

EFEKAT PRIMENE INOKULACIJE BORANIJE NA PARAMETRE PRINOSA I MIKROBIOLOŠKU AKTIVNOST U RIZOSFERI

Mirjana Jarak¹, Simonida Đurić¹, Nataša Gluvić¹

REZIME

Sve veća popularizacija proizvodnje biljaka bez primene mineralnih đubriva i pesticida, kao i sposobnost mikroorganizama da obezbeđuju biljku potrebnim hranivima, ukazuje da će mikrobiološka đubriva zauzeti značajno mesto u poljoprivrednoj proizvodnji (Tyler at al., 2008). U svetlu tih istraživanja cilj rada je bio da se ispita uticaj *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* i *Azotobacter chroococcum* pojedinačno i u smeši sa *Streptomyces* sp. na parametre prinosa boranije i mikrobiološku aktivnost u rizosfernom zemljištu.

Mikrobiološke analize rađene su standardnom CFU metodom i određen je ukupan broj mikroorganizama, broj aktinomiceta i broj azotobaktera. Dehidrogenazna aktivnost zemljišta određena je spektrofotometrijskom metodom. U fazi pune zrelosti boranije određeni su broj mahuna po biljci i masa zrna po biljci kao osnovni parametri prinosa.

Ukupan broj bakterija i azotobaktera bio je najveći na varijanti s azotobakterom. Aktivnost dehidrogenaze bila je veća na varijantama s polivalentnim inokulumom dok je broj aktinomiceta bio veći na varijanti s rizobiumom

Broj mahuna po biljci je statistički značajno povećan na varijantama gde je primenjen rizobium i azotobakter a smeša inokulanata nije dala statistički značajne rezultate. Inokulacija je pozitivno uticala na masu zrna po biljci. Na varijantama gde je primenjen rizobium ili smeša inokulanata povećanje mase zrna bilo je statistički značajno.

Ključne reči: inokulacija, boranija, mikroorganizmi, dehidrogenaza, prinos

¹ Prof. Dr Mirjana Jarak, redovan profesor; dr Simonida Đurić, asistent; Nataša Gluvić, diplomac, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.

UVOD

Sve veća popularizacija proizvodnje biljaka bez primene mineralnih đubriva i pesticida, kao i sposobnost mikroorganizama da obezbeđuju biljku potrebnim hranivima, ukazuje da će mikrobiološka đubriva zauzeti značajno mesto u poljoprivrednoj proizvodnji (Tyler et al., 2008). Boranija (*Phaseolus vulgaris*) predstavljaju povrtarsku kulturu kod koje se za ishranu koristi mlada mahuna (tehnološki zrela). Kod nas se gaji na oko 7.000-10.000 ha kao prva i druga kultura u intenzivnom plodoredu (Đurovka et al., 1998). U simbiozi sa boranijom žive vrste *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*, *R. tropici*, *R. mongolense*, *R. gallicum*, *R. etli* (Oke and Long, 1999). U našim zemljištima zastupljena je vrsta *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* koja u simbiozi sa boranijom može da fiksira 25-120 kg N/ha, te se azotni bilans u zemljištu povećava za oko 100kg/ha godišnje (Wani et al., 1994; Jarak and Čolo, 2007).

Kako bi se dobilo kvalitetno mikrobiološko đubrivo, neophodna su detaljna istraživanja mikroorganizama, njihovih međusobnih odnosa kao i odnosa mikroorganizama i biljaka za čiju proizvodnju bi se mikrobiološko đubrivo primenilo (Zahir et al., 2003).

Cilj rada je bio da se ispita uticaj *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* i *Azotobacter chroococcum* pojedinačno i u smeši sa *Streptomyces* sp. na parametre prinosa boranije i mikrobiološku aktivnost u rizosfernom zemljištu.

MATERIJAL I METODE RADA

Ogled je postavljen na zemljištu tipa karbonatni černozem na oglednim parcelama Instituta za Ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu. Varijante ogleda bile su sledeće: 1. *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*; 2. *Azotobacter chroococcum*; 3. *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* + *Azotobacter chroococcum* + *Streptomyces* sp.; 4. Kontrola (bez inokulacije).

Inokulacija semena izvršena je pre setve sa 10 ml inokuluma na 100 g semena. Veličina ogledne parcele je bila 10 m².

Uzorci za mikrobiološke analize uzeti su u fazi cvetanja boranije (jul mesec) i u fazi pune zrelosti (septembar mesec).

Mikrobiološke analize rađene su standardnom CFU metodom (Wollum II, 1982) i određen je ukupan broj mikroorganizama, broj aktinomiceta i broj azotobaktera. Dehidrogenazna aktivnost zemljišta određena je spektrofotometrijskom metodom (Lenhard, 1956; modifikovano po Thalman-u, 1968).

U fazi pune zrelosti boranije određeni su broj mahuna po biljci i masa zrna po biljci kao osnovni parametri prinosa.

Svi dobijeni rezultati istraživanja su obrađeni analizom varijanse i LSD testom.

REZULTATI ISTRAŽIVANJA I DISKUSIJA

Uticaj inokulacije na mikrobiološku aktivnost u rizosferi boranije

Broj i aktivnost mikroorganizama zavisi od svojstava zemljišta, biljne vrste, agrotehničkih mera, faktora spoljne sredine i dr (Paul i Clark, 1989).

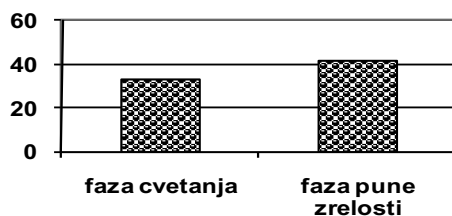
Ukupan broj bakterija je pokazatelj opšte biogenosti zemljišta. Brojnost u neutralnim zemljištima se kreće i do 10^7 u jednom gramu, a u alkalnim i kiselim zemljištima ima ih i do 10^4 u gramu zemljišta (Jarak i Đurić 2006).

U ovim istraživanjima ukupan broj bakterija kretao se u milionima u gramu zemljišta, što ukazuje da je zemljište visoke biološke aktivnosti. U fazi cvetanja najveći ukupan broj bakterija bio je na varijanti u kojoj je primenjen azotobakter, a najmanji na varijanti gde je primenjen rizobium. Međutim, u odnosu na kontrolu, razlike nisu bile statistički značajne. U fazi pune zrelosti boranije statistički značajno veći broj bakterija utvrđen je na varijanti sa primenom azotobaktera i na varijanti gde je primenjena smeša mikroorganizama, a najmanji broj je bio na varijanti gde je primenjen rizobium (tab. 1). Ako se posmatra samo period vegetacije, veći broj bakterija je bio u fazi pune zrelosti (graf. 1). Efekat inokulacije, kroz ceo vegetacioni period, na ukupan broj bakterija bio je najveći na varijanti sa azotobakterom, a najmanji na varijanti inokulacije sa rizobiumom (graf. 2).

Tabela 1: Uticaj inokulacije na ukupan broj bakterija pod usevom boranije u fazi cvetanja i pune zrelosti (10^6 /g zemljišta).

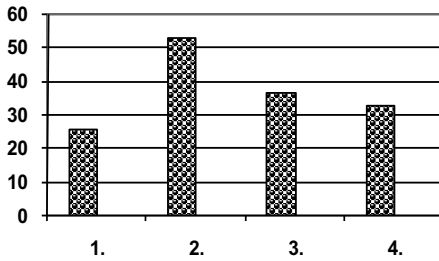
Table 1: The effect of inoculation on total number of bacteria under common bean crop in the blooming and full maturation stages (10^6 /g soil).

Varujante <i>Variants</i>		Faza cvetanja <i>Blooming stage</i>	Faza pune zrelosti <i>Full maturation stage</i>
Rhizobium spp.		26.50	24.53
Azotobacter spp.		38.07	73.20
Rh.+Azb.+ Act.		35.07	37.07
Kontrola - Control		34.20	30.72
LSD	1%	10.91	8.06
	5%	7.90	5.83



Graf.1: Uticaj perioda vegetacije na ukupan broj bakterija.

Graf.1: The effect of vegetation period on the total number of bacteria



Graf. 2: Uticaj inokulacije na ukupan broj bakterija: 1. Rhizobium; 2. Azotobacter; 3. Rhi+AzB+Act; 4. Kontrola.

Graf. 2: The effect of inoculation on the total number of bacteria: 1. Rhizobium; 2. Azotobacter; 3. Rhi+AzB+Act; 4. Control.

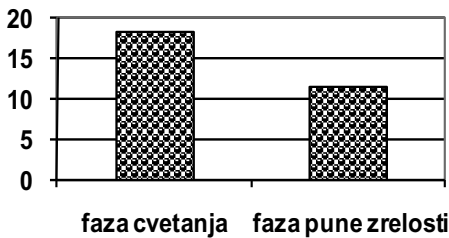
Aktinomicete imaju značajan udeo u mikroflori zemljišta i po brojnosti dolaze odmah iza pravih bakterija (Govedarica i Jarak,1995).

Na brojnost aktinomiceta u fazi cvetanja najbolji efekat imala je primena rizobiuma, a negativan efekat je pokazala inokulacija sa mešavinom bakterija. U fazi pune zrelosti boranije statistički značajno veći broj aktinomiceta utvrđen je kod sva tri tretmana inokulacije (tab. 2). Kada posmatramo po periodima vegetacije, veći broj aktinomiceta je bio je u fazi cvetanja (graf. 3). Tokom vegetacionog perioda najveći broj aktinomiceta je bio na varijanti inokulacije sa rizobiumom, a najmanji sa tretmanom smeše mikroorganizama (graf. 4).

Tabela 2: Uticaj inokulacije na brojnost aktinomiceta pod usevom boranije u fazi cvetanja i pune zrelosti (10^4 /g zemljišta)

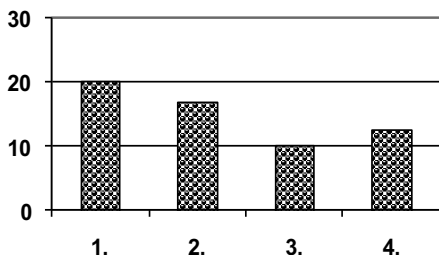
Table 2: The effect of inoculation on the number of actinomycetes under common bean crop in the blooming and full maturation stages (10^4 /g soil).

Varijante Variants		Faza cvetanja Blooming stage	Faza pune zrelosti Full maturation stage
Rhizobium spp.		24.98	15.50
Azotobacter spp.		18.30	15.57
Rh.+AzB.+ Act.		10.37	9.90
Kontrola - Control		20.23	4.89
LSD	1%	5.77	3.26
	5%	4.17	2.36



Graf. 3: Uticaj perioda vegetacije na broj aktinomiceta.

Graf.3: The effect of vegetation period on the number of actinomycetes.



Graf. 4: Uticaj inokulacije na broj aktinomiceta: 1. Rhizobium; 2. Azotobacter; 3. Rhi+Azb+Act; 4. Kontrola.

Graf. 4: The effect of inoculation on the number of actinomycetes: 1. Rhizobium; 2. Azotobacter; 3. Rhi+Azb+Act; 4. Control.

Bakterija roda *Azotobacter* vrše aerobnu slobodnu azotifikaciju u zemljištima i brojnost mu je veća u rizosferi biljaka gde je veća koncentracija organskih materija koje biljka izlučuje putem korena.

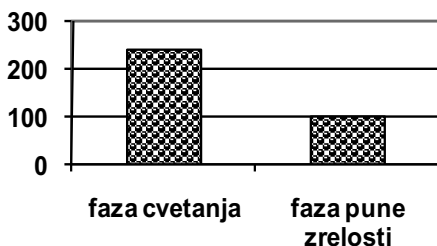
U ovim istraživanjima u fazi cvetanja najveći ukupan broj azotobaktera bio je na varijanti na kojoj je primenjen azotobakter, a najmanji na varijanti gde je primenjen rizobium. U odnosu na kontrolu razlike su bile statistički značajne. U fazi pune zrelosti statistički značajno veći broj azotobaktera utvrđen je na varijanti sa primenom azotobaktera i rizobiuma pojedinačno (tab.3).

Ako posmatramo samo period vegetacije, veći broj azotobaktera je bio u fazi cvetanja (graf. 5). Kroz ceo vegetacioni period, najveći broj azotobaktera bio je na varijanti inokulacije sa azotobakterom, a najmanji na varijanti inokulacije sa rizobiumom (graf. 6).

Tabela 3: Uticaj inokulacije na brojnost azotobaktera pod usevom boranije u fazi cvetanja i pune zrelosti (broj x 10² /g zemljišta).

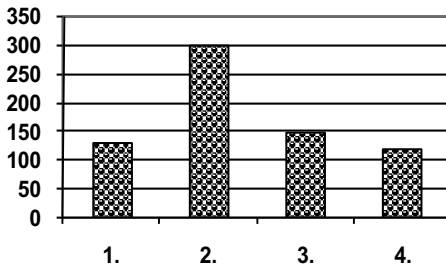
Table 3: The effect of inoculation on the number of azotobacter under common bean crop in the blooming and full maturation stages (10² /g soil).

Varijante <i>Variants</i>	Faza cvetanja <i>Bloomig stage</i>	Faza pune zrelosti <i>Full maturation stage</i>
Rhizobium spp.	193.37	65.17
Azotobacter spp.	463.82	128.48
Rh.+Azb.+ Act.	152.97	142.57
Kontrola - <i>Control</i>	161.38	76.48
LSD	1%	28.09
	5%	20.31



Graf. 5: Uticaj perioda vegetacije na broj azotobaktera.

Graf.5: The effect of vegetation peroid on the number of azotobacter.



Graf. 6: Uticaj inokulacije na broj azotobaktera: 1. Rhizobium; 2. Azotobacter; 3. Rhi+Azb+Act, 4. Kontrola.

Graf. 6: The effect of inoculation on the number of azotobacter: 1. Rhizobium; 2. Azotobacter; 3. Rhi+Azb+Act; 4. Control.

Najveći deo **enzima** u zemljištu je mikrobiološkog porekla. Njihovom aktivnosti se vrši sinteza i mineralizacija organske materije, te se enzimatska aktivnost može koristiti kao pokazatelj plodnosti zemljišta. Dehidrogenaze su konstitutivni enzimi svih mikroorganizama i na osnovu njihove aktivnosti može se dati procena opšte mikrobiološke aktivnosti zemljišta.

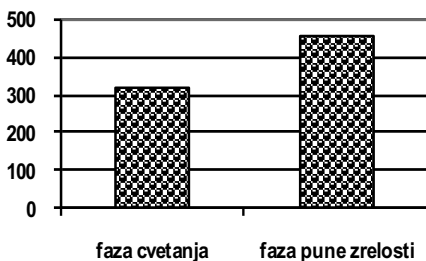
U ovim istraživanjima u fazi cvetanja najveća aktivnost enzima dehidrogenaze bila je na sve tri varijante inokulacije, a posebno inokulacija sa azotobakterom. U odnosu na kontrolu, razlike su bile statistički vrlo značajne (tab. 4). U fazi pune zrelosti takođe su sva tri tretmana inokulacije pozitivno uticala na aktivnost enzima dehidrogenaze, a najviše tretman sa mešavinom mikroorganizama.

Ako se posmatra samo period vegetacije, veća aktivnost enzima dehidrogenaze je bila u fazi pune zrelosti (graf. 7). Ako se posmatra efekat inokulacije kroz ceo vegetacioni period, najveća aktivnost enzima dehidrogenaze bila je na varijantama inokulacije sa mešom mikroorganizama, a najmanja na varijanti inokulacije sa azotobakterom (graf. 8).

Tabela 4: Uticaj inokulacije na aktivnost enzima dehidrogenaze pod usevom boranije u fazi cvetanja i pune zrelosti ($\mu\text{g TPF} / 10 \text{ g zemljišta}$).

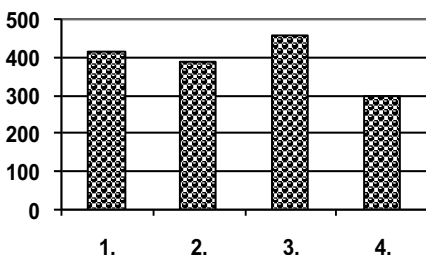
Table 4: The effect of inoculation on the dehydrogenase activity under common bean crop in the blooming and full maturation stages ($\mu\text{g TPF} / 10 \text{ g soil}$).

Varijante <i>Variants</i>	Faza cvetanja <i>Blooming stage</i>	Faza pune zrelosti <i>Full maturation stage</i>
Rhizobium spp.	358.33	478.00
Azotobacter spp.	342.17	441.50
Rh.+Azb.+ Act.	375.83	545.83
Kontrola - <i>Control</i>	226.83	368.33
LSD	1%	92.44
	5 %	66.85



Graf. 7: Uticaj perioda vegetacije na aktivnost dehidrogenaze.

Graf. 7: The effect of vegetation period on the dehydrogenase activity.



Graf. 8: Uticaj inokulacije na aktivnost dehidrogenaze: 1. Rhizobium; 2. Azotobacter; 3. Rhi+Azb+Act; 4. Kontrola.

Graf. 8: The effect of inoculation on the dehydrogenase activity: 1. Rhizobium; 2. Azotobacter; 3. Rhi+Azb+Act; 4. Control.

Uticaj inokulacije na parametre prinosa boranije

Broj mahuna po biljci je proizvodno svojstvo i ima direktan uticaj na prinos i ukazuje na uspešnost oplodnje jednog genotipa, te na taj način određuje visinu prinosa (Vasić, 2004.) U ovim istraživanjima inokulacija je pozitivno uticala na broj mahuna po biljci (tab. 6). Statistički značajno povećanje broja mahuna dobijeno je na varijantama gde je primenjen rizobium i azotobakter pojedinačno. Primena smeše inokulanata na broj mahuna nije dala statistički značajne rezultate u odnosu na kontrolu. Inokulacija je imala još bolji efekat na masu zrna po biljci. Masa zrna na inokulisanim varijantama je bila statistički značajno veća u odnosu na kontrolu (tab.9), pri čemu je najveća masa zrna bila na varijanti gde je primenjen rizobium.

Tabela 5: Uticaj inokulacije na broj mahuna i masu zrna po biljci (elemente prinosa boranije) u fazi pune zrelosti.

Table 5: The effect of inoculation on number of pods and grain mass per plant (parameters of common bean yield) in the full maturation stage.

Varijante <i>Variants</i>	Broj mahuna po biljci <i>Number of pods per plant</i>	Masa zrna po biljci <i>Grain mass per plant</i>
Rhizobium spp.	8.33	7.21
Azotobacter spp.	9.67	5.61
Rh.+Azb.+ Act.	7.00	6.86
Kontrola - <i>Control</i>	6.00	3.38
LSD	1%	1.60
	5%	1.70

Dosadašnja istraživanja primene inokulacije u proizvodnji pasulja (boranije) su pokazala da se inokulacijom semena pasulja pojedinačnim sojevima rizobiuma ili njihovom smešom, pasulj skoro potpuno obezbeđuje azotom, dok nodulacija, broj mahuna, sadržaj azota u zrnu i prinos zavise od sorte pasulja i svojstava rizobiuma (Marinković, 2006). Takođe rezultati Jarak et al. (2005.) i Milić et al. (1999.) su pokazali da se primenom efektivnih sojeva kvržičnih bakterija u proizvodnji pasulja (boranije) postiže bolji porast i razvoj biljke i povećava mikrobiološka aktivnost. Primena bivalentnog inokuluma koji sadrži simbiozne i slobodne azotofiksatore ispitivana na boraniji pokazala je da *Bacillus polymyxa* sa *R etli* utiče na izduživanje korena i povećanje brojnosti kvržica (Petersen, et al., 1996) dok primena *Azospirillum brasiliense* povećava grananje korena boranije i sintezu flavonoida (Danielli et al., 2008) u odnosu na monovalentni inokulum.

U ovim istraživanjima kod većine ispitivanih parametara bolji rezultati su dobijeni primenom monovalentnog inokuluma. To ukazuje na potrebu ispitivanja međusobnih odnosa između ispitivanih mikroorganizama. Najverovatnije da je primenjeni soj aktinomicete produkovao antibiotske materije koje su negativno uticale na metabolizam druga dva mikroorganizma.

ZAKLJUČAK

Rezultati istraživanja pokazuju da efekat inokulacije zavisi od inokulanata, fenološke faze boranije i od međusobne interakcije primenjenih mikroorganizama. Broj ispitanih mikroorganizama bio je visok, a inokulacija je uglavnom uticala pozitivno. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti sledeće:

Ukupan broj bakterija i azotobaktera bio je najveći na varijanti s azotobakterom.

Broj aktinomiceta bio je veći na varijanti s rizobiumom. Aktivnost dehidrogenaze bila je veća na varijantama s polivalentnim inokulumom.

Inokulati su različito delovali na parametre prinosa boranije. Broj mahuna po biljci je statistički značajno povećan na varijantama gde je primenjen rizobium i azotobakter a smeša inokulanata nije dala statistički značajne rezultate. Inokulacija je pozitivno uticala na masu zrna po biljci. Na varijantama gde je primenjen rizobium ili smeša inokulanata povećanje mase zrna bilo je statistički značajno.

LITERATURA

1. Dardanelli, M.S., de Cordoba, F.J.F., Espuny, M.R., Carvajal, M.A.R., Diaz, M.E.S., Antonio M., Serrano, A.M.G., Okon, Y., Megias, M. (2008): Effect of *Azospirillum brasiliense* coinoculated with *Rhizobium* on *Phaseolus vulgaris* flavonoids and Nod factor production under salt stress, *Soil Biology & Biochemistry*, Vol. 40, 2713–2721.
2. Dar, G.H., Zagar, M.Y., Bleight, G.M., (1997): Biocontrol of Fusarium root rot in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by using symbiotic *Glomus mosseae* and *Rhizobium leguminosarum*., *Microbial Ecology*, Vol. 34, 74–80.

3. Jarak M., Čolo J.(2007.); Mikrobiologija zemljišta, Poljoprivreni fakultet, Novi Sad.
4. Jarak M., Zdravković M., Đurić S., Damjanović M., (2005.); Response of beans to inoculation and fertilizers, 8th international symposium on internaciplinary region (Hungari – Romania - Serbia and Montenegro. Proceedions section - ekology and envirometal protection ep 22 (CD) Szedeg, Hungaria 19-21 april.
5. Lenhard, G. (1956): Die Dehydrogenase activitat des Boden als Mass die Microorganismen-tatigkeit im Boden, Z. Pflanzenernaehr. Dueng. Bodenkd. 73, 1-11.
6. Mabrouk, Y., Zourgui, L., Sifi, B., Delavault, P., Simier, P., Belhadj, O., (2007): Some compatible *Rhizobium leguminosarum* strains in peas decrease infections when parasitised by *Orobanche crenata*. Weed Research, Vol. 47, 44–53.
7. Marinković J. (2006); Efekat primene *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* u proizvodnji pasulja (*Phaseolus vulgaris*), Magistarska teza, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
8. Milić V., Marinković M., Jarak M. (1999) Uticaj inokulacije različitih genotipova pasulja na efikasnost simbiotske zajednice. Zbornik radova, sveske 32, 299-304.
9. Oke, V., Long, S.R. (1999) Bacteroid formation in the Rhizobium – legume symbiosis, Current Oppinion in Microbioilogy, 2, 641-646.
10. Paule, E. A.,(1989): Soil microbiology and biochemistry, Acad, Press Ine.San Diegi, New York.
11. Petersen, D.J., Srinivasan, M., Chanway, C.P. (1996): *Bacillus polymyxa* stimulates increased *Rhizobium etli* population and nodulation when co-resident in the rhizosphere of *Phaseolus vulgaris*, FEMS Microbiology letters, Vol. 142, iss. 2-3, 271-276.
12. Thalmann, A. (1968): Zur methodik der Bestimmung der Dehydrogenase activitat in boden Mittels Tripheniltetrazoliumchlorid (TTC), Landw. Forch. 21, 249-258.
13. Tyler J. Avis, Vale rie Gravel, Hani Antoun, Russell J. Tweddell (2008): Multifaceted beneficial effects of rhizosphere microorganisms on plant health and productivity, Soil Biology & Biochemistry, Vol. 40, 1733–1740.
14. Zahir A. Zahir, Muhammad Arshad, William T. Frankenberger, Jr. (2003): Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Applications and Perspectives in Agriculture, Review Article, Advances in Agronomy, Vol. 81, 97-168.
15. Vasić M. (2004) Genetička divergentnost pasulja, zadužbina Andrejević, Beograd.
16. Wani, S.P., Rupela, O.P., Lee, K.K. (1994): BNF Technology for Sustanible Agriculture in the Semi-Arid tropics, 15th World Congress of Soil Science, Acapulco, 4a, 245-262.
17. Wollum II, A.G.(1982): Cultural Methods for soil microorganisms, Methods of soil analysis-part 2, Chemical and Microbiological Properties, Pb. Madison, Wisconsin USA, 781- 801.

EFFECT OF COMMON BEAN INOCULATION ON YIELD PARAMETERS AND MICROBIAL ACTIVITY IN RHIZOSPHERE

by

Mirjana Jarak, Simonida Djuric, Natasa Gluvic

SUMMARY

The plant production without mineral fertilizers and pesticides application, and the ability of microorganisms to provide the plants with all essential nutrients, anticipate that the microbial fertilizers will take up significant place in agricultural production (Tyler et al., 2008). The aim of this paper was to investigate the effect of *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* and *Azotobacter chroococcum* inoculation, individually and in the mixture with *Streptomyces* sp., on the yield parameters of common bean and microbial activity in rhizosphere.

Microbial analysis were done by standard CFU method and total number of bacteria, number of actinomycetes and azotobacter were determined. Dehydrogenase activity was estimated spectrophotometrically. In the stage of full maturation of common bean number of legume per plant and grain mass per plant were enumerated as basic yield parameters.

Total number of bacteria and number of azotobacter were greater on variant with azotobacter inoculation. Dehydrogenase activity was greater on the variant with polyvalent inoculum, while the number of actinomycetes was greater on the variant with rhizobium.

Number of pods per plant was significantly increased where rhizobium and azotobacter were applied, but mixture of inoculants did not provide statistically significant results. Inoculation positively influenced the grain mass per plant. Where the rhizobium and mixture of inoculants were applied increase of grain mass was statistically significant.

Key words: inoculation, common bean, microorganisms, dehydrogenase, yield

Primljeno: 01.10.2010.

Prihvaćeno: 11.10.2010.