

"Zbornik radova", Sveska 40, 2004.

Pregledni rad - Review

**PRIMENA MIKROBIOLOŠKIH ĐUBRIVA I ISPITIVANJE
BIOLOŠKE AKTIVNOSTI U CILJU ZAŠTITE ZEMLJIŠTA**

*Milić, Vera¹, Jarak, Mirjana², Mrkovački, Nastasija¹, Milošević, Nada¹,
Govedarica, M.², Đurić, Simonida², Marinković, Jelena¹*

IZVOD

Mikroorganizmi su široko rasprostranjeni u prirodi u zemljištu, vodi, vazduhu, na i u biljkama i životinjama i oni su nezaobilazna karika u kruženju materija na našoj planeti. Najznačajnija komponenta biološke faze zemljišta su mikroorganizmi koji su važan indikator plodnosti i procesa degradacije zemljišta. Mikrobiološki procesi u zemljištu uslovljeni su sadržajem organske materije, a plodnost svakog tipa zemljišta je vezana sa aktivnošću njene mikroflora. Poznavanjem metabolizma mikroorganizama, mogu se usmeriti mikrobiološki procesi tako što će se primenom korisnih mikroorganizama održati i poboljšati biološka aktivnost, odnosno biogenost zemljišta.

Širenje površina pod leguminozama zahteva razmišljanje o široj primeni mikrobioloških đubriva u cilju očuvanja i povećanja plodnosti zemljišta. Rezultat azotofiksacije leguminoznih biljaka pokazuje da je godišnji udeo fiksiranog azota u prinosu veliki, što opravdava primenu visokoefektivnih sojeva u mikrobiološkim đubrivima, omogućuje zamenu azota iz mineralnog đubriva biološkim azotom, a ima i ekonomski i ekološki efekat. Unetim mikroorganizmima ne zagađuje se zemljište, smanjuje se upotreba mineralnih azotnih đubriva, doprinosi proizvodnji ekološki zdrave hrane, poboljšava struktura zemljišta, povećava sadržaj organske materije i pozitivno utiče na fizičke osobine zemljišta.

KLJUČNE REČI: mikroorganizmi, mikrobiološka đubriva, simbiotska zajednica

1 Dr Vera Milić, naučni savetnik, dr Nastasija Mrkovački, naučni savetnik, dr Nada Milošević, naučni savetnik, dipl. biol. Jelena Marinković, stručni saradnik, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad

2 Dr Mirjana Jarak, redovni profesor, dr Mitar Govedarica, redovni profesor, mr Simonida Đurić, asistent, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Uvod

Mikroorganizmi su široko rasprostranjeni u prirodi u zemljištu, vodi, vazduhu, na i u biljkama i životinjama i oni su nezaobilazna karika u kruženju materija na našoj planeti. Kada ne bi bilo mikroorganizama sa planete bi nestale i biljke i životinje i čovek. Najznačajnija komponenta biološke faze zemljišta su mikroorganizmi koji su važan indikator plodnosti i procesa degradacije zemljišta. Mikrobiološki procesi u zemljištu uslovljeni su sadržajem organske materije, a plodnost svakog tipa zemljišta je vezana sa aktivnošću njene mikroflora. Zastupljenost pojedinih vrsta mikroorganizama u zemljištu pokazuje zdravstveno stanje i plodnost zemljišta, odnosno, prisutnost određenih grupa mikroorganizama usmerava procese ka sintezi humusa, ili se iz humusa mineralizacijom oslobađaju biljni asimilativi i na taj način učestvuju u formiranju prinosa biljaka. Međutim, mikroorganizmi mogu da budu i veoma štetni jer proizvode toksine koji su uzročnici mnogih oboljenja kako kod biljaka, tako i životinja i čoveka. Širenjem ovih štetnih mikroorganizama u zemljištu umanjuje se prinos i njegov kvalitet. Poznavanjem metabolizma mikroorganizama, mogu se usmeriti mikrobiološki procesi tako što će se primenom korisnih mikroorganizama održati biološka aktivnost, odnosno biogenost zemljišta.

U zavisnosti od odabranih vrsta mikroorganizama koji ulaze u sastav mikrobioloških đubriva, može se uticati na aktiviranje poželjnih mikrobioloških procesa u zemljištu. Uspeh primenjenih mikrobioloških đubriva zavisi od mnogih faktora: tipa zemljišta, vlažnosti i temperature, efektivnosti autohtonih sojeva i efektivnosti primenjenih sojeva, (Milić i Mrkovački, 1994, Mrkovački i sar., 1996, Bounioulis et al., 1997), od genetske varijabilnosti biljke domaćina (Mrkovački, 1997a, 1997b, Milić i sar., 2000a, Milić i sar., 2000b) koja predstavlja rezultat njene kompatibilnosti sa mikroorganizmima, primenjenih agrotehničkih mera u toku gajenja biljaka (Nutman, 1976, Pauu, 1989, Jarak i sar., 1999), kao i kontaminacije zemljišta teškim metalima (Govedarica i sar., 1993, Đurić i sar., 2003).

U Naučnom institutu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu se proizvode mikrobiološka đubriva za leguminozne biljke (NS-Nitragin za soju, NS-Nitragin za pasulj i boraniju, NS-Nitragin za grašak i NS-Nitragin za lucerku i detelinu), a može da se proizvodi i mikrobiološko đubrivo za šećernu repu (NS-Betafixin). Na osnovu mnogih istraživanja i primene mikroorganizma (slobodnih azotofiksatora) i kod drugih ratarskih kultura (Govedarica i sar., 1997, 1998, 1999, Milošević i Govedarica, 2001, Mrkovački i sar., 2002, Mrkovački i Mezei, 2003a), može se zaključiti da je od velikog značaja mogućnost zamene mineralnih đubriva mikrobiološkim, a to je primarni zadatak mikrobiologa, kako bi se omogućila ekonomski opravdana i ekološka proizvodnja ratarskih i povrtarskih kultura.

Cilj rada je bio da se pokaže značaj biološke aktivnosti i svojstva zemljišta kao indikatora plodnosti kod različitih ratarskih kultura, kod kojih su primenjena mikrobiološka đubriva, a u cilju zaštite zemljišta.

Biološka aktivnost zemljišta na različitim lokalitetima i pod različitim biljnim kulturama

Vrednosti pokazatelja biološke aktivnosti (ukupan broj mikroorganizama, zastupljenost diazotrofa, amonifikatora, aktinomiceta i brojnost gljiva) pokazuju da postoji razlika u biogenosti zemljišta na različitim lokalitetima (Milošević i sar., 2003b). Autori su utvrdili da je na lokalitetu Srbobrana i Bečeja u površinskom sloju veća biogenost zemljišta dok se sa dubinom profila brojnost mikroorganizama smanjuje, tako da na većoj dubini od 50 cm nije utvrđeno prisustvo azotobaktera, zastupljenost ukupnog broja mikroorganizama i amonifikatora najveća je u zemljištu na lokalitetu Srbobran i Bečej ali sa dubinom profila biogenost opada.

Tab.1 Zastupljenost ukupnog broja mikroorganizama i amonifikatora na različitim lokalitetima i različitim dubinama zemljišta (Milošević i sar., 2003)

Tab.1. Total number of microorganisms and ammonifiers in different regions and at different depths (Milošević i sard., 2003)

Lokalitet Location	Dubina Depth (cm)	Log.broj ćelija mikroorganizama Log.number of microbial cells	
		Ukupan broj Total number	Amonifikatori Ammonifiers
Srbobran	0-28	9,17	9,01
	28-71	8,94	8,23
	71-97	7,12	3,89
	97-12	5,68	2,77
Bečej	0-40	7,06	7,85
	40-50	7,69	7,38
	50-79	6,34	5,44
	79-180	2,78	1,02
Lađenik	0-25	5,06	6,23
	25-40	4,89	4,07
	40-60	3,12	2,96
	62-96	1,04	0,00
	96-130	0,00	0,00
Beljin	0-15	5,12	5,77
	15-40	5,00	3,00
	40-62	4,25	1,02
	62-75	3,67	0,00
	75-105	1,77	0,00

Na području Lađenik i Beljin gde je zemljište kisele reakcije, nisu utvrdili prisustvo azotobaktera, na dubini preko 62 cm nije konstatovan broj amonifikatora, a na lokalitetu Lađenik u sloju od 96-130 cm nije utvrđeno prisustvo ispitivanih mikroorganizama. Samo u površinskom sloju su utvrđene aktinomicete, gljive su najzastupljenije u površinskom sloju, a sa dubinom profila njihov broj se smanjuje (tab.1.).

Korenske izlučevine različitih biljnih vrsta različito utiču na zastupljenost mikroorganizama u zemljištu. U zavisnosti od genotipa biljke, klimatskih uslova i tipa inokulacije (Milić i sar., 1999a, 1999b, 1999d, 2003) dobivene su razlike u zastupljenosti pojedinih grupa mikroorganizama. Na osnovu rezultata ispitivanja mikrobiološkog svojstva zemljišta pod povrćem na lokalitetu Bačko Gradište, Milošević i sar. (2003a) su utvrdili da je mikrobiološka aktivnost visoka. Ukupan broj mikroorganizama i amonifikatora kretao se do $\times 10^8$, azotobaktera do $\times 10^3$, oligonitrofila do $\times 10^6$, gljiva do $\times 10^4$, aktinomiceta do $\times 10^5$ po gramu apsolutno suvog zemljišta (tab.2; tab. 3)

Tab.2.Zastupljenost ukupnog broja mikroorganizama i amonifikatora u zemljištu pod povrćem na lokalitetu Bačko Gradište (Milošević i sar., 2003)

Tab.2.The occurrence of total number of microorganisms and ammonifiers in the soil under vegetables in Bačko Gradište (Milošević i sar., 2003)

Biljka Plant	Log.broj mikroorganizama Log.number of microorganisms			
	Azotobacter		Oligonitrofil Free N fixing	
	Prosek Average	Min-Max	Prosek Average	Min-Max
Paštrnak Parsnip	3,37	3,04-4,56	7,31	6,75-7,63
Peršun Parsley	4,52	4,44-4,63	7,62	7,40-7,82
Celer Celery	3,89	2,77-4,66	7,22	7,02-7,57
Mrkva Carrot	3,32	3,04-3,66	7,22	7,10-7,61
Luk Onion	4,11	3,23-4,56	6,99	6,64-7,47

Đurić i sar. (2003) su ispitivali mikrobiološku aktivnost i sadržaj teških metala pod usevom krompira na lokalitetu DPPD Maglič. Na osnovu mikrobiološke aktivnosti zemljišta i sadržaja Cu, Zn, Pb i Cd autori su potvrdili da je zemljište na lokalitetu Maglič, pogodno za proizvodnju visoko vredne hrane od krompira.

Tab.3. Zastupljenost diazotrofa u zemljištu pod povrćem na lokalitetu Bačko Gradište (Milošević i sar., 2003)

Tab.3. The occurrence of diazotrophs in the soil under vegetables in Bačko Gradište (Milošević i sar., 2003)

Biljka Plant	Log.broj mikroorganizama Log.number of microorganisms			
	Aktinomicete Actinomycetes		Gljive Fungi	
	Prosek Average	Min-Max	Prosek Average	Min-Max
Paštrnak Parsnip	5,15	4,90-5,75	4,65	3,95-4,74
Peršun Parsley	5,27	5,20-4,54	4,27	4,14-4,79
Celer Celery	5,12	4,55-5,94	4,17	3,30-4,67
Mrkva Carrot	5,52	4,02-6,12	4,52	4,32-4,82
Luk Onion	4,77	4,60-5,35	4,52	4,20-4,90

U zemljištu, pod usevima soje i pasulja, mikroorganizmi nalaze povoljne uslove za svoje življenje (Milić i sar., 1999a, 1999b, 1999d).

Tab.4. Biogenost zemljišta pod uticajem različitih tipova inokulacije soje (Mrkovački i sar., 2003c, rad u štampi)

Tab.4 Soil biogenicity as affected by different types of soybean inoculation (Mrkovački i sar., 2003c, rad u štampi)

Mikroorganizmi Microorganisms	God. Year	Kontrola Control	N	N+A	A	N+N	%
Ukupan broj mikro- organizama x10 ⁴ Total number of microorganisms	2002 god	228	286	316	322	293	41
	2003god.	206	231	215	316	236	53
Broj azotobaktera Number of Azotobacters x10 ⁴	2002 god	45	47	54	46	48	18
	2003god.	117	137	144	141	115	23
Broj gljiva Number od fungi x10 ⁴	2002 god	32	26	24	26	28	-25
	2003god.	26	22	19	39	31	-32
Broj aktinomiceta x10 ⁴ Number of actinomycetes	2002 god	54	47	45	46	48	-15
	2003god.	76	62	57	97	71	-24

U toku 2002. i 2003. godine postavljen je ogled na Oglednom polju na Rimskim Šančevima sa jednim genotipom soje ali sa različitim tipovima inokulacije (Mrkovački i sar., 2003c). Ogledi su postavljeni u obe godine u optimalnom roku, sa jednim genotipom soje-Afrodita, a tipovi inokulacije su bili: kontrola (Ø) neinokulisano seme, inokulisano sa NS-Nitraginom (N), sa smešom NS-Nitragin i sojevi *Azotobacter chroococcum* (N+A), samo sa smešom sojeva azotobaktera (A) i dvostruka inokulacija sa NS-Nitraginom (N+N). Rezultati su pokazali da je najveći ukupan broj mikroorganizama u rizosferi soje bio u obe godine ispitivanja u zemljištu gde je soja inokulisana samo sa azotobakterom, a najveći broj azotobaktera u zemljištu gde je inokulacija bila sa smešom NS-Nitragin +azotobakter (N+A). Na ovoj varijanti ustanovljen je i najmanji broj gljiva i aktinomiceta (tab.4).

Tab. 5. Broj mikroorganizama u zemljištu u toku gajenja pasulja inokulisanog sa NS-Nitraginom za pasulj (Milić i sar., 2002)

Tab.5. Soil microbial abundance when growing bean inoculated with NS-Nitragin for bean (Milić i sar., 2002)

Varijante mikrobioloških đubriva Microbiological fertilizer treat- ments	Azoto- bakter x10 ² Azoto- bacter	Amoni- fikatori x10 ⁶ Ammo- nifiers	Ukupan broj x10 ⁶ Total number	Sl.azoto- fiksatori x10 ⁵ Free nitrogen fixers	Gljive x10 ⁴ Fungi	Aktino- micete x10 ⁴ Actino- mycetes	Organsk e fosfate x10 ⁵ Organic pho- sphates	Neorg- fosfate x10 ⁵ Inor- ganic pho- sphates
(Ø)								
I maj/May	24,77	57,52	111,58	268,31	16,28	19,57	34,65	22,74
II juli/July	103,03	197,05	267,82	519,47	24,99	56,11	36,81	21,30
III avgust/August	194,88	130,33	359,25	424,63	18,82	28,01	38,77	10,76
Prosek/Mean	119,95	128,30	246,21	404,13	20,03	34,56	36,74	18,26
(N)								
I maj/May	24,77	57,52	111,58	268,31	16,28	19,57	34,65	22,74
II juli/July	110,60	252,55	514,28	744,97	22,26	67,90	30,87	24,29
III avgust/August	223,67	133,90	432,24	680,51	28,49	39,06	41,75	8,57
Prosek/Mean	132,07	147,99	350,70	564,59	22,34	42,17	35,75	18,53

U toku 2002. god postavljen je takođe i ogled sa jednim genotipom pasulja (Belko), po slučajnom blok sistemu u 4 ponavljanja, sa dve varijante: kontrolna (Ø) varijanta ne inokulisana; inokulacija semena NS-Nitraginom za pasulj (N). Neposredno pred setvu, u fazi cvetanja i na kraju vegetacije urađena je mikrobiološka analiza zemljišta sa dubine od 0 do 20 cm. Rezultati su pokazali da je NS-Nitragina za pasulj uticao na zastupljenost pojedinih grupa mikroorganizama u zemljištu. Povećava se ukupan broj mikroorganizama, broj slobodnih azotofiksatora, broj azotobaktera, broj aktinomiceta i broj mikroorganizama koji utiču na oslobađanje organskih fosfata u zemljištu, a broj gljiva se smanjuje. Broj azotobaktera najveći je na kraju vegetacije, kada ovi mikroorganizmi ostaju u

zemljištu za narednu kulturu, a broj ostalih slobodnih azotofiksatora u fazi cvetanja pasulja. U fazi cvetanja ispitivanih biljaka, u zemljištu dubine 0-20 cm, povećava se broj mikroorganizama koji omogućuju oslobađanje neorganskih fosfata, kao i broj aktinomiceta (Milić i sar., 2002), (tab.5).

Mrkovački i sar. (1995, 1998, 2002) su utvrdili da primena sojeva *Azotobacter chroococcum*-a kod šećerne repe ima uticaja ne samo na povećanje broja ovih bakterija u rizosferi i okolnom zemljištu nego da ovi mikroorganizmi učestvuju i u povećanju prinosa i tehnološkog kvaliteta korena šećerne repe.

U toku 2002. i 2003. godine postavljen je ogled sa šećernom repom i neposredno pred setvu šećerne repe, u zemljište je inkorporiranjem uneto mikrobiološko đubrivo NS-Betafixin, koji sadrži smešu odabranih sojeva *Azotobacter chroococcum*. Primenom NS-Betafixina u rizosferi šećerne repe povećava se ukupan broj mikroorganizama i to u 2002. godini za 11,4%, a u 2003. godini istraživanja za 6,5%. Broj azotobaktera u 2002. godini povećan je za 23,6% u odnosu na neinokulisanu varijantu, a u 2003. godini za 114%. Broj gljiva i aktinomiceta se smanjuje u obe godine u odnosu na neinokulisanu kontrolnu varijantu i to u 2002. godini broj gljiva za 12%, u 2003. za 20%, a broj aktinomiceta za 6% u 2002 god. i za 4,5% u 2003. god. (Mrkovački i sar., 2003b), (tab.6).

Tab.6. Biogenost rizosfere šećerne repe inokulisane mikrobiološkim đubrivom NS-Betafixinom (Mrkovački i sar. 2003b, rad u štampi)

Tab.6. Biogenicity of sugar beet rhizosphere inoculated with microbiological fertilizer NS-Betafixin (Mrkovački i sar. 2003b, rad u štampi)

Grupa mikroorganizama Microbial group		Godina 2002 Year 2002	Godina 2003 Year 2003	%povećanja % increase 2002	%povećanja % increase 2003
Ukupan broj mikroorganizama Total number of microorganisms	Ø	702	348		
	A	782	371	11,4	6,5
Broj Azotobaktera Number of Azotobacters	Ø	89	26		
	A	110	56	23,6	114
Broj gljiva Number of fungi	Ø	20	37		
	A	17	30	-12	-20
Broj aktinomiceta Number of actinomycetes	Ø	172	49		
	A	161	47	-6	-4,5

Ø-Kontrola/Control

A-inokulisano NS-Betafixinom/inoculated with NS-Betafixin

**Rezultati primene mikrobiološkog đubriva
NS-Nitragina u proizvodnji leguminoznih biljaka**

Familija leguminoza u zajednici sa kvržičnim bakterijama iz rodova Rhizobium, Bradyrhizobium, Sinorhizobium i Azorhizobium fiksira elementaran azot iz atmosfere koristeći ga prvenstveno za sintezu vlastitih proteina i povećanja azotnog bilansa zemljišta, čime se istovremeno smanjuje potreba za upotrebu azotnih mineralnih đubriva. Simbioza između bakterija i biljke je jedinstvena i obavlja se u svim životnim sredinama i na svim geografskim širinama zemlje.

Količina fiksiranog azota varira u zavisnosti od efektivnosti kvržičnih bakterija, koje ulaze u sastav mikrobiološkog đubriva, a takođe i od genotipa biljke.

U simbiozi sa sojom (*Glycine max.*) fiksaciju azota obavljaju kvržične bakterije *Bradyrhizobium japonicum*, fiksiraju od 75 do 200 kg N ha⁻¹ godišnje. Soja zadovoljava najveći deo (25 - 80%) svojih potreba za azotom putem simbioze u zemljištima niske i srednje obezbeđenosti azotom (Graham and Temple, 1984, George i Singleton, 1992)

Tab.7. Dužina biljke, masa, sadržaj azota i prinos u deset različitih genotipova soje (Milić i sar.2000)

Tab.7. Plant length, mass, nitrogen content and yield of 10 different soybean genotypes (Milić i sar.2000)

Genotip biljke "0" Plant genotype "0"	Dužina biljke (cm) Plant length (cm)	Masa kvržica (g/biljci) Nodule mass (g/plant)	Masa biljke (g/biljci) Plant mass (g/plant)	Sadržaj N ukvrži- cama (mg/biljci) Nodule N content (mg/plant)	Sadržaj N u biljci (mg/biljci) Plant N content (mg/plant)	Prinos zrna soje (kg/ha) Soybean grain content (kg/ha)
NS-L-101128	76,14	0,078	6,278	3,564	646,09	2257
NS-L-101136	77,47	0,078	5,579	3,536	571,44	2263
NS-L-101137	76,96	0,103	5,486	4,508	568,80	2297
NS-L-101147	75,75	0,083	5,026	3,518	438,90	2365
NS-L-101154	81,36	0,078	7,321	3,491	737,10	2376
NS-L-101165	74,07	0,075	5,334	2,648	467,71	2207
NS-L-101164	73,78	0,084	4,465	3,528	431,49	2167
NS-L-201167	68,71	0,045	4,205	1,860	420,70	2234
NS-L-201149	65,83	0,018	5,128	0,819	523,93	2284
NS-L-201168	68,58	0,040	4,833	1,680	274,83	2179
LSD	0,05	0,054	1,233	0,479	139,0	54,25
	0,01	0,074	1,690	0,656	190,5	74,32

Rezultati rada Milić i sar. (2000a) pokazuju da postoji razlika u kapacitetu za azotofiksaciju kod deset ispitivanih genotipova soje. Genotipovi NS-L-101154 i NS-L-101147 imaju najveći potencijal za azotofiksaciju dok su najmanji kapacitet pokazali genotipovi NS-L-101164 i NS-L-201168. Sadržaj azota, masa suve

materije, dužina cele biljke i sadržaj azota u kvržicama u korelaciji je sa prinosom zrna. (tab.7)

Takođe je potvrđeno (Milić i sar., 2002a) da je najveći potencijal za azotofiksaciju utvrđen kod sorata Afrodita i Balkan, kod kojih su i pokazatelji azotofiksacije (masa suve materije biljke i sadržaj azota u nadzemnom delu biljke i kvržicama) takođe bili visoki, a ostvaren je i najveći prinos zrna. Sorte Bačka i Nizija ostvarile su najmanji prinos zrna, kao i najmanju masu kvržica i sadržaj azota u kvržicama (Tab.8)

Tab.8. Masa suve materije, sadržaj azota i prinos zrna različitih genotipova soje (Milić et al., 2002.)

Tab.8. Dry matter mass, nitrogen content and grain yield of different soybean genotypes (Milić et al., 2002.)

Genotip biljke Plant genotype	Masa nad.dela biljke (g/biljci) Above-ground plant mass (g/plant)	Masa kvržica (g/biljci) Nodule mass (g/plant)	Sadržaj N u nad.delu biljke (g/biljci) N content of above-ground plant parts (g/plant)	Sadržaj N u kvržicama (g/biljci) Nodule N content (g/plant)	Broj kvržica po biljci Nodule number per plant	Prinos (kg/ha) Yield (kg/ha)
Afrodita	5,40	0,153	0,274	0,081	17	2349
Bačka	3,14	0,109	0,142	0,050	13,66	2062
Concil	10,74	0,770	0,513	0,049	22,00	2233
Balkan	19,88	0,230	0,939	0,120	44,00	2322
Trail	10,34	0,114	0,470	0,057	23,00	2218
Nizija	13,85	0,116	0,658	0,053	18,33	2107
Vojvodanka	14,88	0,170	0,794	0,071	20,66	2200
Glacijer	10,78	0,225	0,441	0,109	26,33	2266
LSD 0,05	2,225	0,036	0,127	0,017	7,743	53,25
LSD 0,01	3,088	0,050	0,176	0,024	10,75	68,72

U simbiozi između *Rhizobium meliloti* i lucerke (*Medicago sativa* L.) fiksira se od 90 do 386 kg N /ha u toku rasta i razvoja lucerke (Peoples et al., 1995), odnosno udeo fiksiranog azota u prinosu lucerke iznosi od 46 do 92 %.

U zemljištima Srbije ove kvržične bakterije ili nisu prisutne ili su prisutne u malom broju (Jarak i sar., 1994) te se nalaže potreba za obaveznu primenu inokulacije, kako bi se dobio veći prinos sirove krme lucerke i veći procent suve materije. Ovo potvrđuju i rezultati istraživanja Jarak i sar. (2003), (tab.9).

U simbiozi sa detelinom kvržice formiraju bakterije *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii a količina fiksiranog azota se kreće od 100 do 250 kg N ha⁻¹ godišnje (Wanni i sar., 1995). Iako su ove bakterije prisutne u zemljištu neophodno je selekcionisati visokoefektivne sojeve ovih bakterija jer ekološki uslovi i pH zemljišta utiču na njihovu sposobnost fiksacije azota. Rezultati Jarak i

sar. (2003) pokazuju da je uspešnom inokulacijom ostvaren veći prinos sirove krme crvene deteline (tab.9.)

Tab.9. Uticaj inokulacije semena sa različitim sojevima *Rhizobium meliloti* na prinos sirove krme lucerke ($t\ ha^{-1}$) (Jarak i sar., 2003)

Tab.9. Effects of seed inoculation with different strains of *Rhizobium meliloti* on crude alfalfa forage yield ($t\ ha^{-1}$) (Jarak i sar., 2003)

Sorta A Cultivar A	Zemljište pH 5,1 Soil pH 5.1				Zemljište pH 6,2 Soil pH 6.2			
	Kontrola Control	Soj R1 Strain R1	Soj R2 Strain R2	Prosek Mean	Kontrola Control	Soj R1 Strain R1	Soj R2 Strain R2	Prosek (B) Mean (B)
Mediana	38,69	38,17	40,76	39,21	38,67	40,63	42,52	40,60
Slavija	32,04	37,68	35,37	35,03	36,48	39,82	38,08	38,13
Prosek/Mean	35,37	37,92	38,06	37,12	35,37	40,23	40,30	39,36

LSD	Zemljište pH 5,1 Soil pH 5.1			Zemljište pH 6,2 Soil pH 6.2		
	A	B	AxB	A	B	AxB
0,01	1,14	1,39	1,97	1,32	1,62	2,29
0,05	1,55	1,90	2,68	1,80	2,21	3,12

Tab.10. Uticaj inokulacije semena kvržičnim bakterijama *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii na prinos sirove krme crvene deteline ($t\ ha^{-1}$) (Jarak i sar., 2003)

Tab.10. Effects of inoculation with root bacteria *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii on red clover crude forage yield ($t\ ha^{-1}$) (Jarak i sar., 2003)

Ponavlanje Replicate	Zemljište pH 5,1 Soil pH 5.1		Zemljište pH 6,2 Soil pH 6.2	
	Kontrola Control	Inokulacija Inoculation	Kontrola Control	Inokulacija Inoculation
I	29,66	33,67	30,34	35,16
II	31,00	34,17	28,33	32,83
III	31,00	33,84	29,50	33,50
X	30,55	33,89	29,39	33,83

U simbiozu sa biljkom pasulja (*Phaseolus vulgaris*) stupaju kvržične bakterije *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* i mogu da fiksiraju od 20 do 115 kg N/ha (Rennie i Kemp, 1983). Prisutni autohtoni sojevi ovih bakterija u zemljištu su slabije efektivnosti i kada se primeni inokulacije semena mikrobiološkim đubrivom (NS-Nitragin za pasulj), formira se efektivnija simbiotska zajednica u odnosu na neinokulisano seme (Milić i sar., 1999b, 1999c, 1999d, 2001, Jarak i sar., 2003).

Milić i sar. (2003) su pokazali da je inokulacija semena sa NS-Nitaginom za pasulj pozitivno delovala na ispitivane parametre, simbiotske zajednice kod pasulja, a efekat inokulacije bio je različit u odnosu na varijante đubrenja.

Varijante đubrenja su bile različite (od 0 do 200 kgN/ha, sa i bez zaoravanja žetvenih ostataka, sa i bez dodavanja 50 kg N/ha svake treće godine).

Tab.11. Uticaj inokulacije i đubrenja pasulja na sadržaj azota i fiksirani azot u fazi cvetanja pasulja (mg/biljci) (Milić i sar., 2003)

Tab 11. The effect of inoculation and treatments on plant nitrogen content and fixed nitrogen at the stage of bean flowering (mg/plant) (Milić i sar., 2003)

Varijanta đubrenja Treatment	Nadzemni deo Above-ground parts (mg)		Koren i kržice Root and nodules (mg)		Cela biljka Whole plant (mg)		
	+N	-N	+N	-N	+N	-N	Fiksiran N Fixed N kg/ha
∅	225.33	<u>106.99</u>	8.96	6.77	396.19	<u>199.12</u>	68.97
1	217.78	157.93	12.83	6.34	398.77	262.89	47.56
2	245.52	194.90	<u>6.97</u>	7.98	396.90	328.50	23.94
3	215.49	161.90	7.27	5.68	355.43	268.37	30.47
4	<u>162.72</u>	109.31	8.47	7.07	<u>280.83</u>	239.22	14.56
5	178.73	209.23	6.36	6.20	294.69	337.69	<u>-15.05</u>
6	239.01	235.35	10.89	8.70	415.87	376.79	<u>13.68</u>
7	231.79	166.48	10.54	<u>5.45</u>	398.29	267.22	45.87
8	221.74	200.24	11.06	7.21	390.12	319.13	24.85
9	337.94	266.06	20.34	8.31	366.68	428.63	<u>-21.68</u>
Prosek Mean	227.60	180.83	10.37	6.97	369.38	302.76	23.31

Varijante đubrenja:

1. 0 kg/ha + žo + 50 kg/ha N svake treće godine
2. 50 kg/ha + žo + 50 kg/ha N svake treće godine
3. 100 kg/ha + žo + 50 kg/ha N svake treće godine
4. 150 kg/ha + žo + 50 kg/ha N svake treće godine
5. 200 kg/ha + žo + 50 kg/ha N svake treće godine
6. 250 kg/ha + žo + 50 kg/ha N svake treće godine
7. 0 kg/ha
100 kg/ha
200 kg/ha

Treatment:

1. 0 kg/ha + žo + 50 kg/ha N every three years
2. 50 kg/ha + žo + 50 kg/ha N every three years
3. 100 kg/ha + žo + 50 kg/ha N every three years
4. 150 kg/ha + žo + 50 kg/ha N every three years
5. 200 kg/ha + žo + 50 kg/ha N every three years
6. 250 kg/ha + žo + 50 kg/ha N every three years
7. 0 kg/ha
100 kg/ha
200 kg/ha

Dobiveni rezultati (Milić i sar., 2003) su pokazali da je kod inokulisanih biljaka, u proseku, na svim varijantama đubrenja, dužina biljke, masa suve materije, broj mahuna po biljci, broj zrna u mahuni i sadržaj azota u biljci veći u odnosu na neinokulisane biljke. Različite varijante đubrenja uticale su i na efektivnost simbiotske zajednice. Količina fiksanog azota kretala se od 13,68 do 68,97 kg N/ha, a u proseku za sve varijante đubrenja iznosila je 23,31 kg N/ha. Na varijanti đubrenja gde je uneseno 200 kg/ha + Ž O + 50 kg/ha N svake treće godine i varijanti đubrenja sa 200 kg/ha fiksacija azota je izostala (tab.11, tab.12). Ovo potvrđuje da veća količina azota u zemljištu utiče negativno na efikasnost fiksacije N₂ iz vazduha, odnosno da biljke prvenstveno koriste azot iz zemljišta, a tek onda svoje potrebe zadovoljavaju fiksanjem azota iz vazduha.

Tab.12 Uticaj inokulacije i đubrenja na masa suve materije zrna po biljci, broj mahuna i broj zrna u mahunama u fazi fiziološke zrelosti biljaka (Milić i sar., 2003.)

Tab.12. The effect of inoculation and treatments on grain dry matter mass per plant, pod number and grain number per pod at physiological maturity of plants (Milić i sar., 2003.)

Varijante Treatment	Masa suve materije zrna Grain dry matter mass (g/plant)		Broj mahuna po biljci Pod number per plant		Prosečan broj zrna u mahuni Average grain number per pod	
	+N	-N	+N	-N	+N	-N
Ø	6,02	5,24	9,50	9,33	24,50	21,00
1	12,43	9,27	13,16	12,50	40,30	32,82
2	9,63	8,26	12,83	6,50	32,50	32,16
3	8,61	6,84	12,50	10,33	32,81	27,00
4	12,42	7,57	16,96	11,16	47,17	29,16
5	14,44	6,60	19,33	9,83	48,33	29,83
6	13,31	6,01	18,00	7,00	26,67	16,33
7	7,03	8,60	9,66	11,66	26,50	31,33
8	8,51	8,65	11,96	10,67	34,67	33,33
9	7,41	7,43	10,50	9,00	28,67	25,16
Prosek Mean	9,98	7,44	13,40	9,80	34,20	27,81

U simbiotskoj zajednici sa graškom (*Pisum sativum*) kvržične bakterije *Rhizobium leguminosarum* *bv. viciae* fiksiraju 20 do 200 kg N/ha godišnje (Wanni et al., 1995). Primena inokulacije semena graška daje pozitivne efekte kako na prinos zrna (prinos je isti kao i kod primene 60 do 90 kg N/ha), tako i na povećanje dužine biljke, sadržaja azota u biljci i zrnu (Jarak i sar., 1990), te mada su ove bakterije zastupljene u zemljištu ovi autohtoni sojevi su slabije efektivnosti (Jarak i sar., 1999). Takođe, rezultati Jarak i sar. (2003) su pokazali povećanje

mase suve materije i procenat azota u zrnu, kada je primenjena inokulacije semena graška sa sojevima *Rhizobium leguminosarum bv. viciae* (tab.13).

Tab.13. Uticaj inokulacije graška sa kvržičnim bakterijama *Rhizobium leguminosarum bv. viciae* na masu suve materije i procenat azota u zrnu (Jarak i sar., 2003.)

Tab.13. The effect of pea inoculation with root nodule bacteria *Rhizobium leguminosarum bv. viciae* on grain dry matter mass and nitrogen percentage (Jarak i sar., 2003.)

Varijante (<i>R. leguminosarum bv. viciae</i> sojevi) Treatments (<i>R. leguminosarum bv. viciae</i> strains)	Masa suve materije zrna (g) Grain dry matter mass (g)	% azota u zrnu Grain nitrogen percentage
Kontrola/Control	36,5	3,28
1g	50,2	5,04
2g	63,0	4,07
3g	83,8	3,47
4g	50,2	3,45
5g	52,0	3,79

Umesto zaključka

Širenjem površina pod leguminozama zahteva razmišljanje o široj primeni mikrobioloških đubriva u cilju očuvanja i povećanja plodnosti zemljišta. Rezultat azotofiksacije leguminoznih biljaka pokazuje da je godišnji udeo fiksiranog azota u prinosu veliki, što opravdava primenu visoko efektivnih sojeva u mikrobiološkim đubrivima. Ova đubriva omogućuju zamenu azota iz mineralnog đubriva biološkim azotom, što ima i ekonomski i ekološki efekat jer se unetim mikroorganizmima smanjuje upotreba mineralnih azotnih đubriva, ne zagađuje zemljište, doprinosi se proizvodnji ekološki zdrave hrane, poboljšava struktura zemljišta, povećava sadržaj organske materije i pozitivno utiču na fizičke osobine zemljišta.

LITERATURA

- Bounioul, A., Texier, V., Mondies, M., Piva, G., (1997): Soybean seed quality among genotypes and crop management: Field experiment and simulation, Eurosoya, No.11, 87-99.
- George, T. and Singleton, P. W. (1992): Nitrogen Assimilation Traits and Dinotrogen Fixation in Soybean and Common Bean. Agron. J. 84: 1020-1028.
- Graham, P. H., Temple, S. R. (1984): Selection for improved nitrogen fixation in *Glycine max* (L. Merr.) and *Phaseolus vulgaris* L. Plant and Soil 82: 315-327.
- Govedarica, M., Jarak, Mirjana, Milošević, Nada (1993): Teški metali i biogenost zemljišta, In: Teški metali i pesticidi u zemljištima Vojvodine, Kastori,

- R.(ED), Poljoprivredni fakultet, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, str.47-54.
- Govedarica, M., Milošević, Nada, Jarak, Mirjana (1997): Biološka azotofiksacija u poljoprivredi: mogućnosti primena i perspektive, Zornik radova, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, 29, 35-40.
- Govedarica, M., Jeličić, Zora, Jarak, Mirjana, Milošević, Nada, Stajnić, N., Rašković, D., (1998): Značaj asocijativne azotofiksacije u proizvodnji kukuruza, Zbornik naučnih radova, PKB INI Agroekonomik, 4, 1, 95-102.
- Govedarica, M., Jeličić, Zora, Jarak, Mirjana, Milošević, Nada, Stajnić, N., Rašković, D., Pavlović, M. (1999): Uticaj azotofiksatora i fosfominalizatora na mikrobiološku aktivnost pod usevom kukuruz, Zbornik naučnih radova, PKB INI Agroekonomik, 5, 1, 115-121.
- Đurić, Simonida, Jarak, Mirjana, Maksimović, Livija, Belić, M., (2003): Mikrobiološka aktivnost pod usevom krompira u zavisnosti od sadržaja Cu, Zn, Pb, i Cd u zemljištu, Zbornik radova, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Sv.39, (119-127).
- Jarak, Mirjana, Govedarica, M., Milošević, Nada, (1990): Uticaj bakterizacije na težinu i sadržaj azota u zrnu graška, Zemljište i biljka, Vol.39, No.1, 73-77.
- Jarak, Mirjana, Govedarica, M., Milošević, Nada, (1994): Frequency of rhizobia in long-term crop rotation. 1st European Nitrogen fixation Conference-segedin, Hungaria, 29.08.-2.09. Abstract, pp. 75.
- Jarak, Mirjana, Milošević, Nada, Govedarica, M., Gajić, Z., (1999): Značaj azotofiksacije u proizvodnji lucerke i stočnog graška, Zbornik naučnih radova INI Agroekonomik, Beograd, Vol.5., No. 1, 211-217.
- Jarak, Mirjana, Milošević, Nada, Govedarica, M., Đurić, Simonida, (2003): Proizvodnja leguminoza uz primenu bakterizacije, Zbornik naučnih radova, Institut PKB Agroekonomik, Vol.9, Br.1.107-114.
- Milić, Vera, Mrkovački, Nastasija (1994): Selekcija sojeva *Bradyrhizobium japonicum* i njihova efektivnost (Revijalni prikaz), Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Sv. 22, 259-268.
- Milić, Vera (1999a): Uticaj inokulacije i genotipa soje na broj mikroorganizama u zemljištu. Zbornik radova, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Sv.32, 305-313.
- Milić, Vera, Mrkovački, Nastasija, A., Davidov, Vasić, Mirjana, (1999b): Number of microorganisms in the soil under different bean genotypes. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke, No.97, 51-56.
- Milić, Vera, Mrkovački, Nastasija, Vasić, Mirjana, A., Davidov, D., Milošev (1999c): Symbiotic effectiveness of bean genotypes. Zemljište i biljka, Vol.48., No.1, 43-48.
- Milić, Vera, Mrkovački, Nastasija, Vasić, Mirjana, Davidov, A., Milošev, D., (1999d): Effect of bean inoculation on parameters of nitrogen fixation and microbiological Statutus of soil, Zemljište i biljka Vol.48.,No.3, 143-150.
- Milić, Vera, Mrkovački, Nastasija, Vasić, Mirjana (1999b): Uticaj inokulacije različitih genotipova pasulja na efektivnost simbiotske zajednice. Zbornik radova, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Sv.32, 299-303.

- Milić, Vera, Mrkovački, Nastasija, Milica, Hrustić, i Vidić, M. (2000 a): Effect of inoculation in different soybean genotypes. *Zemljište i biljka*, Vol.49, No2, 87-92.
- Milić, Vera, Mrkovački, Nastasija, Hrustić, Milica, (2000 b): Azotofiksacija kod različitih genotipova soje. *Zbornik radova, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Sv.33.*, 129-134.
- Milić, Vera, Jarak, Mirjana i Nastasija, Mrkovački (2001): Mikrobiološka đubriva u proizvodnji pasulja, graška i lucerke. *Zbornik radova, Naučni institut za ratarstvo povrtarstvo Novi Sad, Sv.35*,75-82.
- Milić, Vera, Mrkovački, Nastasija, Hrustić, Milica (2002):Odnos potencijala za azotofiksaciju i prinosa soje. *Zbornik radova, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Sv.36*, (133-137).
- Milić, Vera, Vasić, Mirjana, Marinković, Jelena, (2003): Uticaj inokulacije i đebrenja na efektivnost azotofiksacije kod pasulja. *Zbornik radova, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Sv.39*, (21-29).
- Milošević, Nada, Govedarica, M., Jarak, Mirjana : (2000): Mikrobiološka svojstva zemljišta ogleđnog polja Rimski Šančevi, *Zbornik radova, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Sv.33*, (13-20).
- Milošević, Nada, Govedarica, M.(2001): Mogućnost primene biofertilizatora u proizvodnji ratarskih neleguminoznih biljaka.,*Zbornik radova, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Sv.35*, (53-65).
- Milošević, Nada,, Govedarica, M., Uavić, M., Hadžić, V., Nešić, Ljiljana (2003 a): Mikrobiološke karakteristike zemljišta osnova za kontrolu plodnosti, *Zbornik radova, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Sv.39*, (93-100).
- Milošević, Nada, Govedarica, M., Jarak, Mirjana : (2003 b): Mikrobiološka svojstva zemljišta pod povrćem na lokalitetu Bačko Gradište, *Zbornik radova, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Sv.39*, (101-107).
- Mrkovački, Nastasija, Snežana, Mezei, Kovačev, L., (1995): Specific relationship between *Azotobacter* strains and sugar beet plants, *Zemljište i biljka*, Vol.44, No.1.,9-17.
- Mrkovački, Nastasija, Milić, Vera, Hrustić, Milica, (1996): Multistrain versus single strain inoculation: Effect on strain effectiveness and competition for soybean nodulation. *Symbiosis*, 21, 275-281.
- Mrkovački, Natasija (1997a): Field Evaluation of nine Soybean Varieties *Acta Agriculture Serbica*, 2, 3, 63-69.
- Mrkovački, Natasija, Milica, Hrustić, Vera, Milić, Jocković, Đ., (1997 b): Field evaluation of twelve soybean genotypes in Yugoslavia. *Eurosoya*, No.11, 29-3.
- Mrkovački, Nastasija, Snežana, Mezei, Kovačev, L., Sklenar, P., (1998): The effect of *Azotobacter chroococcum* inoculation of sugar beet seeds on the bacterias number on the root and in the rhizosphere, *Archiv of Biological Sciences*, Vol.50, No.3, 189-193.
- Mrkovački, Nastasija, Čačić, N., Snežana, Mezei, (2002): Response of sugar beet to inoculatio with *Azotobacter* in field trials, *Agrochimica*, No.1-2, 18-26.

- Mrkovački, Nastasija i Mezei, Snežana (2003 a): Primena sojeva *Azotobacter chroococcum* - NS-Betaixina u gajenju šećerne repe, Zbornik radova, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Sv.39, (49-58).
- Mrkovački, Nastasija, Mezei, Snežana, Čačić N., (2003 b): Population dynamics of *Azotobacter chroococcum* in suger beet rhizosphere depending on fertilization intensity, Zbornik Matice Sropke (u štampi)
- Mrkovački, Nastasija, Vera, Milić, Milica, Hrustić, Jelena, Marinković, (2003 c): Population of microorganisms in the soil as affected by different soybean inoculation. *Zemljište i biljka* (u štampi)
- Nutman, P., S., (1976): IBPM field experiments on nitrogen fixation by nodulated legumes: Symbiotic nitrogen fixation in plants. Ed. by P.S. Nutman.
- Pauu, A.A. (1989): Improvement of *Rhizobium* inoculants. *App. and Environ. Microbiol. Apr.*: 862-865.
- Peoples, M.B., Aerridge, D.F., Ladha, J.K. (1995): Biological nitrogen fixation: An efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production. *Plant and Soil*, 174, 3-28.
- Rennie, R.J., Kemp, G.A. (1983): N₂-fixation in field beans quantified by ¹⁵N isotope dilution. II. Effect of cultivars of beans. *Agron. J.* 75, 645-649.
- Wanni, S.P., Ruple, O.P., Lee, K.K., (1995): Sustainable agriculture in the semi-arid tropics through biological nitrogen fixation in grain legumes.

Napomena: Istraživanja su rađena u okviru projekata MNTR Republike Srbije: "Karakteristika i uređenje zemljišta za proizvodnju visoko vredne hrane od suncokreta i sije" (BTN.1.2.1.417.B), "Karakterizacija i uređenje zemljišta za proizvodnju visoko vredne hrane od pšenice i kukuruza" (BTN.1.1.1.4161.B), "Karakterizacija i uređenje zemljišta za proizvodnju krompira" (BTN.4172), "Oplemenjivanje u funkciji povećanja plodnosti" (0404.B), "Semenarstvo i tehnologija gajenja u funkciji povećanja proizvodnje soje" (TR.0405 B), "Stvaranje sorti i hibrida i razvoj tehnologija proizvodnje povrća za različite namene (TR.0506 B) i "Optimizacija tehnologije gajenja šećerne repe" (TR 0438 B).

MICROBIOLOGICAL FERTILIZER USE AND STUDY OF BIOLOGICAL ACTIVITY FOR SOIL PROTECTION PURPOSES

**Milić, Vera¹, Jarak, Mirjana², Mrkovački, Nastasija¹, Milošević, Nada¹,
Govedarica, M.², Đurić, Simonida², Marinković, Jelena¹**

¹Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad

²Faculty of Agriculture, Novi Sad

SUMMARY

Microorganisms are widely spread around nature in the soil, water and air as well as on plants and animals and are a crucial link in the chain of matter circulation on the planet. They are the most important component of the biological soil phase and an important indicator of soil fertility and soil degradation. Soil microbiological processes are dependant on the organic matter content, while the fertility of a given soil type is connected with the activity of its microflora. Knowing the metabolism of a microorganism enables the direction of microbiological processes by application of useful microorganisms to maintain and enhance soil biological activity, i.e. soil biogenicity.

An increase of acreage in legumes requires that a wider use of microbiological fertilizers to maintain and increase soil fertility be considered. Results of legume nitrogen fixation suggest that fixed nitrogen makes a large annual contribution to yield, which justifies the use of highly effective strains in microbiological fertilizers, enables the replacement of nitrogen from mineral fertilizer with biological nitrogen, and has economic and environmental effects as well. The incorporation of microorganisms causes no soil pollution, reduces the use of mineral nitrogen fertilizer, contributes to the production of environmentally safe food, improves the soil structure, increases the organic matter content and positively affects physical soil properties.

KEY WORDS: microorganisms, microbiological fertilizers, symbiotic association.