



UNIVERZITET U
Kragujevcu
AGRONOMSKI FAKULTET U
ČAČKU



UNIVERSITY OF
Kragujevac
FACULTY OF
AGRONOMY
ČAČAK

XXII SAVETOVANJE O BIOTEHNOLOGIJI

sa međunarodnim učešćem

- ZBORNIK RADOVA 1 -



Čačak, 10 - 11. Mart 2017. godine

XXII SAVETOVANJE O BIOTEHNOLOGIJI

sa međunarodnim učešćem

- Z b o r n i k r a d o v a 1 -

ORGANIZATOR I IZDAVAČ

**Univerzitet u Kragujevcu,
Agronomski fakultet u Čačku**

Organizacioni odbor

prof. dr Gordana Šekularac, dr Pavle Mašković, dr Milun Petrović, dr Gorica Paunović, prof. dr Milomirka Madić, dipl. ing. Srđan Bošković

Programski odbor

prof. dr Leka Mandić, prof. dr Vladeta Stevović, prof. dr Dragutin Đukić, prof. dr Snežana Bogosavljević-Bošković, prof. dr Tomo Milošević, prof. dr Milica Cvijović, prof. dr Radojica Đoković, prof. dr Milomirka Madić, prof. dr Goran Dugalić, prof. dr Aleksandar Paunović, prof. dr Radoš Pavlović, prof. dr Milena Đurić, prof. dr Gordana Šekularac, prof. dr Biljana Veljković, dr Nikola Bokan, dr Drago Milošević, dr Lenka Ribić-Zelenović, dr Vladimir Kurćubić, dr Goran Marković, dr Ljiljana Bošković-Rakočević, dr Gorica Paunović, dr Milun Petrović, dr Milan Lukić, dr Slavica Vesković

Tehnički urednici

dr Milun Petrović, dipl. ing. Dušan Marković, dipl. ing. Srđan Bošković

T i r a ž : 180 primeraka

Š t a m p a

Grafička radnja stamparija Bajić, V. Ignjatovića 12, Trbušani, Čačak

INFICIRANJE LEGUMINOZNIH BILJAKA SA KVRŽIČNIM BAKTERIJAMA

Dragutin Đukić¹, Leka Mandić¹, Aleksandra Stanković-Sebić², Vladeta Stevović¹, Marijana Pešaković³, Milica Zelenika¹, Vesna Đurović¹

Izvod: U ovom radu daje se osvrt na pitanje biološke svrsishodnosti simbioze između leguminoznih biljaka i rizobijuma. Osim toga, navode se osnovna svojstva interakcije simbionata koja karakterišu ovaj složeni sistem, kao i zavisnost ovog tipa partnerstva od ekoloških uslova sredine. Posebno se sagledavaju etape inficiranja biljke sa rizobijumima. Na kraju se zaključuje da efektivnost simbioze između leguminoza i rizobijuma ne zavisi samo od bioloških, već i od abiotičkih faktora; da se ova simbioza odlikuje relativno brzim povratnim reakcijama na spoljašnje uticaje, posebno na prvim etapama uspostavljanja simbioze; da je formirani sistem dosta stabilan i da može efikasno funkcionisati čak i u nepovoljnim ekološkim uslovima.

Ključne reči: biljka, mikroorganizmi, simbioza

Uvod

Biološka svrsishodnost simbioze između leguminoznih biljaka i rizobijuma

Pitanje biološke svrsishodnosti simbioze između leguminoznih biljaka i rizobijuma veoma je važno, jer se ulazak rizobijuma ne završava samo simbiozom. Ako se detelina gaji u tami, rizobijum prelazi na parazitski način života. Pa, ipak, evolucija je išla u smeru simbioze, a ne parazitizma. Prema mišljenju Margelisa (1983), partneri jedan drugom pomažu u traženju hrane.

Leguminozno-rizobijalni sistem se formira kada rizobijumi prodru u koren biljke-domaćina. Kvržica leguminozne biljke je kvalitativno novi biološki sistem. Rizobijumi u kvržicama provode manji deo vremena, nego u zemljištu. Reakcija svakog od partnera simbioze ima adaptivni karakter, koji određuju genetički faktori i konkretni uslovi sredine (Đukić i sar., 2007a; Topol i Kanižai-Šarić, 2013.).

U inficiranoj biljci se između domaćina i mikrosimbionata odvija stalna razmena metabolita - hormona, koenzima i drugih jedinjenja. Metaboliti svakog od partnera mogu suzbiti ili stimulisati određene karike metabolizma, pojaviti se u ulozi represora i derepresora biosinteze belančevinskih jedinjenja, kao što su enzimi, stvarajući uslove za njihovu sintezu de novo. U toku ove interakcije mikrosimbionat izaziva bitnu promenu metabolizma kod biljaka. U toku zajedničke evolucije mikro- i makropartnera simbioze promena metabolizma mikroorganizama genetički se učvršćuje, što dovodi do pojave novih rasa rizobijuma. Naravno, evolucija kvržičnih bakterija se odvija neprekidno. Nije

¹Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija (lekamg@kg.ac.rs);

²Institut za zemljište, Teodora Drajzera 9, 11000 Beograd, Srbija;

³Institut za voćarstvo, Kralja Petra I, 32000, Čačak, Srbija.

isključeno da je simbioza *Parasponia* (fam. *Ulmaceae*) sa rizobijumima, u čijim kvržicama nema leghemoglobina, - rezultat podudarne evolucije.

Znatno veći deo života rizobijumi provode u zemljištu, koje na njih deluje na potpuno drugačiji način, nego tkivo biljaka. Prirodno je da taj dvojak život određuje njihovu biologiju. Prilagođavanje rizobijuma na različite uslove (zemljište i tkivo biljke domaćina) ima zajednički biološki smisao, tj. prilagođavajući se jednoj, oni gube crte prilagođenosti drugoj sredini. Međutim, u vezi s tim fiziološke determinante njihove specifičnosti, virulentnosti i drugih svojstava u odnosu na biljke mogu izostati ili biti veoma oslabljene. Na žalost, budući da se pitanje pripadnosti kvržičnih bakterija rodu *Rhizobium* može rešiti samo posle inokulacije biljke-domaćina, očigledno je da se mnogi oblici rizobijuma, koji se nalaze na različitim stepenicama evolucione prilagođenosti biljci, ne mogu uzimati u obzir. Treba imati u vidu da se u prirodi nalaze i slobodni rizobijumi, pa je, verovatno, teško utvrditi njihovu ulogu u azotnom bilansu zemljišta (Mandić i sar., 2008.).

Utvrđivanje srodnosti rizobijuma sa zemljišnim i rizosfernim bakterijama doprineće rešavanju problema prenošenja gena azotifikacije. Za sada možemo govoriti samo o tome da rizobijumi, verovatno, vode poreklo od različitih grupa zemljišnih bakterija, od predstavnika epifitnih, a posebno rizosfernih bakterija. Budući da su oni u tesnoj vezi sa agrobakterijama, put prenošenja nif-gena na biljke preko stadijuma konstruisanja tumornih ćelija kod biljaka pomoću agrobakterija sada se najuspešnije realizuje. U tom pogledu vrlo je interesantno izolovanje slobodnih kvržičnih bakterija (sa klasičnim oblikom klebsiele) iz kvržica na stablu leguminozne biljke sesbanije (Dreifus i Dommergues, 1981.).

Uspostavljanje leguminozno-rizobijalnog sistema, održavanje njegove stabilnosti i načini regulacije imaju veliki značaj. Međutim, teško je precizno odrediti taj sistem, jer ne postoje jasne granice uzajamnih veza makro- i mikropartnera i simbiozni odnosi lako prelaze u parazitske. Simbioza između leguminoza i rizobijuma je rezultat interakcije partnera koji su ranije bili nezavisni. U ovom slučaju je celina nešto kudikamo više, nego zbir delova.

Osnovna svojstva leguminozno-rizobijalnog sistema

Kao prvo, interakcije se uspostavljaju između populacija različitih vrsta - između predstavnika eukariota (biljaka) i prokariota (bakterija). To kao da je oblik posebne patogene situacije (Selye, 1956.). U proseku, ćelija kvržice ima prečnik 30-50 μm , u kvržici veličine 3.5 μm smešta se približno 100 slojeva ćelija, što ukupno čini 10000 ćelija. U svakoj inficiranoj biljnoj ćeliji (a nisu inficirane sve ćelije) smešta se približno 1000 ćelija rizobijuma, u jednoj kvržici oko 10 miliona, a kada se to prevede na jednu biljku, onda je to približno 10^9 ćelija rizobijuma. U slučaju kvržica soje brojnost se približava cifri od $10\text{-}30 \times 10^9$ ćelija. Takvo infektivno punjenje po biljci reguliše se u toku ontogeneze biljke-domaćina. Dakle, 10^9 prokariotskih ćelija dolazi na jednu eukariotsku. Rizobijumi u toku ontogeneze biljke izumiru. Teško je reći kako se u biljci eliminišu proizvodi liziranja izumrlih ćelija rizobijuma, jer se proces izumiranja bakterija odvija neprekidno. Nije isključeno da u zoni bakteroida fitolizosomi liziraju bakterioide i ćelije biljke-domaćina pomoću hidrolaza (Truchet i Coulomb, 1973.).

Stupanje simbionata u kontakt zavisi od mesta življenja eukariota i konkretnih ekoloških uslova.

Kao drugo, partneri fiziološki zavise jedan od drugog samo ako se nalaze u uslovima koji su za njih ekstremni. Za biljku – to je nepostojanje hrane - azota, a za bakterije – hrane i energije.

Kao treće, razmatrani sistem je stabilan, što se manifestuje preko reakcije biljke i mikroorganizma. To se potvrđuje time što je sam razvoj kvržice kao svojevrsnog tumora zaštitna reakcija biljke, koja se pomoću inhibitina ili prohibitina suprotstavlja sistematskom raspoređivanju (širenju) rizobijuma na sva tkiva. Regulacijom brojnosti rizobijuma u tkivima takođe upravlja domaćin. Sa svoje strane, mikroorganizam je sposoban da se suprotstavi zaštitnoj reakciji biljke-domaćina, može čak i sprečiti njen razvoj pri prekoračenju infektivne doze. To se posebno jasno manifestuje u kulturi tkiva kada eukariot pod uticajem velikog broja ćelija rizobijuma može čak i uginuti. Međutim, u celini gledano, sistem se u procesu evolucije formirao kao jedinstven jer se odabir vršio u pravcu stvaranja regulacionog mehanizma, koji je na kraju doveo do harmonične interakcije.

Kao četvrto, visoki stepen razmnožavanja mikropartnera, čime se kompenzuje njegovo uginuće u tkivima domaćina i u zemljištu. Postojanje saprofitnih „stadijuma“ koji slobodno žive u zemljištu stvara dodatni problem ne samo za praksu poljoprivredne proizvodnje, već i za rizobijume, jer se moraju prilagoditi na dva potpuno različita kompleksa uslova. Očigledno je da upravo ovo poslednje uslovljava da se u njihovom životnom ciklusu pojave neaktivni mirujući oblici tipa artrospora i takvi biološki celishodni oblici, kao što su *L*-oblici. Očigledno je da je postojanje različitih oblika u ciklusu razvoja jedna od varijanata biološke reakcije bakterija, koje omogućavaju preživljavanje i održavanje vrste u uslovima dejstva fizičkih, hemijskih i bioloških faktora, kao i ispoljavanju njihove ekološke plastičnosti.

Biotički potencijal rizobijuma je vrlo visok. U laboratorijskim uslovima na hranljivoj podlozi sa manitom, pri aeraciji, rizobijum se razmnožava za 20-35 minuta, skoro isto takva brzina razmnožavanja zapaža se u prirodnim uslovima u blizini semena biljke-domaćina, u infektivnim nitima, pri oslobađanju u citoplazmu ćelije domaćina iz niti brzina varira u granicama 20-40 minuta, a zatim pri širenju po ćelijama biljke dosta naglo se smanjuje. Međutim, i na tim stadijumima, gledano u celini, biotički potencijal je visok zahvaljujući procesima pupljenja i fragmentacije koji se odvijaju u toku ontogeneze procesa razvoja rizobijuma. Izuzetna evoluciona plastičnost rizobijuma uslovljena je njihovom sposobnošću da osvajaju različite životne sredine, i, što je posebno važno, jedinstvenu i relativno izolovanu sferu postojanja - kvržicu. Ni jedno od navedenih svojstava ne može biti stalno - postojanje simbioze zavisi i od godišnjeg doba i velikog broja ekološko–geografskih uslova (Đukić i Mandić, 1997; Đukić i sar., 2007b.).

Prema mišljenju Bernsa i Hardija (Burns i Hardy, 1975.), leguminozno-rizobijalna simbioza mora se klasifikovati kao obligatna. Međutim, mora se pri tome imati u vidu da partneri mogu samostalno živeti u prirodi, a rizobijumi u zemljištu provode najveći deo života kao saprofiti. Zbog toga se, verovatno, ovaj tip koegzistencije može nazvati protokooperacija, tj. neobligatna koegzistencija (Руссель, 1977.).

Radi shvatanja redosleda događaja, koji dovode do razvoja kvržice, neophodno je poznavanje prirodnih, pa i hemijskih, komponenata – indikatora takvih promena, na osnovu kojih se može suditi da je moguća pojava prvobitnih mehanizama inokulacionog procesa.

Etape inficiranja biljke sa rizobijumima

Proces inficiranja biljke sa rizobijumima odvija se kroz nekoliko etapa (Milošević i Jarak, 2005.). Prva etapa je predinfektivni kontakt mikropartnera i biljke. Do tog kontakta dolazi pri intrateralnom, fitohornom ili hidrohornom širenju rizobijuma. Svi ti putevi su najčešće pasivni. Na ovoj etapi rizobijumi se razmnožavaju u rizosferi biljaka do određene kritične koncentracije, pri kojoj se postiže norma inficiranosti. Norma za jedan isti soj nije ista i zavisi od biljke i spoljašnjih uslova. Razmnožavanje rizobijuma u rizisferi i rizoplanu nije specifično. Oni se razmnožavaju u rizoplanu različitih vrsta biljaka, a ne samo leguminoznih. Tako se, na primer, iz rizoplana lucerke ili čak neleguminozne biljke mogu izolovati kvržične bakterije soje i, suprotno, iz rizoplana soje neki drugi rizobijumi. Time se, u određenoj meri, dokazuje da su kod rizobijuma mogući intermedijerni domaćini i da oni mogu poticati od saprofitnih zemljišnih mikroorganizama koji stiču specifična svojstva.

U principu, proces inficiranja može izazvati jedna jedina ćelija rizobijuma, o čemu svedoče brojni rezultati laboratorijskih sterilnih ogleda. To ne znači da u tkivo prodiere jedna ćelija. Očigledno je da ona obezbeđuje brojno potomstvo i izaziva indukciju kvržice. U poljskim uslovima preporučuje se da se na seme odmah nanosi relativno veliki broj kvržičnih bakterija – približno 10^5 - 10^7 . Očigledno je da upravo takav broj služi kao kritična koncentracija koja obezbeđuje inokulaciju. Potreba visoke brojnosti opredeljena je fiziološkim stanjem populacije, stepenom virulentnosti ćelija, njihovom vitalnošću i drugim. Odmah nakon početka ulaska rizobijuma u tkivo korena, njihova brojnost u rizosferi i rizoplanu se smanjuje za 2-3 puta. Na etapi predinfektivnog kontakta rizobijumi se obično lokalizuju u blizini korenovih dlačica, ne izazivajući kod njih vidljive promene.

Sledeća etapa je etapa primarne interakcije biljke-domaćina i mikrosimbionta – prepoznavanje biljke-domaćina. Ovaj stadijum nije razjašnjen. Njegovo dešifrovanje je ključ za shvatanje prirode specifičnosti. Najperspektivnija istraživanja u tom pogledu vrše se u pravcu objašnjenja komplementarnosti – interakcije površina na nivou biopolimera, upravo na nivou prepoznavanja ugljenih hidrata i belančevina. Lektini (belančevinska i glikoproteidna jedinjenja) se nalaze na korenovima više od 600 vrsta leguminoznih biljaka. Oni su sposobni da se povezuju sa polisaharidima, glikoproteidima i drugim ugljeno-hidratnim jedinjenjima ćelijskih površina rizobijuma (Milošević i Marinković, 2009.).

U suštini, ugljenohidratni polimeri rizobijuma imaju ulogu receptora lektina. U tom pravcu istraživanja su još uvek nedovoljna. Etapa prepoznavanja je specifična. Ona je praćena kako specifičnim zakrivljenjem korenovih dlačica, tako i nespecifičnim: pod uticajem agrobakteija, mehaničkih povreda pri rastu korena i dr. Međutim, specifično zakrivljenje korenovih dlačica uvek se prepoznaje: dlačica dobija oblik ručke kišobrana. Ako se do nedavno smatralo da kod soje i lupine specifično zakrivljenih dlačica nema, danas je ta činjenica dokazana (Ranga i Keister, 1978; Turgeon i Bauer, 1982.). Do

zakrivljenja dolazi 12 časova nakon inokulacije. Pri tome se specifično zakrivljuju samo vrlo kratke (25-80 μm) korenove dlačice, dok se zrele, dugačke (500-800 μm) specifično ne zakrivljuju. Analogni rezultati su dobijeni i u ogledima sa detelinom (Шильникова, 1989.).

Specifičnom zakrivljenju podvrgava se svega 2% korenovih dlačica, od kojih tek 1/5 formira kvržice. Na ovoj etapi, ako rizobijum poseduje pektinoliznu aktivnost, dolazi do njihovog uticaja na pektinske materije. Verovatno je pektinolizna aktivnost jedna od manifestacija virulentnosti. U pogledu pektinolizne aktivnosti rizobijuma podaci su sasvim sporni. Postoji mišljenje da pektinoliznu aktivnost poseduju rizobijumi, a celuloliznu – biljke (Hubbell et al., 1987), kao i da je pektinolizna aktivnost bakterioda 4-5 puta veća, nego kod rizobijuma u čistoj kulturi. U svakom slučaju, ako pektinolizna aktivnost doprinosi ulasku rizobijuma (Verma, Zobgi, 1978), smatra se da ovu aktivnost poseduju i zemljišne bakterije koje prate rizobijume (Рудаков и Буркель, 1954.).

Treća etapa je ulazak rizobijuma u tkivo biljke-domaćina. Na ovoj etapi deluje mnoštvo barijera otpornosti biljke. Izuzetno, ćelijski zid i membrana biljke-domaćina proizvode ne samo supstance koje privlače, već služe i kao selektivna barijera koja ometa proces inficiranja. Na ovoj etapi se realizuje virulentnost rizobijuma. Virulentnost je potencijalna sposobnost da se izazove inficiranje biljke-domaćina, to je genetičko svojstvo, atribut vrste, koje nastaje u procesu evolucije simbiotrofnih interakcija. Stepem realizacije ovog svojstva zavisi od niza uslova, pre svega od mogućnosti kontakta sa biljkom-domaćinom. Bez kontakta, sposobnost da se izazove infektivni proces ostaje samo potencijalno, nerealizovano svojstvo rizobijuma.

Virulentnost je nastala i u vezi je sa osvajanjem i naseljavanjem (sa rizobijuma) nove životne sredine (osim zemljišta) - organizma biljke-domaćina. Sredina makroorganizma postala je taj selektivni agens koji je ispoljio ključnu ulogu u formiranju virulentnih sojeva rizobijuma. Nastanak virulentnosti povezan je, pre svega, sa sticanjem sposobnosti savladavanja zaštitnih barijera biljke. Smisao, koji se umeće u pojam virulentnosti, ističe kvantitativni karakter tog svojstva, stepen njegove realizacije ili meru njegovog ispoljavanja uz uzimanje u obzir konkretnih uslova, pri kojima se odvija infektivni proces. Karakterizacija soja na osnovu virulentnosti uzima u obzir osobenosti makro- i mikrosimbionata i odražava krajnji rezultat inficiranja biljaka.

Ulazak je dosta brz. Za 36-40 časova infektivne niti indukuju stvaranje primarne kvržice. Brzina kretanja infektivne niti je 5-10 $\mu\text{m}/\text{h}$, dok korenovu dlačicu rizobijumi prođu za 5-10 časova. Obično se ulazak rizobijuma u tkivo primarne kvržice završi za 4-5 dana. Među infektivnim nitima 10-80% čine abortivne. To su lokalne zaštitne barijere eukariotskog organizma, pri čemu infektivne niti biljke mogu abortirati na bilo kojem stadijumu infektivnog procesa. Infektivne niti se šire slično gljivičnoj infekciji. Mehanizam prodiranja u ćelije nije sasvim jasan. Najverovatnije dolazi do strukturnih povezivanja niti sa zidom, zahvaljujući rastu i invaginaciji citoplazmatične membrane svake sledeće ćelije kore (Яковлева, 1975.). Ne sumnja se i u pasivni put širenja rizobijuma pri deobi biljnih ćelija (Milovidov, 1928.).

Dakle, od momenta inokulacije do ulaska i početka širenja po tkivu korena prođe 3-5 dana. Međutim, u zemljištu faktori sredine mogu usporiti taj proces.

Dalje se u inficiranom tkivu biljke odvija proces transformacije u bakterioide. Bakteroidnu zonu, gde dominiraju samo isti bakteroidi, čini samo centralni deo kvržice. U drugim zonama, uporedo sa bakteroidima, nalaze se i štapići. Bakteroidi vrše proces azotofiksacije. Ta frakcija je najpogodnija za proučavanje simbioznih svojstava kvržičnih bakterija. Krajem vegetacionog perioda razvoja biljke započinje degeneracija bakteroida, koja se završava stvaranjem artrospora.

Faktori od kojih zavisi efikasnost fiksacije azota od strane leguminoznih biljaka

Najveći broj istraživanja uloge klimatskih faktora na interakciju makro- i mikrosimbionata, od kojih zavisi stepen fiksacije atmosferskog azota od strane leguminoznih kultura, vršen je u uslovima umerene klime. Prirodno je bilo i očekivati da se na osnovu toga izvede zaključak da se optimalna simbioza realizuje pri temperaturi 18–26 °C i vlažnosti zemljišta 60–80 % od maksimalnog vodenog kapaciteta (Мишустин и Шилникова, 1973; Жемцев и Ђукић, 2000; Ђукић и сар., 2004; Zahran, 2001.). Međutim, deo istraživanja odnosi se i na uticaj nižih temperatura na uspostavljanje simbioze. Utvrđeno je da neke leguminozne biljke, kao što je subarktička detelina, formiraju aktivni simbiozni aparat pri temperaturi samo nešto većoj od 0 °C. S druge strane, grašak ne formira kvržice pri temperaturi vazduha od 45 °C, međutim soja i neke druge leguminozne biljke aktivno fiksiraju azot u takvim uslovima.

Uslovi koji opredeljujuće utiču na aktivnost simbioze su genotip vrste i sorte i ekološka adaptiranost sojeva mikrosimbionata. Zbog toga se za svaku klimatsku zonu moraju odabrati odgovarajuće kulture i sorte makrosimbionata i sojevi kvržičnih bakterija.

Utvrđeno je da masa kvržica i količina fiksiranog atmosferskog azota zavise od obezbeđenosti biljnih organa sa fitoasimilativima (Mrkovački i сар., 1997; Ђukić i сар., 2004.). Biljke sa velikim simbiozним aparatom karakterišu se većim intenzitetom fotosinteze i disanja, nego biljke sa manjim aparatom, koje se gaje u istim uslovima (Поснпанов, 1983.).

Smatra se da sve leguminoze obogaćuju zemljište azotom u optimalnim uslovima simbioze. Međutim, to se uvek ne dešava kada su u pitanju jednogodišnje leguminoze (Поснпанов, 1983; Треначев, 1985, Zhang, Smith, 2002). U početku nalivanja semena jednogodišnje leguminoze nakupljaju u vegetativnoj masi mnogo azota, pa i u korenu – do 2-2,5 % od apsolutno suve materije. Pri nalivanju semena dolazi do preraspodele azota iz njegovih vegetativnih organa u generativne, jer je „zadatak“ genotipa jednogodišnjih biljaka da formiraju maksimalan broj vitalnih semena, kako bi vrsta obezbedila opstanak. U fazi pune zrelosti zrna sadržaj azota u stablu i korenu se bitno smanjuje – do 0,5 – 2%. U njihovim korenskim i žetvenim ostacima (1-2 t/ha kod graška i grahorice i 3-4 t/ha kod boba i lupine) na njivi ostaje od 16-40 kg/ha do 60-80 kg/ha azota (Жемцев и Ђukić, 2000).

Ako je prinos leguminoznih biljaka 1,44 t/ha (i odgovarajućih 2 t/ha slame i 1,4 t/ha biljnih ostataka, uključujući ostatke korena, zrna i strnjike), onda bi u toj količini biljnih ostataka mahunarki sadržaj azota mogao iznositi 1,4% ili 19,6 kg azota po hektaru. Dakle, mahunarke bi zemljištu ostavile 9,6 kg azota/ha fiksiranog iz vazduha.

Ta veličina nije velika, pa ipak ostaci mahunarki povećavaju za 0,2-0,3 t/ha prinos naredne žitarice. Ako je, na primer, prinos mahunarki manji (na primer, 0,7 t/ha zrna) ili pri iznošenju slame sa korenjem može se desiti da mahunarke uzmu iz zemljišta onoliko azota koliko ga i ostavljaju zahvaljujući fiksaciji atmosferskog azota. Višegodišnje leguminoze – lucerka i detelina – pri prinosu 10 – 14 t/ha posle žetve u zemljištu ostavljaju do 200 kg azota po hektaru, tj. za 100-120 kg/ha više, nego što same iskoriste iz zemljišta u toku vegetacije.

Uzrok te „biološke necelishodnosti“ iskorišćavanja azota od strane leguminoza je raznolikost evoluciono-genetičkih zadataka vrsta. Sve jednogodišnje kulture završavaju ontogenezu u jesen prve godine. Međutim, višegodišnje kulture moraju obezbediti sebe sa hranljivim elementima radi prezimljavanja i rasta u proleće. U korenu lucerke 2-3-će godine života pre nastupanja zime ima 1,5 % azota, tj. do 120-130 kg/ha; zaoravajući takve biljne ostatke, mi ih ustupamo drugim kulturama. Ta količina azota povećava prinos zrna pšenice za 2-3 t/ha.

Smatramo da višegodišnje leguminoze sa prinosom sena 5-6 t/ha koriste 70 – 80 kg azota/ha, a sa korenjem i žetvenim ostacima ostavljaju 100-120 kg/ha, tj. obogaćuju zemljište sa 30-40 kg azota/ha. Usev deteline sa prinosom 2-3 t/ha sena obogaćuje zemljište azotom za 15-20 kg/ha. Zbog toga treba zasnovati optimalnu strukturu plodoreda sa leguminozama radi održavanja plodnosti zemljišta i povećanja prinosa kultura, uz minimalnu primenu mineralnih đubriva (Stevović i sar., 2005).

Bitna je efektivnost inokulacije, čija se nadovoljnost često objašnjava proizvodnjom inokulata na bazi stranih slabo aktivnih sojeva, koji su efektivni samo pri primarnoj introdukciji leguminoza u oblastima u čijim fitocenozama nije bilo vrsta datog roda, ili u slučaju izražene hemijske melioracije zemljišta, na primer, pri promeni pH – od 3,8 do 6,3.

Zaključak

Na osnovu svega navedenog može se zaključiti:

- efektivnost leguminozno-rizobijalne simbioze ne zavisi samo od bioloških, već i od abiotičkih faktora;
- simbioza, koja se karakteriše složenošću unutrašnjih inetrakcija, odlikuje se relativno brzim povratnim reakcijama na spoljašnje uticaje, posebno na prvim etapama nastanka;
- formirani sistem je dosta stabilan i može efikasno funkcionisati čak i u nepovoljnim ekološkim uslovima;
- osnovni pravci ispitivanja simbiozne fiksacije azota treba da budu: određivanje parametara osnovnih faktora sredine koji su optimalni za odvijanje potencijalne simbiozne azotofiksirajuće aktivnosti; stvaranje vrsno specifičnih virulentnih aktivnih, ekoloških adaptivnih sojeva kvržičnih bakterija i razrada načina njihove primene; selekcija sorata leguminoznih kultura na povećanu simbioznu aktivnost.

Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta “Poboljšanje genetičkog potencijala i tehnologija proizvodnje krmnog bilja u funkciji održivog stočarstva”, TR 31057, koji finansira Ministarstvo za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

Literatura

- Burns R. Hardy, R. (1975). Nitrogen fixation in bacteria and higher plants. Berlin. Springer, 189 p.
- Dreifus B., Dommergues Y. (1981). Stem nodules on the tropical legume *Sesbania rostrata*. Current perspective nitrogen fixation. Canberra. Wiley Interscience, p.471.
- Đukić D., Jemcev V.T., Mandić, L. (2007b). Mikroorganizmi i alternativna poljoprivreda, Budućnost A.D. za grafičku delatnost, Novi Sad, 151 str.
- Đukić D., Mandić L. (1997). Nitragin and azotobacterin in the function of increasing biological productivity of soil and ecological sustainability. Higher School of Agriculture-Plovdiv “Scientific Works, Vol. XLII, book 2, 9-15,
- Đukić D., Mandić L., Bokan N., Đurović, D., Stevović V., Ivanović B. (1997). Effect of host genotype, agrostemin and nitragin on nodule number in soyabean. Poljoprivreda i šumarstvo, Vol. 43 (1-2), 51-56, 1997;
- Đukić D., Mandić L., Đorđević S. (2004). The role of microorganisms in improving and protecting the agroecosystem as well as in overcoming the protein deficit. Natura Montenegrina, 3, 171-186.
- Đukić, D., Jemcev, V.T Kuzmanova J. (2007a): Biotehnologija zemljišta. Budućnost, Novi Sad, 529 str;
- Hubbell D., Morales, V., Umali Carsia M. (1978). Pectolytic enzymes in *Rhizobium*. Appl. Environ. Microbiol. Vol.35. p.210-213.
- Jemcev, V.T., Đukić, A. D.: Mikrobiologija. Vojnoizdavački zavod – Beograd, 2000, str. 759.
- Mandić L., Đukić D., Pešaković M. (2008). Mikrobna azotofiksacija-stanje i perspektive. XIII savetovanje o biotehnologiji, Čačak, 28- 29. Mart. Zbornik radova, Vol. 13, br. 14, 65-74.
- Milošević N., Jarak M. (2005). Značaj azotofiksacije u snadbivanju biljaka azotom. U: Azot-agrohemijski, agrotehnički, fiziološki i ekološki aspekti (Kastori, R., ed.), Naučni institute za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 305-352
- Milošević N., Marinković J. (2009). Rizobiumi – biođubriva u proizvodnji leguminoza. Inst. Za rat. i povrt., Novi Sad, Zbornik radova, 46, 45-54;
- Milovidov P. (1928). Recherches sur les tubercules de lupin. Rer. Gen. Bot. Vol. 40, P. 193-205.
- Mrkovački N, Milić V, Sarić Z, Đukić, D. (1997. Nitrogenase and Gutamate dehydrogenase activity in soybean nodules. “Mikrobiologija”, Vol. 34, No 2, 105-114;
- Ranga R. V., Keister D. (1978). Infection threads in the root hairs of sayabean inoculated with *Rhizobium japonicum*. Protoplasma. Vol. 98. P. 311-316.

- Selye H. (1956). The stress of life. N.V; Toronto; L:McGrow-Hill, 324
- Stevović D., Đukić, D., Đurović, D., Mandić, L. (2005). Pre-sowing seed inoculation as a factor to improve yield and quality of perennial legumes on acid soil. (Proceedings of the 13th International Occasional Symposium of the European Grassland Federation, 29-31 August, Taru, Estonia), *Grassland Science in Europe*, Vol. 10, 285-288.
- Topol J., Kanižai-Šarić G. (2013). Simbiotska fiksacija dušika i ekološkoj poljoprivrednoj proizvodnji. *Agronomski glasnik* 2-3;
- Truchet G., Coulomb P.H. (1973). Mise en evidence et evolution du systeme phytolysosomal dans les cellules des differentes zones de nodules radiculaires de pois (*Pisum sativum* L.), Notion d'heterofagie Y. *Ultrastruct. Res.* Vol. 43. P. 36-57.
- Turgeon R., Bauer W. (1982). Early events in the infection of soybean by *Rhizobium japonicum*. *Canad. J. Bot.* Vol. 60. P. 152-161.
- Verma D.P.S., Zolgi V. Bal., A.K. (1978). Cooperative action of the plant and *Rhizobium*. *Plant Sci. Lett.* Vol.13.p. 137-142.
- Zahran H.H. (2001). *Rhizobia* from wild legumes: diversity, taxonomy, ecology, nitrogen fixation and biotechnology. *Journal of Biotechnology*, Vol. 91 (2–3), 143–153.
- Zhang F., Smith D.L. (2002). Interorganismal signaling in suboptimum environments: The legume-rhizobia symbiosis. *Advances in Agronomy*, Vol. 76, 2002, 125–161
- Яковлева З.М. (1975). Бактероиди квржичних бактерија. Новосибирск. Наука, 171 стр.
- Маргелис Л. (1983). Влияние симбиоза б эволюции клетки М.: „Мир“, 351 стр.
- Рудаков К.И., Биркель М.Р. (1954). Формирование клубеньков и протеопектиназные бактерии. Тр. Ин-та микробиологии АН СССР. Вип.3, ц. 125-143.
- Руссель С. (1977). Микроорганизмы и жизнь ночи. М.: Колос, 223 стр.
- Шильникова В.К. (1989). Биологическая азот в сельском хозяйстве СССР. „Наука“, Москва, 806 стр.

INFECTION LEGUMES WITH NODULE BACTERIA

Dragutin Đukić¹, Leka Mandić¹, Aleksandra Stanković-Sebić², Vladeta Stevović¹, Marijana Pešaković, Milica Zelenika¹, Vesna Đurović¹

Abstract

In this review paper we are discussing the question of the expediency of biological symbiosis between leguminous plants and rhizobium. In addition, we give the basic properties of symbionts interactions that characterize this complex system, as well as the dependence of this type of partnership of environmental conditions. In particular, they are viewed special stages of infecting plants with rhizobium. Finally, it is concluded that the effectiveness of the symbiosis between legumes and rhizobium depends not only of biological but also from abiotical factors; that this symbiosis is characterized by a relatively rapid return reactions to external influences, especially in the first stages of establishing symbiosis; that formed system is quite stable and can function effectively even in unfavorable environmental conditions.

Key words: plant, microorganisms, symbiosis

¹University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia (lekamg@kg.ac.rs)

²Institute of Soil Science, Teodora Drajzera 9, 11000 Belgrade, Serbia

³Fruit research institute, Kralja Petra I, 32000, Čačak, Serbia.

CIP - Каталогизација у публикацији
Народна библиотека Србије, Београд

63(082)

60(082)

САВЕТОВАЊЕ о биотехнологији са међународним учешћем (22 ; 2017 ;
Чачак)

Zbornik radova. 1 / XXII savetovanje o biotehnologiji sa međunarodnim
učešćem, Čačak, 10-11. mart 2017. godine ; [organizator] Univerzitet u
Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku = [organized by] University of
Kragujevac, Faculty of Agronomy, Čačak. - Čačak : Univerzitet u Kragujevcu,
Agronomski fakultet, 2017 (Čačak : Bajić). - 478 str. : ilustr. ; 24 cm

Radovi na srp. i engl. jeziku. - Tiraž 180. - Napomene i bibliografske
reference uz radove. - Bibliografija uz svaki rad. - Abstracts.

ISBN 978-86-87611-47-4

ISBN 978-86-87611-49-8 (niz)

1. Агрономски факултет (Чачак)

а) Пољопривреда - Зборници б) Биотехнологија - Зборници

COBISS.SR-ID 230072332