

ÚDAJE O FUNKČNÍM VZORKU

NÁZEV FUNKČNÍHO VZORKU

Sbírka symbiotických bakterií pro fixaci dusíku leguminozních plodin 2023

NÁZEV FUNKČNÍHO VZORKU V ANGLICKÉM JAZYCE

Collection of symbiotic bacteria for nitrogen fixation of leguminous crops 2023

AUTOŘI VÝSLEDKU:

Trněný Oldřich¹, Staveníková Jana¹, Matoušková Michaela¹, Dybová Magdaléna², Vejražka Karel¹, Nedělník Jan¹

¹ Zemědělský výzkum, spol. s r.o., Zahradní 400/1, 664 41 Troubsko, Česká republika

² Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r.o., Zahradní 400/1, 664 41 Troubsko, Česká republika

DATUM VYTVOŘENÍ

23. 12. 2023

PODPORA

Funkční vzorek „Sbírka symbiotických bakterií pro fixaci dusíku leguminozních plodin 2023“ byl vytvořen za institucionální podpory Ministerstva zemědělství ČR v rámci Dlouhodobé koncepce rozvoje výzkumné organizace Zemědělský výzkum, spol. s r. o. Troubsko.

ÚČEL

Rhizobia, tzv. hlízkové bakterie, jsou gramnegativní půdní bakterie, které fixují vzdušný dusík a tvoří mutualistickou symbiózu s kořeny bobovitých rostlin (*Fabaceae*). Aby mohlo dojít k vytvoření symbiózy a hlízek na kořenech, ve kterých bakterie poté žijí, musí dojít k rozpoznání vhodného partnera. Symbióza je často velmi druhově specifická, jak na straně rostlin, tak na straně bakterií, ale vyskytují se také bakteriální kmeny, které mají širší spektrum hostitelů. Rozpoznávání

probíhá prostřednictvím vylučovaných látek oběma partnery. Rhizobia redukují vzdušný dusík N_2 na amonný kation NH_4^+ pomocí enzymu nitrogenáza. Tato reakce je energeticky velmi náročná, bakterie energii získávají od rostlin ve formě cukrů vzniklých ve fotosyntéze. Na oplátku bakterie poskytují rostlině dusík ve formě, kterou rostlina umí využít, tedy jako amonný kation. Rostlinám se vyplatí podporovat tuto symbiózu pouze na půdách s nízkým obsahem dusíku, v případě dobrého zásobení dusíkem, např. z minerálních hnojiv, redukcí vzdušného dusíku nepodporují (nedodávají bakteriím cukry). Biologická fixace dusíku může tvořit významný a ekologický vstup dusíku do půdy – udává se, že luskoviny mohou ročně nafixovat 50-200 kg dusíku na hektar a víceleté píce 200-300 kg N/ha.

POPIS VÝSLEDKU

Předmětem funkčního vzorku je sbírka kmenů rhizobií, které jsou zamrazeny v tekutém médiu s 15 % glycerolu na skleněných kuličkách a uchovávány při -80°C .

V letošním roce bylo přidáno 7 kmenů – jeden kmen z hlízek úročníku lékařského odrůdy Ivan, jeden od jetele alexandrijského odrůd Faraon, 2 kmeny od bobu obecného a 3 kmeny od vojtěšky seté. Na základě testování účinnosti fixace byly označeny jako méně účinné 2 kmeny pro vojtěšku setou a 2 kmeny pro pískavici řecké seno. Aktuální sbírka obsahuje 129 kmenů rhizobií. Podrobněji v Tabulce S1 Sbírkové kmeny rhizobií.

Kultivace bakterií

Hlízky z kořenů leguminozních rostlin byly odtrhnuty a povrchově vysterilizovány. Nejprve byly 10 minut proplachovány pod tekoucí vodou, poté byly vloženy na 3 minuty do 10% Sava a na třikrát vloženy do sterilní vody po 3 minutách. Takto vysterilizované hlízky byly rozmáčkнутy a přeneseny na Petriho misku s médiem (yeast mannitol médium; pH 6,8; složení viz Tabulka 1) s 1% kongo červení ($2,5 \text{ ml.l}^{-1}$) a kultivovány ve tmě při 30°C 3 dny. Z namnožených bakterií byly pomocí sterilní kličky provedeny křížové roztěry, které byly kultivovány za stejných podmínek. Poté byly kličkou odebrány jednotlivé kolonie na novou Petriho misku s médiem a kultivovány. Takto nakultivované kolonie byly uschovány do tmy do 4°C dokud nebyla provedena identifikace. Pokud se jednalo o hlízkovou bakterii, byla z kolonie vytvořena suspenze v tekutém médiu (stejně složení, bez agaru, s 15 % glycerolu), která byla napipetována do kryo tuby se skleněnými kuličkami. Takto připravené kolonie byly umístěny do -80°C . Původní Petriho misky s rozmáčkнутými hlízkami byly co nejdéle udržovány ve tmě při 4°C . V případě potřeby byly přeočkovány, nebo použity pro nové křížové roztěry.

Tabulka 1: Složení média pro kultivaci hlízkových bakterií.

	navážka [g.l^{-1}]
mannitol	10
K_2HPO_4	0,5
$MgSO_4 \cdot 7 H_2O$	0,2
NaCl	0,1
yeast extract	0,5
agar	15

Identifikace bakterií

Kolonie byly identifikovány na základě 16S rRNA a pomocí databáze NCBI. Samotné identifikaci předcházely následující kroky.

Izolace DNA: Část kolonie byla rozsuspenzována ve 300 µl PCR vody, 10 minut povařena a centrifugována při 1000 rpm 5 minut. 200 µl supernatantu bylo přepipetováno do nové zkumavky typu Eppendorf.

PCR, směs jedné reakce: 12,5 µl PPP MasterMix, 9,5 µl PCR vody, 1 µl primerů a 2 µl roztoku s DNA

Primery: směs 10 µM primerů fwd 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') a rev 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3') (Lane, 1991)

Program PCR reakce: 94 °C 5 min; 28x(94 °C 30 s, 57 °C 40 s, 72 °C 90 s); 72 °C 10 min

Elektroforéza: 1% roztok agarózy s Midori Green, 4 µl produktu. 20 minut 100 V. Očekávaná délka produktu 1500 bp.

Purifikace, směs jedné reakce: 12,2 µl PCR vody, 2,25 µl FastAP pufru, 0,15 µl FastAP alkalické fosfatázy, 0,4 µl exonukleázy I, 21 µl PCR produktu.

Program purifikace: 37 °C 15 min; 85 °C 15 min

Stanovení koncentrace DNA: pomocí Qubit

Sekvenace: naředění produktu dle instrukcí poskytovatele NovaSeq, Azenta Genewiz (Německo) a zaslání vzorků na jeho adresu.

Odkazy

Lane, D. J. (1991). 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackebrandt, E. and Goodfellow, M. (eds.), *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. John Wiley & Sons, New York, 115-175.

Tabulce S1: Sbírkové kmeny rhizobií.

rostlina	označení izolátu	identifikovaná bakterie	zásobní pozice v kryoboxu	používaná pozice v kryoboxu	test na rostlinách	vhodnost k přípravě inokula	poznámka
Štírovník růžkatý	štírovník růžkatý 1	Agrobacterium tumefaciens / Rhizobium sp.	1	2			
Štírovník růžkatý	štírovník růžkatý 2	Agrobacterium tumefaciens / Rhizobium sp.	3	4			
Štírovník růžkatý	štírovník růžkatý 3	Agrobacterium tumefaciens / Rhizobium sp.	5	6			
Štírovník růžkatý	štírovník růžkatý 4	Agrobacterium tumefaciens / Rhizobium sp.	7	8			
Štírovník	Štírovník 8	Mesorhisobium sp.	10	11			hlíčky polní pokus Popůvky
Štírovník	Štírovník 9	Mesorhizobium sp.	12	13			hlíčky polní pokus Popůvky
Jetel plazivý	jetel plazivý 1	Rhizobium sp. / R. leguminosarum	14	15			
Jetel plazivý	jetel plazivý 2	Rhizobium sp. / R. leguminosarum	16	17			
Jetel plazivý	jetel plazivý 3	Rhizobium sp. / R. leguminosarum	19	20			
Jetel plazivý	jetel plazivý 4	Rhizobium sp. / R. leguminosarum / R. hidalgonense	21	22			
Jetel plazivý	Jetel plazivý 1A	Rhizobium leguminosarum / R. sophorae / R. hidalgonense	23	24			hlíčky skleníků Troubsko
Jetel jahodnatý	jetel jahodnatý 1	Rhizobium sp. / R. leguminosarum	25	26			
Jetel jahodnatý	jetel jahodnatý 2	Rhizobium sp. / R. leguminosarum	28	29			
Jetel šípovitý	Jetel šípovitý 2	Rhizobium sp. / R. leguminosarum	30	31			
Jetel šípovitý	Jetel šípovitý 3	Rhizobium leguminosarum / R. sophorae / R. hidalgonense	32	33			hlíčky polní pokus Popůvky
Jetel šípovitý	Jetel šípovitý 4	Rhizobium leguminosarum / R. sophorae / R. hidalgonense	34	35			hlíčky polní pokus Popůvky
Jetel šípovitý	Jetel šípovitý 5	Rhizobium leguminosarum / R. sp. / R. sophorae / R. hidalgonense	37	38			hlíčky polní pokus Popůvky
Jetel šípovitý	Jetel šípovitý 6	Rhizobium sp. / R. leguminosarum	39	40			hlíčky polní pokus Popůvky
Jetel šípovitý	Jetel šípovitý 7	Rhizobium sp. / R. leguminosarum	41	42			hlíčky polní pokus Popůvky
Jetel luční Atlantis	Jetel 4N Atlantis 1	Rhizobium hidalgonense / R. sp. / R. leguminosarum	43	44			
Jetel luční Atlantis	Jetel 4N Atlantis 2	Rhizobium sp. / R. leguminosarum	46	47			



Jetel panonský	Jetel panonský	Rhizobium sp. / R. leguminosarum	48	49		
Jetel inkarnát	Jetel inkarnát 1A	Rhizobium leguminosarum / R. sp. / R. sophorae / R. hidalgonense	50	51		hlíčky skleník Troubsko
Jetel inkarnát	Jetel inkarnát 1B	Rhizobium sp. / R. leguminosarum	52	53		hlíčky skleník Troubsko
Jetel inkarnát	Jetel inkarnát 2A	Rhizobium sp. / R. leguminosarum	55	56		hlíčky skleník Troubsko
Jetel inkarnát	Jetel inkarnát 2B	Rhizobium sp. / R. leguminosarum	57	58		hlíčky skleník Troubsko
Jetel inkarnát	Jetel inkarnát 3A	Rhizobium leguminosarum	59	60		hlíčky skleník Troubsko
Jetel inkarnát	Jetel inkarnát 3B	Rhizobium sp. / R. leguminosarum	61	62		hlíčky skleník Troubsko
Jetel Izrael	Jetel Izrael 1	Mesorhizobium sp.	64	65		hlíčky z vysušeného jetele z Izraele
Jetel Izrael	Jetel Izrael 2	Mesorhizobium sp.	66	67		hlíčky z vysušeného jetele z Izraele
Tolice dětelová	Tolice 1A	Sinorhizobium sp. / S. meliloti / Ensifer sp.	68	69		hlíčky skleník Troubsko
Tolice dětelová	Tolice 1B	Sinorhizobium sp. / S. meliloti / Ensifer sp.	70	71		hlíčky skleník Troubsko
Tolice dětelová	Tolice 2A	Uncultured Sinorhizobium / S. meliloti / Ensifer sp.	73	74		hlíčky skleník Troubsko
Tolice dětelová	Tolice 2B	Sinorhizobium sp. / S. meliloti / Ensifer sp.	75	76		hlíčky skleník Troubsko
Tolice dětelová	Tolice 3B	Sinorhizobium sp. / S. meliloti / Ensifer sp.	77	78		hlíčky skleník Troubsko
Tolice dětelová	Tolice 4	Sinorhizobium medicae/ S. sp.	1	2		hlíčky sad Vanovice
Tolice dětelová	Tolice 5	Sinorhizobium medicae/ S. sp.	3	4		hlíčky sad Vanovice
Tolice dětelová	Tolice 6	Sinorhizobium medicae/ S. sp.	5	6		hlíčky sad Vanovice
Komonice bílá	Komonice bílá	Sinorhizobium meliloti / Ensifer sp.	7	8		
Komonice bílá	Komonice 3A	Uncultured Sinorhizobium / S. meliloti / Ensifer sp.	10	11		hlíčky skleník Troubsko
Komonice bílá	Komonice 4B	Sinorhizobium sp. / S. meliloti / Ensifer sp.	12	13		hlíčky skleník Troubsko
Komonice bílá	Komonice 4C	Sinorhizobium sp. / S. meliloti / Ensifer sp.	14	15		hlíčky skleník Troubsko
Hrachor setý	Hrachor setý 2	Rhizobium leguminosarum / R. sp.	16	17		
Hrachor setý	Hrachor 3A	Rhizobium leguminosarum / R. sp. / R. sophorae / R. hidalgonense	19	20		hlíčky skleník Troubsko
Hrachor setý	Hrachor 3B	Rhizobium sp. / R. leguminosarum / R. hidalgonense	21	22		hlíčky skleník Troubsko



Hrachor setý	Hrachor 5A	Rhizobium leguminosarum	23	24			hlízky skleníků Troubsko
Hrachor setý	Hrachor 5B	Rhizobium sp. / R. leguminosarum	25	26			hlízky skleníků Troubsko
Hrách setý peluška	Hrách setý peluška 1A	Rhizobium leguminosarum / R. sophorae / R. hidalgonense	28	29			hlízky skleníků Troubsko
Hrách setý	Hrách 2A	Rhizobium leguminosarum / R. sp. / R. sophorae / R. hidalgonense	30	31			hlízky skleníků Troubsko
Hrách setý	Hrách 4	Rhizobium sp. / R. leguminosarum	32	33			hlízky skleníků Troubsko
Hrách setý	Hrách 6	Rhizobium sp. / R. leguminosarum	34	35			hlízky skleníků Troubsko
Čičorka pestrá	Čičorka pestrá 1	Rhizobium sp. / Agrobacterium rhizogenes	37	38			
Čičorka pestrá	Čičorka pestrá 2	Rhizobium sp. / Agrobacterium rhizogenes	39	40			
Lupina	Lupina 2	Rhizobium sp. / Agrobacterium rhizogenes	41	42			
Lupina úzkolistá	Lupina úzkolistá 1A	Rhizobium sp. / R. leguminosarum	43	44			hlízky skleníků Troubsko
Sója luštinatá	soja 2	Bradyrhizobium sp.	46	47			
Sója luštinatá	soja led. č.3	Bradyrhizobium sp.	48	49			
Sója luštinatá	soja led. č.3.1	Bradyrhizobium sp.	50	51			
Sója luštinatá	soja led. č.3.2	Bradyrhizobium sp.	52	53			
Sója luštinatá	soja led. č.4	Bradyrhizobium sp.	55	56			
Sója luštinatá	soja led. č.4.1	Bradyrhizobium sp.	57	58			
Sója luštinatá	soja led. č.4.2	Bradyrhizobium sp.	59	60			
Sója luštinatá	Sója 5	Rhizobium sp. / R. leguminosarum / R. sophorae	61	62			hlízky skleníků Troubsko
Sója luštinatá	Sója 7	Rhizobium sp. / R. leguminosarum / R. sophorae	64	65			hlízky skleníků Troubsko
Jetel luční	Jetel luční 4N (tetraploid) 18 Cripp- D738	Rhizobium sp. / R. leguminosarum	66	67	s hlízkami, používáno na inokulaci rostlin projektu ČIP	ano, při selekcí na fixaci N	sběrka VURV Praha Ruzyně
Jestřábina lékařská	2 Neorhizobium galegae *	nepodařilo se osekvenovat	68	69	s hlízkami, velice kvalitní, vhodné pro přípravu inokula	ano	
Jestřábina lékařská	3 Neorhizobium galegae 3	nepodařilo se osekvenovat	70	71	s hlízkami, málo kvalitní	ne	



Jestřábina lékařská	3 Neorhizobium galegae 4	nepodařilo se osekvenovat	73	74	s hlízkami, málo kvalitní	ne	
Jestřábina lékařská	Neorhizobium galegae 6 -ne hlízky	nepodařilo se osekvenovat	75	76	s hlízkami, velice kvalitní, vhodné pro přípravu inokula	ano	
Jestřábina lékařská	Neorhizobium galegae 6 -ne hlízky 1	nepodařilo se osekvenovat	77	78	s hlízkami, málo kvalitní	ne	
Jestřábina lékařská	Neorhizobium galegae 6 -ne hlízky 2	nepodařilo se osekvenovat	1	2	s hlízkami, velice kvalitní, vhodné pro přípravu inokula	ano	
Fazol obecný	Fazol obecný 1 hypernodulace?	Rhizobium hidalgonense / R. leguminosarum / R. sp.	3	4	s hlízkami, velice kvalitní, vhodné pro přípravu inokula	ano	
Fazol obecný	Fazol obecný 2 hypernodulace?	Rhizobium hidalgonense / R. leguminosarum / R. sp.	5	6	s hlízkami, velice kvalitní, vhodné pro přípravu inokula	ano	
Fazol obecný	Fazol obecný 3	Rhizobium hidalgonense / R. leguminosarum / R. sp.	7	8	s hlízkami, méně kvalitní	ne	
Fazol obecný	Fazol obecný 5	Rhizobium leguminosarum / R. sophorae / R. hidalgonense	10	11			hlízky skleníků Troubsko
Fazol obecný	Fazol obecný 6	Rhizobium leguminosarum / R. sophorae / R. hidalgonense	12	13			hlízky skleníků Troubsko
Fazol	Fazol 6	Rhizobium sp. / R. leguminosarum / R. hidalgonense	14	15			hlízky skleníků Troubsko
Fazol	Fazol 7	Rhizobium sp. / R. leguminosarum / R. hidalgonense	16	17			hlízky skleníků Troubsko
Fazol obecný	Fazol obecný 7	Rhizobium sp. / R. leguminosarum / R. hidalgonense	19	20			hlízky skleníků Troubsko
Fazol obecný	Fazol obecný 8	Rhizobium sp. / R. leguminosarum / R. hidalgonense	21	22			hlízky skleníků Troubsko
Fazol obecný	Fazol obecný 9	Rhizobium sp. / R. leguminosarum / R. hidalgonense	23	24			hlízky skleníků Troubsko
Fazol šarlatový	Fazol šarlatový 2	Rhizobium sp. / R. leguminosarum	25	26			hlízky skleníků Troubsko
Vojtěška setá	Vojtěška 1b	Ensifer sp. / Sinorhizobium meliloti	28	29	26. 7. 2022, druhá nejlepší fixace	ano	hlízky skleníků Troubsko
Vojtěška setá	Vojtěška 5a	Sinorhizobium meliloti / S. sp.	30	31	26. 7. 2022, nejlepší kmen	ano	hlízky skleníků Troubsko
Vojtěška setá	Vojtěška 2a	Ensifer sp. / Sinorhizobium meliloti / S. sp.	32	33	26. 7. 2022, nízká fixace	ne	hlízky skleníků Troubsko
Vojtěška setá	Vojtěška 2b	Ensifer sp. / Sinorhizobium meliloti / R. sp.	34	35	26. 7. 2022, nízká fixace	ne	hlízky skleníků Troubsko

Pískavice řecké seno	Pískavice 1	Rhizobium sp. / R. sulae	37	38	23.6.2021, rostliny moc nevzešly, fixace nízká		bakterie z inokula, exp. 2007
Pískavice řecké seno	Pískavice 2	Rhizobium sp. / R. sulae	39	40	23.6.2021, rostliny moc nevzešly, fixace nízká		bakterie z inokula, exp. 2008
Pískavice řecké seno	Pískavice 3	Rhizobium sp. / R. sulae	41	42	opakování 6/2023, bez fixace; 23.6.2021, rostliny moc nevzešly, fixace nízká	ne	bakterie z inokula, exp. 2009
Pískavice řecké seno	Pískavice 7	Sinorhizobium sp./ S. medicae	43	44	23.6.2021, rostliny moc nevzešly, fixace nízká		hlízky skleníků Troubsko po inokulaci
Pískavice řecké seno	Pískavice 4	Sinorhizobium medicae/ S. sp.	46	47	opakování 6/2023, nejlepší ; 23.6.2021, rostliny moc nevzešly, fixace nízká	ne	hlízky skleníků Troubsko po inokulaci
Pískavice řecké seno	Pískavice 6	Sinorhizobium medicae/ S. sp.	48	49	23.6.2021, rostliny moc nevzešly, fixace nízká		hlízky skleníků Troubsko po inokulaci
Pískavice řecké seno	Pískavice 9	Sinorhizobium medicae/ S. sp.	50	51	23.6.2021, rostliny moc nevzešly, fixace nízká		hlízky skleníků Troubsko po inokulaci
Pískavice řecké seno	Pískavice 27 13	Sinorhizobium medicae/ S. sp.	52	53	6/2023, velmi nízká fixace	ne	hlízky skleníků Troubsko, semena vyseta do hlíny po pěstování tolíce
Pískavice řecké seno	Pískavice 40 14	Sinorhizobium medicae/ S. sp.	55	56			hlízky skleníků Troubsko, semena vyseta do hlíny po pěstování tolíce
Pískavice řecké seno	Pískavice 50 15	Sinorhizobium medicae/ S. sp.	57	58			hlízky skleníků Troubsko, semena vyseta do hlíny po pěstování tolíce
Pískavice řecké seno	Pískavice 76 16	Sinorhizobium medicae/ S. sp.	59	60			hlízky skleníků Troubsko, semena vyseta do hlíny po pěstování tolíce
Pískavice řecké seno	Pískavice 95 17	Sinorhizobium medicae/ S. sp.	61	62			hlízky skleníků Troubsko, semena vyseta do hlíny po pěstování tolíce
Cizrna beranní	Cizrna farma Žiro A1	Mesorhizobium ciceri / M. sp. / M. loti	64	65	02.06.2021	ne	bakterie z farmy Žiro na šikmém agaru
Cizrna beranní	Cizrna farma Žiro A2	Mesorhizobium ciceri / M. sp.	66	67			bakterie z farmy Žiro na šikmém agaru

Cizrna beranní	Cizrna farma Žiro B1	Mesorhizobium ciceri / M. sp. / M. loti	68	69	02.06.2021	ne	bakterie z farmy Žiro na šikmém agaru
Cizrna beranní	Cizrna farma Žiro B2	Mesorhizobium ciceri / M. sp.	70	71			bakterie z farmy Žiro na šikmém agaru
Cizrna beranní	Cizrna Žiro 5	Mesorhizobium ciceri / M. sp. / M. loti	73	74	02.06.2021	ne	hlízky skleník Troubsko po inokulaci inokulem z Farmy Žiro
Cizrna beranní	Cizrna Žiro 7	Mesorhizobium ciceri / M. sp. / M. loti	75	76	02.06.2021	ne	hlízky skleník Troubsko po inokulaci inokulem z Farmy Žiro
Cizrna beranní	Cizrna Žiro 8	Mesorhizobium ciceri / M. sp. / M. loti	77	78			hlízky skleník Troubsko po inokulaci inokulem z Farmy Žiro
Cizrna beranní	Cizrna Žiro 9	Mesorhizobium ciceri / M. sp. / M. loti	1	2			hlízky skleník Troubsko po inokulaci inokulem z Farmy Žiro
Cizrna beranní	Cizrna Německo 4	Mesorhizobium ciceri / M. sp.	3	4	02.06.2021	ne	hlízky skleník Troubsko po inokulaci inokulem z Garten Soya Německo
Cizrna beranní	Cizrna Německo 5	Mesorhizobium ciceri / M. sp. / M. loti	5	6	2.6.2021, nejlepší výsledky, nejvhodnější na inokulaci	ano	hlízky skleník Troubsko po inokulaci inokulem z Garten Soya Německo
Cizrna beranní	Cizrna Německo 6	Mesorhizobium ciceri / M. sp.	7	8	2.6.2021, nejlepší výsledky, nejvhodnější na inokulaci	ano	hlízky skleník Troubsko po inokulaci inokulem z Garten Soya Německo
Cizrna beranní	Cizrna Německo 7	Mesorhizobium ciceri / M. sp. / M. loti	10	11			hlízky skleník Troubsko po inokulaci inokulem z Garten Soya Německo
Cizrna beranní	Cizrna Německo 8	Mesorhizobium ciceri / M. sp. / M. loti	12	13			hlízky skleník Troubsko po inokulaci inokulem z Garten Soya Německo
Cizrna beranní	Cizrna Německo 9	Mesorhizobium ciceri / M. sp.	14	15			hlízky skleník Troubsko po inokulaci inokulem z Garten Soya Německo



Čočka jedlá	Čočka 1A	Rhizobium leguminosarum / R. sp. / R. sophorae / R. hidalgonense	16	17		hlízky skleník Troubsko
Čočka jedlá	Čočka 1B	Rhizobium sp. / R. leguminosarum	19	20		hlízky skleník Troubsko
Čočka jedlá	Čočka 3A	Rhizobium leguminosarum / R. sp. / R. sophorae / R. hidalgonense	21	22		hlízky skleník Troubsko
Čočka jedlá	Čočka 3B	Rhizobium sp. / R. leguminosarum	23	24		hlízky skleník Troubsko
Vikev	Vikev 1A	Rhizobium leguminosarum / R. sp. / R. sophorae / R. hidalgonense	25	26		hlízky skleník Troubsko
Vikev	Vikev 1B	Rhizobium sp. / R. leguminosarum / R. sophorae / R. indigoferae	28	29		hlízky skleník Troubsko
Vikev	Vikev 2A	Rhizobium leguminosarum / R. sp. / R. sophorae / R. hidalgonense	30	31		hlízky skleník Troubsko
Vikev	Vikev 2B	Rhizobium sp. / R. leguminosarum / R. sophorae / R. indigoferae	32	33		hlízky skleník Troubsko
Bob obecný	Bob 3A	Rhizobium leguminosarum / R. sp. / R. sophorae / R. hidalgonense	34	35		hlízky skleník Troubsko
Bob obecný	Bob 2A	Rhizobium leguminosarum / R. sp. / R. sophorae / R. hidalgonense	37	38		hlízky skleník Troubsko
Úročník lékařský Ivan	UI04	Agrobacterium tumefaciens	39	40		pole 2022
Bob obecný	B04	Agrobacterium fabacearum / A. arsenijevecii	41	42		pole 2022
Bob obecný	B05	Agrobacterium fabacearum / A. arsenijevecii	43	44		pole 2022
Jetel alexandrijský Faraon	JA03	Agrobacterium tumefaciens	45	46		pole 2022
Vojtěška setá	VK02	Sinorhizobium meliloti	47	48		kontrola při ARA
Vojtěška setá	VM01	Sinorhizobium meliloti	49	50		květináč Troubsko, pak výsadba v areálu
Vojtěška setá	VM02	Sinorhizobium meliloti	51	52		květináč Troubsko, pak výsadba v areálu