Uloga Azotobactera spp.kao slobodnog nitrofiksatora

Varvodić, Ana

Master's thesis / Diplomski rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of agriculture / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:984588

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek - Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

zir.nsk.hr

Image not found or type unknown

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Ana Varvodić

Diplomski studij Povrćarstvo i cvjećarstvo

ULOGA Azotobacter spp. KAO SLOBODNOG NITROFIKSATORA

Diplomski rad

Osijek, 2015.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Ana Varvodić

Diplomski studij Povrćarstvo i cvjećarstvo

ULOGA Azotobacter spp. KAO SLOBODNOG NITROFIKSATORA

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. prof.dr.sc. Gordana Bukvić, predsjednik
2. prof.dr.sc. Suzana Kristek, mentor
3. mag.ing.agr. Jurica Jović, član

Osijek, 2015

SADRŽAJ :

1. UVOD	1
2. KLASIFIKACIJA RODA AZOTOBACTER	2
2.1. KARAKTERISTIKE RODA AZOTOBACTER	3
2.2. OPĆE OSOBINE BAKTERIJE AZOTOBACTER CHROOCOCCUM	9
3. NITRIFIKACIJA	13
4. NAČINI PRIMJENE I ULOGA AZOTOBACTERA SPP.	16
4.1. BIOLOŠKA FIKSACIJA DUŠIKA	16
4.2. PROIZVODNJA BILJNIH HORMONA	17
4.2.1. PROIZVODNJA BILJNIH HORMONA RASTA	18
4.3. POBOLJŠANJE HRANJIVIH TVARI	19
4.4. PROIZVODNJA SIDEROFORA	20
4.5. BIOFERTILIZATORI I BIOKONTROLNI AGENSI	20
4.6. BIOLOŠKA KONTROLA PATOGENIH GLJIVA I NEMATODA	22
4.7. MEĐUSOBNO DJELOVANJE BAKTERIJA AZOTOBACTER I MIKORIZNIH GLJIVA	22
4.8. SINTEZA ALGINATA	23
4.9. OSTALE MOGUĆNOSTI PRIMJENE AZOTOBACTERA SPP	23
5. ZNAČAJ PRIMJENE AZOTOBACTERA U BILJNOJ PROIZVODNJI	24
6. ZAKLJUČAK	26
7. LITERATURA	27
8. SAŽETAK	34
9. SUMMARY	35
10. POPIS SLIKA	36
11. POPIS TABLICA	36
10. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KART	

1. UVOD

Mikroorganizmi koji imaju pozitivan efekt na biljke ubrajamo u korisnu mikrobnu populaciju rizosfere a jedan od najzančajniji mikroorganizama su biološki fiksatori.

Biološki fiksatori dušika procesom vezanja atmosferskog dušika oskrbljuju biljku reduciranim dušikom, a od nje uzimaju tvari potrebne za svoj razvoj. Ako u tlu postoje dovoljne količine raspoloživog dušika, tako da su zadovoljene potrebe biljke domaćina i bakterija, rast kvržica se smnajuje uz opadanje njihovog broja (Vukadinović, 2011.). Biološkom fiksacijom dušika se osigurava biljkama dovoljna količina dušičnog hranjiva, a u potpunosti se udovoljava zahtjevima gospodarenja tlom kao što su: produktivnost, sigurnost, zaštita prirodnih resursa, ekonomičnost (Redžepović i sur., 2005.). Biološka fiksacija dušika igra glavnu ulogu u održivosti poljoprivrede i procjene rizobne raznolikosti, također doprinosi bioraznolikosti tla mikroorganizama (Alberon i sur., 2005.). Važna uloga biološke fiksacije dušika je u plodnosti tla. Godišnje mikroorganizmi povezuju oko175 milijuna tona dušika godišnje, dok od toga 80% fiksiraju kopneni mikrobni organizmi (Wani i sur., 1994.).

Više je tipova organizama koji mogu vezati dušik iz atmosfere. To su slobodne živuće heterotrofne bakterije, slobodno živuće fotoautotrofne bakterije i simbiotske bakterije. Od aerobnih, slobodno živućih fiksatora dušika poznati su *Azotobacter, Azospirilum i Beijerinkia* s više vrsta (Vukadinović, 2011.).

Bakterije roda *Azotobacter* pripadaju nesimbiotskim fiksatorima. To su mikroorganizmi koji slobodno žive u rizosferi tla. Također su sposobni fiksirati atmosferski dušik te ga ostavljaju u tlu ili vodi gdje ga koriste biljke i drugi organizmi za svoj rast (Milaković, 2013.). Inokulacijom sa ovim fiksatorima dušika moguće je povećanje prinosa ratarskih biljaka (Milošević i Govedarica, 2001.). Istraživanja primjene nesimbiotskih fiksatora *Azotobactera* kao biofertilizatora u proizvodnji pšenice, kukuruza i šećerne repe pokazuju da, u ovisnosti od soja, postoji mogućnost zamjene mineralnog dušika od 20-60 kg po hektaru (Milošević i sur. 2003.).

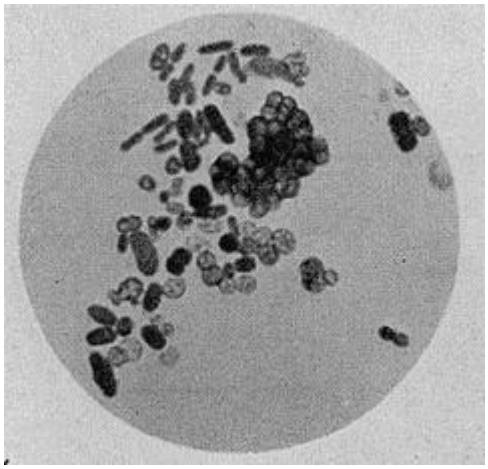
2. KLASIFIKACIJA RODA AZOTOBACTER

Tablica 1.Prikaz klasifkacije i vrste roda *Azotobacter*, www.wikipedia.com

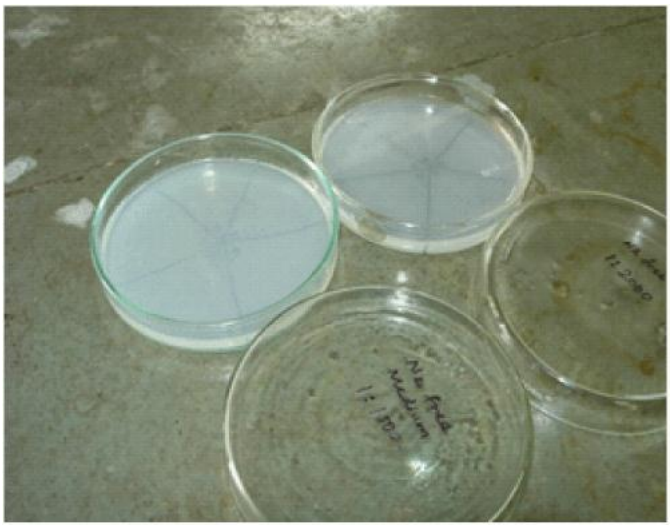
KLASIFIKACIJA AZOTOBACTERA	
Vrsta:	*Bakterija*
Carstvo:	*Bakterija*
Divizija:	*Proteobakteriia*
Razred:	*Gammaproteobakteriia*
Red:	*Pseudomonadales*
Porodica:	*Pseudomonadaceae*/*Azotobacteraceae*
Rod:	***Azotobacter***
VRSTE	
Azotobacter agilis *Azotobacter armeniacus* *Azotobacter spp. AR* *Azotobacter beijerinckii* *Azotobacter chroococcum* *Azotobacter spp. DCU26* *Azotobacter spp. FA8* *Azotobacter nigricans* *Azotobacter paspali* *Azotobacter salinestris* *Azotobacter tropicalis* *Azotobacter vinelandii*	

a. KARAKTERISTIKE RODA AZOTOBACTER

Rod *Azotobacter* je Gram-negativna bakterija koju nalazimo u neutralnim i alkalnim tlima (Gandora i sur., 1998; Martyniuk, 2003.) i u vodi (Tejera i sur., 2005; Kumar i sur., 2007.). Stanice su velike i ovalne 1,5-2,0 μm u promjeru. Javljaju se pojedinačno, u parovima ili nepravilnim oblicima a ponekad i u lancima različitih duljina. Raspon pH za rast ovih bakterija je 4,8-8,5. *Azotobacter* može koristiti nitrate i amonijeve soli i neke aminokiseline kao izvor dušika (Beijerinck, 1901.).



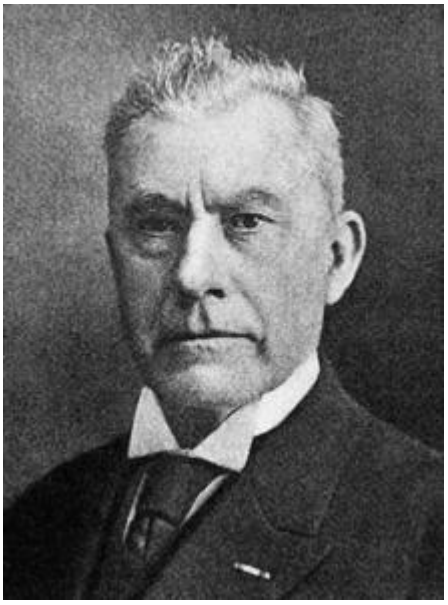
Slika 1. *Azotobacter*, http://en.wikipedia.org/wiki/Azotobacter



Slika 2. Azotobacter na hranjivoj podlozi

http://agritech.tnau.ac.in/org_farm/orgfarm_biofertilizertechnology.html

Azotobacter chroococcum, otkrio je i opisao u 1901. godine nizozemski mikrobiolog i botaničar Martinus Beijerincka.



Slika 3. Martinus Beijerinck (1851-1931),
www.wikipedia.com

Azotobacter, zanimljivo, sadrži više DNK od većine drugih bakterija, ali njihova veličina genoma je tipična za većinu prokariota. Razlog za ovo iznad prosječnog iznosa od DNA nije poznat, ali to je vjerojatno zato što su stanice *Azotobactera* veće od drugih bakterija.

Azotobacter vrste imaju višestruku pozitivnu ulogu jer vrše atmosfersku fiksaciju dušika, sudjeluju u proizvodnju fitohormona i razgradnju otrovnih spojeva, te utječu na ekološku ravnotežu u agro-ekosustavima.

Azotobacter proizvodi pigmente npr., *Azotobacter chroococcum* tvori tamnosmeđi pigtment, u vodi topljivi pigment melanin. Druge *Azotobacter* vrste proizvode pigmente od žuto-zelene do ljubičaste boje, uključujući i zeleni pigment, te isto tako stvaraju tzv.flurocentne pigmente.



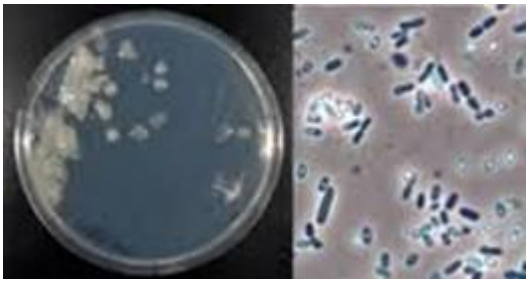
Slika 4. Kolonije Azotobactera,
http://agritech.tnau.ac.in/org_farm/orgfarm_biofertilizertechnology.html

Današnja poljoprivredna proizvodnja nastoji smanjiti troškove proizvodnje korištenjem prirodnih izvora energije, što uključuje i redukciju onečišćenja okoliša, a posebno kada se radi o mineralnom dušiku - smanjenje eutrofikacije podzemnih voda. Da bi nitrofiksacija bila efikasna, kada se radi o simbiotskim nitrofiksirajućim bakterijama, važno je da tlo sadrži dovoljno molibdena, te da postoji kompatibilnost između sorte soje i soja *B. japonicum* (Triplett and Sadowsky, 1992; Mrkovački et al., 1992; Hungria and Bihrer, 2000; Kristek, 2001; Milić et al., 2002).

Bakterije iz roda *Azotobacter* su slobodno živući organizmi koji usvajaju dušik iz atmosfere, ali su u uskoj vezi s korjenjem biljaka. Pod odgovarajućim uvjetima, ove bakterije mogu unaprijediti razvoj biljaka i promicati prinos kod većine poljoprivrednih kultura u različitim tlima i klimatskim regijama (Becking, 1992; Okon and Labandera-Gonzalez, 1994). Direktne koristi koje biljka ima od benefitnih bakterija rodova *Azotobacter* su poboljšanja u razvoju korijena, povećanje usvajanja vode i mineralnih hraniva, biološka fiksacija dušika te dislociranje patogenih gljiva i bakterija iz rizosfere korijena (Brown, 1974; Okon and Itzigsohn, 1995).

Pozitivni učinci npr. kombinirane inokulacije leguminoza s bakterijama roda *Rhizobium* i rodova *Azotobacter* imaju pozitivan učinak na težinu i broj kvržica, te na količinu usvojenog dušika (Burns et al., 1981; Yahalom et al., 1987; Rodelas et al., 1996). Nadalje, sojevi roda *Azotobacter* poboljšavaju usvajanje P i/ili K kod kukuruza, pšenice, sirka i riže, te utječu na promjenu ravnoteže makro i mikrohraniva kod pšenice i soje. Međutim, takvi učinci na mineralnu ishranu mogu značajno varirati između različitih kombinacija sorata biljaka i bakterijskih sojeva (Murty and Ladha, 1988; Bashan et al., 1990; Rodelas et al., 1999).

Kombinirana inokulacija sjemena (Dobbelaere and Okon, 2007) pospješuje usvajanje mineralnih hraniva, što direktno utječe na povećanje dužine korijena. To dovodi do boljeg usvajanja molibdena, fosfora i željeza koji su od iznimne važnosti za formiranje kvržica i usvajanje atmosferskog dušika (Burdman et al., 1998).



Slika 5. Kolonije *Azotobactera*, www.agritech.tnau.ac.in

Azotobacter chroococcum, kao nesimbiotski fiksator atmosferskog dušika obogaćuje tlo ovim elementom pretvarajući ga u oblike pristupačne biljkama te tako utječe na povećanje prinosa.

Mnogi autori navode da je zastupljenost *A. chroococcum* kao nesimbiotskog fikastora pouzdan indikator plodnosti tla, vrlo se sporadično javlja u istraživanim tipovima tala i to samo u ljetnom razdoblju kod aluvijalno neoglejnog tla i rendzine u oba sloja tla i kreće se od 37,33 do 96% fertilnih zrnaca, a kod močvarnog glejnog oko 80% fertilnih zrnaca samo u površinskom sloju (Vasilj i sur., 2007.). Uzrok dobre zastupljenosti vrste *A. chroococcum* u ovim tipovima tala je u povoljnim kemijskim svojstvima tla te dobroj prokorijenjenosti tla što je poticajno za rast i razvoj te grupe mikroorganizama (Vasilj i sur., 2007.). Za takvu zastupljenost *A. chroococcum* značajnu ulogu igraju izlučevine korijena koje sluţe kao izvor ugljika odnosno energije. Zbog toga se rizosfera smatra glavnom zonom aerobne asimbiozne fiksacije dušika u tlu (Killham, 1994.).

Istraživanja pokazuju da je *Azotobacter* najosetljivija grupa mikroba na primjenu herbicida, te može biti pouzdan bioindikator biogenosti tla jer burno reagira na promjenu bilo kojeg faktora u zemljištu kao eko sustavu. (Milošević i sur., 2004.). Pri inokulaciji pšenice sa nesimbiotskim fiksatorima *(A. chroococcum)* i aktinomicetama uz dodatak mineralnog dušikovog gnojiva, Jarak i sur. (2006.) su zabilježili povećanje u prinosu (8-11%) kod inokuliranih biljaka pšenice. Također, u istom istraživanju, u rizosferi inokuliranih biljaka broj azotobaktera, aktinomiceta i dehidrogenazna aktivnost su bili značajno povećani. U istraživanjima Govedarice i sur. (1998.) utvrđeno je da je inokulacija s *A. chroococcum* utjecala na povećanje prinosa zrna kukuruza i da je efekt ovisio od soja, hibrida i primijenjenih količina NPK gnojiva. Također je utvrđen utjecaj bakterizacije na prinos zrna po jedinici površine, odnosno hektaru. Ovi rezultati pokazuju mogućnost zamjene određene količine mineralnih dušikovih gnojiva sa biofertilizatorima koji bi sadržali visoko efektivne proizvodne sojeve diazotrofa (Milošević i Govedarica 2001, Govedarica i sur. 2002.).

Bakterizacijom kukuruza sa sojevima *Azotobacter chroococcum, Azotobacter vinelandii, Azospirillum lipoferum, Bacillus megatherium, Bacillus subtilis* i dr. u ovisnosti od količine primijenjenog mineralnog dušika dobiveno je povećanje ukupnog broja mikroorganizama, broja azotobaktera i bakterija iz ciklusa kruţenja fosfora, kao i prinosa zrna kukuruza

(Cvijanović i sur., 2007.). Jarak i sur. (2011.) su u svojim istraţivanjima utvrdili da se inokulacijom sa sojevima *Azotobacter* može utjecati na povećanje prinosa kukuruza za više od 10%, kao da se povećala ukupna mikrobiološka aktivnost.

Azotobacter croococcum veže dušik iz zraka i time povećava koncentraciju iona amonijaka, u rizosferi (u neposrednij blizini korijena). Velik dio tih iona se uslijed djelovanja bakterija koji izazivaju nitrifikaciju, pretvara u ione nitrata i time povećava količinu dušika u tlu, koji je biljkama dostupan.

Azotobacter vinelandii je slobodan fiksator dušika. Fiksira dušik iz zraka i proizvodi tvari odgovorne za rast (auksine,giberaline).

Prema odnosima s biljkama, bakterije koje potiču rast biljaka se mogu podijeliti u dvije grupe: simbiotske bakterije i one koje su slobodne u rizosferi (Khan, 2005.). Također se mogu podijeliti u dvije grupe prema mjestu gdje su locirane odnosno koje ţive unutar biljne stanice, formiraju kvržice i smještene su unutar tih specijaliziranih struktura i koje žive van biljnih stanica i ne formiraju kvržice, ali ipak potiču biljni rast (Gray i Smith, 2005.). Somers i sur. (2004.) podijelili su bakterije koje potiču rast biljaka prema njihovoj aktivnosti na: biofertilizatore (povećavaju dostupnost hranljivih tvari biljkama); fitostimulatore (stimuliraju rast biljaka putem produkcije hormona); rizomedijatore (razlažu organske polutante) i biopesticide (kontroliraju bolesti biljaka produkcijom antibiotika i antifugalnih metabolita). Različite se bakterije koje potiču rast biljaka danas koriste širom svijeta u cilju povećanja biljne proizvodnje (Burd i sur., 2000.).

Bakterije koje potiču rast biljaka su predmet mnogobrojnih istraţivanja, čiji je glavni cilj pronalaženje adekvatnog načina njihove primjene u poljoprivredi, hortikulturi, šumarstvu i zaštititi životne sredine (Zahir i sur., 2004.). Primjenom bakterija koje potiču rast biljaka smanjuje se mogućnost toksikacije zemljišta i podzemnih voda, povećava se sadržaj organske tvari zemljišta povećanjem brojnosti i aktivnosti mikroorganizama u rizosferi kultiviranih biljaka, i postiže se visok ekonomski efekt uštedom čistog dušika u količini od 30-60 kg /ha.

2.2 OPĆE OSOBINE BAKTERIJE *Azotobacter chroococcum*

Azotobacter chroococum je bakterija iz porodice *Azotobacteriaceae.* Porodica *Azotobacteriaceae* ima četiri roda. To su: *Azotobacter, Azomonas, Beijerinckia i Derxia* (Jensen, 1954.). Prvu i drugu vrstu iz roda *Azotobacter*, bakterije *Azotobacter chroococcum* i *Azotobacter agilis* otkrio je u Nizozemskoj Beijerinck 1901. godine. Zatim su redom izolirane sljedeće vrste: *Azotobacter vinelandii, Azotobacter beijerinckii, Azotobacter nigricans, Azotobacter paspali,* (Dobereiner, 1966.), *Azotobacter armenicus, Azotobacter salinestris*. Bakterije iz roda *Azotobacter* su pleomorfne što znači da se morfološki mijenjaju u zavisnosti od uvjeta sredine.

One mogu biti:

- u obliku kratkih tupih štapića veličine 2 x 4 μm (Winogradski, 1938.);

- okrugle stanice promjera 2-3 μm koje se pojavljuju u nakupinama ili lancima;

- sitni tupi štapići ili okrugle stanice manje od 1μm, a često se pojavljuju u parovima, (Winogradski, 1930.);

- veće stanice nepravilna vlaknasta oblika (Winogradski, 1938.);

- uspavane stanice zvane ciste okrugla oblika, metabolički neaktivne (Winogradski, 1938.).

Bakterije vrste *Azotobacter chroococcum* su asporogene, gram negativne, heterotrofne i dosljedni su aerobi. Optimalna reakcija sredine za uzgoj bakterije *Azotobacter chroococcum* je neutralne vrijednosti, a optimalna temperatura varira od 25-30° C. U ostarjelim kulturama stanice *Azotobacter chroococcum* proizvode netopivi crni pigment melanin (Narula, 2000.).

Azotobacter chroococcum ne proizvodi endospore, ali formira debelo obrubljene ciste kao dio njezinog životnog ciklusa. Ciste su stanice u fazi mirovanja. Nastaju iz vegetativnh stanica kada se bakterija nađe u nepovoljm uvjetima. Svrha stvaranja cista je preživljavanje isušivanja, nedostatka hranjiva i mehaničkih oštečenja. Kada se stanica prevede u oblik ciste u njoj se zaustavljaju svi metabolički procesi. Mogućim dolaskom u povoljne uvjete bakterija opetovano prelazi u stanje vegetativne stanice. Bakterijske stanice u stanju cista pokazuju veliku otpornost na djelovanje kemikalija. Ciste sadržavaju velike količine kalcija, ali ne i dipikolinske kiseline. Kalcij je taj koji omogućuje otpornost na isušivanje. Dok su u stanju cista, stanice ne mogu fiksirati dušik.



Slika 6. . Bakterija *Azotobacter chroococcum* u stadiju ciste

https://www.google.hr/search?hl=hr&site=imghp&tbm=isch&source=hp&biw=1024&bih=614&q=azotobacter+chroococcum&oq=azotobacter+chroococcum

Nastanak cista odvija se u 3 faze:

1. stanice gube flagelarne pokretače;

2. mjenjaju oblik iz ovalnog u okrugli;

3. stvaraju debeli omotač načinjen od:

- unutrašnjeg omotača, intine koga čine lipidi i ugljikohidrati;

- vanjskog omotača, koga čine lipoproteini i lipopolisaharidi.

U središnjem dijelu ciste smještene su velike granule polihidroksibutirata (PHB) koje služe kao rezervna tvar za prelazak sa aerobnog na anaerobni metabolizam. U omotaču ciste koji se naziva i kapsula nalazi se stanična sluz načinjena od polisaharida i glavnog sastojka alginata koji je odgovoran za mehaničku otpornost cista. Kapsula načinjena od alginata priječi ulazak kisika u stanicu. Očevidno je da je kvaliteta, a ne kvantiteta alginata mjerodavna za zaštitu nitrogenaze. Proces stvaranja cista je polagan, traje oko 36 sati (Narula, 2000.).

Optimalna temperatura za biosintezu alginata je 12-18 °C. Dodatak metalnih kationa, saharoze i n-butanola u hranjivu podlogu može izazvati stvaranje cista (Narula, 2000.) Mnogi znanstvenici diljem svijeta već dugi niz godina proučavaju bakteriju *Azotobacter chroococcum,* tako da primjerice u Indiji postoji i standard o uzgoju i nacijepljivanju bakterije *Azotobacter chroococcum*, Prema uputama indijskog standarda ovu bakteriju je moguće uzgojiti u bezdušičnim tekućim podlogama u koncentracijama većim od 1013 ml/1živih stanica, koje se na čvrstim nosačima mogu održati dulje od 6 mjeseci. U Indiji se također preporučuje proizvodnja tekućeg biološkog gnojiva koje sadržava 1011,5 ml/1 stanica bakterije *Azotobacter chroococcum* u obliku cista radi njihova duga vijeka trajanja i održivosti preko 25 mjeseci pri temperaturama od 4°C pa sve do 42°C. (Narula, 2000.). Najvažnija osobina bakterije *Azotobacter chroococcum* je sposobnost vezanja slobodnog dušika iz zraka pomoću enzima nitrogenaze pri uzgoju na podlogama bez izvora dušika uz nužno prisustvo organskog ugljika kao izvora energije, a to mogu biti: glukoza, saharoza, neki alkoholi, organske kiseline, i sl. Bakterije ove vrste imaju najveću respiratornu aktivnosti jer su sposobne vezati i do 30 mg dušika iz zraka pri oksidaciji 1 g ugljikohidrata.

Za aktivnost enzima nitrogenaze nužno je prisusutvo molibdena ili vanadija koji mogu biti zamijenjeni i željezom (Narula i Tauro, 1986). Azotobakterije su ispitivane zbog vezanja dušika. Međutim, usprkos vrlo velikom broju eksperimentalnih podataka, uključujući stimulaciju razvoja biljaka, točan mehanizam djelovanja azotobakterija kojim utječu na rast biljke nije dovoljno razjašnjen. Moguća su četiri različita mehanizma:

1. vezanje dušika;

2. predavanje dušika biljci;

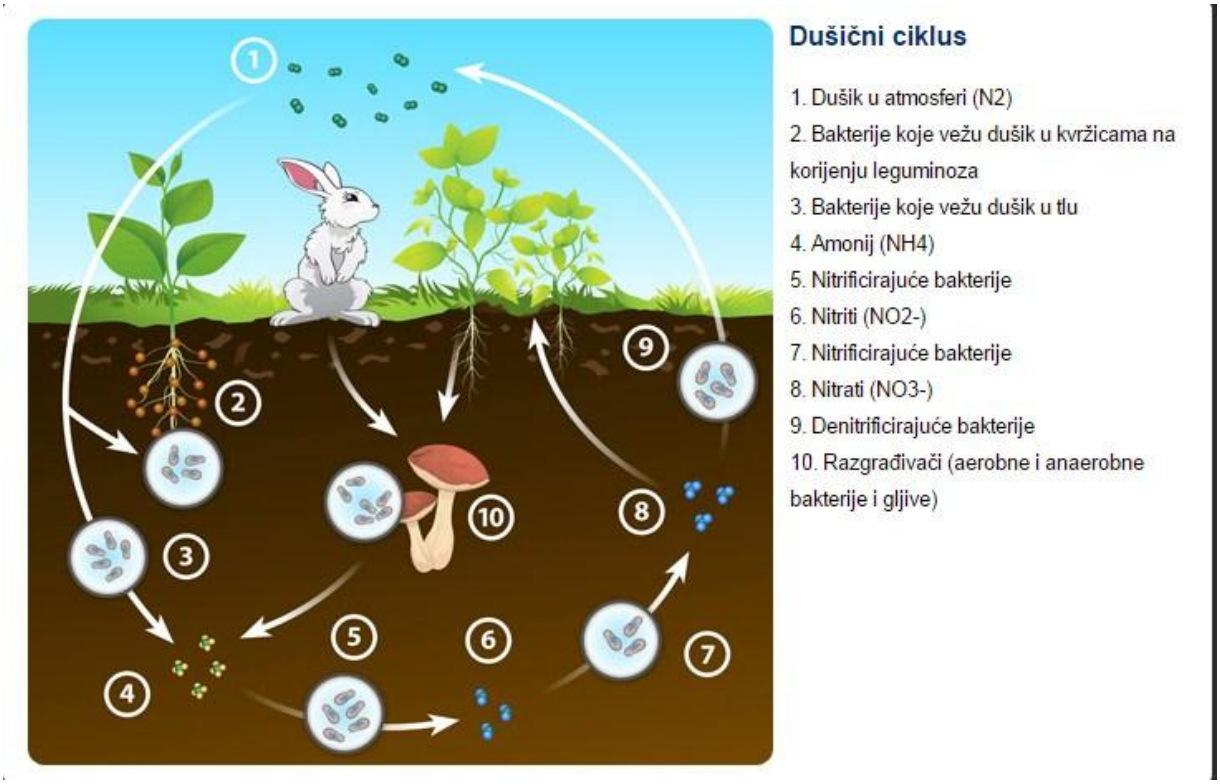
3. proizvodnja biljnih hormona koji mijenjaju morfologiju i uzrokuju rast biljke;

4. bakterijska redukcija nitrata koja povećava akumulaciju dušika u inokuliranoj biljci (Narula, 2000.).

Na osnovu svojih istraživanja za uzgoj bakterije *Azotobacter chroococcum* mnogi znanstvenici (Jensen, Brown, Winogradski) preporučuju selektivne bezdušične podloge.

3. NITRIFIKACIJA

Biokemijski proces kod kojeg dušične bakterije u tlu pretvaraju amonijak (nastao bakterijskom razgrdanjom bjelančevina iz odumrlih biljnih i životinjskih dijelova) u nitrite, a potom u nitrate. Na taj se način tlo obogaćuje dušikom koji biljka može iskorištavati. Jedan od stadija kruženja dušika u prirodi (nitrogeni ciklus).



Slika 7. Dušični ciklus, www.chemgeneration.com

Nitrifikacija je dvostupanjski aeroban postupak obrade u kojem se odvija oksidacija amonijaka u nitrat preko nitrita. Nitrificirajuće bakterije mogu provoditi nitrifikaciju autotrofno, heterotrofno ili miksotrofno. Osnovna razlika je u načinu dobivanja energije koju mikroorganizmi upotrebljavaju za rast i razmnožavanje.

Nitrifikacija je proces koji uključuje dvije grupe bakterija:

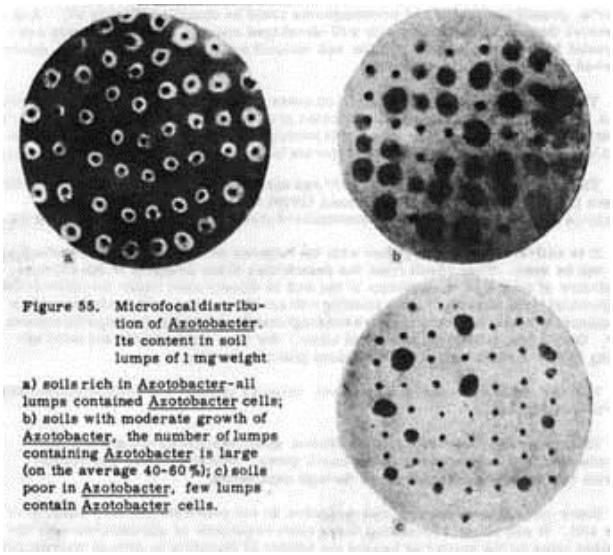
- Nitrosomonas – amonijak oksidirajuće bakterije koje energiju potrebnu za rast dobivaju oksidacijom amonijaka do nitrita. Pripadaju rodovima : *Nitrosomonas spp., Nitrosococcus spp., Nitrosospira spp., Nitrosolobus spp. i Nitrosovibrio spp.*

Nitrobacter – nitrit oksidirajuće bakterije koje energiju potrebnu za rast i razmnožavanje dobivaju oksidacijom nitrita do nitrata. Pripadaju rodovima : *Nitrobacter sp., Nitrococcus sp., Nitrospina sp. i Nitrospira sp*.

Bakterije roda *Azotobacter* najjači su fiksatori dušika u prirodi. Tu pripadaju vrste: *Azotobacter chroococcum, Azotobacter vinellandii, Azotobacter beijerinckii, Azotobacter nigricans, Azotobacter americanus i Azotobacter paspali.* Porodici *Azotobacteriaceae* pored roda *Azotobacter,* pripadaju još i rodovi *Azotomonas; vrste Azotomonas agilis, Azotomonas insignis i Azotomonas maktocytogenes.*

Na proces nitrifikacije utječe niz čimbenika okoline: kakvoća tla, temperatura, koncentracija otopljenog kisika, pH vrijednost okoliša, prisustvo toksičnih sastojaka, te vrste mikroorganizama.Optimalna pH vrijednost vodenog okoliša za nitrifikaciju je oko 7,2, temperatura između 25 – 30°C, koncentracija otopljenog kisika 3-7 mg O2/l. Visoke koncentracije otopljenog kisika ne utječu znatno na stopu nitrifikacije, dok niske koncentracije otopljenog kisika znatno smanjuju stopu nitrifikacije. Koncentracija otopljenog kisika mora biti dovoljna da bi prilikom rasta nitrifikanata limitirajući faktor rasta bila samo koncetracija otopljenog amonijaka.

Nitrificirajuće bakterije osjetljive su na dosta organskih i anorganskih spojeva te su se zbog toga pokazali kao dobri indikatori toksičnih spojeva u niskim koncentracijama (Blum i Speece, 1991). Metali su također inhibitori za nitrifikante i dokazana je inhibicija pri koncentracijama od 0,25 mg/l Ni, 0,25 mg/l Cr i 0,10 mg/l Pb.



Slika 8. Prikaz količine *Azotobactera* u različitim vrstama tala

https://microbewiki-kenyon.edu

4. NAČINI PRIMJENE I ULOGA AZOTOBACTERA spp.

Poznati su mehanizami primjene korisnih mikroorganizama rizosfere odnosno *Azotobacter spp.* koje potiču rast biljaka koje mogu dovesti do zdravijih biljaka i boljih prinosa. Bakterija *Azotobacter chroococcum* koristan je zemljišni mikroorganizam koji ima pozitivan utjecaj na rast i razvoj biljaka. Njezina prisutnost u zemlji označava plodnu i obrađivanu zemlju. U šumskom zemljištu gotovo da je i nema U neobrađenom i toksičnom zemljištu također nije prisutna. Njezin broj u obrađivanom zemljištu se kreće od nekoliko tisuća do nekoliko desetaka tisuća u gramu zemljišta (Narula, 2000.).

a. BIOLOŠKA FIKSACIJA DUŠIKA

Biološka fiksacija dušika igra glavnu ulogu u održivosti poljoprivrede i procjeni rizobne raznolikosti te značajno doprinosi bioraznolikosti tla mikroorganizama (Alberon i sur., 2005.). Bakterije koje potiču rast biljaka fiksiraju dušik u rizosferi neleguminoznih biljaka bez direktnog kontakta s biljkom i nazivaju se slobodni fiksatori dušika (Glick i sur., 1999.). Slobodni fiksatori dušika pripadaju rodovima *Azotobacter, Beijerinckia, Derxia, Azoarcus , Azospirillum, Burkholderia , Gluconacetobacter* i *Pseudomonas* (Mirza i sur., 2006.).

Slobodni fiksatori dušika mogu pozitivno utjecati na rast mnogih neleguminoznih biljaka kao što je to kod rotkve (Antoun i sur., 1998.), riže (Mirza i sur., 2006.), kukuruza (Hajnal, 2010.) ali i leguminoznih biljaka, primjerice crvene djeteline (Stamenov, 2009.). Na taj način biljne kulture se mogu uzgajati s manjom upotrebom kemijskih gnojiva (Bhattacharjee i sur., 2008.). Endofitni mikroorganizmi koji kolonizuju unutrašnje biljno tkivo korijena, stabljike ili lista, su također sposobni fiksirati dušik i na taj način pozitivno utjecati na rast biljke (James i Olivares, 1997.). Primjena bakterija koje potiču rast biljaka povećava nodulaciju i fiksaciju dušika kod soje *Glycine* max L. Merr. (Zhang i sur., 1999.). Dakle, utvrđeno je da je primjena preparata koji sadrže bakterije koje potiču rast biljaka utjecala na povećanje nodulacije, fiksaciju dušika, rast i prinos usjeva biljaka (Saharan, 2011.).

b. PROIZVODNJA BILJNIH HORMONA

Bakterije koje potiču rast biljaka sintetiziraju i izdvajaju fitohormone koji se nazivaju hormoni biljnog rasta.Tu spadaju i određene vrste *Azotobacter spp.* Fitohormoni su organske tvari koje u vrlo malim koncentracijama utječu na sve biokemijske i fiziološke procese u biljci (Fuentes-Ramírez i Caballero-Mellado, 2006.). Biljke se opskrbljuju hormonima na dva načina: endogeno; proizvodnjom od vlastitog tkiva i egzogeno; hormonima koji su generirani od strane bakterija koje potiču rast biljaka (Baca i Elmerich, 2007.). Bakterije koje potiču rast biljaka produciraju auksine (IAA), gibereline i citokinine koji mogu stimulirati rast biljke (Bottini i sur., 2004; Spaepen i sur., 2008.). Produkcija fitohormona bakterijama koje potiču rast biljaka smatra se jednim od najvaţnijih mehanizama kojim oni utječu na rast biljaka (Spaepen i sur., 2007.). Veliki broj vrsta gljiva i bakterija moţe proizvoditi fitohormone (Tsavkelova i sur., 2006.). Fiziološki najaktivniji fitohormon u biljkama je indol-octena kiselina, koja je odgovorna za stimulaciju izduţivanja stanica, njihovu diobu i diferencijaciju (Salisbaury, 1994.). Glick i sur. (1999.) i Kumar i sur. (2002.) su utvrdili da bakterije koje potiču rast biljaka proizvode indol-octenu kiselinu i druge metabolički aktivne tvari i na taj način dolazi do povećanja duţine korijena, visine nadzemnog dijela biljke i njenog prinosa. Od bakterija koje potiču rast biljaka koje proizvode indol-octenu kiselinu bakterije roda *Azospirillum* najviše su istraživane (Dobbelaere i sur., 1999.). 80 % bakterija izoliranih iz rizosfere moţe sintetizirati indol-octenu kiselinu (Mrkovački i Bjelić, 2011.). Hormoni interakcijom sa specifičnim ciljnim tkivima uzrokuju fiziološke reakcije, kao što su rast ili sazrijevanje ploda (Saharan i Nehra, 2011.). Svaka reakcija je rezultat dva ili više hormona koji djeluju zajedno.

.

4.2.1. *PROIZVODNJA BILNJIH HORMONA RASTA*

Azotobacter chroococcum luči biljne faktore rasta kao što su: giberalini, citokinoni, indol octena kiselina itd. (Narula, 2000.). Fiziološki aktivne tvari su one koje u određenim uvjetima imaju isti stimulacijski ili inhibicijski učinak na fiziološke i biokemijske procese u biljci, a što rezultira metabolitskim i morfološkim promjenama. Fitohormoni ili biljni hormoni su regulatoriprocesa rasta i razvitka, a dijele se u 5 grupa: auksini, giberelini, citokinini, apsicinska kiselina (ABA) i etilen.

Najvažnija fiziološka uloga citokinona je:

- stimuliranje diobe stanica;
- sudjelovanje u diferenciranju stanica i formiranju organa;
- reguliraju promet tvari organa koji više ne rastu;
- sprečavaju gubitak klorofila;
- utječu na sintezu RNA u stanicama;
- povećavaju otpornost biljaka na visoke i niske temperature;
- povećavaju otpornost na gljivična oboljenja.

Najvažniji fiziološki učinci giberelina su u:

- rastu biljaka;
- sintezi alfa amilaze i aktivnosti pojedinih enzima pri klijanju;
- razvoju ploda;
- utjecaju na broj i morfologiju listova;
- ubrzanju rasta korijena i stabljike;
- poboljšavanju cvatnje i oplodnje.

Auksini su hormoni koji djeluju stimulacijski na rast i razvoj biljaka, a ustanovljeno im je I herbicidno djelovanje. Najznačajniji auksin je indol-3-octena kiselina (IAA). (Vukadinović i Lončarević, 1997)

c. POBOLJŠANJE HRANJIVIH TVARI

Bakterije koje potiču rast biljaka mogu poboljšati dostupnost hranjivih tvari u tlu i poticati biljke da učinkovitije koristite hranjive tvari. Vlaga u zemljištu također utječe na kolonizaciju rizosfere s bakterijama koje potiču rast biljaka (Mrkovački i Bijelić, 2011.). Također je uočeno da je maksimalno povećanje klijanja i prinosa najčešće bilo u biljaka bakteriziranih s bakterijama koje potiču rast biljaka sojevima izoliranih iz rizosfere biljke domaćina. Pokazano je da je efikasnost inokulacije veća primjenom „homolognih" sojeva bakterija tj. sojevima koji su izolirani s biljne vrste koja će se inokulirati (Mrkovački i sur. 2003.). Također bakterije koje potiču rast biljaka mogu povećati dostupnost drugih hranjivih tvari kao što su fosfati, sumpor, željezo i bakar.



Slika 9. Različiti pripravci koji sadrže *Azotobacter*, www.prabhatfertilizer.in

d. PROIZVODNJA SIDEROFORA

Siderofori su prirodni spojevi koje stvaraju mikroorganizmi sa svrhom prijenosa željeza iz okoline u stanicu. Siderofori su također i spojevi koji se vežu za željezo u tlu. Specifični membranski receptori gram-negativnih i gram-pozitivnih bakterija procesom aktivnog transporta kroz membranu prepoznaju ne siderofore željeza (Boukhalfa i Crumbliss., 2002.). Siderofori sadrže kelate željeznog iona s visokim afinitetom, omogućujući njegovu stabilnost i izdvajanje minerala iz većine organskih kompleksa (Wandersman i Delepelaire, 2004.). Važnost siderofora usko je povezana s željezom, koji je bitan element za različite biološke procese (Crisa i Walsh, 2012.). Proizvodnja siderofora daje konkurentne prednosti bakterijama koje promiču rast biljaka jer mogu kolonizirati korijenje, uključujući druge mikroorganizme iz ekološke niše (Haas i Defago, 2005.). Proizvodnja siderofora u tlu igra glavnu ulogu u određivanju sposobnosti različitih mikroorganizama na poticanje rast i razvoja biljaka.

e. BIOFERTILIZATORI I BIOKONTROLNI AGENSI

Praktična primjena bakterija koje promiču rast je moguća u poljoprivredi u obliku biofertilizatora ili biokontrole biljnih patogena. Biofertilizatori su preparati koji sadrže odabrane kulture mikroorganizama. Koriste se za inokulaciju sjemena i rasada ili se unose u zemljište kako bi se intenzivirali određeni mikrobiološki procesi kojima se povećava sadržaj pristupačnih hranjiva za biljku (Jarak i Đurić 2008; Mrkovački i sur., 2012b.). U biofertilizatore ubrajamo biofertilizatore koji poboljšavaju fiksaciju dušika, slobodne i asocijativne dušične fiksatore *(Azotobacter),* cijanobakterije, te biofertilizatori koji poboljšavaju opskrbu biljaka fosforom (*Bacillus, Penicillium, Aspergillus, Pseudomonas).*

Pozitivan efekt na prinos i opskrba biljaka dušikom i fosforom postignut je u proizvodnji pšenice, riže, kukuruza i drugih ratarskih i povrtlarskih biljnih vrsta, primjenom višestrukih preparata za inokulaciju koji su sadrţavali smjesu fiksatora dušika i fosfomineralizatora i taj efekt bio je veći nego u slučaju njihove pojedinačne primjene (Bashan, 1998; Govedarica i sur., 1999.). Primjenom biofertilizatora koji sadrţe bakterije koje potiču rast biljaka smanjuje se upotreba skupih dušičnih gnojiva, omogućava se biljci lakše usvajanje fosfora, zatim se utječe na pravac i dinamiku mikrobioloških procesa koji utječu na odrţavanje i povećanje

plodnosti zemljišta (Mrkovački i sur., 2012.).

Pod pojmom biokontrolni agensi smatra se upotreba mikroorganizama za suzbijanje bolesti i time se nastoji poboljšati cjelokupno zdravlje biljke (Handelsman i Stabb, 1996.). Omogućavanje da se mikroorganizmima kolonizira korijenje biljaka domaćina može biti ekološka alternativa skupim pesticidima u borbi protiv korova, kao i gljivične i bakterijske infekcije. Bakterije koje potiču rast biljaka su autohtoni na tlo i biljke u rizosferi te stoga imaju važnu ulogu u biokontroli biljnih patogena. Isto tako mogu suzbiti široki spektar bolesti uzrokovane bakterijama, gljivicama i nematodama. Bakterije koje potiču rast biljaka pružaju i zaštitu od virusnih bolesti. Neke od *Azotobactera* također možemo koristiti i u integriranoj biljnoj proizvodnji. Veća primjena bakterija koje promiču rast biljaka u poljoprivredi je moguća zbog biokontrole biljnih štetnika i biofertilizacije (Siddiqui, 2006.).

f. BIOLOŠKA KONTROLA PATOGENIH GLJIVA I NEMATODA

Zemljišne gljive, najčešći nametnici na zrnu ječma (*Alternaria, Fusarium, Helminthosporium* itd.) izazivaju lošu humifikaciju, tj stvaraju nepovoljne oblike kao što su: krenska i apokrenska kiselina, čime pojačavaju kiselost zemljišta što se nepovoljno odražava na rast azotofiksacijskih i nitrifikacijskih bakterija. Antagonističko djelovanje bakterije *Azotobacter chroococcum* na fitopatogene gljive proučavali su mnogi ali nije razjašnjeno uzrokuju li to siderofore ili antibiotici. Bakterija *Azotobacter chroococcum* ima i fungistatično djelovanje. Naime, ona promovira rast biljke u početnom stadiju time što inhibira razvoj *Fusarium.spp., Alternaria spp. i Penicillium spp*. koji su vrlo često prisutni na sjemenu i sintetiziraju brojne toksične sastojke (Narula, 2000.).

g. *MEĐUSOBNO DJELOVANJE BAKTERIJA RODA AZOTOBACTER I MIKORIZNIH GLJIVA*

Mikoriza je uzajamna ovisnost fotoautotrofnih biljaka i gljiva i predstavlja jednu od najvažnijih ali još nedovoljno razjašnjenih bioloških zajednica koja regulira, a time i omogućuje pravilno funkcioniranje ekosistema. Mikoriza je simbiotska zajednica gljiva i viših biljaka u kojoj su hife gljiva invadirane u korijen biljke i potpomažu usvajanje vode i hranjiva. Mikoriza može biti:

- infektivna (endomikoriza i ektomikoriza);
- neinfektivna (Vukadinović i Lončarević, 1997.).

Mikorizne gljive opskrbljuju bakterije roda *Azotobacter* fosforom, a zauzvrat uzimaju vezani dušik (Brown i Carr, 1984.). Ishac i sur. (1986), tvrde da dvojna inokulacija pšenice s azotobakterijama i mikoriznim gljivama pojačava aktivnost nitrogenaze u svim stadijima rasta pšenice u usporedbi s pojedinačnom inokulacijom. (Narula, 2000.).

h. SINTEZA ALGINATA

Bakterije iz roda *Azotobacter* imaju još jednu pozitivnu osobinu. One stvaraju ekstracelularnu tvar sluzave ili želatinozne prirode. Ta tvar može stajati čvrsto priljubljena kao sloj oko stanice i naziva se kapsula ili se može slobodno odijeliti od stanice pa se naziva sluz ili gumasta masa i služi kao sirovina za proizvodnju biološki razgradivih plastičnih masa.

Optimalna temperatura za stvaranje alginata je 12-18 °C. Dodatak metalnih kationa, saharoze i n-butanola u hranjivu podlogu, može izazvati stvaranje cista. (Narula, 2000.).

4.9. *OSTALE MOGUĆNOSTI PRIMJENE AZOTOBACTERA spp.*

Osim navedenih svojstava, bakterije iz roda *Azotobacter* imaju sposobnost:

- biološke razgradnje pesticida (lindana), fenolnih spojeva i sl. (Gupta i Narula, 1996.);

- otapanja fosfata (Kumar, 1998.);

- proizvodnje enzima (Narula, 2000.);

- proizvodnje vitamina B12 i C vitamina (Sankaram i Sundara,1962.);

- primjene u ribnjacima za hranidbu riba; (Narula, 2000.)

- povećavanja sadržaja planktona u vodi (Narula, 2000.).

Osobine i mogućnosti primjene bakterije *Azotobacter chroococcum* su neiscrpan izvor za istraživanje mnogim znanstvenicima (Lenart, 2004.)

5. ZNAČAJ PRIMJENE AZOTOBACTERA U BILJNOJ PROIZVODNJI

Razvojem metoda u mikrobiologiji povećava se i mogućnost primijene većeg broja *Azotobactera spp.* u biljnoj proizvodnji. Tako je sve prisutnija primjena mikrobioloških preparata za bakterizaciju koje sadrže *Azotobacter spp.* kao dopunu ili zamjenu za mineralna gnojiva.

Njihovom primjenom moguće je smanjiti određene količine mineralnih gnojiva što seodražava na ekološke i ekonomske pokazatelje u biljnoj proizvodnji. Također ovi preparatimogu se koristiti za revitalizaciju zemljišta (Jarak i sur., 2008.). Preparati za bakterizaciju kojisadrže bakterije koje potiču rast biljaka koriste se bakterije iste vrste s većim brojem sojeva ilikombinacija mikroorganizama koji žive u korisnim zajednicama. Neki sojevi bakterijaizravno reguliraju fiziologiju biljaka, dok drugi povećavaju raspoloživost minerala i na tajnačin nastoje povećati rast.

Efekt primjene *Azotobactera spp.* u biljnoj proizvodnji ovisi o biljnoj vrsti, vrstimikroorganizama, količini i vrsti gnojiva, vremenu i mjestu uzorkovanja. Primjenom bakterijau biljnoj proizvodnji povećava se broj i enzimatska aktivnost mikroorganizama što povećavaproizvodnu sposobnost zemljišta (Govedarica, 1986, Cvijanović, 2002.).

Mogućnosti primjene bakterije *Azotobacter chroococcum* su sljedeće:

Bakterija *Azotobacter chroococcum* je potencijalni sastojak bioloških gnojiva zbog:

- sposobnosti vezanja dušika iz zraka;

- proizvodnje biljnih faktora rasta;

- proizvodnje siderofora;

- pogubnog djelovanja na fitopatogene gljive;

- sposobnosti otapanja fosfata u zemlji.

Mogućnost proizvodnje biološki razgradive plastične mase zbog sposobnosti sinteze

alginata.

Osim toga bakterija *Azotobacter chroococcum* ima sljedeće pozitivne osobine:

•Stimulira rast i razvoj biljaka;

•Djeluje na povećanje prinosa poljoprivrednih kultura;

•Raste dobro uz prisutnost mikoriznih gljiva;

•Proizvodi vitamine i enzime;

•Ima sposobnost biološke razgradnje nekih otrova (lindana);

•Djeluje na povećanje biomase riba u ribnjacima;

•Mogla bi preživjeti uvjete koji vladaju na planeti Mars.

6. ZAKLJUČAK

Mikroorganizmi koji imaju pozitivan efekt na biljke ubrajamo u korisnu mikrobnu populaciju rizosfere a jedan od najzančajniji mikroorganizama su biološki fiksatori. Biološki fiksatori dušika procesom vezanja atmosferskog dušika oskrbljuju biljku reduciranim dušikom, a od nje uzimaju tvari potrebne za svoj razvoj. Više je tipova organizama koji mogu vezati dušik iz atmosfere. To su slobodne živuće heterotrofne bakterije, slobodno živuće fotoautotrofne bakterije i simbiotske bakterije. Od aerobnih, slobodno živućih fiksatora dušika poznati su *Azotobacter, Azospirilum i Beijerinkia* s više vrsta. Bakterije roda *Azotobacter* pripadaju nesimbiotskim fiksatorima. To su mikroorganizmi koji slobodno žive u rizosferi tla. Također su sposobni fiksirati atmosferski dušik te ga ostavljaju u tlu ili vodi gdje ga koriste biljke i drugi organizmi za svoj rast.

Rod *Azotobacter* je Gram-negativna bakterija koju nalazimo u neutralnim i alkalnitlima (Gandora i sur., 1998; Martyniuk, 2003.) i u vodi (Tejera i sur., 2005; Kumar i sur., 2007.). Stanice su velike i ovalne 1,5-2,0 μm u promjeru. Javljaju se pojedinačno, u parovima ili nepravilnim oblicima a ponekad i u lancima različitih duljina. Raspon pH za rast ovih bakterija je 4,8-8,5. *Azotobacter* može koristiti nitrate i amonijeve soli i neke aminokiseline kao izvor dušika (Beijerinck, 1901.). *Azotobacter* vrste imaju višestruku pozitivnu ulogu jer vrše atmosfersku fiksaciju dušika, sudjeluju u proizvodnju fitohormona i razgradnju otrovnih spojeva, te utječu na ekološku ravnotežu u agro-ekosustavima. *Azotobacter* proizvodi i pigmente.

Direktne koristi koje biljka ima od benefitnih bakterija rodova *Azotobacter* su poboljšanja u razvoju korijena, povećanje usvajanja vode i mineralnih hraniva, biološka fiksacija dušika te dislociranje patogenih gljiva i bakterija iz rizosfere korijena. *Azotobacter spp.* potiče rast biljaka te može dovesti do zdravijih biljaka i boljih prinosa. Razvojem metoda u mikrobiologiji povećava se i mogućnost primijene većeg broja *Azotobactera spp.* u biljnoj proizvodnji.

Efekt primjene Azotobactera u biljnoj proizvodnji ovisi o biljnoj vrsti, vrstimikroorganizama, količini i vrsti gnojiva, vremenu i mjestu uzorkovanja.

7. LITERATURA

KNJIGE :

1. Govedarica, M., Jarak, M. (1995.): Mikrobiologija zemljišta, Novi Sad

2. Killham, K. (1994.): Soil Ecology. Cambridge University Press, Cambridge

3. Milaković, Z. (2013.): Inertna skripta opće mikrobiologije, Poljoprivredni fakultetu Osijeku

4. Smith, S. E., Read, D. J. (2008.): Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press,London

5. Tate, R.L. (1995.): Soil microbiology. John Wiley & sons, Inc. Canada

6. Vukadinović, V. i Vukadinović, V. (2011.): Ishrana bilja, Poljoprivredni fakultet u Osijeku

7. Vukadinović, V., Lončarević, Z. (1997), Ishrana bilja, Sveučilište J.J.Strosmayer u Osijeku, Poljoprivredni fakultet Osijek

RAD U ZBORNIKU :

1. Đorđević, S., Govedarica, M., Milošević, N., Jakovljević M. (2000): Uticaj bakterijskeinokulacije na biomasu C, P i aktivnost fosfataza u rizosferi kukuruza. EKO-KONFERENCIJA 2000, Zdravstveno bezbedna hrana, Tematski zbornik I, 359-364.

2. Đurić, S., Najdenovska, O., Đorđević, S., Mitkova, T., Markoski, M. (2004.): Mikrobiološka aktivnost u rizosfernom zemljištu različitih biljnih vrsta, Letopis naučnih radova,Godina 28 (2004), broj 1, 110–115.

3. Hajnal, T., Jeličić, Z., Jarak, M. (2004.): Mikroorganizmi iz ciklusaazota i fosfora u proizvodnji kukuruza. Zbornik naučnih radova, Vol. 10 br. 1 43-53.

4. Govedarica, M., Jeličić, Z., Jarak, M., Milošević, N., Stojnić, N., Rašković, D., Pavlović,M. (1999): Uticaj azotofiksatora i fosfomineralizatora na mikrobiološku aktivnost pod usevom kukuruza. Zbornik naučnih radova Instituta PKB Agroekonomik 5, 1, 115-121.

5. Govedarica, M., Jeličić, Z., Jarak, M., Milošević, N., Stojnić, N., Rašković, D., Pavlović,M. (1999): Uticaj azotofiksatora i fosfomineralizatora na mikrobiološku aktivnost pod usevom kukuruza. Zbornik naučnih radova Instituta PKB Agroekonomik 5, 1, 115-121.

6. Kristek, Suzana i suradnici, Utjecaj nitrofiksirajućih bakterija na elemente prinosa i kvalitete soje,Izvorni znanstveni rad

7. Lenart, L. (2004) Utjecaj uvjeta uzgoja i čuvanja bakterije Azotobacter chroococcum na fiziološku aktivnost u uvjetima primjene. Disertacija, Zagreb

8. Milošević, Nada, Govedarica M. (2001a): Mogućnost primene biofrtilizatora u proizvodnji ratarskih neleguminoznih biljaka. Zbornik radova, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, sv. .35, 53-65.

9. Milošević, Nada, Govedarica, M. (2001b): Mikrobial inoculants - biofertilizers to replace and/or amend mineral fertilizers? Ist International Symposium Food in the 21st century, November 2001, Subotica, 92-93.

10. Milošević, N., Govedarica, M., Jeličić, Z., Kuzevski J., Krstanović, S. (2004.): Uticaj herbicida na mikrobiološku aktivnost zemljišta pod šećernom repom, sojom i kukuruzom. Zbornik naučnih radova, Vol. 10 br. 1 (2004) 55-64.

11. Mrkovački, N., Milić, V. (2001): Use of Azotobacter chroococcum as potentially usefull inagricultural application. Annals of Microbiology 51, 2, 145-159. 45

12. Mrkovački, N., Mezei, S., Čačić, N. (2003.): Dinamika brojnosti Azotobacter chroococcum u rizosferi šećerne repe u zavisnosti od mineralne ishrane. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke 104: 91-97.

13. Redžepović, S., Sikora, S., Dropulić, D., Šeput, M., Vasilj, Đ.,Sertić, Đ., Varga, B. (1990.): Istraţivanje efi kasnisti nekih sojeva Bradyrhizobium japonicum pri različitoj ishrani soje mineralnim dušikom. II jugoslavenski simpozij mikrobne ekologije16-19, Zagreb, ZborniK radova, pp 131-140.

14. Vukadinović, V., Lončarević, Z. (1997), Ishrana bilja, Sveučilište J.J. Strosmayer u Osijeku, Poljoprivredni fakultet Osijek

RAD IZ ČASOPISA :

1. Antoun, H., Prévost, D. (2005.): Ecology of plant growth promothing rhizobacteria. Z. A. Siddiqui (ed.), PGPR: Biocontrol and Biofertilization 1–38.

2. Antoun, H., Beauchamp, C.J., Goussard, N., Chabot, R., Lalande, R., (1998.) : Potential of Rhizobium and Bradyrhizobium species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: Effect on radishes (Raphanus sativus L). Plant and Soil, 204 (Suppl 1):57–67.

3. Baca, B.E., Elmerich, C. (2007.): Microbial production of plant hormones. In: Elmerich C, Newton WE (eds) Associative and endophytic nitrogen-fixing bacteria and cyanobacterial associations. Springer, Dordrecht, pp 113–143.

4. Beijerinck, M. M. (1898.): Uber die Arten der Essigbakterien. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. II 4: 209-216.

5. Beijerinck, M.W. (1901.): ueber oligonitrophile Mikroben. Zentralbl.Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt II 7: 561-582.

6. Bottini, R., Cassan, F., Picolli, P. (2004.): Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion. Appl Microbiol Biotechnol. 2004;65:497–503.

7. Boukhalfa, H. And Crumbliss A.L. (2002.): Chemical aspects of siderophore mediated iron transport. Bio. Metals 15:325-339.

8. Brown, M.E. (1974), Seed and root bacterization. Ann. Rev. Phytopath., 12: 181-197.

9. Cvijanović G. (2002): Utjecaj diazotrofa na prinos i mikrobiološku aktivnost u tlu kod kukuruza, pšenice i soje. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet Novi sad.

10. Dekhil, S. B., Cahill, M., Stackebrandt, E., Li, S., (1997.): Transfer of Conglomeromonas largomobilis subsp. largomobilis to the genus Azospirillum as Azopirillum argomobile comb. nov., and elevation of Conglomeromonas largomobilis subsp. parooensis to the new type

species of Conglomeromonas, Conglomeromonas parooensis sp. nov. Systematic and Applied Microbiology,20: 72-77.

11. Dobereiner, J. (1988.): Isolation and identification of root associated diazotrophs. Plant and soil. 110-207.

12. Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Vande Broek, A., Vanderleyden, J. (1999): Phytostimulatory effect of Azospirillum brasilense wild type and mutant strains altered in IAA productionon wheat, Plant Soil, 212 155–164.

13. Dobbelaere, S., Vanderleyden, J., Okon, Y., (2003.): Plant growth promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Crit. Rev. Plant Sci. 22:107-149.

14. Glick, B. R., Patten, C. L., Holguin, G., Penrose, D. M. (1999.): Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth-promoting bacteria. Imperial College Press, London, UK

15. Haas D. And Defago G. (2005.): Biological control of soil-borne patogens by fluorescent pseudomonads. Nat. Rev. Microbiol. 3, 307-319.

16. Jarak, M., Milošević N., Milić, V., Mrkovački N., Đurić, S., Marinković J. (2005.): Mikrobiološka aktivnost – pokazatelj plodnosti i degradacije zemljišta, ekonomika poljoprivrede

17. Jarak, M., Jevic, M., Durie, S., (2008.): Zastupljenost končastih gljiva i Aktinomiceta u rizosferi pšenice gajene na zemljištu različite sabijenosti. Traktori i pogonske mašine, Vo1.13.No.2.p.99-103.

18. Kaniţai G., Milaković, Z., Šeput, M., Bukvić, Ţ., Kralik, D. (2007.): Učinak bakterizacije sjemena lucerne (Medicago sativa L.) na komponente prinosa u ekološkom uzgoju. Faculty of Agriculture, Cereal Research Communications 36: 587-590. .

19. Khan, A. G. (2005.): Role of soil microbes in the rhizosphere of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. J. Trace Elem. Med. Biol. 18: 355-364.

20. Kumar, N.R., Arasu, V.T., Gunasekaran, P., (2002.): Genotyping of antifungal compounds producing plant growth-promoting rhizobacteria, Pseudomonas fluorescens. Current Science, 82 (Suppl 12): 1465-1466.

21. Kumar, A., Malik, M.K., & Ahmad, N. (1988), Effect of mixed culture inoculation of Rhizobium and Azotobacter on yield, nutrient uptake and quality of lentil in Calcarious saline soil. Lens Newsletter (ICARDA), Lentil Exspl. Service, 15 (2): 24-27.

22. Milošević, N., Govedarica, M., Jarak, M. (2000.): Mikrobiološka svojstva zemljišta oglednog polja Rimski šančevi. Zb. Radova, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 33: 13-20.

23. Mirza, S., Muthana, M., Fairburn, B., Slack, L. K., Hopkinson, K., Pockley, A. G. (2006.): The stress protein gp96 is not an activator of resting rat bone marrow-derived dendritic cells, but is a co-stimulator and activator of CD-3+ T cells. Cells stres & Chaperones 11:364-378.

24. Mrkovački, N., Čačić, N., Kovačev, L., Mezei S. (2002.): Respose of sugar beet to inoculation with A. chroococcum in field trials. Agrochemica, XLVI, 1-2, 18-26.

25. Mrkovački, N., Bjelić, D. (2011.): Rizobakterije koje promovišu biljni rast (PGPR)i njihov efekat na kukuruz, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad, Srbija. Ratar. Povrt. / Field Veg. Crop Res. 48: 305-312.

26. Mrkovački, N., Jarak, M., Đalović, I., Jocković, Đ. (2012b): Značaj i efekat primene PGPR na mikrobiološku aktivnost u rizosferi kukuruza. Ratar. Povrt. / Field Veg. Crop Res. 49, 3,335–344.

27.Mylona, P., Pawlowski, K., Bisseling, T. (1995.): Symbiotic Nitrogen Fixation. The Plant Cell. Vol. 7: 869-885. American Society of Plant Physiologists

28. Narula, N. (2000), Azotobacter in Suistainable Agriculture; Vedams; Academic Books from India; New Delhi.

29. Reinhold-Hurek, B., Hurek, T., Gillis, M., Hoste, B., Vancanneyt,M., Kersters, K. & De Ley, J. (1993.): Azoarcus gen. nov., nitrogen fixing proteobacteria associated withroots of

Kallar grass (Leptochloa fusca (L.) Kunth) and description of two species Azoarcus indigens sp. nov. and Azoarcus communis sp. nov. IntJ Syst Bacteriol 43, 574±584.

30. Redžepović, S., Varga, B., Sikora, S., Heneberg, R. (1990.a): Utjecaj tretiranja sjemena mikroelementima i različitim sojevima Bradyrhizobium japonicum na prinos zrna soje. Znanstvena praksa u poljoprivrednoj tehnologiji 20: 41.-47.

31. Redžepović, S., Sikora, S., Sertić, Đ., Manitašević, J., Šoškić, M., Klaić, Ţ. (1991.). Utjecaj fungicida i gnojidbe mineralnim dušikom na bakterizaciju i prinos soje. Znan. Prak. Poljop. Tehnol. 21:43-49.

32. Redžepović S., Čolo, J., Blaţinkov, M., Sikora, S., Pecina, M., Duraković, L. (2007.) :Utjecaj biostimulatora rasta i fungicida za tretiranje sjemena soje na učinkovitost simbiozne fiksacije dušika, Sjemenarstvo 24: 3-4.

33. Siddiqui Z. (2006.): PGPR: Prospective Biocontrol Agents of Plant Pathogens. PGPR: Biocontrol and Biofertilization, 111-142.

34. Topol, J. i Kaniţai Šarić, G. (2013.): Simbiotska fiksacija dušika u ekološkoj poljoprivrednoj proizvodnji, Agronomski glasnik, Vol 75, No. 2-3.

35.Tsavkelova, E.A., Klimova, S.Y., Cherdyntseva, T.A., Netrusov, A.I. (2006.): Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. Appl Biochem Micro. 42:117–126.

36. Vasilj, V., Redţepović, S., Bogunović, M., Babić, K., Sikora, S. (2007.): mikrobiološke karakteristike različitih tipova tala zapadne hercegovine, Agronomski fakultet Sveučilišta u Mostaru

37. Wandersmn, C. And Delepelaie, P. (2004.) : Bacterial iron sources from siderophores to hemophores. Annu Rev. Microbiol 58, 611-647.

38. Zahir, Z.A., Arshad, M., Frankenberger, W. T. (2004.): Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture.Advances in Agronomy 81, 97–168.

WWW.IZVOR

1. http://agritech.tnau.ac.in/org_farm/orgfarm_biofertilizertechnology.html

2. http://en.wikipedia.org/wiki

8. SAŽETAK

Azotobacter spp. je bakterija koja ima sposobnost prevođenja dušika iz zraka u amonijak uz pomoć enzima nitrogenaza čime pribavlja biljkama neophodne hranjive tvari i poradi tog svojstva je jadan od potencijalnih sastojaka organsko-bioloških gnojiva čija uporaba čini budućnost organsko-biološke poljoprivrede. Osim toga bakterija *Azotobacter spp.* ima mnoge druge sposobnosti i kvalitetne osobine kao što su: proizvodnja fitohormona, produkcija siderofora, biološka kontrola patogenih gljiva i nemetoda, sposobnost degradacije, sposobnost uzajamnog djelovanja sa mikoriznim gljivama, sinteza alginata itd.

Ključne riječi: *Azotobacter spp*., biološko gnojivo, fungicidno djelovanje, vezanje dušika iz zraka

9. SUMMARY

Azotobacter spp. is bacterium capable to convert nitrogen contained in air to ammonia by help of enzyme nitogenase providing essential nutrients to the plants. Therefore it is one of potential components of organic-biological fertilizers whose utilization makes the future of organic – biological agriculture. Except that, bacteria *Azotobacter spp*. has many other capabilities and quality characteristic like as: production of phytohormones, siderophore production, biological control of pathogenic fungi and nematodes, capabilities of biodegradation, interactions with vesicular arbusicular mycorrhizas, sinteze of alginates etc.

Key words: *Azotobacter spp*., biofertilizer, fungicide activity, nitrogen fixation

10. POPIS SLIKA

Slika 1. Azotobacter ,str. 3

Slika 2. Azotobacter na hranjivoj podlozi,str. 4

Slika 3. Martinus Beijerinck, str. 4

Slika 4. Kolonije Azotobactera, str.5

Slika 5. Kolonije Azotobactera, str. 6

Slika 6. Bakterija Azotobacter chroococcum u stadiju ciste, str. 10

Slika 7. Dušični ciklus, str. 13

Slika 8. Prikaz količine Azotobactera u različitim vrstama tala, str. 15

Slika 9. Različiti pripravci koji sadrže Azotobacter, str. 19

11. POPIS TABLICA

Tablica 1. Prikaz klasifkacije i vrste roda Azotobacter, str. 2

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku **Diplomski studij**

Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Sveučilišni diplomski studij, smjer Povrćarstvo i cvjećarstvo

Uloga Azotobactera spp.kao slobodnog nitrofiksatora

Ana Varvodić

Sažetak: Azotobacter spp. je bakterija koja ima sposobnost prevođenja dušika iz zraka u amonijak uz pomoć enzima nitrogenaza čime pribavlja biljkama neophodne hranjive tvari i poradi tog svojstva je jadan od potencijalnih sastojaka organsko-bioloških gnojiva čija uporaba čini budućnost organsko-biološke poljoprivrede. Osim toga bakterija Azotobacter spp. ima mnoge druge sposobnosti i kvalitetne osobine kao što su: proizvodnja fitohormona, produkcija siderofora, biološka kontrola patogenih gljiva i nemetoda, sposobnost degradacije, sposobnost uzajamnog djelovanja sa mikoriznim gljivama, sinteza alginata itd.

Rad je izrađen pri: Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Mentor: prof.dr.sc .Suzana Kristek

Broj stranica: 35

Broj grafikona i slika: 9

Broj tablica: 1

Broj literaturnih navoda: 59

Broj priloga:

Jezik izvornika: Hrvatski

Ključne riječi: Azotobacter spp., biološko gnojivo, fungicidno djelovanje, vezanje dušika iz zraka

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. prof.dr.sc .Gordana Bukvić, predsjednik
2. prof.dr.sc .Suzana Kristek, mentor
3. mag.ing.agr. Jurica Jović, član

Rad je pohranjen u: Knjižnica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, Sveučilištu u Osijeku, Kralja Petra Svačića 1d.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek **Graduate thesis**

Faculty of Agriculture in Osijek

University Graduate Studies, Vegetable and flower production

The role of Azotobacter spp. like nitrofixing free bacteria

Ana Varvodić

Abstract: Azotobacter spp. is bacterium capable to convert nitrogen contained in air to ammonia by help of enzyme nitogenase providing essential nutrients to the plants. Therefore it is one of potential components of organic-biological fertilizers whose utilization makes the future of organic – biological agriculture. Except that, bacteria Azotobacter spp. has many other capabilities and quality characteristic like as: production of phytohormones, siderophore production, biological control of pathogenic fungi and nematodes, capabilities of biodegradation, interactions with vesicular arbusicular mycorrhizas, sinteze of alginates etc.

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek

Mentor: prof.dr.sc. Suzana Kristek

Number of pages:35

Number of figures: 9

Number of tables: 1

Number of references: 59

Number of appendices:

Original in: Croatian

Key words: Azotobacter spp., biofertilizer, fungicide activity, nitrogen fixation

Thesis defended on date:

Reviewers:

1. prof.dr.sc .Gordana Bukvić, president
2. prof.dr.sc .Suzana Kristek, supervisor
3. mag.ing.agr. Jurica Jović, member

Thesis deposited at: Library, Faculty of Agriculture in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Kralja Petra Svačića 1d.