr. 17. Leldes Grantiņas atskaite par dalību FEMS kongresā	135

Pielikums Nr. 18. Leldes Grantiņas 3. FEMS kongresā demonstrētais stenda referāts	137
Pielikums Nr.19. Nila Rostoka atskaite par dalību konferencē ITMI-COST	138
Pielikums Nr.20. Nila Rostoka konferencē ITMI-COST demonstrētais stenda referāts	139
Pielikums Nr.21. Leldes Grantiņas atskaite par dalību 2. Centrāleiropas Mikrobioloģijas forumā, Keszthely, Ungārija (07.10.2009. – 09.10.2009)	140
Pielikums Nr.22. Leldes Grantiņas 2. Centrāleiropas Mikrobioloģijas forumā lasītā referāta kopsavilkums	143
Pielikums Nr.23. Anetes Keišas atskaite par dalību konferencē „8th Plant genomics European meeting”, Lisabona 7-10.oktobris, 2009	144
Pielikums Nr.24. Anetes Keišas konferencē „8th Plant genomics European meeting” demonstrētais stenda referāts	145
Pielikums Nr.25. Baibas Ieviņas atskaite par dalību konferencē „8th Plant genomics European meeting”, Lisabona 7-10.oktobris, 2009	146
Pielikums Nr.26. Baibas Ieviņas konferencē „8th Plant genomics European meeting”, demonstrētais stenda referāts	148

Latvijas Universitāte, Bioloģijas fakultāte
KOPSAVILKUMS

Pārskats par Latvijas Republikas Zemkopības ministrijas Lauku atbalsta dienesta (LR ZM LAD) zinātniskā projekta „Ģenētiski modificēto organismu riska faktoru un ietekmes uz vidi novērtējums” norisi 2008. - 2009. gadā

Saskaņā ar Eiropas Padomes direktīvu 2001/18 un Padomes Lēmumu 2002/811 par tirgū laižamo Ģenētiski Modificēto Organismu (ĢMO) ietekmes uz apkārtējo vidi monitoringu, tiek uzsvērts, ka sekmīgam ietekmes novērtējumam ir nepieciešams noteikt bāzes līniju, saskaņā ar kuru tiek salīdzināti ĢMO monitoringa rezultāti. Tāpat pastāv nepieciešamība izvērtēt kumulatīvos tirgū laižamo ĢMO efektus, kas rodas, piemēram, lauksaimniecības kultūru rotācijas rezultātā, vai audzējot dažādas ĢMO kultūras blakus esošos laukos. Latvijai ir saistošas Eiropas Savienības prasības par darbībām ar atzītiem ĢM kultūraugiem, kuru audzēšana, novākšana, uzglabāšana, sagatavošana, iepakšana un transportēšana veicama saskaņā ar LR MK Noteikumiem Nr. 30 „Par prasībām ģenētiski modificēto kultūraugu līdzāspastāvēšanas nodrošināšanai, kā arī uzraudzības un kontroles kārtību”.

Tādējādi pastāv nepieciešamība veikt zinātniskus pētījumus, lai noteiktu bāzes līnijas saskaņā ar kurām varētu noteikt ar ĢMO līdzāspastāvēšanu saistītos riska faktorus un varbūtējo kumulatīvo ietekmi. Gan konvencionālā, gan arī bioloģiskā lauksaimniecība tiešā un netiešā veidā ietekmē apkārtējo vidi. Lai noteiktu ietekmi uz vidi, kas specifiski saistīta ar ĢMO līdzāspastāvēšanu, nepieciešams izstrādāt bāzes līnijas saskaņā ar kurām vērtēt ar ĢMO kultivēšanu saistītos iespējamus riskus.

Darbību uzsākšanai ar ĢM kultūraugiem Eiropas Savienībā ir nepieciešams izstrādāt un apstiprināt monitoringa plānu. Ar ĢM kultūraugu audzēšanu saistītie riski ir atkarīgi gan no noteiktās ĢM kultūras, gan arī no konkrētajā dalībvalstī pastāvošajiem vietējiem apstākļiem, tādiem kā flora un fauna vai lauksaimniecības prakse. Lai nodrošinātu efektīvu un drošu ĢM kultūraugu monitoringu nepieciešams izvērtēt bāzes līniju jeb vides stāvokli.

Projekta pirmajā gadā tika veikta izvēlētu ĢMO līniju dosjē analīze un salīdzinājums ar datiem par Latvijas floru. Uz doto brīdi pieejamie dati liecina, ka dosjē sniegtā informācija ir atbilstoša un, ka nepastāv Latvijas lauksaimniecības apstākļiem specifiski faktori, kas varētu izmainīt atsevišķo ĢM kultūraugu izplatīšanas vidē riskus. 2009. gadā ir apkopota pasaules pieredze ģenētiski modificētu kultūraugu vides riska novērtēšanā, kā arī dati par izolācijas attālumiem ĢMO, konvencionālās un bioloģiskās lauksaimniecības līdzāspastāvēšanas nodrošināšanai. Efektīvam monitoringa programmu pielietojumam ir uzsākta bāzes līnijas noteikšana. Literatūras dati liecina, ka viens no galvenajiem ĢMO riskiem ir saistīts ar to varbūtējo ietekmi uz augsnes mikroorganismiem. Šajā kontekstā 2008. – 2009. gadā tika veikta augsnes mikroorganismu daudzveidības izvērtēšana bioloģiskās un konvencionālās lauksaimniecības laukos Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūtā. Pirmā gada dati parādīja atšķirības starp dažādiem izmēģinājuma laukiem un kultūrām, un arī starp dažādiem analīzes periodiem. 2009. gadā šie pētījumi tika turpināti, pilnveidojot paraugu ievākšanas un analīzes metodes. Iegūtie rezultāti liecina, ka baktēriju un sēņu daudzumu un īpatsvaru augsnē vairāk ietekmē nevis bioloģiskais vai konvencionālais lauka režīms, bet gan audzētā kultūraugu suga, kuras iespaids saglabājas vismaz līdz nākošajai sezonai. Turpmākajā darbā par augsnes kvalitātes mikrobioloģisko indikatoru iesakām izmantot sēņu koloniju veidojošo vienību skaitu gramā augsnes (kvv g^{-1}), jo tas ir visjutīgākais no visiem

pētījumiem mikrobioloģiskajiem rādītājiem. Darba gaitā sekmīgi apgūtas metodes augsnes mikroorganismu molekulārajām analīzēm, kas ļauj precīzi noteikt dažādu sēņu grupu DNS īpatsvaru augsnes paraugos, kā arī identificēt izdalītās mikroorganismu tīrkultūras balstoties uz DNS sekvenču analīzi. Kopumā projekta realizācijai izveidotā darba grupa, kas ietver gan Latvijas Universitātes, gan Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūta zinātniekus, apliecināja bioloģijas un lauksaimniecības zinātnieku sekmīgas sadarbības iespējas bāzes līnijas noteikšanā. Projekta realizācijas gaitā iegūtie rezultāti jau tagad ļauj analizēt faktorus, kas ietekmē augsnes mikroorganismu un savvaļas augu daudzveidību, tomēr projekta realizācija 2010. – 2011. gadā dotu iespēju precizēt uz doto brīdi iegūtos rezultātus un dotu iespēju precīzāk novērtēt dažādu apkārtējās vides faktoru ietekmi uz bāzes līniju. Doktorantūras un maģistratūras studentu piesaiste projekta realizācijā ir veicinājusi gan bioloģiskās daudzveidības pētījumos pieredzējušas jaunās zinātnieku paaudzes veidošanos, gan arī kompetentu jauno speciālistu sagatavošanu valsts pārvaldes un kontroles institūcijām, kuras veic ĢMO līdzāspastāvēšanas nodrošinājumu Latvijas Republikā.

ZM LAD projekta darba grafiks un tā izpilde 2009. gadā

Pielikums ar Zemkopības ministrijas
2007.gada 21.septembra rīkojumu Nr.217
apstiprinātās komisijas sēdes
2008.gada 18.marta
protokolam Nr.1

N. p. k.	Darba uzdevums (saskaņā ar iesniegto projektu)	Plānotās aktivitātes/ darbības uzdevuma sasniegšanai (ja ilgtermiņa, tad pa gadiem)	Plānotā izpilde (gads/mēnesis)	Faktiskā izpilde (gads/mēnesis)
1.	Darba grupas izveide monitoringa un vides riska novērtējuma analīzei.	Projekta realizācijai izveidotās grupas darbības koordinēšana 2009. gadā	2009. gada novembris	Notiek projekta darba grupas darba koordinācija
2.	Savvaļas augu kolekcijas izveide LU Botāniskajā dārzā, lai noteiktu potenciālos krustošanās riskus ĢM kultūraugiem, kuru vides riska novērtējums tika veikts 2008. gadā (kukurūzas līnijas 59122 x 1507 x NK603, NK603 un T 25; kartupeļu līnija EH92-527-1)	ĢM kultūraugiem radniecīgo savvaļas augu uzturēšana LU BD (ilgtermiņa)	Uzsākta 2008. gada augustā, tiks turpināta līdz projekta realizācijas beigām	Turpinās līdz projekta realizācijas beigām
3.	Siltumnīcas sagatavošana ĢM kultūraugu, kas minēti 2.punktā, audzēšanai LU Bioloģijas fakultātē un Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūtā.	VPLSI siltumnīcas sagatavošana ĢM kultūraugu izmēģinājumam (2008. g. uzsāktā renovācija atlikta)	2009. gada maijs	Renovācija atlikta līdzekļu trūkuma dēļ
4.	Izmēģinājumu veikšana siltumnīcās ar ĢM kultūraugiem, kas minēti 2.punktā, un to salīdzināšana ar nemodificētajiem kultūraugiem.	ĢM kukurūzas un kartupeļu sēklmateriāla iegāde	2009. gada maijs	Notiek pārrunas par atbilstoša sēklmateriāla iegādi.
5.	ĢM kultūraugu, kas minēti 2.punktā, bāzes līniju precizēšana un monitoringa programmas pielāgošana, ņemot vērā rezultātus, kas iegūti saskaņā ar 5.punktā noteiktajām darbībām.	Siltumnīcas izmēģinājumu iekārtošana ĢM kultūraugiem 2009. gadā, ja būs pieejams sertificēts ĢM kultūraugu sēklmateriāls	2009. gada septembris	Uz 2009. g. jūliju sagatavots siltumnīcas izmēģinājuma plāns
		Monitoringa programmas pielāgošana Latvijas apstākļiem balstoties uz līdzvērtīgu pieredzi citās ES valstīs	2009. gada oktobris	Līdz 2009. g. oktobrim veikta citu ES valstu pieredzes izvērtēšana

6.	Siltumnīcas, bioloģisko un konvencionālo lauku un to tuvākās apkārtnes apsekošana, lai novērtētu ietekmi uz nemērķa organismiem – savvaļas augiem un augsnes mikroorganismiem.	Bāzes līniju un monitoringa veidlapu precizēšana balstoties uz līdzvērtīgu pieredzi citās ES valstīs (ilgtermiņa)	2008. – 2011. gads	Uzsāka bāzes līniju precizēšana balstoties uz izmēģinājuma rezultātiem un citu valstu pieredzi
		Augsnes mikroorganismu daudzveidības analīze siltumnīcas izmēģinājumā un bioloģiskajos un konvencionālajos laukos. Jaunu augsnes mikroorganismu molekulārās daudzveidības analīzes metožu apguve (ilgtermiņa)	2009. gada oktobris	2009. gada jūnijā un augustā ievākti augsnes paraugi. Veiktas mikrobioloģiskās un molekulāri bioloģiskās analīzes
7.	ĢM kultūraugu, kas minēti 2.punktā, nekontrolētas izplatīšanās veida (piemēram, Latvijas klimatiskie un ģeogrāfiskie apstākļi, pārziemošanas spējas u.c.) analīze.	Savvaļas augu daudzveidības analīze bioloģisko un konvencionālo lauku tuvumā. Augu indikatorsugu apzināšana vides riska novērtējumam Latvijas apstākļos (ilgtermiņa)	2009. gada oktobris	Līdz 2009. g. septembrim veikta savvaļas augu daudzveidības analīze
		Nezāļu daudzveidības analīze bioloģiskās un konvencionālās augkopības apstākļos, nezāļu sugu piemērotības izvērtējums herbicīdu toleranto ĢMO vides riska novērtējumam	2009. gada septembris	Līdz 2009. g. oktobrim apkopot dati par nezāļu daudzveidību
		Kultūraugu pārziemošanas spējas novērtējums - iepriekšējā gada laukaugu nevēlami pārziemojušo indivīdu uzskaitē bioloģiskajos un konvencionālajos laukos. (ilgtermiņa)	2009. gada jūlijs	Līdz 2009. g. jūlijam veikta uzskaitē bioloģiskajos un konvencionālajos laukos. Turpinās datu apkopošana un analīze
8.	Monitoringa rezultātu apkopojums, datu analīze, rekomendāciju izstrāde monitoringa pilnveidošanai, izolācijas attālumu un buferjoslu noteikšana ĢM kukurūzai un kartupeļiem.	Monitoringa rezultātu apkopojums balstoties uz ES valstu līdzvērtīgu pieredzi	2009. gada oktobris	Līdz 2009. g. oktobrim veikta literatūras analīze par citu valstu monitoringa rezultātiem
9.	ĢM kultūraugu kumulatīvās ietekmes novērtēšana, atbilstoši 1. – 4. gadā iegūtajiem rezultātiem.	Kumulatīvo efektu novērtēšana balstoties uz ES valstu līdzvērtīgu pieredzi	2009. gada oktobris	Līdz 2009. g. oktobrim veikta literatūras analīze par citu valstu pieredzi

Projekta darba grupas sastāvs 2009. gadā

Vārds, Uzvārds	Amats	Institūcija	Kompetence
Nils Rostoks	Vad. pētnieks	LU BF	Darba grupas vadītājs, ĢMO uztveršanas molekulārās metodes
Vizma Nikolajeva	Vad. pētnieks	LU BF	Augsnes mikroorganismu mikrobioloģiskās analīzes
Ilze Skrabule	Vad. pētnieks	VPLSI	Izmēģinājumu iekārtošana VPLSI, konsultācijas par VPLSI izmēģinājuma lauku apsaimniekošanu
Lelde Grantiņa	Asistente	LU BF	Augsnes mikroorganismu molekulārās analīzes
Anete Keiša	Asistente	LU BF	ĢMO uztveršanas molekulārās metodes
Dace Piliksere	Asistente	VPLSI	Nezāļu analīze bioloģiskajā un konvencionālajā lauksaimniecībā
Lauma Strazdiņa	Asistente	LU BD	ĢM kultūraugiem radniecīgo savvaļas augu identifikācija, savvaļas augu daudzveidības izvērtējums
Anna Ramata-Stunda	Asistente	LU BF	ĢMO literatūras analīze, projekta dokumentācijas un atskaišu sagatavošana
Baiba Ieviņa	Laborante	LU BF	ĢMO uztveršanas molekulārās metodes

LU BF – Latvijas Universitātes Bioloģijas fakultāte

LU BD – Latvijas Universitātes Botāniskais dārzs

VPLSI – Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūts

ZM LAD projekta 2008. - 2009. gadā paveiktā darba apraksts

1. Turpinājās projekta darba grupas, kurā piedalās zinātnieki un studenti no Latvijas Universitātes Bioloģijas fakultātes Mikrobioloģijas un biotehnoloģijas katedras, LU Bioloģijas fakultātes Bioanalītisko metožu laboratorijas, Latvijas Mikroorganismu kultūru kolekcijas, Latvijas Universitātes Botāniskā dārza un Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūta, aktivitāšu koordinācija. Projekta darba organizēšanai notika trīs sanāksmes, divas Latvijas Universitātē, viena Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūtā (sanāksmju protokolus skatīt Pielikumos Nr. 1 – 3).
2. Izstrādāts savvaļas augu bioloģiskās daudzveidības monitoringa plāns un protokols, kā arī veikta veģetācijas uzskaitē VPLSI bioloģisko un konvencionālo lauku tuvumā (skat. Pielikumu Nr. 4 – 5).
3. Turpinās nezāļu daudzveidības izvērtēšana VPLSI bioloģiskajos un konvencionālajos laukos (skat. Pielikumu Nr. 6).
4. Sagatavots iesniegums Monsanto kompānijai, ar lūgumu piešķirt kukurūzas līniju MON 810 un NK 603 sēklu materiālu izmēģinājumu veikšanai VPLSI (skat. Pielikumu Nr. 7). Pielikumā Nr.8 iekļauta sarakste ar Monsanto pārstāvi Latvijā. Pielikumā Nr.9 iekļauts raksts, kas raksturo problēmas, kas saistītas ar ĢM kultūraugu līniju izmantošanu zinātniskiem pētījumiem.
5. Veikta pieejamās literatūras analīze par citu valstu pieredzi ģenētiski modificētu kultūraugu vides riska novērtēšanā (skat. Pielikumu Nr. 10).
6. Veikta literatūras analīze par izolācijas distancēm ĢMO, konvencionālās un bioloģiskās daudzveidības līdzāspastāvēšanas nodrošināšanai (skat. Pielikumu Nr.11).
7. Saskaņā ar 2008. gadā izstrādāto shēmu (skat. Pielikumu Nr. 12), 2009. gada jūnijā un augustā ievākti augsnes paraugi augsnes mikroorganismu bāzes līniju noteikšanai VPLSI konvencionālās un bioloģiskās lauksaimniecības laukos un uzsāktas to mikrobioloģiskās un molekulāri bioloģiskās analīzes (skat. Pielikumus Nr. 13 – 16).
8. 2009. gada 28.06. – 02.07. Starptautiskajā FEMS konferencē Gēteborgā, Zviedrijā stenda referāta veidā publicēti projekta gaitā iegūtie 2008. gada augsnes mikroorganismu daudzveidības analīzes rezultāti (Lelde Grantiņa). Konferencē gaitā iegūta informācija par jaunākajiem sasniegumiem biodrošības, augu – mikroorganismu mijiedarbību un augsnes mikroorganismu analīzes jomās (skat. Pielikumus Nr. 17 – 18).
9. 2009. gada 31.08. – 04.09. projekta vadītājs Nils Rostoks piedalījās starptautiskā konferencē ITMI-COST, kur iepazinās ar jaunākajiem pētījumiem augu

genomikas un ģenētikas jomā, tostarp arī par transgēno augu izmantošanu pētījumiem (skat. Pielikumus Nr. 19. un 20).

10. 2009. gada 7.10. – 9.10. Lelde Grantiņa piedalījās 2. Centrāleiropas Mikrobioloģijas forumā, kur iepazinās ar jaunākajiem pētījumiem par augsnes mikroorganismu daudzveidību, kā arī sniedza mutisku prezentāciju par projekta laikā iegūtajiem augsnes mikroorganismu daudzveidības datiem konvenciālajos un bioloģiskajos laukos (skat. Pielikumu Nr. 21. un 22).
11. 2009. gada 7.10. – 10.10. Anete Keiša un Baiba Ieviņa piedalījās 8. Eiropas Augu ģenētikas sanāksmē (8th Plant Genomics European Meeting), iegūstot jaunāko informāciju par transgēno augu izmantošanu zinātniskos pētījumos un biotehnoloģijā, un ar to saistītajiem drošības jautājumiem (skat. Pielikumus 23. – 26.)
12. Kopumā projekta otrajā etapā turpinās darbs pie izvirzīto un darba grafikā apstiprināto uzdevumu izpildes. Uz doto brīdi ir izpildīti visi izvirzītie uzdevumi, izņemot izvēlēto ĢMO līniju sēklmateriāla iegādi par kuru notiek pārrunas. Projekta realizācijas gaitā nav novērotas būtiskas novirzes no izpildes grafika. Kopā ar atskaiti iesniegti 26 pielikumi.

Projekta vadītājs: _____ /Nils Rostoks/
Rīga, 2009. gada 30. oktobrī

Pielikums Nr. 1. Projekta darba grupas sēdes PROTOKOLS Nr. 3

Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūts, Priekuļi
2009.gada 04.jūnijā, plkst. 13:00

Nr.3

Sēdē piedalās:

Projekta vadītājs, vadošais pētnieks Nils Rostoks
Vadošā pētniece Ilze Skrabule
Asistente Lelde Grantiņa

Sēdi protokolē: Nils Rostoks

1. Par projekta Nr. L-2563-090 mērķiem un darba uzdevumu izpildes grafiku 2009. gadam.

N. Rostoks informē, ka ir izveidota darba grupa ģenētiski modificētu organismu riska faktoru un ietekmes uz vidi novērtējumam. Projekta realizācijā piedalās LU Bioloģijas fakultātes zinātniskie darbinieki, LU Botāniskā dārza un Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūta darbinieki. Projektam ir piesaistīti doktorantūras studenti, kuriem tiek dota iespēja projekta ietvaros izstrādāt daļu doktorantūras darba.

N. Rostoks uzsver, ka līdz 2009. gada jūlija vidum nepieciešams iesniegt izskatīšanai starppārskatu LR Zemkopības ministrijas Biotehnoloģijas un kvalitātes nodaļā. LR ZM apstiprinātu starppārskatu līdz 1.08.2009 jāiesniedz Lauku atbalsta dienestā. Līdz 1.11.2009 LR ZM jāiesniedz gala atskaite. Apstiprinātu atskaiti kopā ar visu finanšu dokumentu kopijām līdz 1.12.2009 nepieciešams iesniegt Lauku atbalsta dienestā.

2. Par plānotajām projekta aktivitātēm un finansējumu.

N. Rostoks informē par 2009. gada darba grafiku, kā tas saskaņots ar ZM Biotehnoloģijas un kvalitātes nodaļu. Ņemot vērā projekta samazināto finansējumu, uzsvars tiks likts uz ĢMO bāzes līniju noteikšanu. Projekta izpildes gaitā paredzēta dalība vairākās starptautiskās zinātniskās konferencēs, lai iegūtu pieredzi par līdzīgiem pētījumiem Eiropas Savienībā, kā arī lai ziņotu par projekta gaitā iegūtajiem rezultātiem. Tiek atbalstīta Leldes Grantiņas dalība FEMS 2009 Trešajā Eiropas Mikrobiologu kongresā, Gēteborgā, Zviedrijā (28.06.2009. – 02.07.2009.).

3. Par augsnes paraugu ievākšanu VPLSI bioloģiskās un konvencionālās lauksaimniecības laukos mikrobioloģiskajām un molekulārajām analīzēm.

Tiek saskaņots augsnes paraugu ievākšanas grafiks. Līdzīgi kā 2008. gadā, augsnes paraugus paredzēts ievākt jūnijā un augusta beigās tajos pašos laukos, kur 2008. gadā. Dr. Ilze Skrabule informē par šajos laukos 2009. gadā audzētajām kultūrām un par nepieciešamību veikt augsnes ķīmiskās analīzes. Sanāksmes dalībnieki vienojas augsnes paraugus ķīmiskajām analīzēm ievākt 2009. gada septembrī. Tiek noskaidrotas paredzamās augsnes ķīmisko analīžu izmaksas.

Projekta darba grupas sēde slēgta plkst. 14:00.

Projekta vadītājs
Protokolētājs

N.Rostoks
N.Rostoks

Pielikums Nr. 2. Projekta darba grupas sēdes PROTOKOLS Nr. 4

Rīga, Kronvalda bulv. 4
2009.gada 6. jūlijā, plkst. 10:00

Nr.4

Sēdē piedalās:

Projekta vadītājs, vadošais pētnieks Nils Rostoks
Asistente Lelde Grantiņa
Asistente Lauma Strazdiņa
Asistente Dace Piliksere
Asistente Anna Ramata-Stunda

Sēdi protokolē: asistente Anna Ramata-Stunda

1. Par projekta Nr. L-2563-090 norisi

N. Rostoks informē, ka projekta realizācijai izveidotā darba grupa sekmīgi turpina darbu 2009. gadā. N. Rostoks informē, ka ir noslēgti darba līgumi ar visiem projektā nodarbinātajiem. Lelde Grantiņa informē par komandējuma rezultātiem.

2. Par projekta mērķiem un darba uzdevumu izpildes grafiku 2009. gadam.

N.Rostoks informē, ka 2009. gadā projektā paredzēti 9 darba uzdevumi un 13 aktivitātes uzdevumu izpildei. Aktivitāšu skaitā ir arī tādas, kas ir uzsāktas un turpinās nepārtraukti.

L.Strazdiņa informē, ka savvaļas augu kolekcija LU Botāniskajā dārzā tiek papildināta un veiksmīgi uzturēta.

N.Rostoks informē par VPLSI siltumnīcas sagatavošanu izmēģinājumiem ar ĢMO kultūraugiem – siltumnīcas renovācijas otrais etaps pagaidām ir atlikts naudas trūkuma dēļ. Ir sagatavots iesniegums Monsanto par ĢM kukurūzas līnijas iegādi, iesniegums tiks nosūtīts tuvākās nedēļas laikā. Kopiju nepieciešams pievienot starpatskaitei.

N.Rostoks informē, ka monitoringa veidlapu precizēšanai termiņš ir 2009. gada oktobris. Pie monitoringa programmu pilnveidošanas darbs ir uzsākts – tiek veikts nezāļu daudzveidības monitorings, augsnes mikroorganismu daudzveidības monitorings.

L.Grantiņa informē, ka notiek augsnes mikroorganismu daudzveidības izvērtēšana. Vizma Nikolajeva datus par savu daudzveidības daļu apkopojusi. L.Grantiņai vēl nepieciešams darbu turpināt. N.Rostoks norāda, ka datus nepieciešams apstrādāt tā, lai tie būtu izmantojami arī turpmāk, publikācijām, posteriem. L.Grantiņa jautā vai nepieciešams atskaitei pievienot tūrkultūru bildes. N.Rostoks iesaka atskaitē likt tikai tabulu, bet bildes saglabāt, jo tās izmantojamas turpmāk publikāciju un posteru gatavošanai. N.Rostoks uzdod L.Grantiņai līdz šim iegūto atskaitē ievietojamo informāciju pārsūtīt līdz pirmdienai (13.07.2009)

L.Strazdiņai nepieciešams pārsūtīt datus par apsekoto bioloģisko un konvenciālo lauku bioloģisko daudzveidību. L.Strazdiņa informē, ka nav konstatētas būtiskas atšķirības. N.Rostoks norāda, ka nepieciešams sasaistīt kopā iegūtos rezultātus ar to, kā lauki tiek apsaimniekoti. L.Strazdiņa informē, ka paredzējusi šogad vēl vienu reizi braukt uz VPLSI, lai apsekotu laukus. N.Rostoks ierosina nākamajai braukšanas reizei noformēt komandējumu.

D.Piliksere informē, ka ir veikusi nezāļu daudzveidības analīzi, taču vēl nepieciešams apsekot dažus laukus un apkopot iegūtos datus. Šāda analīze tika veikta jau iepriekšējā gadā. Ir fiksētas kultūraugu sugas, kas pārziemojušas. N.Rostoks norāda, ka nepieciešami dati no D.Pilikseres par lauku apsekošanu – kas ir izdarīts līdz jūlija sākumam (cik lauki apsekoti, kādas sugas identificētas), šo informāciju jāpārsūta līdz pirmdienai (13.07.2009).

3. Par plānotajām projekta aktivitātēm.

N.Rostoks informē, ka augsnes ķīmisko analīžu veikšanu koordinē Ilze Skrabule. Augsnes analīžu dati nepieciešami ir turpmākajai datu analīzei, šīs analīzes plānots veikt septembrī vai oktobrī.

N.Rostoks informē par projekta 8. un 9. darba uzdevumu – līdz atskaitei nepieciešams sagatavot kumulatīvā efekta novērtējumu. Nepieciešams paskatīties literatūru, vai nav ilgstošāki pētījumi vairāku gadu garumā par ĢM kultūraugu ietekmi uz vidi.

4. Finanšu jautājumi.

N.Rostoks informē, ka plānots sekvenēšanas pakalpojumu iepirkums par aptuveni 300 LVL. L.Grantiņa informē, ka ir pasūtīti PQR stobriņi. A.Ramata-Stunda informē, ka materiāli un reaģenti tiek iepirkti atbilstoši tāmei, šobrīd visvairāk naudas ir iztērēts molekulāro analīžu sadaļā, taču joprojām visās tāmes sadaļās ir atlikuši līdzekļi nepieciešamo materiālu un reaģentu iepirkšanai. A.Ramata-Stunda tuvākajā laikā nosūta informāciju par atlikušajiem līdzekļiem.

5. Dažādi jautājumi.

N.Rostoks norāda, ka L.Grantiņai jāiesniedz pārskats par komandējumu uz Gēteborgu.

Sanāksmes dalībnieki vienojas, ka pirmo starpatskaites uzmetumu nepieciešams sagatavot līdz 13.07.2009 uzticot šo uzdevumu A.Ramatai-Stundai.

Projekta darba grupas sēde slēgta plkst. 11:00.

Projekta vadītājs

N.Rostoks

Protokolētājs

A.Ramata-Stunda

Pielikums Nr. 3. Projekta darba grupas sēdes PROTOKOLS Nr. 5

Rīga, Kronvalda bulv. 4
2009.gada 22. septembrī, plkst. 10:00

Nr.5

Sēdē piedalās:

Projekta vadītājs, vadošais pētnieks Nils Rostoks
Vadošā pētniece Vizma Nikolajeva
Asistente Lelde Grantiņa
Asistente Lauma Strazdiņa
Asistente Baiba Ieviņa
Asistente Anete Keiša
Asistente Anna Ramata-Stunda

Sēdi protokolē: asitente Anna Ramata-Stunda

1. Par projekta Nr. L-2563-090 izpildi.

N. Rostoks informē, ka darba grupa veiksmīgi piedalās projekta uzdevumu izpildē.

L.Strazdiņa informē, ka izveidotā savvaļas augu kolekcija LU Botāniskajā dārzā tiek uzturēta un papildināta.

Par siltumnīcas renovāciju – N.Rostoks informē, ka līdzekļu trūkuma dēļ turpmāka siltumnīcas renovācija šobrīd ir apturēta. Līdzekļu trūkuma dēļ 2009. gadā netiek veikti arī sākotnēji paredzētie entomoloģiskie bāzes līniju pētījumi.

Par ĢMO materiālu izmēģinājumu veikšanai – N. Rostoks informē, ka ir nosūtīts pieprasījums *Monsanto* pārstāvjiem Latvijā par ĢMO kukurūzas sēklu iegādi. Šobrīd ir saņemta atbilde, ka pieprasījums pārsūtīts par biotehnoloģijas projektiem atbildīgajam *Monsanto* pārstāvim Baltijas reģionā. Saraksti nepieciešams pievienot atskaitei.

V.Nikolajeva un L.Grantiņa informē, ka tiek veikti augsnes mikroorganismu daudzveidības salīdzinājumi konvenciālajos un bioloģiskās lauksaimniecības laukos.

ĢMO monitoringa programmu pielāgošana – veidlapu paraugi ir nosūtīti A.Ramatai-Stundai. A.Ramata-Stunda informē, ka izskatīs veidlapas un sagatavos nepieciešamos informāciju atskaitei. N.Rostoks uzdod A.Ramatai-Stundai pārsūtīt monitoringa veidlapas arī V. Nikolajevai un L.Grantiņai.

D.Piliksere ir apkopojusi informāciju par nezāļu izplatību un pārziemojušajiem kultūraugiem. V.Nikolajeva informē, ka ir pieejams raksts par kartupeļu pārziemošanu un kartupeļu lauku apstrādāšanu ar pesticīdiem pirms citu kultūraugu kultivēšanas. N.Rostoks iesaka V.Nikolajevai pārsūtīt šo rakstu D.Pilikserei un pārējiem ieinteresētajiem darba grupas dalībniekiem.

Par savvaļas augu daudzveidību – L.Strazdiņa informē, ka lauki ir apsekoti divas reizes un turpinās datu apkopošana un analīze.

Par monitoringa rezultātu apkopojumu – N. Rostoks paskaidro, ka izolācijas attālumi un buferjoslu platums noteiktiem kultūraugiem ir norādīti MK noteikumos Nr. 30 no 2008. gada 15. janvāra. Ņemot vērā, ka pagaidām nav iespējas pārbaudīt to efektivitāti lauka izmēģinājumos, ir nepieciešams analizēt analoģu pieredzi citās ES valstīs.

Par ĢMO kumulatīvajiem efektiem – N.Rostoks uzdod darba grupai veikt literatūras analīzi par citu valstu pieredzi. Iespējams pievienot arī informāciju par dzīvnieku barošanas ilgtermiņa pētījumiem.

2. Par projekta Nr. L-2563-090 atskaites sagatavošanu

Nils Rostoks informē, ka līgumā noteikts, ka līdz 1. decembrim jāiesniedz apstiprināta atskaites gala versija Lauku atbalsta dienestā (LAD). Līdz 1. novembrim nepieciešams iesniegt atskaiti LR ZM Inesei Aleksejevai, lai ZM būtu pietiekami daudz laika to izskatīt.

N.Rostoks uzdod A.Ramatai-Stundal atbilstoši prasītajai formai sagatavot finanšu atskaiti.

Nils Rostoks informē, ka līdz 20. oktobrim nepieciešams atskaitē pievienojamos materiālus sagatavot un pārsūtīt N.Rostokam un A.Ramatai-Stundai apkopošanai.

Par komandējumiem – N.Rostoks norāda, ka komandējumos bijušajiem nepieciešams uzrakstīt konspektu par konferenču sekcijām, kas attiecas uz augu biotehnoloģijas un ĢMO pētījumiem.

V.Nikolajevai un L.Grantiņai nepieciešams atskaitē apkopot mikrobioloģisko analīžu datus, vēlams pievienojot datus par ĢMO ilgtermiņa ietekmi uz augsnes mikrofloru.

L.Strazdiņai nepieciešams apkopot datus par savvaļas augu daudzveidību un ilgtermiņa ietekmi uz to, kā arī atskaitē nepieciešams izvērtējums par metodes efektivitāti, izmantošanas iespējām, ja nepieciešams apsekot lielākas platības

V.Nikolajeva informē, ka atskaites sagatavošanai nepieciešams no I.Skrabules saņemt datus par to, kādi kultūraugi kurā laukā ir audzēti.

A.Keišai un B.Ieviņai N.Rostoks dod uzdevumu apkopot pieejamo informāciju par līdzīgiem pētījumiem citās Eiropas valstīs.

3. Dažādi jautājumi.

A.Ramata-Stunda informē par iztērētajiem līdzekļiem, līdzekļu atlikumu pozīcijās „Materiāli un reaģenti” un iespējamām iegādāties vēl nepieciešamos mikrobioloģisko un molekulāro analīžu reaģentus.

Projekta darba grupas sēde slēgta plkst. 11:00.

Projekta vadītājs

N.Rostoks

Protokolētājs

A.Ramata-Stunda

Pielikums Nr. 4. Savvaļas augu bioloģiskās daudzveidības monitoringa plāns un protokols

Monitoringa metode	Teritorijas un parauglaukumu atrašanās vietas	Norises laiks un periods
Priekšizpēte	Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūta apkārtējā teritorija konvencionālo lauku un eksperimentālo lauku tuvumā	2009. gada jūnijs - jūlijs
Parauglaukumu/transektu metodes aprobācija		
Parauglaukumu metode vai transektu metode		3 gadus (no 2009. līdz 2011. gadam) 2 reizes veģetācijas sezonā - no jūnija līdz jūlijam un no augusta līdz septembrim
Pastāvīgie parauglaukumi, 1 x 1 m, sastopamība pēc Brauna-Blankē skalas, fotoattēls vizuālai novērtēšanai, GPS koordinātes katram parauglaukumam		

Pielikums Nr. 5. Savvaļas augu bioloģiskās daudzveidības raksturojums Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūta (VPLSI) lauku tuvumā

Veģetācija aprakstīta 2009. gada 3. jūlijā un 2. oktobrī Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūta Bioloģiskā kartupeļu lauka, Bioloģiskā krustziežu lauka, Konvencionālā ziemas rudzu lauka, Konvencionālā vasaras rapša lauka un Konvencionālā mistrojuma lauka apkārtnē. Veikta visu savvaļas augu sugu uzskaitē bez kvantitatīvajiem rādītājiem (5-1. un 5-2. tabula).

Veģetācija aprakstīta 3 – 5 m platā joslā gar apstrādāta lauka malu un uzskatāma par buferjoslu. Veģetāciju pārsvarā veido sinantropās sugas – graudzāļu dzimtas pārstāvji un daudzgadīgie lakstaugi, kas ir vidējas un lielas antropogēnās slodzes tolerantu augi. Kopumā konstatētas 69 augu sugas, no kurām puse sastopama gan ap bioloģiskajiem, gan konvencionālajiem laukiem (5-3. tabula, 5-1. attēls).

Bioloģisko lauku tuvumā atrodas mežu masīvs, ūdens notekgrāvis un neliels smilšu uzbērums. Tādejādi teritorijā novērojama jaunu ekoloģisko nišu veidošanās, kas nodrošina specifiskus apstākļus (mitrums, noēnojums, aizvējš, smilšains substrāts) jaunu sugu ienākšanai, kas izskaidro lielāku savvaļas augu sugu skaitu nekā tas ir ap apskatītajiem konvencionālajiem laukiem, kur reljefs ir vienmērīgāks. Respektīvi, būtiskas atšķirības savvaļas augu sastāvā, ko būtu izraisījusi atšķirīga apsaimniekošanas sistēma, nav konstatētas.

Tabula 5-1. Konstatētās savvaļas augu sugas ap bioloģiskajiem laukiem

Npk	Latīniskais nosaukums	Latviskais nosaukums
1	<i>Achillea millefolium</i> L.	parastais pelašķis
2	<i>Aegopodium podagraria</i> L.	podagras gārša
3	<i>Agrostis tenuis</i> Sibth.	parastā smilga
4	<i>Alchemilla vulgaris</i> L.	parastais rasaskrēsliņš
5	<i>Alopecurus pratensis</i> L.	pļavas lapsaste
6	<i>Anthriscus sylvestris</i> (L.) Hoffm.	meža suņburkšķis
7	<i>Arctium tomentosum</i> L.	pūkainais diždadzis
8	<i>Artemisia vulgaris</i> L.	parastā vībotne
9	<i>Bromopsis inermis</i> (Leyss.) Holub	bezakotu zaķauza
10	<i>Campanula glomerata</i> L.	kamolainā pulkstenīte

11	<i>Carex hirta</i> L.	pūkainais grīslis
12	<i>Centaurea scabiosa</i> L.	lielā dzelzene
13	<i>Cerastium arvense</i> L.	tīruma radzene
14	<i>Cirsium</i> sp.	Usne
15	<i>Dactylis glomerata</i> L.	parastā kamolzāle
16	<i>Epilobium angustifolium</i> L.	Šaurlapu ugunspuķe
17	<i>Equisetum pratense</i> Ehrh.	plāvas kosa
18	<i>Erigeron acris</i> L.	asais jānītis
19	<i>Euphorbia helioscopia</i> L.	saules dievkrēsliņš
20	<i>Filipendula ulmaria</i> (L.) Maxim.	parastā vīgrieze
21	<i>Fragaria vesca</i> L.	meža zemene
22	<i>Galeopsis tetrahit</i> L.	parastais aklis
23	<i>Galium album</i> Mill.	baltā madara
24	<i>Geranium sylvaticum</i> L.	meža gandrene
25	<i>Glechoma hederacea</i> L.	efeju sētložņa
26	<i>Helictotrichon pubescens</i> (Huds.) Pilg.	Pūkainā plāvauzīte
27	<i>Holcus mollis</i> L.	mīkstā meduszāle
28	<i>Hypericum perforatum</i> L.	divšķautņu asinszāle
29	<i>Knautia arvensis</i> (L.) Coult.	tīruma pēterene
30	<i>Lamium album</i> L.	baltā panātre
31	<i>Lolium multiflorum</i> Lam.	daudzziedu airene
32	<i>Lotus corniculatus</i> L.	ragainais vanagnadziņš
33	<i>Matricaria chamomilla</i> L.	dziedniecības kumelīte
34	<i>Matricaria discoidea</i> DC.	maura kumelīte
35	<i>Melilotus albus</i> Medik.	baltais amoliņš
36	<i>Phleum pratense</i> L.	plāvas timotiņš
37	<i>Pimpinella saxifraga</i> L.	klinšu noraga

38	<i>Plantago lanceolata</i> L.	Šaurlapu ceļteka
39	<i>Plantago major</i> L.	lielā ceļteka
40	<i>Poa pratensis</i> L.	pļavas skarene
41	<i>Polygonum</i> sp.	Sūrene
42	<i>Potentilla argentea</i> L.	Sudraba retējs
43	<i>Potentilla reptans</i> L.	ložņu retējs
44	<i>Prunella vulgaris</i> L.	parastā brūngalvīte
45	<i>Ranunculus acris</i> L.	kodīgā gundega
46	<i>Rubus idaeus</i> L.	meža avene
47	<i>Rumex crispus</i> L.	Krūzainā skābene
48	<i>Sambucus racemosa</i> L.	sarkanais plūškoks
49	<i>Scirpus sylvaticus</i> L.	meža meldrs
50	<i>Stellaria graminea</i> L.	zāļlapu virza
51	<i>Tanacetum vulgare</i> L.	parastais biškrēsliņš
52	<i>Taraxacum officinale</i> F.H.Wigg.	dziedniecības pienene
53	<i>Tragopogon pratensis</i> L.	pļavas plostbārdis
54	<i>Trifolium aureum</i> Pollich	zeltainais āboliņš
55	<i>Trifolium hybridum</i> L.	Bastarda āboliņš
56	<i>Trifolium pratense</i> L.	sarkanais āboliņš
57	<i>Trifolium repens</i> L.	baltais āboliņš
58	<i>Urtica dioica</i> L.	lielā nātre
59	<i>Verbascum nigrum</i> L.	melnais deviņvīruspēks
60	<i>Veronica chamaedrys</i> L.	birztalu veronika
61	<i>Vicia cracca</i> L.	vanagu vīķis
62	<i>Vicia sepium</i> L.	žoga vīķis

Tabula 5-2. Konstatētās savvaļas augu sugas ap konvencionālajiem laukiem

Npk	Latīniskais nosaukums	Latviskais nosaukums
1	<i>Achillea millefolium</i> L.	parastais pelašķis
2	<i>Aegopodium podagraria</i> L.	podagras gārša
3	<i>Alchemilla vulgaris</i> L.	parastais rasaskrēsliņš
4	<i>Anthriscus sylvestris</i> (L.) Hoffm.	meža suņburkšķis
5	<i>Artemisia vulgaris</i> L.	parastā vībotne
6	<i>Bromopsis inermis</i> (Leyss.) Holub	bezakotu zaķauza
7	<i>Centaurea scabiosa</i> L.	lielā dzelzene
8	<i>Cerastium arvense</i> L.	tīruma radzene
9	<i>Chelidonium majus</i> L.	lielā strutene
10	<i>Chenopodium album</i> L.	baltā balanda
11	<i>Cirsium</i> sp.	usne
12	<i>Equisetum pratense</i> Ehrh.	pļavas kosa
13	<i>Galium album</i> Mill.	baltā madara
14	<i>Heracleum sibiricum</i> L.	Sibīrijas latvānis
15	<i>Hieracium umbellatum</i> L.	čemurainā mauraga
16	<i>Hypericum perforatum</i> L.	divšķautņu asinszāle
17	<i>Knautia arvensis</i> (L.) Coult.	tīruma pēterene
18	<i>Lolium multiflorum</i> Lam.	daudzziedu airene
19	<i>Lotus corniculatus</i> L.	ragainais vanagnadziņš
20	<i>Matricaria chamomilla</i> L.	dziedniecības kumelīte
21	<i>Matricaria discoidea</i> DC.	maura kumelīte
22	<i>Phleum pratense</i> L.	pļavas timotiņš
23	<i>Plantago lanceolata</i> L.	šaurlapu ceļteka
24	<i>Plantago major</i> L.	lielā ceļteka
25	<i>Plantago media</i> L.	vidējā ceļteka

26	<i>Poa pratensis</i> L.	pļavas skarene
27	<i>Potentilla reptans</i> L.	ložņu retējs
28	<i>Prunella vulgaris</i> L.	parastā brūngalvīte
29	<i>Ranunculus acris</i> L.	kodīgā gundega
30	<i>Rumex crispus</i> L.	cirtainā skābene
31	<i>Stellaria graminea</i> L.	zāļlapu virza
32	<i>Taraxacum officinale</i> F.H.Wigg.	dziedniecības pienene
33	<i>Tragopogon pratensis</i> L.	pļavas plostbārdis
34	<i>Trifolium aureum</i> Pollich	zeltainais āboliņš
35	<i>Trifolium pratense</i> L.	sarkanais āboliņš
36	<i>Trifolium repens</i> L.	baltais āboliņš
37	<i>Tussilago farfara</i> L.	parastā mällēpe
38	<i>Urtica dioica</i> L.	lielā nātre
39	<i>Veronica chamaedrys</i> L.	birztaļu veronika
40	<i>Vicia cracca</i> L.	vanagu vīķis
41	<i>Viola tricolor</i> L.	trejkrāsu vijolīte

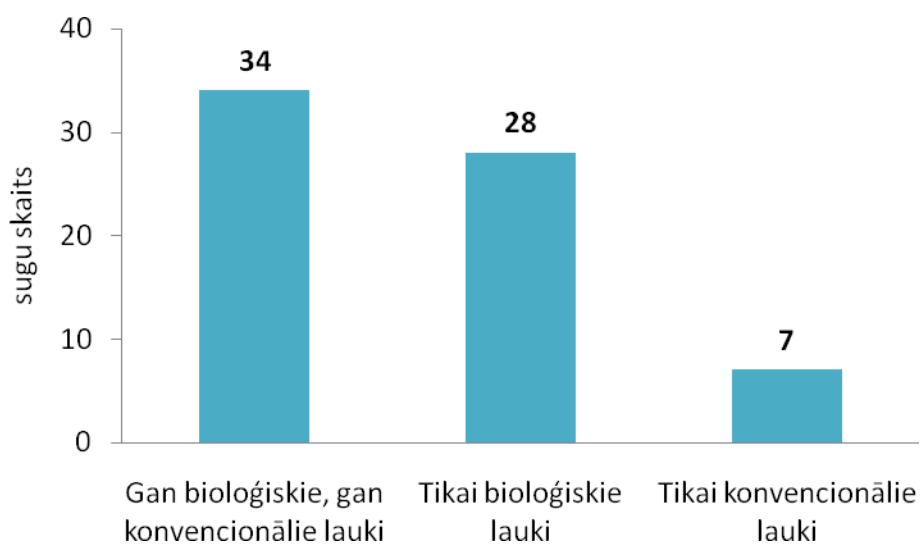
Tabula 5-3. Savvaļas augu sugu sastopamība ap bioloģiskajiem un konvencionālajiem laukiem

Npk	Sugas nosaukums	Gan bioloģiskie, gan konvencionālie lauki	Tikai bioloģiskie lauki	Tikai konvencionālie lauki
1	<i>Achillea millefolium</i> L.	x		
2	<i>Aegopodium podagraria</i> L.	x		
3	<i>Agrostis tenuis</i> Sibth.		x	
4	<i>Alchemilla vulgaris</i> L.	x		
5	<i>Alopecurus pratensis</i> L.		x	
6	<i>Anthriscus sylvestris</i> (L.) Hoffm.	x		
7	<i>Arctium tomentosum</i> L.		x	

8	<i>Artemisia vulgaris</i> L.	x		
9	<i>Bromopsis inermis</i> (Leyss.) Holub	x		
10	<i>Campanula glomerata</i> L.		x	
11	<i>Carex hirta</i> L.		x	
12	<i>Centaurea scabiosa</i> L.	x		
13	<i>Cerastium arvense</i> L.	x		
14	<i>Chelidonium majus</i> L.			x
15	<i>Chenopodium album</i> L.			x
16	<i>Cirsium</i> sp.	x		
17	<i>Dactylis glomerata</i> L.		x	
18	<i>Epilobium angustifolium</i> L.		x	
19	<i>Equisetum pratense</i> Ehrh.	x		
20	<i>Erigeron acris</i> L.		x	
21	<i>Euphorbia helioscopia</i> L.		x	
22	<i>Filipendula ulmaria</i> (L.) Maxim.		x	
23	<i>Fragaria vesca</i> L.		x	
24	<i>Galeopsis tetrahit</i> L.		x	
25	<i>Galium album</i> Mill.	x		
26	<i>Geranium sylvaticum</i> L.		x	
27	<i>Glechoma hederacea</i> L.		x	
28	<i>Helictotrichon pubescens</i> (Huds.) Pilg.		x	
29	<i>Heracleum sibiricum</i> L.			x
30	<i>Hieracium umbellatum</i> L.			x
31	<i>Holcus mollis</i> L.		x	
32	<i>Hypericum perforatum</i> L.	x		
33	<i>Knautia arvensis</i> (L.) Coult.	x		
34	<i>Lamium album</i> L.		x	

35	<i>Lolium multiflorum</i> Lam.	x		
36	<i>Lotus corniculatus</i> L.	x		
37	<i>Matricaria chamomilla</i> L.	x		
38	<i>Matricaria discoidea</i> DC.	x		
39	<i>Melilotus albus</i> Medik.		x	
40	<i>Phleum pratense</i> L.	x		
41	<i>Pimpinella saxifraga</i> L.		x	
42	<i>Plantago lanceolata</i> L.	x		
43	<i>Plantago major</i> L.	x		
44	<i>Plantago media</i> L.			x
45	<i>Poa pratensis</i> L.	x		
46	<i>Polygonum</i> sp.		x	
47	<i>Potentilla argentea</i> L.		x	
48	<i>Potentilla reptans</i> L.	x		
49	<i>Prunella vulgaris</i> L.	x		
50	<i>Ranunculus acris</i> L.	x		
51	<i>Rubus idaeus</i> L.		x	
52	<i>Rumex crispus</i> L.	x		
53	<i>Sambucus racemosa</i> L.		x	
54	<i>Scirpus sylvaticus</i> L.		x	
55	<i>Stellaria graminea</i> L.	x		
56	<i>Tanacetum vulgare</i> L.		x	
57	<i>Taraxacum officinale</i> F.H.Wigg.	x		
58	<i>Tragopogon pratensis</i> L.	x		
59	<i>Trifolium aureum</i> Pollich	x		
60	<i>Trifolium hybridum</i> L.		x	
61	<i>Trifolium pratense</i> L.	x		

62	<i>Trifolium repens</i> L.	x		
63	<i>Tussilago farfara</i> L.			x
64	<i>Urtica dioica</i> L.	x		
65	<i>Verbascum nigrum</i> L.		x	
66	<i>Veronica chamaedrys</i> L.	x		
67	<i>Vicia cracca</i> L.	x		
68	<i>Vicia sepium</i> L.		x	
69	<i>Viola tricolor</i> L.			x



5-1. attēls. Savvaļas augu sugu sastopamība ap VPLSI bioloģiskajiem un konvencionālajiem laukiem

Pielikums Nr. 6. Nezāļu daudzveidības analīze Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūtā (VPLSI)

Iespējamo ĢMO ietekmju uz Latvijas savvaļas augiem novērtēšanai nepieciešams apzināt gan reģiona raksturīgo tīruma nezāļu floru, gan savvaļas augu floru. Par nezāļu floru būtiski ir zināt to taksonomisko daudzveidību, kā arī katra taksona īpatņu blīvumu. Lielāks riska sugu blīvums var norādīt uz lielākas ĢMO ietekmes iespējamību.

Lai noteiktu bāzes līniju iespējamo ĢMO ietekmju uz Latvijas savvaļas augiem novērtēšanai, Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūtā (VPLSI) tika veikts pētījums par tīrumu nezāļu floru. Segetālo (savvaļas augi) un kondicionālo (laukaugi no iepriekšējo gadu sējumiem – pārziemojuši vai sadīguši no augsnes sēklu bankas resursiem) nezāļu daudzveidības tīrumos fona stāvokļa novērtēšanai VPLSI nezāļu reģistrēšana tika veikta divu dažādu saimniekošanas sistēmu laukos – bioloģiskajā augsekā un konvencionālajā ilggadīgajā augseku un mēslošanas stacionārā. Nevienā no šiem laukiem herbicīdi netiek lietoti. Būtiskākā abu saimniekošanas sistēmu atšķirība dotajā gadījumā ir tā, ka konvencionālajā izmantoti minerālmēsli un graudaugu sēkla tiek kodināta. 2009. gadā apsekoti 11 lauki bioloģiskajā augsekā, kuros audzētie laukaugi ir kartupeļi (divos laukos), rudzi (divos laukos), mieži, mieži ar āboliņu pasējā, auzas, auzas ar āboliņu pasējā, āboliņš, eļļas rutks, zirņi. Konvencionālajā sistēmā izmēģinājums iekārtots sešos dažādos mēslojuma fonos (nemēslojums, kūtsmēsli 20 t ha⁻¹, N₆₆P₉₀K₁₃₅, N₁₃₂P₁₈₀K₂₇₀, kūtsmēsli + N₆₆P₉₀K₁₃₅, salmi + N₆₆P₉₀K₁₃₅), kuros visos nezāļu uzskaitē šajā gadā veikta miežu sējumos un kartupeļu stādījumos.

Bioloģiskajā augsekā nezāļu uzskaitē tika veikta 26.-27. maijā rudzu sējumos, 25. jūnijā līdz 1. jūlijam citu laukaugu sējumos, 10. augustā kartupeļu stādījumos. Konvencionālajā laukā dati ievākti 16.-18. jūnijā miežu sējumos un 11. augustā kartupeļu stādījumos. Izmantota skaita metode, nosakot nezāļu blīvumu gab. m², analizēts nezāļu botāniskais sastāvs. Nezāles noteiktas sugas vai ģints līmenī.

Bioloģiskajā augsekā nezāļu blīvums un taksonu skaits pa augseku laukiem variēja atkarībā no laukauga un tam pielietotajiem nezāles ierobežojošajiem agrotehniskajiem pasākumiem. Apsekotajos laukos kopā tika reģistrēti 60 nezāļu taksoni (38 īsmūža un 22 daudzgadīgie). No tiem astoņi (pieci īsmūža un trīs daudzgadīgie) tika reģistrēti visos laukos – balandas (*Chenopodium spp.*), kumelītes (*Matricaria spp.*), ganu plikstiņš (*Capsella bursa-pastoris*), tīruma atraitnīte (*Viola arvensis*), parastā virza (*Stellaria media*) un ceļtekas (*Plantago spp.*), ložņu gundega (*Ranunculus repens*), usnes (*Cirsium spp.*). No kondicionālām nezālēm fiksēti deviņi taksoni: āboliņš (*Trifolium spp.*); stiebrzāles – airene (*Lolium spp.*) un auzene (*Festuca spp.*); labības – mieži (*Hordeum vulgare*) un auzas (*Avena sativa*); krustzieži – eļļas rutks (*Raphanus sativus* var. *oleiformis*) un rapsis (*Brassica napus*); lauka pupa (*Vicia faba*) un kartupeļi (*Solanum tuberosum*). Nezāļu taksonomiskā daudzveidība augsekas laukos variēja 23 (āboliņa laukā) līdz 35 (vienā no kartupeļu laukiem) taksonu robežās.

Konvencionālajā augsekā nezāļu blīvums un taksonomiskā daudzveidība variēja atkarībā no mēslošanas fona. Kopā te reģistrēti 53 nezāļu taksoni (34 īsmūža un 19 daudzgadīgie). Lielāka nezāļu sugu daudzveidība novērota kartupeļu stādījumos, kur uzskaitīti visi 53 taksoni, kamēr miežu sējumos tikai 29 no tiem (19 īsmūža un 10 daudzgadīgie). Visos augsekas laukos tika reģistrēti deviņi nezāļu taksoni: astoņi īsmūža – akļi (*Galeopsis spp.*), tīruma atraitnīte, balandas, tīruma naudulis (*Thlaspi arvense*), sūrenes (*Polygonum spp.*), vējgriķis (*Polygonum*

convolvulus), vīķi (*Vicia spp.*), parastā virza; un viens daudzgadīgais – mīkstpienes (*Sonchus spp.*). Vēl bez šiem, miežu sējumos visos mēslojuma fonos tika reģistrēti arī tīruma gauris (*Spergula arvensis*), ārstniecības matuzāle (*Fumaria officinalis*) un tīruma neaizmirstule (*Myosotis arvensis*). Savukārt kartupeļu stādījumos visos mēslojuma fonos bija sastopama tīruma cietpiene (*Crepis tectorum*), kumelītes, ganu plikstiņš, zilā rudzupuķe (*Centaurea cyanus*), maura skarene (*Poa annua*), veronikas (*Veronica spp.*), ceļtekas (*Plantago spp.*) un ložņu vārpata (*Elytrigia repens*). No kondicionālām nezālēm fiksēti četri taksoni – āboliņš, airene, eļļas rutks un ziemas kvieši (*Triticum aestivum*). Nezāļu taksonomiskā daudzveidība mēslojuma fonos variēja 18 (N₆₆P₉₀K₁₃₅ un N₁₃₂P₁₈₀K₂₇₀) līdz 24 (kūtsmēsli 20 t ha⁻¹) taksonu robežās miežu sējumos un 28 (kūtsmēsli + N₆₆P₉₀K₁₃₅) līdz 37 (nemēslojums, N₆₆P₉₀K₁₃₅, N₁₃₂P₁₈₀K₂₇₀) taksonu robežās kartupeļu stādījumos.

Nezāļu floras izpēti Priekuļos rezultāti rāda zemu iespējamību projektā iekļautajām ĢM kultūrām gēnu pārnesei ceļā radīt būtisku ietekmi Latvijas dabīgajai florai, jo kukurūzai te nav ne nezāļu, ne savvaļas radniecīgo sugu. Aktuālāks ir jautājums par pārziemojušiem kartupeļu īpatņiem, kam Latvijas florā ir atsevišķas savvaļas radniecīgās nakteņu sugas, tātad iespēja gēnu pārnesei.

Pielikums Nr. 7. Kukurūzas sēklu pieprasījums, adresēts kompānijas Monsanto pārstāvim Latvijā



L A T V I J A S U N I V E R S I T Ā T E
B I O L O Ģ I J A S F A K U L T Ā T E

☒: Kronvalda bulv. 4, LV - 1586, Rīga

☎: 7034861; fakss: 7034862;

🌐: <http://priede.bf.lu.lv/>

15.07.2009

Modris Krauklis
Monsanto pārdošanas konsultants
Baltijas valstīs

Par kukurūzas sēklām zinātniskam pētījumam

Cien. Kraukļa kungs,

Lūdzu sniegt atbalstu Monsanto kompānijas ražoto kukurūzas līniju MON 810 un NK 603, kā arī atbilstošu izogēnu ģenētiski nemodificētu šķirņu sēklu iegādē. Sēklas paredzēts izmantot LR Zemkopības ministrijas Lauku atbalsta dienesta finansētā zinātniskā projektā ģenētiski modificēto organismu riska faktoru noteikšanai. Sīkāku informāciju par paredzēto pētījumu latviešu un angļu valodā, kā arī projekta vadītāja CV lūdzu skatīt pielikumā. Sīkāku informāciju par projekta realizāciju 2008. gadā var iegūt no projekta atskaites, kas pieejama Latvijas Lauksaimniecības universitātes mājas lapā http://www llu.lv/?mi=81&projekti_id=828.

Ar cieņu,

LU Bioloģijas fakultātes
Vadošais pētnieks Nils Rostoks
Tel.: 6703 4867
E-pasts: nils.rostoks@lu.lv

Projekta apraksts (pielikums 15.07.2009 M.Krauklim adresētajai vēstulei)

Projekta pasūtītājs: LR Zemkopības ministrijas Biotehnoloģijas un kvalitātes nodaļa, LR Zemkopības ministrijas Lauksaimniecības departaments

Projekta nosaukums: „Ģenētiski modificēto organismu riska faktoru un ietekmes uz vidi novērtējums”

Projekta vadītājs: Latvijas Universitātes Bioloģijas fakultātes vadošais pētnieks, Dr. biol. Nils Rostoks. Tel. 6703 4867, mob. 26444186, e-pasts nils.rostoks@lu.lv

Projekta finansētājs: LR Zemkopības ministrijas Lauku atbalsta dienests

Projekta izpildes laiks: 2008. – 2011. gads

Projekta finansējuma apjoms: 45 000.00 Ls 2008. gadā, 24 600.00 Ls 2009. gadā

Projekta mērķis:

Novērtēt ģenētiski modificēto organismu (ĢMO) ierobežotas izplatīšanas riska faktorus un potenciālo ietekmi uz apkārtējo vidi

Projekta ietvaros paredzētā izmēģinājuma apraksts:

Augsnes mikroorganismu daudzveidības salīdzinājums ģenētiski modificēto kukurūzas līniju MON 810 un NK 603 un atbilstošu izogēnu ģenētiski nemodificētu kukurūzas šķirņu kultivēšanas laikā.

Izmēģinājumu vieta: Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūts, siltumnīca

Par siltumnīcas izmēģinājumu atbildīgās personas:

Nils Rostoks, Dr. biol., Latvijas Universitātes Bioloģijas fakultātes vadošais pētnieks
Ilze Skrabule, Dr. agr., Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūta vadošā pētniece

Par augsnes mikroorganismu daudzveidības noteikšanu atbildīgās personas:

Vizma Nikolajeva, Dr. biol., Latvijas Universitātes Bioloģijas fakultātes docente
Lelde Grantiņa, Mag. biol., Latvijas Universitātes Bioloģijas fakultātes asistente, doktorante

Izmēģinājuma apraksts

Augu materiāls:

Kukurūzas šķirne ar MON 810 ģenētisko modifikāciju

Ģenētiski nemodificēta kukurūzas šķirne, izogēna MON 810 šķirnei
Kukurūzas šķirne ar NK 603 ģenētisko modifikāciju
Ģenētiski nemodificēta kukurūzas šķirne, izogēna NK 603 šķirnei

Siltumnīca:

VPLSI siltumnīca renovēta 2008. gadā par ZM LAD projekta līdzekļiem izmēģinājumu veikšanai ar ĢM kultūraugiem.

Augsne un mēslošanas režīms:

Augi tiks audzēti VPLSI sagatavotā kūdras substrātā, kura pH tiks regulēts ar kaļķojamo materiālu kukurūzas audzēšanai optimālā pH 5.8 – 7.3 diapazonā. Substrāts tiks bagātināts ar mēslojumu N:P:K 10-10-20 ar mikroelementiem, papildus tiks dots lapu mēslojumu Folicare 13-46-8, kukurūzas iznesu attiecība (1:0.8:1.1). Kūdras substrāts saturēs dabiskos mikroorganismus.

Eksperimenta shēma:

MON 810, NK 603 un atbilstošas izogēnas ģenētiski nemodificētas kukurūzas šķirnes tiks audzētas slēgtā siltumnīcas boksā ar laistīšanas sistēmu un ventilāciju. VPLSI un institūta apkārtnē netiek kultivētas citas kukurūzas šķirnes, tādējādi nepastāv krustošanās riski, pat ja ĢM kukurūzas putekšņi no siltumnīcas nonāks vidē. Audzēšana katrai augu grupai tiks veikta piecos atkārtojumos, pa pieciem augiem katrā atkārtojumā. Augi tiks iestādīti individuāli 10 L podā ar kūdras substrātu. Tādējādi modificēto un nemodificēto augu grupa katra sastāvēs no 25 augiem. Katram augam tiks piešķirts identifikators, kas eksperimenta laikā neļaus noteikt tā piederību ĢM vai ne-ĢM grupai. Augi siltumnīcas boksā tiks izkārtoti randomizēti. Augsnes paraugi tiks ievākti pirms eksperimenta uzsākšanas, kā arī vienu reizi kukurūzas ziedēšanas laikā. Pēc izmēģinājuma beigām augu materiāls tiks sadedzināts, bet augsne pārstrādāta kompostā. No izmēģinājuma augiem netiks saglabāts augu vai sēklu materiāls.

Augsnes mikrobioloģiskās analīzes

2009. gadā augsnes paraugi tiks ievākti pirms eksperimenta uzsākšanas, kā arī vienu reizi audzēšanas sezonā, kukurūzas ziedēšanas laikā. Augsnes paraugi tiks ievākti individuāli no katra audzēšanas poda, ņemot paraugus no 10 cm dziļuma auga sakņu tuvumā. Ievāktie vienāda izmēra augsnes paraugi no katra no pieciem augiem viena atkārtojuma ietvaros tiks apvienoti, tādējādi kopējais paraugu skaits katrai augu grupai būs pieci, bet pētījumā kopumā tiks analizēti 20 augsnes paraugi.

Izmēģinājuma gaitā paredzēts pārbaudīt kultivējamo augsnes sēņu un augsnes baktēriju kvalitatīvo un kvantitatīvo sastāvu pielietojot kultivēšanu uz atbilstošām barotnēm:

- Baktēriju kvv/g (koloniju veidojošās vienības vienā gramā augsnes) paredzēts noteikt, augsnes suspensiju atšķaidījumus uzsējot un kultivējot agarizētā rauga ekstrakta-peptona barotnē, divos atkārtojumos. Baktēriju kolonijas plānots skaitīt pēc 3 un 10 dienu ilgas inkubācijas 20±2 °C temperatūrā. Atkarībā no augšanas ātruma baktērijas paredzēts grupēt r-stratēģistos un K-stratēģistos. Baktēriju kvv kopskaitu plānots noteikt, saskaitot kolonijas pēc 10 dienu ilgas inkubācijas.
- Sēņu kvv/g paredzēts noteikt, augsnes suspensiju atšķaidījumus uzsējot un kultivējot agarizētā iesala ekstrakta barotnē. Kolonijas plānots skaitīt pēc 3 dienu ilgas inkubācijas 20±2 °C temperatūrā. Pēc 10 dienu ilgas inkubācijas plānots noteikt augsnē dominējošo un iesala agara barotnē kultivējamo sēņu ģintis.. Iesala agara barotnē paredzēts noteikt arī to baktēriju kvv daudzums, kas aug uz iesala, kur par galveno oglekļa barības avotu kalpo maltoze.

Augsnes mikroorganismu molekulārās analīzes

No augsnes izdalītās kopējās DNS molekulārās analīzes ļauj mikroorganismu daudzveidības analīzē ietvert arī mikrobioloģiskajās barotnēs nekultivējamus mikroorganismus. Izmēģinājuma gaitā paredzēts pārbaudīt kopējo augsnes mikroorganismu molekulāro daudzveidību katrā paraugā, pielietojot ARDRA (amplificētas rDNS restrikcijas analīzes) metodi. Šī metode ļauj izveidot mikroorganismu sabiedrības raksturojumu, balstoties uz dažāda garuma fragmentiem, kas rodas ar endonukleāzēm sašķeļot polimerāzes ķēdes reakcijas (PĶR) produktus. Analīze ietver DNS izdalīšanu no augsnes, PĶR, PĶR amplificēto fragmentu restrikciju ar specifisku restrikcijas endonukleāzi un restrikcijas fragmentu vizualizāciju agarozes gelā.

Datu analīze

Datu ievākšanas un analīzes laikā tiks saglabāta paraugu anonimitāte. Augsnes mikroorganismu kolonijas veidojošo vienību skaits starp dažādām augu grupām tiks salīdzināts izmantojot dispersijas analīzi (ANOVA) atsevišķi katrai mikroorganismu grupai.

Augsnes mikroorganismu molekulārās analīzes rezultātā tiks iegūts Šenona daudzveidības indekss katram augsnes paraugam, kuru aprēķina kā:

$$HP = -\sum p_j \log_2 p_j,$$

kur p_j – katra atsevišķā fragmenta intensitāte agarozes gelā. Šis indekss iekļauj gan dažādu DNS fragmentu skaitu, gan to intensitāti (Gabor et al., 2003). Iegūto datu statistiskā analīze tiks veikta, izmantojot z-testu divu paraugkopu vidējo aritmētisko salīdzināšanai un t-testu divu paraugkopu dispersiju salīdzināšanai (pie varbūtības 0,05).

Pēc analīzes beigām tiks atklāta paraugu identitāte un novērtēts, vai pastāv statistiski būtiskas atšķirības augsnes mikroorganismu skaitliskajā sastāvā un molekulārajā daudzveidībā starp dažādām kukurūzas augu grupām. Par projekta gaitā iegūtajiem rezultātiem un izdarītajiem secinājumiem tiks informēta Monsanto kompānija.

Gabor EM, de Vries EJ, Janssen DB. (2003) Efficient recovery of environmental DNA for expression cloning by indirect extraction methods. *FEMS Microbiol Ecol*, 44:153-163

Pielikums Nr. 8. Sarakste ar Monsanto pārstāvi Latvijā

From: KRAUKLIS, MODRIS [AG-Contractor/8489]
[mailto:modris.krauklis@monsanto.com]
Sent: Wednesday, October 21, 2009 9:34 AM
To: nils.rostoks@lu.lv
Subject: RE: Kukurūzas sēklas izmēģinājumiem

Sveiki Nil,

Esmu spiests atvainoties, ka uz šodienu informācija ir tik pat daudz, kā bija jūlija beigās. Monsanto šobrīd notiek liela reorganizācija, kas arī ietekmēs mūsu reģionu. Uz šo brīdi izmaiņas vēl ir procesā līdz ar to pagaidām nekādu konkrētu atbildi sniegt nevaru. Atceroties iepriekš runāto mums vēl ir laiks līdz pavasarim. Es ceru uz sapratni un turpmāku sadarbību.

Modris Krauklis

Consultant for Monsanto
Sales Support Baltic States
phone: +37129234034
e-mail: modris.krauklis@monsanto.com

From: Nils Rostoks [mailto:nils.rostoks@lu.lv]
Sent: Tuesday, October 20, 2009 4:16 PM
To: KRAUKLIS, MODRIS [AG-Contractor/8489]
Subject: RE: Kukurūzas sēklas izmēģinājumiem

Labdien Kraukļa kungs,
Vai ir saņemt kāda atbilde no jūsu kolēģa par MON810 un NK603 kukurūzas sēklu piešķiršanu zinātniskam pētījumam? Pētījuma aprakstu iesniedzu jums jūlijā. Jau iepriekš pateicos par informāciju!
Visu labu,
Nils

Nils Rostoks
Bioloģijas fakultāte
Latvijas Universitāte
Kronvalda bulv. 4
Rīga, LV-1586
Tel. +371 6703 4867
Fakss +371 6703 4868
Mob. +371 2644 4186
E-pasts nils.rostoks@lu.lv; nrostoks@latnet.lv
WWW <http://plantgenetics.lu.lv>

Pielikums Nr. 9. Raksts žurnālā Scientific American Magazine „Do Seed Companies Control GM Crop Research?”

<http://www.scientificamerican.com/article.cfm?id=do-seed-companies-control-gm-crop-research>

[Scientific American Magazine](#) - August 13, 2009

Do Seed Companies Control GM Crop Research?

Scientists must ask corporations for permission before publishing independent research on genetically modified crops. That restriction must end.

By The Editors

Advances in agricultural technology—including, but not limited to, the genetic modification of food crops—have made fields more productive than ever. Farmers grow more crops and feed more people using less land. They are able to use fewer pesticides and to reduce the amount of tilling that leads to erosion. And within the next two years, agritech companies plan to introduce advanced crops that are designed to survive heat waves and droughts, resilient characteristics that will become increasingly important in a world marked by a changing climate.

Unfortunately, it is impossible to verify that genetically modified crops perform as advertised. That is because agritech companies have given themselves veto power over the work of independent researchers.

To purchase genetically modified seeds, a customer must sign an agreement that limits what can be done with them. (If you have installed software recently, you will recognize the concept of the end-user agreement.) Agreements are considered necessary to protect a company's intellectual property, and they justifiably preclude the replication of the genetic enhancements that make the seeds unique. But agritech companies such as Monsanto, Pioneer and Syngenta go further. For a decade their user agreements have explicitly forbidden the use of the seeds for any independent research. Under the threat of litigation, scientists cannot test a seed to explore the different conditions under which it thrives or fails. They cannot compare seeds from one company against those from another company. And perhaps most important, they cannot examine whether the genetically modified crops lead to unintended environmental side effects.

Research on genetically modified seeds is still published, of course. But only studies that the seed companies have approved ever see the light of a peer-reviewed journal. In a number of cases, experiments that had the implicit go-ahead from the seed company were later blocked from publication because the results were not flattering. “It is important to understand that it is not always simply a matter of blanket denial of all research requests, which is bad enough,” wrote Elson J. Shields, an entomologist at Cornell University, in a letter to an official at the Environmental Protection Agency (the body tasked with regulating the environmental consequences of genetically modified crops), “but selective denials and permissions based on industry perceptions of how ‘friendly’ or ‘hostile’ a particular scientist may be toward [seed-enhancement] technology.”

Shields is the spokesperson for a group of 24 corn insect scientists that opposes these practices. Because the scientists rely on the cooperation of the companies for their research—they must, after all, gain access to the seeds for studies—most have chosen to remain anonymous for fear of reprisals. The group has submitted a statement to the EPA protesting that “as a result of restricted access, no truly independent research can be legally conducted on many critical questions regarding the technology.”

It would be chilling enough if any other type of company were able to prevent independent researchers from testing its wares and reporting what they find—imagine car companies trying to quash head-to-head model comparisons done by *Consumer Reports*, for example. But when scientists are prevented from examining the raw ingredients in our nation's food supply or from testing the plant material that covers a large portion of the country's agricultural land, the restrictions on free inquiry become dangerous.

Although we appreciate the need to protect the intellectual property rights that have spurred the investments into research and development that have led to agritech's successes, we also believe food safety and environmental protection depend on making plant products available to regular scientific scrutiny. Agricultural technology companies should therefore immediately remove the restriction on research from their end-user agreements. Going forward, the EPA should also require, as a condition of approving the sale of new seeds, that independent researchers have unfettered access to all products currently on the market. The agricultural revolution is too important to keep locked behind closed doors.

Note: This article was originally printed with the title, "A Seedy Practice."

Pielikums Nr. 10. Pasaules pieredze ģenētiski modificētu kultūraugu vides riska novērtēšanā

Transgēno un konvencionālo līniju līdzāspastāvēšanas priekšnoteikumi (Brookes and Barfoot 2004)

Lai nodrošinātu ģenētiski modificēto kultūraugu un konvencionālo lauku līdzāspastāvēšanu, transgēno kultūraugu audzētājiem noteiktas konkrētas prasības: piemēram, kultūraugu rotācija, pielietoto herbicīdu rotācija, herbicīdu lietošanas laika rotācija, sertificētu sēklu pielietošana u.c. Insektu rezistentas (Bt) kukurūzas (piemēram, MON810 un 59122x1507xNK603) audzētājiem ASV jāievēro insektu rezistences apsaimniekošanas plāns (insect resistance management plan IRM), lai mērķa organismiem samazinātu iespēju attīstīt rezistenci pret Bt toksīnu:

- Vismaz 20% no kopējiem kukurūzas stādījumiem jābūt netransgēnām līnijām. Ja Bt kukurūza tiek stādīta reģionos, kur tiek audzēta arī Bt kokvilna, netransgēnās kukurūzas platība jāpalielina līdz 50%.
- Netransgēnās kukurūzas zonas var būt izvietotas līnijās, lauka malās, iekš vai apkārt Bt kukurūzai vai arī bloku veidā starp Bt kukurūzu.
- Netransgēno augu zonās nedrīkst pielietot uz Bt balstītos insekticīdus.

Transgēno un konvencionālo līniju krustošanās novēršanas galvenie priekšnosacījumi:

- Jāņem vērā stādīšanas (un ziedēšanas) laiks: jo lielāka atšķirība starp stādīšanas laiku vienas šķirnes kultūraugiem, jo zemāka ir iespēja šīm līnijām krustoties.
- Šķirņu atšķirības: dažādām šķirnēm ir atšķirīgi ziedēšanas un putekšņu nogatavošanās laiki, kas rada dabisku izolāciju.
- Buferjoslas: netransgēna kultūrauga buferjoslas kalpo kā GM putekšņu pārtvērējas.
- Vēja stiprums un virziens: krustošanās iespējas ir lielākas, ja uztvērējkultūras atrodas vēja virzienā no donorkultūras. Jo lielāks vēja ātrums, jo lielāka krustošanās iespējamība tālāk no donorkultūras.
- Barjeras: dzīvžogi, žogi, meži, kā arī topogrāfija var ietekmēt krustošanās līmeni ierobežojot vai novirzot putekšņu plūsmu. Barjeras var arī novirzīt putekšņus augšup, tādejādi palielinot iespēju izplatīties tālāk, kā arī var veicināt putekšņu uzkrāšanos „karstajos punktos”.

1. Insekticīdus ekspresējoša (Bt) kukurūza

Transgēnās Bt toksīnus ekspresējošās kukurūzas (piem., MON810) risku uz ne mērķa organismiem nosaka galvenokārt pēc putekšņu ietekmes uz tauriņu Lepidoptera sugu kāpuriem transgēnās kukurūzas laukā un tam pieguļošajās teritorijās. Tā kā transgēnās Bt kukurūzas radītajiem toksīniem piemīt toksiska aktivitāte ne tikai pret tā mērķa organismu Eiropas kukurūzas svilni, bet arī pret citām Lepidoptera sugām, var tikt ietekmētas tauriņu ne-mērķa sugas, kas dzīvo uz kukurūzas laukā esošajām nezālēm un lauka malās. Laboratorijas pētījumi rāda, ka Lepidoptera sugu īpatņiem, kas barojas ar Bt putekšņiem ir augstāka mirstība, lēnāka attīstība un samazināts kāpuru svars (Dively et al. 2004). Tomēr ļoti būtiski ir laboratorijas pētījumu rezultātus pārbaudīt lauka apstākļos, jo ir konstatēts, ka laboratorijas rezultāti bieži vien ir „sliktākā gadījuma scenārijs”, kas neatspoguļojas dabiskos apstākļos.

Vācu zinātnieku trīs gadu lauka pētījumi 6 ha platībā atklāja, ka nav atšķirību ne-mērķa organismu skaita ziņā starp transgēno Bt kukurūzu un kontroli, bez insekticīdu pielietošanas, bet ķīmisko insekticīdu pielietojums būtiski samazināja kāpuru skaitu (Gathmann et al. 2006). Izmēģinājumi tika veikti trīs dažādos laukos: (i) izogēna kontroles šķirne bez insekticīdiem, (ii) izogēna kontroles šķirne ar ķīmisko insekticīdu (Baytroid) un (iii) Bt kukurūza, kas ekspresē rekombinanto toksīnu. Lauki saturēja nezāļu joslas (20 x 1 m), kas sastāvēja no baltās balandas *Chenopodium album*/ baltās sinepes *Sinapis alba* maisījuma. Šajās joslās tika mērīta tauriņu kāpuru daudzveidība un skaits kukurūzas ziedēšanas un putekšņu izplatīšanās laikā. Uz *C. album* konstatēja piecas Lepidoptera sugas, bet visas bija pārstāvētas ar zemu īpatņu skaitu, tādēļ dati statistiskajām analīzēm nebija izmantojami. Uz *S. alba* konstatēja deviņas sugas, visbiežāk *Plutella xylostella* un *Pieris rapae*.

Arī spāņu zinātnieki konstatējuši, ka transgēnajai Bt toksīnus producējošajai kukurūzai nav negatīvas ietekmes uz ne-mērķa sugām – laputīm (Aphidodea) un sienāžiem (*Tettigoniodea*, Eizaguirre et al. 2006). Bt kukurūzas laukā tika konstatēts vairāk lapušu un sienāžu salīdzinot ar netransgēno kukurūzu, bet līdzcērtīgs sprakšķu (*Agriotes sp.*) un pūcīšu (Noctuidae) skaits.

2. Herbicīdu tolerantas kultūraugu līnijas

Pasaulē ir veikti pētījumi, kuros analizētas herbicīdu tolerantu kultūraugu līniju ietekme uz ne-mērķa organismiem. Lielbritānijas zinātnieki (Heard et al. 2003) mēģinājuši noskaidrot atšķirības nezāļu floras sastāvā un daudzveidībā, kā arī novērtēt izmaiņu diapazonu ģenētiski modificētu herbicīdu tolerantu (HT) kultūraugu (bietes, rapsis, kukurūza) un to pašu kultūraugu konvencionālajos laukos. Secināts, ka visiem pētītajiem kultūraugiem, nezāļu daudzveidība tika nedaudz ietekmēta atkarībā no HT vai konvencionālās apstrādes. Pēc apstrādes ar herbicīdiem gan HT, gan konvencionālajos laukos uzrādīja atšķirīgus augu blīvuma rezultātus atkarībā no kultūrauga. Bietēm un rapsim nezāļu blīvums neilgi pēc sēšanas bija lielāks herbicīdu tolerantajām līnijām. Pēc nezāļu apkarošanas konvencionālajos biešu laukos, augu blīvums bija ap 1/5 no tā, kas HT bietēm. Gan bietēm, gan rapsim šis efekts bija pretējs pēc pirmās plaša spektra herbicīdu pielietošanas reizes – vēlās sezonas augu blīvums bija zemāks HT laukos. Biomasa un sēklu daudzums HT līnijās bija starp 1/3 un 1/6 zemāks nekā konvencionālajos laukos. Kukurūzai rezultāti bija pretēji – nezāļu blīvums bija lielāks visu sezonu HT laukos, vēlās sezonas biomasa bija par 82% lielāka un sēklu par 87% vairāk nekā konvencionāli apsaimniekotajā lauka daļā. Visos kultūraugos galvenās atšķirības starp apstrādes veidiem (HT/konvencionālais) bija selektīvo herbicīdu pielietošana konvencionālajos laukos un plaša spektra herbicīdu lietošana HT līnijām. Bietēm nebija būtiskas atšķirības nezāļu sastāvā, kukurūza uzrādīja augstāku gan viendīgļlapju, gan divdīgļlapju blīvumu HT laukos, rapsis otrādi – būtiski mazāk divdīgļlapju HT laukos, bet viendīgļlapjiem starp laukiem nebija būtisku atšķirību (Heard et al. 2003). Selektīvie herbicīdi ir efektīvi pret divdīgļlapjiem viendīgļlapju kultūraugos un pret viendīgļlapjiem divdiegļlapju kultūraugos, bet plaša spektra herbicīdi vienlīdzīgi iedarbojas gan uz viendīgļlapjiem, gan divdīgļlapjiem.

Lauksaimniecības prakses izmaiņas transgēno kultūraugu ieviešanas rezultātā

Ģenētiski modificēto kultūraugu ieviešanas rezultātā ir mainījusies lauksaimnieku saimniekošanas prakse, tam pamatā ir citu šķirņu audzēšana, kā arī nezāļu un kaitēkļu apkarošanas stratēģijas maiņa. Herbicīdu tolerantie kultūraugi pašreiz aizņem vislielākās ģenētiski modificēto lauksaimniecības augu platības (James 2008), tādēļ ir izmainījusies herbicīdu lietošanas prakse. Piemēram, glifosfāta tolerantās sojas ieviešana ASV ir būtiski palielinājusi glifosfāta herbicīda pielietošanu

(Snow et al. 2004). Lai gan glifosfātam ir zema toksicitāte uz bezmugurkaulniekiem un mugurkaulniekiem, kā arī zemas augsnes saistīšanas spējas un labas degradēšanās īpašības, tomēr daudzi pētījumi pierāda, ka tā pielietošana ir būtiski ietekmējusi bezmugurkaulnieku sastāvu un skaitu ģenētiski modificēto kultūraugu laukos un to tuvumā (Snow et al. 2004). Izmaiņas bezmugurkaulnieku sastāvā tiek saistītas ar efektīvāku nezāļu kontroli transgēno kultūraugu laukos (Heard et al. 2003). Kā priekšrocība jāmin glifosfāta ātrā degradēšanās spēja, tādēļ tas ir „videi draudzīgāks” nekā citi izmantotie herbicīdi. Tādējādi līdz ar glifosfāta rezistentu līniju lietošanu, samazinās citu kaitīgāko herbicīdu pielietošana (Snow et al. 2004). Pretēji herbicīdiem, līdz ar insekticīdus ekspresējošu kultūraugu līniju ieviešanu, insekticīdu pielietošana ir būtiski samazinājusies, kā arī samazinājušās kaitēkļu populācijas (Snow et al. 2004 un tajā esošās references).

Izmantotā literatūra

- Brookes G., Barfoot P., Melé E., Messeguer J., Bénétrix F., Bloc D., Foueillassar X., Fabié A. and Poeydomenge C. 2004. Genetically modified maize: pollen movement and crop coexistence. Dorchester, UK: PG Economics Ltd. <http://www.pgeconomics.co.uk..>
- Gathmann A., Wirooks L., Hothorn L., Bartsch D., Schuphan I. 2006. Impact of Bt maize pollen (MON810) on lepidopteran larvae living on accompanying weeds. – *Molecular Ecology*, 15: 2677–2685.
- Dively G.P., Rose R., Sears M.K., Hellmich R.L., Stanley-Horn D.E., Calvin D.D., Russo J.M., Anderson P.L. 2004. Effects on monarch butterfly larvae (Lepidoptera: Danaidae) after continuous exposure to Cry1Ab-expressing corn during anthesis. – *Environmental entomology*, 33(4): 1116-1125.
- Eizaguirre M., Albajes R., Lopez C., Eras J., Lumbierres B., Pons X. 2006. Six years after the commercial introduction of Bt maize in Spain: field evaluation, impact and future prospects. - *Transgenic Research*, 15:1–12.
- Snow A.A., Andow D.A., Gepts P., Hallerman E. M., Power A., Tiedje J. M., Wolfenbarger L. L. 2004. Genetically engineered organisms and the environment: Current status and recommendations. - *Ecol. Appl.*, 15: 377–404.

James C. 2008. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2007. Brief 37, ISAAA, 143 pp.

Heard M. S. (and 12 others). 2003. Weeds in fields with contrasting conventional and genetically modified herbicidetolerant crops. I. Effects on abundance and diversity. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 358: 1819–1832.

Pielikums Nr. 11. Izolācijas attālumi ĢMO, konvencionālās un bioloģiskās daudzveidības līdzāspastāvēšanas nodrošināšanai

Iespējamie ĢM piejaukuma avoti ir vēja un kukaiņu izplatīti putekšņi un sēklas, lauksaimniecības tehnika, ĢM augu nekontrolēta pārziemošana augsnē, kā arī sēklu sajaukšanās pēc ražas ievākšanas (Bock et al. 2002). Lai kontrolētu ĢM piejaukumu tradicionālās un bioloģiskās lauksaimniecības produktos, valstis nosaka maksimālo pieļaujamo ĢM materiāla piejaukumu produktā, kas parasti nedrīkst pārsniegt 0.9%. Noskaidrots, ka 0.1% robežu, kas ir zemākā noteiktā Eiropas Savienības valstu vidū (piemēram, Austrijā), nav iespējams nodrošināt reģionos, kur tiek audzētas ĢM līnijas. Pārāk augsti ierobežojošie kritēriji (lieli izolācijas attālumi un zems maksimālā atļautā piejaukuma līmenis) būtiski sadārdzina audzēšanas izmaksas, kas apgrūtina ĢM augu ieviešanu lauksaimniecības aprītē (Demont and Devos 2008). Lielākajā daļā ES dalībvalstu pieņemtie ĢM un tradicionālās lauksaimniecības līdzāspastāvēšanu regulējošie noteikumi balstīti galvenokārt uz valsts ekonomiskajām interesēm un tikai sekundāri uz objektīviem bioloģisko risku rādītājiem. Tā, piemēram, valstīs ar augstu bioloģiskās lauksaimniecības īpatsvaru noteikti nesamērīgi augsti ierobežojumi ĢM izolācijas attālumiem un pieļaujamajam piejaukumam. Vieni no stingrākajiem ierobežojumiem ES noteikti Austrijā, galvenokārt augstā bioloģiskās lauksaimniecības īpatsvara dēļ.

Tā kā šobrīd kukurūza ir vienīgais lauksaimniecības augs, kura ĢM līniju audzēšana ir atļauta un tiek veikta Eiropas Savienības dalībvalstīs, tad īpaši aktuāls ir jautājums par piemērotākajiem izolācijas attālumiem ĢM kukurūzas audzēšanai.

Tabula 11-1. Administratīvi noteiktās izolācijas distances ĢM kukurūzai ES dalībvalstīs (pēc Devos et al. 2008)

Valsts	Izolācijas attālums bioloģiskai lauksaimniecībai (m)	Izolācijas attālums konvencionālajai lauksaimniecībai (m)
Luksemburga	800	800
Ungārija	800	400
Beļģija	-	200
Dānija	200	200
Polija	300	200
Portugāle	300	200
Slovākija	300	200

Vācija	300	150
Lielbritānija (lopbarības kukurūza)	-	110
Lielbritānija (pārtikas kukurūza)	-	80
Čehija	200	70
Francija	-	50
Īrija	75	50
Spānija	50	50
Zviedrija (pārtikas kukurūza)	50	25
Nīderlande	250	25
Zviedrija (lopbarības kukurūza)	15	15

Tabula 11-2. Eksperimentāli noteiktie izolācijas attālumi ĢM kukurūzas un konvencionālās lauksaimniecības līdzāspastāvēšanai

Valsts	Attālums / ĢMO piejaukums	Atsauce
Vācija	0-10m: 1.15% 20-30m: 0.24% 50-60m: 0.15%	Weber et al. 2005
Spānija	12.6m:0.68% 9m:0.58% 0m (ar 1m buferjoslu): 2.7-13.4% 2m: 0.2 – 10.4%	Molino-Ortega 2004 cit. pēc Devos 2008 Pla et al. 2006

	20m: 0.1 – 0.8% 80m: 0.1 – 0.2% 10m: <0.9%	Messegeur et al. 2006 cit. pēc Devos 2008
Lielbritānija	24.4m:0.9% 80m:0.3%	Henry et al. 2003
Nīderlande	>25m:0.9% 250m: 0.1%	Van de Wiel and Lotz 2006
Francija	40m: 0.75% 100m:0.29% 200m:0.17% 300m:0.13%	Benetrix et al. 2005 cit. pēc Devos 2008
European Joint Research Center ieteikums	100-200m: 0.9%	Bock et al. 2002

Galvenie secinājumi

- ĢM un konvencionālās lauksaimniecības kukurūzas sējumu līdzāspastāvēšanu var nodrošinot izmantojot 10-20 m ne-ĢM kukurūzas buferjoslu
- Lai nodrošinātu līdzāspastāvēšanu ar konvencionālo lauksaimniecību 50 m izolācijas attālums ir pietiekams, ja ĢM kukurūzas ierobežošanai tiek izmantota arī buferjosla.
- Lai nodrošinātu maksimālo piejaukumu zem 0.1%, kas nepieciešams bioloģiskās lauksaimniecības gadījumā, izolācijas attālumam jābūt lielākam par 200 m un precīza attāluma noteikšanai jāņem vērā vietas ģeogrāfiskās īpatnības (reljefs, vēja ātrums).

Atsauces

Bock A.-K., Lheureux K., Libeau-Dulos M., Nilsagård H., Rodriguez-Cerezo E. 2002. Scenarios for co-existence of genetically modified, conventional and organic crops in European agriculture. EC Joint Research Centre Report

Demont M., Devos Y. 2008. Regulating coexistence of GM and non-GM crops without jeopardizing economic incentives. Trends in Biotechnology 26(7): 353 -358

- Devos Y. 2008. Transgenic crops: a caleidoscopic impact analysis. PhD thesis, Ghent University, Ghent, Belgium
- Henry C., Morgan D., Weekes R., Daniels R., Boffey C. 2003. Farm scale evaluations of GM crops: monitoring gene flow from GM crops to non-GM equivalent crops in the vicinity. Part I: Forage Maize. Final Report, 2000/2003, DEFRA
- Pla M., La Paz J.-L., Penas G., Garcia N., Palau-delma M., Esteve T., Messeguer J., Mele E. 2006. Assessment of real-time PCR based methods for quantification of pollen-mediated gene flow from GM to conventional maize in a field study. *Transgenic Research* 15:219 - 228
- Van De Wiel C.C.M., Lotz L.A.P. 2006. Outcrossing and coexistence of genetically modified with (genetically) unmodified crops: a case study of the situation in the Netherlands. *NJAS* 54 (1): 17 - 35
- Weber W.E., Bringezu T., Broer I., Holz F., Eder J. 2005. Coexistence of genetically modified and conventional maize. *Mais* 1: 1-6

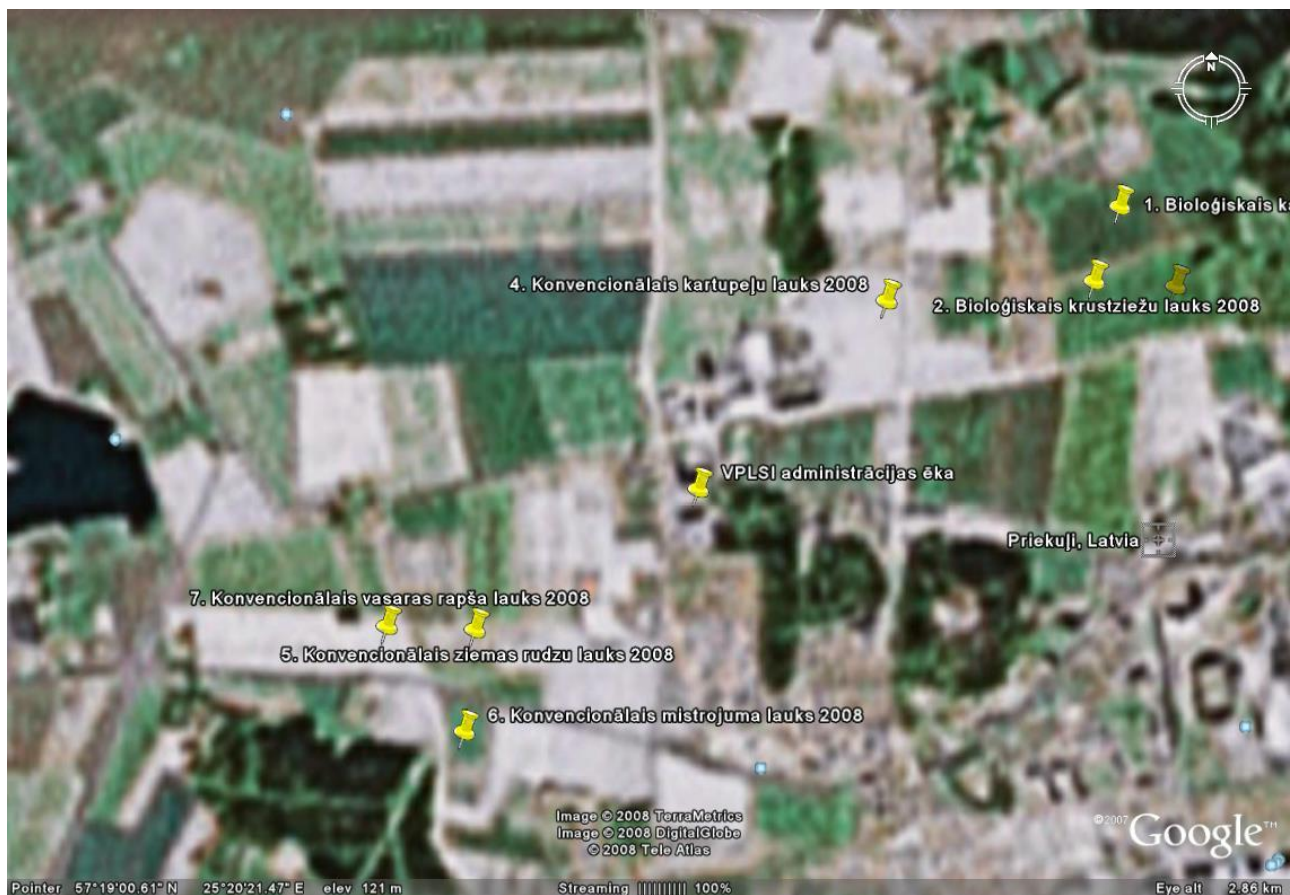
Pielikums Nr. 12. Paraugu ievākšana augsnes mikroorganismu analīzei VPLSI

Augsnes paraugi sezonas laikā tika ievākti 2009. gada 4. jūnijā un 25. augustā. Paraugi tika ievākti 7 laukos, katrā pa 3 paraugiem, kopējais paraugu skaits – 21 katrā reizē. Paraugi tika ņemti ar tīru (ar 70% etanolu notīrītu) lāpstiņu no 10 – 15 cm dziļuma. Katrs paraugs sastāv no augsnes, kas paņemta 3 vietās, apmēram 1 metra attālumā viena no otras. Paraugi tika ņemti pa diagonāli šķērsojot lauku – vienā stūrī, vidū un pretējā stūrī.

Paraugu ievākšanas vietas (skat. tabulu 12-1 un attēlu 12 – 1):

Tabula 12-1. Augsnes paraugu ievākšanas vietas

N.p.k.	Lauku apzīmējumi	Paraugu Nr.	2008.g. audzētā kultūra	2009.g. audzētā kultūra	2010	2011
1.	A	1 – 3	Kartupeļi	Zirņu mistrojums		
2.	B	4 – 6	Eļļas rutks	Mieži		
3.	C	7 – 9	Ziemas rudzi	Kartupeļi		
4.	D	10 – 12	Kartupeļi	Mieži		
5.	E	13 – 15	Ziemas rudzi	Kartupeļi		
6.	F	16 – 18	Mistrojums (vīķes ar miežiem)	Pupas		
7.	G	19 – 21	Vasaras rapsis	Mieži		



Attēls 12-1. Paraugu ievākšanas vietas Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūtā augsnes mikroorganismu analīzei.

Pielikums Nr. 13. Augsnes paraugu molekulāro analīžu rezultāti

1. Metodes

Metodes kopējās augsnes DNS izdalīšanai, DNS šķīdumu kvantitātes un kvalitātes noteikšanai, PCR, ARDRA, gēlu analīzei un augsnes pH noteikšanai ir aprakstītas projekta 2008. gada atskaitē.

1.1. Metodika dominējošo sēņu grupu izmaiņu noteikšanai

1. Iegūst dominējošo mikroskopisko micēlijsēņu tīrkultūras agarizētā iesala ekstrakta barotnē.
2. No tīrkultūrām izdala DNS, izmantojot *PowerSoil™ DNA Isolation* kitu.
3. Veic PCR reakciju ar universālajiem sēņu praimeriem (ITS1F un ITS4).
4. Veic presekvenēšanas reakciju 3. punktā veiktās sēņu tīrkultūru PCR reakcijas produktu attīrīšanai. Kopējā ependorfa mēģenē sagatavo enzīmu maisījumu, uz katru paraugu ņemot 2 µl SAP (*Shrimp Alkaline Phosphatase*) un 0,5 µl Exol (*Exonuclease I E. coli*). Lai enzīmu maisījuma nepietrūktu, tam pievieno reaģentus vēl 3 paraugiem. Paraugu platē katrā bedrītē ienes 5 µl DNS un 2,5 µl maisījuma. Platī aizlīmē, nosedzot bedrītes, un liek uz 1h *AB Veriti Thermo Cycler* PCR iekārtā.

Reakcijas apstākļi:

- 1) 37 °C – 40 min;
- 2) 95 °C – 20 min.

5. Sekvenēšanai kopējā ependorfa mēģenē sagatavo maisījumu, uz katru paraugu ņemot 4,2 µl sterila ūdens, 0,8 µl 5X reakcijas bufera un 1 µl *BigDye* maisījuma (*BigDye 3.1. terminator mix kit*). Paraugu platē katrā bedrītē ienes 3 µl presekvenētās DNS, 1 µl praimera ITS1F un 6 µl maisījuma. Nākamajās bedrītēs ienes 3 µl presekvenētās DNS, 1 µl praimera ITS4 un 6 µl maisījuma. Platī aizlīmē un liek iepriekš minētajā PCR iekārtā.

Reakcijas apstākļi:

- 1) 96 °C - 10 sek
- 2) 50 °C - 5 sek
- 3) 60 °C - 4 min

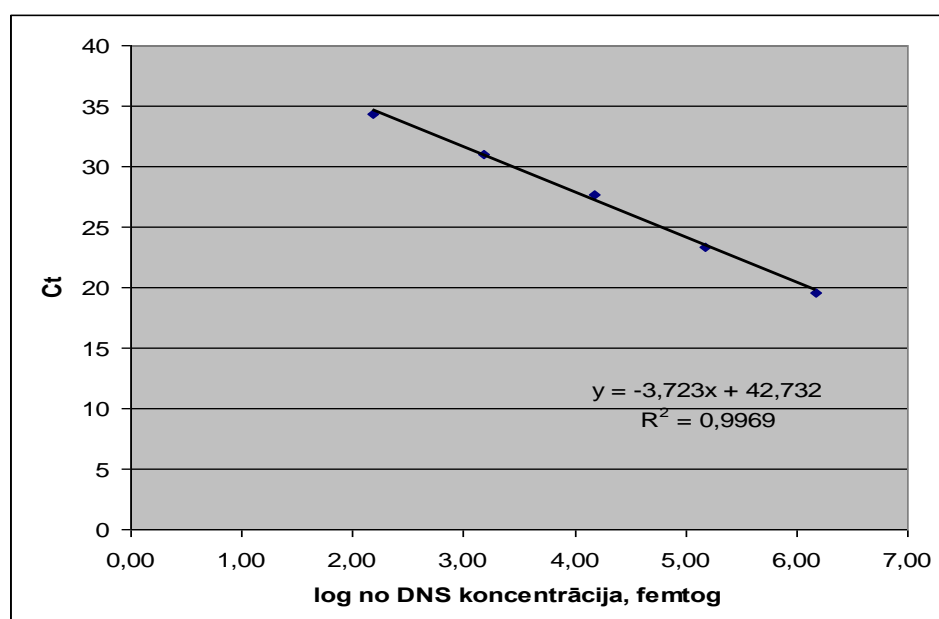
Ciklu atkārtoti 40 reizes.

6. Paraugus nodod sekvenēšanai LU Biomedicīnisko pētījumu un studiju centrā.
7. Iegūtās sekvences analizē ar *Staden Package 1.6.0. release* (<http://staden.sourceforge.net/>) un salīdzina ar datu bāzē BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov) esošajām sekvencēm.

8. No identificēto tīrkultūru DNS pagatavo maisījumu. Veic PCR ar universālajiem sēņu praimeriem, izmantojot tīrkultūru DNS maisījumu un augsnes paraugu DNS.
9. Veic restrikcijas reakciju un elektroforēzi poliakrilamīda gēlā.

1.2. Reālā laika PCR reakcija

Reālā laika PCR rezultātu aprēķināšanai tiek izmantotas standartlīknes, kas iegūtas mikroskopisko micēlijsēņu tīrkultūru DNS amplifikācijā ar attiecīgajiem praimeriem. *Trichoderma* ģints sēņu praimeru standartlīknes iegūšanai tiek izmantota *Trichoderma harzianum* tīrkultūras (saņemta no Latvijas Mikroorganismu kultūru kolekcijas (LMKK)) DNS atšķaidījumi (Attēls 13-1).



Attēls 13-1. *Trichoderma harzianum* tīrkultūras DNS atšķaidījumu standartlīkne ar *Trichoderma* ģints sēnēm specifiskiem praimeriem.

Lai kvantificētu kādas konkrētas mikroorganismu grupas DNS īpatsvaru augsnes paraugā, Ependorfa mēģenē tiek uztaisīts reakcijas maisījums, uz katru paraugu ņemot 9,5 μl sterila nukleāzes brīva ūdens, pa 1 μl viena un otra 25 mM praimera un 12,5 μl *SybrGreen Premix Ex Taq* maisījuma. Lai šķīduma nepietrūktu, maisījumam pievieno papildus reaģentus vēl vienam paraugam.

Speciālā kivetē ienes 1 μl analizējamā DNS parauga un pievieno 24 μl reakcijas maisījuma. Paraugus nocentrifugē un liek reālā laika PCR iekārtā, kur notiek reakcija.

Reakcijas apstākļi:

- 1) Sākotnējā denaturācija 95.0°C - 60s;
- 2) Denaturācija 95.0°C - 30s;

- 3) Praimeru hibridizācija 55.0°C - 30s;
- 4) Sintēze 72.0°C - 30s;
- 2.-4. solis tiek atkārtots 40 x
- 5) Kušanas temperatūru mērījumi – sākotnējā temperatūra 60.0°C, beigu temperatūra 95.0°C.

Pēc reakcijas tiek nolasītas Ct vērtības un, izmantojot standartlīknes, tiek aprēķināts attiecīgās mikroorganismu grupas DNS daudzums augsnes paraugā.

2. Rezultāti

2.1. Izdalītās kopējās augsnes DNS kvantitāte un kvalitāte

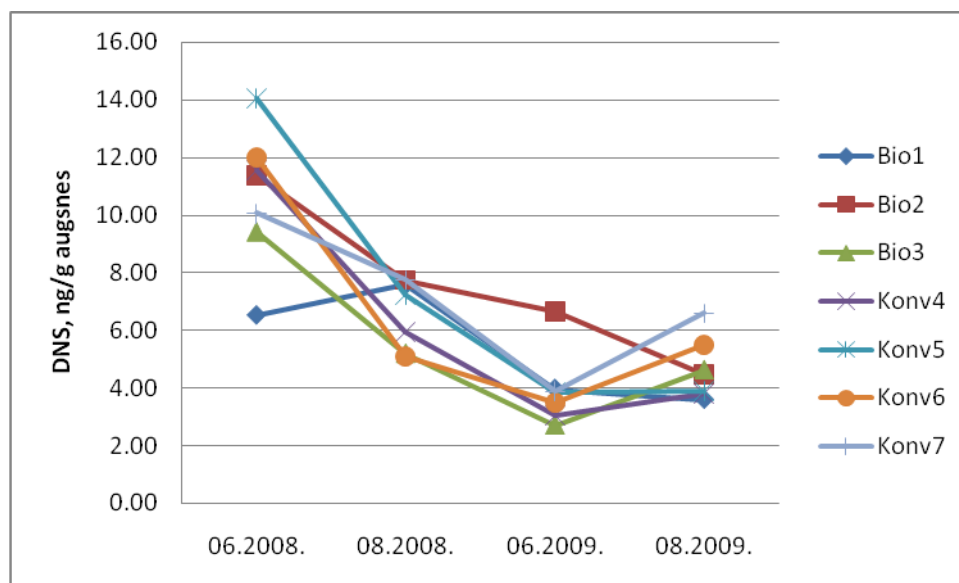
Informācija par DNS kvantitāti un kvalitāti (absorbciija 260/280 nm), kas iegūta no analizētajiem paraugiem, redzama 13-1. tabulā un 13-2. attēlā. Visvairāk DNS iegūta no 2008. gada jūnija paraugiem (13-2. attēls). Atšķirīgs iegūtās DNS daudzums ir izskaidrojams ar atšķirīgu augsnes mitruma saturu. DNS tiek izdalīta no 0.25 g mitras augsnes, bet, tā kā augsnes mitrums ir atšķirīgs, tad augsnes parauga apjoms ir variabls. Iegūtās DNS daudzums tiek izteikts uz 1 gramu mitras augsnes.

Iegūto DNS šķīdumu attiecība 260 nm/280 nm variē no 1,37 līdz 1,80 (vidēji 1,63).

Tabula 13-1. No 2009. gada augsnes paraugiem izdalītās DNS kvantitāte un kvalitāte (DNS izdalīta divos atkārtojumos)

Paraugš	Vidējā absorbciija 260/280 nm	Vidējā koncentrācija, ng/μl	Vidējā koncentrācija, μg/g augsnes
2009. gada jūnija paraugi			
1	1,73	12,50	5,00
2	1,73	12,10	4,84
3	1,70	5,20	2,08
4	1,39	16,60	6,64
5	1,37	20,00	8,00
6	1,50	13,30	5,32
7	1,65	7,10	2,84
8	1,60	7,10	2,84
9	1,60	6,10	2,44
10	1,65	6,60	2,64
11	1,65	6,70	2,68
12	1,43	9,50	3,80
13	1,70	8,30	3,32
14	1,80	9,80	3,92
15	1,70	10,60	4,24
16	1,75	8,50	3,40
17	1,75	7,90	3,16
18	1,70	9,80	3,92
19	1,65	8,20	3,28
20	1,63	8,50	3,40
21	1,58	12,50	5,00

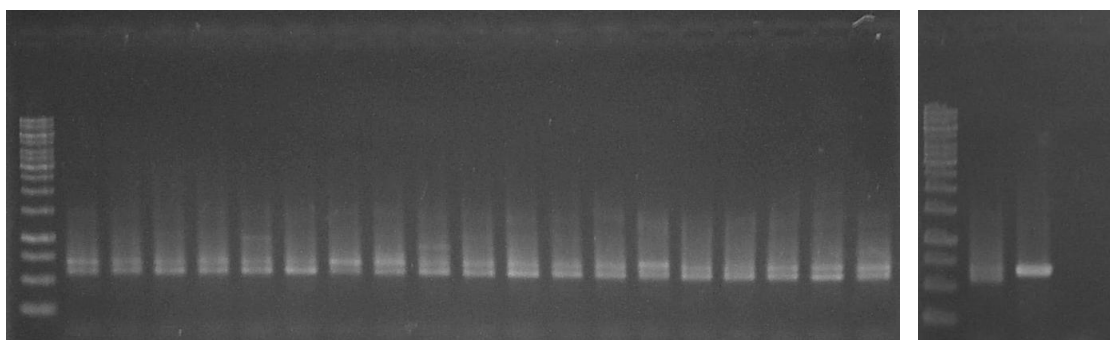
Paraugs	Vidējā absorbcija 260/280 nm	Vidējā koncentrācija, ng/μl	Vidējā koncentrācija, μg/g augsnes
2009. gada augusta paraugi			
1	1,60	10,25	4,10
2	1,60	7,50	3,00
3	1,70	9,25	3,70
4	1,75	15,50	6,20
5	1,60	8,50	3,40
6	1,60	9,50	3,80
7	1,75	11,50	4,60
8	1,45	11,75	4,70
9	1,70	11,50	4,60
10	1,75	11,25	4,50
11	1,60	9,75	3,90
12	1,60	7,50	3,00
13	1,70	9,25	3,70
14	1,40	11,00	4,40
15	1,60	8,75	3,50
16	1,70	11,50	4,60
17	1,65	13,50	5,40
18	1,70	16,25	6,50
19	1,70	16,75	6,70
20	1,55	13,75	5,50
21	1,53	19,00	7,60



13-2. attēls. Augsnes paraugu DNS koncentrācijas (atkārtojumu skaits no katra lauka n=6).

2.2. Sēņu daudzveidība

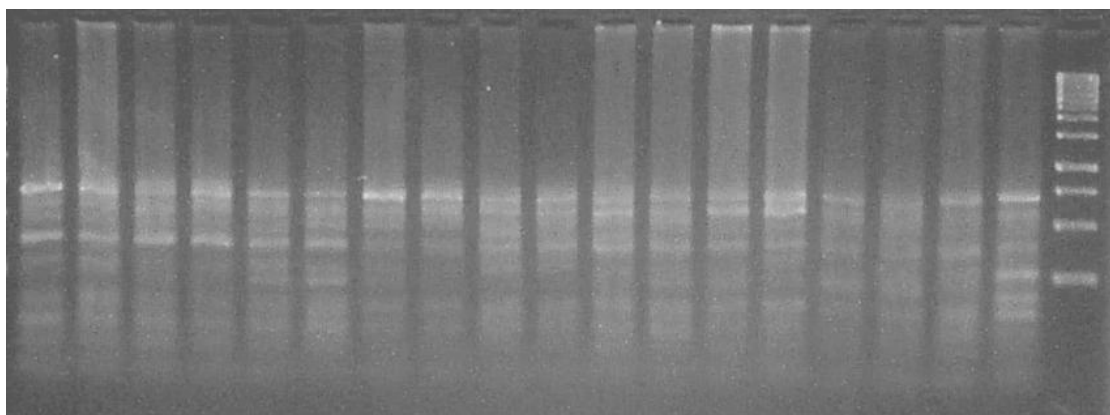
Augsnes DNS paraugu PCR reakciju ar universālajiem sēņu praimeriem rezultāti 1% agarozes gēlā ir redzami 13-3., 13-6., 13-10. un 13-12. attēlos. Restrikciju rezultāti ir redzami 13-4., 13-5., 13-7., 13-8., 13-9., 13-11., 13-13., 13-14. un 13-15. attēlos.



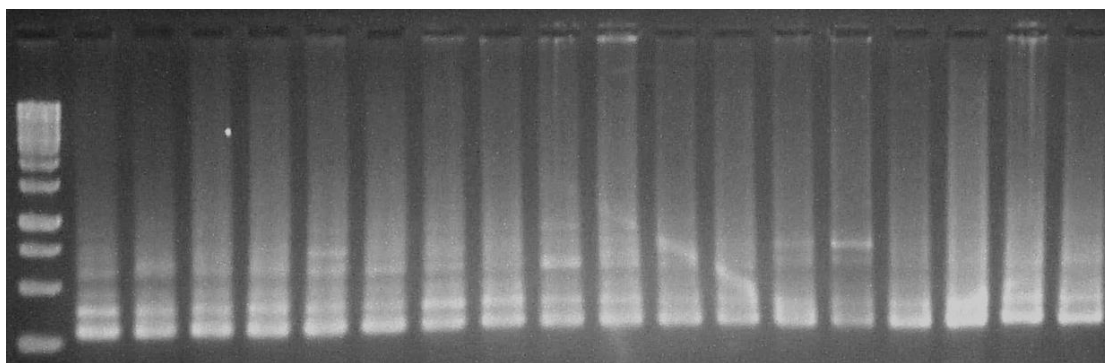
1

2

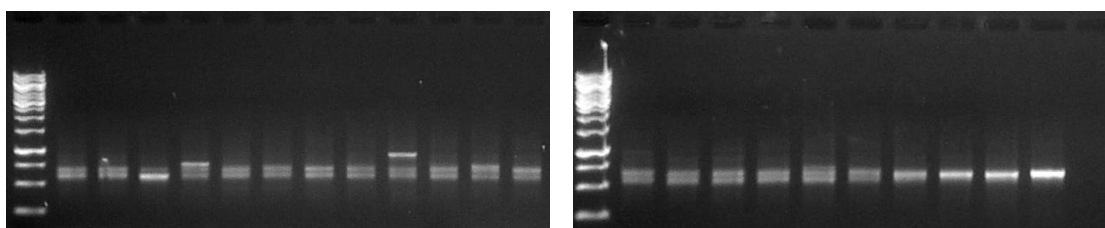
13-3. attēls. Augsnes DNS PCR rezultāti 1% agarozes gēlā. Paraugi 1.-10. divos atkārtojumos. 2. gēlā 3. bedrītē ir pozitīvā kontrole (*Heterobasidion annosum* DNS), 4. bedrītē – negatīvā kontrole (bez DNS). Pirmajās bedrītēs abos gēlos ir molekulārais marķieris - GeneRuler 1kb DNA Ladder.



13-4. attēls. ARDRA ar restriktāzi *Bsu*RI rezultāti 1 % agarozes gēlā. 2009. gada jūnija paraugi no 1. – 9. divos atkārtojumos. Pēdējā bedrītē ir molekulārais marķieris - GeneRuler 1kb DNA Ladder.



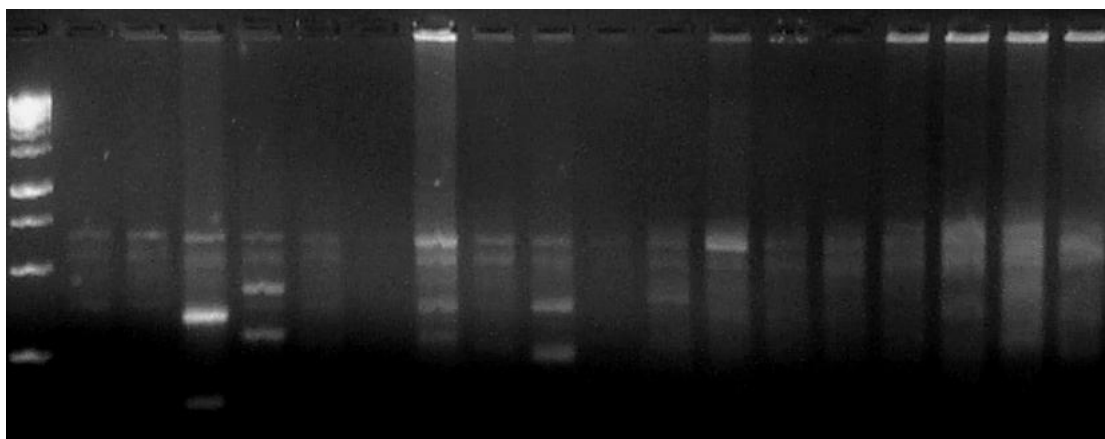
13-5. attēls. ARDRA ar restriktāzi *EcoRI* rezultāti 1 % agarozes gēlā. 2009. gada jūnija paraugi no 1. – 9. divos atkārtojumos. Pirmajā bedrītē molekulārais marķieris - GeneRuler 1kb DNA Ladder.



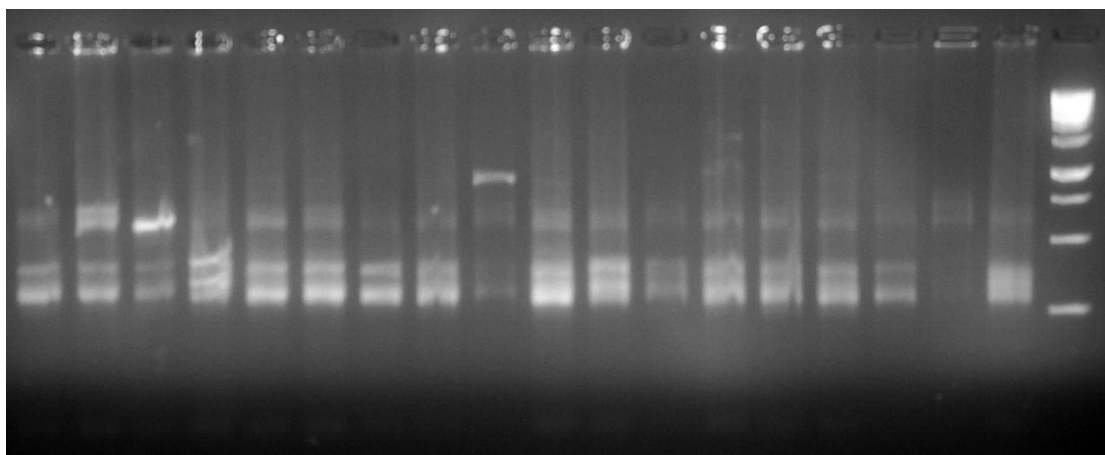
1

2

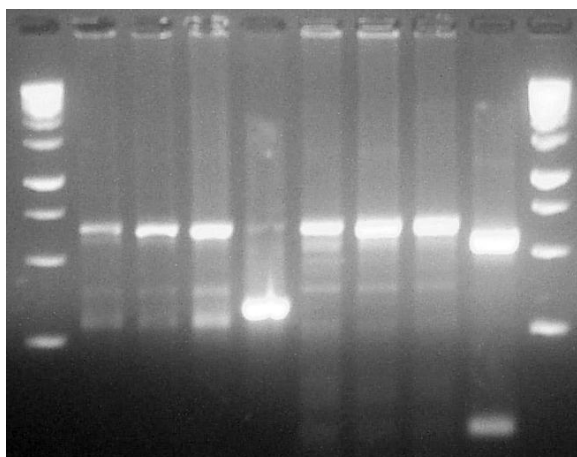
13-6. attēls. Augsnes DNS PCR rezultāti 1% agarozes gēlā. Paraugi 11.-20. divos atkārtojumos. 2. gēlā 11. bedrītē ir pozitīvā kontrole (*H. annosum* DNS), 12. bedrītē – negatīvā kontrole (bez DNS). Pirmajās bedrītēs abos gēlos ir molekulārais marķieris - GeneRuler 1kb DNA Ladder.



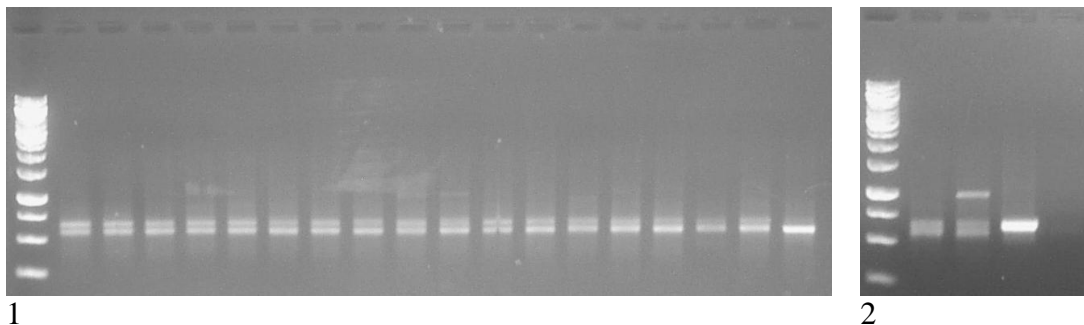
13-7. attēls. ARDRA ar restriktāzi *BsuRI* rezultāti 1 % agarozes gēlā. 2009. gada jūnija paraugi no 11. – 20. divos atkārtojumos. Pirmajā bedrītē ir molekulārais marķieris - GeneRuler 1kb DNA Ladder.



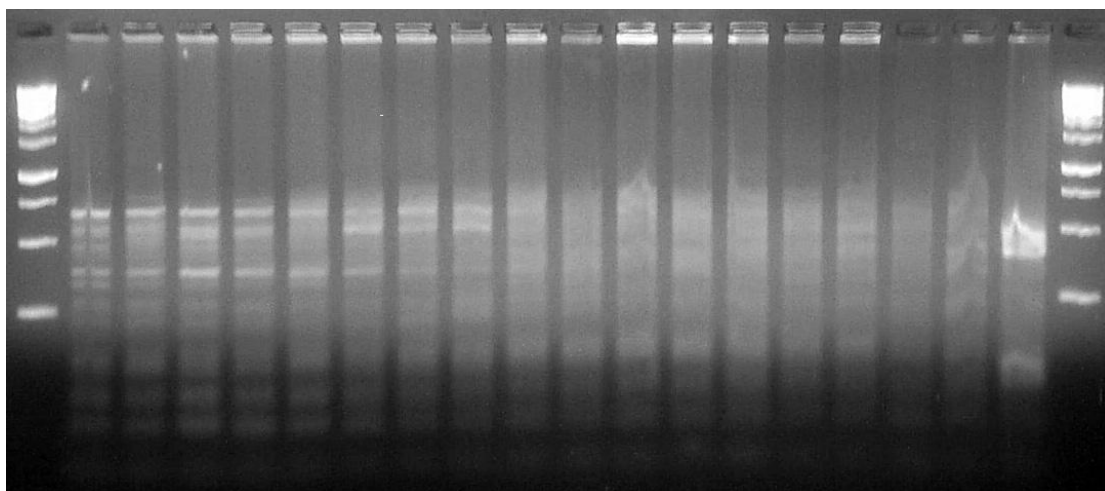
13-8. attēls. ARDRA ar restriktāzi *EcoRI* rezultāti 1 % agarozes gēlā. 2009. gada jūnija paraugi no 11. – 20. divos atkārtojumos. Pēdējā bedrītē ir molekulārais marķieris - GeneRuler 1kb DNA Ladder.



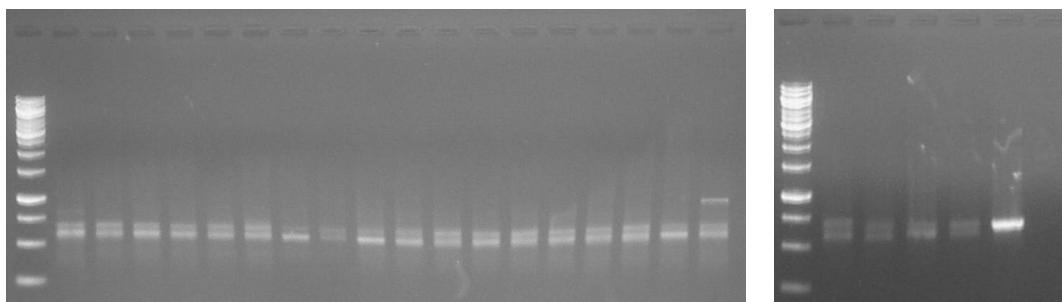
13-9. attēls. 2009. gada jūnija paraugu ARDRA rezultāti 1 % agarozes gēlā. Bedrītēs 2.– 4. ir paraugi 20a, 21. un 21a ar restriktāzi *EcoRI*. 5. bedrītē ir PCR reakcijas pozitīvās kontroles (bazīdijsēnes *H. annosum*) restrikcijas rezultāti ar *EcoRI*. Bedrītēs 6.-9. ir šo pašu paraugu restrikcijas rezultāti ar restriktāzi *BsuRI*. Pirmā un pēdējā bedrītē ir molekulārais marķieris - GeneRuler 1kb DNA Ladder.



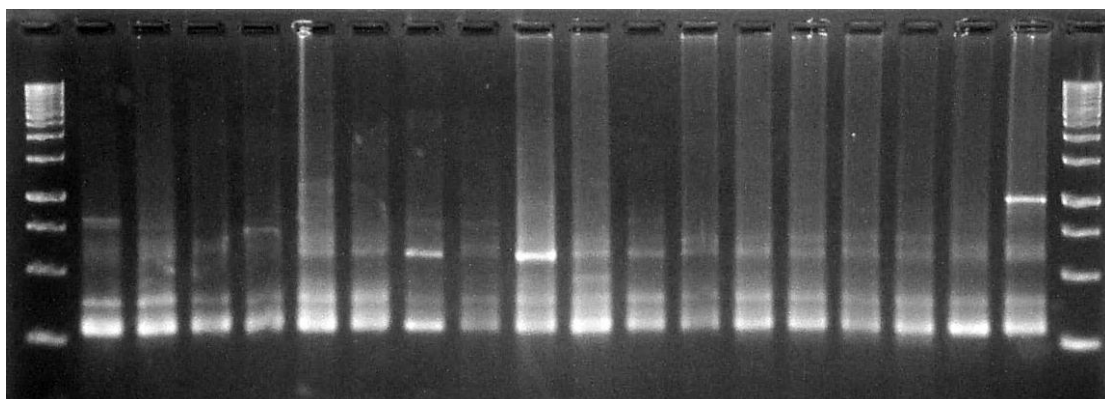
13-10. attēls. 2009. gada augusta paraugu 1.-10. (divos atkārtojumos) PCR reakcijas rezultāti. 2. gēlā 4. bedrītē ir pozitīvā kontrole, 5. bedrītē – negatīvā kontrole (bez DNS).



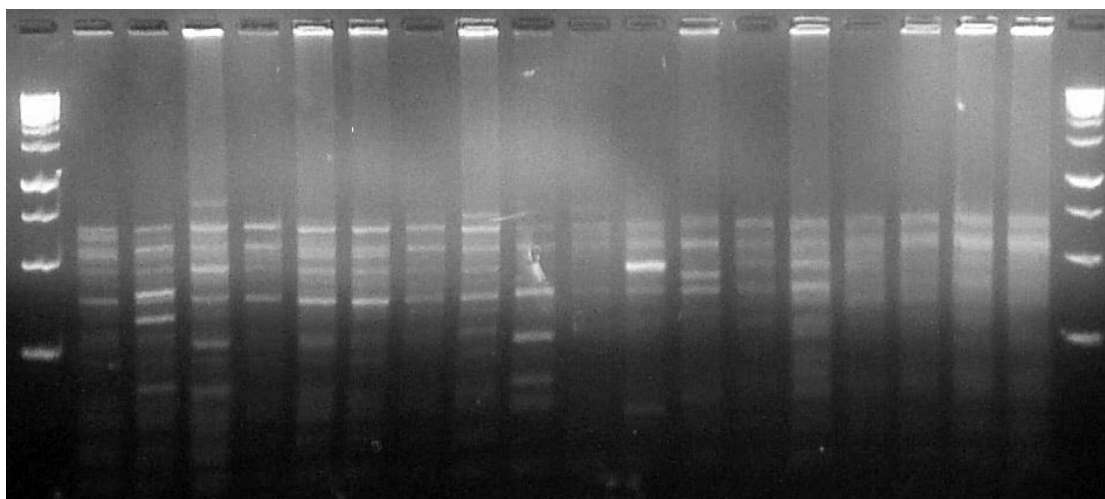
13-11. attēls. ARDRA ar restriktāzi *Bsu*RI rezultāti 1 % agarozes gēlā. 2009. gada augusta paraugi no 1. – 9. divos atkārtojumos. Pirmajā un pēdējā bedrītē ir molekulārais marķieris - GeneRuler 1kb DNA Ladder.



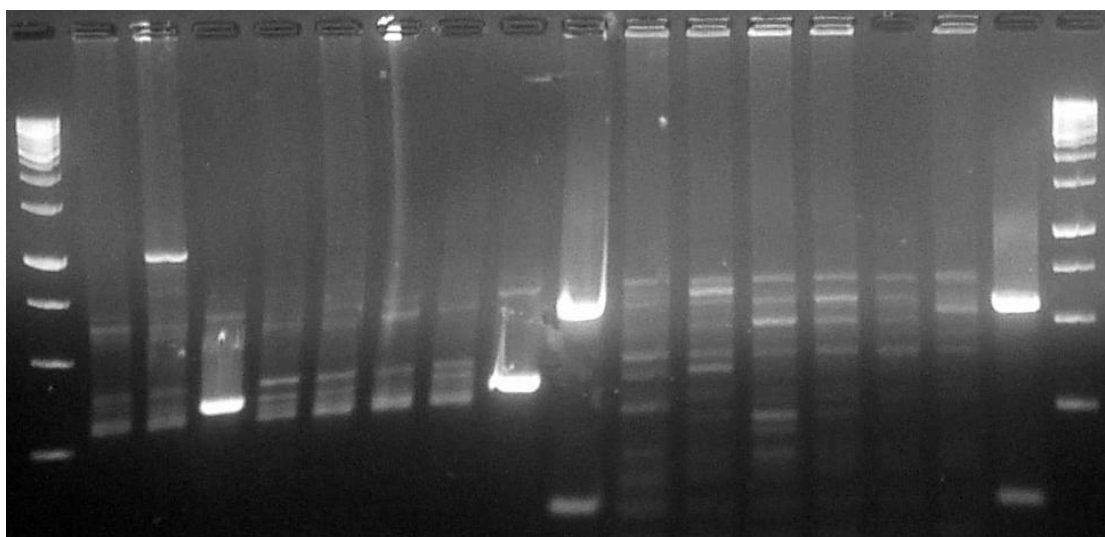
13-12. attēls. 2009. gada augusta paraugu 11.-21. (divos atkārtojumos) PCR reakcijas rezultāti. 2. gēlā 6. bedrītē ir pozitīvā kontrole, 7. bedrītē – negatīvā kontrole (bez DNS).



13-13. attēls. ARDRA ar restriktāzi *Eco*RI rezultāti 1 % agarozes gēlā. 2009. gada augusta paraugi no 11. – 19. divos atkārtojumos. Pirmajā un pēdējā bedrītē ir molekulārais marķieris - GeneRuler 1kb DNA Ladder.

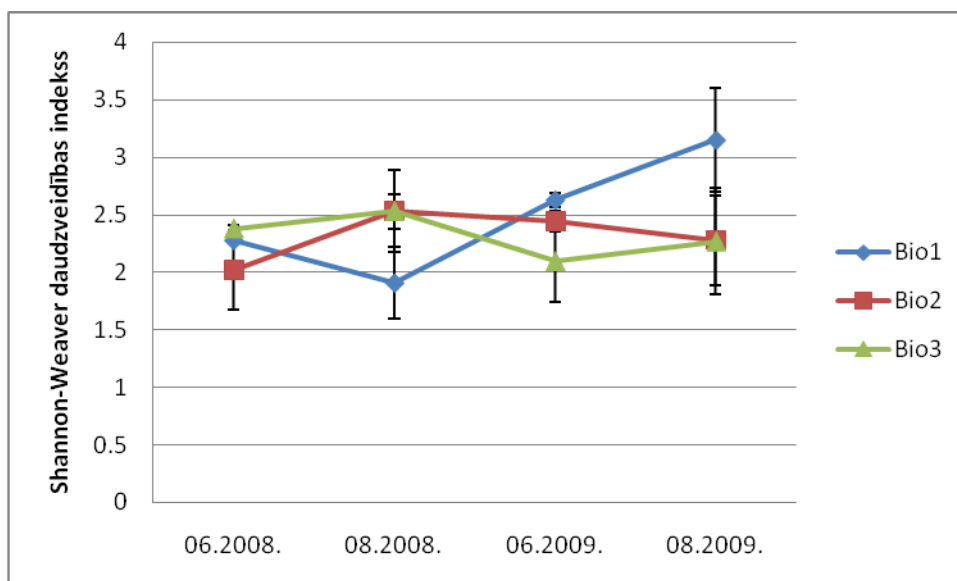


13-14. attēls. ARDRA ar restriktāzi *Bsu*RI rezultāti 1 % agarozes gēlā. 2009. gada augusta paraugi no 10. – 18. divos atkārtojumos. Pirmajā un pēdējā bedrītē ir molekulārais marķieris - GeneRuler 1kb DNA Ladder.

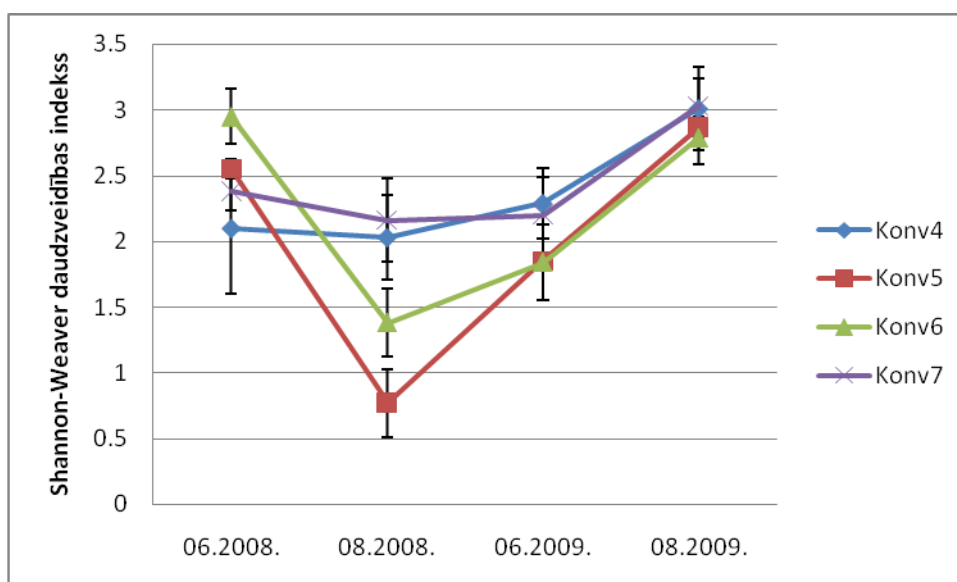


13-15. attēls. 2009. gada augusta paraugu ARDRA rezultāti 1 % agarozes gēlā. Bedrītēs 2.– 3. ir paraugi 10 un 10a ar restriktāzi *Eco*RI. Bedrītēs 5.-8. ir paraugi 20. – 21. (divos atkārtojumos). 4. un 9. bedrītē ir pozitīvās kontroles *H. annoum* restrikcija ar *Eco*RI. 11.-16. Bedrītēs ir paraugi 19.-21. (divos atkārtojumos). 10. un 17. bedrītē ir pozitīvās kontroles *H. annoum* restrikcija ar *Bsu*RI. Pirmā un pēdējā bedrītē ir molekulārais marķieris - GeneRuler 1kb DNA Ladder.

No gēlu attēliem tika iegūta informācija par sēņu daudzveidību, kas izteikta kā Shannon-Weaver daudzveidības indekss. Informācija no abu restriktāžu (*Bsu*RI un *Eco*RI) gēliem ir sasummēta (Wang et al., 2008). 13-16. attēlā ir dots apkopojums par bioloģiskās lauksaimniecības lauku sēņu daudzveidības izmaiņām 2008. un 2009. gadā. 16-17. attēlā ir dots apkopojums par konvencionālās lauksaimniecības lauku sēņu daudzveidības izmaiņām 2008. un 2009. gadā.



13-16. attēls. Sēņu daudzveidības indeksi bioloģiskās lauksaimniecības laukos (atkārtojumu skaits no katra lauka n=6, nogrieznis parāda standartnovirzi).



13-17. attēls. Sēņu daudzveidības indeksi konvencionālās lauksaimniecības laukos (atkārtojumu skaits no katra lauka n=6, nogrieznis parāda standartnovirzi).

No analizētajiem bioloģiskās lauksaimniecības laukiem būtiskākās izmaiņas ir novērotas 1. laukā – 2008. gada vasaras beigās sēņu daudzveidība samazinājās, bet 2009. gada vasaras beigās tā pieauga. Augusta paraugos no šī lauka 2008. gadā tika konstatēts arī neliels kultivējamo mikroskopisko micēlijsēņu skaita samazinājums, savukārt 2009. gada augusta paraugos tika konstatēts neliels mikroskopisko micēlijsēņu skaita pieaugums. 2008. gadā šajā laukā auga kartupeļi un mēnesi pirms augsnes paraugu paņemšanas augustā bija veikta lakstu pļaušana. Iespējams, ka izmaiņas sēņu sabiedrībā šajā laika posmā skaidrojamas ar mikroklimatiskajām izmaiņām augsnē pēc lakstu pļaušanas (samazinās augsnes noēnojums u.c.). 2009. gadā šajā laukā tika kultivēti zirņi un rudzi zaļmēslojumam. Uz paraugu ņemšanas

brīdi augustā zirņi jau bija iestrādāti augsnē. Iespējams, ka tas ir iemesls, kādēļ ir paaugstinājusies sēņu sabiedrību kvantitāte un daudzveidība, jo uz zirņu saknēm augošās gumiņbaktērijas ir piesaistījušas papildus slāpekli. Zaļmēslojuma kultivēšana un iestrāde ir veicinājusi arī pārējo analizēto augsnes mikroorganismu grupu skaita pieaugumu – baktēriju kopskaits, aktinomicēšu daudzums un raugu un maltozi izmantojošo baktēriju skaits.

Konvencionālajos laukos 2008. gada vasarās beigās ir konstatēts būtisks sēņu daudzveidības samazinājums divos laukos (5. un 6. lauks), savukārt 2009. gada vasaras beigās visos laukos ir konstatēts būtisks sēņu daudzveidības pieaugums. 2008. gada izmaiņas 5. un 6. laukā neatspoguļojas kultivējamo micēlijsēņu rādītājos, bet 2009. gada vasaras beigās arī kultivējamo mikroskopisko micēlijsēņu skaits ir pieaudzis šajos laukos. Tā kā 2009. gadā sēņu daudzveidības pieaugums ir konstatēts visos konvencionālajos laukos, tad, iespējams, ka iemesls ir klimatiskie apstākļi nevis agrotehniskie pasākumi.

Salīdzinot bioloģisko un konvencionālo lauku sēņu daudzveidības indeksus ar t-testa metodi, tika konstatēts, ka nav statistiski būtisku atšķirību starp abām lauku grupām.

2.3. Dominējošo sēņu grupu izmaiņu noteikšanas rezultāti

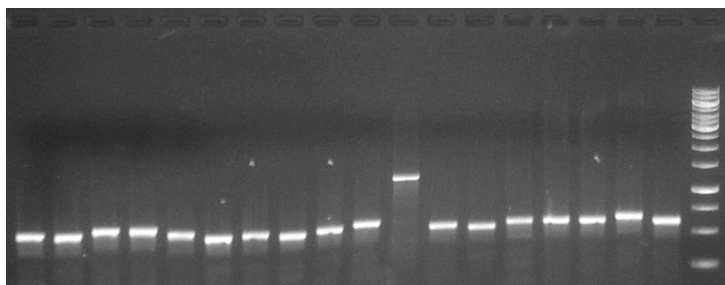
Tika izdalītas 64 mikroskopisko micēlijsēņu tīrkultūras. To saraksts ir redzams 2. tabulā.

Tabula 13-2. Mikroskopisko micēlijsēņu tīrkultūras

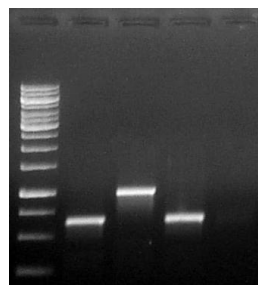
Npk.	Augsnes paraugs, atšķaidījums, ģints
1	1. augsnes paraugs, 3. atšķaidījums. Sterils micēlijs
2	3. augsnes paraugs, 0. atšķaidījums. <i>Mucor</i> sp.
3	3. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. <i>Penicillium</i> sp.
4	3. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. <i>Aspergillus</i> sp.
5	3. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. Sterils micēlijs
6	3. augsnes paraugs, 3. atšķaidījums. <i>Trichoderma</i> sp.
7	3. augsnes paraugs, 3. atšķaidījums. <i>Trichoderma</i> sp.
8	4. augsnes paraugs, 1. atšķaidījums. <i>Penicillium</i> sp.
9	4. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. <i>Penicillium</i> sp.
10	4. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. <i>Scopulariopsis</i> sp.
11	5. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. <i>Fusarium</i> sp.
12	5. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. <i>Mortierella</i> sp.
13	5. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. Sterils micēlijs
14	6. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. <i>Penicillium</i> sp.
15	6. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. Sterils micēlijs
16	6. augsnes paraugs, 1. atšķaidījums. <i>Penicillium</i> sp.
17	6. augsnes paraugs, 3. atšķaidījums. Sterils micēlijs
18	6. augsnes paraugs, 3. atšķaidījums. <i>Cladosporium</i> sp.
19	7. augsnes paraugs, 0. atšķaidījums. <i>Mucor</i> sp.

Npk.	Augsnes paraugs, atšķaidījums, ģints
20	7. augsnes paraugs, 1. atšķaidījums. <i>Mucor</i> sp.
21	7. augsnes paraugs, 1. atšķaidījums. <i>Mucor</i> sp.
22	7. augsnes paraugs, 3. atšķaidījums. <i>Penicillium</i> sp.
23	7. augsnes paraugs, 3. atšķaidījums. Sterils micēlijs
24	8. augsnes paraugs. 0. atšķaidījums. Sterils micēlijs
25	8. augsnes paraugs. 0. atšķaidījums. <i>Mucor</i> sp.
26	8. augsnes paraugs. 2. atšķaidījums. <i>Penicillium</i> sp.
27	8. augsnes paraugs. 2. atšķaidījums. <i>Cladosporium</i> sp.
28	8. augsnes paraugs. 3. atšķaidījums. <i>Penicillium</i> sp.
29	8. augsnes paraugs. 3. atšķaidījums. Sterils micēlijs
30	8. augsnes paraugs. 3. atšķaidījums. <i>Cladosporium</i> sp.
31	8. augsnes paraugs. 3. atšķaidījums. <i>Verticillium</i> sp.
32	8. augsnes paraugs. 3. atšķaidījums. <i>Verticillium</i> sp.
33	9. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. <i>Penicillium</i> sp.
34	9. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. Sterils micēlijs
35	9. augsnes paraugs, 3. atšķaidījums. <i>Penicillium</i> sp.
36	9. augsnes paraugs, 3. atšķaidījums. <i>Penicillium</i> sp.
37	10. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. <i>Trichodema</i> sp.
38	10. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. <i>Humicola</i> sp.
39	10. augsnes paraugs, 3. atšķaidījums. <i>Penicillium</i> sp.
40	11. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. <i>Penicillium</i> sp.
41	11. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. <i>Geomyces</i> sp.
42	11. augsnes paraugs, 1. atšķaidījums. <i>Penicillium</i> sp.
43	11. augsnes paraugs, 3. atšķaidījums. Sterils micēlijs
44	12. augsnes paraugs, 1. atšķaidījums. <i>Penicillium</i> sp.
45	12. augsnes paraugs, 1. atšķaidījums. <i>Sterils micēlijs</i>
46	12. augsnes paraugs, 1. atšķaidījums. <i>Sterils micēlijs</i>
47	12. augsnes paraugs, 1. atšķaidījums. <i>Penicillium</i> sp.
48	13. augsnes paraugs, 1. atšķaidījums. Sterils micēlijs
49	13. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. Sterils micēlijs
50	13. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. <i>Penicillium</i> sp.
51	15. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. Sterils micēlijs
52	15. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. Sterils micēlijs
53	15. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. Sterils micēlijs
54	15. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. Sterils micēlijs
55	16. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. Sterils micēlijs
56	16. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. <i>Penicillium</i> sp.
57	16. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. <i>Verticillium</i> sp.
58	16. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. <i>Mucor</i> sp.
59	16. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. Sterils micēlijs
60	16. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. Neidentificēta
61	18. augsnes paraugs, 3. atšķaidījums. Sterils micēlijs
62	19. augsnes paraugs, 3. atšķaidījums. Sterils micēlijs
63	10. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. <i>Verticillium</i> sp.
64	11. augsnes paraugs, 2. atšķaidījums. <i>Staphylotrichum</i> sp.

13-18. un 13-19. attēlā ir redzami 40 tīrkultūru DNS PCR amplifikācijas rezultāti ar universālajiem sēņu praimeriem (ITS4, ITS1F) 1 % agarozes gēlā. 13-20. attēlā ir redzami 7. tīrkultūru DNS PCR amplifikācijas rezultāti ar β -tubulīna praimeriem (T12, T22 (praimeru autors Uldis Maļinovskis)), kas piemērotāki, lai identificētu *Penicillium* ģints sēnes ar sekvenēšanas metodi.

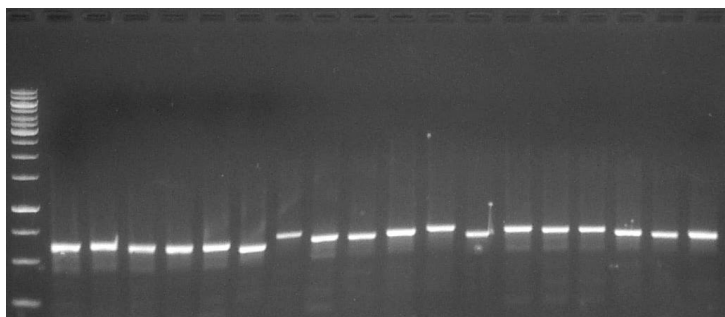


1

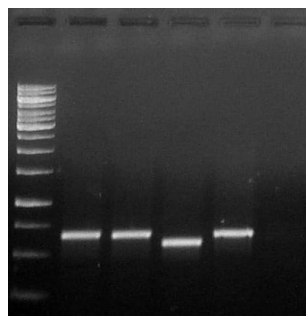


2

13-18. attēls. PCR rezultāti tīrkultūru DNS amplifikācijai ar universālajiem sēņu praimeriem (ITS4, ITS1F). Tīrkultūras Nr. 1., 5., 6., 7., 10., 11., 15., 30., 34., 37., 41., 43., 48., 50., 51., 55., 56., 59., 63., 64. Pirmā gēlā pēdējā bedrītē un otrā gēla pirmajā bedrītē ir molekulārais marķieris - GeneRuler 1kb DNA Ladder.

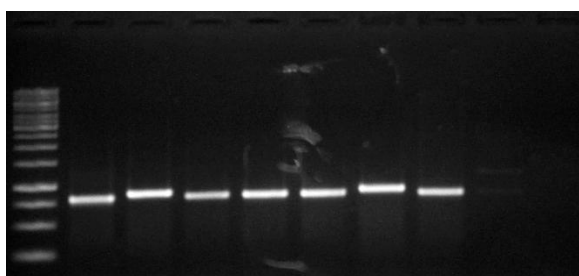


1



2

13-19. attēls. PCR rezultāti tīrkultūru DNS amplifikācijai ar universālajiem sēņu praimeriem (ITS4, ITS1F). Tīrkultūras Nr. 3., 4., 8., 13., 16., 18., 19., 22., 23., 24., 25., 38., 39., 42., 44., 49., 52., 53., 60., 62. Pirmajās bedrītēs ir molekulārais marķieris - GeneRuler 1kb DNA Ladder.



13-20. attēls. PCR rezultāti tīrkultūru DNS amplifikācijai ar *Penicillium* spp. β tubulīna praimeriem (T12, T22). Tīrkultūras Nr. 3., 4., 8., 16., 22., 39., 42. Pirmajā bedrītē ir molekulārais marķieris - GeneRuler 1kb DNA Ladder.

Sēņu tīrkultūru sekvenēšanas rezultāti ir apkopoti 3. tabulā. Ir vairākas tīrkultūras, kuru piederība pie konkrētās sēņu sugas nav pilnībā noteikta, jo NCBI datu bāzē ir

vairākas vienlīdz homologas sekvences, piemēram, tīrkultūru Nr. 8., 18. un 30. gadījumā. Dažas tīrkultūras neizdevās identificēt, jo datu bāzē esošās homologās sekvences filoģenētiski nav radniecīgas attiecīgajai sekvencai, piemēram, tīrkultūrām Nr. 24 un 56.

Starp identificētajām sēņu tīrkultūrām ir vairākas patogēnās sēnes. Piemēram, no bioloģiskajiem laukiem Nr. 1 un Nr. 2 ir izdalītas sēnes *Bionectria ochroleuca*, kas izraisa eļļas rutka sēklu puvi. Eļļas rutks tika audzēts bioloģiskajā laukā Nr. 2 2008. gadā.

No konvencionālā lauka Nr. 4 ir izdalīta sēne *Verticillium dahliae* (13-25. attēls), kas izraisa vīti daudziem augiem. No konvencionālā lauka Nr. 5 ir izdalīta sēne *Phoma eupyrena*, kas arī ir augu patogēns.

No bioloģiskā lauka Nr. 1 un konvencionālā lauka Nr. 4 ir izdalītas *Aspergillus fumigatus* izolātas (13-21. Attēls). Šī sēne var būt patogēna cilvēkiem ar novājinātu imunitāti. Dabā šī sēne ir bieži sastopama gan tīrumu augsnē, gan telpaugu augsnē (Staib et al., 1978). Tā noārda atmirušās augsnes daļas.

Tabula 13-3.

Mikroskopisko micēlijsēņu tīrkultūru sekvenēšanas rezultāti

Npk.	Tīrkultūras ģints, piezīmes par kolonijas izskatu	Suga	Līdzīgākās NCBI datu bāzes sekvences identifikācijas numurs	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident, %	Konsensus sekvences garums
1	Sterils micēlijs, sākotnēji balts, vēlāk pelēks.	<i>Penicillium canescens</i>	FJ439586.1	1051	1051	97	0	99	594
3	<i>Penicillium</i> sp. (brūngans)	<i>Penicillium commune</i>	GQ458026.1	1090	1090	100	0	99	600
		<i>Penicillium crustosum</i> (β- tubulīna gēns)	FJ012877.1	1090	1090	100	0	98	615
4	<i>Aspergillus</i> sp.(zili pelēks)	<i>Aspergillus fumigatus</i> (21. attēls)	GQ461905.1	1116	1116	99	0	99	609
		<i>Aspergillus fumigatus</i> (β- tubulīna gēns)	AY048754.1	1147	1147	100	0	99	633
5	Sterils micēlijs	<i>Bionectria ochroleuca</i>	AF106532.1	893	893	100	0	99	492
6	<i>Trichoderma</i> sp. (balts micēlijs)	<i>Trichoderma rossicum</i>	EU280089.1	1105	1105	100	0	99	614
7	<i>Trichoderma</i> sp.	<i>Trichoderma rossicum</i>	EU280089.1	1134	1134	100	0	99	628
8	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Penicillium dipodomycicola</i>	DQ339570.1	1081	1081	100	0	99	589
		<i>Penicillium griseofulvum</i>	DQ339557.1	1081	1081	100	0	99	589
		<i>Penicillium aurantiogriseum</i> (β- tubulīna gēns)	FJ012878.1	1061	1061	100	0	95	671

		<i>Penicillium expansum</i> (β -tubulīna gēns)	FJ012866.1	1061	1061	100	0	95	671
10	<i>Scopulariopsis</i> sp.	Uncultured ascomycete	EU520630.1	856	856	95	0	99	486
11	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Fusarium oxysporum</i>	EU364863.1	1011	1011	99	0	99	550
13	Sākotnēji sterils micēlijs (dzeltens)	<i>Talaromyces flavus</i> (22. attēls)	U18354.1	998	998	100	0	97	593
15	Sterils micēlijs	<i>Bionectria ochroleuca</i>	AF106532.1	1042	1042	100	0	99	569
16	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Penicillium canescens</i>	FJ439586.1	1064	1064	98	0	99	588
		<i>Penicillium crustosum</i> (β -tubulīna gēns)	FJ012877.1	760	760	100	0	92	533
		<i>Penicillium aurantiogriseum</i> (β -tubulīna gēns)	FJ012878.1	754	754	100	0	92	533
18	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	GQ458030.1	990	990	100	0	100	536
		<i>Cladosporium tenuissimum</i>	AF393724.2	990	990	100	0	100	536
		<i>Cladosporium laxicapitulatum</i>	AF393708.2	990	990	100	0	100	536
19	<i>Mucor</i> sp.	<i>Mucor hiemalis</i>	EU326196.1	1170	1170	100	0	99	636
22	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Penicillium canescens</i>	FJ439586.1	1062	1062	98	0	99	584
		<i>Penicillium aurantiogriseum</i> (β -tubulīna gēns)	FJ012878.1	761	761	100	0	91	549
		<i>Penicillium crustosum</i> (β -tubulīna gēns)	FJ012877.1	761	761	100	0	91	549
		<i>Penicillium polonicum</i> (β -tubulīna gēns)	FJ012876.1	761	761	100	0	91	549
		<i>Penicillium expansum</i> (β -	FJ012866.1	761	761	100	0	91	549

		tubulīna gēns)							
23	Sterils micēlijs (sākumā balts, vēlāk ar brūniem veidojumiem uz micēlija virsmas)	<i>Stephanonectria keithii</i>	EU273554.1	983	983	100	0	96	586
24	Sākotnēji sterils micēlijs, vēlāk sporulē (23. Attēls)	Nav homologu sekvenču. Radniecīgākā ir <i>Trichoderma hamatum</i>	GQ220703.1	893	893	100	0	98	483
25	<i>Mucor</i> sp.	<i>Amylomyces rouxii</i> (sin. <i>Rhizopus arrhizus</i> var. <i>arrhizus</i>) (24. Attēls)	AY238888.1	1134	1134	99	0	99	630
30	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Davidiella macrospora</i>	EU167591.1	1024	1024	99	0	100	557
		<i>Cladosporium macrocarpum</i>	EF679380.1	1024	1024	99	0	100	557
		<i>Cladophialophora minourae</i>	AF393716.3	1024	1024	99	0	100	557
		<i>Davidiella tassiana</i>	AF393707.2	1024	1024	99	0	100	557
		<i>Mycosphaerella macrospora</i>	AF297231.1	1024	1024	99	0	100	557
34	Sterils micēlijs	<i>Arthrimum sacchari</i>	AF393679.2	1062	1062	100	0	99	590
37	<i>Trichoderma</i> sp.	<i>Trichoderma rossicum</i>	EU280089.1	1136	1136	97	0	99	645
38	<i>Humicola</i> sp.	<i>Humicola grisea</i> var. <i>grisea</i>	AY706334.1	1005	1005	96	0	100	562
		<i>Trichocladium asperum</i>	AM292050.1	1024	1024	99	0	99	562
39	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Aspergillus fumigatus</i>	AY214448.1	911	911	100	0	100	493
		<i>Aspergillus fumigatus</i> (β-tubulīna gēns)	AY048754.1	538	538	100	6.00E-150	99	293
41	<i>Geomyces</i> sp.	<i>Talaromyces ucrainicus</i>	AY533694.1	765	1215	59	0	99	1186
42	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Penicillium</i>	AJ005488.1	1098	1098	100	0	100	594

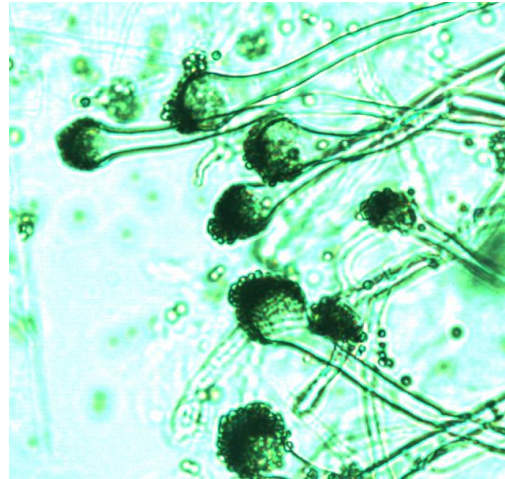
		<i>aurantiogriseum</i>							
		<i>Penicillium aurantiogriseum</i> (β -tubulīna gēns)	FJ012878.1	1055	1055	100	0	99	584
43	Sterils micēlijs (sākumā balts, vēlāk ar melniem gredzeniem)	<i>Verticillium dahliae</i> (25. attēls)	DQ282123.1	972	972	99	0	97	565
44	12. augsnes paraugs, 1. Atšķaidījums. <i>Penicillium</i> sp.	<i>Penicillium melanoconidium</i>	AJ005483.1	1083	1083	100	0	100	586
45	Sterils micēlijs (dzeltens gaisa micēlijs, kolonijas apakša melna)	<i>Trichocladium asperum</i>	AM292050.1	1011	1011	97	0	99	572
		Uncultured soil fungus	DQ420780.1	1040	1040	100	0	99	572
48	Sterils micēlijs (pelēks)	<i>Phoma eupyrena</i>	AJ890436.1	1002	1002	98	0	100	548
50	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Penicillium commune</i>	EU833216.1	1090	1090	99	0	99	597
		<i>Penicillium allii</i>	AJ005484.1	1088	1088	99	0	99	597
51	Sterils micēlijs (krēmkrāsas)	<i>Acremonium</i> sp.	AJ890439.1	970	970	99	0	99	536
52	Sterils micēlijs	Uncultured ascomycete	AY833028.1	905	905	100	0	96	548
53	Sterils micēlijs	Uncultured soil fungus	EU826895.1	1024	1024	100	0	99	560
55	Sterils micēlijs (sākumā balts, vēlāk krēmkrāsas)	<i>Acremonium</i> sp.	AJ890439.1	833	883	98	0	99	490
56	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Paecilomyces marquandii</i> ¹	AB114223.1	953	953	100	0	94	627
59	Sākumā balts micēlijs ar dzeltenu vidu, vēlāk	<i>Penicillium verruculosum</i>	AF510496.1	989	989	100	0	97	586

¹ Šī ir līdzīgākā no NCBI datu bāzē esošajām sekvencēm, bet, visticamāk, ka patiesā suga ir cita.

	zaļgandzeltens, krāso agaru tumši brūnā krāsā)								
60	Neidentificēta	<i>Paecilomyces carneus</i>	EU553305.1	990	990	100	0	98	553
62	Sterils micēlijs	<i>Paecilomyces carneus</i>	AB258369.1	1086	1086	100	0	99	600
63	Verticillium sp.	<i>Monascus purpureus</i>	DQ767592.1	979	979	96	0	97	589
64	<i>Staphylotrichum</i> sp.	<i>Geomyces destructans</i>	EU854572.1	1496	1496	97	0	98	883



a

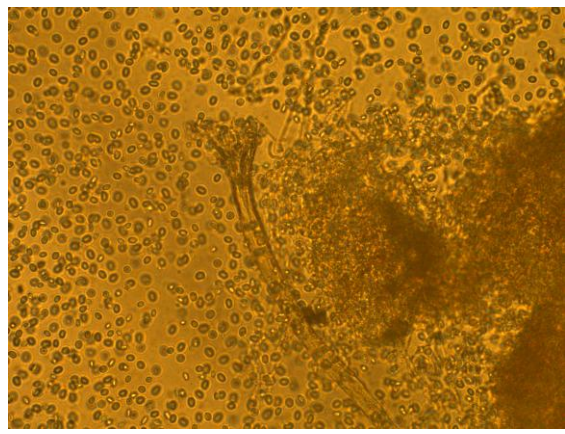


b

13-21. attēls. Tīrkultūra Nr. 4 – *Aspergillus fumigatus* kolonija uz iesala ekstrakta agara (a) un konīdijnesēji ar konīdijsporām (b)



a

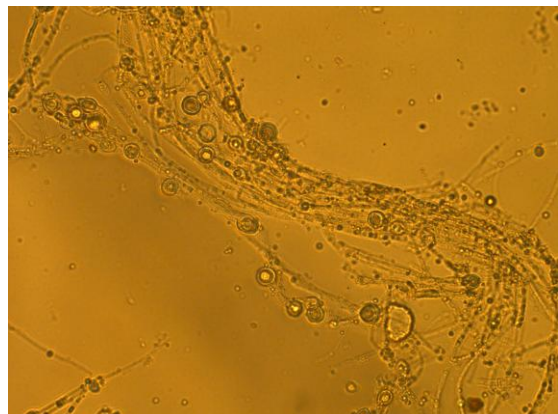


b

13-22. attēls. Tīrkultūra Nr. 13 – *Talaromyces flavus* kolonija uz iesala ekstrakta agara (a) un konīdijnesējs ar konīdijsporām (b)

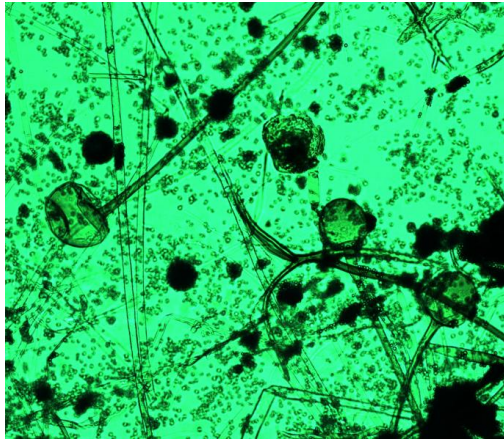


a



b

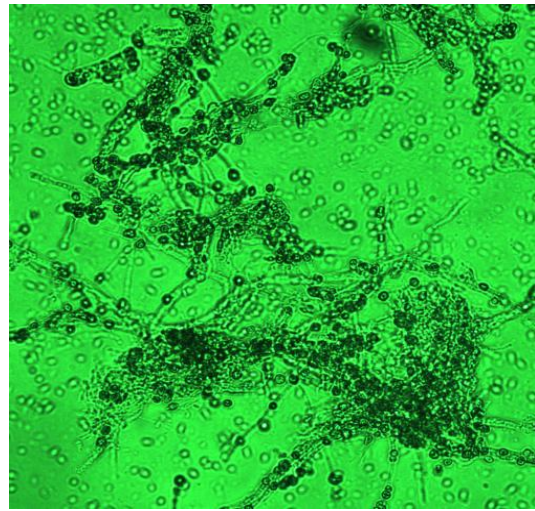
13-23. attēls. Tīrkultūra Nr. 24 – Neidentificēta. Kolonija uz iesala ekstrakta agara (a) un hifas ar sporām (b)



13-24. attēls. Tīrkultūra Nr. 25 – *Amylomyces rouxii*.



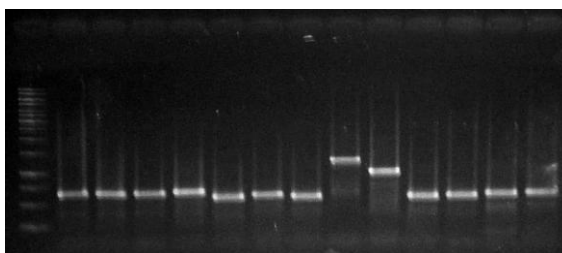
a



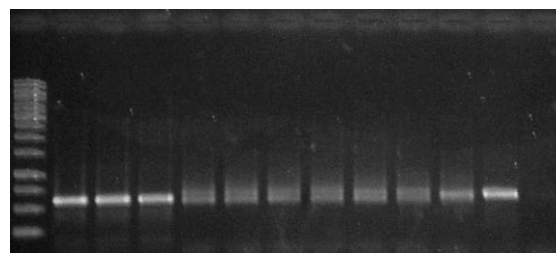
b

13-25. attēls. Tīrkultūra Nr. 43 – *Verticillium dahliae* kolonija uz iesala ekstrakta agara (a) un konīdijnesēji ar konīdijsporām (b)

Tālākajā darba gaitā tīrkultūru un augsnes paraugu DNS tika amplificēta PCR reakcijā ar universālajiem sēņu praimeriem. Amplificētie fragmenti (13-26. attēls) tika pārgulsnēti un sašķelti mazākos fragmentos ar restriktāzi *BsuRI*. Restrikcijas produkti tika vizualizēti % akrilamīda gēlā (13-27. – 13-34. attēls).

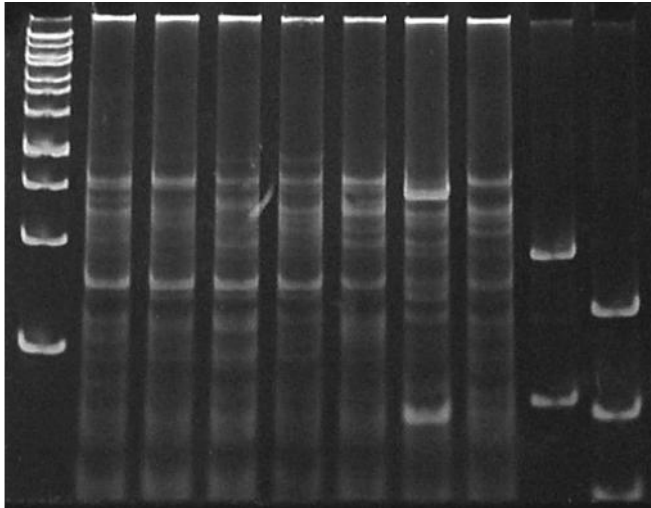


1

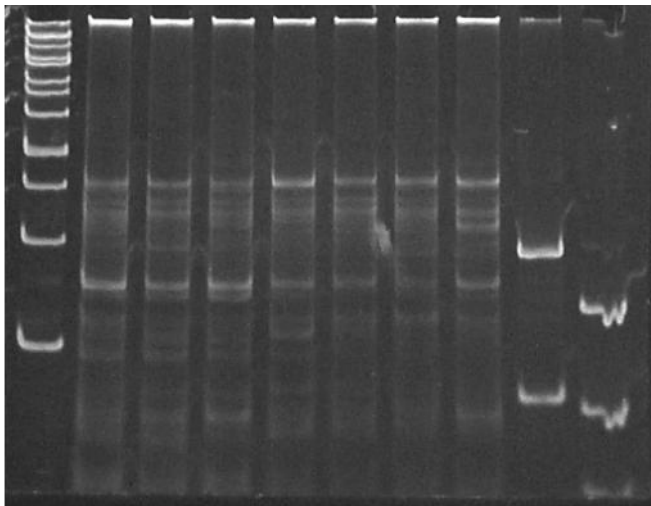


2

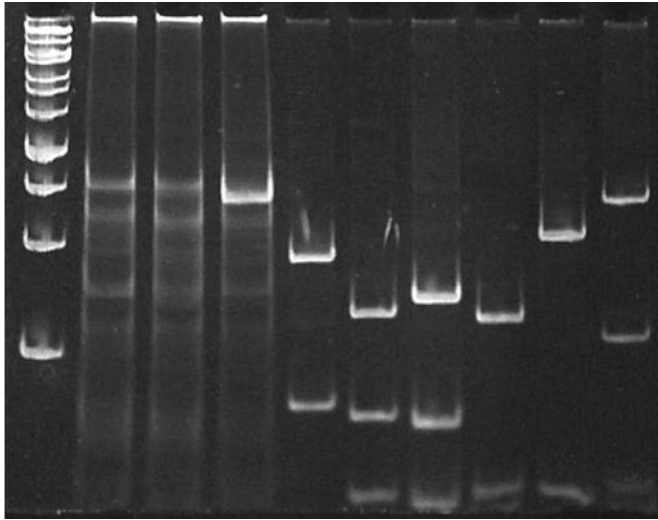
13-26. attēls. PCR reakcijas rezultāti. 1. Gēlā bedrītēs 2.-14. Un 2. Gēlā bedrītēs 2.-4. Ir tīrkultūru DNS amplifikācija. Tīrkultūras Nr. 6., 7., 37., 63., 11., 10., 30., 41., 64., 18., 38., 3., 4., 8., 16., 22. 2. Gēlā bedrītēs 5.-11. ir 2009. gada jūnija apvienoto augsnes DNS paraugu (3 paraugi no katra lauka divos atkārtojumos) amplifikācijas rezultāti. Lauku secība 1., 2., 3., 4., 5., 6., 7. 2. gēlā 12. bedrītē ir pozitīvā kontrole, 13. bedrītē– negatīvā kontrole. Pirmajās bedrītēs ir molekulārais marķieris – GeneRuler 1kb DNA Ladder.



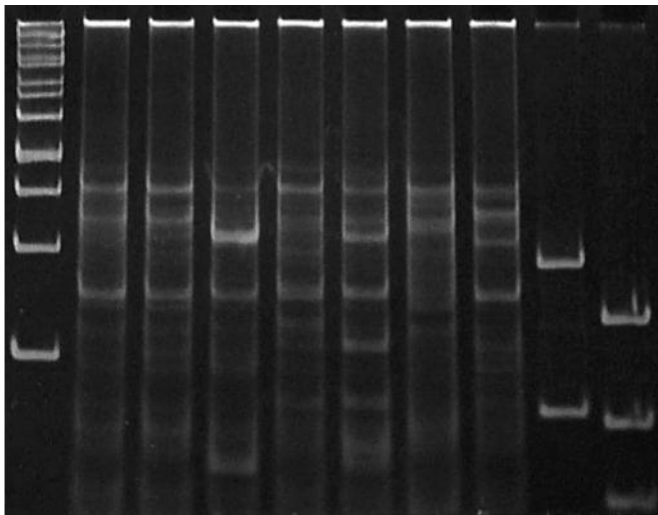
13-27. attēls. 2008. gada jūnija paraugu ARDRA rezultāti ar restriktāzi *BsuRI* 6% poliakrilamīda gēlā. Paraugi: 1. Bedrītē ir molekulārais marķieris – GeneRuler 1kb DNA Ladder. 2. Bioloģiskais lauks Nr.1. 3. Bioloģiskais lauks Nr. 2. 4. Bioloģiskais lauks Nr. 3. 5. Konvencionālais lauks Nr. 4. 6. Konvencionālais lauks Nr. 5. 7. Konvencionālais lauks Nr. 6. 8. Konvencionālais lauks Nr.7. 9. Tirkultūra Nr.37. 10. Tirkultūra Nr. 63.



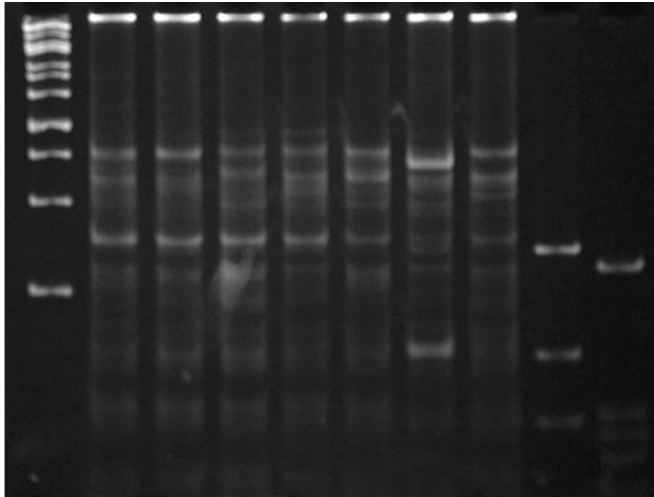
13-28. attēls. 2008. gada augusta paraugu ARDRA rezultāti ar restriktāzi *BsuRI* 6% poliakrilamīda gēlā. Paraugi: 1. Bedrītē ir molekulārais marķieris – GeneRuler 1kb DNA Ladder. 2. Bioloģiskais lauks Nr.1. 3. Bioloģiskais lauks Nr. 2. 4. Bioloģiskais lauks Nr. 3. 5. Konvencionālais lauks Nr. 4. 6. Konvencionālais lauks Nr. 5. 7. Konvencionālais lauks Nr. 6. 8. Konvencionālais lauks Nr.7. 9. Tirkultūra Nr.37. 10. Tirkultūra Nr. 63.



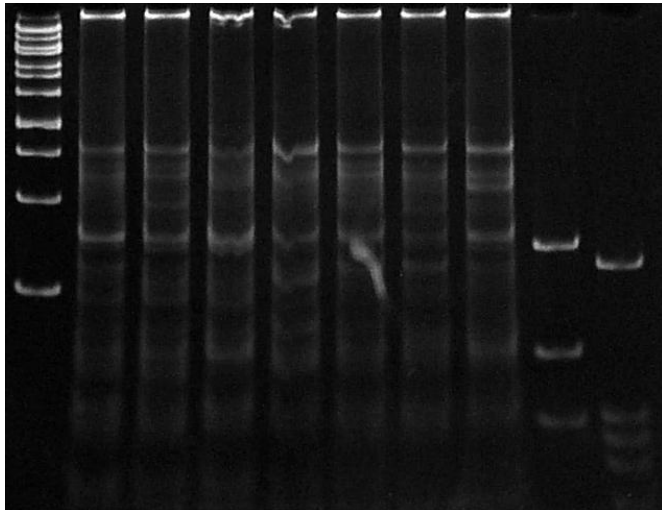
13-29. attēls. 2009. gada jūnija paraugu ARDRA rezultāti ar restriktāzi BsuRI 6% poliakrilamīda gēlā. Paraugi: 1. Bedrītē ir molekulārais marķieris – GeneRuler 1kb DNA Ladder. 2. Konvencionālais lauks Nr.5. 3. Konvencionālais lauks Nr. 6. 4. Konvencionālais lauks Nr. 7. 5. Tīrkultūra Nr. 37. 6. Tīrkultūra Nr. 63. 7. Tīrkultūra Nr. 11. 8. Tīrkultūra Nr.10. 9. Tīrkultūra Nr. 30. 10. Tīrkultūra Nr. 41.



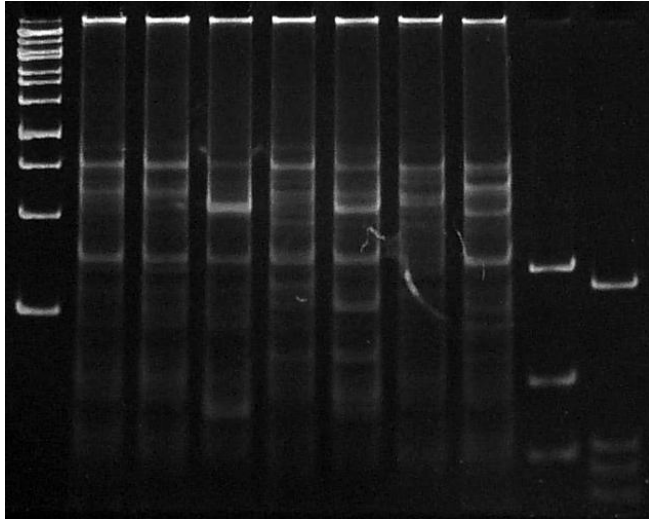
13-30. attēls. 2009. gada augusta paraugu ARDRA rezultāti ar restriktāzi BsuRI 6% poliakrilamīda gēlā. Paraugi: 1. Bedrītē ir molekulārais marķieris – GeneRuler 1kb DNA Ladder. 2. Bioloģiskais lauks Nr.1. 3. Bioloģiskais lauks Nr. 2. 4. Bioloģiskais lauks Nr. 3. 5. Konvencionālais lauks Nr. 4. 6. Konvencionālais lauks Nr. 5. 7. Konvencionālais lauks Nr. 6. 8. Konvencionālais lauks Nr.7. 9. Tīrkultūra Nr.37. 10. Tīrkultūra Nr. 63.



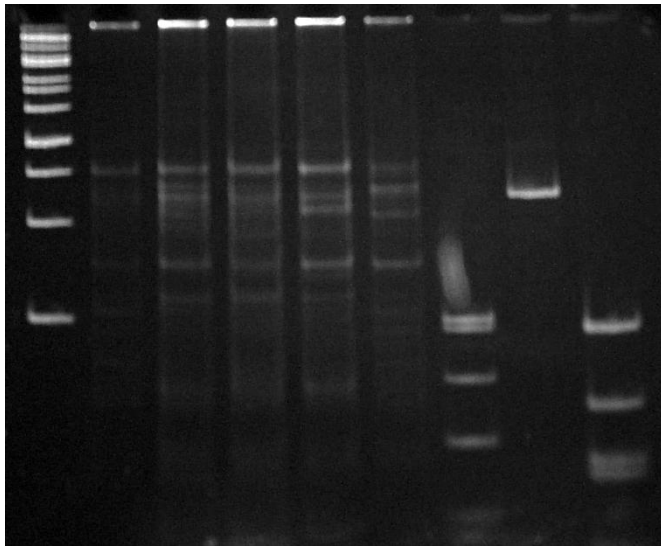
13-31. attēls. 2008. gada jūnija paraugu ARDRA rezultāti ar restriktāzi BsuRI 6% poliakrilamīda gēlā. Paraugi: 1. Bedrītē ir molekulārais marķieris – GeneRuler 1kb DNA Ladder. 2. Bioloģiskais lauks Nr.1. 3. Bioloģiskais lauks Nr. 2. 4. Bioloģiskais lauks Nr. 3. 5. Konvencionālais lauks Nr. 4. 6. Konvencionālais lauks Nr. 5. 7. Konvencionālais lauks Nr. 6. 8. Konvencionālais lauks Nr.7. 9. Tirkultura Nr.11. 10. Tirkultura Nr. 10.



13-32. attēls. 2008. gada augusta paraugu ARDRA rezultāti ar restriktāzi BsuRI 6% poliakrilamīda gēlā. Paraugi: 1. Bedrītē ir molekulārais marķieris – GeneRuler 1kb DNA Ladder. 2. Bioloģiskais lauks Nr.1. 3. Bioloģiskais lauks Nr. 2. 4. Bioloģiskais lauks Nr. 3. 5. Konvencionālais lauks Nr. 4. 6. Konvencionālais lauks Nr. 5. 7. Konvencionālais lauks Nr. 6. 8. Konvencionālais lauks Nr.7. 9. Tirkultura Nr.11. 10. Tirkultura Nr. 10



13-33. attēls. 2009. gada augusta paraugu ARDRA rezultāti ar restriktāzi *BsuRI* 6% poliakrilamīda gēlā. Paraugi: 1. Bedrītē ir molekulārais marķieris – GeneRuler 1kb DNA Ladder. 2. Bioloģiskais lauks Nr.1. 3. Bioloģiskais lauks Nr. 2. 4. Bioloģiskais lauks Nr. 3. 5. Konvencionālais lauks Nr. 4. 6. Konvencionālais lauks Nr. 5. 7. Konvencionālais lauks Nr. 6. 8. Konvencionālais lauks Nr.7. 9. Tirkultura Nr.11. 10. Tirkultura Nr. 10



13-34. attēls. Atsevišķu lauku augsnes paraugu ARDRA rezultāti ar restriktāzi *BsuRI* 6% poliakrilamīda gēlā. Paraugi: 1. Bedrītē ir molekulārais marķieris – GeneRuler 1kb DNA Ladder. 2. Konvencionālais lauks Nr.4. (08.2008.). 3. Konvencionālais lauks Nr. 5. (08.2008.). 4. Konvencionālais lauks Nr. 6. (08.2008.). 5. Konvencionālais lauks Nr. 7. (08.2008.). 6. Konvencionālais lauks Nr. 7. (08.2009.). 7. Tirkultura Nr. 64. 8. Tirkultura Nr.18. 9. Tirkultura Nr.38.

13-4. tabulā ir dota informācija par to, kuras tirkultūras kurā laukā tika konstatētas.

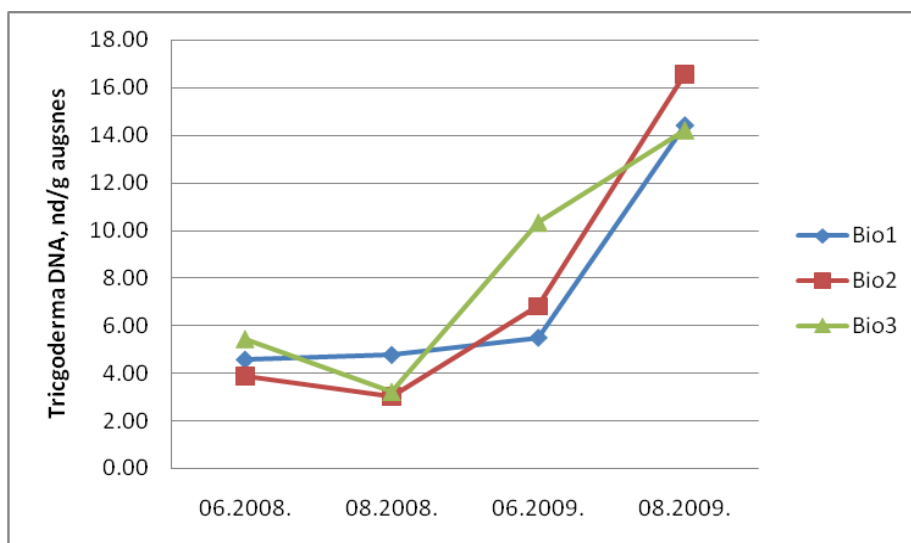
Tabula 13-4. Dominējošo sēņu grupu izmaiņu noteikšanas rezultāti

Tīrkultūras Nr.	Suga	Lauki, kuros konstatēta ar ARDRA metodi akrilamīda gēlā
3	<i>Penicillium sp.</i>	Netika konstatēta
10	<i>Scopulariopsis sp.</i>	Visos laukos 06.2008., 2. laukā (08.2009.), 4. laukā (06.2009., 08.2009.), 6. laukā (08.2008)
11	<i>Fusarium oxysporum</i>	2. laukā (06.2008., 08.2008., 06.2009.), 3. Laukā (06.2008., 08.2008.), 4. Laukā (08.2008.), 6. laukā (06.2008., 08.2008., 06.2009)
18	<i>Cladosporium sp.</i>	4., 5., 6., 7. laukā (08.2008)
30	<i>Cladosporium sp.</i>	Netika konstatēta
37	<i>Trichoderma rossicum</i>	Netika konstatēta
41	<i>Geomyces sp.</i>	Netika konstatēta
63	<i>Paecilomyces marquandii</i> (Sin. <i>Verticillium marquandii</i>)	6. laukā (06.2008.). 4. laukā (08.2008)
64	<i>Geomyces destructans</i>	Netika konstatēta

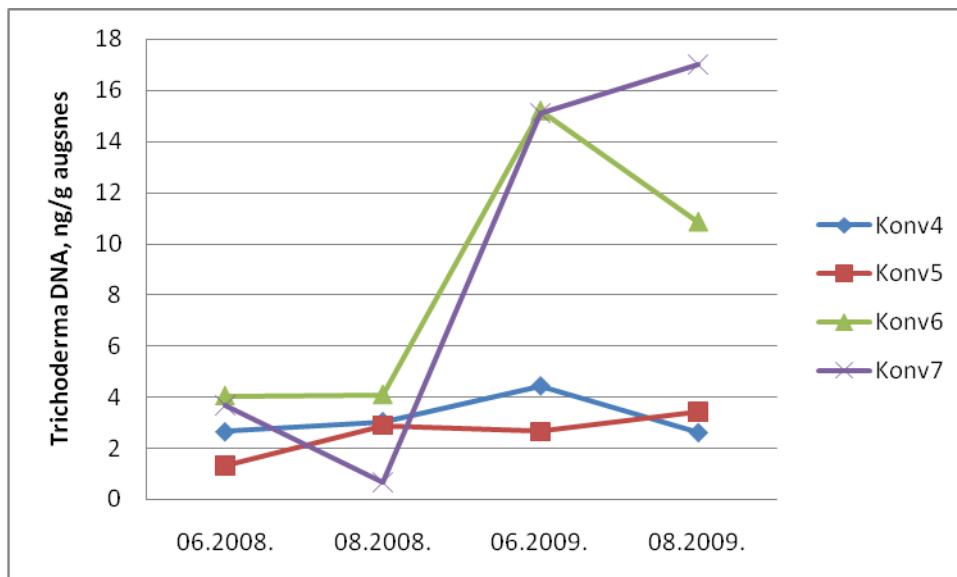
2.3. Reālā laika PCR rezultāti

Ar reālā laika PCR metodi tika noteikts *Trichoderma* ģints sēņu DNS daudzums augsnē. Iegūtie rezultāti ir apkopoti 13-35. un 13-36. attēlā. Redzams, ka visos bioloģiskajos laukos un divos konvenciālajos laukos (6 un 7) *Trichoderma* ģints sēņu DNS daudzums 2009. gada vasaras beigās ir būtiski palielinājies. Tā kā šīs izmaiņas ir notikušas lielākajā daļā analizēto lauku, tas, visticamāk, ir izskaidrojams ar klimatisko apstākļu ietekmi.

Salīdzinot bioloģiskos un konvencionālos laukus ar t-testa metodi, tika konstatēts, ka nav statistiski būtisku atšķirību starp abām lauku grupām.



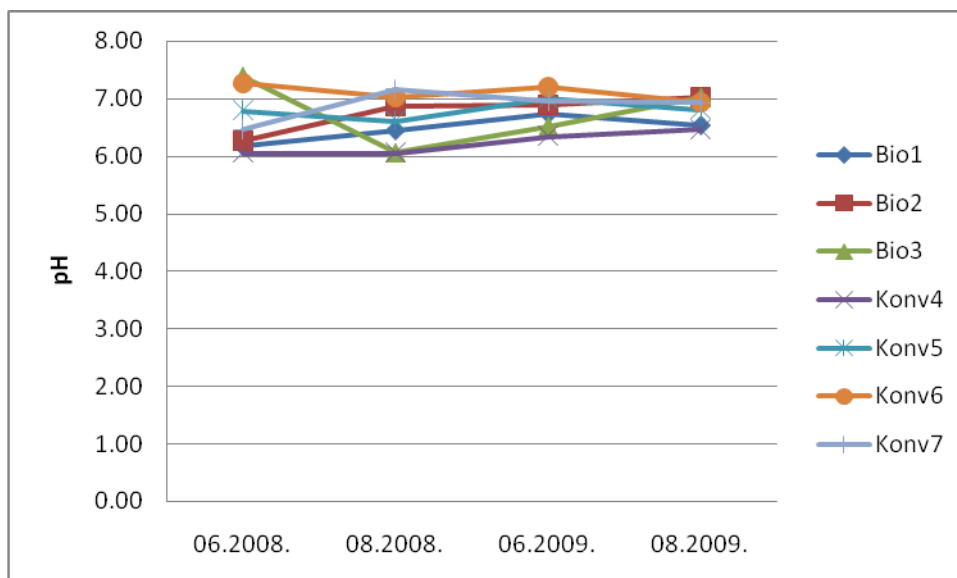
13-35. attēls. *Trichoderma* spp. DNS daudzuma izmaiņas analizētajos bioloģiskās lauksaimniecības laukos divu gadu laika posmā.



13-36. attēls. *Trichoderma* spp. DNS daudzuma izmaiņas analizētajos konvencionālās lauksaimniecības laukos divu gadu laika posmā.

2.4. Augnes paraugu pH

Informācija par augnes paraugu pH apkopota 13-37. attēlā. pH variē robežās no 6,34 (konvencionālie kartupeļi) līdz 7,20 (konvencionālās pupas). Vidējās pH vērtības bioloģiskās lauksaimniecības laukiem un konvencionālās lauksaimniecības laukiem būtiski neatšķiras – attiecīgi 6,71 un 6,88.



13-37. attēls. Augnes paraugu pH (atkārtojumu skaits no katra lauka n=1).

Secinājumi

1. Bioloģiskajos laukos tika novērota tendence, ka augsnes sēņu sabiedrības daudzveidība vasaras gaitā pieaug, ja laukā tiek iestrādāts zaļmēslojums, un samazinās, ja zaļmēslojuma iestrāde attiecīgajā gadā nenotiek. Vasaras sākumā bioloģiskajos laukos netiek novērotas būtiskas atšķirības starp sēņu daudzveidības rādītājiem.
2. Konvencionālajos laukos sēņu sabiedrību daudzveidības izmaiņas vairāk atspoguļo laika apstākļu ietekmi, nekā agrotehnisko pasākumu ietekmi. Netika novērots, ka fungicīdu izmantošana samazinātu sēņu sabiedrību daudzveidību.
3. Identificējot sēņu tīrkultūras ar molekulārās bioloģijas metodēm vairākos laukos tika konstatētas augiem patogēnās sēnes. Tomēr, ja netiek novēroti šo sēņu izraisīti bojājumi, nekādi šo sēņu apkarošanas pasākumi nav nepieciešami.
4. Lielākajā daļā no analizētajiem laukiem tika konstatēts *Trichoderma* sp. DNS daudzuma pieaugums 2009. gada vasaras beigās. To var izskaidrot ar klimatisko apstākļu ietekmi. Tā kā *Trichoderma* ģints sēnes ir augu patogēno mikroorganismu antagonisti, tad šo sēņu sastopamības pieaugums vērtējams pozitīvi.
5. Salīdzinot bioloģisko un konvencionālo lauku sēņu daudzveidības indeksus un *Trichoderma* sp. DNS daudzumu augsnē ar t-testa metodi, tika konstatēts, ka nav statistiski būtisku atšķirību starp abām lauku grupām.
6. Tā kā daudzus augsnes mikroorganismu sabiedrību raksturojošos rādītājus ietekmē klimatiskie apstākļi, kā arī agrotehniskie pasākumi, ieteicams pētījumus turpināt arī nākamajā gadā.
7. Sekmīgi ieviesta reālā laika PCR metode noteiktu sēņu grupu DNS kvantificēšanai augsnes paraugos, kā arī DNS sekvenču analīzes metode mikroorganismu tīrkultūru noteikšanai.

Izmantotā literatūra

1. F. Staib, B. Tompak, D. Thiel and A. Blisse. 1978. *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus niger* in two potted ornamental plants, cactus (*Epiphyllum truncatum*) and clivia (*Clivia miniata*). Biological and epidemiological aspects. *Mycopathologia* vol. 66, 1-2: 27-30
2. Wang, M.-C., Liu, Y.-H., Wang, Q., Gong, M., Hua, X.-M., Pang, Y.-J., Hu, S., Yang, Y.-H. 2008. Impacts of methamidophos on the biochemical, catabolic, and genetic characteristics of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* 40:778–788

Cita informācija

2008. gadā un 2009. gadā iegūtie rezultāti ir prezentēti sekojošās zinātniskajās konferencēs:

- 1) Piektā starptautiskā konference par Baltijas reģiona bioloģiskās daudzveidības izpēti un aizsardzību (22.04.2009.-24.04.2009.), Daugavpils, Latvija. Mutiska prezentācija "Microbial diversity in fields of conventional and biological agriculture", autori L. Grantiņa, K. Kēnigvalde, D. Eze, Z. Petriņa, V. Nikolajeva and N. Rostoks;
- 2) FEMS 2009 Trešais Eiropas Mikrobiologu kongress, Gēteborga, Zviedrija (28.06.2009. – 02.07.2009.) Stenda referāts „Microbial diversity in soils of different fields of conventional and biological agriculture”, autori - Grantiņa L., Kēnigvalde K., Eze D., Petriņa Z., Skrabule I., Rostoks N., Nikolajeva V.
- 3) 2. Centrāleiropas Mikrobiologu forums, Keszthely, Ungārija (06.10.2009. – 10.10.2009.). Mutiskais referāts – „Microbial diversity in fields of conventional and organic agriculture – results of two years long investigations”, L. Grantina (prezentējošā autore), K. Kenigvalde, D. Eze, Z. Petrina, I. Skrabule, N. Rostoks and V. Nikolajeva.

Pielikums Nr. 14. 2008.-2009. gada augsnes mikrobioloģisko analīžu apkopojums

Bioloģiskajā A lauka augsnē 2007. gadā audzēja āboliņu, 2008. – kartupeļus, bet 2009. – zirņus zaļmēslojumam. 14-1. attēlā redzams, ka sēņu un baktēriju kopskaits, kā arī atsevišķi izdalīto grupu baktēriju (maltozi izmantojošo un aktinomicētu) daudzums (kvv/g) divu gadu laikā ir mainījies. Vairākos gadījumos izmaiņas ir statistiski ticamas ($p < 0,05$; 14-1. tabula). Visvairāk izmainījās sēnes – to daudzums atšķīrās katrā no četrām reizēm. 2009. gadā visu laiku to bija vairāk nekā 2008. gadā, un 2009. gada vasaras laikā to daudzums palielinājās. 14-2. un 14-3. attēls raksturo dominējošo sēņu un to īpatsvara dinamiku A augsnē. Maltozi izmantojošo baktēriju daudzums palielinājās 2009. gada augustā salīdzinājumā ar 2008. gada augustu un 2009. gada jūniju. Arī aktinomicētu daudzums un baktēriju kopskaits bija vislielākais 2009. gada augustā.

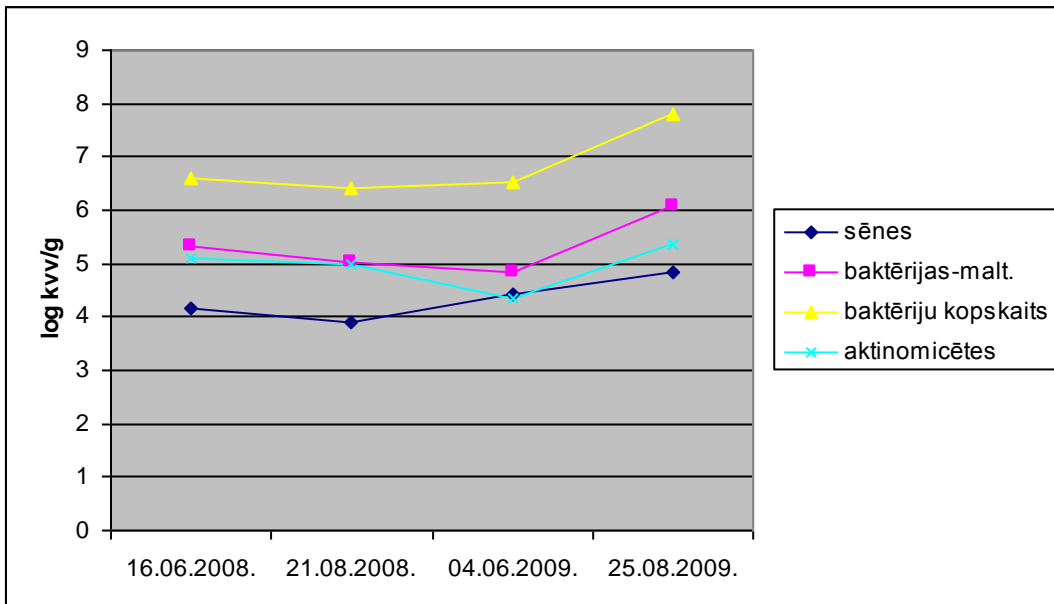
Tabula 14-1. Sēņu un baktēriju kvv/ g mitras augsnes A laukā

Analīzes numurs - datums	Sēnes ^{a,c}	Baktērijas ^{a,c}	Baktērijas ^{b,c}	
			kopskaits	aktinomicētes
1 - 16.06.2008.	$(1,5 \pm 0,4) \times 10^4$ 2, 3, 4	$(2,2 \pm 1,5) \times 10^5$	$(3,9 \pm 1,1) \times 10^6$ 4	$(1,3 \pm 0,5) \times 10^5$ 4
2 - 21.08.2008.	$(7,7 \pm 1,6) \times 10^3$ 1, 3, 4	$(1,1 \pm 0,3) \times 10^5$ 4	$(2,7 \pm 0,8) \times 10^6$ 4	$< 1 \times 10^5$ 4
3 - 04.06.2009.	$(2,7 \pm 0,6) \times 10^4$ 1, 2, 4	$(7,1 \pm 0,4) \times 10^4$ 4	$(3,5 \pm 2,6) \times 10^6$	$(2,3 \pm 0,5) \times 10^4$ 4
4 - 25.08.2009.	$(6,7 \pm 1,9) \times 10^4$ 1, 2, 3	$(1,2 \pm 1,0) \times 10^6$ 2, 3	$(6,2 \pm 4,4) \times 10^7$ 1, 2	$(2,3 \pm 0,3) \times 10^5$ 1, 2, 3

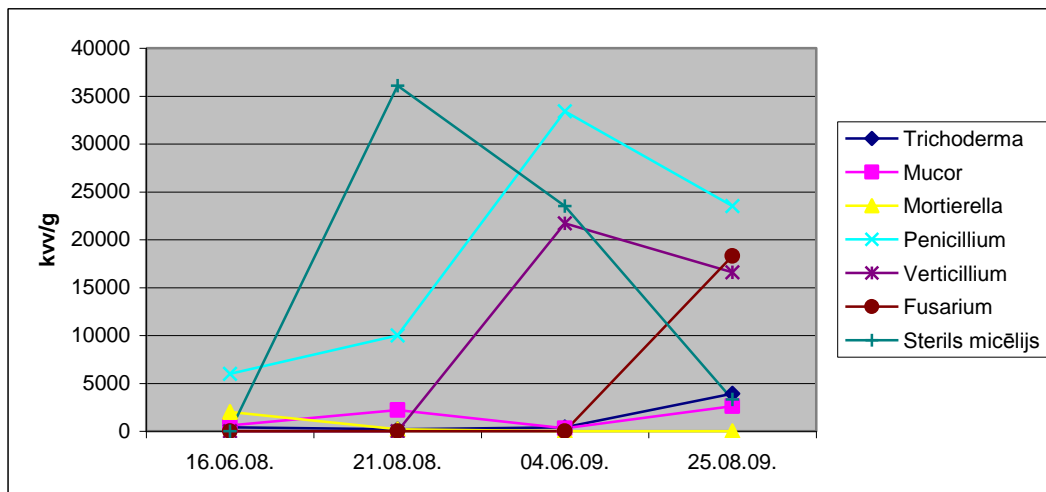
^a Kultivētas iesala agara barotnē.

^b Kultivētas rauga ekstrakta-peptona agara barotnē. Atsevišķā grupā iedalītas aktinomicētes.

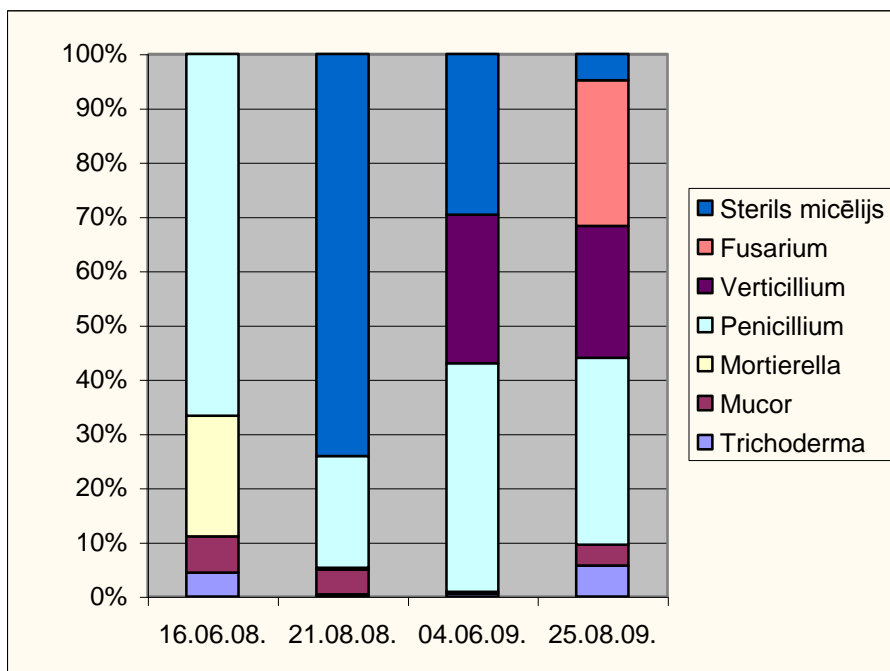
^c Ar numuriem atzīmēti analīžu numuri, ar kuriem dotajai grupai ir būtiskas atšķirības ($p < 0,05$).



14-1. attēls. Mikroorganismu populāciju dinamika A augsnē.



14-2.attēls. Dominējošo sēņu dinamika A augsnē.



14-3. attēls. Dominējošo sēņu īpatsvara dinamika A augsnē.

Bioloģiskajā B lauka augsnē 2007. gadā kartupeļus, 2008. gadā – krustziežus (eļļas rutku, rapsi) zaļmēslojumam, bet 2009. gadā – miežus. 14-5. attēlā redzams, ka mikroorganismu grupu daudzums (kvv/g) divu gadu laikā ir mainījies. Vairākos gadījumos izmaiņas ir statistiski ticamas ($p < 0,05$; 14-2. tabula). Sēņu un maltozi izmantojošo baktēriju daudzums ir nepārtraukti pieaudzis, sevišķi 2009. gadā. Baktēriju kopskaits samazinājās 2008. gada vasaras periodā, bet pēc tam turpināja pieaugt, 2009. gada augustā pārsniedzot 2008. gada jūnija skaitu. Aktinomicētu daudzums būtiski atšķīrās tikai 2008. gada jūnijā un 2009. gada augustā – tas bija 1,8 reizes palielinājies. 14-5. un 14-6. attēls raksturo dominējošo sēņu un to īpatsvara dinamiku B augsnē.

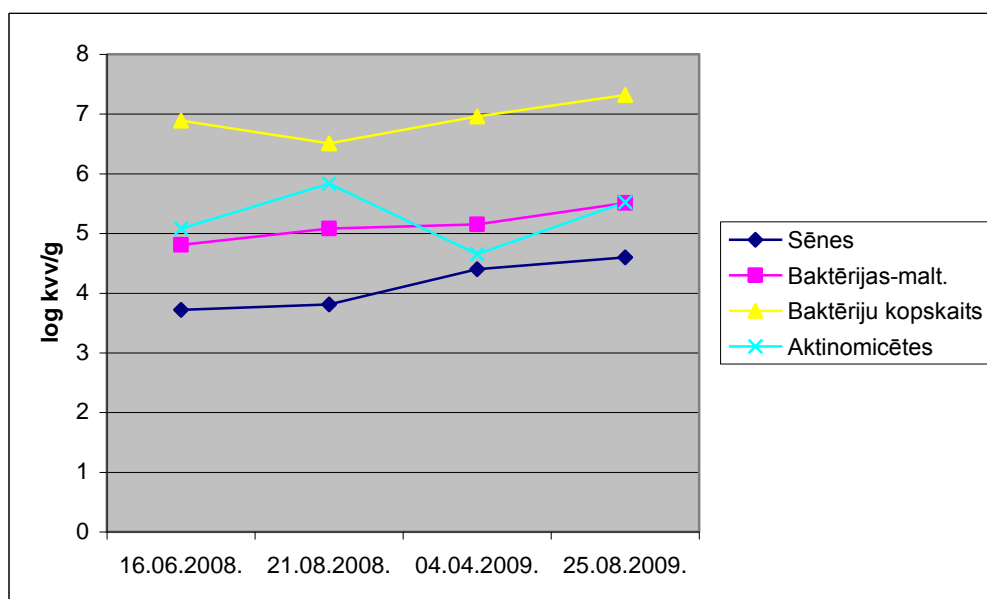
Tabula 14-2. Sēņu un baktēriju kvv/ g mitras augsnes B laukā

Analīzes numurs - datums	Sēnes ^{a,c}	Baktērijas ^{a,c}	Baktērijas ^{b,c}	
			kopskaits	aktinomicētes
1 - 16.06.2008.	$(5,3\pm 2,9)\times 10^3$ 3, 4	$(6,4\pm 3,3)\times 10^4$ 3, 4	$(7,8\pm 2,6)\times 10^6$ 2,4	$(1,2\pm 0,6)\times 10^5$ 4
2 - 21.08.2008.	$(6,5\pm 2,7)\times 10^3$ 3, 4	$(1,2\pm 0,7)\times 10^5$ 4	$(3,2\pm 0,8)\times 10^6$ 1, 3, 4	$(6,8\pm 6,8)\times 10^5$
3 - 04.06.2009.	$(2,5\pm 0,7)\times 10^4$ 1, 2	$(1,4\pm 0,1)\times 10^5$ 1, 4	$(9,2\pm 0,2)\times 10^6$ 2, 4	$(4,5\pm 3,9)\times 10^4$
4 - 25.08.2009.	$(4,0\pm 1,1)\times 10^4$ 1, 2	$(3,2\pm 0,5)\times 10^5$ 1, 2, 3	$(2,1\pm 1,1)\times 10^7$ 1, 2, 3	$(3,3\pm 0,2)\times 10^5$ 1

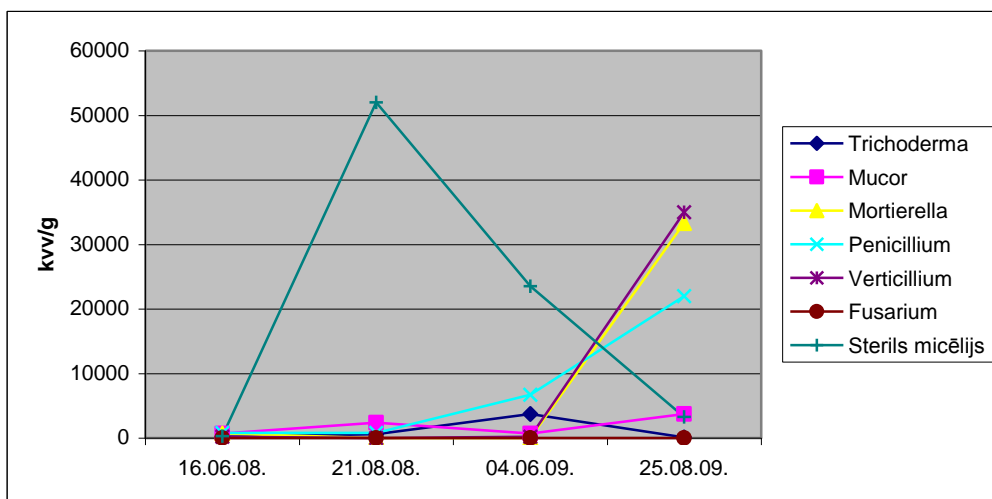
^a Kultivētas iesala agara barotnē.

^b Kultivētas rauga ekstrakta-peptona agara barotnē. Atsevišķā grupā iedalītas aktinomicētes.

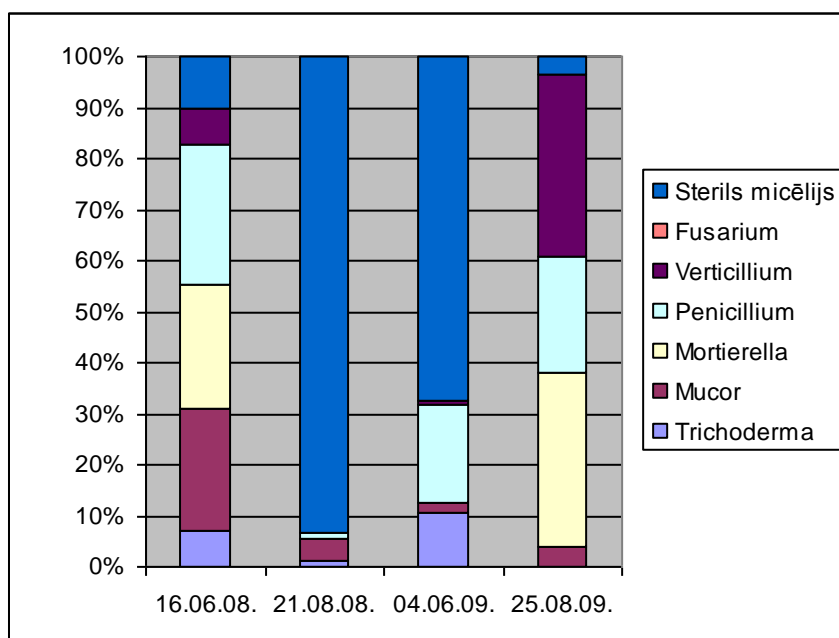
^c Ar numuriem atzīmēti analīžu numuri, ar kuriem dotajai grupai ir būtiskas atšķirības ($p < 0,05$).



14-4. attēls. Mikroorganismu populāciju dinamika B augsnē.



14-5.attēls. Dominējošo sēņu dinamika B augsnē.



14-6. attēls. Dominējošo sēņu īpatsvara dinamika B augsnē.

Bioloģiskajā C lauka augsnē 2007. un 2008. gadā audzēja ziemas rudzus, bet 2009. gadā – kartupeļus. 12-7. attēlā redzams, ka mikroorganismu grupu daudzums (kvv/g) divu gadu laikā ir mainījies. Vairākos gadījumos izmaiņas ir statistiski ticamas ($p < 0,05$; 12-3. tabula). Samazināts sēņu daudzums bija 2008. gada augustā. Abu gadu laikā lēnām pieauga maltozi izmantojošo baktēriju daudzums. Baktēriju kopskaits svārstījās. Aktinomicētu daudzums samazinājās no 2008. gada jūnija līdz 2009. gada jūnijam, bet pēc tam ievērojami pieauga, pārsniedzot 2008. gada jūnija

daudzumu. 12-8. un 12-9. attēls raksturo dominējošo sēņu un to īpatsvara dinamiku C augsnē.

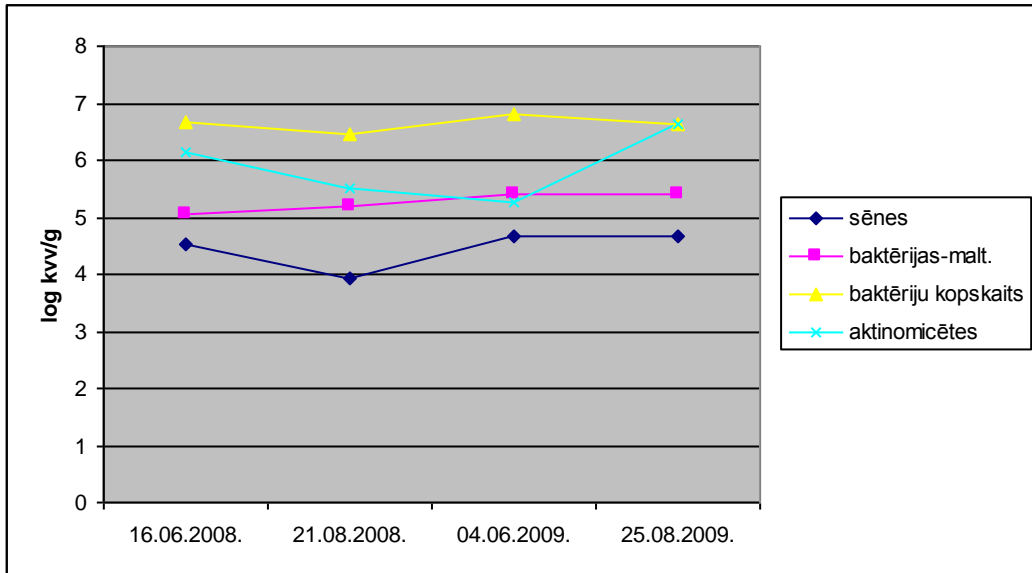
Tabula 14-3. Sēņu un baktēriju kvv/ g mitras augsnes C laukā

Analīzes numurs - datums	Sēnes ^{a,c}	Baktērijas ^{a,c}	Baktērijas ^{b,c}	
			kopskaits	aktinomicētes
1 - 16.06.2008.	$(3,2\pm 0,4)\times 10^4$ 2	$(1,1\pm 0,1)\times 10^5$ 3, 4	$(4,6\pm 1,1)\times 10^6$ 2	$(1,4\pm 0,8)\times 10^6$ 3, 4
2 - 21.08.2008.	$(8,5\pm 5,7)\times 10^3$ 1, 3, 4	$(1,6\pm 0,5)\times 10^5$ 3	$(2,8\pm 0,8)\times 10^6$ 1, 3, 4	$(3,3\pm 2,3)\times 10^5$ 4
3 - 04.06.2009.	$(4,6\pm 2,0)\times 10^4$ 2	$(2,6\pm 0,3)\times 10^5$ 1, 2	$(6,5\pm 1,4)\times 10^6$ 2, 4	$(1,9\pm 0,3)\times 10^5$ 1, 4
4 - 25.08.2009.	$(4,6\pm 3,0)\times 10^4$ 2	$(2,5\pm 0,4)\times 10^5$ 1	$(4,2\pm 0,3)\times 10^6$ 2, 3	$(4,2\pm 0,3)\times 10^6$ 1, 2, 3

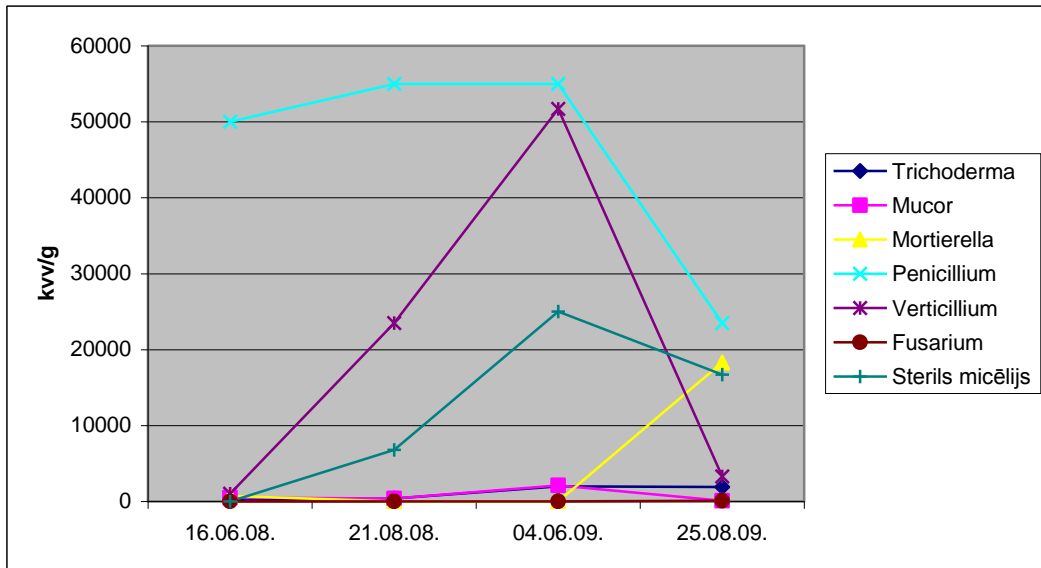
^a Kultivētas iesala agara barotnē.

^b Kultivētas rauga ekstrakta-peptona agara barotnē. Atsevišķā grupā iedalītas aktinomicētes.

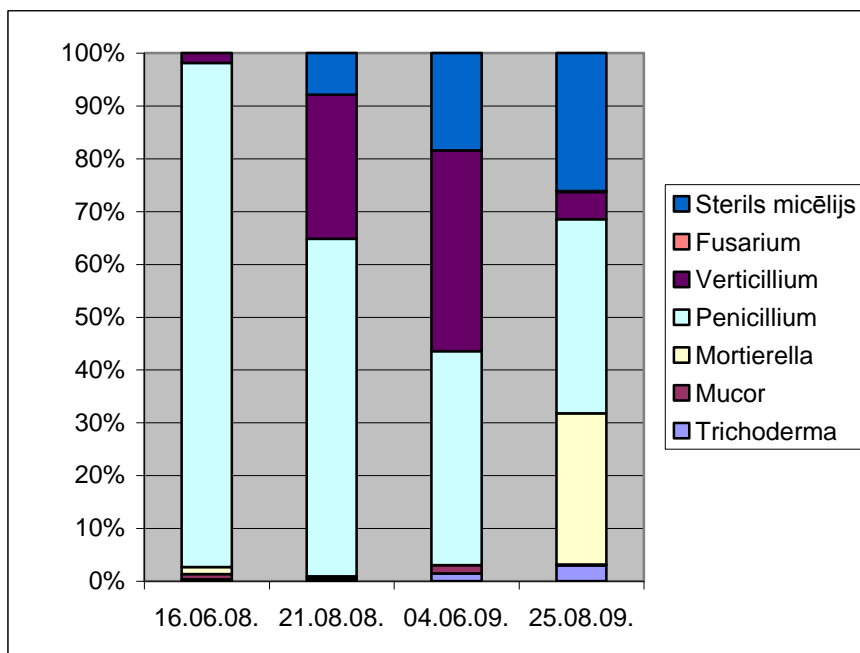
^c Ar numuriem atzīmēti analīžu numuri, ar kuriem dotajai grupai ir būtiskas atšķirības ($p < 0,05$).



14-7. attēls. Mikroorganismu populāciju dinamika C augsnē.



14-8. attēls. Dominējošo sēņu dinamika C augsnē.



14-9. attēls. Dominējošo sēņu īpatsvara dinamika C augsnē.

Konvencionālajā D lauka augsnē 2007. gadā audzēja ziemas rudzus, 2008. gadā – kartupeļus, bet 2009. gadā – miežus. Tika veikta apstrāde ar herbicīdiem (10.06.2008. Zenkors, 09.06.2009. Sekators) un fungicīdiem (02.07.2009. Ridomil, 15.07.2008. Gloria). 12-10. attēlā redzams, ka mikroorganismu grupu daudzums (kvv/g) divu gadu laikā ir mainījies. Vairākos gadījumos izmaiņas ir statistiski ticamas ($p < 0,05$; 12-4. tabula). Sēņu daudzums 2008. gada jūnijā bija 4,0-8,6 reizes mazāks nekā vēlāk. Maltozi izmantojošo baktēriju daudzums lēnām, bet nepārtraukti pieauga. Baktēriju kopskaits nepārtraukti palielinājās, kopumā 1,6 reizes, tomēr atšķirības nebija statistiski ticamas. Aktinomicētu daudzums bija samazināts 2008. gada augustā un 2009. gada jūnijā. 12-11. un 12-12. attēls raksturo dominējošo sēņu un to īpatsvara dinamiku D augsnē.

Tabula 14-4. Sēņu un baktēriju kvv/ g mitras augsnes D laukā

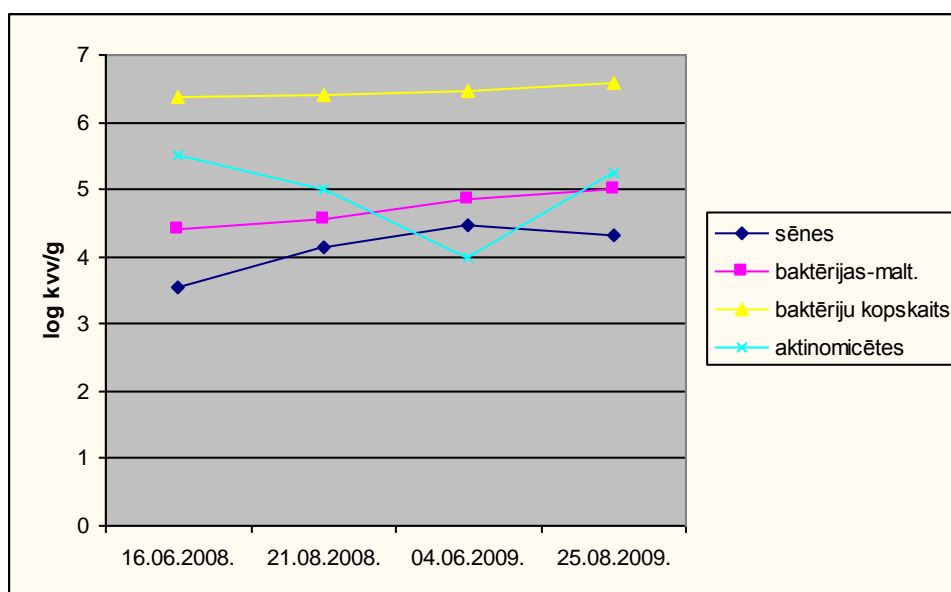
Analīzes numurs - datums	Sēnes ^{a,c}	Baktērijas ^{a,c}	Baktērijas ^{b,c}	
			kopskaits	aktinomicētes
1 - 16.06.2008.	$(3,5 \pm 1,1) \times 10^3$	$(2,6 \pm 1,1) \times 10^4$	$(2,4 \pm 1,0) \times 10^6$	$(3,2 \pm 1,0) \times 10^5$
	2, 3, 4	3, 4		2, 3

2 - 21.08.2008.	$(1,4 \pm 0,5) \times 10^4$ 1	$(3,7 \pm 2,1) \times 10^4$ 4	$(2,6 \pm 0,5) \times 10^6$	$< 1 \times 10^5$ 1
3 - 04.06.2009.	$(3,0 \pm 1,1) \times 10^4$ 1	$(7,0 \pm 2,0) \times 10^4$ 1	$(2,8 \pm 0,3) \times 10^6$	$< 1,0 \times 10^4$ 1
4 - 25.08.2009.	$(2,1 \pm 1,0) \times 10^4$ 1	$(1,0 \pm 0,2) \times 10^5$ 1, 2	$(3,9 \pm 1,4) \times 10^6$	$(1,7 \pm 1,6) \times 10^5$

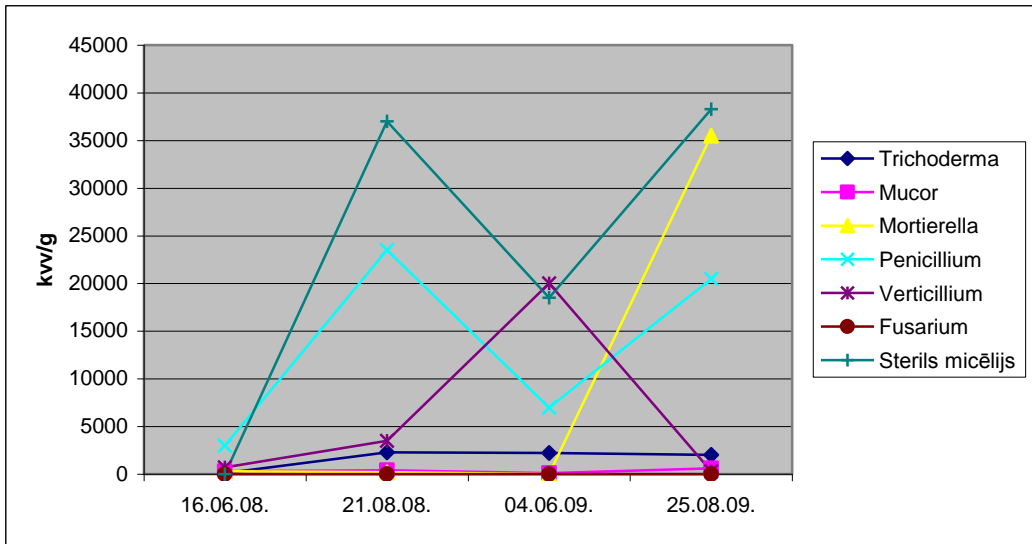
^a Kultivētas iesala agara barotnē.

^b Kultivētas rauga ekstrakta-peptona agara barotnē. Atsevišķā grupā iedalītas aktinomicētes.

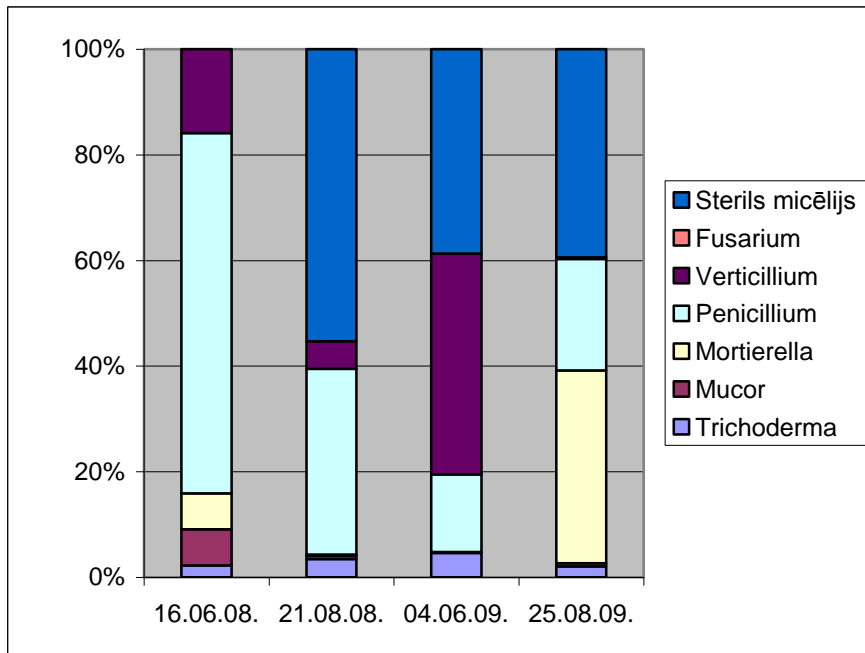
^c Ar numuriem atzīmēti analīžu numuri, ar kuriem dotajai grupai ir būtiskas atšķirības ($p < 0,05$).



14-10. attēls. Mikroorganismu populāciju dinamika D augsnē.



14-11. attēls. Dominējošo sēņu dinamika D augsnē.



14-12. attēls. Dominējošo sēņu īpatsvara dinamika D augsnē.

Konvencionālajā E laika augsnē 2007. gadā audzēja āboliņu, 2008. gadā – ziemas rudzus, bet 2009. gadā – kartupeļus. Tika veikta apstrāde ar herbicīdiem (25.04.2008. Granstars Preiss, 18.06.2009, Mistrals, 26.06.2009. Pantera), insekticīdiem (18.06.2009. Fastaks) un fungicīdiem (26.06.2009. Ridomils, 10.07.2009, Gloria, 21.07.2009. Penkocebs). 14-13. attēlā redzams, ka mikroorganismu grupu daudzums (kvv/g) divu gadu laikā ir mainījies. Vairākos gadījumos izmaiņas ir statistiski ticamas ($p < 0,05$; 5. tabula). Sēņu daudzums lēnām palielinājās. Maltozi izmantojošo baktēriju daudzums svārstījās pa gadalaikiem. Aktinomicētu daudzums bija samazināts 2008. gada augustā un 2009. gada jūnijā. 14-14. un 14-15. attēls raksturo dominējošo sēņu un to īpatsvara dinamiku E augsnē.

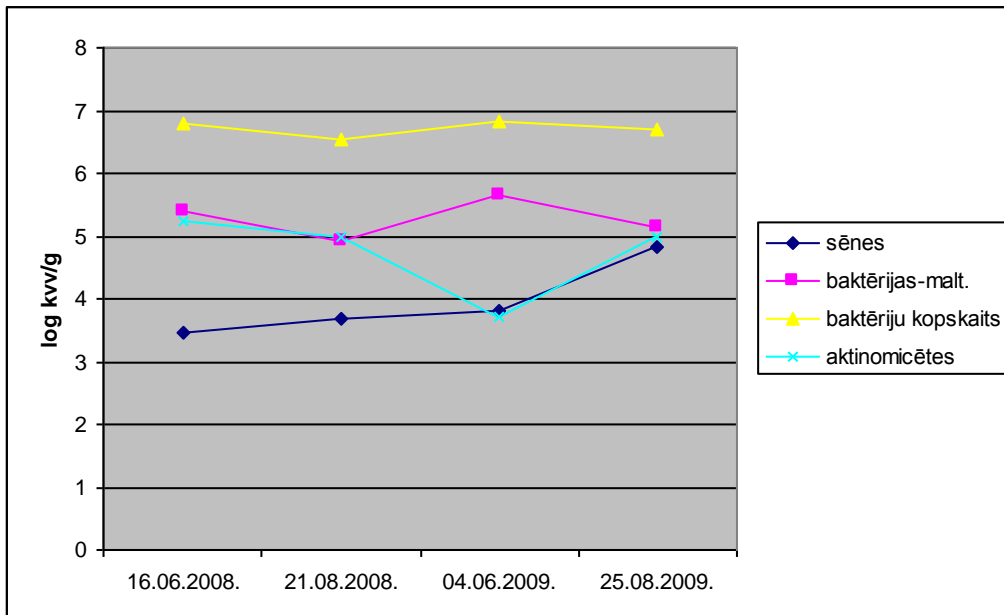
Tabula 14-5. Sēņu un baktēriju kvv/ g mitras augsnes E laukā

Analīzes numurs - datums	Sēnes ^{a,c}	Baktērijas ^{a,c}	Baktērijas ^{b,c}	
			kopskaits	aktinomicētes
1 - 16.06.2008.	$(2,8 \pm 0,5) \times 10^3$ 2, 3	$(2,6 \pm 1,2) \times 10^5$ 2	$(6,2 \pm 1,1) \times 10^6$ 2	$(1,7 \pm 0,9) \times 10^5$
2 - 21.08.2008.	$(4,8 \pm 1,4) \times 10^3$ 1	$(8,6 \pm 2,5) \times 10^4$ 1, 3	$(3,4 \pm 0,3) \times 10^6$ 1, 3	$< 1 \times 10^5$
3 - 04.06.2009.	$(6,5 \pm 0,5) \times 10^3$ 1	$(4,6 \pm 0,8) \times 10^5$ 2, 4	$(6,6 \pm 0,7) \times 10^6$ 2	$(0,5 \pm 0,5) \times 10^4$ 4
4 - 25.08.2009.	$(6,8 \pm 6,6) \times 10^4$	$(1,4 \pm 0,7) \times 10^5$ 3	$(5,1 \pm 2,0) \times 10^6$	$(1,0 \pm 0,7) \times 10^5$ 3

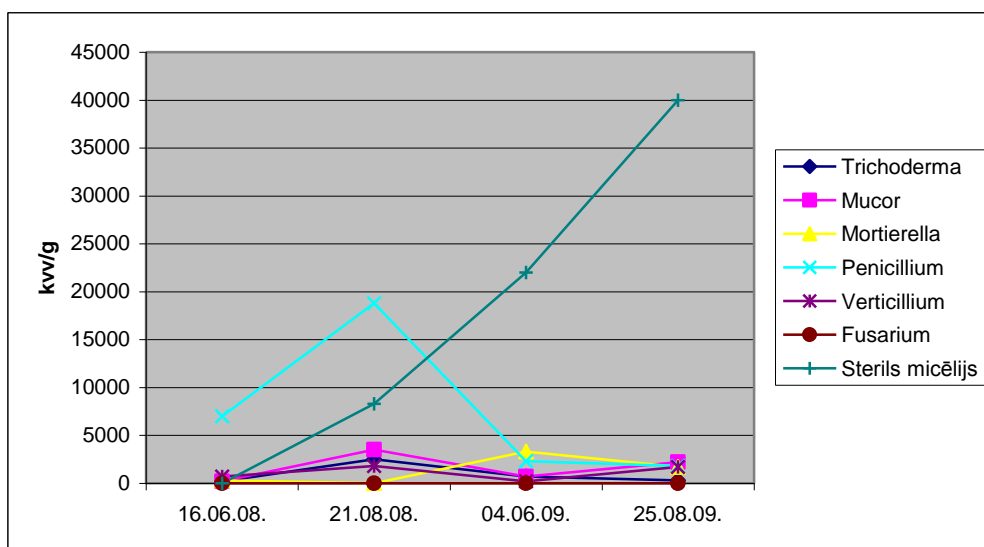
^a Kultivētas iesala agara barotnē.

^b Kultivētas rauga ekstrakta-peptona agara barotnē. Atsevišķā grupā iedalītas aktinomicētes.

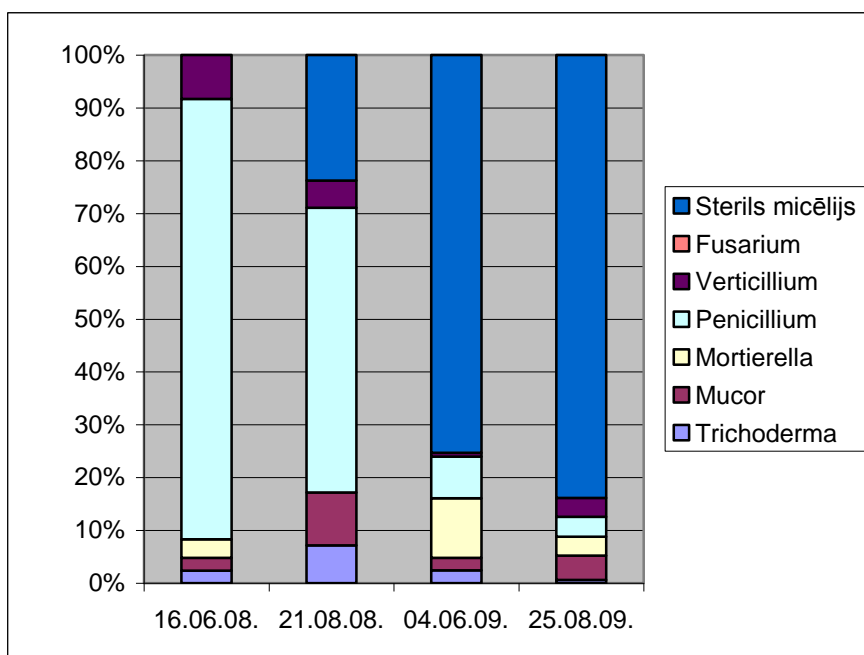
^c Ar numuriem atzīmēti analīžu numuri, ar kuriem dotajai grupai ir būtiskas atšķirības ($p < 0,05$).



14-13. attēls. Mikroorganismu populāciju dinamika E augsnē.



14-14. attēls. Dominējošo sēņu dinamika E augsnē.



14-15. attēls. Dominējošo sēņu īpatsvara dinamika E augsnē.

Konvencionālajā F laika augsnē 2007. gadā audzēja viengadīgo aireni, 2008. gadā – miežu-zirņu mistru, bet 2009. gadā – pupas. Tika veikta apstrāde ar herbicīdiem (2008.g. jūnija sākumā Bazagrāns un Stomps, 28.05.2009. Bazagrāns un Stomps). 14-16. attēlā redzams, ka mikroorganismu grupu daudzums (kvv/g) divu gadu laikā ir mainījies. Vairākos gadījumos izmaiņas ir statistiski ticamas ($p < 0,05$; 6. tabula). Sēņu daudzums palielinājās 2009. gada laikā. Arī maltozi izmantojošo baktēriju daudzums un baktēriju kopskaits pēc 2008. gada augusta lēnām palielinājās. Aktinomicētu daudzums bija samazināts 2008. gada augustā un 2009. gada jūnijā. 14-17. un 14-18. attēls raksturo dominējošo sēņu un to īpatsvara dinamiku F augsnē.

Tabula 14-6. Sēņu un baktēriju kvv/ g mitras augsnes F laukā

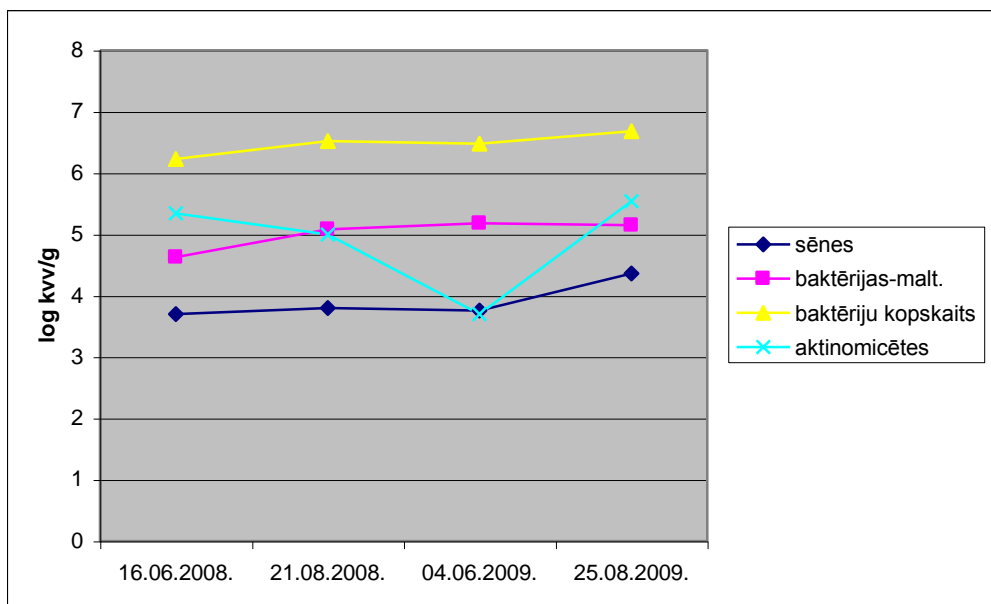
Analīzes numurs - datums	Sēnes ^{a,c}	Baktērijas ^{a,c}	Baktērijas ^{b,c}	
			kopskaits	aktinomicētes
1 - 16.06.2008.	$(5,0 \pm 0,4) \times 10^3$ 3, 4	$(4,3 \pm 1,6) \times 10^4$ 2, 3, 4	$(1,7 \pm 0,8) \times 10^6$ 2, 3	$(2,2 \pm 0,2) \times 10^5$ 2, 3
2 - 21.08.2008.	$(6,3 \pm 4,0) \times 10^3$	$(1,2 \pm 0,5) \times 10^5$ 1	$(3,3 \pm 0,4) \times 10^6$ 1	$< 1 \times 10^5$ 1, 4

3 - 04.06.2009.	$(5,8 \pm 0,3) \times 10^3$ 1	$(1,5 \pm 0,1) \times 10^5$ 1	$(3,0 \pm 0,3) \times 10^6$ 1	$(0,5 \pm 0,5) \times 10^4$ 1, 4
4 - 25.08.2009.	$(2,3 \pm 1,3) \times 10^4$ 1	$(1,4 \pm 0,3) \times 10^5$ 1	$(4,8 \pm 2,3) \times 10^6$	$(3,5 \pm 2,1) \times 10^5$ 2, 3

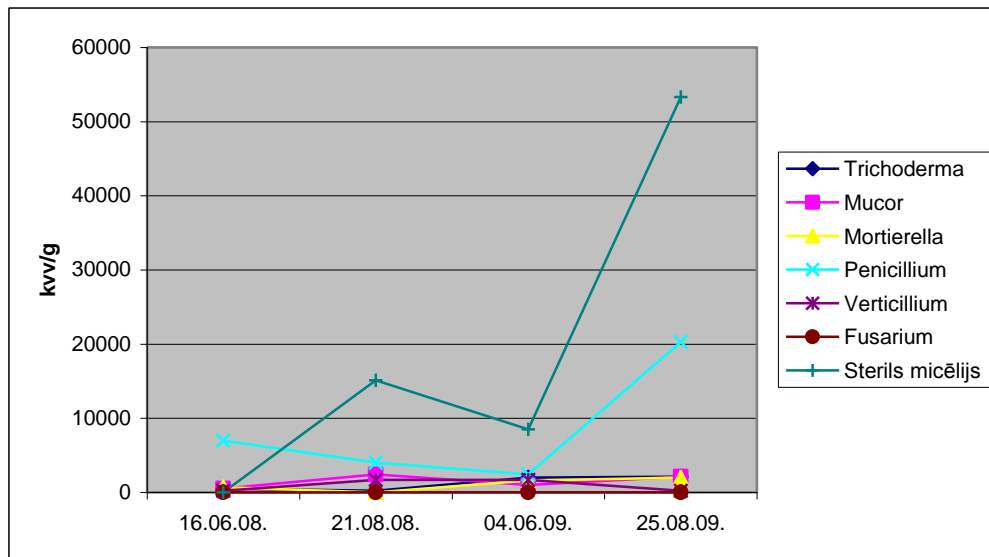
^a Kultivētas iesala agara barotnē.

^b Kultivētas rauga ekstrakta-peptona agara barotnē. Atsevišķā grupā iedalītas aktinomicētes.

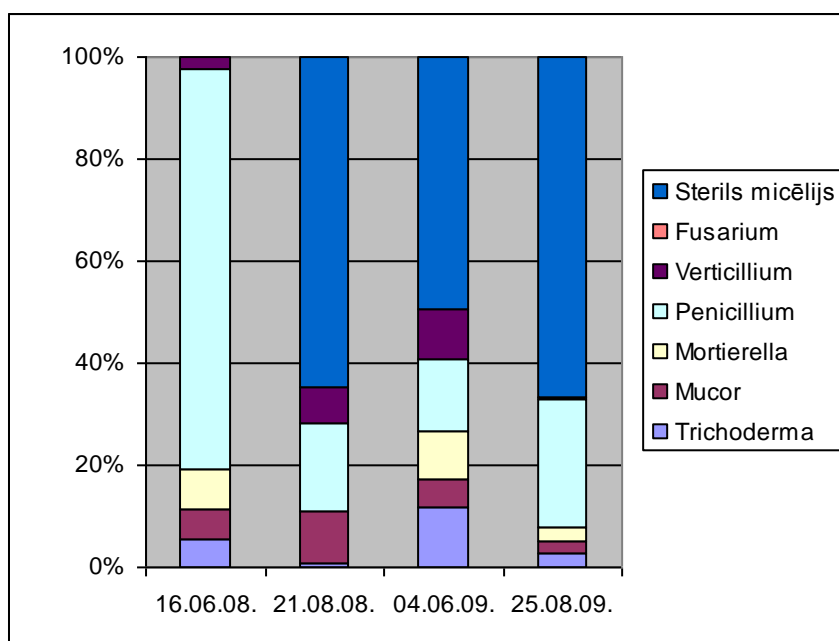
^c Ar numuriem atzīmēti analīžu numuri, ar kuriem dotajai grupai ir būtiskas atšķirības ($p < 0,05$).



14-16. attēls. Mikroorganismu populāciju dinamika F augsnē.



14-17. attēls. Dominējošo sēņu dinamika F augsnē.



14-18. attēls. Dominējošo sēņu īpatsvara dinamika F augsnē.

Konvencionālajā G laika augsnē 2008. gadā audzēja vasaras rapsi, bet 2009. gadā – miežus. Tika veikta apstrāde ar herbicīdiem (07.05.2008. Treflāns, 17.06.2008. Lontrels, 09.06.2009. Sekators) un insekticīdiem (26.06.2008. Fastaks). 14-19. attēlā redzams, ka mikroorganismu grupu daudzums (kvv/g) divu gadu laikā ir mainījies. Vairākos gadījumos izmaiņas ir statistiski ticamas ($p < 0,05$; 14-7. tabula). Sēņu daudzuma minimums bija 2008. gada jūnijā, pēc tam to daudzums palielinājās un saglabājās apmēram vienā līmenī. Maltozi izmantojošo baktēriju daudzums nedaudz, taču nebūtiski, palielinājās. Aktinomicētu daudzums bija samazināts 2008. gada augustā un 2009. gada jūnijā. 14-20. un 14-21. attēls raksturo dominējošo sēņu un to īpatsvara dinamiku G augsnē.

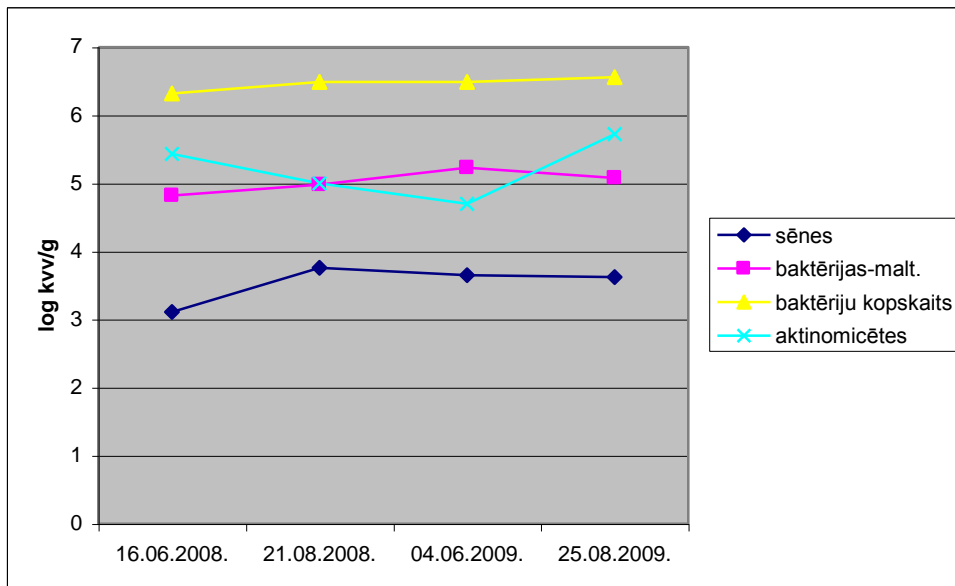
Tabula 14-7. Sēņu un baktēriju kvv/ g mitras augsnes G laukā

Analīzes numurs - datums	Sēnes ^{a,c}	Baktērijas ^{a,c}	Baktērijas ^{b,c}	
			kopskaits	aktinomicētes
1 - 16.06.2008.	$(1,3 \pm 0,3) \times 10^3$ 2, 3, 4	$(6,7 \pm 1,3) \times 10^4$	$(2,1 \pm 0,5) \times 10^6$ 3	$(2,7 \pm 0,2) \times 10^5$ 2, 3
2 - 21.08.2008.	$(5,8 \pm 1,4) \times 10^3$ 1	$(9,6 \pm 4,0) \times 10^4$	$(3,1 \pm 0,8) \times 10^6$	$< 1 \times 10^5$ 1
3 - 04.06.2009.	$(4,5 \pm 0,5) \times 10^3$ 1	$(1,7 \pm 1,1) \times 10^5$	$(3,1 \pm 0,1) \times 10^6$ 1,	$(0,5 \pm 0,5) \times 10^5$ 1
4 - 25.08.2009.	$(4,2 \pm 0,6) \times 10^3$ 1	$(1,2 \pm 0,4) \times 10^5$	$(3,6 \pm 1,1) \times 10^6$	$(5,2 \pm 5,0) \times 10^5$

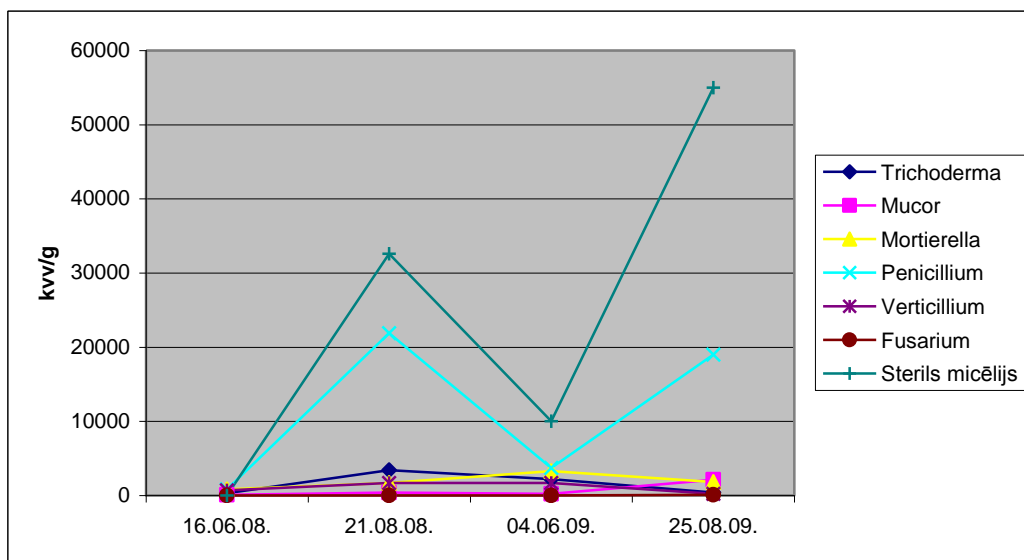
^a Kultivētas iesala agara barotnē.

^b Kultivētas rauga ekstrakta-peptona agara barotnē. Atsevišķā grupā iedalītas aktinomicētes.

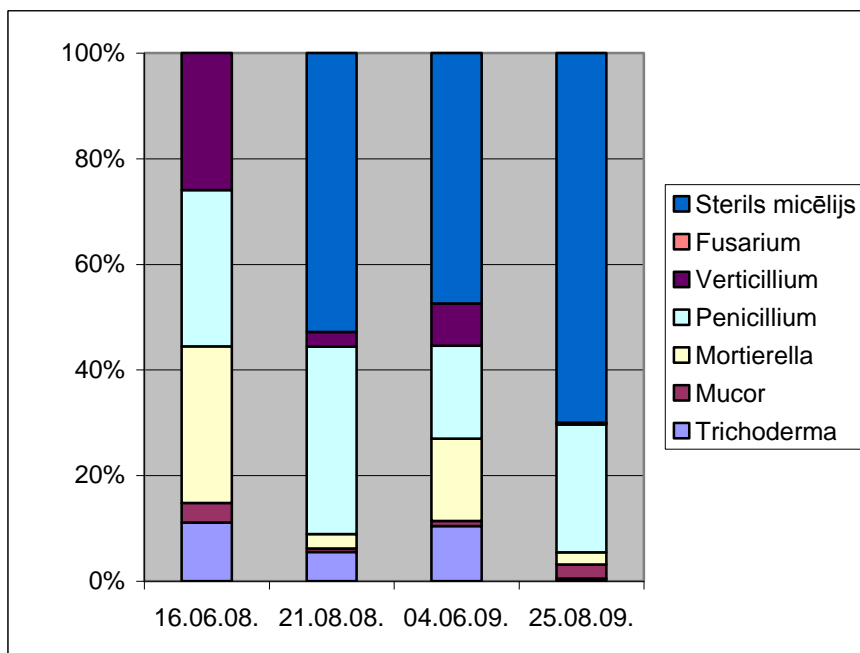
^c Ar numuriem atzīmēti analīžu numuri, ar kuriem dotajai grupai ir būtiskas atšķirības ($p < 0,05$).



14-19. attēls. Mikroorganismu populāciju dinamika G augsnē.



14-20. attēls. Dominējošo sēņu dinamika G augsnē.



14-21. attēls. Dominējošo sēņu īpatsvara dinamika G augsnē.

Tika salīdzināta mikroorganismu populāciju dinamika dažādās augsnēs divu gadu laikā (14-22. – 14-25. att.). Pētīto grupu mikroorganismu daudzums atkarībā no dažādiem apstākļiem variēja par 1-1,7 pakāpēm (log vienībām), izņemot aktinomicētes, kur variācija pārsniedz 2 pakāpes.

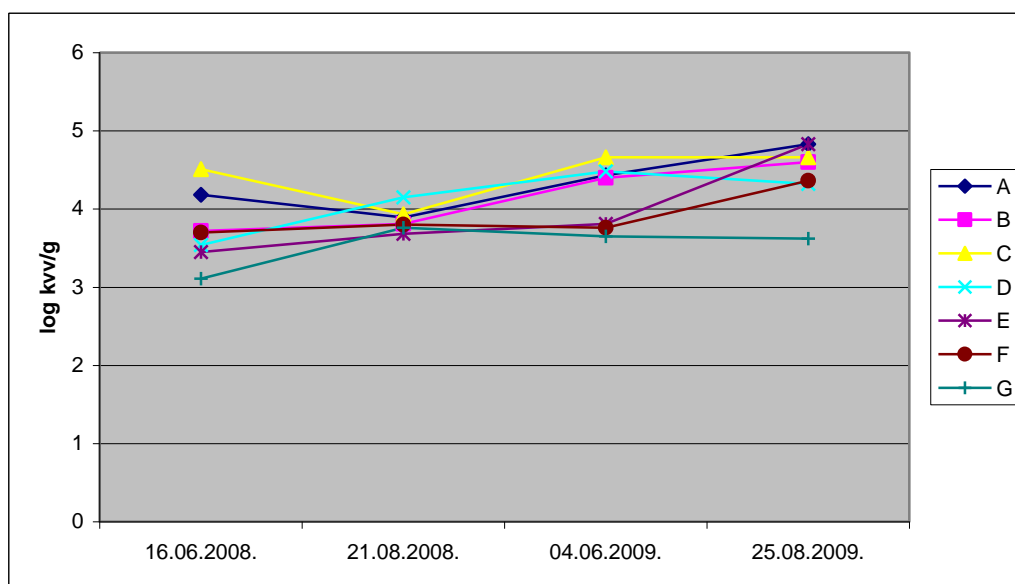
Baktēriju kopskaits (14-24. att.) mainījās vismazāk, salīdzinot ar pārējām trim pētītajām grupām, robežās no 1×10^6 līdz 6×10^7 kvv/g, tomēr vairākos gadījumos tika konstatētas statistiski ticamas atšķirības starp augsnēm ($p < 0,05$). 16.06.2008. visās bioloģiskajās augsnēs bija lielāks baktēriju kopskaits nekā konvencionālajās. Tā paša gada augustā atšķirības netika konstatētas. 2009. gada jūnijā ar baktērijām bagāto bioloģisko augšņu pulkam piepulcējās konvencionālā D augsne (pēc kartupeļu novākšanas un miežu sējas). 2009. gada augustā ar baktēriju bagātību atkal izcēlās bioloģiskās A un B augsnes, bet C augsne kopā ar visām konvencionālajām kopā veidoja viendabīgu grupu.

Svārstības novērojām maltozi izmantojošo baktēriju daudzumā (14-23. att.), bet D augsnē visos gadījumos šīs grupas baktēriju bija vismazāk. Te nebija tik liela atšķirība starp bioloģiskajām un konvencionālajām augsnēm kā baktēriju kopskaita gadījumā. Svārstību robežas no 2×10^4 līdz 2×10^5 kvv/g.

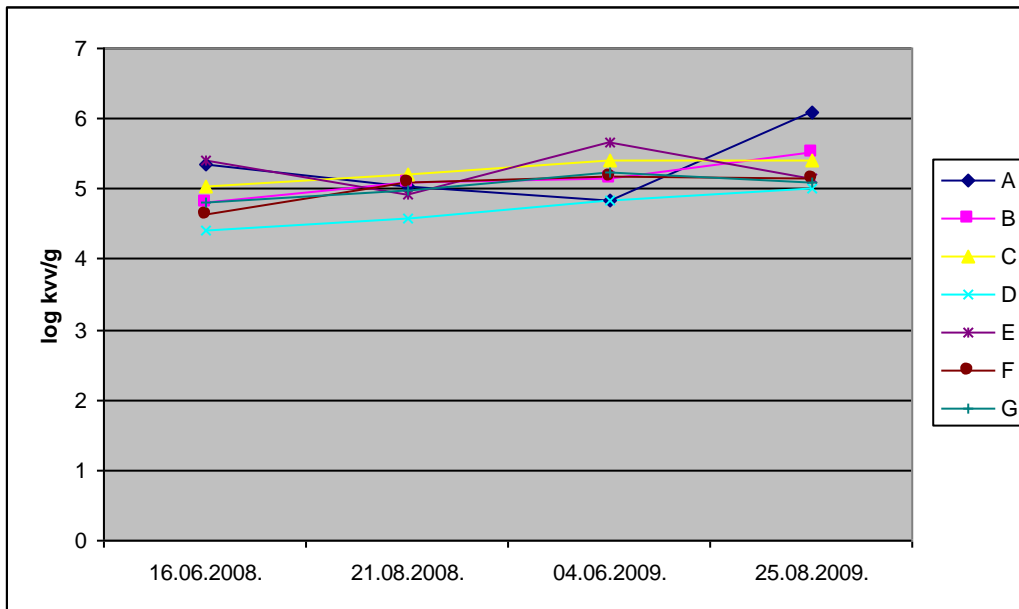
Ar lielu daudzumu aktinomicētu vienmēr izcēlās C lauks, kā arī B lauks 2008. gada augustā. Kopumā liekas, ka aktinomicētu dinamiku visvairāk iespaidoja meteoroloģiskie faktori, jo visās augsnēs svārstības bija līdzīgas, ar līdzīgu amplitūdu. Amplitūdas robežas no $<1 \times 10^4$ līdz 4×10^6 kvv/g.

Sēņu kopskaits (14-22. att.) svārstījās robežās no 1×10^3 līdz 7×10^4 kvv/g. Tāpat kā baktērijām, arī sēnēm vismazākās atšķirības novērojām 2008. gada augustā. Kopumā var teikt, ka dažādi vides un agrotehniskie faktori ātrāk un stiprāk ietekmē augsnes sēņu daudzumu nekā augsnes baktēriju daudzumu (kopskaitu).

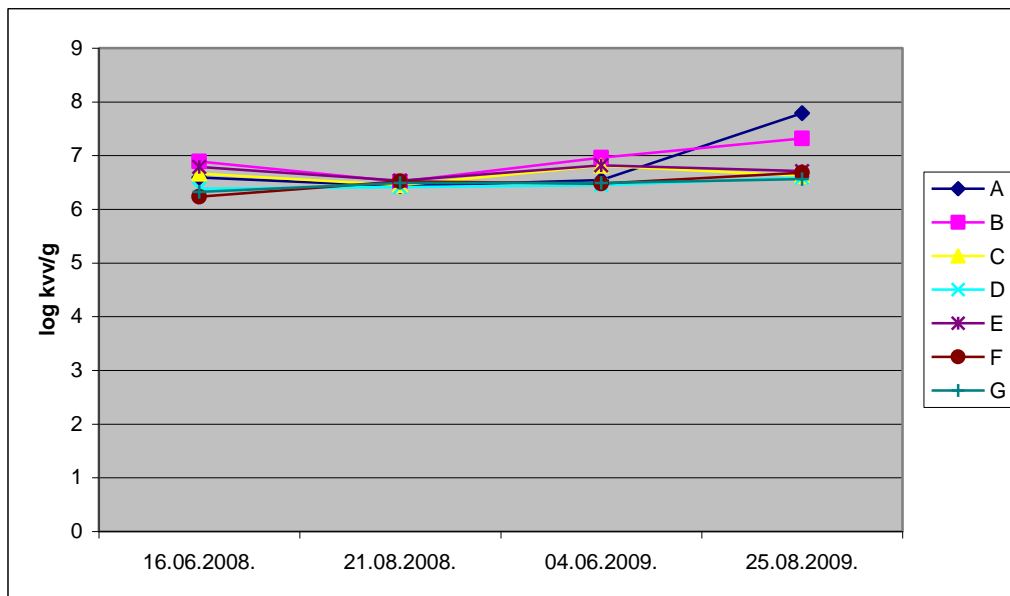
Par augsnes kvalitātes indikatoru iesakām izmantot sēņu kvv/g, jo tas ir visjutīgākais no visiem mūsu pētītajiem mikrobioloģiskajiem rādītājiem. Apzināmies, ka dažādi zinātnieki neviennozīmīgi vērtē šo rādītāju, jo sēnes, kā zināms, veido hifas un dažādas sporas, kas apgrūtina to daudzuma precīzu noteikšanu. Sēņu kvv noteikšana, protams, ir nosacīta metode, un iegūtos datus nevar pārvērst biomasā, tomēr, ņemot vērā sēņu nozīmīgo lomu jebkurā ekosistēmā un daudzu sēņu ātru reaģēšanu uz augsnes fizikālo, ķīmisko un bioloģisko faktoru izmaiņām, tā ir ļoti noderīga metode augsnes kvalitātes raksturošanai.



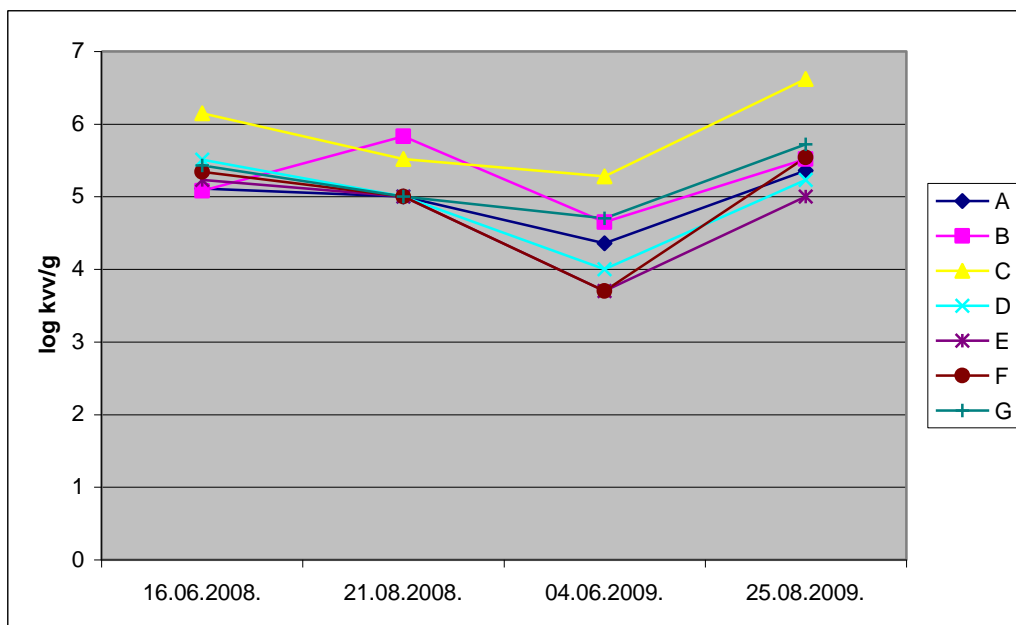
14-22. attēls. Sēņu kvv daudzuma izmaiņas augsnē.



14-23. attēls. Maltozi izmantojošo baktēriju kvv daudzuma izmaiņas augsnē.



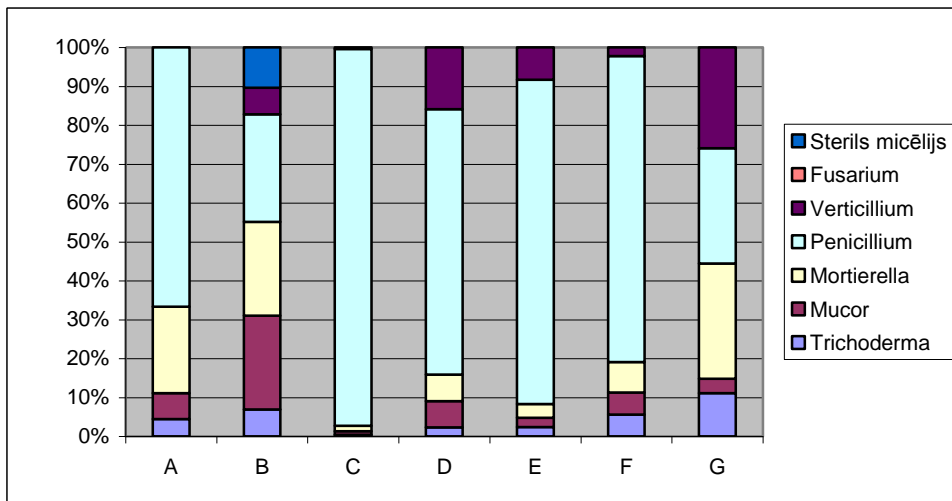
14-24. attēls. Baktēriju kvv kopskaita izmaiņas augsnē.



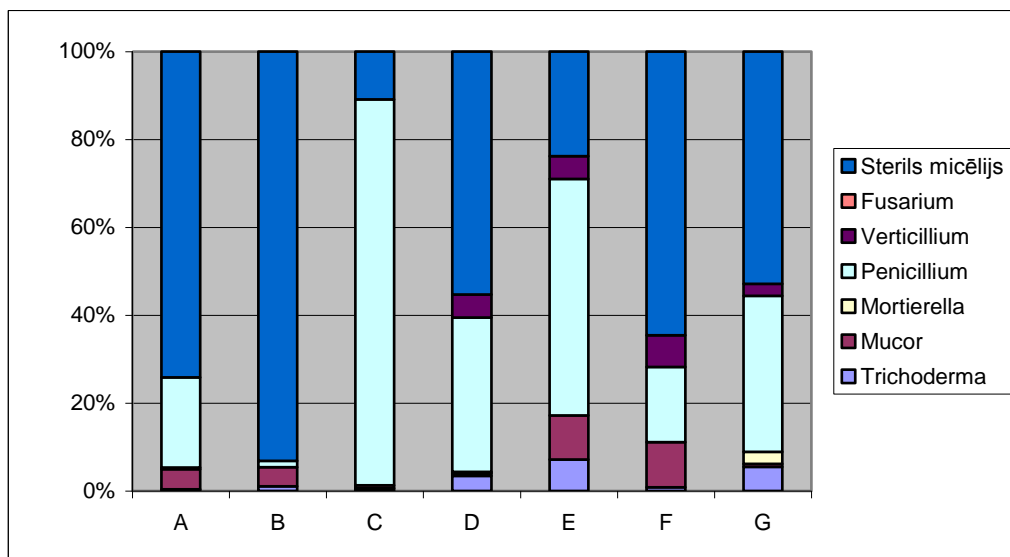
14-25. attēls. Aktinomicētu kvv daudzuma izmaiņas augsnē.

Dominējošo sēņu īpatsvara salīdzinājums atspoguļots 14-26. – 14-29. attēlā. 2008. gada jūnijā gandrīz visās augsnēs bija uzkrītoši liels *Penicillium* īpatsvars. Augustā tāds bija saglabājies tikai C un G, daļēji arī E augsnē. Visur citur pārliecinoši dominēja sterilu micēliju veidojošās sēnes. Līdzīga situācija, ar nelielām procentu izmaiņām, bija arī 2009. gada jūnijā, kad E augsnē bija vairāk nekā trīs reizes palielinājies sterilo micēliju īpatsvars. 2009. gada augustā visās bioloģiskajās augsnēs bija ievērojami samazinājies sterilo micēliju īpatsvars. D augsnē tas bija palicis iepriekšējā rudens līmenī, bet E, F un G augsnēs tas bija ievērojami palielinājies.

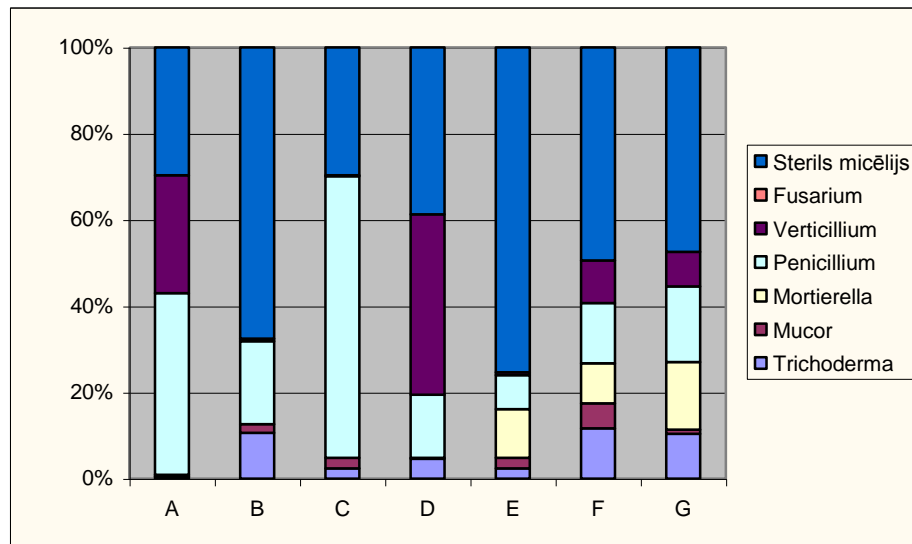
Sēņu īpatsvarā nav tieši novērojama vasaras (jūnijs) un rudens (augusts) ietekme. Daudz lielāku iespaidu atstāj kultūraugu suga kopā ar tai atbilstošo agrotehniku.



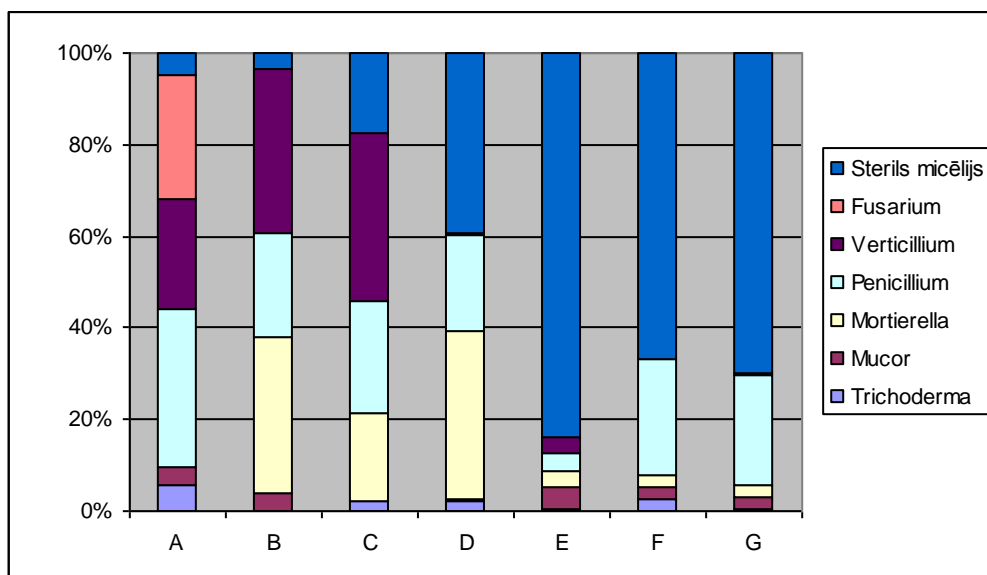
14-26. attēls. Dominējošo sēņu īpatsvars augsnē 16.06.08.



14-27. attēls. Dominējošo sēņu īpatsvars augsnē 21.08.08.

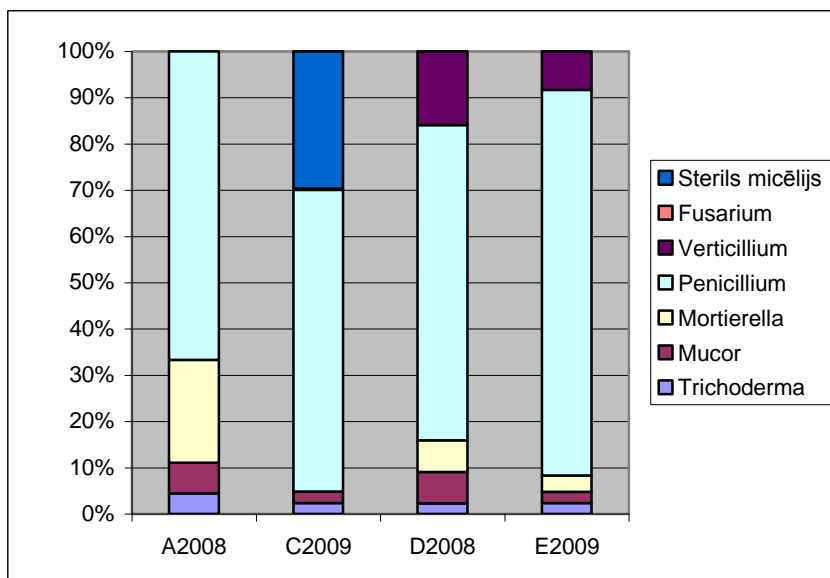


14-28. attēls. Dominējošo sēņu īpatsvars augsnē 04.06.09.

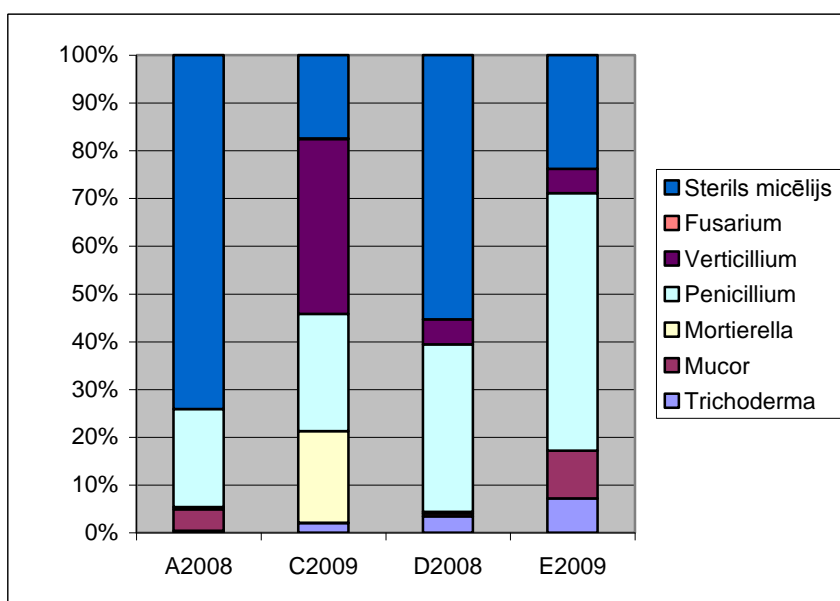


14-29. attēls. Dominējošo sēņu īpatsvars augsnē 25.08.09.

14-30. attēlā salīdzināts dominējošo sēņu īpatsvars kartupeļu augsnēs jūnijā, bet 14-31. attēlā – augustā, abos gados – A un D laukā 2008. gadā, bet C un E laukā 2009. gadā. Kartupeļos jūnijā dominē *Penicillium* spp. Augustā *Penicillium* daudzums samazinājies, pieauguši sterilie micēliji, izņemot C lauku, kur sterilie micēliji bija jau jūnijā; C laukā augustā dominē *Verticillium* spp.

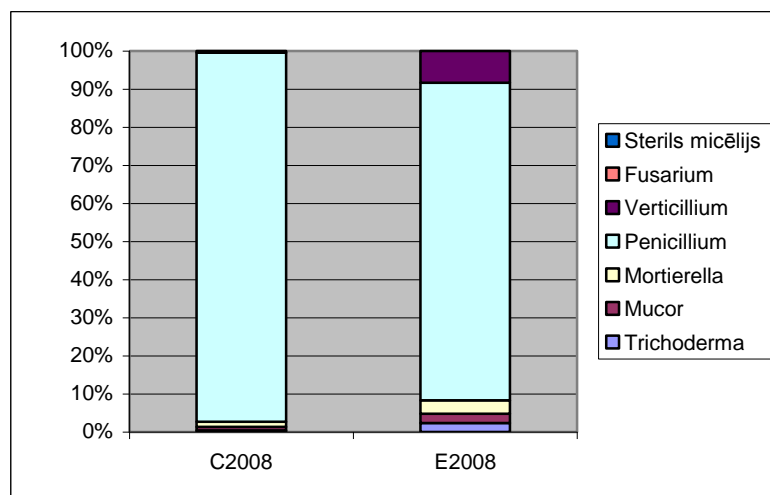


14-30. attēls. Dominējošo sēņu īpatsvars kartupeļu augsnēs jūnijā.

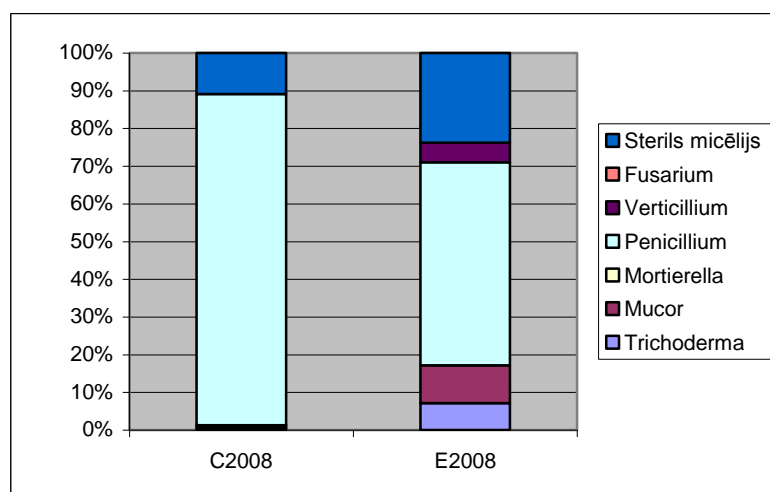


14-31. attēls. Dominējošo sēņu īpatsvars kartupeļu augsnēs augustā.

14-32. attēlā dominējošo sēņu īpatsvars kartupeļu divu rudzu lauku augsnēs 2008. gada jūnijā, bet 14-33. attēlā – 2008. gada augustā. Abos mēnešos dominē *Penicillium* spp., tomēr jūnijā vairāk nekā augustā. Augustā pieaug sterilie micēliji. Konvencionālā lauka augsnē mazāka *Penicillium* dominance nekā bioloģiskajā laukā, sevišķi augustā, bet to varbūt vairāk ietekmēja nevis konvencionālais vai bioloģiskais režīms, bet tas, ka bioloģiskā lauka augsnē rudzi bija audzēti arī iepriekšējā gadā.

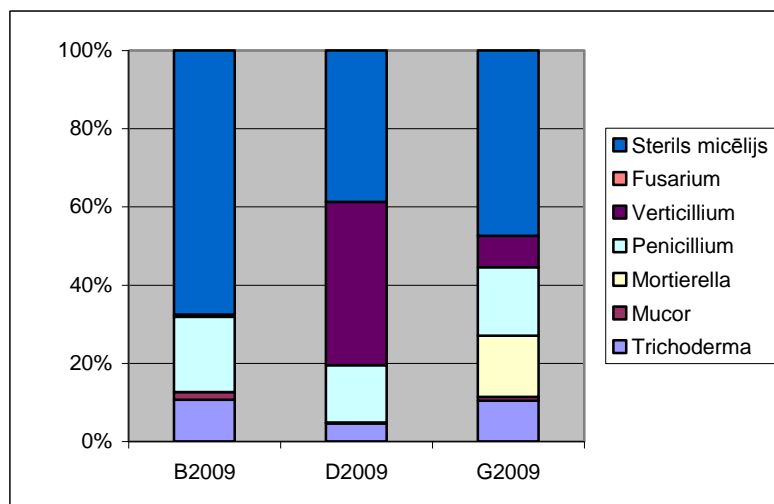


14-32. attēls. Dominējošo sēņu īpatsvars rudzu augsnēs jūnijā.

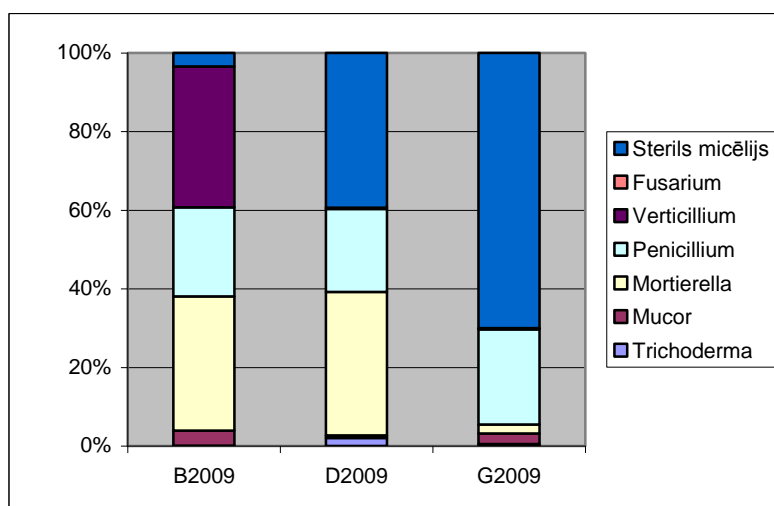


14-33. attēls. Dominējošo sēņu īpatsvars rudzu augsnēs augustā.

14-34. attēlā salīdzināts dominējošo sēņu īpatsvars miežu augsnēs 2009. gada jūnijā, bet 14-35. attēlā – 2009. gada augustā. Variācijas vērojamas starp laukiem, bet nevar teikt, ka tās atspoguļotu bioloģisko vai konvencionālo režīmu.

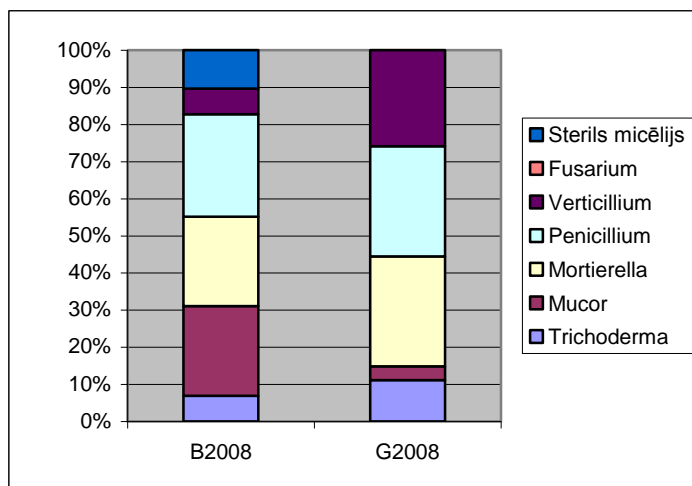


14-34. attēls. Dominējošo sēņu īpatsvars miežu augsnēs jūnijā.

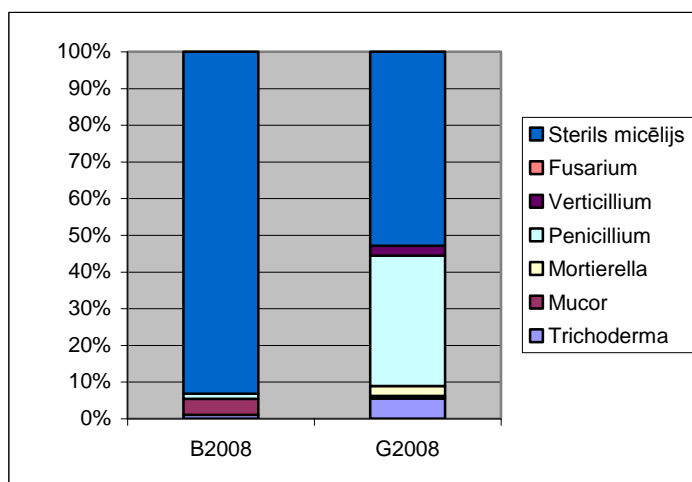


14-35. attēls. Dominējošo sēņu īpatsvars miežu augsnēs augustā.

14-36. attēlā salīdzināts dominējošo sēņu īpatsvars krustziežu augsnēs 2008. gada jūnijā, bet 14-37. attēlā – 2008. gada augustā. Diezgan līdzīga aina bija vērojama jūnijā. Abos laukos nebija izteikta kādas sēņu grupas dominānce, tomēr abi lauki izcēlās ar ievērojamu *Mortierella* spp. īpatsvaru. Augustā bioloģiskajā laukā stipri pieauga sterilo micēliju daudzums, un tie izteikti dominēja, bet konvencionālajā laukā *Penicillium* spp. saglabāja savu jūnija īpatsvaru.



14-36. attēls. Dominējošo sēņu īpatsvars krustziežu augsnēs jūnijā.



14-37. attēls. Dominējošo sēņu īpatsvars krustziežu augsnēs augustā.

Galvenie secinājumi

Pētītajās augsnēs ir atšķirīgs baktēriju un sēņu daudzums, taču kopumā tas atbilst normālām proporcijām un normālam augsnes stāvoklim. Pētīto grupu mikroorganismu daudzums bija samērā konstants un atkarībā no dažādiem apstākļiem variēja samērā maz – tikai par 1-1,7 pakāpēm (log vienībām), izņemot aktinomicētes, kur variācija pārsniedza 2 pakāpes.

Baktēriju kopskaits mainījās robežās no 1×10^6 līdz 6×10^7 kvv/g, un izmaiņas bija mazākas nekā pārējās pētītajās grupās. Maltozi izmantojošo baktēriju daudzums svārstījās robežās no 2×10^4 līdz 2×10^5 kvv/g. Aktinomicētu daudzums svārstījās no $< 1 \times 10^4$ līdz 4×10^6 kvv/g, un aktinomicētu daudzuma dinamiku visvairāk iespaidoja meteoroloģiskie faktori.

Sēņu kopskaits svārstījās robežās no 1×10^3 līdz 7×10^4 kvv/g.

Baktēriju un sēņu daudzumu augsnē, kā arī sēņu sugu kvv daudzumu un īpatsvaru vairāk ietekmēja nevis bioloģiskais vai konvencionālais lauka režīms, bet gan kultūraugu suga. Tās iespaids saglabājās vismaz līdz nākošajai sezonai. Vairākus gadus (mūsu gadījumā dati tikai par diviem gadiem) audzējot vienu un to pašu sugu, ekosistēma stabilizējās un sugu daudzveidība samazinājās (vismaz sēņu sugu, par ko liecina mūsu dati).

Par augsnes kvalitātes mikrobioloģisko indikatoru iesakām izmantot sēņu kvv/g, jo tas ir visjutīgākais no visiem mūsu pētītajiem mikrobioloģiskajiem rādītājiem.

Pielikums Nr. 15. 04.06.2009 ievāktu augsnes paraugu mikrobioloģiskās izpētes rezultāti

Tabula 15-1. Augsnes paraugu ievākšanas vietas.

N.p.k.	Paraugu Nr.	2008.g. audzētā kultūra	2009.g. audzētā kultūra	2010	2011
1.	1 – 3	Kartupeļi	Zirņu mistrojums		
2.	4 – 6	Eļļas rutks	Mieži		
3.	7 – 9	Ziemas rudzi	Kartupeļi		
4.	10 – 12	Kartupeļi	Mieži		
5.	13 – 15	Ziemas rudzi	Kartupeļi		
6.	16 – 18	Mistrojums (vīķes ar miežiem)	Pupas		
7.	19 – 21	Vasaras rapsis	Mieži		

Tabulā 15-2 apkopoti dati par sēņu un baktēriju kolonijas veidojošo vienību (kvv) daudzumu gramā mitras augsnes katrā analizētajā paraugā, bet tabulā 15-3 – katrā laukā. Tabulā 15-2 saskatāms arī lauku paraugu neviendabīgums, jo vairākos gadījumos vērojamas būtiskas atšķirības ($p < 0,05$) starp visiem trim augsnes paraugiem.

Baktēriju kvv/g noteikts, augsnes suspensiju atšķaidījumus uzsējot un kultivējot agarizētā rauga ekstrakta-peptona barotnē *Nutrient broth 'E'* (*Int. Diagnostics Group*, Lielbritānija); barotnes sastāvs (g/l): gaļas ekstrakts 1,0; rauga ekstrakts 2,0; peptons 5,0; NaCl 5,0; agars 20,0; divi atkārtojumi. Baktēriju kolonijas skaitītas pēc 3 un 10 dienu ilgas inkubācijas 20 ± 2 °C temperatūrā.

Sēņu kvv/g noteikts, augsnes suspensiju atšķaidījumus uzsējot un kultivējot agarizētā iesala ekstrakta barotnē (iesala ekstrakts $d=1,028$, agars 20,0 g/l). Kolonijas skaitītas pēc 3 dienu ilgas inkubācijas 20 ± 2 °C temperatūrā. Pēc 10 dienu ilgas inkubācijas noteiktas augsnē dominējošo un iesala agara barotnē kultivējamo sēņu ģintis, un analizētajos paraugos tās bija *Fusarium*, *Geomyces*, *Humicola*, *Mortierella*, *Mucor*, *Penicillium*, *Staphylotrichum*, *Trichoderma* un *Verticillium* spp., kā arī sterilu micēliju veidojošas sēnes. Nevienā paraugā netika konstatētas *Absidia*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Botrytis*, *Cephalosporium*, *Cladosporium*, *Geotrichum* un *Rhizopus* spp., tādēļ secinām, ka šo sēņu ir mazāk nekā 100 kvv/g (noteikšanas robeža). Iesala agara barotnē noteikts arī to baktēriju kvv daudzums, kas aug uz iesala, kur par galveno oglekļa barības avotu kalpo maltoze.

Tabula 15-2. Sēņu un baktēriju kvv/g mitras augsnes analizētajos paraugos*

Lauki un paraugi	Sēnes ^a	Baktērijas ^a	Baktērijas ^b	
			3 dienas	aktinomicētes
A 1	$(3,5 \pm 0,5) \times 10^4$	$(7,5 \pm 1,5) \times 10^4$	$(6,9 \pm 1,4) \times 10^6$	$(3,0 \pm 0,5) \times 10^4$
A 2	$(2,0 \pm 1,0) \times 10^4$	$(4,2 \pm 0,1) \times 10^4$	$(3,3 \pm 1,0) \times 10^6$	$(2,0 \pm 0,5) \times 10^4$
A 3	$(2,5 \pm 0,5) \times 10^4$	$(6,7 \pm 0,7) \times 10^4$	$(4,0 \pm 0,4) \times 10^5$	$(2,0 \pm 0,5) \times 10^4$
B 4	$(3,5 \pm 1,5) \times 10^4$	$(1,4 \pm 0,1) \times 10^5$	$(9,3 \pm 2,0) \times 10^6$	$(1,0 \pm 0,1) \times 10^5$
B 5	$(2,0 \pm 1,0) \times 10^4$	$(1,4 \pm 0,1) \times 10^5$	$(8,9 \pm 3,2) \times 10^6$	$(1,0 \pm 0,1) \times 10^4$
B 6	$(1,5 \pm 0,5) \times 10^4$	$(3,6 \pm 0,3) \times 10^5$	$(9,3 \pm 0,1) \times 10^6$	$(2,5 \pm 1,0) \times 10^4$

C 7	$(2,9\pm 0,8)\times 10^4$	$(9,0\pm 1,0)\times 10^5$	$(7,8\pm 2,6)\times 10^6$	$(2,0\pm 1,0)\times 10^5$
C 8	$(7,5\pm 2,5)\times 10^4$	$(2,8\pm 0,2)\times 10^5$	$(5,1\pm 0,3)\times 10^6$	$(1,7\pm 0,5)\times 10^5$
C 9	$(3,5\pm 1,5)\times 10^4$	$(2,3\pm 0,3)\times 10^5$	$(3,3\pm 0,3)\times 10^6$	$(4,5\pm 0,5)\times 10^5$
D 10	$(2,0\pm 0,1)\times 10^4$	$(2,3\pm 0,1)\times 10^5$	$(4,1\pm 0,7)\times 10^6$	$<1,0\times 10^4$
D 11	$(2,5\pm 0,5)\times 10^4$	$(5,0\pm 3,0)\times 10^4$	$(3,0\pm 0,2)\times 10^6$	$<1,0\times 10^4$
D 12	$(4,5\pm 1,5)\times 10^4$	$(9,0\pm 4,0)\times 10^4$	$(2,5\pm 0,8)\times 10^6$	$(0,5\pm 0,5)\times 10^5$
E 13	$(2,0\pm 0,1)\times 10^4$	$(1,6\pm 0,4)\times 10^5$	$(6,8\pm 1,9)\times 10^6$	$(0,5\pm 0,5)\times 10^4$
E 14	$(6,0\pm 1,0)\times 10^3$	$(5,3\pm 2,3)\times 10^5$	$(7,3\pm 1,3)\times 10^6$	$(0,5\pm 0,5)\times 10^4$
E 15	$(7,0\pm 0,1)\times 10^3$	$(3,8\pm 1,4)\times 10^5$	$(5,7\pm 0,6)\times 10^6$	$<1,0\times 10^4$
F 16	$(5,5\pm 1,5)\times 10^3$	$(1,5\pm 0,3)\times 10^5$	$(5,1\pm 1,0)\times 10^6$	$(0,5\pm 0,5)\times 10^4$
F 17	$(6,0\pm 2,0)\times 10^3$	$(1,4\pm 0,2)\times 10^5$	$(2,7\pm 0,3)\times 10^6$	$(0,5\pm 0,5)\times 10^4$
F 18	$(1,5\pm 0,5)\times 10^4$	$(6,0\pm 2,0)\times 10^4$	$(3,2\pm 0,6)\times 10^6$	$<1,0\times 10^4$
G 19	$(4,0\pm 1,0)\times 10^3$	$(3,2\pm 1,5)\times 10^5$	$(6,3\pm 0,7)\times 10^6$	$(0,5\pm 0,5)\times 10^5$
G 20	$(5,0\pm 1,0)\times 10^3$	$(1,2\pm 0,1)\times 10^5$	$(3,0\pm 0,5)\times 10^6$	$(0,5\pm 0,5)\times 10^5$
G 21	$(2,0\pm 0,1)\times 10^3$	$(7,0\pm 1,0)\times 10^4$	$(3,1\pm 0,6)\times 10^6$	$(0,5\pm 0,5)\times 10^5$

* Treknrakstā (*bold*) iezīmēti rādītāji, kas būtiski ($p<0,05$) atšķiras no abiem pārējiem konkrētā lauka rādītājiem.

^a Kultivētas iesala agara barotnē.

^b Kultivētas rauga ekstrakta-peptona agara barotnē.

^c Baktēriju kvv daudzums noteikts pēc augsnes suspensiju uzsējumu 3 dienu ilgas inkubācijas. Atsevišķā grupā iedalītas aktinomicētes (kolonijas skaitītas pēc 10 dienām).

Tabula 15-3. Sēņu un baktēriju kvv/g mitras augsnes analizētajos laukos

Lauki	Sēnes ^{a,d}	Baktērijas ^{a,d}	Baktērijas ^{b,c,d}	
			3 dienas	aktinomicētes
A	$(2,7\pm 0,6)\times 10^4$ E,F,G	$(7,1\pm 0,4)\times 10^4$ B,C,E,F	$(3,5\pm 2,6)\times 10^6$ B	$(2,3\pm 0,5)\times 10^4$ C,D,E,F
B	$(2,5\pm 0,7)\times 10^4$ E,F,G	$(1,4\pm 0,1)\times 10^5$ A,C,D,E	$(9,2\pm 0,2)\times 10^6$ A,C,D,E,F,G	$(4,5\pm 3,9)\times 10^4$ C,D
C	$(4,6\pm 2,0)\times 10^4$ E,F,G	$(2,6\pm 0,3)\times 10^5$ A,B,D,E,F	$(6,5\pm 1,4)\times 10^6$ B,D,F,G	$(1,9\pm 0,3)\times 10^5$ A,B,D,E,F,G
D	$(3,0\pm 1,1)\times 10^4$ E,F,G	$(7,0\pm 2,0)\times 10^4$ B,C,E,F	$(2,8\pm 0,3)\times 10^6$ B,C,E	$<1,0\times 10^4$ A,B,C,D,E,F
E	$(6,5\pm 0,5)\times 10^3$ A,B,C,D,G	$(4,6\pm 0,8)\times 10^5$ A,B,C,D,F,G	$(6,6\pm 0,7)\times 10^6$ B,D,F,G	$(0,5\pm 0,5)\times 10^4$ A,C,D
F	$(5,8\pm 0,3)\times 10^3$ A,B,C,D,G	$(1,5\pm 0,1)\times 10^5$ A,C,D,E	$(3,0\pm 0,3)\times 10^6$ B,C,E	$(0,5\pm 0,5)\times 10^4$ A,C,D
G	$(4,5\pm 0,5)\times 10^3$ A,B,C,D,E,F	$(1,7\pm 1,1)\times 10^5$ E	$(3,1\pm 0,1)\times 10^6$ B,C,E	$(0,5\pm 0,5)\times 10^5$ C

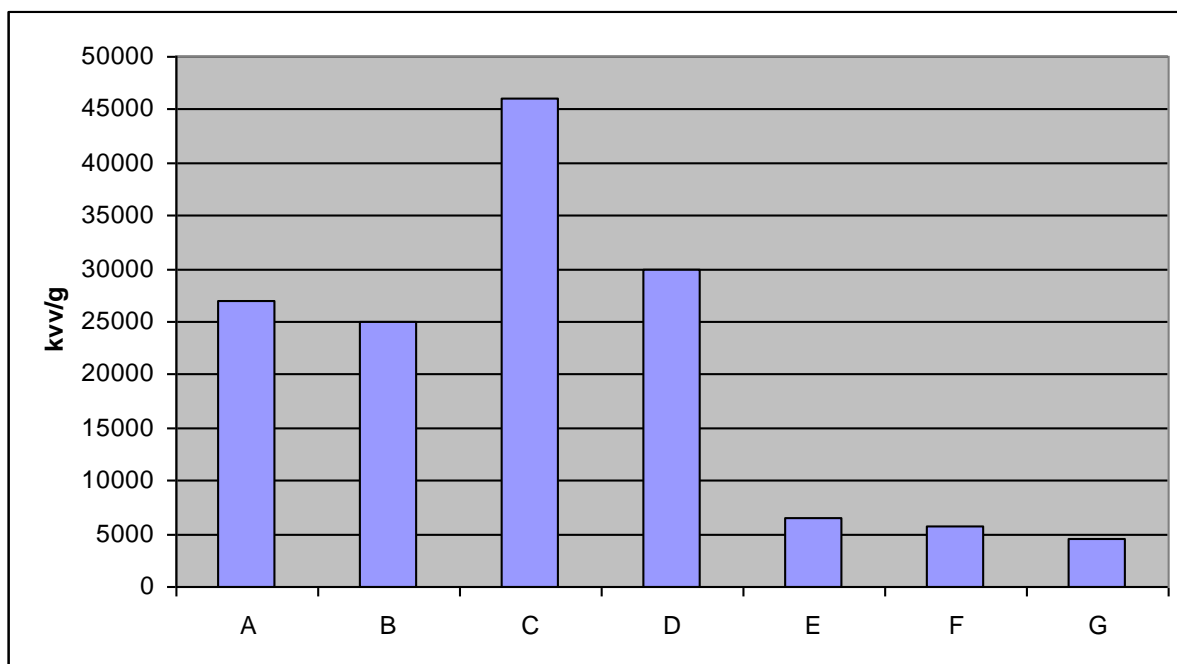
^a Kultivētas iesala agara barotnē.

^b Kultivētas rauga ekstrakta-peptona agara barotnē.

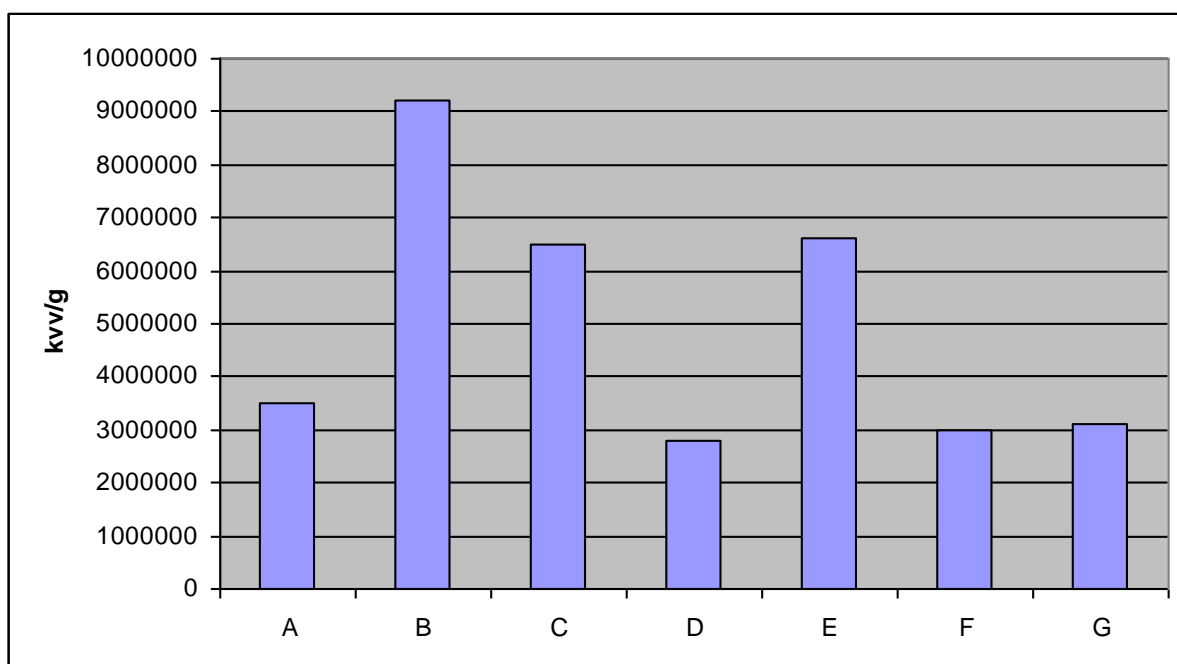
^c Baktēriju kvv daudzums noteikts pēc augsnes suspensiju uzsējumu 3 dienu ilgas inkubācijas. Atsevišķā grupā iedalītas aktinomicētes (kolonijas skaitītas pēc 10 dienām).

^d Ar burtiem A-G atzīmētas grupas, ar kurām dotajai grupai ir būtiskas atšķirības ($p<0,05$).

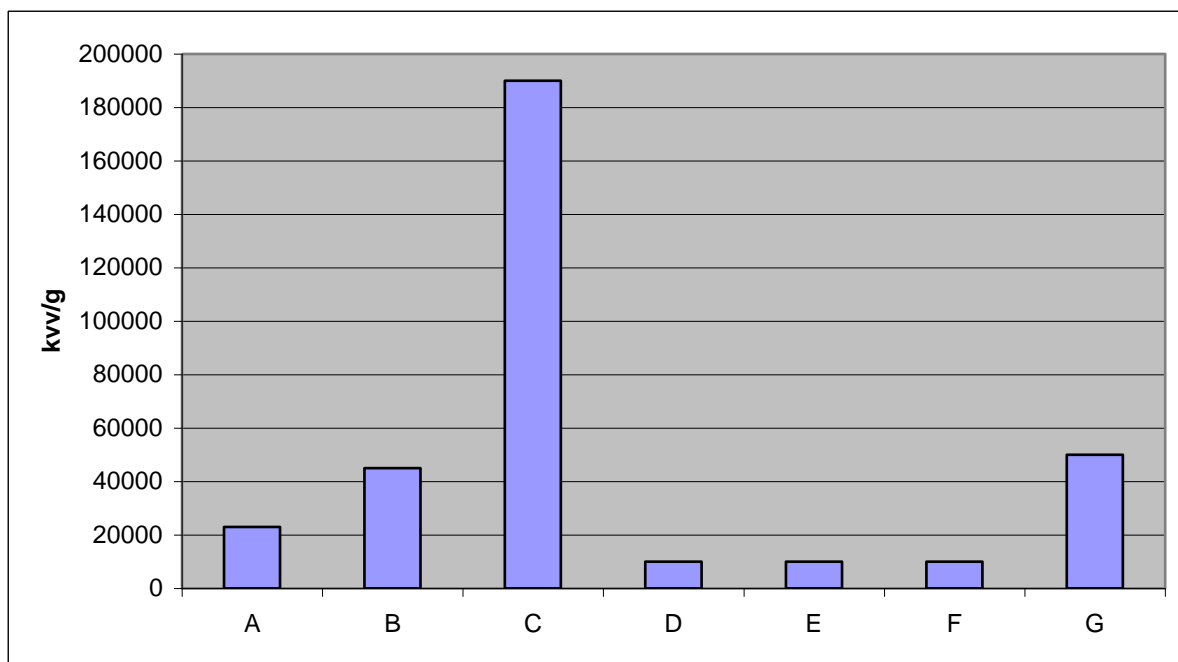
Iegūtie rezultāti ļauj salīdzināt visu augšņu mikrobioloģisko sastāvu (Attēli 15-1. līdz 15-4., Tabulas 15-4, 15-5).



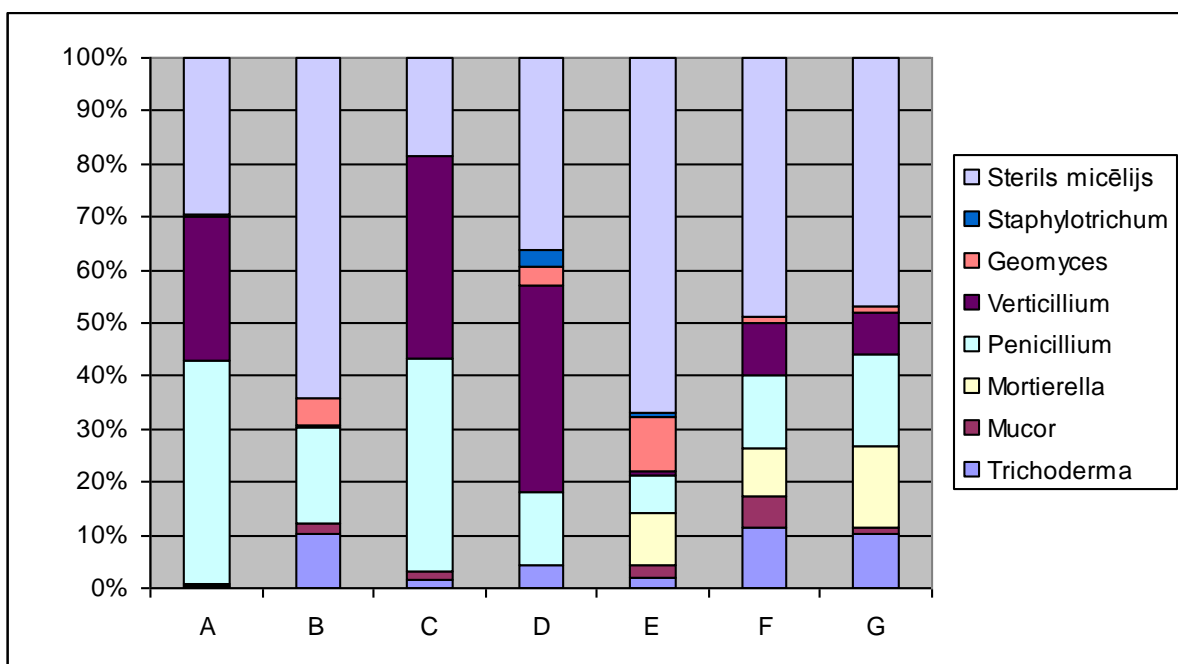
Attēls 15-1. Sēņu kvv/g augsnes.



Attēls 15-2. Baktēriju daudzums augsnē, kvv/g.



Attēls 15-3. Aktinomicētu kvv/g augsnes.



Attēls 15-4. Dominējošo ģinšu sēņu īpatsvars augsnē.

Tabula 15-4

Baktēriju un sēņu kvv daudzuma attiecība augsnē

Lauks	Baktērijas / sēnes*
A	130 (16-197)
B	368 (266-620)
C	141 (68-269)
D	93 (56-205)

E	1015 (340-1217)
F	517 (213-927)
G	689 (600-1575)

* Iekavās robežas, kurās iekļaujas visi trīs atsevišķie paraugi.

Tabula 15-5

Aktinomicētu īpatsvars baktēriju kvv kopskaitā

Paraugs	Aktinomicētes, % no visām baktērijām*
A	0,7 (0,4-5,0)
B	0,5 (0,3-1,1)
C	2,9 (2,6-13,6)
D	<0,4 (<0,1-<0,4)
E	<0,1 (<0,1-0,2)
F	0,2 (<0,1-0,2)
G	1,6 (0,8-1,7)

* Iekavās robežas, kurās iekļaujas visi trīs atsevišķie paraugi.

Bioloģiskā A lauka (1.-3. paraugs) augsnē tāpat kā citos bioloģiskajos laukos ir samērā daudz sēņu – vēl vairāk ir tikai bioloģiskajā C laukā. Baktēriju kopskaits ir ievērojami mazāks nekā bioloģiskajā C laukā. Aktinomicētu daudzums vidējs, un to īpatsvars no visām baktērijām sastāda 0,7 %. Visi trīs augsnes paraugi ir samērā nevienmērīgi pēc baktēriju daudzuma. Baktēriju un sēņu kvv daudzuma attiecība ir maza – 130. Augsnē visvairāk izplatītas *Penicillium* ģints sēnes (42 % no visām sēņu kvv), bet otro un trešo vietu ieņem sterilu micēliju veidojošās sēnes (30 %) un *Verticillium* spp. (27 %).

Bioloģiskā B lauka (4.-6. paraugs) augsnē ir samērā daudz sēņu. Tāpat kā pagājušajā gadā te ir vislielākais baktēriju kopskaits. Aktinomicētu daudzums vidējs, bet īpatsvars mazs – 0,5 %, tomēr visi trīs analizētie augsnes paraugi ir diezgan atšķirīgi. Baktēriju un sēņu kvv daudzuma attiecība ir vidēja – 368. Augsnē ir daudzveidīgas sēņu populācijas, taču dominē sterilu micēliju veidojošās sēnes (64 %). Samērā daudz *Trichoderma* spp. (10 % īpatsvars).

Bioloģiskā C lauka (7.-9. paraugs) augsne tāpat kā pagājušajā gadā izceļas ar lielu daudzumu sēņu un aktinomicētu daudzumu. Arī baktēriju kopskaits samērā liels. Aktinomicētu ir ievērojami vairāk nekā pārējos pētītajos laukos. Aktinomicētu īpatsvars nav pārāk liels, tomēr šogad vislielākais – paraugos no 2,6 līdz 13,6 %. Baktēriju un sēņu kvv daudzuma attiecība maza, apmēram tāda pati kā pagājušajā gadā – 141. Augsnē tāpat kā pagājušajā gada rudenī dominē *Penicillium* un *Verticillium* ģints sēnes (62 un 58 %), pie tam ir palielinājies *Verticillium* īpatsvars.

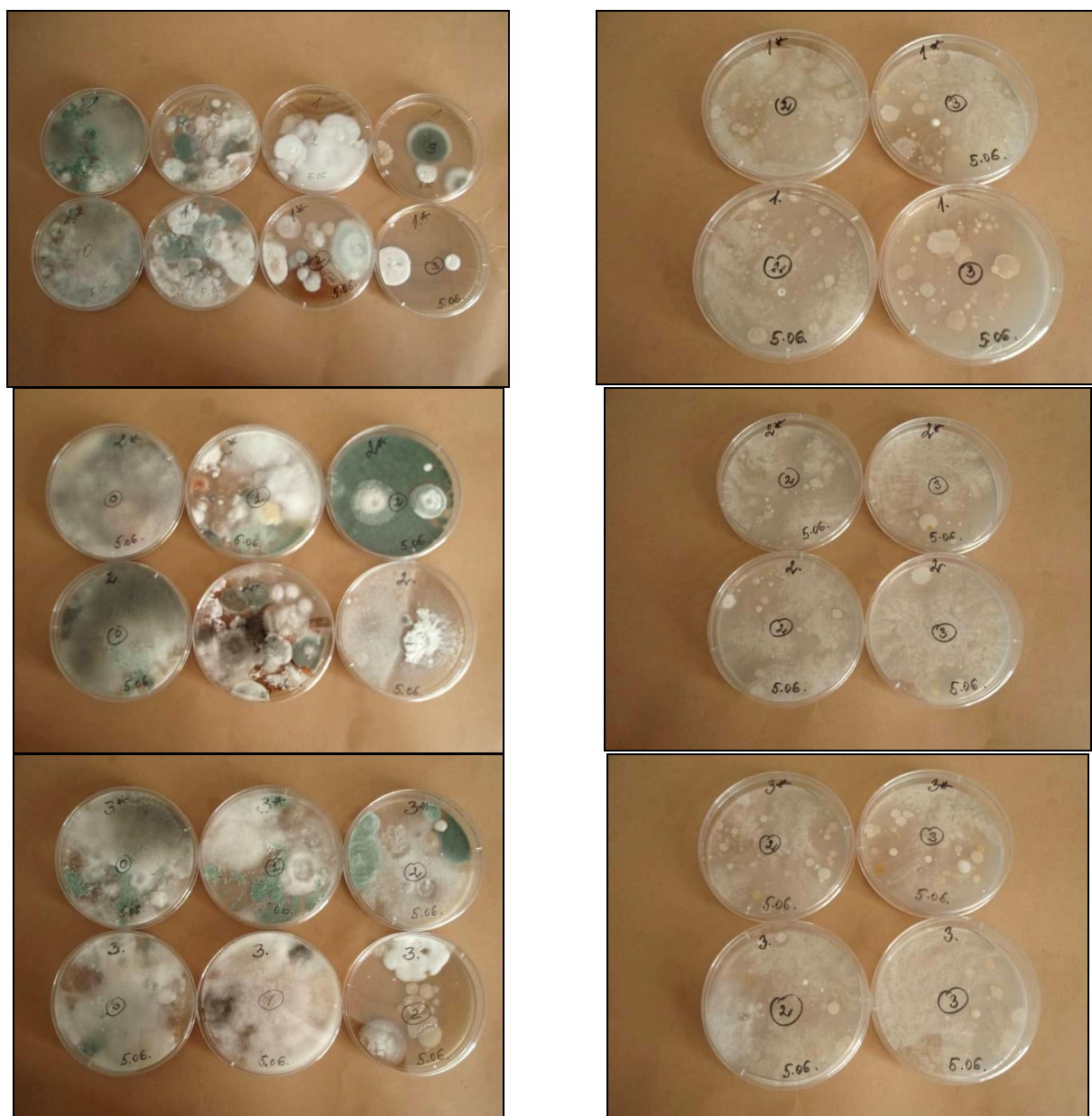
Konvencionālā D lauka (10.-12. paraugs) augsnē ir ievērojami vairāk sēņu kvv/g nekā pārējos konvencionālajos laukos ($p < 0,05$) un apmēram tikpat, cik bioloģiskajos. Baktēriju kopskaits ir neliels. Aktinomicētu kopskaits un īpatsvars mazs. Baktēriju un sēņu kvv daudzuma attiecība ir ļoti maza – tikai 93. Dominē *Verticillium* spp. un sterilu micēliju veidojošās sēnes (39 un 36 % īpatsvars).

Konvencionālā E lauka (13.-15. paraugs) augsnē tāpat kā konvencionālajos laukos F un G ir maz sēņu kvv/g, bet samērā daudz baktēriju. Aktinomicētu ļoti maz, un to īpatsvars nepārsniedz 0,2 %. Šajā laukā tāpat kā visu pagājušo gadu ir vislielākā baktēriju un sēņu kvv daudzuma attiecība – 1015. Izteikti dominē sterilu micēliju

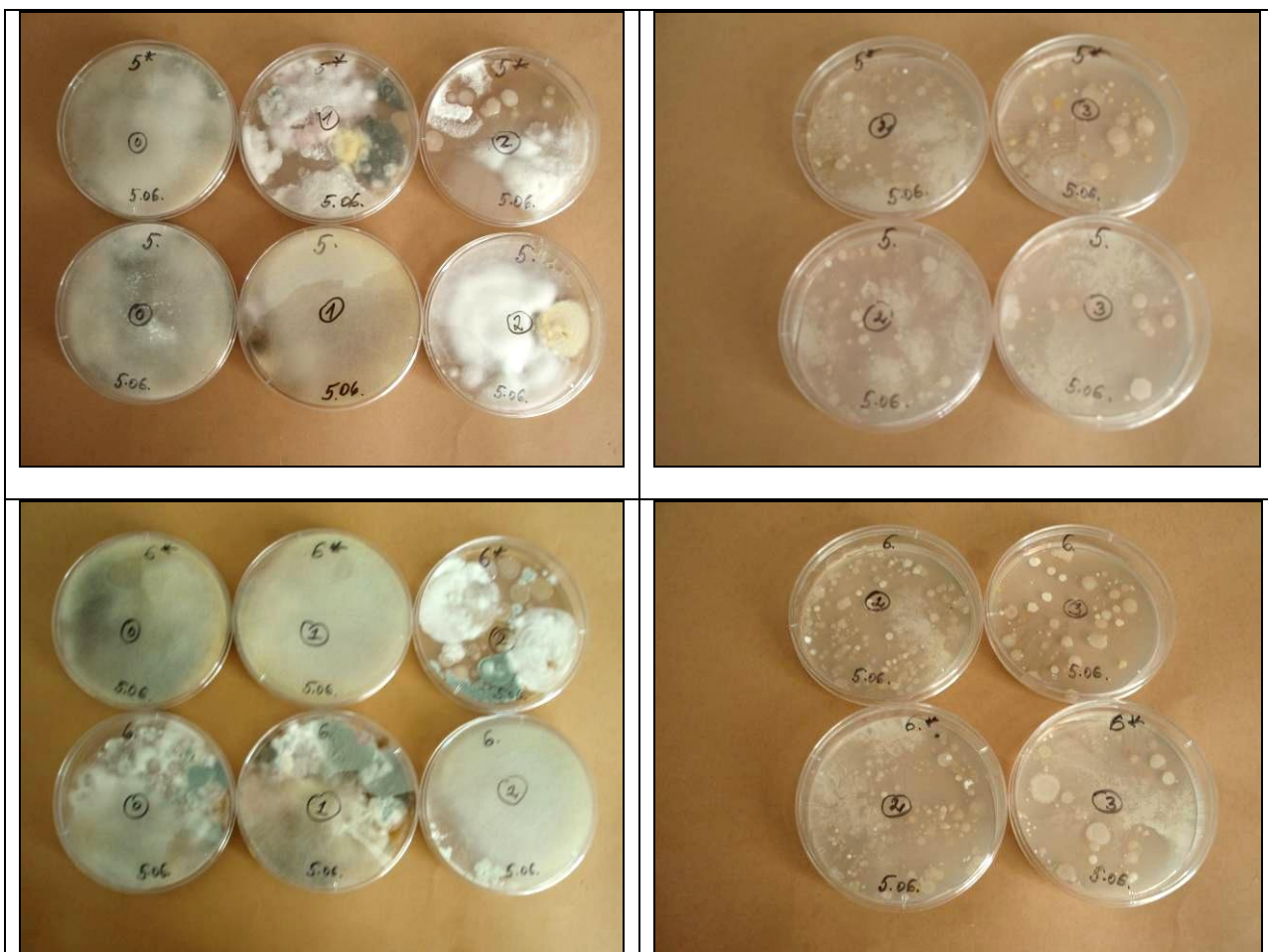
veidojošās sēnes (īpatsvars 67 %). Pa 10 % sastāda *Geomyces* un *Mortierella*, bet pārējās ģintis katra sastāda ne vairāk par 2 %.

Konvencionālā F lauka (16.-18. paraugs) augsnē ir gan neliels sēņu, gan arī neliels baktēriju, tai skaitā aktinomicētu, kvv/g skaits. Arī aktinomicētu īpatsvars nepārsniedz 0,2 %. Baktēriju un sēņu kvv daudzuma attiecība ir vidēja – 517. No augsnes sēnēm līdzīgi kā iepriekšējā rudenī aptuveni 49 % sastāda sterilu micēliju veidojošās, tālāk pēc īpatsvara seko *Penicillium* (14 %) un *Trichoderma* (12 %) ģintis, tomēr ir arī samērā liela citu sēņu daudzveidība.

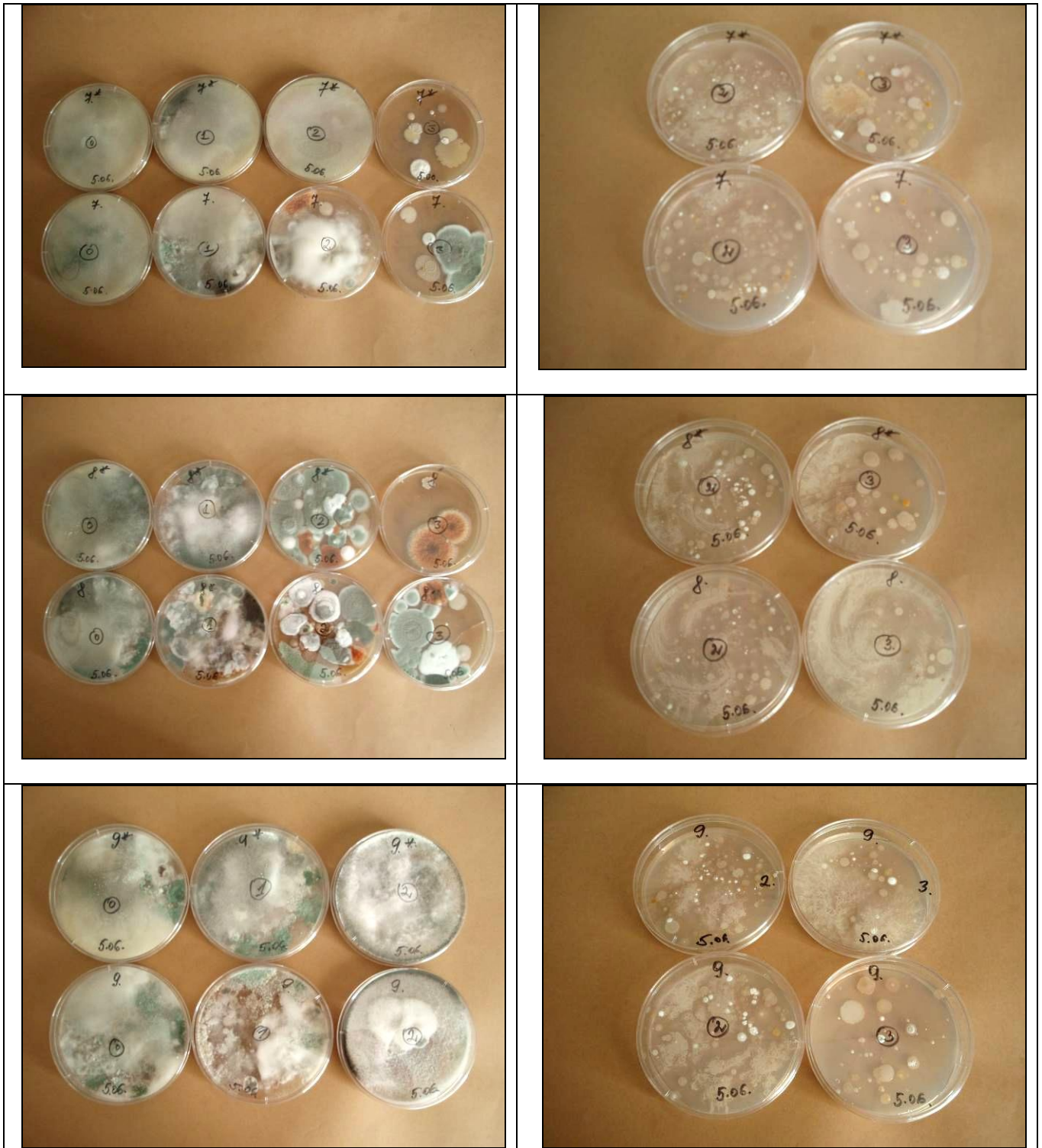
Konvencionālā G lauka (19.-21. paraugs) augsnē tāpat kā pagājušajā gadā ir ļoti maz sēņu kvv – to ir ievērojami ($p < 0,05$) mazāk nekā pārējās pētītajās augsnēs. Arī baktēriju kopskaits šeit joprojām ir viens no mazākajiem. Aktinomicētu daudzums mazs, tomēr tās sastāda 1,6 % lielu īpatsvaru. Baktēriju un sēņu kvv daudzuma attiecība ir diezgan liela – 689. Ar 33 % īpatsvaru dominē sterilu micēliju veidojošās sēnes, bet pārējo dominējošo ģinšu daudzveidība ir diezgan liela un līdzīga F laukam.



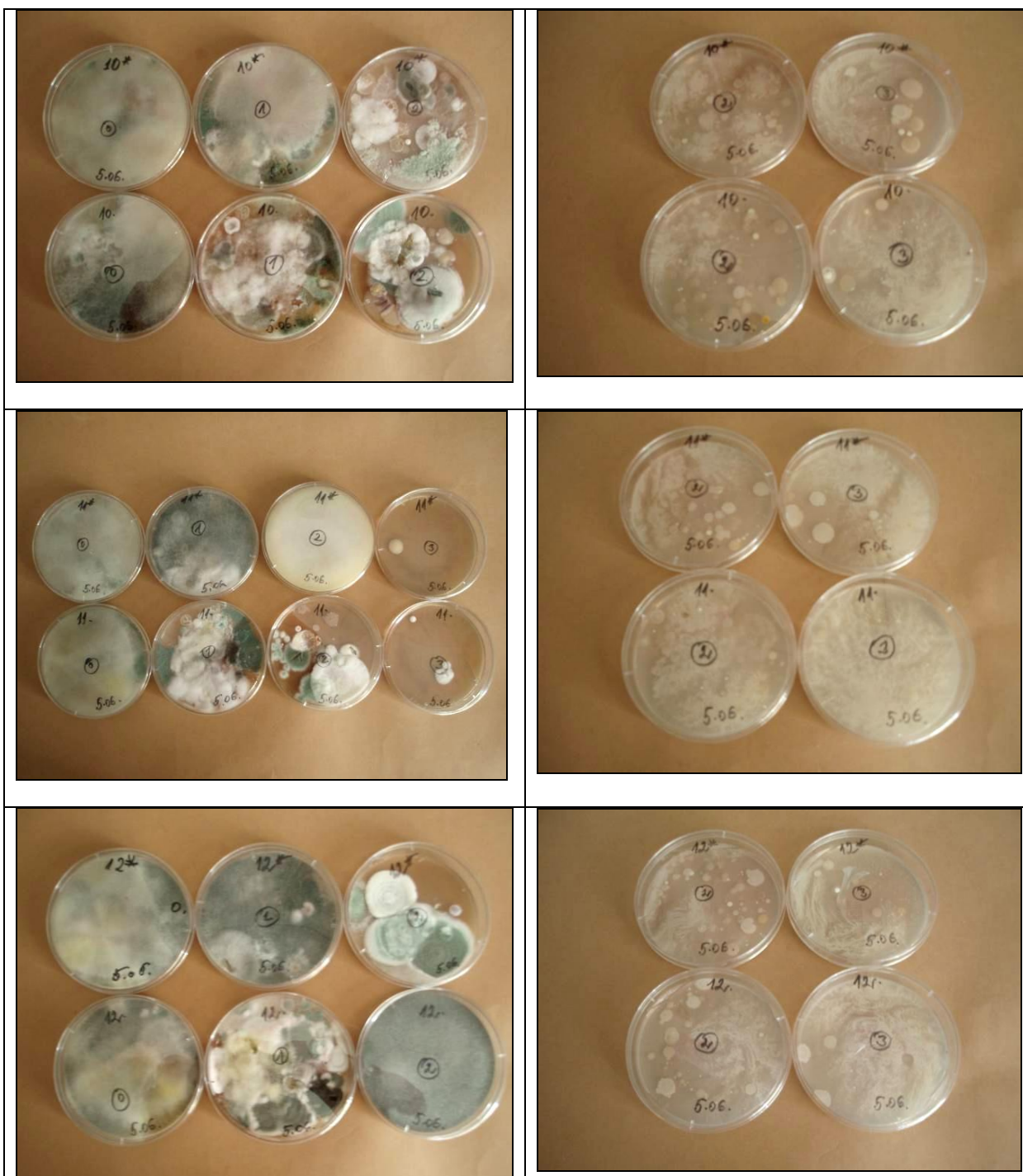
Attēls 15-5. 1., 2. un 3. augsnes suspensijas 10-kārtīgo atšķaidījumu sērijas uzsējumi uz iesala agara barotnes (kreisajā pusē) un uz rauga ekstrakta-peptona barotnes (labajā pusē) pēc 10 dienu ilgas inkubācijas (foto 2 atkārtojumiem).



Attēls 15-6. 5. un 6. augsnes suspensijas 10-kārtīgo atšķaidījumu sērijas uzsējumi uz iesala agara barotnes (kreisajā pusē) un uz rauga ekstrakta-peptona barotnes (labajā pusē) pēc 10 dienu ilgas inkubācijas (foto 1-2 atkārtojumiem).



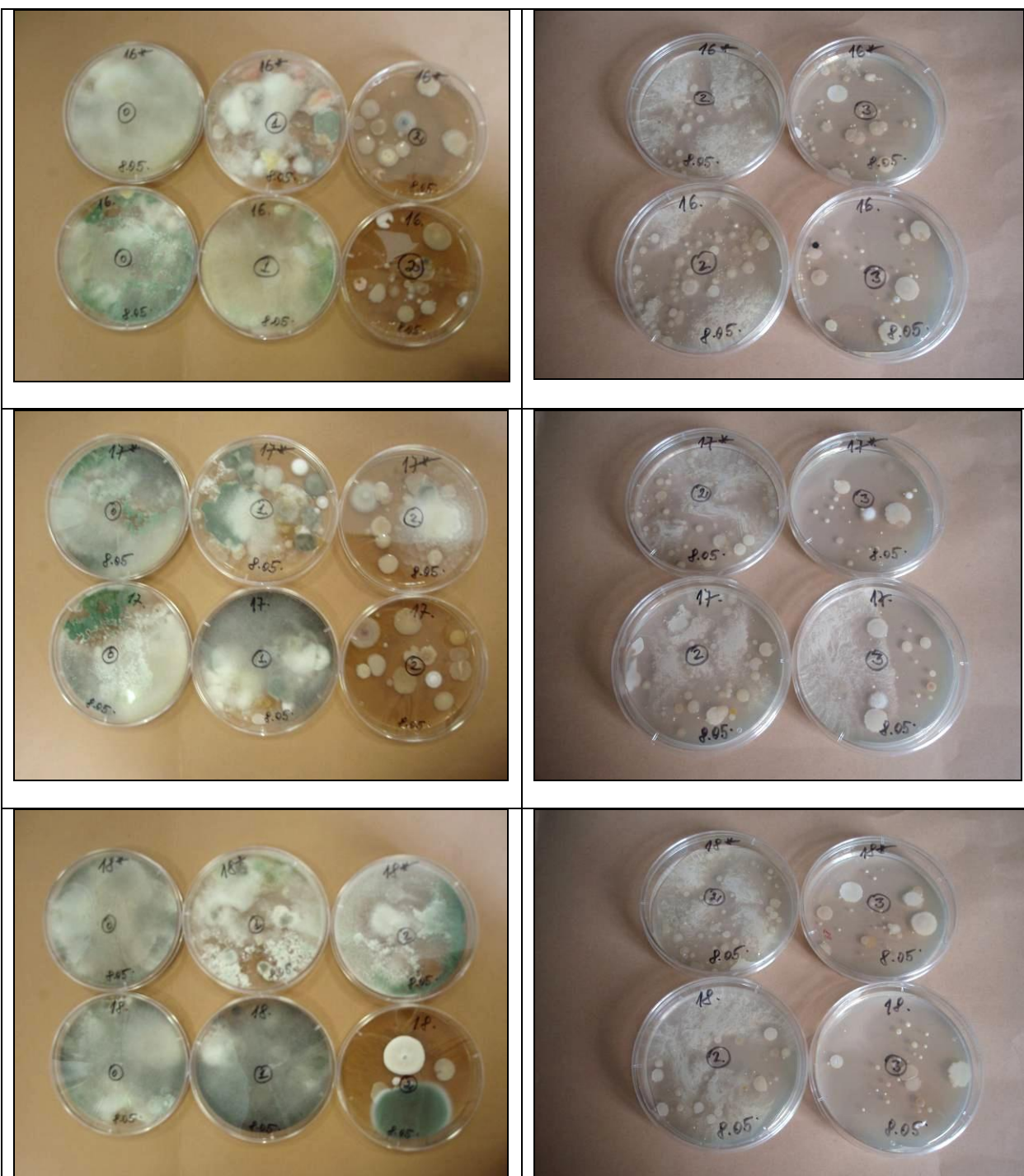
Attēls 15-7. 7., 8. un 9. augsnes suspensijas 10-kārtīgo atšķaidījumu sērijas uzsējumi uz iesala agara barotnes (kreisajā pusē) un uz rauga ekstrakta-peptona barotnes (labajā pusē) pēc 10 dienu ilgas inkubācijas (foto 2 atkārtojumiem).



Attēls 15-8. 10., 11. un 12. augsnes suspensijas 10-kārtīgo atšķaidījumu sērijas uzņēmumi uz iesala agara barotnes (kreisajā pusē) un uz rauga ekstrakta-peptona barotnes (labajā pusē) pēc 10 dienu ilgās inkubācijas (foto 2 atkārtojumiem).



Attēls 15-9. 13., 14. un 15. augsnes suspensijas 10-kārtīgo atšķaidījumu sērijas uzsējumi uz iesala agara barotnes (kreisajā pusē) un uz rauga ekstrakta-peptona barotnes (labajā pusē) pēc 10 dienu ilgas inkubācijas (foto 2 atkārtojumiem).



Attēls 15-10. 16., 17. un 18. augsnes suspensijas 10-kārtīgo atšķaidījumu sērijas uzsējumi uz iesala agara barotnes (kreisajā pusē) un uz rauga ekstrakta-peptona barotnes (labajā pusē) pēc 10 dienu ilgas inkubācijas (foto 2 atkārtojumiem).



Attēls 15-11. 19., 20. un 21. augsnes suspensijas 10-kārtīgo atšķaidījumu sērijas uzsējumi uz iesala agara barotnes (kreisajā pusē) un uz rauga ekstrakta-peptona barotnes (labajā pusē) pēc 10 dienu ilgas inkubācijas (foto 2 atkārtojumiem).

Visu bioloģisko lauku augšņu un visu konvencionālo lauku augšņu vidējie mikrobioloģiskā sastāva rādītāji apkopoti tabulā 15-6. Redzams, ka konvencionālajos laukos ir būtiski ($p < 0,05$) samazināts vidējais sēņu un aktinomicētu kvv daudzums (attiecīgi 2,8 un 5,7 reizes). Līdz ar to konvencionālajās augsnēs ir gandrīz 3 reizes palielināta baktēriju un sēņu daudzuma attiecība.

Tabula 15-6

Bioloģisko un konvencionālo lauku augšņu mikrobioloģiskā sastāva salīdzinājums

Lauki, attiecība	Sēnes	Baktērijas ^a	Baktērijas ^{b,c}		Aktinomicētes, %	Baktērijas/sēnes ^d
			3 dienas	aktinomicētes		
Biol.	33000	160000	6400000	86000	1,4	213
Konv.	12000	190000	3900000	15000	0,5	579
Biol./konv.	2,8	0,8	1,6	5,7	2,8	0,4

* Treknrakstā (*bold*) iezīmēti mikroorganismu skaita rādītāji, kas būtiski ($p < 0,05$) atšķiras.

^a Kultivētas iesala agara barotnē.

^b Kultivētas rauga ekstrakta-peptona agara barotnē.

^c Baktēriju kvv daudzums noteikts pēc augsnes suspensiju uzsējumu 3 dienu ilgas inkubācijas. Atsevišķā grupā iedalītas aktinomicētes.

^d Aprēķināta baktēriju un sēņu kopskaita attiecība.

Tabulā 15-7 salīdzināts mikroorganismu daudzums abos kartupeļu laukos (bioloģiskajā C un konvencionālajā E). Arī šeit bioloģiskajā laukā ir ievērojami vairāk sēņu un aktinomicētu, kā arī maltozi izmantojošo baktēriju nekā konvencionālajā laukā. Līdz ar to izmainās arī aktinomicētu īpatsvars un attiecība starp baktēriju un sēņu daudzumu.

Tabula 15-7.

Bioloģisko un konvencionālo kartupeļu lauku augšņu mikrobioloģiskā sastāva salīdzinājums

Lauki, attiecība	Sēnes	Baktērijas ^a	Baktērijas ^{b,c}		Aktinomicētes, %	Baktērijas/sēnes ^d
			3 dienas	aktinomicētes		
Biol.	46000	260000	6500000	190000	2,9	141
Konv.	6500	460000	6600000	5000	<0,1	1015
Biol./konv.	7,1	0,6	1,0	38,0	>29,0	0,1

* Treknrakstā (*bold*) iezīmēti rādītāji, kas būtiski ($p < 0,05$) atšķiras.

^a Kultivētas iesala agara barotnē.

^b Kultivētas rauga ekstrakta-peptona agara barotnē.

^c Baktēriju kvv daudzums noteikts pēc augsnes suspensiju uzsējumu 3 dienu ilgas inkubācijas. Atsevišķā grupā iedalītas aktinomicētes.

^d Aprēķināta baktēriju un sēņu kopskaita attiecība.

Šogad tiek analizēti trīs miežu lauki – viens bioloģiskais (B, priekšaugš ziemas rudzi) un divi konvencionālie (D, priekšaugš kartupeļi un G, priekšaugš vasaras rapsis). D un G laukos pašlaik nozīmīgi atšķiras sēņu daudzums, ko droši vien var izskaidrot ar iepriekšējo gadu ietekmi. Sīkāku vērtējumu varēsime dot pēc turpmāko datus iegūšanas projekta gaitā

Pielikums Nr. 16. 25.08.2009 ievākto augsnes paraugu mikrobioloģiskās izpētes rezultāti

16-1. tabulā apkopoti dati par sēņu un baktēriju kolonijas veidojošo vienību (kvv) daudzumu gramā mitras augsnes katrā analizētajā paraugā, bet 16-2. tabulā – katrā laukā. 16-1. tabulā saskatāms arī lauku paraugu neviendabīgums, jo vairākos gadījumos vērojamas būtiskas atšķirības ($p < 0,05$) starp visiem trim augsnes paraugiem.

Baktēriju kvv/g noteikts, augsnes suspensiju atšķaidījumus uzsējot un kultivējot agarizētā rauga ekstrakta-peptona barotnē *Nutrient broth 'E'* (*Int. Diagnostics Group*, Lielbritānija); barotnes sastāvs (g/l): gaļas ekstrakts 1,0; rauga ekstrakts 2,0; peptons 5,0; NaCl 5,0; agars 20,0; divi atkārtējumi. Baktēriju kolonijas skaitītas pēc 3 dienu ilgas inkubācijas 20 ± 2 °C temperatūrā.

Sēņu kvv/g noteikts, augsnes suspensiju atšķaidījumus uzsējot un kultivējot agarizētā iesala ekstrakta barotnē (iesala ekstrakts $d=1,028$, agars 20,0 g/l). Kolonijas skaitītas pēc 3 dienu ilgas inkubācijas 20 ± 2 °C temperatūrā. Pēc 10 dienu ilgas inkubācijas noteiktas augsnē dominējošo un iesala agara barotnē kultivējamo sēņu ģintis, un analizētajos paraugos tās bija *Acremonium*, *Fusarium*, *Mortierella*, *Mucor*, *Penicillium*, *Trichoderma* un *Verticillium* spp., kā arī sterilu micēliju veidojošas sēnes. Nevienā paraugā netika konstatētas *Absidia*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Botrytis*, *Cephalosporium*, *Geotrichum* un *Rhizopus* spp., tādēļ secinām, ka šo sēņu ir mazāk nekā 100 kvv/g (noteikšanas robeža). Iesala agara barotnē noteikts arī to baktēriju kvv daudzums, kas aug uz iesala, kur par galveno oglekļa barības avotu kalpo maltoze.

Tabula 16-1. Sēņu un baktēriju kvv/g mitras augsnes analizētajos paraugos*

Lauki un paraugi	Sēnes ^a	Baktērijas ^a	Baktērijas ^b	
			kopskaits	aktinomicētes
A 1	$(8,5 \pm 4,5) \times 10^4$	$(5,7 \pm 1,0) \times 10^5$	$(5,4 \pm 0,2) \times 10^7$	$(3,0 \pm 0,1) \times 10^6$
A 2	$(4,0 \pm 2,0) \times 10^4$	$(3,4 \pm 0,5) \times 10^5$	$(1,2 \pm 0,1) \times 10^7$	$(2,0 \pm 1,0) \times 10^5$
A 3	$(7,5 \pm 0,5) \times 10^4$	$(2,7 \pm 1,2) \times 10^6$	$(1,2 \pm 0,4) \times 10^8$	$(2,5 \pm 1,5) \times 10^5$

B 4	$(2,5\pm 0,5)\times 10^4$	$(3,7\pm 1,1)\times 10^5$	$(1,0\pm 0,1)\times 10^7$	$(3,5\pm 1,5)\times 10^5$
B 5	$(5,0\pm 2,0)\times 10^4$	$(2,6\pm 0,9)\times 10^5$	$(3,2\pm 0,2)\times 10^7$	$(2,0\pm 2,0)\times 10^4$
B 6	$(4,5\pm 3,5)\times 10^4$	$(2,3\pm 0,5)\times 10^6$	$(1,3\pm 0,8)\times 10^8$	$(3,1\pm 2,9)\times 10^5$
C 7	$(1,3\pm 0,2)\times 10^4$	$(2,9\pm 0,5)\times 10^5$	$(3,6\pm 1,3)\times 10^7$	$(4,0\pm 2,0)\times 10^5$
C 8	$(8,5\pm 1,5)\times 10^4$	$(6,0\pm 0,1)\times 10^4$	$(4,4\pm 0,2)\times 10^6$	$(2,0\pm 1,0)\times 10^5$
C 9	$(4,0\pm 1,0)\times 10^4$	$(2,1\pm 0,3)\times 10^5$	$(3,9\pm 1,7)\times 10^6$	$(1,4\pm 0,4)\times 10^5$
D 10	$(4,0\pm 2,0)\times 10^3$	$(1,3\pm 0,2)\times 10^5$	$(3,0\pm 0,6)\times 10^6$	$(4,0\pm 4,0)\times 10^5$
D 11	$(3,0\pm 1,0)\times 10^4$	$(8,5\pm 0,5)\times 10^4$	$(5,9\pm 0,2)\times 10^6$	$(6,0\pm 6,0)\times 10^4$
D 12	$(1,1\pm 0,1)\times 10^4$	$(8,0\pm 3,0)\times 10^4$	$(2,9\pm 0,7)\times 10^6$	$(6,0\pm 6,0)\times 10^4$
E 13	$(1,6\pm 1,4)\times 10^5$	$(1,2\pm 0,5)\times 10^5$	$(3,8\pm 0,1)\times 10^6$	$(6,0\pm 5,0)\times 10^4$
E 14	$(4,0\pm 2,0)\times 10^4$	$(2,3\pm 0,5)\times 10^5$	$(7,9\pm 1,1)\times 10^6$	$(5,0\pm 4,0)\times 10^4$
E 15	$(4,0\pm 0,1)\times 10^3$	$(6,0\pm 1,0)\times 10^4$	$(3,5\pm 0,3)\times 10^6$	$(2,0\pm 1,8)\times 10^5$
F 16	$(2,2\pm 1,8)\times 10^4$	$(1,7\pm 0,3)\times 10^5$	$(8,0\pm 2,0)\times 10^6$	$(5,0\pm 5,0)\times 10^5$
F 17	$(8,0\pm 2,0)\times 10^3$	$(1,6\pm 0,4)\times 10^5$	$(3,6\pm 0,3)\times 10^6$	$(5,0\pm 5,0)\times 10^5$
F 18	$(4,0\pm 3,0)\times 10^4$	$(9,5\pm 1,5)\times 10^4$	$(2,7\pm 1,1)\times 10^6$	$(5,0\pm 5,0)\times 10^4$
G 19	$(3,5\pm 1,5)\times 10^3$	$(1,7\pm 0,2)\times 10^5$	$(3,1\pm 0,1)\times 10^6$	$(2,0\pm 0,1)\times 10^5$
G 20	$(5,0\pm 0,1)\times 10^3$	$(1,2\pm 0,3)\times 10^5$	$(5,2\pm 1,6)\times 10^6$	$(1,3\pm 1,1)\times 10^6$
G 21	$(4,0\pm 0,1)\times 10^3$	$(6,5\pm 1,5)\times 10^4$	$(2,6\pm 0,2)\times 10^6$	$(5,0\pm 5,0)\times 10^4$

* Treknrakstā (*bold*) iezīmēti rādītāji, kas būtiski ($p < 0,05$) atšķiras no abiem pārējiem konkrētā lauka rādītājiem.

^a Kultivētas iesala agara barotnē.

^b Kultivētas rauga ekstrakta-peptona agara barotnē. Atsevišķā grupā iedalītas aktinomicētes.

Tabula 16-2. Sēņu un baktēriju kvv/g mitras augsnes analizētajos laukos

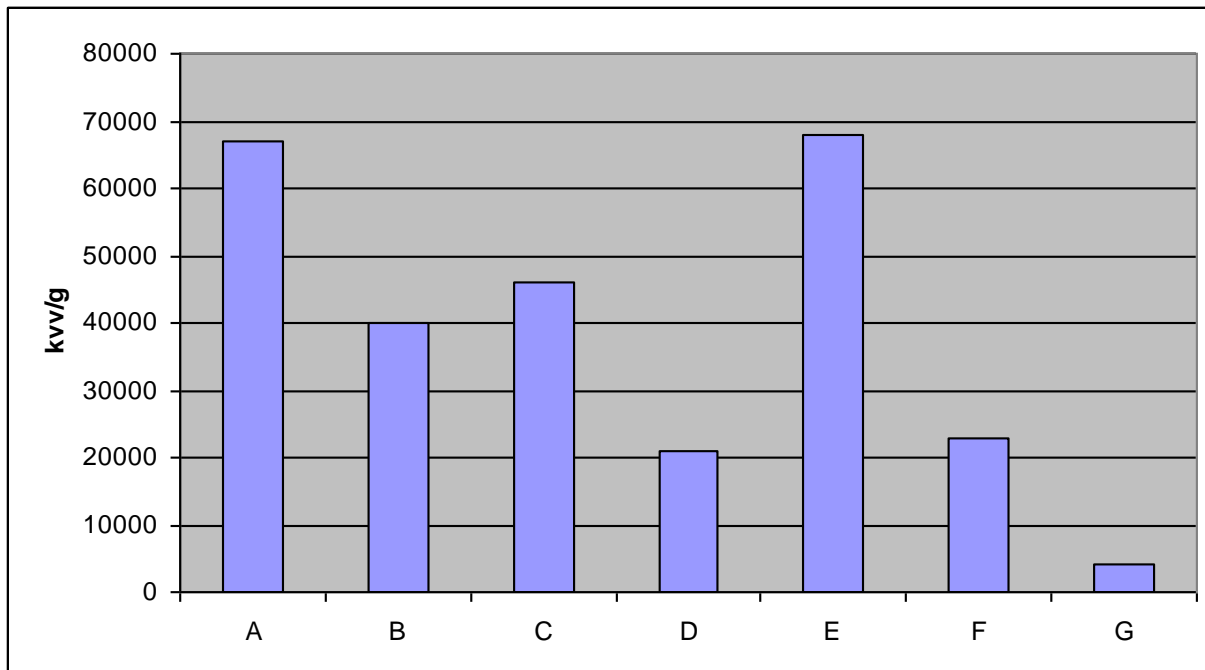
Lauki	Sēnes ^{a,c}	Baktērijas ^{a,c}	Baktērijas ^{b,c}	
			kopskaits	Aktinomicētes
A	(6,7±1,9)x10 ⁴ D,F,G	(1,2±1,0)x10 ⁶ D,F,G	(6,2±4,4)x10 ⁷ C,D,E,F,G	(2,3±0,3)x10 ⁵ B,E
B	(4,0±1,1)x10 ⁴ G	(3,2±0,5)x10 ⁵ D,E,F,G	(2,1±1,1)x10 ⁷ C,D,E,F,G	(3,3±0,2)x10 ⁵ A,E
C	(4,6±3,0)x10 ⁴ G	(2,5±0,4)x10 ⁵ D,F,G	(4,2±0,3)x10 ⁶ A,B	(2,5±1,1)x10 ⁵
D	(2,1±1,0)x10 ⁴ A,G	(1,0±0,2)x10 ⁵ A,B,C	(3,9±1,4)x10 ⁶ A,B	(1,7±1,6)x10 ⁵
E	(6,8±6,6)x10 ⁴ G	(1,4±0,7)x10 ⁵ B	(5,1±2,0)x10 ⁶ A,B	(1,0±0,7)x10 ⁵ A,B
F	(2,3±1,3)x10 ⁴ A,G	(1,4±0,3)x10 ⁵ A,B,C	(4,8±2,3)x10 ⁶ A,B	(3,5±2,1)x10 ⁵
G	(4,2±0,6)x10 ³ A,B,C,D,E,F	(1,2±0,4)x10 ⁵ A,B,C	(3,6±1,1)x10 ⁶ A,B	(5,2±5,0)x10 ⁵

^a Kultivētas iesala agara barotnē.

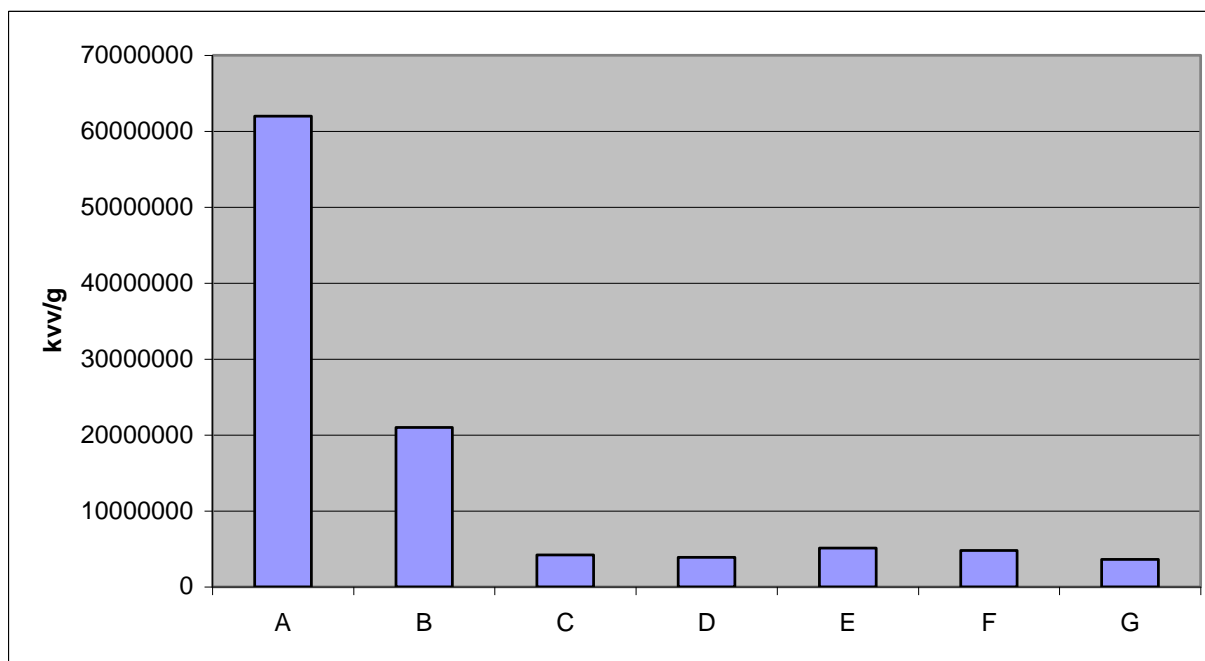
^b Kultivētas rauga ekstrakta-peptona agara barotnē. Atsevišķā grupā iedalītas aktinomicētes.

^c Ar burtiem A-G atzīmētas grupas, ar kurām dotajai grupai ir būtiskas atšķirības (p<0,05).

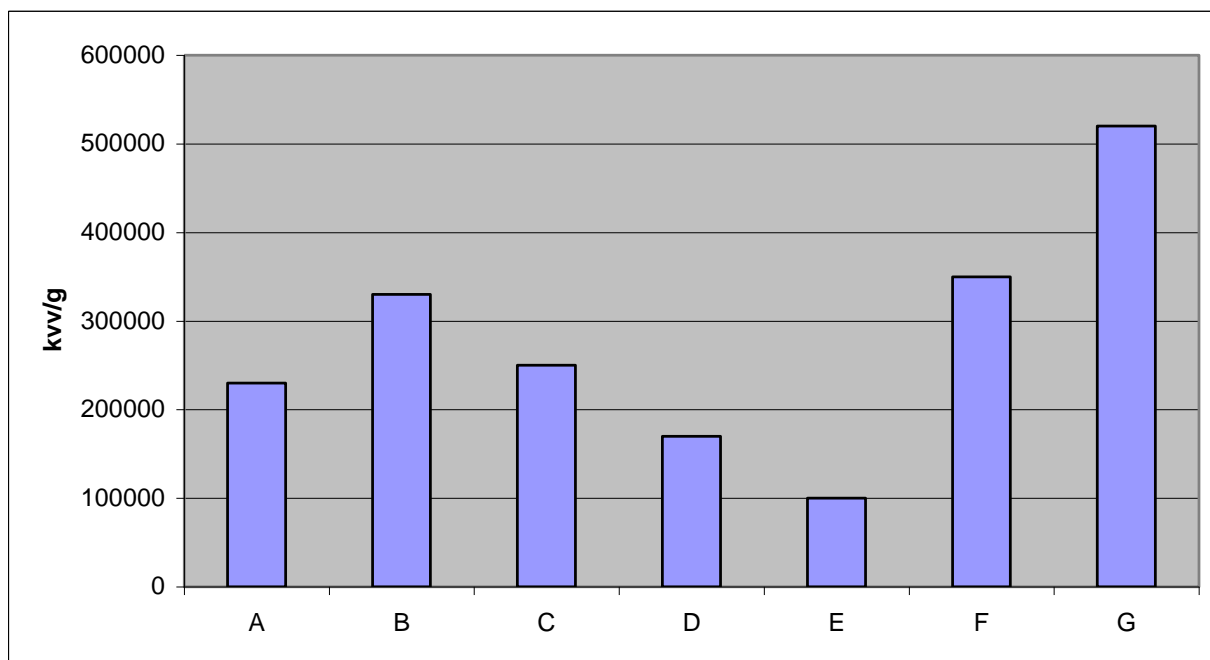
Iegūtie rezultāti ļauj salīdzināt visu augšņu mikrobioloģisko sastāvu (14.-4. att., 14-3.,14- 4. tab.).



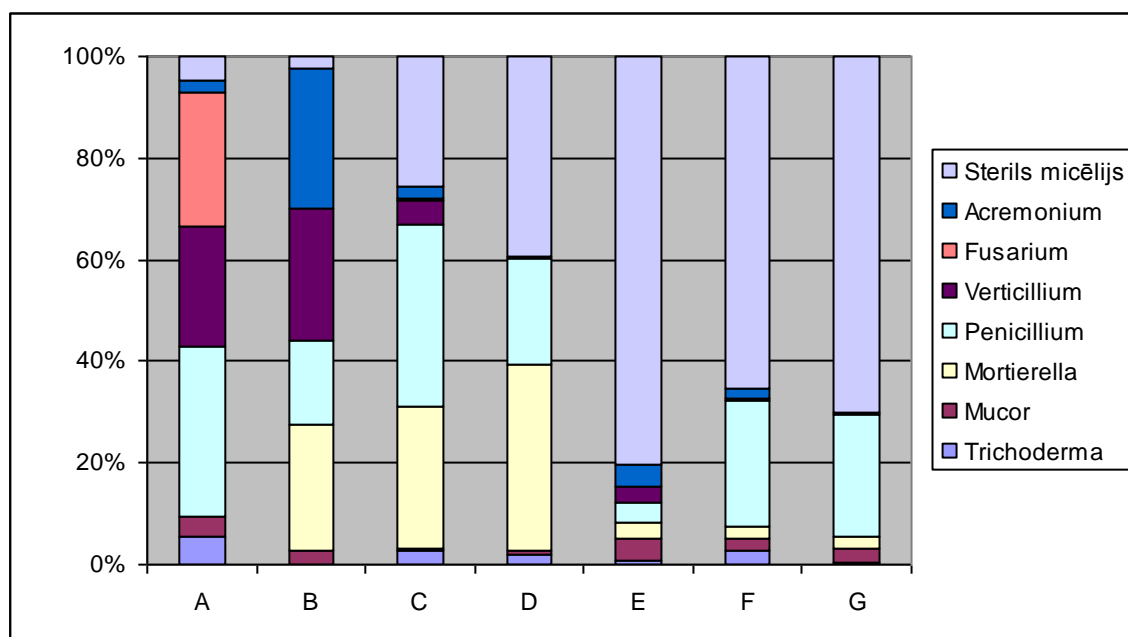
16-1. attēls. Sēņu kvv/g augsnes.



16-2. attēls. Baktēriju daudzums augsnē, kvv/g.



16-3. attēls. Aktinomicētu kvv/g augsnes.



16-4. attēls. Dominējošo ģinšu sēņu īpatsvars augsnē.

Tabula 16-3. Baktēriju un sēņu kvv daudzuma attiecība augsnē

Lauks	Baktērijas / sēnes*
A	925 (64-1600)
B	525 (400-2889)

C	91 (52-2769)
D	403 (197-750)
E	75 (24-875)
F	209 (68-450)
G	857 (650-1040)

* Iekavās robežas, kurās iekļaujas visi trīs atsevišķie paraugi.

Tabula 16-4. Aktinomicētu īpatsvars baktēriju kvv kopskaitā

Paraugs	Aktinomicētes, % no visām baktērijām*
A	0,4 (0,2-5,6)
B	1,6 (0,1-3,5)
C	3,1 (1,1-4,5)
D	4,4 (1,0-13,3)
E	2,0 (0,6-5,7)
F	7,2 (1,9-13,9)
G	14,4 (1,9-25,0)

* Iekavās robežas, kurās iekļaujas visi trīs atsevišķie paraugi.

Bioloģiskā A lauka (1.-3. paraugs) augsnē tāpat kā citos bioloģiskajos laukos ir samērā daudz sēņu. Te ir vislielākais baktēriju kopskaits. Aktinomicētu daudzums vidējs, un to īpatsvars no visām baktērijām sastāda 0,4 %. Visi trīs augsnes paraugi ir samērā nevienmērīgi pēc baktēriju daudzuma. Baktēriju un sēņu kvv daudzuma vidējā attiecība ir diezgan liela – 925, taču paraugos stipri variē. Augsnē visvairāk izplatītas *Penicillium* ģints sēnes (36 % no visām sēņu kvv), bet otro un trešo vietu ieņem *Fusarium* (28 %) un *Verticillium* (25 %) spp.

Bioloģiskā B lauka (4.-6. paraugs) augsnē ir samērā daudz sēņu un liels skaits baktēriju. Aktinomicētu daudzums vidējs, bet īpatsvars 1,6 %. Baktēriju un sēņu kvv daudzuma attiecība ir vidēja – 525. Augsnē ir daudzveidīgas sēņu populācijas, kur dominē *Acremonium* (27 %), *Verticillium* (26 %) un *Mortierella* (25 %) spp.

Bioloģiskā C lauka (7.-9. paraugs) augsne tāpat kā pagājušajā gadā izceļas ar lielu daudzumu sēņu. Baktēriju kopskaits ir ievērojami mazāks nekā pārējos bioloģiskajos laukos un ir līdzīgs konvencionālajiem laukiem. Aktinomicētu īpatsvars 3,1 %. Baktēriju un sēņu kvv daudzuma vidējā attiecība maza – tikai 91. Augsnē tāpat kā iepriekš dominē *Penicillium* (35 %), taču 28 % īpatsvars ir arī *Mortierella* spp. un 25 % sterilu micēliju veidojošajām sēnēm.

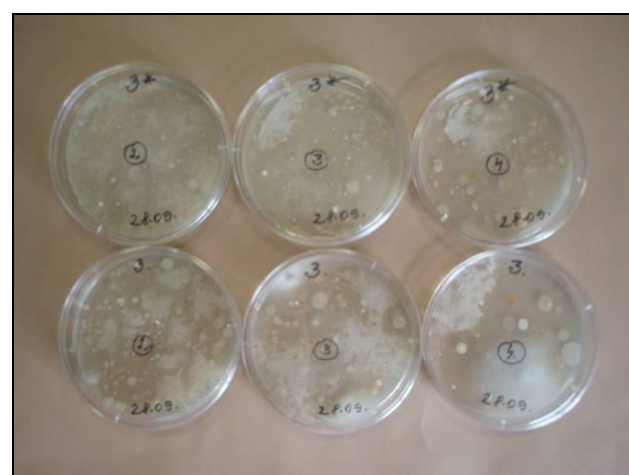
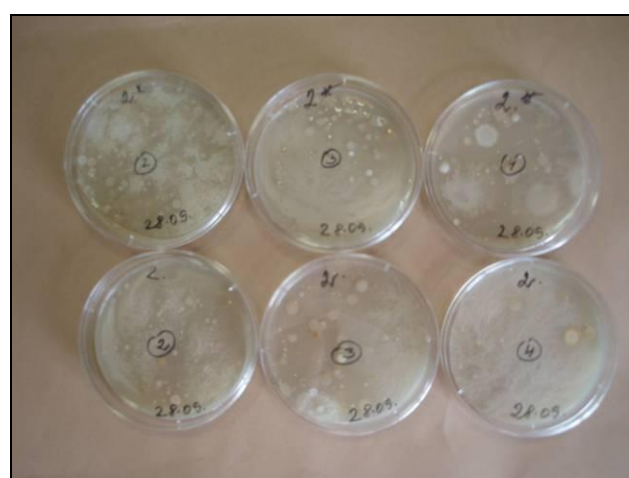
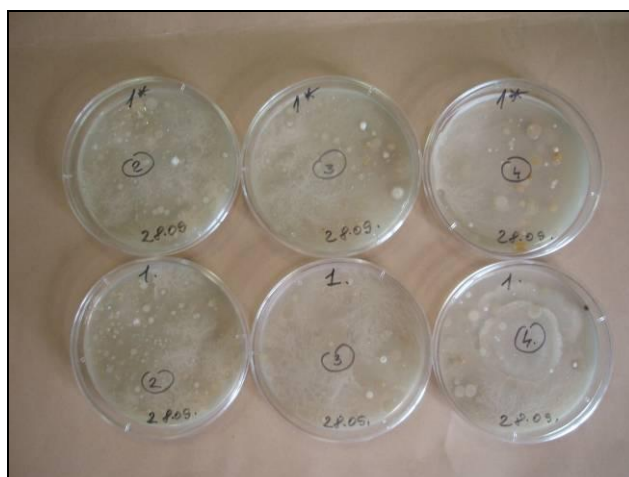
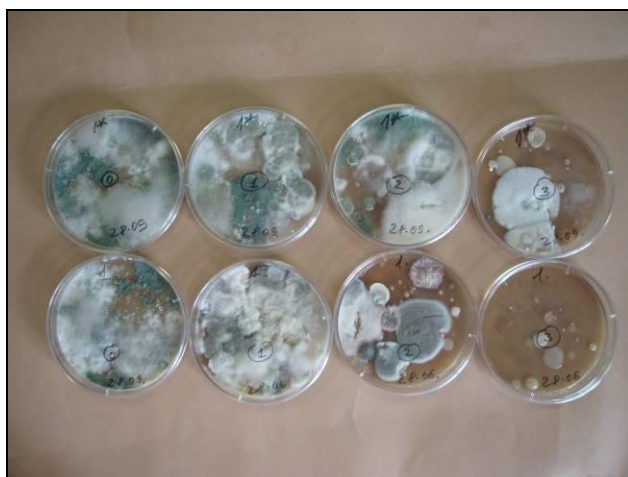
Konvencionālā D lauka (10.-12. paraugs) augsnē ir mazāk sēņu nekā bioloģiskajos laukos un konvencionālajā E laukā. Baktēriju kopskaits mazs. Aktinomicētu kopskaits neliels, bet īpatsvars vidējs – 4,4 %. Baktēriju un sēņu kvv daudzuma attiecība vidēja – 403. Dominē sterilu micēliju veidojošās sēnes un *Mortierella* spp. (39 un 37 % īpatsvars).

Konvencionālā E lauka (13.-15. paraugs) augsnē salīdzinājumā ar pārējiem konvencionālajiem laukiem ir vairāk sēņu, bet apmēram tikpat maz baktēriju. Aktinomicētu ir maz, un to īpatsvars nepārsniedz 2,0 %. Šajā laukā ir samazinājusies baktēriju un sēņu kvv daudzuma attiecība – tā sastāda tikai 75. Izteikti dominē sterilu micēliju veidojošās sēnes (īpatsvars 80 %). Katra no pārējām ģintīm sastāda ne vairāk par 4 %.

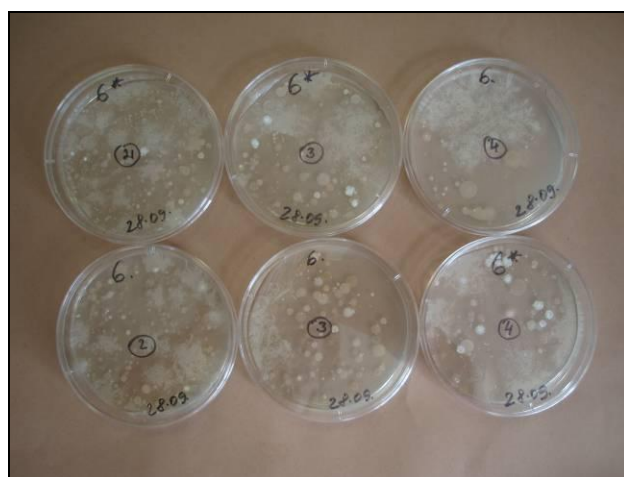
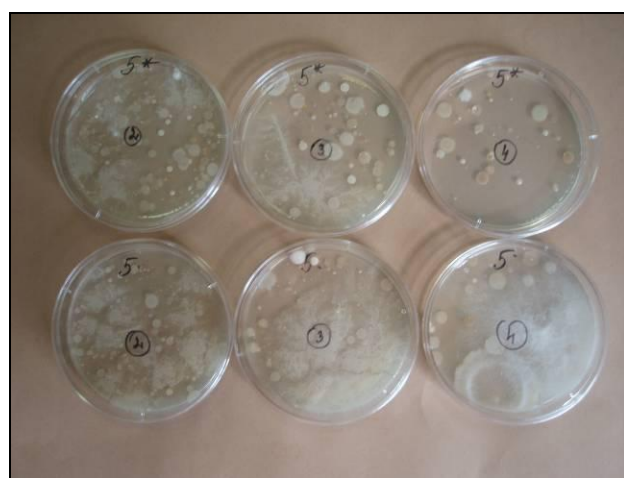
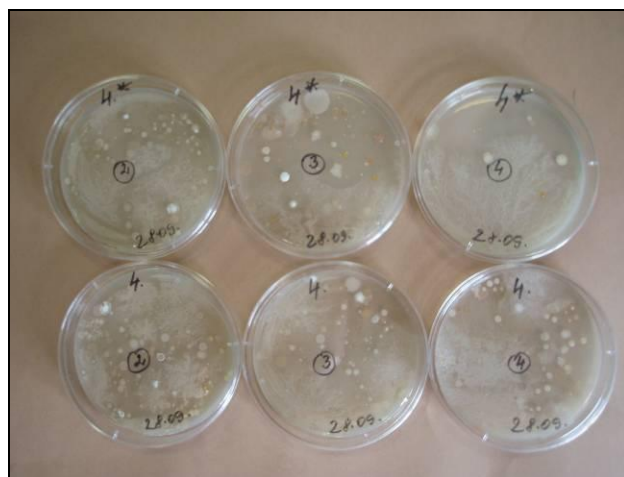
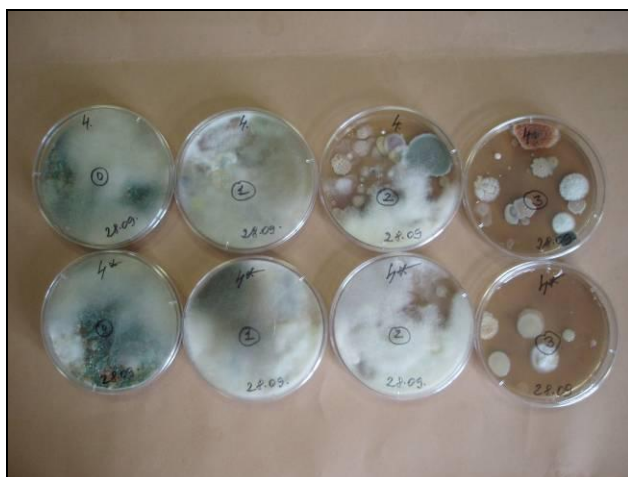
Konvencionālā F lauka (16.-18. paraugs) augsnē ir gan neliels sēņu, gan arī neliels baktēriju kvv/g, taču ir daudz aktinomicētu, vidēji 7,2 % no baktēriju kopskaita. Baktēriju un sēņu kvv daudzuma attiecība ir neliela – 209. No augsnes sēnēm līdzīgi kā iepriekš dominē sterilu micēliju veidojošās sēnes (67 %), otrajā vietā pēc īpatsvara seko *Penicillium* spp. (25 %).

Konvencionālā G lauka (19.-21. paraugs) augsnē tāpat kā pagājušajā gadā ir ļoti maz sēņu kvv – to ir ievērojami ($p < 0,05$) mazāk nekā visās pārējās pētītajās augsnēs. Arī baktēriju kopskaits šeit joprojām ir viens no mazākajiem. Aktinomicētu daudzums neparasti liels, un arī īpatsvars sasniedz 14,4 %. Arī baktēriju un sēņu kvv daudzuma attiecība ir liela – 857. Ar 70 % īpatsvaru dominē sterilu micēliju

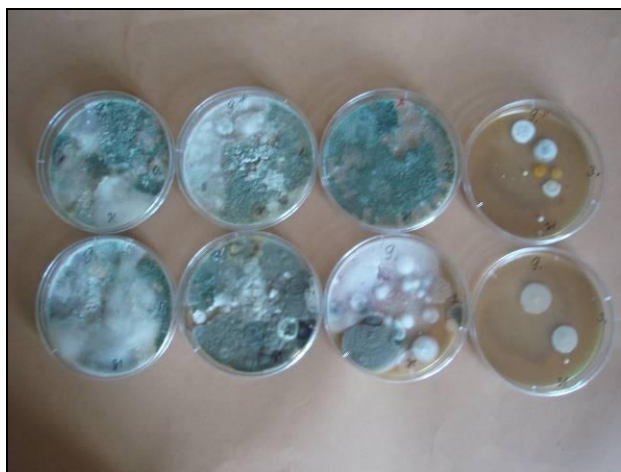
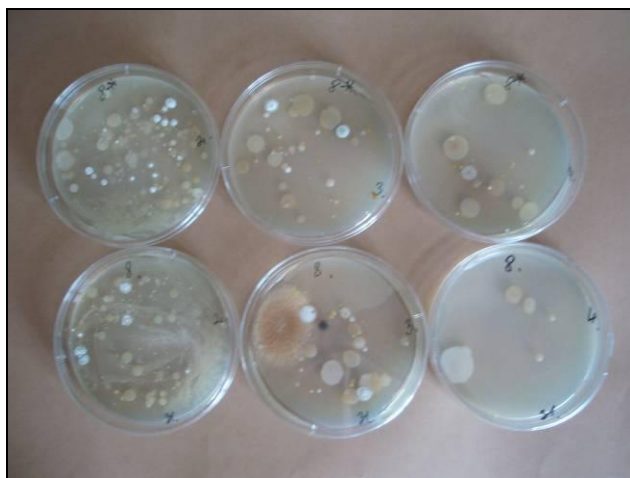
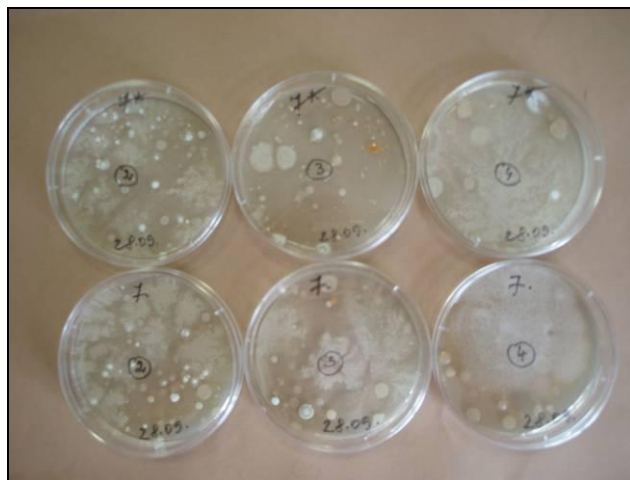
veidojošās sēnes, bet pārējo ģinšu īpatsvars ir diezgan līdzīgs F laukam, izņemot to, ka ir G laukā mazāk *Trichoderma* spp. (tikai 0,5 %).



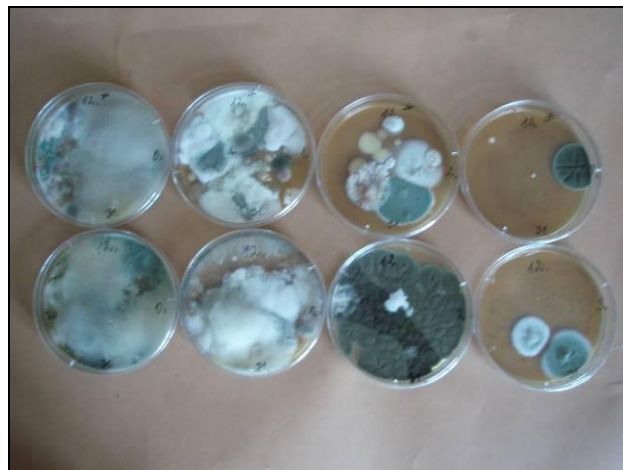
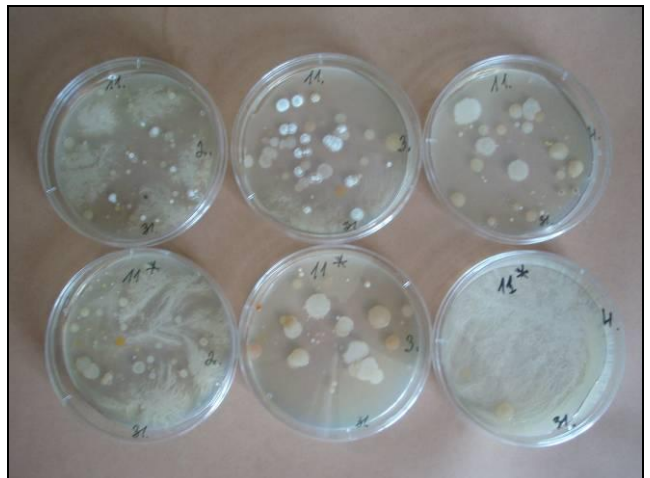
Attēls 16-5. 1., 2. un 3. augsnes suspensijas 10-kārtīgo atšķaidījumu sērijas uzņēmumi uz iesala agara barotnes (kreisajā pusē) un uz rauga ekstrakta-peptona barotnes (labajā pusē) pēc 10 dienu ilgās inkubācijas (foto 2 atkārtojumiem).



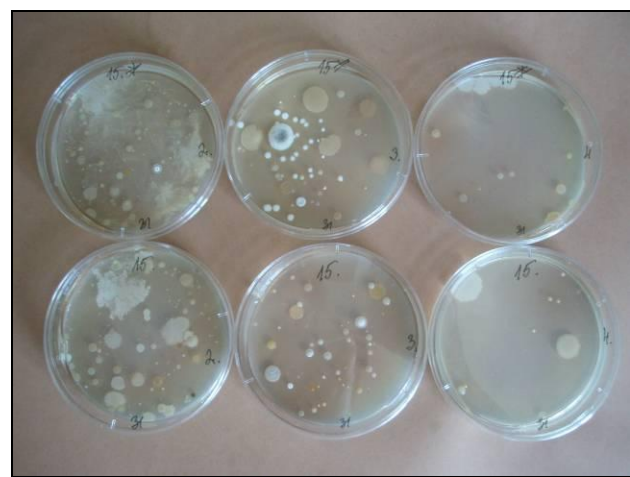
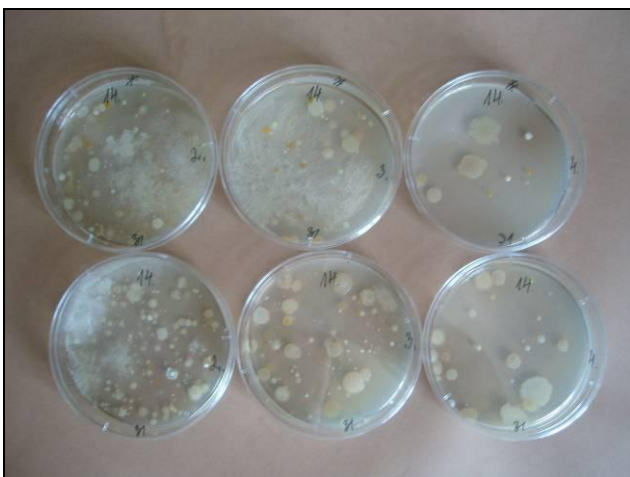
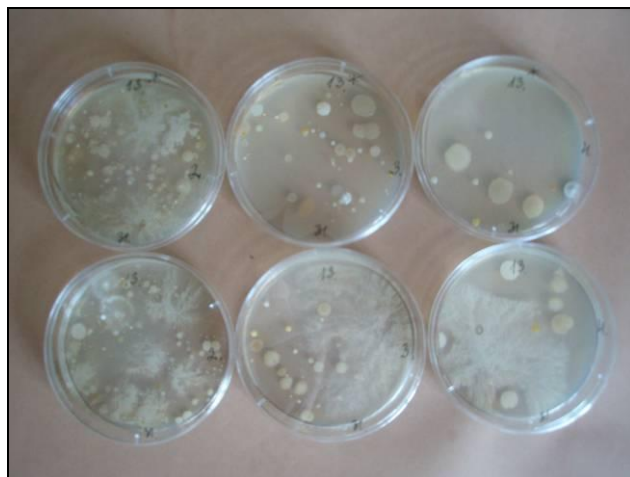
Attēls 16-6. 4., 5. un 6. augsnes suspensijas 10-kārtīgo atšķaidījumu sērijas uzsējumi uz iesala agara barotnes (kreisajā pusē) un uz rauga ekstrakta-peptona barotnes (labajā pusē) pēc 10 dienu ilgas inkubācijas (foto 1-2 atkārtojumiem).



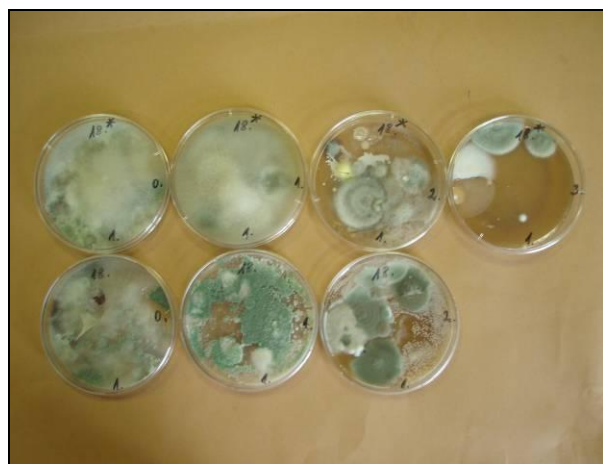
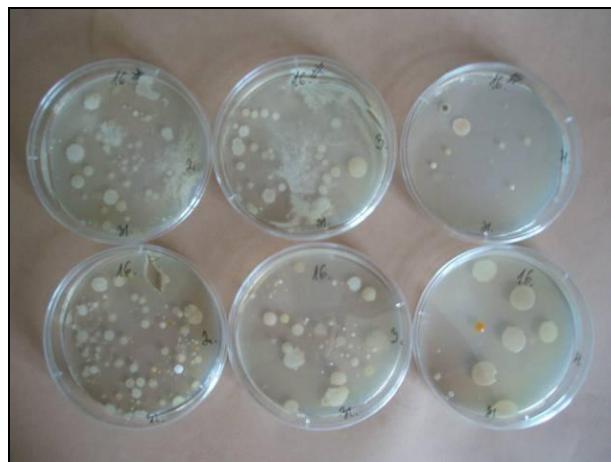
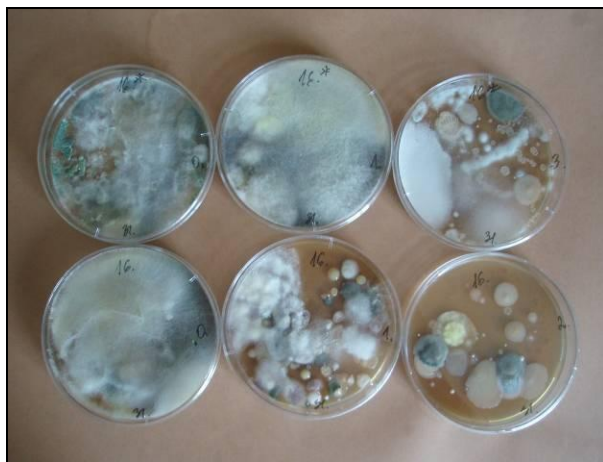
Attēls 16-7. 7., 8. un 9. augsnes suspensijas 10-kārtīgo atšķaidījumu sērijas uzņēmumi uz iesala agara barotnes (kreisajā pusē) un uz rauga ekstrakta-peptona barotnes (labajā pusē) pēc 1 dienu ilgās inkubācijas (foto 2 atkārtojumiem).



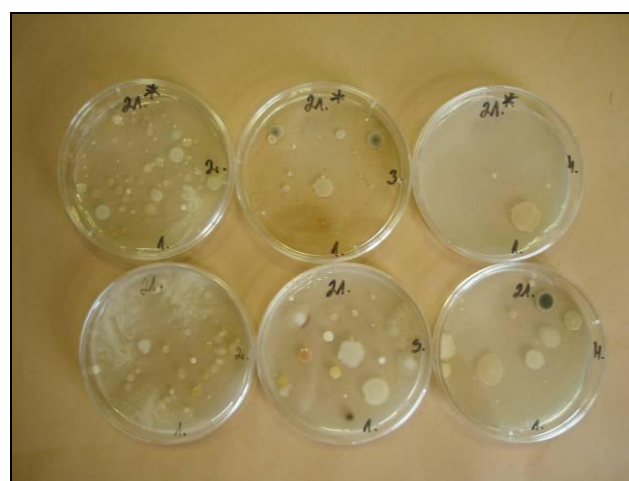
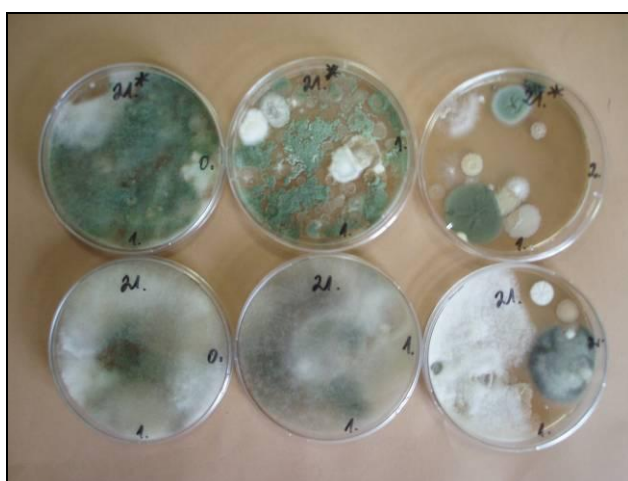
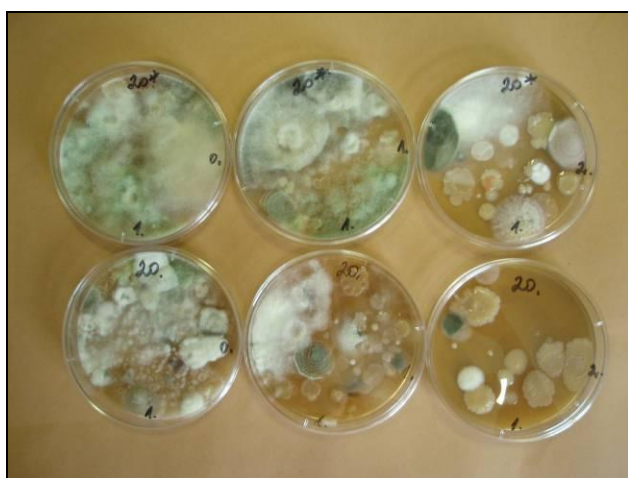
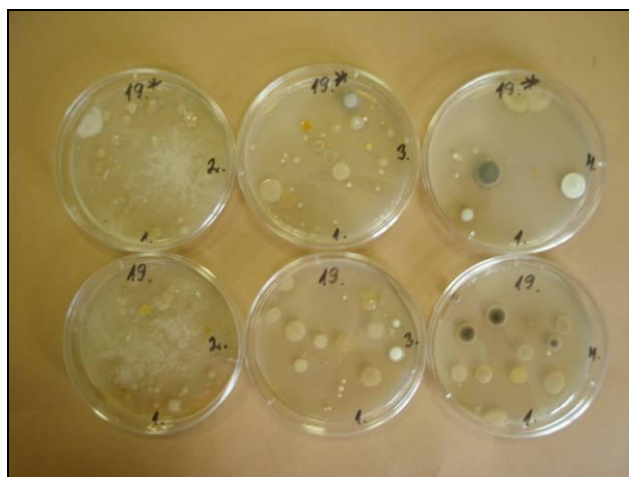
Attēls 16-8. 10., 11. un 12. augsnes suspensijas 10-kārtīgo atšķaidījumu sērijas uzsējumi uz iesala agara barotnes (kreisajā pusē) un uz rauga ekstrakta-peptona barotnes (labajā pusē) pēc 1 dienu ilgas inkubācijas (foto 2 atkārtojumiem).



Attēls 16-9. 13., 14. un 15. augsnes suspensijas 10-kārtīgo atšķaidījumu sērijas uzsējumi uz iesala agara barotnes (kreisajā pusē) un uz rauga ekstrakta-peptona barotnes (labajā pusē) pēc 1 dienu ilgas inkubācijas (foto 2 atkārtojumiem).



Attēls 16-10. 16., 17. un 18. augsnes suspensijas 10-kārtīgo atšķaidījumu sērijas uzsējumi uz iesala agara barotnes (kreisajā pusē) un uz rauga ekstrakta-peptona barotnes (labajā pusē) pēc 1 dienu ilgas inkubācijas (foto 2 atkārtojumiem).



Attēls 16-11. 19., 20. un 21. augsnes suspensijas 10-kārtīgo atšķaidījumu sērijas uzsējumi uz iesala agara barotnes (kreisajā pusē) un uz rauga ekstrakta-peptona barotnes (labajā pusē) pēc 1 dienu ilgas inkubācijas (foto 2 atkārtojumiem).

Visu bioloģisko lauku augšņu un visu konvencionālo lauku augšņu vidējie mikrobioloģiskā sastāva rādītāji apkopoti tabulā 16-5. Redzams, ka konvencionālajos laukos ir būtiski ($p < 0,05$) samazināts vidējais baktēriju daudzums (6,7 reizes).

Tabula 16-5. Bioloģisko un konvencionālo lauku augšņu mikrobioloģiskā sastāva salīdzinājums*

Lauki, attiecība	Sēnes ^a	Baktērijas ^a	Baktērijas ^b		Aktinomicētes, %	Baktērijas/sēnes ^c
			kopskaits	aktinomicētes		
Biol.	52000	590000	29100000	270000	1,7	514
Konv.	29000	125000	4350000	290000	7,0	386
Biol./konv.	1,8	4,7	6,7	0,9	0,2	1,3

* Treknrakstā (*bold*) iezīmēti mikroorganismu skaita rādītāji, kas būtiski ($p < 0,05$) atšķiras.

^a Kultivētas iesala agara barotnē.

^b Kultivētas rauga ekstrakta-peptona agara barotnē. Atsevišķā grupā iedalītas aktinomicētes.

^c Aprēķināta baktēriju un sēņu kopskaita attiecība.

Tabulā 16-6 salīdzināts mikroorganismu daudzums abos kartupeļu laukos (bioloģiskajā C un konvencionālajā E). Šajos abos laukos 2008. gadā auga ziemas rudzi. Bioloģiskajā laukā ir 1,8 reizes vairāk baktēriju, kas izmanto maltozi, un 2,5 reizes vairāk aktinomicētu nekā konvencionālajā laukā, tomēr šīs atšķirības nav statistiski ticamas ($p > 0,05$). Nebūtiski atšķiras arī sēņu kvv daudzums un baktēriju kopskaits.

Tabula 16-6. Bioloģisko un konvencionālo kartupeļu lauku augšņu mikrobioloģiskā sastāva salīdzinājums*

Lauki, attiecība	Sēnes ^a	Baktērijas ^a	Baktērijas ^b		Aktinomicētes, %	Baktērijas/sēnes ^c
			kopskaits	aktinomicētes		
Biol.	46000	250000	4200000	250000	3,1	91
Konv.	68000	140000	5100000	100000	2,0	75
Biol./konv.	0,7	1,8	0,8	2,5	1,6	1,2

* Treknrakstā (*bold*) iezīmēti rādītāji, kas būtiski ($p < 0,05$) atšķiras.

^a Kultivētas iesala agara barotnē.

^b Kultivētas rauga ekstrakta-peptona agara barotnē. Atsevišķā grupā iedalītas aktinomicētes.

^c Aprēķināta baktēriju un sēņu kopskaita attiecība.

Šogad tiek analizēti trīs miežu lauki – viens bioloģiskais (B, priekšaug krustzieži zaļmēslojumam) un divi konvencionālie (D, priekšaug kartupeļi un G, priekšaug vasaras rapsis) (tabula 13-7). D un G laukos augustā nozīmīgi – 52,6 reizes – atšķiras sēņu daudzums, ko var izskaidrot ar iepriekšējo gadu ietekmi.

Tabula 16-7. Konvencionālo miežu lauku (D un G) lauku augšņu mikrobioloģiskā sastāva salīdzinājums*

Lauki, attiecība	Sēnes ^a	Baktērijas ^a	Baktērijas ^b		Aktinomicētes, %	Baktērijas/sēnes ^c
			kopskaits	aktinomicētes		
D	21000	100000	3900000	1700000	4,4	403
G	4200	120000	3600000	520000	14,4	857

D / G	52,6	0,8	1,1	0,3	0,3	0,5
-------	-------------	-----	-----	-----	-----	-----

* Treknrakstā (*bold*) iezīmēti rādītāji, kas būtiski ($p < 0,05$) atšķiras.

- ^a Kultivētas iesala agara barotnē.
- ^b Kultivētas rauga ekstrakta-peptona agara barotnē. Atsevišķā grupā iedalītas aktinomicētes.
- ^c Aprēķināta baktēriju un sēņu kopskaita attiecība.

B un G laukos statistiski ticamas atšķirības novērojamas gan sēņu, gan baktēriju, ieskaitot maltozi izmantojošās, daudzumā (tabula 16-2), un šie visi rādītāji ir lielāki bioloģiskajā laukā. Tajā ir 9,5 reizes vairāk sēņu, 2,7 reizes vairāk maltozi izmantojošo baktēriju, un 5,8 reizes lielāks baktēriju kopskaits. Ir samērā liela datu izkliede par aktinomicētu daudzumu, tādēļ atšķirības nav pierādāmas, bet novērojams, ka G laukā ir vairāk aktinomicētu, kā arī ir lielāks aktinomicētu īpatsvars.

Salīdzinot B un D laukus (tabula 16-2), redzams, ka sēņu un aktinomicētu daudzums būtiski neatšķiras, bet B laukā ir aptuveni 5,4 reizes lielāks baktēriju kopskaits un 3,2 reizes vairāk maltozi izmantojošo baktēriju nekā D laukā.

Pielikums Nr. 17. Leldes Grantiņas atskaite par dalību FEMS kongresā

FEMS 2009 Trešajā Eiropas Mikrobiologu kongresā, Gēteborgā, Zviedrijā (28.06.2009. – 02.07.2009.) sesijā Mikroorganismu daudzveidība (*Microbial diversity*) tika prezentēts referāts „**Managing genetic resources of microbes – a way of sustainable use of soil**” (M. Schloter, Vācija). Prezentētais pētījums bija par to, kā veterinārās antibiotikas ietekmē augsnes mikroorganismus, ja tās nonāk augsnē, piemēram, ar organisko mēslojumu. Pētījumā tika analizēta antibiotika sulfadiazīns. Galvenie rezultāti un secinājumi:

- 1) Pievienojot sulfadiazīnu kūtsmēsliem 160 dienu laikā nenotiek nekāda šīs antibiotikas degradācija; arī pēc iestrādes augsnē degradācija ir ļoti zema;
- 2) Salīdzinot laukus ar dažādu mēslojuma režīmu tika konstatēts, ka, pirmkārt, mikroorganismu populācijas katrā laukā bija ļoti atšķirīgas;
- 3) Nosakot sulfadiazīna ietekmi uz amoniju oksidējošām baktērijām un arhebaktērijām, tika konstatēts, ka vidējas koncentrācijas (10 mg/kg mēslojuma, kas atbilst parastai antibiotiku koncentrācijai kūtsmēslos) samazina amoniju oksidējošo baktēriju daudzumu, bet paaugstina arhebaktēriju daudzumu;
- 4) Sulfadiazīns neietekmē arhebaktēriju un baktēriju daudzveidību;
- 5) Netika konstatēta pret sulfadiazīnu rezistentu mikroorganismu celmu veidošanās.

Tika apmeklētas arī citas kongresa sesijas, kuru tematika ir saistīta ar projektu:

- 1) Augu un mikroorganismu mijiedarbība (*Plant/Microbe interactions*); referātu tematika – batāšu RNS vīrusi (J. Valkonen, Somija); *Xanthomonas* III tipa efektoru proteīnu iedarbība uz saimniekorganismiem (U. Bonas, Vācija); ribosomālo proteīnu funkcionālās genomikas analīze samniekauga un vīrusa mijiedarbībā (S. Whitham, ASV); *Ralstonia solanacearum* III tipa efektoru izpēte (S. Genin, Francija).
- 2) Biodrošība Eiropā (*Biosafety in Europe*); referātu tematika – Eiropas Biodrošības asociācija (EBSA) un tās projekti (B. J. M. Verduin, Nīderlande); biodrošība un arodslimības (M. Kuster); laboratorijas biorisku vadības standarts CWA 15793:2008 (I. Kallings); par letāliem Sibīrijas mēra gadījumiem Lielbritānijā, kuru izcelsme ir afrikāņu bungas (A. Bennett).

Posteru sesijās ar projekta tematika saistīti bija sekojoši posterī:

- 1) **Culture-Independent Analyses of Pseudomonas community structures in soils under Different Agricultural Regimes by DGGE and PCR-based Cloning** (J. T. Tambong, R. Xu, P. S. Bromfield, Kanāda). Tika salīdzināti mēsloji un nemēsloji lucernu lauki. Mēslotajā laukā bija iestrādāti 16,8 kg N/ha, 67,2 kg P/ha un 33,6 kg K/ha. Tika konstatēts, ka *Pseudomonas* ģints baktēriju daudzveidība ir zemāka mēslotajā laukā.
- 2) **Diversity of ammonia-oxidizing bacterial and ammonia-oxidizing archaeal communities during the composting process of cattle manure** (N. Yamamoto, K. Otawa, C. Tada, Y. Suyama, Y. Nakai, Japāna). Pētījuma uzdevumi bija noskaidrot amoniju oksidējošo baktēriju (AOB) un amoniju-oksidējošo arhaju (AOA) struktūru un izmaiņas liellopu kūtsmēsļu kompostēšanas procesa laikā. Paraugi tika ņemti četras reizes 60 dienu kompostēšanas laikā. AOB tika konstatētas augstas temperatūras fāzes laikā (ceturtajā dienā), AOA tika konstatētas otrajā kompostēšanas pusē (25 – 60 dienas). AOA skaits bija daudz lielāks nekā AOB skaits.
- 3) **Monitoring of fungicide resistance of *Botrytis cinerea* on tomato crops in the Canary islands** (A. R. Perez, A. A. Perez, L. De L. Guerra, P. D. Correa, L. G. Llobet, Spānija). Tika noteikta 66 *B. cinerea* izolātu rezistence pret tām fungicīdu grupām (benzimidazoli, dikarboksimīdi, N-fenikarbamāti,

anilinopirimidīni), kuras visbiežāk tiek izmantotas lauksaimniecībā, kā arī noteikt šo celmu sākotnējo jutību pret jaunajiem fungicīdiem (fenhexamid, boscalid) pirms to pielietošanas sākšanas. 74 % izolātu bija augsta rezistence pret karbendazīmu, 68 % bija vāja rezistence pret iprodionu. Rezistence pret dietofencarbu un pirimetanilu bija apmēram 30 %. 40 % izolātu bija rezistentas pret karbendazīmu un iprodionu, vairāk nekā 25 % izolātu bija trīskārša rezistence pret karbendazīmu, iprodionu un pirimetanilu. Pret jaunajiem fungicīdiem rezistence netika novērota.

- 4) **The response of fungal communities to cattle induced disturbance of upland pasture soil** (L. Jirout, J. Ascher, M.T. Cecherini, G. Pietramellara, D. Elhottova, M. Šimek, Čehija, Itālija). Pētījuma mērķis bija raksturot augsnes sēņu sabiedrības izmaiņas, ko rada liellopi augstieņu ganībās pārziemošanas teritorijās. Tika salīdzinātas piecas teritorijas ar dažādu ietekmes pakāpi. Pieaugot liellopu ietekmei paaugstinājās augsnes pH, Ntot, Corg, respirācija un kopējā mikroorganismu biomasa. Tika konstatēts, ka liellopi rada pozitīvu efektu uz kopējo sēņu sabiedrību, bet negatīvu efektu uz arbuskulārās mikorizas sēnēm.
- 5) **Plant – associated pink yeasts: isolation, characterization and screening for biocontrol ability** (F. de Curtis, L. Palmgren, R. Castoria, V. De Cicco, S. A. I. Wright, Itālija, Zviedrija). Sārtie raugi pieder pie *Sporobolomyces*, *Rhodospiridium*, *Rhodotorula*, *Sporodiobolus* un citām ģintīm. No 35 augu sugām tika izolētas 170 raugu izolātas. Lielākā sārto raugu daudzveidība tika konstatēta uz vīģēm (*Ficus carica*). Visbiežāk bija sastopami raugi no ģintīm *Rhodospiridium* un *Rhodotorula*.
- 6) **Biogas residues as fertilizers – effects on plant growth and soil microbiology** (K. Johansson, J. Abubaker, M. Pell, Zviedrija). Eksperimentiem tika izmantoti konteineri ar smilts augsni un dažādiem biogāzes ražošanas blakusproduktiem (biogāzes ražošanas procesa *treating sole*, skābbarības maisījums, destilatoru atkritumi, kautuvju atkritumi, šķiroti mājsaimniecību atkritumi), cūku virca un kontrolei bez mēslojuma un ar NPK. Konteineros 3 mēnešus audzēja vasaras kviešus. Eksperiments tika veikts trīs atkārtojumos, pievienojot dažādu N daudzumu (140 kg N/ha, 70 kg N/ha un 35 kg N/ha). Ražas apjoms (saknes, salmi un vārvas) visos bioloģiskajos mēslojumos pieauga, pieaugot mēslojuma pakāpei. Augstāko ražu deva cūku virca. Visi biogāzes ražošanas blakusprodukti un cūku virca paaugstināja potenciālo amonija oksidācijas pakāpi salīdzinājumā ar NPK.
- 7) **Atrazine Impacts on Microbial Community Structure in Groundwater Environments** (K. M. Talja, M. H. Kontro, Somija). Atrazīna un tā metabolītu ieskalosšanās gruntsūdenī, kas izraisa mikroorganismu bojāeju, ir plaši sastopama problēma. Pētījumā tika salīdzināti tīri gruntsūdeņu vietas ar piesārņotām. Mikroorganismu sabiedrības tika analizētas ar PLFA metodi. Atrazīna klātbūtne ūdenī paaugstināja mononepiesātināto taukskābju īpatsvaru, kas atbilst gram-negatīvām baktērijām, un tuberkulosteariskābes īpatsvaru, kas raksturo aktinomicētes. Kopumā atrazīns paaugstināja mikroorganismu (gram-negatīvo baktēriju un aktinomicēšu) biomasu, bet samazināja daudzveidību.

Kongresā tika prezentēti 2008. gadā projektā iegūtie rezultāti stenda referāta veidā. Referāta nosaukums – „**Microbial diversity in soils of different fields of conventional and biological agriculture**”. Autori - Grantiņa L., Kēnigvalde K., Eze D., Petriņa Z., I. Skrabule, Rostoks N., Nikolajeva V.

Pielikums Nr. 18. Leldes Grantiņas 3. FEMS kongresā demonstrētais stenda referāts



Microbial diversity in soils of different fields of conventional and biological agriculture



Grantina L.^{*}, Kenigvalde K.^{*}, Eze D.^{*}, Petrīna Z.^{*}, Skrabule I.[^], Rostoks N.^{*}, Nikolajeva V.^{*}

^{*} University of Latvia, Faculty of Biology, Kronvalda Blvd. 4, Riga, Latvia

[^] State Priekuli Plant Breeding Institute, Zinatnes Street 1a, Priekull, Cesu District, Latvia

INTRODUCTION

Components of agricultural management regime (crop rotation, tillage, compost, manure, herbicide and fertilizer application) and water regime, are key determinants of microbial community structure in soil. Plant type is also important factor since they are providing microorganisms (MO) with specific carbon sources. Several studies show that organic farming leads to higher soil quality with higher microbiological activity than conventional farming, due to regular crop rotations, reduced application of synthetic nutrients, and the absence of pesticides (Hansen et al., 2000; Shannon et al., 2002). Higher actinomycetes abundance and diversity is reported in organic fields than conventional ones (Drinkwater et al., 1995).

Populations of fungi and thermophilic microorganisms has been recorded to be in significantly higher numbers in soils from organic and sustainable than conventional fields. The diversity of bacterial functional communities is greater in soils from organic farms, while species diversity is similar. The propagule numbers of *Tribodermes* has been shown to be higher in soils from conventional farms. It is assumed that *Tribodermes* sp. may be affected to a lesser extent than other soil fungi following a soil disturbance (after the use of herbicides and pesticides), and are able to quickly colonize niches left by other organisms in conventional fields (Ju et al., 2007; Liu et al., 2008).

Other investigations clearly indicate that the potential fungal community (including spores), investigated by the cultivation-independent approach, is almost entirely uninfluenced by the season, soil type and farming management practices, whereas active population, investigated by the isolation of hyphae using a soil-washing technique, show a clear response to environmental changes (Hajn et al., 2003).

Objectives: Investigate microbial diversity and its seasonal changes in the soil of conventional (potato, winter rye, summer rape seed, barley with vetch) and organic agriculture (potato, winter rye, crucifers (oil radish, oil seed rape, mustard)) fields.

Table 1. Analyzed fields and their characterization

Field number	Crop 2008	Crop 2007	Soil pH H ₂ O	Humus content, %	P ₂ O ₅ mg/kg	K ₂ O mg/kg	Agricultural practices between sampling (June 16, 2008, and 28.08.08)
Organic agriculture							
1	Potato	Clover	6.18	2.8	181	150	Plowing, hedges-cutting
2	Crucifers (oil radish, oil seed rape, mustard)	Potato	6.26	2.7	150	108	cutting up and plowing in soil as green manure, cultivation, sowing of second oil radish
3	Winter rye	Winter rye	7.88	5.5	99	106	Harvesting
Conventional agriculture							
4	Potato	Winter rye	6.08	2.7	158	77	Spraying with fungicides IZODIM, GOLD 2.5 kg/ha (systemic) and SIDA 2.0 kg/ha, harvesting
5	Winter rye	Clover	6.76	3.8	186	138	Harvesting
6	Barley with vetch	Annual rye grass	7.27	5.9	88	80	None
7	Summer rape seed		6.67	2.8	115	100	Spraying with herbicides TRIFLURALIN, CONTRIS 0.8 kg/ha and insecticide METIC 0.4 kg/ha

Table 2. Fertilization regime of conventional fields

Field number	Crop	NPK	Fertilization time, amount, kg/ha
4	Potato	20:20:20	May, 100
5	Winter rye	20:20:20	Autumn 2007, 80
		+additional N (20/1/0),	April, 108
6	Barley with vetch	Without fertilization	0
7	Summer rape	60:30:0	May, 100
		+additional N (20/1/0)	June, 100
		+surface fertilization 18:18:18	June 5

Soil samples were taken in the fields of State Priekuli Plant Breeding Institute on 16.06.08. and on 28.08.08. Organic agriculture fields are treated biologically since year 2004. From each field three samples were sampled considering from the three subsamples taken at 1 m distance from each other on the diagonal of the field. Sampling depth was 10 – 15 cm. Soil type of all biological fields and conventional barley with vetch is soil-podsolic soil (Gleysand) but soil type of other fields is soil-podsolic (sandy loam).

METHODS

The amount and diversity of MO was analyzed by conventional plating:

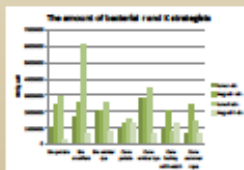
- Bacteria – agarized yeast extract peptone broth inoculated broth Y (at Diagnostic Group, linear 16h/16h), 20±2 °C, after 3 days incubation – 1 ml aliquots, after 10 days – 6-4 strategies.
- Fungi – agarized yeast extract broth (Difco, 200 g/l), 20±2 °C, after 3 days – CFU, after 10 days – dominant BFA.
- The genetic diversity of fungal communities was detected by amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA) – fungal nuclear DNA region (18S-5.8S-18S) and restriction with *Bsa*I. Data were analyzed using software K2204 1D Shannon – Weaver diversity index was calculated using formula $H' = -\sum (p_i \log_2 p_i)$, where p_i is the relative abundance (intensity) of the i th band in the profile.
- The quantity of *Tribodermes* sp. DNA was determined by RT-PCR.

RESULTS AND DISCUSSION



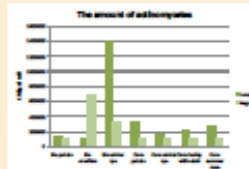
In June the total amount of microbial (CFU) of soil is very variable among all fields (Figure 1). In the soil samples from August each variation cannot be found. We can conclude that during the growing season the amount of bacteria has become more or less equal in all analyzed fields. The reduction of bacterial numbers in both winter rye fields can be explained with the impact of harvesting, but changes in bacterial population of biological crucifers can be explained with green manure that was plowed under and incorporated into the soil, and new crop was sown.

Figure 1. Total amount of bacteria (CFU) of soil



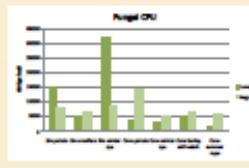
During the summer it can be observed that in all fields except of conventional barley field with vetch there is clear decrease of the amount of bacterial r-streptolysins and increase of the amount of bacterial t-streptolysins (Figure 2).

Figure 2. The amount of bacterial r and t-streptolysins (CFU) of soil



In August the amount of actinomycetes was reduced in all fields with exception of biological crucifers (Figure 3).

Figure 3. The amount of actinomycetes (CFU) of soil



The graph in Figure 4 shows that during the summer the amount of fungal CFU has decreased in biological fields but has increased in conventional fields. The biggest increase can be observed in conventional potato field (fourth) in spite of the use of IZODIM, GOLD that controls leaf and soil-borne diseases, such as pink rot (*Phytophthora* sp.), downy mildew and Pythium rot, and fungicide SIDA that acts against such potato pathogens as *Phytophthora* *sphaeria* and *Alternaria* *solani*. Metabact (one of the two active ingredients of IZODIM, GOLD) has been found to be extremely toxic to soil microorganisms in laboratory conditions (Mondridge et al., 2002).

Figure 4. The amount of fungal CFU (g) of soil.

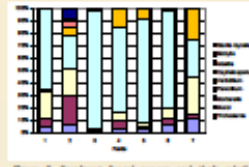


Figure 5. Dominant fungal genera and their relative abundance in the samples from June.

During the summer significant increase of the relative abundance of *steris* mycelia in all analyzed fields has been observed (Figures 5 and 6).



Figure 6. Dominant fungal genera and their relative abundance in the samples from August.



During the summer the decrease of fungal diversity can be observed in the conventional field of winter rye and barley with vetch (Figure 7). In one biological field of winter rye the fungal diversity has increased but in other fields there are no significant changes. The use of fungicides between sampling times and herbicide ZINCOR (0.4 kg/ha) before the first soil sampling in the conventional potato field seems to affect the total fungal diversity of the soil. Although these differences among conventional potato field and other fields are not statistically significant.

Figure 7. Fungal diversity estimated as Shannon – Weaver diversity index.



During the summer in two of biological fields the amount of *Tribodermes* DNA has decreased but in three of conventional fields it has increased. These changes in the abundance of *Tribodermes* sp. DNA partly confirm to the results showed in Figures 5 and 6.

Figure 7. The amount of *Tribodermes* sp. DNA (ng/g of soil)

Table 3. Dynamics of all analyzed groups of microorganisms

Group of MO	Total amount of MO (CFU) / August	Bacterial r-streptolysins / August	Bacterial t-streptolysins / August	Actinomycetes / August	Fungal (total) / August	Fungal diversity (Shannon-Weaver) / August	<i>Tribodermes</i> (DNA) / August	High / (medium) / Low
Micropotato	M/M	M/L	L/M	L/L	M/L	H/H	H/H	4/5/5
Microcrucifers	H/M	H/L	L/M	L/M	L/L	H/H	H/M	5/4/5
Microwinter rye	M/M	M/L	M/L	H/L	H/L	H/H	H/M	5/5/4
Conventional potato	L/M	L/L	L/L	L/L	L/M	M/M	M/M	0/0/0
Conventional winter rye	H/M	M/L	M/M	L/L	L/L	H/M	L/M	3/0/0
Conventional barley with vetch	L/M	L/L	L/L	L/L	L/L	H/H	H/H	4/5/9
Conventional rape seed	L/M	L/L	L/M	L/L	L/L	H/H	H/L	4/2/9

H – High, M – medium, L – low

CONCLUSIONS

All 7 analyzed fields show diverse results with tendency for biological fields to have higher estimates of all analyzed groups of cultivable MO, slightly higher fungal diversity obtained with ARDRA and higher amounts of *Tribodermes* sp. DNA. Such tendency can be explained with yearly usage of pesticides that can cause long term impact on soil microbial populations that dominate over seasonal changes and impact of the crop. In order to prove this statement investigations will be continued in year 2009 and 2010.

ACKNOWLEDGMENTS

We are very thankful to the company Genomika, Ltd. for the possibility to use the Cepheid RT-PCR analyzer. We are thankful to the Ministry of Agriculture of Latvia for financial support.

REFERENCES

- Hansen et al. (2001) *Agric. Ecosyst. Environ.*, 88: 11
- Shannon et al. (2002) *Soil Use Manage.* 18: 274
- Drinkwater et al. (1995) *Soil Appl. Biol. Biochem.* 5: 1288
- Liu et al. (2007) *Applied Soil Biology* 17:2023
- Liu et al. (2008) *Soil Biology & Biochemistry*, 40:1134
- Hajn et al. (2003) *Biol Fert Soil*, 38:238
- Mondridge et al. (2002) *Environmental toxicology*, 15:65

**Pielikums Nr.19. Nila Rostoka atskaite par dalību konferencē ITMI-COST
Clermont-Ferrand, Francija, 31. augusts – 4. septembris, 2009**

Konference bija apvienotais *International Triticeae Mapping Initiative* (ITMI) un Eiropas Savienības COST projekta FA0604 pasākums. Konferencē piedalījās vairāk nekā 300 zinātnieki no 36 pasaules valstīm. Konferencē tika apskatītas vairākas aktuālas augu ģenētikas un genomikas problēmas, piemēram, jaunākās genomikas tehnoloģijas, modeļorganismu un kultūraugu genoma struktūra, salīdzinošā genomika, genomu evolūcija un domestikācija, bioinformātika, augu atbilde uz biotisko un abiotisko stresu. Lai arī lielākais uzsvars konferencē bija uz Triticeae grupas augiem (mieži, kvieši, rudzi), tomēr samērā liela uzmanība tika pievērsta arī kukurūzai, rīsiem, kā arī dažādiem modeļorganismiem, piemēram, *Arabidopsis* un *Brachypodium*. Transgēni (ģenētiski modificēti) augi tiek tradicionāli izmantoti fundamentālos augu ģenētikas pētījumos stingri kontrolējamos apstākļos, lai veicinātu gēnu funkciju izpēti un iespējams arī jaunu augu šķirņu veidošanu, kuras nebūtu ģenētiski modificētas. Vairākas uzstāšanās uzskatāmi parādīja, kā dažādas ģenētisko modifikāciju tehnoloģijas var palīdzēt identificēt gēnus, kas nodrošina izturību pret sausuma un aukstuma stresiem, vai arī pret dažādām slimībām.

Piemēram, Dr. Peter Langridge (*Australian Center for Plant Functional Genomics*, Adelaida, Austrālija) sniedza pārskatu par transģenēzes pielietojumu augu abiotiskā stresa tolerances palielināšanā. Ja ir zināmi gēni, kas saistīti ar abiotiskā stresa izturību (toleranci), tad vistiešākais veids kā izveidot jaunas šķirnes ir transģenēze. Tāpat transģenēzi iespējams izmantot noteiktas pazīmes nosakošu kandidātģēnu validācijai. Tika atzīmēts, ka atrodami gēnu promoteri, kas atbild uz sausuma stresu, tādējādi ļaujot inducēt stresa tolerances gēnus tikai stresa apstākļos. Visbiežāk tie ir augu gēni, kas ienesti citā tās pašas sugas šķirnē un tādējādi tie atbilst cisģenēzes definīcijai. Galvenais uzsvars pētījumos tiek likts uz slāpekļa asimilācijas efektivitāti, sausuma toleranci, augsnes sāļuma toleranci, salnu toleranci un bora toleranci.

Dr. Hirokazu Handa (*Graduate School of Life and Environmental Sciences*, Tsukubas universitāte, Japāna) veica miežu FT gēnu analīzi rīsos, lai noskaidrotu miežu vārpošanas un ziedēšanas molekulāros mehānismus. *HvFT1* gēns inducēja ziedēšanu rīsos gan īsas, gan garas dienas apstākļos. Tādējādi ir izveidota sistēma, kas ļauj noteikt dažādu strukturāli līdzīgu miežu gēnu funkcijas, izmantojot transģenus rīsu augus.

Dr. Sylvie Cloutier (*Cereal Research Center, Agriculture and Agrifood Canada*, Vinipega, Kanāda) ziņoja par Affymetrix DNS čipu pielietojumu trangēnu kviešu slimības izturības mehānismu pētījumos. Arī viņas darbā tika pielietots cisģenēzes princips, saskaņā ar kuru tika izveidotas kviešu līnijas, kuras atšķīrās ar vienu, *Lr1*, gēnu, kas nodrošina izturību pret lapu rūsu. Izveidotā sistēma ļāva analizēt gēnu ekspresijas izmaiņas *Lr1* gēnu saturošajā transģenajā līnijā. Iegūtie rezultāti parādīja iespējamus ar *Lr1* gēnu saistītos slimību izturības signālceļus.

Konference bija pārsvarā veltīta fundamentālām augu genomikas problēmām, un šeit viennozīmīgi parādījās transģenēzes priekšrocības gēnu funkciju noteikšanai.

Pielikums Nr.20. Nila Rostoka konferencē ITMI-COST demonstrētais stenda referāts



Physiology, molecular biology and disease resistance of barley necrotic mutants

Nils Rostoks, Anete Keisa, Krista Kanberga-Silina, Laura Kurina
Faculty of Biology, University of Latvia, 4 Kronvalda Blvd., Riga, LV-1586, Latvia

Summary

Plant necrotic (lesion mimic) mutants show necrotic lesions on various plant parts and elevated level of pathogenesis related (PR) gene mRNAs and reactive oxygen species even in the absence of disease. Necrotic mutants also often exhibit altered resistance to different pathogens, thus, they are a useful tool for understanding mechanisms of hypersensitive response and disease resistance.

Barley *nec1* and *nec3* mutants belong to an initiation class of necrotic mutants. *Nec1* gene that encodes cyclic nucleotide gated ion channel 4 has been cloned and its structure has been characterized (Rostoks et al., 2006), while cloning of *Nec3* gene is still in progress. Despite molecular cloning of the *nec1* gene, signalling pathways leading to its necrotic phenotype are poorly understood.

nec1 mutant is characterized by a reduced stomatal aperture, even though its guard cells respond to abscisic acid, while in *nec3* mutant stomatal aperture is not affected. In this study, *nec1* plants showed elevated concentration of hydrogen peroxide in seedling leaves. Since H₂O₂ is required for ABA-induced stomatal closure (Desikan et al., 2004), elevated concentration of H₂O₂ in the *nec1* mutant may be responsible for observed closure of stomata.

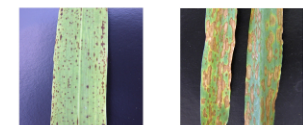
Auxin normally counteracts ABA-induced stomatal closure (Acharya and Assmann, 2009; Tanaka et al. 2006). In this study, synthetic auxin, naphthaleneacetic acid (NAA), further facilitated stomatal closure in parental variety Parkland, but displayed an opposite effect in the *nec1* suggesting that auxin response is altered in the mutant. Reduction of stomatal aperture in the *nec1* mutant defective in a cyclic nucleotide-gated ion channels is consistent with involvement of cyclic nucleotides in regulation of cytosolic Ca²⁺ and stomatal movement in plants (Pandey et al., 2007). Stomatal aperture was not changed in *nec3* indicating that different components of HR signalling pathway are affected in this mutant.

Barley necrotic mutants, e.g., *mlo* and *nec5* (Zhang et al. 2008), have shown increased resistance to fungal pathogens. In this study, interaction of the *nec1* mutant with powdery mildew (*Blumeria graminis* f.sp. *hordei*) was studied; however, there was no difference in penetration efficiency between Parkland and *nec1* mutant, when inoculated with a mixed virulent powdery mildew population. When *nec1* allele was crossed into the *mlo-5* background, no significant difference in penetration efficiency was observed between *nec1* and *Nec1/nec1 mlo-5/mlo-5* suggesting that *nec1* mutation does not affect *mlo*-dependent powdery mildew resistance pathways. *nec1* mutant showed increased expression of antiapoptotic gene BAX inhibitor *Bi* and negative regulator of cell death *Mlo*. *Bi* appears to suppress cell death induced by reactive oxygen species or elevated cytosolic Ca²⁺ level. Overexpression of the *Bi* gene has been shown to break down *mlo*-mediated powdery mildew resistance (Hueckelhoven et al. 2003). Thus, even though the *nec1* mutant expresses many of the biochemical markers associated with disease resistance and plant cell death, it appears to have no link to powdery mildew resistance in barley.

Barley necrotic mutants

Necrotic (lesion mimic) mutants exhibiting spontaneous HR can be categorized into two groups depending on the stage of HR that is altered (Lorrain et al. 2003). Mutants of the initiation class display spontaneous induction of HR, mutants with normal initiation of HR, but incapable to restrict propagation of programmed cell death, belong to the propagation class.

nec1 in Parkland (GSHO1284) *nec3* in Bowman (GSHO2065)

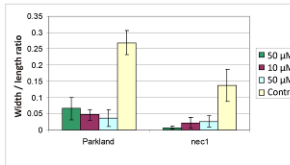


Mutants *nec1* (GSHO1284) and *nec3* (GSHO2065) that both belong to initiation class of necrotic mutants were used throughout the study. The *Nec1* gene has been cloned as an orthologue of *Arabidopsis Hlm1 (Dnd2)* gene encoding cyclic nucleotide gated ion channel 4 (Rostoks et al. 2006). *nec1* is a spontaneous mutant in cultivar Parkland (Fedak et al. 1972) induced by an insertion of MITE element.

nec3.d is a gamma ray mutant in variety Proctor that was back crossed with Bowman to produce GSHO2065 (Frankowiak et al. 2000). Barley *nec3* gene is located on chromosome 6HS, about 29.2 cM distal from the *rob* (orange lemma) locus, and about 16.7 cM distal from the *msh36* (male sterile genetic 36) locus.

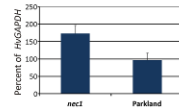
Stomatal aperture and response to abscisic acid and auxin

Stomatal aperture is reduced in *nec1*, but not in *nec3* mutant compared to parental varieties (Rostoks et al. 2008). As expected, application of exogenous abscisic acid (ABA) induced stomatal closure in Parkland and also in *nec1* mutant. However, the addition of exogenous synthetic auxin, α -naphthaleneacetic acid (NAA), resulted in further stomatal closure in Parkland, while in *nec1* statistically significant stomatal opening was observed.



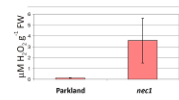
Expression of pathogenesis related and antiapoptotic genes

nec1 mutant is characterized by overexpression of pathogenesis related gene *PR1* (Rostoks et al. 2006) and antiapoptotic gene BAX inhibitor *Bi*, while expression of *Bi* is not changed in the *nec3* mutant (Rostoks et al. 2008). Quantitative real-time PCR showed statistically significant overexpression of the negative cell death regulator *Mlo* gene in leaves of two weeks old *nec1* mutant compared to parental variety Parkland.



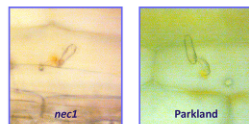
Hydrogen peroxide concentration is elevated in *nec1* mutant

H₂O₂ was quantified spectrofluorometrically in whole leaves of two weeks old plants. H₂O₂ level was significantly elevated in the *nec1* mutant compared to parental variety Parkland.



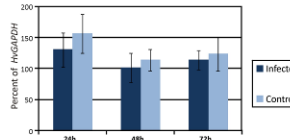
Local production of hydrogen peroxide in response to powdery mildew infection

Local accumulation of H₂O₂ at the infection site was detected using DAB staining 18 h post inoculation with a virulent mixed powdery mildew population. Accumulation of H₂O₂ was observed at the infection sites both in Parkland and in *nec1* mutant.



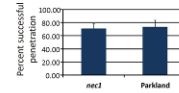
Expression of the *Nec1* gene is not affected by powdery mildew infection

Quantitative real-time PCR was used to study expression of the *Nec1* gene in leaves of two weeks old Parkland plants inoculated with a virulent mixed powdery mildew population. No statistically significant difference in *Nec1* expression was observed between infected and control plants.



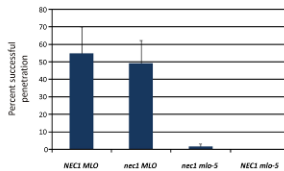
Powdery mildew penetration rates are similar in *nec1* and Parkland

Variety Parkland and the *nec1* mutant do not harbour any known powdery mildew resistance genes. Two weeks old Parkland and *nec1* plants were inoculated with a virulent mixed population of powdery mildew. Infected barley leaves were harvested 48h post inoculation; penetration efficiency was calculated as a percentage of interaction sites with developed haustoria from the total number of spores with developed appressoria. No statistically significant difference was observed in penetration efficiency between *nec1* mutant and parental variety Parkland.



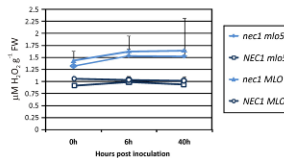
nec1 mutation does not affect penetration efficiency in *mlo-5* genetic background

F4 segregants from a cross between GSHO1284 (*nec1*) and N8G9276 (*mlo-5*) possessing all four possible genotype combinations at the *Nec1* and *Mlo* loci (*nec1/nec1 mlo-5/mlo-5*; *Nec1/Nec1 Mlo/Mlo*; *nec1/nec1 Mlo/Mlo*; *Nec1/Nec1 mlo-5/mlo-5*) were infected with a virulent mixed powdery mildew population. As expected, penetration efficiency was lower in *mlo-5* genetic background, but the difference in penetration efficiency between *nec1 mlo-5* double mutant and *Nec1 mlo-5* plants was not significant.



Hydrogen peroxide concentration is elevated in *nec1* lines in the *mlo-5* background

F4 segregants (*nec1/nec1 mlo-5/mlo-5*; *Nec1/Nec1 Mlo/Mlo*; *nec1/nec1 Mlo/Mlo*; *Nec1/Nec1 mlo-5/mlo-5*) were infected with a virulent mixed powdery mildew population and the concentration of H₂O₂ was quantified spectrofluorometrically in whole leaves of two weeks old plants during the infection. As expected, the concentration of H₂O₂ was higher in *nec1* mutant and it was not affected in *mlo-5* genetic background. Slight increase of total H₂O₂ was observed in *nec1* plants at 6 h post inoculation.



References

- Acharya RR and Assmann SM (2009) Hormone interactions in stomatal function. *Plant Mol Biol*, 69:451
- Desikan R et al. (2004) ABA, hydrogen peroxide and nitric oxide signalling in stomatal guard cells. *J Exp Bot*, 55:205
- Fedak G et al. (1972) Use of monobromoisocitric acid for linkage mapping in barley. *Can J Genet Cytol*, 14:949
- Frankowiak J et al. (2000) Morphological markers for barley in 'Bowman' background-derived lines. In: Logue S (ed) *Barley Genetics VIII. Proceedings of the 8th International Barley Genetics Symposium*, pp.145-150
- Hueckelhoven et al. (2003) Overexpression of barley BAX inhibitor 1 induces breakdown of *mlo*-mediated penetration resistance to *Blumeria graminis*. *PNAS*, 100:5555
- Lorrain et al. (2003) Lesion mimic mutants: keys for deciphering cell death and defense pathways in plants? *Trends Plant Sci*, 8:263
- Pandey et al. (2007) Roles of ion channels and transporters in guard cell signal transduction. *FEBS Lett*, 581:2325
- Rostoks N et al. (2006) Barley necrotic locus *nec1* encodes the cyclic nucleotide-gated ion channel 4 homologous to the *Arabidopsis HLM1*. *Mol Genet Genomics*, 275:159
- Rostoks N et al. (2008) Characterization of candidate genes for barley necrotic mutants. *Plant GEM*, 7, October 24-29, Albania, Bulgaria
- Tanaka et al. (2006) Cytokinin and auxin inhibit abscisic acid-induced stomatal closure by enhancing ethylene production in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 57:2259
- Zhang et al. (2008) A cation/proton-exchanging protein is a candidate for the barley *Nec3* gene controlling necrosis and enhanced defense response to stem rust. *TAG*, 118:385

Acknowledgments

The study was funded by a grant 09.1035 from Latvian Council of Science and a grant ZP-59 from University of Latvia to NR.



Pielikums Nr.21. Leldes Grantiņas atksaite par dalību 2. Centrāleiropas Mikrobioloģijas forumā, Keszthely, Ungārija (07.10.2009. – 09.10.2009)

Foruma sesijā Lauksaimniecības un mežu mikrobioloģija (*Agricultural and Forest Microbiology*) tika prezentēti šādi referāti:

- 1) Microbiological characterization of forest samples contaminated by de-icing fluids (B. Libisch, I. Villanyi, A. Fuzy, M. Domonkos, B. Balint, B. Biro). Pētījumā tika analizēti augsnes paraugi, kas paņemti pie Oslo starptautiskās lidostas vāji podzolētās meža augsnēs. Tika noteikts kopējais mikroorganismu (MO) skaits un piesārņojumu noārdošo MO skaits. Piesārņojošās vielas – propilēnglikols un citas pretsasalšanas vielas. MO paraugi tika iegūti no augsnē ievietotiem lizimetriem. Vislielākā MO aktivitāte tika konstatēta 20 – 30 cm dziļumā. Dominēja aerobās heterotrofās baktērijas. Mazāk bija anaerobās baktērijas un mikroskopiskās sēnes.
- 2) Isolation, identification and characterisation of predatory bacterial strains (L. Hatvani, V. S. Fenyvesi, Cs. Vagvolgyi, L. Manczinger). Ķīmiskie pesticīdi, kurus izmanto lauksaimniecībā pret augiem patogēnām baktērijām, var kaitēt arī citām dzīvām būtnēm apstrādātajā teritorijā. Šo efektu var mazināt izmantojot plēsīgu baktēriju celmus integrētas kaitēkļu kontroles ietvaros. Pētījuma uzdevums bija iegūt un raksturot *Bdellovibrio* un tām līdzīgus organismus (BALO), kurus varētu izmantot tādu augu patogēno baktēriju kā *Pseudomonas syringae* un *Xanthomonas campestris* kontrolē. Tika iegūti 5 BALO celmi, kas tika identificēti kā *Peredibacter starrii*. Tie visi bija efektīvi pret *X. campestris*.
- 3) The study of the metal contents of some dominant plants and phyllospheric microorganisms on Upper-Tisza area (M. Toth, S. Balazsy, O. Terek, M. Kobyletska, O. Patsula, J. Halasz, Z. Dinya). Pētījuma uzdevums bija 2007. – 2009. gadā analizēt smago metālu saturu Tisas upes un sateces baseina augsnēs un augos. Tika konstatēta pozitīva korelācija starp smago metālu saturu augsnē un baktēriju daudzumu uz augu virsmas.
- 4) Extracellular enzyme systems involved in the pathogenesis of *Trichoderma pleurotum* towards oyster mushroom (L. Hatvani, S. Sarrocco, G. Vannacci, M. Forti, L. Manczinger, Cs. Vagvolgyi, L. Kredics). *Trichoderma pleurotum* izraisa zaļā pelējuma slimību austersēnēm. Pētījuma uzdevums bija noteikt *T. pleurotum* ekstracelulāro enzīmu lomu patogēnēzes procesā. Kā svarīgākie enzīmi tika konstatēti proteāzes, lipāzes, hitināzes un glukonāzes. Šo enzīmu trūkums būtiski samazina *T. pleurotum* mukoparazītisko potenciālu.
- 5) The effects of herbicides on the growth of *S. meliloti* strains (M. Blazinkov, I. Sudarevic, K. Baric, S. Sanja, S. Redzepovic). Bioloģiskajai slāpekļa fiksēšanai ir būtiska loma ilgtspējīgā lauksaimniecībā. Lai paaugstinātu slāpekļa fiksāciju, tiek ieteikts inokulēt lucernu ar piemērotiem *Sinorhizobium*

meliloti celmiem. Šiem celmiem jābūt herbicīdtolerantiem. Pētījumā tika noteikts tādu herbicīdu kā imazamox, tifensulfuron-metil un fomesafen ietekme uz šo baktēriju celmiem. Dažiem rizobiju celmiem tika novērots negatīvs efekts, bet tikai pie visaugstākajām herbicīdu koncentrācijām (10 000 ppm). Tika konstatēts, ka, tā kā celmu jutība ir dažāda, tie jāpārbauda lauka apstākļos.

Šajā sesijā tika nolasīta mutiska prezentācija „**Microbial diversity in fields of conventional and organic agriculture: results of two years long investigations**” (L. Grantiņa, K. Kēnigvalde, D. Eze, Z. Petriņa, I. Skrabule, N. Rostoks, V. Nikolajeva). Sesijas vadītāja Borbara Biro ieteica pētījumus turpināt ilgāku laiku, jo divi gadi ir pārāk mazs laiks, lai redzētu atšķirības starp bioloģisko un konvencionālo lauksaimniecību.

Tika apmeklētas arī citas foruma sesijas, kuru tematika ir saistīta ar projektu:

- 1) Plenārsesija – Vācijas Mikroorganismu un šūnu kultūru kolekcijas pārstāvja H.-P. Klenka prezentācija „*A Genomic Encyclopedia for Bacteria and Archea*” par projektu, kurā sadarbībā ar ASV Apvienotā genoma institūtu, tiek plānots veikt apm. 9000 baktēriju un arhebaktēriju genomu sekvenēšanu, lai izveidotu Baktēriju un arhebaktēriju genomisko enciklopēdiju (***Genomic Encyclopedia for Bacteria and Archea*** (GEBA)). Projektā ir iesaistīta arī Rēgensburgas Universitāte. Patlaban ļoti plaši ir nosekvēnēti prokarioti no *Proteobacteria*, *Actinobacteria* un *Firmicutes*. Projektā sekvenējamie organismi tiks izvēlēti tā, lai tiktu aptvertas visas filoģenētiskās grupas, īpašu uzmanību veltot nekultivējamiem organismiem, kas līdz šim nav sekvenēti. Pašlaik projektā tiek sekvenēti 250 mikroorganismi. Projektā ir izstrādātas arī metodes un standarti (*Overview of available genomes* (GOLD), *Comparative genomics* (img), *Standartisation of genome anotation* (GSC), *Dissemination of results* (SIGS)). Sekvenētie genomi pieejami *Genome Online Database* (genomesonline.org). Patlaban ir noslēgusies projekta pilotfāze, kurā ir nosekvēnēti 56 genomi (0.5 – 10 Mbp), identificētas daudzas proteīnu kodējošo gēnu grupas. Prognozē, ka pēc 5 gadiem viena genoma sekvenēšana maksās 100 EUR.
- 2) Plenārsesija – Zagrebas Universitātes, Zinātņu fakultātes, Bioinformātikas grupas pārstāvja Kristiana Vlahovičeka prezentācija „Codon usage at the level of microbial communities”. Sinonimālie kodoni visām MO grupām nav vienādi izplatīti. GC saturs dažādām MO sugām ir atšķirīgs. Viena atsevišķa genoma ietvaros tiek izvēlēti kodoni, kas atbilst tRNS molekulu sastopamībai un mRNS foldingam. Tas attiecas, piemēram, uz ribosomālajiem proteīniem, elongācijas faktoriem un čaperoniem. MO sabiedrības uzvedas kā metagenoms - koevolūcija, vides apstākļu izraisīta funkciju optimizācija, horizontāla gēnu pārnese. No metagenomiem iegūstamo sekvenču skaits var būt dažāds – raktuvju skābajos notekūdeņos ir tikai 3 sugas, no Minesotas lauksaimniecības augsnes var iegūt 102 879 sekvenču, no Sargasu jūras ūdens parauga – 688 539 sekvenču. Ar bioinformātiskām metodēm tika analizēts

vaļa skeleta metagenoms. Vaļa skelets – nebeidzams barības vielu avots mikroorganismiem.

- 3) Mikoloģija (Mycology) – svarīgākās tēmas saistītas ar mikotoksīnus producējošu sēņu un klīniski patogēnu *Aspergillus* sugu taksonomiju.
- 4) Vides mikrobioloģija (Environmental Microbiology) – svarīgākās tēmas saistītas ar MO sabiedrību raksturojumu piesārņotos gruntsūdeņos, industriālās biofilmās, notekūdeņu attīrīšanas iekārtu aktīvajās dūņās, Budapeštas dzeramajā ūdenī, Ungārijas upēs u.c.

Posteru sesijās ar projekta tematiku saistīti bija sekojoši stenda referāti:

- 1) Effects of long-term fertilizations on abundance and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi under maize cropping system (Z. Sasvári, G. Csima, Z. Berzsenyi, K. Posta) – salīdzinot organiskā un neorganiskā mēslojuma ietekmi, tika konstatēts, ka organiskā mēslojuma ietekmē palielinās arbuskulārās mikorizas (AM) sēņu daudzveidība. Savukārt neorganiskais mēslojums palielina atsevišķu AM sēņu īpatsvaru – *Glomus-Ad*, *Glomus-Ac* grupas. Tika konstatētas arī AM sabiedrību sezonālas izmaiņas. Tā kā pētījums tika veikts vienu gadu, tiek secināts, ka šo izmainu skaidrošanai nepieciešams pētījumus turpināt.
- 2) Real case application of commercial mycorrhiza product „SYMBIVIT” in the horticulture (G. Csima, A. G. Csorbainé, T. Kassai, K. Posta).
- 3) Formation of fungicide resistance levels in *Botrytis cinerea* in different wine regions of Hungary (Z. Váczy, K. Z. Váczy, T. Kaptás, E. Sándor).

**Pielikums Nr.22. Leldes Grantiņas 2. Centrāleiropas Mikrobioloģijas forumā
lasītā referāta kopsavilkums**

***Microbial diversity in fields of conventional and organic agriculture – results of two
years long investigations***

Lelde Grantina^{1*}, Kristine Kenigšvalde¹, Daina Eze¹, Zaiga Petrīna¹, Ilze Skrabule²,
Nils Rostoks¹ and Vizma Nikolajeva¹

¹*Faculty of Biology, University of Latvia, Riga, Latvia*

²*State Priekuli Plant Breeding Institute, Zinatnes Street 1a, Priekuli, Cesu District, Latvia*

Components of agricultural management regime (crop rotation, tillage, compost, manure, herbicide and fertilizer application) and water regime, are key determinants of microbial community structure in soil. Plant type is also important factor since they are providing microorganisms with specific carbon sources.

Several studies show that organic farming leads to higher soil quality with higher microbiological activity than conventional farming, due to regular crop rotations, reduced application of synthetic nutrients, and the absence of pesticides (Hansen et al., 2001; Shannon et al., 2002). Higher actinomycete abundance and diversity is reported in organic fields than conventional ones (Drinkwater et al., 1995).

Populations of fungi and thermophile microorganisms have been recorded to be in significantly higher numbers in soils from organic and sustainable than conventional fields. The diversity of bacterial functional communities is greater in soils from organic farms, while species diversity is similar. The propagule numbers of *Trichoderma* has been shown to be higher in soils from conventional farms. It is assumed that *Trichoderma* sp. may be affected to a lesser extent than other soil fungi following a soil disturbance (after the use of herbicides and pesticides), and are able to quickly colonize niches left by other organisms in conventional fields (Liu et al., 2007; Liu et al., 2008).

Other investigations clearly indicate that the potential fungal community (including spores), investigated by the cultivation-independent approach, is almost entirely uninfluenced by the season, soil type and farming management practices, whereas active population, investigated by the isolation of hyphae using a soil-washing technique, show a clear response to environmental changes (Hagn et al., 2003).

Objectives of the investigation were to determine the microbial diversity in the soil of four conventional and three organic agriculture fields during two year period.

The amount and diversity of MO was analyzed by conventional plating. The amount of bacterial-K-strategists and bacterial-r-strategists was estimated. The genetic diversity of fungal communities was detected by ARDRA. The quantity of *Trichoderma* spp. DNA was determined by RT-PCR. Soil samples were obtained two times in each growing season (on June and August). Organic agriculture fields are established in year 2003. They are fertilized only with green manure. Depending from the crop conventional fields receive different pesticides and fertilization.

Conclusions are that all seven analyzed fields show diverse results with tendency for organic fields to have higher diversity of cultivable microorganisms, higher fungal diversity estimated with ARDRA and higher amounts of *Trichoderma* spp. DNA. Such tendency can be explained with yearly usage of pesticides in conventional fields that can cause long term impact on soil microbial populations that dominate over seasonal changes and impact of the crop. In order to prove this statement investigations will be continued in year 2010.

Pielikums Nr.23. Anetes Keišas atskaite par dalību konferencē „8th Plant genomics European meeting”, Lisabona 7-10.oktobris, 2009

Lai iepazītos ar jaunākajiem pētījumiem ĢM augu jomā Eiropā tika apmeklēta 8.Eiropas Augu Genomikas konference.

Konferences laikā tika nodibināti kontakti ar vairākiem Eiropas vadošajiem pētniekiem ĢMO jomā. Kā īpaši nozīmīgs minams Gaterslēbenes Augu Ģenētikas un Laukaugu Pētniecības Institūta (IPK-Gatersleben) Augu transformācijas laboratorijas vadītājs Dr.Kumlēns. IPK-Gatersleben ir viens no lielākajiem augu ģenētikas pētniecības institūtiem Eiropā, kurā tiek veikti arī pētījumi par ģmo drošības jautājumiem, kā arī jau vairākus gadu desmitus sekmīgi notiek transgēno augu izveide. Institūtā ĢM augu izveidē tiek pielietota laba laboratorijas prakse un ievēroti gan Eiropas Savienības, gan Vācijas noteiktie drošības ierobežojumi darbam ar ĢMO. Nodibinātie kontakti liks pamatu turpmākai praktiskai sadarbībai. Ir uzsāktas sarunas par IPK-Gatersleben kapacitātes izmantošanu ar ĢM augiem saistītu zinātnisku pētījumu veikšanai sadarbībā ar Latvijas zinātniekiem.

Konferences laikā arī iegūta informācijas par jaunākajiem pētījumiem par ĢM augu praktisko pielietojamību farmācijā un pārtikas rūpniecībā, kā arī ar šiem pētījumiem saistītajiem drošības jautājumiem. Jau vairāku gadu garumā pasaules vadošie ĢMO uzņēmumi cenšas izveidot un ieviest plašā patēriņā ĢM augu izcelsmes farmācijas produktus, tomēr pagaidām sarežģītie administratīvie procesi, kas saistīti ar ĢMO drošības jautājumiem, nav ļāvuši šiem produktiem nonākt līdz atklātam tirgum. Pēc Dr.Gleba sniegtās informācijas pirmie šāda tipa farmācijas produkti varētu parādīties Eiropas tirgū ap 2012.gadu. Arī lauksaimniecības jomā ĢM augu praktisks pielietojums sastopas ar šķēršļiem, tomēr kopš zinātniskajos pētījumos kā prioritāri tiek ņemti vērā biodrošības jautājumi, jaunās ĢMO līnijas tiek veidotas aizvien drošākas. Tā, piemēram, Dr.Broer ziņoja par transgēno kartupeļu izveidi, kuros mērķtiecīgi tika selekcionēta zema salciētība, kas nodrošina ĢM kartupeļu neizplatīšanos pat ja kāds no ĢM augiem saglabājas augsnē pēc ražas novākšanas.

Kopumā konferences apmeklējums vērtējams kā sekmīgs, jo iegūta informācija par jaunākajiem jautājumiem, kas skar ĢMO drošību, kā arī nodibināti kontakti, kas ļaus Latvijas zinātniekiem izmantot ārzemju laboratoriju kapacitāti un pieredzi ĢM augu izveidē.

Pielikums Nr.24. Anetes Keišas konferencē „8th Plant genomics European meeting” demonstrētais stenda referāts

Characterization of powdery mildew resistance of barley lesion mimic mutant *nec1*

Anete Keiša*, Krista Kānberga-Silliga*, Nils Rostoks*

*Faculty of Biology, University of Latvia, 4 Kronvalda Blvd., Riga, LV01586 Latvia

Powdery mildew is considered to be one of the most economically deleterious and widespread fungal diseases of barley. Although several major genes and their mutations ensuring powdery mildew resistance in barley are well characterised and successfully applied in barley breeding, the knowledge concerning detailed signalling pathways of powdery mildew resistance is still missing. Hypersensitive response (HR) or localised plant cell death induced in response to pathogen infection is an important part of plant defence system which also contributes to some types of powdery mildew resistance. Plants developing spontaneous HR or lesion mimic mutants (LMM) have proved to be a useful tool for plant HR studies. In addition, plant LMM often show altered resistance to various pathogens. Here we have undertaken a study on barley LMM *nec1* comprising mutation of cyclic nucleotide-gated ion channel 4 (CNGC4). Barley *nec1* plants develop spontaneous necrotic lesions and constitutively express pathogenesis related genes. The study describes experiments elucidating role of *nec1* mutation on basal and *mlo* mediated race non-specific powdery mildew resistance.

Aim of the study

CNGC4 belongs to the large ion channel family, which is represented by 20 members in *Arabidopsis* (Kaplan et al. 2007). Compared to animal CNGCs which are well known for their role in light sensing and olfactory receptors, the physiological role of plant CNGCs is poorly understood. Several important physiological roles including stress response, cell death regulation and plant development have been assigned to plant CNGCs (Talke et al. 2003). Until now only a few CNGC have been cloned and characterised in barley. Genetic characterisation of lesion mimic mutants in barley resulted in discovery of *NEC1* - homologue of *AtCNGC4* (Rostoks et al. 2006).

AtCNGC4 is considered to be involved in disease resistance in *A. thaliana*. Mutants *dn2* and *hlm1* which lack functional CNGC4 both show constitutively elevated pathogenesis-related responses and comprise impaired disease resistance against bacterial pathogen *Pseudomonas syringae* (Balague et al. 2003; Jurkowski et al. 2004). Although the role of CNGC4 in resistance against bacterial pathogens is well known, effect of CNGC4 on fungal infection has not yet been characterised neither in *Arabidopsis* nor in barley.

Since powdery mildew is one of the most economically deleterious pathogens of barley, we have investigated the effect of *nec1* mutation on powdery mildew resistance in barley.

Putative role of *nec1* in powdery mildew resistance

Barley employs several different strategies to prevent infection or to restrict spread of powdery mildew. Firstly, race non-specific strategy based on prevention of powdery mildew penetration is employed by barley cultivars bearing mutations in the cell death regulation related gene *MLO*. Secondly, race specific powdery mildew resistance requires recognition of the pathogen and induction of specific set of genes initiating localised cell death and preventing pathogen from the further spread. Thirdly, basal resistance to powdery mildew which employs SA signalling pathway and ensures that powdery mildew penetration efficiency never reaches 100% even on susceptible barley cultivars.

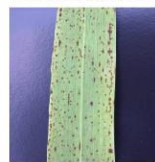


Figure 1. Lesion mimic phenotype of *nec1*

The initial hypothesis of *nec1* playing a role in barley powdery mildew resistance was based on several observations – firstly, *nec1* plants show necrotic phenotype (Figure 1) allowing to assume that *Nec1* might affect regulation of cell death. Secondly, it is assumed that CNGC4 might be permeable to Ca^{2+} and its permeability is downregulated by calmodulin.

Both observations are relevant for powdery mildew resistance, since localised programmed cell death restricts spread of powdery mildew infection during race-specific interaction with alleles of *Mla* and *Mlg* genes, while Ca^{2+} /CaM signalling regulates race non-specific powdery mildew resistance (Kim et al. 2002).

Role of *nec1* in race non-specific powdery mildew resistance triggered by *mlo-5*

Plant cell wall protein *MLO* is required for powdery mildew to penetrate the cell wall of plant (Panstruga et al. 2005). Any mutation rendering *MLO* gene non-functional results in race non-specific powdery mildew resistance in barley, therefore *mlo* mutations have been successfully used in barley breeding for decades. Despite the extensive studies, from the molecular point of view mechanisms directing *mlo* mediated resistance are still unclear. Only several components of the resistance pathway have been identified. Thus, it has been reported that *MLO* requires Ca^{2+} /CaM signalling to ensure powdery mildew penetration (Kim et al. 2002). In addition, over-expression of anti-apoptotic gene *Bi-1* restores susceptibility of fully resistant *mlo* mutants (Hückelhoven et al. 2003). Here we show that *Bi-1* and *MLO* are statistically significantly over-expressed in *nec1* mutant (Figure 2), which might indicate a putative effect of *nec1* on *MLO* mediated signalling pathway.

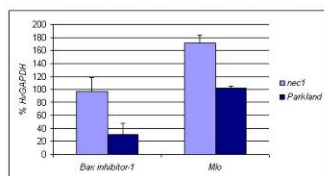


Figure 2. Relative expression levels of *Bi-1* and *MLO* in necrotic mutant *nec1* and parental variety 'Parkland'

References

- Balague C., Lin B., Alcon C., Ploetes G., Malinštröm S., Köhler C., Neuhaus G., Plettler G., Gaymand F., Roby D. 2005. *HLM1*, an essential signaling component in the hypersensitive response, is a member of the CNGC ion channel family. *Plant Cell* 17: 365–379.
- Collins M. C., Thordal-Christiansen H., Lipka, V. B. S., Konbrink E., Olu J.-L., Hückelhoven R., Stein M., Freialdenhoven A., Sonnerville S. C., Scholze-Lefert P. 2003. SNARE-protein-mediated disease resistance at the plant cell wall. *Nature* 425: 973–977.
- Hückelhoven R., Dechert C., Kögel K.H. 2003. Overexpression of barley *BAX inhibitor 1* induces breakdown of *mlo*-mediated penetration resistance to *Blumeria graminis* f. sp. *Hordei*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100: 5555–5560.
- Jurkowski G. L., Smith R. K., Yu C., Han H. J., Sharma S. B., Niesly F., Fiegler K. A., Bent A. F. 2004. Arabidopsis *CNGC4*, a second cyclic nucleotide-gated ion channel gene for which mutation causes the 'Defenseless' phenotype. *Mol. Plant Microbe Int.* 17 (5): 513–520.
- Kaplan B., Sherman T., Froman H. 2007. Cyclic nucleotide-gated channels in plants. *FEBS Lett* 581(12): 2237–2248.
- Rim M. C., Panstruga R., Elliott C., Müller J., Devoto A., Yoon H.W., Park M.C., Cho M.J., Scholze-Lefert P. 2002. Calmodulin interacts with *MLO* protein to regulate defence against mildew in barley. *Helv. Annot. Bot.* 416: 447–450.
- Rostoks N., Schiemer D., Muttis S., Dräber T., Bruiggeman R., Calhoun D. G., Waugh P., and Kleinhofs A. 2005. Barley necrotic locus *nec1* encodes the cyclic nucleotide-gated ion channel 4 homologue to the Arabidopsis *HLM1*. *Mol. Genet. Genomics* 275: 159–169.
- Talke I.M., Blaudez D., Maathuis F.J.M., Sanders D. 2003. CNGCs: prime targets of plant cyclic nucleotide signalling? *Trends in Plant Science* 8: 288–293.
- Xiao S., Collis O., Patrick E., Zhang G., Charoenwattana P., Muskett P., Patkar J. E., Turner J. G. 2005. The physical resistance gene, *RPW8*, recruits components of basal defence for powdery mildew resistance in Arabidopsis. *The Plant Journal* 42: 95–110.

In order to test whether the effect of *nec1* seen at the level of gene expression has also functional implications we have assessed powdery mildew penetration efficiency in a double-mutant comprising both mutations – *nec1* and *mlo-5* (Figure 4). Infection sites with powdery mildew developing haustoria were considered as a successful penetration (Figure 3). Double mutant *nec1/mlo-5* was almost fully resistant to powdery mildew indicating that *nec1* mutation does not impair *mlo* mediated race non-specific resistance.

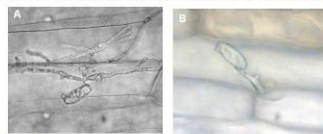


Figure 3. Powdery mildew infection on barley lesion mimic mutant *nec1*. A – successful penetration, B – non-penetrated cell.

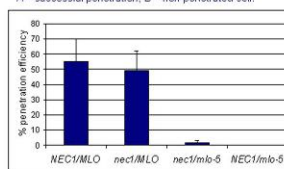


Figure 4. Effect of *nec1* mutation on *mlo-5* mediated resistance against powdery mildew.

Role of *nec1* in basal resistance to powdery mildew

Basal plant defence mechanisms regulated by SA signalling pathway ensure partial resistance to powdery mildew of susceptible barley cultivars. SA mediated signalling pathway is closely related to H_2O_2 accumulation during powdery mildew infection (Xiao et al. 2005). Accumulation of H_2O_2 is considered to be the basic mechanism triggering basal penetration resistance to powdery mildew (Collins et al. 2003). In order to understand the role of *nec1* in basal resistance against powdery mildew, we have characterised H_2O_2 accumulation in whole two-weeks old seedling leaves (Figure 5) and H_2O_2 accumulation at attempted penetration sites (Figure 6). Although *nec1* showed considerably higher overall level of H_2O_2 , localised H_2O_2 accumulation at powdery mildew penetration sites was not altered.

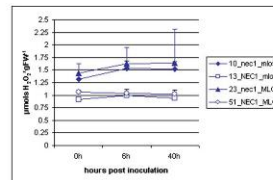


Figure 5. Effect of *nec1* on whole plant H_2O_2 accumulation.

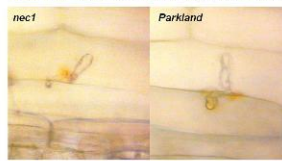


Figure 6. *nec1* effect on localised H_2O_2 accumulation at infection sites of powdery mildew. A-*nec1*, B-Parkland.

Conclusions

Resistance of barley necrotic mutants to fungal pathogens has not been studied previously. Here we show that mutation in the barley CNGC4 resulting in necrotic phenotype does not affect the resistance to powdery mildew, despite overexpression of cell death regulating genes, *Bi-1* and *Mlo*, as well as increased concentration of hydrogen peroxide. *mlo-5* mediated powdery mildew resistance is not compromised in the *nec1/mlo-5* double mutant.

Acknowledgments

The study was funded by Latvian Ministry of Agriculture and Latvian Council of Science grants to NR

Pielikums Nr.25. Baibas Ieviņas atskaite par dalību konferencē „8th Plant genomics European meeting”, Lisabona 7-10.oktobris, 2009

Konferencē nozīmīga loma tika veltīta ģenētiski modificētu augu un ilgtspējīgas lauksaimniecības sekcijai. *Andreas Renz* (Vācija) referātā „Plant biotechnology for agri-food applications – challenges, achievements and perspectives” norādīja, ka iedzīvotāju skaita un dzīves līmeņa paaugstināšanās un klimatisko apstākļu izmaiņas (palielināts sausums un karstums u.c. ekstrēmi laikapstākļi) būtiski palielina pieprasījumu pēc pārtikas, bet klasiskā selekcija, augsnes uzlabošana un augu ķīmiskā aizsardzība vairs nespēj pietiekami palielināt lauksaimniecības efektivitāti. Augu biotehnoloģijas uzdevums ir identificēt un izprast gēnus un to funkcionālo lomu, kas novestu līdz uzlabotai lauksaimniecības efektivitātei un pārtikas trūkuma problēmas risinājumam. *Yuri Gleba* (Vācija) uzstājoties ar referātu „Plants as manufacturing hosts for pharmaceutical and high-value proteins” norādīja, ka ģenētiski modificētu augu kopējā platība ir sasniegusi 125 miljonus hektārus, tomēr visi pašreiz audzētie transgēnie augi ir modificēti, lai veicinātu ražas palielināšanu un patērētājiem nekādu labumu nedod. Profesors uzsvēra, ka pašreiz attīstās jauna tendence – transgēnie augi kā jaunu materiālu un medikamentu ražotāji, kā arī kultūraugi ar paaugstinātu vai izmainītu uzturvērtību, kas ir būtisks solis veselības veicināšanā un bada problēmas risināšanā pasaules nabadzīgajos reģionos.

Vairākas uzstāšanās bija veltītas globālās pārtikas problēmas risināšanai ar transgēno augu palīdzību. Pēdējos gados parādās aizvien vairāk transgēno augu, kuri radīti vairāku transformāciju rezultātā. Šādām kultūraugu līnijām piemīt nevis viena, bet vairākas būtiski uzlabotas/jaunas īpašības, piemēram, gan paaugstināta uzturvērtība, gan rezistence pret salu, sausumu vai kaitēkļiem. *Changfu Zhu* (Spānija) ziņoja par multivitamīnu baltās kukurūzas izveidošanu, kuras sēklu endosperma vairāku transformāciju rezultātā satur nozīmīgu daudzumu β-karotīna (provitamīna A priekštecis), kā arī citus uzturvērtības ziņā nozīmīgus karotenoīdus, askorbīnskābi (C vitamīns) un folijskābi (vitamīns B9). Šāda multivitamīnu kukurūza ir būtisks ieguldījums veselības veicināšanā Āfrikas nabadzīgajos reģionos. Zinātniekiem arī ir izdevies izstrādāt sistēmu parazītisko nezāļu *Striga hermonthica* un *Striga asiatica* (Orobanchaceae dzimta) kontrolei (*Cecile Grenier*, Kolumbija). Šīs sugas parazitējot uz nozīmīgiem lauksaimniecības augiem rada būtiskus zaudējumus lauksaimniecībai vairāk kā 7 miljardu ASV dolāru apmērā ik gadu, kas negatīvi ietekmē vairāk kā 200

miljonus cilvēku Āfrikā. Vairāk kā 20 gadu laikā pētot saimnieka-parazīta mijiedarbību un saimnieka rezistences ģenētiku ir izdevies izveidot transgēno sorgo, kam piemīt rezistence pret *Striga* parazītiem, kā arī sausuma tolerance, paaugstināts ražīgums un augsta graudu kvalitāte.

Rita Batista (Portugāle) savā stenda referātā „*Natural maize variability – a point to consider in the genetically engineered food safety assessment process*” ziņoja par dabiskās auga variabilitātes līmeņa novērtēšanas būtiskumu ģenētiski modificētu kultūraugu drošības noteikšanas procesā. Pirms laišanas tirgū ģenētiski modificētai pārtikai tāpat kā jebkurai citai jaunajai pārtikai tiek novērtēts tās efekts uz cilvēka veselību. Pēdējā laikā līdz ar regulāri lietoto mērķa pieeju pārtikas drošības novērtēšanā, kad tiek analizētas potenciālās izmaiņas galveno uzturvielu sastāvā un vērtībā, jaunākajos pētījumos sāk izmantot ne-mērķa pieeju, kad tiek novērtētas iespējamās izmaiņas transgēnā auga genoma līmenī, kā arī izmaiņas gēnu ekspresijā, translācijā un metaboliskajos ceļos. Zinātnieki norāda, ka ne-mērķa pieeja varētu būtiski uzlabot pārtikas drošības novērtēšanu.

Pielikums Nr.26. Baibas Ievinas konferencē „8th Plant genomics European meeting”, demonstrētais stenda referāts

Development of retrotransposon-based SSAP marker system for analysis of diversity in *Eryngium maritimum* L.

Baiba Ievina*, Naeem H. Syed**, Andrew Flavell**, Nils Rostoks*, Gederts Ievinsh*

* Faculty of Biology, University of Latvia, 4 Kronvalda Blvd., Riga, Latvia

** Plant Research Unit, University of Dundee at SCRI, Invergowrie, Dundee DD2 5DA, UK



Summary
The genetic diversity of highly endangered plant Sea Holly *Eryngium maritimum* was previously estimated using universal molecular markers of nuclear and chloroplast genome. These marker systems could not resolve relationships between Northern European populations of Sea Holly. The need for more sensitive molecular marker system was the reason for development of a SSAP (sequence-specific amplification polymorphism) molecular marker system, which is based on insertion polymorphism of long terminal repeat (LTR) retrotransposons. SSAP has been referred to as a highly sensitive method for analysis of genetic diversity between and within species. Six LTR sequences of different Ty1-copia retrotransposons were isolated from the Sea Holly genome and tested for their usefulness as molecular markers for analysis of genetic diversity. Four of the LTRs were demonstrated as potentially useful for development of SSAP molecular markers. Two of the most useful LTR retrotransposons were applied for analysis of diversity in *Eryngium maritimum* Northern European populations (Estonia, Latvia, Lithuania, Sweden, Poland and United Kingdom) and ten polymorphic bands were derived. Latvian populations of Sea Holly appeared as the most homogeneous group among all the studied populations. Other Northern European populations were more genetic diverse but exhibited no specific clustering according to geographical origin. Population differentiation analysis indicated that Latvian populations of *E. maritimum* are threefold more genetically differentiated from other populations than the rest of populations. AMOVA indicated that 75 % of the total genetic diversity is attributed to differences within population and only small amount between populations of Sea Holly. This indicates that Northern European populations of Sea Holly are genetically similar. Overall, the retrotransposon-based SSAP marker system proved to be a useful new molecular marker system for genetic diversity analysis in Sea Holly.

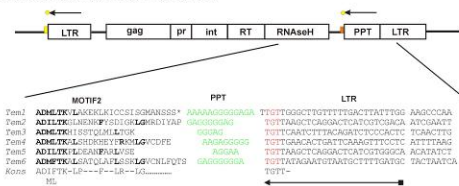
Introduction
Genetic diversity between individuals of a species determines its overall ability to adapt to specific and changing environments. Wild plant species are the most significant deposit of genetic diversity both for natural selection, as well as for improvement of related domesticated crop species. Therefore conservation of diversity in wild plant species may preserve genes useful both for evolution and for sustainable use of natural resources. Sea Holly *Eryngium maritimum* L. is a perennial coastal species belonging to carrot family (Apiaceae). It is distributed along coasts of Europe, including Atlantic Ocean and Black Sea, the Mediterranean region and coasts of North and Baltic Seas. Species is endangered in most of the Baltic region and threatened in other Northern European countries where the size and number of species populations have decreased dramatically in recent years (Oļšauskas & Urboniene 2008, Zolkos et al. 2007, Curle et al. 2004, Clausen et al. 2000).



Genetic diversity of *Eryngium maritimum* populations in Northern Europe (Estonia, Latvia, Lithuania, Poland, Sweden, United Kingdom) was previously studied with universal ISSR and ITS molecular markers, microsatellite markers from *Eryngium alpinum* (Gaudet et al. 2002), as well as using sequence analysis of non-coding regions of chloroplast genome, *trnT-trnL* intron and *trnD-trnT*, *trnS-trnG* and *trnS-trnG-trnG* intergenic spacers (Ievina, unpublished). None of the marker systems was able to resolve genetic relationships among and within the populations.

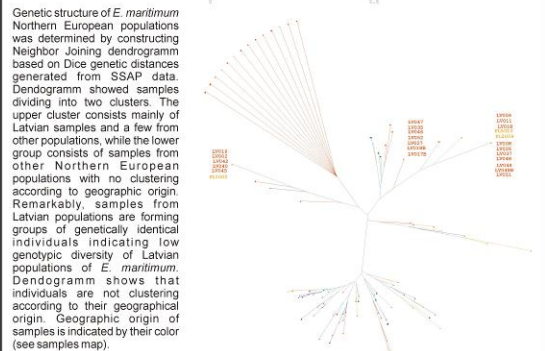
The necessity for more sensitive molecular marker method for analysis of genetic diversity was the reason for development of a retrotransposon-based SSAP (sequence-specific amplification polymorphism) molecular marker system. SSAP is based on insertion polymorphisms of long terminal repeat (LTR) retrotransposons (Waugh et al. 1997). SSAP technique generates DNA fragment between retrotransposon and the nearest restriction site. Development of SSAP marker system requires the sequence information of the terminal region of retrotransposon of particular species to develop species-specific primers, therefore isolation of retrotransposons LTR ends is required.

Results
Terminal sequences of retrotransposons were isolated by amplifying and sequencing putative RNaseH-LTR junction using conserved regions LTR retrotransposons. Six sequences possessed characteristic structural features of the Ty1-copia group LTR retrotransposons - RNaseH gene motif 2 and the polyurine tract (PPT) followed by the TTT-G sequence motif characteristic of the 5' end of retrotransposon LTR. Six sequences representing different retrotransposons were named *Tem1-Tem6* (transposon *Eryngium maritimum*). Retrotransposon - specific oligonucleotides were designed complementary to terminal sequences of each retrotransposon to amplify sequence leftwards from 5' LTR. All six LTR oligonucleotides were used to produce retrotransposon insertion profiles by SSAP PCR. Utility of particular retrotransposon for analysis of genetic diversity was assessed considering quality of banding pattern, the level of polymorphism and population discrimination level.



The six retrotransposons exhibited different SSAP profiles. Most informative retrotransposons together with adapter specific primers were selected - *Tem2GG* + *PstIAGG*, *Tem5GC* + *PstIAGG*, *Tem2GG* + *PstICGT* and used for analysis of genetic diversity in *E. maritimum*.

References
Oļšauskas AM, Urboniene R. 2008. State of *Eryngium maritimum* L. population on the Curonian Spit coastal dunes. Environmental Research, Engineering and Management, 2 (44): 69-74.
Zolkos K, Afranowicz R, Bloch-Orlowska J, Koziel K. 2007. Distribution and the resources of Sea Holly (*Eryngium maritimum* L.) on the western shore of the Gulf of Gdansk. Biodiversity, Research and Conservation, 5-8: 55-60.
Curle M, Stabbertorp OE, Nordal I. 2004. *Eryngium maritimum*, biology of a plant at its northernmost localities. Nordic Journal of Botany, 24: 617-622.
Clausen G, Vickers K, Kaderet JW. 2000. Historical biogeography in a linear system: genetic variation of Sea Rocket (*Cakile maritima*) and Sea Holly (*Eryngium maritimum*) along European coasts. Molecular Ecology, 9: 1823-1833.
Gaudet M, Naciri-Graven Y, Gauthier P, Pompanon F. 2002. Isolation and characterization of microsatellites in a perennial Apiaceae, *Eryngium alpinum* L. Molecular Ecology, 2: 107-107.
Waugh R, McLean K, Flavell AJ, Pearce SR, Kumar A, Thomas BBT, Powell W. 1997. Genetic distribution of Bare-1-like retrotransposable elements in the barley genome revealed by sequence-specific amplification polymorphisms (S-SAP). Molecular Genetics and Genomics, 253: 687-694.

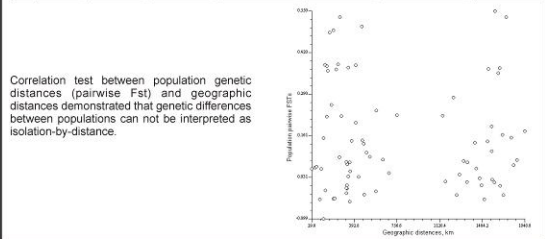


Analysis of molecular variance (AMOVA) demonstrated that 75 % of the total genetic diversity was attributed to differences within populations, 21 % within regions (countries) and 4 % among populations within regions. This indicates that Northern European populations of Sea Holly are genetically similar.

Source of variation	d.f.	Sum of squares	Percentage of variation	Fixation Index FST	P value
Among regions	5	60.952	20.51	$F_{CT} = 0.205$	0.01-P<0.001
Among populations	7	18.078	4.19	$F_{SC} = 0.053$	0.05-P<0.01
Within populations	138	223.103	75.29	$F_{ST} = 0.247$	P<0.001
Total	150	307.133		100	

Genetical differentiation level of Northern European populations of Sea Holly were determined at region (country) level by comparing pairwise *Fst* values. Latvian populations were the most differentiated from all other populations (mean *Fst* 0.4124), showing highly significant and threefold higher differentiation than other populations. United Kingdom populations were significantly differentiated as well but differentiation level was much lower than that of Latvian populations. Statistically significant *Fst* values are shown in bold, significance level is indicated as follows: * 0.01 <P<0.05, ** 0.001 <P<0.01, *** P<0.001.

	Latvia	Lithuania	Estonia	Poland	United Kingdom	Sweden
Latvia	0					
Lithuania	0.4051***	0				
Estonia	0.4116***	-0.0105	0			
Poland	0.3934***	0.0241	0.2983*	0		
United Kingdom	0.50546***	0.0801*	0.12166***	0.11014***	0	
Sweden	0.47083***	0.0595	0.03003	0.15293***	0.09097***	0
Average:	0.4124	0.0987	0.1280	0.1300	0.1827	0.1511



Conclusions
The retrotransposon-based SSAP marker system proved to be a useful new molecular marker system for analysis of genetic diversity in *Eryngium maritimum*. Results indicated that Northern European populations of *E. maritimum* are genetically similar and the majority of genetic diversity is attributed to differences within populations. However, both Latvian populations are outstanding, exhibiting significantly lower genetic diversity and higher differentiation comparing to other populations. This could be attributed to the small size of Latvian populations of *E. maritimum*, which together consist of ca. 100 individual plants potentially resulting in reduction of genetic diversity as a result of genetic drift and inbreeding.

Acknowledgments
The study was funded by University of Latvia grants ZP-20 and ZP-59, a grant from Latvian Environmental Protection Fund and core funding from Scottish Executive Environment and Rural Affairs Department for Scottish Crop Research Institute.