



MTTK

MAATALOUDEN TUTKIMUSKESKUS

Tiedote 20/87

RIITTA KEMPPAINEN

Maanviljelyskemian ja -fysiikan osasto

Puna-apilan ympäys *Rhizobium*-bakteerilla

Inoculation of red clover by *Rhizobium* strain

MAATALOUDEN TUTKIMUSKESKUS

TIEDOTE 20/87

RIITTA KEMPPAINEN

Puna-apilan ympäys Rhizobium-bakteerilla
Inoculation of red clover by Rhizobium strain

Maanviljelyskemian ja -fysiikan osasto
31600 JOKIOINEN
(916) 844 11

ISSN 0359-7652

SISÄLLYSLUETTELO

	Sivu
TIIIVISTELMÄ	1
ABSTRACT	2
1. JOHDANTO	3
2. RHIZOBIUM-KANTOJEN TUNNISTAMISEEN KÄYTETYT MENETELMÄT	5
3. ANTIBIOOTTIRESISTENTTIEN KANTOJEN KEHITTELY	6
4. YMPPI-MATERIAALIN VALMISTUS	7
5. KOEJÄRJESTELYT	10
5.1. Aineisto ja menetelmät astiakokeessa	10
5.2. Aineisto ja menetelmät kenttäkokeissa	11
6. TULOKSET	13
6.1. Tulokset astiakokeesta	13
6.2. Tulokset kenttäkokeista	13
7. TULOSTEN TARKASTELU	20
KIRJALLISUUSLUETTELO	22

TIIVISTELMÄ

Tutkimuksessa selvitettiin eri ympäysmenetelmien vaikutusta puna-apilan infektoitumiseen ympäibakteerilla. Käytetyt ympäysmenetelmät olivat sekoitus-, granulaatti-, turverae- ja pilleröintimenetelmä. Sekoitusmenetelmässä hienojakoinen ympäiturve kylvettiin siementen alle. Granulaattimenetelmässä ympäiturvetta liimattiin puutarhakalkkirakeiden pinnalle ja rakeet kylvettiin siementen kanssa samanaikaisesti. Turveraemenetelmässä bakteerilientä imeytettiin apilan siementen kokoisiin turverakeisiin, jotka syötettiin kylvövakoon lannoitteiden tapaan. Pilleröintimenetelmässä apilan siemenet kuorrutettiin ympäiturpeella liimaa apuna käyttäen (ns. siemenympäys). Ympäibakteerina käytettiin korkeaa streptomysiinipitoisuutta kestäväää Rhizobium-kantaa, joten se pystyttiin antibioottimaljojen avulla tunnistamaan maan luontaisesta Rhizobium-populaatiosta.

Tutkimuksen aikana perustettiin pitkäaikainen (18 kk) astiakoe ja kolme kenttäkoetta. Ympäytymisen onnistumista tutkittiin määrittämällä ympäytymisprosentti, joka ilmaisee, kuinka monta juurinystyrää sadasta on syntynyt ympäaineesta peräisin olevien bakteerien vaikutuksesta. Apilan typensidontakyvyn mittana käytettiin versojen typpisatoja. Kokeissa seurattiin myös ympätyn bakteerin säilymistä maassa. Astiakokeissa apila kylvettiin kolmesti, mutta ympäys suoritettiin vain ensimmäisen kylvön yhteydessä. Sadonkorjuun ja nystyräbakteerien tunnistamisen jälkeen koemaita muhitettiin 4-5 kuukautta, jonka jälkeen kylvettiin uudet apilan siemenet. Koejärjestely toistettiin kahdesti. Kenttäkokeissa ympäibakteerin säilymistä maassa seurattiin määrittämällä ympäysprosentit koekaiden perustamisvuonna ja sitä seuraavana kesänä.

Astiakokeessa ympäytyminen onnistui hyvin kaikilla menetelmillä ympäytymisprosentin vaihdella 61:n ja 70:n prosentin välillä ensimmäisessä määrityksessä ja 83:n ja 94:n prosentin välillä muhituksen jälkeen tehdyssä määrityksessä.

Kenttäkokeissa parhaat ympäytymisprosentit saatiin pilleröinti- ja turveraemenetelmällä. Myös granulaattimenetelmällä ympäytyminen onnistui hyvin, mutta kylvövaiheessa ilmenneiden teknisten vaikeuksien takia tämä menetelmä ei soveltu käytännön apilanviljelyyn.

Sekä astia- että kenttäkokeet osoittivat, että ympätty bakteerikanta säilyi hyvin maassa ja pystyi infektoimaan huomattavan osan muodostuvista nystyröistä myös seuraavalla kasvukaudella.

ABSTRACT

The effects of various inoculation methods on the infection of red clover by rhizobia inoculum were studied. The methods of inoculation employed were mixing, lime granulating, peat granulating and glueing. For the mixing method inoculated peat meal was mixed into the soil beneath the seeds. In the granulating method lime granules were covered with inoculated peat and simultaneously sown with the seeds. In the peat granulating method granulated peat was moistened with a bacterium suspension and placed in the seed furrow as for fertilizers. By the glueing method the inoculant was bound to the seeds by means of glue (seed inoculation). The streptomycin resistant Rhizobium strain that served as the inoculant was identified on streptomycin plates from the natural Rhizobium populations present in the soil.

During this study an 18-month pot experiment and three field experiments were established. Success of the inoculations was tested by measuring the degree of infection. The nitrogen yield of red clover shoots served as the measure of nitrogen fixation. The survival of inoculant rhizobia in the soil was also studied. In the pot experiment clover seeds were sown three times but inoculation was performed only simultaneous to the first seeding. After harvest and identification of root nodule bacteria the soils were incubated for 4-5 months. Following the incubation period new clover seeds were sown. Soil incubation and bacterial identification were repeated twice. In the field experiments the survival of the rhizobia inoculum in soils was studied by measuring the degree of infection in the first and the second summer.

A high degree of infection was recorded in the pot experiment by all inoculation methods. The degree of infection was 61-70 % for the first identification and 83-94 % for the second identification after incubation. The highest degree of infection were recorded in the field experiments employing the glueing and the peat granulating methods. Incubation succeeded with the lime granulating method also but some technical difficulties were encountered. Thus, the method cannot be recommended for common clover cultivation. Both the pot and the field experiments showed that the inoculated bacterium survived in the soil and was also able to infect a great number of nodules during the following growing season.

1. JOHDANTO

Rhizobium on maaperässä yleisesti esiintyvä bakteerisuku, joka jakaantuu lukuisiin lajeihin. Eri palkokasveilla on omat Rhizobium-lajinsa, joiden kanssa ne voivat elää symbioosissa ja muodostaa ilmakehästä tyypeä sitovia nystyröitä. Rhizobium-lajien sisällä eri bakteerikannat eroavat toisistaan typensidonnan tehokkuudessa. Typensidonnan tehokkuuteen puolestaan vaikuttavat monet tekijät, kuten bakteerin typensidontageenit, kasvin ja bakteerin yhteensopivuus ja ympäristötekijät.

Rhizobium-populaation esiintymisrunsaus vaihtelee huomattavasti viljely- ja laidunmaissa. Maaperätekijöiden lisäksi Rhizobium-lajien esiintymisrunsauteen vaikuttaa se, onko kyseisellä maalla aiemmin viljelty isäntäpalkokasvia. Osastomme aikaisemmat tutkimukset (AURA ja KEMPPAINEN 1983a) osoittavat, että apilan, herneen ja härkäpavun ritsobeja esiintyy runsaasti suomalaisissa viljelymaissa, mutta papua ja sinimailasta infektoivia bakteerilajeja vain satunnaisesti tai ei ollenkaan. Jos viljelymaan luontainen Rhizobium-populaatio on vähäinen ja typensidontateholtan heikko, on perusteltua suorittaa ymppeys palkokasvin kylvön yhteydessä, jotta nystyröinti onnistuisi ja palkokasvin typensidontakykyä pystyttäisiin tehokkaasti hyödyntämään.

Biologiseen typensidontaan liittyvällä tutkimustyöllä on Suomessa pitkät perinteet. Akateemikko A.I. Virtanen aloitti ymppeykseen ja ymppepreparaattien valmistukseen liittyvät tutkimukset jo 1920-luvun alussa (VIRTANEN 1943). Ymppeivalmisteita käytettiin 1940-luvun alussa kaikkiaan 25 000 peltohehtaarilla (ROPONEN 1979). Apilan osuus nurmikasvustoissa oli vielä 50-luvun alussa 27 % (PAA-TELA 1953). Viljelyn voimaperäistyessä ja typpilannoitteiden yleistyessä 60-luvulla apilan viljely väheni nopeasti, ja ymppeivalmisteiden kysyntä pieneni samassa suhteessa. 70-luvun lopulle tultaessa apilan osuus nurmissa oli enää 2-4 prosenttia ja ymppeivalmisteita käytettiin vain 300 peltohehtaarilla (ROPONEN 1979). Typpilannoitteiden nopea hinnannousu 70-luvulla oli eräs syy siihen, että kiinnostus palkokasvien viljelyyn heräsi uudelleen. 80-luvun alussa aloitettiin useita Suomen Akatemian, SITRAn ja Maa- ja metsätalousministeriön rahoittamia tutkimuksia, joissa selvitettiin palkokasvien jalostukseen, viljelytekniikkaan ja ymppeykseen liittyviä kysymyksiä. Maatalouden tutkimuskeskuksen maanviljelyskemian ja -fysiikan osasto osallistui näihin tutkimuksiin selvittämällä mm. maaperän ominaisuuksien vaikutusta biologiseen typensidontaan (AURA ja KEMPPAINEN 1983c), tehokkaiden Rhizobium-bakteerien valintaa suomalaisista maista ja kar-

janlannan ja kalkituksen vaikutusta apilan typensidontaan (AURA ja KEMPPAINEN 1983a ja b). Lisäksi tutkittiin yhteistyössä Valtion maatalousteknologian tutkimuslaitoksen kanssa puna-apilan ympäystekniikkaa ja sen kehittämismahdollisuuksia (KEMPPAINEN 1985). Tässä tiedotteessa esitettävä tutkimus on jatkoa ympäystekniikan tehostamiseen liittyville kokeille. Tähän tutkimukseen saatiin rahoitusta Maa- ja metsätalousministeriöstä.

Ympäibakteerin kantaja-aineella on ratkaiseva merkitys ympäytymisen onnistumiseen. Kantaja-aineen täytyy olla kemiallisilta ominaisuuksiltaan sellaista, että bakteerit pystyvät elämään ja lisääntymään siinä säilytyksen aikana. Ulkomailla valmistetuissa ympäimateriaaleissa yleisin kantaja-aine on steriloitu tai steriloimaton turve. Muita mahdollisia kantaja-aineita ovat talkki, kipsi, savi, puuhiili, ruskohiili ja erilaiset selluloosajauheet (DATE ja ROUGHLEEEY 1977).

Ympäys voidaan suorittaa joko liimaamalla ympäimateriaalia siementen pintaan ennen kylvöä tai johtamalla kiinteässä tai nestemäisessä muodossa olevaa ympäiainetta kylvövakoon samanaikaisesti siementen kanssa. Ensin mainittu ympäyستapa on yleisimmin käytetty menetelmä Australiassa, Uudessa Seelannissa ja useissa Euroopan maissa (BROCKWELL 1981, MATERON ja HAGEDORN 1982, GAUR ja LOWTHER 1982). Tässä tutkimuksessa siemenympäyksestä käytetään nimitystä pilleröintimenetelmä. Siemenympäystä käytettäessä infektoituminen on yleensä ollut tehokasta ja sato-tulokset hyviä (DUDMAN ja BROCKWELL 1968). Ympäiaineen käyttö erillään siemenestä on todettu paremmaksi menetelmäksi silloin, kun on käytetty fungisiideilla peitattuja siemeniä tai jos siementen itäminen on viivästynyt epäedullisten kylvöolosuhteiden takia (BROCKWELL ym. 1980, HELY ym. 1980).

Suomessa palkokasvien ympäykseen käytetään perinteistä kostutusmenetelmää, jossa bakteerin kantaja-aineena oleva hienojakoinen turve tartutetaan vedellä kostutettuihin siemeniin. Menetelmän heikkoutena on turpeen huono kiinnittyminen siementen pintaan. Osastollamme on aikaisemmin tutkittu tätä ympäysmenetelmää ja todettu, että kylvö pitäisi suorittaa välittömästi ympäyksen jälkeen onnistuneen lopputuloksen saavuttamiseksi. Jos siementen pinta pääsee kuivahtamaan, huomattava osa turpeesta varisee irti siemenistä. Tästä syystä kostutusmenetelmää ei enää käytetty kesän 1985 kokeissa.

Tämän tutkimuksen tavoitteena oli testata Suomen viljelyolosuhteisiin soveltuvia apilan ympäysmenetelmiä ja seurata ympäytyn bakteerin säilymistä maassa.

2. RHIZOBIUM-KANTOJEN TUNNISTAMISEEN KÄYTETYT MENETELMÄT

Tutkittaessa ympäytymisen onnistumista on tärkeää, että ympätyn bakteerin vaiheita maassa pystytään seuraamaan ja että ympibakteerit pystytään tunnistamaan maan luontaisesta Rhizobium-populaatiosta. Tunnistamiseen on kehitetty kaksi menetelmää: serologiset menetelmät (VINCENT 1941, 1970, PURCHASE ym. 1951, READ 1953, KOONTY ja FABER 1961, SKRDLETA 1965, DUDMAN ja BROCKWELL 1968, KREMER ja WAGNER 1978, BERGER ym. 1979) ja antibioottimenetelmät (SCHWINGHAMER ja DUDMAN 1973, DANSO ja ALEXANDER 1974, BROCKWELL ym. 1977, KUYKENDALL ja WEBER 1978, COOPER 1979, PUGASHETTI ja WAGNER 1980, BUSHBY 1981). ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) edustaa yleisesti käytettyä serologista tunnistusmenetelmää, joka perustuu tietyille bakteerikannalle kaneissa tuotetun vasta-aineen spesifiseen reagointiin kannan antigeenin kanssa. Antibioottimenetelmissä tunnistaminen perustuu joko korkeiden (200 - 1000 $\mu\text{l/ml}$) tai alhaisten (1.25 - 20 $\mu\text{l/ml}$) antibioottipitoisuuksien käyttöön kasvualustassa. Korkean antibioottipitoisuuden sisältävällä kasvualustalla menestyvät Rhizobium-kannat, ns. merkattut kannat, muuttuvat spontaanin mutaation seurauksena resistentteiksi kyseiselle antibiootille. Tavallisimmin käytetty merkkiaine on streptomysiini, jonka lisäksi on käytetty myös spektinomysiiniä (SCHWINGHAMER ja DUDMAN 1973). Eräät tutkijat ovat käyttäneet ns. kaksoismerkattuja kantoja, jolloin streptomysiinin lisäksi on kasvualustaan lisätty rifambisiiniä tai erytromysiiniä (BUSHBY 1981, TURCO ym. 1986). Mutatoinnilla saatu antibioottiresistenttisyys on todettu hyvin säilyväksi ominaisuudeksi sekä laboratorio- että pitkäaikaisissa kenttäkokeissa (DANSO ja ALEXANDER 1974, BROCKWELL ym. 1977), minkä vuoksi se on hyvin käyttökelpoinen tunnistamismenetelmä Rhizobium-populaation ekologisissa tutkimuksissa. JOSEYn (1979) kehittämä Rhizobium-kantojen luontaiseen antibioottispektriin (IAR = intrinsic antibiotic resistance) perustuvassa identifiointimenetelmässä käytetään alhaisia antibioottipitoisuuksia. Tutkittavan kannan toleranssi testataan 8 - 10 antibiootin suhteen kahta tai kolmea konsentraatiota käyttäen, jotta saadaan riittävän laaja spektri.

Korkeaa antibioottipitoisuutta sietävän ympikannan etuja ovat stabiilisuus ja tunnistamisen helppous, haitta taas se, että mutaatio saattaa vaikuttaa epäedullisesti ympibakteerin symbioottisiin ominaisuuksiin, lähinnä typensidontatehoon ja nystyröintikykyyn. Tutkimustulokset näiden asioiden suhteen vaihtelevat suuresti. LEVINin ja MONTGOMERYn (1974) tutkimuksissa ei havaittu eroja

antibioottiresistenttien ja alkuperäisten kantojen välillä typensidontatehossa eikä nystyröinnissä. SCHWINGHAMER ja DUDMAN (1973) totesivat, että osittainen tai täydellinen typensidontatehon menetys tapahtui vain 20 prosentilla antibioottiresistenteistä kannoista. Täysin vastakkaisia tuloksia ovat saaneet ZELAZNA-KOWALSKA (1971) ja PANKHURST (1977), joiden tutkimuksissa antibiootilla merkatut kannat ovat menettäneet täysin typensidontakykynsä.

3. ANTIBIOOTTIRESISTENTTIEN KANTOJEN KEHITTELY

Tehokkaasti typpeä sitovien R.trifolii-kantojen antibioottien sietokykyä testattiin soveltamalla KUYKENDALLin ja WEBERin (1978) kehittämää menetelmää, joka perustuu joidenkin bakteerikantojen kykyyn spontaanisti mutatoitua sietämään antibiootteja kasvualustassaan. Kokeessa oli mukana 19 kantaa, jotka oli eristetty MTTK:ssa tehtyjen typensidontatutkimusten aikana. Kasvualustana käytettiin hii-vaekstraktimannitoliagarua (VINCENT 1970), johon oli lisätty 200 µg/ml streptomysiiniä tai 25 µg/ml kanamysiiniä. Kutakin bakteerikantaa levitettiin 0,1 ml (10^8 - 10^9 solua) agarin pinnalle ja maljoja inkuboitiin 4-5 vrk 22°C:n lämpötilassa. Mutatoituneet pesäkkeet siirrostettiin vielä kahdesti uusille antibioottimaljoille. Ensimmäisessä kasvatuksessa saatiin 8 streptomysiinille ja 4 kanamysiinille resistenttiä kantaa. Pesäkkeiden kasvatuksen aikana todettiin, että streptomysiinin suhteen kannat pysyivät muuttumattomina, mutta kanamysiinille resistentteissä kannoissa ilmeni häilyvyyttä.

Antibioottiresistenttisyytensä säilyttäneiden bakteerikantojen nystyröinti- ja typensidontakyky tutkittiin astiakokeiden avulla. Kasvualustana käytettiin rahkaturvetta, joka on ritsobien suhteen steriili turpeen alhaisen pH:n takia (pH ennen kalkitusta 2,9). Turvekalkittiin pH 5.6:een (0,01 M CaCl_2 -lietoksessa mitattuna) ja lannoitettiin Puutarhan PK-lannoitteella (N:P:K = 0:7:17) ja hivenseoksella (valmistaja Kemira), johon oli lisätty kobolttikloridia (100 g PK + 10 g hivenaineseosta + 1 g $\text{CoCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$). Lannoiteseosta käytettiin 2 ml/l turvetta. Vuorokauden ajan idätettyjen Venla-puna-apilan siemenet ympättiin bakteerisuspensiolla. Ympäys uusittiin viikon kuluttua. Kuuden viikon kuluttua ympäyksestä tehtiin havainnot kasvustojen rehevyydestä ja väristä sekä nystyröiden määrästä, koosta ja väristä. Kahdeksasta streptomysiiniresistentillä kannalla ympätystä koejäsenestä neljässä kasvusto oli rehevää ja tumman vihreää ja nystyrät suuria ja punertavia, mikä on osoitus toimivista, hyvin typpeä sitovista nystyröistä. Kahdessa streptomysiiniresistentillä kannalla ympätyssä astiassa kasvusto jäi matalaksi ja keltavihreäksi, ja nystyrät olivat pieniä ja vaaleita. Kaksi streptomysiiniresistenttiä kantaa eivät nystyröineet lainkaan. Kokeen nel-

jästä kanamysiiniresistentistä kannasta kolmessa kasvusto oli rehevää ja vihreää ja nystyrät suuria. Yksi kanta ei nystyröinyt lainkaan. Kaikista nystyröitä tehneistä kannoista eristettiin puhdasviljelmiä ja antibioottiresistenttisyuden säilyminen testattiin maljoilla. Streptomysiinikannoista 5 ja kanamysiinikannoista 2 olivat säilyneet muuttumattomina.

Seuraavassa astiakokeessa verrattiin alkuperäisten emokantojen, antibioottiresistenttien kantojen ja nystyröistä eristettyjen antibioottiresistenttisyytensä säilyttäneiden kantojen typensidontatehoa. Koejärjestelyt olivat samat kuin edellisessä astiakokeessa, kerranteita oli kolme. Kasvatusaika oli kahdeksan viikkoa, jonka jälkeen versojen kuivapainot punnittiin ja niiden typpipitoisuus määritettiin. Typensidontatehon mittana käytettiin versojen typpisatoja. Typpisatojen perusteella paras streptomysiiniresistentti kanta oli V20 (V20Str^r), joka muuttui pysyvästi korkeaa streptomysiinipitoisuutta kestäväksi menettämättä lainkaan typensidontatehoaan. Aikaisemmissa astiakokeissa oli todettu tämän kannan typensidontatehon vastaavan parhaiten maan luontaisen Rhizobium-populaatioiden typensidontatehoa. Erikoista V20-kannalle oli, että se kesti luontaisesti muidenkin antibioottien, kuten erytromysiinin, neomysiinin, nalidiksiinihapon, karbinosilliinin, polymyksiini-B-sulfaatin ja rifambisiinin, verraten korkeita pitoisuuksia. V20 Str^r-kanta tuotti apilalla 21 % suuremman typpisadon kuin emokanta. Myös kanamysiiniresistenteistä kannoista V20 oli paras tuottaen apilalla noin 10 % paremman typpisadon kuin emokanta. Muilla testatuilla kannoilla apilan typpisato oli 20-40 % pienempi kuin emokantojen typpisato. Näiden tulosten perusteella V20 Str^r-kanta valittiin jatkotutkimuksiin ja sitä käytettiin merkkikantana astia- ja kenttäkokeissa.

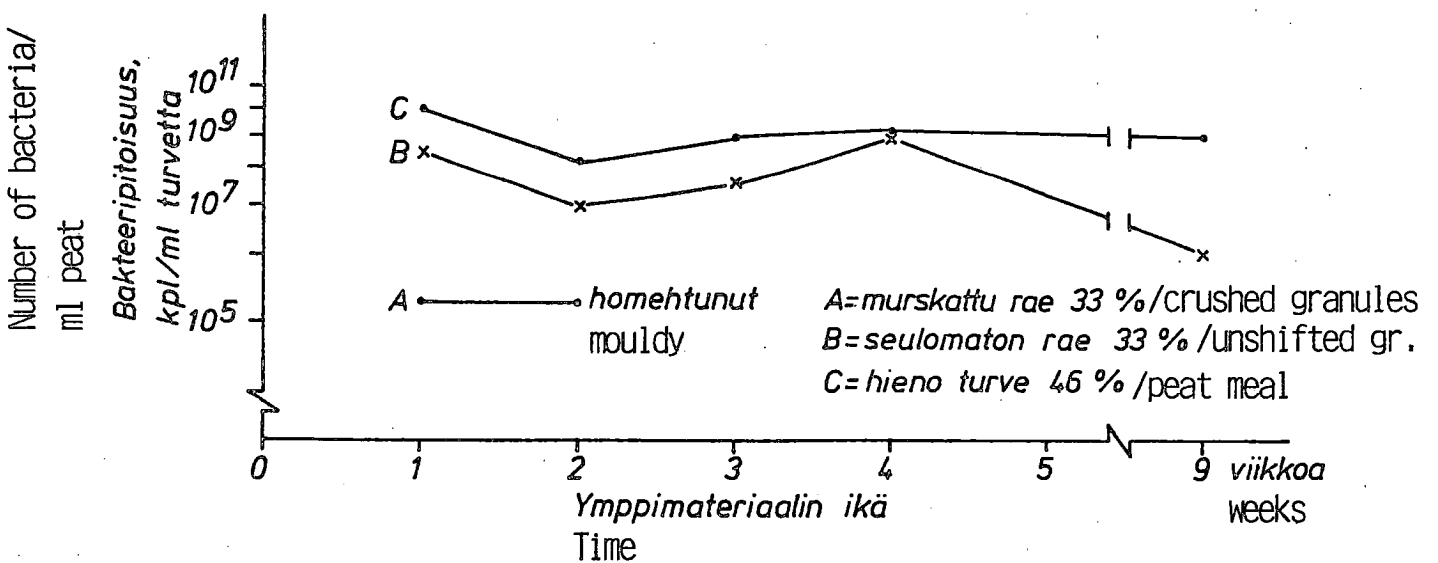
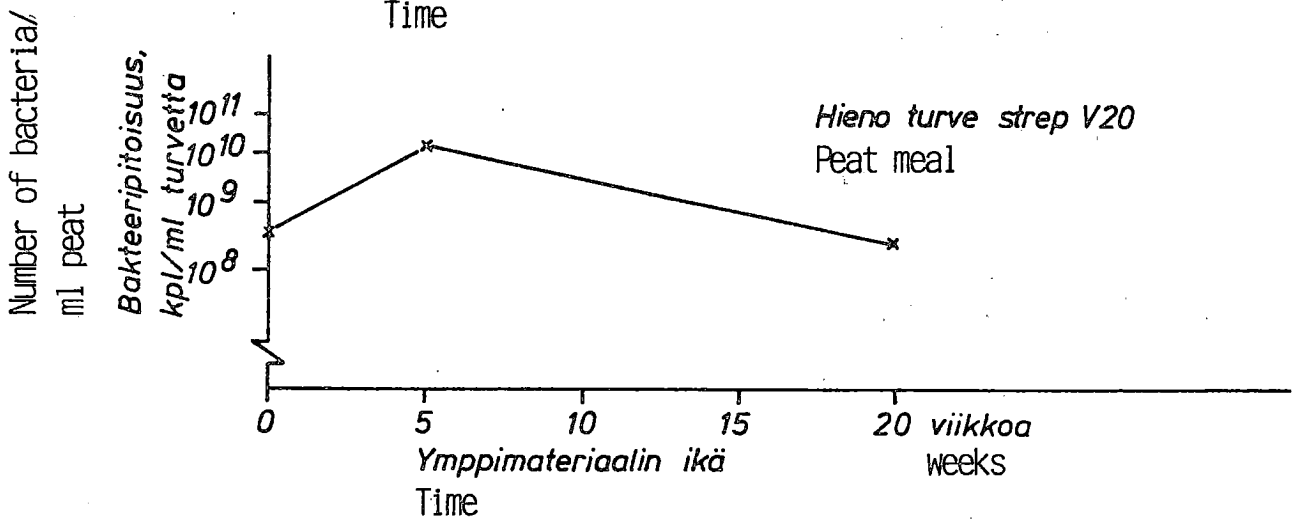
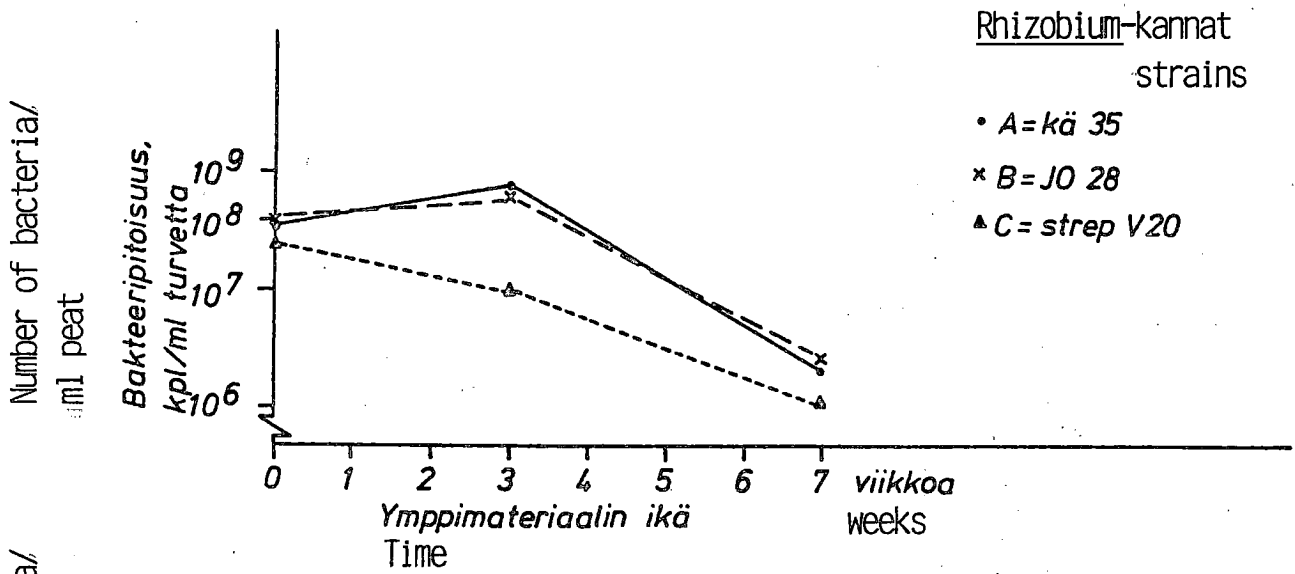
4. YMPPIATERIAALIN VALMISTUS

Ympibakteeria kasvatettiin panosviljelmänä hiivaekstraktimannitoliliemessä 24-30 tuntia 22^oC lämpötilassa. Siirroksena käytettiin eksponentiaalisessa kasvuvaiheessa olevaa bakterisuspensiota 1-5 % ravintoalustan määrästä. Kasvulientä ilmastoitiin puhaltamalla Sartorius-ilmansuodattimella (Sartofluor-capsule, huokoskoko 0,2 µm) steriloitua ilmaa noin 30 cm³ minuutissa nesteen pohjalle, jolloin saatiin syntymään tarvittava sekoitus. Vuorokauden kestäneen kasvatuksen aikana liemen bakteripitoisuus nousi 10⁷-10⁸ soluun/ml. Kolmen vuoden aikana tehtiin kaikkiaan 26 liemikasvatusta, joista 17 V20 Str^r-kannalla. Bakterin kantaja-aineena käytettiin steriloiomatonta hienojakoista tai rakeistettua turvetta, johon oli lisätty aktiivihiiltä. Turve oli kalkittu pH 6,5:een. Kokeissa valmistetut turve-erät oli valmistettu Kemira Oy:ssä, jossa kehiteltiin tutkimuksen aikana myös rakeistetun turpeen valmistusmenetelmiä. Tavoitteena oli

käyttää apilan siemenen kokoisia turverakeita, jotka imisivät riittävästi bakteerilientä itseensä, mutta säilyttäisivät silti hyvät syöttöominaisuutensa kylvön yhteydessä. Rakeiden valmistus osoittautui ongelmalliseksi, sillä rakeistuksen yhteydessä turpeen lämpötila nousi liian korkeaksi, mikä puolestaan aiheutti bakteerille myrkyllisten yhdisteiden syntymisen turpeeseen. Useita turverae-eriä jouduttiin hylkäämään, koska Rhizobium-bakteerit eivät pystyneet niissä elämään. Bakteerilientä lisättiin kuivaan turpeeseen niin paljon, että turve tuntui selvästi kostealta, mutta ei kuitenkaan paakkuuntunut. Hienojakoiseen turpeeseen bakteerilientä lisättiin 45-50 % ja rakeistettuun turpeeseen 33-35 % valmiin ymppimateriaalin painosta. Jos bakteeriliemen osuus rakeistettua turvetta käytettäessä nousi 40 prosenttiin, rakeet tarttuivat osittain kylvökoneen vannasputkiin ja aiheuttivat näin epätasaisen kylvön.

Valmis ymppimateriaali pakattiin polyetyleenipusseihin. Polyetyleni soveltuu hyvin ymppiturpeen pakkausmateriaaliksi, koska kaasut pystyvät vaihtumaan muovin läpi, mutta muovi pidättää tehokkaasti kosteutta. Kaikista valmistetuista turve-eristä tehtiin ensimmäinen bakteerilaskenta vuorokauden kuluttua valmistamisesta. Tällöin bakteeripitoisuus oli keskimäärin 10^7 - 10^8 kpl/ml. Ymppiturpeita säilytettiin 5 vuorokautta huoneenlämmössä, jonka jälkeen ne siirrettiin $+4^{\circ}\text{C}$:n lämpötilaan. Tutkimuksen aikana valmistettiin 41 ymppiturve-erää, joista 12:sta käytettiin hienojakoista turvetta. Osa turpeista valmistettiin astia- ja kenttäkokeissa käytettäväksi ja osa koe-eriksi, joilla tutkittiin eri menetelmillä valmistettujen rakeistettujen turpeiden soveltuvuutta bakteerin kantaja-aineeksi. Turpeiden bakteeripitoisuuden kehittymistä seurattiin varastoinnin aikana. Seuranta kesti yleensä 4 - 20 viikkoa, jona aikana turpeen bakteeripitoisuus saavutti huippunsa. Pisin bakteeripitoisuuden seuranta kesti 18 kuukautta. Kyseisen ymppiturpeen bakteeripitoisuus oli 2 viikon kuluttua valmistamisesta 4×10^{11} kpl/ml turvetta, vuoden säilytyksen jälkeen 8×10^7 kpl/ml ja puolentoista vuoden kuluttua 2×10^8 kpl/ml turvetta. Joihinkin turve-eriin kasvoi runsaasti hometta, jolloin bakteeripitoisuus laski jyrkästi. Kuvassa 1 esitetään tuloksia ymppiturpeiden bakteeripitoisuusmäärityksistä.

Turverakeiden lisäksi kokeiltiin myös puutarharakeiden soveltuvuutta ymppimateriaalin kantaja-aineeksi. Kalkkirakeiden pinta kovetettiin ensin liimakerroksella (esim. Finnfix) ja annettiin kuivua. Kovettuneiden rakeiden pintaan levitettiin uusi liimakerros ja rakeet kuorutettiin hienojakoisella ymppiturpeella. Myös kalkkirakeista tehtiin bakteerilaskenta raaputtamalla laskentaan tarvittava määrä turvetta rakeiden pinnalta. Bakteeripitoisuus oli viikon kuluttua valmistamisesta $2,3 \times 10^{10}$ kpl/ml ja 4 viikon kuluttua $2,7 \times 10^9$ kpl/ml turvetta. Tulokset osoittivat, että ritsobit viihtyivät hyvin kalkkirakeiden pinnalla.



Kuva 1. Ympymateriaalin bakteeripitoisuuden kehittyminen.
Figure 1. Development of bacterial density in the inoculation materials.

5. KOEJARJESTELYT

5.1. Aineisto ja menetelmät astiakokeessa

Ympäysmenetelmiä ja ympibakteerin säilymistä maassa tutkittiin pitkäaikaisen astiakokeen (18 kk) avulla. Koejäsenet olivat seuraavat:

Y_0 = ei ympäystä

Y_1 = ympäys sekoitusmenetelmällä, jossa hienojakoinen ympiturve sekoitettiin siementen alla olevaan 1 - 2 cm:n maakerrokseen; siemen (g) : ympiturve (g) = 1 : 5. Turpeen bakteeripitoisuus 1.6×10^{10} kpl/ml.

Y_2 = ympäys granulaattimenetelmällä, jossa puutarhakalkkirakeet kuorrutettiin ympiturpeella; kalkkirae (g) : ympiturve (g) : liima (g) = 10 : 1 : 2
siemen (g) : ympiturve kalkkirakeen pinnalla (g) = 1 : 5
Liimana käytettiin Finnfixiä 6 prosenttisenä liuoksena.

Y_3 = ympäys pilleröintimenetelmällä, jossa apilan siemenet kuorrutettiin ympiturpeella; siemen (g) : ympiturve (g) : liima (g) = 10 : 1 : 1.

Koemaana oli savi, jonka pH oli 5,6 (vesi-pH 6,1). Koeastioina käytettiin viiden litran muovisankoja, joihin maata lisättiin 5 l/astia. Maa lannoitettiin Puutarhan PK-lannoitteella (N:P:K = 0:7:17), johon oli lisätty magnesium- ja kobolttisulfaattia (100 g PK + 10 g $MgSO_4 \times 7H_2O$ + 200 mg $CoSO_4$). Lannoitetta käytettiin 2 ml maalitraa kohden. Puna-apilalajike oli Venla. Siemenet seulottiin ennen kylvöä ($\emptyset = 1,8-1,9$ mm) ja niitä kylvettiin noin 50 kpl (0,125 g) astiaa kohden. Ympibakteerina käytettiin korkeaa streptomysiinipitoisuutta sietävää V20 Str^r-kanta. Koemaan luontaisen Rhizobium-populaation koko tutkittiin MPN-menetelmällä (BROCKWELL ym. 1975).

Kokeessa vuorottelivat apilan kasvatus ja maiden muhitus seuraavasti:

I kylvö ja ympäys 1.4.1985

- ensimmäinen niitto 2 kuukauden kuluttua kylvöstä
- toinen niitto 3 kuukauden kuluttua kylvöstä
- ensimmäinen puhdasviljelmien eristäminen ympibakteerin tunnistamista varten

II kylvö ilman ympäystä 21.10.1985

- ensimmäinen niitto 2,5 kuukauden kuluttua kylvöstä
- toinen muhitus 5,5 kuukauden ajan

III kylvö ilman ympäystä 17.6.1985

- ensimmäinen niitto 2 kuukauden kuluttua kylvöstä
- toinen niitto 3,5 kuukauden kuluttua kylvöstä
- toinen puhdasviljelmien eristäminen ympibakteerin tunnistamista varten

Kokeessa oli yhdeksän rinnakkaisastiaa, joista kaksi käytettiin Rhizobium-puhdasviljelmien eristämiseen ennen ensimmäistä muhitusta. Maiden muhituksella pyrittiin selvittämään ympätyin bakteerin säilymistä maassa. Muhituksen ajaksi maat peitettiin rei'itetyllä muovilla ja vietiin pimeään paikkaan, jotta apilan kasvu saatiin pysähtymään. Muhituksen aikana nystyrät hajosivat. Ennen seuraavaa kylvöä maat sekoitettiin huolellisesti, jotta maassa oleva bakteeripopulaatio jakautuisi tasaisesti koko maa-erään. Kokeessa pyrittiin myös selvittämään, kuinka paljon apilan läsnäolo vaikuttaa ympibakteerin säilymiseen ja lisääntymiseen maassa. Koejäseniä Y_1 ja Y_2 varten täytettiin kuusi ylimääräistä astiaa, jotka ympättiin samalla ympimäärällä kokeen alussa kuin varsinaiset rinnakkaisastiatkin mutta joihin kylvettiin apilan siemenet vasta kolmannen kylvön yhteydessä (K_0).

Puhdasviljelmien tekemistä varten juuret pestiin huolellisesti lämpimällä vedellä, nystyrät leikattiin irti juurista, pintasteriloitiin minuutin ajan natriumhypokloriitilla (sis. 10 % aktiivista klooria) ja huuhdeltiin viisi kertaa steriilillä vedellä. Pintasteriloitu nystyrä murskattiin ja nystyrän sisältö levitettiin agarin pinnalle. Maljoja inkuboitiin $+25^{\circ}\text{C}$:ssa 3-4 vuorokautta, jonka jälkeen puhtaista pesäkkeistä siirrettiin kasvustoa uusille maljoille. Puhdasviljelmiä tehtiin tasapuolisesti sekä pää- että sivujuurten nystyröistä. Kaikista koejäsenistä otettiin suunnilleen samat määrät nystyröitä, mutta puhtaita kasvustoja saatiin ensimmäisessä eristyksessä noin 40 prosentista ja kokeen lopussa noin 15 prosentista nystyröitä (taulukko 1). Tästä syystä kustakin koejäsenestä testattujen isolaattien määrät vaihtelivat. Kaikki onnistuneet puhdasviljelmit testattiin sekä tavallisilla hiivaekstraktimannitoli- että streptomysiini-agarilla (200 ug/ml) käyttäen neljää rinnakkaismaljaa. Siirrostus tehtiin 25-piikkisellä monipisteinokulaattorilla. Apilan versojen kuivapainot punnittiin ja typpipitoisuus määritettiin Kjeldahl-menetelmällä. Typensidontakyvyn mittana käytettiin versojen typpisatoa.

5.2. Aineisto ja menetelmät kenttäkokeissa

Kenttäkokeita perustettiin keväällä 1985 sekä Jokioisiin (2 kpl) että VAKOLAan. Molemmat koekentät olivat hiesusavea. Maan pH oli Jokioisilla 6,1 (vesi-pH 6,6) ja VAKOLAssa 5,8 (vesi-pH 6,3). Koealueita ei lannoitettu lainkaan. Koeruudun koko oli Jokioisilla 10 m^2 ja VAKOLAssa 24 m^2 . Kerranteita oli neljä. Apilalajik-

keena oli Venla. Jokioisiin perustetuista kentistä ensimmäinen kylvettiin 3.6. (Jokioinen I) ja toinen kaksi viikkoa myöhemmin 17.6. (Jokioinen II) sekä VAKOLAN koe 5.6. Jokioisten kentältä määritettiin maassa luontaisesti elävän Rhizobium-populaation runsaus MPN-menetelmällä (BROCKWELL ym. 1975).

Koejäsenet olivat seuraavat:

A_0 = ymppäämätön

A_1 = ymppäys granulaattimenetelmällä, jossa puutarhakalkkirakeet kuorrutettiin hienojakoisella ymppiturpeella; turpeen bakteeripitoisuus $6,1 \times 10^9$ kpl/ml kalkkirae (g) : ymppiturve (g) : liima (g) = 10 : 1 : 1

A_2 = ymppäys turverakeilla; rakeiden bakteeripitoisuus $2,7 \times 10^9$ kpl/ml turvetta

A_3 = ymppäys pilleröintimenetelmällä, jossa siemenet kuorrutettiin hienojakoisella ymppiturpeella; turpeen bakteeripitoisuus $6,1 \times 10^9$ kpl/ml turvetta siemen (g) : turve (g) : liima (g) = 4 : 1 : 0,4

Jokioisten kokeet kylvettiin koeruutukylvökoneella. Siemenmäärä oli 20 kg/ha. Turveraetta kylvettiin 50 kg/ha ja puutarhakalkkiraetta 100 kg/ha. Ymppikanta oli V20 Str^r kaikissa kenttäkokeissa. VAKOLAN koe perustettiin Tume 200-kylvölannoittimella, jossa oli lisävarusteena heinänsiemenen kylvölaite. Lisäksi kylvölannoittimeen oli tehty eräitä rakeistetun turpeen kylvöä helpottavia muutoksia (ESALA ja KARA 1985). Kylvölannoitinta käytettäessä pyrittiin samoihin ymppiaineen syöttömääriin kuin koeruutukylvökoneetta käytettäessä. Puutarhakalkkirakeilla ja rakeistetulla turpeella tehtiin useita kiertokokeita, joiden perusteella laitteiston välityksiä säädettiin siten, että syöttömäärät saatiin mahdollisimman suuriksi. Puutarhakalkkirakeita saatiin syötetyksi 77 kg/ha (tavoite 100 kg/ha) ja turverakeita 61 kg/ha (tavoite 50 kg/ha). Apilan siemeniä käytettiin 21 kg/ha. Rakeistetun ymppiturpeen syöttö onnistui tasaisesti, mutta puutarhakalkkirakeet murskautuivat osittain syöttölaitteessa ja aiheuttivat vantoisiin johtavien putkien tukkeutumista. Putkia jouduttiin ravistelemaan auki kesken kylvön, joten kylvötulos oli epätasainen. Elokuun puolivälissä koekentiltä otettiin edustavat juuristonäytteet jokaisesta koeruudusta. Pää- ja sivujuurten nystyröistä eristettiin puhdasviljelmiä antibioottitestejä varten. Jokioisten kenttäkokeet korjattiin 11.9. ja VAKOLAN koe 23.9.1985, jolloin punnittiin ruutusatojen tuorepainot ja otettiin näytteet kuiva-aine- ja typpimäärityksiä varten. Jokioisten kentillä apila talvehti hyvin. Seuraavana kesänä eristettiin jälleen puhdasviljelmiä samoista koeruuduista, jotta voitiin selvittää, onko ympätty bakteerikanta säilynyt maassa ja pystyykö se kilpailemaan maan luontaisen Rhizobium-populaation kanssa. Kokeet korjattiin 27.6. ja 2.9.1986 ja sadosta tehtiin samat määritykset kuin edellisenä kesänä.

6. TULOKSET

6.1. Tulokset astiakokeesta

Taulukossa 1 esitetään antibioottitestausten tulokset ympäys- ja muhituskokeesta. Taulukosta ilmenee testaukseen käytettyjen apiloiden ja nystyröiden lukumäärä sekä niistä saatujen puhtasviljelmien määrä. Ympäytymisprosentilla ilmaistaan, kuinka suuri osuus kaikista testatuista eristyksistä tunnistettiin ympäibakteerin infektoimiksi. Kolmen kuukauden kuluttua kokeen perustamisesta tehdyssä testauksessa korkein ympäytymisprosentti saatiin granulaattimenetelmällä. Sekoitus- ja pilleröintimenetelmällä saatiin lähes yhtä hyvä ympäytymistulos, vaikka pilleröintimenetelmällä turvetta pystytään siirtämään maahan huomattavasti vähemmän kuin sekoitusmenetelmällä. 15 kuukautta myöhemmin tehdyt identifiointitulokset osoittavat, että ympätty Rhizobium-kanta on säilynyt hyvin ja lisääntynyt koemaassa kahden muhituksen ja apilan kasvatuksen aikana. Ympäytymisprosentit ovat kaikissa koejäsenissä korkeammat kuin ensimmäisen eristyksen aikana. Koejäsenistä Y_1K_0 ja Y_2K_0 eristetyistä nystyröistä lähes kaikki tunnistettiin ympäibakteerin muodostamiksi, mikä osoittaa, että ympätty bakteeri on säilyttänyt hyvin infektiivisyytensä maassa ilman apilan läsnäoloakin. MPN-tuloksen mukaan koemaan luontaisen Rhizobium-populaation koko oli $2,3 \times 10^7$ bakteeria grammassa maata, joten ympätty bakteeri joutui kovaan kilpailutilanteeseen infektoidessaan apilaa. Taulukossa 2 esitetään typpisatotulokset ympäys- ja muhituskokeesta. Apila kasvoi rehevästi kaikissa koeastioissa, mikä viittaa siihen, että koemaassa oli runsaasti mineraalityyppiä tai nopeasti mineraalisoituvaa tyyppiä, jolloin apilan ei tarvitse turvautua runsaasti energiaa kuluttavaan biologiseen typensidontaan. Ensimmäisen niiton typpisadoissa ei ollut eroja koejäsenten välillä. Vasta kolmannesta kylvöstä sekoitus- ja granulaattimenetelmällä saadut typpisadot olivat 20-30 % paremmat kuin ympäämättömien koejäsenten typpisadot, mutta nämäkään erot eivät olleet tilastollisesti merkitseviä.

6.2. Tulokset kenttäkokeista

Taulukossa 3 esitetään antibioottitestausten tulokset ympäysmenetelmäkokeesta Jokioinen I ja taulukossa 4 vastaavasti kokeesta Jokioinen II. Kesäkuun alussa perustetussa kokeessa ympäytymisprosentit olivat kaikilla käytetyillä ympäystavoilla huomattavasti korkeammat kuin kaksi viikkoa myöhemmin perustetussa kokeessa. Kesäkuun alussa kasvuolosuhteet olivat huomattavasti edullisemmat, sillä ensimmäisen kokeen kylvää seuranneina päivinä luonnonsateet (yht. 11 mm) kastelivat pintamaan ja nopeuttivat siementen itämistä. Kesäkuun puolivälissä toista

Taulukko 1. Identifiointitulokset ympppäysmenetelmä- ja muhituskoosteesta astiassa. Ensimmäiset eristykset 3 kuukauden, toiset 18 kuukauden kuluttua kokeen aloittamisesta.

Table 1. Identification results of the inoculation and incubation experiment. The first isolation of pure cultures after 3 months and the second after 18 months from the beginning of the experiment.

Eristykset	Koejäsen	Kasvien lukumäärä	Nystyröiden lukumäärä	Testattuja isolaatteja	Streptomysiinin kestäviä	Ymppäytymisprosentti
Isolation	Treatment	Number of plants	Number of nodules	Number of tested isolates	Number of str. resistant isolates	Degree of infection
I kesäkuussa -85	Y_0K_1	32	102	41	0	-
toisen niiton jälkeen	Y_1K_1	35	125	46	29	63
	Y_2K_1	33	142	57	40	70
I in June -85 after the second harvest	Y_3K_1	41	129	64	39	61
II elokuussa -86	Y_0K_1	62	124	12	0	-
viimeisen niiton jälkeen	Y_1K_0	22	61	10	10	100
	Y_1K_1	63	160	31	29	94
II in August -86 after the last harvest	Y_2K_0	26	90	12	10	83
	Y_2K_1	54	159	32	30	94
	Y_3K_1	67	150	35	29	83

Y_0 = ei ympppäystä

Y_0 = no inoculant

Y_1 = ympppäys sekoitusmenetelmällä, siemen (g) : ymppi (g) = 1 : 5

Y_1 = mixing method, seed : inoculant = 1 : 5

Y_2 = ympppäys granulaattimenetelmällä, kalkkirae ympin kantaja-aineena, siemen (g) : ymppi (g) = 1 : 5

Y_2 = lime granulating method, seed : inoculant = 1 : 5

Y_3 = ympppäys pilleröintimenetelmällä, siemen (g) : ymppi (g) = 1 : 10

Y_3 = glueing method, seed : inoculant = 10 : 1

K_1 = kolme kasvatusta, joiden välillä kaksi yhteensä 9,5 kuukautta kestänyttä muhitusta

K_1 = three growing periods with two incubations without clover interrupting

K_0 = yksi kasvatus, jota ennen 14,5 kuukautta kestänyt muhitus

K_0 = one growing period following an incubation of the inoculated soil for 14,5 months

Taulukko 2. Typpisatotulokset ympäys- ja muhituskokeesta astioissa.

Table 2. Nitrogen yields of the inoculation and incubation experiment.

	1. kylvö		2. kylvö		3. kylvö		Yhteensä Total
	1st seeding		2nd seeding		3rd seeding		
	1. niitto 1st cut	2. niitto 2nd cut	1. niitto 1st cut	1. niitto 1st cut	2. niitto 2nd cut		
	mg N/astia mg N/pot		mg N/astia mg N/pot		mg N/astia mg N/pot		
Y ₀ K ₁	504	567	298	745	304	2418	
Y ₁ K ₁	493	627	339	934	422	2815	
Y ₂ K ₁	503	601	294	925	416	2739	
Y ₃ K ₁	497	487	309	752	315	2360	
Y ₁ K ₀	-	-	-	837	411	1248	
Y ₂ K ₀	-	-	-	759	486	1245	

koetta perustettaessa pellon pinta oli ilmeisesti kuivunut liiaksi. Kokeen perustamista seuraavana päivänä tosin satoi 5,3 mm, mutta sitten seurasi viikon pituinen täysin sateeton jakso, mikä hidastutti apilan itämistä ja myöhästytti vastavasti nystyröitymistä. Kokeiden perustamisvuonna parhaat ympäytymisprosentit saatiin pilleröintimenetelmällä (45 ja 21 %). Seurantavuonna pilleröintimenetelmällä saadut ympäytymistulokset (29 ja 35 % osoittivat, että ympäibakteeri säilyi maassa hyvin talven yli. Myös rakeistetulla turpeella saatuja ympäytymistuloksia voidaan pitää hyvinä. Sen sijaan puutarhakalkkirakeiden avulla ympäyttäessä tulokset jäivät selvästi heikommiksi kummallakin koekentällä. Taulukossa 5 esitetään ympäytymistulokset VAKOLAn kenttäkokeesta. Paras ympäytymistulos saatiin pilleröintimenetelmällä (36 %). Puutarhakalkki- ja turverakeiden avulla ympäytyissä koejäsenissä tulos jäi heikoksi. Puutarhakalkkirakeilla saatu heikko tulos selittyy osittain sillä, että osa rakeista hajosi syöttölaitteistossa ja tukki vannasputkia, jolloin levitys jäi epätasaiseksi. Turverakeita syötettäessä tätä ongelmaa ei ollut. Taulukossa 6 esitetään typpisatotulokset Jokioisten kokeista I ja II sekä VAKOLAn kokeesta. Satotuloksissa ei ollut eroja koejäsenten välillä. Käytösämme olleilla koekentillä on aikaisemmin harjoitettu voimaperäistä apilaviljelyä, jolloin maahan on kehittynyt runsas luontainen Rhizobium-populaatio. MPN-määrityksen mukaan koemaassa oli $4,3 \times 10^5$ Rhizobium-bakteeria grammassa maata. Koepaikaksi valittiin sellainen alue, jolla tiedettiin olevan runsas luontainen Rhizobium-populaatio, jotta ympäty bakteeri joutuisi todelliseen kilpailutilanteeseen.

Taulukko 3. Identifiointitulokset ympäysmenetelmäkoosteesta, Jokioinen I. Kenttä-
koe perustettu 3.6.1985.

Table 3. Identification results of the inoculation experiment in the field at
Jokioinen. The experiment was established in June 3, 1985.

Eristykset	Koejäsen	Kasvien lukumäärä	Nystyröiden lukumäärä	Testattuja isolaatteja	Streptomysiinin kestäviä Number of str isolates	Ympäytymis- prosentti Degree of infection
Isolation	Treat- ment	Number of plants	Number of nodules	Number of tested iso- lates	Number of str resistant isolates	Degree of infection
1985	A ₀	96	179	68	0	0
	A ₁	150	200	103	25	24
	A ₂	138	219	131	47	36
	A ₃	156	190	113	51	45
1986	A ₀	150	281	29	0	0
	A ₁	190	449	50	11	22
	A ₂	216	373	58	22	38
	A ₃	240	470	56	16	29

A₀ = ympäämätön

A₀ = no inoculant

A₁ = ympäys granulaattimenetelmällä

A₁ = lime granulating method

A₂ = ympäys turverakeilla

A₂ = peat granulating method

A₃ = ympäys pilleröintimenetelmällä

A₃ = glueing method

Taulukko 4. Identifiointitulokset ympäysmenetelmäkokeesta, Jokioinen II. Kenttäkoe perustettu 17.6.1985.

Table 4. Identification results of the inoculation experiment in the field at Jokioinen. The experiment was established in June 17, 1985.

Eristykset	Koejäsen	Kasvien lukumäärä	Nystyröiden lukumäärä	Testattuja isolaatteja	Streptomysiinen kestäviä	Ympäytymisprosentti
<i>Isolation</i>	<i>Treatment</i>	<i>Number of plants</i>	<i>Number of nodules</i>	<i>Number of tested isolates</i>	<i>Number of str resistant isolates</i>	<i>Degree of infection</i>
1985	A ₀	118	143	50	0	0
	A ₁	158	175	69	11	16
	A ₂	135	155	82	12	15
	A ₃	195	191	87	18	21
1986	A ₀	120	273	22	0	0
	A ₁	153	406	34	5	15
	A ₂	169	501	31	8	26
	A ₃	188	490	43	15	35

A₀ = ympäämätön

A₀ = *no inoculant*

A₁ = ympäys granulaattimenetelmällä

A₁ = *lime granulating method*

A₂ = ympäys turverakeilla

A₂ = *peat granulating method*

A₃ = ympäys pilleröintimenetelmällä

A₃ = *glueing method*

Taulukko 5. Identifiontitulokset ympäysmenetelmäkoosteesta Vakolassa 1985.

Table 5. Identification results of the inoculation experiment in the field at Vakola in 1985.

Koejäsen <i>Treatment</i>	Kasvien lukumäärä <i>Number of plants</i>	Nystyröiden lukumäärä <i>Number of nodules</i>	Testattuja iso- laatteja <i>Number of tested isolates</i>	Streptomysiinin kestäviä <i>Number of str. resistant isolates</i>	Ympäytymis- prosentti <i>Degree of infection</i>
A ₀	150	159	69	0	0
A ₁	184	165	103	9	9
A ₂	162	183	96	7	7
A ₃	177	204	91	33	36

A₀ = ympäämätön

A₀ = *no inoculant*

A₁ = ympäys granulaattimenetelmällä

A₁ = *lime granulating method*

A₂ = ympäys turverakeilla

A₂ = *peat granulating method*

A₃ = ympäys pilleröintimenetelmällä

A₃ = *glueing method*

Taulukko 6. Typpisadot Jokioisten ja Vakolan kenttäkokeista.

Table 6. Nitrogen yields obtained in the field inoculation experiments at Jokioinen and Vakola.

	Jokioinen I				Jokioinen II				Vakola	
	1985		1986		1985		1986		1985	
	1. niitto 1st cut	2. niitto 2nd cut	1. niitto 1st cut	2. niitto 2nd cut	1. niitto 1st cut	2. niitto 2nd cut	1. niitto 1st cut	2. niitto 2nd cut	Yhteensä Total	Yhteensä Total
A ₀	98	148	140	140	106	133	143	143	382	117
A ₁	110	148	144	144	108	129	140	140	377	119
A ₂	109	148	143	143	106	133	143	143	382	119
A ₃	110	149	134	134	105	130	148	148	383	122

A₀ = ympäämätön

A₀ = no inoculant

A₂ = ympäys turverakeilla

A₂ = peat granulating method

A₁ = ympäys granulaattimenetelmällä

A₁ = lime granulating method

A₃ = ympäys pilleröintimenetelmällä

A₃ = glueing method

7. TULOSTEN TARKASTELU

Kaikki käytetyt ymppäysmenetelmät toimivat hyvin sekä astia- että kenttäkokeissa. Parhaat ymppäytymistulokset saatiin pilleröintimenetelmällä ymppäytymisprosenttien vaihdella kenttäkokeissa perustamisvuonna 21:stä 45:een ja seurantavuonna 29:stä 35:een. Ymppäytymistulokset vastaavat hyvin ulkomaisissa tutkimuksissa saatuja tuloksia. GAURin ja LOWTHERin (1982) Uudessa Seelannissa tekemissä kenttäkokeissa tutkittiin pilleröintimenetelmää käyttäen viiden Rhizobium-kannan, kahden ymppimäärän (6 ja 60 g ymppiturvetta/1 kg siemeniä) sekä ympätyn siemenen kalkilla kuorruttamisen vaikutusta ymppäytymisen onnistumiseen ja ymppibakteerin säilymiseen maassa. Kuusi kuukautta kylvön jälkeen ymppäytymistulokset vaihtelivat 8:sta 38 prosenttiin, kun käytettiin pienempää ymppimäärää ilman kalkkikuorrutusta ja kalkkikuorrutuksen kanssa 36:sta 57 prosenttiin. Suurempaa ymppimäärää käytettäessä vastaavat tulokset olivat 28-52 ja 50-64 %.

Turveraamenetelmästä saadut kokemukset olivat lupaavia. Rakeet olivat helppokäyttöisiä ja juoksivat hyvin kylvölaitteistossa. Ymppäytymistulos eri koepaikoilla vaihteli 7:n ja 36 prosentin välillä, joten hajonta oli melko suuri. Kun verrataan Jokioisten kenttien ensimmäisen ja toisen koevuoden tuloksia keskenään, havaitaan että kummallakin kentällä toisen koevuoden ymppäytymistulokset olivat parempia kuin ensimmäisen. Tulos viittaa siihen, että ymppibakteeri on tehokkaasti levinnyt apilan juuriston ympärille ja infektoinut huomattavan osan nystyröistä toisenakin koevuonna. Myös granulaattimenetelmällä saatiin ymppäytyminen onnistumaan hyvin, mutta tämä menetelmä ei kuitenkaan sovellu käytännön apilaviljelyyn. Ymppimateriaalin valmistus on liian monimutkainen työ maataloilla suoritettavaksi ja etukäteen valmistettuna puutarhakalkkirakeet kostuvat säilytyksen aikana, jolloin ne osittain jauhautuvat rikki kylvökoneessa.

Käytetyn ymppäysmenetelmän ohella on maan luontaisen Rhizobium-populaation koolla huomattava merkitys ymppäytymisen onnistumiseen. Useissa ulkomailla tehdyissä tutkimuksissa (esim. DUDMAN ja BROCKWELL 1968, BROCKWELL 1981) on todettu, että jos luontainen Rhizobium-populaatio on suuri ($>10\ 000$ bakteeria grammassa maata), ymppäyksen onnistuminen on epätodennäköistä. Hyvin onnistunut ymppäyskään ei välttämättä takaa sitä, että siirrostettu populaatio jää elämään maahan pysyvästi. Jos ymppikanta ei sopeudu maahan, se saattaa hävitä lyhyessäkin ajassa. DUDMANin ja BROCKWELLin (1968) tutkimuksissa erään koepaikan ymppäytymisprosentiksi saatiin 76 14 kuukauden kuluttua kokeen perustamisesta, mutta neljä kuukautta myöhemmin ympätty kanta oli hävinnyt täydellisesti.

Jokioisten koepaikalla luontaisen Rhizobium-populaation koko oli keskimäärin 430 000 bakteeria grammassa maata, mikä on monikymmenkertaisesti suurempi bakteeripitoisuus kuin minkä BROCKWELL (1981) esitti raja-arvoksi ymppäytymisen onnistumiselle. Jokioisten kokeista saadut korkeat ymppäytymisprosentit osoittavat, että käyttämämme ymppikanta oli kilpailukykyinen ja infektiivinen. Lisäksi se säilyi hyvin maassa seuraavalle kasvukaudelle. Kannan typensidontakapasiteetti ei kuitenkaan ole vielä niin hyvä, että se näkyisi selvänä parannuksena typpisatotuloksissa sellaisilla mailla, joissa luontainen Rhizobium-populaatio on tehokkaasti typpeä sitova kuten Jokioisten kentällä. Jatkotutkimuksissa tulisi-kin keskittyä ymppikannan typensidontakyvyn parantamiseen.

KIRJALLISUUSLUETTELO

- AURA, E. & KEMPPAINEN, R. 1983a. Tehokkaiden Rhizobium-bakteereiden valinta suomalaisista maista. SITRA, Biologisen typensidonnän ja ravinnetypen hyväksikäytön projekti. Julkaisu 5: 1-20.
- & KEMPPAINEN, R. 1983b. Kalkituksen ja karjanlannan vaikutus puna-apilan typensidontaan. SITRA, Biologisen typensidonnän ja ravinnetypen hyväksikäytön projekti. Julkaisu 5: 33-44.
- & KEMPPAINEN, R. 1983c. Maaperän ominaisuuksien vaikutukset. Biologinen typensidonta peltokasvien viljelyssä. Suomen Akatemian sopimustutkimuksen no. 383 loppuraportti. p. 281-293. Helsinki.
- BERGER, J.A., MAY, S.N., BERGER, R.L. & BOHLOOL, B.B. 1979. Colorimetric enzyme-linked immunosorbent assay for the identification of strains of Rhizobium in culture and in the nodules of lentils. Appl. Environ. Microbiol. 37: 642-646.
- BEYNON, J.L. & JOSEY, D.P. 1980. Demonstration of heterogeneity in a natural population of Rhizobium phaseoli using variation on intrinsic antibiotic resistance. J. Gen. Microbiol. 118: 437-442.
- BROCKWELL, J. 1981. A strategy for legume nodulation research in developing regions of the old world. Plant and Soil 58: 367-382.
- , SCHWINGHAMER, E.A. & GAULT, R.R. 1977. Ecological studies of root-nodule bacteria introduced into field environments - V. A critical examination of the stability of antigenic and streptomycin-resistance markers for identification of strains of Rhizobium trifolii. Soil Biol. Biochem. 9: 19-24.
- , DIATLOFF, A., GRASSIA, A. & ROBINSON, A. C. 1975. Use of wild soybean (Glycine ussuriensis Regel and Maack) as a test plant in dilution-nodulation frequency tests for counting Rhizobium japonicum. Soil Biol. Biochem. 7: 305-311.
- BROCKWELL, J., GAULT, R.R., CHASE, D.L., HELY, F.W., ZORIN, M. & CORBIN, E.J. 1980. An Appraisal of practical alternatives to legume seed inoculation: field experiments on seed bed inoculation with solid and liquid inoculants. Aust. J. Agric. Res. 31: 47-60.
- BUSHBY, H.V.A. 1981. Quantitative estimation of rhizobia in non-sterile soil using antibiotics and fungicides. Soil Biol. Biochem. 13: 237-239.
- COOPER, J.E. 1979. Rapid method for counting antibiotic-resistant rhizobia in soils. Soil Biol. Biochem. 11: 433-435.
- DANSO, S.K.A. & ALEXANDER, M. 1974. Survival of two strains of Rhizobium in soil. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 38: 86-89.
- DATE, R.A. & ROUGHLEY, R.J. 1977. Preparation of legume seed inoculants. In a treatise on dinitrogen fixation. Section IV, Agronomy and Ecology. p. 243-275. New York.
- DUDMAN, W.F. & BROCKWELL, J. 1968. Ecological studies of root nodule bacteria introduced into field environments. I. A survey of field performance of clover inoculants by gel immunodiffusion serology. Aust. J. Agric. Res. 19: 739-747.

- ESALA, J. & KARA, O. 1985. Turveraemenetelmä ja pilleröintimenetelmä puna-apilan ympäyksessä. SITRA, Biologisen typensidonnän ja ravinnetyypen hyväksikäytön projekti. Julkaisu 19: 32-44.
- GAUR, Y.D. & LOWTHER, W.L. 1982. Competitiveness and persistence of introduced rhizobia on oversown clover: influence of strain, inoculation rate and lime pelleting. *Soil Biol. Biochem.* 14: 99-102.
- HELY, F.W., HUTCHINGS, R.J. & ZORIN, M. 1980. Methods of rhizobial inoculation and sowing techniques for Trifolium subterraneum L. establishment in a harsh winter environment. *Aust. J. Agric. Res.* 31: 703-712.
- JOSEY, D.P., BEYNON, J.L., JOHNSTON, A.W.D. & BERINGER, J.E. 1979. Strain identification in Rhizobium using intrinsic antibiotic resistance. *J. Appl. Bact.* 46: 343-350.
- KEMPPAINEN, R. 1985. Puna-apilan ympäystekniikan tehostaminen. SITRA, Biologisen typensidonnän ja ravinnetyypen hyväksikäytön projekti. Julkaisu 19: 1-31.
- KOONTY, F.P. & FABER, J.E. 1961. Somatic antigens of Rhizobium japonicum. *Soil Science.* 91: 228-232.
- KREMER, J.R. & WAGNER, G.H. 1978. Detection of soluble Rhizobium japonicum antigens in soil by immunodiffusion. *Soil Biol. Biochem.* 9: 247-255.
- KUYKENDALL, L.D. & WEBER, D.F. 1978. Genetically marked Rhizobium identifiable as inoculum strain in nodules of soybean plants grown in fields populated with Rhizobium japonicum. *Appl. Environ. Microbiol.* 36: 915-919.
- LEVIN, R.A. & MONTGOMERY, M.P. 1974. Sympiotic effectiveness of antibiotic resistant mutants of Rhizobium japonicum. *Plant and Soil* 41: 669-676.
- MATERON, L.A. & HAGEDORN, C. 1982. Competitiveness of Rhizobium trifolii strains associated with red clover (Trifolium pratense L.) in Mississippi soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 44: 1096-1101.
- PAATELA, J. 1953. Maamme heinäurmién koostumuksesta. *Suom. Maatal.tiet. Seur.* Julk. 79, 3: 1-128.
- PANKHURST, C.E. 1977. Symbiotic effectiveness of antibiotic resistant mutants of fast and slow-growing strains of Rhizobium nodulating Lotus species. *Can. J. Microbiol.* 23: 1026-1033.
- PURCHASE, H.F., VINCENT, J.M. & WARD, L.M. 1951. Serological studies of the root nodule bacteria. *Proc. Linnean Soc. New South Wales.* 76: 1-6.
- PUGASHETTI, B.K. & WAGNER, G.H. 1980. Survival and multiplication of Rhizobium japonicum strains in slit loam. *Plant and Soil* 56: 217-227.
- READ, M.P. 1953. The establishment of serologically identifiable strains of Rhizobium trifolii in field soils in competition with native microflora. *J. Gen. Microbiol.* 9: 1-14.

- ROPONEN, I. 1979. Nystyräbakteerien (Rhizobium) tuotantotilanne Suomessa. Biologisen työpöydän seminaari. Mikkeli, Varsavuori 29.-30.5.1979, p. 146-157.
- SCHWINGHAMER, E.A. & DUDMAN, W.F. 1973. Evaluation of spectinomycin resistance as a marker for ecological studies with Rhizobium spp. J. appl. Bact. 36: 263-272.
- SKRDLETA, V. 1965. Somatic sero-groups of Rhizobium japonicum. Plant and Soil 23: 43-48.
- TURCO, R.F., MOORMAN, T.B. & BEZDICEK, D.F. 1986. Effectiveness and competitiveness of spontaneous antibiotic-resistant mutants of Rhizobium leguminosarum and Rhizobium japonicum. Soil Biol. Biochem. 18: 259-262.
- VINCENT, J.M. 1941. Serological studies of the root nodule bacteria. I. Strains of Rhizobium meliloti. Proc. Linnean Soc. New South Wales 66: 145-154.
- 1970. A manual for the practical study of root nodule bacteria, International biological programme handbook, vol. 15. 164 p. Oxford.
- VIRTANEN, A.I. 1943. AIV-järjestelmä karjanruokinnan perustana. 297 p. 1. painos. Helsinki.
- ZELAZNA-KOWALSKA, I. 1971. Correlation between streptomycin resistance and infectiveness in Rhizobium trifolii. Plant and Soil. Special Volume: 67-71.

MAATALOUDEN TUTKIMUSKESKUKSEN TIEDOTTEET

1983

1. Maatalouden tutkimuskeskuksen yksiköiden tiedotteet 1975-1982. 48 p.
2. KONTTURI, M. Mallasohra - kirjallisuuskatsaus. 42 p.
3. NORDLUND, A. & ESALA, M. Maatalouden sääpalvelut ulkomailla. Kirjallisuustutkimus. 66 p.
4. MUSTONEN, L., PUILLI, S., RANTANEN, O. & MATTILA, L. Virallisten lajikekokeiden tuloksia 1975-1982. 186 p. + 4 liitettä.
5. SUONURMI-RASI, R. & HUOKUNA, E. Kaliumin lannoitustason ja -tavan vaikutus tuorerehunurmien satoihin ja maiden K-pitoisuuksiin. 13 p. + 8 liitettä.
6. KEMPPAINEN, E. & HEIMO, M. Förbättring av stallqödselns utnyttjande. Litteraturöversikt. 81 p.
7. MULTAMÄKI, K. & KASEVA, A. Kotimaiset lajikkeet. 10 p.
8. LÖFSTRÖM, I. Kasvien sisältämät aineet tuholaiistorjunnassa. 26 p.
9. HEIKINHEIMO, O. Kirvojen preparointi ja määrittäminen. 67 p. + 12 liitettä.
10. SAARELA, I. Soklin fosforimalmi fosforilannoitteena. p. 1-13. Humuspitoiset lannoitteet. p. 14-20.
11. YLÄRANTA, T. Jordanalysetoder i de nordiska länderna. 13 p.
12. LUOMA, S. & HAKKOLA, H. Avomaan vihanniskasvien lajikekokeiden tuloksia vuosilta 1979-82. 21 p.
13. KIVISAARI, S. & LARPES, G. Kylvöajankohdan vaikutus kevätvehnän, ohran ja kauran satoon 10-vuotiskautena 1970-1979 Tikkurilassa. 54 p.
14. ERVIÖ, R. Maaperäkarttaselitys. ESPOO - INKOO. 26 p.
15. BREMER, K. Ydiinkasvien tuottaminen kasvisolukkoviljelyn avulla. 63 p.

1984

1. Tiivistelmät eräistä MTTK:n julkaisuista 1983. 74 p.
2. ESALA, M. & LARPES, G. Kevätviljojen sijoituslannoitus savimailla. 35 p.
3. ETTALA, E. Ayrshire-, friisiläis- ja suomenkarjalehmien vertailu kotoisilla rehuilla. 7 p. + 18 liitettä.

4. LUOMA, S. & HAKKOLA, H. Keräkaalin lajikekokeiden tuloksia vuosilta 1975-83. 22 p.
5. KURKI, L. Tomaattilajikkeet ja hiilidioksidin lisäys. Kasvihuonetomaatin viljelylämpötiloista. Kasvihuonekurkun tuentamenetelmien vertailua. Sijoituslannoitus ja kasvualustan ilmastus kasvihuonekurkulla ja tomaattilla. 21 p.
6. VIJORINEN, M. Italianraiheinä ja viljat tuorerehuna. 17 p.
7. ANISZEWSKI, T. Lupiini viherlannoituskasvina. Arviointeja esikokeiden ja kirjallisuuden pohjalta. 11 p.
8. HUOKUNA, E. & HAKKOLA, H. Koiranheininä ja timotein kasvu ja rehuarvon muutokset säilörehuasteella. 54 p.
9. VALMARI, A. Roudan kehittymisen tilastollinen malli. 33 p.
10. HAKKOLA, H. Kuonakalkituskoekokeiden tuloksia 1978-83. 42 p.
11. SIPPOLA, J. & SAARELA, I. Eräät maa-analyysimenetelmät fosforilannoitustarpeen ilmaisijoina. 20 p.
12. RAVANTTI, S. Terhi-punanata. 37 p.
13. URVAS, L. & HYVÄRINEN, S. Kolme ravinnesuhdetta Suomen maalajeissa. 10 p.
14. ANSALEHTO, A., ELOMAA, E., ESALA, M., KERSALO, J. & NORDLUND, A. Maatalouden sääpalvelukokeilu kesällä 1983. 101 p.
15. MUSTONEN, L., PULLI, S., RANTANEN, O. & MATTILA, L. Virallisten lajikekokeiden tuloksia 1976-1983. 202 p. + 4 liitettä.
16. JUNNILA, S. Ympäristötekijöiden vaikutus herbisidien käyttäytymiseen maassa. Kirjallisuustutkimus. 15 p. + 4 liitettä.
17. PESSALA, R., HAKKOLA, H. & VALMARI, A. Kylvöajan merkitys porkkanan viljelyssä. 22 p.
18. NISULA, H. Uusimpia tuloksia Ruukin lihanautakokeista. 39 p.
19. SAARELA, I. Kevätöljykasvien boorilannoitus. 122 p. + 2 liitettä.
20. URVAS, L. Maaperäkarttaselitys. PORI - HARJAVALTA. 28 p. + 14 liitettä.
21. LEHTINEN, S. Avomaavihannesten lannoitus- ja kastelukokeet 1978-1983. 62 p. + 17 liitettä.
22. ANISZEWSKI, T. & SIMOJOKI, P. Rikkakasvien siementen määrä ja elinvoima eräillä MTK:n kiertokoealueilla. Kirjallisuustutkimus ja MTK:n kolmen tutkimusaseman näytteiden analyysi. p. 1-38.
 PALDANIUS, E. & SIMOJOKI, P. Rikkakasvien siementen määrä ja elinvoima Satakunnan ja Etelä-Pohjanmaan tutkimusasemien maanäytteissä. p. 39-56.

23. RINNE, S-L. & SIPPOLA, J. Maatalouden jätteiden kompostointi. 52 p.
I Typpi - ja fosforilisä oljen kompostoinnissa
II Maatalouden jätteet kompostin raaka-aineina
III Kompostin arvo lannoitteena

1985

1. Tiivistelmiä MTTK:n tutkimuksista ja julkaisuista 1984. 67 p.
2. ANSALEHTO, A., ELOMAA, E., ESALA, M., NORLUND, A. & PILLI-SIHVOLA, Y.
Maatalouden sääpalvelukokeilu kesällä 1984. 127 p.
3. ETTALA, E. Säilörehu Maatalouden tutkimuskeskuksen lypsykarjakokeissa
1970 - luvulla. 270 p.
4. ETTALA, E. Laidun lypsykarjaruokinnassa. 220 p.
5. TUORI, M. & NISULA, H. Ruokintarutiinien merkitys naudoilla. Kirjallisuus-
tutkimus. 38 p.
6. TURTOLO, E. & JAAKKOLA, A. Viljelykasvin ja lannoitustason vaikutus
typen ja fosforin huuhtoutumiseen savimaasta. 43 p.
7. AJURA, E. Avomaan vihannesten veden ja typen tarve.
Nitrogen and water requirements for carrot, beetroot, onion and cabbage. 61 p.
8. Puutarhaosaston tutkimustuloksia. Taimitarha ja dendrologia. 94 p.
9. KEMPPAINEN, E. Kuivikkeen vaikutus lannan arvoon.
Kuivikkeiden ammoniakkin sitomiskyky. 25 p.
10. JAAKKOLA, A., HAKKOLA, H., HIIVOLA, S-L., JÄRVI, A., KÖYLIJÄRVI, J. &
VUORINEN, M. Terästeollisuuden kuonat kalkitusaineina. 44 p.
11. JAAKKOLA, A., ETTALA, E., HAKKOLA, H., HEIKKILÄ, R. & VUORINEN, M.
Siilinjärven kalkki kalkitusaineena. 53 p.
12. TAKALA, M. Asumajätevesien imeyttäminen maahan ja energiapajun viljely
imeytyskentällä. 36 p.
13. JOKINEN, R. & HYVÄRINEN, S. Eri maalajien magnesiumpitoisuus ja sen
vaikutus ravinnesuhteisiin Ca/Mg ja Mg/K. 15 p.
14. JUNNILA, S. Rikkakasvien siementen itämislepo. Kirjallisuuskatsaus. 29 p.
15. MÄKELÄ, K. Talven aikana kuolleiden ryhmäruusujen versoissa esiintyvä
sienilajisto vuosina 1976-1982. 13 p. + 8 liitettä.
16. MUSTONEN, L., PULLI, S., RANTANEN, O. & MATTILA, L. Virallisten lajikekokeiden
tuloksia 1977-1984. 168 p. + 4 liitettä.

17. SÄKÖ, J. Maatalouden tutkimuskeskuksen puutarhaosastolla Piikkiössä kokeillut ja kokeiltavana olevat omenalajikkeet.
Perusrungon merkitys omenapuiden talvehtimisessä 1983-84.
SÄKÖ, J. & LAURINEN, E. Omenapuiden harjuistutus.
HIIRSALMI, H. & SÄKÖ, J. Mansikan jalostus johtanut tulokseen.
18. ETTALA, E., SUVITIE, M., VIRTANEN, E., PITKÄNEN, T., ZITTING, M., NÄSI, M., TUOMIKOSKI, T. & NISKANEN, M. Metsä - ja maatalouden sivutuotteet lihamullien rehuna. 51 p.
19. MANNER, R. & AALTONEN, T. Pitko-syysvehnä. 6 p + 27 liitettä.
20. MANNER, R. & AALTONEN, T. Kartano-syysruis. 5 p + 13 liitettä.
21. ANISZEWSKI, T. Lupiini viljelykasvina. 134 p.
22. HUOKUNA, E., JÄRVI, A., RINNE, K. & TALVITIE, H. Nurmipalkokasvit puhtaana kasvustona ja heinäseoksena. p. 1-12.
HUOKUNA, E. Apilan pahkahomeen esiintymisestä. p. 13-20.
HUOKUNA, E. & HÄKKINEN, S. Englanninraiheinä säilörehunurmessa. p. 21-26.
23. VIRKKUNEN, H., KOMMERI, M., LARPES, E., MICORDIA, A. & LAMPILA, M.
Eri säilöntäaineet esikuivatun ja tuoreen säilörehun valmistuksessa sekä kiinteä ja nouseva väkirehun annostus mullien kasvatuksessa. p. 1-32.
VIRKKUNEN, H., KOMMERI, M., SORMUNEN-CRISTIAN, R. & LAMPILA, M.
Eri säilöntäaineet nurmirehun säilönnässä. p. 33-45.
24. RISSANEN, H., ETTALA, E., MELA, T. & MUSTONEN, L. Laitumen sadetuksen ja väkirehujen käytön vaikutus lehmien tuotoksiin. p. 1-21.
RISSANEN, H., KOSSILA, V. & VASARA, A. Urean, Urea-Foeforihappo-Viherjauhoyhdisteen (UPV) ja soijan vertailu raakavalkuaislähteinä maidontuotantokokeissa lehmillä. p. 22-30.
KOSSILA, V., KOMMERI, M. & RISSANEN, H. Monokalsiumfosfaatti ja ureafosfaatti sekä käsittelemätön olki ja ammoniakilla käsitelty olki mullien ruokinnassa. p. 31-40.
25. KORTET, S. Puna-apilan paikalliskantojen ekologia. 66 p.
26. MEHTO, U. Viljojen rikkakasvien torjunta ilman herbisidejä. Kirjallisuustutkimus. 77 p.
27. HUHTA, H. & HEIKKILÄ, R. Rehuviljan viljely Pohjois-Karjalassa. 24 p. + 2 liitettä.

2. KEMPPAINEN, E. Karjanlannan hoito ja käyttö Suomessa. 102 p. + 6 liitettä.
3. KEMPPAINEN, E. & HAKKOLA, H. Lietelanta nurmen peruslannoitteena. 25 p.
4. NIEMELÄINEN, O. Nurmmikkoheinien ominaisuudet. Kirjallisuustutkimus. Tuloksia punanatojen ja niittynurmikan virallisista nurmikon lajikekokeista vuosilta 1977-84. 48 p.
5. MUSTONEN, L., PULLI, S., RANTANEN, O. & MATTILA, L. Virallisten lajikekokeiden tuloksia 1978-1985. 128 p.+ 4 liitettä.
6. NIEMELÄINEN, O. & PULLI, S. Puna-apilalajikkeiden siemenmuodostus. Tuloksia apilan virallisista siemenviljelyn lajikekokeista vuosilta 1978-84. 42 p.
7. NIEMELÄINEN, O. Syksyn, talven ja kevään lämpö- ja valo-olojen vaikutus koiranheinän, niittynurmikan ja punanadan röyhymuodostukseen. Kirjallisuustutkimus. 51 p.
8. ERVIÖ, L-R. & ERKAMO, M. Pakettipellon viljelyn uudelleen aloittaminen herbisidien avulla.
ERVIÖ, L-R. Korren vahvistaminen timotein siemenviljelyksillä.
HIIVOLA, S-L. Klormekvatin käyttö timotein siemennurmilla.
ERVIÖ, L-R. & HIIVOLA, S-L. Herbisidien käytön vähentäminen viljakasvustossa.
9. KEMPPAINEN, E. & HAKKOLA, H. Säilörehun puristeneste ja virtsa lannoitteina. 43 p.
10. MATIKAINEN, A. & HUHTA, H. Nurmikasvilajikkeet Karjalan tutkimusasemalla. 24 p.
11. SOVERO, M. Nopsa-kevätrypsi. 15 p. + 2 liitettä.
12. NIEMELÄ, P. Kuiviketturpeen soveltuvuus turkistarhoilla kertyvän sonnan ja virtsan käsittelyyn. 15 p + 4 liitettä.
13. PULLI, S., Vestman, E., TOIVONEN, V. & AALTONEN, M. Yksivuotisten tuorerehukasvien sopeutuminen Suomen kasvuoloihin. 51 p.
14. SIMOJOKI, P., RINNE, S-L., SIPPOLA, J., RINNE, K., HIIVOLA, S-L. & TALVITIE, H. Hernekaurasta saatava typpilannoitusohyöty. 27p. + 22 liitettä.

15. SÄKÖ, J. & YLI-PIETILÄ, M. Hedelmäpuiden ja marjakasvien talvehtiminen talvella 1984-85. 28 p.
16. MANNER, R. & KORTET, S. Niina-ohra. 31 p. + 1 liite.
17. TURTOLO, E. & JAAKKOLA, A. Viljelykasvin, lannoituksen ja sadetuksen vaikutus kaliumin, kalsiumin, magnesiumin, natriumin, sulfaattirikin sekä kloridin huuhtoutumiseen savimaasta. 43 p.
18. TOIVONEN, V. & LAMPILA, M. Juurikasvisäilörehujen valmistus, laatu, rehuarvo ja mahdollinen käyttö etanolin valmistuksessa. 106 p. + 23 liitettä.
19. ETTALA, E. & VIRTANEN, E. Ayshiren, friisiläisen ja suomenkarjan monivuotinen vertailu kotovaraisella säilörehu-vilja -ja heinä-vilja-urearuokinnalla.
1. Kolmen ensimmäisen lypsykauden tuotantotulokset.
114 p. + 5 liitettä.
20. ETTALA, E. & VIRTANEN, E. Ayshiren, friisiläisen ja suomenkarjan monivuotinen vertailu kotovaraisella säilörehu-vilja -ja heinä-vilja-urearuokinnalla.
2. Lehmien syöntikyky, ravinnonsaanti ja rehun hyväksikäyttö sekä hedelmällisyys ja kestävyys kolmen ensimmäisen tuotantovuoden aikana.
293 p.+ 23 liitettä.
21. RAVANTTI, S. Iki-timotei. 33 p.+ 1 liite.
22. URVAS, L. & VIRRI, K. Maaperäkarttaselitys. Turku-Rymättylä. 34p.+ 7 liitettä.
23. VUORINEN, M. Kalkituskoekiden tuloksia saraturvemaalta 1977-83. 22 p.

1987

1. Tiivistelmiä MTTK:N tutkimuksista ja julkaisuista 1986. 72 p.
2. PALDANIUS, E. Oljen kompostointi erilaisia seosmateriaaleja typpilähteinä käyttäen. 55 p. + 1liite.
3. LEIVISKÄ, P. & NISSILÄ, R. Säämittauksen tuloksia Pohjois-Pohjanmaan tutkimus-
asemalla Ruukissa. 31 p.
4. HAKKOLA, H., HEIKKILÄ, R., RINNE, K. & VUORINEN, M. Odelman typpilannoitus,
sängenkorkeus ja niittoaika. 39 p.
5. NIEMELÄ, T. & NIEMELÄINEN, O. Kasvualustan tiivistyminen ja nurmikon kulumisen
nurmikon stressitekijöinä. Kirjallisuuskatsaus. p. 1-30.
NIEMELÄ, T. Siirtonurmikon kasvatus ja käyttö. Kirjallisuuskatsaus. p.31-42.
6. LUOMA, S., RAHKO, I. & HAKKOLA, H. Kiinankaalin viljelykoekiden tuloksia
1981-85. 25 p.
7. MUSTONEN, L., PULLI, S., RANTANEN, O. & MATTILA, L. Virallisten lajikekoekiden
tuloksia 1979-1986. 165 p. + 9 liitettä.

9. YLI-PIETILÄ, M., SÄKÖ, J. & KINNANEN, H. Puuvartisten koristekasvien talvehtiminen talvella 1984-85. 38 p.
10. VUORINEN, M. & TAKALA, M. Porkkanan ja punajuurikkaan sadetus, typpi-lannoitus ja kalkitus poutivalla hiekkamaalla. 30 p.
11. MULTAMÄKI, K. & KASEVA, A. Kotimaiset lajikkeet p. 1-8
Domestic Varieties p. 9-17.
12. TUOVINEN, T. Omenakääriäisen ennustemenetelmä p. 1-17
Pihlanmarjakoin ennustemenetelmä p. 18-32.
13. MÄKELÄ, K. Peittauksen vaikutus kotimaisen heinäsiemenen itävyyteen, orastuvuuteen ja sienistöön. 15 p.
14. Osa 1. YLÄRANTA, T. Radioaktiivinen laskeuma ja säteilyvalvonta
PAASIKALLIO, A. Radionuklidien siirtyminen viljelykasveihin
62 p.
14. Osa 2. KOSSILA, V. Radionuklidien siirtyminen kotieläimiin ja eläin-
tuotteisiin sekä vaikutukset eläinten terveyteen ja tuotantoon. 109 p.
15. RAVANTTI, S. Alma-timotei. 38 p. + 2 liitettä.
16. LEHMUSHOVI, A. Ryhmäruusujen lajikekokeet vuosina 1981-84. 29 p.

18. HIIRSALMI, H., JUNNILA, S. & SÄKÖ, J. Ahomansikasta suomalainen vil-
jelylajike. p. 1-8.
Mesimarjan jalostus johtanut tulokseen. p. 9-21.
19. TALVITIE, H., HIIVOLA, S-L. & JÄRVI, A. Satojen ja satovahinkojen ar-
viointitutkimus. 87 p.
20. KEMPPAINEN, R. Puna-apilan ympäys Rhizobium-bakteerilla.
Inoculation of red clover by Rhizobium strain. 24 p.

