

RIZOBIUMI – BIOĐUBRIVA U PROIZVODNJI LEGUMINOZA

Nada Milošević, Jelena Marinković

Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad

Izvod: Primenom biodubriva u proizvodnji leguminoza zadovoljavaju se osnove u sistemu održive poljoprivrede: stabilnost i kvalitet prinosa, očuvanje ekološke ravnoteže uz održavanje biološke aktivnosti zemljišta, što se reflektuje na zdravlje/kvalitet zemljišta. Primena inokulacije uglavnom stimuliše nodulaciju korena leguminoza, naročito u varijantama gde nije primenjeno azotno mineralno đubrivo. Zaoravanje žetvenih ostataka (kukuruzovina) pozitivno utiče na broj kvržica, potencijalno na vezivanje azota iz atmosfere. Primena biodubriva utiče na povećanje broja mahuna, broj i masu zrna kao i kvaliteta i prinos zrna u leguminoznih biljaka.

Gljučne reči: biodubriva, rizobiumi, leguminoze, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*

Uvod

Iako su rezerve gasovitog azota u atmosferi neograničene, biljke ispoljavaju znake nedostatka azota. Atmosferski azot može da se vrati u zemljište u procesu azotifikacije: abiotičke (atmosfersko pražnjenje sa padavinama, industrijska proizvodnja) ili biotičke u kojoj mikroorganizmi-azotifikatori vezuju/fiksiraju azot iz atmosfere i predaju ga biljci u pogodnom obliku.

Cilj našeg rada je sagledavanje značaja biološke azotifikacije, posebno kvržičnih bakterija kao azotifikatora u proizvodnji leguminoza sa osvrtom na mikrobiološke preparate.

Biolška azotifikacija (BNF)

Vezivanje atmosferskog azota (BNF) je najvažnija komponenta u ciklusu kruženja azota u prirodi, sa posebnim značajem za poljoprivredu, specijalno u regionima sa niskom plodnosti zemljišta. Biolškom azotifikacijom veže se oko 175 miliona tona azota, a od te količine oko 79% fiksiraju mikroorganizmi koji žive u zemljištu (Wani et al., 1994). Biljke mogu da akumuliraju, odnosno iskoriste od 30 do 60% azota biološkog porekla (Paul i Clark, 1989).

Istraživanja pokazuju da sposobnost azotifikacije imaju mikroorganizmi iz 26 rodova, odnosno 11 familija prokariota. U odnosu na kiseonik azotifikatori su aerobi, anaerobi ili fakultativni mikroorganizmi, a u zavisnosti od izvora energije za azotifikaciju mogu biti heterotrofi ili autotrofi. Azotifikatori nastanjuju zemljišta sa veoma različitim fizičko-hemijskim svojstvima, a temperatura i padavine značajno utiču na njihovu zastupljenost i aktivnost (Milošević i Jarak, 2005).

Poslednjih godina veoma ubrzano se radi i na genetičkom inženjeringu azotifikatora sa mogućnošću povećanja vezanog azota kod pojedinih bakterija

ili izdvajanjem pojedinih odgovornih gena za azotofiksaciju i ugradnjom istih u bakterije koje su koriste u industrijskoj proizvodnji.

Rizobium/Bradyrhizobium: Simbiozna azotofiksacija

Bakterije iz rodova *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* u simbioznim zajednicama sa leguminoznim biljkama su sposobne da vezuju atmosferski azot (Paul i Clark, 1989; Milošević i Jarak, 2005). Rizobiumi na korenu i ponekad na stablu leguminoza stvaraju izraštaje-nodule ili kvržice, te se ove bakterije nazivaju i kvržične bakterije. Kvržice ili nodule su specijalizovane strukture, u njima se odvija biološka fiksacija azota.

Kvržične bakterije su aerobne, asporogene, štapićaste i pokretne bakterije koje imaju nitrogenazni enzimatski sistem. Čelija im je obavijena sluzavom kapsulom izgrađenom iz egzopolisaharida koji ih štite od uticaja spoljne sredine i pomaže bakteriji da se pričvrsti za korenovu dlačicu. Optimalne temperature rasta su 25–30 stepeni a pH 6-7 (Rice et al., 1995). Mnoge mogu da rastu u mikroaerofilnim uslovima sa pritiskom kiseonika manjim od 0,1 atm.

U toku uspostavljanja simbiotskog odnosa između kvržičnih bakterija i korena leguminoza mogu se izdvojiti tri osnovne etape: prepoznavanje, infekcija i nodulacija (Milošević i Jarak, 2005). Aktivna azotofiksacija odvija se u centralnom delu kvržice koji je crven zbog prisustva leghemoglobina. Kvržice se razlikuju po strukturi kod različitih leguminoza. Kvržice ograničenog rasta, kao kod soje i pasulja, okrugle su i nemaju region meristema, dok su kvržice u lucerke i deteline izdužene sa naglašenim regionom meristema i povećavaju se u dužinu u toku vegetacijske sezone (Milošević i Jarak, 2005).

Uspostavljanje simbioze između biljke domaćina i rizobiuma zasniva se na međusobnom prepoznavanju biljnih flavonoida i lektina i bakterijskih egzopolisaharida. Zahvaljujući tome određena leguminoza uspostavlja simbiozni odnos sa malim brojem vrsta rizobiuma, a ima i onih koje žive u simbiozi samo sa jednom vrstoma. *R. meliloti*, *R. trifoli*, *R. leguminosarum* i *R. phaseoli* su brzo rastući rizobiumi, dok su spororastuće bakterije *B. japonicum*, *B. lupini*, *B. spp.cowpea* i *B. parasponiae* (Paul and Clark, 1989).

U simbiozi sa sojom živi i formira kvržice *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium elkani* i *Sinorhizobium fredii* (Martinez Romero and Caballero-Mellado, 1996). U ovoj zajednici fiksira se do 180 kg N ha⁻¹ godišnje. Ove bakterije proizvode i materije rasta kao što su giberelini i indoli, što podstiče rast biljke domaćina. Na jednoj biljci, u zavisnosti od sorte i bakterijskog soja, može se obrazovati 10 do 50 i više kvržica. Efektivni sojevi obrazuju krupne ovalne kvržice na centralnom korenu.

Rizobium/Bradyrhizobium u poljoprivredi

Proizvodnja prvog komercijalnog bakterijskog preparata sa kvržičnim bakterijama počela je davne 1897. godine u Nemačkoj, da bi danas primena ovog preparata bila neophodna mera u proizvodnji soje (Milošević et al., 1994; Milošević i Jarak, 2005). Naime, primena mikrobioloških preparata je imperativ budućnosti (Milošević i sar., 1999b).

Osamdesetih godina dvadesetog veka u svetu se težilo potpunoj zameni mineralnog azota biološkim azotom ("BNF-bum"). Međutim, nakon stabilizacije

tržišta nafte i pojavom novih rezervi gasa, uočava se da su optimističke prognoze o potpunoj zameni upotrebe mineralnog azota biofertilizatorima nerealne, te se početkom 1990-ih godina preporučuje biofertilizacija kao dopuna (veća sa simbioznim i manja sa slobodnim azotofiksatorima) standardnim agromerama (Wani et al., 1994).

Efekat inokulanata/preparata zavisi od biljne vrste, primenjenih agromeliorativnih mera, tipa zemljišta, vrste i soja rizobium, zatim koncentracije ćelija mikroorganizama u preparatu, oblika i načina primene (Wani et al., 1994; Govedarica et al., 1999; Milošević et al., 1999; Milošević i Jarak, 2005). Inokulanti pozitivno utiču na opštu biogenost zemljišta (Govedarica et al., 1999; Milošević et al., 1999; Milošević i Govedarica, 2001), što posredno utiče i na plodnost zemljišta. Mikroorganizmi proizvode materije rasta (giberelini, auksini) i vitamine, te utiču na rast i razviće biljaka. Biodubriva u proizvodnji ratarskih biljaka mogu biti altrenativa i/ili dopuna mineralnim hranivima (Milošević et al., 1999a; Milošević i Govedarica, 2001).

Inokulacija sa simbioznim bakterijama (*Rhizobium*)

Inokulacija sa kvrličnim bakterijama omogućava nodulaciju biljaka i vezivanje azota iz atmosfere. U toku godine, zavisno od ekoloških uslova, leguminoze u zajednici sa *Rhizobium/Bradyrhizobium* fiksiraju i do 400 kg N ha⁻¹ (Wani et al., 1994). Posle žetve leguminoza u zemljištu ostaje velika količina organskih azotnih jedinjenja čijom mineralizacijom se stvaraju asimilativi za naredni usev. Kao rezultat azotofiksacije u toku rasta i razvoja leguminoza, udeo fiksiranog azota u prinosu iznosi 10–95 % ili 20–400 kg N ha⁻¹ godišnje. Upravo taj, širok raspon između minimalnog i maksimalnog iznosa opravdava primenu visoko efektivnih sojeva simbioznih azotofiksatora sa kojima bi se udeo fiksiranog azota približio gornjoj granici. Gajenjem biljaka koje žive u simbiozi sa azotofiksatorima, posebno višegodišnjih krmnih leguminoza, povećava se azotni bilans zemljišta za oko 100 kg ha⁻¹ godišnje.

Tab. 1. Uticaj inokulacije sa *B. japonicum* na nodulaciju soje

Tab.1. Effect of inoculation with *B. japonicum* on soybean nodulation

Varijante - Treatment	Broj kvrčica biljci ⁻¹ Number of nodules plant ⁻¹		
	Inokulacija Inoculation	Bez inokulacije No inoculation	
Kontrola - Control (bez mineralnih đubriva)	18,97	10,06	
Sa zaoravanjem žetvenih ostataka With harvest residues	0 kgNha ⁻¹	19,17	9,39
	100 kgNha ⁻¹	12,39	9,44
	200 kgN ha ⁻¹	14,11	12,61
Bez zaoravanja žetvenih ostataka Without harvest residues	0 kg Nha ⁻¹	23,39	11,45
	100 kg N ha ⁻¹	13,84	11,00
	200 kg N ha ⁻¹	12,55	13,06
Prosek - Average	16,35	11,00	

Izvor podataka: neobjavljeni rezultati

U našim poljoprivrednim zemljištima pre dve i po decenije *Bradyrhizobium japonicum*, simbiot koji ostvaruje simbiozu sa sojom nije bio prisutan. Naša trogodišnja istraživanja na černozemu Vojvodine pokazuju da dugogodišnja primena komercijalnog preparata (*NS Nitragin*) za soju utiče na prisustvo *B. japonicum* i u varijantama gde nije primenjen biološki preparat neposredno pre setve (Tab. 1).

Primena inokulacije (*NS Nitragin*) uglavnom stimuliše nodulaciju korena soje, naročito u varijantama gde nije primenjeno azotno mineralno đubrivo. Zaoravanje žetvenih ostataka (kukuruzovina) pozitivno utiče na broj kvržica (Tab.1).

Tab. 2. Uticaj inokulacije sa *B. japonicum* na broj kvržica, mahuna, broj i masu zrna soje
Tab. 2. Effect of inoculation with *B. japonicum* on number of nodules, pods, number and mass of grains of soybean

Varijante Variants	Povećanje u odnosu na kontrolu (%) (po biljci) Increase over uninoculated control (%) (per plant)			
	Broj kvržica Number of nodules	Broj mahuna Number of pods	Broj zrna Number of grains	Masa zrna (g) Grain mass (g)
0 kgNha ⁻¹	163,41	6,97	8,91	10,61
30 kgNha ⁻¹	119,69	0,10	1,85	0,00
60 kgNha ⁻¹	165,40	4,86	3,83	7,08
90 kgNha ⁻¹	41,19	5,24	2,68	0,00
Prosek Average	122,42	4,29	4,32	4,42

Izvor podataka: neobjavljeni rezultati

Tab. 3. Uticaj inokulacije sa *B. japonicum* na sadržaj proteina i ulja u zrnu soje
Tab. 3. Effect of inoculation with *B. japonicum* on protein and oil contents in soybean grain

Varijante - Variants	Sadržaj proteina Protein contents		Sadržaj ulja Oil contents		
	Inokulacija Inoculation	Bez inokulacije Without Inoculation	Inokulacija Inoculation	Bez inokulacije Without Inoculation	
Kontrola - Control (bez mineralnih đubriva)		36,93	36,64	21,90	22,16
Sa zaoravanjem žetvenih ostataka <i>With harvest residue</i>	0 kgNha ⁻¹	36,52	35,29	22,32	22,97
	100 kgNha ⁻¹	36,56	35,52	22,22	22,68
	200 kgNha ⁻¹	38,04	36,98	21,48	22,00
Bez zaoravanja žetvenih ostataka <i>Without harvest residue</i>	0 kg Nha ⁻¹	36,16	35,27	22,28	22,97
	100 kg Nha ⁻¹	37,21	36,28	21,78	22,44
	200 kg Nha ⁻¹	38,46	36,61	21,18	22,32
Prosek Average		37,13	36,08	21,88	22,51

Izvor podataka: neobjavljeni rezultati

Primena mikrobiološkog preparata u proizvodnji soje na lokalitetu Bački Petrovac (2004–2006. god.) uticala je na povećanje broja mahuna, broj i masu zrna kao i broj kvržica naročito u varijanti bez primene mineralnog azotnog đubriva (Tab. 2). Inokulacija semena soje sa kvržičnim bakterijama omogućava

značajno povećanje kvaliteta, prinos zrna i biomase (Milošević i Jarak, 2005). Milić i sar. (2002) su dobili povećanje prinosa i do 25% sa primenom mikrobiološkog preparata *NS Nitragin*.

Dvogodišnji rezultati (2006–2007) pokazuju da primena mikrobiološkog preparata sa *B. japonica* utiče pozitivno na sadržaj proteina u zrnu soje, naročito u varijanti sa najvećom količinom azotnog mineralnog đubriva (Tab.3). Međutim, inokulacija kao i primena azotnog mineralnog đubriva sa/bez zaoravanja kukuruzovine nije imala uticaj na sadržaj ulja u zrnu soje (Tab.3).

Inokulacija različitih genotipova soje sa kvržičnim bakterijama (Hungria and Birher, 2000; Milić et al., 2002a) utvrdili su da efektivnost azotofiksacije zavisi i od genotipa, što upućuje na potrebu istovremene selekcije biljke i kvržičnih bakterija. Primena selekcionisanih sojeva *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* u proizvodnji pasulja utiče na visinu biljke, masu suve materije i sadržaj azota (Tab. 4) u biljci u zavisnosti od sorte (Jarak et al., 1993; Marinković, 2006; Marinković et al., 2008).

Tab. 4. Uticaj inokulacije sa *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* na pasulj (%)

Tab. 4. Effect of inoculation with *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* on bean (%)

Varijante Variants	Suva masa - Dry mass (%)		Sadržaj N – Content N (%)		Nodulacija Nodulation (%)
	Biljka Plant	Zrno Grain	Biljka Plant	Zrno Grain	
Neinokulisano <i>Uninoculated</i>	100	100	100	100	100
Inokulisano seme <i>Inoculated</i>	108-128	107-172	109 -129	118 -154	102 - 173

Izvor podataka: Marinković (2006); Marinković et al (2008)

Primena komercijalnog preparata *NS Nitragin-a* za grašak, koji sadrži visoko efektivne sojeve *R. leguminosarum* (Jarak et al., 1998) daje iste efekte kao i primena 45 ili 60 kg mineralnog N po hektaru. U zavisnosti od soja inokulacija graška sa *R. leguminosarum* utiče na suhu masu i sadržaj azota u biljci i zrnu uz povećanje nodulacije i do 47% (Milošević et al., 1999) (Tab. 5).

Tab.5. Uticaj inokulacije semena sa *R. leguminoasrum* bv. *viceae* na grašak (%)

Tab. 5. Effect of inoculation with *R. leguminoasrum* bv. *phaseoli* on pea (%)

Varijante Variants	Suva masa - Dry mass (%)		Sadržaj N – Content N (%)		Nodulacija Nodulation (%)
	Biljka Plant	Zrno Grain	Biljka Plant	Zrno Grain	
Neinokulisano <i>Uninoculated</i>	100	100	100	100	100
Inokulisano <i>Inoculated</i>	105-123	103-115	101 -107	101 -103	118 - 147

Izvor podataka: Milošević et al., 1999

Inokulacija sa odgovarajućim sojevima rizobiuma uticala je na povećanje prinosa sirove krme kod crvene deteline i lucerke uz primenu kalcifikacije (Jarak et al., 2003; 2003a).

Zašto je potrebna inokulacija?

Iako su kvržične bakterije sposobne da prežive 3–5 godina, a u pojedinim zemljištima i do 13 godina (Brunel et al., 1988, cit. po Milošević et al., 1994), istraživanja su pokazala da primena mikrobnih preparata/inokulata za leguminoze neposredno pre setve utiče pozitivno na broj nodula/kvrzica (biofabrike azota), povećanje rasta i prinos biljke, uštede mineralnog azotnog đubriva, kvalitet zrna i biološku aktivnost zemljišta (Milošević i Jarak, 2005). Rizobiumi deluju i stimulatивно na rast i razviće biljaka produkcijom biološki aktivnih materija (vitamina, giberelina i auksina) (Milošević and Govedarica, 2001; Milošević i Jarak, 2005).

Primenom biofertilizatora u proizvodnji leguminoza zadovoljavaju se osnove u sistemu održive poljoprivrede: stabilnost i kvalitet prinosa, očuvanje ekološke ravnoteže uz održavanje biološke aktivnosti zemljišta, što se reflektuje na zdravlje/kvalitet zemljišta. Njihovom primenom smanjuje se upotreba skupih azotnih đubriva, zatim se utiče na dinamiku i pravac mikrobioloških procesa koji posredno utiču na održavanje i povećanje plodnosti zemljišta.

Efekat biofertilizatora zavisi od vrste i soja bakterija i koncentracije bakterijskih ćelija u inokulantu, biljne vrste, primenjenih agromeliorativnih mera i fizičko-hemijskih svojstava zemljišta.

Kontrola uspešnosti inokulacije

Uspešnost inokulacije, odnosno kvalitet mikrobiološkog đubriva može se kontrolisati šest nedelja posle klijanja semena preko brojnosti (po biljci) i morfoloških karakteristika nodula odnosno indexa nodulacije. (Tab.6). Nodulacija korena leguminoza je pokazatelj uspešnosti simbioze između biljke i *Rhizobium/Bradyrhizobium*.

Pri preseku nodule/kvržice uočava se u centralnom delu crveno polje (leghemoglobin) koje pokazuje da je simbioza uspešna, odnosno da postoji azotofiksaciona aktivnost. Kada se završi fiksacija azota bakteroidi se liziraju i tkivo kvržice je mrke boje.

Biođubriva se mogu uneti u zemljište direktno, inokulacijom semena, neposredno nanositi na biljku a poslednjih godina veliki efekat unošenja mikroorganizama pokazuje i primena navodnjavanjem. Forme (oblici) preparata zavise od proizvođača i mogu biti: suve, vlažne i u tečnom stanju.

Tab. 6. Ocena nodulacije

Tab. 6. Nodulation index

Broj nodula (po biljci) <i>Number of nodules (per plant)</i>	Nodulacija <i>Nodulation</i>
0 - 5	Slaba - <i>Poor</i>
6 - 10	Srednja - <i>Medium</i>
11 - 15	Dobra - <i>Good</i>
16 - 20	Vrlo dobra - <i>Very good</i>
21 ili više	Izuzetna - <i>Excellence</i>

([http:// vasatwiki.icrisat.org](http://vasatwiki.icrisat.org))

Primena biođubriva preporučuje se svake godine, neposredno pre setve. Inokulacija sa visokoefektivnim sojevima iz biopreparata omogućava uspešnost

nodulacije i visoku azotofiksacionu aktivnost. Odnosno kvržične bakterije kada žive u zemljištu slobodno ne vežu elementarni azot, te njihova azotofiksaciona sposobnost može biti značajno smanjena.

EKOLOŠKI ČINIOCI KOJI UTIČU NA USPEŠNOST INOKULACIJE

Na rast i aktivnost rizobia utiču i brojni ekološki činioci: svojstva zemljišta, klimatski uslovi, agromeliorativne mere, primena pesticida, kontaminacija teškim metalima, biljna vrsta kao i međusobni odnos mikrobne populacije (Milošević i Jarak, 2005).

Uticaj fizičko-hemijskih osobina zemljišta

Istraživanja pokazuju da su brzo rastući sojevi *Rhizobium* tolerantiji na sadržaj soli od sporo rastućih U kiselim zemljištima rast i preživljavanje rizobiuma su smanjeni zbog povećane koncentracije H^+ jona, toksičnog uticaja aluminijuma i mangana, nedostatka kalcijuma, fosfora i molibdena (Milošević i Jarak, 2005). Istraživanja Jarak et al. (1999) pokazuju da u gramu zemljišta neutralne reakcije ima oko $8,9 \times 10^4$ ćelija rizobiuma, a u zemljištu gde je pH ispod 6 ima ih svega $3,7 \times 10^1$. Kisela reakcija zemljišta je negativno uticala na nodulaciju korena lucerke (Govedarica et al., 1999), dok se kalcizacijom kiselih zemljištima značajno utiče na brojnost kvržičnih bakterija (Jarak et al., 2003). Rizobiumi imaju potrebu za većom obezbeđenošću fosforom (utrošak ATP), molibdenom koji ulazi u sastav nitrogenaze i gvoždem koje je komponenta leghemoglobina (Wani et al., 1994).

Temperatura i vlažnost

Rizobiumi su mezofilni mikroorganizmi, a optimalna temperatura za rast i razmnožavanje rizobiuma je oko $25^\circ C$, a ne rastu ispod $10^\circ C$ ili iznad $37^\circ C$ (Rice et al., 1995). Optimalna vlažnost za obrazovanje kvržica je 60–70 % od punog vodnog kapaciteta zemljišta (Graham, 1992). U oraničnom sloju zemljišta gde je povoljna aeracija i vlaga, formira se veći broj kvržica, dok ih u sloju ispod 30 cm skoro i nema.

Mineralna đubriva

Uticaj NPK hraniva na rizobiume zavisi od tipa zemljišta, količine i odnosa primenjenih hraniva. Povećan sadržaj neorganskih oblika azota dovodi do smanjenja brojnosti i aktivnosti simbioznih azotofiksatora, jer azot inhibiše pripajanje i ulazak rizobiuma u korenovu dlačicu (Milošević i Jarak, 2005).

Primena pesticida

Primena hemijskih zaštitnih sredstava može uticati inhibitorno ili stimulatивно na mikrobiološku aktivnost zavisno od tipa zemljišta, vrste, načina i količine pesticida (Milošević et al., 2001; Milošević and Govedarica, 2002; Govedarica et al., 1993a, 1997). Primena herbicida je uticala inhibitorno i na simbiotne bakterije *Bradyrhizobium japonicum*. Primena herbicida smanjila je

nodulaciju, odnosno broj kvržica na korenu soje od 5 do 21% (Milošević i Govedarica, 2002).

Teški metali

Uticaj teških metala na mikrobiološku aktivnost zavisi od elementa, koncentracije, vrste mikroorganizama i fizičko-hemijskih svojstava zemljišta (Milošević i sar., 1997; Milošević i Jarak, 2005). Gvožđe i molibden su važni sastojci nitrogenaznog enzimatskog kompleksa u azotofiksatora. Istraživanja pokazuju da mnogi teški metali inhibišu azotofiksaciju u *Rhizobium* (Vesper i Weidensaul, 1978, cit po Skujinš i Odén, 1986). Visoke doze Cd, Ni i Mo u koncentraciji od 10^{-3} M smanjuju broj kvržica graška i deteline (Jarak et al., 1996, cit. po Govedarica et al., 1997). Nodulacija leguminoza, tj. azotofiksacija rizobiuma je smanjena u zemljištu sa većom koncentracijom nikla (McGrath and Brookes, 1988; Jarak et al., 1997), a prisustvo aluminijuma utiče inhibitorno na simbiozu *Rhizobium*-leguminoze (Govedarica et al., 1997).

Primena genetski modifikovanih azotofiksatora

Modifikovani mikroorganizmi genetskim inženjeringom (GMM) našli su primenu u poljoprivrednoj proizvodnji kao biofertilizatori (*Azospirillum*, *Rhizobium*). Istraživanja (van Elsas et al., 1989; Gardner et al., 1991) pokazuju da plazmidi mogu da prelaze između različitih sojeva i vrsta u pojedinim rodovima (*Escherichia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Streptomyces*, *Bacillus*), kao i između rodova (između *Escherichia* i *Pseudomonas* i *Rhizobium*).

Geni GMM se rasprostiru u sredini dvojako: vertikalnom proliferacijom kroz noseće populacije sa kojom mogu da koloniziraju novo stanište i horizontalnim genetskim transferom. Korisnost ovakvog mehanizma je povećavanje genetske varijabilnosti genskim transferom u novu populaciju i kolonizacija novog staništa (Bailey et al., 2001). Međutim, primena GMM nameće potencijalne probleme: asocijacije unetih GMM koje mogu izazvati ekološke promene unutar sistema.

Zaključak

Ekonomski i ekološki značaj primene biofertilizatora

Primenom biofertilizatora u proizvodnji ratarskih biljaka zadovoljavaju se osnove u sistemu održive poljoprivrede: stabilnost i kvalitet prinosa, očuvanje ekološke ravnoteže, što se odražava na zdravstvenu bezbednost hrane i povoljan ekonomski efekat. Njihovom primenom smanjuje se upotreba skupih azotnih đubriva, zatim se utiče na dinamiku i pravac mikrobioloških procesa koji posredno utiču na održavanje i povećanje plodnosti zemljišta. Azotofiksatori deluju i stimulatивно na rast i razviće biljaka produkcijom biološki aktivnih materija (vitamina, giberelina i auksina). Efekat biofertilizatora zavisi od soja bakterija i koncentracije bakterijskih ćelija u inokulantu, biljne vrste, primenjenih agromeliorativnih mera i fizičko-hemijskih svojstava zemljišta. Azotofiksatori kao biofertilizatori primenjuju se kao pojedinačni sojevi određene vrste ili kao smeša sojeva jedne i/ili više vrsta.

Literatura

- Bailey, M.J., Timms-Wilson, T.M., Lillley, A.K., Godfray, H.C.J. (2001): The risks and consequences of gene transfer from genetically-manipulated microorganisms in the environment, Research Report, 17, 1-38.
- Gardner, E.J., Simmons, M.J., Snustad, D.P. (1991): Genetic Engineering and the future. In Principles of Genetics, 8 Edition. John Wiley & Sons, Inc. Toronto.
- Govedarica, M., Milošević, N., Jarak, M. (1997a): Teški metali i mikroorganizmi zemljišta. 153–194. U: Kastori R. (ured.), Teški metali u životnoj sredini, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad.
- Govedarica, M., Jarak, M. and Milošević, N. (1999): Effectiveness of *Rhizobium meliloti* in alfalfa: nodulation and microbial activity of soil. New Approaches and Techniques in Breeding Sustainable Fodder Crops and Amenity Grasses, (Provorov et al., eds), Proceeding of EUCARPIA 22nd Fodder Crops and Amenity Grasses, St. Petersburg, Russia, 157-159.
- Graham, P.H. (2000): Nodule formation in legumes. In: J.Edelberg (ed.) Encyclopedia of microbiology., 2ed., vol.3., 407 – 417, Academic Press. San Diego.
- Jarak, M., Govedarica, M., Milošević, N., Petrović, N., Ubavić, M. (1997): The effect of Heavy Metals on nodulation and Microbial Activity in the Rhizosphere of the Pea. Acta Horticulture, 462, 229-234.
- Jarak, M., Đukić, D., Govedarica, M., Milošević, N., Jeličić, Z., Đurić, S. (2003): Production of lucerne as affected by bacterization and liming. Optimal forage Systems for Animal production and the Environment. Grassland science in Europe, 8, 641 – 644.
- Jarak, M., Govedarica, M., Đurić, S. (2003 a): The effect of bacterization and liming in the production of red clover in acid soils. 1st FEMS Congress of European microbiologists., 392, Ljubljana.
- [http:// vasatwiki.icrisat.org](http://vasatwiki.icrisat.org): Biological nitrogen fixation, Extension Agronomist, A&M University, Texas
- Martínez-Romero, E., Caballero-Mellado, J. (1996): Rhizobium phylogenies and bacterial genetic diversity. Critical Rev. Plant Sci. 15, 113-140.
- McGrath, S.P., Brookes, P. C. (1988): Effect of potentially toxic metals in soil derived from past application of sewage sludge of nitrogen fixation by *Tripholium repens* L. Soil Biol, Biochem., 12, 415-424.
- Marinković, J. (2006): Efekat primene *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* u proizvodnji pasulja (*Phaseolus vulgaris* L.). Magistarska teza. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Marinković, J., Vasić, M., Jarak, M. (2008): Effect of inoculation on symbiotic association effectiveness in bean. Conventional and Molecular Breeding of Field and Vegetable Crops, Novi Sad 24-27 November 2008, 435-438.
- Milić, V., Mrkovački, N., Belić, M. (2002): Primena nitragina na zemljištu gde nije gajena soja. Zbornik radova Naučnog instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, sv. 36, 139-145.
- Milić, V., Mrkovački, N., Hrutić, M., Vidić, M. (2000 a): Effect of inoculation in different soybean genotypes. Zemljište i biljka., 49, 87 – 92.
- Milošević, N., Milić, V., Govedarica, M., Hadžić, V. (1994): Tehnologija proizvodnje nitragina: kvržične bakterije kao zahtev u proizvodnji soje. Zbornik radova, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 22, 269-279.
- Milošević, N., Petrović, N., Đurić, S., Stamenković-Jovanović, S. (1997): Uticaj kadmijuma i olova na mikrobiološku aktivnost zemljišta. 464-469. U: Dragović S. (ured.) Uređenje, korišćenje i očuvanje zemljišta, JDPZ, Novi Sad.
- Milošević, N., Jarak, M. and Govedarica, M. (1999): Field testing of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* for effectiveness in forage peas. New Approaches and Techniques in Breeding Sustainable Fodder Crops and Amenity Grasses, (Provorov et al., eds), Proceeding of EUCARPIA 22nd Fodder Crops and Amenity Grasses, St. Petersburg, Russia, 159-161.

- Milošević, N., Govedarica, M., Jarak, M. (1999a): Mikrobiološki preparati – značaj i mogućnosti njihove primene u ratarskoj proizvodnji. Zbornik radova, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 31, 49–62.
- Milošević, N., Govedarica, M., Đukić, D., Mandić, L. (1999b): Biofertilizacija – imperativ budućnosti. Zimska škola za agronome, Zbornik radova, Čačak, 3 (3), 123–128.
- Milošević, N., Govedarica, M. (2001): Mikrobni inokulanti – biofertilizatori kao zamena i/ili dopuna mineralnim đubrivima? 1st International Simposium, Food in the 21st Century, Book of Proceedings, Subotica, 216–225.
- Milošević, N., Govedarica, M., Jarak, M. (2002): Effect of prometryn on microbial activity of soil under soybean and sunflower. In: Albanis T. (ed.) Proceeding of the 2nd European Conferences on Pesticides and Related Organic Micropollutants in the Environment, 313-316, University of Ioannina, Corfu.
- Milošević, N., Jarak, M. (2005): Značaj azotofiksacije u snabdevanju biljaka azotom. U AZOT agrohemijski, agrotehnički, fiziološki i ekološki aspekti (Ur. R. Kastori), Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 305–352
- Paul, E.A., Clark, F.F. (1989): Soil and Biochemistry. Academic Press, Inc. New York
- Rice, W.A., Olsen, E.P., Collins, M.M. (1995): Symbiotic effectiveness of *R. meliloti* at low root temperature. Plant and Soil, 170, .351-358.
- Skujinš, J., Odčn, S. (1986): Sensitivity of Soil Nitrogenase to the Presence of Low Concentrations of Metal Ions, Perspectives in Microbial Ecology, Proceeding of IV ISME, Ljubljana, 664-667.
- van Elsas, J. D., van Overbeek, L.S., Nikkel, M. (1989): Detection of plasmid rp4 transfer in soil and rhizosphere, and the occurrence of homology to RP4 in soil bacteria. Current Microbiology, 19, 375-381.
- Wani, S.P., Rupela, O.P., Lee, K.K. (1994): BNF Technology for Sustainable Agriculture in the Semi-Arid Tropics. 15 th World Congress of Soil Science, Acapulco, .4a, 245-262.

RHIZOBIUM-BASED BIOFERTILIZERS IN LEGUME PRODUCTION

Nada Milošević and Jelena Marinković

Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad

Summary: The use of biofertilizers in the production of legumes complies with the basic postulates of sustainable agriculture as it contributes to yield stability and quality and helps maintain the ecological balance and soil biological activity and thus has a positive effect on soil health/quality. Inoculation mostly stimulates root nodulation in legumes, especially in treatments where no nitrogen fertilizer has been applied. The incorporation of harvest residues (corn stubble) positively affects the number of nodules. The use of biofertilizers increases pod number, grain weight and number, and grain quality.

Key words: biofertilizer, rhizobia, legumes, *Rhizobium/Bradyrhizobium*