

Förekomsten av rotknölsbildande bakterier för Brun böna (*Phaseolus vulgaris* L.) och Blå lupin (*Lupinus angustifolius* L.) i olika jordar

The presence of bacteria nodulating in Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and Blue lupin (*Lupinus angustifolius* L.) in different soils

Christina Fröberg



Förekomsten av rotnölsbildande bakterier för Brun böna (*Phaseolus vulgaris* L.) och Blå lupin (*Lupinus angustifolius* L.) i olika jordar

The presence of bacteria nodulating in Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and Blue lupin (*Lupinus angustifolius* L.) in different soils

Christina Fröberg

Handledare: Georg Carlsson, SLU Alnarp,
Biosystem och Teknologi
Btr handledare: Anita Gunnarsson, Hushållningssällskapet,
Kristianstad
Examinator: Malin Hultberg, SLU Alnarp,
Biosystem och Teknologi

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Grundnivå, G2E

Kurstitel: Kandidatarbete i Trädgårdsvetenskap

Kurskod: EX0495

Program/utbildning: Trädgårdsingenjörprogrammet: odling

Utgivningsort: Alnarp

Utgivningsår: 2013

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: Rotnölsbildande bakterier *Phaseolus vulgaris* *Lupinus angustifolius*

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för landskapsplanering, trädgårds- och jordbruksvetenskap
Biosystem och Teknologi

Förord

Jag vill först och främst rikta ett stort tack till min handledare Georg Carlsson vid Intuitionen för Biosystem och Teknologi, Sveriges lantbruksuniversitet, för stöd, bra vägledning och råd vid framställning av detta examensarbete.

Ett stort tack går också till Anita Gunnarsson och Per Modig, odlingsrådgivare vid Hushållningssällskapet i Kristianstad i val av lämpliga jordar. Tack Helene Larsson Jönsson vid Institutionen för Biosystem och Teknologi, SLU, för hjälp med mätningar av jordarnas pH och ledningstal.

Jag vill även rikta ett tack till mina vänner för ert stöd och tålamod.

Sist men inte minst vill jag tacka min familj, speciellt pappa Per som alltid trott på mig och inspirerat mig. Tack!

Christina Fröberg

Alnarp, september 2013.

Sammanfattning

Kvävgas kan inte tas upp direkt av växter men genom biologisk kvävefixering kan vissa symbiosbildande bakterier omvandla kvävgas till ammonium. Med bakteriens hjälp kan en växt tillgodogöra sig ammonium och på så sätt bilda protein. Ett exempel på denna typ av symbios är den som kan uppstå mellan en särskild grupp av bakterier, *Rhizobium* ssp och baljväxter, så kallad rotnölssymbios. Detta är ett exempel på en ekosystemtjänst, en fördelaktig interaktion mellan växt och mikroorganism, som gynnar alla parter, inklusive människan som odlar baljväxten. Hur allmän förekomsten av *Rhizobium* genotyper är i svenska odlingsjordar är ej klart dokumenterad och därför är frågan om behovet av inokulering av utsäden fortsatt aktuell. Syftet med denna studie är att undersöka den naturliga förekomsten av rotnölsbildande bakterier i några utvalda skånska jordar. Som metod har en försöksodling genomförts med två vanligt förekommande baljväxter, Brun böna (*Phaseolus vulgaris* L.) och Blå lupin (*Lupinus angustifolius*) i växthus vid Sveriges lantbruksuniversitet, Alnarp. Förodling av baljväxter i krukor kan vägleda odlare i val av växtslag för olika jordar och i valet ifall inokulering av utsädet kan behövas. Parallellt med försöksodlingen har även en litteraturstudie genomförts som ger underlag för analys och diskussion.

Förutsättningarna för rotnölsbildning ökar i en jord där det finns frilevande bakterier. Det var därför av intresse att jorden som skulle användas i försöket hade någon odlingshistorik med baljväxter de senaste 20 åren, allra helst lupin eller böna.

I detta försök ingick även en jord som inte hade någon känd odlingshistorik av baljväxter, och var därför intressant ur den aspekten.

Vid avslutningen av försöksodlingen undersöktes plantornas rötter för att se om det bildats rotnölar. Rotnölarernas storlek och mängd uppskattades och rotnölarerna delades för bedömning av färgen. En röd färg indikerar att aktiv kvävefixering pågår.

Resultaten av försöksodlingen visade på rotnölssymbios i alla fyra försöksjordarna. Detta ger en indikation av att det finns en naturlig förekomst av kvävefixerande bakterier i försöksjordarna.

Sammanfattningsvis kan sägas att min metod med försöksodling enkelt kan genomföras av hobbyodlare och jordbrukare för att kunna konstatera om jorden är lämplig för den tilltänkta grödan och/eller om det finns behov för inokulering.

Nyckelord: Rotnölsbildande bakterier, Brun böna (Phaseolus vulgaris L.), Blå lupin (Lupinus angustifolius L.), Försöksodling

Abstract

Nitrogen gas cannot be directly taken up by plants, but some bacteria can convert nitrogen into ammonium via biological nitrogen fixation. Through symbiotic association with such bacteria, the plant gets access to nitrogen in a form that it can take up and synthesize protein. Symbioses can occur between certain groups of bacteria *Rhizobium* ssp. and legumes, known to be the root nodule symbiosis. Symbiotic nitrogen fixation is an example of beneficial interactions between plants and microorganisms, an ecosystem service which benefits all parts, including the human being cultivating the leguminous plants. There is a lack of knowledge about what kind of *Rhizobium* genotype can be found naturally in Swedish soils.

The purpose of this study was to investigate the natural occurrence of root nodule bacteria in different soils and substrates. Trial cultivation was carried out with two common legumes, Brown bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and Blue lupin (*Lupinus angustifolius* L.) in a greenhouse at the Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp. The trial cultivation has served as a pre-cultivation of legumes in pots, a method that can guide growers in the selection of plant species for different soils, but also in the choice of whether one should inoculate or not. The trial cultivation was carried out in parallel with a literature review that provided the basis for analysis and discussion.

The chance of root nodulation is expected to occur in a soil with a large population of *Rhizobium* bacteria, which may vary with cropping history and time since the selected host plant was last grown in the soil. The soils used in the trial were therefore selected to represent different history of growing lupin or bean in the last 20 years, including a soil that had no known history of cultivation of legumes. Upon the completion of the trial cultivation the general condition of the plant roots were examined in the different soils, in a first screening to see if it had formed any root nodules. Nodule sizes and quantity was examined, and nodules were cut in halves to assess if they were colored (usually reddish) inside, which indicates that active nitrogen fixation is in progress. The result of the trial cultivation experiment shows that there was natural occurrence of suitable nitrogen-fixing bacteria for Brown bean and Blue lupin in most studied trial soils. In summary my method of trial cultivation can easily be implemented by gardeners and growers in order to determine whether the soil is suitable for the intended crop and whether there would be a need for inoculation.

Keyword: Root nodule bacteria, Brown bean (Phaseolus vulgaris L.), Blue lupin (Lupinus angustifolius L.), Trial cultivation

Innehållsförteckning

Inledning	7
Frågeställning	7
Syfte, målbeskrivning och avgränsning	7
Disposition	8
Bakgrund	8
Trindsäd	8
Trädgårdsböna	9
<i>Brun Böna</i>	9
<i>Lupin</i>	9
<i>Odlingskrav för lupin och brun böna</i>	10
<i>Symbiotisk kvävefixering</i>	11
<i>Rotknölsymbios</i>	11
<i>Bakterier</i>	12
<i>Inokulerat eller naturligt förekommande bakterier</i>	12
Material och Metod - Försöksodlingen	13
<i>Genomförande av försöksodlingen</i>	13
Presentation av de jordar som använts i försöket	14
<i>Trädgårdsjord från Åkarp</i>	14
<i>Odlingsjord från Skepparslöv</i>	14
<i>Odlingsjord från Per Modigs gård utanför Kristianstad</i>	14
<i>Insamling av jord</i>	15
<i>Sådd</i>	15
Mätning av försöksjordarnas egenskaper	17
<i>pH-mätning och ledningstals-mätning av försöksjordarna</i>	17
Resultat	17
Förekomst av rotknölsbildning hos båda arterna	17
<i>Vid delning av knölna</i>	19
<i>Plantornas allmäntillstånd vid skördetillfället</i>	19
<i>Bevattning</i>	20
<i>Näring</i>	20
<i>pH-värde och ledningstal</i>	20
<i>Eventuella felkällor i försöket</i>	21
Diskussion	21
Rätt bakterie och i rätt mängd	21
Infektion av bakterie i rothår/kontakt mellan värdväxt och bakterie	23
<i>Behövs inokulerat utsäde?</i>	23
<i>Om min metod</i>	24
Styrkor och svagheter i mitt arbete	24
Slutsatser	25
Referenslista	26

Inledning

En välfungerande kvävefixering hos baljväxter ger förfruktsvärde till nästkommande grödor, gör grödorna näringsrika samt minskar beroendet av handelsgödsel. Odling av baljväxter har därför betydelse som ett inslag i en uthållig växtföljd. Baljväxter i symbios med kvävefixerande bakterier är ett alternativ till användning av industriellt producerad konstgödning. Kväveanrikningen i jorden sker genom omvandling av kväve från luften med energi från fotosyntesen och processen är därigenom en naturlig process som är oberoende av fossil energi. Kvävetillförsel genom biologisk kvävefixering är därför ett mer klimatvänligt odlingsätt än tillförsel av industriellt framställt kvävegödselmedel (Jensen & Carlsson 2012).

Växter är omgivna av olika mikroorganismer som direkt eller indirekt lever sitt liv i eller runt växtens blad, blommor, frön, stammar och rötter (Nicklin et al 1999). Detta utgör ett viktigt ekosystem med olika negativa och positiva interaktioner mellan växt och mikroorganism. Kvävefixerande symbios är ett exempel på en fördelaktig interaktion mellan växt och mikroorganism, som gynnar alla parter, inklusive människan som odlar baljväxten. En sådan interaktion är den symbios som kan uppstå mellan *rhizobium*-bakterier bland annat *Rhizobium ssp* och *Bradyrhizobium ssp* och baljväxter, så kallad rotknölssymbios. För att symbiosen skall vara effektiv krävs ”rätt” kombination av bakteriegenotyp och rätt värdväxtgenotyp (Thrall et al. 2011, Cardoso et al 2011, Fogelfors 2001) samt rätta miljöbetingelser (af Geijersstam 2001). Fogelfors (2001) menar att det finns bristfällig kunskap om vilka *Rhizobium* bakteriegenotyper som finns naturligt i svenska jordar och anser därför att frågan om behovet av inokulering av baljväxtfrön inför sådd behövs undersökas närmare.

I detta arbete har frågan ställts om rotknölssymbios kan uppstå spontant i jordar där det är oklart om det redan finns lämpliga bakterier.

Frågeställning

Kan rotknölssymbios bildas spontant hos bruna bönor och blå lupin då de odlas i jord på sydsvenska trädgårds- och jordbruksodlingar? Hur omfattande är i så fall symbiosen och hur skiljer sig den sig mellan olika jordar?

Syfte, målbeskrivning och avgränsning

Genom detta arbete hoppas jag kunna ge relevant information om hur rotknölssymbios utvecklas i olika jordar.

Min förhoppning är att den metod jag utvecklat skall kunna användas av jordbrukare och hobbyodlare som med hjälp av en förödling, som undersöker spontan rotknölssymbios hos baljväxter, kan få en uppfattning

om de vid baljväxtodling behöver inokulera bakterier eller inte i sina jordar. Begränsning: Brun böna (*Phaseolus vulgaris* L.) sorten Katja och Blå lupin (*Lupinus angustifolius* L.) sorten Viol.

Material och metod

Arbetet har genomförts med en försöksodling parallellt med en litteraturstudie som givit underlag för analys och diskussion. Facklitteratur såsom böcker och vetenskapliga artiklar har gett utökad kunskap inom området trindsäd, rotnölsbildande bakterier, kvävefixering och inokulering av bakterier. Artiklar från databaser som Web of Knowledge och Google Scholar, samt e-postkorrespondens med växtodlare och forskare har även använts.

Disposition

För att besvara frågeställningen har en försöksodling med baljväxter genomförts i växthus vid Sveriges lantbruksuniversitet, Alnarp, Skåne. Försöksodlingen har genomförts med två vanligt förekommande baljväxter, Brun böna (*Phaseolus vulgaris* L. sorten Katja) och Blå lupin (*Lupinus angustifolius* L. sorten Viol). Försöksodlingen har haft som syfte att visa hur förödling av baljväxter i krukor kan vägleda odlare i val av växtslag för olika jordar men också i valet om man ska inokulera eller inte. Förödling i krukor kan visa vilka baljväxter som kräver inokulering med rätt bakterie i den testade jorden.

Försöksodlingen genomfördes med 30 krukor med Brun böna (*Phaseolus vulgaris* L.) sort Katja samt 30 krukor med Blå lupin (*Lupinus angustifolius* L.) sort Viol, utsäde av båda arterna såddes i olika jordar. Odlingen har varit inriktad på att efter fyra veckor bedöma om en eventuellt lyckad rotnölsymbios hade förekommit eller ej. Fyra jordar valdes ut samt två kontrollgrupper med perlit i krukorna istället för jord.

Bakgrund

Trindsäd

Trindsäd ingår taxonomiskt i familjen baljväxter (*Fabaceae*) (Fogelfors 2001). De flesta av dem härstammar från både Nya och Gamla världen och har gemensamt att de trivs i områden med tempererat klimat. Trindsäd har stor ekonomisk betydelse tack vare deras näringsammansättning och markförbättrande egenskaper för efterkommande grödor (Widén och Widén 2008). Trindsäd odlas runt om i världen till mogen skörd till livsmedel och djurfoder på grund av sitt höga innehåll av protein (Källander 2005). Trindsäd svarar för 15% av världens proteinförsörjning främst för frönas egenskaper. Exempel på trindsäd är trädgårdsböna och lupin. I hemträdgårdsmiljö odlas oftast störböna, skärböna, bondböna, brytböna (haricots verts) och vaxböna (Marklund 1990). Det finns många olika lupinarter med lämplighet inom olika användningsområden så som gröngödsling, prydnadsväxter, foder och livsmedel. Blå lupin kan bland annat användas som foderväxt (Carlsson 2013).

Trädgårdsböna

Trädgårdsböna odlas allmänt i Central- och Sydamerika och i många länder med tempererat klimat och utgör en viktig proteinkälla för mänsklig konsumtion (Cardoso et al 2011). Trädgårdsbönas latinska namn är *Phaseolus vulgaris* L. och den började odlas i de latinamerikanska högländerna för mer än 7000 år sedan. Därefter har den introducerats i Europa och Nordamerika via den Iberiska halvön (Graham 1997). Inom arten trädgårdsböna finns mer än 500 sorter. Sorterna kan grupperas i två stycken varieteter, nämligen *var. Communis* störböna/ skärböna, samt *var. Nanus* krypböna där brun böna är ett exempel från den senare gruppen (Marklund 1990). Trädgårdsbönan är populär för sitt höga proteininnehåll och sitt fördelaktiga pris (Karaca & Uyanöz 2012).

Vad det gäller bönodling för grüngödsling genom nerplöjning av växten är det i Sverige och de nordiska länderna framför allt åkerböna som används. Både trädgårdsböna och åkerböna har förgrenade rötter. Trädgårdsbönanas olika sorter kan även grupperas efter användningsområde, det vill säga om det är de hela omogna baljorna eller de mogna fröna som man äter: *Tabell 1*.

Tabell 1: Tillhörighet enligt användningsområde

1 Hela omogna baljor	2. Mogna frön (spritböner)	Brun Böna
Brytböner	Bruna Böner	Bruna böner
Vaxböner	Kidneyböner	presenteras med
Skärböner	Yin yangböna	följande citat:
	Mfl. Böner	”Dessa skördar man

när fröna är mogna och man tillreder bönan genom kokning mm. En del böner av 1) och 2) kräver att man binder upp dem, de är sk störböner eller stångböner (finns liten skillnad mellan begreppen men vi bortser från detta nu). Andra böner klarar att stå själva i fält, de blir 30-50 cm höga och dessa är då krypböner (ibland även buskböner).

Den bruna bönan är således en spritböna och dessutom en krypböna.” (Fogelberg, epost, 2013).

Lupin

I lupinsläktet ingår det ungefär 200 arter (Nationalencyklopedin 2013). Även dessa tillhör baljväxtfamiljen och underfamiljen ärtväxter (Faboideae). Ursprungsområdet omfattar framför allt Anderna och västra delarna av Nordamerika (Stepkowski 2011). Vissa arter odlas som födoämnen för människor och boskap medan vissa är viktiga grüngödslingväxter genom sin förmåga att bilda kvävefixerande symbios (Nationalencyklopedin 2013). Det ökade intresset de senaste 20 åren för ekologisk odling har lett till att grüngödslingsgrödor såsom lupin på nytt har börjat uppmärksammas och därmed har det skett en utveckling av sorter med högre och stabilare avkastning (Jensen et al 2003). Även nya sorter som innehåller endast små mängder av de giftiga substanserna tannin och lektin (Merbach et al 2008) har gjort lupin mer intressant i odlingsssyfte. Lupiner är särskilt användbara för sitt höga proteininnehåll på 30-45% och oljeinnehåll på 5-12% (Jensen

et al 2003). Sorter med lågt innehåll av alkaloider är en utmärkt proteinkälla för kor, grisar och kycklingar (Källander 2005). Blå lupin (*Lupinus angustifolius* L.) lanserades på 1990-talet och karaktäriseras av en pålrot och ett djupgående rotsystem (Fogelfors 2001, Jensen et al 2003) som förgrenar sig i flera sidorötter. Pålroten gör att lupiner är relativt resistent mot torka och kan därför odlas i kalkfattiga sandjordar (Nationalencyklopedin 2013).

Den blå smalbladiga lupinen (*Lupinus angustifolius* L.) har jämfört med sina släktingar Vit lupin (*Lupinus albus* L.) och Gul lupin (*Lupinus luteus* L.) visat sig vara mer effektiv vid odling med en avkastning som ligger på mellan 1000-2000kg/ha, även om den har något mindre grönmassa än andra lupiner (Källander 2005). Lupiner kan få sitt kvävebehov tillgodogjort genom symbiotisk kvävefixering via *Rhizobium*-bakterier, med en kvävefixeringsförmåga uppskattad till ca 250kg/ha (Graham 1997), men mellan 145 och 208 kg per hektar enligt Niquisse (2012). Som grüngödslingsgröda kan därför lupin spela en viktig roll som kvävekälla för ekologisk odling (Niquisse 2012).

Odlingskrav för lupin och brun böna

De flesta baljväxter kräver relativt högt pH-värde för att växa bra (Källander 2005). Optimum för baljväxter ligger på 6,5-7,0 (af Geijersstam 2001). Lupiner trivs i väl-dränerad kalkfri lerjord (Niquisse 2012) som är lätta till lite styvare (Källander 2005). Lupin är känsliga för höga pH-värden och fördrar en sur eller neutral miljö, pH mellan 4,5-7,3 (Jansen 2006). *Rhizobium*-bakterier är känsligare för lågt pH, än själva värdväxten (af Geijersstam 2001). Trädgårdsböna trivs bra på väl-dränerad kalkrik jord (Fogelfors 2001). Jordar som är lämpliga för odling av trädgårdsböna är lerjord och sandiga mulljordar (Fogelberg 2008).

Trädgårdsböna vill ha ett pH över 6,5, och ett sådjup av 5 cm på jämn och fuktig såbotten (Fogelberg 2008). En summering av odlingskraven visas i *Tabell 2*.

Tabell 2: Odlingskrav

Lupin	4,5 – 7,3	2 – 3cm	Lätta till Styvare lerjord, kalkfri	Väl-dränerat	Ja
Trädgårds- böna	6,5- 7,0	5 cm	Sandiga mulljordar Lättleror /kalkrik	Väl-dränerat	Ja

Symbiotisk kvävefixering

Växter kan ta upp kväve från marklösningen i form av nitrat, ammonium och enkla organiska föreningar som till exempel vissa aminosyror (Adams 2008, Näsholm et al. 2000, Näsholm et al. 2001). Kvävgas kan inte tas upp direkt av växter men genom biologisk kvävefixering kan vissa bakterier omvandla kvävgas till ammonium. Det som händer i kvävefixeringen är att kvävgas (N_2) från luften reduceras till ammonium (NH_4^+) som i sin tur övergår till kolföreningar som bildar aminosyror. Med bakteriens hjälp kan växten nu tillgodogöra kväve i en form den kan ta upp och på så sätt bilda protein (Raven et al 2005). En del av det kväve som fixeras i växterna tas upp av efterkommande gröda genom nedbrytning av växtrester som rotknölar, rötter samt avslagna och eventuellt nedplöjda ovanjordiska växtdelar.

Rotknölsymbios

De vanligaste kvävefixerande bakterierna i baljväxter är *Rhizobium* ssp och *Bradyrhizobium* ssp. Dessa lever i symbios med baljväxtens rot som i sin tur utsöndrar ett attraktivt ämne som lockar bakterien att fortsätta föröka sig där. Tillsammans med det infekterade rothåret bildas en infektionsslang som leder bakterierna in i roten. Rotens cortexceller svarar med att dela sig och bildar på så sätt en rotknöl. Så småningom växer knölen ut från cortex men får fortfarande näring genom ledningsvävnaden. Bakteriernas kvävefixering kan bara ske i en syrefattigmiljö eftersom enzymet nitrogenas som behövs för kvävefixeringen är syrekänsligt. Enzymet nitrogenas bildas endast av bakterier – inga djur eller svampar kan bilda detta (Fogelfors 2001).

Värdväxten håller bakterierna vid liv genom att fungera som energikälla (Raven et al 2005). Värdväxten försör bakterien med ett skyddande hölje bestående av plasmamembran och cortex som utgör själva rotknölen, här inne slipper bakterierna konkurrens om kol, vatten och näring från konkurrerande organismer. Knölen skapar en nästan helt syrefattigmiljö som behövs när nitrogenas katalyserar kvävefixeringsprocessen. I tidigare utvecklingsstadium är knölna vita, därefter övergår de i en ljusröd färg som kommer sig av det röda pigmentet leghemoglobin (Fogelfors 2001, Källander 2005). Leghemoglobin består av värdväxtens protein och bakteriernas protein. Leghemoglobin har som uppgift att fungera som en regulator av syremängden (O_2) inne i knölna, men fungerar även som syretransportör till bakterierna (Raven et al 2005). Leghemoglobin har en viktig roll inne i rotknölna då syre i sig inhiberar enzymet nitrogenas, men som behövs för respirationen (cellandningen). När kvävefixeringen upphör antar knölna en grön eller brunaktigfärg. De flesta bakterierknölna sitter på den övre delen av rotsystemet där tillgången på luft är störst (Källander 2005). Knölna kan variera i både storlek och utseende. Knölar som är större än 2 mm indikerar en effektiv fixering. Rötter med effektiva knölar bildar även många små knölar (Källander 2005). Effekten av en fungerande kvävefixering märks bäst i kvävefria jordar där handelsgödsel inte används, eftersom växten kvävegödslar sig själv då den tar beslag på bakteriernas ammoniumjoner (Fogelfors 2001).

Bakterier

Bakterier är encelliga organismer som har stor betydelse för hortikulturen eftersom de kan bidra med nyttig aktivitet i jorden, som i detta fall kvävefixering. Bakterier kan återfinnas i diverse miljöer där temperaturen överstiger 100 grader C men även i mycket kalla trakter (Nicklin et al 1999). Bakterier fungerar för sig själva eftersom de producerar egen energi eller så kan de omvandla energi genom kemiska reaktioner, så som fotosyntes (Adams 2008). Som det nämntes innan så lever växter och mikroorganismer i ett komplext ekosystem där bakterier utför viktiga funktioner för växten som till exempel att öka och återvinna näring till marken (Nicklin et al 1999), eller binda kvävgas. *Rhizobium* och *Bradyrhizobium* bakterier kan klassas som symbiotiska bakterier, men det finns även frilevande kvävefixerande bakterier som inte lever i symbios (Raven et al 2005, Fogelfors 2001). Det är viktigt att få fram ännu mer forskning kring livsdugliga mikrosymbionter eftersom de både ska kunna överleva och konkurrera under en längre period med andra ej lika effektiva *rhizobium* bakterier (Graham 1997).

Inokulerat eller naturligt förekommande bakterier

Det förekommer delade meningar om vad som är mest effektivt, att inokulera bakterierstammar till utsädet eller låta bakterierna på naturlig väg själva hitta rätt till sin värdväxt. Om den naturliga kvävefixeringen är svag kan inympningen av utsädet med bakterier behövas (Källander 2005). Fogelberg (2005) rekommenderar att man ympar in med bakteriekulturer på jordar som ej tidigare har använts till bönodling. Det här arbetet kan bidra till en diskussion i denna fråga.

Material och Metod - Försöksodlingen

Jord

- Fyra olika jordar och ett hydrosubstrat (perlit) har använts för försöksodlingen. Perliten har använts för odling av kontrollgrupperna.

Plantmaterial

- Utsäde från Brun böna och Blå lupin.
- Bakterie inokulum för Brun böna och Blå lupin.

Odlingsuppställning

- Odlingen genomfördes i jordar utan tillsatt näring (försöksplantorna skulle leva på fröets näring och jordarnas ursprungliga näringsinnehåll).
- Ingen inokulering med bakterier tillfördes försöksjordarna.
- Kontrollgrupperna inokulerades med bakteriekultur. Näringslösning tillsattes då perliten är näringslös.
- Skötseln av plantorna bestod av bevattning, ogräsrensning samt gallring.
- Bevattningen har skett enligt ett regelbundet schema med 2 till 3 dagars mellanrum. Sparsamt med vatten har getts, och jordarna har fått torka ut mellan bevattningstillfällena.
- Försöksodlingen pågick i en månad.

Analys

Vid avslutning av försöksodlingen och skörd av de kvarvarande bön- och lupinplantorna, undersöktes först allmäntillståndet hos plantornas rötter. Därefter konstaterades om det bildats rotknölar i alla jordar. Rotknölaras storlek och mängd uppskattades. Slutligen delades rotknölarerna för bedömning om de var röda inuti, en rödfärg indikerar att aktiv kvävefixering pågår.

Genomförande av försöksodlingen

Detta försök genomfördes från den 28 januari till den 6 mars 2013 i Sveriges lantbruksuniversitets forsknings växthus i Alnarp. Jordarna som används i försöket kommer från fyra skånska odlingslokaler.

Tillsammans med Anita Gunnarsson och Per Modig, båda växtodlingsrådgivare vid Hushållssällskapet i Skepparslöv (Kristianstad) har jag i samtal och diskussion kommit fram till vilka jordar som har varit intressanta att använda sig av i detta försök. Det var av intresse att jordarna som skulle användas i försöket gärna hade någon odlingshistorik med baljväxter. Allra helst lupin eller böna inom de senaste 20 åren eftersom chansen att rotknölsbildningen ökar i en jord där det redan finns ett stort antal frilevande bakterier (Fogelfors 2001). I försöket adderades även en jord som inte hade någon känd odlingshistorik av baljväxter och därför var intressant ur den aspekten. Sådd av utsädet delades upp på tre olika

såningstillfällen. Ett skäl för detta var att det av praktiska skäl var bättre att inte preparera kontrollgrupperna samtidigt som jordarna förbereddes.

Presentation av de jordar som använts i försöket

Trädgårdsjord från Åkarp

Jorden är en mullrik sandjord som har tagits upp i den egna hemträdgården i samhället Åkarp, Skåne. Jorden grävdes upp i ett hörn av trädgården där det är gräsmatta och jorden har inte använts som odlingsjord.

Odlingsjord från Skepparslöv

Jorden är hämtad från Hushållningssällskapets experimentfält i Skepparslöv i Skåne och har en växtföljdshistorik.

”På detta fält har det under denna period inte förekommit baljväxter över huvud taget. Nuvarande växtföljd är sockerbetor, spannmål, morötter/spannmål, spannmål och sedan tillbaka till sockerbetor. Det vill säga i grunden en 4-årig växtföljd med sockerbetor och spannmål. Tidigare odlades sockerbetor i en treårig växtföljd. Morötter odlas vart 6:e år men kommer framöver förmodligen att odlas vart 8:e år. På de senaste 20 åren har det odlats sockerbetor 6 år, morötter 3 år, potatis 1 år och spannmål resten d.v.s. 10 år ” (Lundmark, 2013).

Odlingsjord från Per Modigs gård utanför Kristianstad

Försöksjorden är hämtad vid två odlingsfält, ”Vången” och ”Backen” utanför Kristianstad i Skåne. En summering av växtföljdshistoriken presenteras i *Tabell 3*.

Tabell 3: Växtföljdshistorik för Vången och Backen

	Vången	Backen
2012	Rågvete	Linser
2011	Lupin	Matbönor (svarta)
2010	Potatis	Lupin
2009	Betor	Råg
2008		Potatis

Källa: Per Modig 2013

”I både Vången och på Backen odlades det bruna bönor några gånger i slutet av 80- och början av 90-talet ” (Modig,epost, 2013).



*Figur 1. Visar Brun böna (*Phaseolus vulgaris* L.) och Blå lupin (*Lupinus angustifolius* L.) indelade efter jord/substrat. Foto: Christina Fröberg 2013.*

Insamling av jord

Efter upptagning av försöksjordarna, ca 10 liter per fält från det 20 cm översta jordlagret, fick de ligga på tork i två dagar. Efter torkningen sållades jorden genom ett såll med 4 mm stora maskor. Sållningen upprepades två gånger för att få försöksjorden finkornig och ren från sten, kvistar och växtrester.

Sådd

Vid första såningstillfället den 1 februari 2013 såddes de första 40 bönfröerna av sorten Katja. Fem en-liters krukor användes till varje jord. För att få en likformig mängd jord i varje kruka användes samma måttats vid uppmätningen av jord till krukorna. Därefter såddes två stycken frön i varje kruka. Vid hanteringen av jorden användes handskar, ett par till varje jord, för att minimera chanserna att jordbakterier skulle sprida sig från en kruka till en annan. Den spade som användes vid jordhanteringen diskades noggrant med vatten och diskmedel mellan varje användning. Noggrann rengöring av spaden gjordes efter varje jordpreparering. När krukorna var fyllda med jord och frö placerades de ut i grupper om fem på odlingsbord i ett växthus med inställd uppvärmningstemperatur på 20 grader C dagtid och 16 grader C nattetid. Efter detta vattnades alla krukor förutom dem med jord från ett av odlingsfälten, Backen. Detta eftersom jorden från Backen bedömdes vara tillräckligt fuktig. Lufttemperaturen i växthuset var ungefär 20 grader vid denna tidpunkt.

Andra såningstillfället ägde rum tre dagar efter den första sådden av bönor, det vill säga den 4 februari. Vid detta andra såningstillfälle preparerades de särskilda kontrollgrupperna för båda baljväxterna: Brun böna och Blå lupin. Kontrollgrupperna bestod av en negativ och en positiv kontrollgrupp, med både Brun böna (*Phaseolus vulgaris* L.) och Blå lupin (*Lupinus angustifolius* L.) i varje grupp, båda sorterna sådda i perlit (finkornigt vulkanmaterial utan växtnäring). Till den positiva kontrollgruppen skedde en inokulering. Inokuleringen genomfördes genom att två teskedar bakterie

inokulum för lupin respektive trädgårdsböna (levererades i januari 2013 från företaget Inocuola Scandinavia), som vardera blandades med 65 ml vatten. Varje gram inokulum innehåller en miljon bakterier. Denna blandning fick stå i 10 minuter med fröna för att ge bakterierna bra kontakt med frönas yta. Därefter såddes 10 stycken inokulerade bönfrön i krukor och 10 stycken inokulerade lupinfrön som en positiv kontrollgrupp. En negativ kontrollgrupp med samma antal frön, 10 bönfrön och 10 lupinfrön, men utan några tillsatta bakterier såddes samtidigt i separata krukor. Som avslutning vattnades alla krukor.

Tredje såningstillfället skedde en dag efter det förra tillfället, det vill säga den 5 februari. Då såddes 40 lupinfröer i jordar från Vången, Åkarp, Skepparslöv och Backen. Sådden genomfördes enligt samma rutiner som vid sådden av börnorna den 1 februari. Slutningen vattnades alla krukor som innehöll jord. Jordarna och kontrollgrupperna fick även var sitt gruppnummer (1- 6) för att det vid en senare randomisering skulle vara lätt att kunna spåra tillbaka till vilken grupp den enskilda krukans tillhörde.

Den 8 februari noterades den första uppkomsten se *Tabell 4*. Första uppkomsten skedde sju dagar efter sådd av Katja i jordarna VÅSB (Vången, Åkarp, Skepparslöv och Backen), fyra dagar efter sådd med Viol och Katja i kontrollgrupperna, samt tre dagar efter sådd av Viol i jordarna VÅSB. Alla

grupper vattnas sedan.

Grupp	Viol (blå lupin)	Katja (brun böna)	Antal sådda
Vången	2st	2st	20
Positiv Kontroll	7st	5st	20
Åkarp	1st	5st	20
Skepparslöv	1st	0st	20
Negativ Kontroll	4st	5st	20
Backen	0st	0st	20

Tabell 4: Uppkomst efter en vecka

En randomisering av krukorna i fem olika block genomfördes 8 dagar efter det sista såddtillfället, det vill säga den 13 februari. Detta för att få en slumpvis placering av krukorna på bordet och därmed skulle samtliga plantor få samma tillgång till ljus- och värmeinstrålning. Efter randomiseringen placerades fältjordarna i grupper om tio stycken i fyra olika kvarter. Kontrollgrupperna placerades i egna grupper med avstånd från de krukor med jord.

15 dagar efter sådden av kontrollgrupperna (den 19 februari) får dessa grupper för första gången kvävefri näring (0.5 dl + 0.5 dl vatten). Även en genomgallring skedde så varje kruka endast innehöll en planta. Samma dag genomfördes vattning av samtliga krukor och fotografering

30 dagar in i försöket (den 2 mars) noteras att många av lupinerna odlade i jord från Vången, Skepparslöv och Åkarp slokar, trots bevattning. Samma iakttagelser gjordes för bönorna men här var det endast två plantor odlade i jorden från Åkarp som slokade. Ingen bön- eller lupinplanta i kontrollgrupperna slokade. Sista bevattningstillfället sker den 5 mars.

Skörd sker den 6 mars och då slokar alla lupinplantor (ej de i kontroll) oavsett jord eller kvarvarande fuktighet i jorden.

Mätning av försöksjordarnas egenskaper

pH-mätning och ledningstals-mätning av försöksjordarna

Under försökets genomförande gjordes en mätning av de olika jordarnas pH-värden. Mätningen av pH-värden gör det möjligt att enkelt avgöra om en viss jord är lämpad för den gröda man ämnar odla. För att få jordarna mer lätthanterliga innan själva pH-mätningen torkades jordarna i ett dygn. Dagen därpå sållades jordarna och 30 ml av vardera jord mättes upp i mätglas. Därefter packades jorden lite genom att mätglaset slogs lätt i bordet. Fyra burkar fylldes med jord, en burk för varje jord. Därefter tillsattes 150 ml destillerat vatten till innehållet i varje burk. Burkarna sattes sedan i en snurra som fick skaka om burkarna i en timme för att få lösliga joner att släppa från markpartiklarna så de skulle hamna i vattenlösningen. Därefter mättes pH och LT (Ledningstal) för varje jord. pH-värdet säger vilken surhetsgrad jorden har, det vill säga koncentrationen av vätejoner det finns i en vätska. Ledningstalen (LT) säger hur hög den totala jonkoncentrationen är i jorden, vilket är en indikation på näringen i jorden. Se *Tabell 6* över pH-värden och LT i resultatdelen.

Resultat

Förekomst av rotknölsbildning hos båda arterna

Försöksodlingen visar att rotknölsymbios kan bildas spontant hos Brun böna (*Phaseolus vulgaris* L.) och Blå lupin (*Lupinus angustifolius* L.) som har odlats i sydsvenska jordar. Av totalt 24 plantor (efter gallring och bortfall, ursprungen 60st) visade 16 plantor av bönsorten Katja förekomst av kvävefixering. Av totalt 27 plantor (efter gallring och bortfall, ursprungen 60st) visade 12 plantor av lupinsorten Viol förekomst av kvävefixering. En tabell är framtagen så att det blir lättare att se vilka jordar (ej med kontrollgrupperna inräknade) som har naturlig förekomst av kvävefixerande bakterier för respektive art. Procentsaten för antal plantor som bildade rotknölar är satt efter antal plantor som räknades vid skörd. Sammanlagt noterades rotknölar på 13 av 14 skördade bönplantor och 12 av 18 skördade lupinplantor från försöksjordarna.

Tabell 5: visar en sammanställning av resultaten för bedömning av om det funnits rätt sorts bakterier i försöksjordarna.

Tabell 5: Förekomst av rotknölar hos plantor odlade i jordarna VÅSB.

Grupp	Antal plantor som räknades vid skördetillfället	Antal plantor med rotknölar	Antal plantor med kvävefixerande rotknölar	Procent (%) andel plantor som bildade rotknölar	Förekomst av rätt sorts bakterier
Åkarp: <i>Katja</i>	5	5/5	5	100%	Ja
Åkarp: <i>Viol</i>	5	4/5	4	80%	Ja
Vången: <i>Katja</i>	3	3/3	3	100%	Ja
Vången: <i>Viol</i>	5	5/5	5	100%	Ja
Skeppars löv: <i>Katja</i>	5	4/5	4	80%	Ja
Skeppars löv: <i>Viol</i>	5	0/5	0	0%	Nej
Backen: <i>Katja</i>	1	1/1	0	100%	Ja
Backen: <i>Viol</i>	3	3/3	3	100%	Ja

Vången: Hos lupinplantorna som vuxit i denna jord fanns det knölar (knottror) som satt längs med pålrötternas rothalsar. Knottrorna var ej helt färdigutvecklade vid tiden för skörd. Även om jorden var torr hade tre bönplantor (*Katja*) utvecklat rotknölar.

Positiv kontroll: Trots att bakterier hade inokulerats till både lupin och bönfröna hade endast en bönplanta av sorten *Katja* bildat rotknölar.



Åkarp: God uppkomst och rotknölsbildning för både lupinplantor och bönplantor i denna jord. En tvillingplanta av *Katja* hade bidragit till att det var en extra planta i denna jord. I denna jord konstaterades även största mängden rotknölar för både bruna bönor och lupin. Många av knölna satt i kluster vilka skiftade mot rosa.

Figur2. Rotknölar hos Brun böna (Phaseolus vulgaris L.), sorten Katja, odlad i jorden från Åkarp.

Foto: Christina Fröberg 2013

Skepparslöv: 2 stora rotknölar (ungefär 2 mm) och några mindre upptäcktes på en bönplanta. Färgen på knölarne var i övergången mot starkare rosa/rött. Odlingen i denna jord resulterade i fyra bönplantor med rotknölar. Inga rotknölar hade utvecklats på lupinplantorna.

Negativ kontroll: Trots att perliten är ett substrat som ska vara sterilt (med avsaknad av Rhizobium-bakterier) kunde ändå en liten rotknölsförekomst upptäckas på två bönplantor. Med andra ord hade en förmodad kontaminering inträffat på dessa två plantor. Inga av lupinplantorna var kontaminerade.

Backen: En bönplanta hade utvecklat några få rotknölar vid tiden för skörd och tre stycken lupinplantor hade bildat knottror på pålroten.

Vid delning av knölarne

Vången: Det hade skett kvävefixering i rotknölarne för både Katja och Viol.

Positiv kontroll: Ingen kvävefixering hade skett för varken Katja eller Viol eftersom knölarne fortfarande var vita (unga) hos den enda planta som utvecklat knölar.

Åkarp: Det hade skett kvävefixering i knölarne hos Katja och Viol.

Skepparslöv: Kvävefixering hade skett i knölarne hos Katja då de var rödrosa inuti. Hos Viol hade ingen fixering skett vid tiden för delningen eftersom inga knölar bildats.

Negativ kontroll: Ingen kvävefixering hade skett för Katja då knölarne fortfarande var vita (unga) vid tiden för delningen. Hos Viol saknades det knölbildning och därför hade ingen fixering skett.

Backen: Knölarne var precis i stadiet att skifta färg från vita till rosa så en påbörjad process kunde noteras för Katja. Vid delning av knottrorna hos Viol hade kvävefixering skett, då de var röda inuti.

Plantornas allmäntillstånd vid skördetillfället

Vid skördetillfället konstaterades att alla plantor med bruna bönor uppvisade ett gott allmäntillstånd med friskt bladverk och välutvecklade rötter. Lupinplantorna däremot hade ett mer varierat utseende, några var friska medan andra slokade och några hade dåligt utvecklade rötter.

Jorden som det var sämst uppkomst i för både lupin och bönor var jorden från Backen. Denna bestod mestadels av sand, ler och mycket lite organsikt material, vilket bidrog till en hård och cementlik struktur, vilket troligen medförde att rötterna var dåligt utvecklade och kala. Hård jordstruktur ledde till att rötterna hos lupin fick svårt att utveckla sig horisontalt och utvecklade då långa, svaga men ej förgrenade pålrötter. Generellet trivs lupin i mer lätta lerjordar.



*Figur 3. Rötter hos Blå lupin (Lupinus angustifolius L.)
Från vänster till höger: lupinplanta odlad i jord från Skepparslöv, Vången, Åkarp, samt i perlit.
Foto: Christina Fröberg 2013*

Lupinplantor i jorden från Backen uppvisade även skador på rothalsarna. Lupiner odlade i jorden från Åkarp slokade likaså vid skördetillfället. Trots slokande blad så hade fyra av fem lupinplantor utvecklat rotknölar i denna jord. I jorden från Vången var jorden torr, men ändå noterades förekomst av rotknölar för lupin. Hos lupinplantor som odlats i jord från Skepparslöv noterades mycket låg eller ingen förekomst av finrötter.

Bevattning

Både lupiner och trädgårdsbönor vill ha väl-dränerade jordar samt varma temperaturer, ca 20 grader C. Lupineras rotsystem söker sig naturligt djupt ner i marken så det ska generellt sett inte påverkas av vattenbrist. Jordarna var överlag fuktiga i mitten av krukans djup, men inte för torr eller blöt. Hur fuktig jorden har varit längst in i mitten har dock ej mätts innan skördetillfället då vidröring av jorden har undvikts på grund av smittorisk jordarna emellan. Vid skördetillfället konstaterades att perliten var fuktig i kontrollgrupperna. Rötterna var kraftigt utvecklade hos lupinerna om än kortare och mer horisontellt utvecklade i dessa grupper. Dessutom förekom många finrötter, men ingen av lupinplantorna hade utvecklat rotknölar.

I tidigare försök i perlit med liknade odlingsmetod har en fungerande rotknölsbildning etablerats för klöver (Carlsson 2013, e-post). Kontrollgrupperna har fått samma mängd vatten varför inga symptom noterats på varken slokande plantor eller för blött substrat.

Näring

Ingen extra näring tillfördes försöksjordarna vilket gjorde att bön- och lupinplantorna levde på reserver från fröet samt jordarnas ursprungliga näringsinnehåll. Till kontrollplantorna tillsattes näring men där växte samtliga lupiner och trädgårdsbönor bra. I andra studier där man tillsatt näring till plantorna har rotknölsbildningen fungerat. Det noterades att alla lupinplantor (med reservation för dem odlade i perlit) slokade oavsett vilken jord de växte i. Det var de äldsta bladen som slokade och inte de yngre vilket kan tyda på att ett mobilt näringsämne kan ha saknats.

pH-värde och ledningstal

Det högsta pH-värdet uppmättes i jorden från Skepparslöv. Lägst pH-värde uppmättes i jorden från Åkarp. Näringsrikaste jorden var jorden från Åkarp med ett ledningstal på 107,7 (μSv), vilket är relativt lågt. Lägst ledningstal mättes i jorden från Backen med 54,0 (μSv). Förmodligen berodde detta på

att ingen gödsling skett så pass tidigt på säsongen. Resultatet av pH-mätningen och LT-mätningen redovisas i *Tabell 6*.

Tabell 6: pH-värde och LT

Jord	pH	LT (μ Sv)
Vången	7,9	77,8
Backen	7,7	54,0
Åkarp	7,3	107,7
Skepparslöv	8,0	77,0

Eventuella felkällor i försöket

Samma spade användes för upptagning av jordarna Vången, Backen och Skepparslöv i fält, utan någon ordentlig rengöring däremellan. I gruppen negativ

kontroll hade två av Katja plantorna utvecklat rotknölar, vilket är ett misstag (kontaminering) utifrån då denna grupp inte skulle utveckla några knölar alls.

Diskussion

Denna diskussionsdel utgår från några viktiga faser i rotknölssymbiosen som af Geijersstam (2001) har skrivit om, samt diskuterar behovet av inokulerat utsäde utifrån P H Grahams litteraturstudier. Diskussionen tar även upp min ursprungliga frågeställning: *Kan rotknölssymbios bildas spontant hos trädgårdsböna och lupin då de odlas i jord på sydsvenska trädgårds- och jordbruksfält?*

Rätt bakterie och i rätt mängd

Förekomsten av rätt bakterie och i rätt mängd är något som poängteras av Raven et al (2005), Thrall et al (2011), Cardoso et al (2011), Fogelfors (2001) om en symbios ska uppstå mellan värdväxt och bakterie. Därför fungerar till exempel inte bakterier lämpade för klöver till trädgårdsböna eller lupin. Detta beror på den så kallade värdspecificiteten, som innebär att olika baljväxtarter behöver olika bakteriestammar för att bilda symbios (Raven et al 2005).

De bakteriestammar som inokulerats i kontrollgrupperna i den här genomförda försöksodlingen var specifikt avsedda för trädgårdsböna respektive lupin. Trots detta blev det näst intill utebliven rotknölsbildning hos de inokulerade plantorna i kontrollgrupperna. En anledning till att det blev dålig rotknölsförekomst kan vara att de inokulerade bakterierna i kontrollplantorna hade svårt att överleva i perlit eftersom miljön inte var gynnsam för just dessa bakterier. Eventuellt kan en kombination av för gammalt inokulum och ogynnsamt substrat vara orsaken till näst intill helt utebliven rotknölsbildning.

I jordarna Åkarp fanns det gott om rätt sorts bakterie då båda arterna uppvisade rotknölsförekomst. Även i Skepparslöv fanns rätt sorts bakterier för Katja och i Vången för Viol. Det intressanta med Åkarps-jorden som inte hade någon historik med odling av varken lupin eller bruna bönor, är att

där hade rotknölar utvecklats, alltså oberoende av tidigare odling av värdväxten.

Bönplantors förmåga till kvävefixering diskuteras i den vetenskapliga litteraturen, bland annat av Graham (1981). Graham (1981) hänvisar till studier som visar att bönplantor är svaga vad gäller kvävefixering och att de likaså svarar mycket ojämnt mot inokulering, och därför kan jordbrukare vara tveksamma till att använda den vanligaste bakteriesorten *Rhizobium* som inokulant. Graham (1981) menar att om bönor ska kunna fortsätta som en viktig jordbruksprodukt och proteinkälla måste nya sorter tas fram som har beprövad förmåga att både kunna fixera kväve och ta upp kväve ur marken.

Här finns anledning att påpeka att Graham (1981) i detta fall hänvisar till studier som gäller förhållanden i Latinamerika med fattiga småbönders odling i områden där jordförhållandena är andra än i Europa. Småböndernas jordar är ofta näringsfattiga och besås med identiskt lika utsäde över långa tidsperioder. Dessa faktorer kan påverka bönplantornas förmåga att både fixera och ta upp kväve ur marken (Graham 1981). Likaså kan kvävefixeringsförmågan hos bönplantor möjligen kopplas till sortvarianter och till egenskaper hos *Rhizobium* bakterien (Graham 1981). I detta sammanhang är det av intresse att fältstudier visar att kvävefixeringsförmågan varierar mellan olika bönvarianter och att högväxande varianter (var. *Communis*) har större förmåga att fixera kväve än lågväxande varianter (Graham 1981). De trädgårdsbönor (bruna bönor) som ingår i den här redovisade studien är av den lågväxande varianten, krypbönor (var. *nanus*).

Graham (1997) framför att tre faktorer kan medverka till varierande grad av kvävefixering hos bönplantor, tillgången till kolhydrater, plantans förmåga att ta upp kväve ur marken och dessutom växtperiodens längd fram till tidpunkten för plantans blomning. Rotknölarnas tillgång till kolhydrater påverkar ofta kväveupptagningen medan vissa plantorsorter kan absorbera kvävet i marken bättre än andra. Detta kan leda till att tillgången av kolhydrater till knölarna minskas och kvävefixeringen avtar eller upphör. Generellt upphör kvävefixeringen i samband med att bönplantan börjar blomma och ofta väljs sorter med tidig blomning i områden med kort odlingssäsong. Förmågan till kvävefixering varierar starkt baljväxter emellan. Enligt Graham (1997) kan den variera mellan 3 och 125 kg per hektar med hänvisning till de förhållanden som nämns ovan. Eftersom graden av kvävefixering är varierande och komplicerad att mäta, använder man ofta i större, kommersiella odlingar av bönor gödsling med upp till 60 kg kväve per hektar (Graham 1997). I fall av samodling av bönor med majs kan tillsättandet av konstgödning till majs i form av kväve leda till att tidig rotknölsbildning och kvävefixering hos bönplantan hämmas (Graham 1981). Samtidigt har andra studier visat att samodling av majs och bönor lett till att majs kunnat dra fördel av böornas kvävefixering (Graham 1997).

Kvävefixeringsförmågan hos Blå lupin har undersökts av en grupp forskare i Halle i Tyskland (Merbach et al. 2008). Studien bygger på försöksodling med krukodling av lupin i sandblandad jord med i vissa fall tillskott av

kvävegödning i några av krukorna. Syftet i Merbachs studie var att undersöka förekomsten av rotknölar hos lupin och beräkna omfattningen på kväveupptaget från gödningsmedlet och kväve från symbiotisk kvävefixering. Utsäde som inokulerats med *Rhizobium*-bakterier ökade den biologiska kvävefixeringen hos plantor som inte fick extra kvävegödning särskilt efter blomningen. Inokulerade plantor som fick extra kvävegödning visade ingen ökad grad av kvävefixering. Slutsatsen i studien är att kvävegödning vid såningstillfället förhindrade biologisk kvävefixering. Vad gäller de plantor som inte inokulerats kan sägas att de också visade en relativt hög kvävehalt, möjligen beroende på hög kvävehalt i krukjorden eller beroende på naturlig förekomst av *Rhizobium*-bakterier i jorden.

Infektion av bakterie i rothår/kontakt mellan värdväxt och bakterie

Hos lupinplantorna som odlats i jorden från Skepparslöv var rötterna ej välförgrenade och hade mycket lite eller inga finrötter. Som nämnts ovan kan värdväxten till exempel ha missformade finrötter och därför inte varit motagliga för bakteriernas infektion. Vid en kombination av fel bakteriellam och sjuka rötter fungerar inte igenkänningen mellan bakterie och värdväxt skriver af Geijersstam (2001). Även en störning vid rotknölsbildningen som fel pH kan vara en orsak till dålig rotknölsförekomst. Generellt bör jordens pH ligga mellan 6.5- 7.0 för baljväxter (af Geijersstam 2001), men pH låg mellan 7.3 -8.0 i de testade jordarna. Dock skriver Jansen (2006) att lupin föredrar sur eller neutral miljö (pH mellan 4,5-7,3), vilket kan vara en bidragande orsak till dålig rotutveckling och utebliven knölbildning för lupin i jorden från Skepparslöv, som hade pH 8. De övriga jordarnas egenskaper verkar ha passat båda arterna.

Behövs inokulerat utsäde?

Denna försöksodling visar på behovet av situationsanpassad kunskap angående behovet att inokulera baljväxter. Lupinsorten Viol skulle dra nytta av inokulering för att öka antalet rotknölar i jorden från Skepparslöv, eftersom det där ej blev någon rotknölsförekomst för denna sort. I jorden från Vången fanns det knotttror som visade på kvävefixering, men dessa var ej helt utvecklade. Med inokulerat utsäde skulle säkerheten för bättre knölbildning eventuellt höjas för denna sort enligt mina resultat. Vad det gäller bönsorten Katja finner jag det ej nödvändig att inokulera utsädet då den visar sig vara en sort som svarar gott på de naturligt förekommande markbakterierna i de undersökta jordarna. Bönsorten Katja svarade bäst på markbakterier i hemträdgårdsjorden Åkarp, där ej någon känd bönodling har skett.

Detta är värt att notera eftersom Graham (1981) menar att kvävefixeringsförmågan hos bönplantor möjligen kan kopplas till sortvarianter och till egenskaper hos *Rhizobium* bakterien. Graham (1997) påpekar att fältstudier visar att fixeringsförmågan varierar mellan olika bönvarianter. I denna studie har endast en sort av varje art utvärderats, och även om Katja visat sig vara en bra sort med avseende på rotknölsförekomst

i de testade jordarna skulle resultaten kunna se annorlunda ut för andra sorter.

Om min metod

Min studie visar att rotknölssymbios kan uppstå spontant i jordar där man inte känner till bakterieförekomsten i förväg. Studien visar likaså hur omfattande symbiosen är och hur den skiljer sig mellan de olika jordarna. Resultaten visar att i de undersökta jordarna fanns bakterier som var anpassade att ingå symbios med Brun böna och Blå lupin, med undantaget Blå lupin i jorden från Skepparslöv. Som nämnts tidigare så är en välfungerande kvävefixering hos baljväxter viktig eftersom detta ger förfruktsvärde till nästkommande grödor, gör grödorna näringsrika samt i längden leder till minskat beroende av handelsgödsel.

Styrkor och svagheter i mitt arbete

Tillförlitligheten hos den använda metoden (litteraturstudie och praktiskt moment)

- I det praktiska försöket kunde efter 35 dagars odling tydliga resultat utläsas.
- Försöksjordarna var oberoende av varandra och därför representativa. Proverna hade tagits över stora delar av fälten och ej endast på en begränsad yta.
- pH-mätningar gjordes.
- Odlingshistorik fanns.
- Ledningstal mättes.
- Studien skiljer sig åt från andra tidigare försök då inga inokulerade bakterier har används förutom till gruppen positiv kontroll.
- Litteratursökning och material har varit brett då artiklar, böcker och författare/forskare både har varit internationella samt svenska.

Svagheter hos den använda metoden

- Kan vara *tidskrävande* för en enda person att analysera och utvärdera resultaten från försöksodlingen. En möjlighet vore att genomföra försöksodlingen med ett mer begränsat antal jordar till exempel två jordar, men med ett större antal växter. Detta skulle kunna ge försöksodlingen ett ännu tydligare resultat.
- Eftersom det endast var fem stycken upprepningar för varje planta/jord så var *utgallringen* av överexemplar onödig. Eftersom försöket bara skulle hålla på i en månad så skulle två plantor i krukorna fungera, med eventuellt större krukor.
- Ingen kontroll på näringsstatus gjordes.
- *Perliten* som användes i kontrollgrupperna var förvillande lik rotknölar, vilket vid en rotknölbildning kan vara svårt att särskilja. Perliten var klistrig och fastnade lätt vid och runt rötterna vid tvättning. Förslagvis bör man använda sig av ett substrat som ej av likhet kan blandas ihop.

- *Perliten* är ett näringsfritt substrat som bakterierna kanske inte klarade av att överleva i.
- Vid preparering av kontrollgrupperna bör sterilisering av händer, handskar och substrat göras så det inte kommer in bakterier utifrån.
- Någon typ av *vattenmätare* kopplad till substratet, vore lämpligt då övervattning kan vara viktigt för resultatet då det med en okulär besiktning inte gick att avgöra mängden vatten som fanns i botten av krukan och då risken för övervattning var överhängande.
- Då kontrollplantorna inte svarade till de inokulerade bakterierna kan man vid en annan undersökning försöka ge en ny omgång av inokulerade bakterier ända tills en infektion inträffat.
- Kontrollgrupperna har ej varit till stor nytta i detta odlingsförsök då plantor som odlats i dessa grupper har haft andra odlingsförhållanden och säger därför lite om jorden som de ska mätas mot.
- En kontrollgrupp med jord + inokulering skulle vara ett intressant komplement till en sådan här studie, och skulle kunna bekräfta om frånvaron av rotknölar hos lupin i jorden från Skepparslöv berodde på brist av rätt bakterie.

Slutsatser

Försöksodlingen visar att förekomsten hos rätt sorts kvävefixerande bakterier för Brun böna (*Phaseolus vulgaris* L.) och Blå lupin (*Lupinus angustifolius* L.) fanns i jorden från samtliga provtagningsställen, med reservation för jorden från Skepparslöv. Skepparslövs-jorden hade bakterier som ingick symbios med Brun böna men kunde inte påvisa någon förekomst av rätt sorts kvävefixerande bakterie för Blå lupin (*Lupinus angustifolius* L.).

Efter genomförandet av min försöksodling kan inga konkreta slutsatser dras huruvida odlingshistoriken har någon betydelse, eftersom båda arterna kunde bilda rotknölar även i jordar där respektive art inte har förekommit under lång tid (minst 20 år för Skepparslöv, okänt för trädgårdsjorden från Åkarp).

Sammanfattningsvis kan min metod med försöksodling enkelt genomföras av hobbyodlare och jordbrukare för att kunna konstatera om jorden är lämplig för den tilltänkta grödan. Försöksodlingen visade att rotknölssymbios med kvävefixering kan bildas spontant hos Brun böna (*Phaseolus vulgaris* L.) och Blå lupin (*Lupinus angustifolius* L.) odlade i sydsvenska jordar, vilket är ett viktigt och positivt resultat.

Referenslista

af Geijersstam, L. 2001. *Baljväxter fixerar sämre kväve vid lågt pH*. Adelsköld, N. (red.) SLU. Fakta Jordbruk. Sammanfattar aktuell forskning. Nr 11 2001. Sveriges Lantbruksuniversitet.

Adams, C. R. ; Bamford, K. M . ; Early, M .P. 2008. *Principles of Horticulture*. Firth edition. Chapt. 21 Plant nutrition. Published by Elsevier Ltd. 2008

Cardoso, J. D. ; Hungria, M. & Andrade, D. S. 2011. *Polyphastic approach for the characterization of rhizobial symbionts effective in fixing N₂ with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)*. Applied genetics and Molecular biotechnology: Appl Microbiol Biotechnol (201) 93: 2035-2049.

Carlsson, G. 2013. Forskarsassistent vid Institutionen för Biosystem och Teknologi, Sveriges Lantbruksuniversitet, Alnarp

Fröberg, C. 2013. Figur 1: Bilden togs den 6 mars 2013, Alnarp. Figur 2. Bilden togs den 6 mars 2013, Alnarp. Figur 3. Bilden togs den 6 mars 2013, Alnarp.

Fogelberg, F. 2008. *Svenska bönor inte bara bruna – Klimat och jordmån passar även exotiska bönor*. JTJ informerar nr 121 Red. och layout: Johansson C. Ansvarig utgivare: Lennart Nelson LTJ Institutet för jordbruks- och miljöteknik 2008 ISSN 1651-7407

Fogelberg, F. 2013. Hortonom Dr. MSc horticulture, Sveriges Lantbruksuniversitet, januari-mars 2013 (epost).

Fogelfors, H. (red). 2001. *Växtproduktion i jordbruket*. Artikelförfattare L. Ohlander. Kap. Grödor. K. Huss-Danell. Kap. Växtfysiologi. Natur och Kultur/Lts Förlag, centraltryckeriet, Borås 2001. ISBN: 91-27-35292-7.

Graham, P.H. & Ranalli, P. 1997. *Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)*. Field Crops Research 53 (1997) 131-146. Elsevier Science B.V.

Graham, P. H.1981. *Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L : A review* . Field Crop Research, 4 (1981) 93 – 112. Elsevier Scientific Publishing Company

Jensen, C. R. ; Joernsgaard, B. ; Andersen, M. N. ; Christiansen, J. L. ; Mogensen, V. O. ; Friis, P. & Petersen, C. T. 2003. *The effect of lupins as compared with peas and oats on yield of subsequent winter barley crop*. European Journal of Agronomy. Europ. J. Agronomy 20 (2004) 405-418. Elsevier B.V

Jensen, E.S. & Carlsson, G. 2012. *Baljväxter minskar jordbrukets klimatpåverkan*. Nr. 5 Sept.2012. Svenska Vallföreningen.

Karaca, U. & Uyanöz, R. 2012. *Effectivness of native *Rhizobium* on nodulation and growth porperties of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.)* African Journal of Biotechnology Vol. 11 (37)pp. 8986-8991, 8 maj 2012. Academic Journals.

- Källander, I. & Ögren, E. 2005. *Ekologiskt lantbruk – odling och djurhållning*. Natur och Kultur. Tryckt i Danmark. ISBN: 91-27-35553-5
- Lundmark, S. Växtodlingsrådgivare. Hushållsällskapet i Kristianstad, mars 2013 (e-post).
- Marklund, K (red). 1990. *Nationalencyklopedin band 3*. Artikelförfattare T. Wretman. Bönor. B. Granström. Bönodling. Bokförlaget Bra böcker AB, Högnäs
- Merbach, W. ; Danz, F. ; Beschow, H. ; Deubel, A. ; Gans, W. & Ruppel, S. 2008. *Effect of nitrogen and rhizobium inoculation on yield and biological N₂ fixation of Blue lupins (Lupinus angustifolius L.)* J.A. Palta and J.B. Berger (reds). Proceedings of the 12th International Lupin Conference, 14-18 Sept. 2008. Fremantle, Western Australia. International Lupin Association, New Zealand. ISBN: 0-86476-153-8.
- Modig, P. 2013. Växtodlingsrådgivare, Hushållningssällskapet i Kristianstad, januari-mars (epost).
- Nationalencyklopedin <http://www.ne.se/lang/lupiner> Sökord Lupiner, hämtad 2013-03-13
- Nicklin, J. ; Graeme-Cook, K. ; Paget, T. & Killington, R. 1999. *Instant notes in microbiology*. Section F – Bacteria and their environment. Hames B D. (red.) BIOS Scientific Publishers Limited, 1999. ISBN 1 85996 156 8
- Niquisse, Z. 2012. *Contribution of White lupin (Lupinus albus L.) for food Security in North-Western Ethiopia: A Review*. Asian Journal of Plant Sciences 11 (5): 200-205, 2012. ISSN 1682-3974
- Näsholm, T.; Huss-Danell, K. & Hogberg, P. 2000. *Uptake of organic nitrogen in the field by four agriculturally important plant species*. Ecology 81: 1155–1161 <http://www.upsc.se/Publications/2000/uptake-of-organic-nitrogen-in-the-field-by-four-agriculturally-important-plant-species.html>
- Näsholm, T.; Huss-Danell, K. & Hogberg, P. 2001. *Uptake of glycine by field grown wheat*. New Phytologist 150: 59–63. <http://www.upsc.se/Publications/2001/uptake-of-glycine-by-field-grown-wheat.html>
- Raven, P.H. ; Evert, R.F. & Eichhorn, S.E. 2005. *Biology of Plants. Seventh Edition*. Chapter 29. Plant Nutrition and Soils. W. H. Freeman and Company Publishers. Printed in the United States of America. ISBN: 0-7167-10073
- Stepkowski, T.; Zak, M. ; Moulin, L. ; Króliczak, J. ; Golinska, B. ; Narozna, D. ; Safronova, V. I. & Madrzak, C.J. 2011. *Bradyrhizobium canariense and Bradyrhizobium japonicum are two dominant rhizobium species in root nodules of lupin and serradella plants growing in Europe* . Systematic and Applied Microbiology 34 (2011) 368-375. Elsevier GmbH.

Thrall, P. ; Laine, A-L. ; Broadhurst, L.M. ; Bagnall, D. & Brockwell, J. 2011. *Symbiotic effectiveness of Rhizobial mutualists varies in interaction with native Australian legume genera*. Rillig, M.(Red) Freie Universität Berlin, Germany. PLoS ONE. Published 26 August 2011. Vol. 6. Issue 8.

Widén, M. & Widén, B. (red.)2008. *Botanik*. Kap. 14. Blomväxternas systematik. Studentlitteratur ISBN: 978-91-44-04304-3. Tryckt i Danmark 2008.