

ISPITIVANJE EFIKASNOSTI RAZLIČITIH BIOPREPARATA NA SEMENSKI I TRŽIŠNI KVALITET ORGANSKI PROIZVEDENE SOJE

Snežana Dimitrijević^{1*}, Vladimir Filipović¹, Aneta Buntić², Marija Milić³,
Vladan Ugrenović², Vera Popović⁴, Vesna Perić⁵

Izvod

U prethodnom periodu sprovedena su istraživanja sa fokusom na primenu različitih vrsta mikrobioloških preparata u cilju njihovog mogućeg uticaja na morfološke, produktivne i kvalitativne osobine industrijskog bilja. Istraživanja su sprovedena u periodu od 2015. do 2023. godine, kako na otvorenom polju, tako i u laboratorijskim uslovima. U grupi industrijskog bilja ispitivane su uljane, proteinske, lekovite, aromatične i začinske biljke. U ovom radu je prikazan uticaj određenih biopreparata na tretman semena organske soje pre setve i u toku gajenja. Za tu namenu korišćene su mešavine mikrobioloških sojeva kao što su: *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus simplex*, *Bacillus amiloliquefaciens*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus megatherium*, *Bradyrhizobium japonicum* i *Azotobacter chroococum*, uz dodatak tečnih đubriva biljnog porekla obogaćenih K, Ca i Mg. Primena mikrobioloških sojeva i tečnih đubriva obogaćenih K, Ca i Mg pri gajenju organske soje značajno utiče na povećanje sadržaja proteina i biljnih ulja u soji, kao i na vrednosti morfoloških parametara i prinosa u usevu organski proizvedene soje. Mikrobiološki preparati imaju potencijal da doprinesu razvoju održivih poljoprivrednih sistema. Upotreba odabranih mikrobioloških kultura za tretman tokom inokulacije zemljišta i semena pri gajenju industrijskog bilja, ogleda se u poboljšanju nutritivnih i funkcionalnih svojstava biljaka koje su odličan izvor vrednih sastojaka hrane.

Ključne reči: *Glycine max*, biopreparati, *Bacillus* sp., *Bradyrhizobium japonicum*, *Azotobacter chroococum*, industrijsko bilje.

Uvod

Praksa inokulacije bakterijama koje podstiču rast biljaka (PGPB-plant growth promoting bacteria) je predložena kao dobro biotehnološko sredstvo za poboljšanje performansi biljaka i ublažavanje stresa od teških metala (Armenđariz, 2019). Bakterijske kulture se koriste kao mikrobiološka đubriva i predstavljaju dostu-

pan, ekološki prihvatljiv, izvor nutrijenata za biljke, pri čemu povećavaju njihov rast, prinos i imaju potencijal da doprinesu razvoju održivih poljoprivrednih sistema (Dimitrijević et al., 2018). Dodatna vrednost đubriva zavisi od karakteristika korišćenih mikrobioloških vrsta, a od posebnog značaja je uključivanje vrsta koje

Originalni naučni rad (Original Scientific Paper)

¹ Dimitrijević S (0000-0001-8729-6307), Filipović V (0000-0002-7081-8217), Institut za proučavanje lekovitog bilja „Dr Josif Pančić“, T. Koščuška 1, 11000 Beograd, Srbija

² Buntić A (0000-0002-7068-1804), Ugrenović V (0000-0001-6642-8235), Institut za zemljište, Teodora Dražera 7, 11000 Beograd, Srbija

³ Milić M (0000-0002-1528-4283), Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu, Karnegijeva 4, 11000 Beograd, Srbija

⁴ Popović V (0000-0002-7701-9928), Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad, Srbija

⁵ Perić V (0000-0001-8269-017X), Institut za kukuruz „Zemun Polje“, Slobodana Bajića 1, 11185 Beograd, Srbija

*e-mail: sdimitrijevic@mocbilja.rs

poseduju sposobnost kontrole biljnih patogena. Pored ove funkcije bakterije se mogu koristiti u zaštiti bilja, naročito u organskoj proizvodnji (Filipović i sar., 2020).

U literaturi je zabeleženo da *Bacillus* sp. vrste podstiču rast industrijskog bilja kao što su soja, šećerna repa, kukuruz (Fürnkranz et al., 2012), pirinač (de Souza et al., 2014) i mnoge druge biljne vrste, vezivanjem atmosferskog azota i proizvodnjom fitohormona i biocidnih supstanci, pri čemu pomažu u kontroli fitopatogena. Soj *B. licheniformis* pokazao je najbolji potencijal za ugradnju u formulacije bioinokulatora za poboljšanje performansi soje u uslovima alkalnog zemljišta (Roriz et al., 2023). Takođe je, u istraživanjima Dimitrijević et al. (2018), pronađeno da bakterijski sojevi *Paenybacillus chitinolyticus* CKS1, *Hymenobacter* sp. CKS3, *Streptomyces fulvissimus* CKS7, koji su korišćeni u gajenju uljanog lana, imaju pozitivan uticaj na sastav esencijalnih masnih kiselina i povećavaju vrednosti α -linolenske kiseline ω -3 (ALA) u masnom ulju semena, dok tokom gajenja crnog kima povećavaju vrednosti esencijalnih masnih kiselina, naročito linolne C18:2 u masnom ulju semena.

Soja (*Glycine max*) je važna proteinsko-uljana mahunarka i predstavlja jednu od naših najvažnijih biljaka za tehničku preradu u različitim vrstama industrije. Popović (2010) navodi da 100 g zrna soje ima 1.787kJ energetske vrednosti kao i da sadrži 38% ukupnih proteina, 19% ulja i 26% ugljenih hidrata. Važan je uljani usev i u velikoj meri se koristi kao sirovina za pripremu stočne hrane i čini 58% ukupne svetske proizvodnje na 134 miliona ha sa prosečnim prinosom oko 2,6 t ha⁻¹ i najvećom proizvodnjom u zemljama Južne Amerike (FAOSTAT, 2023). Seme soje je bogato esencijalnim izvorom dijetetskih proteina, ulja i minerala za ljude i životinje. U svetu je stvoreno preko 3.500 sorti koje se odlikuju različitim proizvodnim osobinama. Značajna uloga soje je za proizvodnju prehrambenih proizvoda i aditiva, zatim u in-

dustriji guma, boja, lakova, lepkova, u farmaceutskoj industriji i sve je popularnija sirovina za proizvodnju biodizela. Agrotehnički značaj soje je u njenom simbioznom odnosu s efektivnim sojevima nitrogenih kvržičnih bakterija kao što je *Bradyrhizobium japonicum*. Primenom mikrobiološkog biofertilizatora na seme soje maksimalno se koristi prirodni proces simbiotne fiksacije azota u gajenju soje i smanjuje upotreba mineralnog azota, čime se ostvaruje ekonomski i ekološki efekat u proizvodnji soje (Stevanović i sar., 2016). Biološka fiksacija N je posebno značajna u organskim sistemima gajenja, gde je aplikacija N iz konvencionalnih izvora (mineralnih đubriva) ograničena (Pandey et al., 2017).

Đubrenje soje azotom je kompleksna problematika, imajući u vidu da soja deo azota može obezbediti fiksacijom atmosferskog N, kao i da prekomerno N đubrenje može dovesti do poleganja biljaka, produženja vegetacionog perioda i otežanog sazrevanja. Doze đubriva veće od 60 kg N po ha ne dovode do povećanja u prinosu zrna, a povećanje sadržaja proteina u zrnu sa većim dozama N nije značajno da bi bilo ekonomski opravdano (Perić i sar., 2009). Jedan od uslova za postizanje visokih i stabilnih prinosa je pravilna ishrana azotom i predsetvena inokulacija (tretiranje) semena mikrobiološkim preparatom-biofertilizatorom, neposredno pred setvu soje (Hrustić i sar., 1998; Glamočlija i sar., 2015). Različiti sojevi kvržičnih bakterija poput *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium elkani* i *Sinorhizobium fredii* izolovani sa korena soje, u značajnoj meri doprinose bilansu azota u zemljištu i popravljaju produktivne osobine kako soje, tako i narednog useva na parceli (Martinez Romero and Caballero-Mellado, 1996; Cernay et al., 2018). Stoga je cilj naših istraživanja bio da se isprati mogući uticaj i za praksu preporuči neki od komercijalnih preparata na bazi bakterija i makro-, te mikroelemenata za gajenje organski proizvedene soje.

Materijal i metode

Poljski ogled

Eksperiment u polju izveden je u toku 2023. godine na proizvodnim parcelama organskog proizvođača Ilije Stančua u Pančevu na zemljištu tipa karbonatni černoziem na lesnoj terasi (44°90'22"N; 20°69'43"E; 84 m.n.v.). Predusev soji je bila ozima pšenica. Za potrebe ogleda korišćena je sorta soje II grupe zrenja Rubin (Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Srbija). Sorta se odlikuje srednjevisokim stablom, zrnom umerene krupnoće sa semenjačom i hilumom žute boje i povišenim sadržajem proteina. Seme ove sorte je pogodna sirovina za proizvode za ljudsku ishranu. Setva je obavljena 05. maja 2023. godine. Međuredno rastojanje iznosilo je 50 cm, dok je razmak biljaka u redu bio 5,2 cm čime je obezbeđena gustina useva preporučena za sorte II grupe zrenja od 385.000 biljaka po hektaru. Tretmane u istraživanjima su predstavljali biopreparati upisani na Listu sredstava za ishranu bilja i oplemenjivača zemljišta koja se mogu koristiti u organskoj proizvodnji a koja se redovno ažurira, još od 2017. godine, od strane Radne grupe za izradu i godišnje ažuriranje Ministarstva poljoprivrede, vodoprivrede i šumarstva Republike Srbije. U ogledu su korišćena dva biopreparata: Rizol za soju: (*Bradyrhizobium japonicum*, *Azotobacter chroococum* min 106/cm³) i Rizokyl Simplex: (*Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus simplex*, *Bacillus amiloliquefaciens*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus megatherium* 1x10⁸CFU/ml). Rizol za soju korišćen je za tretman semena soje pre setve, dok je Rizokyl simplex primenjen kao folijarno đubrivo. Uz ove mikrobiološke preparate su primenjene i tri varijante tečnog organskog azotnog đubriva - Myr Kalijum (K₂O 12%, organski N 3%, organski C 11%, biljne aminokiseline 7%), Myr Calcium Bor (organski N 3%, CaO 5%, B 1%, organska materija 31.5%) i Myr Magnesium (MgO 5%, organski N 3%, organski C 20.3%, biljne aminokiseline 7,7%)

pogodnog za organsku proizvodnju prema EC Reg. 834/2007.

Poljski mikroogled površine osnovne parcele iznosio je 10,8 m² (6 m x 1,8 m) a površina obračunske parcele iznosila je 5,4 m². Ogledi su postavljeni po metodi potpunog, slučajnog blok sistema u četiri ponavljanja i to:

Tretman 0: Kontrola bez tretiranja.

Tretman I: Pre setve Rizol za soju (200 ml Rizola + 250 ml vode) izmeša se sa potrebnom količinom semena soje za 1ha (100 kg) + nakon mesec dana folijarno u fazi prve troliske i nakon mesec i po dana folijarno u fazi treće troliske sa Myr Kalijum 3,0 l ha⁻¹ + RIZOKYL Simplex 2,5 l ha⁻¹.

Tretman II: Pre setve Rizol za soju (200 ml Rizola + 250 ml vode) izmeša se sa potrebnom količinom semena soje za 1ha (100 kg) + nakon mesec dana folijarno u fazi prve troliske i nakon mesec i po dana folijarno u fazi treće troliske sa Myr Calcium Bor 3,0 l ha⁻¹ + RIZOKYL Simplex 2,5 l ha⁻¹.

Tretman III: Pre setve Rizol za soju (200 ml Rizola + 250 ml vode) izmeša se sa potrebnom količinom semena soje za 1ha (100 kg) + nakon mesec dana folijarno u fazi prve troliske i nakon mesec i po dana folijarno u fazi treće troliske sa Myr Magnesium 3,0 l ha⁻¹ + RIZOKYL Simplex 2,5 l ha⁻¹.

Pre žetve, u fazi pune zrelosti biljaka (R8) od svakog tretmana uzeti su uzorci od 30 biljaka po ponavljanju. Žetva je obavljena početkom oktobra, ručno. Uzorci su poslužili za merenje osobina biljaka: broj nodula, visina biljaka (cm), broj mahuna po biljci, broj zrna po mahuni, masa biljke (g) i prinos doradenog semena je meren po elementarnoj parceli i preračunat u kg ha⁻¹. Energija kljavosti (%), ukupna kljavost (%) i masa 1000 zrna je izmerena na osnovu uzorka po ponavljanjima tretmana nakon dorade.

Uzorkovanje zemljišta

Uzorci su uzeti na kraju poljskog eksperimenta 2023. godine sa dubine od 20 cm i korišćeni su za analizu hemijskih i mikrobioloških osobina zemljišta. Za hemijsku analizu uzeto je pet poduzoraka iz svakog tretmana, a zatim pomešano da bi se napravio kompozitni uzorak za svaki tretman. Svi sakupljeni uzorci zemljišta su osušeni na vazduhu i prosejani kroz sito od 2,0 mm. Uzorci podvrgnuti mikrobiološkim analizama uzeti su metodom raspršenog uzorka prema Vojinović i sar. (1966).

Mikrobiološka analiza

Mikrobiološka analiza uzoraka zemljišta obuhvatala je analizu šest grupa mikroorganizama: ukupne mikroflore, ukupnog broja gljiva, aktinomiceta, amonifikatora, azotobaktera i oligonitrofila. Broj mikroorganizama je određen metodom razblaženja i izražen je jedinicama koje formiraju kolonije (CFU) ili najverovatnijim brojem (MPN). Ukupan broj mikroorganizama je određen metodom zasejavanja na agarizovanom ekstraktu zemljišta, gljiva na podlozi Čapek, aktinomiceta na sintetičkom agaru sa saharozom po Krasiljnikovu i oligonitrofila na podlozi po Fjodorovu. Broj amonifikatora i Azotobacter sp. određivani su u tečnom medijumu sa asparaginima i manitolom (Stajković-Srbinić i sar., 2018; Sarić, 1989; Govedarica i Jarak, 1996; Vojinović i sar., 1966).

Energija klijanja i ukupna klijavost

Istraživanja su sprovedena u laboratoriji za semenarstvo Instituta za proučavanje lekovitog bilja "Dr Josif Pančić" u Pančevu, a prema Pravilniku o kvalitetu semena poljoprivrednog

bilja (Službeni glasnik RS, 2013). Ispitivane su energija klijanja (EK) i ukupna klijavost (UK) u Petri – posudama na filter papiru na konstantnoj temperaturi od 20 °C uz osvetljenje 12/12 časova naizmenično. Ispitivanje je rađeno za svaku varijantu u četiri ponavljanja sa po 100 semena u ponavljanju. Energija klijanja (EK) utvrđena je nakon 4 dana a ukupna klijavost (UK) nakon 10 dana. Masa 1000 zrna je izmerna na osnovu uzorka po ponavljanjima tretmana nakon dorade.

Određivanje sadržaja proteina i ulja u zrnu

Standardnim metodama analiziran je sadržaj masnog ulja u zrnu (Metoda po Soxhlet-u), kao i sadržaj ukupnog azota u zrnu (Metoda po Kjeldahl-u sa sumpornom kiselinom kao rastvaračem, proizvođačka specifikacija Gerhardt, 2003). Da bi se dobio sadržaj ukupnih proteina, uvodi se Faktor korekcije koncentracije proteina (%) gde je $F = \text{azot \%} * 6,25$ (vrednost sa kojom se vrši preračunavanje azota u proteine). Rezultati su izraženi kao % ulja, azota i proteina u suvoj masi semena. Određivanje sadržaja ulja i proteina obavljeno je u Laboratoriji za ispitivanje biljnih materijala i proizvoda, Odeljenje za alternativne kulture i organsku proizvodnju, Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu.

Statistička analiza

Dobijeni rezultati prikazani su parametri deskriptivne statistike (srednja vrednost, standardna devijacija, koeficijent varijacije i opseg vrednosti), korišćenjem paketa Origin Pro 9.0 (Microcal Software Inc., Northampton, MA, USA).

Rezultati i diskusija

Ukupan broj mikroorganizama se kretao od $1,67-4,00 \times 10^6$ CFU/g suvog zemljišta u uzorcima. *Azotobacter* nije otkriven ni u jednom uzorku zemljišta. Prisustvo aktinomiceta i gljivi-

vica je povećano u poređenju sa kontrolom u tretmanu I i II, odnosno tretmanu II i III (Tabela 1). Primena različitih mikrobioloških đubriva i organskih supstrata može imati značajan uticaj

na količinu i sastav (bioraznovrsnost) mikrobioloških zajednica zemljišta, što je povezano i podložno fizičko-hemijskim promenama u svojstvima zemljišta i agroekološkim uslovima sredine (Envall et al., 2005; Mader et al., 2002). Dobijeni rezultati o mikrobiološkim svojstvima uzoraka zemljišta ukazuju da primenjeni tretmani nisu negativno uticali na biogenost zemljišta. Analizirajući dobijene rezultate pozitivan uticaj

na pojedine vrste mikroorganizama imala je primena kombinacije Rizol+Myr K+ Rizokyl Simplex, pri kojoj je zabeležen povećan sadržaj aktinomiceta ($6,33 \times 10^4$ CFU) i oligonitrofila (39×10^5 CFU), što je značajno imajući u vidu činjenicu da su ovi mikroorganizmi odgovorni za bilans azota u zemljištu i atmosferskog azota za zadovoljenje potreba biljaka u pristupačnim oblicima azota.

Tabela 1. Uticaj primenjenih tretmana na mikrobiološka svojstva zemljišta

Table 1. Effect of the applied treatments on the microbiological properties of the soil

Uzorak/Tretmani	Ukupan broj mikroorganizama $\times 10^6$ CFU	Aktinomicete $\times 10^4$ CFU	Fungi $\times 10^4$ CFU	Amonifikatori $\times 10^5$ MPN	Oligonitrofilni $\times 10^5$ CFU
Kontrola	1,67	1,67	1,33	9,50	41,67
Rizol+Myr K + Rizokyl Simplex	2,33	6,33	2,33	3,00	39,00
Rizol+Myr Ca + B + Rizokyl Simplex	4,00	4,33	5,00	3,00	24,67
Rizol+Myr Mg + Rizokyl Simplex	3,66	0,33	4,67	0,40	4,00

CFU – colony forming units; MPN – most probable number; CFU/g of dry soil or MPN/g of dry soil

Rezultati oglada sa biopreparatima (Tabela 2) u usevu soje pokazuju pozitivan trend u svim tretiranim uzorcima sa odabranim preparatima u odnosu na kontrolnu – netretiranu varijantu, a koji se ogleda u povećanju broja nodula, broja zrna po mahuni, mase cele biljke i prinosa doradenog semena. U istraživanjima Roriz et al. (2023) evidentirano je da se inokulacijom semena soje sa *B. licheniformis* P2.3 povećava broj mahuna za 33% u odnosu na kontrolnu varijantu. Istraživanja Moretti et al. (2021) poka-

zuju da inokulacija soje sa *Bradyrhizobium* spp. i *Azospirillum brasilense* sojevima mogu ublažiti oksidativna oštećenja tokom sušnih perioda, štaviše, mešavina ovih bakterija je poboljšala nodulaciju soje, rast i razviće biljaka i prinos zrna za 12,2%. U prethodnim istraživanjima (Dimitrijević i sar., 2022), utvrđen je pozitivan uticaj primene mikrobioloških sojeva *Streptomyces*, *Paenibacillus* i *Himenobacter* koji se ogleda u poboljšanju morfoloških karakteristika, prinosa i kvaliteta semena uljanih biljnih vrsta.

Tabela 2. Vrednosti morfoloških parametara sa biopreparatima u usevu soje

Table 2. Values of morphological parameters with biopreparations in the soybean crop

	Bn	I	Vb	I	Bm	I	Bz	I	M	I	Pr	I
K	15,5	100,0	84,9	100,0	113,5	100,0	2,7	100,0	258,1	100,0	1800	100
T1	23,5	151,6	94,5	111,3	150,2	132,3	3,0	111,0	318,7	123,5	2340	130
T2	21,7	140,0	83,7	98,6	106,2	93,6	2,8	105,1	263,7	102,2	2070	115
T3	25,5	164,5	76,0	89,5	103,5	91,2	2,7	101,5	267,5	103,6	1980	110
St.dev.	5,2		8,1		37,3		0,4		94,5		238,7	
Prosek	21,6		84,8		113,5		2,7		258,1		2047,5	
C _v (%)	24,2		9,6		32,9		15,5		36,6		11,7	

K – kontrola; T1– tretman 1 (Rizol+Myr K + Rizokyl Simplex); T2 – tretman 2 (Rizol+Myr Ca + B + Rizokyl Simplex); T3 – tretman 3(Rizol+Myr Mg + Rizokyl Simplex); Bn – broj nodula; I – indeks; Vb – visina biljke (cm); Bm – broj mahuna na biljci; Bz – broj zrna po mahuni; M – masa biljke (g); Pr – prinos doradenog semena (kg ha-1)

Kada se sagleda uticaj tri tipa tečnih azotnih đubriva obogaćenih mikro- i makro- elementima (K, Ca, B i Mg) primenjenih u toku vegetacije na komponente prinosa i prinos soje, svi ispitivani parametri biljaka (visina biljke, broj mahuna na biljci, broj zrna po mahuni, masa cele biljke i prinos doradenog semena u I tretmanu sa Rizolom, Myr K i Rizokyl Simplexom pokazuju veće vrednosti u odnosu na netretirane biljke u kontroli i prema ostale dve ispitivane varijante, osim u broju nodula čija je vrednost veća u varijanti sa Rizolom, Myr Mg

i Rizokyl Simplexom, gde je zabeleženo 25,5 nodula po biljci organske soje. Rezultati Gomides et al. (2023) sugerišu da su osobine visina biljke, broj mahuna po biljci, masa 1000 zrna i prinos zrna pod jakim pozitivnim uticajem nivoa primenjenog K-đubriva. Biljke koje su izložene nutritivnom stresu, kao što je nedostatak K u zemljištu, pokazuju niz morfoloških i fizioloških nedostataka, uključujući i sušenje i otpadanje mahuna uglavnom usled nedostatka turgora (Steiner et al., 2022).

Tabela 3. Vrednosti sadržaja proteina i ulja u semenu soje

Table 3. Values of protein and oil content in soybean seeds

Uzorak/Tretmani	Sadržaj proteina (%)	Sadržaj ulja (%)
Kontrola	35,50	14,38
Rizol+Myr K + Rizokyl Simplex	38,33	13,85
Rizol+Myr Ca + B + Rizokyl Simplex	36,33	15,13
Rizol+Myr Mg + Rizokyl Simplex	36,93	14,68
Stan dev.	1,35	0,71
Prosek	36,77	14,51
C _v (%)	3,69	4,92

Na osnovu prikazanih rezultata u Tabeli 3 može se zaključiti da je sadržaj proteina u semenu soje povećan u svim tretmanima u odnosu na kontrolu. Brojna istraživanja potvrđuju povećanje sadržaja proteina u zrnu soje inokulisane sojevima kvržičnih bakterija pred setvu (Jarecki, 2023; Flajšman et al., 2019; Wollmann et al., 2011). Tretman sa Rizolom, Myr K i Rizokyl Simplexom (38.33%) doveo je do povećanja proteina od 7,97% u odnosu na kontrolnu varijantu. Pande et al. (2014) su konstatovali povećanje sadržaja proteina u zrnu soje od 1,2-1,7% nakon folijarne primene đubriva sa K ističući nezamenljivu ulogu K u transportu sintetisanih aminokiselina u zrno. Imajući u vidu negativnu korelaciju između sadržaja proteina i ulja u zrnu soje, najniža vrednost koncentracije ulja u ovom tretmanu bila je i očekivana. Sadržaj ulja je bio najveći u tretmanu sa Rizolom, Myr Ca i B i Rizokyl Simplexom i u proseku iznosio 15,13%

ulja. Folijarna ili zemljišna primena bora značajno utiče na prinos zrna, sadržaj ulja i sastav masnih kiselina pri gajenju soje (Hamurcu et al., 2019; Bellaloui, 2011). Hrustić i sar. (1998) ističu da, zbog značajne sinteze ukupnih proteina, soja ima velike potrebe za azotom, ali kao biljka azotofiksator najveći deo ovih potreba obezbeđuje azotofiksacijom. Obilnijom azotom ishranom ostvaruju se veći prinosi zelene biomase i zrna, ali i manji sadržaj ulja u zrnu na račun povećanog sadržaja ukupnih proteina (Glamočlija, 2006; Popović i sar., 2012), što je u skladu i sa našim rezultatima.

Rezultati energije klijanja (EK), ukupne klijavosti (UK), kao i mase 1000 semena (Tabela 4), pokazuju najveće vrednosti u III tretmanu sa Rizolom, Myr Mg i Rizokyl Simplexom kao i u I tretmanu sa Rizolom, Myr K i Rizokyl Simplexom u odnosu na kontrolu.

Tabela 4. Pokazatelji kvaliteta semena
Table 4. Indicators of seed quality

Uzorak/Tretmani	Energija klijanja (%)	Ukupna klijavost (%)	Masa 1000 semena (g)
Kontrola	85,90	95,90	150,59
Rizol+Myr K + Rizokyl Simplex	89,50	96,80	171,12
Rizol+Myr Ca + B + Rizokyl Simplex	81,80	93,30	163,25
Rizol+Myr Mg + Rizokyl Simplex	90,30	98,80	174,02
Stan dev.	5,32	2,77	10,37
Prosek	85,90	95,90	164,74
C _v (%)	6,19	2,90	6,30

Značajno je istaći da su soj *Bacillus licheniformis*, čiji smo uticaj ispitivali u tretmanima sa preparatom Rizokyl Simplexom, takođe koristili i istraživači James et al. (2023) pri gajenju paradajza. U njihovim istraživanjima primećeno je da je procenat iskljalih semena paradajza bio veći u tretiranom semenu sa *Bacillus licheniformis* u poređenju sa kontrolom. Takođe je test klijanja semena paradajza pokazao značajno povećanje dužine korena i dužine izdanaka tretiranih biljaka

u poređenju sa kontrolnim biljkama, čime su istakli upotrebu ovog soja kao zelenog bioinokulanta u poljoprivredi. U istraživanjima Raza et al. (2024) nađeno je da je uticaj oblaganja semena graška mešavinom tri bakterijska soja *B. subtilis* (IS1), *B. amyloliquificiens* (IS6) i *B. fortis* (IS7) pokazao značajan pozitivan efekat na klijavost semena, visinu sadnice i akumulaciju biomase sadnice graška.

Zaključak

Rezultati oglada gajenja organske soje uz tretman mikrobiološkim preparatima i tečnim đubrivima biljnog porekla obogaćenih K, Ca i Mg, pokazuju pozitivnu tendenciju u svim tretiranim uzorcima sa preparatima u odnosu na kontrolu. Njihovom primenom pri gajenju značajno se povećava sadržaj proteina u zrnu, kao i vrednosti morfoloških parametara useva soje na koje je naročito imao uticaj tretman sa Rizolom, Myr K i Rizokyl Simplexom. Najveći sadržaj ulja u zrnu soje je nađen u tretmanu gde je primenjena kombinacija sa Rizolom, Myr Ca

i B i Rizokyl Simplexom. Najveće vrednosti EK, UK i mase 1000 semena zabeležene su u tretmanu sa Rizolom, Myr Mg i Rizokyl Simplexom. Generalno, primenom mikrobioloških preparata obogaćenih sa makro- i mikro- elementima, povećava se biološka aktivnost zemljišta, te produktivnost biljke i kvalitet zrna soje, što ima poseban značaj u organskoj proizvodnji, imajući u vidu stroga ograničenja primene konvencionalnih đubriva i limitiranu primenu mera zaštite.

Zahvalnica

Rad predstavlja deo rezultata istraživanja u okviru ugovora 451-03-66/2024-03/200003, 200135, 200011, 200032 i 200040, finansiranih

od strane Ministarstva nauke, tehnološkog razvoja i inovacija Republike Srbije.

Doprinos autora

Konceptualizacija, S.D., V.F.; Metodologija, S.D., V.F., A.B.; Priređivanje podataka, S.D., V.F.; Formalna analiza, S.D., V.F., A.B.; Istraživanje, S.D., V.F.; Resursi, S.D., V.F.; Upravljanje projektom, S.D.; Vizualizacija, S.D., V.F., A.B.,

M.M., V.U., V.P., V.P.; Nadzor, S.D., V.F., A.B., M.M., V.U., V.P., V.P.; Validacija V.P., V.P.; Pisanje — originalna priprema nacрта rada, S.D., V.F.; Pisanje — pregled i uređivanje, S.D., V.F., V.P.

Literatura

Armendariz AL, Talano MA, Nicotra MFO, Escudero L, Bresler ML, Porporatto C, Agostini E (2019): Impact of double inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* E109 and *Azospirillum brasilense* Az39 on soybean plants grown under arsenic stress. *Plant Physiol. Biochem.* 138: 26-35. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.02.018>

Bellaloui N (2011): Effect of Water Stress and Foliar Boron Application on Seed Protein, Oil, Fatty Acids, and Nitrogen Metabolism in Soybean. *Am. J. Plant Sci.* Vol. 2 (5): 692-701. <https://doi.org/10.4236/ajps.2011.25084>

Cernay C, Makowski D, Pelzer E (2018): Preceding cultivation of grain legumes increases cereal yields under low nitrogen input conditions. *Environ. Chem. Lett.* 16: 631-636. <https://doi.org/10.1007/s10311-017-0698-z>

De Souza R, Meyer J, Schoenfeld R, da Costa PB, Passaglia LMP (2014): Characterization of plant growth-promoting bacteria asso-

ciated with rice cropped in iron-stressed soils. *Ann. Microbiol.* Vol 65 (2): 951-964. <https://doi.org/10.1007/s13213-014-0939-3>

Dimitrijević S, Pavlović M, Maksimović S, Ristić M, Filipović V, Antonović D, Dimitrijević-Branković S (2018): Plant growth promoting bacteria elevate the nutritional and functional properties of Black cumin and Flaxseed fixed oil. *J. Sci. Food Agric.*, Vol 98 (4): 1584-1590. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8631>

Dimitrijević S, Filipović V, Milić M, Dimitrijević-Branković S, Buntić A, Ugrenović V, Popović V (2022): Ispitivanje fitostimulativnog delovanja bakterijskih sojeva tokom gajenja uljanog lana i crnog kima. Selekcija i semenarstvo/Plant breeding and seed production, Vol 28 (2): 30-38. <https://doi.org/10.5937/SelSem2202030D>

Enwall K, Philippot L, Hallin S (2005): Activity and composition of the denitrifying

- bacterial community respond differently to long-term fertilization. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol 71 (12): 8335-8343. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.12.8335-8343.2005>
- FAOSTAT (2023): Dostupno na <https://www.fao.org/>
- Filipović V, Ugrenović V, Jevremović S, Dimitrijević S, Pavlović M, Popović V, Dimitrijević S (2020): Biokontrola ekonomski značajnih bolesti u cilju povećanja prinosa semena nevena i odoljena i krtola krompira. *Sel. i Semen./ Plant breed. and Seed Prod.* Vol 26 (1): 38-51. <https://doi.org/10.5937/SelSem2001038F>
- Flajšman M, Šantavec I, Kolmanić A, Kocjan Ačko D (2019): Bacterial seed inoculation and row spacing affect the nutritional composition and agronomic performance of soybean. *Int. J. Plant Prod.* 13: 183-192. <https://doi.org/10.1007/s42106-019-00046-8>
- Fürnkranz M, Adam E, Müller H, Grube M, Huss H, Winkler J, Berg G (2012): Promotion of growth, health and stress tolerance of Styrian oil pumpkins by bacterial endophytes. *Eur. J. Plant Pathol.* Vol 134 (3): 509-519. <https://doi.org/10.1007/s10658-012-0033-2>
- Gomides JFFB, Leite MdS, Steiner F, Zuffo AM, Aguilera JG, Ratke RF, Gonzales HL, Garcia WEV, López LMS, Aranibar CGM et al. (2023): Identification of Modern High-Yield Soybean Genotypes for Potassium-Use Efficiency in Sandy Soil of the Brazilian Cerrado. *Agronomy*, Vol 13 (10): 2639. <https://doi.org/10.3390/agronomy13102639>
- Govedarica M, Jarak M. (1996): *Praktikum iz mikrobiologije*, 2nd ed. Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, Srbija.
- Steiner F, Zuffo AM, Oliveira CES, Ardon HJV, Sousa TO, Aguilera JG (2022): Can potassium fertilization alleviate the adverse effects of drought stress on soybean plants? *J. Agribus. Environ.* 15: e8240. <https://doi.org/10.17765/2176-9168.2022v15n1e8240>
- Glamočlija Đ (2006): *Specijalno ratarstvo*. Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Glamočlija Dj, Janković S, Popović V, Filipović V, Kuzevski J, Ugrenović V (2015): Alternativne ratarske vrste u konvencionalnom i organskom sistemu gajenja. *IPN-Beograd, Srbija*, 150-157.
- Hamurcu M, Arslan D, Hakki EE, Ozcan MM, Pandey A, KhanMK, GezginS (2019): Boron application affecting the yield and fatty acid composition of soybean genotypes. *Plant, Soil and Environment*, 65(5): 238-243. <https://doi.org/10.17221/679/2018-PSE>
- Hrustić M, Vidić M, Jocković Đ (1998): *Soybean*. Institute of Field and vegetable crops, Novi Sad.
- James N, Umesh M, Sarojini S, Shanmugam S, Nasif O, Alharbi SA, Brindhadevi K (2023): Unravelling the potential plant growth activity of halotolerant *Bacillus licheniformis* NJ04 isolated from soil and its possible use as a green bioinoculant on *Solanum lycopersicum* L. *Environ. Res.* 216: 114620. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.114620>
- Mäder P, Fließbach A, Dubois D, Gunst L, Fried P, Niggli U (2002): Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science*, Vol 296 (5573): 1694-1697. <https://doi.org/10.1126/science.1071148>
- Martinez-Romero E, Caballero Mellado J (1996): Rhizobium phylogenies and bacterial genetic diversity. *Crit. Rev. Plant Sci.* 15: 113-140. <https://doi.org/10.1080/07352689.1996.10393183>
- Moretti LG, Crusciol CAC, Bossolani JW, Calonego JC, Moreira A, Garcia A, Hungria M (2021): Beneficial microbial species and metabolites alleviate soybean oxidative damage and increase grain yield during short dry spells. *Eur. J. Agron.* 127: 126293. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2021.126293>
- Sarić Z (1989): *Praktikum iz mikrobiologije*. Naučna knjiga, Beograd, Srbija.
- Službeni glasnik RS (2013): Pravilnik o kvalitetu semena poljoprivrednog bilja ("Sl. list SFRJ", br. 47/87, 60/87, 55/88 i 81/89, "Sl. list SRJ", br. 16/92, 8/93, 21/93, 30/94, 43/96, 10/98, 15/2001 i 58/2002 i "Sl. glasnik RS", br. 23/2009, 64/2010, 72/2010 i 34/2013).
- Stajković-Srbinić O, Buntić A, Rasulić N, Kuzmanović Đ, Dinić Z, Delić D, Mrvić V (2018): Microorganisms in soils with elevated heavy metal concentrations in southern Serbia. *Arch. Biol. Sci.* Vol 70 (4): 707-716. <https://doi.org/10.2298/ABS180504034S>
- Stevanović P, Popović V, Ikanović J, Sikora V, Filipović V, Ugrenović V, Tabaković M

- (2016): Efekat lokaliteta, azotnih hraniva i inokulacije semena biofertilizatorom NS Nitragin-om na produktivnost komponente prinosa soje (*Glycine max*). Zbornik radova XXX Savetovanja agronoma, veterinara, tehnologa i agroekonomista, 22 (1-2): 85-95.
- Pandey A, Li F, Askegaard M, Olesen JE (2017): Biological nitrogen fixation in three long-term organic and conventional arable crop rotation experiments in Denmark. *Eur. J. Agron.* 90: 87-95. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2017.07.009>
- Pande, M., Goli, M. B., Bellaloui, N. (2014): Effect of Foliar and Soil Application of Potassium Fertilizer on Soybean Seed Protein, Oil, Fatty Acids, and Minerals. *Am. J. Plant Sci.* Vol 5 (5): 541-548. <https://doi.org/10.4236/ajps.2014.55069>
- Perić V, Srebrić M, Jankulosk Lj, Jankuloska M, Žilić S, Kandić V, Drnić Mladenović S (2009): The effects of nitrogen on protein and trypsin inhibitor content of soybean. *Genetika*, 41 (2): 137-144. <https://doi.org/10.2298/GENSR0902137P>
- Popović V (2010): Agrotehnički i agroekološki uticaji na proizvodnju semena pšenice, kukuruza i soje. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Popović V, Tatić M, Đekić V, Kostić M, Ilić A (2012): Istraživanje produktivnosti i kvaliteta novostvorenih NS sorti i linija soje (*Glycine max* (L) Merr.) u području Pančeva. Bilten za alternativne biljne vrste, Vol 44 (85): 21-27.
- Raza A, Hassan A, Akram W, Anjum T, Ali B (2024): Seed coating with the synthetic consortium of beneficial *Bacillus* microbes improves seedling growth and manages *Fusarium* wilt disease. *Sci. Hortic.* 325: 112645. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112645>
- Roriz M, Pereira SI, Castro PM, Carvalho SM, Vasconcelos MW (2023): Impact of soybean-associated plant growth-promoting bacteria on plant growth modulation under alkaline soil conditions. *Heliyon*, Vol 9 (5): e14620. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14620>
- Vojinovic Z, Prsa M, Petrovic V, Saric Z, Todorovic M. (1966): Određivanje fizioloških grupa mikroorganizama i biološke sposobnosti zemljišta. In Tescic Z, Todorovic M (ed), Priručnik za ispitivanje zemljišta, Knjiga II, Mikrobiološke metode ispitivanja zemljišta i voda. Jugoslovensko društvo za proučavanje zemljišta, Beograd, Jugoslavija, 32-41.
- Vollmann J, Walter H, Sato T, Schweiger P (2011): Digital image analysis and chlorophyll metering for phenotyping the effects of nodulation in soybean. *Comput. Electron. Agric.* 75: 190-195. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2010.11.003>

THE EFFECTIVENESS OF DIFFERENT BIO PREPARATIONS ON THE SEED AND MARKET QUALITY OF ORGANIC PRODUCED SOYBEAN

Snežana Dimitrijević, Vladimir Filipović, Aneta Buntić, Marija Milić,
Vladan Ugrenović, Vera Popović, Vesna Perić

Summary

In the previous period, research was carried out with a focus on the application of various types of microbiological preparations in order to influence their possible influence on the morphological, productive and qualitative properties of industrial plants. Research was conducted in the period from 2015 to 2023 both in the open field and in laboratory conditions. In the group of industrial plants, oil, protein, medicinal, aromatic and spice plants were investigated. This paper shows the influence of certain biopreparations on the treatment of organic soybean seeds before sowing and during cultivation. For that purpose, mixtures of microbiological strains (*Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus simplex*, *Bacillus amiloliquefaciens*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus megatherium*, *Bradyrhizobium japonicum* and *Azotobacter chroococum*) were used, with the addition of liquid fertilizers of plant origin enriched with K, Ca and Mg. The use of microbiological strains in the cultivation of organic soybeans has a significant effect on increasing the content of proteins and vegetable oils in soybeans, as well as on the values of morphological parameters and yield in the crop of organically produced soybeans. Microbiological preparations have the potential to contribute to the development of sustainable agricultural systems. The use of selected microbiological cultures for treatment during the inoculation of soil and seeds in the cultivation of industrial plants is reflected in the improvement of the nutritional and functional properties of plants, which are an excellent source of valuable food ingredients.

Key words: *Glycine max*, biopreparations, *Bacillus* sp., *Bradyrhizobium japonicum*, *Azotobacterchroococum*, industrial plants.

Primljen: 28.12.2023.
Prihvaćen: 20.02.2024.