



UNIVERZITET U NOVOM SADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

KARAKTERIZACIJA I EFEKTIVNOST BAKTERIJA PROMOTORA BILJNOG RASTA IZOLOVANIH IZ RIZOSFERE KUKURUZA

Doktorska disertacija

Mentor: **Prof. dr Mirjana Jarak**

Kandidat: **Dragana Bjelić, dipl. inž. - master**

Novi Sad, 2014

UNIVERZITET U NOVOM SADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Dragana Bjelić
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	Prof. Dr Mirjana Jarak
Naslov rada: NR	Karakterizacija i efektivnost bakterija promotora biljnog rasta izolovanih iz rizosfere kukuruza
Jezik publikacije: JP	Srpski jezik
Jezik izvoda: JI	srp./eng.
Zemlja publikovanja: ZP	Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Vojvodina
Godina: GO	2014.
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Poljoprivredni fakultet, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad

Fizički opis rada: FO	(9 poglavlja/187 strana/22 slike/41 tabela/33 grafika/289 referenci)
Naučna oblast: NO	Biotehničke nauke
Naučna disciplina: ND	Mikrobiologija
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	PGP bakterije, rizosfera, karakterizacija, inokulacija, kukuruz
UDK	UDC 561.23:633.15(043.3)
Čuva se: ČU	Poljoprivredni fakultet, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad
Važna napomena: VN	Nema

Izvod:

IZ

Korisni mikroorganizmi ili mikroorganizmi promotori biljnog rasta (PGPM) ispoljavaju efekat na rast i razviće biljaka azotofiksacijom, mobilizacijom hraniva (N, P, Fe) u zemljištu i produkcijom fitohormona te na taj način stimulišu rast biljaka, povećavaju prinos i štite biljke od patogena. Cilj ovih istraživanja bio je da se izvrši karakterizacija bakterija izolovanih iz rizosfere kukuruza, inokulacija semena kukuruza odabranim izolatima, ispitivanje efektivnosti primene pojedinačnih i združenih kultura izolata na mikrobiološku aktivnost u rizosfernom zemljištu, kao i na početni rast i razvoj biljke, sadržaj pojedinih hranljivih elemenata u biljnom materijalu i prinos kukuruza. Korišćeno je 50 izolata iz rizosfernog zemljišta hibrida kukuruza NS 6010 gajenog na zemljištu tipa karbonatni černozem (13 izolata roda *Azotobacter*, 16 izolata roda *Bacillus*, 15 izolata roda *Pseudomonas*, 6 izolata roda *Streptomyces*). Karakterizacija izolata obuhvatila je određivanje morfoloških, fizioloških, biohemijskih i PGP osobina. Inokulacija semena kukuruza izvršena je s osam odabranih izolata primenjenih pojedinačno i u smeši i to s tri izolata azotobaktera (Azb5, Azb8, Azb13), s dva izolata bacilusa (Bac9, Bac15), s dva izolata pseudomonasa (Pse1, Pse5) i s jednim izolatom aktinomiceta (Act6). U ogleđima su korišćeni hibridi kukuruza NS 6010 i NS 6030 selekcionisani u Odeljenju za kukuruz Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, a efektivnost primene odabranih izolata na mikrobiološku aktivnost u rizosfernom zemljištu, kao i na biljku kukuruza, ispitana je u polukontrolisanim i poljskim uslovima. Brojnost mikroorganizama određena je metodom agarnih ploča, a dehidrogenazna aktivnost spektrofotometrijskom metodom. Uticaj izolata na klijanje semena ispitan je u laboratorijskim uslovima. Uticaj izolata na početni rast

biljaka ispitan je u fazama 3. i 5-7. lista merenjem visine i suve mase nadzemnog dela biljke. Sadržaj azota, fosfora, bakra i cinka u biljnom materijalu (nadzemni deo/list) određen je u fazi 5-7. lista kukuruza za ogled u polukontrolisanim uslovima i u fazi svilanja za ogled u polju. Ukupan prinos zrna kukuruza po jedinici površine određen je preračunavanjem prinosa po svakoj elementarnoj parceli. Najbolji efekat na brojnost mikroorganizama dobijen je primenom izolata Azb5, Bac15, Pse1, Act6 i smeše izolata. Na povećanje dehidrogenazne aktivnosti najviše je uticala primena izolata Azb5, Azb8, Bac15 i Act6. Inokulacija je imala pozitivan uticaj na klijavost, visinu i suhu masu nadzemnog dela biljke, sadržaj N, P, Zn i Cu u biljnom materijalu, kao i prinos kukuruza. Najbolji efekat na visinu i masu nadzemnog dela biljke u polukontrolisanim uslovima utvrđen je sa izolatima azotobaktera, Bac15 i Pse1, dok je u poljskim uslovima najveće povećanje ovih parametara dobijeno primenom izolata Pse5 i Act6. U proseku, najbolji efekat na prinos dobijen je primenom smeše izolata. Rezultati ovih istraživanja treba da posluže kao osnova za dalja istraživanja koja će omogućiti odabir visoko kompatibilne zajednice ispitivanih hibrida kukuruza i najefektivnijih vrsta PGPM u cilju proizvodnje mikrobiološkog preparata kojim bi se ostvario veći prinos i omogućilo održavanje i povećanje plodnosti zemljišta.

Datum prihvatanja teme od strane NN veća: DP	21.05.2012.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	<hr/> Prof. dr Mirjana Jarak, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet u Novom Sadu, mentor <hr/> dr Đorđe Jocković, naučni savetnik, Institut za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu, predsednik <hr/> dr Nastasija Mrkovački, naučni savetnik, Institut za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu, član

**UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF AGRICULTURE**

KEY WORD DOCUMENTATION

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD thesis
Author: AU	Dragana Bjelić
Mentor: MN	Mirjana Jarak, PhD, full professor
Title: TI	Characterization and effectiveness of plant growth promoting bacteria isolated from the rhizosphere of maize
Language of text: LT	Serbian
Language of abstract: LA	eng. / srp.
Country of publication: CP	Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2014
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	Faculty of Agriculture, Square D. Obradovic 8, 21000 Novi Sad

Physical description: PD	(9 chapters/187 pages/22 pictures/41 tables/33 figures/289 references)
Scientific field SF	Biotechnology
Scientific discipline SD	Microbiology
Subject, Key words SKW	PGP bacteria, rhizosphere, characterization, inoculation, maize
UDC	UDC 561.23:633.15(043.3)
Holding data: HD	Faculty of Agriculture, Square D. Obradovic 8, 21000 Novi Sad
Note: N	None

Abstract: AB

Beneficial or plant growth promoting microorganisms (PGPM) exert effect on plant growth and development through nitrogen fixation, mobilization of nutrients (N, P, Fe) in soil and production of phytohormones and thereby stimulate plant growth, increase yield and reduce pathogen infection. The aim of this study was to perform characterization of bacteria isolated from maize rhizosphere, inoculation of maize seeds with selected isolates, testing the effectiveness of single and co-inoculation on microbial activity in rhizosphere, as well as on initial growth and development of plants, content of some nutrients in plant material and yield of maize. 50 isolates from rhizosphere of maize hybrid NS 6010 grown on calcareous chernozem soil (13 isolates of the genus *Azotobacter*, 16 isolates of *Bacillus*, 15 isolates of *Pseudomonas*, 6 isolates of *Streptomyces*) were used. Characterization of isolates included determination of morphological, physiological, biochemical and PGP traits. Inoculation of maize seeds was carried out with eight selected strains applied individually and in mixture, and that with three isolates of *Azotobacter* (Azb5, Azb8, Azb13), two isolates of *Bacillus* (Bac9, Bac15), two isolates of *Pseudomonas* (Pse1, Pse5) and one isolate of *Streptomyces* (Act6). The experimental objects were maize hybrids NS 6010 and NS 6030 developed at Maize Department, Institute of Field and Vegetable Crops, and the effectiveness of selected isolates on microbial activity in rhizosphere, as well as on maize plant, was tested in semi-controlled and field conditions. The number of microorganisms was determined by agar plates method, and dehydrogenase activity by spectrophotometric method. Effect of isolates on maize seed germination was tested in the laboratory. The effect of isolates on initial plant growth was tested at 3 and 5-7 leaf stages by measuring height and dry weight of above ground plant parts. The contents of nitrogen, phosphorus, copper and zinc in plant material (above ground part/leaf) were determined at 5-7 leaf stage for experiment in semi-controlled conditions and at silking stage for field trial. The

total grain yield per unit area is determined by recalculating yield for each elementary plot. The best effect on the number of microorganisms was obtained by applying Azb5, Bac15, Pse1, Act6 and mixtures of isolates. The largest increase in dehydrogenase activity was achieved with isolates Azb5, Azb8, Bac15 and Act6. Inoculation had a positive impact on germination, height and dry weight of above ground part of the plant, the content of N, P, Zn and Cu in plant material, as well as the yield of maize. The best effect on the height and weight of above ground part of the plant in semi-controlled conditions was achieved with isolates of azotobacters, Bac15 and Pse1, while in field conditions the largest increase in these parameters was obtained with isolates Pse5 and Act6. On average, the best effect on yield was obtained by using a mixture of isolates. The results of this study should be the basis for further research which would allow the selection of highly compatible community of maize hybrids and the most effective strains of PGPM and be used in the production of microbial preparations in order to achieve higher yields and facilitate the maintenance and increase fertility of soil.

Accepted on Scientific Board on: AS	May , 2012
Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	<hr/> <p data-bbox="791 1144 1294 1211">Mirjana Jarak, Full Professor, Faculty of Agriculture, Novi Sad, mentor</p> <hr/> <p data-bbox="732 1323 1350 1429">Đorđe Jocković, PhD, Principal Research Fellow, Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad, president</p> <hr/> <p data-bbox="748 1541 1334 1646">Nastasija Mrkovački, PhD, Principal Research Fellow, Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad, member</p>

SADRŽAJ

1. UVOD	5
2. PREGLED LITERATURE.....	7
2.1. Mikrobiologija rizosfere.....	7
2.2. Rizobakterije promotori biljnog rasta (PGPR).....	10
2.3. Mehanizmi delovanja PGPR.....	11
2.3.1. Mehanizmi PGPR biofertilizacije	11
2.3.1.1. Biološka fiksacija azota.....	12
2.3.1.2. Solubilizacija fosfata (P-solubilizacija).....	16
2.3.2. Mehanizmi PGPR biostimulacije.....	19
2.3.2.1. Produkcija auksina.....	20
2.3.2.2. Produkcija giberelina	22
2.3.2.3. Produkcija citokinina.....	23
2.3.2.4. Produkcija etilena.....	24
2.3.2.5. Produkcija abscisinske kiseline	25
2.3.3. Mehanizmi PGPR biokontrole	25
2.3.3.1. PGPR indukcija sistemske otpornosti kod biljaka	26
2.3.3.2. Antibioza	27
2.3.3.3. Produkcija siderofora	28
2.3.3.4. Produkcija cijanida (HCN).....	30
2.3.3.5. Sinteza litičkih enzima	30
2.4. Efekat i značaj primene PGPR kod kukuruza	31
2.4.1. Brojnost i diverzitet mikroorganizama u rizosferi kukuruza	33
2.4.2. Pregled istraživanja efekta primene PGPR kod kukuruza u Srbiji.....	34
3. RADNA HIPOTEZA	36

4. CILJ ISTRAŽIVANJA	37
5. MATERIJAL I METODE RADA.....	38
5.1. Izolacija bakterija iz rizosfere kukuruza i dobijanje čistih kultura.	38
5.2. Karakterizacija izolata	39
5.2.1. Morfološka karakterizacija izolata.....	39
5.2.2 Fiziološka karakterizacija izolata.	39
5.2.3. Biohemijska karakterizacija izolata	40
5.2.4. PGP karakterizacija izolata.....	44
5.3. Hemijska i mikrobiološka analiza zemljišta pre setve.....	45
5.4. Inokulacija kukuruza odabranim izolatima, setva i gajenje biljaka	46
5.4.1. Materijal	46
5.4.2. Inokulacija semena kukuruza odabranim izolatima	47
5.4.3. Ogled na biljkama u polukontolisanim uslovima	47
5.4.4. Ogled na biljkama u poljskim uslovima	48
5.4.5. Klimatske prilike oglednog područja.	49
5.5. Ispitivanje efektivnosti primene odabranih izolata na mikrobiološku aktivnost rizosfernog zemljišta.	49
5.5.1. Brojnost mikroorganizama.....	50
5.5.2. Dehidrogenazna aktivnost.....	51
5.6. Ispitivanje efektivnosti primene odabranih izolata na kukuruz.....	51
5.6.1. Klijavost semena	51
5.6.2. Početni rast biljke.	51
5.6.3. Hemijski sastav biljnog materijala.....	51
5.6.4. Prinos zrna.....	52
5.7. Statistička obrada podataka	52
6. REZULTATI ISTRAŽIVANJA.	53
6.1. Karakterizacija bakterija iz rizosfere kukuruza.....	53
6.1.1. Morfološke karakteristike ćelije i kolonije <i>Azotobacter</i> sp., <i>Bacillus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp. i <i>Streptomyces</i> sp.	53

6.1.2. Fiziološke karakteristike izolata	54
6.1.2.1. Uticaj pesticida na rast izolata.....	58
6.1.2.2. Uticaj teških metala na rast izolata	62
6.1.2.3. Uticaj antibiotika na rast izolata.....	65
6.1.3. Biohemijske karakteristike izolata.....	69
6.1.4. PGP karakteristike izolata	73
6.1.4.1. Produkcija indol-sirćetne kiseline (IAA)	73
6.1.4.2. Produkcija siderofora, cijanovodonika (HCN), egzopolisaharida (EPS) i P-solubilizacija	79
6.2. Mikrobiološke karakteristike zemljišta pre inokulacije i setve	87
6.3. Efekat inokulacije na brojnost mikroorganizama i enzimsku aktivnost u rizosferi kukuruza.....	88
6.3.1. Uticaj inokulacije na ukupan broj mikroorganizama.....	89
6.3.2. Uticaj inokulacije na broj azotobaktera.....	91
6.3.3. Uticaj inokulacije na broj amonifikatora	93
6.3.4. Uticaj inokulacije na broj slobodnih azotofiksatora.....	95
6.3.5. Uticaj inokulacije na broj pseudomonasa.....	97
6.3.6. Uticaj inokulacije na broj fosfomobilizatora.....	99
6.3.7. Uticaj inokulacije na broj fosfomineralizatora	101
6.3.8. Uticaj inokulacije na broj aktinomiceta	103
6.3.9. Uticaj inokulacije na broj gljiva.....	105
6.3.10. Uticaj inokulacije na dehidrogenaznu aktivnost.....	107
6.4. Efekat na parametre rasta kukuruza, sadržaj pojedinih elemenata u biljnom materijalu i prinos kukuruza.....	111
6.4.1. Uticaj inokulacije na parametre rasta kukuruza	111
6.4.1.1. Uticaj inokulacije na klijavost semena kukuruza.....	111
6.4.1.2. Uticaj inokulacije na visinu nadzemnog dela biljke.....	112
6.4.1.3. Uticaj inokulacije na suhu masu nadzemnog dela biljke.....	114
6.4.2. Uticaj inokulacije na sadržaj pojedinih elemenata u listu kukuruza.....	116
6.4.2.1. Uticaj inokulacije na sadržaj azota u listu kukuruza.	116

6.4.2.2. Uticaj inokulacije na sadržaj fosfora u listu kukuruza.....	117
6.4.2.3. Uticaj inokulacije na sadržaj cinka u listu kukuruza.	118
6.4.2.4. Uticaj inokulacije na sadržaj bakra u listu kukuruza	120
6.4.3. Uticaj inokulacije na prinos kukuruza	121
7. DISKUSIJA	122
8. ZAKLJUČAK.	148
9. LITERATURA	153
PRILOG.....	176
BIOGRAFIJA.....	187

1. UVOD

Rizosfera obuhvata zonu zemljišta uz koren biljke, uključujući tkivo i samu površinu korena, koja je pod direktnim uticajem korenskih izlučevina i predstavlja područje odvijanja složenih interakcija između mikroorganizama, biljaka i zemljišta (Hiltner, 1904). Stimulativni efekat korenskih izlučevina u ovoj zoni rezultira u povećanoj brojnosti mikroorganizama u odnosu na okolno zemljište. U zavisnosti od vrste i koncentracije organskih jedinjenja iz korenskih izlučevina, kao i sposobnosti mikroorganizama da ih koriste kao izvore energije, biljka ispoljava uticaj na formiranje specifičnih mikrobnih zajednica u rizosferi (Compant *et al.*, 2010).

Interakcije između rizosfernih mikroorganizama i biljaka mogu biti korisne, štetne ili neutralne. Korisni mikroorganizmi ili mikroorganizmi promotori biljnog rasta (PGPM) ispoljavaju efekat na rast i razviće biljaka i prinos preko različitih mehanizama. Mehanizmi delovanja PGPM mogu biti direktni ili indirektni, a uključuju povećanje sadržaja hraniva u rizosferi putem biološke fiksacije azota, produkcije fitohormona, obezbeđivanja biljaka pristupačnim fosforom, kao i smanjenje ili sprečavanje štetnih efekata patogenih mikroorganizama putem sinteze antibiotika, siderofora, litičkih enzima, kompeticije za hranjive materije i interakcije sa drugim korisnim mikroorganizmima (Vessey *et al.*, 2003; Ahmad *et al.*, 2008). Korisni mikroorganizmi poboljšavaju hranjiva, ali i zdravstvena svojstva zemljišta, te se njihova primena razmatra kao alternativa ili dopuna smanjenoj upotrebi hemijskih sredstava u poljoprivredi (Adesemoye *et al.*, 2009; Berg, 2009).

PGPM se koriste u proizvodnji mikrobioloških preparata i primenjuju kao biofertilizatori – povećavaju dostupnost hraniva za biljke, fitostimulatori – stimulišu rast, uglavnom putem proizvodnje biljnih hormona, rizomedijatori – razlažu organske polutante i biopesticidi – kontrolišu bolesti, uglavnom putem proizvodnje antibiotika i antifungalnih metabolita (Somers *et al.*, 2004).

Primena mikrobioloških preparata ispoljila je pozitivan efekat kod mnogih ratarskih i povrtarskih biljnih vrsta (Govedarica *i sar.*, 2001; Milošević *i sar.*, 2003; Jarak *i sar.*, 2009; Mrkovački *i sar.*, 2010) i posebno je opravdana kod vrsta koje se gaje na velikim površinama kao što je kukuruz. Uvođenjem mikrobioloških preparata u proizvodnju kukuruza smanjuje se

primena azotnih mineralnih đubriva i do 30%, ubrzava se i ujednačava rast biljaka, smanjuje se zagađenje zemljišta, dobija se jeftiniji i zdravstveno ispravniji proizvod.

Zbog velikog broja faktora koji utiču na uspešnu proizvodnju kukuruza kao i drugih biljnih vrsta, potreban je multidisciplinarni pristup u ispitivanju primene mikrobioloških preparata. Udeo korisnih mikroorganizama u prirodnoj populaciji rizofere je veoma mali, te se njihovom izolacijom, umnožavanjem i unošenjem u zemljište putem inokulacije omogućava intenziviranje odgovarajućih mikrobioloških procesa.

U održivoj poljoprivrednoj proizvodnji neophodno je povećati efikasnost mikrobioloških preparata korišćenjem najboljih kombinacija korisnih mikroorganizama (Mrkovački i Bjelić, 2011). Kako bi se to postiglo, potrebno je jasno definisati koje svojstvo odabranog mikroorganizma je korisno i neophodno za određene uslove sredine i različite biljke. Takođe je neophodno razumeti kako različiti sojevi funkcionišu u promociji rasta biljaka i jasno definisati faktore koji doprinose preživljavanju sojeva u zemljištu. Većoj efektivnosti bi doprinelo i dodatno proučavanje različitih načina primene inokulanata.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Mikrobiologija rizosfere

Rizosfera se obično definiše kao zona zemljišta uz koren biljke koja je pod njegovim direktnim uticajem i predstavlja područje odvijanja složenih interakcija između mikroorganizama, zemljišta i biljaka. Hemijska i fizička svojstva ove zone se veoma razlikuju u zavisnosti od svojstava zemljišta i udaljenosti od zone korena, a biologija ove kompleksne zone intenzivno je izučavana. U rizosferi su prisutne mnoge organske materije (luče ih same biljke), ali i najveća količina mineralnih biljnih asimilativa, stoga je rizosfera područje najveće razmene materije i energije između biljnog korena i okolne sredine. U oblasti biljnog korena razlikuju se sledeće zone: *rizoplan* – sama površina korena, *rizosfera* - zona zemljišta oko samog korena i *edafosfera* – okolno zemljište.

Termin „rizosfera” uveo je Hiltner (1904), a termin „rizoplan” Clark (1949) da bi označio površinu samog korena zajedno sa blisko povezanim česticama zemljišta i ostacima biljaka. Prema udaljenosti od korena razlikuju se spoljašnja rizosfera - *egzorizosfera* koja obuhvata sloj zemljišta do 0,5 cm od korena i unutrašnja - *histosfera* koja obuhvata tanki sloj na samoj površini korena.

Biljni koren je glavni izvor hrane za mikroorganizme te je njegova neposredna okolina izuzetno povoljna sredina za razvoj mikroorganizama. Pored osnovne funkcije, obezbeđivanja mehaničke podrške i usvajanja vode i hraniva, koren ima specifične funkcije, uključujući sposobnost sinteze, akumulacije i sekrecije različitih jedinjenja (Flores *et al.*, 1999). Sve materije koje koren oslobađa u zemljište predstavljaju korenske izlučevine. Kroz izlučivanje različitih jedinjenja koren menja hemijska i fizička svojstva zemljišta, utiče na brojnost i aktivnost mikroorganizama u zemljištu, stimuliše korisne simbioze, inhibira razvoj kompetitivnih biljnih vrsta (Nardi *et al.*, 2000).

Oslobađanje izlučevina korenom odvija se na tri načina: difuzijom, jonskim kanalima i transportom vezikulama. Izlučevine korena mogu se klasifikovati na osnovu toga da li imaju funkcionalnu ulogu (ekskrecije i sekrecije) ili nefunkcionalnu ulogu (difuzati i ostaci korena) (Uren, 2007).

Izlučevine korena štite rizosferu i koren od patogenih mikroorganizama sekrecijom odbrambenih proteina i drugih antimikrobijalnih jedinjenja; stimulišu pojedine vrste mikroorganizama zahvaljujući povećanom sadržaju vlage i hraniva koji uslovljavaju njihovu proliferaciju u ovoj zoni; održavaju vlažnost zemljišta te štite koren od isušivanja; sadrže hraniva koja koren adsorbuje i skladište jone koje će biljke iskoristiti; stabilizuju agregate zemljišta oko korena putem sluzastih materija koje luče ćelije korenove kape; inhibiraju kompetitivne biljne vrste putem hemijskih glasnika koje koren prepoznaje i utiče na rast invazivnih biljnih vrsta u procesu poznatom kao alelopatija.

Osim toga što su izvor ugljenikovih jedinjenja za mikroorganizme, izlučevine korena takođe imaju ulogu u oslobađanju drugih neophodnih elemenata kao što su fosfor i gvožđe, putem heliranja i rastvaranja nepristupačnih jedinjenja (Dinkelaker and Marschner, 1992). U rizosferu putem korenskih izlučevina dospeva oko 5 do 21% od ukupne količine ugljenika fiksiranog fotosintezom (Marschner, 1995). Dostupnost hraniva u rizosferi zavisi od svojstava zemljišta, biljnih karakteristika, interakcija biljaka sa mikroorganizmima i okolnim zemljištem (Bowen and Rovira, 1992).

Biljne vrste se razlikuju u sastavu i količini korenskih izlučevina koje proizvode (Merbach and Ruppel, 1992), kao i u sastavu rizosferne mikroflore (Marschner *et al.*, 2001). Čak i genotipovi unutar vrste mogu imati specifičnu rizosfernu mikrofloru (Rengel *et al.*, 1996). Takođe, sastav mikrobnih zajednica zavisi od starosti biljke, đubrenja azotom i fosforom i drugih faktora (Aulakh *et al.*, 2001).

Rizosferno zemljište ima nižu pH vrednost, nižu koncentraciju kiseonika i višu koncentraciju ugljen-dioksida u odnosu na okolno zemljište. Međutim, izlučevine mogu da učine rizosferu kiselijom ili alkalnijom, u zavisnosti od hraniva koje koren usvaja iz zemljišta. Usvajanjem azota u vidu amonijumovih jona, biljka otpušta vodonikove jone što čini rizosferno zemljište kiselijim, dok usvajanjem azota u vidu nitrata, biljka otpušta hidroksilne jone što čini rizosferu alkalnijom.

Koren-koren i koren-mikroorganizmi interakcije mogu biti korisne za biljku, kao što su asocijacije sa epifitnim biljkama, mikoriznim gljivama i bakterijama azotofiksatorima; ili štetne, kao što su odnosi sa parazitnim biljkama, patogenim bakterijama i gljivama. Biljke oslobađaju u rizosferu različita jedinjenja, uglavnom organska, nastala kao produkti fotosinteze ili drugih procesa koji se normalno odvijaju u biljci. Relativna i apsolutna količina ovih jedinjenja variraju

u zavisnosti od biljne vrste, sorte, starosti biljke, uslova sredine kao što su svojstva zemljišta, izloženost fizičkom, hemijskom i biološkom stresu itd. (Uren, 2007).

Polisaharidi velike molekulske mase oslobođeni iz ćelija korenske kape i epidermalnih ćelija, zajedno sa ćelijama mikroorganizama i česticama gline formiraju sluzastu materiju tzv. mucigel. Uloga mucigela je olakšavanje kretanja korena kroz zemljište i poboljšanje interakcija između korena i zemljišta, posebno u suvim zemljištima. Takođe, mucigel obezbeđuje zaštitu od toksina i pogodnu sredinu za rast i razvoj mikroorganizama.

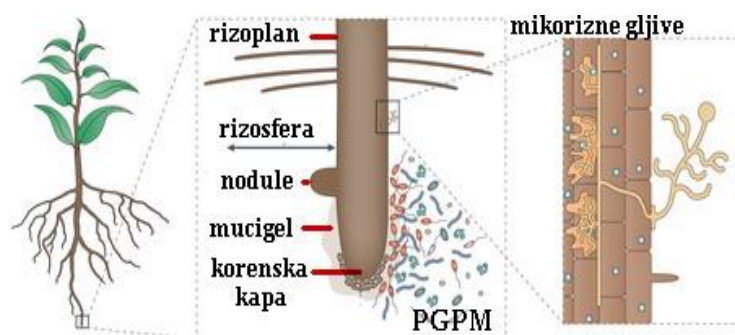
Brojnost mikroorganizma znatno je povećana u rizosferi u odnosu na okolno zemljište upravo zbog stimulativnog efekta materija koje koren izlučuje u ovoj zoni. Na stimulativni efekat korenskih izlučevina u ovoj zoni prvi je ukazao Starkey (1938) imenujući ovaj fenomen kao „rizosferni efekat”. Za procenu ovog efekta kod različitih biljnih vrsta Katznelson (1946) uvodi odnos između rizosferne i zemljišne mikroflore (R:S ratio).

Rizosferu karakteriše visoka koncentracija lako razgradivih jedinjenja iz korenskih izlučevina. Izlučivanje je najveće na vrhu korena (Marschner, 1995) gde je gustina mikroorganizama mala (Schönwitz and Ziegler, 1989). Sa povećanjem udaljenosti od vrha korena, izlučivanje se smanjuje dok se gustina mikroorganizama povećava, tako da su regioni najvećeg oslobađanja izlučevina i najveće gustine mikroorganizama međusobno odvojeni.

Mikrobiološke grupe i drugi članovi rizosferne zajednice su bakterije, gljive, nematode, protozoe, alge i mikroartropode (Raaijmakers, 2009). Broj mikroorganizma u rizosferi je 10 pa i 100 puta veći u odnosu na okolno zemljište. Vrsta i sastav izlučevina utiču na aktivnost i broj mikroorganizama u ovoj zoni. Raznovrsnost mikroorganizama u asocijaciji sa krenom biljaka je ogromna, i obuhvata desetine i hiljade vrsta. U rizosferi dominiraju predstavnici bakterija i gljiva. Brojnost bakterija u rizosferi je 5 do 20 (nekada i 100) puta veća u odnosu na okolno zemljište. Broj gljiva u rizosferi je 10 do 20 puta veći, dok je brojnost algi i protozoa 3 puta veća. U rizosfernom zemljištu zastupljene su sve grupe mikroorganizama, ali su naročito povoljni uslovi za amonifikatore i slobodne azotofiksatore.

Rizosferu naseljavaju mikroorganizmi koji imaju neutralni efekat na biljku, ali i oni koji ispoljavaju štetan ili koristan efekat. Mikroorganizmi koji ispoljavaju štetan uticaj na biljku su patogene gljive, oomicete, bakterije i nematode, dok pozitivan efekat na biljku imaju azotofiksirajuće bakterije, endo- i ektomikorizne gljive, mikroorganizmi promotori biljnog rasta i gljive (Slika 1).

Osim mikroorganizama koji kolonizuju rizosferu i rizoplan, postoje i *endofiti* koji naseljavaju intercelularne prostore epidermalnih ćelija i vaskularna tkiva korena (Kado, 1992). Unutrašnja tkiva biljaka predstavljaju relativno ujednačenu i zaštićenu sredinu u poređenju sa rizosferom i rizoplanom (Chen *et al.*, 1995), dok su ektofitne bakterije izložene promenama uslova spoljašnje sredine i postoji intenzivna kompetitivna aktivnost sa drugim mikroorganizmima (Bansal and Mukerji, 1996).



Slika 1. Rizosfera (Philippot *et al.* 2013)

2.2. Rizobakterije promotori biljnog rasta (PGPR)

Interakcije između bakterija koje naseljavaju rizosferu i biljaka mogu biti korisne, neutralne ili štetne za biljku. Korisne rizobakterije označene su terminom PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) koji je u upotrebi od 1978. godine (Kloepper and Schroth, 1978). PGPR predstavljaju heterogenu grupu bakterija koja se može naći u rizosferi, na površini korena i u asocijaciji sa korenom i ispoljava pozitivan uticaj na rast biljaka i prinos (Adesemoye *et al.*, 2009).

U gramu zemljišta broj PGPR se kreće u stotinama miliona, a raznovrsnost i aktivnost im zavisi od uslova koji vladaju u zemljištu i od biljne vrste. Brojne rizobakterije uključujući *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Aeromonas*, *Azoarcus*, *Clostridium*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Gluconacetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthobacter*, *Achromobacter*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Beijerinckia*, *Serratia*, *Streptomyces* ispoljile su stimulatívni efekat na rast biljaka i prinos (Berg, 2009).

Bakterije promotori biljnog rasta ispoljavaju efekat na rast i razviće biljaka i prinos preko različitih mehanizama koji mogu biti direktni ili indirektni, a uključuju povećanje sadržaja hraniva u rizosferi, biološku fiksaciju azota, proizvodnju fitohormona, obezbeđivanje biljaka pristupačnim fosforom, smanjenje ili sprečavanje štetnih efekata patogenih mikroorganizama uglavnom putem sinteze antibiotika, kompeticije za hranljive materije i interakcije sa drugim korisnim mikroorganizmima (Dobbelaere *et al.*, 2003). PGPR takođe proizvode egzopolisaharide koji značajno utiču na agregaciju zemljišta i veličinu makropora povećavajući na taj način količinu dostupne vode i hraniva.

Korisni mikroorganizmi koji poboljšavaju hranljiva i zdravstvena svojstva zemljišta definisani su kao probiotici za biljke (PPM - Plant Probiotic Microorganisms) (Haas and Keel, 2003). Primena PGPR u cilju kontrole bolesti i održavanja plodnosti agroekosistema razmatra se kao alternativa ili dopuna redukovanoj upotrebi hemikalija u poljoprivredi.

Važan preduslov da bi se bakterije smatrale pravim PGPR je kolonizacija korena. PGPR su često neefikasne ako ne kolonizuju koren u dovoljnoj meri (Montealegre *et al.*, 2003). Efekat PGPR inokulanata zavisi od soja i koncentracije bakterijskih ćelija u inokulumu, biljne vrste, primenjenih agromeliorativnih mera i fizičko-hemijskih svojstava zemljišta (Milošević *i sar.*, 2003). Efikasnost inokulacije veća je kada su sojevi izolovani sa biljne vrste koja će se inokulisati (Mrkovački i Mezei, 2003).

2.3. Mehanizmi delovanja PGPR

Somers *et al.* (2004) podelili su PGPR prema načinu njihovog delovanja na: biofertilizatore (povećavaju dostupnost hraniva za biljke); fitostimulatore (stimulišu rast, uglavnom putem produkcije biljnih hormona); rizomedijatore (razlažu organske polutante) i biopesticide (kontrolišu bolesti, uglavnom putem produkcije antibiotika i antifungalnih metabolita).

2.3.1. Mehanizmi PGPR biofertilizacije

Biofertilizatori su mikrobiološki preparati koji sadrže selekcionisane visoko efektivne sojeve bakterija, algi ili gljiva. Ovi mikroorganizmi izolovani su iz zemljišta i njihovim

ponovnim unošenjem u zemljište aktiviraju se odgovarajući mikrobiološki procesi koji omogućavaju bolje i ravnomernije snabdevanje biljaka azotom, fosforom i kalijumom, kao i nekim mikroelementima. Primenom biofertilizatora koji sadrže rizobakterije promotore biljnog rasta - PGPR smanjuje se upotreba azotnih đubriva, omogućava se biljci lakše usvajanje fosfora i utiče na pravac i dinamiku mikrobioloških procesa (Mrkovački i sar., 2012). Glavni mehanizmi kojima PGPR doprinose povećanju sadržaja hraniva u zemljištu su biološka fiksacija azota i solubilizacija fosfata.

2.3.1.1. Biološka fiksacija azota

Azot spada u grupu biogenih elemenata te je njegov nedostatak u zemljištu ograničavajući faktor rasta i prinosa gajenih biljaka. U zemljištu je prisutan u obliku neorganskih i organskih jedinjenja. Biljke usvajaju azot u obliku nitratnog (NO_3^-) i amonijum jona (NH_4^+). Najveći deo neorganskog azota u zemljištu nastaje mineralizacijom organskih jedinjenja u toku metabolizma mikroorganizama.

Mikrobiološka transformacija azota odvija se kroz nekoliko faza koje su deo biološkog ciklusa azota, a to su: amonifikacija, nitrifikacija, denitrifikacija i azotofiksacija (Slika 1). Amonifikacija predstavlja proces mineralizacije organskih azotnih jedinjenja do amonijaka. Deo amonijaka prelazi u amonijum jon i usvaja se od strane biljaka, deo odlazi u atmosferu, a najveći deo koriste mikroorganizmi – nitrifikatori. Nitrifikacija je proces oksidacije amonijaka do nitrata. Deo nitratnog azota anaerobni mikroorganizmi u procesu denitrifikacije redukuju do elementarnog azota koji iz zemljišta odlazi u atmosferu. Mikroorganizmi azotofiksatori usvajaju elementarni azot iz atmosfere i redukuju ga do amonijaka koji se koristi za biosinteze proteina biljaka i mikroorganizama. Ovaj proces se naziva biološka azotofiksacija.

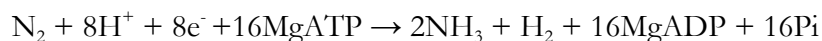
Biološku azotofiksaciju vrši posebna grupa prokariotskih mikroorganizama sa zajedničkim imenom – azotofiksatori ili diazotrofi. Ako se posmatra odnos mikroorganizama koji vrše azotofiksaciju sa biljkom tada se biološka azotofiksacija može podeliti na: simbiotsku, asocijativnu i slobodnu. Kod simbiotske azotofiksacije mikroorganizmi žive u simbiotskoj zajednici sa biljkom od koje dobijaju energetska jedinjenja potrebna za svoj metabolizam, a mikroorganizmi azotofiksatori biljke snabdevaju azotnim jedinjenjima. Asocijativna azotofiksacija je tip fiksacije azota u kome mikroorganizmi žive i obavljaju svoju životnu

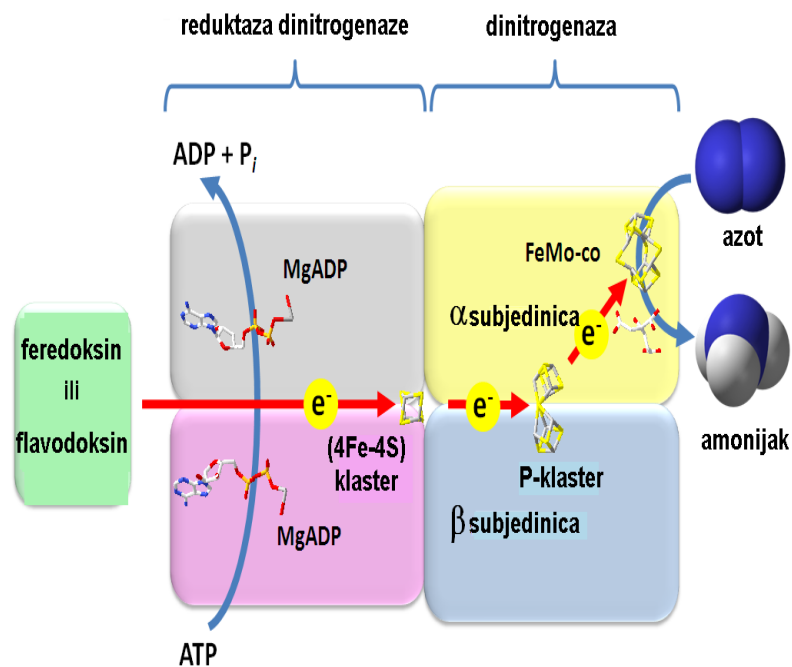
delatnost na samoj površini korena ili u korenu biljke, ali bez formiranja posebnih morfološki izraženih struktura, kao što je to slučaj kod simbiotskih azotofiksatora. Slobodni azotofiksatori žive i vrše fiksaciju azota u zemljištu, vodi ili u rizosferi biljaka.

Proces fiksacije azota predstavlja složenu seriju redukcionih reakcija. Atomi azota unutar molekula su međusobno povezani trostrukom kovalentnom vezom koja azot čini veoma stabilnim. Proces azotofiksacije katališe enzimski kompleks nitrogenaza koji se sastoji iz dve metaloproteinske komponente: FeMo protein (dinitrogenaza) i Fe-protein (reduktaza dinitrogenaze). FeMo protein je tetramer molekulske mase 220-240 kDa sastavljen od dve neidentične α i β subjedinice i dva para kompleksa metaloklastera, P-klastera i FeMo kofaktora (FeMo-co). Fe protein je dimer molekulske mase 60 kDa, građen od dve identične subjedinice između kojih se nalazi [4Fe-4S] klaster. Na svakoj subjedinici nalazi se po jedno mesto gde se vezuje MgATP molekul (Rubio and Ludden, 2005).

Nitrogenazna reakcija započinje tako što se prvo redukuje [4Fe-4S] klaster Fe-proteina elektronima prenetim sa feredoksina, koji su u zavisnosti od vrste mikroorganizama stvoreni u procesu fotosinteze, respiracije ili fermentacije. Redukovani Fe-protein vezuje se sa MgATP-om i dolazi do stvaranja kompleksa sa FeMo proteinom. Redoks promene u [4Fe-4S] klasteru dovode do prenosa elektrona na P-klaster FeMo proteina koji je praćen hidrolizom 2MgATP u 2MgADP i 2Pi. Nakon transfera elektrona i hidrolize MgATP nitrogenazni kompleks se razdvaja, kako bi se sprečila povratna reakcija. Preko P-klastera elektroni se sa Fe proteina prenose na FeMo-co gde se vrši vezivanje i redukcija supstrata (N_2) (Slika 2).

U nitrogenaznoj reakciji od 1 molekula azota uz utrošak 16 molekula ATP nastaju 2 molekula amonijaka. Redukcija N_2 se odvija na sledeći način:



Slika 2. Proces fiksacije azota (Seefeldt *et al.*, 2004)

Većina ispitivanih vrsta azotofiksatora sadrži FeMo-kofaktor nitrogenaze sa odgovornim nif genima za azotofiksaciju. Dokazano je i postojanje alternativne nitrogenaze koja u prostetičnoj grupi sadrži samo gvožđe i vanadijum – kofaktor VFe sa dvostrukim setom vnf gena (*Azotobacter*). Diazotrofi su genetički različiti i stoga aktivni u različitim sredinama. *Klebsiella* poseduje 17 nif gena organizovanih u sedam operona, *Azotobacter vinelandii* i *Azotobacter paspali* sadrže oba alternativna enzima, dok *Azotobacter chroococcum* poseduju samo vnf gene (Kennedy *et al.*, 2004). Kiseonik inhibitorno utiče na aktivnost azotofiksatora koji poseduju različite strategije za zaštitu nitrogenaze od kiseonika, kao što su: zaustavljanje sinteze nitrogenaze kada su ćelije izložene kiseoniku, smanjenje koncentracije kiseonika oko ćelija, stvaranje specifičnih morfoloških tvorevina (kvržice leguminoza, vezikule neleguminoza, heterociste cijanobakterija).

Najzastupljeniji rodovi rizofernih i endofitnih azotofiksirajućih bakterija su: *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Acetobacter*, *Azoarcus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Azovibrio*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Gluconacetobacter*, *Clostridium*, *Derxia*, *Herbaspirillum* (Mirza *et al.*, 2000).

Slobodni azotofiksatori mogu da fiksiraju 30 do 50 kg N ha⁻¹, a u nekim klimatskim oblastima i do 150 kg ha⁻¹ (Dobereiner *et al.*, 1972). Mikroorganizmi azotofiksatori ne samo da fiksiraju azot, već povoljno utiču na povećanje prinosa i njegovog kvaliteta, kao i bolje usvajanje vode i mineralnih materija iz zemljišta. U istraživanjima Govedarice i sar. (1992) utvrđeno je da diazotrofi mogu da vežu iz atmosfere 60 kg N ha⁻¹. Efektivnost diazotrofa zavisi kako od vrste i soja diazotrofa tako i od biljne vrste. Utvrđena je i genetska specifičnost soja određene vrste diazotrofa i biljne vrste, stoga je potrebno vršiti selekciju diazotrofa na nivou genotipa biljke, kako bi se za svaku sortu i hibrid pronašli najefektivniji sojevi različitih vrsta diazotrofa (Govedarica, 1986; Cvijanović, 2002).

Posebno mesto u ovoj grupi pripada rodu *Azotobacter* koji je tipičan zemljišni mikroorganizam zastupljen i u rizoferi mnogih biljaka (slobodna azotofiksacija), a ponekad živi i na samoj površini korena (asocijativna azotofiksacija). Mlade ćelije azotobaktera su pokretni Gram-negativni štapići, dužine 2-3 μm, dok starije ćelije dobijaju ovalan oblik i obavijene su kapsulom. Kao i drugi aerobni diazotrofi, i azotobakter koristi organske supstrate kao izvore energije i hraniva te je brojniji u zemljištima sa većim sadržajem lako razgradivih ugljenih hidrata. Brojnost azotobaktera u zemljištima našeg klimatskog područja kreće se od nekoliko stotina do desetina hiljada u zavisnosti od fizičko-hemijskih svojstava zemljišta, agrotehničkih mera, ali i biljne vrste (Milošević i sar., 2003). Osetljiv je na kiselu reakciju zemljišta, visok sadržaj soli i temperaturu iznad 35°C. Brojniji je u nešto vlažnijim zemljištima (70 - 80% PVK), a u nedostatku slobodne vode formira ciste. Količina azota koju azotobakter usvaja iz vazduha iznosi oko 50 - 90 kg ha⁻¹ godišnje (Hajnal i sar., 2004; Jeličić i sar., 2008) što zavisi od uslova koji vladaju u zemljištu, kao i od efektivnosti sojeva. Efektivni sojevi vežu 15 - 20 mg azota na 1g iskorišćene organske materije, a neaktivni do 7 mg (Mišustin i Emcev, 1978). Aplikacijom visokoefektivnih sojeva *Azotobacter chroococcum* postiže se povećanje produkcije šećerne repe i smanjuje zagađenje životne sredine, stoga se ovi sojevi mogu koristiti za pripremu bifertilizatora za šećernu repu (Mrkovački i Milić, 2001).

2.3.1.2. Solubilizacija fosfata (P-solubilizacija)

Pored azota, rast biljaka direktno zavisi i od fosfora koji je najčešće prisutan u zemljištu u formama koje su nepristupačne biljkama. Veliki deo rastvorljivih neorganskih fosfata iz mineralnih đubriva (više od 70%) fiksira se u zemljištu ubrzo nakon primene u obliku nerastvorljivih jedinjenja Ca, Al i Fe (Mittal *et al.*, 2008). Sadržaj fosfora u zemljištu je vrlo promenljiv (0,02 - 0,15%), a njegova pristupačnost za biljke veoma niska (1 ppm ili 0,1%) i varira u zavisnosti od mnogih faktora, prvenstveno od pH vrednosti zemljišta. Biljke ga usvajaju iz zemljišnog rastvora isključivo u anjonskom obliku H_2PO_4^- i HPO_4^{2-} .

Ortofosforna kiselina različito disosuje u zavisnosti od pH reakcije. Povećanje pH nepovoljno utiče na usvajanje fosfora jer je sve više jona HPO_4^{2-} i PO_4^{3-} . Smatra se da biljke usvajaju samo H_2PO_4^- , što objašnjava bolje usvajanje fosfora u slabo kiseloj sredini. Reakcije kojima se fosfor imobilizuje dešavaju se na svim pH vrednostima, ali su veoma naglašene u alkalnim (pH > 7.3) i kiselim zemljištima (pH < 5.5), dok je iskorišćavanje fosfata najefikasnije na vrednostima pH između 6 i 7. U alkalnim zemljištima Ca je dominantni katjon koji reaguje sa fosfatima, a u kiselim zemljištima, posebno u onim sa pH manjim od 5.5, slobodni oksidi i hidroksidi Al i Fe igraju ključnu ulogu u fiksiranju fosfora.

Pojedini zemljišni mikroorganizmi mogu sintetisati organske kiseline i fosfataze putem kojih se nepristupačni fosfor može prevesti u biljkama pristupačnu formu (Vazquez *et al.*, 2000). Mikroorganizmi koji rastvaraju organske i neorganske fosfate pripadaju grupi koja je označena kao PSM (Phosphate Solubilization Microorganisms) (Rodríguez and Fraga, 1999). U PSM se ubrajaju bakterije, gljive, aktinomicete i arbuskularne mikorizne (AM) gljive (Khan *et al.*, 2007).

Najmoćniji P-solubilizatori pripadaju rodovima *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Enterobacter*, *Aspergillus* i *Penicillium* (Wakelin *et al.*, 2004; Xiao *et al.*, 2011). Osim kod ovih bakterija, sposobnost P-solubilizacije utvrđena je kod rodova *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Serratia*, *Mesorhizobium*, *Chryseobacterium*, *Gordonia*, *Phyllobacterium*, *Delftia*, *Azotobacter*, *Pantoea* i *Klebsiella* (Chung *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2006).

Glavni mehanizam P-solubilizacije je produkcija različitih kiselina praćena acidifikacijom sredine, reakcijama heliranja i razmene anjona (Chung *et al.*, 2005; Gulati *et al.*, 2010). Organske i neorganske kiseline prevode trikalcijum fosfate u di- i monofosfate što

rezultira u većoj pristupačnosti fosfora. Vrsta i količina produkovanih kiselina variraju kod različitih mikroorganizama. PSM proizvode organske kiseline kao što su sirćetna, mlečna, oksalna, ćilibarna, limunska, oksalna, vinska i dr. (Ahmed and Shahab, 2011). Najčešći agensi P-solubilizacije su glukonska i 2-ketoglukonska kiselina (Song *et al.*, 2008). Osim organskih kiselina, neorganske kiseline kao što su azotna i sumporna takođe doprinose rastvaranju fosfata (Khan *et al.*, 2007). PSM acidifikuju sredinu i putem izdvajanja CO₂ i formiranja ugljene kiseline, a ova acidifikacija je bitna u rastvaranju fosfata kalcijuma (Slika 3).

Otpuštanjem odgovarajućih anjona i protona, organske kiseline izazivaju acidifikaciju sredine, nastavljajući pri tome sa disocijacijom shodno pH, dok se nastali protoni troše u reakcijama rastvaranja (Welch *et al.*, 2002). Ove kiseline se takođe takmiče za mesta fiksacije Ca, Al i Fe nerastvorljivih oksida, reaguju sa njima, stabilizuju ih i tada se smatraju helatorima (Whitelaw, 2000). Mnogi aerobni PSM proizvode 2-ketoglukonsku kiselinu koja je moćni helator Ca i solubilizatori su različitih formi hidroksiapatita, fluorapatita i Al fosfata. Huminske i fulvo kiseline oslobođene tokom mikrobiološke razgradnje biljnih ostataka su takođe dobri helatori Ca, Fe i Al fosfata (Stevenson, 2005).

P-solubilizirajuća aktivnost *Rhizobium*-a se smanjuje dodavanjem NaOH što ukazuje na to da je sposobnost rastvaranja fosfornih jedinjenja u potpunosti povezana sa sposobnošću redukcije pH sredine (Halder and Chakrabarty, 1993). Helirajuća sposobnost organskih kiselina je takođe važna jer se pokazalo da dodatak 0,05 M EDTA ima isti efekat u rastvaranju fosfata kao inokulacija sa PSM *Penicillium bilaii* (Kucey, 1988).

PSM mineralizacija organskih fosfata akumuliranih u zemljištu pretežno nakon razgradnje biljnih i životinjskih ostataka (jedan deo nastaje i iz mikrobioloških hemosintetskih procesa), odvija se zahvaljujući sintezi ekstracelularnih enzima kao što su fosfoesteraze, fosfodiesteraze, fitaze i fosfolipaze. Inokulacija semena kukuruza mikroorganizmima koji proizvode fosfataze (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Streptomyces*) utiče na aktivnost fosfomonoesteraza u njihovoj rizosferi, kao i na sadržaj ukupnog azota i fosfora i na taj način utiče na povećanje sadržaja pristupačnog fosfora u zemljištu, a time i na prinos biljaka (Đorđević i sar., 2000).

Kompeticija PSM sa drugim mikroorganizmima i biljkama u usvajanju pristupačnih fosfata rezultira u većoj akumulaciji od strane PSM. Akumulirani fosfor oslobađa se u okruženje pri stresnim uslovima ili nakon uginuća PSM gde ga usvajaju biljke ili drugi

mikroorganizmi. I neki ne-PSM takođe mogu imati efekat fosfornih biođubriva jer poseduju transportere visokog afiniteta za fosfor, koji mineralizacijom postaje pristupačan biljkama nakon uginuća ovih mikroorganizama (asimilacija P u mikrobima).



Slika 3. Mehanizmi P-solubilizacije (Ahemad and Khan, 2011)

Sposobnost PSM da rastvaraju fosfate takođe zavisi od prirode N izvora, sa većom solubilizacijom u prisustvu soli amonijuma nego u prisustvu nitrata. Smatra se da dolazi do istiskivanja protona da bi se nadoknadilo usvajanje amonijuma što dovodi do snižavanja ekstracelularnog pH (Roos and Luckner, 1984).

U zemljištu, bakterije koje rastvaraju fosforna jedinjenja čine 1 - 50%, a gljive 0,5 - 0,1% ukupne populacije mikroorganizama. Većina ovih mikroorganizama rastvara fosfate Ca, a samo nekoliko fosfate Fe i Al (Kucey *et al.*, 1989), te su aktivni u karbonatnim zemljištima, ali ne i u drugim zemljištima u kojima dominiraju fosfati Fe i Al. Međutim, ovi mikroorganizmi mogu biti efektivni u ovim zemljištima nakon dodatka prirodnih fosfata. Mikroorganizmi izolovani iz rizosfere različitih biljnih vrsta su metabolički aktivniji u rastvaranju fosfornih jedinjenja od onih koji su izolovani iz okolnog zemljišta (Baya *et al.*, 1981).

Proučavajući brojnost fosfomobilizatora i fosfomineralizatora u različitim tipovima zemljišta Đorđević i sar. (1999) utvrdili su da je brojnost fosfomobilizatora, fosfomineralizatora, aminoheterotrofa, aktinomiceta i azotobaktera najveća u černozeu i humogleju, a gljiva u zemljištima tipa kalkomelanosola, kao i da su mikroorganizami koji rastvaraju FePO_4

zastupljeni u manjem broju u odnosu na one koji rastvaraju AlPO_4 , ali u većem u odnosu na mikroorganizme koji rastvaraju $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

Istraživanja na biljkama koje su inokulisane sa PSM pokazala su poboljšanje rasta i povećan sadržaj fosfora u biljci, ali se javljaju velike varijacije u efektivnosti ovih mikroorganizama. *Penicillium bilaii* i *Bacillus megatherium* se smatraju najefikasnijim PSM sudeći po eksperimentima u polju. *Bacillus megatherium* oslobađa fosfor iz organskih jedinjenja, ali ne rastvara mineralne fosfate (Kucey, 1988). Primena fosfomobilizatora *Bacillus subtilis* poboljšava snabdevanje biljaka pristupačnim fosforom, ali ima ulogu i u održavanju plodnosti zemljišta i zaštiti od patogenih mikroorganizama. Primenom *Pseudomonas fluorescens* u zemljištima sa visokim sadržajem trikalcijum fosfata postignuti su dobri rezultati, pri čemu je utvrđeno da je razlaganje fosfata u direktnoj vezi sa produkcijom organskih kiselina (Vyas and Glulati, 2009).

Inokulacijom kukuruza sa PSM i PGPR sojevima (*Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas putida* i *Bacillus lentus*) u kombinaciji sa tri različita načina đubrenja, Yazdani *et al.* (2009) ukazali su na pozitivan efekat ovih mikroorganizama na prinos biljke i mogućnost redukovane upotrebe mineralnih fosfornih đubriva za 50%.

Dobar efekat na prinos i snabdevanje biljaka azotom i fosforom postignut je u proizvodnji kukuruza, pšenice, pirinča, suncokreta i drugih ratarskih i povrtarskih biljnih vrsta primenom inokulanata koji su sadržavali smešu azotofiksatora i fosfomineralizatora, i taj efekat je bio veći nego u slučaju njihove pojedinačne primene (Bashan, 1998; Milošević i Govedarica, 2001; Compant *et al.* 2010).

2.3.2. Mehanizmi PGPR biostimulacije

Različiti sojevi PGPR ispoljavaju stimulatívni efekat na rast i razviće biljaka putem sinteze fitohormona (Dobbelaere *et al.*, 2003; Vessey *et al.*, 2003). Fitohormoni (auksini, giberelini, citokinini, abscisinska kiselina, etilen) su organske supstance koje ne spadaju u hranljive materije, ali u minimalnim koncentracijama učestvuju u regulaciji rasteñja i razvića. Auksini, giberilini i citokinini pokazuju pretežno stimulatorno delovanje, dok abscisinska kiselina i etilen deluju inhibitorno.

Osim biljaka, ove hormone mogu sintetisati različite vrste mikroorganizama. Produkcija ovih hormona utvrđena je u kulturama nekoliko bakterija uključujući *Halomonas*

desiderata, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus megaterium*, *B. cereus*, *B. subtilis* i *Escherichia coli* (Ali *et al.*, 2009).

Hormoni povećavaju gustinu i dužinu korenskih dlačica povećavajući na taj način površinu korena što doprinosi boljem usvajanju vode i mineralnih materija iz zemljišta (Volkmar and Bremar, 1998). Produkcijom hormona PGPR stimulišu rast drugih biljnih organa, što rezultira u povećanju prinosa.

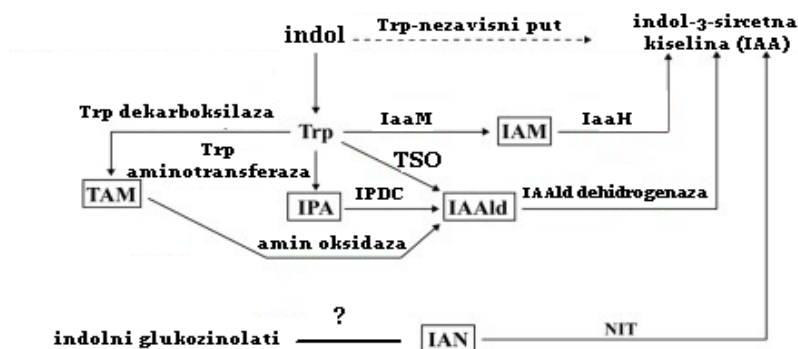
2.3.2.1. Produkcija auksina

Auksini su grupa biljnih hormona koji stimulišu rast biljnih organa. Najčešće prisutan prirodni auksin je indol-3-sirćetna kiselina (IAA). Nekoliko decenija nakon identifikovanja indol-3-sirćetne kiseline (IAA) (Kogl and Kostermans, 1934), utvrđeno je da osim biljaka, različite vrste bakterija i gljiva takođe poseduju sposobnost sinteze ovog hormona (Kaper and Veldstra, 1958). Kasnije je dokazano postojanje više puteva biosinteze IAA kod bakterija, kao i visoki stepen sličnosti sa putevima biosinteze ovog hormona kod biljaka. Glavni prekursor sinteze IAA kod bakterija je aminokiselina triptofan (Slika 4).

- *Indol-3-acetamid (IAM) put* je najbolje proučen put biosinteze IAA kod bakterija. Sastoji se iz dve faze. U prvoj fazi triptofan prelazi u indol-3-acetamid putem enzima triptofan-2-monooksigenaze (IaaM). U drugoj fazi IAM se pretvara u IAA pod dejstvom enzima IAM hidrolaze (IaaH).
- *Indol-3-piruvat (IPyA) put* se smatra najvećim putem biosinteze IAA kod biljaka, ali ključni enzimi još uvek nisu identifikovani. Kod bakterija, u prvoj fazi ovog puta triptofan transaminacijom prelazi u indol-3-piruvat pod dejstvom IPyA aminotransferaze. Pod dejstvom enzima indol-3-piruvat dekarboksilaze (IPDC) IpyA dekarboksilacijom prelazi u indole-3-acetaldehid (IAAld) koji se u poslednjoj fazi oksidiše u IAA.
- *Triptamin (TAM) put* otkriven je identifikacijom aktivnosti enzima triptofan dekarboksilaze kod *Bacillus cereus*, koji katališe dekarboksilaciju triptofana u triptamin. Kod biljaka, pod dejstvom enzima flavin monooksigenaze triptamin prelazi u N-

hidroksil triptamin, dok se kod bakterija TAM direktno transformiše u IAAlD putem enzima amin oksidaze.

- *Put oksidaze bočnog lanca triptofana (TSO)* otkriven je samo kod bakterije *Pseudomonas fluorescens* CHA0 i do danas postojanje ovog puta nije dokazano kod biljaka. Triptofan se u ovom putu direktno konvertuje u IAAlD koji dalje može biti oksidisan u IAA.
- *Indol-3-acetonitril (IAN) put* veoma je izučavan kod biljaka. Kod bakterija, u poslednjoj fazi ovog puta IAN prelazi u IAA pod dejstvom enzima nitrilaze. Faze koje vode ka formiranju IAN iz triptofana još uvek nisu u potpunosti razjašnjene. Kao mogući intermedijeri navode se indolni glukozinolati i acetaldoksimi.
- *Triptofan-nezavisni put* počinje od indol-3-glicerolfosfata ili indola. Na postojanje ovog puta ukazali su Prinsen *et al.* (1993) u eksperimentu sa označenim prekursorima, koji su utvrdili da je 90% IAA kod *A. brasilense* u medijumu bez triptofana sintetisano ovim putem, a samo 0,1% IAM putem. Enzimi koji bi učestvovali u ovom procesu nisu identifikovani te se razmatra postojanje ovog puta.



Slika 4. Putevi biosinteze IAA kod bakterija (Fu and Wang, 2011)

Različite vrste bakterija poseduju sposobnost produkcije IAA. Interakcije između IAA-produkujućih bakterija i biljaka vode ka različitim odgovorima, od patogeneze do fitostimulacije.

Ahmad *et al.* (2008) utvrdili su da više od 80% ispitivanih sojeva *Azotobacter* i *Pseudomonas* produkuju indol-sirćetnu kiselinu, dok je isto utvrđeno kod 20% ispitivanih sojeva *Bacillus*.

Kumar *et al.* (2002) smatraju da PGPR proizvode indol-sirćetnu kiselinu i druge metabolički aktivne materije i na taj način dovode do povećanja dužine korena, visine nadzemnog dela biljke i prinosa.

Utvrđena je pozitivna korelacija između produkcije auksina kod različitih PGPR sojeva i njihove sposobnosti da povećaju broj izdanaka i mahuna kod *Brassica spp.* Tretiranjem *Brassica napus* ovim sojevima povećan je broj izdanaka i sadržaj ulja kod ove biljne vrste (Asghar *et al.*, 2004). Gaudin *et al.* (1994) su utvrdili da sojevi *Azospirillum sp.* i *Pseudomonas sp.* osim IAA proizvode i citokinine i gibereline.

2.3.2.2. Produkcija giberelina

Giberelini su grupa biljnih hormona koji utiču na mnoge razvojne procese kod viših biljaka, uključujući klijanje semena, rast stabla, cvetanje i formiranje ploda. Uloga giberelina je u stimulaciji dužinskog rasta i deobe ćelija stoga se sintetizuju u vrlo mladim listovima i rastućem semenu, plodovima i korenu. Utvrđeno je da osim biljaka, pojedine gljive i bakterije odlikuje sposobnost sinteze ovog hormona.

Giberelini pripadaju grupi diterpenoida (19 ili 20 C-atoma) i imaju gibanski prsten u molekulu. Giberelini koji sadrže 19 C atoma u A-prstenu sadrže jedan unutrašnji laktonski prsten, dok giberelinima koji sadrže 20 C atoma u A-prstenu nedostaje laktonski prsten i najčešće na jednom C atomu imaju vezanu karboksilnu grupu.

Prvu karakterizaciju giberelina kod bakterija izvršili su Atzorn *et al.* (1988), koji su dokazali produkciju GA₁, GA₄, GA₉ i GA₂₀ u kulturama *Rhizobium meliloti*. Količina giberelina u čistim kulturama gustine 10⁸ CFU ml⁻¹ kreće se od 20 pg ml⁻¹ do 400 pg ml⁻¹ (Bottini *et al.*, 1989) dok se u ko-kulturi sa drugim bakterijama (Flouri *et al.*, 1995) ili sa gljivama (Janzen *et al.*, 1992) ukupna količina produkovanih giberelina 10 puta povećava.

Stimulacija biljnog rasta kao rezultat produkcije giberelina utvrđena je u kulturama *Acetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae* (Bastián *et al.*, 1998), *Bacillus sp.* (Gutiérrez-Mañero *et al.*, 2001) *Azospirillum lipoferum* i *Azospirillum brasilense* (Bottini *et al.*, 1989).

Giberelini mogu da regulišu nivo drugih fitohormona. Cohen *et al.* (2001) utvrdili su da inokulacija kukuruza sa *A. lipoferum* može stimulisati rast biljke u uslovima suše kao rezultat preusmeravanja efekta blokatora sinteze GA i ABA. Inokulacijom paradajza sa GA

produkujućom *Promicromonospora sp.* povećana je dužina nadzemnog dela i biomasa biljke uz istovremeno smanjenje produkcije ABA i povećanje produkcije salicilne kiseline (Kang *et al.*, 2012).

Primena giberelinske kiseline GA₃ u koncentracijama sličnim onim koje proizvode mikroorganizmi stimulirala je rast ponica kukuruza. Inokulacija sa različitim sojevima *Azospirillum*-a povećala je nivo GA₃ u korenu kukuruza dok su neinokulisani ponici sadržali pretežno konjugovane oblike GA₃ (Fulchieri *et al.*, 1993).

Positivan efekat PGPR na rast i prinose mnogih biljaka može se objasniti produkcijom giberelina, dekonjugacijom giberelinglukozil konjugata izlučenih korenom i 3β-hidroksilacijom neaktivnih 3-deoksi giberelina u aktivne forme kao što su GA₁, GA₃ i GA₄.

2.3.2.3. Produkcija citokinina

Citokinini (CK) su grupa biljnih hormona koji imaju ključnu ulogu u regulaciji ćelijskog ciklusa i razvoju biljaka. Hemijski posmatrano, citokinini su N⁶-derivati adenina. Citokinine, osim biljaka sintetizuju cijanobakterije i različite vrste bakterija.

Ipt gen koji kodira izopentiltransferazu, enzim koji katalizuje sintezu citokinina iz derivata adenina, otkriven je kod *Agrobacterium tumefaciens* (Nester *et al.*, 1984). Tek nedavno isti gen otkriven je kod biljaka (Kakimoto, 2003). Na biosintezu CK utiču različiti faktori, prvenstveno interakcija sa drugim fitohormonima i količina neorganskog azota (Sakakibara, 2004).

Karnwal and Kaushik (2011) ispitali su sposobnost 50 izolata *Pseudomonas*-a da proizvode citokinine kao što su izopentiladenozin (IPA), dihidroksizeatin ribozid (DHZR) i zeatin ribozid (ZR). Utvrđeno je proizvodnja citokinina kod dva izolata, pri čemu je IPA proizvedeno u najvećoj količini.

Arkhipova *et al.* (2005) ispitali su sposobnost bakterije *Bacillus subtilis* da proizvode hormone IAA, ABA i različite citokinine (ZR, DHZR, IPA). Zeatin ribozid je proizvedeno u najvećoj količini, dok je inokulacijom biljaka salate povećan sadržaj citokinina u nadzemnom delu i korenu biljke čija je masa povećana za 30% u odnosu na kontrolnu varijantu bez inokulacije. Citokinini stimulišu otvaranje stoma, rast nadzemnog dela i smanjuju rast korena. U uslovima suše koncentracija citokinina se smanjuje u asocijaciji sa zatvaranjem stoma i preusmeravanjem rasta sa nadzemnog dela na koren (Arkhipova *et al.*, 2007).

Najveći efekat citokinini imaju na ćelijsku deobu. Takođe, utiču i na razvoj korena i formiranje korenskih dlačica (Frankenberger and Arshad, 1995). Biljke i mikroorganizmi u asocijaciji sa biljkama proizvode oko 30 jedinjenja iz grupe citokinina. Utvrđeno je da 90% rizosfernih mikroorganizama odlikuje sposobnost produkcije citokinina *in vitro* (Barea *et al.*, 1976).

Nieto and Frankenberger (1991) ispitivali su uticaj prekursora citokinina, adenina i izopentil alkohola, kao i *Azotobacter chroococcum* - bakterije koja proizvode citokine, na rast kukuruza u polukontrolisanim uslovima, pri čemu je najbolji efekat postignut zajedničkom primenom prekursora citokinina i bakterije.

2.3.2.4. Produkcija etilena

Etilen je gasoviti biljni hormon koji proizvode skoro sve biljke. Etilen inhibira rast korena, reguliše sazrevanje plodova i druge procese povezane sa starenjem biljke. Pored toga što je biljni regulator, etilen je i hormon stresa. Pod stresnim uslovima kao što su suša, prevlaživanje, teški metali i dr., endogena produkcija etilena je ubrzana što nepovoljno utiče na rast korena a time i na rast cele biljke.

Osim kod biljaka, produkcija etilena utvrđena je kod bakterija i gljiva (Arshad and Frankenberger, 1991). Za sada u literaturi nema podataka o tome kako etilen koji proizvode mikroorganizmi utiče na biljni rast. Izvesne PGPR sadrže enzim 1-aminociklopropan-1-karboksilat (ACC) deaminazu koji reguliše produkciju etilena metabolizmom ACC (neposredni prekursor biosinteze etilena u višim biljkama) u α -ketobutirat i amonijak. ACC deaminaza je homotrimer sa piridoksal fosfatom kao kofaktorom, kodiran *acdS* genom (Sheehy *et al.* 1991).

Inokulacija sa PGPR koje odlikuje ACC deaminazna aktivnost može biti od pomoći u održavanju biljnog rasta i razvoja pod stresnim uslovima putem redukcije stres-indukovane produkcije etilena. Bakterije koje poseduju ACC deaminaznu aktivnost stimulišu rast biljaka u različitim tipovima zemljišta, čak i u zemljištima koja su kontaminirana kadmijumom (Belimov *et al.*, 2005). Nakon uvođenja gena za ACC deaminazu utvrđeno je da *Pseudomonas fluorescens* izaziva stimulaciju rasta kod uljane repice i poboljšava zaštitu ponika krastavaca i krtola krompira od fitopatogenih gljiva (Wang *et al.*, 2000).

2.3.2.5. Produkcija abscisinske kiseline

Abscisinska kiselina (ABA) je seskviterpenoidni biljni hormon koji učestvuje u kontroli širokog opsega esencijalnih fizioloških procesa, uključujući razvoj semena, klijanje i reakciju na stres. Kada je biljka izložena dejstvu ekstremnih spoljašnjih faktora ABA stimuliše zatvaranje stoma i redukciju rasteanja listova i izdanka. Odgovorna je i za odbranu od patogenih mikroorganizama. Različite vrste mikroorganizama mogu da sintetišu i druge tzv. „hormone stresa“, kao što su brasinosteroidi, jasmonati, salicilna kiselina i dr. čiji je uticaj povezan sa nivoom ABA.

Osim kod biljaka, sposobnost sinteze ABA utvrđena je kod fitopatogenih gljiva – *Cercospora rosicola*, *C. cruenta*, *Botrytis cinerea*, *Ceratocystis coerulea*, *C. fimbriata*, *Fusarium oxysporum* i *Rhizoctonia solani* i mnogih vrsta bakterija. Forchetti *et al.* (2007) utvrdili su sposobnost tri od osam izolata endofitnih bakterija suncokreta (*Achromobacter xiloxidans* i *Bacillus pumilus*) da proizvode abscisinsku (ABA), jasmonsku (JA) i 12-okso-fitodiensku kiselinu (OPDA), pri čemu nije bilo razlike u količini proizvedene JA i OPDA među izolatima. Izolati su proizveli veću količinu ABA od JA, a količina oba hormona bila je povećana u uslovima stresa suše.

2.3.3. Mehanizmi PGPR biokontrole

Biljni patogeni koji se prenose preko i žive u zemljištu (*Soil Borne Plant Pathogens*) pripadaju različitim grupama organizama: bakterijama, gljivama i nematodama. Oni se zadržavaju u zemljištu kraći ili duži period vremena i preživljavaju zahvaljujući biljnim ostacima i izlučevinama. Patogeni mogu izbeći kompeticiju sa drugim mikroorganizmima prodirući u koren gde ostaju sve do smrti biljke domaćina ili pak dospevaju spolja gde inficiraju druge delove korena ili koren drugih biljaka.

Primarni mehanizmi PGPR biokontrole biljnih patogena uključuju kompeticiju za hraniva i prostor (Elad and Chet, 1987), antibiozu putem sinteze različitih antibiotika (Pierson and Thomashow, 1992) i produkciju siderofora. Drugi važni mehanizmi obuhvataju produkciju litičkih enzima kao što su hitinaze i β -1,3-glukanaze koji razlažu hitin i glukan koji su prisutni u

ćelijskom zidu gljiva (Frindlender *et al.*, 1993), produkciju HCN (Pessi and Haas, 2000) i degradaciju toksina koje proizvode patogeni (Duffy and Defago, 1997).

2.3.3.1. PGPR indukcija sistemske otpornosti kod biljaka

Biljke su neprekidno izložene štetnom uticaju patogenih mikroorganizama te su se tokom filogeneze dobro prilagodile i razvile mehanizme odbrane. Indukovana zaštita biljaka od različitih patogena putem biotičkih i abiotičkih agenasa kontrole pominje se od 1930-tih kada je Chester (1933) uveo termin „stečeni fiziološki imunitet“ (*Acquired Physiological Immunity*). Indukovana sistemska otpornost (*Induced Systemic Resistance - ISR*) ili sistemska stečena otpornost (*Systemic Acquired Resistance - SAR*) definiše se kao poboljšanje odbrambenog kapaciteta biljke protiv širokog spektra patogena i štetočina koja se stiče nakon odgovarajuće stimulacije (Hammerschmidt and Kuc, 1995).

Patogeni mikroorganizmi su usko specijalizovani za pojedine biljne vrste, ponekad i genotipove i prilagođeni biljkama domaćinima u biohemijskom, fiziološkom i morfološkom pogledu. ISR se temelji na sedam „porodica“ proteina (fitoaleksina) s izraženim antimikrobijalnim učinkom. Sistemska otpornost nije uvek delotvorna jer indukuje rezistentnost patogenih mikroorganizama kroz njihov proces adaptacije (Ramamoorthy *et al.*, 2001).

Fenomen biljne imunološke reakcije zasniva se na postojanju receptora infekcije (*elicitor*), sintezi signalnih molekula koju iniciraju patogeni nakon infekcije, prenosu signala i reakciji biljke nakon aktiviranja gena za odgovarajuće sinteze. Salicilna kiselina je česta endogena signalna komponenta imunizacije biljaka kod napada virusa, bakterija i gljivičnih patogena, takođe se smatra da etilen, jasmonati, kao i slobodni radikali kiseonika (produkti nastali oksidacionim stresom u ćelijama napadnutim od strane patogena) funkcionišu kao glasničke molekule (Jakab *et al.*, 2001).

Biljke se brane od napada štetnih organizama preventivnim strukturalnim i histološkim promenama, preventivnim hemijskim materijama (fenoli i drugi produkti sekundarnog metabolizma) i na druge načine.

PGPR indukuju otpornost biljaka prema gljivičnim, bakterijskim i virusnim oboljenjima, insektima i nematodama. Primena *Pseudomonas fluorescens* kod pirinča indukuje

sistemsku otpornost prema *Rhizoctonia solani*, izazivaču plamenjače (Vidhyasekaran and Muthamilan, 1999). *Pseudomonas fluorescens* sprečava pojavu oreolne pegavosti pasulja koju uzrokuje *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Alstrom, 1991). *Pseudomonas maltophilia* utiče na rast larve *Helicoverpa zea* (napada klip kukuruza), uzrokujući 60% manji razvoj adulta, dok su lutke i adulti koji se razvijaju iz inficirane larve manje (Bong and Sikorowski, 1991). *P. fluorescens* sprečava prodiranje parazitne nematode *Heterodera schachtii* u mladi koren šećerne repe (Oostendorp and Sikora, 1989).

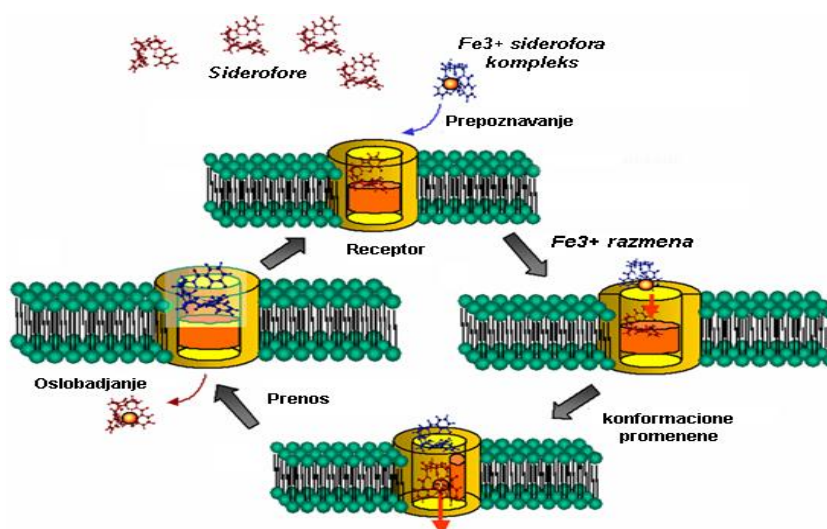
2.3.3.2. Antibioza

Antibiotici su produkti metabolizma nekih mikroorganizama koji nepovoljno deluju na razvoj ili razmnožavanje drugih mikroorganizama. Antibiotici deluju tako što zaustavljaju sintezu ćelijskog zida patogena; vezuju se za ribosome patogena sprečavajući na taj način sintezu proteina; direktno degradiraju DNK ili RNK molekule ili se vezuju na enzime koji upravljaju replikacijom DNK; degradiraju enzime koji učestvuju u metabolizmu patogena i dr. Raaijmakers *et al.* (2002) navode 6 klasa antibiotika najaktivnijih u borbi protiv bolesti korena: fenazini, floriglucinoli, pioluteorin, pirolnitrin, ciklični lipopeptidi i HCN. Model delovanja ovih sekundarnih metabolita je delimično poznat. Fenazini koji su analozi flavinskih koenzima inhibiraju transport elektrona. U prisustvu feripiohelina, fenazini katalizuju formiranje hidroksil radikala koji oštećuju lipide i druge makromolekule. Redukovani fenazin-1-karboksamid može otpustiti Fe^{2+} jone iz nerastvorljivog $\text{Fe}^{3+}(\text{OH})^3$ pri neutralnoj pH, čime doprinose mobilizaciji gvožđa u zemljištu. 2,4-diacetilfloriglucinol je najpoznatije jedinjenje iz grupe floriglucinola koje oštećuje membrane *Pythium* spp. i delimično inhibira zoospore ove oomicete (de Souza *et al.*, 2003). Pri većim koncentracijama 2,4-diacetilfloriglucinol je fitotoksičan (Keel *et al.*, 1992). Pirolnitrin je inhibitor respiratornog lanca gljiva i njegovi sintetički analozi primenjuju se kao fungicidi u poljoprivredi (Ligon *et al.*, 2000). Ciklični lipopeptidi, u koje spadaju biološki aktivne materije kao i toksini fitopatogenih pseudomonada, imaju sposobnost da se umetnu u membrane i naruše njihove funkcije što rezultira različitim antibakterijskim i antifungalnim aktivnostima. Poslednjih godina, istraživanja sekundarnih metabolita koje sintetisju PGPR fokusirana su na pioluteorin (PLT), pirolnitrin (PRN), fenazin-1-karboksilnu kiselinu (PCA), 2,4 – diacetilfloriglucinol (DAPG), oligomicin A, oomicin A (Whipps, 2001).

Pojedine rizobakterije, pogotovu fluorescentne pseudomonade, veoma su uključene u suzbijanje brojnih biljnih patogena putem sinteze antibiotika i drugih sekundarnih metabolita (Picard *et al.*, 2008). *Pseudomonas fluorescens* proizvodi više vrsta sekundarnih metabolita, naročito antibiotike pioluteorin i DAPG. Sojevi koji proizvode DAPG obezbeđuju dobru zaštitu protiv truleži pšenice koju izaziva *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* i crne truleži korena duvana koju izaziva *Thielaviopsis basicola* (Keel *et al.*, 1992).

2.3.3.3. Produkcija siderofora

PGPR ograničavaju pristupačnost gvožđa i na taj način štite biljke od patogena. Gvožđe je neophodan element za odvijanje mnogih bioloških procesa kao što su disanje i sinteza DNK. Iako je veoma prisutan element u zemljištu, odlikuje ga slaba pristupačnost jer se u aerobnim uslovima nalazi u obliku Fe^{3+} jona i akumulira u vidu oksida i hidroksida (minerali koji su odgovorni za crvenu i žutu boju zemljišta). Siderofore su mala, visokoafinitetna Fe^{3+} -helatna jedinjenja (helati – složena hemijska jedinjenja u kojima su atomi metala uhvaćeni u klešta elektronegativnih atoma vezanih za jedan organski radikal) koja proizvode mikroorganizmi kao što su bakterije i gljive, ali i neke biljke (Slika 5).



Slika 5. Usvajanje siderofora (Stintzi *et al.*, 2000)

Mikroorganizmi reaguju na nedostatak pristupačnog gvožđa aktiviranjem gena koji su uključeni u produkciju siderofora i odgovarajućih proteina koji su neophodni za njihovo usvajanje. Kada siderofora dospe u ekstracelularno okruženje ona uzrokuje otpuštanje jona gvožđa iz njegovih nepristupačnih formi koje potom vezuje formirajući Fe^{3+} - siderofora kompleks. Ovaj kompleks zatim biva prepoznat i transportovan u ćeliju zahvaljujući specifičnim membranskim receptorima gde obično dolazi do redukcije u Fe^{2+} - kompleks i oslobađanja jona, naročito ako su ligandi slabiji (Castignetti and Smarrelli, 1986).

Siderofore se obično klasifikuju po ligandima koji se koriste da heliraju jon gvožđa. Najviše siderofora pripada grupi kateholata (fenolata), hidroksamata i karboksilata (derivati limunske kiseline). Limunska kiselina se takođe može ponašati kao siderofora. Velika raznovrsnost siderofora verovatno je rezultat evolutivnog pritiska na mikrobe da produkuju strukturalno različite siderofore koje ne mogu biti transportovane specifičnim aktivnim transportnim sistemima drugih mikroorganizama. Primeri siderofora produkovanih od različitih bakterija i gljiva su brojni: ferihrom (*Ustilago sphaerogena*), deferoksamin (*Streptomyces pilosus*, *Streptomyces coelicolor*), fuzarinin (*Fusarium roseum*), ornibaktin (*Burkholderia cepacia*), enterobaktin (*Escherichia coli*), bacilibaktin (*Bacillus subtilis*), azotobaktin (*Azotobacter vinelandii*), pioverdin (*Pseudomonas aeruginosa*) i dr.

Kloepper *et al.* (1980) utvrdili su da PGPR među kojima su bili i predstavnici roda *Pseudomonas*, dovode do povećanja prinosa kod krompira, šećerne repe i rotkvice koji je za 44% veći u poređenju sa kontrolom. Potom je utvrđeno da *Pseudomonas* produkuje siderofore poznate pod nazivom pseudobaktin i da dolazi do kompeticije za Fe^{3+} jon između PGPR i štetnih mikroorganizama za biljku. Kulture *Pseudomonas*, kao i prečišćene siderofore koje produkuju, ispoljile su dobru antifungalnu aktivnost prema patogenim gljivama - *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. oryzae*, *Fusarium oxysporum* i *Sclerotium rolfsii* (Manwar *et al.*, 2004).

Pozitivna autoregulacija biosinteze siderofora i antibiotika njihova je zajednička karakteristika na transkripcionom nivou. Tako je utvrđeno da piohelin (Phl) i pioluteorin (Plt) pozitivno kotrolišu ekspresiju gena koji su uključeni u njihovu biosintezu putem transkripcionih regulatora PhlF i PltR kod *P. fluorescens* (Brodhagen *et al.*, 2004). Prednost pozitivne autoregulacije kod bakterija ogleda se u intenziviranju sinteze ekstracelularnih metabolita pri većoj gustini njihove populacije, odnosno u neradom angažovanju osnovnih ćelijskih resursa za potrebe sekundarnog metabolizma u slučaju smanjenja njihove populacije.

2.3.3.4. Produkcija cijanida (HCN)

HCN kao sekundarni metabolit mnogih PGP bakterija inhibira sintezu ATP-a. HCN prvo inhibira transport elektrona što remeti snabdevanje ćelije energijom i vodi do smrti patogenih mikroorganizama. Cijanovodonična kiselina inhibira normalno funkcionisanje enzima i prirodnih receptora reverzibilnog mehanizma inhibicije (Corbett, 1974). Takođe je poznato da inhibira funkcionisanje citohrom oksidaze (Gehring *et al.*, 1993). Mikroorganizmi koji proizvode HCN inhibiraju citohrom oksidazu mnogih organizama, a sami poseduju cijanid rezistentnu citohrom oksidazu. Usled ove inhibicije, elektroni otpušteni oksidacijom NADH u mitohondrijama moraju da isprate alternativni cijanid rezistentni respiratorni put do kiseonika što zahteva potrošnju energije koja bi se inače iskoristila za fosforilaciju ADP. Cijanidi se sintetišu direktno iz glicina, prolina ili iz cijanogenih glikozida koji su prisutni u korenskim izlučevinama. Istraživanja su pokazala da sinteza HCN kod izolata *Pseudomonas* spp. zavisi od dostupnosti Fe³⁺ jona u zemljištu. Povećan sadržaj gvožđa kao i učestalost određenih useva stimulišu sintezu izvesnih toksičnih metabolita, uključujući i HCN. Utvrđeno je da su mutanti *Pseudomonas fluorescens* koji proizvode HCN u manjim količinama i manje efikasni u kontroli truleži pšenice i crne truleži korena duvana (Voisard, 1989).

Pessi and Haas (2000) utvrdili su da niske koncentracije kiseonika predstavljaju preduslov za aktivnost ANR transkripcionog faktora koji pozitivno reguliše biosintezu HCN. Istraživanja Ramettee *et al.* (2003) pokazala su da je HCN antimikrobijalno jedinjenje uključeno u biokontrolu širokog spektra bolesti korena mnogih biljaka koje žive u asocijaciji sa fluorescentnim pseudomonasima, kao i da je enzim HCN sintaza kodiran sa tri gena (*benA*, *benB* i *benC*).

2.3.3.5. Sintaza litičkih enzima

Pojedine PGP bakterije odlikuje i sinteza litičkih enzima kao što su hitinaze, β -1,3-glukanaze, proteaze i lipaze koji razgrađuju ćelije patogena. Hitinaze razlažu hitin, polisaharid ćelijskih zidova gljiva, lišajeva, bakterija, ali i insekata. Mnoga istraživanja pokazala su da hitin ili hitozan (dobijen delimičnom deacetilacijom hitina) primenjeni zajedno sa PGPR uključenim u biokontrolu poboljšavaju efikasnost ovih organizama. Manjula and Podile (2001) utvrdili su

da je *Bacillus subtilis* efikasniji u kontroli *Aspergillus niger* i *Fusarium udum* kada se primenjuje sa hitinom ili materijama koje sadrže hitin. Hitin verovatno indukuje hitinolitičke enzime koje sintetišu sojevi *Pseudomonas* spp. i *Trichoderma* spp. i koji mogu da oštete ćelijski zid gljiva (Harman *et al.*, 2004). β -1,3-glukanaze razlažu glukane koji čine osnovu strukture ćelijskog zida bakterija, plesni, algi, gljiva i žitarica. Frindlender *et al.* (1993) utvrdili su da primena *Pseudomonas cepacia* smanjuje učestalost bolesti koje izazivaju *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* i *Pythium ultimum* za 85, 48 i 71%, zahvaljujući sintezi β -1,3-glukanaze.

2.4. Efekat i značaj primene PGPR kod kukuruza

Kukuruz (*Zea mays* L.) je jedna od najznačajnijih ratarskih biljaka u svetu. Velika fenotipska i genetička varijabilnost omogućila je da se kukuruz danas gaji na gotovo svim kontinentima. U svetu u 2010. godini kukuruz se proizvodio na površini od skoro 162 miliona ha i zauzimao je drugo mesto po ukupnoj proizvodnji (<http://faostat.fao.org>). Prema Jocković i sar. (2006) u Srbiji se ova kultura prosečno gaji na oko 1,2 – 1,4 miliona ha zemljišta, sa ukupnom proizvodnjom zrna između 4 i 7 miliona tona godišnje.

Rezultati testiranja hibrida na mnogobrojnim lokalitetima ukazuju na visoki genetski potencijal kukuruza za rodnost (Jeličić i sar., 2005; Jocković i sar., 2007). Za postizanje visokih prinosa, pored genetskog potencijala značajnu ulogu ima primena odgovarajućih agrotehničkih mera, sa naglaskom na primeni đubriva.

Kukuruz spada u grupu gajenih biljaka sa najvećom produkcijom organske materije po jedinici površine, pa je otuda za formiranje visokih prinosa neophodno obezbediti i odgovarajuću količinu hraniva. Od toga u kojoj je meri zemljište obezbeđeno pristupačnim hranivima i u kom stepenu su biljke efikasne u usvajanju i iskorišćavanju mineralnih materija zavisi njihovo rastenje i razviće, kao i formiranje ukupne organske materije, a samim tim i prinosa (Li *et al.*, 2007).

U ishrani svih gajenih biljnih vrsta pa i kukuruza, poseban značaj se pridaje azotu i fosforu koji se dodaju u vidu mineralnih i organskih đubriva. Nedostatak azota se javlja pri gajenju kukuruza na siromašnim zemljištima, posle loših preduseva, pri unošenju malih količina azotnih đubriva i u slučaju preterane vlažnosti ili preterane zbijenosti zemljišta. Veliki deo rastvorljivih neorganskih fosfata iz mineralnih đubriva fiksira se u zemljištu ubrzo nakon

primene u obliku nerastvorljivih jedinjenja Ca, Al i Fe. Pošto se fosfor najvećim delom nakuplja u plodu, izneta količina fosfora iz zemljišta većim delom se i odnosi sa parcele, o čemu treba voditi računa pri planiranju doze fosfora. Primenom PGPR mogle bi se smanjiti i izvesne količine azotnih i fosfornih mineralnih đubriva i na taj način povećati ekonomičnost proizvodnje kukuruza. Pored toga povećala bi se i biogenost zemljišta i proizveo ekološki i zdravstveno ispravniji proizvod.

U proizvodnji kukuruza, kao i ostalih biljnih vrsta jedan od važnih zadataka je očuvanje i povećanje nivoa organske materije u zemljištu. Njegov značaj posebno dolazi do izražaja u današnje vreme jer brojni rezultati ispitivanja plodnosti zemljišta ukazuju na zabrinjavajući udeo zemljišta sa manje od 2% humusa (Sekulić i sar., 2003). Mikroorganizmi omogućavaju odvijanje procesa humifikacije i dehumifikacije i zauzimaju centralno mesto u kruženju neophodnih hranljivih makro- i mikroelemenata, te učestvuju u stvaranju plodnosti zemljišta, kako potencijalne tako i efektivne.

Klimatske promene i očekivana varijabilnost klimatskih parametara predstavljaju ozbiljan izazov za proizvodnju kukuruza i poljoprivredu uopšte, jer se na globalnom nivou očekuje porast temperature vazduha, promena količine i rasporeda padavina, povećanje varijabilnosti klimatskih parametara i pojava ekstremnih klimatskih događaja. Kao dve najznačajnije mere adaptacije predlažu se prilagođavanje tehnologije proizvodnje i oplemenjivanje biljaka na tolerantnost prema izmenjenim uslovima spoljašnje sredine (Bekavac i sar. 2010). Mikroorganizmi mogu imati značajnu ulogu u strategijama adaptacija i povećanju tolerantnosti poljoprivrednih biljnih vrsta na abiotičke stresove. Najveći uticaj ublažavanja abiotičkih stresova na biljku (osmotski stres, niske temperature i visoke temperature, toksičnost metala) PGPR ispoljavaju produkcijom egzopolisaharida i formiranjem biofilma. Nadalje, rizobakterije ublažavaju uticaj suše na biljke indukovanim sistemom tolerancije (IST): produkcijom bakterijskog citokinina, produkcijom antioksidanata i degradacijom prekursora etilena bakterijskom ACC deaminazom (Milošević i sar., 2012).

U proizvodnji kukuruza različite bolesti svake godine značajno smanjuju prinos ovog useva. Pojava bolesti uslovljena je pre svega vremenskim uslovima. Kukuruz je izložen napadu mnogobrojnih parazitskih vrsta, ali su za Srbiju od ekonomskog značaja pegavost lista (*Helminthosporium turcicum* Pass.), trulež stabla (*Fusarium* spp.) i virus mozaične kržljivosti kukuruza (MDMV). Ekološki prihvatljiv metod kontrole bolesti bilja u poljoprivredi obuhvata

primenu rizosfernih mikroorganizama koji produkuju antibiotike, siderofore i različite litičke enzime i rezultira u smanjenoj upotrebi pesticida, očuvanju plodnosti zemljišta i dobijanju zdravstveno ispravnijeg proizvoda.

2.4.1. Brojnost i diverzitet mikroorganizama u rizosferi kukuruza

Svojim korenskim izlučevinama kukuruz može značajno da utiče na sastav i brojnost mikroorganizama u rizosferi. Kukuruz stimuliše razvoj velikog broja mikroorganizama i to: amonifikatora, odnosno proteolitičkih bakterija, celulolitičkih bakterija, gljiva i azotobaktera. Najveći je broj amonifikatora, zatim celulolitičkih bakterija, nešto manji gljiva i najmanji azotobaktera. U rizosferi kukuruza dominiraju asporogene bakterije. Broj mikroorganizama se smanjuje ukoliko je zona udaljenija od korena biljke. Dinamika ispitivanih grupa mikroorganizama u pojedinim zonama ukazuje na postojanje specifičnih odnosa između mikroorganizama različitih grupa, kako u istoj zoni tako i između različitih zona (zona korena, rizosfera, zemljište). U istraživanjima Kandeler *et al.* (2002) utvrđeno je da sastav i funkcionalni diverzitet populacije bakterija u rizosferi variraju pod uticajem izlučevina korena kukuruza. Molekularne tehnike (PCR-DGGE, 16S rDNK) ukazale su da postoje dve različite populacije bakterija, jedna u zoni do 2 mm i druga u zoni od 2,5 do 5 mm od korena biljke. Takođe, najveća aktivnost enzima koji učestvuju u ciklusu kruženja C, N, P i S zabeležena je u neposrednoj blizini korena (0,2 do 0,8 mm).

U istraživanjima Ikeda *et al.* (2013) utvrđeno je da su predstavnici rodova *Pantoea*, *Bacillus*, *Burkholderia* i *Klebsiella* najzasupljeniji endofiti, kao i da postoje kvalitativne razlike u kolonizaciji različitih genotipova kukuruza. Najveću brojnost *Klebsiella* i *Burkholderia* sojeva zabeležili su i Arruda *et al.* (2013), izolacijom bakterija iz rizosfere i korena kukuruza gajenog u poljskim uslovima.

Liu *et al.* (2013) proučavali su diverzitet i dinamiku populacije endofitnih bakterija kod dve linije kukuruza i utvrdili varijacije u različitim fazama razvoja semena (početna faza razvoja semena, faza mlečne zrelosti, faza voštane zrelosti). Kod obe linije više tipova endofitnih bakterija pronađeno je u početnoj fazi razvoja semena. *Undibacterium* je najzastupljeniji rod (39,20 i 30,00%) u prvoj fazi formiranja semena kod obe linije, dok su u drugim fazama najdominantniji rodovi *Burkholderia* (78,26 i 84,80%) i *Pantoea* (9,42 i 4,80%).

Brojna istraživanja pokazala su da kukuruz stimuliše različite azotofiksatore u rizosferi i da su najzastupljeniji diazotrofi iz familija *Azotobacteraceae* i *Enterobacteraceae*, kao i da nitrogenazna aktivnost varira u zavisnosti od genotipa (Ela *et al.*, 1982). Roesch *et al.* (2008) ispitivali su diverzitet diazotrofa u rizosfernom zemljištu, korenu i stablu kukuruza gajenog u poljskim uslovima i utvrdili da najveći diverzitet diazotrofa karakteriše rizosferno zemljište. Dva roda, *Azospirillum* i *Azotobacter*, nađeni su u svim ispitivanim uzorcima, dok su drugi zabeleženi rodovi uglavnom nađeni u zemljištu (*Methylocystis*, *Beijerinckia*, *Geobacter*, *Rhodovulum*, *Methylobacterium*, *Gluconacetobacter*, *Methylocella* i *Delftia*), korenu (*Dechloromonas*) ili stablu (*Methylosinus*, *Raoultella* i *Rhizobium*). Tri roda, *Herbaspirillum*, *Ideonella* i *Klebsiella* bili su zastupljeniji u biljci u odnosu na rizosferno zemljište.

Rosenblueth and Martínez-Romero (2004) uvrđili su da je *Rhizobium etli* izolovan iz rizosfere, korena i stabla kukuruza gajenog u plodosmeni sa pasuljem, kompetitivniji u kolonizaciji korena kukuruza u poređenju sa sojevima izolovanim iz rizosfere ili nodula pasulja.

Fosfofikatori su takođe veoma zastupljeni u rizosferi kukuruza predstavnicima rodova *Arthrobacter*, *Brevibacterium*, *Pseudomonas* i *Bacillus*.

Novija istraživanja baziraju se na primeni različitih molekularnih tehnika radi proučavanja diverziteta bakterija u asocijaciji sa različitim genotipovima kukuruza, naročito u poljskim uslovima. Značajne varijacije brojnosti i diverziteta bakterija između okolnog i rizosfernog zemljišta, zatim između genotipova kukuruza gajenog na različitim poljima istog tipa zemljišta i uslova gajenja, ali i genotipova kukuruza gajenog u okviru istog polja, ukazuju na potrebu za proširenjem saznanja o interakcijama biljka-mikroorganizmi-zemljište radi primene ovih saznanja u oplemenjivanju biljaka (Pieffer *et al.*, 2013).

2.4.2. Pregled istraživanja efekta primene PGPR kod kukuruza u Srbiji

U Srbiji se problematikom PGPR kod kukuruza bavilo više autora. Ispitivanjem efektivnosti i zastupljenosti većeg broja sojeva *Azotobacter chroococcum* kod različitih hibrida kukuruza ustanovljeno je da su primenjeni sojevi ispoljili različit efekat prema hibridima kukuruza, što ukazuje na postojanje specifičnog odnosa između *Azotobacter*-a i hibrida (Govedarica, 1992). U radu Raičević (1996) utvrđeno je da su ispitivani sojevi *Azotobacter*-a uticali na povećanje mase suve materije mladih biljaka kukuruza od 6 - 36%. Ispitivanjem

efektivnosti *Azotobacter chroococcum* i *Bacillus megatherium* i njihovih kombinacija kod dva hibrida kukuruza Govedarica i sar. (2001) zabeležili su povećanje prinosa, kao i povećanje ukupnog broja mikroorganizama, brojnosti amonifikatora, aktinomiceta, azotobaktera, oligonitrofilnih bakterija, dehidrogenazne aktivnosti, a smanjenja brojnosti gljiva.

Đorđević i sar. (2000) su utvrdili da inokulacija kukuruza rizobakterijama *Bacillus*, *Micrococcus*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas* i *Flavobacterium*, čije kulture odlikuje aktivnost kisele, neutralne i alkalne fosfomonoesteraze, u laboratorijskim uslovima dovodi do povećanja dužine biljke, mase suve materije i sadržaja ukupnog fosfora u biljci kukuruza, kao i do povećanja ukupnog broja bakterija, biomase ugljenika i fosfora i aktivnosti alkalne fosfataze. Hajnal i sar. (2001) ukazali su na mogućnost selekcije *Azotobacter chroococcum* i *Bacillus megatherium* na nivou genotipa biljke u cilju odabira najefektivnijih sojeva za svaki hibrid kukuruza.

Cvijanović i sar. (2007) pokazali su da bakterizacijom semena kukuruza sa *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum lipoferum*, *Klebsiella planticola*, *Beijerinckia derxi* dolazi do povećanja ukupnog broja mikroorganizama, broja azotobaktera, aktivnosti dehidrogenaze, prinosa i sadržaja ukupnog azota. Bjelić i sar. (2010) utvrdili su povećanje visine i težine mladih biljaka kukuruza u odnosu na kontrolu i dobili najbolji efekat sa smešom sojeva *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*. U istraživanjima Jarak i sar. (2011) primena *A. chroococcum* uticala je na povećanje prinosa kod tri ispitivana hibrida kukuruza, kao i na povećanje ukupnog broja mikroorganizama i broja azotobaktera, a smanjenje broja gljiva u rizosferi.

Ispitivanjem efekta tri različite koncentracije azotobaktera na mikrobiološku aktivnost u rizosferi i prinos zrna hibrida kukuruza gajenih u sistemu organske proizvodnje Hajnal i sar. (2012) su utvrdili da primena azotobaktera nije značajno uticala na povećanje brojnosti azotobaktera i aminoheterotrofa, ali je uslovlila povećanje aktivnosti dehidrogenaze i prinosa kod tri od četiri ispitivana hibrida. Jarak i sar. (2012) ispitivali su uticaj *Pseudomonas* sp. Q4b, *Bacillus* sp. Q5a i *Azotobacter chroococcum* na populaciju PGPR u rizosferi, rast i prinos kukuruza i utvrdili da je najbolji efekat postignut koinokulacijom, dok je u slučaju pojedinačnih inokulanata bolji efekat ostvaren sa *Pseudomonas*-om i *Azotobacter*-om.

Ovi rezultati su pokazali da se primenom PGPR mogu postići pozitivni efekti u proizvodnji kukuruza. Zbog toga je veoma značajno da se vrše dalja ispitivanja izolata poreklom iz rizosfere kukuruza, kao i selekcija PGPR sa korisnim svojstvima u cilju povećanja efikasnosti njihove primene u poljskim uslovima.

3. RADNA HIPOTEZA

Uvođenjem mikrobioloških preparata u proizvodnju ratarskih biljaka omogućava se bolje snabdevanje biljke hranivima, stimulacija rasta kao i zaštita biljke od fitopatogenih mikroorganizama. Zamena određene količine mineralnih đubriva i pesticida biofertilizatorima, biostimulatorima i biopesticidima koji sadrže visoko efektivne proizvodne sojeve PGP mikroorganizama, osim povoljnog ekonomskog i ekološkog efekta ima pozitivan uticaj na stabilnost i kvalitet prinosa i zdravstvenu bezbednost hrane.

Efekat inokulacije zavisi od soja PGPM i koncentracije ćelija u inokulantu, biljne vrste, primenjenih agrotehničkih mera i fizičko-hemijskih svojstava zemljišta. Takođe, važan preduslov da bi se mikroorganizmi smatrali pravim PGPM je njihova sposobnost da kolonizuju koren kao i sposobnost preživljavanja unetih mikroorganizama u rizosferi biljke.

Rezultati dosadašnjih istraživanja ukazuju na opravdanost primene ovih preparata kod mnogih ratarskih i povrtarskih vrsta, naročito leguminoznih biljaka, te se pretpostavlja da se PGPM mogu uspešno koristiti i u proizvodnji kukuruza i drugih neleguminoza.

Značajne varijacije brojnosti i diverziteta mikroorganizama između okolnog i rizosfernog zemljišta, kao i između genotipova ukazuju na potrebu za izolacijom što većeg broja mikroorganizama iz rizosfere kukuruza, njihovom karakterizacijom u cilju odabira izolata sa PGP svojstvima i ispitivanjem efikasnosti PGPM izolata na poboljšanje rasta biljke.

U ovom radu pošlo se od pretpostavke da će odabrane vrste izolata, pojedinačno ili u smeši, imati uticaj na mikrobiološku aktivnost u rizosferi ispitivanih hibrida kukuruza. Očekuje se da će bakterizacija semena kukuruza ispoljiti pozitivne efekte na početni rast i razvoj biljke, sadržaj pojedinih hranljivih elemenata u biljnom materijalu, kao i na prinos kukuruza.

Rezultati ovih istraživanja treba da posluže kao osnova za dalja istraživanja koja će omogućiti odabir visoko kompatibilne zajednice ispitivanih hibrida kukuruza i najefektivnijih vrsta PGPM u cilju proizvodnje i primene mikrobiološkog preparata kojim bi se ostvario veći prinos i omogućilo održavanje i povećanje plodnosti zemljišta.

4. CILJ ISTRAŽIVANJA

Aktuelna saznanja o propratnim negativnim efektima primene đubriva i pesticida povećala su interes za bolje razumevanje kooperativnih aktivnosti mikrobiološke populacije u rizosferi i načina njihove primene u poljoprivredi. Preparati koji sadrže korisne mikroorganizme imaju realne i pozitivne efekte ukoliko se korektno primenjuju, na određenu biljnu vrstu i u određenim uslovima.

Cilj ovih istraživanja je karakterizacija bakterija izolovanih iz rizosfere kukuruza, inokulacija semena kukuruza odabranim izolatima, ispitivanje efektivnosti primene pojedinačnih i združenih kultura izolata na mikrobiološku aktivnost u rizosfernom zemljištu, kao i na početni rast i razvoj biljke, sadržaj pojedinih hranljivih elemenata u biljnom materijalu i prinos kukuruza.

5. MATERIJAL I METODE

Istraživanja su izvedena u sledećim fazama:

- Prva faza istraživanja obuhvatila je izolaciju bakterija iz rizosfere kukuruza i dobijanje čistih kultura.
- U drugoj fazi ispitivanja izvršena je morfološka, biohemijska i PGP karakterizacija izolata.
- U trećoj fazi istraživanja izvršena je hemijska i mikrobiološka analiza zemljišta pre postavljanja ogleada.
- Četvrta faza obuhvatila je inokulaciju semena kukuruza odabranim izolatima, setvu i gajenje biljaka.
- U petoj fazi ispitivanja određen je efekat inokulanata preko broja mikroorganizama i enzimske aktivnosti u rizosfernom zemljištu.
- Šesta faza obuhvatila je određivanje efekta inokulanata preko parametara rasta, sadržaja pojedinih elemenata u biljnom materijalu i prinosa kukuruza.

5.1. Izolacija bakterija iz rizosfere kukuruza i dobijanje čistih kultura

Bakterije korišćene u ovim istraživanjima izolovane su iz rizosfernog zemljišta hibrida kukuruza NS 6010 gajenog na zemljištu tipa karbonatni černoziem (pH 8.42, ukupan sadržaj azota 0,152%, sadržaj kalcijum karbonata 5,04%, humusa 2,05%, lakopristupačnog kalijuma 17,3 mg/100g i fosfora 12,8 mg/100g) na ogleadnom polju Rimski Šančevi Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu.

Svi sojevi izolovani su na odgovarajućim podlogama; 13 bakterija roda *Azotobacter* (Azb1 do Azb13) na Fjodorovoj podlozi, 16 bakterija roda *Bacillus* (Bac1 do Bac16) na hranljivom agaru (Torlak, Srbija), 15 bakterija roda *Pseudomonas* (Pse1 do Pse15) na King B podlozi i 6 bakterija roda *Streptomyces* (Act1 do Act6) na sintetičkoj podlozi po Krasiljnikovu.

Čiste kulture izdvojene su metodama razređenja i iscrpljivanja, nakon čega je izvršena morfološka i biohemijska karakterizacija izolata (Jarak i Đurić, 2004). Izolati su gajeni i čuvani

u odgovarajućim tečnim hranljivim podlogama na optimalnoj temperaturi od 28°C i uz obrtaje od 150 o/min (na šejkeru Edmund Buhler SM 30-B).

Određivanjem većeg broja morfoloških, fizioloških i biohemijskih svojstava izvršena je determinacija izolata po sistemu klasifikacije "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology" (2005).

5.2. Karakterizacija izolata

5.2.1. Morfološka karakterizacija izolata

Za ispitivanje morfoloških osobina ćelija određivan je: oblik, pokretljivost, bojenje po Gramu i prisustvo endospora. Za opis kolonije određivane su: oblik, površina, ivica, položaj, boja (Jarak i Đurić, 2004).

5.2.2 Fiziološka karakterizacija izolata

Od fizioloških osobina određen je odnos izolata prema izvoru ugljenika, tolerantnost sojeva prema reakciji sredine, koncentraciji NaCl, antibioticima, teškim metalima i pesticidima.

Za određivanje izvora ugljenika korišćena je Hugh-Leifson-ova podloga (pepton 2 g l⁻¹, K₂HPO₄ 0,3 g l⁻¹, NaCl 5 g l⁻¹, brom-timol plavo (1% rastvor) 3 ml l⁻¹, agar 3 g l⁻¹) (Hugh and Leifson, 1953). Ovako pripremljenom glavnom rastvoru dodat je rastvor šećera (glukoza, galaktoza, fruktoza, saharoza, laktoza i manitol - 10 g u 60 ml dH₂O). Rastvori su sterilisani zasebno, a zatim razliveni u sterilne epruvete. Izolati su zasejani ubodom, a pozitivna reakcija očitana je promenom boje iz zelenkaste u žutu. Zelena boja ukazuje na negativnu reakciju i pored vidljivog rasta.

Ispitivanje uticaja reakcije sredine odnosno rast izolata na podlogama različite pH vrednosti praćeno je na odgovarajućim hranljivim podlogama: *Azotobacter* na Fjodorovoj podlozi, *Bacillus* na hranljivom agaru, *Pseudomonas* na King B agaru i aktinomicete na sintetičkoj podlozi po Krasiljnikovu sa dodatkom 1 M HCl i 1 M NaOH do postizanja željenih pH vrednosti (pH 4.0, 5.5, 7.5, 9.0). Sposobnost izolata da tolerišu različite koncentracije soli ispitana je na podlogama sa različitim koncentracijama 1 M NaCl (0%, 7%, 15%). Nakon

inkubacije u trajanju od 2 dana za bakterije iz rodova *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* i 5 dana za bakterije iz roda *Streptomyces* na temperaturi 28°C potpuno odsustvo rasta obeleženo je sa (-), slabiji rast sa (\pm), normalan sa (+) i obilan rast sa (++) .

Inicijalni inokulumi za ispitivanje tolerantnosti sojeva prema pesticidima, teškim metalima i antibioticima, gajeni su u Erlenmayer tikvicama sa 100 ml odgovarajuće tečne podloge na optimalnoj temperaturi od 28°C i uz obrtaje od 150 o/min. Određivanje direktnog uticaja pesticida, teških metala i antibiotika na čistu kulturu bakterija izvršeno je difuzionom metodom. Po 1ml inicijalnog inokuluma svakog izolata zasejano je po celoj površini razlivenne podloge u petri kutijama na čiju su površinu potom postavljeni diskovi prečnika 10 mm natopljeni različitim koncentracijama pesticida i teških metala, u tri ponavljanja.

Za testiranje uticaja pesticida korišćene su tri vrste pesticida (metribuzin 0,5-1 kg ha⁻¹, oksiflurfen 1-1,25 l ha⁻¹, bantazon 3-4 l ha⁻¹) primenjene u tri koncentracije (preporučena, 10 i 100 puta veća od preporučene) i kontrola natopljena sterilnom vodom.

Tolerantnost prema teškim metalima ispitana je natapanjem diskova u rastvore sledećih metala: kadmijum (CdCl₂), mangan (MnCl₂x4H₂O) i olovo (PbCl₂), u različitim koncentracijama: 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³ (mol/dm³).

Za određivanje rezistentnosti prema antibioticima korišćeni su gotovi diskovi sa sledećim antibioticima : ampicilin (10 µg, 25 µg), neomicin (10 µg, 30 µg), erithromicin (5 µg, 15 µg), streptomycin (10 µg, 300 µg), hloramfenikol (10 µg) i kanamicin (30 µg) (Biological LTD, Engleska).

Nakon inkubacije inhibitorni uticaj je konstatovan na osnovu pojave prozračnih zona oko diskova (Jarak i Đurić, 2004). Veličina zone inhibicije zavisi od osetljivosti izolata prema antibiotiku, teškom metalu ili pesticidu. Potpuno odsustvo rasta u slučaju izuzetne osetljivosti izolata na ispitivane supstance obeleženo je sa (-), slabiji rast sa (\pm), dok je normalan rast označen sa (+).

5.2.3. Biohemijska karakterizacija izolata

Od biohemijskih osobina ispitivane su: aktivnost želatinaze, lipaze, lecitinaze, amilaze, pektinaze, celulaze, ureaze, katalaze, sposobnost korišćenja citrata, redukcije nitrata, stvaranje

vodonik-sulfida i amonijaka. Kod izolata roda *Pseudomonas* ispitana je i sposobnost produkcije pigmenta fluorescina.

Ispitivanje sposobnosti bakterija da hidrolizuju želatin vršeno je u hranljivoj tečnoj podlozi (NB) sa dodatkom 12% želatina (mesni ekstrakt 3 g l⁻¹, pepton 5 g l⁻¹, želatin 120 g l⁻¹) (Kohn, 1953). Nakon sterilizacije epruvete su postavljene uspravno da se dobije duboki želatinozni agar, a zasejavanje je izvršeno ubodom. Nakon inkubacije u trajanju od najmanje sedam dana na temperaturi 22-23°C produkcija želatinaze potvrđena je ukoliko nije došlo do stezanja želatina nakon 30 minuta hlađenja u frižideru na temperaturi 4°C (Govedarica i Jarak, 1997).

Lipolitička aktivnost određena je u osnovnom medijumu (pepton 10 g l⁻¹, NaCl 5 g l⁻¹, CaCl₂·xH₂O 0,1 g l⁻¹, agar 9 g l⁻¹) sa dodatkom Tween 80 (1% w/v). Pozitivna reakcija očitana je nakon 7 dana inkubacije na 28°C formiranjem tamnih i neprozirnih zona oko kolonija (Lanyi, 1987). Lipolitička aktivnost potvrđena je i pojavom plavo-zelenih zona oko kolonija nakon preliivanja zasejanog medijuma zasićenim rastvorom CuSO₄ i sušenja na 37 °C u trajanju od 20 minuta koje ukazuju na oslobađanje masnih kiselina (Cowan, 1974).

Dokazivanje lecitinaze (fosfolipaze) izvršeno je zasejavanjem bakterija na osnovnu podlogu (tripton 5 g l⁻¹, ekstrakt kvasca 2,5 g l⁻¹, glukoza 1 g l⁻¹, agar 15 g l⁻¹) sa dodatkom suspenzije žumanceta. Nakon 24 do 72h inkubacije na temperaturi 28°C pojava mutnih zona oko kolonija usled oslobađanja lipida potvrđuje sposobnost bakterija da produkuju lecitinazu.

Sposobnost bakterija da hidrolizuju skrob ispitana je na skrobnom agaru (skrob 10 g l⁻¹, mesni ekstrakt 3g⁻¹, agar 12 g⁻¹) (Zimbrow *et al.*, 2009). Nakon inkubacije u trajanju od 3 (bakterije) do 5 dana (aktinomicete) na temperaturi 28°C kolonije se preliju rastvorom lugola. Skrob se u prisustvu joda boji plavo. Pojava žutih zona oko kolonija koje vremenom postaju čiste ukazuje na hidrolizu skroba, dok kod bakterija koje ne razlažu skrob podloga ostaje ravnomerno plavo obojena.

Sposobnost izolata da produkuju pektinazu ispitana je na pektinoznom agaru (K₂HPO₄ 2 g l⁻¹, NaH₂PO₄ 1 g l⁻¹, MgSO₄ · xH₂O 0,5 g l⁻¹, NH₄NO₃ 2 g l⁻¹, ekstrakt kvasca 1g l⁻¹, pektin 10 g l⁻¹, agar 16 g l⁻¹). Bakterije su zasejane ubodom i nakon 48h inkubacije na 28°C prelivene sa 2M HCl. Pojava prozračnih zona oko kolonija označava pozitivnu reakciju (Cattelan *et al.*, 1999).

Za određivanje sposobnosti bakterija da produkuju celulazu koristi se CMC agar (karboksil-metil celuloza $0,5 \text{ g}^{-1}$, NaNO_3 $0,1 \text{ g}^{-1}$, K_2HPO_4 $0,1 \text{ g}^{-1}$, KCl $0,1 \text{ g}^{-1}$, MgSO_4 $0,05 \text{ g}^{-1}$, kvašćev ekstrakt $0,05 \text{ g}^{-1}$, glukoza $0,1 \text{ g}^{-1}$, agar 7 g^{-1}) (Kasing, 1995). Nakon 8 dana inkubacije na temperaturi 28°C sposobnost bakterija da hidrolizuju celulozu određena je pojavom prosvetljenih zona oko kolonije. Sposobnost da hidrolizuju celulozu potvrđena je pojavom prosvetljenih zona oko kolonija nakon dodatka $0,1\%$ rastvora Congo Red-a u 1M NaCl (Zhang *et al.*, 2009).

Sposobnost izolata da razlažu ureu ispitana je na Kristensen-ovom agaru. Period inkubacije iznosi 24 h na 28°C . Pojava crvene boje indikatora u hranljivoj podlozi dokaz je razgradnje uree (Govedarica i Jarak, 1997).

Za dokazivanje aktivnosti katalaze pravi se smeša jednakih količina $30\% \text{H}_2\text{O}_2$ i 10% Tween-a kojom se prelije kolonija. Kod pozitivne reakcije dolazi do izdvajanja mehurića usled razlaganja H_2O_2 na H_2O i O_2 čime je izbegnut toksični efekat vodonik peroksida.

Sposobnost korišćenja citrata kao izvora energije ispitana je na Simonsovom citratnom agaru ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0,2 \text{ g l}^{-1}$, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 1 g l^{-1} , K_2HPO_4 1 g l^{-1} , Na-citrat 2 g l^{-1} , NaCl 5 g l^{-1} , brom timolplavo $0,08 \text{ g l}^{-1}$, agar 15 g l^{-1}). Nakon inkubacije na temperaturi 28°C u trajanju od 48h, očitava se pozitivna reakcija na osnovu rasta i promene boje podloge iz zelene u plavu.

Sposobnost bakterija da redukuju nitrate određena je u nitratnom medijumu (Dye, 1962). 5 ml medijuma za redukciju nitrata (KNO_3 3 g l^{-1} , pepton 10 g l^{-1} , NaCl 5 g l^{-1}) razliveno je u epruvete i sterilisano u autoklavu, a zatim je izvršena inokulacija 24h starom kulturom bakterija. Nakon 5 dana inkubacije na 28°C u medijum se doda 1 ml rastvora sulfanilne kiseline ($0,8 \text{ g}$ sulfanilne kiseline u 100 ml 5 N sirćetne kiseline) i α -naftilamin reagensa ($0,5 \text{ g}$ α -naftilamina u 100 ml 5 N sirćetne kiseline). Pojava crvene boje označava pozitivnu reakciju odnosno prisustvo nitrata u medijumu, dok kod negativne reakcije promena boje izostaje.

Dokazivanje vodonik sulfida (H_2S) vrši se u SIM (Sulfide Indole Motility) medijumu (pepton 30 g l^{-1} , mesni ekstrakt 3 g l^{-1} , $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $0,2 \text{ g l}^{-1}$, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ $0,025 \text{ g l}^{-1}$, agar 3 g l^{-1}). Inokulacija je izvršena ubodom bakterija u $4\text{-}5 \text{ ml}$ sterilne podloge razliveno u epruvete koje se ostave uspravno da bi se dobio duboki agar. Pozitivna reakcija manifestuje se nakon $24\text{-}48\text{h}$ inkubacije na temperaturi $28 \pm 2^\circ\text{C}$ promenom boje podloge u crno jer oslobođeni H_2S sa jonima gvožđa gradi nerastvorljivi talog gvožđe sulfida (Harley, 2005).

Produkcija fluorescina testirana je na F agaru (*Pseudomonas* Flo agar - proteose pepton 20 g l⁻¹, bacto maltoza 10 g l⁻¹, K₂HPO₄ 1,5 g l⁻¹, MgSO₄ 0,73 g l⁻¹, glicerol 10 ml l⁻¹, agar 15 g l⁻¹). Fluorescencija je vidljiva pod kratkim UV-zracima (Difco & BBL Manual, 2nd Edition).

Produkcija piocijanina testirana je na *Pseudomonas* P agaru (bacto pepton 20 g l⁻¹, DL-alanin 2 g l⁻¹, Na-citrat 10 g l⁻¹, K₂SO₄ 8,6 g l⁻¹, KCl 1,4 g l⁻¹, MgSO₄ 1,4 g l⁻¹, glicerol 10 ml l⁻¹, agar 15 g l⁻¹). Plavo-zeleni pigment se razvija posle 6-7 dana inkubacije.

5.2.4. PGP karakterizacija izolata

PGP karakterizacija izolata obuhvatila je određivanje sposobnosti produkcije indol sirćetne kiseline (IAA), siderofora, HCN, egzopolisaharida i rastvaranja neorganskih jedinjenja fosfora (P-solubilizacija). Ispitivana je i antagonistička aktivnost izolata prema pojedinim gljivama.

Za kvantitativnu analizu produkcije indol sirćetne kiseline (IAA) 100 µl 24h stare suspenzije bakterija preneto je u 100 ml odgovarajuće tečne podloge koja sadrži 0, 250 i 500 µg ml⁻¹ L-triptofana (prekursor IAA). Nakon 24h i 48h inkubacije kod bakterija odnosno 7 i 14 dana kod aktinomiceta, suspenzija je centrifugirana 15 minuta na 5000 o/min. U 1 ml ovako dobijenog supernatanta dodaje se 2 ml Salkowski reagensa (FeCl₃-HClO₄) i očitavanje se vrši nakon 25 minuta na 530 nm pomoću UV-spektrofotometra (Gordon and Weber, 1951).

Sposobnost bakterija da produkuju siderofore određena je na CAS (Chrome-Azurol S) agaru prema protokolu Milagres *et al.* (1999). CAS agar predstavlja smešu dva rastvora koji se pripremaju i sterilišu zasebno. Prvi rastvor sadrži: 60,5 mg CAS, 50 ml H₂O, 10 ml rastvora 1M FeCl₃·6H₂O u 10 mM HCl i 40 ml vodenog rastvora HDTMA (heksadeciltrimetilamonijum) (1,82 mg ml⁻¹). Drugi rastvor sadrži: 30,24 g PIPES (1,4-piperazindietansulfonska kiselina) u 750 ml vode, 15 g agara i 12 g rastvora 50% NaOH (pH se podesi na 6,8). U petri kutije razliju se hranljive podloge koje se nakon što očvrstnu preseku na pola i polovina izbací. U praznu polovinu petri kutije razlije se CAS agar. Bakterijski inokulum zaseje se na podlogu što bliže granici sa CAS agarom. Nakon inkubacije na temperaturi 28°C u trajanju od 5 dana prati se promena boje CAS agara na liniji razdvajanja ove dve podloge. Bojenje CAS agara iz plave u narandžastu ukazuje na produkciju siderofora. CAS reakcija praćena je merenjem veličine obojene zone CAS-a počevši od granice između dva medijuma i oznaćena sa (±) < 1 mm, (+)

1–5 mm, (++) 5–15 mm, (+++) > 15 mm. Ukoliko nije došlo do produkcije siderofora boja CAS-a ostaje nepromenjena (-).

Produkcija HCN određena je na hranljivom agaru sa dodatkom glicina ($4,4 \text{ g l}^{-1}$) po modifikovanoj metodi Lorck (1948). Nakon zasejavanja suspenzije bakterija, whatman diskovi impregnirani sa 0,5% pikrinske kiseline i 2% Na_2CO_3 smešteni su na poklopac izvrnutih petri posuda koje su zatim zapečaćene parafilmom. Preokrenute petri posude inkubirane su 4 dana na 28°C , a produkcija cijanida je detektovana promenom boje diska iz žute u narandžastu, crvenu ili braon (Ayyadurai *et al.*, 2007).

Ispitivanje produkcije egzopolisaharida izvršeno je po metodi Cote and Krull (1988) i Liu *et al.* (1998). Bakterije su gajene na odgovarajućim hranljivim podlogama sa dodatkom 0,02% kalkofluor boje (Calcofluor White M2R, Sigma) tokom 7 dana da bi se uočile jasne razlike u fluorescenciji. Efekat kalkofluor fluorescencije očitao je po Reed *et al.* (1991).

Sposobnost bakterija da rastvaraju neorganske fosfate određena je na PVK (glukoza 10 g^{-1} , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ $0,5 \text{ g}^{-1}$, NaCl $0,2 \text{ g}^{-1}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0,1 \text{ g}^{-1}$, KCl $0,2 \text{ g}^{-1}$, ekstrakt kvasca $0,5 \text{ g}^{-1}$, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ $0,002 \text{ g}^{-1}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0,002 \text{ g}^{-1}$ (Pikovskaya, 1948) i NBRIP podlozi (glukoza 10 g^{-1} , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ $0,1 \text{ g}^{-1}$, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 5 g^{-1} , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0,25 \text{ g}^{-1}$, KCl $0,2 \text{ g}^{-1}$) (Nautiyal, 1999) sa dodatkom 0,5% trikalcijum fosfata $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Posle 5 dana inkubacije na 28°C fosfosolubilizacija je konstatovana na osnovu pojave prosvetljenih zona oko formiranih kolonija. Efikasnost P-solubilizacije dobijena merenjem prozračne zone označava se sa: (+) 1-4 mm, (++) 4-7 mm, (+++) 7 > mm.

Sposobnost izolata bakterija i aktinomiceta da inhibiraju rast gljiva (*Pyrenophora teres*, *Macrophomina phaseolina* i *Fusarium oxysporum*) određena je po metodi dvojnih kultura (Rosenzweig and Stotzky, 1979; Suparman *et al.* 2002). Ispitivani izolati zasejani su uz ivicu petri kutije (R = 85 mm) na PDA (krompirov dekstrozni agar) podlozi. Na suprotnoj strani, postavljeni su diskovi gljiva - 6 mm nedelju dana stare kulture na PDA podlozi. U kontrolnoj petri kutiji postavljeni su samo diskovi gljiva, takođe uz ivicu petri kutije. Testiranje antagonizma izvršeno je u tri ponavljanja. Nakon 7 dana inkubacije na 28°C izmeren je rast gljive kada je sama na PDA podlozi (radijus micelije u kontrolnoj petri kutiji), kao i rast gljive kada je konfrontirana sa kolonijom bakterije (radijus micelije u oglednoj petri kutiji).

Izračunavanje procenta inhibicije rasta patogena (Radius Growth Inhibition - RGI) izvršeno je prema formuli po Rodriguez *et al.* (2000):

$$\text{RGI (\%)} = [(r_1 - r_2) / r_1] \times 100$$

r_1 – radijus micelije gljive u kontrolnoj petri kutiji; r_2 – radijus micelije gljive u dvojnoj kulturi.

5.3. Hemijska i mikrobiološka analiza zemljišta pre setve

Uzorci zemljišta za hemijsku i mikrobiološku analizu uzeti su pre postavljanja eksperimenta u ogledu na oglednom polju Rimski Šančevi Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu. Prikupljeni uzorci sa dubine 0-30 cm vazdušno su sušeni i samleveni mlinom do veličine čestica < 2 mm (ISO 11464:1994). Nakon pripreme uzoraka određene su osnovne hemijske karakteristike zemljišta prema standardnim metodama koje se koriste Laboratoriji za zemljište Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu:

- pH-vrednost zemljišta određena je u suspenziji zemljišta sa vodom (aktivna kiselost) i suspenziji sa 1M KCl (supsticiona kiselost), potenciometrijski, pH metrom; Priručnik za ispitivanje zemljišta, Knjiga I, Hemijske metode ispitivanja zemljišta, str. 78-86, DM 8/1-3-014 i DM 8/1-3-015, po metodi ISO 10390:1994;
- ukupan sadržaj azota određen je mikroelementalnom analizom po metodi AOAC 972.43:2000, CHNS analizatorom;
- određivanje lakopristupačnog fosfora (P_2O_5) spektrofotometrijski, a lakopristupačnog kalijuma (K_2O) plamenfotometrijski, ekstrakcijom sa amonijum laktatom po Egner i Riehm-u (1960); Knjiga I, Hemijske metode ispitivanja zemljišta, str. 184-188, DM 8/1-3-020;
- sadržaj slobodnog kalcijum karbonata ($CaCO_3$) određen je volumetrijski, pomoću Scheiblerov-og kalcimetra; Praktikum iz pedologije, str. 49-53, DM 8/1-3-016, ISO 10693:1995;

- određivanje sadržaja humusa metodom Tjurin-a oksidacijom organske materije; Priručnik za ispitivanje zemljišta, Knjiga I, Hemijske metode ispitivanja zemljišta, str. 41-44, DM 8/1-3-017;
- sadržaj organske materije određen je oksidacijom organskog ugljenika u zemljištu sa $K_2Cr_2O_7$ po metodi ISO 14235:1998;

Zemljište korišćeno u ogledu pripada tipu karbonatni černoziem, neutralne je do slabo-alkalne reakcije, obezbeđeno dovoljnim količinama osnovnih hranljivih elemenata: azotom, fosforom i kalijumom (Tabela 1).

Tabela 1. Hemijske karakteristike zemljišta pre postavljanja ogleda

pH		% $CaCO_3$	% Humusa	% N	% C	P_2O_5 mg/100g	K_2O mg/100g
u KCl	u H_2O						
7,39	8,19	9,62	2,72	0,20	1,74	17,1	28,6

5.4. Inokulacija kukuruza odabranim izolatima, setva i gajenje biljaka

5.4.1. Materijal

Na osnovu prethodno izvršene karakterizacije izolata, za dalja istraživanja odabrano je ukupno 8 izolata (7 izolata bakterija i 1 izolat aktinomiceta).

U ogledima su korišćeni hibridi kukuruza NS 6010 i NS 6030 FAO 600 grupe zrenja, selekcionisani u Odeljenju za kukuruz Instituta za ratarstvo i povrtarstvo.

U okviru istraživanja, ogledi su izvedeni na dva načina: u polukontrolisanim uslovima (u žičari na Poljoprivrednom fakultetu u Novom Sadu) i u poljskim uslovima (na oglednom polju Instituta za ratarstvo i povrtarstvo na Rimskim Šančevima).

5.4.2. Inokulacija semena kukuruza odabranim izolatima

Kako bi se dobio prezican odgovor o uticaju svakog izolata, pojedinačno i u smeši, na ispitivane hibride kukuruza, primenjene su sledeće varijante ogleda: I – Azb5; II – Azb8; III – Azb13; IV – Bac9; V – Bac15; VI – Pse1; VII – Pse5; VIII – Act6; IX – Smeša svih izolata; X – kontrola bez inokulacije.

Bakterije za inokulum gajene su u Erlenmayer tikvicama sa 100 ml odgovarajuće tečne podloge na optimalnoj temperaturi od 28°C i uz obrtaje od 150 o/min u trajanju od 48h (na šejkeru Edmund Bühler SM-30 B). Izolati *Azotobacter*-a (Azb5, Azb8 i Azb13) gajeni su u Fjodorovoj tečnoj podlozi, izolati *Bacillus*-a (Bac9 i Bac15) u hranljivoj tečnoj podlozi, a izolati *Pseudomonas*-a (Pse1 i Pse5) u King B tečnoj podlozi. Inokulum izolata aktinomicete (Act6) pripremljen je struganjem spora sa sintetičke podloge uz dodatak 100 ml sterilne vode.

Seme kukuruza sterilisano je sa 0,2 % rastvorom HgCl₂ i 70 % etanolom, više puta isprano sterilnom vodovodnom vodom, i inokulisano sa 10 ml odgovarajućeg inokuluma (gustine ćelija 10⁸ CFU ml⁻¹) po sudu za ogled u polukontrolisanim uslovima, dok je za inokulaciju semena za ogled u poljskim uslovima korišćen tresetni nosač (150 g) pomešan sa 100 ml inokuluma. Ovako pripremljen inokulum pomešan je sa količinom semena koja je potrebna za setvu jedne varijante ogleda u polju. Inokulum smeše činili su inokulumi svih bakterija u jednakom odnosu, dok je seme kontrole pomešano sa tresetom u koji je dodato 100 ml tehničke vode. Inokulacija semena kukuruza vršena je neposredno pre setve.

Ogledi su postavljeni po slučajnom blok sistemu u četiri ponavljanja i 20 varijanti: 9 izolata bakterija (+ 1 kontrola) i 2 hibrida kukuruza.

5.4.3. Ogled na biljkama u polukontrolisanim uslovima

Ogled na biljkama u polukontrolisanim uslovima izveden je u žičari Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu. Biljke su gajene u Mičerlihovim sudovima zapremine 10 l, a kao supstarat korišćeno je zemljište tipa černozem sa dodatkom peska u odnosu 3:1. Pre postavljanja ogleda zemljište je sterilisano u autoklavu (2h, na 120°C, 1,5 bar), kako bi se eliminisalo prisustvo nepoželjnih mikroorganizama.

U svakom sudu zasejano je deset zrna kukuruza, i to u optimalnom roku za setvu kukuruza 19.04.2012. godine. Neposredno pre setve seme je inokulisano odabranim izolatima bakterija, a zatim prekriveno slojem zemljišta. Nakon nicanja broj biljaka sveden je na šest po sudu. Tokom trajanja ogleda održavana je odgovarajuća vlažnost zemljišta kako bi se odvijali mikrobiološki procesi i biljke normalno razvijale (Slika 6).



Slika 6. Ogled u polukontrolisanim uslovima (Poljoprivredni fakultet, Novi Sad)

5.4.4. Ogled na biljkama u poljskim uslovima

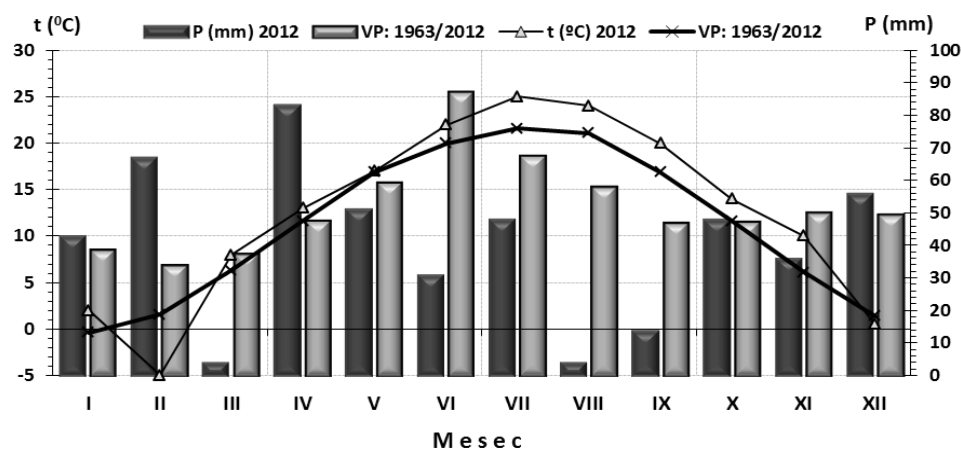
Ogled u poljskim uslovima izveden je na oglednom polju Rimski Šančevi, Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu, na zemljištu tipa karbonatni černoziem. Setva kukuruza izvršena je na osnovnoj parceli veličine 15m^2 ($5 \times 3 \text{ m}$) u 4 reda, na međuredni razmak od 0,75 m, sa razmakom u redu od 22 cm i dubini 5 do 7 cm. Između ponavljanja ostavljene su staze širine 1 m. Setva je izvršena krajem 28.04.2012. godine. U toku gajenja kukuruza primenjena je sva uobičajena agrotehnika i đubrenje za dati hibrid (Slika 7).



Slika 7. Ogled u poljskim uslovima (Ogledno polje Rimski Šančevi, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad)

5.4.5. Klimatske prilike oglednog područja

Početak vegetacionog perioda (kraj marta – početak aprila) 2012. godine karakterisalo je suvo i toplo vreme. Iako je mart bio izrazito suv i sa velikim deficitom padavina, česte kiše tokom većeg dela aprila popravile su stanje pomalo isušenog površinskog sloja obradivog zemljišta što je omogućilo kvalitetnu pripremu parcela i setvu. Odgovarajući temperaturni uslovi, značajan priliv padavina i relativno dobra vlažnost površinskog sloja zemljišta pogodovali su intenzivnom razvoju kukuruza tokom maja. Veoma visoke temperature vazduha u junu, julu i avgustu i veliki deficit padavina prouzrokovali su jaku i ekstremnu sušu na većem delu teritorije Srbije što se negativno odrazilo na stanje useva. Poslednji mesec vegetacije, septembar, karakterisalo je znatno toplije vreme od uobičajenog sa izraženim deficitom padavina tako da se letnji sušni period produžio i na početak jeseni (Grafik 1).



Grafik. 1. Srednje mesečne količine padavina (mm) i temperature vazduha (°C) za 2012. godinu, kao i višegodišnji proseci (VP: 1963/2012) za lokalitet Rimski Šančevi (45° 20' geografske širine, 19° 51' geografske dužine, nadmorska visina 86 m)

5.5. Ispitivanje efektivnosti primene odabranih izolata na mikrobiološku aktivnost rizofernog zemljišta

Mikrobiološka istraživanja obuhvatila su određivanje brojnosti pojedinih sistematskih i fizioloških grupa mikroorganizama, kao i određivanje aktivnosti enzima dehidrogenaze.

Uzorci rizosfernog zemljišta za mikrobiološke analize uzimani su pre setve, u fazi 3 i u fazi 5-7 lista za ogled na biljkama u polukontrolisanim uslovima. Uzorci rizosfernog zemljišta za ogled u poljskim uslovima uzimani su pre setve, zatim u fenofazama 5-7 lista, metličanja i mlečne zrelosti kukuruza.

5.5.1. Brojnost mikroorganizama

Brojnost mikroorganizama određivana je indirektnom metodom, zasejavanjem suspenzije zemljišta odgovarajućeg razređenja na selektivne hranjive podloge (Wollum, 1982):

- ukupan broj mikroorganizama na zemljišnom agaru (razređenje 10^{-7}) (Poshon and Tardieux, 1962);
- broj amonifikatora na hranljivom agaru (razređenje 10^{-6}) (Wollum, 1982)
- broj slobodnih azotofiksatora na Fjodorovoj polozi (razređenje 10^{-6}) (Anderson, 1965)
- broj pseudomonasa na King B agaru (razređenje 10^{-6}) (King *et al.*, 1954)
- broj fosfomobilizatora na glukozo-asparaginskoj podlozi po Muramcovu (razređenje 10^{-5}) (Govedarica i Jarak, 1997)
- broj fosfomineralizatora na podlozi Menkine (razređenje 10^{-5}) (Rodine, 1965)
- broj aktinomiceta na sintetičkoj podlozi (razređenje 10^{-4}) (Krasiljnikov, 1965)
- broj gljiva na Čapekovom agaru (razređenje 10^{-4}) (Parkinson, 1982)
- broj azotobaktera na Fjodorovoj podlozi metodom fertilnih kapi (razređenje 10^{-2}) (Anderson and Domsch, 1958).

Sastav podloga, način zasejavanja i vreme inkubacije dati su u praktikumu Jarak i Đurić (2004). Sve mikrobiološke analize rađene su u tri ponavljanja, a broj mikroorganizama preračunat je na 1,0 g apsolutno suvog zemljišta.

5.5.2. Dehidrogenazna aktivnost

Dehidrogenazna aktivnost određivana je spektrofotometrijski, merenjem ekstinkcije obojenog 2, 3, 5 – trifenilformazana (TPF) koji nastaje redukcijom bezbojnog 2, 3, 5 – trifeniltetrazolium hlorida (TTC). Nakon 24 h inkubacije rastvora zemljišta (TTC u Tris-puferu) na 28°C i ekstrakcije sa metanolom suspenzija se profiltrira i izvrši očitavanje koncentracije TPF ($\mu\text{g g}^{-1}$ zemljišta) na 485 nm (Tabatabai, 1994).

5.6. Ispitivanje efektivnosti primene odabranih izolata na kukuruz

5.6.1. Klijavost semena

Uticao odabranih izolata na klijanje semena ispitan je u laboratorijskim uslovima. Sterilisano i inokulisano seme postavljeno je na filter hartiju na naklijavanje. Po 10 semena kukuruza inokulisanih odgovarajućim izolatom naklijavano je u tami, na 22°C. Očitavanja su vršena nakon 5 i 14 dana.

5.6.2. Početni rast biljke

Ispitivanje uticaja odabranih izolata na početni rast biljaka kukuruza izvršeno je u fenofazama 3 i 5-7 listova. Na uzorcima biljaka uzimanim sa oba ogleđa, izmerene su visina nadzemnog dela u centimetrima, kao i suva masa nadzemnog dela u gramima. Biljni materijal sušen je na 50°C tokom 24 časa, a zatim je izmerena masa suve materije biljaka.

5.6.3. Hemijski sastav biljnog materijala

Uzorci biljnog materijala (list kukuruza) uzeti su u fazi 5-7 lista kukuruza za ogled u polukontrolisanim uslovima i u fazi svilanja za ogled u polju. Prosečni uzorak sastojao se iz 10 biljaka/listova. Biljni materijal sušen je na 50°C tokom 24 časa, a zatim je izmerena masa suve materije. Uzorci su potom samleveni u mlinu za mlevenje biljnog materijala.

Sadržaj azota u biljnom materijalu određen je elementarnom analizom po metodi AOAC 972.43:2000 (VARIO EL III, Elementar) i izražen u procentima suve materije nadzemnog dela i lista biljke.

Sadržaj fosfora, cinka i bakra određeni su metodom indukovano kuplovane plazma-atomske emisije spektrometrije (ICP-AES) pomoću instrumenta Varian Vista-PRO ICP-AES Simultaneous sa aksijalno postavljenom plazmom.

5.6.4. Prinos zrna

Ukupan prinos zrna kukuruza po jedinici površine određen je preračunavanjem prinosa po svakoj elementarnoj parceli ($t\ ha^{-1}$ sa 14% vlage).

5.7. Statistička obrada podataka

Za statističku obradu podataka korišćen je softverskog paket Statistica 10. Razlike aritmetičkih sredina između tretmana testirane su dvo- i trofaktorijalnom analizom varijanse (ANOVA) i izračunata je najmanja statistički značajna razlika LSD ($p < 0,05$).

6. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

6.1. Karakterizacija bakterija iz rizosfere kukuruza

6.1.1. Morfološke karakteristike ćelije i kolonije *Azotobacter* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp. i *Streptomyces* sp.

U ovim istraživanjima iz rizosfere kukuruza izolovano je trinaest bakterija za koje je smatrano da pripadaju rodu *Azotobacter*, šesnaest bakterija koje pripadaju rodu *Bacillus*, petnaest bakterija iz roda *Pseudomonas* i šest bakterija koje pripadaju rodu aktinomiceta *Streptomyces*. Kolonije su izdvojene na osnovu morfoloških karakteristika i nekoliko puta rekultivisane na odgovarajućim podlogama da bi se dobile čiste kulture.

Ćelije izolata roda *Azotobacter* su štapićastog do ovalnog oblika, veličine 1,5-2,0 μm u prečniku. Mogu se naći pojedinačno, u parovima ili lancima različite dužine. Razmnožavaju se deobom pri čemu dobijaju karakterističan oblik broja osam. Neke vrste su pokretne, a neke nepokretne. Po Gramu se boje negativno. Ćelija im je obavijena kapsulom, formiraju ciste u kojima preživljavaju nepovoljne uslove sredine (Slika 8a).

Kolonije izolata *Azotobacter*-a su brzorastuće, okruglog oblika, srednje veličine, bele boje, sjajne, delimično prozirne i sluzave. Položaj kolonije na podlozi je površinski, struktura homogena, ivice kolonije su ravne, a profil blago ispupčen.

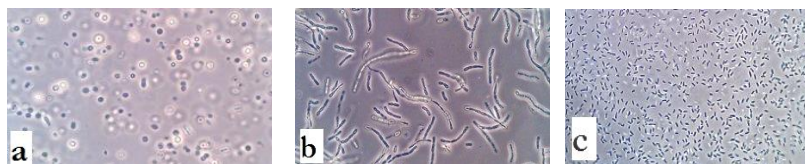
Ćelije izolata roda *Bacillus* su gram-pozitivne, štapićastog oblika, veličine 0,5-2,5 μm x 1,2-10 μm . Formiraju spore koje mogu biti centralne ili terminalne. Često se mogu naći u parovima ili lancima različite dužine. To su aerobni ili fakultativno anaerobni hemoorganotrofi. Pokretne su (Slika 8b).

Kolonije izolata *Bacillus*-a su okruglog oblika i srednje veličine. Profil kolonije je ravan, površina glatka, a položaj na podlozi površinski. Ivica kolonije je ravna do talasasta, struktura homogena, a boja krem do svetlo žuta.

Ćelije izolata roda *Pseudomonas* su štapićaste, veličine 0,5-1 μm x 1,5 – 5 μm , gram-negativne, aerobne. Nemaju kapsulu i ne stvaraju spore. Pokretne su, retko nepokretne (Slika

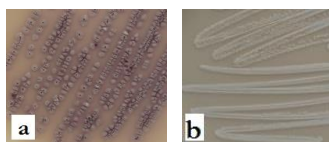
8c). Sposobnost produkcije pigmenta fluorescina utvrđena je kod tri izolata (Pse5, Pse9, Pse15). Ispitivani izolati nisu produkovali plavo-zeleni pigment (piocijanin).

Kolonije izolata *Pseudomonas*-a su okruglog oblika i srednje veličine. Profil kolonije je blago ispupčen, položaj na podlozi površinski, a površina sjajna i glatka. Iвица kolonije je ravna, struktura homogena, a boja krem do svetlo zelena.



Slika 8. Ćelije izolata Azb8 (a), Bac15 (b) i Pse15 (c)

Ćelije izolata roda *Streptomyces* su končaste, gram-pozitivne, veličine u dijametru 0,5-2 μm . Kolonije izolata *Streptomyces*-a su čvrste konzistencije, okrugle do nepravilnog oblika, sa talasastom ivicom, rapave površine, različitih boja. Formiraju supstratni, nadsupstratni i vazdušni micelijum, na kome se stvaraju spore u nizovima (Slika 9).



Slika 9. Kolonije izolata Act1 (a) i Act6 (b)

6.1.2. Fiziološke karakteristike izolata

U ovim istraživanjima ispitivan je odnos izolovanih mikroorganizama prema različitim izvorima ugljenika (glukoza, galaktoza, saharoza, fruktoza, manitol i laktoza). Takođe ispitivan je i uticaj temperature, koncentracije vodonikovih jona, NaCl, teških metala, antibiotika i pesticida na rast i preživljavanje izolata (Tabele 2, 3,4,5).

Utvrđeno je da izolati roda *Azotobacter* kao izvor ugljenika koriste sve ispitivane šećere, osim izolata Azb3, Azb5, Azb9 i Azb10 koji nisu koristili glukoza, saharoza i manitol, kao i izolata Azb10 koji nije koristio laktozu.

Na podlogama čije su pH vrednosti 4 i 9 zabeleženo je potpuno odsustvo rasta svih izolata, dok su na pH 7,5 svi izolati imali optimalan rast. Na podlozi čiji je pH 5,5 optimalan rast su imala četiri izolata - Azb2, Azb4, Azb5 i Azb10, dok ostali izolati nisu rasli.

Na podlogama sa dodatkom 3% NaCl svi izolati su imali optimalan rast, dok je na istoj podlozi sa dodatkom 7 i 15% NaCl zabeleženo potpuno odsustvo rasta svih izolata.

Tabela 2. Fiziološke osobine izolata roda *Azotobacter*

Izolati	Korišćenje izvora C						pH sredine				NaCl (%)		
	Glu	Gal	Sah	Fru	Man	Lak	4.0	5.5	7.5	9.0	3	7	15
Azb1	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-
Azb2	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-
Azb3	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-
Azb4	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-
Azb5	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-
Azb6	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-
Azb7	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-
Azb8	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-
Azb9	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-
Azb10	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-
Azb11	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-
Azb12	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-
Azb13	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-

(-) odsustvo rasta; (+) normalan rast

Izolati roda *Bacillus* kao izvor ugljenika koriste sve ispitivane šećere, osim saharoze i manitola. Glukozu su koristili izolati Bac7, Bac10, Bac11, Bac12 i Bac13, a galaktozu svi izolati osim Bac4. Osam izolata bacilusa koristili su šećer laktozu.

Na podlogama čija je pH vrednost 4 zabeleženo je potpuno odsustvo rasta svih izolata, dok su na pH 7,5 svi izolati imali optimalan rast. Na podlogama čija je pH 5,5 optimalan rast imali su izolati Bac2, Bac3, Bac6, Bac8, Bac9, Bac10, Bac11, Bac15 i Bac16, dok su na pH 9 rasli i izolati Bac2, Bac3, Bac8, Bac11, Bac12, Bac15 i Bac16.

Na podlogama sa dodatkom 3% NaCl svi izolati su imali optimalan rast, dok je na istoj podlozi sa dodatkom 15% NaCl zabeleženo potpuno odsustvo rasta svih izolata. Na podlozi sa 7% NaCl poraslo je osam izolata.

Tabela 3. Fiziološke osobine izolata roda *Bacillus*

Izolati	Korišćenje izvora C						pH sredine				NaCl (%)		
	Glu	Gal	Sah	Fru	Man	Lak	4.0	5.5	7.5	9.0	3	7	15
Bac1	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-
Bac2	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-
Bac3	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-
Bac4	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-
Bac5	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-
Bac6	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-
Bac7	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-
Bac8	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-
Bac9	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-
Bac10	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-
Bac11	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-
Bac12	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-
Bac13	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-
Bac14	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-
Bac15	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-
Bac16	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-

(-) odsustvo rasta; (+) normalan rast

Izolati roda *Pseudomonas* kao izvor ugljenika koristili su sve ispitivane šećere, osim saharoze, manitola i laktoze.

Na podlogama čije su pH 4 i 9 zabeleženo je potpuno odsustvo rasta svih izolata, dok su na pH 7,5 svi izolati imali optimalan rast. Na podlozi čiji je pH 5,5 optimalan rast su imala osam izolata (Tabela 4).

Na podlogama sa dodatkom 3% NaCl svi izolati su imali optimalan rast, dok je na istoj podlozi sa dodatkom 15% NaCl zabeleženo potpuno odsustvo rasta svih izolata. Na podlozi sa 7% NaCl rasli su izolati Pse1, Pse5, Pse11 i Pse15.

Tabela 4. Fiziološke osobine izolata roda *Pseudomonas*

Izolati	Korišćenje izvora C						pH sredine				NaCl (%)		
	Glu	Gal	Sah	Fru	Man	Lak	4.0	5.5	7.5	9.0	3	7	15
Pse1	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-
Pse2	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-
Pse3	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-
Pse4	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-
Pse5	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-
Pse6	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-
Pse7	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-
Pse8	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-
Pse9	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-
Pse10	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-
Pse11	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-
Pse12	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-
Pse13	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-
Pse14	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-
Pse15	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-

(-) odsustvo rasta; (+) normalan rast

Kao izvor ugljenika izolati aktinomiceta koristili su sve šećere osim manitola i laktoze, dok izolati Act3 i Act4 osim navedenih šećera nisu koristili saharozu i fruktozu.

Na podlozi čija je pH bila 4 zabeleženo je potpuno odsustvo rasta svih izolata. Na podlogama čije su pH 5,5 i 9 svi izolati osim Act2 su rasli, dok su na pH 7,5 svi izolati imali optimalan rast.

Na podlogama sa dodatkom 3% NaCl svi izolati su imali optimalan rast, kao i na podlozi sa 7% NaCl, osim izolata Act4. Na istoj podlozi sa dodatkom 15% NaCl zabeleženo je potpuno odsustvo rasta svih izolata.

Tabela 5. Fiziološke osobine izolata roda *Streptomyces*

Izolati	Korišćenje izvora C						pH sredine				NaCl (%)		
	Glu	Gal	Sah	Fru	Man	Lak	4.0	5.5	7.5	9.0	3	7	15
Act1	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-
Act2	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-
Act3	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
Act4	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
Act5	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-
Act6	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-

(-) odsustvo rasta; (+) normalan rast

6.1.2.1. Uticaj pesticida na rast izolata

Za ispitivanje uticaja pesticida na izolate korišćeni su metribuzin, oksifluorfen i bentazon. Ispitivan je uticaj preporučene doze, doze 10 i 100 puta veće od preporučene (Tabele 6, 7, 8, 9).

Utvrđeno je da preporučene doze ispitivanih pesticida nisu imale inhibitorni uticaj na rast izolata roda *Azotobacter*. Metribuzin je delovao inhibitorno na rast izolata Azb10 u koncentraciji 10x većoj od preporučene, kao i na rast izolata Azb1, Azb2, Azb5, Azb10 i Azb11 u koncentraciji 100x većoj od preporučene.

Oksifluorfen primenjen u koncentraciji 100x većoj od preporučene inhibitorno je delovao na rast izolata Azb8 i Azb10, dok je bentazon primenjen u istoj koncentraciji inhibirao rast svih izolata izuzev Azb1, Azb2, Azb7 i Azb8.

Zone inhibicije rasta bile su veće od 5 mm, osim kod izolata Azb1 nakon primene metribuzina i izolata Azb4 i Azb10 nakon primene bentazona, kada je zona inhibicije bila manja od 5 mm.

Tabela 6. Uticaj pesticida na rast izolata roda *Azotobacter*

Izolati	Pesticidi								
	Metribuzin			Oksifluorfen			Bentazon		
	100x	10x	pd	100x	10x	pd	100x	10x	pd
Azb1	±	+	+	+	+	+	+	+	+
Azb2	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Azb3	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Azb4	+	+	+	+	+	+	±	+	+
Azb5	-	+	+	+	+	+	-	+	+
Azb6	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Azb7	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Azb8	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Azb9	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Azb10	-	-	+	-	+	+	±	+	+
Azb11	-	+	+	+	+	+	-	+	+
Azb12	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Azb13	+	+	+	+	+	+	-	+	+

pd - preporučena doza; 10x – koncentracija deset puta veća od preporučene; 100x – koncentracija sto puta veća od preporučene; (+) normalan rast bez zone inhibicije; (±) slabiji rast sa zonom inhibicije od 1-5 mm; (-) odsustvo rasta sa zonom inhibicije većom od 5 mm

Ispitivani herbicidi u preporučenim dozama nisu imali inhibitorni uticaj na rast izolata roda *Bacillus*. Metribuzin je delovao inhibitorno na rast izolata Bac5 u koncentraciji deset puta većoj od preporučene, kao i na rast svih izolata osim Bac16 u koncentraciji sto puta većoj od preporučene.

Oksifluorfen primenjen u koncentraciji deset puta većoj od preporučene inhibitorno je delovao na rast Bac2 i Bac3. u koncentraciji sto puta većoj od preporučene inhibirao je rast izolata Bac1, Bac2, Bac3 i Bac12, dok je bentazon primenjen u koncentraciji sto puta većoj od preporučene inhibirao rast svih izolata izuzev Bac9, dok je u koncentraciji deset puta većoj od preporučene inhibirao rast izolata Bac8 i Bac10.

Zone inhibicije u slučaju primene sva tri pesticidabile su veće od 5 mm, osim u slučaju primene metribuzina u koncentraciji 10x većoj od preporučene kod izolata Bac5, gde je izmerena zona inhibicije manja od 5 mm.

Tabela 7. Uticaj pesticida na rast izolata roda *Bacillus*

Izolati	Pesticidi								
	Metribuzin			Oksifluorfen			Bentazon		
	100x	10x	pd	100x	10x	pd	100x	10x	pd
Bac1	-	+	+	-	+	+	-	+	+
Bac2	-	+	+	-	-	+	-	+	+
Bac3	-	+	+	-	-	+	-	+	+
Bac4	-	+	+	+	+	+	-	+	+
Bac5	-	±	+	+	+	+	-	+	+
Bac6	-	+	+	+	+	+	-	+	+
Bac7	-	+	+	+	+	+	-	+	+
Bac8	-	+	+	+	+	+	-	-	+
Bac9	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Bac10	-	+	+	+	+	+	-	-	+
Bac11	-	+	+	+	+	+	-	+	+
Bac12	-	+	+	-	+	+	-	+	+
Bac13	-	+	+	+	+	+	-	+	+
Bac14	-	+	+	+	+	+	-	+	+
Bac15	-	+	+	+	+	+	-	+	+
Bac16	+	+	+	+	+	+	-	+	+

pd - preporučena doza; 10x – koncentracija deset puta veća od preporučene; 100x – koncentracija sto puta veća od preporučene; (+) normalan rast bez zone inhibicije; (±) slabiji rast sa zonom inhibicije od 1-5 mm; (-) odsustvo rasta sa zonom inhibicije većom od 5 mm

Utvrđeno je da preporučene doze ispitivanih pesticida nisu imale inhibitorni uticaj na rast izolata roda *Pseudomonas*, osim bentazona koji je inhibirao rast izolata Pse10. Metribuzin je delovao inhibitorno na rast svih izolata osim Pse4, Pse7, Pse10, Pse11 i Pse15 koncentracijom 100x većom od preporučene, kao i na rast izolata Pse1, Pse3, Pse5, Pse9 i Pse13 koncentracijom 10x većom od preporučene. Zone inhibicije rasta bile su veće od 5 mm, osim kod izolata Pse1, Pse2, Pse3 i Pse5 u slučaju primene metribuzina u 100x većoj koncentraciji, kao i kod izolata Pse3 u koncentraciji 10x većoj od preporučene, kada je izmerena zona inhibicije bila manja od 5 mm.

Oksifluorfen primenjen u koncentraciji sto puta većoj od preporučene inhibitorno je delovao na rast izolata Pse1, Pse3, Pse6, Pse8, Pse9, Pse10 i Pse12, kao i na rast izolata Pse3, Pse8, Pse9, Pse12 u koncentraciji deset puta većoj od preporučene.

Bentazon primenjen u koncentraciji 100x većoj od preporučene inhibirao je rast izolata Pse8, Pse9 i Pse10, dok je u koncentraciji 10x većoj od preporučene inhibirao rast izolata Pse10. Zone inhibicije rasta bile su veće od 5 mm, osim u slučaju primene oksifluorfena u deset puta jačoj koncentraciji od preporučene kod izolata Pse3 i bentazona u sto puta jačoj koncentraciji od preporučene kod izolata Pse8 (Slika 10).

Tabela 8. Uticaj pesticida na rast izolata roda *Pseudomonas*

Izolati	Pesticidi								
	Metribuzin			Oksiflurfen			Bentazon		
	100x	10x	pd	100x	10x	pd	100x	10x	pd
Pse1	±	±	+	-	+	+	+	+	+
Pse2	±	+	+	+	+	+	+	+	+
Pse3	±	±	+	-	±	+	+	+	+
Pse4	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pse5	±	±	+	+	+	+	+	+	+
Pse6	-	+	+	-	+	+	+	+	+
Pse7	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pse8	-	+	+	-	-	+	±	+	+
Pse9	-	-	+	-	-	+	-	+	+
Pse10	+	+	+	-	+	+	-	-	-
Pse11	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pse12	-	+	+	-	-	+	+	+	+
Pse13	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Pse14	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Pse15	+	+	+	+	+	+	+	+	+

pd - preporučena doza; 10x – koncentracija deset puta veća od preporučene; 100x – koncentracija sto puta veća od preporučene; (+) normalan rast bez zone inhibicije; (\pm) slabiji rast sa zonom inhibicije od 1-5 mm; (-) odsustvo rasta sa zonom inhibicije većom od 5 mm



Slika 10. Uticaj pesticida na rast izolata *Pseudomonas* sp. Pse6

Preporučene doze ispitivanih herbicida nisu imale inhibični uticaj na rast izolata aktinomiceta. U koncentraciji deset puta većoj od preporučene metribuzin je delovao inhibično na rast svih izolata, osim na Act3. Zone inhibicije rasta bile su prečnika većeg od 5 mm, osim u slučaju primene metribuzina u koncentraciji deset puta većoj od preporučene kod izolata Act5 i Act6, gde je izmerena zona inhibicije bila manja od 5mm. Herbicid oksifluorfen u koncentraciji deset puta većoj od preporučene inhibirao je rast svih izolata osim Act6, dok je bentazon primenjen u istoj koncentraciji inhibirao rast svih izolata izuzev Act3 i Act4. Izmerene zone inhibicije su bile veće od 5 mm, osim u slučaju primene deset puta jače koncentracije oksifluorfena kod izolata Act1 i Act2 i bentazona kod izolata Act2 i Act6, kao i sto puta jače koncentracije bentazona kod izolata Act3.

Tabela 9. Uticaj pesticida na rast izolata roda *Streptomyces*

Izolati	Pesticidi								
	Metribuzin			Oksifluorfen			Bentazon		
	100x	10x	pd	100x	10x	pd	100x	10x	pd
Act1	-	-	+	-	\pm	+	-	-	+
Act2	-	-	+	-	\pm	+	-	\pm	+
Act3	-	+	+	-	-	+	\pm	+	+
Act4	-	-	+	-	-	+	-	+	+
Act5	-	\pm	+	-	-	+	-	-	+
Act6	-	\pm	+	-	+	+	-	\pm	+

pd - preporučena doza; 10x – koncentracija deset puta veća od preporučene; 100x – koncentracija sto puta veća od preporučene; (+) normalan rast bez zone inhibicije; (\pm) slabiji rast sa zonom inhibicije od 1-5 mm; (-) odsustvo rasta sa zonom inhibicije većom od 5 mm

6.1.2.2. Uticaj teških metala na rast izolata

Za ispitivanje uticaja teških metala na izolate korišćeni su rastvori kadmijuma, olova i mangana, u različitim koncentracijama: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} mol/dm³ (Tabele 10, 11, 12, 13).

Kadmijum primenjen u koncentraciji 10^{-1} mol/dm³ delovao je inhibitorno na rast svih izolata roda *Azotobacter*, dok preostale dve koncentracije nisu imale inhibitorno dejstvo, osim na Azb10 pri koncentraciji 10^{-2} mol/dm³. Zone inhibicije bile su veće od 5 mm, osim kod izolata Azb1 i Azb4 pri koncentraciji 10^{-1} mol/dm³, kao i kod izolata Azb10 pri koncentraciji 10^{-2} mol/dm³.

Sve tri ispitivane koncentracije rastvora olova inhibirale su rast izolata Azb10 i Azb12. Zone inhibicije rasta bile su veće od 5 mm, osim kod izolata Azb12 (pri 10^{-2} i 10^{-3} mol/dm³).

Mangan je delovao inhibitorno na rast izolata Azb10 u koncentraciji 10^{-1} mol/dm³, kao i na rast izolata Azb12 pri svim koncentracijama, sa zonama inhibicije rasta manjim od 5 mm.

Tabela 10. Uticaj teških metala na rast izolata roda *Azotobacter*

Izolati	Teški metali (mol/dm ³)								
	Kadmijum (Cd)			Olovo (Pb)			Mangan (Mn)		
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
Azb1	±	+	+	+	+	+	+	+	+
Azb2	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Azb3	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Azb4	±	+	+	+	+	+	+	+	+
Azb5	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Azb6	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Azb7	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Azb8	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Azb9	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Azb10	-	±	+	-	-	-	±	+	+
Azb11	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Azb12	-	+	+	-	±	±	±	±	±
Azb13	-	+	+	+	+	+	+	+	+

(+) normalan rast bez zone inhibicije; (±) slabiji rast sa zonom inhibicije od 1-5 mm; (-) odsustvo rasta sa zonom inhibicije od 5-10 mm

Kadmijum primenjen u koncentraciji 10^{-1} mol/dm³ delovao je inhibitorno na rast svih izolata roda *Bacillus*, osim na Bac1. Kadmijum u koncentraciji 10^{-2} mol/dm³ inhibirao je rast

izolata Bac2, Bac5 i Bac14, dok je najslabija koncentracija ovog metala imala inhibitorno dejstvo na izolate Bac3 i Bac5. Zone inhibicije bile su veće od 5 mm, osim kod izolata Bac4, Bac11 i Bac16 (pri 10^{-3} mol/dm³), Bac2, Bac5 i Bac14 (pri 10^{-2} mol/dm³) i Bac5 (pri 10^{-1} mol/dm³).

Rastvor olova delovao je inhibitorno na rast izolata Bac1 i Bac11 u koncentracijama 10^{-1} i 10^{-2} mol/dm³, kao i na Bac4 u svim koncentracijama. Zone inhibicije kod svih izolata bile su manje od 5 mm.

Mangan je delovao inhibitorno na rast izolata Bac3 i Bac13 u koncentraciji 10^{-1} mol/dm³, zatim na Bac4 i Bac11 u koncentracijama 10^{-1} i 10^{-2} mol/dm³, kao i na Bac2 i Bac7 u svim koncentracijama. Zone inhibicije bile su manje od 5 mm, osim kod izolata Bac2 (pri 10^{-1} i 10^{-2} mol/dm³), kao i Bac4 i Bac11 (pri 10^{-1} mol/dm³).

Tabela 11. Uticaj teških metala na rast izolata roda *Bacillus*

Izolati	Teški metali (mol/dm ³)								
	Kadmijum (Cd)			Olovo (Pb)			Mangan (Mn)		
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
Bac1	+	+	+	±	±	+	+	+	+
Bac2	-	±	+	+	+	+	-	-	±
Bac3	-	-	-	+	+	+	±	+	+
Bac4	±	+	+	±	±	±	-	±	+
Bac5	-	±	±	+	+	+	+	+	+
Bac6	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Bac7	-	+	+	+	+	+	±	±	±
Bac8	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Bac9	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Bac10	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Bac11	±	+	+	±	±	+	-	±	+
Bac12	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Bac13	-	+	+	+	+	+	±	+	+
Bac14	-	±	+	+	+	+	+	+	+
Bac15	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Bac16	±	+	+	+	+	+	+	+	+

(+) normalan rast bez zone inhibicije; (±) slabiji rast sa zonom inhibicije od 1-5 mm; (-) odsustvo rasta sa zonom inhibicije od 5-10 mm

Rastvor kadmijuma u koncentraciji 10^{-1} mol/dm³ delovao je inhibitorno na rast svih izolata roda *Pseudomonas*, osim na Pse4, Pse10, Pse11 i Pse15. Kadmijum u koncentraciji 10^{-2}

mol/dm³ inhibirao je rast izolata Pse1, Pse3, Pse5, Pse9 i Pse13, dok u koncentraciji 10⁻³ mol/dm³ nije ispoljio inhibitorno dejstvo na izolate. Zone inhibicije bile su veće od 5 mm, osim kod izolata Pse1, Pse3 i Pse5 (pri 10⁻¹ i 10⁻² mol/dm³), kao i Pse2 (pri 10⁻¹ mol/dm³).

Olovo je imalo inhibitorno dejstvo na rast izolata Pse1, Pse6, Pse10 u koncentraciji 10⁻¹ mol/dm³, zatim na rast Pse8 i Pse12 u koncentracijama 10⁻¹ i 10⁻² mol/dm³, kao i na Pse3 u svim koncentracijama. Zone inhibicije rasta kod svih izolata bile su veće od 5 mm, osim kod Pse3 (pri 10⁻² i 10⁻³ mol/dm³).

Mangan je delovao inhibitorno na rast izolata Pse8 u koncentraciji 10⁻¹ mol/dm³, sa zonom inhibicije rasta manjom od 5 mm, kao i na rast izolata Pse10 u svim koncentracijama, sa zonama većim od 5 mm.

Tabela 12. Uticaj teških metala na rast izolata roda *Pseudomonas*

Izolati	Teški metali (mol/dm ³)								
	Kadmijum (Cd)			Olovo (Pb)			Mangan (Mn)		
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
Pse1	±	±	+	-	+	+	+	+	+
Pse2	±	+	+	+	+	+	+	+	+
Pse3	±	±	+	-	±	±	+	+	+
Pse4	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pse5	±	±	+	+	+	+	+	+	+
Pse6	-	+	+	-	+	+	+	+	+
Pse7	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pse8	-	+	+	-	-	+	±	+	+
Pse9	-	-	+	-	-	+	-	+	+
Pse10	+	+	+	-	+	+	-	-	-
Pse11	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pse12	-	+	+	-	-	+	+	+	+
Pse13	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Pse14	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Pse15	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(+) normalan rast bez zone inhibicije; (±) slabiji rast sa zonom inhibicije od 1-5 mm; (-) odsustvo rasta sa zonom inhibicije od 5-10 mm

Kadmijum primenjen u koncentracijama 10⁻¹ i 10⁻² mol/dm³ delovao je inhibitorno na rast izolata Act2 i Act4 pri čemu su izmerene zone inhibicije manje od 5 mm, osim pri koncentraciji od 10⁻¹ kod izolata Act4 gde je zona inhibicije veća. Rastvori olova i mangana primenjeni u svim ispitivanim koncentracijama nisu imali inhibitorno dejstvo na rast izolata.

Tabela 13. Uticaj teških metala na rast izolata roda *Streptomyces*

Izolati	Teški metali (mol/dm ³)								
	Kadmijum (Cd)			Olovo (Pb)			Mangan (Mn)		
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
Act1	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Act2	±	±	+	+	+	+	+	+	+
Act3	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Act4	-	±	+	+	+	+	+	+	+
Act5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Act6	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(+) normalan rast bez zone inhibicije; (±) slabiji rast sa zonom inhibicije od 1-5 mm; (-) odsustvo rasta sa zonom inhibicije od 5-10 mm

6.1.2.3. Uticaj antibiotika na rast izolata

Za određivanje rezistentnosti prema antibioticima korišćeni su gotovi diskovi sa različitim antibioticima primenjeni u sledećim koncentracijama: ampicilin (10 µg i 25 µg ml⁻¹), neomicin (10 µg i 30 µg ml⁻¹), erithromicin (5 µg i 15 µg ml⁻¹), streptomycin (10 µg i 300 µg ml⁻¹), hloramfenikol (10 µg ml⁻¹) i kanamicin (30 µg ml⁻¹).

U ovim istraživanjima uticaj antibiotika na rast izolata bio je različit, a zavisio je od vrste izolata, kao i od vrste i koncentracije antibiotika (Tabele 14, 15, 16, 17) (Slika 11).

Među izolatima roda *Azotobacter*, rezistentnost na ampicilin u koncentraciji 10 µg ml⁻¹ utvrđena je kod izolata Azb1, kao i kod izolata Azb5 za obe ispitivane koncentracije ovog antibiotika. Takođe je zabeležen slabiji rast izolata Azb1 pri koncentraciji ampicilina od 25 µg ml⁻¹. Eritromicin je delovao inhibitorno na rast svih izolata osim na Azb1 i Azb7 pri koncentraciji 5 µg ml⁻¹. Rezistentnost na neomicin je utvrđena samo kod izolata Azb2 pri koncentraciji 10 µg ml⁻¹, dok su obe koncentracije streptomicina ispoljile inhibitorno dejstvo na rast svih izolata. Slabiji rast izolata Azb1 zabeležen je pod dejstvom kanamicina u koncentraciji od 30 µg ml⁻¹, koji je delovao inhibitorno na rast ostalih izolata. Hloramfenikol u koncentraciji 30 µg ml⁻¹ inhibirao je rast svih izolata osim Azb1, Azb5 i Azb7.

Tabela 14. Uticaj antibiotika na rast izolata roda *Azotobacter*

Izolati	Amp		Ery		Neo		Str		Kan	Chl
	10	25	5	15	10	30	10	300	30	30
Azb1	+	±	+	-	-	-	-	-	±	+
Azb2	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Azb3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Azb4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Azb5	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
Azb6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Azb7	±	-	+	-	-	-	-	-	-	+
Azb8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Azb9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Azb10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Azb11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Azb12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Azb13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Amp-ampicilin; Ery-eritromicin; Neo-neomicin; Str-streptomycin; Kan-kanamicin; Chl-hloramfenimkol;
 (-) odsustvo rasta/inhibicija; (±) slabiji rast/osetljivost; (+) normalan rast/rezistentnost

Kod izolata roda *Bacillus*, rezistentnost na obe ispitivane koncentracije ampicilina utvrđena je kod izolata Bac3, Bac7, Bac11, Bac12, a na koncentraciju 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$ kod izolata Bac15 i na koncentraciju 25 $\mu\text{g ml}^{-1}$ kod Bac13.

Obe koncentracije eritromicina delovale su inhibitorno na sve izolate osim na Bac7 i Bac12, koji su bili rezistentni i na dejstvo hloramfenikola u koncentraciji 30 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Neomicin u koncentraciji 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$ delovao je inhibitorno na sve izolate osim na Bac1.



Slika 11. Uticaj različitih antibiotika na rast izolata Bac5

Rezistentnost izolata na dejstvo streptomicina u koncentraciji 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$ zabeleženo je kod Bac1, Bac7, Bac12 i Bac15, dok je isti antibiotik u koncentraciji 300 $\mu\text{g ml}^{-1}$ inhibirao rast svih izolata osim Bac12. Slabiji rast pod dejstvom veće koncentracije streptomicina zabeležen je kod izolata Bac12. Kanamicin je imao inhibitorno dejstvo na rast svih izolata izuzev Bac4.

Tabela 15. Uticaj antibiotika na rast izolata roda *Bacillus*

Izolati	Amp		Ery		Neo		Str		Kan	Chl
	10	25	5	15	10	30	10	300	30	30
Bac1	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
Bac2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bac3	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Bac4	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Bac5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bac6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bac7	+	+	+	+	-	-	+	±	-	+
Bac8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bac9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bac10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bac11	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Bac12	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+
Bac13	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Bac14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bac15	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
Bac16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Amp-ampicilin; Ery-eritromicin; Neo-neomicin; Str-streptomycin; Kan-kanamicin; Chl-hloramfenikol; (-) odsustvo rasta/inhibicija; (±) slabiji rast/osetljivost; (+) normalan rast/rezistentnost

Kod izolata roda *Pseudomonas* rezistentnost je utvrđena za obe koncentracije ampicilina kod izolata Pse1, kao kod izolata Pse5 i Pse11 za koncentraciju 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Slabiji rast izolata utvrđen je kod izolata Pse5 i Pse11 pri koncentraciji ampicilina od 25 $\mu\text{g ml}^{-1}$.

Svi izolati osim Pse14 i Pse15 rezistentni su na eritromicin pri koncentraciji 5 $\mu\text{g ml}^{-1}$, dok je za izolate Pse1, Pse4, Pse12 i Pse13 rezistentnost utvrđena pri koncentraciji od 15 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Takođe je zabeležen slabiji rast izolata Pse2 (5 $\mu\text{g ml}^{-1}$), kao i Pse5, Pse6, Pse10 i Pse11 (15 $\mu\text{g ml}^{-1}$).

Neomicin od 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$ uzrokovao je slabiji rast izolata Pse4, Pse10, Pse11, Pse12 i Pse13, ali i izolata Pse4 pri koncentraciji od 30 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Antibiotici streptomycin, kanamicin i hloramfenikol delovali su inhibitory na sve izolate pseudomonasa.

Tabela 16. Uticaj antibiotika na rast izolata roda *Pseudomonas*

Izolati	Amp		Ery		Neo		Str		Kan	Chl
	10	25	5	15	10	30	10	300	30	30
Pse1	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Pse2	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-
Pse3	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Pse4	-	-	+	+	±	±	-	-	-	-
Pse5	+	±	+	±	-	-	-	-	-	-
Pse6	-	-	+	±	-	-	-	-	-	-
Pse7	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Pse8	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Pse9	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Pse10	-	-	+	±	±	-	-	-	-	-
Pse11	+	±	+	±	±	-	-	-	-	-
Pse12	-	-	+	+	±	-	-	-	-	-
Pse13	-	-	+	+	±	-	-	-	-	-
Pse14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pse15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Amp-ampicilin; Ery-eritromicin; Neo-neomicin; Str-streptomycin; Kan-kanamicin; Chl-hloramfenimkol;

(-) odsustvo rasta/inhibicija; (±) slabiji rast/osetljivost; (+) normalan rast/rezistentnost

Svi ispitivani antibiotici delovali su inhibitorno na izolate aktinomiceta. Slabiji rast zabeležen je samo kod izolata Act1 pri koncentraciji neomicina od 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$ i Act5 pri koncentraciji ampicilina od 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$.

Tabela 17. Uticaj antibiotika na rast izolata roda *Streptomyces*

Izolati	Amp		Ery		Neo		Str		Kan	Chl
	10	25	5	15	10	30	10	300	30	30
Act1	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-
Act2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Act3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Act4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Act5	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Act6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Amp-ampicilin; Ery-eritromicin; Neo-neomicin; Str-streptomycin; Kan-kanamicin; Chl-hloramfenimkol;

(-) odsustvo rasta/inhibicija; (±) slabiji rast/osetljivost; (+) normalan rast/rezistentnost

6.1.3. Biohemijske karakteristike izolata

Od biohemijskih osobina ispitivana je sposobnost izolata da produkuju želatinazu, lipazu, lecitinazu, amilazu, pektinazu, celulazu, ureazu, katalazu, sposobnost korišćenja citrata, redukcije nitrata, stvaranje vodonik-sulfida i amonijaka (Tabele 18, 19, 20, 21).

Utvrđeno je da svi izolati roda *Azotobacter* osim Azb12 imaju sposobnost da hidrolizuju želatin. Sposobnost produkcije ekstracelularnih lipaza utvrđena je kod izolata Azb1, Azb2, Azb5, Azb6, Azb8 i Azb11, dok su lecitinazu produkovali izolati Azb5 i Azb9 (Slika 12).

Sposobnost hidrolize skroba nije utvrđena, dok je pektinolitička aktivnost dokazana kod svih izolata osim kod Azb1, Azb6, Azb9 i Azb12. Sedam izolata produkovalo je celulazu, dok je ureazna aktivnost utvrđena kod svih izolata osim kod Azb5, Azb7, Azb8 i Azb11.

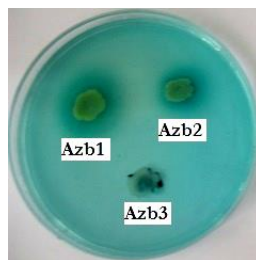
Svi izolati azotobaktera bili su katalaza pozitivni. Sposobnost korišćenja citrata zabeležena kod svih izolata osim Azb9 i Azb12. Produkcija H₂S i NH₃ nije utvrđena, dok je redukcija nitrata dokazana kod svih izolata osim Azb1, Azb2, Azb3, Azb4 i Azb5.

Tabela 18. Biohemijske osobine izolata roda *Azotobacter*

Izolati	Želatinaza	Lipaza	Lecitinaza	Amilaza	Pektinaza	Celulaza	Ureaza	Katalaza	Citrati	Redukcija NO ₃	Produkcija H ₂ S
Azb1	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-
Azb2	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-
Azb3	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-
Azb4	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-
Azb5	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-
Azb6	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-
Azb7	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-
Azb8	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-
Azb9	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-
Azb10	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
Azb11	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-
Azb12	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-
Azb13	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-

(+) pozitivna reakcija/produkuje; (-) negativna reakcija/ne produkuje

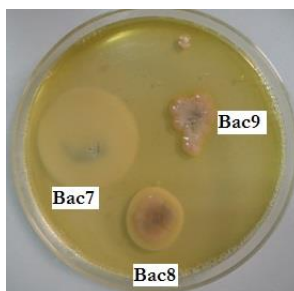
Svi izolati roda *Bacillus* osim Bac1, Bac8, Bac9, Bac10, Bac15 i Bac16 imaju sposobnost da hidrolizuju želatin. Sposobnost produkcije ekstracelularnih lipaza utvrđena je kod izolata Bac4, Bac11 i Bac12, dok je produkcija lecitinaze utvrđena kod izolata Bac1, Bac2, Bac3, Bac7, Bac8, Bac11, Bac12 i Bac14 (Slika 13).



Slika 12. Produkcija lipaze izolata *Azotobacter* sp. Azb1 (+), Azb2 (+) i Azb3 (-)

Sposobnost hidrolize skroba kao i celulolitička aktivnost utvrđena je za sve izolate, dok je pektinolitička aktivnost dokazana kod svih izolata osim kod Bac1, Bac6, Bac8, Bac9, Bac10 i Bac16.

Aktivnost enzima ureaze utvrđena je kod izolata Bac3, Bac6, Bac10, Bac11 i Bac16. Svi izolati bacilusa bili su katalaza pozitivni. Produkcija H_2S i NH_3 nije utvrđena, dok je redukcija nitrata dokazana kod svih izolata osim Bac2, Bac4, Bac6, Bac10 i Bac14.



Slika 13. Produkcija lecitinaze izolata *Bacillus* sp. Bac7 (+), Bac8 (+) i Bac9 (-)

Slika 14. Korišćenje citrata izolata *Pseudomonas* sp. Pse9 (+) i Pse10 (-)Tabela 19. Biohemijske osobine izolata roda *Bacillus*

Izolati	Želatinaza	Lipaza	Lecitinaza	Amilaza	Pektinaza	Celulaza	Ureaza	Katalaza	Citrati	Redukcija NO ₃	Produkcija H ₂ S
Bac1	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-
Bac2	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-
Bac3	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-
Bac4	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-
Bac5	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-
Bac6	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-
Bac7	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-
Bac8	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-
Bac9	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-
Bac10	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-
Bac11	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
Bac12	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
Bac13	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-
Bac14	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-
Bac15	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-
Bac16	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-

(+) pozitivna reakcija/produguje; (-) negativna reakcija/ne produguje

Sposobnost hidrolize želatina utvrđena je kod izolata Pse2, Pse4, Pse6, Pse8, Pse11 i Pse13. Produkcija lipaze utvrđena je kod svih izolata osim kod Pse1, Pse2, Pse14 i Pse15, dok su lecitinazu produkovali izolati Pse5 i Pse9. Sposobnost hidrolize skroba nije utvrđena, dok je pektinolitička aktivnost zebeležena kod izolata Pse1, Pse3 i Pse14.

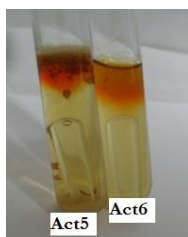
Izolati Pse3, Pse7, Pse9, Pse14 i Pse15 produkovali su celulazu, dok je ureazna aktivnost utvrđena kod izolata Pse1, Pse7 i Pse8. Svi izolati pseudomonasa bili su katalaza negativni. Sposobnost korišćenja citrata zabeležena je kod izolata Pse1, Pse2, Pse3, Pse5, Pse9, Pse11 i Pse14 (Slika 14). Redukcija nitrata utvrđena je kod svih izolata osim Pse1 i Pse11, dok nijedan izolat nije produkovao H₂S.

Tabela 20. Biohemijske osobine izolata roda *Pseudomonas*

Izolati	Želatinaza	Lipaza	Lecitinaza	Amilaza	Pektinaza	Celulaza	Ureaza	Katalaza	Citrati	Redukcija NO ₃	Produkcija H ₂ S
Pse1	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-
Pse2	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
Pse3	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-
Pse4	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Pse5	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-
Pse6	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Pse7	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-
Pse8	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-
Pse9	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-
Pse10	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Pse11	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Pse12	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Pse13	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Pse14	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-
Pse15	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-

(+) pozitivna reakcija/produguje; (-) negativna reakcija/ne produguje

Sposobnost hidrolize želatina utvrđena je kod svih izolata roda *Streptomyces*. Sposobnost hidrolize skroba utvrđena je kod svih izolata, dok produkcija lipaze, lecitinaze, pektinaze i celulaze nije zabeležena.

Slika 15. Redukcija nitrata izolata *Streptomyces* sp. Act5 (+) i Act6 (+)

Aktivnost ureaze utvrđena je kod izolata Act3, Act4 i Act6. Svi izolati streptomiceta bili su katalaza pozitivni. Sposobnost korišćenja citrata nije zabeležena. Redukcija nitrata utvrđena je kod svih izolata (Slika 15). Nijedan izolat nije produkovao H₂S.

Tabela 21. Biohemijske osobine izolata roda *Streptomyces*

Izolati	Želatinaza	Lipaza	Lecitinaza	Amilaza	Pektinaza	Celulaza	Ureaza	Katalaza	Citrati	Redukcija NO ₃	Produkcija H ₂ S
Act1	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
Act2	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
Act3	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-
Act4	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-
Act5	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
Act6	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-

(+) pozitivna reakcija; (-) negativna reakcija

6.1.4. PGP karakteristike izolata

Od PGP osobina ispitivane su produkcija indol-sirćetne kiseline (IAA), siderofora, HCN, egzopolisaharida i sposobnost rastvaranja neorganskih jedinjenja fosfora.

6.1.4.1. Produkcija indol-sirćetne kiseline (IAA)

Svi izolati produkovali su IAA u podlozi u kojoj nije bio dodat L-triptofan. Količina produkovane IAA zavisila je od primenjene koncentracije L-triptofana, perioda inkubacije i ispitivanih sojeva bakterija (Tabele 22, 23, 24, 25). Veće vrednosti IAA izmerene su nakon 48h

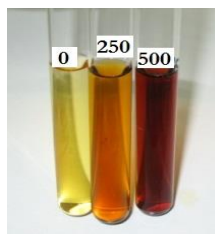
u odnosu na vrednosti izmerene nakon 24h za izolate azotobaktera, bacilusa i pseudomonasa, kao i nakon četrnaest dana u odnosu na vrednosti koje su izmerene nakon sedam dana za izolate aktinomiceta. Takođe, veća količina produkovane IAA zebeležena je u medijumu sa dodatkom L-triptofana u koncentraciji 500 $\mu\text{g ml}^{-1}$ u odnosu na količinu koja je izmerena u medijumu sa dodatkom 250 $\mu\text{g ml}^{-1}$ L-triptofana (Slika 16).

Izolati azotobaktera produkovali su najveću količinu IAA u medijumu sa dodatkom 500 $\mu\text{g ml}^{-1}$ L-triptofana nakon 48 h inkubacije (35,26 $\mu\text{g ml}^{-1}$), dok je najmanja količina produkovana u medijumu bez dodatka L-triptofana nakon 24 h inkubacije (2,17 $\mu\text{g ml}^{-1}$). (Tabela 22).

U medijumu bez dodatka L-triptofana najveća količina IAA produkovana je u tečnim kulturama izolata Azb3 (8,04 $\mu\text{g ml}^{-1}$), Azb8 (3,29 $\mu\text{g ml}^{-1}$) i Azb12 (5,00 $\mu\text{g ml}^{-1}$) nakon inkubacije u trajanju od 24h, kao i u kulturama izolata Azb3 (27,34 $\mu\text{g ml}^{-1}$), Azb9 (12,58 $\mu\text{g ml}^{-1}$) i Azb10 (26,16 $\mu\text{g ml}^{-1}$) nakon 48h inkubacije. Najmanja količina IAA produkovana je u tečnim kulturama izolata Azb2, Azb4 i Azb6 nakon 24h inkubacije, kao i u kulturama Azb2 i Azb6 nakon 48h inkubacije.

Najveća količina IAA u medijumu sa dodatkom 250 $\mu\text{g ml}^{-1}$ L-triptofana produkovana je u tečnim kulturama izolata Azb3 (7,30 $\mu\text{g ml}^{-1}$), Azb6 (7,60 $\mu\text{g ml}^{-1}$) i Azb8 (7,34 $\mu\text{g ml}^{-1}$) nakon 24h, kao i kulturama Azb3 (41,32 $\mu\text{g ml}^{-1}$), Azb4 (37,69 $\mu\text{g ml}^{-1}$), Azb8 (34,43 $\mu\text{g ml}^{-1}$) i Azb11 (33,26 $\mu\text{g ml}^{-1}$) nakon 48h inkubacije. U tečnim kulturama izolata Azb9 i Azb13 produkovana je najmanja količina IAA nakon 24h, a u kulturi Azb12 nakon 48h inkubacije.

U medijumu sa dodatkom 500 $\mu\text{g ml}^{-1}$ L-triptofana najveća količina IAA produkovana je u tečnim kulturama izolata Azb3, Azb5 i Azb8 (11 $\mu\text{g ml}^{-1}$) nakon inkubacije u trajanju od 24h, a u kulturama Azb3 (53,27 $\mu\text{g ml}^{-1}$) i Azb5 (50,38 $\mu\text{g ml}^{-1}$) nakon inkubacije u trajanju od 48h. Najmanja količina IAA produkovana je u tečnim kulturama izolata Azb9 nakon 24h i Azb12 nakon 48h inkubacije.



Slika 16. Produkcija IAA u medijumu sa različitim koncentracijama L-triptofana

Tabela 22. Produkcija indol-sirćetne kiseline izolata roda *Azotobacter* ($\mu\text{g ml}^{-1}$)

Izolati	Koncentracije L-Triptofana					
	0 $\mu\text{g ml}^{-1}$		250 $\mu\text{g ml}^{-1}$		500 $\mu\text{g ml}^{-1}$	
	24h	48h	24h	48h	24h	48h
Azb1	2,46 \pm 0,10	4,57 \pm 0,84	6,29 \pm 0,19	28,71 \pm 0,02	7,71 \pm 0,18	36,20 \pm 0,23
Azb2	0,34 \pm 0,12	2,96 \pm 0,10	4,00 \pm 0,15	23,73 \pm 0,22	5,68 \pm 0,13	24,38 \pm 0,29
Azb3	8,04 \pm 0,23	27,34 \pm 0,09	7,30 \pm 0,14	41,32 \pm 3,12	11,57 \pm 0,18	53,27 \pm 0,35
Azb4	0,52 \pm 0,19	7,26 \pm 0,05	6,51 \pm 0,12	37,69 \pm 0,19	7,88 \pm 0,10	45,86 \pm 0,19
Azb5	1,79 \pm 0,10	5,26 \pm 0,08	5,82 \pm 0,13	29,44 \pm 0,27	11,74 \pm 0,22	50,38 \pm 0,55
Azb6	0,40 \pm 0,14	1,01 \pm 0,13	7,60 \pm 0,07	27,63 \pm 0,12	9,03 \pm 0,20	43,18 \pm 0,10
Azb7	0,83 \pm 0,15	4,13 \pm 0,14	3,99 \pm 0,17	24,66 \pm 0,17	5,62 \pm 0,13	28,79 \pm 0,10
Azb8	3,29 \pm 0,13	4,73 \pm 0,07	7,34 \pm 0,08	34,43 \pm 0,11	11,44 \pm 0,07	39,07 \pm 0,24
Azb9	0,73 \pm 0,09	12,58 \pm 0,30	3,00 \pm 0,14	23,26 \pm 0,33	2,91 \pm 0,13	30,32 \pm 0,31
Azb10	1,81 \pm 0,07	26,16 \pm 0,17	4,78 \pm 0,19	27,09 \pm 0,12	7,17 \pm 0,06	30,83 \pm 0,30
Azb11	1,32 \pm 0,11	4,99 \pm 0,26	4,32 \pm 0,15	33,26 \pm 0,02	5,30 \pm 0,14	20,41 \pm 0,35
Azb12	5,00 \pm 0,13	5,00 \pm 0,14	4,26 \pm 0,10	13,80 \pm 0,12	6,21 \pm 0,15	19,20 \pm 0,20
Azb13	1,73 \pm 0,14	7,62 \pm 0,32	3,48 \pm 0,13	25,84 \pm 1,88	6,01 \pm 0,22	36,52 \pm 2,74
Prosek	2,17 \pm 0,13	8,74 \pm 0,21	5,28 \pm 0,13	28,53 \pm 0,51	7,56 \pm 0,15	35,26 \pm 0,46

Izolati bacilusa proizveli su najveću količinu IAA u medijumu sa dodatkom 500 $\mu\text{g ml}^{-1}$ L-triptofana nakon 48 h inkubacije (12,06 $\mu\text{g ml}^{-1}$), dok je najmanja količina proizvedena u medijumu bez dodatka L-triptofana nakon 24 h inkubacije (1,34 $\mu\text{g ml}^{-1}$) (Tabela 23).

Najveća količina IAA u medijumu bez dodatka L-triptofana proizvedena je u tečnim kulturama izolata Bac14 (5,92 $\mu\text{g ml}^{-1}$) i Bac15 (3,92 $\mu\text{g ml}^{-1}$) nakon 24h, kao i kulturama Bac14 (9,00 $\mu\text{g ml}^{-1}$) i Bac16 (8,51 $\mu\text{g ml}^{-1}$) nakon 48h inkubacije. U tečnim kulturama izolata Bac1 i Bac4 proizvedena je najmanja količina IAA nakon 24h, kao i u kulturi Bac13 nakon 48h inkubacije.

U medijumu sa dodatkom 250 $\mu\text{g ml}^{-1}$ L-triptofana najveća količina IAA proizvedena je u tečnim kulturama izolata Bac2 (9,99 $\mu\text{g ml}^{-1}$) i Bac14 (9,98 $\mu\text{g ml}^{-1}$) nakon inkubacije u trajanju od 24h, kao i u kulturama izolata Bac9 (19,49 $\mu\text{g ml}^{-1}$) i Bac14 (19,77 $\mu\text{g ml}^{-1}$) nakon 48h inkubacije. Najmanja količina IAA proizvedena je u tečnim kulturama izolata Bac4 i Bac16 nakon 24h inkubacije, kao i u kulturama Bac1 i Bac13 nakon 48h inkubacije.

Najveća količina IAA u medijumu sa dodatkom 500 $\mu\text{g ml}^{-1}$ L-triptofana proizvedena je u tečnim kulturama izolata Bac6 (10,89 $\mu\text{g ml}^{-1}$), Bac14 (11,71 $\mu\text{g ml}^{-1}$) i Bac15 (12,53 $\mu\text{g ml}^{-1}$) nakon inkubacije u trajanju od 24h, kao i u kulturama Bac9 (32,74 $\mu\text{g ml}^{-1}$), Bac14 (21,61 $\mu\text{g ml}^{-1}$)

¹⁾ i Bac15 (20,02 $\mu\text{g ml}^{-1}$) nakon inkubacije u trajanju od 48h. Najmanja količina IAA produkovana je u tečnim kulturama izolata Bac1, Bac4 i Bac7 nakon 24h inkubacije, kao i u kulturama Bac1, Bac12 i Bac13 nakon 48h inkubacije (Tabela 23).

Tabela 23. Produkcija indol-sirćetne kiseline izolata roda *Bacillus* ($\mu\text{g ml}^{-1}$)

Izolati	Koncentracije L-Triptofana					
	0 $\mu\text{g ml}^{-1}$		250 $\mu\text{g ml}^{-1}$		500 $\mu\text{g ml}^{-1}$	
	24h	48h	24h	48h	24h	48h
Bac1	0,29 ± 0,12	1,66 ± 0,40	1,70 ± 0,05	2,25 ± 0,02	1,75 ± 0,12	4,23 ± 0,07
Bac2	0,75 ± 0,04	2,49 ± 0,13	9,99 ± 0,02	7,57 ± 0,06	7,39 ± 0,18	7,22 ± 0,41
Bac3	0,78 ± 0,05	1,26 ± 0,00	1,87 ± 0,03	6,12 ± 0,02	4,05 ± 0,00	16,79 ± 0,68
Bac4	0,17 ± 0,03	2,13 ± 0,01	0,69 ± 0,01	7,25 ± 0,07	1,47 ± 0,94	8,00 ± 0,01
Bac5	0,91 ± 0,17	1,46 ± 0,01	1,61 ± 2,68	12,85 ± 0,19	2,32 ± 0,08	18,02 ± 0,03
Bac6	0,73 ± 0,01	1,97 ± 0,07	7,20 ± 0,12	8,95 ± 0,05	10,89 ± 0,04	11,65 ± 0,04
Bac7	1,66 ± 0,13	3,02 ± 0,02	1,68 ± 0,05	6,14 ± 0,22	1,44 ± 0,10	8,00 ± 0,00
Bac8	0,53 ± 0,09	1,48 ± 0,03	3,74 ± 0,00	5,07 ± 0,18	5,60 ± 0,06	7,32 ± 0,02
Bac9	2,20 ± 0,08	5,59 ± 0,29	5,24 ± 0,03	19,49 ± 0,28	5,36 ± 1,18	32,74 ± 0,08
Bac10	1,49 ± 0,28	6,26 ± 0,08	4,65 ± 0,22	6,76 ± 0,06	5,87 ± 0,05	7,93 ± 0,06
Bac11	0,35 ± 0,15	3,48 ± 0,01	1,75 ± 0,03	5,29 ± 0,02	2,51 ± 0,02	6,48 ± 0,08
Bac12	0,40 ± 0,02	1,48 ± 0,00	3,49 ± 0,16	4,12 ± 0,02	4,57 ± 0,01	4,70 ± 0,04
Bac13	0,62 ± 0,01	0,99 ± 0,27	2,12 ± 0,10	2,73 ± 0,03	2,83 ± 0,00	3,21 ± 0,04
Bac14	5,92 ± 0,01	9,00 ± 0,03	9,98 ± 0,08	19,77 ± 0,52	11,71 ± 0,10	21,61 ± 1,06
Bac15	3,92 ± 0,01	6,91 ± 0,27	6,61 ± 0,10	14,87 ± 0,11	12,53 ± 0,00	20,02 ± 1,06
Bac16	0,68 ± 0,01	8,51 ± 0,03	0,88 ± 0,08	8,81 ± 0,45	2,86 ± 0,10	15,01 ± 0,52
Prosek	1,34 ± 0,08	3,61 ± 0,10	3,95 ± 0,23	8,63 ± 0,14	5,20 ± 0,19	12,06 ± 0,26

Izolati pseudomonasa produkovali su najveću količinu IAA u medijumu sa dodatkom 500 $\mu\text{g ml}^{-1}$ L-triptofana nakon 48 h inkubacije (7,55 $\mu\text{g ml}^{-1}$), dok je najmanja količina produkovana u medijumu bez dodatka L-triptofana nakon 24 h inkubacije (1,09 $\mu\text{g ml}^{-1}$) (Tabela 24).

Najveća količina IAA u medijumu bez dodatka L-triptofana produkovana je u tečnim kulturama izolata Pse5 (1,62 $\mu\text{g ml}^{-1}$), Pse7 (2,30 $\mu\text{g ml}^{-1}$) i Pse14 (1,80 $\mu\text{g ml}^{-1}$) nakon 24h, kao i kulturama Pse1 (4,13 $\mu\text{g ml}^{-1}$), Pse10 (4,65 $\mu\text{g ml}^{-1}$) i Pse12 (4,55 $\mu\text{g ml}^{-1}$) nakon 48h inkubacije. U tečnim kulturama izolata Pse9 i Pse12 produkovana je najmanja količina IAA nakon 24h, kao i u kulturama Pse4, Pse13 i Pse15 nakon 48h inkubacije.

U medijumu sa dodatkom 250 $\mu\text{g ml}^{-1}$ L-triptofana najveća količina IAA produkovana je u tečnim kulturama izolata Pse1 (2,77 $\mu\text{g ml}^{-1}$), Pse2 (2,98 $\mu\text{g ml}^{-1}$), Pse5 (3,54 $\mu\text{g ml}^{-1}$) i Pse7

(2,49 $\mu\text{g ml}^{-1}$) nakon inkubacije u trajanju od 24h, kao i u kulturama izolata Pse1 (13,49 $\mu\text{g ml}^{-1}$), Pse7 (6,02 $\mu\text{g ml}^{-1}$) i Pse15 (6,97 $\mu\text{g ml}^{-1}$) nakon 48h inkubacije. Najmanja količina IAA produkovana je u tečnim kulturama izolata Pse9 i Pse10 nakon 24h inkubacije, kao i u kulturama Pse3, Pse4 i Pse13 nakon 48h inkubacije.

Najveća količina IAA u medijumu sa dodatkom 500 $\mu\text{g ml}^{-1}$ L-triptofana produkovana je u tečnim kulturama izolata Pse1 (4,91 $\mu\text{g ml}^{-1}$), Pse5 (4,32 $\mu\text{g ml}^{-1}$) i Pse7 (5,60 $\mu\text{g ml}^{-1}$) nakon inkubacije u trajanju od 24h, kao i u kulturama Pse1 (17,56 $\mu\text{g ml}^{-1}$), Pse6 (14,62 $\mu\text{g ml}^{-1}$) i Pse15 (16,07 $\mu\text{g ml}^{-1}$) nakon inkubacije u trajanju od 48h. Najmanja količina IAA produkovana je u tečnim kulturama izolata Pse8, Pse9 i Pse12 nakon 24h inkubacije, kao i u kulturama Pse4, Pse8 i Pse13 nakon 48h inkubacije.

Tabela 24. Produkcija indol-sirćetne kiseline izolata roda *Pseudomonas* ($\mu\text{g ml}^{-1}$)

Izolati	Koncentracije L-Triptofana					
	0 $\mu\text{g ml}^{-1}$		250 $\mu\text{g ml}^{-1}$		500 $\mu\text{g ml}^{-1}$	
	24h	48h	24h	48h	24h	48h
Pse1	1,52 \pm 0,05	4,13 \pm 0,19	2,77 \pm 0,16	13,49 \pm 0,00	4,91 \pm 0,11	17,56 \pm 0,06
Pse2	0,64 \pm 0,04	3,00 \pm 0,08	2,98 \pm 0,03	4,88 \pm 0,05	3,13 \pm 0,13	5,91 \pm 0,03
Pse3	0,95 \pm 0,10	1,44 \pm 0,10	2,06 \pm 0,07	2,95 \pm 0,05	2,40 \pm 0,06	5,92 \pm 0,07
Pse4	1,34 \pm 0,24	1,54 \pm 0,01	1,92 \pm 0,25	2,77 \pm 0,01	3,53 \pm 0,05	3,63 \pm 4,27
Pse5	1,62 \pm 0,05	1,74 \pm 0,05	3,54 \pm 0,04	5,15 \pm 0,07	4,32 \pm 0,15	6,10 \pm 0,11
Pse6	0,80 \pm 0,17	3,99 \pm 0,02	1,43 \pm 0,17	5,15 \pm 0,09	3,23 \pm 0,06	14,62 \pm 0,00
Pse7	2,30 \pm 0,28	3,76 \pm 0,08	2,49 \pm 0,08	6,02 \pm 0,10	5,60 \pm 0,04	8,73 \pm 0,04
Pse8	0,59 \pm 0,17	1,83 \pm 0,01	1,70 \pm 0,34	3,44 \pm 0,05	1,74 \pm 0,12	3,61 \pm 0,16
Pse9	0,39 \pm 0,02	3,91 \pm 0,02	0,67 \pm 0,16	3,95 \pm 0,04	1,81 \pm 0,08	4,66 \pm 0,03
Pse10	0,51 \pm 0,12	4,65 \pm 0,20	0,83 \pm 0,17	5,38 \pm 0,06	3,14 \pm 0,08	5,42 \pm 0,03
Pse11	1,55 \pm 0,01	2,54 \pm 0,20	1,89 \pm 0,08	3,35 \pm 0,22	2,91 \pm 0,13	4,61 \pm 0,02
Pse12	0,36 \pm 0,00	4,55 \pm 0,03	1,17 \pm 0,83	4,94 \pm 0,09	1,84 \pm 0,04	5,49 \pm 0,05
Pse13	0,55 \pm 0,15	1,37 \pm 0,06	1,59 \pm 0,07	2,13 \pm 0,07	2,41 \pm 0,09	2,96 \pm 0,09
Pse14	1,80 \pm 0,03	2,26 \pm 0,01	1,70 \pm 0,06	3,83 \pm 0,19	2,83 \pm 0,07	7,91 \pm 0,06
Pse15	1,39 \pm 0,26	1,52 \pm 0,39	1,56 \pm 0,05	6,97 \pm 0,07	3,22 \pm 0,03	16,07 \pm 0,10
Prosek	1,09 \pm 0,11	2,81 \pm 0,10	1,89 \pm 0,17	4,96 \pm 0,08	3,13 \pm 0,08	7,55 \pm 0,34

Izolati aktinomiceta produkovali su najveću količinu IAA u medijumu sa dodatkom 500 $\mu\text{g ml}^{-1}$ L-triptofana nakon 48 h inkubacije (12,37 $\mu\text{g ml}^{-1}$), dok je najmanja količina produkovana u medijumu bez dodatka L-triptofana nakon 24 h inkubacije (0,42 $\mu\text{g ml}^{-1}$) (Tabela 25).

U medijumu bez dodatka L-triptofana najveća količina IAA produkovana je u tečnoj kulturi izolata Act5 i Act6, nakon inkubacije u trajanju od 24h ($0,66$ i $0,71 \mu\text{g ml}^{-1}$) i 48h ($3,20$ i $3,65 \mu\text{g ml}^{-1}$). Najmanja količina IAA produkovana je u tečnim kulturama izolata Act3 i Act4 nakon 24h inkubacije, kao i u kulturama Act2 i Act3 nakon 48h inkubacije.

Najveća količina IAA u medijumu sa dodatkom $250 \mu\text{g ml}^{-1}$ L-triptofana produkovana je u tečnim kulturama izolata Act5 i Act6 nakon 24h ($7,05$ i $9,24 \mu\text{g ml}^{-1}$) i 48h inkubacije ($11,61$ i $15,86 \mu\text{g ml}^{-1}$). U tečnim kulturama izolata Act3 i Act4 produkovana je najmanja količina IAA nakon 24h, kao i u kulturama Act1 i Act4 nakon 48h inkubacije.

U medijumu sa dodatkom $500 \mu\text{g ml}^{-1}$ L-triptofana najveća količina IAA produkovana je u tečnoj kulturi izolata Act5 i Act6, nakon inkubacije u trajanju od 24h ($20,05$ i $20,25 \mu\text{g ml}^{-1}$) i 48h ($7,82$ i $28,74 \mu\text{g ml}^{-1}$). Najmanja količina IAA produkovana je u tečnim kulturama izolata Act1 i Act2 nakon 24 i 48h inkubacije.

Tabela 25. Produkcija indol-sirćetne kiseline izolata roda *Streptomyces* ($\mu\text{g ml}^{-1}$)

Izolati	Koncentracije L-Triptofana					
	$0 \mu\text{g ml}^{-1}$		$250 \mu\text{g ml}^{-1}$		$500 \mu\text{g ml}^{-1}$	
	24h	48h	24h	48h	24h	48h
Act1	$0,61 \pm 0,25$	$0,95 \pm 0,18$	$4,30 \pm 0,11$	$4,67 \pm 0,07$	$2,27 \pm 0,10$	$2,73 \pm 0,03$
Act2	$0,26 \pm 0,10$	$0,46 \pm 0,09$	$5,41 \pm 0,26$	$8,30 \pm 0,15$	$1,96 \pm 0,10$	$3,09 \pm 0,36$
Act3	$0,12 \pm 0,05$	$0,40 \pm 0,03$	$4,01 \pm 0,41$	$6,54 \pm 0,02$	$2,92 \pm 0,31$	$4,70 \pm 0,09$
Act4	$0,14 \pm 0,06$	$1,09 \pm 0,01$	$3,15 \pm 0,38$	$4,71 \pm 0,08$	$4,00 \pm 0,40$	$14,69 \pm 0,06$
Act5	$0,66 \pm 0,13$	$3,20 \pm 0,36$	$7,05 \pm 0,08$	$9,24 \pm 0,11$	$20,05 \pm 0,28$	$20,25 \pm 0,03$
Act6	$0,71 \pm 0,04$	$3,65 \pm 0,26$	$11,61 \pm 0,34$	$15,86 \pm 0,24$	$7,82 \pm 0,03$	$28,74 \pm 0,17$
Prosek	$0,42 \pm 0,10$	$1,62 \pm 0,15$	$5,92 \pm 0,26$	$8,22 \pm 0,11$	$6,50 \pm 0,20$	$12,37 \pm 0,12$

6.1.4.2. Produkcija siderofora, cijanovodonika (HCN), egzopolisaharida (EPS) i P-solubilizacija

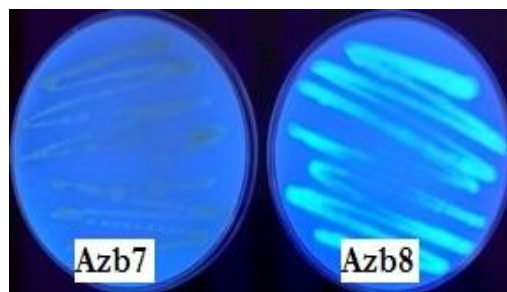
Svi izolati roda *Azotobacter* osim Azb6, Azb7 i Azb11 produkovali su siderofore. Kod izolata Azb9 izmerena je najveća zona produkcije (≥ 15 mm), nešto manja širina zone (5-15 mm) izmerena je kod izolata Azb5, Azb10 i Azb12, dok je najmanja zona produkcije zabeležena kod izolata Azb1, Azb2, Azb3, Azb4, Azb8 i Azb13 (1-5 mm) (Tabela 26).

Produkcija cijanovodonika utvrđena je kod izolata Azb3, Azb5, Azb8 i Azb 10. Svi izolati osim Azb7 i Azb9 produkovali su egzopolisaharide (Slika 17). Sposobnost rastvaranja fosfata na PVK podlozi, sa širinom zone solubilizacije između 1 i 4 mm utvrđena je kod svih izolata osim kod Azb9. Na NBRIP podlozi utvrđena je sposobnost rastvaranja fosfata kod svih izolata, pri čemu je najveća zona solubilizacije (4-7 mm) izmerena kod izolata Azb7, Azb8 i Azb12 (Tabela 26).

Tabela 26. Produkcija siderofora, HCN, EPS i P-solubilizacija izolata roda *Azotobacter*

Izolati	Siderofore	HCN	EPS	P-solubilizacija	
				PVK	NBRIP
Azb1	+	-	+	+	+
Azb2	+	-	±	+	+
Azb3	+	+	+	+	+
Azb4	+	-	+	+	+
Azb5	++	+	+	+	+
Azb6	-	-	+	+	+
Azb7	-	-	-	+	++
Azb8	+	+	+	+	++
Azb9	+++	-	-	-	+
Azb10	++	+	+	+	+
Azb11	-	-	+	+	+
Azb12	++	-	+	+	++
Azb13	+	-	+	+	+

Produkcija siderofora: zona promene boje (\pm) < 1 mm, (+) 1–5 mm, (++) 5–15 mm, (+++) > 15 mm; produkcija cijanovodonika (HCN) i egzopolisaharida (EPS): (+) pozitivna reakcija/produguje, (\pm) slabija produkcija, (-) negativna reakcija/ne produguje; Sposobnost P-solubilizacije: širina zone rastvaranja fosfata (+) 1-4 mm, (++) 4-7 mm, (+++) > 7 mm



Slika 17. Produkcija egzopolisaharida izolata *Azotobacter* sp. Azb7 (-) i Azb8 (+)

Svi izolati roda *Bacillus* osim Bac10 produkovali su siderofore. Najveći producenti bili su Bac5, Bac8, Bac9 i Bac15 (> 15 mm), dok je kod većine drugih izolata širina zone produkcije bila između 5 i 15 mm. Produkcija HCN utvrđena je kod šest izolata Bac6, Bac7, Bac8, Bac11, Bac12 i Bac14, dok je sposobnost produkcije egzopolisaharida utvrđena je kod devet izolata (Tabela 27).

Kod izolata roda *Bacillus*, sposobnost rastvaranja fosfata na PVK podlozi zabeležena je kod pet izolata, pri čemu je najveća zona solubilizacije izmerena kod Bac3 (> 7 mm), nešto manja kod Bac2 i Bac11 (4-7 mm) i najmanja kod Bac1 i Bac9 (1-4 mm). Na NBRIP podlozi utvrđena je sposobnost rastvaranja fosfata kod istih izolata, sa širinom zone solubilizacije između 1 i 4 mm kod izolata Bac9 i između 4 i 7 mm kod izolata Bac1, Bac2, Bac3 i Bac11 (Tabela 27) (Slika 18).



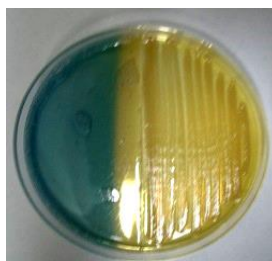
Slika 18. P-solubilizacija izolata *Bacillus* sp. Bac3

Tabela 27. Produkcija siderofora, HCN, EPS i P-solubilizacija izolata roda *Bacillus*

Izolati	Siderofore	HCN	EPS	P-solubilizacija	
				PVK	NBRIP
Bac1	++	-	+	+	++
Bac2	++	-	+	++	++
Bac3	++	-	-	+++	++
Bac4	++	-	+	-	-
Bac5	+++	-	-	-	-
Bac6	++	+	+	-	-
Bac7	++	+	+	-	-
Bac8	+++	+	-	-	-
Bac9	+++	-	-	+	+
Bac10	-	-	+	-	-
Bac11	+	+	+	++	++
Bac12	++	+	+	-	-
Bac13	++	-	-	-	-
Bac14	+	+	-	-	-
Bac15	+++	-	-	-	-
Bac16	+	-	+	-	-

Produkcija siderofora: zona promene boje (\pm) < 1 mm, (+) 1–5 mm, (++) 5–15 mm, (+++) 15 > mm; produkcija cijanovodonika (HCN) i egzopolisaharida (EPS): (+) pozitivna reakcija/produguje, (\pm) slabija produkcija, (-) negativna reakcija/ne produguje; sposobnost P-solubilizacije: širina zone rastvaranja fosfata (+) 1-4 mm, (++) 4-7 mm, (+++) > 7 mm

Svi izolati roda *Pseudomonas*, osim Pse8, Pse13 i Pse15, produkovali su siderofore (Slika 19). Najveće zone produkcije (5-15 mm) izmerene su kod izolata Pse5, Pse6, Pse7, Pse12 i Pse14. Kod ostalih izolata izmerena je zona produkcije između 1 i 5 mm. Izolati Pse3, Pse5, Pse9, Pse14 i Pse15 produkovali su egzopolisaharide, dok je sposobnost produkovanja HCN utvrđena samo kod izolata Pse9 (Tabela 28).

Slika 19. Produkcija siderofora izolata *Pseudomonas* sp. Pse5

Sposobnost rastvaranja fosfata na PVK podlozi zabeležena je kod šest izolata, pri čemu je najveća zona solubilizacije izmerena kod Pse5 (> 7 mm), nešto manja kod Pse7 i Pse9 (4-7 mm) i najmanja kod Pse10, Pse13 i Pse15 (1-4 mm). Na NBRIP podlozi utvrđena je sposobnost rastvaranja fosfata kod sedam izolata, šest sa širinom zone solubilizacije između 1 i 4 mm – Pse4, Pse6, Pse9, Pse10, Pse13 i Pse15, i jednog izolata - Pse5 sa širinom zone solubilizacije između 4 i 7 mm (Tabela 28).

Tabela 28. Produkcija siderofora, HCN, EPS i P-solubilizacija izolata roda *Pseudomonas*

Izolati	Siderofore	HCN	EPS	P-solubilizacija	
				PVK	NBRIP
Pse1	+	-	-	-	-
Pse2	+	-	-	-	-
Pse3	+	-	+	-	-
Pse4	+	-	-	-	+
Pse5	++	-	+	+++	+++
Pse6	++	-	-	-	-
Pse7	++	-	-	++	+
Pse8	-	-	-	-	-
Pse9	+	+	+	++	+
Pse10	+	-	-	+	+
Pse11	+	-	-	-	-
Pse12	++	-	-	-	-
Pse13	-	-	-	+	+
Pse14	++	-	+	-	-
Pse15	-	-	±	+	+

Produkcija siderofora: zona promene boje (±) < 1 mm, (+) 1–5 mm, (++) 5–15 mm, (+++) > 15 mm; produkcija cijanovodonika (HCN) i egzopolisaharida (EPS): (+) pozitivna reakcija/produguje, (±) slabija produkcija, (-) negativna reakcija/ne produguje; Sposobnost P-solubilizacije: širina zone rastvaranja fosfata (+) 1-4 mm, (++) 4-7 mm, (+++) > 7 mm

Izolati aktinomiceta Act2 i Act6 produkovali su siderofore, a širina zone produkcije bila je između 1 i 5 mm. Produkcija cijanovodonika nije utvrđena kod izolata aktinomiceta, kao ni sposobnost produkcije egzopolisaharida. Sposobnost rastvaranja fosfata na obe podloge utvrđena je kod izolata Act5 i Act6, sa širinom zone solubilizacije između 1 i 4 mm (Tabela 29).

Tabela 29. Produkcija siderofora, HCN, EPS i P-solubilizacija izolata roda *Streptomyces*

Izolati	Siderofore	HCN	EPS	P-solubilizacija	
				PVK	NBRIP
Act1	-	-	-	-	-
Act2	+	-	-	-	-
Act3	-	-	-	-	-
Act4	-	-	-	-	-
Act5	-	-	-	+	+
Act6	+	-	-	+	+

Produkcija siderofora: zona promene boje (\pm) < 1 mm, (+) 1–5 mm, (++) 5–15 mm, (+++) > 15 mm; produkcija cijanovodonika (HCN) i egzopolisaharida (EPS): (+) pozitivna reakcija/produguje, (\pm) slabija produkcija, (-) negativna reakcija/ne produguje; širina zone P-solubilizacije (+) 1-4 mm, (++) 4-7 mm, (+++) > 7 mm

6.1.4.3. Uticaj izolata na rast *Macrophomina sp.*, *Helminthosporium sp.* i *Fusarium sp.*

U ovom radu najveći antagonistički efekat na rast gljiva imali su izolati azotobaktera, dok su izolati pseudomonasa ispoljili najslabiji inhibitory uticaj.

Izolati roda *Azotobacter* ispoljili su najveću antifungalnu aktivnost prema *Helminthosporium sp.*, dok su najmanji antagonistički efekat imali prema *Macrophomina sp.*

Inhibicija rasta *Macrophomina sp.* dobijena je konfrontacijom sa svim izolatima. Najveći RGI zabeležen je primenom izolata Azb9 (23,92%), Azb12 i Azb13 (23,14%). Dobar antagonistički efekat na rast ovog patogena dobijen je sa izolatima Azb6, Azb7, Azb8 i Azb11, dok je najmanji efekat zabeležen sa izolatima Azb3, Azb4 i Azb5 (Tabela 30) (Slika 20).

Slika 20. Inhibicija rasta *Macrophomina sp.*

Najveća inhibicija rasta *Helminthosporium sp.* dobijena je konfrontacijom sa izolatima Azb1 (46,76%), Azb7 (48,25%) i Azb12 (46,27%). Podjednako dobra inhibicija rasta dobijena

je i primenom ostalih izolata *Azotobacter*-a, dok je najmanji efekat postignut sa izolatom Azb4 (Slika 21).

Najveća antifungalna aktivnost prema *Fusarium sp.* dobijena je konfrontacijom sa izolatima Azb6 (43,92%), dok je najslabija inhibicija zabeležena primenom izolata Azb5 (27,06%). Podjednako dobar antagonistički efekat dobijen je i primenom drugih izolata *Azotobacter*-a (RGI 30,58 – 39,21%) (Slika 22).

Tabela 30. Antifungalna aktivnost izolata roda *Azotobacter*

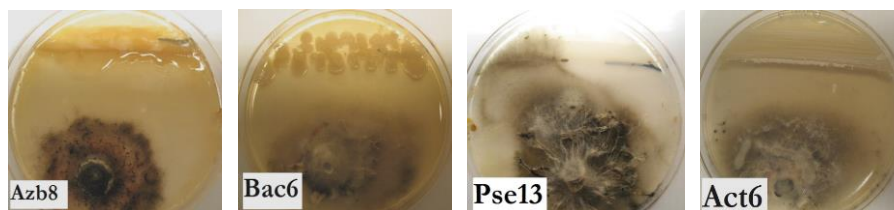
Izolati	<i>Macrophomina sp.</i>		<i>Helminthosporium sp.</i>		<i>Fusarium sp.</i>	
	R ± SD (mm)	RGI (%)	R ± SD (mm)	RGI (%)	R ± SD (mm)	RGI (%)
Azb1	68,33 ± 5,51	19,61	35,67 ± 4,04	46,76	52,33 ± 2,52	38,43
Azb2	69,67 ± 2,52	18,03	38,67 ± 3,21	42,28	51,67 ± 0,58	39,21
Azb3	76,33 ± 6,11	10,20	40,00 ± 1,00	40,30	56,33 ± 3,21	33,73
Azb4	76,00 ± 8,54	10,59	47,33 ± 6,43	29,36	55,00 ± 1,00	35,29
Azb5	75,67 ± 8,08	10,98	39,67 ± 2,52	40,79	52,67 ± 1,52	27,06
Azb6	66,00 ± 1,00	22,35	42,33 ± 7,09	36,82	47,67 ± 0,58	43,92
Azb7	66,33 ± 3,51	21,96	34,67 ± 7,23	48,25	55,67 ± 1,53	34,50
Azb8	66,00 ± 2,00	22,35	45,00 ± 3,60	32,84	62,00 ± 1,73	38,03
Azb9	64,67 ± 5,03	23,92	40,67 ± 1,15	39,30	57,33 ± 4,16	32,55
Azb10	69,00 ± 1,73	18,82	38,33 ± 2,89	42,79	59,00 ± 3,60	30,58
Azb11	66,67 ± 1,15	21,56	42,33 ± 2,31	36,82	56,33 ± 3,51	33,73
Azb12	65,33 ± 2,31	23,14	36,00 ± 6,00	46,27	54,67 ± 4,62	35,68
Azb13	65,33 ± 1,53	23,14	39,00 ± 1,00	41,79	53,00 ± 2,64	37,65
Prosek	68,87 ± 3,77	18,97	39,97 ± 3,73	40,33	54,90 ± 2,40	35,41

R - radijus micelije u ogednoj petri kutiji/rast gljive kada je konfrontirana sa kolonijom bakterije; RGI (Radius Growth Inhibition) procenat inhibicije rasta patogena

Izolati *Bacillus* ispoljili su najveću antifungalnu aktivnost prema *Helminthosporium sp.*, dok su najmanji antagonistički efekat imali prema *Macrophomina sp.* (Tabela 31).

Najveća inhibicija rasta *Macrophomina sp.* dobijena je sa izolatom Bac10 (27,06%). Neznatna inhibicija rasta dobijena je i primenom izolata Bac8 (0,78%), dok ostali izolati nisu imali efekat na rast ovog patogena (Slika 20).

Ispitivanjem inhibicije rasta *Helminthosporium sp.* najveći RGI zabeležen je sa izolatima Bac1 (33,33%) i Bac15 (31,34%). Doobar antagonistički efekat postignut je i sa izolatima Bac6 i Bac14. Izolati Bac7, Bac9 i Bac13 nisu doveli do inhibicije rasta patogena (Slika 21).

Slika 21. Inhibicija rasta *Helminthosporium sp.*

Najveća antifungalna aktivnost prema *Fusarium sp.* dobijena je primenom izolata Bac6 (32,55%), Bac8 (28,62%), Bac10 (29,80%) i Bac16 (34,91%). Slaba inhibicija rasta patogena zabeležena je i sa izolatima Bac3 i Bac4, dok ostali izolati nisu ispoljili antagonistički efekat (Slika 22).

Tabela 31. Antifungalna aktivnost izolata roda *Bacillus*

Izolati	<i>Macrophomina sp.</i>		<i>Helminthosporium sp.</i>		<i>Fusarium sp.</i>	
	R ± SD (mm)	RGI (%)	R ± SD (mm)	RGI (%)	R ± SD (mm)	RGI (%)
Bac1	85,00 ± 0,00	0,00	44,67 ± 3,78	33,33	85,00 ± 0,00	0,00
Bac2	85,00 ± 0,00	0,00	57,33 ± 6,43	14,43	85,00 ± 0,00	0,00
Bac3	85,00 ± 0,00	0,00	64,00 ± 3,46	4,48	81,67 ± 2,89	3,91
Bac4	85,00 ± 0,00	0,00	64,00 ± 3,60	4,48	77,33 ± 7,50	9,02
Bac5	85,00 ± 0,00	0,00	65,00 ± 5,00	2,98	85,00 ± 0,00	0,00
Bac6	85,00 ± 0,00	0,00	49,67 ± 7,02	25,86	57,33 ± 6,43	32,55
Bac7	85,00 ± 0,00	0,00	67,00 ± 0,00	0,00	85,00 ± 0,00	0,00
Bac8	84,33 ± 1,15	0,78	56,33 ± 0,58	15,92	60,67 ± 1,15	28,62
Bac9	85,00 ± 0,00	0,00	67,00 ± 0,00	0,00	85,00 ± 0,00	0,00
Bac10	62,00 ± 1,00	27,06	56,00 ± 2,00	16,42	59,67 ± 3,78	29,80
Bac11	85,00 ± 0,00	0,00	55,67 ± 1,15	16,91	85,00 ± 0,00	0,00
Bac12	85,00 ± 0,00	0,00	60,67 ± 4,93	9,45	85,00 ± 0,00	0,00
Bac13	85,00 ± 0,00	0,00	67,00 ± 0,00	0,00	85,00 ± 0,00	0,00
Bac14	85,00 ± 0,00	0,00	52,00 ± 2,00	22,39	85,00 ± 0,00	0,00
Bac15	85,00 ± 0,00	0,00	46,00 ± 4,34	31,34	85,00 ± 0,00	0,00
Bac16	85,00 ± 0,00	0,00	63,00 ± 4,34	5,97	55,33 ± 0,58	34,91
Prosek	83,52 ± 0,13	1,74	58,46 ± 3,04	12,75	77,62 ± 1,39	8,68

R - radijus micelije u ogleđnoj petri kutiji/rast gljive kada je konfrontirana sa kolonijom bakterije; RGI

(Radius Growth Inhibition) procenat inhibicije rasta patogena

Izolati *Pseudomonasa* ispoljili su najveću antifungalnu aktivnost prema *Fusarium sp.*, dok su najmanji antagonistički efekat imali prema *Macrophomina sp.* (Tabela 32).

Inhibicija rasta *Macrophomina sp.* dobijena je sa izolatima Pse3 (1,96%) i Pse6 (1,18%). Ostali izolati nisu ispoljili antagonistički efekat na rast ovog patogena (Slika 20).

Najveća inhibicija rasta *Helminthosporium sp.* dobijena je sa izolatima Pse3 (13,92%), Pse8 (13,96%) i Pse10 (11,45%). Neznatna inhibicija rasta dobijena je i primenom izolata Pse6, Pse7, Pse11 i Pse14, dok ostali izolati nisu ispoljili efekat na rast ovog patogena (Slika 21).

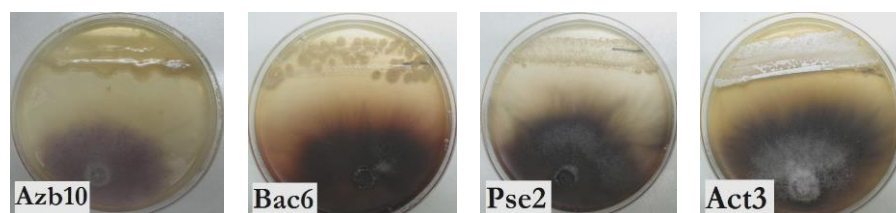
Ispitivanjem inhibicije rasta *Fusarium sp.* najveći RGI zabeležen je sa izolatima Pse1 (26,27%), Pse2 (21,17%), Pse3 (23,92%) i Pse10 (27,45%). Inhibicija rasta patogena dobijena je i sa izolatima Pse6, Pse7, Pse8, Pse9 i Pse13 (Slika 22).

Tabela 32. Antifungalna aktivnost izolata roda *Pseudomonas*

Izolati	<i>Macrophomina sp.</i>		<i>Helminthosporium sp.</i>		<i>Fusarium sp.</i>	
	R ± SD (mm)	RGI (%)	R ± SD (mm)	RGI (%)	R ± SD (mm)	RGI (%)
Pse1	85,00 ± 0,00	0,00	67,00 ± 0,00	0,00	62,67 ± 0,58	26,27
Pse2	85,00 ± 0,00	0,00	67,00 ± 0,00	0,00	67,00 ± 7,00	21,17
Pse3	83,33 ± 2,89	1,96	57,67 ± 4,93	13,92	64,67 ± 5,51	23,92
Pse4	85,00 ± 0,00	0,00	67,00 ± 0,00	0,00	85,00 ± 0,00	0,00
Pse5	85,00 ± 0,00	0,00	67,00 ± 0,00	0,00	85,00 ± 0,00	0,00
Pse6	84,00 ± 1,73	1,18	64,00 ± 1,73	4,48	78,00 ± 2,65	8,23
Pse7	85,00 ± 0,00	0,00	62,00 ± 1,73	7,46	78,00 ± 1,00	8,23
Pse8	85,00 ± 0,00	0,00	57,67 ± 6,81	13,96	80,00 ± 4,36	5,88
Pse9	85,00 ± 0,00	0,00	67,00 ± 0,00	0,00	81,33 ± 6,35	4,32
Pse10	85,00 ± 0,00	0,00	59,33 ± 4,04	11,45	61,67 ± 1,53	27,45
Pse11	85,00 ± 0,00	0,00	60,67 ± 6,66	9,45	85,00 ± 0,00	0,00
Pse12	85,00 ± 0,00	0,00	67,00 ± 0,00	0,00	85,00 ± 0,00	0,00
Pse13	85,00 ± 0,00	0,00	67,00 ± 0,00	0,00	79,67 ± 0,58	6,27
Pse14	85,00 ± 0,00	0,00	61,00 ± 4,58	8,95	85,00 ± 0,00	0,00
Pse15	85,00 ± 0,00	0,00	67,00 ± 0,00	0,00	85,00 ± 0,00	0,00
Prosek	84,82 ± 0,31	0,21	63,89 ± 2,03	4,64	77,53 ± 1,98	8,78

R - radijus micelije u ogleđnoj petri kutiji/rast gljive kada je konfrontirana sa kolonijom bakterije; RGI

(Radius Growth Inhibition) procenat inhibicije rasta patogena



Slika 22. Inhibicija rasta *Fusarium sp.*

Izolati aktinomiceta ispoljili su najveću antifungalnu aktivnost prema *Fusarium sp.* (19,87%), nešto slabiju prema *Helminthosporium sp.* (15,67%), dok su najmanji antagonistički efekat imali prema *Macrophomina sp.* (8,04%) (Tabela 33).

Najveća inhibicija rasta *Macrophomina sp.* dobijena je sa izolatima Act5 (15,68%) i Act6 (15,29%). Najmanji RGI dobijen je primenom izolata Act2 (0,00%) i Act4 (0,79%) (Slika 20).

Ispitivanjem inhibicije rasta *Helminthosporium sp.* najveći RGI zabeležen je sa izolatima Act5 (24,88%) i Act6 (35,33%). Približno jednak RGI zabeležen je primenom izolata Act2 i Act3 (15,42 i 17,42%), dok je najslabiji efekat na rast ovog patogena dobijen sa izolatima Act1 i Act4 (Slika 21).

Najveća antifungalna aktivnost prema *Fusarium sp.* dobijena je sa izolatima Act2 (25,09%), Act3 (31,37%), Act5 (30,59%) i Act6 (26,27%). Slaba inhibicija rasta zabeležena je sa izolatima Act1 (5,88%), dok primena izolata Act4 nije dovela do inhibicije rasta ovog patogena (Slika 22).

Tabela 33. Antifungalna aktivnost izolata roda *Streptomyces*

Izolati	<i>Macrophomina sp.</i>		<i>Helminthosporium sp.</i>		<i>Fusarium sp.</i>	
	R ± SD (mm)	RGI (%)	R ± SD (mm)	RGI (%)	R ± SD (mm)	RGI (%)
Act1	75,33 ± 8,39	11,38	67,00 ± 0,00	0,00	80,00 ± 5,00	5,88
Act2	85,00 ± 0,00	0,00	56,67 ± 6,51	15,42	63,67 ± 3,51	25,09
Act3	80,67 ± 4,04	5,09	55,33 ± 1,53	17,42	58,33 ± 1,53	31,37
Act4	84,33 ± 1,15	0,79	66,33 ± 4,51	1,00	85,00 ± 0,00	0,00
Act5	71,67 ± 7,37	15,68	50,33 ± 5,03	24,88	59,00 ± 3,60	30,59
Act6	72,00 ± 7,21	15,29	43,33 ± 1,53	35,33	62,67 ± 1,53	26,27
Prosek	78,17 ± 4,69	8,04	56,50 ± 3,18	15,67	68,11 ± 2,53	19,87

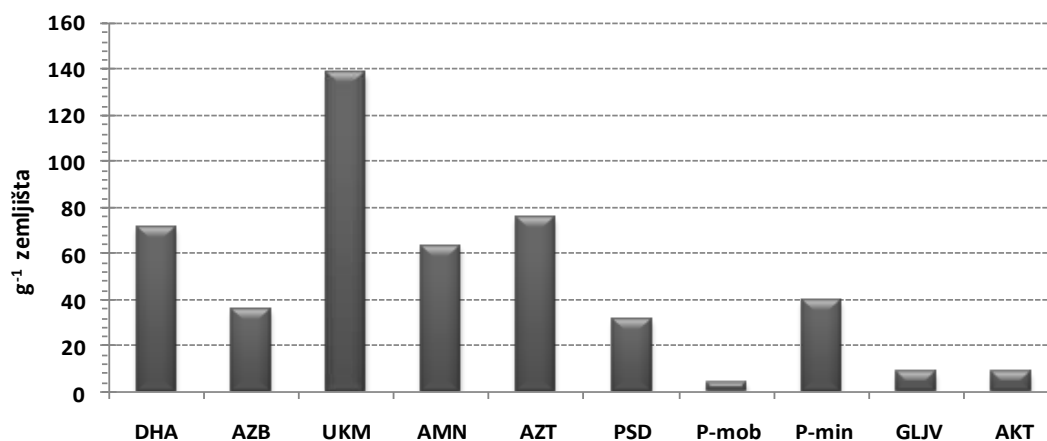
R - radijus micelije u ogleđnoj petri kutiji /rast gljive kada je konfrontirana sa kolonijom bakterije; RGI (Radius Growth Inhibition) procenat inhibicije rasta patogena

6.2. Mikrobiološke karakteristike zemljišta pre inokulacije i setve

Brojnost ispitivanih grupa mikroorganizama u zemljištu pre inokulacije i setve bila je relativno visoka. Ukupan broj mikroorganizama kretao se u milijardama ćelija, brojnost aminoheterotrofa i slobodnih azotofiksatora kretala se u desetinama miliona, a brojnost fosfomineralizatora u milionima ćelija u gramu apsolutno suvog zemljišta.

Brojnost fosfomobilizatora kretala se u stotinama hiljada, a brojnost gljiva i aktinomiceta u desetinama hiljada u gramu apsolutno suvog zemljišta. Najmanja brojnost zabeležena je za grupu azotobaktera i kretala se u stotinama ćelija u gramu apsolutno suvog zemljišta. Dehidrogenazna aktivnost u ispitivanom zemljištu bila je niska - 71,19 $\mu\text{g TPF g}^{-1}$ zemljišta (Grafik 2).

Grafik 2. Brojnost mikroorganizama i aktivnost dehidrogenaze pre setve i inokulacije



DHA – aktivnost dehidrogenaze $\mu\text{g TPF}$; AZB – brojnost azotobaktera $\times 10^1$; UKM – ukupan broj mikroorganizama $\times 10^7$; AMN – brojnost aminoheterotrofa $\times 10^6$; AZT – brojnost slobodnih azotofiksatora $\times 10^6$; PSD – brojnost pseudomonasa $\times 10^6$; P-mob – brojnost fosfomobilizatora $\times 10^5$; P-min – brojnost fosfomineralizatora $\times 10^5$; GLJV – brojnost gljiva $\times 10^4$; AKT – brojnost aktinomiceta $\times 10^4$ (g^{-1} apsolutno suvog zemljišta)

6.3. Efekat inokulacije na brojnost mikroorganizama i enzimsku aktivnost u rizosferi kukuruza

Na osnovu prethodno izvršene karakterizacije izolata, za ispitivanje efekta inokulacije izolata na brojnost i aktivnost mikroorganizama u rizosferi kukuruza, kao i na parametre rasta biljke i prinosa, odabrano je ukupno 8 izolata: tri izolata azotobaktera (Azb5, Azb8 i Azb13),

dva izolata bacilusa (Bac9 i Bac15), dva izolata pseudomonasa (Pse1 i Pse5) i jedan izolat aktinomiceta (Act6).

Ispitivan je uticaj primene inokulanata na ukupan broj mikroorganizama, broj azotobaktera, aminoheterotrofa, slobodnih azotofiksatora, pseudomonasa, fosfomobilizatora, gljiva i aktinomiceta, kao i na aktivnost dehidrogenaze u rizosferi ispitivanih hibrida kukuruza (NS 6010 i NS 6030).

Primenjeni mikroorganizmi su različito uticali na broj ispitivanih grupa mikroorganizama. Brojnost ispitivanih grupa mikroorganizama u toku trajanja oglada varirala je u zavisnosti od primenjenih izolata, vrste hibrida i perioda uzimanja uzoraka.

Prikazani rezultati istraživanja predstavljaju prosečne vrednosti brojnosti ispitivanih grupa mikroorganizama po primenjenim varijantama inokulacije, periodima uzorkovanja i vrsti hibrida za ogled u polukontrolisanim i poljskim uslovima.

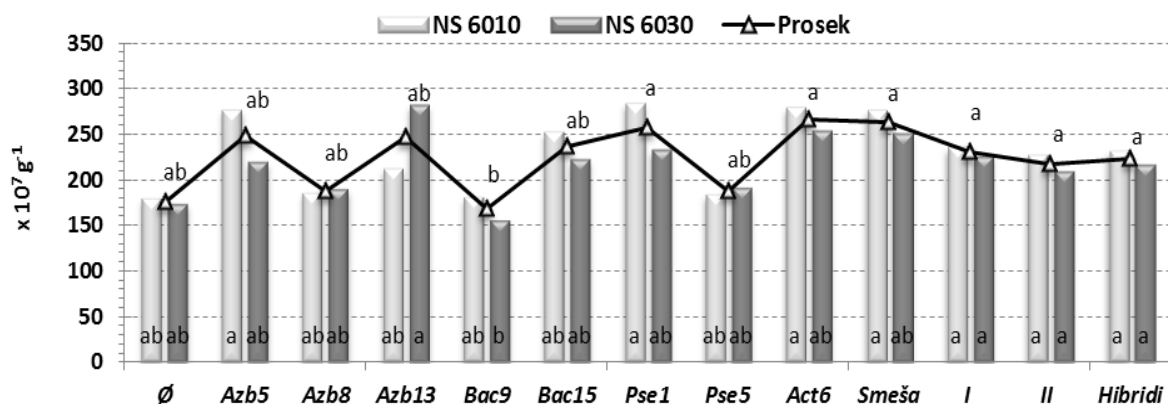
6.3.1. Uticaj inokulacije na ukupan broj mikroorganizama

U polukontrolisanim uslovima, povećanje brojnosti u poređenju sa kontrolnom varijantom dobijeno je primenom svih izolata, osim sa Bac9 u rizosferi hibrida NS 6030.

Najbolji efekat na ukupan broj mikroorganizama u rizosferi hibrida NS 6010 u odnosu na kontrolu ($179,1 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$) dobijen je sa izolatima Azb5 ($276,3 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$), Pse1 ($283,6 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$), Act6 ($278,2 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$) i smešom izolata ($275,5 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$).

Najveće povećanje ukupnog broja mikroorganizama u rizosferi hibrida NS 6030 u poređenju sa kontrolnom varijantom ($173,5 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$) dobijeno je inokulacijom sa Azb13 ($281,7 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$), Pse1 ($232,3 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$), Act6 ($254,1 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$) i smešom izolata ($250,2 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$) (Grafik 3).

U proseku, povećana brojnost u odnosu na kontrolu dobijena je u svim varijantama inokulacije. Ispitivanjem efekta inokulacije po rokovima uzorkovanja, veća brojnost dobijena je u prvom roku uzimanja uzoraka. Posmatranjem efekta inokulacije u zavisnosti od ispitivanog hibrida, veća brojnost zabeležena je u rizosferi hibrida NS 6010 (Grafik 3).



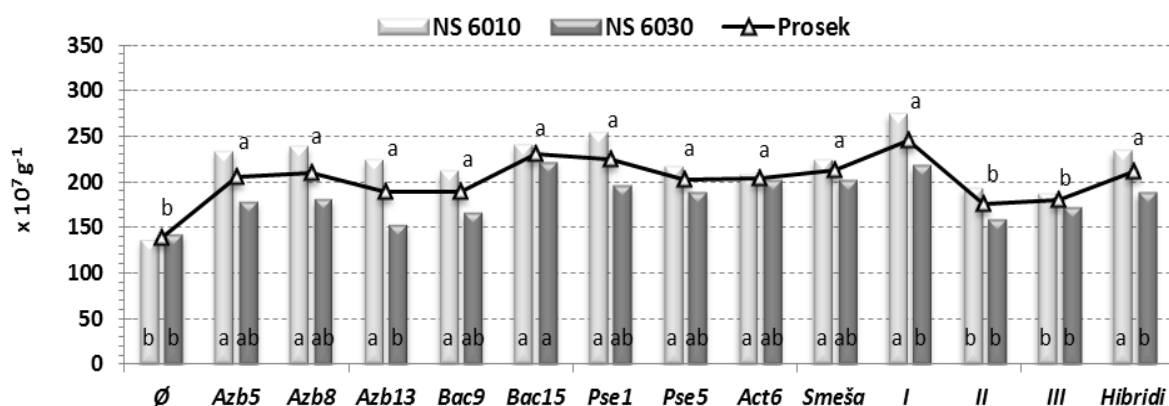
Grafik 3. Uticaj inokulacije na ukupan broj mikroorganizama u polukontrolisanim uslovima (tretmani označeni različitim malim slovom značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

U poljskim uslovima, u rizosferi hibrida NS 6010 značajno veći ukupan broj mikroorganizama u odnosu na kontrolu ($135,6 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$) dobijen je u svim varijantama inokulacije. Najbolji efekat na brojnost ove mikrobiološke grupe postignut je sa izolatima Azb8 ($238,5 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$), Bac15 ($240,6 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$) i Pse1 ($252,8 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$).

Povećanje brojnosti u poređenju sa kontrolnom varijantom ($142,7 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$) u rizosferi hibrida NS 6030 dobijeno je primenom svih izolata, dok je značajan efekat na ukupan broj mikroorganizama postignut inokulacijom sa Bac15 ($220,7 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$) (Grafik 4).

U proseku, značajno veći ukupan broj mikroorganizama u odnosu na kontrolu dobijen je u svim varijantama inokulacije.

Značajno veća brojnost dobijena je u prvom roku u poređenju sa drugim i trećim rokom uzimanja uzoraka. Posmatrano po hibridima, brojnost je značajno veća u rizosferi hibrida NS 6010 (Grafik 4).



Grafik 4. Uticaj inokulacije na ukupan broj mikroorganizama u poljskim uslovima (tretmani označeni različitim malim slovom značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

6.3.2. Uticaj inokulacije na broj azotobaktera

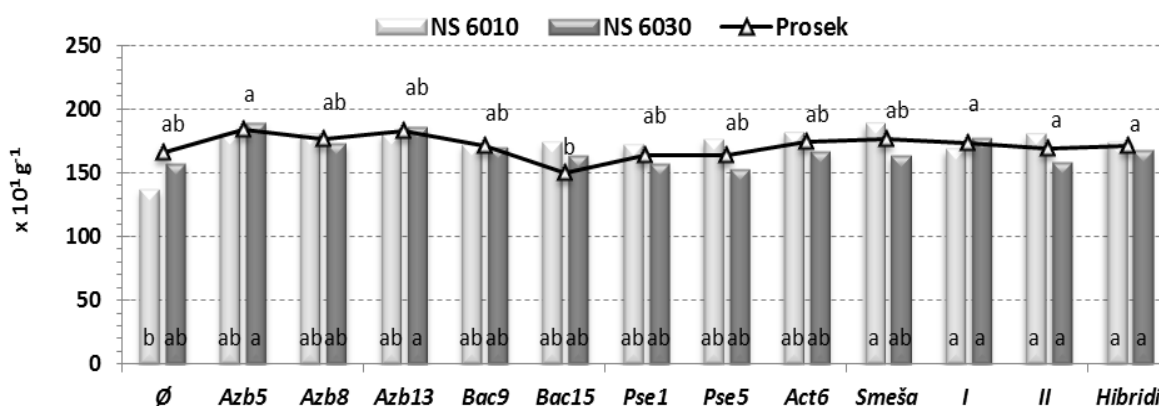
U polukontrolisanim uslovima, broj azotobaktera u odnosu na kontrolu povećan je u svim varijantama inokulacije, osim sa Pse1 i Pse2 u rizosferi hibrida NS 6030.

Značajno povećanje brojnosti azotobaktera u rizosferi hibrida NS 6010 u poređenju sa kontrolnom varijantom ($136,6 \times 10^1 \text{ g}^{-1}$) dobijeno je inokulacijom sa smešom izolata ($188,3 \times 10^1 \text{ g}^{-1}$).

U rizosferi hibrida NS 6030 najveće povećanje brojnosti azotobaktera u odnosu na kontrolu ($157,0 \times 10^1 \text{ g}^{-1}$) dobijeno je inokulacijom sa Azb5 ($188,4 \times 10^1 \text{ g}^{-1}$) i Azb13 ($185,8 \times 10^1 \text{ g}^{-1}$) (Grafik 5).

U proseku, veći broj azotobaktera u odnosu na kontrolu dobijen je primenom svih izolata osim Bac15, Pse1 i Pse5.

U oba roka ispitivanja dobijena je približno jednaka brojnost azotobaktera. Ispitivanjem efekta inokulacije po hibridima, veća brojnost azotobaktera zabeležena je u rizosferi hibrida NS 6010 (Grafik 5).



Grafik 5. Uticaj inokulacije na broj azotobaktera u polukontrolisanim uslovima (tretmani označeni različitim malim slovom značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

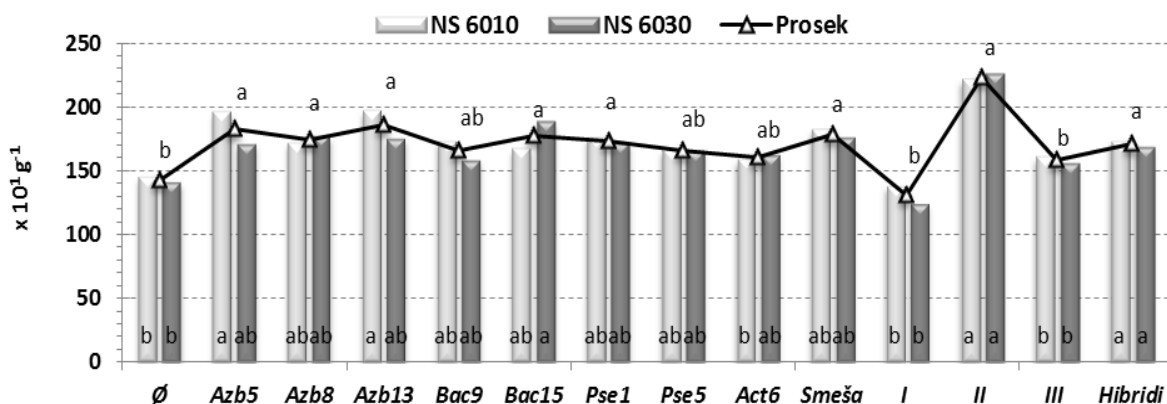
U poljskim uslovima, broj azotobaktera u odnosu na kontrolu povećan je u svim varijantama inokulacije u rizosferi oba hibrida.

Značajno povećanje brojnosti azotobaktera u rizosferi hibrida NS 6010 u poređenju sa kontrolnom varijantom ($144,7 \times 10^1 \text{ g}^{-1}$) dobijeno je inokulacijom sa izolatima Azb5 ($195,5 \times 10^1 \text{ g}^{-1}$) i Azb13 ($197,0 \times 10^1 \text{ g}^{-1}$).

U rizosferi hibrida NS 6030 značajno veći broj azotobaktera u odnosu na kontrolu ($140,4 \times 10^1 \text{ g}^{-1}$) dobijen je inokulacijom sa Bac15 ($188,6 \times 10^1 \text{ g}^{-1}$) (Grafik 6).

U proseku, značajno veći broj azotobaktera u odnosu na kontrolu dobijen je primenom izolata Azb5, Azb8, Azb13, Bac15, Pse1 i smeše svih izolata.

Posmatranjem efekta inokulacije po rokovima uzorkovanja, značajno veća brojnost dobijena je u drugom roku u poređenju sa prvim i trećim rokom uzimanja uzoraka. U zavisnosti od ispitivanog hibrida, efekat inokulacije na brojnost azotobaktera bio je veći u rizosferi hibrida NS 6010 (Grafik 6).



Grafik 6. Uticaj inokulacije na broj azotobaktera u poljskim uslovima (tretmani označeni različitim malim slovom značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

6.3.3. Uticaj inokulacije na broj amonifikatora

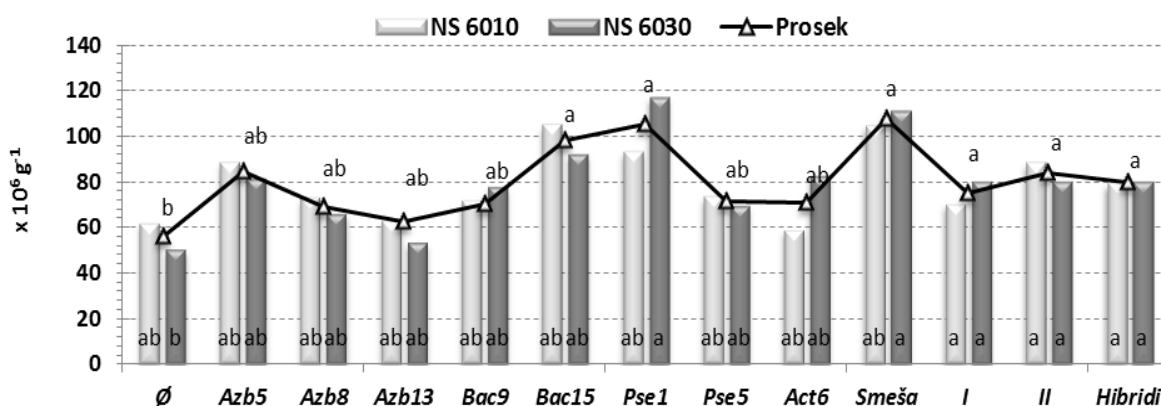
U polukontrolisanim uslovima, broj amonifikatora u odnosu na kontrolu povećan je u svim varijantama osim inokulacije sa izolatom Act6 u rizosferi hibrida NS 6010.

Najveće povećanje brojnosti amonifikatora u rizosferi hibrida NS 6010 u poređenju sa kontrolnom varijantom ($61,5 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) dobijeno je inokulacijom sa izolatom Bac15 ($104,7 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) i smešom svih izolata ($104,3 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$).

U rizosferi hibrida NS 6030 značajno veći broj amonifikatora u odnosu na kontrolu ($50,1 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) dobijen je primenom izolata Pse1 ($116,9 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) i smeše izolata ($111,0 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) (Grafik 7).

U proseku, značajno veći broj amonifikatora u odnosu na kontrolu dobijen je primenom izolata Bac15, Pse1 i smeše svih izolata.

Veća brojnost amonifikatora u proseku za oba hibrida dobijena je u drugom roku uzimanja. U rizosferi ispitivanih hibrida zabeležena je približno jednaka brojnost amonifikatora (Grafik 7).



Grafik 7. Uticaj inokulacije na broj amonifikatora u polukontrolisanim uslovima (tretmani označeni različitim malim slovom značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

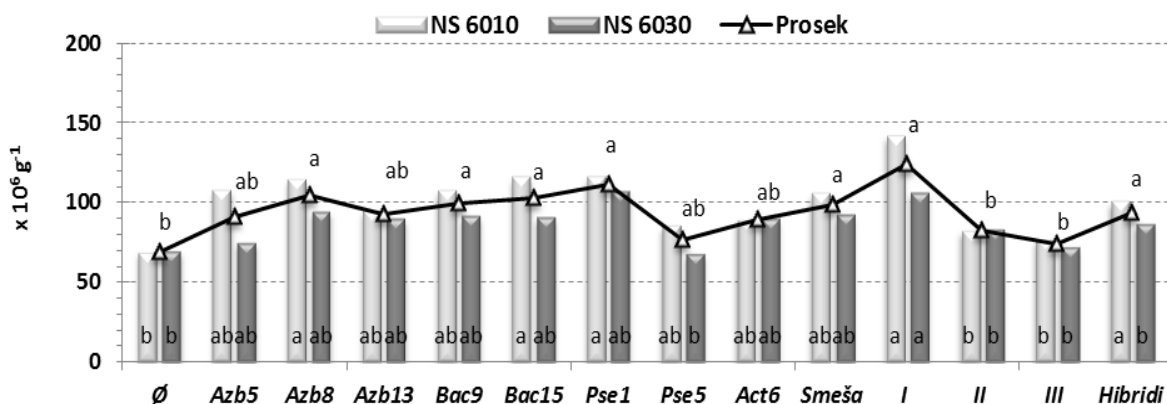
U poljskim uslovima, brojnost amonifikatora u poređenju sa kontrolom povećana je u svim varijantama osim u varijanti sa Pse5 u rizosferi hibrida NS 6030.

Značajno povećanje brojnosti amonifikatora u rizosferi hibrida NS 6010 u poređenju sa kontrolnom varijantom ($68,7 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) dobijeno je inokulacijom sa izolatima Azb8 ($114,3 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$), Bac15 ($115,6 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) i Pse1 ($115,7 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) (Grafik 8).

U rizosferi hibrida NS 6030 najveći broj amonifikatora u odnosu na kontrolu ($69,4 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) dobijen je primenom izolata Azb8 ($94,3 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) i Pse1 ($107,0 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$).

U proseku, značajno veći broj amonifikatora u odnosu na kontrolu dobijen je primenom izolata Azb8, Bac9, Bac15, Pse1 i smeše svih izolata.

Posmatrano po rokovima uzorkovanja, značajno veća brojnost dobijena je u prvom roku u poređenju sa drugim i trećim rokom uzimanja uzoraka. Brojnost amonifikatora značajno je veća u rizosferi hibrida NS 6010 (Grafik 8).



Grafik 8. Uticaj inokulacije na broj amonifikatora u poljskim uslovima (tretmani označeni različitim malim slovom značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

6.3.4. Uticaj inokulacije na broj slobodnih azotofiksatora

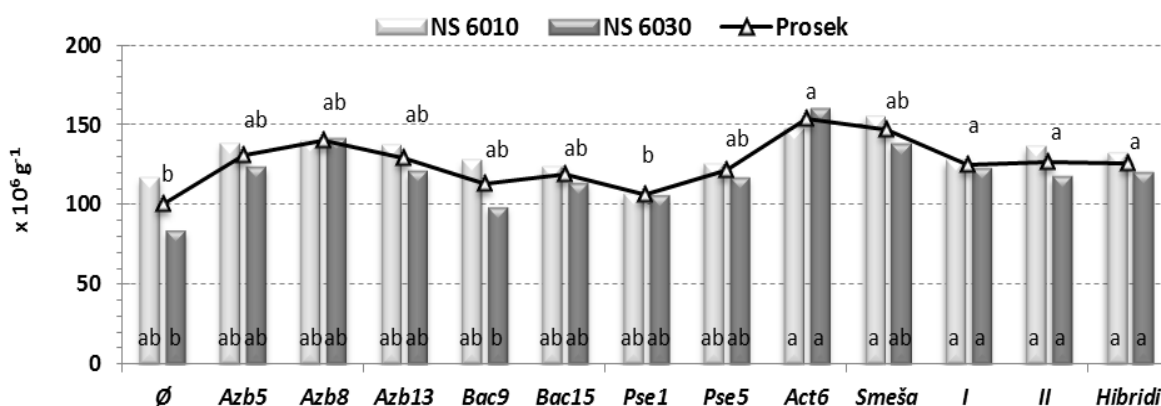
U polukontrolisanim uslovima, brojnost slobodnih azotofiksatora u odnosu na kontrolu povećana je u svim varijantama, osim inokulacije sa Pse1 u rizosferi hibrida NS 6010.

U rizosferi hibrida NS 6010 najveće povećanje broja slobodnih azotofiksatora u poređenju sa kontrolnom varijantom ($116,7 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) dobijeno je inokulacijom sa Act6 ($147,6 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) i smešom izolata ($155,3 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) (Grafik 9).

Značajno povećanje brojnosti slobodnih azotofiksatora u rizosferi hibrida NS 6030 u odnosu na kontrolu ($83,7 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) dobijeno je inokulacijom sa Act6 ($159,8 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) i smešom izolata ($138,2 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$).

U proseku, značajno veći broj slobodnih azotofiksatora u odnosu na kontrolu dobijen je primenom izolata Act6, dok je brojnost povećana i primenom drugih izolata.

U oba roka ispitivanja dobijena je približno jednaka brojnost. Veća brojnost slobodnih azotofiksatora zabeležena je u rizosferi hibrida NS 6010 (Grafik 9).



Grafik 9. Uticaj inokulacije na broj slobodnih azotofiksatora u polukontrolisanim uslovima (tretmani označeni različitim malim slovom značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

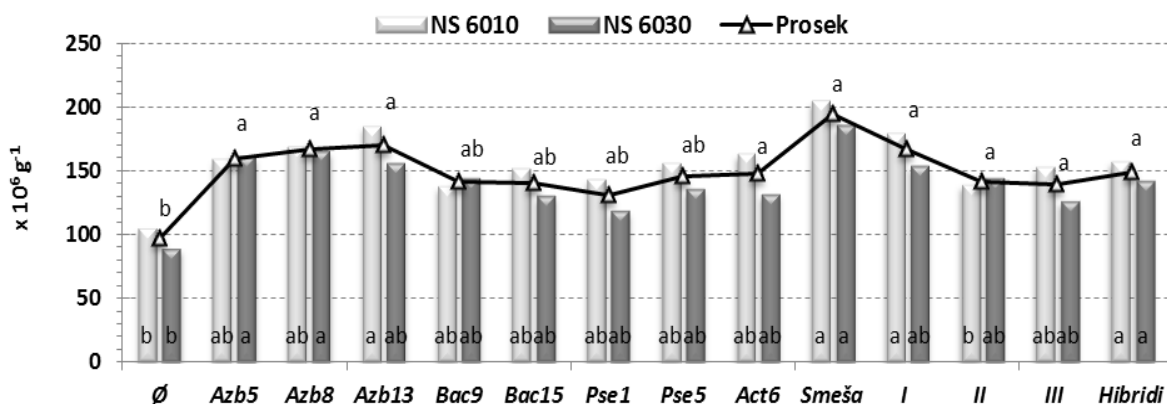
U poljskim uslovima, brojnost slobodnih azotofiksatora u poređenju sa kontrolom povećana je u svim varijantama inokulacije u rizosferi oba hibrida.

U rizosferi hibrida NS 6010 značajno veći broj slobodnih azotofiksatora u poređenju sa kontrolnom varijantom ($104,5 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) dobijen je inokulacijom sa izolatima Azb13 ($184,7 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$), kao i smešom izolata ($204,1 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) (Grafik 10).

Značajno povećanje brojnosti slobodnih azotofiksatora u rizosferi hibrida NS 6030 u odnosu na kontrolu ($88,9 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) dobijeno je inokulacijom sa Azb5 ($160,4 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$), Azb8 ($165,1 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) i smešom izolata ($184,8 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$).

U proseku, značajno veći broj slobodnih azotofiksatora u odnosu na kontrolu dobijen je primenom izolata Azb5, Azb8, Azb13, Act6 i smeše svih izolata.

U prvom roku dobijena je najveća brojnost u poređenju sa drugim i trećim rokom uzimanja uzoraka. Veća brojnost azotobaktera zabeležena je u rizosferi hibrida NS 6010 (Grafik 10).



Grafik 10. Uticaj inokulacije na broj slobodnih azotofiksatora u poljskim uslovima (tretmani označeni različitim malim slovom značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

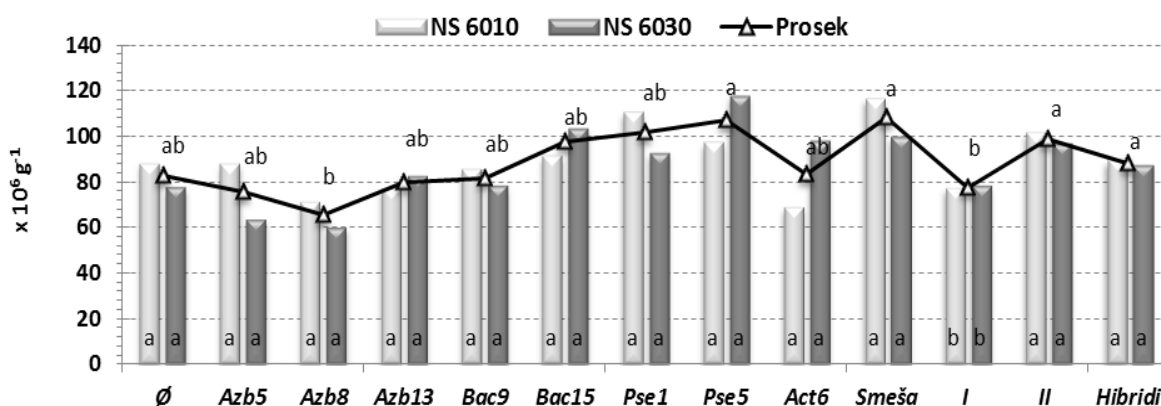
6.3.5. Uticaj inokulacije na broj pseudomonasa

U polukontrolisanim uslovima, u rizosferi hibrida NS 6010 najveće povećanje broja pseudomonasa u odnosu na kontrolu ($88,0 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) dobijeno je primenom izolata Pse1 ($110,6 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) i smeše svih izolata ($116,5 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$). Povećanje brojnosti u poređenju sa kontrolnom varijantom dobijeno je i primenom izolata Bac15 i Pse5 (Grafik 11).

Najveći efekat na broj pseudomonasa u rizosferi hibrida NS 6030 u poređenju sa kontrolnom varijantom ($77,4 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) dobijen je inokulacijom sa izolatima Bac15 ($103,3 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) i Pse5 ($117,7 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$). Brojnost u poređenju sa kontrolom povećana je i primenom izolata Azb13, Bac9, Pse1, Act6 i smeše izolata.

U proseku, veća brojnost u odnosu na kontrolu dobijena je inokulacijom sa izolatima Bac15, Pse1, Pse5, Act6 i smešom izolata.

Brojnost pseudomonasa u drugom roku značajno je veća u poređenju sa prvim rokom uzimanja uzoraka. Približno jednaka brojnost pseudomonasa zabeležena je rizosferi ispitivanih hibrida (Grafik 11).



Grafik 11. Uticaj inokulacije na broj pseudomonasa u polukontrolisanim uslovima (tretmani označeni različitim malim slovom značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

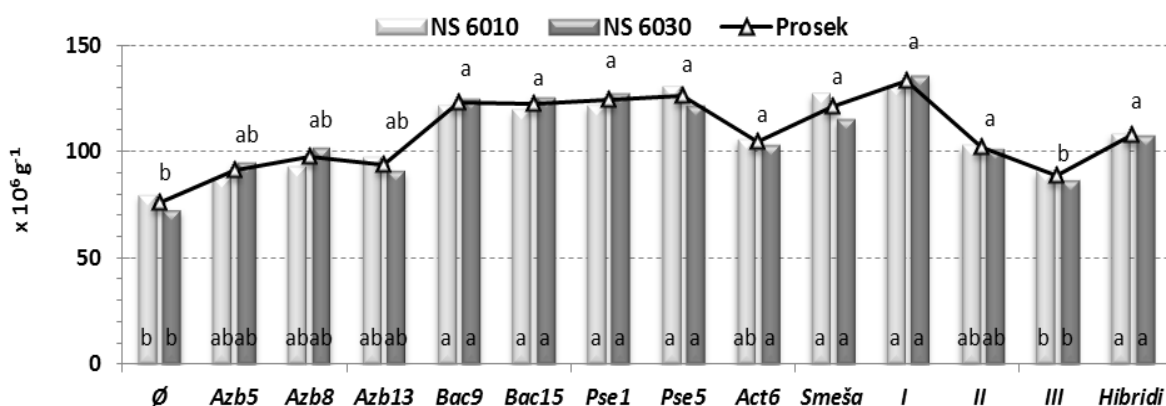
U poljskim uslovima, povećanje brojnosti u poređenju sa kontrolnom varijantom dobijeno je primenom svih izolata.

U rizosferi hibrida NS 6010 značajno veći broj pseudomonasa u odnosu na kontrolu ($79,4 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) dobijen je primenom izolata Bac9 ($121,5 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$), Bac15 ($119,5 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$), Pse1 ($121,3 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$), Pse5 ($130,3 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) i smeše svih izolata ($127,1 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) (Grafik 12).

Značajno povećanje broja pseudomonasa u rizosferi hibrida NS 6030 u poređenju sa kontrolnom varijantom ($72,6 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) dobijeno je inokulacijom sa izolatima Bac9 ($124,4 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$), Bac15 ($125,2 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$), Pse1 ($127,3 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$), Pse5 ($121,4 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$), Act6 ($103,1 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$) i smeše svih izolata ($115,1 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$).

U proseku, značajno veća brojnost u odnosu na kontrolu dobijena je inokulacijom sa Bac9, Bac15, Pse1, Pse5, Act6 i smešom izolata.

Brojnost pseudomonasa u prvom i drugom roku značajno je veća u poređenju sa trećim rokom uzimanja uzoraka, a najveća brojnost dobijena je u prvom roku uzorkovanja. U rizosferi ispitivanih hibrida zabeležena je približno jednaka brojnost pseudomonasa (Grafik 12).



Grafik 12. Uticaj inokulacije na broj pseudomonasa u poljskim uslovima (tretmani označeni različitim malim slovom značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

6.3.6. Uticaj inokulacije na broj fosfomobilizatora

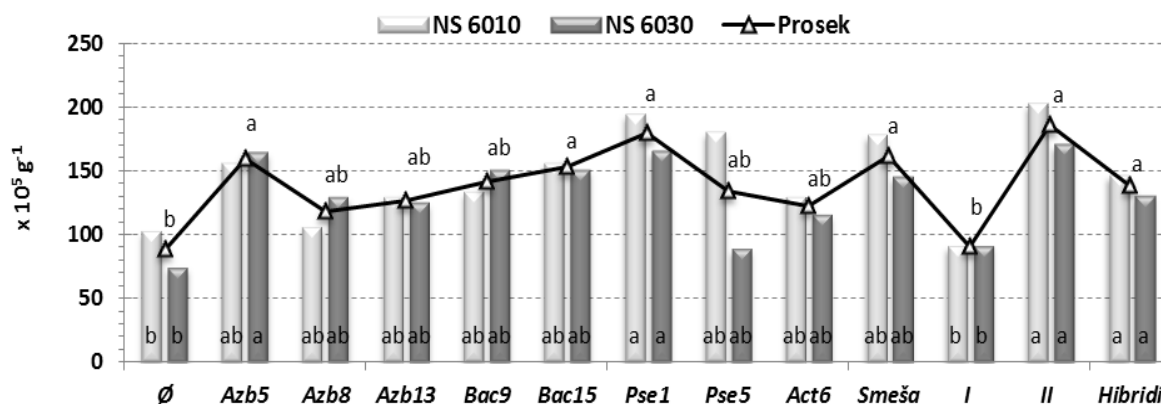
U polukontrolisanim uslovima, broj fosfomobilizatora u odnosu na kontrolu povećan je u svim varijantama inokulacije.

Značajno povećanje brojnosti fosfomobilizatora u rizosferi hibrida NS 6010 u poređenju sa kontrolnom varijantom ($102,1 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$) dobijeno je inokulacijom sa izolatom Pse1 ($194,1 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$) (Grafik 13).

U rizosferi hibrida NS 6030 značajno veći broj fosfomobilizatora u odnosu na kontrolu ($74,3 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$) dobijen je primenom izolata Azb5 ($164,0 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$) i Pse1 ($165,4 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$).

U proseku, značajno veći broj fosfomobilizatora u odnosu na kontrolu dobijen je inokulacijom sa Azb5, Bac15, Pse1 i smešom izolata, dok je povećanje brojnosti postignuto i primenom drugih izolata.

U drugom roku dobijena je značajno veća brojnost u poređenju sa prvim rokom uzimanja uzoraka. Efekat inokulacije na broj fosfomobilizatora bio je veći je u rizosferi hibrida NS 6010 (Grafik 13).



Grafik 13. Uticaj inokulacije na broj fosfomobilizatora u polukontrolisanim uslovima (tretmani označeni različitim malim slovom značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

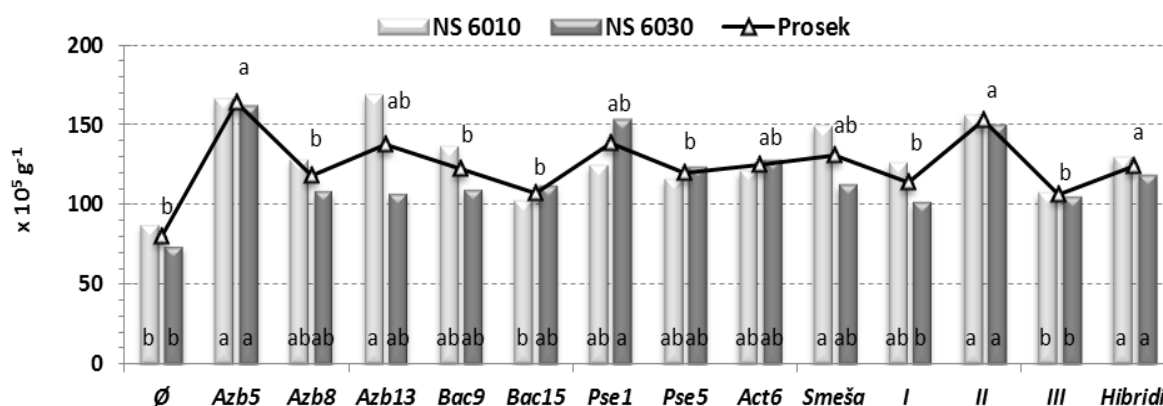
U poljskim uslovima, u rizosferi oba hibrida, broj fosfomobilizatora u odnosu na kontrolu povećan je u svim varijantama inokulacije.

Značajno povećanje brojnosti fosfomobilizatora u rizosferi hibrida NS 6010 u poređenju sa kontrolnom varijantom ($87,0 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$) dobijeno je inokulacijom sa izolatima Azb5 ($165,9 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$), Azb13 ($169,0 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$) i smešom izolata ($149,5 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$) (Grafik 14).

U rizosferi hibrida NS 6030 značajno veći broj fosfomobilizatora u odnosu na kontrolu ($73,6 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$) dobijen je primenom izolata Azb5 ($162,1 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$) i Pse1 ($153,1 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$).

U proseku, značajno veći broj fosfomobilizatora u odnosu na kontrolu dobijen je inokulacijom sa Azb5.

U drugom roku zabeležena je značajno veća brojnost u poređenju sa prvim i trećim rokom uzimanja uzoraka. Veća brojnost dobijena je u rizosferi hibrida NS 6010.



Grafik 14. Uticaj inokulacije na broj fosfomobilizatora u poljskim uslovima (tretmani označeni različitim malim slovom značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

6.3.7. Uticaj inokulacije na broj fosfomineralizatora

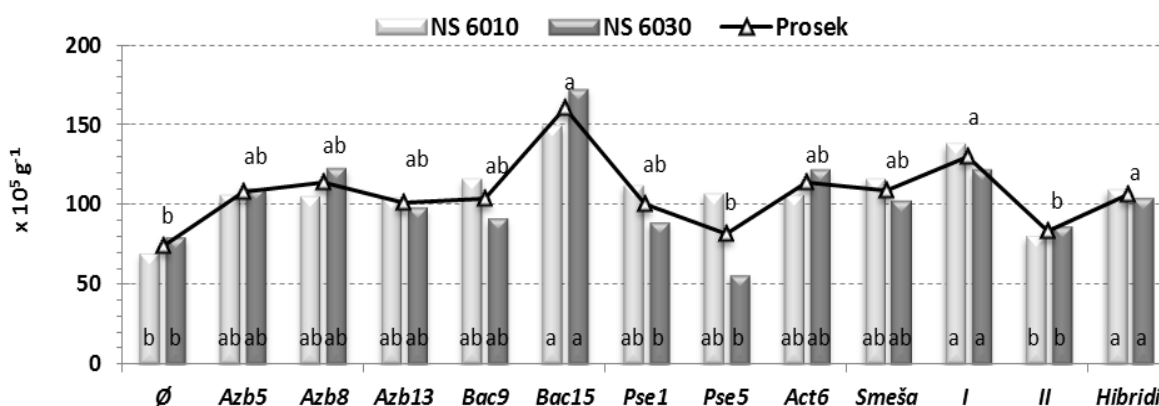
U polukontrolisanim uskolima, brojnost u poređenju sa kontrolom povećana je u svim varijantama osim inokulacije sa izolatom Pse5 u rizosferi hibrida NS 6030.

U rizosferi hibrida NS 6010 značajno veći broj fosfomineralizatora u poređenju sa kontrolnom varijantom ($69,0 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$) dobijen je inokulacijom sa izolatom Bac15 ($149,0 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$) (Grafik 15).

Značajno povećanje brojnosti fosfomineralizatora u rizosferi hibrida NS 6030 u odnosu na kontrolu ($79,8 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$) dobijeno je inokulacijom sa Bac15 ($172,3 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$).

U proseku, veći broj fosfomineralizatora u odnosu na kontrolu dobijen je primenom svih izolata, dok je značajno povećanje zabeleženo primenom izolata Bac15.

U prvom roku brojnost je značajno veća u odnosu na drugi rok uzorkovanja. Broj fosfomineralizatora bila je veća u rizosferi hibrida NS 6010 (Grafik 15).



Grafik 15. Uticaj inokulacije na broj fosfomineralizatora u polukontrolisanim uslovima (tretmani označeni različitim malim slovom značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

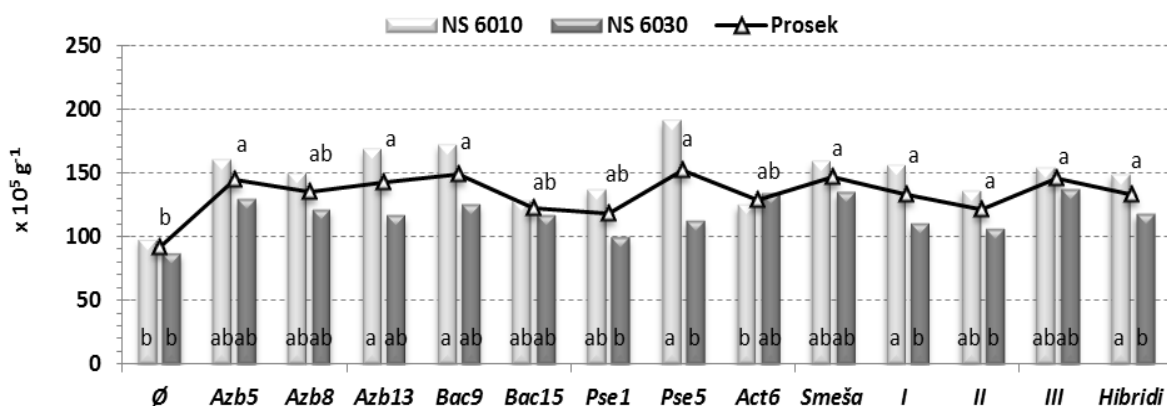
U poljskim uslovima, brojnost fosfomineralizatora u poređenju sa kontrolom povećana je u svim varijantama inokulacije.

U rizosferi hibrida NS 6010 značajno veći broj fosfomineralizatora u poređenju sa kontrolnom varijantom ($97,5 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$) dobijen je inokulacijom sa izolatima Azb13 ($168,3 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$), Bac9 ($171,8 \times 10^5$) i Pse5 ($190,6 \times 10^5$) (Grafik 16).

Najveće povećanje brojnosti fosfomineralizatora u rizosferi hibrida NS 6030 u odnosu na kontrolu ($86,5 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$) dobijeno je inokulacijom sa Act6 ($133,8 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$) i smešom izolata ($134,4 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$).

U proseku, značajno veći broj fosfomineralizatora u odnosu na kontrolu dobijen je primenom izolata Bac9, Pse5 i smeše svih izolata.

Približno jednak broj ove grupe mikroorganizama dobijen je u prvom i trećem roku u rizosferi prvog hibrida, dok je u rizosferi drugog hibrida najveća brojnost zabeležena u trećem roku. Brojnost fosfomineralizatora značajno je veća u rizosferi hibrida NS 6010 (Grafik 16).



Grafik 16. Uticaj inokulacije na broj fosfomineralizatora u poljskim uslovima (tretmani označeni različitim malim slovom značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

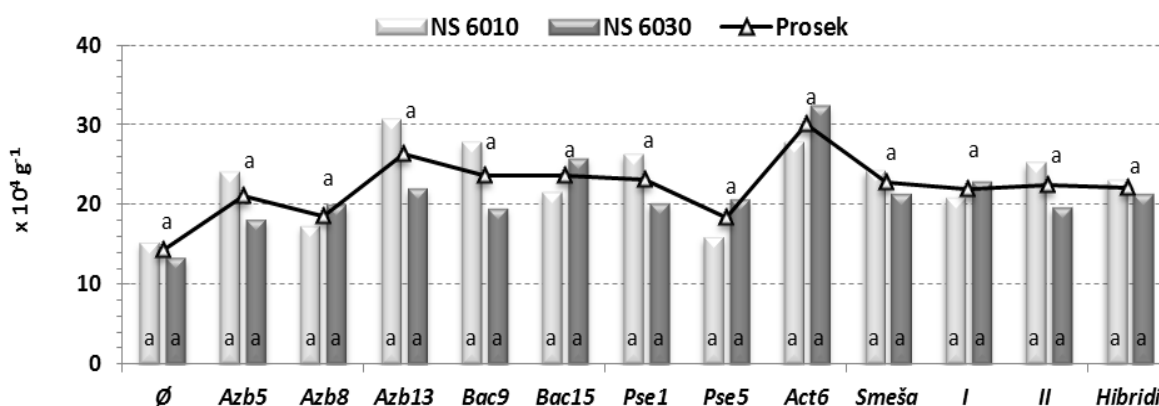
6.3.8. Uticaj inokulacije na broj aktinomiceta

U polukontrolisanim uslovima, u svim varijantama inokulacije brojnost ove grupe mikroorganizama u odnosu na kontrolu je povećana.

U rizosferi hibrida NS 6010 najveći broj aktinomiceta u odnosu na kontrolu ($15,2 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$) dobijen je primenom izolata Azb13 ($30,6 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$), Pse1 ($26,3 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$) i Act6 ($27,7 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$) (Grafik 17).

Najveće povećanje broja aktinomiceta u rizosferi hibrida NS 6030 u poređenju sa kontrolnom varijantom ($13,3 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$) dobijeno je inokulacijom sa izolatima Bac15 ($25,8 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$) i Act6 ($32,3 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$).

U proseku, veća brojnost u odnosu na kontrolu dobijena je inokulacijom u svim varijantama. Ispitivanjem efekta inokulacije po rokovima uzorkovanja, brojnost u oba roka uzorkovanja bila je približno jednaka. Veća brojnost dobijena je u rizosferi hibrida NS 6010 (Grafik 17).



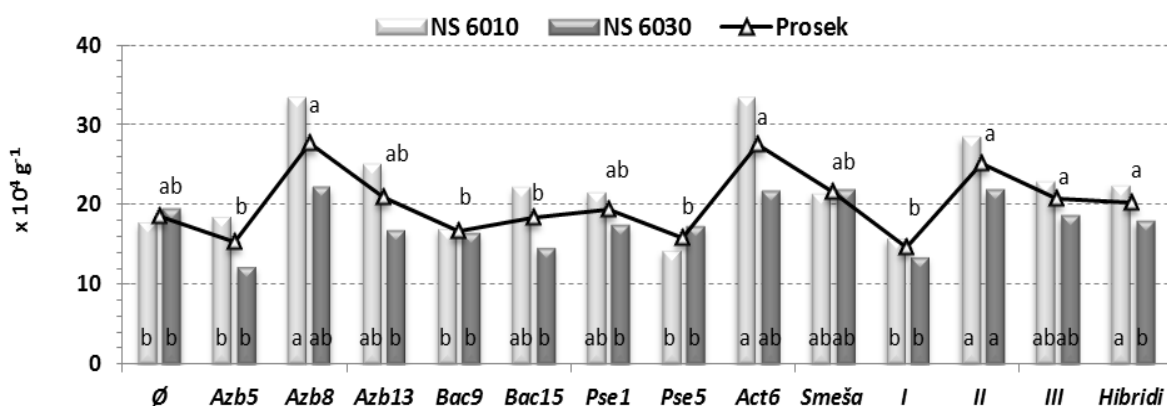
Grafik 17. Uticaj inokulacije na broj aktinomiceta u polukontrolisanim uslovima (tretmani označeni različitim malim slovom značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

U poljskim uslovima, u rizosferi hibrida NS 6010 značajno veći broj aktinomiceta u odnosu na kontrolu ($17,7 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$) dobijen je primenom izolata Azb8 i Act6 ($33,3 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$). Povećanje brojnosti u poređenju sa kontrolnom varijantom dobijeno je i primenom drugih izolata, osim sa izolatima Bac9 i Pse5 (Grafik 18).

Povećanje broja aktinomiceta u rizosferi hibrida NS 6030 u poređenju sa kontrolnom varijantom ($19,5 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$) dobijeno je inokulacijom sa izolatima Azb8 ($22,2 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$), Act6 ($21,7 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$) i smešom svih izolata ($21,9 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$). U drugim varijantama inokulacije brojnost ove grupe mikroorganizama u odnosu na kontrolu je smanjena.

U proseku, veća brojnost u odnosu na kontrolu dobijena je inokulacijom sa Azb8, Azb13, Pse1, Act6 i smešom izolata.

U drugom i trećem roku zabeležen je značajno veći broj u poređenju sa prvim rokom uzimanja uzoraka. Najveća brojnost dobijena je u drugom roku uzorkovanja. U rizosferi hibrida NS 6010 broj aktinomiceta bio je veći (Grafik 18).



Grafik 18. Uticaj inokulacije na broj aktinomiceta u poljskim uslovima (tretmani označeni različitim malim slovom značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

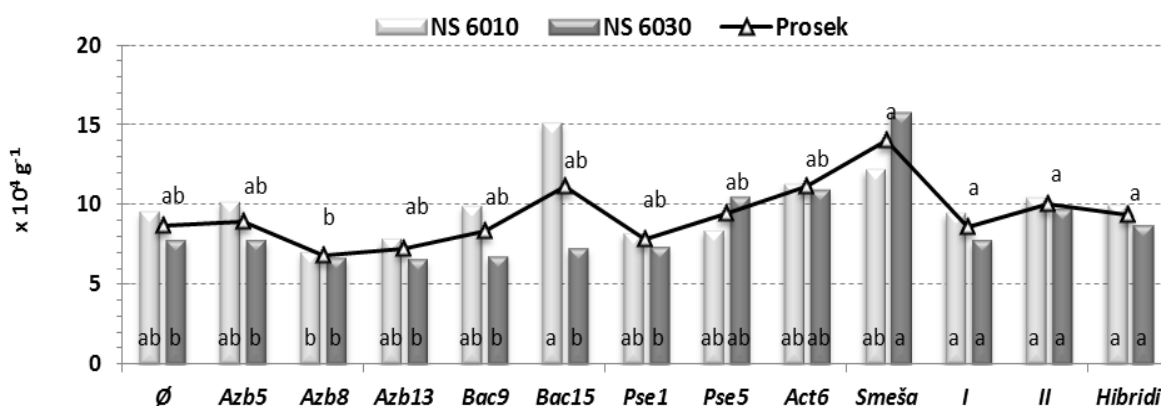
6.3.9. Uticaj inokulacije na broj gljiva

U polukontrolisanim uslovima, u rizosferi hibrida NS 6010 najveći broj gljiva u poređenju sa kontrolnom varijantom ($9,5 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$) dobijen je inokulacijom sa izolatima Bac15 ($15,1 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$) i smešom izolata ($12,2 \times 10^4$). Brojnost ove grupe mikroorganizama u odnosu na kontrolu povećana je i inokulacijom sa izolatima Azb5, Bac9 i Act6 (Grafik 19).

Značajno povećanje brojnosti gljiva u rizosferi hibrida NS 6030 u odnosu na kontrolu ($7,8 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$) dobijeno je inokulacijom sa smešom izolata ($15,8 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$). Brojnost u poređenju sa kontrolom povećana je i inokulacijom sa izolatima Pse5 i Act6.

U proseku, veća brojnost u odnosu na kontrolu dobijena je inokulacijom sa izolatima Azb5, Bac15, Pse5, Act6 i smešom izolata.

Veća brojnost gljiva dobijena je u drugom roku u odnosu na prvi rok uzorkovanja. Efekta inokulacije na brojnost gljiva u zavisnosti od ispitivanog hibrida, bio je veći u rizosferi hibrida NS 6010 (Grafik 19).



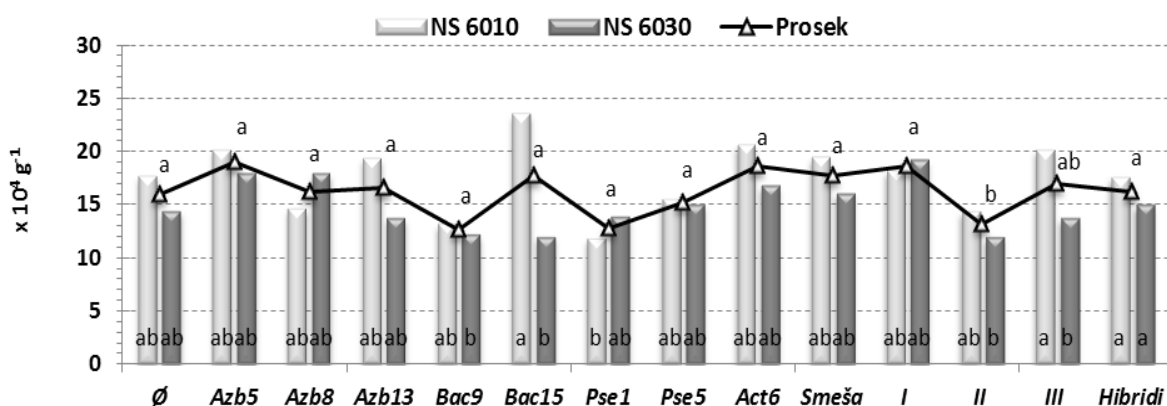
Grafik 19. Uticaj inokulacije na broj gljiva u polukontrolisanim uslovima (tretmani označeni različitim malim slovom značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

U poljskim uslovima, u rizosferi hibrida NS 6010 najveći broj gljiva u poređenju sa kontrolnom varijantom ($17,6 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$) dobijen je inokulacijom sa izolatima Azb5 ($20,1 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$), Bac15 ($23,5 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$) i Act6 ($20,6 \times 10^4$). Brojnost ove grupe mikroorganizama u odnosu na kontrolu povećana je u svim varijantama osim inokulacije sa izolatima Azb8, Bac9, Pse1 i Pse5.

Najveće povećanje brojnosti gljiva u rizosferi hibrida NS 6030 u odnosu na kontrolu ($14,4 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$) dobijeno je inokulacijom sa Azb5 ($17,9 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$) i Azb8 ($17,9 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$). Brojnost u poređenju sa kontrolom povećana je u svim varijantama osim inokulacije sa Azb13, Bac9, Bac15 i Pse1 (Grafik 20).

U proseku, veća brojnost u odnosu na kontrolu dobijena je inokulacijom sa svim izolatima osim sa Bac9, Pse1 i Pse5.

U proseku, broj gljiva u prvom roku je značajno veći u poređenju sa drugim rokom, u kojem je zabeležena manja brojnost u odnosu na treći rok uzorkovanja. U rizosferi hibrida NS 6010 dobijena je veća brojnost gljiva u poređenju sa rizosferom hibrida NS 6030 (Grafik 20).



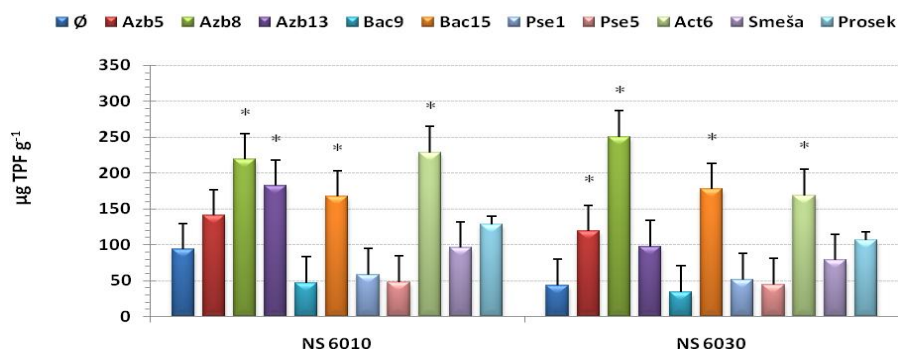
Grafik 20. Uticaj inokulacije na broj gljiva u poljskim uslovima (tretmani označeni različitim malim slovom značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

6.3.10. Uticaj inokulacije na dehidrogenaznu aktivnost

U polukontrolisanim uslovima, u prvom roku uzimanja uzoraka, aktivnost dehidrogenaze u rizosferi hibrida NS 6010 značajno je povećana inokulacijom sa Azb8 (218,80 $\mu\text{g TPF g}^{-1}$), Azb13 (182,10 $\mu\text{g TPF g}^{-1}$), Bac15 (167,10 $\mu\text{g TPF g}^{-1}$) i Act6 (228,30 $\mu\text{g TPF g}^{-1}$). Dehidrogenazna aktivnost u poređenju sa kontrolnom varijantom (93,40 $\mu\text{g TPF g}^{-1}$) povećana je i u varijantama sa Azb5 i smešom izolata (Grafik 21).

U rizosferi hibrida NS 6030 značajan uticaj na dehidrogenaznu aktivnost postignut je inokulacijom sa Azb5 (118,80 $\mu\text{g TPF g}^{-1}$), Azb8 (250,50 $\mu\text{g TPF g}^{-1}$), Bac15 (177,50 $\mu\text{g TPF g}^{-1}$) i Act6 (168,60 $\mu\text{g TPF g}^{-1}$). Smanjenje aktivnosti dehidrogenaze u odnosu na kontrolu (43,60 $\mu\text{g TPF g}^{-1}$) dobijeno je samo u varijanti sa Bac9.

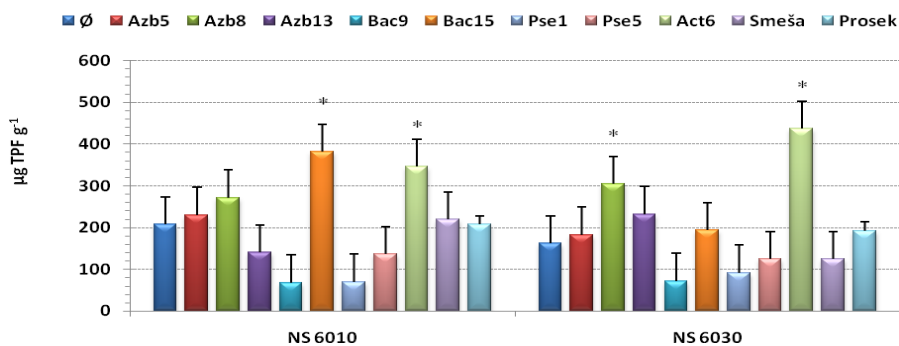
U proseku veća aktivnost dehidrogenaze zabeležena je u rizosferi hibrida NS 6010 (Grafik 21).



Grafik 21. Uticaj inokulacije na DHA u rizosferi ispitivanih hibrida kukuruza u polukontrolisanim uslovima u prvom roku uzimanja uzoraka (barovi predstavljaju LSD vrednosti, tretmani označeni sa * značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

U drugom roku uzimanja uzoraka, dehidrogenazna aktivnost u rizosferi hibrida NS 6010 značajno je povećana inokulacijom sa Bac15 ($382,00 \mu\text{g TPF g}^{-1}$) i Act6 ($346,00 \mu\text{g TPF g}^{-1}$). Povećanje aktivnosti dehidrogenaze u odnosu na neinokulisanu kontrolu ($207,00 \mu\text{g TPF g}^{-1}$) dobijeno je i u varijantama sa Azb5, Azb8 i primenom smeše svih izolata (Grafik 22).

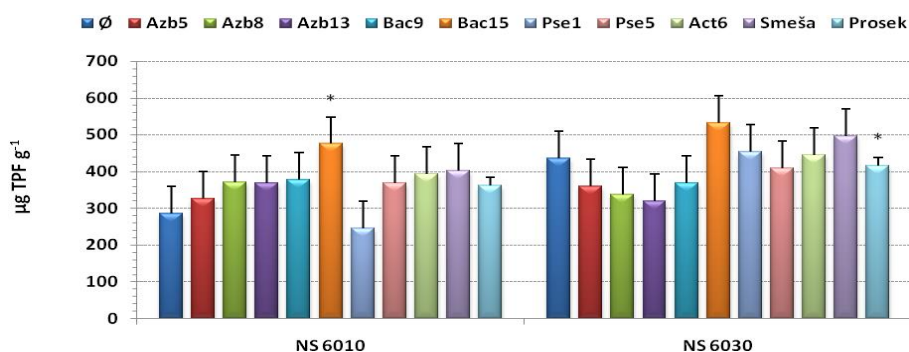
Značajan uticaj na aktivnost dehidrogenaze u rizosferi hibrida NS 6030 ostvaren je inokulacijom sa Azb8 ($305,00 \mu\text{g TPF g}^{-1}$) i Act6 ($437,00 \mu\text{g TPF g}^{-1}$). Povećanje aktivnosti dehidrogenaze u odnosu na neinokulisanu kontrolu ($162,00 \mu\text{g TPF g}^{-1}$) dobijeno je i u varijantama Azb5, Azb13 i Bac15. U proseku, veća aktivnost dehidrogenaze zabeležena je u rizosferi hibrida NS 6010 (Grafik 22).



Grafik 22. Uticaj inokulacije na DHA u rizosferi ispitivanih hibrida kukuruza u polukontrolisanim uslovima u drugom roku uzimanja uzoraka (barovi predstavljaju LSD vrednosti, tretmani označeni sa * značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

U poljskim uslovima, u prvom roku uzimanja uzoraka, značajan efekat na aktivnost dehidrogenaze u rizosferi hibrida NS 6010 postignut je inokulacijom sa Bac15 ($475,00 \mu\text{g TPF g}^{-1}$). Smanjena dehidrogenazna aktivnost u odnosu na kontrolu ($285,00 \mu\text{g TPF g}^{-1}$) zabeležena je samo u varijanti sa Pse1 (Grafik 23).

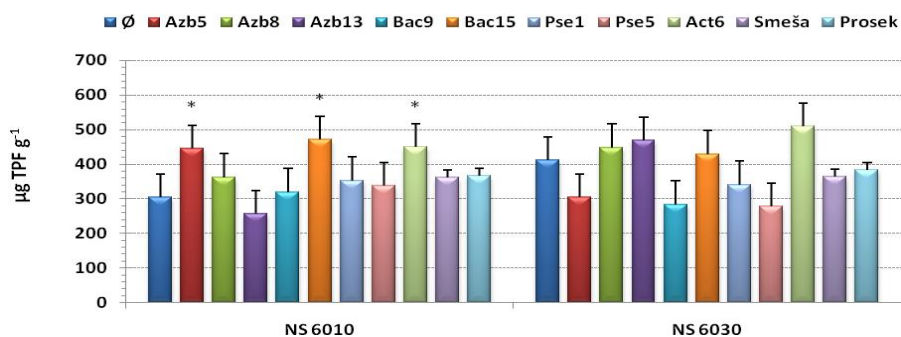
U rizosferi hibrida NS 6030, najveći efekat na dehidrogenaznu aktivnost dobijen je inokulacijom sa Bac15 ($532,00 \mu\text{g TPF g}^{-1}$). Aktivnost enzima dehidrogenaze u poređenju sa kontrolnom varijantom ($436,00 \mu\text{g TPF g}^{-1}$) povećana je i u varijantama sa Pse1, Act6 i smešom izolata. Značajno veća dehidrogenazna aktivnost u proseku zabeležena je u rizosferi hibrida NS 6030 (Grafik 23).



Grafik 23. Uticaj inokulacije na DHA u rizosferi ispitivanih hibrida kukuruza u poljskim uslovima u prvom roku uzimanja uzoraka (barovi predstavljaju LSD vrednosti, tretmani označeni sa * značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

U drugom roku uzimanja uzoraka, značajno povećanje dehidrogenazne aktivnosti u rizosferi hibrida NS 6010 dobijeno je inokulacijom sa Azb5 ($444,78 \mu\text{g TPF g}^{-1}$), Bac15 ($470,80 \mu\text{g TPF g}^{-1}$) i Act6 ($449,08 \mu\text{g TPF g}^{-1}$). Smanjenje DHA u poređenju sa kontrolom ($303,71 \mu\text{g TPF g}^{-1}$) zabeleženo je samo u varijanti sa Azb13 (Grafik 24).

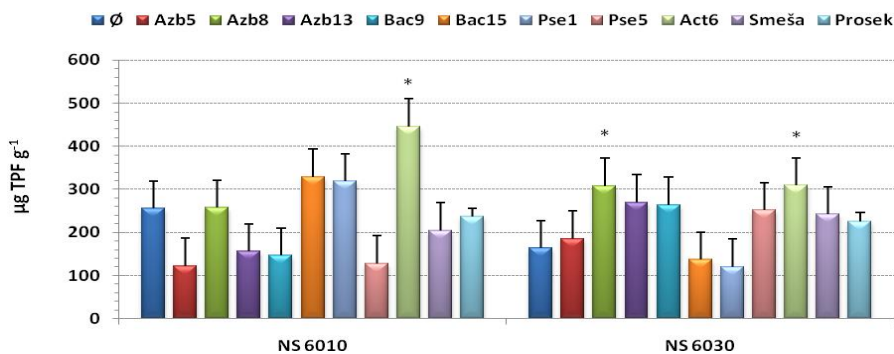
Najveći efekat na DHA u rizosferi hibrida NS 6030 dobijen je inokulacijom sa Act6 ($509,22 \mu\text{g TPF g}^{-1}$). Povećanje DHA u odnosu na kontrolu ($411,10 \mu\text{g TPF g}^{-1}$) dobijeno je inokulacijom sa Azb8, Azb13 i Bac15. Posmatranjem efekta inokulacije po hybridima, veća dehidrogenazna aktivnost zabeležena je u rizosferi hibrida NS 6030 (Grafik 24).



Grafik 24. Uticaj inokulacije na DHA u rizosferi ispitivanih hibrida kukuruza u poljskim uslovima u drugom roku uzimanja uzoraka (barovi predstavljaju LSD vrednosti, tretmani označeni sa * značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

Značajno povećanje dehidrogenazne aktivnosti u trećem roku uzimanja uzoraka, u rizosferi hibrida NS 6010 dobijeno je inokulacijom sa Act6 ($445,99 \mu\text{g TPF g}^{-1}$). Povećanje DHA u poređenju sa kontrolom ($254,93 \mu\text{g TPF g}^{-1}$) zabeleženo je u varijantama Azb8, Bac15 i Pse1 (Grafik 25).

U rizosferi hibrida NS 6030 značajan efekat na DHA dobijen je inokulacijom sa Azb8 i ($308,39 \mu\text{g TPF g}^{-1}$) i Act6 ($308,59 \mu\text{g TPF g}^{-1}$). Povećanje DHA u odnosu na kontrolu ($163,53 \mu\text{g TPF g}^{-1}$) dobijeno je u varijantama sa Azb5, Azb13, Bac9, Pse5 i smešom izolata. Efekat inokulacije na aktivnost dehidrogenaze u proseku bio je veći u rizosferi hibrida NS 6010 (Grafik 25).



Grafik 25. Uticaj inokulacije na DHA u rizosferi ispitivanih hibrida kukuruza u poljskim uslovima u trećem roku uzimanja uzoraka (barovi predstavljaju LSD vrednosti, tretmani označeni sa * značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

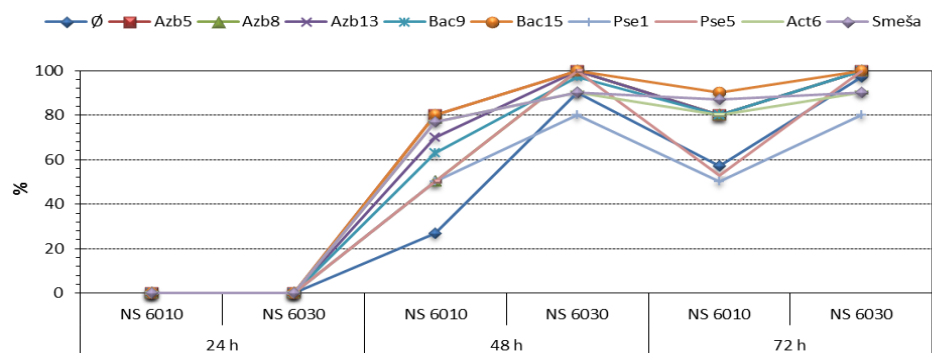
6.4. Efekat na parametre rasta kukuruza, sadržaj pojedinih elemenata u biljnom materijalu i prinos kukuruza

Efekat odabranih izolata na biljku kukuruza ispitan je određivanjem klijavosti semena u laboratorijskim uslovima, merenjem visine i mase nadzemnog dela biljke, sadržaja azota, fosfora, bakra i cinka u nadzemnom dela i listu biljke za oba ogleđa, kao i prinosa zrna za ogleđ u poljskim uslovima.

6.4.1. Uticaj inokulacije na parametre rasta kukuruza

6.4.1.1. Uticaj inokulacije na klijavost semena kukuruza

Efekat inokulacije na klijavost bio je različit i zavisio je od primenjenog izolata, ispitivanog hibrida i vremena inkubacije (Grafik 26). Nakon 48 h inkubacije, najveći procenat klijavosti semena hibrida NS 6010 (80%) dobijen je inokulacijom sa Azb5 i Bac15, dok je kod hibrida NS 6030 najbolji efekat na klijavost utvrđen inokulacijom sa izolatima azotobaktera, zatim sa Bac15 i Pse5 (100%). Nakon 72 h inkubacije, najveći procenat klijavosti semena hibrida NS 6010 utvrđen je inokulacijom sa Bac15 (90%) i smešom izolata (87%), dok je maksimalna klijavost kod hibrida NS 6030 dobijena primenom izolata azotobaktera i bacilusa, kao i izolata Pse5 (100%). U ostalim varijantama takođe je utvrđen visok procenat klijavosti semena, a najmanja klijavost kod oba hibrida zabeležena je primenom izolata Pse1 (Grafik 26).



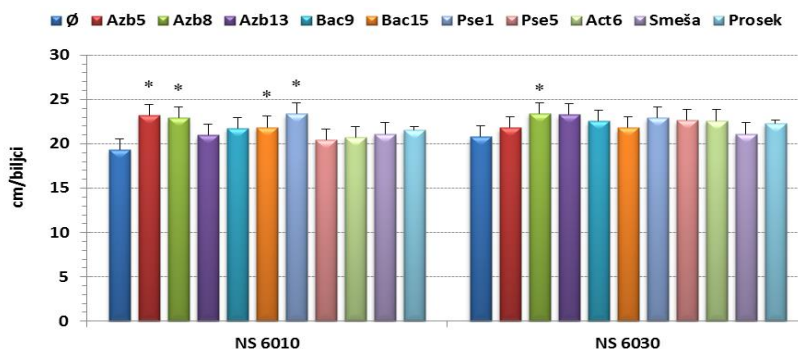
Grafik 26. Uticaj inokulacije na klijavost semena kukuruza

6.4.1.2. Uticaj inokulacije na visinu nadzemnog dela biljke

U polukontrolisanim uslovima, visina nadzemnog dela biljke u fazi 3. lista hibrida NS 6010 značajno je veća nakon inokulacije sa izolatima Azb5 (23,19 cm), Azb8 (22,93 cm), Bac15 (21,86 cm) i Pse1 (23,39 cm). Visina nadzemnog dela biljaka veća je u odnosu na kontrolnu varijantu (19,34 cm) i u drugim varijantama inokulacije (Grafik 27).

Značajan efekat na visinu nadzemnog dela biljke u fazi 3. lista hibrida NS 6030 postignut je inokulacijom sa Azb8 (23,40 cm). Inokulacijom u ostalim varijantama takođe je povećana visina biljke u poređenju sa kontrolom (20,79 cm).

U proseku, veći efekat na visinu nadzemnog dela biljke zabeležen je kod hibrida NS 6030 (Grafik 27).

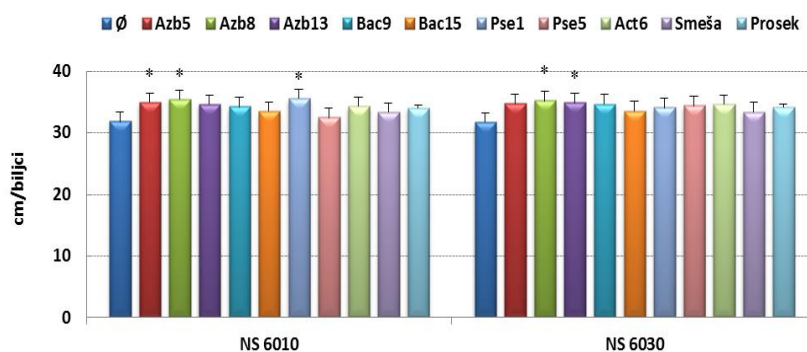


Grafik 27. Uticaj inokulacije na visinu nadzemnog dela biljke u polukontrolisanim uslovima (faza 3. lista) (barovi predstavljaju LSD vrednosti, tretmani označeni sa * značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

U polukontrolisanim uslovima, značajno veća visina nadzemnog dela biljke u fazi 5-7. listova hibrida NS 6010 postignuta je nakon inokulacije sa izolatima Azb5 (34,95 cm), Azb8 (35,45 cm) i Pse1 (35,56 cm). Povećana visina nadzemnog dela biljke u odnosu na kontrolnu varijantu (31,83 cm) zabeležena je i u drugim varijantama inokulacije (Grafik 28).

Značajan efekat na visinu nadzemnog dela biljke u fazi 5-7. listova hibrida NS 6030 postignut je inokulacijom sa Azb8 (35,22 cm) i Azb13 (34,89 cm). Povećanje visine biljke u poređenju sa kontrolom (31,72 cm) dobijeno je i nakon primene drugih izolata.

Inokulacijom je u proseku zabeležen približno jednak uticaj na visinu nadzemnog dela biljke u fazi 5-7. listova kod ispitivanih hibrida (Grafik 28).

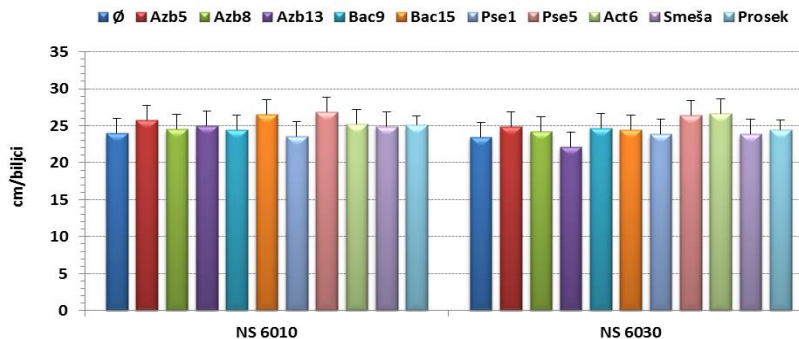


Grafik 28. Uticaj inokulacije na visinu nadzemnog dela biljke u polukontrolisanim uslovima (faza 5-7. lista) (tretmani označeni sa * značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

U poljskim uslovima, najbolji efekat na visinu nadzemnog dela biljke u fazi 3. lista hibrida NS 6010 ostvaren je inokulacijom sa Bac15 (26,57 cm) i Pse5 (26,90 cm). Visina nadzemnog dela biljke povećana je u odnosu na kontrolnu varijantu (24,00 cm) i u drugim varijantama inokulacije izuzev inokulacije sa Pse1 (Grafik 29).

Najveći uticaj na visinu nadzemnog dela biljke u fazi 3. lista hibrida NS 6030 postignut je inokulacijom sa Pse6 (26,43 cm) i Act6 (26,67 cm). Inokulacijom u drugim varijantama takođe je povećana visina biljke u poređenju sa kontrolom (23,50 cm).

Posmatranjem efekta inokulacije u zavisnosti od ispitivanog hibrida, veći efekat na visinu nadzemnog dela biljke u proseku je zabeležen kod hibrida NS 6010 (Grafik 29).



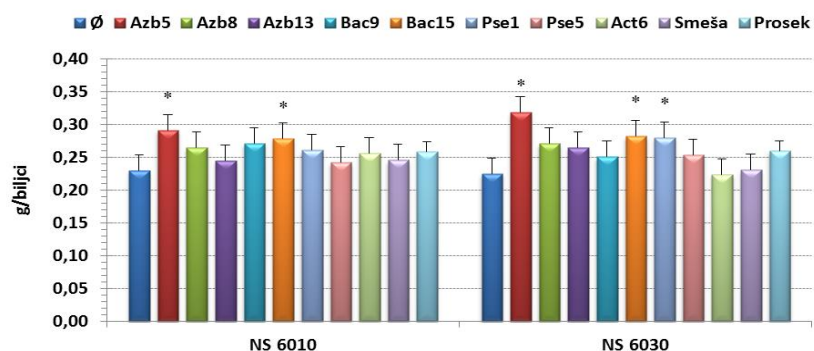
Grafik 29. Uticaj inokulacije na visinu nadzemnog dela biljke u poljskim uslovima (faza 3. lista) (tretmani označeni sa * značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

6.4.1.3. Uticaj inokulacije na suhu masu nadzemnog dela biljke

U polukontrolisanim uslovima, suva masa nadzemnog dela biljke u fazi 3. lista hibrida NS 6010 značajno je veća nakon inokulacije sa izolatima Azb5 (0,291 g) i Bac15 (0,279 g). Masa biljaka veća je u odnosu na kontrolnu varijantu (0,230 g) i u drugim varijantama inokulacije (Grafik 30).

Suva masa biljke u fazi 3. lista hibrida NS 6030 značajno je povećana inokulacijom sa Azb5 (0,318 g), Bac15 (0,282 g) i Pse1 (0,280 g). Inokulacijom u ostalim varijantama takođe je povećana masa suve materije biljke u poređenju sa kontrolom (0,225 g) izuzev u varijanti sa Act6.

Ispitivanjem efekta inokulacije u zavisnosti od ispitivanog hibrida jednako dobar efekat na masu suve materije biljke u proseku zabeležen je kod oba ispitivana hibrida (Grafik 30).

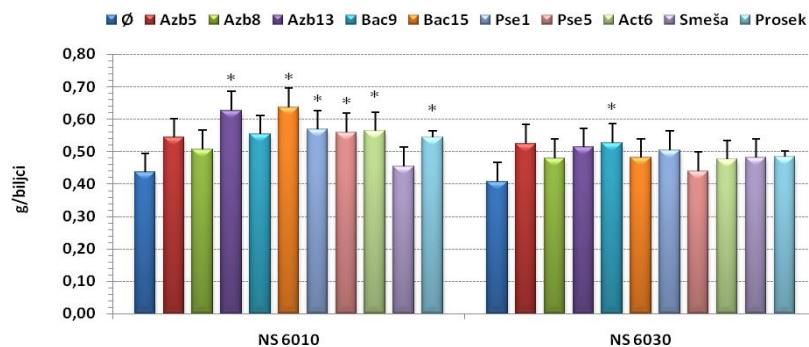


Grafik 30. Uticaj inokulacije na suhu masu nadzemnog dela biljke u polukontrolisanim uslovima (faza 3. lista) (tretmani označeni sa * značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

U polukontrolisanim uslovima, značajno veća masa suve materije nadzemnog dela biljke u fazi 5-7. listova hibrida NS 6010 dobijena je nakon inokulacije sa izolatima Azb13 (0,627 g), Bac15 (0,636 g), Pse1 (0,569 g), Pse5 (0,560 g) i Act6 (0,564 g). Povećana masa suve materije biljke u odnosu na kontrolnu varijantu (0,436 g) zabeležena je i u drugim varijantama inokulacije (Grafik 31).

Značajan efekat na masu suve materije biljke u fazi 5-7. listova hibrida NS 6030 postignut je inokulacijom Bac9 (0,527 g). Povećanje mase suve materije biljke u poređenju sa kontrolom (0,407 g) dobijeno je i primenom drugih izolata.

U proseku, veći efekat na masu suve materije biljke zabeležen je kod hibrida NS 6010 (Grafik 31).

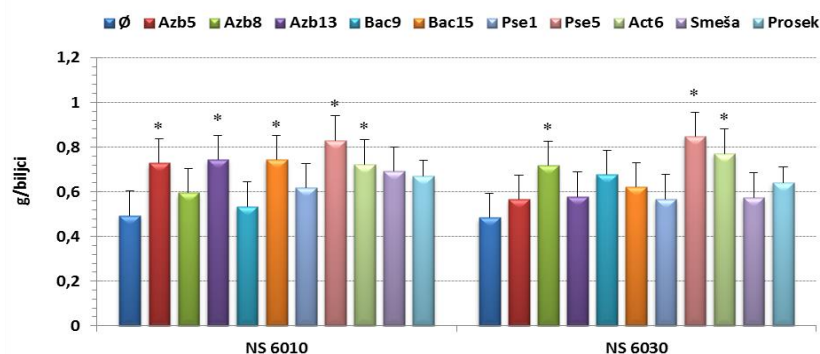


Grafik 31. Uticaj inokulacije na suhu masu nadzemnog dela biljke u polukontrolisanim uslovima (faza 5-7. lista) (tretmani označeni sa * značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

U poljskim uslovima, masa suve materije nadzemnog dela biljke u fazi 3. lista hibrida NS 6010 značajno je povećana nakon inokulacije sa izolatima Azb5 (0,729 g), Azb13 (0,743 g), Bac15 (0,745 g), Pse5 (0,831 g) i Act6 (0,723 g). Povećana masa suve materije biljke u odnosu na kontrolnu varijantu (0,494 g) zabeležena je i u drugim varijantama inokulacije (Grafik 32).

U fazi 3. lista hibrida NS 6030 značajan efekat na masu suve materije biljke postignut je inokulacijom sa Azb8 (0,718 g), Pse5 (0,848 g), Act6 (0,772 g). Povećanje mase suve materije biljke u poređenju sa kontrolom (0,484 g) dobijeno je i primenom drugih izolata.

Veći efekat na masu suve materije biljke u proseku je zabeležen kod hibrida NS 6010 (Grafik 32).



Grafik 32. Uticaj inokulacije na suhu masu nadzemnog dela biljke u poljskim uslovima (faza 3. lista) (tretmani označeni sa * značajno se razlikuju za $P > 0.05$).

6.4.2. Uticaj inokulacije na sadržaj pojedinih elemenata u listu kukuruza

6.4.2.1. Uticaj inokulacije na sadržaj azota u listu kukuruza

U polukontrolisanim uslovima, najveći uticaj na sadržaj azota u listu hibrida NS 6010 postignut je inokulacijom sa izolatom Act6 ($4,25 \text{ mg kg}^{-1}$) i smešom izolata ($4,07 \text{ mg kg}^{-1}$). Povećanje sadržaja azota u odnosu na kontrolu ($3,90 \text{ mg kg}^{-1}$) zabeleženo je u svim varijantama osim inokulacije sa Bac9 i Pse1 (Tabela 34).

U listu hibrida NS 6030 najveći efekat na sadržaj azota dobijen je inokulacijom sa izolatom Azb8 ($4,02 \text{ mg kg}^{-1}$) i smešom izolata ($4,00 \text{ mg kg}^{-1}$). Sadržaj azota u odnosu na neinokulisanu kontrolu ($3,74 \text{ mg kg}^{-1}$) povećan je i nakon inokulacije sa drugim izolatima osim u varijantama sa Bac15 i Pse1.

Posmatranjem efekta inokulacije u zavisnosti od ispitivanog hibrida, sadržaj azota veći je u listu hibrida NS 6010 (Tabela 34).

Tabela 34. Uticaj inokulacije na sadržaj azota (%) u listu kukuruza gajenog u polukontrolisanim uslovima (tretmani označeni sa * značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

Izolati	Ø	Azb5	Azb8	Azb13	Bac9	Bac15	Pse1	Pse5	Act6	Smeša	Prosek
NS6010	3,90	4,02	4,02	3,95	3,78	4,03	3,83	3,99	4,25	4,07	3,98
NS6030	3,75	3,90	4,02	3,91	3,82	3,61	3,67	3,78	3,83	4,00	3,83
Prosek	3,82	3,96	4,02	3,93	3,80	3,82	3,75	3,88	4,04	4,04	3,91

U poljskim uslovima, najbolji efekat na sadržaj azota u listu hibrida NS 6010 postignut je inokulacijom sa Azb8 (2,99 mg kg⁻¹) i smešom izolata (2,95 mg kg⁻¹). U ostalim varijantama inokulacije takođe je zabeleženo povećanje sadržaja azota u odnosu na kontrolu (2,10 mg kg⁻¹) (Tabela 35).

U listu hibrida NS 6030 najveći efekat na sadržaj azota dobijen je inokulacijom sa Azb5 (2,87 mg kg⁻¹) i Azb13 (2,80 mg kg⁻¹). Sadržaj azota u odnosu na neinokulisano kontrolu (2,68 mg kg⁻¹) povećan je i nakon inokulacije sa ostalim izolatima osim u varijantama sa Azb8 i Bac15. Razlike u sadržaju azota između ispitivanih hibrida nisu zabeležene (Tabela 35).

Tabela 35. Uticaj inokulacije na sadržaj azota (%) u listu kukuruza gajenog u poljskim uslovima (tretmani označeni sa * značajno se razlikuju za P>0.05)

Izolati	Ø	Azb5	Azb8	Azb13	Bac9	Bac15	Pse1	Pse5	Act6	Smeša	Prosek
NS6010	2,10	2,87	2,99	2,69	2,73	2,69	2,74	2,79	2,72	2,95	2,73
NS6030	2,68	2,87	2,68	2,80	2,70	2,67	2,73	2,72	2,72	2,76	2,73
Prosek	2,39	2,87	2,83	2,75	2,71	2,68	2,73	2,76	2,72	2,86	2,73

6.4.2.2. Uticaj inokulacije na sadržaj fosfora u listu kukuruza

U polukontrolisanim uslovima, sadržaj fosfora u listu hibrida NS 6010 u odnosu na kontrolu (0,115 %) smanjen je u svim varijantama inokulacije (Tabela 36).

U listu hibrida NS 6030 najveći uticaj na sadržaj fosfora dobijen je inokulacijom sa izolatima Azb5 (0,165 %). Sadržaj fosfora u odnosu na neinokulisano kontrolu (0,108 %) povećan je u svim varijantama inokulacije osim nakon primene izolata Azb8 i Act6. U proseku je zabeležen približno jednak sadržaj fosfora u listu ispitivanih hibrida kukuruza (Tabela 36).

Tabela 36. Uticaj inokulacije na sadržaj fosfora (%) u listu kukuruza gajenog u polukontrolisanim uslovima (tretmani označeni sa * značajno se razlikuju za $P>0.05$)

Izolati	Ø	Azb5	Azb8	Azb13	Bac9	Bac15	Pse1	Pse5	Act6	Smeša	Prosek
NS6010	0,115	0,109	0,111	0,111	0,113	0,112	0,108	0,108	0,109	0,110	0,112
NS6030	0,108	0,165	0,106	0,115	0,108	0,114	0,114	0,110	0,107	0,108	0,113
Prosek	0,112	0,113	0,109	0,113	0,110	0,113	0,111	0,109	0,108	0,109	0,113

U poljskim uslovima, značajan uticaj na sadržaj fosfora u listu hibrida NS 6010 postignut je inokulacijom sa Azb8 (0,214 %). Povećanje sadržaja fosfora u odnosu na kontrolu (0,169 %) zabeleženo je u svim varijantama inokulacije (Tabela 37).

U listu hibrida NS 6030 najbolji efekat na sadržaj fosfora dobijen je inokulacijom sa smešom izolata (0,179 %). Sadržaj fosfora u odnosu na neinokulisanu kontrolu (0,171 %) povećan je i primenom izolata Azb13 i Bac9.

U preseku, inokulacijom je povećan sadržaj u svim varijantama. Posmatranjem efekta inokulacije u zavisnosti od ispitivanog hibrida, sadržaj fosfora značajno je veći u listu hibrida NS 6010 (Tabela 37).

Tabela 37. Uticaj inokulacije na sadržaj fosfora (%) u listu kukuruza gajenog u poljskim uslovima (tretmani označeni sa * značajno se razlikuju za $P>0.05$)

Izolati	Ø	Azb5	Azb8	Azb13	Bac9	Bac15	Pse1	Pse5	Act6	Smeša	Prosek
NS6010	0,169	0,179	0,214*	0,184	0,181	0,197	0,194	0,197	0,200	0,181	0,190*
NS6030	0,171	0,169	0,151	0,177	0,176	0,167	0,170	0,163	0,161	0,179	0,169
Prosek	0,171	0,174	0,183	0,181	0,179	0,182	0,181	0,197	0,181	0,180	0,179

6.4.2.3. Uticaj inokulacije na sadržaj cinka u listu kukuruza

U polukontrolisanim uslovima, značajno smanjenje sadržaja cinka u listu hibrida NS 6010 dobijeno je inokulacijom sa Azb5, Azb13, Bac15, Pse1, Act6 i smešom izolata. Sadržaj cinka u poređenju sa kontrolom ($123,3 \text{ mg kg}^{-1}$) smanjen je u svim varijantama inokulacije (Tabela 38).

U listu hibrida NS 6030 najveći sadržaj cinka dobijen je inokulacijom sa Bac9 (77,4 mg kg⁻¹), Bac15 (86,2 mg kg⁻¹) i Pse1 (79,2 mg kg⁻¹), dok je i u ostalim varijantama osim inokulacije sa Pse5 i Act6 zabeležen povećan sadržaj bakra u poređenju sa neinokulisanom kontrolom (68,9 mg kg⁻¹). Sadržaj cinka neznatno je veći u listu hibrida NS 6030 (Tabela 38).

Tabela 38. Uticaj inokulacije na sadržaj cinka (mg kg⁻¹) u listu kukuruza gajenog u polukontrolisanim uslovima (tretmani označeni sa * značajno se razlikuju za P>0.05)

Izolati	Ø	Azb5	Azb8	Azb13	Bac9	Bac15	Pse1	Pse5	Act6	Smeša	Prosek
NS6010	123,3	58,1	70,2	53,1	73,1	62,8	51,8	95,7	59,4	54,1	70,16
NS6030	68,9	69,3	69,7	72,9	77,4	86,2	79,2	59,2	60,4	69,6	71,28
Prosek	96,1	63,7	69,9	63,0	75,2	74,5	65,5	77,4	59,9	61,8	70,7

U poljskim uslovima, najveće povećanje sadržaja cinka u listu hibrida NS 6010 dobijeno je inokulacijom sa Azb5 (46 mg kg⁻¹) i Pse1 (49,6 mg kg⁻¹). Sadržaj ovog elementa u poređenju sa kontrolom (36,9 mg kg⁻¹) povećan je u svim varijantama osim inokulacije sa Azb13 i smešom izolata (Grafik 39).

U listu hibrida NS 6030 najveći sadržaj bakra dobijen je inokulacijom sa Bac15 (46,8 mg kg⁻¹), dok je u svim varijantama osim inokulacije sa Bac9, Pse5 i Act6 zabeležen povećan sadržaj bakra u poređenju sa neinokulisanom kontrolom (34,5 mg kg⁻¹).

Ispitivanjem efekta inokulacije u zavisnosti od ispitivanog hibrida, sadržaj bakra značajno je veći u listu hibrida NS 6010 (Tabela 39).

Tabela 39. Uticaj inokulacije na sadržaj cinka (mg kg⁻¹) u listu kukuruza gajenog u poljskim uslovima (tretmani označeni sa * značajno se razlikuju za P>0.05)

Izolati	Ø	Azb5	Azb8	Azb13	Bac9	Bac15	Pse1	Pse5	Act6	Smeša	Prosek
NS6010	36,9	46,0	42,8	36,2	42,7	42,0	49,6	37,8	40,2	36,8	41,1*
NS6030	34,5	38,1	38,2	36,1	32,6	46,8	35,5	31,4	28,9	35,8	35,8
Prosek	35,7	42,0	40,5	36,1	37,6	44,4	42,5	34,6	34,5	36,3	38,4

6.4.2.4. Uticaj inokulacije na sadržaj bakra u listu kukuruza

U polukontrolisanim uslovima, značajan uticaj na sadržaj bakra u listu hibrida NS 6010 postignut je inokulacijom sa Pse5 (18,08 mg kg⁻¹). Povećan sadržaja bakra u odnosu na kontrolu (13,65 mg kg⁻¹) zabeležen je i primenom Bac15 (Tabela 40).

U listu hibrida NS 6030 povećan sadržaj bakra dobijen je inokulacijom sa izolatima Azb5 i Bac15 i (13,99 i 15,61 mg kg⁻¹), dok je u ostalim varijantama inokulacije zabeležen smanjen sadržaj bakra u poređenju sa neinokulisanom kontrolom (13,42 mg kg⁻¹).

Posmatranjem efekta inokulacije u zavisnosti od ispitivanog hibrida, sadržaj bakra veći je u listu hibrida NS 6010 (Tabela 40).

Tabela 40. Uticaj inokulacije na sadržaj bakra (mg kg⁻¹) u listu kukuruza gajenog u polukontrolisanim uslovima (tretmani označeni sa * značajno se razlikuju za P>0.05)

Izolati	Ø	Azb5	Azb8	Azb13	Bac9	Bac15	Pse1	Pse5	Act6	Smeša	Prosek
NS6010	13,65	12,23	12,40	11,46	12,91	14,12	12,77	18,08*	13,47	12,38	13,35
NS6030	13,42	13,99	12,46	11,72	11,66	15,61	12,52	11,99	12,75	12,33	12,84
Prosek	13,53	13,11	12,43	11,59	12,28	14,86	12,64	15,03	13,11	12,35	13,10

U poljskim uslovima, sadržaj bakra u listu hibrida NS 6010 smanjen je inokulacijom u svim varijantama u poređenju sa kontrolom (14,87 mg kg⁻¹) (Tabela 41).

U listu hibrida NS 6030 veći sadržaj bakra dobijen je inokulacijom sa Pse1 i smešom izolata (14,94 i 14,66 mg kg⁻¹), dok je u ostalim varijantama inokulacije zabeležen smanjen sadržaj bakra u poređenju sa neinokulisanom kontrolom (13,43 mg kg⁻¹).

Ispitivanjem efekta inokulacije u zavisnosti od ispitivanog hibrida, sadržaj bakra veći je u listu hibrida NS 6010 (Tabela 41).

Tabela 41. Uticaj inokulacije na sadržaj bakra (mg kg⁻¹) u listu kukuruza gajenog u poljskim uslovima (tretmani označeni sa * značajno se razlikuju za P>0.05)

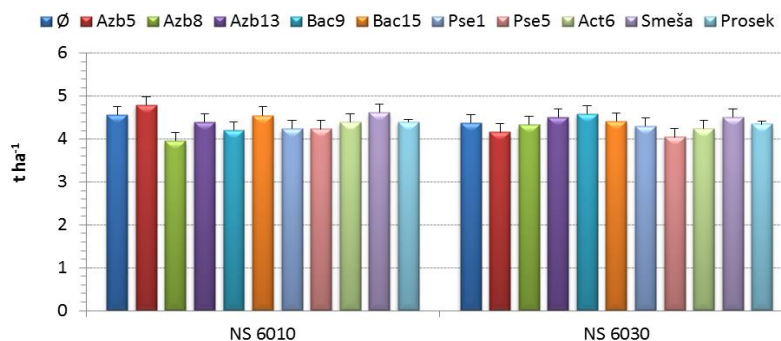
Izolati	Ø	Azb5	Azb8	Azb13	Bac9	Bac15	Pse1	Pse5	Act6	Smeša	Prosek
NS6010	14,87	14,09	14,69	12,99	12,35	13,53	13,18	12,04	11,16	14,17	13,31
NS6030	13,43	12,31	12,37	13,15	11,75	13,38	14,94	11,83	12,06	14,66	12,99
Prosek	14,15	13,20	13,53	13,07	12,05	13,45	14,06	11,93	11,61	14,41	13,15

6.4.3. Uticaj inokulacije na prinos kukuruza

Najbolji efekat na prinos hibrida NS 6010 postignut je inokulacijom sa Azb5 (4,80 t ha⁻¹). Veći prinos u odnosu na kontrolnu varijantu (4,57 t ha⁻¹) zabeležen je i nakon inokulacije sa smešom izolata (4,62 t ha⁻¹) (Grafik 33).

Najveći uticaj na prinos hibrida NS 6030 dobijen je primenom izolata Bac9 (4,59 t ha⁻¹). Prinos zrna povećan je u poređenju sa kontrolom (4,38 t ha⁻¹) i u varijantama sa Azb13, Bac15 i smešom izolata.

Posmatranjem efekta inokulacije u zavisnosti od ispitivanog hibrida, veći efekat na prinos zabeležen je kod hibrida NS 6010 (Grafik 33).



Grafik 33. Uticaj inokulacije na prinos kukuruza (barovi predstavljaju LSD vrednosti, tretmani označeni sa * značajno se razlikuju za $P > 0.05$)

7. DISKUSIJA

Karakterizacija bakterija iz rizosfere kukuruza

Morfološka karakterizacija izolata

U ovim istraživanjima, iz rizosfere kukuruza, izolovano je trinaest izolata bakterija koji pripadaju rodu *Azotobacter*, šesnaest izolata bakterija koji pripadaju rodu *Bacillus*, petnaest izolata bakterija iz roda *Pseudomonas* i šest izolata bakterija koji pripadaju rodu *Streptomyces*. Kolonije su izdvojene na osnovu morfoloških karakteristika i nekoliko puta rekultivisane na odgovarajućim podlogama da bi se dobile čiste kulture.

Kolonije *Azotobacter*-a bile su okruglog oblika, srednje veličine, bele boje, sjajne, delimično prozirne i sluzave; kolonije *Bacillus*-a bile su okrugle, srednje veličine, ravnih do talasastih ivica, glatke, krem do svetlo žute boje. Kolonije *Pseudomonas*-a bile su okruglog oblika, srednje veličine, sjajne i glatke, ravnih ivica, krem do svetlo zelene boje, dok su kolonije *Streptomyces*-a bile čvrste konzistencije, okrugle do nepravilnog oblika, talasastih ivica, različitih boja.

Nakon bojenja po Gramu, utvrđeno je da su bakterije roda *Azotobacter* Gram-negativne, ovalnog oblika, pojedinačne ili u parovima, bez spora. Bakterije roda *Bacillus* su Gram-pozitivne, štapićastog oblika, pojedinačne, u parovima ili lancima različite dužine, formiraju spore. Čelije roda *Pseudomonas* su štapićaste, Gram-negativne i ne stvaraju spore, dok su čelije roda *Streptomyces* končaste, Gram-pozitivne, formiraju supstratni, nadsupstratni i vazdušni micelijum, na kome se stvaraju spore u nizovima.

Fiziološka karakterizacija izolata

Sastav podloga ima ključnu ulogu u optimizaciji mikrobiološkog rasta posebno kada su u pitanju jedinjenja ugljenika i azota koja predstavljaju 70% metaboličkih potreba kultura (Glazer and Nikaido, 2001). Za ispitivanje odnosa izolata prema izvoru ugljenika u ovim istraživanjima odabrano je šest šećera (glukoza, galaktoza, fruktoza, saharoza, manitol i

laktoza). Utvrđeno je da su izolati roda *Azotobacter* kao izvor ugljenika koristili sve ispitivane šećere, osim četiri izolata koji nisu koristili glukozu, saharozu i manitol, kao i jednog izolata koji nije koristio laktozu. Brojna istraživanja pokazala su da *Azotobacter* koristi raznovrsne izvore ugljenika kao što su različiti ugljeni hidrati, alkoholi i soli organskih kiselina i može da fiksira najmanje 10 mg azota po 1 g glukoze (Tchan and New, 1984). U istraživanjima Becking (2006) utvrđeno je da su izolati *A. chroococcum* koristili različite izvore ugljenika kao što su fruktoza, glukozu, saharozu, manitol, etanol, acetil-metil-karbinol, acetat, fumarat, piruvat, glukonat, benzoat i sukcinat. Ahmad *et al.* (2008) utvrdili su da je od 47 izolata koji pripadaju rodu *Azotobacter* 63,83% izolata koristilo glukozu, 70,21% laktozu, 78,72% saharozu, dok je najmanji procenat izolata koristio manitol – 36,17%.

Izolati roda *Bacillus* kao izvor ugljenika koristili su sve ispitivane šećere, osim saharoze i manitola. Pet izolata oskidovalo je glukozu, a galaktozu svi izolati osim Bac4. Osam izolata bacilusa koristili su šećer laktozu. Za razliku od ovih istraživanja, Joo *et al.* (2007) su utvrdili da je od sedam izolata *Bacillus* sp. samo jedan izolat koristio galaktozu i ksilozu kao izvor ugljenika, dok su svi izolati koristili glukozu. Rezultati Ahmad *et al.* (2008) pokazali su da je 80% izolata *Bacillus*-a koristilo glukozu i saharozu, 70% izolata koristilo je manitol, dok je najmanji procenat izolata 20% koristio laktozu kao izvor ugljenika. U istraživanjima Kim *et al.* (2003) izolati *Bacillus*-a nisu koristili ksilozu kao izvor ugljenika, dok je u korišćenju drugih šećera kao što su glukozu i manitol postojala varijabilnost kod ovih izolata.

Izolati roda *Pseudomonas* kao izvor ugljenika koristili su sve ispitivane šećere, osim saharoze, manitola i laktoze. Ovi rezultati su u skladu sa istraživanjima Deshwal *et al.* (2013) koji su izvršili biohemjsku karakterizaciju 140 izolata *Pseudomonas*-a, od toga 55 *P. aeruginosa*, 26 *P. cepacia*, 37 *P. fluorescens* i 22 *P. putida*. Isti autori utvrdili su da su svi izolati koristili glukozu i fruktozu, saharozu nisu koristili izolati *P.putida* i *P. aeruginosa*, dok je kod ostalih izolata reakcija bila pozitivna za više od 85% izolata. Manitol kao izvor ugljenika nisu koristili izolati *P.putida*, a ista sposobnost utvrđena je za više od 85% izolata *P. fluorescens*, dok su laktozu koristili samo izolati *P. cepacia*. Za razliku od ovih istraživanja, Chinthala and Babu Gundala (2013) utvrdili su da su izolati *P. fluorescens* koristili laktozu, ksilozu, fruktozu, galaktozu, glicerol, trehalozu, saharozu, ribozu i glukozu produkujući kiselinu ili gas, dok 50% izolata nisu koristili manitol. U istraživanjima Ahmad *et al.* (2008) utvrđeno je da su 55,56% izolata fluorescentnih *Pseudomonas*-

a koristili glukožu, 33,33% saharozu, 11,11% laktozu, dok nijedan izolat nije koristio manitol kao izvor ugljenika.

Kao izvor ugljenika izolati aktinomiceta koristili su sve šećere osim manitola i laktoze, dok izolati Act3 i Act4 osim navedenih šećera nisu koristili saharozu i fruktozu. Ova istraživanja su u saglasnosti sa istraživanjima Koushalshahi *et al.* (2012) koji su utvrdili da su svi izolati roda *Streptomyces* koristili fruktozu, kao i da je postojala varijabilnost u korišćenju drugih izvora ugljenika kao što su manitol, maltoza, ksiloza, dekstroza, glukoza, galaktoza, saharoza. Slično je dobijeno u istraživanjima Baskaran *et al.* (2011) koji su utvrdili da su izolati aktinomiceta koristili dekstrozu, fruktozu, maltozu i manitol.

Na podlogama čija je pH vrednost 4 zabeleženo je potpuno odsustvo rasta svih izolata. Optimalan rast na podlozi čija je pH 5.5 imala su četiri izolata azotobaktera, devet izolata bacilusa, osam izolata pseudomonasa i pet izolata aktinomiceta, dok ostali izolati nisu rasli. Na podlozi čija je pH 7.5 svi izolati su imali optimalan rast, dok je na pH 9.0 poraslo samo sedam izolata bacilusa i pet izolata aktinomiceta. Izolati *Azotobacter*-a rastu na podlogama čiji je pH 4.8 – 8.5, pri čemu je optimalna pH za rast i fiksaciju azota 7.0-7.5 (Brenner *et al.*, 2005). Prema Kim *et al.* (2003) optimalan pH za izolate *Bacillus*-a kretao se od 5.0-8.0, dok su izolati *Pseudomonas*-a najbolji rast imali na podlozi čija je pH 6.0-8.0 sa optimumom na podlozi čija je pH 7.0 (Zouaoui and Bouziane, 2012). U istraživanjima Gava (1988) utvrđeno je da većina aktinomiceta ima optimalan rast na podlogama čija je pH od 6.5 do 8.0. Takođe, Sousa *et al.* (2008) zabeležili su bolji rast izolata roda *Streptomyces* na podlozi čija je pH iznad 6.5.

Na podlogama sa dodatkom 3% NaCl svi izolati su imali optimalan rast, dok je na istim podlogama sa dodatkom 15% NaCl zabeleženo potpuno odsustvo rasta svih izolata. Na podlozi sa 7% NaCl poraslo je osam izolata bacilusa, četiri izolata pseudomonasa i pet izolata aktinomiceta, dok izolati azotobaktera nisu rasli na ovoj podlozi. Akhter *et al.* (2012) utvrdili su da je pet od petnaest izolata *Azotobacter*-a raslo na podlozi sa dodatkom 6% NaCl, dok su samo dva izolata rasla na podlozi sa dodatkom 10% NaCl. U istraživanjima Kim *et al.* (2003) izolati bacilusa rasli su na podlozi sa dodatkom 10% NaCl. Za razliku od ovih istraživanja, Jarak *et al.* (2012) utvrdili su da je izolat *Pseudomonas*-a imao normalan rast na podlozi sa dodatkom 6% NaCl, dok je izolat *Bacillus*-a na istoj podlozi imao slabiji rast. U istraživanjima Koushalshahi *et al.* (2012) izolati roda *Streptomyces* rasli su na podlozi sa dodatkom 5% NaCl, dok rast izolata nije zabeležen na podlozi sa dodatkom 7% NaCl.

U ovim istraživanjima uticaj pesticida na izolate bio je različit i zavisio je od vrste i koncentracije pesticida, kao i od vrste izolata. Utvrđeno je da preporučene doze ispitivanih pesticida nisu imale inhibitorni uticaj na rast izolata, osim bentazona koji je u ovoj koncentraciji inhibirao rast jednog izolata pseudomonasa.

Najveće inhibitorno dejstvo utvrđeno je pri koncentraciji 100 puta većoj od preporučene kod metribuzina i bentazona. Izolati azotobaktera bili su najosetljiviji na dejstvo bentazona (9 od 13), izolati pseudomonasa na dejstvo metribuzina (10 od 15), dok su izolati bacilusa jednako inhibirani pod uticajem ova dva pesticida primenjena u koncentraciji 100 puta jačoj od preporučene (15 od 16). Svi pesticidi primenjeni u najjačoj koncentraciji inhibirali su rast izolata aktinomiceta.

Uticaj pesticida na rast izolata i dinamiku brojnosti mikroorganizama u laboratorijskim i poljskim uslovima pratili su mnogi autori. U istraživanjima Mrkovački i sar. (2002) ispitivane koncentracije piramina, ronita i lindana nisu uticale na rast sojeva *Azotobacter chroococcum*, dok je mankogal inhibirao rast svih sojeva. Prema istraživanjima Mišković i sar. (1983) više koncentracije lenacila zaustavljaju rast *Azotobacter chlorococcum*, a pri nižim dolazi do promene oblika ćelija, smanjene sposobnosti sinteze pigmenata i ubrzanog formiranja cista. Milošević i sar. (1999) zapazili su izrazito jak inhibitorni efekat insekticida i herbicida na *Azotobacter* sp. Đorđević i sar. (1999) utvrdili su da se pod uticajem insekticida (fentin-acetat, hlolidazon i karbofuran) značajno povećava brojnost aktinomiceta i *Bacillus* sp. U radu Đurić i sar. (2008) ispitivani herbicidi (motivel i ekvip) u kontrolisanim uslovima ispoljili su stimulatивно dejstvo na azotobakter.

Mnogi mikroorganizmi mogu da podnesu visoke koncentracije teških metala zahvaljujući unutrašnjim ili indukovanim mehanizmima. Tolerantnost se može definisati kao sposobnost da se izbore sa toksičnošću metala putem unutrašnjih mehanizama, dok se rezistentnost definiše kao sposobnost mikroorganizama da prežive pri visokim koncentracijama teških metala zahvaljujući mehanizmima detoksifikacije, aktiviranim u direktnom odgovoru na prisustvo teških metala.

U ovom radu izolati su bili najosetljiviji na dejstvo kadmijuma, a toksični efekat teških metala opadao je sa smanjenjem koncentracije jona u rastvoru. Osim kadmijuma koji je imao najveći inhibitorni uticaj na rast ispitivanih izolata, izolati azotobaktera i pseudomonasa bili su

osetljiviji na dejstvo olova, dok su izolati bacilusa osetljiviji na dejstvo mangana. Olovo i mangan nisu imali inhibitorno dejstvo na rast izolata aktinomiceta.

Slično ovim rezultatima, u radu Djuric *et al.* (2011), na ispitivane izolate *Pseudomonas* sp. najtoksičniji efekat imala je primena žive i kadmijuma, a najslabiji efekat imala je primena cinka. Samuel and Muthukkaruppan (2011) utvrdili su da su izolati *Pseudomonas* sp., tolerantni na sve ispitivane teške metale (Fe, Zn, Pb, Mg i Cu), dok je tolerancija slabije izražena među izolatima *Azotobacter* sp. i *Azospirillum* sp. Međutim, samo nekoliko izolata je bilo tolerantno na više koncentracije metala, dok nijedan izolat nije rastao u prisustvu najviše koncentracije teških metala. Rathnayake *et al.* (2009) utvrdili su da su izolati *Bacillus thuringiensis* naosetljiviji na primenu kadmijuma i cinka, te da efekat teških metala varira u zavisnosti od vrste izolata, kao i vrste i koncentracije teških metala, što je utvrđeno i u ovom istraživanju. Sedam izolata roda *Streptomyces* (17,07%) bilo je tolerantno na najvišu koncentraciju bakra, dok je četiri izolata (9,75%) bilo tolerantno na živu (Koushalshahi *et al.*, 2012). Pojedine vrste roda *Streptomyces* ispoljile su toleranciju prema različitim metalima (Yadav *et al.*, 2009).

Bakterije mogu biti osetljive ili otporne – rezistentne prema antibioticima. Takođe, antibiotici mogu delovati stimulatивно na rast bakterija. Rezistentnost se stiče ukoliko originalni sojevi, osetljivi prema antibioticima, mutiraju ili ukoliko plazmid (ekstrahromozomalna DNK koja nosi gene koji određuju rezistentnost na određene antibiotike) dospe u bakterijsku ćeliju.

U ovim istraživanjima uticaj antibiotika na rast izolata bio je različit, a zavisio je od vrste izolata, kao i od vrste i koncentracije antibiotika. Najveće inhibitorno dejstvo na rast izolata azotobaktera imali su eritromicin (15 µg), neomicin (30 µg) streptomycin (10 i 300 µg), koji su inhibirali rast svih izolata. Rezistentnost je utvrđena kod tri izolata na hloramfenikol (30 µg), dva izolata na ampicilin (10 µg) i eritromicin (5 µg), i jednog izolata na neomicin (10 µg).

Rezistentnost na antibiotike kod vrsta roda *Azotobacter* je generalno visoka. U istraživanjima Sindhu *et al.* (1989) ispitana je rezistentnost 117 izolata *Azotobacter chroococcum* na deset antibiotika i utvrđeno je da je više od 95% izolata rezistentno na dejstvo ampicilina, hloramfenikola, eritromicina i tetraciklina primenjenih u koncentraciji 10 µg ml⁻¹, dok je oko 70% izolata bilo rezistentno na kanamicin, nalidiksinsku kiselinu, rifampicin, streptomycin i trimetoprim. Isti autori utvrdili su da je 1 do 8% izolata rezistentno na dejstvo ampicilina, hloramfenikola, kanamicina, streptomicina i tetraciklina u koncentraciji 400 µg ml⁻¹ što ukazuje

na inhibitorni efekat ovih antibiotika na rast izolata kada se primenjuju u višim koncentracijama.

Neomicin (30 µg) je inhibirao rast svih izolata bacilusa, dok je rezistentnost na neomicin (10 µg) i kanamicin (30 µg) utvrđena samo kod jednog izolata. Najslabije dejstvo na rast izolata bacilusa imala je primena ampicilina (5 i 15 µg) i streptomocina (10 µg). Rast izolata pseudomonasa inhibiran je pod dejstvom streptomocina (10 i 300 µg), kanamicina (30 µg) i hloramfenikola (30 µg). Izolati su pokazali različit stepen osetljivosti prema ostalim antibioticima, pri čemu je najslabije dejstvo imao eritromicin (5 µg) na koji je rezistentno trinaest izolata, a osetljiv jedan izolat pseudomonasa. U istraživanjima Marques *et al.* (1979) utvrđeno je 2,6% izolata *Pseudomonas aeruginosa* rezistentno na 12 od 14 ispitivanih antibiotika. Malik and Aleem (2011) utvrdili su da je od 144 izolata *Pseudomonas* spp. 81,2% rezistentno na tetraciklin i polimiksin, 87,5% izolata na sulfadiazin, dok je 79,1% izolata rezistentno na ampicilin i eritromicin. U radu Jensen *et al.* (2001) rezistentnost je utvrđena na karbadoks, hloramfenikol, nalidiksinsku kiselinu, nitrofurantoin, streptomocin i tetraciklin za izolate *Pseudomonas* spp., kao i na bacitracin, eritromicin, penicilin i streptomocin za izolate *Bacillus cereus*.

Svi ispitivani antibiotici delovali su inhibitorno na izolate aktinomiceta. Osetljivost na neomicin (10 µg) utvrđena je samo kod izolata Act1, kao i na ampicilin (10 µg) kod Act5. Oko 80% ukupno poznatih antibiotika su produkti aktinomiceta, uglavnom iz rodova *Streptomyces* i *Micromonospora* (Pandey *et al.* 20011). U radu Koushalshahi *et al.* (2012) ispitivana je rezistentnost izolata *Streptomyces* na sedam antibiotika i utvrđeno je da su ovi izolati različito osetljivi na dejstvo nitrofurantoina, nalidiksinsku kiselinu, gentamicin, eritromicin i rifampicin, dok penicilin i ampicilin nisu ispoljili dejstvo na ove izolate.

Biohemijska karakterizacija izolata

Produkcija želatinaze utvrđena je kod dvanaest izolata roda *Azotobacter*, deset izolata roda *Bacillus*, šest izolata roda *Pseudomonas* i svih šest izolata roda *Streptomyces*.

Sposobnost produkcije ekstracelularnih lipaza utvrđena je kod šest izolata azotobaktera, tri izolata bacilusa i jedanaest izolata pseudomonasa, dok izolati aktinomiceta nisu produkovali lipazu.

Dva izolata azotobaktera, osam izolata bacilusa i dva izolata pseudomonasa proizveli su lecitinazu. Produkcija lecitinaze nije potvrđena kod izolata aktinomiceta.

Sposobnost hidrolize škroba nije potvrđena za izolate azotobaktera i pseudomonasa, dok je ista sposobnost zabeležena kod svih izolata bacilusa i aktinomiceta.

Pektinolitička aktivnost dokazana je kod devet izolata azotobaktera, deset izolata bacilusa i tri izolata pseudomonasa. Nijedan izolat aktinomiceta nije proizveo pektinazu.

Sedam izolata azotobaktera, šesnaest izolata bacilusa i pet izolata pseudomonasa proizveli su celulazu, dok za izolate aktinomiceta nije potvrđena celulolitička aktivnost.

Ureazna aktivnost potvrđena je kod devet izolata azotobaktera, pet izolata bacilusa, tri izolata pseudomonasa dok izolati aktinomiceta nisu proizveli ureazu.

Svi izolati osim izolata pseudomonasa proizveli su katalazu. Sposobnost korišćenja citrata zabeležena je kod jedanaest izolata azotobaktera i sedam izolata pseudomonasa, dok za izolate bacilusa i aktinomiceta ova sposobnost nije potvrđena.

Redukcija nitrata dokazana je kod osam izolata azotobaktera, jedanaest izolata bacilusa, trinaest izolata pseudomonasa i svih izolata aktinomiceta.

Izolati azotobaktera, bacilusa, pseudomonasa i aktinomiceta nisu proizveli H₂S.

Cazorla *et al.* (2007) ispitali su sposobnost izolata *B.subtilis* da proizvode hidrolitičke enzime i utvrdili su da svi izolati proizvode β-glukanazu, dva izolata proizvode proteazu, dok produkcija lipaze i celulaze nije zabeležena. Kim *et al.* (2003) utvrdili su da izolati *Bacillus*-a proizvode katalazu, amilazu i želatinazu, kao i da redukuju nitrate. U istraživanjima Reetha *et al.* (2014) potvrđeno je da su izolati *Pseudomonas fluorescens* proizveli veće količine celulaze i pektinaze u poređenju sa *Bacillus subtilis*.

Meera and Balabaskar (2012) su izvršili biohemijsku karakterizaciju izolata *P. fluorescens* i utvrdili da su svi izolati gram-negativni, ne hidrolizuju škrob, a proizvode želatinazu, katalazu, oksidazu, pigment fluorescin, IAA, HCN i siderofore.

Prema istraživanjima Todar (2004) više od polovine bakterija iz roda *Pseudomonas* proizvode plavo-zeleni pigment piocianin, dok nepatogeni saprofit *P. fluorescens* proizvode fluorescentni pigment koji je rastvorljiv i zelenkast.

Aly *et al.* (2012) utvrdili su da 20 od 33 izolata roda *Streptomyces* proizvode lipazu. U istraživanjima Baskaran *et al.* (2011) potvrđeno je da je izolat aktinomiceta identifikovan kao *Streptomyces* spp. koji je ispoljio najveću antagonističku aktivnost prema pojedinim patogenim

bakterijama, koristio citrate, proizvodovao želatinazu, ureazu, lipazu, katalazu, amilazu, redukovao nitrate, ali nije proizvodovao H₂S, što potvrđuje rezultate dobijene u ovim istraživanjima.

PGP karakterizacija izolata

Svi izolati proizvodovali su IAA u podlozi u kojoj nije bio dodat L-triptofan. Količina proizvodovane IAA zavisila je od primenjene koncentracije L-triptofana, perioda inkubacije i ispitivanih izolata. Veće vrednosti IAA izmerene su nakon 48h u odnosu na vrednosti izmerene nakon 24h za bakterije, kao i nakon četrnaest dana u odnosu na vrednosti koje su izmerene nakon sedam dana za aktinomicete. Takođe, veća količina proizvodovane IAA zebeležena je u medijumu sa dodatkom L-triptofana u koncentraciji 500 µg ml⁻¹ u odnosu na količinu koja je izmerena u medijumu sa dodatkom 250 µg ml⁻¹ L-triptofana.

Najveću količinu IAA proizvodovali su izolati azotobaktera (2,17 – 35,26 µg ml⁻¹). Najbolji producenti bili su izolati Azb3 i Azb5. Produkcija IAA kod izolata bacilusa kretala se u rasponu od 1,34 - 12,06 µg ml⁻¹, a kao najbolji producenti pokazali su se izolati Bac5, Bac9, Bac13 i Bac15. Među izolatima aktinomiceta najveću količinu proizvodovali su Act5 i Act6, a raspon proizvodnje se kretao od 0,42 – 12,37 µg ml⁻¹. Najmanju količinu IAA proizvodovali su izolati pseudomonasa (1,09 – 7,55 µg ml⁻¹), a kao najbolji producenti pokazali su se izolati Pse1, Pse6 i Pse15.

Ahmad *et al.* (2005) ispitivali su sposobnost 21 izolata (10 izolata *Azotobacter* sp., 11 izolata fluorescentnih *Pseudomonas* sp.) da proizvode IAA u podlozi sa dodatkom 0, 1, 2 i 5 mg ml⁻¹ triptofana i utvrdili da je količina proizvodovane IAA rasla sa povećanjem koncentracije triptofana kod većine izolata, što je u saglasnosti sa ovim istraživanjima. Sedam izolata azotobaktera i pet izolata pseudomonasa bili su najveći producenti IAA, sa opsegom proizvodnje od 7,3 do 32,8 mg ml⁻¹ za azotobakter i 41,0 do 53,2 mg ml⁻¹ za pseudomonas, pri najvećoj koncentraciji triptofana. Međutim, ispitivanjem efekta odabranih izolata na rast biljaka *Sesbania aculeata* i *Vigna radiata*, utvrđeno je da su izolati pseudomonasa imali inhibitorni uticaj, dok su izolati azotobaktera ispoljili stimulatívni efekat na rast ovih biljaka. Povećana koncentracija triptofana takođe je smanjila rast biljaka, što bi moglo značiti da više

koncentracije triptofana imaju toksični efekat na biljku. Jarak *et al.* (2012) utvrdili su da je izolat *Pseudomonas*-a bolji producent IAA u poređenju sa izolatom *Bacillus*-a.

Deset izolata roda *Azotobacter* proizvode siderofore, pri čemu su najveći producenti siderofora bili izolat Azb9 sa širinom zone većom od 15 mm i izolati Azb5, Azb10 i Azb12 sa širinom zone od 5 do 15 mm. Svi izolati roda *Bacillus* osim Bac10 proizveli su siderofore, pri čemu su najveći producenti bili izolati Bac5, Bac8, Bac9 i Bac15, sa širinom zone većom od 15 mm. Svi izolati roda *Pseudomonas*, osim Pse8, Pse13 i Pse15, proizveli su siderofore. Najveće zone produkcije (5-15 mm) siderofora izmerene su kod izolata Pse5, Pse6, Pse7, Pse12 i Pse14. Samo izolati Act2 i Act6 proizveli su siderofore, a širina zone produkcije bila je između 1 i 5 mm.

Najveća produkcija cijanovodonika potvrđena je kod izolata azotobaktera (Azb3, Azb5, Azb8 i Azb 10) i bacilusa (Bac6, Bac7, Bac8, Bac11, Bac12 i Bac14), dok su najslabiji producenti HCN bili izolati pseudomonasa (samo Pse9). Izolati aktinomiceta nisu proizveli HCN.

Sposobnost produkcije egzopolisaharida potvrđena je kod jedanaest izolata azotobaktera, devet izolata bacilusa, pet izolata pseudomonasa, dok kod izolata aktinomiceta produkcija nije zabeležena.

Najveća sposobnost fosfosolubilizacije zabeležena je kod izolata azotobaktera. Sposobnost rastvaranja fosfata potvrđena je za dvanaest izolata na PVK podlozi, kao i za svih trinaest izolata na NBRIP podlozi. Najveća zona solubilizacije izmerena je kod izolata Azb7, Azb8 i Azb12.

Kod izolata roda *Bacillus*, sposobnost rastvaranja fosfata na PVK podlozi zabeležena je kod pet izolata, pri čemu je najveća zona solubilizacije izmerena kod Bac3. Na NBRIP podlozi potvrđena je sposobnost rastvaranja fosfata kod istih izolata, sa najširim zonom solubilizacije kod Bac1, Bac2, Bac3 i Bac11.

Sposobnost rastvaranja fosfata na PVK podlozi potvrđena je kod šest izolata roda *Pseudomonas*, dok je na NBRIP podlozi potvrđena kod sedam izolata pseudomonasa. Najveća zona solubilizacije izmerena je kod izolata Pse5, na obe podloge.

Među izolatima aktinomiceta, sposobnost rastvaranja fosfata na obe podloge potvrđena je kod Act5 i Act6, sa širinom zone solubilizacije između 1 i 4 mm.

Utvrđeno je da je NBRIP podloga (National Botanical Research Institute's phosphate growth medium) efikasnija od PVK (Pikovskaya medium) u ispitivanju sposobnosti P-solubilizacije, naročito u tečnim podlogama (Nautiyal, 1999).

Najefikasniji P-solubilizatori pripadaju rodovima *Bacillus* i *Pseudomonas* (Kumar et al., 2012). U istraživanjima Jarak et al. (2012) utvrđeno je da je *Pseudomonas* bolji producent HCN, siderofora i ima veću sposobnost P-solubilizacije od izolata *Bacillus*-a.

U istraživanjima Đurić et al. (2011), od šest ispitivanih izolata *Pseudomonas* sp. pet izolata je proizvelo IAA, kod polovine je utvrđena sposobnost produkcije siderofora, a nijedan izolat nije proizveo HCN. U istim istraživanjima, polovina ispitivanih izolata je razlagala neorganska jedinjenja fosfora.

U radu Husen (2003) izvršena je biohemijska karakterizacija 14 izolata, među kojima su dobro poznati izolati PGPR *Azotobacter vinelandii* Mac 259 i *Bacillus cereus*. Produkcija IAA utvrđena je za 12 izolata, 7 izolata proizvelo je siderofore, 4 izolata imala su sposobnost P-solubilizacije, ali nijedan nije proizveo nitrogenazu.

Testiranjem PGP svostava 72 izolata, Ahmad et al. (2008) utvrdili su da više od 80% izolata *Azotobacter* i *Pseudomonas* proizveju IAA, dok je isto utvrđeno za 20% izolata *Bacillus*-a. Solubilizacija fosfata detektovana je kod 80% izolata *Bacillus*-a, zatim kod 74,47% *Azotobacter*-a i 55,56% *Pseudomonas*-a. Svi izolati proizvevali su amonijak ali nijedan nije hidrolizovao hitin. Produkcija siderofora i antifungalna aktivnost ovih izolata utvrđena je kod 10–12,77% izolata. Produkcija HCN bila je izraženije svojstvo kod *Pseudomonas*-a (88,89%) i *Bacillus*-a (50%).

Rezultati morfološke i biohemijske karakterizacije 44 izolata PGPR iz rodova *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Pseudomonas* i *Bacillus* pokazali su da ne poseduju svi izolati PGP karakteristike, kao i da postoji varijabilnost u okviru istog svojstva kod različitih izolata Mahalakshmi and Reetha (2009).

Shobha and Kumudini (2012) ispitivali su PGP svojstva sedam izolata *B. megaterium* i utvrdili su da svi izolati proizveju IAA, NH₃, HCN i siderofore, ali nijedan nema sposobnost fosfosolubilizacije.

Vasconcellos et al. (2010) utvrdili su da je 36% izolata aktinomiceta proizvelo IAA, 24% izolata proizvelo je hitinazu, a samo 2% od 103 izolata imalo je sposobnost fosfosolubilizacije. Slično je utvrđeno u istraživanjima Jeffrey (2008), od ukupno 62 izolata aktinomiceta 48 proizvelo je celulazu, 46 lipazu i 41 proteazu.

U ispitivanjima izolata iz rizosfere kukuruza, Suresh *et al.* (2010) zaključuju da većina izolata poseduje osobine PGPR, te bi se stoga mogli koristiti kao potencijalna biođubriva.

U ovom radu najveći antagonistički efekat na rast gljiva imali su izolati azotobaktera, dok su izolati pseudomonasa ispoljili najslabiji inhibicioni uticaj. Izolati azotobaktera i bacilusa ispoljili su najveću antifungalnu aktivnost prema *Helminthosporium sp.*, a izolati pseudomonasa i aktinomiceta prema *Fusarium sp.* Najmanji antagonistički efekat svi izolati imali su prema *Macrophomina sp.*

Dobar antagonistički efekat dobijen je primenom svih izolata azotobaktera, a najveći inhibicioni uticaj postignut je sa izolatima Azb1, Azb6, Azb7, Azb9, Azb12 i Azb13.

Najveća antifungalna aktivnost među izolatima bacilusa zabeležena je kod izolata Bac1, Bac6, Bac8, Bac10, Bac15 i Bac16.

Najveća inhibicija rasta gljiva među izolatima pseudomonasa dobijena je konfrontacijom sa izolatima Pse3 i Pse10, dok je najveći antagonistički efekat među izolatima aktinomiceta zabeležen sa izolatima Act5 i Act6.

Ponmurugan *et al.* (2012) ispitivali su antifungalnu aktivnost deset izolata *Azotobacter*-a prema *Aspergillus flavus*, *Cercospora sp.* i *Fusarium oxysporum*, i utvrdili su veće zone inhibicije (18-26 mm) pri većoj suspenziji kulture.

Izolati *B. subtilis* ispoljili su antagonističku aktivnost prema *R.necatrix* i *F.oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* zahvaljujući produkciji glukanaza i proteaza, kao i antibiotika surfacina, fengicina i iturina (Cazorla *et al.* 2007). Shobha and Kumudini (2012) utvrdili su značajan efekat u inhibiciji *F. oxysporum* kod svih izolata *B. megaterium*.

Tripathi and Johri (2002) proučavali su potencijal fluorescentnih pseudomonasa u biokontroli prema *Rhizoctonia solani*. Utvrdili su da neki izolati poseduju višestruki potencijal u kontroli bolesti, dok su drugi izolati ispoljili antifungalnu aktivnost samo prema određenim patogenima.

Ahmadzadeh *et al.* (2004) utvrdili su da se antagonističke rizobakterije, naročito fluorescentni pseudomonasi i određene vrste bacilusa poseduju sposobnost da inhibiraju bolesti izazvane gljivama i bakterijama poljoprivrednih kultura. Kulture *Pseudomonas* i njihove prečišćene siderofore ispoljile su dobru antifungalnu aktivnost prema *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. oryzae*, *Fusarium oxysporum* i *Sclerotium rolfsii* (Manwar *et al.*, 2004).

Utvrđeno je da su mnoge vrste aktinomiceta, uglavnom iz roda *Streptomyces*, ispoljile snažnu antifungalnu aktivnost prema različitim vrstama fitopatogenih gljiva (El-Tarabily *et al.* 2000), kao i da je ova aktivnost većinom povezana sa produkcijom antifungalnih jedinjenja i ekstracelularnih hidrolitičkih enzima, od kojih su u razgradnji ćelijskog zida gljiva najaktivniji hitinaze i β -1,3-glukanaze (Fguira *et al.* 2005).

Bressan (2003) utvrdili su da primena *Streptomyces* spp. efikasno suzbija razvoj *Aspergillus* spp., *Curvularia lunata* i *Drechslera maydis* i značajno smanjuje pojavu *Fusarium subglutinans* i *Cephalosporium acremonium*.

U istraživanjima Jeffrey (2008) Od ukupno 62 izolata aktinomiceta 48 proizvodi celulazu, 46 lipazu i 41 proteazu. 3, 25, 35 i 37 izolata imala u antagonistički efekat prema *Fusarium palmivora*, *Bacillus subtilis*, *Pantoea dispersa* i *Ralstonia solanacearum*.

Khamna *et al.* (2009) utvrdili su da od 445 izolata aktinomiceta 89% pripada rodu *Streptomyces*, koje odlikuje snažna antifungalna aktivnost prema patogenim gljivama *Alternaria brassicicola*, *Collectotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium digitatum* i *Sclerotium rolfsii*. Isti autori pokazali su da 36 izolata aktinomiceta imali sposobnost da proizvode IAA, dok je 75 proizvelo siderofore.

Na osnovu morfoloških, fiziološko-biohemijskih i PGP osobina koje su izolati pokazali može se pretpostaviti da izolati azotobaktera Azb3, Azb5, Azb9 i Azb10 pripadaju vrsti *Azotobacter paspali*, dok ostali izolati pripadaju vrsti *A. chroococcum*; izolat Bac1 pripada vrsti *Bacillus mycoides*, izolati Bac3, Bac5, Bac8 i Bac9 vrsti *B. megaterium*, dok preostali izolati bacilusa pripadaju vrsti *B. subtilis*; izolati Pse5, Pse9 i Pse15 pripadaju vrsti *Pseudomonas fluorescens*, dok se za ostale izolate pretpostavlja da pripadaju vrsti *P. putida*.

Za dalja istraživanja odabrano je ukupno 8 izolata (tri izolata azotobaktera – Azb5, Azb8 i Azb13, dva izolata bacilusa – Bac9, Bac15, dva izolata pseudomonasa – Pse1 i Pse5 i 1 izolat aktinomiceta – Act6).

Efektivnost primene odabranih izolata na mikrobiološku aktivnost rizosfernog zemljišta

Mikroorganizmi učestvuju u stvaranju i održavanju plodnosti zemljišta i predstavljaju jedan od najvažnijih faktora u sistemu zemljište – biljka. U zemljištu žive različite vrste

mikroorganizama: bakterije, gljive, alge, protozoe, virusi i lišajevi. Njihova brojnost se kreće od nekoliko desetina do nekoliko miliona po 1.0 g apsolutno suvog zemljišta, odnosno njihova biomasa iznosi 1 – 5 t ha⁻¹ (prema nekim autorima i 10 – 20 t ha⁻¹) (Jarak i sar., 2005). Na rasprostranjenost i aktivnost mikroorganizama u agroekološkim sistemima utiču fizičko – hemijska svojstva zemljišta, klimatski uslovi, agromeliorativne mere, teški metali, biljna vrsta, kao i međusobni odnos mikrobne populacije (Milošević i sar., 1999; Jarak i Hajnal, 2006).

Mikroorganizmi omogućavaju odvijanje procesa humifikacije i dehumifikacije, azotifikacije, oslobađaju pojedine hranljive elemente koji se nalaze u organskoj materiji (N, P, S, C), utiču na ishranu biljaka proizvodima svoje životne aktivnosti i na taj način učestvuju u stvaranju i održavanju plodnosti zemljišta, ali i na rast, prinos i zdravlje biljaka.

U rizosfernom zemljištu brojnost i enzimatska aktivnost veća je u odnosu na okolno zemljište, jer je u njemu veća količina korenskih izlučevina biljke. Takođe, brojnost i enzimatska aktivnost skoro svih sistematskih i fizioloških grupa mikroorganizama uglavnom je najveća u fazi intenzivnog rasta biljaka, kako u rizosfernom, tako i u okolnom zemljištu, dok se na kraju vegetacije smanjuje.

Ova istraživanja obavljena su na zemljištu tipa černozem koji ima uslove za optimalno odvijanje mikrobioloških procesa. Vojvođanski černozem je karbonatan od površine ili neposredno ispod nje. Sadržaj kreča varira od 4 - 8% CaCO₃, čiji udeo sa dubinom raste do 30%. Reakcija sredine (pH) prati sadržaj i raspored CaCO₃ u profilu, stoga se kreće u rasponu od 7,5 – 8,5 (u H₂O). Sadržaj humusa je takođe promenljiv, a prisustvo N, P i K zadovoljavajuće (Živković i sar., 1972).

Govedarica i sar. (1992) utvrdili su da određivanje brojnosti i enzimatske aktivnosti mikroorganizama može da posluži kao siguran pokazatelj plodnosti zemljišta. Prisustvo velike brojnosti, aktivnosti i različitosti mikroorganizama je indikacija dobrih svojstava zemljišta. U suprotnom, ako su ovi pokazatelji malih vrednosti to je indikacija nepovoljnih fizičko-hemijskih-toksikoloških svojstava (Milošević i sar., 2003).

Brojnost ispitivanih grupa mikroorganizama u zemljištu pre inokulacije i setve bila je relativno visoka i karakteristična za ovaj tip zemljišta. Ukupan broj mikroorganizama kretao se u milijardama ćelija, brojnost aminoheterotrofa i slobodnih azotifikatora kretala se u desetinama miliona, a brojnost fosfomineralizatora u milionima ćelija u gramu apsolutno suvog zemljišta. Brojnost fosfomobilizatora kretala se u stotinama hiljada, a brojnost gljiva i

aktinomiceta u desetinama hiljada u gramu apsolutno suvog zemljišta. Brojnost azotobaktera se kretala u stotinama ćelija u gramu apsolutno suvog zemljišta. Dehidrogenazna aktivnost u ispitivanom zemljištu bila je niska - 71,19 $\mu\text{g TPF g}^{-1}$ zemljišta.

Ovi rezultati su u skladu sa mnogobrojnim dosadašnjim istraživanjima koja se odnose na mikrobiološku aktivnost černoze (Marinković i sar, 2007; Đurić i sar., 2008; Jarak i sar., 2012). Tako je u radu Đurić (2010) brojnost ispitivanih mikroorganizama u zemljištu pod usevom kukuruza imala visoke apsolutne vrednosti te je utvrđeno da se radi o biološki zdravom zemljištu, visoke biogenosti i plodnosti sa raznolikim mikrobiološkim sastavom i aktivnošću.

Dodatno aktiviranje mikrobioloških procesa može se postići unošenjem mikroorganizama u vidu biofertilizatora. Uneseni mikroorganizmi se u zemljištu umnožavaju, stvaraju novu organsku materiju i tako dolazi do povećanja biološke aktivnosti zemljišta (Jarak i sar., 2009).

Efektivnost primene mikroorganizama u biljnoj proizvodnji zavisi od biljne vrste, vrste mikroorganizama, količine mineralnih đubriva, vremena i mesta uzorkovanja. Dosadašnji rezultati potvrđuju da se primenom bakterija u biljnoj proizvodnji povećava broj i enzimatska aktivnost mikroorganizama što povećava proizvodnu sposobnost zemljišta (Govedarica, 1986; Cvijanović, 2002).

Efekat primenjenih mikroorganizama zavisi od mnogih faktora: tipa zemljišta, vlažnosti i temperature, efektivnosti autohtonih sojeva i efektivnosti primenjenih sojeva (Milić i Mrkovački, 1994; Mrkovački i sar., 1996), od genetske varijabilnosti biljke domaćina (Mrkovački i sar., 1997; Milić i sar., 2000) koja predstavlja rezultat njene kompatibilnosti sa mikroorganizmima, primenjenih agrotehničkih mera u toku gajenja biljaka (Jarak i sar., 1999), kao i kontaminacije zemljišta teškim metalima (Govedarica i sar., 1993; Đurić i sar., 2003). U našim istraživanjima efekat inokulacije bio je različit i zavisio je od hibrida, načina gajenja (kontrolisani ili proizvodni uslovi), perioda uzorkovanja i inokulanta.

Posmatrajući efekat inokulacije po hibridima zabeležena je veća brojnost svih ispitivanih grupa mikroorganizama u rizosferi hibrida NS 6010, osim u slučaju pseudomonasa u oba ogleđa i amonifikatora u polukontrolisanim uslovima, kod kojih je dobijena približno jednaka brojnost među hibridima. Značajne razlike brojnosti po hibridima zabeležene su za ukupan broj mikroorganizama, brojnost fosfomineralizatora i amonifikatora u poljskim uslovima.

Slično ovim istraživanjima, brojni autori (Govedarica i sar., 1994; Bashan, 1998; Gupta et al., 2000; Lucy et al., 2004) utvrdili su da efektivnost ispitivanih sojeva varira u zavisnosti od genotipa biljne vrste i vrste mikroorganizama. Ispitivanjem efektivnosti i zastupljenosti većeg broja sojeva *Azotobacter chroococcum* kod različitih hibrida kukuruza ustanovljeno je da su primenjeni sojevi ispoljili različit efekat prema hibridima kukuruza, što ukazuje na postojanje specifičnog odnosa između *Azotobacter*-a i hibrida (Govedarica, 1992). Hajnal i sar. (2001) ukazuju na mogućnost selekcije *Azotobacter chroococcum* i *Bacillus megaterium* na nivou genotipa biljke u cilju odabira najefektivnijih sojeva za svaki hibrid kukuruza.

Posmatrano po rokovima uzorkovanja, u polukontrolisanim uslovima zabeležen je veći ukupan broj mikroorganizama i fosfomeneralizatora u prvom roku, amonifikatora, pseudomonasa, fosfomobilizatora i gljiva u drugom roku, dok je brojnost azotobaktera, slobodnih azotofiksatora i aktinomiceta bila približno jednaka u oba roka uzimanja uzoraka. U poljskim uslovima, najveća brojnost dobijena je u prvom roku, osim u slučaju azotobaktera, fosfomobilizatora i aktinomiceta, čiji je broj najveći u drugom roku uzorkovanja. U istraživanjima Jarak i sar. (2007) veći ukupan broj mikroorganizama, broj amonifikatora, slobodnih azotofiksatora i aktinomiceta dobijen je u prvom roku što se objašnjava povoljnijim klimatskim uslovima i većim sadržajem hranljivih materija u zemljištu u toku proleća, dok je broj azotobaktera i gljiva veći na kraju vegetacije. Prethodna istraživanja pokazala su da broj mikroorganuizama u rizosferi kukuruza varira, kao i da ukupan broj mikroorganizama i broj azotobaktera raste tokom vegetacije (Govedarica i sar., 1999; Bjelić i sar., 2010).

Ukupan broj mikroorganizama u određenom ekosistemu može se smatrati jednim od glavnih pokazatelja njegove biogenosti. Smatra se da je pokazatelj kvantitativnih razlika ukupnog broja mikroorganizama u zemljištu, pokazatelj i njegove potencijalne i efektivne plodnosti (Tešić i Todorović, 1963). Ukupan broj mikroorganizama veći je u zemljištima sa dosta organske materije, neutralne reakcije i sa dobro regulisanim vodno-vazдушnim režimom (Jarak i sar., 1997). U ovim istraživanjima svi primenjeni izolati u proseku su pozitivno uticali na ukupan broj mikroorganizama, osim izolata Bac9 u polukontrolisanim uslovima. Najbolji efekat zabeležen je primenom Azb5, Azb8, Bac15, Pse1, Act6 i smeše izolata. Ukupan broj mikroorganizama u rizosferi ispitivanih hibrida u oba ogleđa kretao se u milijardama ćelija, a najbolji efekat postignut je u polukontrolisanim uslovima, u rizosferi hibrida NS 6010, gde je

ukupan broj mikroorganizama u varijanti sa izolatom Pse1 iznosio $283,6 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$ apsolutno suvog zemljišta.

Broj azotobaktera u našem klimatskom podneblju kreće se od nekoliko stotina do desetina hiljada ćelija u gramu zemljišta i može da fiksira, u uslovima polja, od 20-60 kg azota po hektaru godišnje (Mrkovački i sar., 2006). Osim što usvaja elementarni azot, on proizvodi i materije koje pospešuju rast biljaka (Jarak i sar., 2010). Veća mu je zastupljenost u rizosfernom nego okolnom zemljištu (Mišustin i Emcev, 1987). Azotobakter je osetljiv na kiselu reakciju sredine tako da je najbrojniji i najaktivniji u neutralnim zemljištima. Optimalna vlažnost za azotobakter 70-80% punog vodnog kapaciteta te je brojniji u nešto vlažnijim zemljištima. Brojnost azotobaktera u ovim istraživanjima povećana je inokulacijom u svim varijantama izuzev sa izolatima pseudomonasa, čija je primena u polukontrolisanim uslovima izazvala smanjenje brojnosti ove grupe mikroorganizama u rizosferi hibrida NS 6030. Najveće povećanje brojnosti dobijeno je primenom izolata azotobaktera Azb5 i Azb13, kao i izolata Bac15 i smeše. Najbolji efekat na brojnost azotobaktera dobijen je u rizosferi hibrida NS 6010, u poljskim uslovima, nakon inokulacije sa Azb5 i Azb 13 ($195,5$ i $197,0 \times 10^1 \text{ g}^{-1}$ apsolutno suvog zemljišta).

Aktinomicete su heterotrofne zrakaste bakterije, brojni u zemljištu sa velikim sadržajem organske materije odnosno humusa. Njihova brojnost se kreće od 1-10 miliona na 1.0 g apsolutno suvog zemljišta. U većini zemljišta najzastupljeniji rod aktinomiceta je *Streptomyces* koji čini 90% ukupne populacije (Poopal and Laxman, 2009). Značajne su u zemljištu jer vrše proces humifikacije kao i mineralizacije organske materije. One su sposobne da razlažu lignin, pektin i druge materije koje drugi mikroorganizmi ne mogu da razlažu. Aktinomicete razlažu i najotpornije komponente humusa i proizvode veliki broj antibiotika. U ovim istraživanjima u proseku za oba hibrida, veća brojnost aktinomiceta u polukontrolisanim uslovima dobijena je inokulacijom u svim varijantama, dok je povećanje brojnosti u poljskim uslovima zabeleženo primenom Azb8, Azb13, Pse1, Act6 i smeše izolata. Najveće povećanje broja aktinomiceta dobijeno je sa Act6, čijom primenom je zabeležen najbolji efekat u polukontrolisanim uslovima u rizosferi hibrida NS 6030 ($32,3 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$), kao i u poljskim uslovima u rizosferi hibrida NS6010 ($33,3 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$).

Gljive su heterotrofni mikroorganizmi čija se brojnost kreće od 50 do 100000 po g apsolutno suvog zemljišta. Preferiraju kiselija zemljišta, ali im je broj visok i u neutralnim

zemljištima. Imaju izrazito dobro razvijen enzimatski sistem što im omogućava da koriste i najsoženije organske materije. Značajne su za kruženje materija u prirodi, stvaraju biljne asimilative, a neke sa biljkama stupaju u bližu asocijaciju pa im pomažu u usvajanju hranljivih materija. U proseku za oba hibrida, veća brojnost gljiva u odnosu na kontrolu u polukontrolisanim uslovima dobijena je inokulacijom sa izolatima Azb5, Bac15, Pse5, Act6 i smešom izolata dok je u poljskim uslovima povećanje brojnosti dobijeno sa svim izolatima osim sa Bac9, Pse1 i Pse5. Najveće povećanje brojnosti gljiva u oba ogleda zabeleženo je u rizosferi hibrida NS 6010 nakon primene Bac15 ($15,1 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$ u polukontrolisanim uslovima i $23,5 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$ u poljskim uslovima).

Amonifikatori obuhvataju veliku grupu bakterija, gljiva i aktinomiceta koji vrše razgradnju nativnih proteina i njihovu transformaciju u mineralne i nove organske oblike. Najveći deo se ugrađuje u mikrobiološki protein koji ulazi u sastav humusa. Brojni su u svim tipovima zemljišta, a u ovim istraživanjima je utvrđeno da su svi primenjeni izolati pozitivno uticali na broj amonifikatora. Smanjenje brojnosti u poređenju sa neinokulisanom varijantom zabeleženo je samo u rizosferi hibrida NS 6010 u polukontrolisanim uslovima nakon inokulacije sa Act6, kao i u rizosferi hibrida NS 6030 u poljskim uslovima nakon primene izolata Pse5. Značajno veći broj amonifikatora u odnosu na kontrolu dobijen je primenom Azb8, Bac9, Bac15, Pse1 i smeše izolata, pri čemu je najveće povećanje brojnosti u oba ogleda zabeleženo primenom izolata Pse1.

Slobodni azotofiksatori usvajaju elementarni azot iz atmosfere i redukuju ga do amonijaka koji se koristi za biosinteze proteina biljaka i mikroorganizama. U zemljištima neutralne i blago kisele reakcije u jednom gramu ih ima nekoliko stotina hiljada a količina fiksiranog azota iznosi 20-60 kg (Govedarica i sar., 1997). U ovom radu značajno veći broj slobodnih azotofiksatora u odnosu na kontrolu u polukontrolisanim uslovima dobijen je primenom izolata Act6, dok je značajan efekat u poljskim uslovima postignut primenom Azb5, Azb8, Azb13, Act6 i smeše izolata. Brojnost je povećana i primenom drugih izolata, osim inokulacije sa Pse1 koji je doveo do smanjenja brojnosti ove grupe mikroorganizama u rizosferi hibrida NS 6010 u polukontrolisanim uslovima. Najbolji efekat na broj slobodnih azotofiksatora u rizosferi ispitivanih hibrida u oba ogleda ostvaren je inokulacijom sa smešom izolata.

Pseudomonasi predstavljaju grupu bakterija koje su brojne u umerenim i tropskim zemljištima, gde čine dominantnu grupu rizobakterija (Ayyadurai *et al.*, 2007). U zemljištu su naročito značajne vrste *Pseudomonas putida* i *Pseudomonas fluorescens*, koje se ubrajaju u PGPR zbog njihove sposobnosti da stimulišu rast biljaka i redukuju pojavu fitopatogena (Noori and Saud, 2012). U ovim istraživanjima u proseku za oba hibrida, veća brojnost pseudomonasa u odnosu na kontrolu u polukontrolisanim uslovima dobijena je inokulacijom sa izolatima Bac15, Pse1, Pse5, Act6 i smešom izolata, dok je u poljskim uslovima značajno veća brojnost osim inokulacije sa navedenim izolatima zabeležena i nakon primene izolata Bac9. Najveća brojnost pseudomonasa dobijena je u rizosferi hibrida NS 6010 gajenog u poljskim uslovima, nakon inokulacije sa Pse5 ($130,3 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$).

Fosfomobilizatori predstavljaju grupu mikroorganizama koji koriste ortofosfate za svoj rast u uslovima kada se mineralizuje organska materija sa malom količinom fosfora. Mikrobiološki fosfor podleže mineralizaciji do oslobađanja ortofosfata čija dalja sudbina zavisi od ekoloških uslova i osobina zemljišta (Hajnal i sar., 2004). U ovim istraživanjima svi primenjeni izolati su pozitivno uticali na broj fosfomobilizatora. U proseku, značajno veći broj fosfomobilizatora u odnosu na kontrolu dobijen je inokulacijom sa Azb5, Bac15, Pse1 i smešom izolata u polukontrolisanim uslovima, dok je značajno veći broj fosfomobilizatora u odnosu na kontrolu u poljskim uslovima dobijen je inokulacijom sa Azb5. Najveća brojnost dobijena je u rizosferi hibrida NS 6010 gajenog u polukontrolisanim uslovima, nakon inokulacije sa Pse1 ($194,1 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$).

Fosfomineralizatori su velika grupa mikroorganizama sa diferentovanim fermentnim sistemom fitaze, nukleaze, fosfolipaze i fosfataze, koji mineralizuju organske oblike fosfora oslobađajući ortofosfat. Utvrđeno je da su svi primenjeni izolati povećali broj fosfomineralizatora u odnosu na kontrolnu varijantu, osim izolata Pse5 koji je izazvao smanjenje brojnosti u rizosferi hibrida NS 6030 u polukontrolisanim uslovima. U proseku, značajno povećanje brojnosti fosfomineralizatora u polukontrolisanim uslovima zabeleženo je primenom izolata Bac15, dok je značajno veći broj u poljskim uslovima dobijen primenom izolata Bac9, Pse5 i smeše svih izolata. Najveće povećanje brojnosti zabeleženo je u poljskim uslovima u rizosferi hibrida NS 6010 nakon inokulacije sa Pse5 ($190,6 \times 10^5$).

Dehidrogenaze kao unutarćelijski enzimi su neophodne u iniciranju oksidacije organske materije u zemljištu putem prenosa elektrona ili vodonika od supstrata do primaoca. Katalizuju

reakciju odvajanja vodonika od različitih organskih jedinjenja tipa ugljenih hidrata, organska kiselina, alkohola, amino kiselina i njegovo prenošenje do kiseonika (aerobne dehidrogenaze) ili do organskih jedinjenja (anaerobne dehidrogenaze). Aktivnost dehidrogenaze je veoma senzitivna indikator mikrobne oksidativne aktivnosti jer su dehidrogenaze u zemljištu uglavnom mikrobiološkog porekla. Veća aktivnost dehidrogenaze ukazuje na veći intezitet disanja, odnosno na intezivniju mineralizaciju sveže organske materije.

Rezultati istraživanja pokazali su da je u polukontrolisanim uslovima, u prvom roku uzimanja uzoraka, najveća aktivnost dehidrogenaze u rizosferi oba hibrida dobijena inokulacijom sa Azb8. U drugom roku uzimanja uzoraka, dehidrogenazna aktivnost u rizosferi hibrida NS 6010 značajno je povećana inokulacijom sa Bac15 i Act6, dok je u rizosferi hibrida NS 6030 značajan efekat ostvaren inokulacijom sa Azb8 i Act6. U poljskim uslovima, u prvom roku uzimanja uzoraka, najveći efekat na aktivnost dehidrogenaze u rizosferi oba hibrida postignut je inokulacijom sa Bac15. U drugom roku uzimanja uzoraka, značajno povećanje dehidrogenazne aktivnosti u rizosferi hibrida NS 6010 dobijeno je inokulacijom sa Azb5, Bac15 i Act6, dok je najveći efekat na DHA u rizosferi hibrida NS 6030 dobijen je inokulacijom sa Act6. Značajno povećanje dehidrogenazne aktivnosti u trećem roku uzimanja uzoraka, u rizosferi hibrida NS 6010 dobijeno je inokulacijom sa Act6, dok je u rizosferi hibrida NS 6030 značajan efekat na DHA osim sa ovim izolatom dobijen je inokulacijom sa Azb8. Ispitivanjem efekta inokulacije po hibridima, veća aktivnost dehidrogenaze u polukontrolisanim uslovima zabeležena je u rizosferi hibrida NS 6010 u oba roka uzorkovanja, dok je u poljskim uslovima dobijena veća brojnost u rizosferi hibrida NS 6030, osim u trećem roku.

U rezultatima Mrkovački i sar. (2010) primenom azotobaktera povećan je ukupan broj mikroorganizama i broj azotobaktera, a smanjen je broj gljiva, što je u saglasnosti sa ovim istraživanjima. Primenom sojeva *Azotobacter chroococcum* i *Bacillus megatherium* povećan je ukupan broj mikroorganizama, broj amonifikatora, aktinomiceta, azotobaktera, oligonitrofilnih bakterija, a smanjen je broj gljiva. Ispitivane vrste bakterija pojedinačno ili u kombinaciji izazvale su povećanje prinosa kod oba ispitivana hibrida kukuruza (Govedarica i sar., 2001).

U radu Govedarica i sar. (2002) ispitana je efektivnost pet sojeva *Azotobacter chroococcum* kod tri hibrida kukuruza u poljskim uslovima, i utvrđeno je povećanje ukupnog broja

mikroorganizama, brojnosti amonifikatora aktinomiceta, azotobaktera, oligonitrofilnih bakterija, dehidrogenazne aktivnosti i smanjenje brojnosti gljiva.

Hajnal i sar. (2004) pokazalu da su ispitivani sojevi *Azotobacter chroococcum* i *Bacillus megaterium* delovali uglavnom stimulatивно, povećavajući dehidrogenaznu aktivnost u rizosfernom zemljištu kod oba hibrida kukuruza. Ispitivanjem efekta tri različite koncentracije azotobaktera na mikrobiološku aktivnost u rizosferi i prinos zrna hibrida kukuruza gajenih u sistemu organske proizvodnje Hajnal i sar. (2012) su utvrdili da primena azotobaktera nije značajno uticala na povećanje brojnosti azotobaktera i aminoheterotrofa, ali je uslovila povećanje aktivnosti dehidrogenaze i prinosa kod tri od četiri ispitivana hibrida.

Cvijanović i sar. (2007) pokazali su da bakterizacijom semena kukuruza sa *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum lipoferum*, *Klebsiella planticola*, *Beijerinckia derxi* dolazi do povećanja ukupnog broja mikroorganizama, broja azotobaktera, aktivnosti dehidrogenaze, prinosa i sadržaja ukupnog azota. U radu Jarak et al. (2012) inokulacija je povećala broj azotobaktera (103.25%), pseudomonasa (82.29%) i aerobnih sporogenih bakterija (52.65%), kao i visinu (17.15%) i suhu masu biljaka (35.48%), pri čemu su najbolji efekti postignuti združenom inokulacijom (*Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*).

Značajno povećanje brojnosti PGPR u rizosferi putem inokulacije rezultira u stimulaciji rasta biljaka u početnim fazama razvoja, kao i povećanju prinosa na kraju vegetacije (Bashan et al., 2004).

Efektivnost primene odabranih izolata na kukuruz

Ponovnim unošenjem odabranih izolata u zemljište aktiviraju se odgovarajući mikrobiološki procesi koji omogućavaju bolje i ravnomernije snabdevanje biljaka azotom, fosforom i kalijumom, kao i nekim mikroelementima. Takođe, različiti sojevi PGPR proizvode indol-sirćetnu kiselinu i druge metabolički aktivne materije i na taj način dovode do povećanja klijavosti, dužine korena, visine nadzemnog dela biljke i prinosa.

U ovim istraživanjima primenjeni izolati su različito uticali na klijavost semena, visinu i masu nadzemnog dela biljke, sadržaj pojedinih elemenata u listu, kao i prinos ispitivanih hibrida kukuruza.

Uticaj inokulacije na klijavost semena, visinu i masu nadzemnog dela kukuruza

Rezultati istraživanja pokazali su da je najveći procenat klijavosti semena hibrida NS 6010 dobijen inokulacijom sa Azb5, Bac15 i smešom izolata, dok je kod hibrida NS 6030 najbolji efekat na klijavost utvrđen inokulacijom sa izolatima azotobaktera, bacilusa i Pse5. U ostalim varijantama takođe je utvrđen visok procenat klijavosti, a najmanja klijavost kod oba hibrida zabeležena je primenom izolata Pse1 što je u suprotnosti sa istraživanjima Noumavo *et al.* (2013) koji su najbolje rezultate dobili sa izolatima *Pseudomonas fluorescens* i *Pseudomonas putida*. U radu Gholami (2009) utvrđen povećan procenat klijavosti kukuruza nakon inokulacije sa PGPR za 18,5% u poređenju sa neinokulisanom kontrolom.

Utvrđeno je da je u polukontrolisanim uslovima, visina nadzemnog dela biljke u fazi 3. lista hibrida NS 6010 značajno veća nakon inokulacije sa izolatima Azb5, Azb8, Bac15 i Pse1, dok je značajan efekat na visinu nadzemnog dela biljke hibrida NS 6030 postignut je inokulacijom sa Azb8. Značajno veća visina nadzemnog dela biljke u fazi 5-7. listova hibrida NS 6010 postignuta je nakon inokulacije sa izolatima Azb5, Azb8 i Pse1, dok je značajan uticaj kod hibrida NS 6030 dobijen inokulacijom sa Azb8 i Azb13. U poljskim uslovima, najbolji efekat na visinu nadzemnog dela biljke u fazi 3. lista hibrida NS 6010 ostvaren je inokulacijom sa Bac15 i Pse5, dok je najveći uticaj kod hibrida NS 6030 postignut je inokulacijom sa Pse6 i Act6. Slično ovim istraživanjima, Bakonyi *et al.* (2013) utvrdili su povećanje klijavosti semena od 20% i suve mase klijanaca od 7% nakon inokulacije kukuruza sa biođubrivo koje sadrži *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* i *Azotobacter chroococcum*. Rezultati Gholami *et al.* (2009) pokazali su da je klijavost semena, rast klijanaca i prinos kukuruza značajno povećan primenom PGPR (*P.putida*, *P.fluorescens*, *A.lipoferum*, *A.brasilense*). Jacoud *et al.* (1998) pratili su preživljavanje *Azospirillum lipoferum* CRT1 na kukuruзу gajenom u poljskim uslovima. Nakon dve nedelje koncentracija bakterija je naglo opala, dok nakon četiri nedelje nije detektovana nijedna ćelija. Međutim, praćenjem visine nadzemnog dela biljke, dužine i mase korena utvrđeno je da je promocija rasta počela ranije (od 14 dana) i da se povećala uprkos tome što je gustina bakterija opala verovatno usled produkcije fitohormona od strane bakterija.

U ovom radu, suva masa nadzemnog dela biljke u polukontrolisanim uslovima, u fazi 3. lista hibrida NS 6010 značajno je veća nakon inokulacije sa izolatima Azb5 i Bac15, dok je suva masa biljke u fazi 3. lista hibrida NS 6030 značajno povećana osim sa ovim izolatima i

inokulacijom sa Pse1. U fazi 5-7. listova hibrida NS 6010 značajno veća masa suve materije nadzemnog dela biljke dobijena je nakon inokulacije sa izolatima Azb13, Bac15, Pse1, Pse5 i Act6, dok je kod hibrida NS 6030 značajan uticaj postignut inokulacijom sa Bac9. U poljskim uslovima, masa suve materije nadzemnog dela biljke u fazi 3. lista hibrida NS 6010 značajno je povećana nakon inokulacije sa izolatima Azb5, Azb13, Bac15, Pse5 i Act6, dok je kod hibrida NS 6030 značajan efekat na masu suve materije biljke postignut je inokulacijom sa Azb8, Pse5 i Act6. Ovi rezultati su u skladu sa istraživanjima Wu *et al.* (2005), koji su utvrdili da je upotreba biofertilizatora koji sadrže AMF (*G. mosseae*) i PGPR (*Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mucilaginosus*) rezultirala u većoj biomasi i dužini klijanaca, kao i većoj asimilaciji hraniva (N, P i K) u biljkama kukuruza. Takođe u istraživanjima Adjanohoun *et al.* (2011) utvrđeno je su da su najbolji promotori rasta kukuruza izolati *Azospirillum lipoferum*, *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*, dok ostali izolati koji pripadaju rodovima *Bacillus* i *Streptomyces* nisu imali značajan uticaj na rast kukuruza gajen u poljskim uslovima. Slični rezultati dobijeni su u radu Nezarat i Gholami (2009). U istraživanjima Sachin *et al.* (2009) utvrđena je povećana dužina korena, visina nadzemnog dela i suva masa biljke nakon inokulacije kukuruza sa *Azotobacter chroococcum*. Bjelić i sar. (2010) pokazali su povećanje visine i mase mladih biljaka kukuruza u odnosu na kontrolu. Najveći efekat dobijen je u varijanti inokulacije sa smešom tri soja (*Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*). Dobbelaere *et al.* (2001) su korišćenjem *Azospirillum brasilense* u oglelima u staklari i u polju dobili povećanje biomase kukuruza koje nije bilo statistički značajno.

Uticaj inokulacije na sadržaj azota, fosfora, cinka i bakra u listu kukuruza

U ovim istraživanjima utvrđeno je da je u polukontrolisanim uslovima najveći uticaj na sadržaj azota u listu hibrida NS 6010 postignut inokulacijom sa izolatom Act6 i smešom izolata. Inokulacijom sa izolatom Azb8 i smešom izolata dobijen je najveći efekat na sadržaj azota u listu hibrida NS 6030 u polukontrolisanim uslovima, kao i u listu hibrida NS 6010 u poljskim uslovima. Najbolji efekat na sadržaj azota u listu hibrida NS 6030 u poljskim uslovima postignut je inokulacijom sa Azb5 i Azb13. Ovi rezultati su u skladu sa istraživanjima Lin *et al.* (1983) koji su inokulacijom kukuruza sa *Azospirillum brasilense* utvrdili značajno povećano usvajanje NO_3^- , K^+ i H_2PO_4^- , 30-50% u poređenju sa kontrolom. Takođe, utvrđeno je da je

suva masa klijanaca povećana za 20-30%, verovatno usled poboljšanog usvajanja hraniva. Rezultati Peng *et al.* (2013) pokazali su da upotreba *Azotobacter*-a povećala prinos, visinu i masu biljaka zahvaljujući poboljšanom usvajanju N i drugih hraniva.

Sadržaj fosfora u polukontrolisanim uslovima u listu hibrida NS 6010 smanjen je inokulacijom u poređenju sa kontrolnom varijantom, dok je u listu hibrida NS 6030 najveći sadržaj fosfora dobijen inokulacijom sa Azb5. U poljskim uslovima značajan uticaj na sadržaj fosfora u listu hibrida NS 6010 postignut je inokulacijom sa Azb8, dok je u listu hibrida NS 6030 najbolji efekat na sadržaj fosfora dobijen inokulacijom sa smešom izolata. Slično ovim istraživanjima, Đorđević i sar. (2000) su utvrdili da inokulacija kukuruza rizobakterijama *Bacillus*, *Micrococcus*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas* i *Flavobacterium*, čije kulture odlikuje aktivnost kisele, neutralne i/ili alkalne fosfomonoesteraze, u laboratorijskim uslovima dovodi do povećanja dužine biljke, mase suve materije i sadržaja ukupnog fosfora u biljci kukuruza, kao i do povećanja ukupnog broja bakterija, biomase ugljenika i fosfora i aktivnosti alkalne fosfataze. Poboljšano usvajanje N, P, K i svojstva zemljišta kao što su sadržaj organske materije i ukupni N u zemljištu nakon inokulacije kukuruza sa dve vrste AMF i tri vrste PGPR utvrdili su i Wu *et al.* (2005).

Sadržaj cinka u polukontrolisanim uslovima u listu hibrida NS 6010 u poređenju sa kontrolom smanjen je u svim varijantama inokulacije. U listu hibrida NS 6030 najveći sadržaj cinka dobijen je inokulacijom sa Bac9, Bac15 i Pse1, dok je i u ostalim varijantama osim inokulacije sa Pse5 i Act6 zabeležen povećan sadržaj bakra u poređenju sa neinokulisanom kontrolom. U poljskim uslovima najveće povećanje sadržaja cinka u listu hibrida NS 6010 dobijeno je inokulacijom sa Azb5 i Pse1, dok je u listu hibrida NS 6030 najveći sadržaj bakra dobijen inokulacijom sa Bac15. U radu Biari *et al.* (2008) utvrđeno je da je usvajanje N, P, K, Fe, Zn, Mn značajno povećano nakon inokulacije kukuruza sa PGPR (*Azospirillum* and *Azotobacter*). Ribaudó *et al.* (2001) utvrdili su povećanu aktivnost glutamat dehidrogenaze i glutamin sintetaze, kao i povećan sadržaj azota u listu i korenu kukuruza nakon inokulacije sa *Azospirillum* sp. Hernandez *et al.* (1997) su takođe dobili povećan sadržaj Mg sa *Azospirillum*-om, kao i povećanje prinosa kukuruza.

Značajan uticaj na sadržaj bakra u polukontrolisanim uslovima u listu hibrida NS 6010 postignut je inokulacijom sa Pse5, dok je u listu hibrida NS 6030 povećan sadržaj bakra dobijen inokulacijom sa izolatima Azb5 i Bac15. U poređenju sa kontrolom sadržaj bakra u

poljskim uslovima u listu hibrida NS 6010 smanjen je inokulacijom u svim varijantama, dok je u listu hibrida NS 6030 veći sadržaj bakra dobijen samo inokulacijom sa Pse1 i smešom izolata.

Uticaj inokulacije na prinos kukuruza

Najbolji efekat na prinos hibrida NS 6010 postignut je inokulacijom sa Azb5, a dobijeno povećanje u odnosu na kontrolnu varijantu iznosilo je 230 kg ha⁻¹. Veći prinos zabeležen je i nakon inokulacije sa smešom izolata.

Najveći uticaj na prinos hibrida NS 6030 dobijen je primenom izolata Bac9, gde je povećanje u poređenju sa neinokulisanim varijantom iznosilo 210 kg ha⁻¹. Prinos zrna povećan je u poređenju sa kontrolom i u varijantama sa Azb13, Bac15 i smešom izolata.

Slično ovim istraživanjima, upotreba smeše bofertilizatora, biostimulatora i biopesticida (*Azotobacter chroococcum*, *Azotobacter vinelandi*, *Azospirillum lipoferum*, *Bacillus megaterium* i *Bacillus subtilis*) dovela je do povećanja prinosa kod tri hibrida kukuruza (Govedarica i sar., 2002). U radu Hajnal-Jafari (2010) utvrđeno je da je koinokulacija imala pozitivan efekat na prinos kukuruza i mikrobiološku aktivnost u rizosferi. Ispitivanjem uticaja *Pseudomonas* sp. Q4b, *Bacillus* sp. Q5a i *Azotobacter chroococcum* na populaciju PGPR u rizosferi, rast i prinos kukuruza Jarak i sar. (2012) utvrdili su da je najbolji efekat postignut koinokulacijom, dok je u slučaju pojedinačnih inokulanata bolji efekat ostvaren sa *Pseudomonas*-om i *Azotobacter*-om.

Ispitivanjem efekta mikroorganizama koji rastvaraju fosfate (PSM) i mikroorganizme promotore rasta (PGPR) na prinos i komponente prinosa kukuruza Yazdani *et al.* (2009) su zaključili da inokulacija sa PGPR može efikasno da se koristi za poboljšanje rasta i prinosa kukuruza. Hameeda *et al.* (2008) su zaključili da se tretiranjem semena kukuruza sa PGPR povećava prinos u polju 64-85% u poređenju sa neinokulisanim semenom. Iswandi *et al.* (1987) dobili su povećanje prinosa kukuruza sa primenom PGPR (*Pseudomonas* sp.) 15-25%, dok je u istraživanjima Lalande *et al.* (1989) dobijeno povećanje prinosa iznosilo 8-14% (*Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Serratia liquefaciens*).

Brojna istraživanja ukazala su na pozitivne efekte pojedinačne primene PGPR. Tako je u radu Sharifi *et al.* (2009) dobijeno najveće povećanje prinosa primenom *Azotobacter*-a koji je ispoljio bolji efekat nego upotreba *Azospirillum*-a i njihove smeše. U istraživanjima Jarak i sar. (2011) primena *Azotobacter chroococcum* uticala je na povećanje prinosa zrna kod tri ispitivana

hibrida kukuruza (Tisa, NS444, NS5010), kao i na povećanje ukupnog broja mikroorganizama i broja azotobaktera, a smanjenje broja gljiva u rizosferi.

Rezultati ovih istraživanja pokazali su da efekti inokulacije zavise od odabranog izolata PGPR kao i ispitivanih hibrida kukuruza što je u saglasnosti sa istraživanjima Đorđević i sar. (2005) koji su ispitivali efekat bakterizacije semena kukuruza bakterijama iz roda *Bacillus*. Efekat inokulacije zavisi i od tipa zemljišta te je u istraživanjima Egamberdiyeva (2007) utvrđeno da je stimulatívni efekat *Pseudomonas alcaligenes* PsA15, *Bacillus polymyxa* BcP26 i *Mycobacterium phlei* MbP18 na rast biljaka i usvajanje N, P i K bio veći u zemljištu koje je siromašnije hranivima. Slično su utvrdili Okon and Labandera-Gonzales (1994) korišćenjem *Azospirillum*-a kao PGPR bakterije, koji su dobili povećanje prinosa kukuruza za 15-25%, koje je sa đubrenjem dostizalo 40%. Takođe su dobili povećanje prinosa na zemljištu srednje plodnosti i konstatovali da se biođubrivom može zameniti 35-40% azotnog đubriva.

Positivan efekat primene PGPR posebno je značajan u strategijama adaptacija i povećanju tolerantnosti poljoprivrednih biljnih vrsta na abiotičke stresove kao što su suša i visoke temperature, uslova koji su vladali u godini izvođenja eksperimenata u polju u ovim istraživanjima. U istraživanjima Sandhya *et al.* (2010) utvrđeno je da je inokulacija kukuruza sojevima *Pseudomonas* spp. koji su tolerantni na stres suše pozitivno uticala na rast biljke u stresnim uslovima smanjujući aktivnost antioksidativnih enzima. Slični rezultati dobijeni su u istraživanjima Vardharajula *et al.* (2011) koji su inokulisali kukuruz sa sojevima *Bacillus* spp. tolerantnim na stres suše. Rezultati istraživanja Naseem and Asghari Bano (2014) pokazali su da je bakterizacija kukuruza sa sojevima PGPR koji proizvode egzopolisaharide poboljšala svojstva zemljišta, povećala biomasu biljaka, dužinu korena, visinu biljke kao i površinu lista. Takođe, inokulisane biljke imale su povećan sadržaj vlage, proteina i šećera, dok je sadržaj prolina i aktivnost antioksidativnih enzima bila smanjena, a koinokulacijom je dobijen bolji efekat u poređenju sa pojedinačnom primenom sojeva.

Ovi rezultati ukazuju na mogućnost zamene određene količine mineralnih đubriva i pesticida biofertilizatorima, biostimulatorima i biopesticidima, koji bi sadržali visoko efektivne proizvodne sojeve PGPR. Dalja istraživanja bi trebala da obuhvate izolaciju što većeg broja mikroorganizama iz rizosfere kukuruza, ispitivanje PGP svojstava i odabir najefektivnijih izolata. Za kompletnu karakterizaciju izolata, pored fenotipske (određivanje morfoloških, fizioloških i biohemijskih osobina, serotipizacija, kompozicija ćelijskog zida, rezistentnost

prema antibioticima, toleratnost prema teškim metalima), neophodno uraditi i molekularnu determinaciju, koja obuhvata analizu genomske DNK, tj. genotipsku karakterizaciju.

Primena PGPR za povećanje prinosa limitirana je varijabilnošću između rezultata dobijenih u laboratoriji, u staklari i u polju jer je utvrđeno da pojedini PGP mikroorganizmi u laboratorijskim uslovima imaju neku osobinu, ali je ne ispoljavaju i u rizosferi biljke nakon inokulacije. Takođe je neophodno bolje razumevanje odnosa između mikroorganizama i biljaka, kao i interakcije između unesenih izolata i autohtone mikroflore, odnosno praćenje preživljavanja ovih izolata u rizosferi biljke.

8. ZAKLJUČAK

Rezultati istraživanja ukazuju na sledeće zaključke:

- Na osnovu morfoloških karakteristika kolonija i ćelija, biohemijskih i odgajivačkih karakteristika te produkcije materija rasta, utvrđeno je da izolati Azb1-Azb13 pripadaju rodu *Azotobacter*, izolati Bac1-Bac16 rodu *Bacillus*, izolati Pse1-Pse15 rodu *Pseudomonas*, a izolati Act1-Act6 rodu *Streptomyces*.
- Glukozu su koristili svi izolati aktinomiceta, devet od trinaest izolata *Azotobacter*-a i pet od šesnaest izolata roda *Bacillus*. Galaktozu su koristili svi izolati, osim jednog izolata bacilusa. Devet izolata azotobaktera i dva izolata aktinomiceta rasla su na podlozi sa saharozom. Na podlozi sa fruktozom rasli su svi izolati osim dva izolata aktinomiceta, dok je na podlozi sa manitolom raslo samo devet izolata azotobaktera. Svi izolati azotobaktera osim Azb10, kao i osam izolata bacilusa rasli su na podlozi sa laktozom.
- Na podlogama čija je pH 4 utvrđeno je potpuno odsustvo rasta svih izolata. Optimalan rast na podlozi čija je pH 5,5 imala su četiri izolata azotobaktera, devet izolata bacilusa, osam izolata pseudomonasa i pet izolata aktinomiceta, dok ostali izolati nisu rasli. Na podlozi čija je pH 7,5 svi izolati su imali optimalan rast, dok je na pH 9,0 poraslo samo sedam izolata bacilusa i pet izolata aktinomiceta.
- Na podlogama sa dodatkom 3% NaCl svi izolati su imali optimalan rast, dok je na istim podlogama sa dodatkom 15% NaCl zabeleženo potpuno odsustvo rasta svih izolata. Na podlozi sa 7% NaCl poraslo je osam izolata bacilusa, četiri izolata pseudomonasa i pet izolata aktinomiceta.
- Preporučene doze ispitivanih pesticida nisu imale inhibitorni uticaj na rast izolata. Izolati azotobaktera bili su najosetljiviji na dejstvo bentazona, izolati pseudomonasa na dejstvo metribuzina, dok su izolati bacilusa jednako inhibirani pod uticajem ova dva pesticida u koncentraciji 100 puta većoj od preporučene. Najveće koncentracije ispitivanih pesticida inhibirale su rast izolata aktinomiceta.

- Efekat teških metala na rast izolata bio je različit, a toksičnost je opadala sa smanjenjem koncentracije jona u rastvoru. Osim kadmijuma, koji je imao najveći inhibitorni uticaj na rast ispitivanih izolata, izolati azotobaktera i pseudomonasa bili su osetljiviji na dejstvo olova, dok su izolati bacilusa osetljiviji na dejstvo mangana. Olovo i mangan nisu imali inhibitorno dejstvo na rast izolata aktinomiceta.
- Uticaj antibiotika na rast izolata bio je različit, a zavisio je od vrste izolata, vrste i koncentracije antibiotika. Najveće inhibitorno dejstvo na rast izolata azotobaktera imali su eritromicin, neomicin i streptomycin, dok su izolati bacilusa bili najosetljiviji na dejstvo neomicina i kanamicina. Rast izolata pseudomonasa inhibiran je pod dejstvom streptomicina, kanamicina i hloramfenikola, a rezistentnost kod izolata aktinomiceta zabeležena je samo kod izolata Act1 na neomicin, kao i na ampicilin kod izolata Act5.
- Među izolatima azotobaktera, produkcija želatinaze utvrđena je kod dvanaest izolata, lipaze kod šest izolata i lecitinaze kod dva izolata. Nijedan izolat nije imao sposobnost hidrolize skroba. Pektinolitička i ureazna aktivnost dokazana je kod devet izolata, dok je produkcija celulaze zabeležena kod sedam izolata. Svi izolati bili su katalaza pozitivni, dok je sposobnost korišćenja citrata zabeležena kod jedanaest izolata, a redukcija nitrata dokazana je kod osam izolata.
- Deset izolata bacilusa proizvode želatinazu i pektinazu, tri izolata lipazu, dok je produkcija lecitinaze zabeležena kod osam izolata. Svi izolati proizvodili su amilazu, celulazu i katalazu. Citrate kao izvor energije nije koristio nijedan izolat, dok je redukcija nitrata utvrđena kod jedanaest izolata.
- Produkcija želatinaze utvrđena je kod šest izolata pseudomonasa. Jedanaest izolata proizvode lipazu, dok su lecitinazu proizvodili dva izolata. Sposobnost hidrolize skroba i katalazna aktivnost nisu utvrđene. Sedam izolata koriste citrate, tri izolata proizvode pektinazu i ureazu, dok trinaest izolata redukuju nitrate.
- Izolati aktinomiceta nisu proizvodili lipazu, lecitinazu, pektinazu, celulazu, ureazu i katalazu. Sposobnost hidrolize skroba, produkcija želatinaze i redukcija nitrata utvrđena je kod svih izolata.
- Izolati nisu proizvodili H₂S.

- Količina produkovane IAA zavisila je od primenjene koncentracije L-triptofana, perioda inkubacije i ispitivanih izolata. Najveću količinu IAA proizveli su izolati azotobaktera, dok su najmanju količinu IAA proizveli izolati pseudomonasa. Najbolji proizvođači bili su izolati Azb3 i Azb5.
- Sposobnost produkcije siderofora potvrđena je kod deset izolata azotobaktera, petnaest izolata bacilusa, dvanaest izolata pseudomonasa i dva izolata aktinomiceta. Najveći proizvođači siderofora bili su izolati Azb9, Bac5, Bac8, Bac9 i Bac15.
- Najveća produkcija cijanovodonika potvrđena je kod izolata azotobaktera (Azb3, Azb5, Azb8 i Azb 10) i bacilusa (Bac6, Bac7, Bac8, Bac11, Bac12 i Bac14), dok su najslabiji proizvođači bili izolati pseudomonasa (samo Pse9) i izolati aktinomiceta koji nisu proizveli HCN.
- Sposobnost produkcije egzopolisaharida potvrđena je kod jedanaest izolata azotobaktera, devet izolata bacilusa, pet izolata pseudomonasa, dok kod izolata aktinomiceta nije zabeležena.
- Najveća sposobnost fosfosolubilizacije zabeležena je kod izolata azotobaktera. Najveća zona solubilizacije izmerena je kod izolata Azb7, Azb8 i Azb12, zatim kod izolata bacilusa Bac1, Bac2, Bac3 i Bac11, kod izolata pseudomonasa Pse5 i aktinomiceta Act5 i Act6.
- Najveći antagonistički efekat na rast gljiva imali su izolati azotobaktera, dok su izolati pseudomonasa ispoljili najslabiji inhibicioni uticaj. Izolati azotobaktera i bacilusa ispoljili su najveću antifungalnu aktivnost prema *Helminthosporium sp.*, a izolati pseudomonasa i aktinomiceta prema *Fusarium sp.* Najmanji antagonistički efekat svi izolati imali su prema *Macrophomina sp.*
- Brojnost ispitivanih grupa mikroorganizama kao i enzimatska aktivnost u zemljištu pre inokulacije i setve bila je relativno visoka i karakteristična za ovaj tip zemljišta.
- Efekat inokulacije na brojnost ispitivanih grupa mikroorganizama kao i enzimatsku aktivnost u rizosferi kukuruza, kao i na rast i prinosa biljke bio je različit i zavisio je od primenjenih inokulanata, ispitivanih hibrida kukuruza kao i perioda uzimanja uzoraka.
- Svi primenjeni izolati su pozitivno uticali na ukupan broj mikroorganizama, pri čemu je najbolji efekat zabeležen primenom izolata Bac15, Pse1, Act6 i smeše izolata.

- Najveće povećanje brojnosti azotobaktera dobijeno je primenom izolata azotobaktera i smeše izolata.
- Najveća brojnost gljiva dobijena je inokulacijom sa izolatima Azb5, Bac15, Act6 i smešom izolata.
- Broj aminoheterotrofa najviše je povećan primenom Bac15, Pse1 i smeše izolata.
- Najbolji efekat na broj slobodnih azotofiksatora dobijen je primenom izolata azotobaktera, Act6 i smeše izolata.
- Najveća brojnost pseudomonasa dobijena je inokulacijom sa izolatima pseudomonasa i smešom izolata.
- Najveći broj fosfomobilizatora dobijen je inokulacijom sa Azb5, Pse1 i smešom izolata.
- Najveće povećanje brojnosti fosfomineralizatora zabeleženo je primenom izolata Bac15 i Pse5.
- Najbolji efekat na broj aktinomiceta postignut je sa Azb5, Azb13 i Act6.
- Na povećanje dehidrogenazne aktivnosti najviše je uticala primena izolata Azb5, Azb8, Bac15 i Act6.
- Posmatrajući efekat inokulacije po hibridima zabeležena je veća brojnost svih ispitivanih grupa mikroorganizama u rizosferi hibrida NS 6010. Značajne razlike brojnosti po hibridima zabeležene su za ukupan broj mikroorganizama, brojnost fosfomineralizatora i amonifikatora u poljskim uslovima.
- U polukontrolisanim uslovima zabeležen je veći ukupan broj mikroorganizama i fosfomineralizatora u prvom roku, amonifikatora, pseudomonasa, fosfomobilizatora i gljiva u drugom roku, dok je brojnost azotobaktera, slobodnih azotofiksatora i aktinomiceta bila približno jednaka u oba roka uzimanja uzoraka. U poljskim uslovima, najveća brojnost dobijena je u prvom roku, osim u slučaju azotobaktera, fosfomobilizatora i aktinomiceta, čiji je broj najveći u drugom roku uzorkovanja.
- Inokulacija je imala pozitivan uticaj na klijavost, visinu i suhu masu nadzemnog dela biljke, sadržaj N, P, Zn i Cu u biljnom materijalu, kao i prinos kukuruza.
- Primenjeni inokulanti uticali su pozitivno na klijavost semena kukuruza. Najveći procenat klijavosti semena hibrida NS 6010 dobijen je inokulacijom sa Bac15 i smešom

izolata, dok je kod hibrida NS 6030 najbolji efekat na klijavost utvrđen inokulacijom sa izolatima azotobaktera, bacilusa i Pse5.

- Najbolji efekat na visinu i masu nadzemnog dela biljke u polukontrolisanim uslovima zabeležen je sa izolatima azotobaktera, Bac15 i Pse1, dok je u poljskim uslovima najveće povećanje ovih parametara dobijeno primenom izolata Pse5 i Act6.
- Najveći uticaj na sadržaj azota u listu kukuruza postignut je inokulacijom sa izolatima Azb5, Azb8, Act6 i smešom izolata.
- Najveći sadržaj fosfora u listu kukuruza postignut je inokulacijom sa Azb5 i Azb8.
- Najbolji efekat na sadržaj cinka u listu kukuruza zabeležen je primenom Bac15, Azb5 i Pse1.
- Najveći sadržaj bakra u listu kukuruza dobijen je sa izolatima Bac15 i Pse5.
- U proseku, najbolji efekat na prinos dobijen je sa smešom izolata, a povećanje u odnosu na kontrolu dobijeno je i sa izolatima Azb5 kod hibrida NS 6010, kao i sa Azb13, Bac9, Bac15 kod hibrida NS 6030.

9. LITERATURA

- Adesemoye AO, Torbert HA, Kloepper JW.** 2009. Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microb Ecol* **58**, 921-929.
- Adjanohoun A, Allagbe M, Noumavo PA, Gotoechan-Hodonou H, Sikirou R, Dossa KK, GleleKakaï R, Kotchoni SO, Baba-Moussa L.** 2011. Effects of plant growth promoting rhizobacteria on field grown maize. *J Ani Plant Sci* **11**, 1457-1465.
- Ahemad M, Khan MS.** 2011. Functional aspects of plant growth promoting rhizobacteria: recent advancements. *Insight Microbiol* **1**, 39–54.
- Ahmad F, Ahmad I, Khan MS.** 2005. Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. *Turk J Biol* **29**, 29-34.
- Ahmad F, Ahmad I, Khan MS.** 2008: Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiol Res* **163**, 173-181.
- Ahmadzadeh M, Tehrani AS, Jahromi KT.** 2004. Study on production of some antimicrobial metabolites by fluorescent pseudomonads. *Iran J Agric Sci* **35**, 731-739.
- Ahmed N, Shahab S.** 2011. Phosphate solubilization: Their mechanism genetics and application. *Int J Microbiol* **9**, 4408-4412.
- Akhter S, Hossain SJ, Hossain A, Datta RK.** 2012. Isolation and characterization of salinity tolerant *Azotobacter* sp. *Green J Biol Sci* **2**, 043-051.
- Ali B, Sabri AN, Ljung K, Hasnain S.** 2009. Auxin production by plant associated bacteria: impact on endogenous IAA content and growth of *Triticum aestivum* L. *Lett Appl Microbiol* **48**, 505–651.
- Alstrom S.** 1991. Induction of disease resistance in common bean susceptible to halo blight bacterial pathogen after seed bacterization with rhizosphere pseudomonads. *J Gen Appl Microbiol* **37**, 495-501.
- Aly MM, Tork S, Al-Garni S, Nawar L.** 2012. Production of lipase from genetically improved *Streptomyces exfoliates* LP10 isolated from oil contaminated soil. *Afr J Microbiol Res* **5**, 1125-1137.

- Anderson GR.** 1965. Ecology of *Azotobacter* in soil of the Palouse region, I: Occurrence. *Soil Sci* **86**, 57-65.
- Arkipova TN, Prinsen EA, Veselov SU, Martinenko EV, Melentiev AI, Kudoyarova GR.** 2007. Cytokinin producing bacteria enhance plant growth in drying soil. *Plant Soil* **292**, 305–315.
- Arkipova TN, Veselov SU, Melentiev AI, Martynenko EV, Kudoyarova GR.** 2005. Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. *Plant Soil* **272**, 201–209.
- Arruda L, Beneduzi A, Martins A, Lisboa B, Lopes C, Bertolo F, Vargas LK.** 2013. Screening of rhizobacteria isolated from maize (*Zea mays* L.) in Rio Grande do Sul State (South Brazil) and analysis of their potential to improve plant growth. *Appl Soil Ecol* **63**, 15-22.
- Asghar HN, Zahir ZA, Arshad M, Khaliq A.** 2004. Relationship between in-vitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L. *Biol Fertil Soils* **35**, 231-237.
- Atzorn R, Crozier A, Wheeler C, Sandberg G.** 1988. Production of gibberellins and Indole 3-acetic acid by *Rhizobium phaseoli* in relation to nodulation of *Phaseolus vulgaris* roots. *Planta* **175**, 532–538.
- Aulakh MS, Wassmann R, Bueno C, Kreuzwieser J, Rennenberg H.** 2001. Characterisation of root exudates at different growth stages of ten rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Plant Biol* **3**, 139-148.
- Ayyadurai N, Ravindra Naik P, Sakthivel N.** 2007. Functional characterization of antagonistic fluorescent pseudomonads associated with rhizospheric soil of rice (*Oryza sativa* L.). *J Microbiol Biotechnol* **17**, 919–927.
- Bákonyi N, Bott S, Gajdos É, Szabó A, Jakab A, Tóth B, Makleit P, Veres Sz.** 2013. Using Biofertilizer to Improve Seed Germination and Early Development of Maize. *Pol J Environ Stud* **22**, 1595-1599.
- Bansal M, Mukerji KG.** 1996. Root exudates in rhizosphere biology. In: Mukerji KG & Singh VP. (eds.) Concepts in applied microbiology and biotechnology, Aditya Book, New Delhi, 98-120.
- Barea JM, Navamo E, Monotoya E.** 1976. Production of plant growth regulators by rhizosphere phosphate solubilizing bacteria. *J Appl Bacteriol* **40**, 129-134.

- Bashan Y, Holguin G, de-Bashan LE.** 2004. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). *Can J Microbiol* **50**, 521-577.
- Bashan Y.** 1998. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnol Adv* **16**, 729-770.
- Baskaran R, Vijayakumar R, Mohan PM.** 2011. Enrichment method for the isolation of bioactive actinomycetes from mangrove sediments of Andaman Islands, India. *Malays J Microbiol* **7**, 26-32.
- Bastian F, Cohen A, Piccoli P, Luna V, Baraldi R, Bottini R.** 1998. Production of indole-3-acetic acid and gibberellins A1 and A3 by *Acetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum seropedicae* in chemically-defined culture media. *Plant Growth Regul* **24**, 7-11.
- Baya AM, Robert SB, Ramos CA.** 1981. Vitamin production in relation to phosphate solubilization by soil bacteria. *Soil Biol Biochem* **13**, 527-532.
- Becking J.** 2006. The Family *Azotobacteraceae*. *Prokaryotes* **6**, 759-783.
- Bekavac G, Purar B, Jocković Đ, Stojaković M, Ivanović M, Malidža G, Đalović I.** 2010. Proizvodnja kukuruza u uslovima globalnih klimatskih promena. *Ratar povrt* **47**, 443-450.
- Belimov AA, Hontzas N, Safronova VI, Dodd IC, Demchinskaya SV, Piluzza G, Bullitta S, Davies WJ, Glick BR.** 2005. Cadmium tolerant root growth-promoting bacteria of the rhizoplane of Indian mustard (*Brassica juncea* L.). *Soil Biol Biochem* **37**, 241-250.
- Berg G.** 2009. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *App Microbiol Biotechnol* **84**, 11-48.
- Biari A, Gholami A, Rahmani HA.** 2008. Growth promotion and enhanced nutrient uptake of maize (*Zea mays* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria in Arid region of Iran. *J Boil Sci* **8**, 1015-1020.
- Bjelić D, Mrkovački N, Jarak M, Jošić D, Đalović I.** 2010. Efekat rizobakterija (PGPR) na početni rast kukuruza i brojnost mikroorganizama u rizosferi. *Savremena poljoprivreda* **59**, 339-345.
- Bong CFG, Sikorowski PP.** 1991. Effects of cytoplasmic polyhedrosis virus and bacterial contamination on growth and development of the corn earworm, *Helicoverpa zea*. *J Invert Pathol* **57**, 406-412.
- Bottini R, Fulchieri M, Pearce DW, Pharis RP.** 1989. Identification of gibberellins A1, A3, and iso-A3 in cultures of *Azospirillum lipoferum*. *Plant Physiol* **90**, 45-47.

- Bowen GD, Rovira AD.** 1992. The rhizosphere: the hidden half of the hidden half. In Y. Waisel, A. Eshel, and U. Kafkafi (eds.), *Plant roots: the hidden half*. Marcel Decker, New York. p. 641-669.
- Brenner DJ, Krieg RN, Staley JT.** 2005. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 1st ED, Michigan State University publishers. p. 384-402.
- Bressan W.** 2003. Biological control of maize seed pathogenic fungi by use of actinomycetes. *Biocontrol* **48**, 233-240.
- Brodhagen M, Henkels MD, Loper JE.** 2004. Positive autoregulation and signaling properties of pyoluteorin, an antibiotic produced by the biological control organism *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. *Appl Environ Microbiol* **70**, 1758–1766.
- Castignetti D, Smarrelli J.** 1986. Siderophores, the iron nutrition of plants, and nitrate reductase. *FEBS Lett* **209**, 147-151.
- Cattelan AJ, Hartel PG, Fuhrmann JJ.** 1999. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Sci Soc Ame J* **63**, 1670-1680.
- Cazorla FM, Romero D, Perez-Garcia A, Lugtenberg BJJ, de Vicente A, Bloemberg G.** 2007. Isolation and characterization of antagonistic *Bacillus subtilis* strains from the avocado rhizosphere displaying biocontrol activity. *J Appl Microbiol* **103**, 1950–1959.
- Chen C, Bauske EM, Mussan G, Rodriguez-Kabana R, Kloepper JW.** 1995. Biological control of *Fusarium* wilt on cotton by use of endophytic bacteria. *Biol Control* **5**, 83-91.
- Chen YP, Rekha PD, Arun AB, Shen FT, Lai WA, Young CC.** 2006. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Appl Soil Ecol* **34**, 33-41.
- Chester K.** 1933. The problem of acquired physiological immunity in plants. *Quart Rev Biol* **8**, 129-151.
- Chinthala P, Babu Gundala P.** 2013. Morphological, biochemical and functional characterization of *Pseudomonas fluorescences* strains isolated from forest litter of Seshachalam Hill range. *Int J Res Pure Appl Microbiol* **3**, 1-3.
- Chung H, Park M, Madhaiyan M, Seshadri S, Song J, Cho H, Sa T.** 2005. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of crop plants of Korea. *Soil Biol Biochem* **37**, 1970-1974.
- Clark FE.** 1949. Soil microorganisms and plant roots. *Adv Agron* **1**, 241-288.

- Cohen A, Travaglia C, Reinoso H, Piccoli P, Bottini R.** 2001. *Azospirillum* inoculation and inhibition of gibberellin and ABA synthesis in maize seedlings under drought. *Proc Plant Growth Regul Soc Am* **28**, 88–93.
- Compant S, Clément C, Sessitsch A.** 2010. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biol Biochem* **42**, 669–678.
- Corbett JR.** 1974. Pesticide design. In: The biochemical mode of action of pesticides, Academic Press, Inc., London, pp.44-86.
- Cote GL, Krull LH.** 1988. Characterization of the exocellular polysaccharides from *Azotobacter chroococcum*. *Carbohydr Res* **181**, 143-52.
- Cowan ST.** 1974. Classical and rapid identification of medical bacteria. 2nd edition. Cambridge University Press, London.
- Cvijanović G, Govedarica MM, Milošević NA, Jovanović Ž.** 2000. Uticaj biofertilizatora na prinos kukuruza i biogenost zemljišta. EKO-Konferencija Zdravstveno bezbedna hrana, Novi Sad, 27-30. septembar, Zbornik radova I, 365-370.
- Cvijanović G, Milošević N, Jarak M.** 2007. The importance of diazotrophs as biofertilisers in the maize and soybean production. *Genetika* **39**, 395-404.
- Cvijanović G.** 2002. Uticaj diazotrofa na prinos i mikrobiološku aktivnost u zemljištu kod kukuruza, pšenice i soje. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- de Souza JT, Arnould C, Deulvot C, Lemanceau P, Gianinazzi-Pearson V, Raaijmakers JM.** 2003. Effect of 2,4-diacetylphloroglucinol on *Pythium*: cellular responses and variation in sensitivity among propagules and species. *Phytopathology* **93**, 966–975.
- de Vasconcellos RLF, da Silva MCP, Ribeiro CM, Cardoso EJBN.** 2010. Isolation and screening for plant growth-promoting (PGP) actinobacteria from *Araucaria angustifolia* rhizosphere soil. *Sci Agric* **67**, 743-746.
- Deshwal VK, Singh SB, Chubey A, Kumar P.** 2013. Isolation and characterization of *Pseudomonas* strains from Potatoes Rhizosphere at Dehradun Valley, India. *Int J Basic Appl Sci* **2**, 53-55.
- Dinkelaker B, Marschner H.** 1992. In vivo demonstration of acid phosphatase activity in the rhizosphere of soil grown plants. *Plant Soil* **144**, 199-205.

- Djuric S, Pavic A, Jarak M, Pavlovic S, Starovic M, Pivic R, Josic D. 2011. Selection of indigenous fluorescent pseudomonad isolates from maize rhizospheric soil in Vojvodina as possible PGPR. *Rom Biotechnol Lett* **16**, 6580-6590.
- Dobbelaere S, Croonenborghs A, Thys A, Sarig S, Okon Y. 2001. Response of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. *Aust J Plant Physiol* **28**, 1-9.
- Dobbelaere S, Vanderleyden J, Okon Y. 2003. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Crit Rev Plant Sci* **22**, 107-149.
- Dobereiner J, Day JM, Dart PJ. 1972. Nitrogenase activity in the rhizosphere of sugarcane and some other grasses. *Plant Soil* **37**, 191-196.
- Dye DW. 1962. The inadequacy of the usual determinative tests for identification of *Xanthomonas* spp. *NZT. Sci* **5**, 393-416.
- Đorđević S, Govedarica M, Milošević N, Jakovljević M. 2000. Uticaj bakterijske inokulacije na biomasu C, P i aktivnost fosfataza u rizosferi kukuruza. Ekološki pokret grada Novog Sada, Novi Sad, I: 359-364.
- Đorđević S, Milošević N, Jarak M, Najdenovska O. 2005. Efekti inokulacije semena kukuruza bakterijama iz roda *Bacillus* sp. *Zbornik naučnih radova Instituta PKB Agroekonomik* **11**, 95-101.
- Đorđević S, Šestović M, Raičević V, Marinković N. 1999. Preživljavanje mikroorganizama u zemljištu tretiranom fentin-acetatom, hloridazonom i karbofuranom. *Pesticidi* **14**, 345-352.
- Đurić S, Jarak M, Govedarica M. 2003. Microbial activity in soil after application of sulfonyleurea herbicides during the maize vegetation. *Microbiologia Balkanica*, 3rd Balkan Conference of Microbiology. Abstract Book, 235, Istanbul, September 4-6.
- Đurić S, Jarak M, Hajnal-Jafari T. 2008. Mikrobiološka aktivnost zemljišta u sistemima organske i konvencionalne proizvodnje kukuruza. *Savremena poljoprivreda* **57**, 46-50.
- Đurić S. 2010. Mikroorganizmi u zemljištu pod usevom kukuruza i njihov potencijal za razgradnju sulfonyleurea herbicida. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Egamberdiyeva D. 2007. The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. *Appl Soil Ecol* **36**, 184-189.
- Ela SW, Anderson MA, Brill WJ. 1982. Screening and selection of maize to enhance associative bacterial nitrogen fixation. *Plant Physiol* **70**, 1564-1567.

- Elad Y, Chet I.** 1987. Possible role of competition for nutrients in biocontrol of *Phytophthora damping-off* by bacteria. *J Phytopathol* **77**, 190-195.
- El-Tarabily KA, Soliman MH, Nassar AH, Al-Hassani HA, Sivasithamparam K, McKenna F, Hardy GE.** 2000. Biological control of *Sclerotinia minor* using a chitinolytic bacterium and actinomycetes. *Plant Pathol* **49**, 573-583.
- Fguira LF, Fotso S, Ameer-Mehdi RB, Mellouli L, Laatsch H.** 2005. Purification and structure elucidation of antifungal and antibacterial activities of newly isolated *Streptomyces* sp. strain US80. *Res Microbiol* **156**, 341-347.
- Flores HE, Vivanco JM, Loyola-Vargas VM.** 1999. "Radicle" biochemistry: the biology of root-specific metabolism. *Trends Plant Sci* **4**, 220-226.
- Flouri F, Sini K, Balis C.** 1995. Interactions between *Azospirillum* and *Phialophora radicola*. In: *Azospirillum VI and Related Microorganisms* (Eds. Fendrik I, del Gallo, Vanderleyden J, de Yamaroczy M). Springer Berlin – Heidelberg, Berlin, Germany, pp. 231-237.
- Forchetti G, Masciarelli O, Alemanno S, Alvarez D, Abdala G.** 2007. Endophytic bacteria in sunflower (*Helianthus annuus* L.): isolation, characterization, and production of jasmonates and abscisic acid in culture medium. *Appl Microbiol Biotechnol.* **76**, 1145-1152.
- Frankenberger W T, Arshad M.** 1995. Phytohormones in Soil: Microbial production and function. Marcel-Dekker Inc. NY: 503.
- Frindlender M, Inbar J, Chet I.** 1993. Biological control of soilborne plant pathogens by a β -1,3-glucanase producing *Pseudomonas cepacia*. *Soil Biol Biochem* **25**, 1211-1221.
- Fu J, Wang S.** 2011. Insights into auxin signaling in plant-pathogen interactions. *Front Plant Sci* **2**, 74.
- Fulchieri M, Lucangeli C, Bottini R.** 1993. Inoculation with *Azospirillum lipoferum* affects growth and gibberellin status of corn seedling roots. *Plant Cell Physiol* **34**, 1305-1309.
- Gaudin V, Vrain T, Jouanin L.** 1994. Bacterial genes modifying hormonal balances in plants. *Plant Physiol Biochem* **32**, 11-29.
- Gava CAT.** 1998. Seleção de estreptomicetos para controle biológico de *Ralstonia solanacearum* e *Erwinia carotovora*. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 114p.
- Gehring PJ, Mohan RJ, Watamare PG.** 1993. Solvents, fumigants and related compounds. In: *Handbook of Pesticide Toxicology*, Vol. 2, (Eds. Hayes WJ & Laws ER.), Academic Press, inc., San Diego, California, pp.646-649.

- Gholami A, Shahsavani S, Nezarat S.** 2009. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. *Int J Biol Life Sci* **5**, 35-40.
- Glazer AN, Nikaido H.** 2001. Microbial biotechnology. Fundamentals of applied microbiology. 3rd edition. Freeman and Company, New York.
- Gordon SA, Weber RP.** 1951. Colorimetric estimation of indolacetic acid. *Plant Physiol* **26**, 192-197.
- Govedarica M.** 1986. Azotofiksatori i njihova aktivnost kod kukuruza, Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Govedarica M, Jarak M, Milošević N, Manojlović S.** 1992. Uloga mikroorganizama u savremenoj biljnoj proizvodnji. *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo* **20**, 95-103.
- Govedarica M, Milošević N, Jarak M, Bogdanović D, Vojvodić-Vuković M.** 1993. Mikrobiološka aktivnost u zemljištima Vojvodine. *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo* **21**, 75-84.
- Govedarica M, Jeličić Z, Jarak M, Milošević N, Pavlović M.** 1994. Ispitivanje efektivnosti različitih vrsta azotobaktera kod kukuruza. *Zbornik radova devetog savetovanja agronoma i tehnologa*, 14-16.02., Smederevo, 44-47.
- Govedarica M, Jarak M.** 1997. Praktikum iz mikrobiologije. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Govedarica M, Milošević N, Jarak M, Jeličić Z, Protić R.** 1997. Diazotrophs and their activity in maize and wheat. In: Elmerich et al. (eds.) 11th International Congress of Nitrogen Fixation, 20-25.07., Paris, Dordrecht: Kluwer Academic Publish, 408-409.
- 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**, 115-121.
- Govedarica M, Jeličić Z, Stojnić N, Hajnal T, Milošev D.** 2001. Effectiveness of *Azotobacter chroococcum* and *Bacillus megatherium* in corn. *Soil Plant* **50**, 57-64.
- Govedarica M, Milošević N, Jarak M, Đurić S, Hajnal T, Jeličić Z, Kuzevski J.** 2002. Application of biofertilizers in agriculture production. 6th International Symposium Interdisciplinary Regional Research Hungary-Romania-Yugoslavia. Novi Sad, 3rd-4th October. p. 407.

- Gulati A, Sharma N, Vyas P, Sood S, Rahi P, Pathania V, Prasad R.** 2010. Organic acid production and plant growth promotion as a function of phosphate solubilization by *Acinetobacter rhizosphaerae* strain BIHB 723 isolated from the cold deserts of the trans-Himalayas. *Arch Microbiol* **192**, 975-983.
- Gupta A, Gopal M, Tilak KV.** 2000. Mechanism of plant growth promotion by rhizobacteria. *Indian J Exp Biol* **38**, 856–862.
- Gutierrez-Manero FJ, Ramos-Solano B, Probanza A, Mehouchi J, Tadeo FR, Talon M.** 2001. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiologia Plantarum* **111**, 206-211.
- Haas D, Keel C.** 2003. Regulation of antibiotic production in root colonizing *Pseudomonas spp.* and relevance for biological control of plant disease. *Ann Rev Phytopathol* **41**, 117-153.
- Hajnal T, Govedarica M, Jeličić Z.** 2001. Uticaj bakterizacije na brojnost mikroorganizama i sadržaj azota u zemljištu pod usevom kukuruza. *Acta agriculturae Serbica* **6**, 77-90.
- Hajnal T, Jeličić Z, Jarak M.** 2004. Mikroorganizmi iz ciklusa azota i fosfora u proizvodnji kukuruza. *Zbornik naučnih radova Instituta PKB Agroekonomik* **10**, 43-53.
- Hajnal-Jafari T.** 2010. Uticaj inokulacije na prinos i mikrobiološku aktivnost u zemljištu pod usevom kukuruza. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Hajnal-Jafari T, Jarak M, Đurić S, Stamenov D.** 2012. Uticaj združene inokulacije sa različitim grupama korisnih mikroorganizama na mikrobiološka svojstva zemljišta i prinos zrna kukuruza (*Zea mays* L.). *Ratar povrt* **49**, 183-188.
- Halder AK, Chakrabarty PK.** 1993. Solubilization of inorganic phosphates by *Rhizobium*. *Folia Microbiol* **38**, 325-330.
- Hameeda B, Harini G, Rupela O, Wani S, Reddy G.** 2008. Growth promotion of maize by phosphate-solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna. *Microbiol Res* **163**, 234-242.
- Hammerschmidt R, Kuc J.** 1995. Induced Resistance to Disease in Plants. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, p. 182.
- Harley JP.** 2005. Laboratory exercises in microbiology, 6th ed. McGraw Hill, New York, NY.
- Harman GE, Howell CR, Viterbo A, Chet I, Lorito M.** 2004. *Trichoderma* species: opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Rev Microbiol* **2**, 43–56.

- Hernandez Y, Sogo J, Sarmiento M.** 1997. *Azospirillum* inoculation on *Zea mays*. *Cuban J Agr Sci* **31**, 203-209.
- Hiltner L.** 1904. Ueber neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiete der Bodenbakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Grundung und Brache. *Arb. Deut. Landw. Gesell.* **98**, 59-78.
- Hugh R, Leifson E.** 1953. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. *J Bacteriol* **66**, 24–26.
- Husen E.** 2003. Screening of soil bacteria for plant growth promotion activities in vitro. *Indonesian J Agric Sci* **4**, 27-31.
- Ikeda AC, Bassani LL, Adamoski D, Stringari D, Kava-Cordeiro V, Glienke C, Steffens MBR, Hungria M, Galli-Terasawa LV.** 2013. Morphological and genetic characterization of endophytic bacteria isolated from roots of different maize genotypes. *Microb Ecol* **65**, 154-160.
- Iswandi A, Bossier P, Vandenabeele J, Verstraete W.** 1987. Effect of seed inoculation with the rhizopseudomonad strain 7NSK2 on the root microbiota of maize (*Zea mays*) and barley (*Hordeum vulgare*). *Biol Fertil Soils* **3**, 153-158.
- Jacoud C, Faure D, Wadoux P, Bally R.** 1998. Development of a strain-specific probe to follow inoculated *Azospirillum lipoferum* CRT1 under field conditions and enhancement of maize root development by inoculation. *FEMS Microbiol Ecol* **27**, 43–51.
- Jakab G, Cottier V, Toquin V, Rigoli G, Zimmerli L, Métraux JP, Mauch-Mani B.** 2001. β -Aminobutyric acid-induced resistance in plants. *Eur J Plant Pathol* **107**, 29–37.
- Janzen R, Rood S, Dormar J, McGill W.** 1992. *Azospirillum brasilense* produces gibberellins in pure culture and chemically-medium and in co-culture on straw. *Soil Biol Biochem* **24**, 1061–1064.
- Jarak M, Govedarica M, Milošević N, Molnar I, Đurić S, Kurjački I.** 1999. Mikrobiološka svojstva zemljišta u zavisnosti od načina obrade. *Traktori i pogonske mašine* **4**, 171-176.
- Jarak M, Đurić S.** 2004. Praktikum iz mikrobiologije. Univerzitetu Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet.
- Jarak M, Milošević N, Milić V, Mrkovački N, Đurić S, Marinković J.** 2005. Mikrobiološka aktivnost – pokazatelj plodnosti i degradacije zemljišta. *Ekonomika poljoprivrede* **52**, 483-493.

- Jarak M, Hajnal T.** 2006. Ukupan broj mikroorganizama, broj gljiva i azotobaktera u sabijenom i rastresitom zemljištu. *Traktori i pogonske mašine* **11**, 37-40.
- Jarak M, Đurić S, Simikić M, Savin L, Vasin J.** 2007. Mikrobiološka aktivnost u zemljištu pod pšenicom. *Traktori i pogonske mašine* **12**, 49-53.
- Jarak M, Đurić S, Savin L, Čolo J.** 2009. Uticaj primene biofertilizatora na prinos ječma i mikrobiološku aktivnost u zemljištu. *Traktori i pogonske mašine* **14**, 77-81.
- Jarak M, Đurić S, Đorđević B.** 2010. Korisnost inokulacije s azotobakterom na rastenje i na produktivnost paradajza i paprike. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke* **119**, 71-76.
- Jarak M, Jeličić Z, Kuzevski J, Mrkovački N, Đurić S.** 2011. The use of *Azotobacter* in maize production: The effect on microbiological activity of soil, early plant growth and grain yield. *Contemporary Agriculture* **60**, 80-85.
- Jarak M, Mrkovački N, Bjelić D, Jošić D, Hajnal-Jafari T, Stamenov D.** 2012. Effects of plant growth promoting rhizobacteria on maize in greenhouse and field trial. *Afr J Microbiol Res* **6**, 5683-5690.
- Jeffrey LSH.** 2008. Isolation, characterization and identification of actinomycetes from agriculture soils at Semongok, Sarawak. *Afr J Biotechnol* **7**, 3697-3702.
- Jeličić Z, Kuzevski J, Kačarević A, Erić N, Krstanović S.** 2005. Hibridi kukuruza Instituta PKB Agroekonomik u makroogledima 2004. godine. *Zbornik naučnih radova PKB Agroekonomik* **11**, 49-56.
- Jeličić Z, Jarak M, Kuzevski J, Janković S.** 2008. The use of *Azotobacter* in maize production. State, possibilities and perspectives of rural development on arel of huge open-pit minings, Belgrade-Vrujuci Spa, 24-25.04., 457-461.
- Jensen LB, Baloda S, Boye M, Aarestrup FM.** 2001. Antimicrobial resistance among *Pseudomonas* spp. and the *Bacillus cereus* group isolated from Danish agricultural soil. *Environ Int* **26**, 581-587.
- Jensen ES, Hauggaard-Nielsen H.** 2003. How can increased use of biological N₂ fixation in agriculture benefit the environment? *Plant Soil* **252**, 177-186.
- Jocković Đ, Purar B, Bekavac G, Stojaković M, Ivanović M.** 2006. Oplemenjivanje kukuruza u Naučnom institutu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu. *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo* **42**, 55-78.

- Jocković Đ, Stojaković M, Ivanović M, Simić D, Bekavac G, Purar B, Nastasić A.** 2007. Preporuka NS hibrida kukuruza za setvu u 2006. godini. *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo* **47**, 69-82.
- Joo HS., Kumar CG, Park GC, Paik SR, Chang CS.** 2003. Oxidant and SDS-stable alkaline protease from *Bacillus clausii* I-52: production and some properties. *J Appl Microbiol* **95**, 267-272.
- Kado CI.** 1992. Plant pathogenic bacteria. In *The prokaryotes*. Edited by Balows A, Triiper HG, Dworkin M, Harder W, Schleifer KH, Springer-Verlag, New York. pp. 660-662.
- Kakimoto T.** 2003. Biosynthesis of cytokinins. *J Plant Res* **116**, 233–239.
- Kandeler E, Marschner P, Tschierko D, Gahoonia TS, Nielsen NE.** 2002. Microbial community composition and functional diversity in the rhizosphere of maize. *Plant Soil* **238**, 301–312.
- Kang SM, Khan AL, Hamayun M, Hussain J, Joo GJ, You YH, Kim JG, Lee IJ.** 2012. Gibberellin-producing *Promicromonospora* sp. SE188 improves *Solanum lycopersicum* plant growth and influences endogenous plant hormones. *J Microbiol* **50**, 902–909.
- Kaper JM, Veldstra H.** 1958. On the metabolism of tryptophan by *Agrobacterium tumefaciens*. *Biochim Biophys Acta* **30**, 401-420.
- Karnwal A, Kaushik P.** 2001. Cytokinin production by fluorescent *Pseudomonas* in the presence of rice root exudates. *Arch Phytopathol Plant Protect* **44**, 1728-1735.
- Kasing A.** 1995. Cellulase production, Practical biotechnology, Practical Biotechnology, Sarawak, Malaysia.
- Katznelson H.** (1965): Recent studies of the Rhizosphere Phenomenon. 7th International Congress of Soil Science. **2**, 537-544.
- Keel C, Schnider U, maurhofer M, Voisard C, Laville J, Burger U, Wirthner P, Haas D, Defago G.** 1992. Suppression of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHA0: importance of the bacterial secondary metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol. *Mol Plant Microbe Interact* **5**, 4–13.
- Kennedy IR, Choudhury ATMA, Kecskes ML.** 2004. Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited? *Soil Biol Biochem* **36**, 1229-1244.
- Khamna S, Yokota A, Lumyong S.** 2009. Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World J Microbiol Biotechnol* **25**, 649–655.

- Khan MS, Zaidi A, Wani PA.** 2007. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture. *Agron Sustain Dev* **27**, 29–43.
- King EO, Ward MK, Randey DE.** 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J Lab Clin Med* **44**, 301-307.
- Kloepper JW, Leong, J, Teintze M, Schroth MN.** 1980. Enhancing plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature* **286**, 885–886.
- Kloepper JW, Schroth MN.** 1978. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. In: Angers (Ed.) Proceedings of the Fourth International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. Gibert - Clarey Tours, p. 879-882.
- Kogl F, Kostermans D.** 1934. Hetero-auxin als Stoffwechselprodukt niedriger pflanzlicher Organismen. XIII. Isolierung aus Hefe. *Zeitschrift für Physikalische Chemie* **228**, 113–121.
- Kohn J.** 1953. The use of denatured gelatin for biochemical tests. *J Clin Pathol* **6**, 250.
- Koushalshahi MB, Issazadeh K, Tehranifard A, Reza M, Pahlaviani K, Massiha A.** 2012. Isolation of Hg and Cu resistant *Streptomyces* from marine sediments in different regions of the Caspian Sea. *Afr J Microbiol Res* **6**, 4048-4052.
- Krasilnikov NA.** 1965. Biologija otedeljnih grup aktinomicetov. Moskva: Nauka.
- Kucey RMN, Jenzen HH, Leggett ME.** 1989. Microbially mediated increases in plant available phosphorus. *Adv Agron* **42**, 199-228.
- Kucey RMN.** 1988. Effect of *Penicillium billai* on the solubility and uptake of P and micronutrients from soil by wheat. *Can J Soil Sci* **68**, 261-270.
- Kumar A, Kumar A, Devi S, Patil S, Payal C, Negi S.** 2012. Isolation, screening and characterization of bacteria from rhizospheric soils for different plant growth promotion (PGP) activities: an in vitro study. *Recent Res Sci Technol* **4**, 01-05.
- Kumar NR, Arsu VT, Gunasekeran P.** 2002. Genotyping of antifungal compound producing plant growth promoting rhizobacteria *Pseudomonas fluorescens*. *Curr Sci* **82**, 1463-1466.
- Lalande R, Bissonnette N, Coutlee D, Antoun H.** 1989. Identification of rhizobacteria from maize and determination of their plant-growth promoting potential. *Plant Soil* **115**, 7-11.
- Lanyi B.** 1987. Classical and rapid identification methods for medically important bacteria. *Methods Microbiol* **19**, 1–67.

- Li BY, Zhou DM, Cang L, Zhang HL, Fan XH, Qin SW.** 2007. Soil micronutrient availability to crops as affected by long-term inorganic and organic fertilizer applications. *Soil Till Res* 96, 166–173.
- Ligon JM, Hill DS, Hammer PE, Torkewitz NR, Hofmann D, Kempf HJ, Pee KH.** 2000. Natural products with antifungal activity from *Pseudomonas* biocontrol bacteria. *Pest Manag Sci* 56, 688–695.
- Lin W, Okon Y, Hardy RWF.** 1983. Enhanced mineral uptake by *Zea mays* and *Sorghum bicolor* roots inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Appl Environ Microbiol* 45, 1775- 1779.
- Liu M, Gonzales JE, Willis LB, Walker GC.** 1998. A novel screening method for isolating exopolysaccharide- deficient mutans. *Appl Environ Microbiol* 64, 4600-4602.
- Liu Y, Zuo S, Zou Y, Wang J, Song W.** 2013. Investigation on diversity and population succession dynamics of endophytic bacteria from seeds of maize (*Zea mays* L., Nongda108) at different growth stages. *Ann Microbiol* 63, 71–79.
- Lorck H.** 1948. Production of hydrocyanic acid by bacteria. *Physiol. Plant.* 1, 142-146.
- Lucy M, Reed E, Glick BR.** 2004. Application of free living plant growth promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 86, 1-25.
- Mahalakshmi S, Reetha D.** 2009. Assessment of plant growth promoting activities of bacterial isolates from the rhizosphere of Tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Recent Res Sci Technol* 1, 026-029.
- Malik A, Aleem A.** 2011. Incidence of metal and antibiotic resistance in *Pseudomonas* spp. from the river water, agricultural soil irrigated with wastewater and groundwater. *Environ Monit Assess* 178, 293–308.
- Manwar AV, Khandelwal SR, Chaudhari BL, Meyer JM., Chincholkav SB.** 2004. Siderophore production by a marine *Pseudomonas areuginosa* and its antagonistic action against phytopathogenic fungi. *Appl Biochem Biotechnol* 118, 243-252.
- Manjula K, Podile AR.** 2001. Chitin supplemented formulations improve biocontrol and plant growth promoting efficiency of *Bacillus subtilis* AF1. *Can. J. Microbiol.* 47, 618-625.
- Marinković J, Milošević N, Tintor B, Vasin J.** 2007. Zastupljenost pojedinih grupa mikroorganizama na različitim tipovima zemljišta. *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo* 43, 319-327.

- Marques AM, Congregado F, Simon-Pujol DM.** 1979. Antibiotic and heavy metal resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from soils. *J Appl Bacteriol* **41**, 341-350.
- Marschner H.** (1995): Mineral nutrition of higher plants. 2nd Edition. Academic Press, San Diego, pp 889.
- Marschner P, Yang CH, Lieberei R, Crowley DE.** 2001. Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere. *Soil Biol Biochem* **33**, 1437-1445.
- Meera T, Balabaskar P.** 2012. Isolation and characterization of *Pseudomonas fluorescens* from rice fields. *Int J Food Agric Vet Sci* **2**, 113-120.
- Merbach W, Ruppel S.** 1992. Influence of microbial colonization on ¹⁴CO₂ assimilation and amounts of rootborne 14C compounds in soil. *Photosynthetica* **26**, 551-554.
- Milagres AFM, Machuca A, Napoleao D.** 1999. Detection of siderophore production from several fungi and bacterial by a modification of chrome azurol S (CAS) agar plate assay. *J Microbiol Methods* **37**, 1–6.
- Milić V, Mrkovački N, Hrustić M.** 2000. Azotofiksacija kod različitih genotipova soje. *Zbornik radova Naučnog instituta za ratarstvo i povrtarstvo* **33**, 129-134.
- Milić V, Mrkovački N.** 1994. Selekcija sojeva *Bradyrhizobium japonicum* i njihova efikasnost. *Zbornik radova Naučnog instituta za ratarstvo i povrtarstvo* **22**, 259-268.
- Milošević N, Govedarica M, Jarak M.** 1999. Soil microorganisms: An important factor of agroecological systems. *Acta biologica iugoslavica - serija A: Zemljište i biljka* **48**, 103-110.
- Milošević N, Govedarica M.** 2001. Mogućnost primene biofertilizatora u proizvodnji ratarskih neleguminoznih biljaka. *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo* **35**, 53-65.
- Milošević N, Govedarica M, Jeličić Z, Protić R, Kuzevski J, Krstanović S.** 2003. Mikrobnii inokulanti kao biofertilizatori: testiranje, mogućnosti i značaj u održivoj poljoprivredi. *Zbornik naučnih radova Instituta PKB Agroekonomik* **9**, 89-98.
- Milošević N, Marinković J, Tintor B.** 2012. Uticaj mikroorganizama na ublažavanje posledica abiotičkog stresa kod poljoprivrednih kultura. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke* **123**, 17-26.
- Mirza MS, Rasul G, Mehnaz S, Ladha JK, So RB, Ali S, Malik KA.** 2000. Beneficial effects of inoculated nitrogen-fixing bacteria on rice. In: Ladha JK, Reddy PM. (Eds.), The Quest for Nitrogen Fixation in Rice. International Rice Research Institute, Los Banos, pp. 191–204.

- Mišković K, Rašović B, Sobieszczanski J, Brankov Lj.** 1983. Effect of different doses of Venzar on *Azotobacter chroococcum*. *Roczniki gleboznawcze* **34**, 201-206.
- Mišustin EN, Emcev VT.** 1987. Mikrobiologija, Moskva: Agropromozdat.
- Mittal V, Singh O, Nayyar H, Kaur J, Tewari R.** 2008. Stimulatory effect of phosphate-solubilizing fungal strains (*Aspergillus awamori* and *Penicillium citrinum*) on the yield of chickpea (*Cicer arietinum* L. cv. GPF2). *Soil Biol Biochem* **40**, 718-727.
- Montealegre JR, Reyes R, Perez LM, Herrera R, Silva P, Besoain X.** 2003. Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato. *Electron J Biotechnol* **6**, 115-127.
- Mrkovački N, Bjelić D.** 2011. Rizobakterije koje promovišu biljni rast (PGPR) i njihov efekat na kukuruz. *Ratar povrta* **48**, 305-312.
- Mrkovački N, Čačić N, Kuzevski J, Kovačev L, Mezei S, Nagl N, Bjelić D.** 2010. Uticaj načina primene *Azotobacter chroococcum* na mikroorganizme u rizosferi i prinos šećerne repe. *Ratar povrta* **47**, 599-606.
- Mrkovački N, Čačić N, Milić V.** 2002. Uticaj pesticida na *Azotobacter chroococcum*. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke* **102**, 23-28.
- Mrkovački N, Hrustić M, Milić V, Jocković Đ.** 1997. Field evaluation of twelve soybean soybean genotypes in Yugoslavia. *Eurosoya* **11**, 29-35.
- Mrkovački N, Mezei S, Kovačev L.** 1996. Effect of *Azotobacter* inoculation on dry matter mass and nitrogen content in the hybrid varieties of sugarbeet. *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo* **25**, 107-115.
- Mrkovački N, Mezei S.** 2003. Primena sojeva NS - Betafixin u gajenju šećerne repe. *Zbornik radova instituta za ratarstvo i povrtarstvo* **39**, 49-58.
- Mrkovački N, Milić V.** 2001. Use of *Azotobacter chroococcum* as potentially useful in agricultural application. *Ann Microbiol* **51**, 145-158.
- Mrkovački N, Jarak M, Đalović I, Jocković Đ.** 2012. Značaj i efekat primene PGPR na mikrobiološku aktivnost u rizosferi kukuruza. *Ratar povrta* **49**, 335-344.
- Nardi S, Concheri G, Pizzeghello D, Sturaro A, Rella R, Parvoli G.** 2000. Soil organic matter mobilization by root exudates. *Chemosphere* **5**, 653-658.
- Naseem H, Bano A.** 2014. Role of plant growth-promoting rhizobacteria and their exopolysaccharide in drought tolerance of maize. *J Plant Interact* **9**, 689-701.

- Nautiyal CS.** 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiol Lett* **170**, 265–270.
- Nester EW, Gordon MP, Amasino RM, Yanofsky MF.** 1984. Crown gall: a molecular and physiological analysis. *Ann Rev Plant Physiol* **35**, 387-413.
- Nezarat S, Gholami A.** 2009. Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving seed germination, seedling growth and yield of maize. *Pak J Biol Sci* **12**, 26-32.
- Nieto KF, Frankenberger WT.** 1991. Influence of adenine, isopentyl alcohol and *Azotobacter chroococcum* on the vegetative growth of *Zea mays*. *Plant Soil* **135**, 213-121.
- Noori MSS, Saud HM.** 2012. Potential plant growth-promoting activity of *Pseudomonas* sp. isolated from paddy soil in Malaysia as biocontrol agent. *J Plant Patholol Microbiol* **3**, 120.
- Noumavo PA, Kochoni E, Didagbé YO, Adjanohoun A, Allagbé M, Sikirou R, Gachomo EW, Kotchoni SO, Baba-Moussa L.** 2013. Effect of different plant growth promoting rhizobacteria on maize seed germination and seedling development. *Am J Plant Sci* **4**, 1013-1021.
- Okon Y, Labandera-Gonzalez C.** 1994. Agronomic applications of *Azospirillum*: An evolution of 20 year worldwide field inoculation. *Soil Biol Biochem* **26**, 1591-1601.
- Oostendorp M, Sikora RA.** 1989. Seed treatment with antagonistic rhizobacteria for the suppression of *Heterodera schachtii* early root infection of sugar beet. *Revue Nematol* **12**, 77-83.
- Pandey A, Ali I, Imran A, Kailash Singh Butola K, Chatterji T, Singh V.** 2011. Isolation and characterization of actinomycetes from soil and evaluation of antibacterial activities of actinomycetes against pathogens. *Int J Appl Biol Pharmaceut Technol* **2**, 384-392.
- Parkinson D.** 1982. Filamentous fungi. In: Page AE. (Ed.). *Methods of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological Properties*, Madison, Wisconsin.
- Peiffer JA, Sporb A, Korenb O, Jinb Z, Tringed SG, Dangle JL, Bucklera ES, Leyb RE.** 2013. Diversity and heritability of the maize rhizosphere microbiome under field conditions. *Proc Nat Acad Sci* **110**, 6548-6553.
- Peng SH, Wan-Azha WM, Wong WZ, Go WZ, Chai EW, Chin KL, H'ng PS.** 2013. Effect of using agro-fertilizers and N-fixing azotobacter enhanced biofertilizers on the growth and yield of corn. *J Appl Sci* **13**, 508-512.

- Pessi G, Haas D.** 2000. Transcriptional control of the hydrogen cyanide biosynthetic genes hcnABC by the anaerobic regulator ANR and the quorum-sensing regulators LasR and RhlR in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* **182**, 6940-6949.
- Philippot L, Raaijmakers JM, Lemanceau P, van der Putten WH.** 2013. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nat Rev Microbiol* **11**, 789–799.
- Picard C, Baruffa E, Bosco M.** 2008. Enrichment and diversity of plant-probiotic microorganisms in the rhizosphere of hybrid maize during four growth cycles. *Soil Biol Biochem* **40**, 106-115.
- Pierson LS, Thomashow LS.** 1992. Cloning and heterologous expression of the phenazine biosynthetic locus from *Pseudomonas aureofaciens* 30-84. *Mol Plant Microbe Interact* **5**, 330-339.
- Pikovskaya RI.** 1948. Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya* **17**, 362-370.
- Ponmurugan K, Sankaranarayanan A, Al-Dharbi NA.** 2012. Biological Activities of Plant Growth Promoting Azotobacter sp. isolated from Vegetable Crops Rhizosphere Soils. *J Pure Appl Microbiol* **6**, 1-10.
- Poopal AC, Laxman RS.** 2009. Studies on biological reduction of chromate by *Streptomyces griseus*. *J Hazard Mater* **169**, 539-545.
- Poshon J, Tardieux P.** 1962. Techniques d'analyse en microbiologie du sol, Paris.
- Prinsen E, Costacura A, Michiels K, Vanderleyden J, Van Onckelen H.** 1993. *Azospirillum brasilense* indole-3-acetic acid biosynthesis: evidence for a non-tryptophan-dependent pathway. *Mol Plant-Microbe Interact* **6**, 609–615.
- Raaijmakers JM, Paulitz TC, Steinberg C, Alabouvette C, Moenne-Loccoz Y.** 2009. The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant Soil* **321**, 341-361.
- Raaijmakers JM, Vlami M, de Souza JT.** 2002. Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie Van Leeuwenhoek* **81**, 537-547.
- Raičević V.** 1996. Asocijativna sposobnost roda *Azotobacter* sa kukuruzom. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Ramamoorthy V, Viswanathan R, Raguchander T, Prakasam V, Samiyappan R.** 2001. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Prot* **20**, 1-11.

- Ramette A, Frapolli M, Defago G, Moenne-Loccoz Y.** 2003. Phylogeny of HCN synthase – encoding ‘hcnbc’ genes in biocontrol fluorescent pseudomonads and its relationship with host plant species and HCN synthesis ability. *Mol Biol Plant Microbe Interact* **16**, 525-235.
- Rathnayake VN, Mallavarapu M, Bolan N, Naidu R.** 2009. Tolerance of heavy metals by Gram-positive soil bacteria. *World Acad Sci Eng Tech* **53**, 1185-1189.
- Reed JW, Capage M, Walker GC.** 1991. *Rhizobium melioli* exoG and exoJ mutations affect the exoX-exoY system for modulation of exopolysaccharide production. *J Bacteriol* **173**, 3776-3788.
- Reetha S, Selvakumar G, Bhuvaneshwari G, Thamizhiniyan P, Ravimycin T.** 2014. Screening of cellulase and pectinase by using *Pseudomonas fluorescence* and *Bacillus subtilis*. *Int Lett Nat Sci* **8**, 75-80.
- Rengel Z, Gutteridge R, Hirsch P, Hornby D.** 1996. Plant genotype, micronutrient fertilisation and take-all infection influence bacterial populations in the rhizosphere of wheat. *Plant Soil* **183**, 269-277.
- Ribaudo CM, Rondanini DP, Cura JA, Fraschina AA.** 2001. Response of *Zea mays* to the inoculation with *Azospirillum* on nitrogen metabolism under greenhouse conditions. *Biologia Plantarum* **44**, 631-634.
- Rodriguez H, Fraga R.** 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotech Adv* **17**, 319-339.
- Rodriguez MA, Venedikian N, Godeas A.** 2000. Fungal populations on sunflower (*Helianthus annuus*) anthosphere and their relation to susceptibility or tolerance to *Sclerotinia sclerotiorum* attack. *Mycopathology* **150**, 143-150.
- Roesch LFW, Camargoflavio AO, Bento FM, Triplett EW.** 2008. Biodiversity of diazotrophic bacteria within the soil, root and stem of field grown maize. *Plant Soil* **302**, 91–104.
- Roos W, Luckner M.** 1984. Relationship between proton extrusion and fluxes of ammonium ions and organic acid in *Penicillium cyclopium*. *J Gen Microbiol* **130**, 1007-1014.
- Rosenblueth M, Martinez Romero E.** 2004. *Rhizobium etli* maize populations and their competitiveness for root colonization. *Arch Microbiol* **181**, 337-344.
- Rosenzweig W.D., Stotzky G.** 1979. Influence of environmental factors on antagonism of fungi by bacteria in soil: clay minerals and pH. *Appl Environ Microbiol* **38**, 1120-1126.

- Rubio LM, Ludden PW.** 2005. Maturation of nitrogenase: a biochemical puzzle. *J Bacteriol* **187**, 405-414.
- Sachin DN.** 2009. Effect of *Azotobacter chroococcum* (PGPR) on the growth of bamboo (*Bambusa bamboo*) and maize (*Zea mays*) plants. *Biofrontiers* **1**, 37-46.
- Sakakibara H.** 2004. Cytokinin biosynthesis and metabolism. In: Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action!. (Davies PJ, Ed.), Springer, Dordrecht, pp. 95–114.
- Samuel S, Muthukkaruppan SM.** 2011. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria and fungi associated with rice, mangrove and effluent contaminated soil. *Curr Bot* **2**, 22-25.
- Sandhya V, Ali SKZ, Grover M, Reddy G, Venkatswarlu B.** 2010. Effect of plant growth promoting *Pseudomonas* spp. on compatible solutes, antioxidant status and plant growth of maize under drought stress. *Plant Growth Regul* **62**, 21-30.
- Schönwitz R, Ziegler H.** 1989. Interaction of maize roots and rhizosphere microorganisms. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* **152**, 217–222.
- Seefeldt LC, Dance IG, Dean DR.** 2004. Substrate interactions with nitrogenase: Fe versus Mo. *Biochemistry* **43**, 1401-1409.
- Sekulić P, Kastori R, Hadžić B.** 2003. Zaštita zemljišta od degradacije. Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad.
- Sharifi RS, Khavazi K, Gholipouri A.** 2011. Effect of seed priming with plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) on dry matter accumulation and yield of maize (*Zea mays* L.) hybrids. *Int Res J Biochem Bioinf* **1**, 076-083.
- Sheehy RE, Honma M, Yamada M, Sasaki T, Martineau B, Hiatt WR.** 1991. Isolation, sequence, and expression in *Escherichia-coli* of the *Pseudomonas* sp strain ACP gene encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *J Bacteriol* **173**, 5260-5265.
- Shobha G, Kumudini BS.** 2012. Antagonistic effect of the newly isolated PGPR *Bacillus* spp. on *Fusarium oxysporum*. *Int J Appl Sci Eng Res* **1**, 463-474.
- Sindhu SS, Grover V, Narula N, Lakshminarayana K.** 1989. Occurrence of multiple antibiotic resistance in *Azotobacter chroococcum*. *Zentralblatt für Mikrobiologie* **144**, 97-101.
- Somers E, Vanderleyden J, Srinivasan M.** 2004. Rhizosphere bacterial signaling: A love parade beneath our feet. *Crit Rev Microbiol* **30**, 205-240.

- Song OR, Lee SJ, Lee YS, Lee SC, Kim KK, Choi YL.** 2008. Solubilization of insoluble inorganic phosphate by Burkholderia cepacia DA23 isolated from cultivated soil. *Brazilian Journal of Microbiology* **39**, 151-156.
- Sousa CS, Soares ACF, Garrido MS.** 2008. Characterization of streptomycetes with potential to promote plant growth and biocontrol. *Sci Agric* **65**, 50-55.
- Starkey RL.** 1938. Some influences of the development of higher plants upon the microorganisms in the soil VI. Microscopic examination of the rhizosphere. *Soil Sci* **45**, 207-249.
- Stevenson FJ.** 2005. Cycles of Soil: Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrients. John Wiley and Sons, New York.
- Stintzi A, Barnes C, Jide Xu, Raymond KN.** 2000. Microbial iron transport via a siderophore shuttle: A membrane ion transport paradigm. *Proc Nat Acad Sci* **97**, 10691–10696.
- Suparman M, Kamaruzaman S, Sariah M, Inon S.** 2002. In vitro screening of antagonistic bacteria against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Programme and abstracts. 25th Malaysian Microbiology Symposium and 5th UNESCO National Workshop for the Promotion of Microbiology in Malaysia. p. 24.
- Suresh A, Pallavi P, Srinivas V, Kumar VP, Chandra SJ, Reddy SR.** 2010. Plant growth promoting activities of fluorescent pseudomonads associated with some crop plants. *Afr J Microbiol Res* **4**, 1491-1494.
- Tabatabai MA.** 1994. Soil enzymes. In: Weaver RW, Angle JS, Bottomly PS. (eds.) Methods of soil analysis, Part 2: Microbiological and Biochemical properties, 775-833.
- Tchan YT, New PB.** 1984. *Azotobacteriaceae*. In: Krieg N, Holt JG. (eds.) Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 1. Williams & Wilkins. Baltimore, pp. 219-225.
- Tešić Ž, Todorović M.** 1963. Prilog diskusiji o načinima za određivanje broja mikroorganizama u zemljištu. *Zemljište i biljka*, 1-3, Beograd.
- Todar K.** 2004. Todar's online textbook of bacteriology: *Pseudomonas aeruginosa*. University of Wisconsin—Madison, Madison.
- Tripathi M, Johri BN.** 2002. In vitro antagonistic potential of fluorescent pseudomonads and control of sheath blight of maize caused by *Rhizoctonia solani*. *Indian J Microbiol* **42**, 207-214.
- Uren NC.** 2007. Types, amounts, and possible functions of compounds released into the rhizosphere by soil-grown plants. In: The Rhizosphere: Biochemistry and Organic Substances

at the Soil-Plant Interface. R. Pinton, Z. Varanini and P. Nannipiero (Eds). 2nd Edn, CRC Press, Boca Raton, pp. 1-21.

Vardharajula S, Zulfikar AS, Grover M, Reddy G, Bandi V. 2011. Drought-tolerant plant growth promoting *Bacillus* spp.: effect on growth, osmolytes and antioxidant status of maize under drought stress. *J Plant Interact* 6: 1–14.

Vazquez P, Holguin G, Puente ME, Lopez Cortes A, Bashan Y. 2000. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. *Biol Fertil Soils* 30, 460-468.

Vessey JK. (2003): Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil* 255, 571-586.

Vidhyasekaran P, Muthamilan M. 1999. Evaluation of powder for-mulation of *Pseudomonas fluorescens* Pf1 for control of rice sheath blight. *Biocontrol Sci Technol* 9, 67-74.

Voisard C, Keel C, Haas D, Defago G. 1989. Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *The EMBO Journal* 8, 351-358.

Volkmar KM, Bremer E. 1998. Effects of seed inoculation with a strain of *Pseudomonas fluorescens* on root growth and activity of wheat in well-watered and drought-stressed glass-fronted rhizotrons. *Can J Plant* 78, 545-551.

Vyas P, Gulati A. 2009. Organic acid production *in vitro* and plant growth promotion in maize under controlled environment by phosphate-solubilizing fluorescent *Pseudomonas*. *BMC Microbiology* 9, 174.

Wakelin SA, Warren RA, Harvey PR, Ryder MH. 2004. Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. closely associated with wheat roots. *Biol Fertil Soils* 40, 36–43.

Wang C, Knill E, Glick BR, Defago G. 2000. Effect of transferring 1-aminocyclopropane 1-carboxylic acid (ACC) deaminase genes into on their growth-promoting and disease-suppressive capacities. *Can J Microbiol* 46, 898-907.

Welch SA, Taunton AE, Banfield JF. 2002. Effect of microorganisms and microbial metabolites on apatite dissolution. *Geomicrobiol J* 19, 343-367.

Whipps JM. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J Expt Bot* 52, 487-511.

- Whitelaw MA.** 2000. Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. *Adv Agron* **69**, 99-151.
- Wollum AG.** 1982. Cultural methods for soil microorganisms, *Methods of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological properties- Agronomy monograph 9* (2nd Edition).
- Wu SC, Cao ZH, Li ZG, Cheug KC, Wong MH.** 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma* **125**, 155-166.
- Xiao CQ, Chi RA, Li WS, Zheng Y.** 2011. Biosolubilization of phosphorus from rock phosphate by moderately thermophilic and mesophilic bacteria. *Minerals Engineering* **24**, 956-958.
- Yadav AK, Kumar R, Saikia R, Bora TC, Arora DK.** 2009. Novel copper resistant and antimicrobial *Streptomyces* isolated from Bay of Bengal, India. *J Med Microbiol* **19**, 234-240.
- Yazdani M, Bahmanyar MA, Pirdashti H, Esmaili MA.** 2009. Effect of phosphate solubilization microorganisms (PSM) and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield and yield components of corn (*Zea mays* L). *World Acad Sci Eng Tech* **49**, 90-92.
- Zhang Y-HP, Hong J, Ye X.** 2009. Cellulase assays. *Methods Mol Biol* **581**, 213–231.
- Zimbro MJ, Power DA, Millwer SM, Wilson GE, Johnson JA.** 2009. Difco and BBL manual: manual of biological culture media, 10th ed, p 879–880. Becton Dickinson and Co., Sparks, MD.
- Zouaoui B, Bouziane A.** 2012. Production, optimization and characterization of the lipase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Rom Biotech Lett* **17**, 7187- 7193.
- Živković B, Nejgebauer V, Tanasijević Đ, Miljković N, Stojković L, Drezgić P.** 1972. Zemljišta Vojvodine. Institut za poljoprivredna istraživanja, Novi Sad.
- <http://faostat.fao.org>

PRILOG

Tabela 1. ANOVA za ukupan broj mikroorganizama u polukontrolisanim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	5775	0,57	5775	0,454 ^{NS}
Period uzorkovanja (U)	1	4962	0,49	4962	0,488 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	138485	1,51	15387	0,159 ^{NS}
H x U	1	546	0,05	546	0,818 ^{NS}
H x I	9	61722	0,67	6858	0,732 ^{NS}
U x I	9	129728	1,41	14414	0,197 ^{NS}
H x U x I	9	66637	0,73	7404	0,684 ^{NS}

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 2. ANOVA za ukupan broj mikroorganizama u poljskim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	76161	12,21	76161	0,001 ^{**}
Period uzorkovanja (U)	2	247757	19,85	123879	0,001 ^{**}
Inokulacija (I)	9	139376	2,48	15486	0,011 [*]
H x U	2	17853	1,43	8927	0,042 [*]
H x I	9	34662	0,62	3851	0,043 [*]
U x I	18	234079	2,08	13004	0,008 ^{**}
H x U x I	18	68150	0,61	3786	0,891 ^{NS}

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 3. ANOVA za broj azotobaktera u polukontrolisanim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	1193	0,70	1193	0,405 ^{NS}
Period uzorkovanja (U)	1	480	0,28	480	0,597 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	11410	0,74	1268	0,667 ^{NS}
H x U	1	7101	4,17	7101	0,044 [*]
H x I	9	6994	0,46	777	0,899 ^{NS}
U x I	9	6936	0,45	771	0,902 ^{NS}
H x U x I	9	11678	0,76	1298	0,651 ^{NS}

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 4. ANOVA za broj azotobaktera u poljskim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	1384	0,62	1384	0,432 ^{NS}
Period uzorkovanja (U)	2	360692	80,69	180346	0,001 ^{**}
Inokulacija (I)	9	35440	1,76	3938	0,037 [*]
H x U	2	3499	0,78	1750	0,459 ^{NS}
H x I	9	9910	0,49	1101	0,878 ^{NS}
U x I	18	20015	0,50	1112	0,957 ^{NS}
H x U x I	18	7906	0,20	439	0,974 ^{NS}

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 5. ANOVA za broj amonifikatora u polukontrolisanim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	2034	0,01	2034	0,933 ^{NS}
Period uzorkovanja (U)	1	2378	0,85	2378	0,361 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	33389	1,32	3710	0,042 [*]
H x U	1	2418	0,86	2418	0,357 ^{NS}
H x I	9	9207	0,36	1023	0,949 ^{NS}
U x I	9	31255	1,23	3473	0,286 ^{NS}
H x U x I	9	15832	0,63	1759	0,772 ^{NS}

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 6. ANOVA za broj amonifikatora u poljskim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	11270	4,28	11270	0,040 [*]
Period uzorkovanja (U)	2	113408	21,52	56704	0,001 ^{**}
Inokulacija (I)	9	35931	1,52	3992	0,045 [*]
H x U	2	14774	2,80	7387	0,063 ^{NS}
H x I	9	6500	0,27	722	0,981 ^{NS}
U x I	18	42022	0,89	2335	0,596 ^{NS}
H x U x I	18	9237	0,19	513	0,947 ^{NS}

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 7. ANOVA za broj slobodnih azotofiksatora u polukontrolisanim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	4026	1,43	4026	0,235 ^{NS}
Period uzorkovanja (U)	1	114	0,04	114	0,841 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	18569	0,73	2063	0,036*
H x U	1	1329	0,47	1329	0,493 ^{NS}
H x I	9	19465	0,77	2163	0,644 ^{NS}
U x I	9	22525	0,89	2503	0,537 ^{NS}
H x U x I	9	23749	0,94	2639	0,496 ^{NS}

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 8. ANOVA za broj slobodnih azotofiksatora u poljskim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	14847	14847	1,89	0,171 ^{NS}
Period uzorkovanja (U)	2	36116	18058	2,30	0,103 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	147738	16415	2,09	0,032*
H x U	2	12971	6485	0,83	0,439 ^{NS}
H x I	9	9319	1035	0,13	0,999 ^{NS}
U x I	18	33211	1845	0,24	0,970 ^{NS}
H x U x I	18	43580	2421	0,31	0,997 ^{NS}

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 9. ANOVA za broj pseudomonasa u polukontrolisanim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	123	0,05	123	0,829 ^{NS}
Period uzorkovanja (U)	1	13686	5,23	13686	0,025*
Inokulacija (I)	9	17560	0,75	1951	0,666 ^{NS}
H x U	1	231	0,09	231	0,767 ^{NS}
H x I	9	13585	0,58	1509	0,812 ^{NS}
U x I	9	31988	1,36	3554	0,221 ^{NS}
H x U x I	9	38788	1,65	4310	0,116 ^{NS}

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 10. ANOVA za broj pseudomonasa u poljskim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	<i>P</i>
Hibrid (H)	1	24	0,00	24	0,947 ^{NS}
Period uzorkovanja (U)	2	84336	7,59	42168	0,001 ^{**}
Inokulacija (I)	9	67672	1,35	7519	0,021 [*]
H x U	2	866	0,08	433	0,925 ^{NS}
H x I	9	3137	0,06	349	0,914 ^{NS}
U x I	18	57041	0,57	3169	0,917 ^{NS}
H x U x I	18	35530	0,36	1974	0,993 ^{NS}

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; NS-nije značajno

Tabela 11. ANOVA za broj fosfomobilizatora u polukontrolisanim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	<i>P</i>
Hibrid (H)	1	7317	1,48	7317	0,227 ^{NS}
Period uzorkovanja (U)	1	272278	55,18	272278	0,001 ^{**}
Inokulacija (I)	9	25214	0,57	2802	0,020 [*]
H x U	1	7887	1,60	7887	0,210 ^{NS}
H x I	9	79604	1,79	8845	0,082 ^{NS}
U x I	9	48831	1,10	5426	0,373 ^{NS}
H x U x I	9	84175	1,90	9353	0,064 ^{NS}

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; NS-nije značajno

Tabela 12. ANOVA za broj fosfomobilizatora u poljskim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	<i>P</i>
Hibrid (H)	1	7458	1,28	7458	0,259 ^{NS}
Period uzorkovanja (U)	2	99897	8,59	49949	0,001 ^{**}
Inokulacija (I)	9	103216	1,97	11468	0,045 [*]
H x U	2	5274	0,45	2637	0,636 ^{NS}
H x I	9	38300	0,73	4256	0,680 ^{NS}
U x I	18	87899	0,84	4883	0,652 ^{NS}
H x U x I	18	53126	0,51	2951	0,952 ^{NS}

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; NS-nije značajno

Tabela 13. ANOVA za broj fosfomineralizatora u polukontrolisanim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	650	0,24	650	0,624 ^{NS}
Period uzorkovanja (U)	1	64725	24,07	64725	0,001 ^{**}
Inokulacija (I)	9	62869	2,60	6985	0,011 [*]
H x U	1	3818	1,42	3818	0,237 ^{NS}
H x I	9	9622	0,40	1069	0,933 ^{NS}
U x I	9	39547	1,63	4394	0,120 ^{NS}
H x U x I	9	20372	0,84	2264	0,580 ^{NS}

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 14. ANOVA za broj fosfomineralizatora u poljskim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	58275	8,84	58275	0,003 ^{**}
Period uzorkovanja (U)	2	24012	1,82	12006	0,165 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	72785	1,23	8087	0,028 [*]
H x U	2	8306	0,63	4153	0,034 [*]
H x I	9	32379	0,55	3598	0,039 [*]
U x I	18	54420	0,46	3023	0,972 ^{NS}
H x U x I	18	50354	0,42	2797	0,981 ^{NS}

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 15. ANOVA za broj aktinomiceta u polukontrolisanim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	91,8	0,31	91,8	0,579 ^{NS}
Period uzorkovanja (U)	1	9,8	0,03	9,8	0,856 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	1669,7	0,63	185,5	0,770 ^{NS}
H x U	1	418,8	1,42	418,8	0,237 ^{NS}
H x I	9	1242,7	0,47	138,1	0,892 ^{NS}
U x I	9	1368,2	0,51	152,0	0,860 ^{NS}
H x U x I	9	2146,7	0,81	238,5	0,611 ^{NS}

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 16. ANOVA za broj aktinomiceta u poljskim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	<i>P</i>
Hibrid (A)	1	1160,2	4,27	1160,2	0,040*
Period uzorkovanja (B)	2	4497,1	8,27	2248,5	0,001**
Inokulacija (C)	9	4238,1	1,73	470,9	0,085 ^{NS}
A x B	2	181,2	0,33	90,6	0,717 ^{NS}
A x C	9	1544,2	0,63	171,6	0,769 ^{NS}
B x C	18	2840,4	0,58	157,8	0,910 ^{NS}
A x B x C	18	2072,7	0,42	115,1	0,982 ^{NS}

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; NS-nije značajno

Tabela 17. ANOVA za broj gljiva u polukontrolisanim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	<i>P</i>
Hibrid (H)	1	44,71	1,07	44,71	0,305 ^{NS}
Period uzorkovanja (U)	1	63,44	1,51	63,44	0,222 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	345,99	0,92	38,44	0,515 ^{NS}
H x U	1	6,84	0,16	6,84	0,687 ^{NS}
H x I	9	423,01	1,12	47,00	0,037*
U x I	9	304,39	0,81	33,82	0,611 ^{NS}
H x U x I	9	472,12	1,25	52,46	0,276 ^{NS}

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; NS-nije značajno

Tabela 18. ANOVA za broj gljiva u poljskim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	<i>P</i>
Hibrid (H)	1	403,9	2,31	403,9	0,130 ^{NS}
Period uzorkovanja (U)	2	1262,2	3,62	631,1	0,029*
Inokulacija (I)	9	1053,8	0,67	117,1	0,734 ^{NS}
H x U	2	540,2	1,55	270,1	0,021*
H x I	9	921	0,59	102,4	0,807 ^{NS}
U x I	18	2189	0,70	121,6	0,812 ^{NS}
H x U x I	18	1537	0,49	85,4	0,960 ^{NS}

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; NS-nije značajno

Tabela 19. ANOVA za aktivnost dehidrogenaze u polukontrolisanim uslovima (3. list)

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	6908	3,47	6908	0,070 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	252705	14,11	28078	0,001 ^{**}
H x I	9	16130	0,90	1792	0,034 [*]

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 20. ANOVA za aktivnost dehidrogenaze u polukontrolisanim uslovima (5-7. list)

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	3060	0,48	3060	0,493 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	536176	9,33	59575	0,001 ^{**}
H x I	9	97046	1,69	10783	0,024 [*]

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 21. ANOVA za aktivnost dehidrogenaze u poljskim uslovima (I uzimanje)

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	7871	7871	0,35	0,038 [*]
Inokulacija (I)	9	85405	9489	0,42	0,534 ^{NS}
H x I	9	160965	17885	0,79	0,001 ^{**}

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 22. ANOVA za aktivnost dehidrogenaze u poljskim uslovima (II uzimanje)

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	367	0,02	367	0,684 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	107720	0,76	11969	0,043 [*]
H x I	9	91169	0,64	10130	0,037 [*]

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 23. ANOVA za aktivnost dehidrogenaze u poljskim uslovima (III uzimanje)

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	144	0,01	144	0,493 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	120340	0,69	13371	0,001 ^{**}
H x I	9	117738	0,67	13082	0,024 [*]

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 24. ANOVA za visinu nadzemnog dela u polukontrolisanim uslovima (3. list)

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	7,805	3,35	7,805	0,075 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	19,057	0,91	2,117	0,028 [*]
H x I	9	48,114	2,29	5,346	0,035 [*]

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 25. ANOVA za visinu nadzemnog dela u polukontrolisanim uslovima (5-7. list)

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	0,163	0,05	0,163	0,083 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	43,055	1,35	4,784	0,024 [*]
H x I	9	26,278	0,82	2,920	0,041 [*]

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 26. ANOVA za visinu nadzemnog dela u poljskim uslovima (3. list)

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	6,017	1,02	6,017	0,318 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	51,884	0,98	5,765	0,471 ^{NS}
H x I	9	27,140	0,51	3,016	0,856 ^{NS}

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 27. ANOVA za suhu masu nadzemnog dela u polukontrolisanim uslovima (3. list)

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	<i>P</i>
Hibrid (H)	1	0,0000337	0,04	0,0000337	0,842 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	0,0079918	1,06	0,0008880	0,041*
H x I	9	0,0251594	3,34	0,0027955	0,004**

P*<0.05; *P*<0.01; NS-nije značajno

Tabela 28. ANOVA za suhu masu nadzemnog dela u polukontrolisanim uslovima (5-7. list)

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	<i>P</i>
Hibrid (H)	1	0,05735	11,08	0,057350	0,002**
Inokulacija (I)	9	0,093804	2,01	0,010423	0,043*
H x I	9	0,057706	1,24	0,006412	0,030*

P*<0.05; *P*<0.01; NS-nije značajno

Tabela 29. ANOVA za suhu masu nadzemnog dela u poljskim uslovima (3. list)

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	<i>P</i>
Hibrid (H)	1	0,01332	0,76	0,01332	0,390 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	0,46504	2,93	0,05167	0,009**
H x I	9	0,1704	1,07	0,01894	0,042*

P*<0.05; *P*<0.01; NS-nije značajno

Tabela 30. ANOVA za sadržaj fosfora u polukontrolisanim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	<i>P</i>
Hibrid (H)	1	0,0012	0,21	0,0012	0,991 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	0,0273	0,51	0,0030	0,860 ^{NS}
H x I	9	0,0407	0,76	0,0045	0,651 ^{NS}

P*<0.05; *P*<0.01; NS-nije značajno

Tabela 31. ANOVA za sadržaj fosfora u poljskim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	<i>P</i>
Hibrid (H)	1	0,088	10,12	0,088	0,002**
Inokulacija (I)	9	0,001	0,14	0,012	0,998 ^{NS}
H x I	9	0,008	0,97	0,076	0,047*

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; NS-nije značajno

Tabela 32. ANOVA za sadržaj azota u polukontrolisanim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	<i>P</i>
Hibrid (H)	1	0,669	3,19	0,669	0,079 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	0,691	0,37	0,077	0,946 ^{NS}
H x I	9	0,424	0,23	0,047	0,990 ^{NS}

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; NS-nije značajno

Tabela 33. ANOVA za sadržaj azota u poljskim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	<i>P</i>
Hibrid (H)	1	0,001	0,00	0,001	0,949 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	1,320	1,04	0,147	0,429 ^{NS}
H x I	9	1,026	0,81	0,114	0,614 ^{NS}

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; NS-nije značajno

Tabela 34. ANOVA za sadržaj cinka u polukontrolisanim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	<i>P</i>
Hibrid (H)	1	9133	0,63	9133	0,432 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	111717	0,85	12413	0,573 ^{NS}
H x I	9	137658	1,05	15295	0,413 ^{NS}

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; NS-nije značajno

Tabela 35. ANOVA za sadržaj cinka u poljskim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	562,1	4,44	562,1	0,039*
Inokulacija (I)	9	939,3	0,82	104,4	0,597 ^{NS}
H x I	9	602,2	0,53	66,9	0,848 ^{NS}

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 36. ANOVA za sadržaj bakra u polukontrolisanim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	5,062	0,52	5,062	0,473 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	89,569	1,02	9,952	0,431 ^{NS}
H x I	9	84,251	0,96	9,361	0,479 ^{NS}

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 37. ANOVA za sadržaj bakra u poljskim uslovima

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	2,060	0,26	2,060	0,610 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	69,725	0,99	7,747	0,457 ^{NS}
H x I	9	28,397	0,40	3,155	0,928 ^{NS}

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

Tabela 38. ANOVA za prinos kukuruza

Izvor varijacije	Stepeni slobode	Sume kvadrata	Udeo kvadrata u sumi (%)	Sredine kvadrata	P
Hibrid (H)	1	0,0351	0,63	0,03571	0,430 ^{NS}
Inokulacija (I)	9	1,16442	2,30	0,12938	0,340 ^{NS}
H x I	9	1,21662	2,40	0,13518	0,280 ^{NS}

*P<0.05; **P<0.01; NS-nije značajno

BIOGRAFIJA

Dragana Bjelić je rođena 16.09.1984. godine u Novom Sadu. Osnovnu školu završila je u Kovilju, a gimnaziju „Jovan Jovanović Zmaj“ u Novom Sadu, sa odličnim uspehom. Prirodno–matematički fakultet u Novom Sadu, smer: profesor biologije, upisala je školske 2003/2004. godine. Diplomirala 2008. godine sa prosečnom ocenom 9,24.

Školske 2009/2010. godine upisuje diplomske akademske studije – master na Poljoprivrednom fakultetu u Novom Sadu, studijski program: Zemljište i ishrana biljaka. U toku master studija položila je sve predviđene ispite sa prosečnom ocenom 10. Master rad pod nazivom „Primena rizobakterija kao promotora biljnog rasta i biofertilizatora“ odbranila je 11.10.2010. sa ocenom 10. Mentor rada bila je prof. dr Mirjana Jarak.

Doktorske akademske studije upisala je 08.11.2010. godine na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Novom Sadu, studijski program: Agronomija. Položila je sve ispite predviđene planom i programom sa prosečnom ocenom 9,87.

Radni odnos u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu zasnovala je 01.07.2009. godine na poslovima istraživača pripravnika na Odseku za mikrobiološke preparate. 2011. godine izabrana je u zvanje istraživač saradnik za naučnu oblast Biotehničke nauke.

Trenutno je angažovana na dva projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije: *Unapređenje proizvodnje kukuruza i sirka u uslovima stresa* (TR-31073) i *Stanje, tendencije i mogućnosti povećanja plodnosti poljoprivrednog zemljišta u Vojvodini* (TR-31072).

Objavila je 28 autorskih i koautorskih radova. Govori engleski jezik i služi se ruskim jezikom. Član je Udruženja mikrobiologa Srbije.