

"Zbornik radova", Sveska 39, 2003.

Pregledni rad - Review

**PRIMENA SOJEVA *Azotobacter chroococcum* - NS BETAFIXINA
U GAJENJU ŠEĆERNE REPE**

Mrkovački, Nastasija, Mezei, Snežana¹

IZVOD

Odavno postoji ideja da se uz smanjenje upotrebe azotnih đubriva dobije dobar prinos kod šećerne repe. Poznato je da povećano đubrenje šećerne repe azotnim mineralnim đubrivima utiče na povećanje prinosa korena, pad sadržaja šećera i pogoršanje tehnoloških karakteristika. Količina mineralnog azota unetog đubrenjem može se smanjiti samo za onu količinu koju je hibrid šećerne repe sposoban da veže zahvaljujući odabranim sojevima roda *Azotobacter*. Azotobakter utiče na porast prinosa korena i sadržaj šećera uz nepromenjene ili poboljšane tehnološke karakteristike.

Naša prva istraživanja od 1991. do 1994. godine obuhvataju specifičnost odnosa sojeva *Azotobacter chroococcum* i biljaka šećerne repe u uslovima *in vitro*. Ispitivanja su sprovedena na dva komercijalna hibrida šećerne repe iz čije je rizosfere izolovano 20 sojeva, od kojih je 12 odabrano za dalja istraživanja. U periodu 1996-1999. ispitivan je uticaj tri superiorna soja *Azotobacter chroococcum* na proizvodne i tehnološke karakteristike hibridnih sorata šećerne repe. U ovim ispitivanjima utvrđen je pozitivan uticaj inokulacije semena šećerne repe azotobakterom na prinos korena, sadržaj i prinos šećera, što nas je opredelilo za nastavak istraživanja.

Komisija nadležna za priznavanje i stavljanje u promet mikrobioloških preparata odobrila je 2003. godine proizvodnju i promet NS-Betafixina, koji je mikrobiološko đubrivo za šećernu repu i predstavlja tečnu kulturu sojeva roda *Azotobacter* izolovanih iz rizosfere šećerne repe, a koji imaju sposobnost fiksacije azota iz atmosfere.

KLJUČNE REČI: *Azotobacter chroococcum*, šećerna repa, mineralno đubrivo, NS-Betafixin, prinos.

1 Dr Nastasija Mrkovački, naučni savetnik, dr Snežana Mezei, naučni savetnik, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad

Uvod

Značaj biološkog azota u poljoprivredi je veoma veliki. Biološki azot u zemljištu nastao je delatnošću mikroorganizama azotofiksatora u procesu poznatom kao biološka fiksacija azota. Biološka fiksacija azota omogućuje stvaranje pristupačne forme azota u zemljištu iz takoreći neograničenih rezervi elementarnog azota iz vazduha. Ovaj proces odigrava se u svim zemljištima i na svim geografskim širinama, pa se zahvaljujući tome svake godine u zemljište fiksira azot više nego što se unese mineralnim đubrivima. Shodno ovom saznanju biološku fiksaciju azota proučavao je veliki broj istraživača još od 1888. godine, kada su i izolovani prvi azotofiksatori. Azotofiksatori pripadaju prokariotskim mikroorganizmima - bakterijama, plavozelenim algama i aktinomicitama i nastanjuju sva zemljišta i sve vodene sredine u kojima je moguć život. Postoji nekoliko vrsta biološke fiksacije azota: simbiotska azotofiksacija sa leguminozama, simbiotska azotofiksacija sa neleguminozama, slobodna aerobna azotofiksacija i slobodna anaerobna azotofiksacija. Ovi tipovi biološke fiksacije svojstveni su za određene mikrobiološke asocijacije, odnosno azotofiksatore.

Slobodni azotofiksatori izdvajaju do 80% asimiliranog azota u vezanoj formi NH_3 , hidrosilamin, amino kiseline, peptidi, materije rasta, fungicidi i drugi derivati. Ove izlučevine biljke mogu da koriste. Na primer, šećerna trska može da se gaji bez azotnog đubriva sto godina zahvaljujući delatnosti azotofiksatora u rizosferi. Poznato je da predstavnici slobodnih azotofiksatora mogu da fiksiraju oko 100 kg azota po hektaru (Sarić i sar., 1995).

Od mikroorganizama iz grupe asocijativnih azotofiksatora najviše su proučavani predstavnici roda *Azotobacter* i roda *Clostridium*. Oni žive slobodno u zemljištu ili rizosferi biljaka sa manjom ili većom prilagođenošću određenoj biljci. Količina fiksiranog azota od strane pojedinih vrsta ili sojeva ovih mikroorganizama znatno je manja u odnosu na količinu koju fiksiraju bakterije u simbiozi sa leguminozama.

Ideja o primeni *Azotobactera* kod šećerne repe (*Beta vulgaris* L.)

Potrebe za azotom iz mineralnih đubriva znatno su veće kod neleguminoznih biljaka, kao i kod šećerne repe, kod koje je maksimalni prinos korena i šećera ostvaren dodavanjem 150 kg/ha azota (Božić i sar., 1997).

Iz velikog broja radova poznat je uticaj mineralnih đubriva na prinos šećerne repe, ali nije dovoljno ispitan uticaj đubriva na sojeve azotobaktera i to kako autohtonih tako i odabраниh sojeva unetih u zemljište. Takođe se iz literature zna da azotna đubriva mogu da smanje efekat azotobaktera. Naši rezultati iz 2002. pokazuju inhibitorni efekat visokih doza azota (150 i 200 kg N/ha) na broj azotobaktera u rizosferi šećerne repe (Mrkovački i sar., 2003. u štampi).

Odavno postoji ideja da se uz smanjenje upotrebe azotnih đubriva dobije dobar prinos kod šećerne repe. Količina mineralnog azota unetog đubrenjem može se smanjiti samo za onu količinu koju je hibrid šećerne repe sposoban da

veže zahvaljujući odabranim sojevima roda *Azotobacter*. U rizosferi neleguminoznih biljaka, a samim tim i šećerne repe, žive slobodni azotofiksatori koji fiksiraju različite količine azota, produkuju materije rastenja, enzime, vitamine i antibiotike - materije koje imaju značajan pozitivan uticaj na biljku. Imajući u vidu ovu činjenicu, istraživači nastoje da izoluju superiornije sojeve slobodnih azotofiksatora koji će preživljavati u rizosferi određene biljne vrste, fiksirati više azota iz atmosfere i uz produkciju materija korisnih za biljku, povećati produktivnost biljke. U ovim istraživanjima izabrani su sojevi azotobaktera koji u interakciji sa određenom sortom šećerne repe ostvaruju maksimalnu fiksaciju azota, a samim tim povećavaju produktivnost sorte. Ako se ima u vidu na osnovu rezultata Čačić i sar. (1997) da postoji interakcija genotipa šećerne repe i spoljne sredine, onda je realno očekivati i interakciju između dva živa organizma - korena šećerne repe i azotobaktera. Ukoliko je određeni hibrid sposoban da koristi fiksiran azot iz vazduha, preveden u oblik dostupan biljci putem azotobaktera, to se može smatrati novim svojstvom, novom osobinom za dati hibrid.

U rizosferi šećerne repe azotobakter je široko zastupljena bakterija. Moglo bi se smatrati velikim uspehom da se stvore aktivne asocijacije sa šećernom repom i to ne samo na bazi stimulacije biljnim hormonima, već i na bazi aktivne fiksacije atmosferskog azota. Broj ovih bakterija u rizosferi šećerne repe značajno je veći u odnosu na okolno zemljište i iznosi $3-12 \times 10^3$ (Mrkovački i Milić, 2001). Takođe, utvrđeno je da se broj azotobaktera u rizosferi značajno povećava unošenjem pre setve, odnosno inkorporacijom odabranih sojeva u zemljište (Mrkovački i sar., 2003. u štampi).

Da se azotobakter može koristiti kao mikrobiološko đubrivo za povećanje prinosa kod šećerne repe pokazali su i Steinberga et al. (1996), Antipchuk et al. (1997), Mrkovački i sar. (2001) i Čačić i sar. (2003). Ovakva istraživanja imaju osim ekonomskog i izuzetan ekološki značaj, jer se očekuje da će doći do poboljšanja kvaliteta prinosa uz smanjeno unošenje mineralnih azotnih đubriva. Primena azotobaktera direktno utiče na smanjenje troškova proizvodnje, a manja upotreba mineralnih đubriva doprinosi značajno manjem zagađivanju životne sredine.

Istraživanja *in vitro*

Za selekciju šećerne repe na azotofiksacionu sposobnost interesantni su samo oni azotofiksatori koji su sposobni da nasele korenov sistem biljke i maksimalno fiksiraju azot u rizosferi. Time bi postojala mogućnost *in vitro* identifikacije hibrida na sposobnost azotofiksacije (Mezei, 1992).

Kultura in vitro

U našim prvim istraživanjima (1991-1994) u uslovima kulture tkiva *in vitro* ispitana je specifičnost odnosa sojeva *Azotobacter chroococcum* i biljaka šećerne repe. Ispitivanja su sprovedena na dva komercijalna hibrida šećerne repe iz čije je rizosfere izolovano 20 sojeva, od kojih je 12 odabrano za dalja istraživanja.

Postavljena su dva paralelna ogleda *in vitro* čiji je rezultat bio određivanje sposobnosti pojedinih sojeva azotobaktera da kolonizuju biljku šećerne repe (poreklom iz sterilnog semena bez perikarpa) i prodru u ćelije korena. Sojevi koji su pokazali najveću nitrogenaznu aktivnost kod ispitivanih hibrida takođe su pokazali pozitivnu korelaciju sa kretanjem ćelija azotobaktera prema korenu repe, gajene na hranljivoj podlozi u kulturi tkiva (Mrkovački i sar., 1995a). Takođe je dobijen model za ispitivanje asocijacije šećerne repe i azotofiksatora u uslovima *in vitro*, koji se može u praksi primeniti i kod drugih neleguminoznih biljaka. Ovim je omogućeno odabiranje sojeva na osnovu nitrogenazne aktivnosti, koja se određuje mnogo ranije - već nakon dve nedelje gajenja biljaka. Istraživanja *in vitro* rađena su sa tečnim kulturama izolovanih sojeva. Tečna kultura soja 0,1 ml (gustine 10^9 ćelija po ml) dodata je na 4 varijante MS podloge *in vitro* na kojoj su gajene biljke šećerne repe. Hranljiva (MS) podloga je sadržala 1/8, 1/4, pun rastvor azota kao i podlogu bez azota. Fiksacija azota određena je na osnovu nitrogenazne aktivnosti i sadržaja azota. Aktivnost nitrogenaze određena je gasnom hromatografijom, a sadržaj azota je analiziran aparaturom Kjeldahla. Veliki broj ispitivanih sojeva uticao je na povećanje mase suve materije skoro proporcionalno sa sadržajem azota u podlozi. Sadržaj azota se povećavao u biljkama povećanjem koncentracije azota u podlozi, međutim nitrogenazna aktivnost dobijena je samo kod varijanti koje su bile bez azota i sa vrlo malo azota, što znači da je povećanje količine azota inhibiralo nitrogenaznu aktivnost *in vitro*. Epruvete u kojima su gajeni neinokulisani eksplantati šećerne repe imale su izuzetno malo azota. Za hibrid Hy-11 najadekvatniji soj bio je broj 5 i on je *in vitro* dao najveći sadržaj azota, dok je kod sorte Dana izdvojen soj 8 (Mrkovački i sar., 1995). Nakon dve godine istraživanja (1994-1996) utvrđeno je da su inokulisane biljke šećerne repe *in vitro* ostvarile veću masu, a posebno veći sadržaj azota od neinokulisanih biljaka šećerne repe (Mrkovački i sar., 1996. i 1997a). Takođe je ispitana i aktivnost enzima metabolizma azota: nitrat reduktaza (NR) glutamin sintetaza (GS) i glutamat dehidrogenaza (GDH) u *in vitro* uslovima sa odabranim sojevima i rezultati su prikazani u radu Mezei i sar. (1997).

Kultura dediferenciranih ćelija kalusa

U uslovima *in vitro* ispitana je i mogućnost stvaranja asocijacija između kalusnih kultura hibridnih sorata šećerne repe i odabranih sojeva azotobaktera. Proučavana je sposobnost sojeva *Azotobacter chroococcum* da prodru u međućelijske prostore dediferenciranih ćelija kalusnog tkiva šećerne repe. Kao test korišćena je metoda isečka i uticaj inokulacije azotobakterom na obrastanje zona oko isečka. Izvršena je specifikacija kalusa po poreklu a takođe je određena njihova kompatibilnost sa određenim sojem (Mezei i sar., 1993. i 1997).

U istraživanjima je testiran i efekat sojeva u odnosu na rast kalusne kulture šećerne repe *in vitro*. Podloga je sadržala različite koncentracije azota i kao rezultat ovih istraživanja zaključeno je da je asocijativnost između kalusa šećerne repe i azotobaktera zavisila od interakcije genotip/soj (Mezei i sar., 1997a).

Istraživanja Azotobacter chroococcum u čistoj kulturi

Ova istraživanja rađena su u cilju boljeg upoznavanja sojeva *Azotobacter chroococcum*, odnosno učinjen je jedan od koraka u selekciji sojeva za mikrobiološki preparat.

Prvo je urađena taksonomska karakterizacija sojeva, tj. ispitana je rezistentnost sojeva *Azotobacter chroococcum* prema antibioticima. Antibiotičke osobine sojeva izolovanih iz rizosfere šećerne repe poslužiće u selekciji sojeva za pripremu budućeg mikrobiološkog đubriva za šećernu repu (Mrkovački i sar., 1996a).

Pored toga, razlike u aktivnosti nitrogenaze omogućavaju selekciju visoko efektivnih sojeva. Iz rezultata se vidi da postoji ista tendencija aktivnosti nitrogenaze u čistim kulturama *Azotobacter chroococcum* i u asocijaciji sa biljkom šećerne repe. Soj koji je pokazao najveću nitrogenaznu aktivnost sa biljkom šećerne repe, ostvario je i najveću aktivnost nitrogenaze u čistoj kulturi (Mrkovački i sar., 1999a).

Sledeći korak bio je ispitivanje uticaja Ditana koji se koristi u doradi semena šećerne repe u procesu piliranja i inkrustracije kao fungicid. Rezistentnost *Azotobacter chroococcum* sojeva na različite koncentracije Ditana ispitana je sa ciljem dobijanja odgovora o mogućnosti nanošenja sojeva na seme u procesu dorade. Rezultati su pokazali rast sojeva, bez zona inhibicije, čak je zabeležena stimulacija rasta. Stoga se smatra da je ovaj fungicid kompatibilan sa inokulacijom semena šećerne repe (Mrkovački i sar., 1997).

Pored Ditana ispitivan je i uticaj pilete, tj. materija koje je čine na rast sojeva azotobaktera. Na osnovu pozitivnih rezultata rasta u prisustvu pilete izvršena je selekcija sojeva (Mrkovački i sar., 1999).

Rezultati ispitivanja rasta sojeva *Azotobacter chroococcum* na različitim temperaturama dali su pozitivan odgovor na pitanje da li je moguće aplicirati azotobakter na seme šećerne repe u procesu piliranja (Mrkovački i sar., 2000).

Urađena su i istraživanja sa različitim koncentracijama pesticida koji se koriste u proizvodnji šećerne repe. Rezultati ovih ispitivanja govore da od ispitivanih pesticida (herbicid, insekticid i fungicid) jedino fungicid Mankogal ima inhibitorno dejstvo na rast sojeva *Azotobacter chroococcum* (Mrkovački i sar., 2002a).

Rezultati u polju

Početkom prošlog veka objavljeno je otkriće da je *Azotobacter chroococcum* na hranljivoj podlozi bez azota pokazao značajno bolje rezultate rasta kulture od ostalih mikroorganizama. Kasnijim ispitivanjima utvrđeno je da se inokulacijom semena azotobakterom kod većine biljnih vrsta povećao prinos od 10% do 20% (Jagnow, 1987).

U periodu 1996-1999. ispitivan je uticaj tri soja *Azotobacter chroococcum* na proizvodne i tehnološke karakteristike tri sorte šećerne repe. Dobiven je

pozitivan uticaj inokulacije semena šećerne repe azotobakterom na prinos korena, sadržaj i prinos šećera (Mrkovački i sar., 2002).

Ispitivani su i biohemijski aspekti metabolizma azota u biljkama šećerne repe *Azotobacter chroococcum* u poljskim ogledima (Popović i sar., 2001. i 2003).

Uticaj tri soja azotobaktera na sadržaj nešećera (K, Na i α -amino N) i iskorišćenje šećera iz korena šećerne repe pokazuju da su sva 3 soja azotobaktera pozitivno uticala na tehnološke karakteristike šećerne repe, što znači da je došlo do smanjenja sadržaja nešećera u korenu, a povećano je iskorišćenje šećera. Najbolji efekat na tehnološke karakteristike šećerne repe ispoljio je soj 8 (Mrkovački i sar., 2002). Poznato je da povećano đubrenje šećerne repe azotnim mineralnim đubrivima utiče na povećanje prinosa korena, pad sadržaja šećera i pogoršanje tehnoloških karakteristika, pa je stoga važno istaći da azotobakter utiče na porast prinosa korena i sadržaja šećera uz nepromenjene ili poboljšane tehnološke karakteristike (Čačić i sar., 2001).

Sojevi *Azotobacter chroococcum* izdvojeni iz rizosfere šećerne repe pokazali su pozitivan uticaj kako na prinos korena, tako i na tehnološke karakteristike šećerne repe. U procesu dorade azotobakter je nanošen na seme i na taj način unet u zemljište. Tokom 2000. i 2001. godine neposredno pred setvu, u zemljište je inkorporirana suspenzija izabranih sojeva. Rezultati dobijeni ovakvim načinom primene podudarni su sa rezultatima dobijenim nanošenjem sojeva na seme (Mrkovački i sar., 2002b). U obe godine ispitivanja, rezultati pokazuju da su sojevi azotobaktera uticali na povećanje prinosa korena u proseku za (5,9%), kao i na povećanje sadržaja šećera (1,7%) što je rezultiralo u povećanju prinosa kristalog šećera u 2000. za 7,93 % odnosno 536 kg/ha, a u 2001. 8,2 % odnosno 660 kg/ha. Rezultati Čačić i sar. (2003) pokazali su da je prosečno povećanje prinosa kristalnog šećera primenom azotobaktera u 2001. i 2002. na dva lokaliteta kod tri ispitivane sorte iznosilo 0,49 t/ha, što je statistički visoko značajno.

Rezultati primenjeni u praksi

Do primene bakterijskih preparata asimbiotskih azotofiksatora neophodna su kompleksna istraživanja. Prvenstveno izolacija ogromnog broja azotofiksatora iz rizosfere biljaka koje se žele inokulisati, zatim selekcija - odabir sojeva kako u čistoj kulturi, tako i u asocijacijama sa biljkom i na kraju odabiranje najkompatibilnijih sojeva za ispitivanu biljnu vrstu (Sarić i sar., 1995).

Mikrobiološko đubrivo za šećernu repu, NS-Betafixin, predstavlja rezultate višegodišnjih istraživanja. To je tečna kultura sojeva roda *Azotobacter* izolovanih iz rizosfere šećerne repe, koji imaju sposobnost fiksacije azota iz atmosfere.

Mikrobiološki preparat nanosi se na seme. U sastav pilete ili inkrust mase ulazi veliki broj organskih i neorganskih komponenata, a takođe i hemijski preparati vezani za zaštitu od bolesti i štetočina (Mrkovački i sar., 1999). U procesu dorade seme se oblaže inokulumom, tečnom kulturom sojeva *Azotobacter chroococcuma* koja predstavlja smešu selekcijom dobijenih slobodnih azotofiksatora.

Mikrobiološko đubrivo može se primeniti i inkorporacijom u zemljište pre ili u setvi šećerne repe. Da bi se do ovog zaključka došlo upoređeni su rezultati primene *Azotobacter chroococcum* nanošenjem na seme sa rezultatima dobijenim inkorporacijom pre setve.

Svi dobiveni rezultati omogućuju da se u budućnosti, nesmetano u praksi, primenjuje mikrobiološko đubrivo NS-Betafixin uz primenu herbicida i insekticida u proizvodnji šećerne repe. Kod primene NS-Betafixina sa fungicidima treba biti oprezan. U 2003. godini inkorporacijom u zemljište na oko 50 ha u Vojvodini dobijeni su pozitivni rezultati pri uzimanju uzoraka rizosfere početkom juna meseca, koji upućuju na pozitivan efekat NS-Betafixina. Novi mikrobiološki preparat povećava broj azotobaktera u rizosferi inokulisanih biljaka.

UMESTO ZAKLJUČKA

Krajnji cilj svih navedenih istraživanja bio je dobijanje preparata, tj. mikrobiološkog đubriva za šećernu repu na bazi sojeva *Azotobacter chroococcum*. Komisija nadležna za priznavanje i stavljanje u promet mikrobioloških preparata odobrila je 2003. godine proizvodnju i promet NS-Betafixina, koji je mikrobiološko đubrivo za šećernu repu i predstavlja tečnu kulturu sojeva roda *Azotobacter* izolovanih iz rizosfere šećerne repe, a koji imaju sposobnost fiksacije azota iz atmosfere.

Stoga smo za 2003. pripremili i proizveli u eksperimentalne svrhe NS-Betafixin za 100 ha šećerne repe, koji je primenjen na poljima Vojvodine.

Iz svega navedenog može se zaključiti da veoma stara ideja primene azotofiksatora kod neleguminoznih biljaka ima veoma pozitivne efekte, ne samo kao rezultat naučno istraživačkog rada, već i ekonomske pozitivne efekte u procesu gajenja novih hibrida šećerne repe stvorenih u Zavodu za šećernu repu, Naučnog instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad uz primenu mikrobiološkog đubriva Betafixina.

LITERATURA

- Antipchuk, A.F., Rangelova, V.M., Tatsyurenko, O.V., Shevchenko, A.I. (1997): Effect of *Azotobacter* on the yield and quality of sugar beet. Mikrobiol. Zhurnal, 59: 90-94.
- Božić, M., Nenadić, N., Gujančić, T. (1997): Sugar beet yield and quality as effected by N fertilization and crop planting density. T. Ando et al. (Eds.) Plant nutrition - for sustainable food production and environment. 949-950. Kluwer Academic Publishers. Printed in Japan.
- Čačić, N., Kovačev, L., Mezei, Snežana, Stojaković, Željka, Sklenar, P. (1997): Ocena vredosti sorata šećerne repe na osnovu višegodišnjih rezultata u ogleđima. Zbornik radova, 29:437-454, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad.

- Čačić, N., Mrkovački, N., Mezei, S., Sklenar, P., Rajić, M. (2001): Uticaj *Azotobacter chroococcum* na tehnološke karakteristike šećerne repe, Međunarodni simpozijum, Hrana u 21. veku, Subotica, str. 302-304.
- Čačić, N., Mrkovački, Nastasija, Mezei, Snežana, Kovačev, L. (2003): Efekat primene *Azotobacter chroococcum* u šećernoj repi. Zbornik radova, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, str. 271-280.
- Jagnow, Gerhard (1987): Inoculation of cereal crops and farage grasses with nitrogen-fixing rhizosphere bacteria: Possible causes of success and failure with regard to yield response-a review. Z. Pflanzenern hr. Bodenk, 150:361-368.
- Mezei, Snežana (1992): Biotehnoške metode u selekciji šećerne repe. Revijalni rad, Zbornik radova, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad. 20:213-218.
- Mezei, Snežana, Mrkovački, Nastasija, Kovačev, L., Sarić, Zora (1993): Asocijacije sojeva *Azotobacter* sa kalusnim kulturama šećerne repe *in vitro*: Savremena poljoprivreda, 1, 6:1-510.
- Mezei, Snežana, Popović, M., Kovačev, L., Mrkovački, Nastasija, Nagl, Nevena and Malenčić, Đ. (1997): Effect of *Azotobacter* strains on sugar beet callus proliferation and nitrogen metabolism enzymes. *Biologia plantarum* 40 (2): 277-283.
- Mezei, Snežana, Popović, M., Mrkovački, Nastasija, Nagl, Nevena, Kovačev, L., Čačić, N. (1997a): *in vitro* inoculation of sugar beet calli with *Azotobacter chroococcum*. 60th IIRB Congress. Cambridge, England. pp.521-525.
- Mrkovački, Nastasija, Mezei, Snežana, Kovačev, L., Verešbaranji, I. (1995): Effect of inoculation with *azotobacter* on nitrogenase activity of two sugarbeet hybrids. 58th IIRB Congress. France. pp.143-147.
- Mrkovački, Nastasija, Mezei, Snežana, Kovačev, L., (1995a): Specific relationship between *Azotobacter* strains and sugar beet plants. *Zemljište i biljka*. 44, 1:9-17.
- Mrkovački, Nastasija, Mezei, Snežana, Kovačev, L. (1996): Uticaj inokulacije azotobakterom na masu suve materije i sadržaj azota hibridnih sorti šećerne repe. Zbornik Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 25:107-113.
- Mrkovački, Nastasija, Milić, Vera, Mezei, Snežana (1996a): Resistance of various strains of *Azotobacter chroococcum* to antibiotics. *Acta Agriculturae Serbica*, Vo.1.1, 1:69-73.
- Mrkovački, Nastasija, Mezei, Snežana, Kovačev, L., Milić, Vera, (1997): Effects of Ditan on the Growth of *Azotobacter chroococcum* Strains and Inoculated Sugar Beet Plants. *Roum. Biotechnol. Lett.*, Vol. 2. 6:469-475.
- Mrkovački, Nastasija, Mezei, Snežana, Verešbaranji, I., Popović, M., Sarić, Z., Kovačev, L., (1997a): Associations of sugarbeet and nitrogen-fixing bacteria *in vitro*. *Biologia Plantarum* 39, 3:419-425.
- Mrkovački, Nastasija, Kovačev, L., Čačić, N., Mezei, Snežana (1999): Compatibility of *Azotobacter chroococcum* with pelleted sugar beet seed. Proceedings of the 62th IIRB Congress, June 1999, Sevilla, pp.183-187.

- Mrkovački, Nastasija, Mezei, Snežana, Milić, Vera (1999a): Nitrogenase activity in pure culture of *Azotobacter chroococcuma* and in association with sugar beet. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke.97:45-50.
- Mrkovački, Nastasija, Vera, Milić, Čačić, N. (2000): Effect of temperature on the growth of *Azotobacter chroococum* strains. Mikrobiologija, Vol.37, No.1. 15-21
- Mrkovački, Nastasija, Milić, Vera (2001): Use of *Azotobacter chroococcum* as potentially useful in agricultural application. Review, Annals of Microbiology, 51:145-158.
- Mrkovački, Nastasija, Čačić, N., Kovačev, L., Mezei, Snežana (2002): Response of sugar beet to inoculation with *Azotobacter* in field trials Agrochimica, Vol. XLVI, 1-2:18-26.
- Mrkovački, Nastasija, Čačić, N., Milić, Vera (2002a): Effects of pesticides on *Azotobacter chroococcum*. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke, 102:23-28.
- Mrkovački, Nastasija, Čačić, N., Kovačev, L., Mezei, Snežana (2002b): Effect of direct application of *Azotobacter chroococcum* to the soil under sugar beet crop. Book of Abstracts 5th European Nitrogen Fixation Conference (11-8), Norwich.
- Mrkovački, Nastasija, Mezei, Snežana, Čačić, N. (2003): Dinamika brojnosti *Azotobacter chroococcum* u rizosferi šećerne repe u zavisnosti od đubrenja. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke (u štampi).
- Popović, M., Malenčić, Đ., Mrkovački, Nastasija, Mezei, Snežana (2001): Efekat azotobaktera na enzime azota i prinos šećerne repe. XIV Simpozijum JDFB, Goč, str.24-25.
- Popović, M., Prvulović, D., Malenčić, Đ., Mrkovački, Nastasija, Čačić, N. (2003): Biohemijski aspekti metabolizma azota u biljkama šećerne repe inokulisanim sa *Azotobacter chroococcum*. XLI Savetovanje Srpskog hemijskog društva, Beograd, str.165.
- Sarić, Zora, Mrkovački, Nastasija, Milić, Vera, Mezei, Snežana (1995): Značaj fiksacije atmosferskog azota sa stanovišta zaštite životne sredine. U: Bioenergetska reprodukcija u poljoprivredi. str.213-246.
- Steinberga, V., Apsite, A., Bicevskis, J., Strikauska, S., Viesturs, V. (1996): The effect of azotobacterin on the crop yield and biological activity of the soil. In: Wojtwies A, Stepkowska J, Szlagowska A (ed.): Proceedings of 2nd European Nitrogen Fixation Conference. 191. Poznan.

USE OF *Azotobacter chroococcum* STRAINS - NS BETAFIXIN IN SUGAR BEET BREEDING AND PRODUCTION

Mrkovački, Nastasija, Mezei, Snežana

Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad

SUMMARY

The problem of reducing the application of nitrogen fertilizers while maintaining satisfactory sugar beet yield has been under consideration for a long time. To maintain this proposition, the amount of nitrogen fertilizer may be reduced in proportion to the amount of nitrogen a sugar beet genotype is capable of receiving from selected *Azotobacter* strains. Our preliminary study 1991-1994 conducted under sterile conditions has been focused on specific relationships between *Azotobacter chroococcum* and sugar beet plants. The study included two commercial sugar beet hybrids and 12 *Azotobacter* strains of the 20 strains isolated from the rhizospheres of the hybrids. In the period of 1996-1999 the influence of three *Azotobacter chroococcum* strains on the production and technological characteristics of three sugar beet varieties was studied. It was shown that the yield of roots and sugar content and yield were positively affected by the inoculation of sugar beet seeds. When it is taken into consideration that increased doses of nitrogen fertilizer tend to increase sugar beet yield while reducing sugar content and other technological characteristics, it is important to mention that *Azotobacter* application maintains the root yield and sugar content while improving the technological characteristics. The microbiological fertilizer NS Betafixin is a liquid culture of *Azotobacter* strains isolated from sugar beet rhizosphere, which are capable of fixing the atmospheric nitrogen. The Federal Board for Approval of Microbiological Preparations has approved the production and commercialization of NS Betafixin.

KEY WORDS: *Azotobacter chroococcum*, sugar beet, nitrogen fertilizer, NS-Betafixin, yield.