

## Rizobakterije koje promovišu biljni rast (PGPR) i njihov efekat na kukuruz

Nastasija Mrkovački • Dragana Bjelić

primljeno / received: 07.04.2011. prihvaćeno / accepted: 26.05.2011.  
© 2011 IFVC

**Izvod:** Bakterije koje žive slobodno u zemljištu a pozitivno utiču na rast biljaka najčešće se karakterišu kao bakterije koje pospešuju biljni rast – PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) a sposobne su da to čine time što koloniziraju koren biljaka. Primena PGPR za povećanje prinosa limitirana je varijabilnošću između rezultata dobijenih u laboratoriji, u staklari i u polju. Niz rizobakterija koje pospešuju biljni rast (PGPR) učestvuje u interakcijama sa biljkama (pirinač, pšenica, kukuruz, šećerna trska, šećerna repa, pamuk) i značajno povećava njihov vegetativni rast i prinos. U PGPR pored *Azotobacter*-a i *Azospirillum*-a svrstavaju se i *Acetobacter*, *Azoparcus*, te nekoliko vrsta *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*). PGPR predstavljaju alternativu upotrebi hemijskih sredstava za poboljšanje rasta biljaka.

**Gljučne reči:** *Azotobacter*, *Azospirillum*, biodubrivo, kukuruz, PGPR, rizobakterije

### Uvod

Aktuelna saznanja o propratnim negativnim efektima primene hemijskih sredstava u poljoprivredi povećala su interes za bolje razumevanje kooperativnih aktivnosti mikrobiološke populacije u rizosferi i kako se one mogu primeniti u poljoprivredi (Bowen & Rovira 1999, Lucy et al. 2004, Barea et al. 2005). Kooperativne mikrobiološke aktivnosti mogu se iskoristiti kao jeftina (*low-input*) biotehnologija i predstavljaju bazu strategije koja pomaže održivu poljoprivredu i zaštitu životne sredine, što je osnova za stabilnost i produktivnost kako poljoprivrednih sistema tako i prirodnih ekosistema (Kennedy & Smith 1995). U eri održive biljne proizvodnje, interakcije biljaka i mikroorganizama imaju sve veći značaj u transformacijama i mobilizaciji hraniva iz ograničenog fonda u zemljištu, a zatim u usvajanju tih hraniva da bi biljke realizovale svoj puni genetski potencijal. Korišćenje preparata mineralnog ili biljnog porekla kao dodatak ili zamena mineralnim đubrivima i pesticidima danas postaje sve popularnije u biljnoj proizvodnji. Ovaj rad razmatra perspektivu primene korisnih bakterija kako za zemljište tako i za biljke, posebno za kukuruz, koji je u našem području jedna od najvažnijih ratarskih kultura.

### Šta su rizobakterije koje pospešuju rast biljaka?

Bakterije koje žive slobodno u zemljištu a pozitivno utiču na rast biljaka najčešće se karakterišu kao bakterije koje pospešuju biljni rast a sposobne su da to čine time što koloniziraju koren biljaka (Kloepper & Schroth 1978). Istraživanja ovih bakterija su se bitno proširila od uvođenja termina PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) i ukazuju na njihov značaj (Kloepper & Schroth 1978). PGPR se takođe nazivaju rizobakterije koje pospešuju zdravlje biljaka (PHPR, *Plant Health Promoting Rhizobacteria*) ili bakterije koje pospešuju nodulaciju (NPR, *Nodule Promoting Rhizobacteria*). U tom smislu korišćenje PGPR pronašlo je potencijalnu ulogu u razvoju održivih sistema biljne proizvodnje (Sturz & Nowak 2000, Shoebitz et al. 2009). Različiti PGPR se danas koriste širom sveta u cilju povećanja biljne produkcije (Burd et al. 2000). Nalaze se u rizosferi koja je veoma važna zemljišna zona za interakcije biljke i mikroorganizama (Burr & Caesar 1984).

### Šta utiče na efekat PGPR?

Povećanje prinosa primenom PGPR limitirano je varijabilnošću između rezultata dobijenih u laboratoriji, u staklari i u polju. Zemljište je složena sredina i željeni rezultat je ponekad teško osvariti (Bashan & Holguin 1998). Nepovoljni

N. Mrkovački (✉) • D. Bjelić  
Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad, Srbija  
e-mail: nastasija.mrkovacki@ifvcns.ns.ac.rs

uslovi rasta najčešće su uzrok slabe kolonizacije korena (Dobbelaere et al. 2001). Variranje klimatskih uslova, što je normalna pojava u prirodi, takođe značajno utiče na efektivnost PGPR (Okon & Labandera-Gonzales 1994). Uprkos raznolikim rezultatima u polju, ako je pozitivan efekat PGPR uočen kod određene biljne vrste u staklari, velika je mogućnost da se ovo ponovi u poljskim uslovima. Dobijen je niz kontradiktornih informacija o efektivnosti PGPR na biljke u zemljištima sa različitim uslovima đubrenja, posebno sa *Azospirillum*-om. Različiti tipovi zemljišta takođe utiču na efektivnost PGPR. Tako u istraživanjima sa pšenicom i *Pseudomonas*-om, rezultati su pokazali da manje plodno zemljište daje veću stimulaciju rasta biljaka sa PGPR. Sa druge strane poboljšanje rasta kukuruza sa *Azospirillum lipoferum* nezavisno je od sorte ili tipa zemljišta (Fages 1994). Suprotno je dobijeno u istraživanju autora Govedarica (1992b) u kom je pokazano da je efektivnost *Azospirillum lipoferum* različita kod različitih hibrida kukuruza. Vлага u zemljištu takođe utiče na kolonizaciju rizosfere sa PGPR. Proučavanja u bivšem Sovjetskom savezu pokazala su da se optimalni rezultati dobijaju sa vlažnošću od 40% (Brown 1974). Takođe je uočeno da je maksimalno povećanje klijanja i prinosa najčešće bilo u biljaka inokulisanih sa PGPR sojevima izolovanim iz rizosfere biljaka domaćina. Pokazano je da je efikasnost inokulacije sa „homolognim” sojevima veća, tj. kada su sojevi izolovani sa biljne vrste koja će se inokulisati (Mrkovački i sar. 2003).

### Međusobne veze PGPR i domaćina i mehanizmi njihovog dejstva

Prema odnosima sa biljkama, PGPR se mogu podeliti u dve grupe: simbiotske bakterije i one koje su slobodne u rizosferi (Khan 2005). PGPR se takođe mogu podeliti u dve grupe prema mestu gde su locirane: 1) PGPR koje žive unutar biljne ćelije, formiraju kvržice i locirane su unutar tih specijalizovanih struktura, i 2) PGPR koje žive van biljnih ćelija i ne formiraju nodule, ali ipak promovišu biljni rast (Gray & Smith 2005). Najpoznatije PGPR su *rhizobia*, koje formiraju kvržice na korenu leguminoznih biljaka (Sarić i sar. 1993). S druge strane, nesimbiotske azotofiksirajuće bakterije kao što su *Azobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Klebsiella*, takođe se koriste za inokulaciju s ciljem povećanja rasta i prinosa biljaka. Pored toga, bakterije koje rastvaraju fosfate kao što su *Bacillus* i *Paenibacillus* dodaju se zemljištu da povećaju količinu pristupačnog fosfora za biljku (Brown 1974). PGPR imaju potencijal da doprinesu raz-

voju održivih poljoprivrednih sistema (Shippers et al. 1995), a funkcionišu na tri različita načina (Glick 1995, 2001): sintetišu određene supstance za biljke (Dobbelaere et al. 2003, Zahir et al. 2004), olakšavaju usvajanje određenih hraniva iz zemljišta (Lucas et al. 2004, Cakmacki et al. 2006) i štite biljke od bolesti. Mehanizmi poboljšanja rasta biljaka i povećanja prinosa mnogih kultura nisu još u potpunosti jasni (Dey et al. 2004). Međutim, moguća objašnjenja uključuju: 1) sposobnost produkcije važnih enzima, 2) sposobnost produkcije hormona, 3) simbiotsku i asimbiotsku azotofiksaciju, 4) antagonizam prema fitopatogenim bakterijama, 5) rastvaranje i mineralizaciju hraniva, 6) povećanje otpornosti na sušu, višak soli, višak vlage i oksidativni stres, i 7) sintezu vitamina grupe B. Primena PGPR u asocijaciji sa biljkama ukazuje na mogućnost remedijacije kontaminiranih zemljišta (Zhuang et al. 2007).

### Nesimbiotske azotofiksirajuće bakterije

Niz rizobakterija koje pospešuju biljni rast (PGPR) učestvuje u interakcijama sa biljkama (pirinač, pšenica, kukuruz, šećerna trska, šećerna repa, pamuk) i značajno povećava njihov vegetativni rast i prinos (Mrkovački & Milić 2001, Mrkovački & Mezei 2003, Kennedy et al. 2004). Vrste *Azotobacter*-a (*Azotobacter vinelandii* i *Azotobacter chroococcum*) su slobodni heterotrofni diazotrofi koji zavise od adekvatnog snabdevanja redukovanih C jedinjenja kao što su šećeri, kao izvor energije (Kennedy & Tchan 1992). Primenom *Azotobacter*-a povećava se prinos pirinča (Yanni & El-Fattah 1999), pamuka, pšenice. U radovima autora Mrkovački et al. (2002, 2008, 2009, 2010) pokazano je u poljskim ogledima da je inokulacijom sa *Azotobacter chroococcum* dobijeno povećanje prinosa korena i prinosa kristalnog šećera, kao i poboljšanje kvalitativnih osobina u odnosu na neinokulisane kontrolne varijante kod šećerne repe. Zabeleženi su pozitivni efekti inokulacije sa *Azospirillum*-om na prinos pšenice u staklari i u poljskim uslovima (El Mohandes 1999). Sojevi *Azospirillum*-a, azotofiksatora, žive u bliskoj asocijaciji sa biljkama u rizosferi. *Azospirillum* je takođe sposoban da produkuje antifungalna i antibakterijska jedinjenja, materije rastenja i siderofore. Istraživanja su pokazala da 60-80% azota biljaka šećerne trske (oko 200 kg N ha<sup>-1</sup>) potiče od azotofiksacije, a *Azospirillum diazotrophicus* je odgovoran za veći deo. Pored *Azotobacter*-a i *Azospirillum*-a, u PGPR se svrstavaju *Acetobacter*, *Azoarcus*, nekoliko vrsta *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*) (Kennedy et al. 2004).

### Bakterije koje transformišu nepristupačna jedinjenja fosfora u pristupačna

Fosfor je jedan od glavnih makroelemenata za rast i razviće biljaka. Fosfor se u zemljištu nalazi u formi organskih i neorganskih jedinjenja. PGPR imaju ulogu u prevodenju nerastvorljivih jedinjenja (i organskih i neorganskih) u formu dostupnu za biljke. Bakterijski sojevi koji pripadaju rodovima *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Flavobacterium* i *Erwinia* imaju sposobnost da rastvaraju nerastvorljiva neorganska fosfatna jedinjenja kao što su trikalcijum fosfat, dikalcijum fosfat, hidroksil apatit i fosfate stena (Rodríguez & Fraga 1999). Među najmoćnijim rastvaračima su sojevi rodova *Pseudomonas*, *Bacillus* i *Rhizobium*. Đorđević i sar. (2000) su utvrdili da inokulacija kukuruza rizobakterijama *Bacillus*, *Micrococcus*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas* i *Flavobacterium*, čije kulture odlikuje aktivnost kisele, neutralne i/ili alkalne fosfomonoesteraze, u laboratorijskim uslovima dovodi do povećanja dužine biljke, mase suve materije i sadržaja ukupnog fosfora u biljci kukuruza, kao i do povećanja ukupnog broja bakterija, biomase ugljenika i fosfora i aktivnosti alkalne fosfataze.

### Drugi mehanizmi PGPR za pospešivanje rasta biljaka

PGPR sintetišu i izdavaju fitohormone koji se nazivaju biljni hormoni rasta. Fiziološki najaktivniji auksin u biljkama je IAA (indol-sirćetna kiselina) koja je poznata da stimuliše izduživanje ćelija, deobu ćelija i njihovu diferencijaciju. IAA je najbolje okarakterisan biljni hormon. 80% bakterija izolovanih iz rizosfere mogu sintetisati biljni regulator rasta IAA. Citokinini su druga važna grupa fitohormona, a prisutni su u malim količinama u biološkim uzorcima. Njihov efekat na biljke je povećanje ćelijske deobe, kao i razviće korena i korenskih dlačica. Mikroorganizmi koji žive u asocijaciji sa biljkama sadrže preko 30 jedinjenja koja pospešuju rast biljaka a pripadaju grupi citokinina. Pronađeno je da je oko 90% mikroorganizama u rizosferi sposobno da oslobađa citokinine kada se gaje *in vitro*. Nieto & Frankenberger (1991) proučavali su efekat adenina, izopentil alkohola i *Azotobacter chroococcum* na morfologiju i rast kukuruza *in vitro*, u staklari i u polju, te ustanovili poboljšanje biljnog rasta zahvaljujući produkciji hormona. Velik broj radova pokazao je da PGPR takođe proizvode gibereline. Dobbelaere et al. (2003) su numerisali preko 89 do sada poznatih giberelina (od GA1 do

GA89). Najpoznatiji je giberelin GA3 (giberelinska kiselina), najaktivniji GA u biljkama je GA1, koji je odgovoran za izduživanje izdanaka. Abscisinska kiselina (ABA) je takođe detektovana u supernatantu kultura *Azospirillum*-a i *Rhizobium*-a (Dobbelaere et al. 2003). Primarna uloga ABA je u zatvaranju stoma, kao i usvajanju i transportu materija u biljci. Njeno prisustvo u rizosferi je izuzetno značajno za rast biljaka u uslovima stresa usled nedostatka vode, jer su mikroorganizmi koji proizvode ABA pronađeni u suvim i polusuvim klimatima. Gotovo sve vrste bakterija sintetizuju etilen. Etilen je regulator biljnog rasta koji utiče na razne načine na biljni rast i razviće. Pretpostavlja se da mnoge bakterije pospešuju biljni rast snižavanjem nivoa etilena u biljkama. Ovo se pripisuje aktivnosti enzima 1-aminociklopropan-1-karboksilat (ACC) deaminazi, koja hidrolizuje ACC, prekursore etilena u biljkama. Bakterije mogu koristiti proizvode ove hidrolize, amonijum i  $\alpha$ -ketobutirat, kao izvor azota i ugljenika za svoj rast. PGPR sa ACC deaminazom obično daju dobre rezultate u poboljšanju rasta i prinosa, pa su stoga pogodni za formiranje biođubriva (Shaharoona et al. 2006). PGPR se koriste za remedijaciju kontaminiranih zemljišta (Zhuang et al. 2007) i za mineralizaciju organskih jedinjenja u asocijaciji sa biljkama. Zagađivači se mogu uspešno ukloniti korišćenjem kombinacija PGPR i specifičnih bakterija. Važni rodovi bakterija u bioremedijacijama su *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Methanobacteria*, *Ralstonia* i *Deinococcus*.

### Šta su biođubriva?

Biođubrivo se definiše kao proizvod koji sadrži žive mikroorganizme koji koloniziraju rizosferu ili unutrašnjost biljke i poboljšavaju njen rast povećanjem usvajanja ili dostupnosti hraniva biljci domaćinu. Ovi mikroorganizmi se nanose na seme, nadzemni deo biljke ili se inkorporiraju u zemljište. Biođubrivo treba da sadrži žive organizme koji u asocijaciji sa biljkom povećavaju pristupačnost hraniva. Ova definicija odvaja biođubriva od organskih đubriva koja sadrže organske komponente koje direktno ili indirektno povećavaju plodnost zemljišta (Vessey 2003). Navedena definicija biođubriva nije u saglasnosti sa gledištem Okon & Labandera-Gonzales (1994) koji polemišu da rizosferni organizmi koji poboljšavaju usvajanje hraniva iz zemljišta, ali ne zamenjuju hraniva u zemljištu kao što to čine hemijska đubriva, ne bi trebalo da se nazivaju biofertilizatori, tj. biođubriva. Prema Vessey (2003) ne mogu se svi PGPR smatrati biođubrivima. Tako su biopesticidi bakterije

koje promovišu biljni rast kontrolišući štetne organizme. Međutim, neki PGPR promovišu rast delujući kao biođubriva i biopesticidi istovremeno. Na primer, sojevi *Burkholderia cepacia* pokazali su biokontrolne karakteristike prema *Fusarium spp.*, ali pored toga mogu stimulisati rast kukuruza u pri nedostatku gvožđa putem produkcije siderofora (Bevivino et al. 1998).

### Pregled istraživanja uticaja PGPR na kukuruz

Vazquez et al. (2000) su ispitivali interakcije mikoriznih gljiva i mikrobnih inokulanata (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*) i njihov efekat na populaciju mikroorganizama i enzimsku aktivnost u rizosferi biljaka kukuruza. Proučavanjem uticaja različitih sistema đubrenja na broj azotofiksatora u zemljištu pod monokulturom kukuruza, Đorđević i sar. (1993) su dobili značajno povećanje broja *Azotobacter chroococcum* i *Clostridium pasterianum* zaoravanjem žetvenih ostataka, dok je kombinacija mineralnih i organskih đubriva izazvala smanjenje broja *Clostridium*-a. Cavaglieri et al. (2005) su ispitivali potencijal rizobakterija u kontroli *Fusarium verticillioides* kod kukuruza i zaključili da *Azotobacter armenicus* ima potencijal da inhibira kolonizaciju korena kukuruza sa ovom gljivom *in vitro* i u uslovima staklare. Egamberdiyeva (2007) je ispitivala efekat PGPR na rast i usvajanje hraniva kod kukuruza na dva različita tipa zemljišta i zaključila da inokulacija ima mnogo bolji stimulativni efekat na biljni rast u zemljištu siromašnom hranivima. Ispitujući efekat PGPR na klijanje, rast ponika i prinos kukuruza, Gholami et al. (2009) su pokazali značajno povećanje visine biljaka, mase 100 zrna, broja zrna i površine lista, kao i mase nadzemnog dela biljaka. Hameeda et al. (2008) su ispitivali uticaj *Pseudomonas spp.* koji ima ACC deaminazu, u poboljšanju rasta i prinosa kukuruza uz primenu organskog đubriva. Zaključili su da se dobija veći prinos primenom PGPR inokulacijom, uz organski kompost i neorganska đubriva nego primenom samo organskih ili mineralnih đubriva. U toku 87 dana ispitivanja u staklari, Wu et al. (2005) zaključuju da primena biođubriva koji sadrži PGPR ima stimulativni efekat na rast kukuruza i poboljšava osobine zemljišta. Yazdani et al. (2009) su ispitivali efekat mikroorganizama koji rastvaraju fosfate (PSM) i mikroorganizme promotore rasta (PGPR) na prinos i komponente prinosa kukuruza. Zaključili su da inokulacija sa PGPR može efikasno da se koristi za poboljšanje rasta i prinosa kukuruza. Ispitivanjem efekta inokulacije kukuruza i bambusa

sa *Azotobacter chroococcum*, na osnovu dobijenih rezultata Sachin (2009) sugerise značajan pozitivan efekat na rast obe ispitivane biljke. Hameeda et al. (2008) su zaključili da se tretiranjem semena kukuruza sa PGPR povećava prinos u polju 64-85% u poređenju sa neinokulisanim semenom. U svojim ispitivanjima izolata iz rizosfere kukuruza, Suresh et al. (2010) zaključuju da većina izolata poseduje osobine PGPR, te bi se stoga mogli koristiti kao potencijalna biođubriva. Korišćenjem *Azospirillum*-a kao PGPR bakterije, Okon & Labandera-Gonzales (1994) su dobili u poljskim uslovima povećanje prinosa kukuruza 15-25%, a sa đubrenjem povećanje je dostizalo 40%. Takođe su dobili povećanje prinosa na zemljištu srednje plodnosti i konstatovali da se biođubrivom može zameniti 35-40% azotnog đubriva. Dobbelaere et al. (2001) su korišćenjem *Azospirillum brasilense* u ogledima u staklari i u polju dobili povećanje biomase kukuruza, koje nije bilo statistički značajno. Povećanje prinosa kukuruza primenom PGPR dobili su i Jacoud et al. (1998), Fallik & Okon (1996), Hernandez et al. (1997) i Ribaud et al. (2001) (Tab. 1). Iswandi et al. (1987) dobili su povećanje prinosa kukuruza sa primenom PGPR (*Pseudomonas spp.*) 15-25%, a Lalonde et al. (1989) 8-14% (*Bacillus*, *Pseudomonas sp.*, *Serratia luffae*) (Tab. 1). Komercijalni preparati sa PGPR za kukuruz su Zea-Nit sa *Azospirillum brasilense* i *Azospirillum lipoferum* i AZOGREEN sa *Azospirillum lipoferum* (Chet & Chernin 2002, Glick et al. 1999).

U Srbiji se problematikom PGPR kod kukuruza bavilo više autora. Tako je u radu Raičević (1996) pokazano da su ispitivani sojevi *Azotobacter*-a uticali na povećanje mase suve materije mladih biljaka kukuruza od 6-36%. U istim istraživanjima merena je nitrogenazna aktivnost sojeva *Azotobacter*, kao i sposobnost da naseljavaju koren mlade biljke kukuruza. Ispitivanjem efektivnosti i zastupljenosti većeg broja sojeva *Azotobacter chroococcum* kod različitih hibrida kukuruza ustanovljeno je da su sojevi *Azotobacter*-a ispoljili različit efekat prema hibridima kukuruza, što ukazuje na postojanje specifičnog odnosa između *Azotobacter*-a i hibrida (Govedarica 1992a). Primena sojeva *Derxia gumosa* dovela je do značajnog povećanja ili smanjenja dužine, mase i koncentracije azota u korenu i nadzemnom delu kod ispitivanih hibrida kukuruza. Ispitivanjem specifičnog odnosa sojeva *Klebsiella pneumoniae* i nekih hibrida kukuruza, Govedarica i sar. (1994) su utvrdili da efektivnost ispitivanih sojeva varira u zavisnosti od genotipa biljne vrste i vrste mikroorganizama. Cvijanović i sar. (2007) su pokazali da bakterizacijom semena kukuruza sa *Azotobacter*

Tabela 1. Efekti inokulacije sa PGPR na biljke kukuruza  
Table 1. Effects of inoculation with PGPR on maize plants

Rizobakterije promotori biljnog rasta Plant Growth Promoting Rhizobacteria	Efekti na biljke kukuruza Effects on maize plants	Literatura References
<i>Azospirillum lipoferum</i>	Povećana visina nadzemnog dela, dužina i masa korena Increased plant height, root lenght and root weight	Jacoud et al. 1998
<i>Azospirillum brasilense</i>	Značajno povećanje broja adventivnih korenova, dužine korena, suve mase biljke Significant increase in the number of adventitious roots, root lenght, dry weight of plant	Dobbelaere et al. 2001
<i>Azospirillum brasilense</i> <i>Azospirillum lipoferum</i>	Povećan prinos za 15-25% Increased yield from 15 to 25%	Okon & Labandera-Gonzales 1994
<i>Azospirillum</i> sp.	Povećan prinos za 11-14% Increased yield from 11 to 14%	Fallik & Okon 1996
	Značajno povećanje prinosa, povećan sadržaj Mg Significant increase in yield, increased Mg content	Hernandez et al. 1997
	Povećana aktivnost glutamat dehidrogenaze i glutamin sintetaze, povećan sadržaj azota u listu i korenu Increased activity of glutamate dehydrogenase and glutamine synthetase, increased N content in leaves and roots	Ribauda et al. 2001
<i>Pseudomonas spp.</i>	Povećan prinos za 15-25% Increased yield from 15 to 25%	Iswandi et al. 1987
<i>Serratia liquefaciens</i>	Povećan prinos za 8-14% Increased yield from 8 to 14%	Lalande et al. 1989
<i>Pseudomonas sp</i> <i>Bacillus sp.</i>		
<i>Azotobacter chroococcum</i> <i>Bacillus megaterium</i> <i>Bacillus mucilaginosus</i> <i>Glomus mosseae</i> <i>Glomus intraradices</i>	Povećana biomasa i visina biljaka, poboljšano usvajanje N, P, K i svojstva zemljišta kao što su sadržaj organske materije i ukupni N u zemljištu Increased plant biomass and plant height, increased the nutritional assimilation of plant (total N, P, K), improved soil properties such as organic matter content and total N in soil	Wu et al. 2005
<i>Pseudomonas sp.</i> <i>Serratia marcescens</i>	Povećan prinos za 64-85% i masa biljaka za 18-51% Increased grain yield from 64 to 85% and plant biomass from 18 to 51%	Hameeda et al. 2008
<i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Pseudomonas putida</i> <i>Azospirillum lipoferum</i> <i>Azospirillum brasilense</i>	Povećana visina i suva masa biljaka, lisna površina, težina 100 zrna i broj zrna po klipu Increased plant height, dry weight, leaf area, 100 seed weight, number of seed per ear	Gholami et al. 2009
<i>Azotobacter chroococcum</i> <i>Azospirillum brasilense</i> <i>Pseudomonas putida</i> <i>Bacillus lentus</i>	Povećan prinos zrna, težina klipa, broj zrna po klipu Increased grain yield, ear weight, grain number per row	Yazdani et al. 2009
<i>Azotobacter chroococcum</i>	Povećana dužina korena, visina nadzemnog dela i suva masa biljke Increase in root lenght, plant height and dry weight of plant	Sachin 2009

*chroococcum*, *Azospirillum lipoferum*, *Klebsiella planticola*, *Beijerinckia derici* dolazi do povećanja ukupnog broja mikroorganizama, broja azotobaktera, aktivnosti dehidrogenaze, prinosa i sadržaja ukupnog azota. Sa povećanjem količine mineralnog azota aktivnost većine korisnih mikroorganizama se smanjuje i dolazi do pada ispitivanih vrednosti (Cvijanović i sar. 2000). Najveći prinos ostvaren je u varijanti sa inokulacijom bez đubrenja, za 10,20% viši u odnosu na kontrolu. U proseku u inokulisanoj varijanti povećanje lakopristupačnih formi azota bilo je 33,65%. Hajnal i sar. (2001) ukazuju na mogućnost selekcije *Azotobacter chroococcum* i *Bacillus megaterium* na nivou genotipa biljke u cilju odabira najefektivnijih sojeva za svaki hibrid kukuruza. Bakterizacija semena kukuruza sa pojedinačnim sojevima *Azotobacter chroococcum* i *Bacillus megaterium* dovela je do povećanja prinosa i mikrobiološke aktivnosti kod ispitivanih hibrida kukuruza, sa većom efektivnošću u slučaju pojedinačne primene *Azotobacter*-a (Hajnal i sar. 2002). Bjelić i sar. (2010) pokazali su povećanje visine i težine mladih biljaka kukuruza u odnosu na kontrolu. Najveći efekat dobijen je u varijanti inokulacije sa smešom tri soja (*Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*). U radu Jarak i sar. (u štampi) primena *Azotobacter chroococcum* uticala je na povećanje prinosa zrna kod sva tri ispitivana hibrida kukuruza (Tisa, NS444, NS5010), kao i na povećanje ukupnog broja mikroorganizama i broja *Azotobacter*-a, a smanjenje broja gljiva u rizosferi.

## Zaključak

PGPR predstavljaju alternativu upotrebi mineralnih đubriva i pesticida u poljoprivredi, te imaju značajnu ulogu u poboljšanju rasta biljaka i povećanju prinosa. Primenom PGPR postignut je dobar efekat kod različitih biljnih vrsta. U cilju odabira optimalnih sojeva bakterija, ubuduće je potrebno jasno definisati koje bakterijsko svojstvo je korisno i neophodno za određene uslove sredine i različite biljke. Takođe bi bilo korisno bolje razumeti kako različite bakterije tj. sojevi funkcionišu u promociji rasta biljaka, kao i bolje razumevanje faktora koji doprinose preživljavanju PGPR sojeva u zemljištu. Većoj efektivnosti PGPR bi doprinelo i dodatno proučavanje različitih načina primene inokulata u budućnosti. U održivoj poljoprivrednoj proizvodnji neophodno je povećanje efikasnosti PGPR korišćenjem najboljih kombinacija korisnih bakterija.

## Literatura

- Barea J M, Pozo M J, Azcon R, Azcon-Aguilar C (2005): Microbial co-operation in the rhizosphere. J. Exp. Bot. 56: 1761-1778
- Bashan Y, Holguin G (1998): Proposal for the division of plant growth-promoting rhizobacteria into two classifications: biocontrol-PGPB (Plant Growth-Promoting Bacteria) and PGPB. Soil Biol. Biochem. 30: 1225-1228
- Bevivino A, Sarrocco S, Dalmastrì C, Tabacchioni S, Cantale C, Chiarini L (1998): Characterization of a free living maize-rhizosphere population of *Burkholderia cepacia*: effect of seed treatment on disease suppression and growth promotion of maize. FEMS Microbiol. Ecol. 27: 225-237
- Bjelić D, Mrkovački N, Jarak M, Jošić D, Đalović I (2010): Effect of PGPR on the early growth of maize and microbial abundance in rhizosphere. Savrem. Polj. 59: 339-345
- Bowen G D, Rovira A D (1999): The rhizosphere and its management to improve plant growth. Adv. Agron. 66: 1-102
- Brown M E (1974): Seed and root bacterization. Annu. Rev. Phytopathol. 12: 181-197
- Burd G, Dixon D G, Glick B R (2000): Plant growth promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. Can. J. Microbiol. 46: 237-245
- Burr T J, Caesar A (1984): Beneficial plant bacteria. Crit. Rev. Plant Sci. 2: 1-20
- Chet I, Chernin L (2002): Biocontrol, microbial agents in soil. In: G Bitton (ed.), Encyclopedia of Environmental Microbiology. John Wiley and Sons Inc., New York, USA, 45-465
- Cvijanović G, Govedarica M, Milošević N, Jovanović Ž (2000): Uticaj biofertilizatora na prinos kukuruza i biogenost zemljišta. Eko-konferencija, 27-30. septembar, Novi Sad, Serbia, 365-370
- Cvijanović G, Milošević N, Jarak M (2007): The importance of diazotrophs as biofertilisers in the maize and soybean production. Genetika 39: 395-404
- Cakmakci R I, Aydin D F, Sachin A F (2006): Growth promotion of plants by plant growth-promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions. Soil Biol. Biochem. 38: 1482-1487
- Cavaglieri L R, Andres L, Ibanez M, Etcheverry, M G (2005): Rhizobacteria and their potential to control *Fusarium verticillioides*: effect of maize bacterisation and inoculum density. Antonie van Leeuwenhoek 87: 179-187
- Dey R, Pal K K, Bhatt D M, Chauhan S M (2004): Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. Microbiol. Res. 159: 371-394
- Dobbelaere S, Croonenborghs A, Thys A, Sarig S, Okon Y (2001): Response of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. Aust. J. Plant Physiol. 28: 1-9
- Dobbelaere S, Vanderleyden J, Okon Y (2003): Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Crit. Rev. Plant Sci. 22:107-149
- Dordević S, Govedarica M, Jarak M, Vesković M, Jovanović Ž (1993): Influence of various fertilization regimes on the number of nitrogen-fixators in soil under maize monoculture. Soil Plant 42: 105-112
- Dordević S, Govedarica M, Milošević N, Jakovljević M (2000): Uticaj bakterijske inokulacije na biomasu C, P i aktivnost fosfatasa u rizosferi kukuruza. Eko-konferencija, 27-30. septembar, Novi Sad, Serbia 359-364
- Egamberdiyeva, D (2007): The effect of plant growth-promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. Appl. Soil Ecol. 36: 184-189
- El Mohandes M A O (1999): The use of associative diazotrophs with different rates of nitrogen fertilization and compost to enhance growth and N<sub>2</sub>-fixation of wheat. Bulletin of Faculty of Agriculture, University of Cairo 50: 729-753

- Fages J (1994): *Azospirillum* inoculants and field experiments. In: Okon Y (ed.), *Azospirillum*-Plant associations. CRC Press, Boca Raton, Florida, 87-110
- Falik E, Okon Y (1996): The response of maize (*Zea mays*) to *Azospirillum* inoculation in various types of soils in the field. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 12: 511-515
- Gholami A, Shahsavani S, Nezarat S (2009): The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. *Intern. J. Biol. Life Sci.* 5: 35-40
- Glick B R (1995): The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol.* 41: 109-117
- Glick B R, Patten C L, Holguin G, Penrose D M (1999): Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth-promoting bacteria. Imperial College Press, London, UK
- Glick B R (2001): Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to cleanup the environment. *Biotechnol. Adv.* 21: 383-393
- Govedarica M (1992a): Efektivnost azotobaktera kod nekih hibrida kukuruza. *Savrem. Polj.* 40: 87-93
- Govedarica M. (1992b): Effectiveness of *Azospirillum* in some maize hybrids. *Soil Plant* 41: 201-205
- Govedarica M, Jarak M, Milošević N (1994): Specifičan odnos sojeva (*Klebsiella pneumoniae*) i nekih hibrida kukuruza. *Savrem. Polj.* 42: 115-123
- Gray E J, Smith D L (2005): Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil Biol. Biochem.* 37: 395-412
- Hajnal T, Govedarica M, Jeličić Z (2001): Effect of bacterization on the number of microorganisms and the nitrogen content in soil under maize. *Acta Agriculturae Serbica* 6: 77-90
- Hajnal T, Govedarica M, Jeličić Z (2002): Biofertilizatori i proizvodnja kukuruza. *Eko-konferencija*, 25-28. septembar, Novi Sad, Serbia 63-68
- Hameeda B, Harini G, Rupela O P, Wani S P, Reddy G (2008): Growth promotion of maize by phosphate-solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna. *Microbiol. Res.* 163: 234-242
- Hernandez Y, Sogo J, Sarmiento M (1997): *Azospirillum* inoculation on *Zea mays*. *Cuban J. Agr. Sci.* 31: 203-209
- Iswandi A, Bossier P, Vandenberghe J, Verstraete W (1987): Effect of seed inoculation with the rhizopseudomonas strain 7NSK2 on the root microbiota of maize (*Zea mays*) and barley (*Hordeum vulgare*). *Biol. Fert. Soils* 3: 153-158
- Jacoud C, Faure D, Wadoux P, Bally R (1998): development of a strain-specific probe to follow inoculated *Azospirillum lipoferum* CRT1 under field conditions and enhancement of maize root development by inoculation. *FEMS Microbiol. Ecol.* 27: 43-51
- Jarak M, Jeličić Z, Kuzevski J, Mrkovački N, Đurić S (2011): The use of Azotobacter in maize production: The effect on microbiological activity of soil, early plant growth and grain yield. *Contemporary Agriculture (u štampi)*
- Kennedy I R, Tchan Y (1992): Biological nitrogen fixation in non-leguminous field crops: recent advances. *Plant Soil* 141: 93-118
- Kennedy A C, Smith K L (1995): Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. *Plant Soil* 170: 75-86
- Kennedy I R, Choudhury A T M, Kecskes M L (2004): Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: Can their potential for plant growth promoting be better exploited. *Soil Biol. Biochem.* 36: 1229-1244
- Khan A G (2005): Role of soil microbes in the rhizosphere of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 18: 355-364
- Kloepper J W, Schroth M N (1978): Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. In: Angers (Ed.) *Proceedings of the Fourth International Conference on Plant Pathogenic Bacteria*. Gibert-Clarey Tours 879-882
- Lalande R, Bissonnette N, Coutlee D, Antoun H (1989): Identification of rhizobacteria from maize and determination of their plant-growth promoting potential. *Plant Soil* 115: 7-11
- Lucas G J A, Probanza A, Ramos B, Colon Flores J J, Gutierrez Manero F J (2004): Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) on biological nitrogen fixation, nodulation and growth of *Lupinus albus* L. cv. Multolupa. *Eng. Life Sci.* 7: 1-77
- Lucy M, Reed E, Glick B R (2004): Application of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek, Intern. J. Gener. Molec. Microbiol.* 86: 1-25
- Mrkovački N, Milić V (2001): Use of *Azotobacter chroococcum* as potentially useful in agricultural application. *Ann. Microbiol.* 51: 145-158
- Mrkovački N, Čačić N, Mezei S (2002): Response of sugar beet to inoculation with *Azotobacter* in field trials. *Agrochimica* 46: 18-26
- Mrkovački N, Mezei S (2003): Primena sojeva NS-Betafixin u gajenju šećerne repe, *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo*, Novi Sad 39: 49-58
- Mrkovački N, Mezei S, Čačić N (2003): Dinamika brojnosti *Azotobacter chroococcum* u rizosferi šećerne repe u zavisnosti od mineralne ishrane. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke* 104: 91-97
- Mrkovački N, Mezei S, Čačić N, Kovačev L, Nagl N (2008): Biogenost rizosfere šećerne repe inokulisane sa *Azotobacter chroococcum*. *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo*, Novi Sad 45: 241-245
- Mrkovački N, Mezei S, Čačić N, Kovačev L, Nagl N (2009): Efekat primene mikrobiološkog đubriva za šećernu repu. *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo*, Novi Sad 46: 175-180
- Mrkovački N, Čačić N, Kuzevski J, Kovačev L, Mezei S, Nagl N, Bjelić D (2010): Uticaj načina primene *Azotobacter chroococcum* na mikroorganizme u rizosferi i prinos šećerne repe. *Ratar. Povrt. / Field Veg. Crop Res.* 47: 599-606
- Nieto K F, Frankenberger W T (1991): Influence of adenine, isopentyl alcohol and *Azotobacter chroococcum* on the vegetative growth of *Zea mays*. *Plant Soil* 135: 213-221
- Okon Y, Labandera-Gonzales C A (1994): Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biol. Biochem.* 26: 1591-1601
- Ribaud C M, Rondanini D P, Cura J A, Frascina A A (2001): Response of *Zea mays* to the inoculation with *Azospirillum* on nitrogen metabolism under greenhouse conditions. *Biol. Plantarum* 44: 631-634
- Raičević V (1996): Asocijativna sposobnost roda *Azotobacter* sa kukuruzom. *Doktorska disertacija*. Poljoprivredni fakultet, Beograd
- Rodríguez H, Fraga R (1999): Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnol. Adv.* 17: 319-339
- Sachin D N (2009): Effect of *Azotobacter chroococcum* (PGPR) on the Growth of Bamboo (*Bambusa bamboo*) and Maize (*Zea mays*) *Plants. Biofrontiers* 1: 37-46
- Sarić Z, Mrkovački N, Sarić M, Milić V (1993): Dynamics of nodulation in some soybean genotypes. In: *Current Developments in Soybean Rhizobia Symbiotic Nitrogen Fixation* (ed. Dou Xintian), Breeding Soybean with Symbiotic N-fixation. Heilongjiang Science and Technology Publishing House, Harbin, 113-126
- Shaharoona B, Arshad M, Zahir Z A, Khalid A (2006): Performance of *Pseudomonas spp.* Containing ACC-deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of nitrogenous fertilizer. *Soil Biol. Biochem.* 38: 2971-2975
- Schippers B, Scheffer R J, Lugtenberg B J J, Weisbeek P J (1995): Biocoating of seed with plant growth promoting

- rhizobacteria to improve plant establishment. *Outlook Agr.* 24: 179-185
- Suslow T V, Kloepper J W, Schroth M N, Burr T J (1979): Beneficial bacteria enhance plant growth Rhizobacteria. *Calif. Agric. Exp. Stn.* 33: 15-17
- Sturz A V, Nowak J (2000): Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. *Appl. Soil Ecol.* 15: 183-190
- Shoebitz M, Ribaud C M, Pardo M A, Cantore M L, Ciampi L, Cura J A (2009): Plant growth promoting properties of a strain of *Enterobacter ludwigii* isolated from *Lolium perenne* rhizosphere. *Soil Biol. Biochem.* 41: 1768-1774
- Suresh A, Pallavi P, Srinivas V, Kumar V P, Chandra S J, Reddy S R (2010): Plant growth promoting activities of fluorescent pseudomonads associated with some crop plants. *Afr. J. Microbiol. Res.* 4: 1491-1494
- Vasquez M M, Cesar S, Azcon R, Barea J M (2000): Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and other microbial inoculants (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*) and their effects on microbial population and enzyme activities in the rhizosphere of maize plants. *Appl. Soil Ecol.* 15: 261-272
- Vessey J K (2003): Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil* 255: 571-586
- Wu S C, Cao Z H, Li Z G, Cheug K C, Wong M H (2005): Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma* 125: 155-166
- Yanni YG, El-Fattah F K A (1999): Towards integrated biofertilization management with free living and associative dinitrogen fixers for enhancing rice performance in the Nile delta. *Symbiosis* 27: 319-331
- Yazdani M, Bahmanyar M A, Pirdashti H, Esmaili M A (2009): Effect of Phosphate Solubilization Microorganisms (PSM) and Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Yield and Yield Components of Corn (*Zea mays* L.). *World Academy of Science, Engineering and Technology* 49: 90-92
- Zahir Z A, Arshad M, Frankenberger W T (2004): Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. *Adv. Agron.* 81: 97-168
- Zhuang X L, Chen J, Shim H, Bai Z (2007): New advances in plant growth-promoting rhizobacteria for bioremediation. *Environ. Int.* 33: 406-413

## Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Their Effect on Maize

Nastasija Mrkovački • Dragana Bjelić

Institute of Field and Vegetable Crops, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad, Serbia

**Summary:** Free-living soil bacteria beneficial to plant growth are usually referred to as plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), capable of promoting plant growth by colonizing the plant root. Application of PGPR to increase the yield is limited by variability among the results obtained in the laboratory, in greenhouse and field. Rhizobacteria that promote plant growth (PGPR) participate in interactions with plants (rice, wheat, maize, sugarcane, sugar beet, cotton) and significantly increase their vegetative growth and yield. Apart from *Azotobacter* and *Azospirillum*, PGPR also include *Acetobacter*, *Azoarcus* and several species of *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, and *Pseudomonas*). PGPR represent an alternative to plant growth enhancement chemicals.

**Key words:** *Azotobacter*, *Azospirillum*, biofertilizer, maize, PGPR, rhizobacteria